

チョウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ (*cry1A.105*, 改変 *cry2Ab2*, *cry1F*, *pat*, 改変 *cp4 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MON89034×*B.t. Cry1F maize line 1507*×NK603, OECD UI: MON-89034-3×DAS-01507-1×MON-00603-6) (MON89034, *B.t. Cry1F maize line 1507*及びNK603それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のもの (既に第一種使用規程の承認を受けたものを除く。)を含む。)申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書.....	1
生物多様性影響評価書	2
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	2
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	2
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	2
(2) 使用等の歴史及び現状	2
(3) 生理学的及び生態学的特性	4
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	6
(1) 供与核酸に関する情報	6
(2) ベクターに関する情報	20
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	21
(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性 ..	24
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性 ..	26
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	27
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	36
(1) 使用等の内容	36
(2) 使用等の方法	36
(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の	
方法	36
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止	
するための措置.....	36
(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境	
での使用等の結果.....	36
(6) 国外における使用等に関する情報.....	36
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	38
1 競合における優位性.....	38
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	38
(2) 影響の具体的内容の評価	39
(3) 影響の生じやすさの評価	39
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	39

2	有害物質の産生性.....	39
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	39
(2)	影響の具体的内容の評価.....	42
(3)	影響の生じやすさの評価.....	42
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	43
3	交雑性.....	43
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	43
(2)	影響の具体的内容の評価.....	43
(3)	影響の生じやすさの評価.....	44
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	44
4	その他の性質.....	44
第三	生物多様性影響の総合的評価.....	45
	引用文献.....	47
	緊急措置計画書.....	48

第一種使用規程承認申請書

平成 21 年 11 月 24 日

農林水産大臣 赤松 広隆 殿

環境大臣 小沢 鋭仁 殿

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
 代表取締役 フィリップ・ファイル 印
 住所 東京都品川区東品川 2 丁目 2 番 24 号

申請者

氏名 日本モンサント株式会社
 代表取締役社長 山根 精一郎 印
 住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	チョウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ(<i>cry1A.105</i> , 改変 <i>cry2Ab2</i> , <i>cry1F</i> , <i>pat</i> , 改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (MON89034× <i>B.t.</i> <i>Cry1F</i> maize line 1507× NK603, OECD UI: MON-89034-3× DAS-01507-1× MON-00603-6) (MON89034, <i>B.t.</i> <i>Cry1F</i> maize line 1507 及び NK603 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のもの(既に第一種使用規程の承認を受けたものを除く。)を含む。)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	—

生物多様性影響評価書

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

5 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

① 和名、英名及び学名

10

和名：イネ科 トウモロコシ属 トウモロコシ

英名：Corn, maize

学名：*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis

15

② 宿主の品種名又は系統名

親系統の宿主はイネ科 (*Gramineae*) トウモロコシ属 (*Zea*) に属するトウモロコシ (*Z. mays*) の、デント種である。親系統の作出に使った品種名は以下のとおりである。

20

MON89034: LH172

B.t. Cry1F maize line 1507: A188×B73 の Hi-II

NK603: AW×CW

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

25

トウモロコシの原産地については、米国の南西部、メキシコ、中米あるいは南米にかけての地域と考えられるが、決定的な説はなく、これら複数地域がそれぞれ独立した起源であるとする説と、メキシコ南部単独を起源とする説がある(文献 1)。なお、わが国における自然分布の報告はない。

30

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

35

トウモロコシの最古の栽培起源は今から 9,000 年前とされている(文献 1)。その後、原住民の手により育種、品種改良が行われ、紀元前 3000 年～1500 年頃には、現代

の栽培型に近いトウモロコシが本格的に栽培されるようになり、南北アメリカ大陸の各地に伝播し、その伝播の過程でさらにデント、ポップ、スイート種などの多数の変異種が生じたと考えられている(文献 2)。わが国へは天正 7 年(1579 年)に長崎か四国に伝来したのが最初であるとされ、栽培の歴史は長い。

5

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

現在、飼料としての利用が主流であるが、食用、食用油、澱粉などの食品としての用途也多岐にわたる(文献 1; 文献 2)。現在、トウモロコシは世界で最も広く栽培されている穀物で、米国、中国、ブラジル、アルゼンチン及びヨーロッパ諸国などを中心に、北緯 58 度から南緯 40 度に至る範囲で栽培可能である(文献 1; 文献 3)。

国連食糧農業機関(FAO)の統計情報に基づくと、2007 年における全世界のトウモロコシの栽培面積は約 1 億 6 千万 ha であり、上位国を挙げると米国が 3,502 万 ha、中国が 2,807 万 ha、ブラジルが 1,383 万 ha、メキシコが 780 万 ha、インドが 777 万 ha、ナイジェリアが 470 万 ha、インドネシアが 345 万 ha となっている(文献 4)。

現在、わが国で栽培されているトウモロコシは統計上、生食用のスイートコーンと飼料用青刈りデントコーンがあり、2007 年のスイートコーンの作付面積は約 2 万 5,600ha で収穫量は約 25 万 6,700 トン(文献 5)であり、2008 年における青刈りデントコーンの作付面積は約 9 万 800ha で、収穫量は約 493 万トンである(文献 6)。

わが国は 2008 年に海外から約 1,645 万トンのトウモロコシを飼料用、食品・工業用、そして栽培用として輸入している。その内訳は、飼料用として約 1,187 万トン、食品・工業用として約 457 万トン、そして栽培用として約 1,712 トンである。なお、栽培用として輸入している上位 3 カ国を挙げるとフランスが 778 トン、米国が 354 トン、オーストリアが 143 トンとなっている(文献 7)。

わが国での飼料用トウモロコシの慣行栽培法は以下のとおりである。播種適期は寒地から温暖地までは 5 月、一部の暖地では 4 月から 6 月までである。適正栽植密度は 10a 当たり 6,000~8,000 本である。雑草防除のため、生育初期に除草剤散布や 2~3 回の中耕・培土作業を行う。雌穂の抽出より 35~45 日後の黄熟期に地上部を収穫する(文献 3)。

なお、国内主要種苗メーカーの品種リストに基づくと、現在、一般に栽培用として市販されているトウモロコシのほとんどは一代雑種品種(F1)なので、収穫種子が翌年に

栽培用として播種されることは一般的でない。

(3) 生理学的及び生態学的特性

5 イ 基本的特性

—

10 ロ 生息又は生育可能な環境の条件

10

トウモロコシ種子の発芽適温は 32～36℃、最低発芽温度及び最低生育温度は 6～10℃であり、実際には 13～14℃以上の時期が播種適期とされている。品種や地域によって栽培時期は多少異なるが、主に春に播種されて秋に収穫される一年生の作物である(文献 3)。また、トウモロコシはもともと短日植物であり、その感光性は晩生種ほど敏感で、早生品種ほど鈍感である(文献 3)。これら温度条件等の他、デント種の場合は種子重量の 70%の水を吸うと発芽する(文献 8)。また、トウモロコシの栽培には腐植に富む土壌が適し、pH5.5～8.0 の範囲で栽培可能である(文献 8)。

15

現在のトウモロコシは栽培作物として高度に人為的に作られた作物であり、自然条件下で野生種として繁殖し、生存するための能力は失われている(文献 1;文献 9)。

20

ハ 捕食性又は寄生性

—

25

ニ 繁殖又は増殖の様式

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

完熟した種子は雌穂の苞皮で覆われており、脱粒性はない(文献 1)。トウモロコシは長い間栽培植物として利用してきた過程で、野生として生き残る能力を失っており、その種子を分散させるためには人間の仲介が必要である。種子の休眠性は極めて低い。また、収穫時に種子が地上に落下しても、土壌温度が 10℃に達するまで発芽せず、腐敗し枯死する(文献 2;文献 3)。また、仮に発芽しても生長点が地上に出た後は 6~8 時間以上 0℃以下の外気にさらされると生存できない(文献 1)。種子の寿命は常温保存では短く、2 年目から発芽率が低下する。

30

35

② 栄養繁殖の様式並びに自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性

5 トウモロコシは栄養繁殖はせず、種子繁殖する。自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性があるという報告はこれまでのところない。

③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

10

トウモロコシは雌雄同株植物の一年生作物で、典型的な風媒花であり、ほとんどは他家受粉によって作られた種子により繁殖するが、自家不和合性がないため自家受粉も可能である(文献1;文献10)。トウモロコシと交雑可能なのは、同じ*Z. mays*種に含まれ *Z. mays* subsp. *mays*(L.) Itis の亜種として分類される一年生のテオシント(*Z.*
15 *mays* subsp. *mexicana*)、及び *Tripsacum* 属であるが、トウモロコシと自然交雑可能なのはテオシントのみで、*Tripsacum* 属との自然交雑は知られていない(文献1)。テオシントはメキシコとグアテマラにのみ自然分布しており、一方、*Tripsacum* 属の分布地域は北アメリカ東南部、コロンビアからボリビアにかけてのアンデス東側の低地、そして、この属の中心地と考えられるメキシコ、グアテマラの3地域に大別されている(文献1;文
20 献2;文献3;文献11)。わが国では、テオシント及び *Tripsacum* 属の野生種は報告されていない(文献3;文献12)。また、トウモロコシのアポミクシスの報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

25 トウモロコシの一本の雄穂には1,200~2,000個の小穂があり、1,600万~3,000万個の花
粉粒を形成する。花粉の寿命は盛夏のほ場条件下では24時間以内であるが、環境により2時間から8日までの幅がある(文献13)。花粉は球形で、1粒あたりの重量は約 6.4×10^{-7} gであり(文献14)、直径は90~100 μ mである(文献15)。風媒による他家受粉が主であるが普通
30 のほ場で1~5%の自家受粉が起きる。雄穂の開花によって飛散した花粉は、雌穂から抽出した絹糸に付着して発芽し、24時間以内に受精を完了する(文献1)。また、トウモロコシ花粉が飛散する距離は、林、山などの遮蔽物の有無、風向きなどで異なるが、およそ300~500mとされている(文献3)。

