

【正誤表】塩基配列情報の更新による生物多様性影響評価書における変更箇所（下線赤字部分）

平成28年5月26日

変更する項目	変更前	変更後
第 1.2.(4).口 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	挿入遺伝子が染色体上の1ヶ所に存在し、移入された除草剤耐性遺伝子カセット (Act promoter+intron/OTP /mEPSPS/NOS)断片に由来する <u>6</u> つの連続的領域から成ること、また、これらが複数世代において安定して伝達されることが確認されている。	挿入遺伝子が染色体上の 1ヶ所に存在し、移入された除草剤耐性遺伝子カセット (Act promoter+intron /OTP /mEPSPS/NOS)断片に由来する <u>5</u> つの連続的領域から成ること、また、これらが複数世代において安定して伝達されることが確認されている。

**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
 (改変 *cry1Ab*, *pat*, *mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (Bt11 × GA21,
 OECD UI : SYN-BT011-1 × MON-00021-9) の生物多様性影響評価書の概要**

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性影響評価書の概要	2
第1 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	10
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	10
(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	13
(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 ...	16
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	16
3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	18
(1) 使用等の内容	18
(2) 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	18
(3) 国外における使用等に関する情報	19
第2 項目ごとの生物多様性影響の評価	21
1. 競合における優位性	21
2. 有害物質の産生性	22
3. 交雑性	24
4. その他の性質	25
第3 生物多様性影響の総合的評価	26
引用文献	28
緊急措置計画書	29

第一種使用規程承認申請書

平成 19 年 4 月 23 日

農林水産大臣 松岡 利勝 殿
環境大臣 若林 正俊 殿

申請者 氏名 シンジェンタ シード株式会社
代表取締役社長 大伴 秀郎
住所 千葉県香取郡多古町高津原向ノ台 401-2

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（改変 <i>cry1Ab</i> , <i>pat</i> , <i>mEPSPS</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis）(Bt11×GA21, OECD UI: SYN-BTØ11-1×MON-ØØØ21-9)
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の概要

第1 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

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

イ、和名、英名及び学名

和名：イネ科トウモロコシ属トウモロコシ

英名：maize、corn

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

ロ、宿主の品種又は系統名

チョウ目害虫抵抗性及び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(改変 *cry1Ab*, *pat*, *mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(Bt11 × GA21, OECD UI:SYN-BT011-1 × MON-00021-9)(以下、「本スタック系統」と記す。)は、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 Bt11(改変 *cry1Ab*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(Bt11, OECD UI:SYN-BT011-1)(以下、「Bt11」と記す。)と除草剤グリホサート耐性トウモロコシ GA21(*mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(GA21, OECD UI:MON-00021-9)(以下、「GA21」と記す。)を、交雑育種法により掛け合わせることで作出された。

ハ、国内及び国外の自然環境における自生地域

トウモロコシの栽培起源種は現存せず(文献2)国内及び国外の自然環境におけるトウモロコシの自生は報告されていない。

なお、トウモロコシの起源に関与すると考えられる近縁種として、トウモロコシと交雑可能な *Zea* 属のテオシントと *Tripsacum* 属のトリプサクムの存在が知られている(文献3)。テオシントとトリプサクムはメキシコとグアテマラを中心に、米国南部から南米にかけて自生しているが(文献3)、我が国においてこれらの近縁種が自生しているという報告はない。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ、国内及び国外における第一種使用等の歴史

トウモロコシの原産地がアメリカ大陸であることは間違いないが、その栽培起源地域については諸説あり、米国南西部、メキシコ及び中央アメリカの複数地域説、メキシコと南米の複数地域説、メキシコとグアテマラの複数地域説及びメキシコ南部単独説がある（文献 3）。考古学的検証に基づくと、最初にトウモロコシが出現したのは紀元前 6800～5000 年頃であり、紀元前 5000～3000 年頃には本格的な栽培が始まったと考えられている。また、南北アメリカ大陸の各地に伝播する過程で人為的な選抜が行われ、デント、ポップ、スイート、フリントのような変異種が生じたと考えられる。1492 年のコロンブスのアメリカ大陸発見によってヨーロッパに導入され、その後、ヨーロッパから中東、アフリカ及びアジアの各地域に伝播した。