ホ 病原性

35

—

へ 有害物質の産生性

トウモロコシにおいて、自然条件下で周囲の野生動植物等の生育または生息に影響を及ぼす有害物質の産生は報告されていない。

ト その他の情報

これまで、運搬等においてこぼれ落ちたトウモロコシが畑以外で生育したという報告はない。

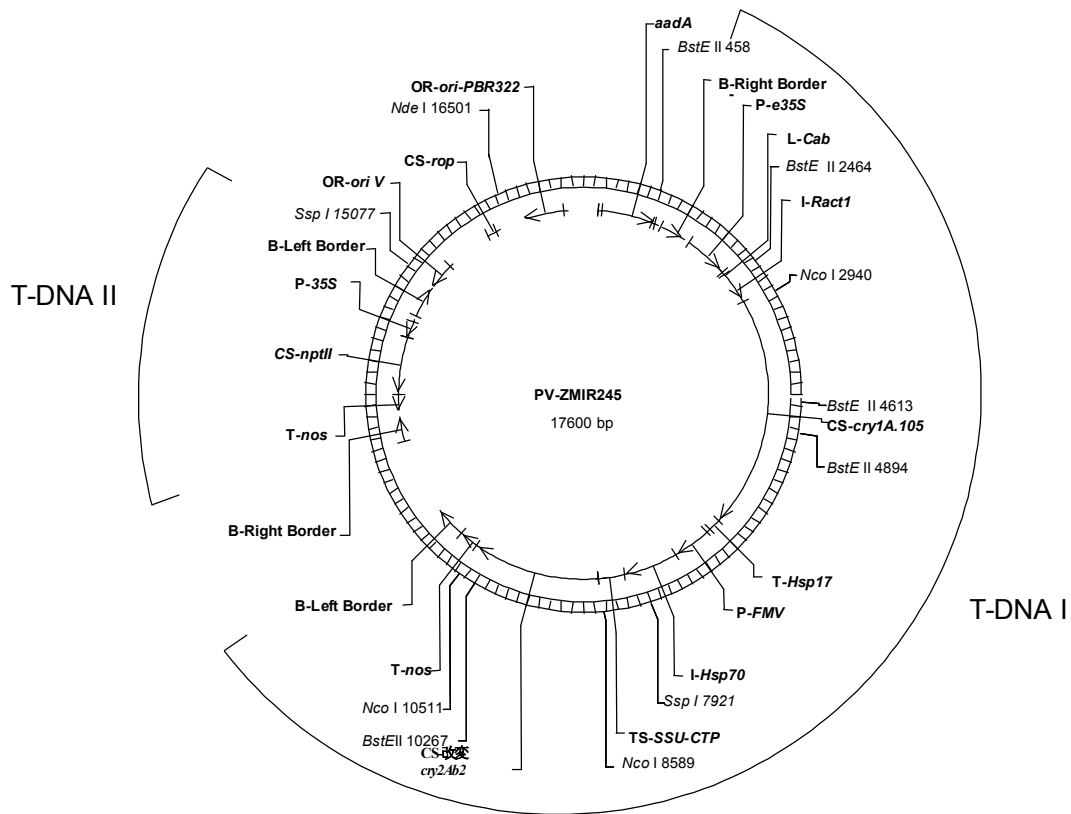
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ (*cry1A.105*, 改変 *cry2Ab2*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MON89034, OECD UI: MON-89034-3) (以下「MON89034」という。)、
15 チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*cry1F*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (*B.t.* Cry1F maize line 1507, OECD UI: DAS-01507-1) (以下「Cry1F line 1507」という。)及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ (改変 *cp4 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (NK603, OECD UI: MON-00603-6) (以下「NK603」という。)を従来の交雑育種法を用いて交配させた交配後代品種 (OECD UI: MON-89034-3×DAS-01507-1×MON-00603-6) (以下「本スタック系統トウモロコシ」という。)は、親系統である MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の 3 つの組換えトウモロコシのそれぞれの特性を有する。また、本スタック系統トウモロコシは一代雑種品種 (F1) として商品化されることから、収穫される種子には遺伝的分離により本スタック系統トウモロコシの親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せからなるスタック系統トウモロコシが含まれる。以下では MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の調製等に関する情報について概要等を記載した。

30 (1) 供与核酸に関する情報

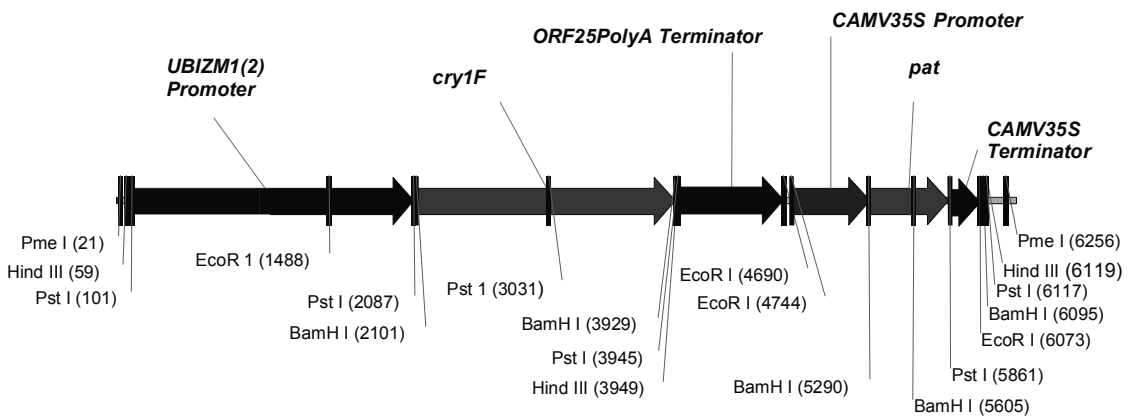
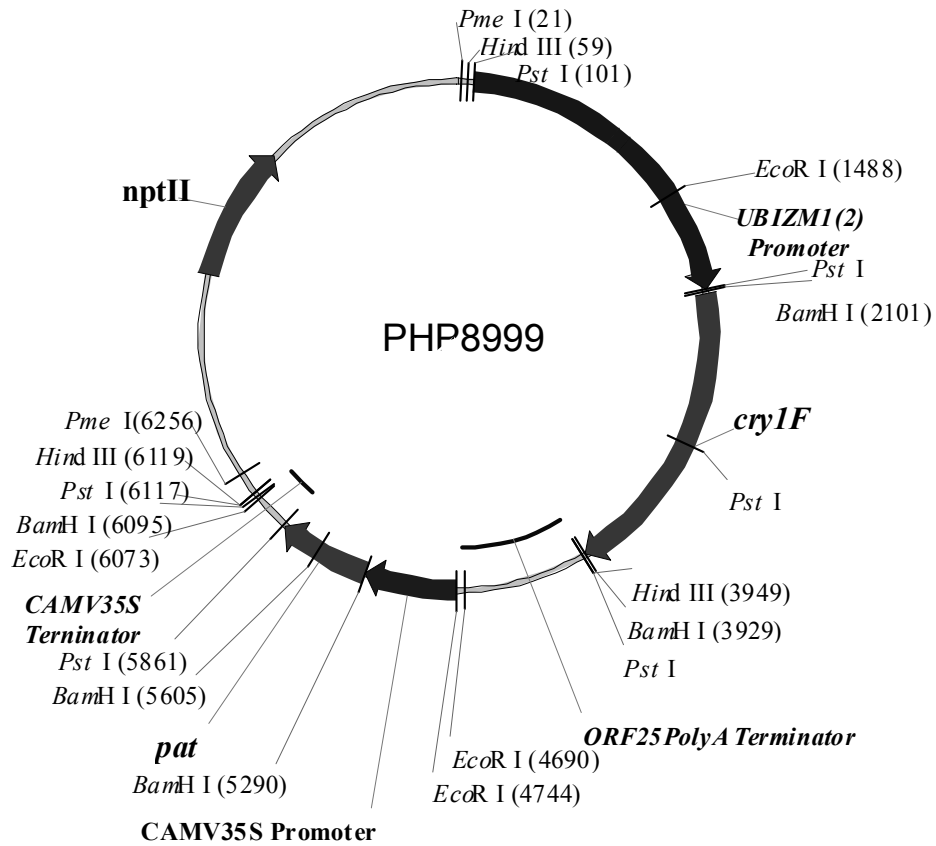
イ 構成及び構成要素の由来

MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 のそれぞれの作出に用いられた供与核酸の構成と構成要素の由来は、それぞれ図 1～図 3 (p7～9) 及び表 1～表 3 (p10～14) に示したとおりである。



- 5 図1 MON89034の作出に用いられたPV-ZMIR245のプラスミドマップ¹
 MON89034の育成過程では、上図のT-DNA I領域は持つが、T-DNA II領域は持たない個体を選抜した。

¹ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する



5 図2 Cry1F line 1507の作出に用いられたPHP8999のプラスミドマップ及び挿入DNA領域²

² 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社に帰属する

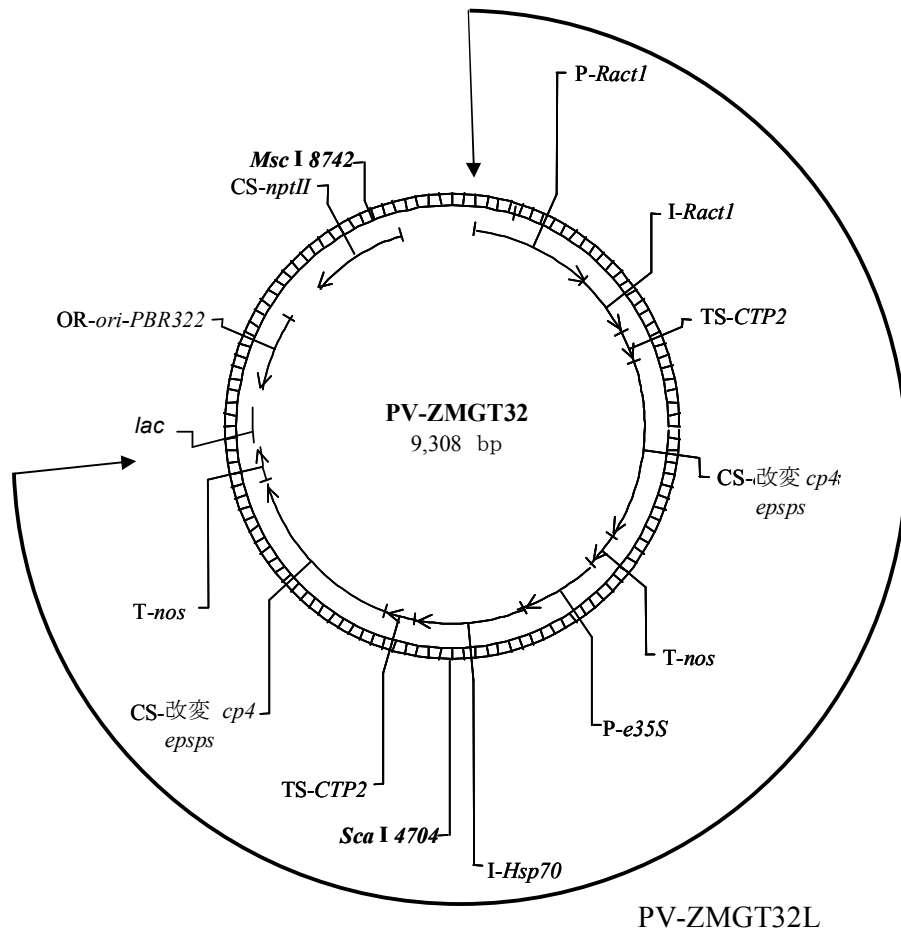


図3 NK603の作出に用いられたPV-ZMGT32のプラスミドマップ³

5

³ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

表 1 MON89034 の作出に用いた PV-ZMIR245 の各構成要素の由来及び機能⁴

構成要素	由来及び機能
T-DNA I 領域	
B ^{注1} -Right Border (右側境界領域)	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> に由来する、ノパリン型 T-DNA 領域の右側境界配列を含む DNA 断片。右側境界配列は、T-DNA が <i>A. tumefaciens</i> から植物ゲノムへの T-DNA の伝達の際、伝達の開始点として利用される(文献 16)。
P ^{注2} -e35S	二重エンハンサー領域(文献 17)を持つ、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)35SRNA(文献 18)のプロモーターと9bpリーダー配列。植物体の全組織で恒常的に目的遺伝子を発現させる。
L ^{注3} -Cab	コムギ葉緑素 a/b 結合蛋白質の 5'末端非翻訳リーダー領域。目的遺伝子の発現を活性化させる(文献 19)。
I ^{注4} -Ract1	イネ・アクチン遺伝子のイントロン(文献 20)。目的遺伝子の発現を活性化させる。
CS ^{注5} -cryIA.105	CryIA.105 蛋白質をコードする遺伝子。詳細は第一の 2-(1)-ロ-①に示した。
T ^{注6} -Hsp17	コムギ熱ショック蛋白質 17.3 の 3'末端非翻訳領域。転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する(文献 21)
P-FMV	Figwort Mosaic Virus 由来の 35S プロモーター(文献 22)。植物体の全組織で恒常的に目的遺伝子を発現させる。
I-Hsp70	トウモロコシ熱ショック蛋白質 70 遺伝子の第 1 イントロン(文献 23)。目的遺伝子の発現を活性化させる。
TS ^{注7} -SSU-CTP	トウモロコシのリブロース 1,5-二リン酸カルボキシラーゼの小サブユニットの輸送ペプチドで、第1イントロン配列を含む(文献 24)。下流に連結した蛋白質を色素体へと輸送する。
CS-改変 cry2Ab2	<i>Bacillus thuringiensis</i> に由来する改変 Cry2Ab2 蛋白質をコードする遺伝子(文献 25)。クローニングの際に用いる制限酵素切断部位を付加するため、野生型 Cry2Ab2 蛋白質と比較して N 末端のメチオニンの後にアスパラギン酸が 1 つ挿入されている。
T-nos	<i>A. tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素(<i>nos</i>) 遺伝子の 3'非転写領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する(文献 26)。
B-Left Border (左側境界領域)	<i>A. tumefaciens</i> に由来する左側境界配列(25bp)を含む DNA 断片。左側境界配列は、T-DNA が <i>A. tumefaciens</i> から植物ゲノムへ伝達される際の終結点である(文献 27)。

表1 MON89034 の作出に用いた PV-ZMIR245 の各構成要素の由来及び機能(続き)⁴

構成要素	由来及び機能
T-DNA II 領域	
B-Right Border (右側境界領域)	<i>A. tumefaciens</i> に由来する、ノパリン型 T-DNA の右側境界配列 (24bp) を含む DNA 断片。右側境界配列は、T-DNA が <i>A. tumefaciens</i> から植物ゲノムへの T-DNA の伝達の際、伝達の開始点として利用される (文献 16)。
T-nos	<i>A. tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素 (<i>nos</i>) 遺伝子の 3' 転写領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する (文献 26)。
CS- <i>npIII</i>	<i>Escherichia coli</i> のトランスポゾン Tn5 に由来する遺伝子 (文献 28)。ネオマイシンフォスフォトランスフェラーゼ II をコードし、植物にカナマイシン耐性を付与する。遺伝子導入の際、組換え体植物を選抜するためのマーカーとして用いられる (文献 29)。
P-35S	カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) の 35S プロモーター領域 (文献 18)。植物体の全組織で恒常的に目的遺伝子を発現させる。
B-Left Border (左側境界領域)	<i>A. tumefaciens</i> に由来する左側境界配列 (25bp) を含む DNA 断片。左側境界配列は、T-DNA が <i>A. tumefaciens</i> から植物ゲノムへ伝達される際の終結点である (文献 27)。
外側骨格領域	
OR ^{注8} - <i>ori V</i>	広域宿主プラスミド RK2 から単離された複製開始領域であり、 <i>A. tumefaciens</i> においてベクターに自律増殖能を付与する (文献 30)。
CS- <i>rop</i>	<i>E. coli</i> 中でのプラスミドのコピー数の維持のためにプライマー蛋白質を抑制するコーディング配列 (文献 31)
OR- <i>ori-PBR322</i>	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する (文献 32)。
<i>aadA</i>	トランスポゾン Tn7 由来のアミノグリコシド改変酵素である 3' (9)-O-nucleotidyltransferase の細菌プロモーター、コード領域及びターミネーター。スペクチノマイシンあるいはストレプトマイシン耐性を付与する (文献 33)。

注¹ B – border (境界配列)

注² P – promoter (プロモーター)

注³ L – leader (リーダー配列)

5 注⁴ I – intron (イントロン)

注⁵ CS – coding sequence (コーディング配列)

注⁶ T – transcript termination sequence (転写終結配列)

注⁷ TS – targeting sequence (ターゲティング配列)

注⁸ OR – Origin of Replication (複製開始領域)

10

⁴ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

表2 Cry1F line 1507 の作出に用いた PHP8999 の各構成要素の由来及び機能⁵

構成要素	由来及び機能
<i>cry1F</i> 遺伝子発現カセット	
<i>UBIZM1 (2) Promoter</i> ^{注1}	<i>Z. mays</i> 由来のユビキチン構成的プロモーター(イントロン及び 5' 非翻訳領域を含む) (文献 34)。
<i>cry1F</i>	<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 由来の Cry1F 蛋白質をコードする遺伝子。植物における発現を高めるため、最適化されている (GenBank AAA22347)。
<i>ORF25PolyA Terminator</i>	<i>A. tumefaciens</i> pTi5955 由来の転写を停止するためのターミネーター(文献 27)。
<i>pat</i> 遺伝子発現カセット	
<i>CAMV35S Promoter</i> ^{注1}	カリフラワーモザイクウイルス由来の 35S 構成的プロモーター(文献 35)。
<i>Pat</i>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィトリシンアセチルトランスフェラーゼ (PAT 蛋白質) をコードする遺伝子。植物における発現を高めるため、最適化されている(文献 36)。
<i>CAMV35S Terminator</i>	カリフラワーモザイクウイルス由来の転写を停止するための 35S ターミネーター(文献 35)。

^{注1} 構成的プロモーター: 植物体の全体において、目的遺伝子を発現させるプロモーター。

⁵ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社に帰属する

表3 NK603の作出に用いたPV-ZMGT32Lの各構成要素の由来及び機能⁶

構成要素	由来及び機能
改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット①	
P ^{注1} - <i>Ract1</i>	イネ由来のアクチン 1 遺伝子のプロモーター領域。目的遺伝子を発現させる(文献 20)。植物体の全組織で恒常的に目的遺伝子を発現させる。
I ^{注2} - <i>Ract1</i>	イネ・アクチン遺伝子のイントロン(文献 37)。目的遺伝子の発現を活性化させる。
TS ^{注3} - <i>CTP 2</i>	シロイヌナズナの <i>epsps</i> 遺伝子の中で、EPSPS 蛋白質の N 末端側に存在する葉緑体輸送ペプチド部分をコードする塩基配列(文献 38)。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
CS ^{注4} -改変 <i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子(文献 39; 文献 40)。植物中での発現量を高めるために野生型 CP4 EPSPS 蛋白質の N 末端から二番目のセリンがロイシンに改変されている。
T ^{注5} - <i>nos</i>	<i>A. tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素(<i>nos</i>)遺伝子の 3'非転写領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する(文献 26)。
改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子カセット②	
P- <i>e35S</i>	二重エンハンサー領域(文献 17)を持つ、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV) 35SRNA(文献 18)のプロモーターと 9bp リーダー配列。植物体の全組織で恒常的に目的遺伝子を発現させる。
I- <i>Hsp70</i>	トウモロコシの熱ショック蛋白質 70 遺伝子のイントロン。ZmHsp70 イントロンは植物における外来遺伝子の発現量を高めるために用いられる(文献 41)。
TS- <i>CTP2</i>	シロイヌナズナの <i>epsps</i> 遺伝子の中で、EPSPS 蛋白質の N 末端側に存在する葉緑体輸送ペプチド部分をコードする塩基配列(文献 38)。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
CS-改変 <i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子(文献 39; 文献 40)。植物中での発現量を高めるために野生型 CP4 EPSPS 蛋白質の N 末端から二番目のセリンがロイシンに改変されている。
T- <i>nos</i>	<i>A. tumefaciens</i> T-DNA 由来のノパリン合成酵素(<i>nos</i>)遺伝子の 3'非転写領域で、mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する(文献 26)。

表 3 NK603 の作出に用いた PV-ZMGT32 の各構成要素の由来及び機能(続き)⁶

その他(植物体には存在していない)	
<i>lac</i>	<i>lacI</i> コード領域の一部(文献 42)、 <i>lac</i> プロモーター(文献 43)、 <i>lacZ</i> コード領域の一部からなる配列で、ラクトースを加水分解し、選抜マーカーとして用いられる β -ガラクトシダーゼを発現する(文献 44)。
OR ^{注6} - <i>ori</i> -PBR322	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する(文献 32)。
<i>nptII</i>	<i>E. coli</i> のトランスポゾン Tn5 に由来するホストトランスフェラーゼ II (NPTII) をコードする配列(文献 28)で、ネオマイシン耐性及びカナマイシン耐性を付与する。この領域は Tn5 由来の <i>ble</i> 遺伝子の一部を含み(文献 45)、 <i>nptII</i> プロモーター、ベータラクタマーゼ終結配列によって調節され、遺伝子導入の際、組換え体植物を選抜するためのマーカーとして用いられる(文献 29)。

注¹ P – promoter(プロモーター)

注² I – intron(イントロン)

5 注³ TS – targeting sequence(ターゲティング配列)

注⁴ CS – coding sequence(コーディング配列)

注⁵ T – transcript termination sequence(転写終結配列)

注⁶ OR – origin of replication(複製開始領域)

10

⁶ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

ロ 構成要素の機能

- 5 ① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカーその他の供与核酸の構成要素それぞれの機能

10 MON89034、Cry1F line 1507 及びNK603 のそれぞれの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は、それぞれ表 1～表 3 (p10～14)に示したとおりである。そのうち、目的遺伝子である *cry1A.105* 遺伝子、改変 *cry2Ab2* 遺伝子、*cry1F* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子の詳細については、それぞれ表 1～表 3 (p10～14)に記載した。

- 15 ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

—害虫抵抗性蛋白質⁷—

【Cry1A.105 蛋白質】

20

MON89034 の作出に用いた *cry1A.105* 遺伝子がコードする Cry1A.105 蛋白質は、Cry1Ab 蛋白質のドメイン I と II、Cry1F 蛋白質のドメイン III、Cry1Ac 蛋白質の C 末端ドメインにより構成される合成 Bt 蛋白質であり、異なる Bt 蛋白質のドメインを組み合わせることにより標的昆虫に対する殺虫活性を高める目的で開発された。

- 25 Cry1A.105 蛋白質の殺虫スペクトラムについては、人工飼料に混合した Cry1A.105 蛋白質を 5 種類のチョウ目昆虫を含む 15 種類の昆虫種に混餌投与することにより調査を行った。その結果、Cry1A.105 蛋白質は、トウモロコシの主要チョウ目害虫である

⁷ 土壌中に一般的に存在するグラム陽性菌である *B. thuringiensis* の産生する Bt 蛋白質は、標的昆虫の中腸上皮の特異的受容体と結合して陽イオン選択的小孔を形成し、その結果、消化プロセスを阻害して殺虫活性を示すことが知られている(文献 46 ; 文献 47 ; 文献 48)。また、これまでの研究から Bt 蛋白質は複数のドメインから構成され、各ドメインが持つ機能も明らかにされている。例えば、Bt 蛋白質は、ドメイン I、II、III と C 末端ドメインにより構成されており、ドメイン I は消化プロセスを阻害する陽イオン選択的小孔の形成、ドメイン II は特異的な受容体の認識、ドメイン III は受容体との結合性、そして C 末端ドメインは Bt 蛋白質の結晶構造に関与していることが明らかにされている(文献 49; 文献 50)。