日本へは天正年間（1573～1591 年）にポルトガル人によって長崎へ伝えられたフリント種が最初とされ、江戸時代には主食の代用あるいは間食として、主に関東以南の山間地で栽培が行われていた（文献 2）。また、明治時代になって北海道へ米国からデント種とフリント種が新たに導入され、全国的に栽培が普及した（文献 2）。

ロ、主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

トウモロコシの栽培地域はおよそ北緯 58 度から南緯 40 度に至る範囲で、主な栽培国は、米国、中国、ブラジル、メキシコ、インド、南アフリカ、ルーマニア等である。国連食糧農業機関の統計（文献 4）に基づく、2005 年におけるトウモロコシの世界総栽培面積は 1 億 4,758 万ヘクタールで、その上位 3 カ国は米国（3,040 万ヘクタール）、中国（2,622 万ヘクタール）及びブラジル（1,147 万ヘクタール）で、また、同年の世界総生産量は 7 億 167 万トンで、その上位 3 カ国は栽培面積と同じく、米国（2 億 8,226 万トン）、中国（1 億 3,515 万トン）及びブラジル（3,486 万トン）であった。米国を初めとする主要栽培国では、大型機械を利用した大規模栽培が行われている。

世界第一のトウモロコシ生産国である米国では、その大部分がイリノイ、インディアナ、アイオワ、カンザス、ミシガン、ミネソタ、ミズーリ、ネブラスカ、オハイオ、サウスダコタ及びウィスコンシン州のコーンベルトと呼ばれる地域で栽培されている。2005 年における米国でのトウモロコシの利用用途の内訳は、56%が飼料、17%が輸出、15%が燃料用エタノール製造で、残りはコーンシロップ等の食品製造であった（文献 5）。

一方、我が国における 2005 年度のトウモロコシの栽培面積は、青刈りのサイレージ用トウモロコシ（デント種）が 8 万 5,300 ヘクタール、生食用の未成熟トウモロコ

シ（スイート種）が 2 万 5,900 ヘクタールで（文献 6）、子実収穫を目的とした栽培はほとんど行われていない。このうち、青刈りのサイレージ用トウモロコシの栽培面積における上位 3 都道府県は、北海道（3 万 5,600 ヘクタール）、宮崎県（7,010 ヘクタール）及び岩手県（5,370 ヘクタール）で、また、生食用の未成熟トウモロコシでは、北海道（8,780 ヘクタール）、千葉県（2,000 ヘクタール）及び長野県（1,550 ヘクタール）であった。

貿易統計（文献 7）に基づくと、我が国は 2005 年に約 1,666 万トンのトウモロコシ子実を輸入しており、米国からの輸入がその 9 割以上（94%）を占めている。また、輸入トウモロコシ子実の内の約 1,221 万トンは飼料用で、残りの約 445 万トンが食用油、コーンスターチ、コーンシロップ等の食品製造用と考えられる。なお、飼料用トウモロコシの大部分は、配合・混合飼料の原料として利用されている（文献 8）。

以上のように米国及び日本におけるトウモロコシの主な利用用途は、飼料及び食品・工業用原材料であるが、メキシコ、ラテンアメリカ及びアフリカでは主食と認識される重要な食糧であり、世界的に見ると 2003 年における総生産量の約 18%が食品として消費されている（文献 4）。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ、生息又は生育可能な環境の条件

トウモロコシは長い年月の間に栽培作物として馴化された結果、自然環境における生存能力を失った作物であり（文献 3）、その栽培は温暖な気温と適度な降水量のある地域に適している（文献 9）。

栽培可能地域は低温と無霜期間によって設定され、夏の平均気温が 21～27 で無霜期間が 120～180 日の地域が最適であり、夏の平均気温が 19 以下で平均夜温が 13 以下になる地域では栽培されない（文献 2）。一方、降雨量については、年間降雨量が 250～5,000mm の地域で、無灌漑栽培では夏季に 150mm の降雨量が確保できる地域とされる（文献 2）。なお、トウモロコシの種子の発芽適温は 33 程度で、発芽の最低温度は 10～11 であり、実際の栽培では 13～14 以上で播種が行われる（文献 2）。