コーンイヤールーム(*Helicoverpa zea*) (文献 51)、ブラックカットワーム(タマヤナガ)
(*Agrotis ipsilon*) (文献 52)、フォールアーミーワーム(ツマジロクサヨトウ) (*Spodoptera*
frugiperda) (文献 52)、サウスウエスタンコーンボロー (*Diatraea grandiosella*) (文
5 献 52)、ヨーロピアンコーンボロー(ヨーロッパアワノメイガ) (*Ostrinia nubilalis*) (文献
53)の幼虫に対して殺虫活性を示したが、チョウ目昆虫以外のミツバチ(文献 54; 文献
55)やテントウムシ(文献 56)などの益虫に対しては殺虫活性を示さなかった。

以上のことから、Cry1A.105 蛋白質は構成要素である Cry1Ab 蛋白質、Cry1F 蛋白
質及びCry1Ac 蛋白質と同様にチョウ目害虫のみに選択的に殺虫活性を示し、試験を
行ったすべての非標的生物に対し毒性を持たないことが確認された。

10

【改変 Cry2Ab2 蛋白質】

MON89034 の作出に用いた改変 *cry2Ab2* 遺伝子がコードする改変 Cry2Ab2 蛋白
質は、クローニングの際に用いる制限酵素切断部位を付加するため、野生型
15 Cry2Ab2 蛋白質と比較してN末端のメチオニンの後にアスパラギン酸が1つ挿入され
ている。

改変 Cry2Ab2 蛋白質の殺虫スペクトラムについては、人工飼料に混合した改変
Cry2Ab2 蛋白質を、4 種類のチョウ目昆虫を含む 15 種類の昆虫種に混餌投与するこ
とにより調査を行った。その結果、改変 Cry2Ab2 蛋白質は、試験に用いた 4 種類の主
20 要チョウ目害虫の中でコーンイヤールーム(文献 53)、フォールアーミーワーム(文献
57)、及びヨーロピアンコーンボロー(文献 53)の幼虫に対して殺虫活性を示したが、
ブラックカットワーム(文献57)に対しては殺虫活性を示さなかった。また、チョウ目害虫
以外のミツバチ(文献 58; 文献 59)やテントウムシ(文献 60)などの益虫に対しても、殺
虫活性を示さなかったことから、改変 Cry2Ab2 蛋白質は特定のチョウ目害虫のみに選
25 択的に殺虫活性を示し、試験を行ったすべての非標的生物に対し毒性を持たないこ
とが確認された。

【Cry1A.105 蛋白質+改変 Cry2Ab2 蛋白質】

MON89034 は、Cry1A.105 蛋白質と改変 Cry2Ab2 蛋白質を同時に発現することに
より、標的チョウ目害虫に対する抵抗性が付与されている。実際に 2003 年から 2004
年にかけて米国、プエルトリコ、及びアルゼンチンで行われた MON89034 の主要チョ
ウ目害虫{ヨーロピアンコーンボロー、サウスウエスタンコーンボロー、コーンイヤ
ールーム、シュガーケーンボロー(サトウキビメイガ) (*D. saccharalis*)、フォールアー
35 ミーワーム}に対する抵抗性試験において、MON89034 は、調査された全てのチョウ
目害虫に対して抵抗性を示すことが確認されている。

また、Cry1A.105 蛋白質と改変 Cry2Ab2 蛋白質は、いずれもコーンイヤークワーム、
フォールアーミーワーム、及びヨーロッパアンコーンボローラーに対して殺虫活性を持つこ
とが確認されているが、このように殺虫スペクトラムがある程度重複している2つの蛋白
質を同時に発現させることにより、MON89034 に対して感受性を示す標的チョウ目害
5 虫は、2 種類の Bt 蛋白質に対して抵抗性にならない限り、MON89034 に対する抵抗
性を獲得することは出来ない。このことから MON89034 は、1 種類の Bt 蛋白質を単独
で発現する Bt トウモロコシと比べて、非感受性害虫が発生する確率をより一層低く出
来ると考えられている。

10 なお、Cry1A.105 蛋白質と改変 Cry2Ab2 蛋白質は、この両 Bt 蛋白質に対して感受
性を示す標的チョウ目害虫に対して相乗的に殺虫活性を示さないことが MON89034
の生物多様性影響評価の際に確認されている。

【Cry1F 蛋白質】

15 Cry1F line 1507 の作出に用いた *cry1F* 遺伝子は、*B. thuringiensis* var. *aizawai* より
単離された遺伝子で、Bt 蛋白質である Cry1F 蛋白質を発現する。

Cry1F 蛋白質の殺虫効果を調べるため、蛍光菌 (*Pseudomonas fluorescens*) 中で産
生させた Cry1F 蛋白質を人工飼料に混合し、米国において農業上の害虫と見なされ
20 ている 15 種類のチョウ目昆虫に混餌投与した。15 種類のチョウ目昆虫のうち、6 種は
米国でのトウモロコシ栽培において、9 種はワタ、ダイズ、カノーラ等、その他の作物栽
培において害虫と見なされている。上記 6 種のトウモロコシ栽培における害虫のうち、
Cry1F line 1507 の標的害虫であるヨーロッパアンコーンボローラー、フォールアーミーワ
ーム及びビートアーミーワーム(シロイチモンジヨトウ) (*Spodoptera exigua*) に対する効果
25 は高いものであったが、残り3種の害虫(サウスウエスタンコーンボローラー、ブラックカッ
トワーム及びボールワーム)に対する効果は低いものであった。一方、農業上の害虫と
はされていないオオカバマダラ (*Danaus plexippus*) についても試験を行ったが、試験
を行った最高濃度においてもオオカバマダラの死亡率は対照区と同等であった。これ
らの結果から、他の Bt 蛋白質と同様に(文献 61)、Cry1F 蛋白質の殺虫効果は特異
性が高く、一部の昆虫にのみ効果を持つことが示された。

30 チョウ目昆虫以外にも、哺乳類、鳥類、魚類、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ
目、トビムシ目昆虫等について試験を行ったが、Cry1F 蛋白質は、試験を行ったすべ
ての非標的生物に対し毒性を持たないことが確認された(文献 62)。

【PAT 蛋白質】

5 Cry1F line 1507 の作出に用いた *pat* 遺伝子は、*S. viridochromogenes* より単離された遺伝子で、除草剤グルホシネートに耐性を持つ PAT 蛋白質を発現する。

除草剤グルホシネートは非選択性の除草剤で、1 剤で幅広い雑草に対して防除効果を示す。日本、米国を始め、世界中で使用されている。除草剤グルホシネートは、グルタミン酸とアンモニアからグルタミンを合成するグルタミン合成酵素を阻害し、その結果、植物体内にアンモニアが蓄積して植物を枯死させる。PAT 蛋白質(ホスフィトリシンアセチルトランスフェラーゼ)は、除草剤グルホシネートをアセチル化し、無毒なアセチルグルホシネートに変えることで、植物体にグルホシネートに対する耐性を付与する。

15 【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】

NK603 で発現する改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、*Agrobacterium* CP4 株より単離された遺伝子で、5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) をコードしており、除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、植物中での発現量を高めるために野生型 CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更することのないように野生型 *cp4 epsps* 遺伝子の塩基配列に改変を加えたものであり、アミノ酸配列に関しては N 末端から二番目のセリンがロイシンに改変されている。なお、NK603 には、グリホサートに対する耐性を増強するため、改変 *cp4 epsps* 遺伝子カセットが 2 つ導入されている。

25 植物に除草剤グリホサートを散布すると 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) (E.C.2.5.1.19) が阻害されることにより蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯れてしまう。改変 *cp4 epsps* 遺伝子によって産生される改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸合成が正常に機能して生育することができる。

30 親系統で発現する Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質、Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質が既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかデータベース (GenBank, EMBL, PIR, PBD, SwissProt 等) を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列は共有していなかった。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

5 Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質は、いずれも *B. thuringiensis* に由来する結晶体の殺虫性蛋白質 (Bt 蛋白質) である。これらの Bt 蛋白質が殺虫活性を発揮するメカニズムについては数多くの研究がなされており (文献 63)、これまでのところ Bt 蛋白質が他の機能を有するとの報告は無い。よって、これらの Bt 蛋白質が酵素活性を持つとは考えられず、宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

10 PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートの有効成分である L 型ホスフィトリシン (L 型アミノ酸に分類) をアセチル化するが、他の L 型アミノ酸をアセチル化することはない、特に構造の類似しているグルタミン酸にも親和性はほとんどない (文献 64)。また、過剰の各種アミノ酸の存在下においても PAT 蛋白質によるグルホシネートのアセチル基転移反応は阻害されることがないことから、グルホシネートに対して極めて高い基質特異性を有することが報告されている (文献 65)。よって、その基質特異性の高さから、PAT 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

20 改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は、芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (文献 66; 文献 67)。また、EPSPS 蛋白質は基質であるホスホエノールピルビン酸塩 (PEP) とシキミ酸-3-リン酸塩 (S3P) と特異的に反応することが知られており (文献 68)、これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られているシキミ酸は、Gruys らの論文を元に計算すると、その反応性が S3P の 200 万分の一であることから、生体内で基質として反応するとは考えにくい。したがって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

30 以上のことから、植物 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である改変 CP4 EPSPS 蛋白質の植物における発現によって、植物の代謝経路に何らかの影響を及ぼす可能性は極めて低いと判断される。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

5

親系統の作出に用いられたプラスミド・ベクターは以下のとおりである。

MON89034: *E. coli* 由来のベクターpBR322 をもとに構築された PV-ZMIR245

Cry1F line 1507: *E. coli* 由来のベクターpUC19 をもとに構築された PHP8999

NK603: *E. coli* 由来のベクターpUC119 をもとに構築された PV-ZMGT32

10

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

15

親系統の作出に用いられたプラスミド・ベクターの塩基数は以下のとおりである。

MON89034: PV-ZMIR245; 17,600 bp

Cry1F line 1507: PHP8999; 9,504 bp

NK603: PV-ZMGT32; 9,308 bp

20

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

選抜マーカーとして利用された抗生物質耐性遺伝子は以下のとおりである。なお、
いずれの抗生物質耐性遺伝子も宿主には導入されていない。

25

MON89034: カナマイシンやネオマイシンなどのアミノグリコシド系抗生物質耐性を
付与する *nptII* 遺伝子及びスペクチノマイシンやストレプトマイシン耐性を
付与する *aadA* 遺伝子

Cry1F line 1507: カナマイシンやネオマイシンなどのアミノグリコシド系抗生物質耐
性を付与する *nptII* 遺伝子

30

NK603: カナマイシンやネオマイシンなどのアミノグリコシド系抗生物質耐性を
付与する *nptII* 遺伝子

③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する
情報

35

PV-ZMIR245、PHP8999 及び PV-ZMGT32 の感染性はいずれも知られていない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

5

MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 のそれぞれの作出のために宿主内に移入されたプラスミド・ベクターPV-ZMIR245、PHP8999 及び PV-ZMGT32 の構成要素はそれぞれ表 1～表 3(p10～14)に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては、それぞれ図 1～図 3(p7～9)に示した。

10

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主内への核酸の移入については以下の方法を用いて行った。

15

MON89034:アグロバクテリウム法

Cry1F line 1507:パーティクルガン法

NK603:パーティクルガン法

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

20

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

形質転換細胞の選抜は、以下を添加した培地を用いて行った。

MON89034:パロモマイシン

25

Cry1F line 1507:グルホシネート

NK603:グリホサート

② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウムの菌体の残存の有無

30

MON89034 において、培地へカルベニシリンを添加することによりアグロバクテリウムの除去を行った(文献 69)。なお、MON89034 にアグロバクテリウム菌体が残存していないことは、カルベニシリン無添加の培地に MON89034 を移した後に、その培地上でアグロバクテリウムのコロニーが形成されていないことを観察することで確認した。なお、Cry1F line 1507 及び NK603 においては、宿主への核酸の導入はパーティクルガン法により行ない、アグロバクテリウムは用いていない。

35

③ 核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認した系統、隔離ほ場試験に供した系統その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過

5 MON89034 は、再分化個体である R0 世代を他の従来トウモロコシ品種 LH172 と交配させた LH172BC0F1 世代の中から、T-DNAII 領域が分離し、T-DNAI 領域のみを持つ個体を PCR 法により選抜した。その際、T-DNAII 領域を持つ個体は廃棄した。

その後、導入遺伝子や Cry1A.105 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質の発現量の解析によりさらに選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外ほ場での実際の害虫抵抗性及び農業形質(形態・生育に関する特性、収量に関わる特性、病害虫感受性など)などから総合的に判断して MON89034 が選抜された。

15 Cry1F line 1507 は、再生させた植物体の葉の一部を採取し、PCR 法によって導入遺伝子の有無及び、ELISA 法により Cry1F 蛋白質が産生されていることの確認を行った。さらに、ヨーロッパアンコーンボーラーの幼虫に対する抵抗性の有無を検査し、抵抗性が認められた植物とそれと同系の繁殖系統を交配し、組換え体当代(T0)の種子を得た。野外ほ場におけるヨーロッパアンコーンボーラー抵抗性及び農業形質から総合的に判断し、Cry1F line 1507 を選抜した。

20 NK603 は、黄色デントコーン系の商用品種及び種々の品種と交配し、1997 年より系統選抜の評価を開始し、1997～1999 年にかけて延べ 103 ヲ所のほ場にて形態及び生育特性などについて調査を行った。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現及び導入遺伝子の分析等を行い、最終的に優良系統を選抜した。

25 以下に MON89034、Cry1F line 1507、NK603 及び本スタック系統トウモロコシのわが国における申請・認可状況を記載した(表 4, p22)。

表 4 MON89034、Cry1F line 1507、NK603 及び本スタック系統トウモロコシのわが国における申請・認可状況

	食品	飼料	環境
MON89034	2007年11月 安全性確認	2007年10月 安全性確認	2008年1月 第一種使用規程承認
Cry1F line 1507	2002年7月 安全性確認	2003年3月 安全性確認	2005年3月 第一種使用規程承認
NK603	2001年3月 安全性確認	2003年3月 安全性確認	2004年11月 第一種使用規程承認
本スタック系統 トウモロコシ	申請予定	届出予定	2009年11月 申請

【MON89034×MON88017×NK603 の育成の経過】

本スタック系統トウモロコシは、MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の自殖系統を親とする一代雑種品種である(図 4, p23)。

5

【社外秘に付き非開示】

10

図 4 MON89034×Cry1F line 1507×NK603 の育成図

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5 MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の導入遺伝子は染色体上に存在することが確認されている。

② 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

10

【MON89034】

15 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、MON89034 のトウモロコシゲノム中の1ヵ所にそれぞれの目的遺伝子が1コピー存在することが確認された。また、導入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された。

20 なお、MON89034 の導入遺伝子の塩基配列を解析した結果、*cry1A.105* 遺伝子の発現を制御する P-*e35S* の 5'末端領域とそれに隣接する右側境界領域が、相同組換えにより T-DNA II 領域内の左側境界領域と *nptII* 遺伝子の発現を制御する P-35S の 5'末端領域と置き換わっていることが明らかとなった。しかしながら、この相同組換えは蛋白質をコードする領域中では起こっておらず、最も近いオープンリーディングフレームである Cry1A.105 蛋白質のコード領域についても、Cry1A.105 蛋白質が各組織で正常に発現していることが確認されていることから、この相同組換えにより新たなオープンリーディングフレームは形成されていないと考えられた。

25

【Cry1F line 1507】

30 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、Cry1F line 1507 のトウモロコシゲノム中の1ヵ所にそれぞれの目的遺伝子が1コピー存在することが確認された。また、導入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された。

35 なお、Cry1F line 1507 へ導入された核酸の塩基配列解析を行った結果、導入された核酸の 5'末端領域に *cry1F* 遺伝子配列の一部が、5'末端及び 3'末端領域に *pat* 遺伝子配列の一部が、3'末端領域に *ORF25PolyA Terminator* 配列の一部が含まれていることが確認されたが、ノーザンブロット解析により mRNA への転写は行なわれておらず、これらの遺伝子断片は機能していないことが確認されている。

【NK603】

5 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、NK603 のゲノミック DNA 中の 1 カ所に、改変 *cp4 epsps* 遺伝子カセット①及び②からなる導入遺伝子領域が 1 コピー存在することが確認された。導入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された

また、NK603 においては、その 3' 末端近傍には *ract1* プロモーターの 217bp の断片が導入遺伝子の 3' 末端近傍に逆方向で存在していることがサザンブロット分析及び 3' 末端の塩基配列を分析することにより明らかになった。

10

なお、NK603 における導入遺伝子の 3' 末端近傍の *ract1* プロモーターの 217bp の断片に関連して、strand-specific RT-PCR を行ったところ、導入遺伝子の *ract1* プロモーター又は E35S プロモーターのいずれかから始まって NOS 3' ターミネーターをリードスルーしていると考えられる転写産物が見つかった。しかし、NK603 において改変 CP4 EPSPS 蛋白質のみが認められ、NK603 の導入遺伝子でターミネーターをリードスルーする転写産物においても、ターミネーターの上流に停止コドンが保存されているためと考えられたため、このリードスルーは安全性評価に影響を与えないと結論され、2004 年 11 月、農林水産省及び環境省より遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律に基づく第一種使用規程(食用または飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為について)の承認を受けた。

20

また、NK603 の導入遺伝子において e35S プロモーターで誘導される改変 *cp4 epsps* 遺伝子中のコード領域の 5' 末端から 456 番目及び 641 番目の塩基がそれぞれ、植物発現用プラスミド中の塩基と比較してチミン(T)からシトシン(C)に変化していた。このうち、456 番目の塩基の変化はアミノ酸の変化には結びつかないが、641 番目の塩基の変化により E35S プロモーターによって発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質において N 末端から 214 番目のアミノ酸が元の CP4 EPSPS 蛋白質ではロイシンだったが、プロリンに変わることが判明した(この蛋白質を以下、「L214P」という)。

25

L214P に関して、N 末端から 214 番目のプロリンは EPSPS 蛋白質ファミリーの活性に必須の 7 つのアミノ酸には含まれていないこと、このアミノ酸の変化は EPSPS 蛋白質の活性部位及び三次元構造に影響を及ぼさないこと、L214P 蛋白質と改変 CP4 EPSPS 蛋白質の酵素活性や免疫反応性が同等であることより、L214P 蛋白質と改変 CP4 EPSPS 蛋白質の構造と機能は同等であると考えられた。

30

L214P が既知の接触アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベースを用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列

35

を共有していなかった。

この塩基の変化は複数の世代で確認されており、安定して後代に遺伝していることが認められた。

- 5 ③ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別

MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 は全て 1 コピーなので該当しない。

- 10 ④ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

発現の安定性については以下のように確認した。

- 15 MON89034:ウエスタンブロット分析の結果、Cry1A.105 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質が複数世代で発現していることを確認した。

Cry1F line 1507:ELISA 法による蛋白質の発現確認、及びチョウ目害虫を用いた生物検定と除草剤グルホシネート散布試験を行い、Cry1F 蛋白質及び PAT 蛋白質が複数世代で発現していることを確認した。

- 20 NK603:育成の過程で除草剤グリホサート散布を行い、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が複数世代で発現していることを確認した。

- ⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度

- 25 MON89034 の作出に用いられた PV-ZMIR245 及び NK603 の作出に用いられた PV-ZMGT32Lは、自律増殖可能な宿主域が *E. coli* などのグラム陰性菌に限られており、自然条件下において野生動植物等に対する伝達性はない。また、Cry1F line 1507 に移入された核酸は、伝達を可能とする配列を含まないため伝達性はない。

- 30 (5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

- 35 MON89034 を検出及び識別するための方法としては、導入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムの DNA 配列をプライマーとして用いることにより、MON89034 を特異的に検出可能である。

Cry1F line 1507 の検出及び識別の方法として、Cry1F line 1507 に特異的な塩基配列をプライマーとして用いた、RT (Real Time)-PCR 法による定量キットが、GeneScan Europe 社(ドイツ、フライブルグ)によって販売されている(カタログ番号:512 12023 10)。さらに、Cry1F 蛋白質及び PAT 蛋白質に対するポリクローナル抗体を用いた ELISA 5 法が開発されている。Cry1F 蛋白質の検出用キットは、Strategic Diagnostics 社(米国デラウェア州、ニューワーク)によって販売されている(カタログ番号:7000018)。また、PAT 蛋白質の検出用キットは、EnviroLogix 社(米国メイン州、ポートランド)によって販売されている(カタログ番号:AP 014)。

10 NK603 を検出及び識別するための方法としては、導入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムの DNA 配列をプライマーとして用いることにより特異的に検出可能である。

本スタック系統トウモロコシを検出及び識別するためには、上記の方法をトウモロコシの種子一粒ごとに行う必要がある。

15

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

① 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容

20

本スタック系統トウモロコシには各親系統に由来する以下の特性が付与されている。

MON89034: 導入遺伝子に由来する Cry1A.105 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性

25 Cry1F line 1507: 導入遺伝子に由来する Cry1F 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性及び PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性

NK603: 導入遺伝子に由来する改変 CP4 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性

30 それぞれの親系統で発現する Bt 蛋白質(Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質、Cry1F 蛋白質)は、*B. thuringiensis* に由来する結晶体の殺虫性蛋白質である。感受性昆虫の中腸内で Bt 蛋白質は限定分解されコア蛋白質となる。コア蛋白質は中腸上皮細胞膜上の特異的受容体と結合することにより中腸上皮細胞膜に陽イオン選択的小孔を形成し、その結果として中腸上皮細胞が破壊され、感受性昆虫は消化プロセスを阻害されて死に至る(文献 46; 文献 48)。Bt 蛋白質が殺虫活性を発揮するメカニズムについては数多くの研究がなされており(文献 63)、これまでのところ Bt 蛋白質

35

が他の機能を有するとの報告は無い。よって、Bt 蛋白質が酵素活性を持つとは考えられない。また、Bt 蛋白質である Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質は、ヨーロッパアンコーンボラーやフォールアーミーワーム等のチョウ目昆虫の中腸上皮細胞膜上の特異的受容体と結合し、殺虫活性を示すことから、チョウ目昆虫
5 に選択的な殺虫スペクトルを持つ。これまでに、同じ目に分類される昆虫に対して活性を持つ Bt 蛋白質同士を組み合わせることにより、その殺虫スペクトルが他の目に広がったという事例は Bt 製剤を含めても報告されていない。このことから、本スタック系統トウモロコシにおいても殺虫スペクトルは広がることはないと考えられる。

また、Cry1F line 1507 中で発現する PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートに対して極めて高い基質特異性を有することが報告されている(文献 65)。
10

さらに、NK603 で発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質は基質特異性が高いこと、また、シキミ酸合成経路の律速酵素ではないために EPSPS 活性が増大しても本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられる(文献 66 ; 文献 67)。
15

以上のことから、本スタック系統トウモロコシにおいて発現する Bt 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、それぞれ異なる作用機作をもち、独立して作用していると考えられる。

また、本スタック系統トウモロコシにおいて発現する Bt 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、それぞれ酵素活性を持たない、あるいは高い基質特異性を有することから植物代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられる。よって、本スタック系統トウモロコシにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が植物代謝経路に新たな影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。
20

以上のことから、本スタック系統トウモロコシにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が相互作用を示す可能性は低いと考えられた。
25

実際に、各親系統由来の発現蛋白質が相互作用を示していないことを確認するため、米国モンサント・カンパニーにおいて 2007 年に本スタック系統トウモロコシを供試して以下のとおりチョウ目害虫を用いた害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及び除草剤グリホサートを用いた除草剤耐性の生物検定を行った。
30

【チョウ目害虫を用いた生物検定】

チョウ目害虫抵抗性については、本スタック系統トウモロコシ、MON89034、Cry1F line 1507 及び非組換えトウモロコシ(XE6001)を各 12 個体ずつポット栽培し(3 個体/
35

区×2 反復×2 試験)、5~6 葉期にトウモロコシの代表的なチョウ目害虫であるフォールアーマーワーム (FAW, *Spodoptera frugiperda*) の 1 齢幼虫を接種した (25 頭/個体)。フォールアーマーワーム接種後、9 日目に Leaf Damage Ratings (LDR; 葉部食害程度) を 0 (食害無) ~ 9 (食害甚) の 10 段階で調査した (文献 70) (表 5, p29)。分散の不均一性のため統計処理を行う前にデータをランク変換し、変換されたデータについて統計処理を行った。

統計処理の結果、本スタック系統トウモロコシと MON89034 及び Cry1F line 1507 の間で葉部食害程度に統計学的有意差は認められなかった (t-検定、 $\alpha=0.05$) (表 6, p30)。

10

表 5 本スタック系統トウモロコシの生物検定におけるチョウ目害虫フォールアーマーワーム (fall armyworm (FAW); *S. frugiperda*) による葉部食害程度¹ 調査結果 (n=4)⁸

供試サンプル	葉部食害程度 (LDR) ± 標準誤差
本スタック系統トウモロコシ	1.08 ± 0.08
MON89034	1.08 ± 0.08
Cry1F line 1507	1.42 ± 0.16
非組換えトウモロコシ	7.25 ± 0.25

¹0: 食害なし。

15

1: 展開途上の葉に針先程度の食痕が見られる。

2: 展開途上の葉に針先程度及び小さい円状の食痕が見られる。

3: 展開途上及び展開した葉に針先程度、小さい円状及び 1/2 インチ以下の小さく伸展した食痕が見られる。

20

4: 展開途上の葉に小さく伸展した食痕が見られ、展開途上あるいは展開した葉に 2,3 の 1/2-1 インチの中程度の伸展した食痕が見られる。

5: 展開途上及び展開した葉に小さく伸展した食痕及び複数の中程度の伸展した食痕が見られる。

6: 展開途上あるいは展開した葉に小さく伸展した食痕及び 1 インチ以上の中程度の伸展した食痕が見られる。

25

7: 展開途上の葉に多数の小さく伸展した食痕及び中程度の伸展した食痕が見られ、展開した葉に複数の大きく伸展した食痕が見られる。

8: 展開途上の葉に多数の小さく伸展した食痕及び中程度の伸展した食痕が見られ、展開した葉に多数の大きく伸展した食痕が見られる。

30

9: 展開途上及び展開した葉に多数の様々な大きさの食痕が見られ、展開途上あるいは展開した葉の根元が食害されている。

⁸ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社及び日本モンサント株式会社に帰属する

表 6 チョウ目害虫フォールアーマーワームによる葉部食害程度における本スタック系統トウモロコシと MON89034 及び Cry1F line 1507 の統計処理結果⁹

比較した系統	P-値
本スタック系統トウモロコシ 対 MON89034	1.0000
本スタック系統トウモロコシ 対 Cry1F line 1507	0.0628
本スタック系統トウモロコシ 対 非組換えトウモロコシ	<0.0001

5 【除草剤グルホシネートを用いた生物検定】

除草剤グルホシネート耐性については、本スタック系統トウモロコシ、Cry1F line 1507 及び非組換えトウモロコシ(XE6001)を各 5 個体ずつ温室にてポット栽培し(1 個体/区×5 反復)、4~5 葉期に除草剤グルホシネート(製品名: Liberty)を散布してから 10 日後に除草剤による植物体の傷害程度を0(傷害は認められない)~10(ほぼ全体が傷害により枯死している)の11段階で調査した。なお、有効成分(グルホシネート)としては0.54kg active ingredient (a.i.) /haは通常の散布量、17.0 kg a.i./haは通常の32倍の散布量である。表7 (p30)において傷害程度を平均値±標準誤差で示した。

統計処理の結果、本スタック系統トウモロコシと Cry1F line 1507 との間で除草剤による傷害の程度に統計学的な有意差は認められなかった(t-検定、 $\alpha=0.05$) (表 8, p31)。

表 7 本スタック系統トウモロコシの除草剤グルホシネート散布による傷害程度調査結果(除草剤による植物体の傷害程度¹の平均値±標準誤差)(n=5)⁹

供試サンプル	散布量	
	0.54kg a.i./ha ²	17.0 kg a.i./ha ³
本スタック系統トウモロコシ	0.2 ± 0.2	1.8 ± 0.2
Cry1F line 1507	0.0 ± 0.0	1.6 ± 0.2
非組換えトウモロコシ	8.0 ± 0.3	8.0 ± 0.5

¹ 0: 傷害なし、1~9: 葉面積の約 10~90%が白化、黄化及び/あるいは壊死している、10: 葉面積の100%が傷害を受け枯死している。

² 通常の散布量

³ 通常の32倍の散布量

⁹ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社及び日本モンサント株式会社に帰属する

表 8 除草剤グリホシネート散布による傷害程度における本スタック系統トウモロコシと Cry1F line 1507 の統計処理結果¹⁰

比較した系統	P-値	
	0.54kg a.i./ha 散布 ¹	17.0 kg a.i./ha 散布 ²
本スタック系統トウモロコシ 対 Cry1F line 1507	0.5466	0.6063
本スタック系統トウモロコシ 対 非組換えトウモロコシ	<0.0001	<0.0001

¹ 通常の散布量

² 通常の 32 倍の散布量

5

【除草剤グリホサートを用いた生物検定】

除草剤グリホサート耐性については、本スタック系統トウモロコシ、NK603 及び非組換えトウモロコシ(XE6001)を各 5 個体ずつ温室にてポット栽培し(1 個体/区×5 反復)、4~5 葉期に除草剤グリホサート(製品名: Roundup WeatherMAX)を散布してから 10 日後に除草剤による植物体の傷害程度を 0(傷害は認められない)~10(ほぼ全体が傷害により枯死している)の 11 段階で調査した。なお、有効成分(遊離酸)としては 0.84kg acid equivalent (a.e.)/ha は通常の散布量、27.0 kg a.e./ha は通常の 32 倍の散布量である。表 9(p31)において傷害程度を平均値±標準誤差で示した。

10

15

統計処理の結果、通常の散布量において本スタック系統トウモロコシと NK603 との間で除草剤による傷害の程度に統計学的な有意差は認められなかった(t-検定、 $\alpha=0.05$) (表 10, p32)。

表 9 本スタック系統トウモロコシの除草剤グリホサート散布による傷害程度調査結果(除草剤による植物体の傷害程度¹の平均値±標準誤差)(n=5)¹⁰

20

供試サンプル	散布量	
	0.84kg a.e./ha ²	27.0 kg a.e./ha ³
本スタック系統トウモロコシ	0.4 ± 0.2	1.8 ± 0.4
NK603	0.4 ± 0.2	1.6 ± 0.2
非組換えトウモロコシ	9.4 ± 0.4	10.0 ± 0.0

¹ 0: 傷害なし、1~9: 葉面積の約 10~90%が白化、黄化及び/あるいは壊死している、10: 葉面積の 100%が傷害を受け枯死している。

² 通常の散布量

³ 通常の 32 倍の散布量

25

¹⁰ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社及び日本モンサント株式会社に帰属する

表 10 除草剤グリホサート散布による傷害程度における本スタック系統トウモロコシと NK603 の統計処理結果¹¹

比較した系統	P-値	
	0.84kg a.e./ha 散布 ¹	27.0 kg a.e./ha 散布 ²
本スタック系統トウモロコシ 対 NK603	1.0000	0.5034
本スタック系統トウモロコシ 対 非組換えトウモロコシ	<0.0001	<0.0001

¹ 通常の散布量

² 通常の 32 倍の散布量

5

以上のことから、それぞれの親系統で発現する蛋白質間で相互作用はなく、導入した遺伝子によって新たに獲得されたそれぞれの性質は、本スタック系統トウモロコシにおいて変化していないと結論された。

10 したがって、本スタック系統トウモロコシと宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシとの生理学的又は生態学的特性の相違については、親系統である MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 を個別に調査した結果に基づき評価した。

15 ② 以下に掲げる生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度¹²

a 形態及び生育の特性

20

MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 とそれぞれの対照の非組換えトウモロコシとの間で、以下の表 11 (p34) に示した項目について調査を行った。

その結果、MON89034 の雌穂径及び一穂着粒数、Cry1F line 1507 の発芽率及び雌穂径並びに NK603 の百粒重において統計学的有意差が認められた。しかし、

25 MON89034 の雌穂径及び一穂着粒数の平均値は、従来トウモロコシの変動の範

¹¹ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社及び日本モンサント株式会社に帰属する

¹² 本項目中の以下に続く a~g に記載された MON89034 及び NK603 の情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に、Cry1F line 1507 の情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社に帰属する

圃内であった。また、Cry1F line 1507の発芽率及び雌穂径並びにNK603の百粒重において統計学的有意差が認められたのは、供試した2種類のハイブリッド品種のうち1品種であった(別添資料1の表2, p8; 別添資料2の第2表～第11表, p5～9; 別添資料3の表3-2, p17)。

5

b 生育初期における低温又は高温耐性

MON89034、Cry1F line 1507及びNK603は、対照の非組換えトウモロコシと同様に、生育初期における低温処理によって萎縮もしくは枯死した(別添資料1の図6-2, p14; 10 別添資料2の写真6, p13; 別添資料3の表3-4, p24)。

c 成体の越冬性又は越夏性

トウモロコシは夏型一年生植物であり、結実後、冬季には通常自然に枯死する。再 15 成長して栄養繁殖したり、種子を生産することはない。

実際に、MON89034において隔離ほ場の終了時には植物体が枯死していることを確認した(別添資料1の図7, p15)。

実際に、Cry1F line 1507において米国における栽培試験に用いたほ場を翌年に観察したところ、残存している植物体はないことが確認されている。

20 実際に、NK603において隔離ほ場試験の終了時には結実後の枯死が始まっていることを確認した。

d 花粉の稔性及びサイズ

25 MON89034、Cry1F line 1507及びNK603は、対照の非組換えトウモロコシと同様に高い花粉稔性を示しており、花粉の形態や大きさにも相違はないことが確認されている(別添資料1の図8-1及び図8-2, p19; 別添資料2の写真4及び写真5, p10～12; 別添資料3の表3-3及び写真, p21～22)。

表 11 MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の形態及び生育の特性調査の結果

	MON89034	Cry1F line 1507	NK603
発芽揃い	○	○	○
発芽株数	○	—	—
発芽率	○	○*	○
雄穂抽出期	○	○	○
絹糸抽出期	○	○	○
開花時期	○	—	—
開花始期	—	○	—
開花終期	—	○	—
開花期間	—	○	—
花器の形状	—	—	—
稈長	○	○	○
稈径	○	—	—
草型(草姿)	○	○	○
分けつ数	○	○	○
着雌穂高	○	○	○
成熟期	○	○	○
雌穂数(雌穂総数)	○	○	○
有効雌穂数	○	○	○
一穂着粒数	○*	—	—
粒列数	○	○	○
一列粒数	○	○	○
百粒重	○	○	○*
収穫期の地上部重(植物重) (収穫時の地上部生体重)	○	○	○
雌穂長	○	○	○
雌穂径	○*	○*	○
粒色	○	○	○
粒形	○	○	○

○：調査を行っている。

—：調査を行っていない。

* 統計学的有意差が認められた。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

5 種子の生産量について、MON89034、Cry1F line 1507 及びNK603とそれぞれの対
照の非組換えトウモロコシとの間で、種子の生産量にかかわる諸形質を比較した結果、
MON89034 の雌穂径及び一穂着粒数、Cry1F line 1507 の雌穂径、並びにNK603 の
百粒重において統計学的有意差が認められた。しかし、MON89034 の雌穂径及び一
穂着粒数の平均値は、従来トウモロコシの変動の範囲内であった。また、Cry1F line
10 1507 の雌穂径において統計学的有意差が認められたのは、供試した 2 種類のハイ
ブリッド品種のうち 1 種類であった。(別添資料 1 の表 6, p20; 別添資料 2 の第 6 表～
第 10 表, p8～9; 別添資料 3 の表 3-2, p17)。

15 脱粒性について、MON89034、Cry1F line 1507、NK603 及びそれぞれの対照の非
組換えトウモロコシはいずれも、収穫時の雌穂は苞皮に覆われており、自然条件下で
の脱粒性は観察されなかった。

20 MON89034、Cry1F line 1507 及びNK603 とそれぞれの対照の非組換えトウモ
ロコシの発芽率の調査を行った結果、差異はなく、種子の休眠性は認められな
かった(別添資料 1 の表 3 及び表 4, p16; 別添資料 2 の第 2 表及び第 13 表, p5 及
び 12; 別添資料 3 の表 3-4, p24)。

f 交雑率

25 日本には交雑可能な近縁野生種は生育していないため、親系統であるMON89034、
Cry1F line 1507 及びNK603 の交雑率の試験は行わなかった。

g 有害物質の産生性

30 トウモロコシについては、周辺の植物や土壌微生物に影響を与えるような有害物質
を根から分泌することは知られていない。また、枯死した後に他の植物に影響を与える
ような他感物質が産生されることも知られていない。

35 MON89034、Cry1F line 1507 及びNK603 について、後作試験、土壌微生物相試
験及び鋤込み試験を行った結果、Cry1F line 1507 の後作試験及び鋤込み試験にお
けるレタスの生体重に統計学的有意差が認められた。しかし、統計学的有意差が認め
られたのは供試した 2 種類のハイブリッド品種のうち 1 品種のみであった(別添資料 1

の表 7、表 8 及び表 9, p23; 別添資料 2 の第 14-1 表～第 14-4 表及び第 15 表～第 16 表, p16 及び 18; 別添資料 3 の表 3-5～表 3-7, p26～p28)。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

5

(1) 使用等の内容

食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

10

(2) 使用等の方法

—

15

(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

—

20

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

25

(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

—

30

(6) 国外における使用等に関する情報

MON89034、Cry1F line 1507、NK603 及び本スタック系統トウモロコシの諸外国における申請・認可状況は以下の表 12 (p37) に示したとおりである。

表 12 MON89034、Cry1F line 1507、NK603 及び本スタック系統トウモロコシの
諸外国における申請・認可状況

	FDA	USDA	Health Canada	CFIA
MON89034	2007年8月 安全性確認	2008年7月 安全性確認	2008年5月 安全性確認	2008年6月 安全性確認
Cry1F line 1507	2001年5月 安全性確認	2001年6月 安全性確認	2002年10月 安全性確認	2002年10月 安全性確認
NK603	2000年10月 安全性確認	2000年8月 安全性確認	2001年2月 安全性確認	2001年3月 安全性確認
本スタック系統 トウモロコシ	—	—	—	通知予定

FDA: 米国食品医薬品局

5 USDA: 米国農務省

Health Canada: カナダ厚生省

CFIA: カナダ食品検査局

10 また、MON89034、Cry1F line 1507、NK603 及び本スタック系統トウモロコシのわが
国における申請・認可状況は表 4 (p22) に記載した。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価¹³

本スタック系統トウモロコシは MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の自殖系統から、交雑育種法により作出した。

5

第一-2-(6)-①(p27～p32)で述べたとおり、Bt 蛋白質(Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質)、PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質はそれぞれ異なる作用機作を有していることから、独立して作用していると考えられる。また、これらの蛋白質は、それぞれ酵素活性を持たないかあるいは高い基質特異性を有することから植物代謝経路に影響を及ぼすことはないと考えられる。よって、本スタック系統トウモロコシにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が植物代謝経路に新たな影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

10

実際に生物検定を行った結果、本スタック系統トウモロコシのチョウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート耐性及び除草剤グリホサート耐性はそれぞれの親系統と同程度であることから、各親系統由来の発現蛋白質が本スタック系統トウモロコシの植物体内において相互に影響する可能性は低く、親系統が有する形質を併せ持つ以外に評価すべき形質の変化はないと考えられる。

15

したがって、本スタック系統トウモロコシの生物多様性影響の評価は、MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。

20

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

トウモロコシは 1579 年にわが国に導入されて以来、長期間の使用経験があり、これまでトウモロコシが自然条件下で自生した例は報告されていない。

25

本スタック系統トウモロコシの親系統である MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の競合における優位性に関わる諸形質として、形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率について調査を行った。その結果、MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 において項目の一部で対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められた。これらの項目は、従来のトウモロコシにおける変

30

¹³ 本項目中で第一-2-(6)-②の a~g に記載された MON89034 及び NK603 の試験結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社、Cry1F line 1507 の試験結果に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社に帰属する

動の範囲内であるか、あるいは供試した 2 種類のハイブリッド品種のうち 1 品種でしか統計学的有意差が認められず、これらの差異のみで競合における優位性が高まるとは考えにくい。したがって、これらの差異は競合における優位性を高めるほどの影響を及ぼすような差異ではないと判断された。

5 本スタック系統トウモロコシには、MON89034 中で発現する Cry1A.105 蛋白質及び
改変 Cry2Ab2 蛋白質と Cry1F line 1507 中で発現する Cry1F 蛋白質によるチョウ目害
虫抵抗性の形質が付与されているが、これらの害虫による食害はトウモロコシがわが
国の自然条件下において生育することを困難にさせる主な要因ではないことから、こ
10 れらの形質の付与が栽培作物であるトウモロコシを自然条件下で自生させ、さらに競
合における優位性を高めるとは考えにくい。また、本スタック系統トウモロコシは PAT
蛋白質の発現による除草剤グルホシネート耐性及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現
による除草剤グリホサート耐性を有するが、グルホシネート及びグリホサートを散布され
ることが想定しにくい自然条件下においてグルホシネート及びグリホサート耐性である
ことが競合における優位性を高めるとは考えられない。

15

以上のことから、本スタック系統トウモロコシに関して、競合における優位性に起因
する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

20

—

(3) 影響の生じやすさの評価

25

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

30 以上のことから、本スタック系統トウモロコシは、競合における優位性に起因する生
物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

35

トウモロコシにおいて有害物質の産生性は報告されておらず、また、わが国に導入

された 1579 年以来、長期間の使用経験がある。

本スタック系統トウモロコシで発現している Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質、Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質は既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことが確認されている。MON89034 及び Cry1F line 5 1507 で発現している Bt 蛋白質については、酵素活性を持たないと考えられ、宿主の代謝系から独立して機能しているため宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することは無いと考えられた。また、Cry1F line 1507 で発現している PAT 蛋白質については、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートに対して極めて高い基質 10 特異性を有していること、植物の生長に悪影響を及ぼさないこと、及び動物に対して毒性を持たないことが報告されている。したがって、PAT 蛋白質が原因で、Cry1F line 1507 中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。さらに、NK603 で発現している改変 CP4 EPSPS 蛋白質については、芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、15 EPSPS 活性が増大しても本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている(文献 66; 文献 67)。また、EPSPS 蛋白質は基質であるホスホエノールピルビン酸塩 (PEP) とシキミ酸-3-リン酸塩 (S3P) と特異的に反応することが知られており(文献 68)、これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られているシキミ酸は、Gruys らの論文を元に計算すると、その反応性が S3P の 200 万分の一である 20 ことから、生体内で基質として反応するとは考えられない。したがって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、NK603 中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

実際に、MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 において、後作試験、土壤微生物相試験及び鋤込み試験を行った結果、いずれの試験においてもこれら親系統の有害物質の産生性が高まっていることを示唆するような差異は認められなかった。よって、本スタック系統トウモロコシにおいても意図しない有害物質の産生はないと考えられる。 25

以上のことから、本スタック系統トウモロコシにおいて、野生動植物等に影響を及ぼす可能性のある非意図的な有害物質は産生されないと判断された。そこで、以下に本組換えスタック系統トウモロコシで発現しているチョウ目昆虫に対して殺虫活性を持つ Bt 蛋白質が、わが国の野生動植物等に影響を及ぼす可能性について検討を行った。 30

MON89034 で発現する Cry1A.105 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質、並びに Cry1F line 1507 で発現する Cry1F 蛋白質はチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。

実際に、Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質を用いて生物検定を行ったところ、いずれの蛋白質もトウモロコシの主要チョウ目害虫に対して殺 35

虫活性を示したが、それ以外の昆虫種に対しては殺虫活性を持たないことが確認されている。このことから、何らかの影響を受ける可能性のある野生動植物として、わが国に生息するチョウ目昆虫が考えられた。

- 5 MON89034 及び Cry1F line 1507 をわが国で栽培した場合、わが国に生息するチョウ目昆虫が MON89034 及び Cry1F line 1507 に暴露される経路としては、生育している MON89034 及び Cry1F line 1507 を直接食餌する、もしくは MON89034 及び Cry1F line 1507 から飛散した花粉を食餌する場合が考えられた。

- 特に MON89034 及び Cry1F line 1507 から飛散した花粉を食餌する場合については、MON89034 の花粉中で発現する Cry1A.105 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質並びに Cry1F line 1507 の花粉中で発現する Cry1F 蛋白質によりチョウ目昆虫に何らかの影響を与える可能性は否定できない。

- そこで、「改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物—レッドデータブック—5 昆虫類(2006)」を用いて、MON89034 及び Cry1F line 1507 をわが国で栽培した場合に影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧及び準絶滅危惧に区分されているチョウ目昆虫のうち、1) 幼虫の活動期(摂食期)とトウモロコシの開花期(5月下旬から9月上旬)の関係、2) 幼虫の食餌植物の生育地域とトウモロコシの栽培地域から判断した幼虫の食餌植物がトウモロコシの花粉と接触する可能性、の2点から絞込みを行った結果、以下の12種が特定された。

絶滅危惧 I 類: タイワンツバメシジミ、シルビアシジミ、ウスイロヒョウモンモドキ、ヒョウモンモドキ、ミツモンケンモン

- 25 絶滅危惧 II 類: ヒメシロチョウ、ツマグロキチョウ、ミヤマシジミ、コヒョウモンモドキ、ヒメヒカゲ、ウラナミジャノメ

準絶滅危惧: ヒョウモンチョウ

- 30 本スタック系統トウモロコシは Bt 蛋白質である Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質を発現することから、影響を受ける可能性のある野生動植物等としては親系統である MON89034 及び Cry1F line 1507 の生物多様性影響評価で特定された種と同じであると考えられる。

よって、本スタック系統トウモロコシの花粉の飛散により何らかの影響を受ける可能性がある種としては、MON89034 及び Cry1F line 1507 で特定されたチョウ目昆虫 12 種が挙げられた。

35

(2) 影響の具体的内容の評価

MON89034 の花粉中では、Cry1A105 蛋白質と改変 Cry2Ab2 蛋白質が、それぞれ 3.5 μ g/g fwt と 0.12 μ g/g fwt で発現していることがすでに確認されている。

5

Cry1F 蛋白質を産生する Cry1F line 1507 を用いた我が国での隔離ほ場試験において、その花粉を用いてヤマトシジミ (*Zizeeria maha argia*) を供試し、生物検定を行った。Cry1F line 1507 の花粉と非組換えトウモロコシの花粉をヤマトシジミ 1 齢幼虫に摂食させて生存率を比較したところ、100 粒/cm² の花粉密度において、5 日後に死亡率 10 50% を超えることが確認された。また、16 種類のチョウ目昆虫に混餌投与して生物検定を行ったところ、Cry1F 蛋白質はヨーロッパアンコーンボラー、フォールアーミーワーム、ビートアーミーワームなど一部の農業上の害虫にのみ殺虫活性を示し、Cry1F 蛋白質の特異性の高さが確認された。

15 ポット試験による生物検定の結果から、本スタック系統トウモロコシのフォールアーミーワームに対する抵抗性は MON89034 及び Cry1F line 1507 と同程度であることが確認された(表 5 及び表 6, p29 及び p30)。よって、チョウ目昆虫が本スタック系統トウモロコシから飛散した花粉を食餌した場合に影響を受ける可能性は、親系統である MON89034 及び Cry1F line 1507 と同程度であると考えられる。

20

(3) 影響の生じやすさの評価

本スタック系統トウモロコシから飛散した花粉を特定された 12 種のチョウ目昆虫が食餌する可能性について、トウモロコシほ場からの距離と周りに生育する植物の葉に実際に堆積する花粉量を調査することにより推定した。

25

わが国においてはヒマワリ (*Helianthus annuus*) とイヌホオズキ (*Solanum nigrum*) の葉を用いて、トウモロコシ畑周辺での花粉の堆積密度の調査が行われている(文献 71)。調査の結果、トウモロコシ畑の縁(0m)での最大花粉堆積密度はヒマワリの葉で 81.7 粒/cm²、イヌホオズキの葉では 71.1 粒/cm² であった。しかし、畑から 5m 離れると花粉の最大堆積密度は、それぞれ 19.6 粒/cm² と 22.2 粒/cm² に減少していた。さらに、ヒマワリについては 5m 以降も調査されているが、10m 離れると花粉堆積密度は全て 10 粒/cm² 以内であった。

30

また、北米でも全 7 ヶ所のトウモロコシ畑周辺で、延べ 1,700 本以上のトウワタ (*Asclepias syriaca*) を用いて花粉堆積密度の調査が行われている(文献 72)。調査の結果、トウモロコシ畑から 1m、2m、4-5m 離れるにつれて、花粉の平均堆積密度は 35 35.4 粒/cm²、14.2 粒/cm²、そして 8.1 粒/cm² へと減少していくことが明らかとなっている。

35

さらに、(文献 73)も、カナダのトウモロコシ畑周辺のトウワタの葉上における花粉堆積密度を調査しており、ほ場の縁から 1m 及び 5m 離れた地点での平均堆積密度は、それぞれ平均 28 粒/cm² 及び 1.4 粒/cm² であったと報告している。

5 このように、わが国で行われたトウモロコシ畑周辺での花粉堆積密度に関する調査結果と同様の結果が、北米で大規模に行われた調査からも得られていることが明らかとなった。よって、これらの調査結果から本スタック系統トウモロコシから飛散した花粉を特定された 12 種のチョウ目昆虫がある程度まとまって食餌する可能性は、トウモロコシ畑から 10m 以上離れると極めて低く、50m 以上離れるとほとんど無視できると結論された。また、本来自然生態系に生息している非標的チョウ目昆虫種が本スタック系統トウモロコシから半径 50m の範囲に局所的に生息しているとは考えにくく、個体群レベルで本スタック系統トウモロコシから飛散する花粉による影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

15 したがって、特定された 12 種のチョウ目昆虫が MON89034 由来の Cry1A.105 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質並びに Cry1F line 1507 由来の Cry1F 蛋白質に曝露されることにより、個体群レベルで影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。よって、本スタック系統トウモロコシに起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと結論された。

20 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本スタック系統トウモロコシは、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

25

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

30 トウモロコシの近縁種は *Tripsacum* 属と *Zea* 属に分類されるテオシントであるが、トウモロコシと自然交雑可能なのはテオシントのみである。わが国では、テオシント及び *Tripsacum* 属の野生種は報告されておらず、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

35 (2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

5

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本スタックシステムトウモロコシは交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

10

4 その他の性質

—

第三 生物多様性影響の総合的評価

本スタック系統トウモロコシは MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の自殖系統から、交雑育種法により作出され、MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の特性を併せ持つ。第一-2-(6)-①(p27～32) で述べたとおり、本スタック系統トウモロコシにおける Bt 蛋白質 (Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質及び Cry1F 蛋白質)、PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質が相互に作用することは考えにくい。したがって、本スタック系統トウモロコシの生物多様性影響の評価は、MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。

10

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシは、わが国において長期間の使用経験がある。本スタック系統トウモロコシの親である MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 について、競合における優位性に関わる諸形質を比較検討した結果、第一-2-(6)-②-a～e(p32～35) で述べた項目の一部において対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められた。しかし、これらの差異は質的及び量的に競合における優位性を高めるほどの差異ではないと判断されている。

15

本スタック系統トウモロコシは、MON89034 由来の Cry1A.105 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質と Cry1F line 1507 由来の Cry1F 蛋白質の発現によるチョウ目害虫抵抗性、並びに Cry1F line 1507 由来の PAT 蛋白質の発現による除草剤グルホシネート耐性及び NK603 由来の改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現による除草剤グリホサート耐性が付与されている。しかし、チョウ目害虫による食害は、トウモロコシがわが国の自然条件下において生育することを困難にさせる主な要因ではないことから、チョウ目害虫抵抗性の形質の付与が栽培作物であるトウモロコシを自然条件下で自生させ、さらに競合における優位性を高めるとは考えにくい。また、グルホシネート及びグリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下において、これらの除草剤に耐性を有することが競合における優位性を高めるとは考えられない。

20

25

以上のことから、本スタック系統トウモロコシ並びに MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のものは競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

30

トウモロコシにおいて有害物質の産生性は報告されておらず、また、わが国に導入された 1579 年以来、長期間の使用経験がある。

本スタック系統トウモロコシで発現している Cry1A.105 蛋白質、改変 Cry2Ab2 蛋白質、Cry1F 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質は既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有さないことが確認されている。また、Bt 蛋白質は酵素活性

35

を持たず、宿主の代謝系から独立して機能していると考えられること、及び PAT 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質については基質特異性が高いことなどから、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することは無いと考えられた。実際に MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 における有害物質の産生性については、後作試験、土壌微生物相試験及び鋤込み試験により調査している。その結果、第一-2-(6)-②-**g**(p35)で述べた項目の一部において対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差が認められたが、いずれの親系統トウモロコシにおいても有害物質の産生性が高まっていることを示唆するものではなかった。

一方、MON89034 中で発現する Cry1A.105 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質、並びに Cry1F line 1507 中で発現する Cry1F 蛋白質により影響を受ける可能性のある野生動植物として、チョウ目昆虫を特定して検討を行った。

しかし、本来自然生態系に生息している非標的チョウ目昆虫種が本スタック系統トウモロコシの栽培ほ場やその周辺に局所的に生息しているとは考えにくく、特定されたチョウ目昆虫が本スタック系統トウモロコシで発現している蛋白質に曝露されることにより、個体群レベルで影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

以上のことから、本スタック系統トウモロコシ並びに MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のものは有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

わが国ではトウモロコシの近縁種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の野生種は報告されておらず、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

よって、総合的評価として、本スタック系統トウモロコシ並びに MON89034、Cry1F line 1507 及び NK603 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のものを第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

引用文献

【社外秘に付き非開示】

緊急措置計画書

平成21年11月24日

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 フィリップ・ファイル
住所 東京都品川区東品川2丁目2番24号

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根 精一郎
住所 東京都中央区銀座4丁目10番10号

ダウ・ケミカル日本株式会社及び日本モンサント株式会社(以下「両社」という。)は、第一種使用規程の承認を申請しているチョウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ(*cry1A.105*, 改変 *cry2Ab2*, *cry1F*, *pat*, 改変 *cp4 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MON89034×*B.t. Cry1F maize line 1507*×NK603, OECD UI: MON-89034-3×DAS-01507-1×MON-00603-6) (以下「本スタック系統トウモロコシ」という。)及び MON89034, *B.t. Cry1F maize line 1507* 及び NK603 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のもの第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると、科学的根拠に基づき立証された場合、以下の措置を執ることとする。

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者

ダウ・ケミカル日本株式会社

平成21年11月現在

社内委員	
	ダウ・ケミカル日本株式会社 代表取締役 東京都品川区東品川2丁目2番24号 (電話番号 03-5460-2300)
*	ダウ・ケミカル日本株式会社 ダウ・アグロサイエンス事業部門研究開発本部
	ダウ・ケミカル日本株式会社 広報部
	ダウ・ケミカル日本株式会社 ダウ・アグロサイエンス事業部門業務部

日本モンサント株式会社

平成21年11月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目10番10号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 河内研究農場 農場長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

*：管理責任者

2 第一種使用等の状況の把握の方法

両社は、ダウ・アグロサイエンス社及びモンサント・カンパニーと連絡をとり、種子、穀物生産、収穫物の状況に関し、種子製造、種子供給、販売、穀物取扱業者など使用の可能性のある関係各者から可能な限り情報収集を行い、管理責任者の下、両社間で密に情報の共有を図る。

3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法

両社はお互いに情報の共有等密に連携を取り合い、ダウ・アグロサイエンス社及びモンサント・カンパニーと連絡をとり、生産農家や穀物取扱業者などの取引ルートへ本スタック系統トウモロコシ及び当該トウモロコシの親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のものの適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するための具体的な措置の内容

生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合、両社はお互いに情報の共有等密に連携を取り合い、ダウ・アグロサイエンス社及びモンサント・カンパニーの協力のもと、本スタック系統トウモロコシ及び当該トウモロコシの親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のものが環境中に放出されないように必要かつ適切な措置をとるとともに、環境中に放出された本スタック系統トウモロコシ及び当該トウモロコシの親系統それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のものは、環境中で生存しないように不活化する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

両社はお互いに情報の共有等密に連携を取り合い、信憑性のある証拠及びデータにより生物多様性影響が生ずるおそれが示唆された場合、直ちに農林水産省や環境省に報告する。