ロ、繁殖又は増殖の様式

種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

トウモロコシの種子は雌穂に着生し、また、雌穂は苞皮で覆われているため、自然に脱粒することはなく、ヒトの介在なしに種子が自然条件下で広範囲に散布されることはない(文献 3)。種子の休眠性は極めて低く、収穫時に種子が地上に落下しても、土壤温度が 10℃ に達するまで発芽しないため、多くの場合、発芽する前に腐敗し枯死する(文献 10)。

栄養繁殖の様式

トウモロコシは種子繁殖する夏作一年生植物であり、種子以外に自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官を持たない(文献 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

トウモロコシは風媒受粉植物で一般に 95% 程度 of 他殖率を示すが、自家不和合性はないので自殖も行う(文献 2)。トウモロコシは近縁野生種であるテオシント及びトリプサカムと交雑可能であり、テオシントとの雑種形成は比較的容易で、自然交雑することも知られているが、一方、トリプサカムとの交雑は極めて困難で、自然交雑は知られていない(文献 3)。なお、我が国にはトウモロコシと交雑可能なこれらの近縁野生種が自生しているという報告はない。また、アポミクシスについての報告はない。

花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

トウモロコシは雌雄異花序で、稈の頂部に雄穂を 1 本、中央側部に雌穂を 1~3 本着生する。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(文献 11)。

トウモロコシの花粉の稔性は花粉の充実度により観察され、花粉の形状は楕円~円形で直径は 90~120 μ m 程度である(文献 2)。受粉は風媒によって行われ、ほとんどの場合は他家受粉であるが、自家不和合性はないので自殖もわずかに生じる(文献 2)。受粉が風媒に依存しているため、その受粉機会の多少は種子の生産量に影響する(文献 12)。

一般に、雄穂の開花は出穂のおよそ 3 日後に始まり、開花期間は盛夏で 8~9 日、花粉の飛散日数は 4~10 日間であり、一方、雌穂の絹糸抽出は雄穂開花のおよそ 1 日後に始まり、抽出期間は 5~6 日である(文献 2)。花粉は開花後に風によって飛

散し、その飛散距離は300～500mとされるが、大部分はほ場内に落下する(文献11)。一般に花粉の寿命は環境条件によって大きく異なるが、トウモロコシの場合、盛夏のほ場条件下で24時間以内である(文献11)。

八、有害物質の産生性

トウモロコシにおいて、野生動植物等の生育又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。

2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

本スタック系統の親系統であるBt11はシンジェンタ社により、GA21はモンサント社により開発された。本スタック系統には、Bt11の挿入遺伝子由来のチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性と、GA21の挿入遺伝子由来の除草剤グリホサート耐性が付与されていることから、以下にBt11及びGA21の概要を記載した。なお、GA21に関しては、シンジェンタ社の独自データ、国際特許公開情報(文献1)及び公表文献に基づいて作成した生物多様性影響評価書(別紙1)を、Bt11に関しては生物多様性影響評価書(別紙2)を参照した。

(1) 供与核酸に関する情報

イ、構成及び構成要素の由来

Bt11の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来を表1に示した。また、GA21の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来を表2に示した。

表 1 Bt11 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来及び機能

チョウ目害虫抵抗性遺伝子カセット	
構成要素	由 来 及 び 機 能
35S promoter	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV) CM1841 株由来で、 <i>Dde</i> - <i>Dde</i> 断片として得られた。このプロモーターは全組織中で目的遺伝子(改変 <i>cry1Ab</i>) を恒常的に発現させる(文献13)。
IVS6-ADH1	トウモロコシのアルコールデヒドロゲナーゼ 1S(Adh1-S)遺伝子(文献14)由来のイントロン。Adh1-S イントロンは植物における目的遺伝子(改変 <i>cry1Ab</i>) の発現量を高めるために用いられた(文献15)。
改変 <i>cry1Ab</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> HD-1 株の Cry1Ab 蛋白質をコードする <i>cry1Ab</i> 遺伝子について、Cry1Ab 蛋白質の有する殺虫活性に関与しない C 末端コード領域を一部欠失させ、また、植物における発現量を高めるよ

	うに塩基配列を改変した。ただし、コア蛋白質のアミノ酸配列に変更はない。
NOS term	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域で、転写ターミネーター及び mRNA のポリアデニル化シグナルを含む(文献 16、文献 17)。この配列により目的遺伝子(改変 <i>cry1Ab</i>)の転写が終結される。
除草剤グルホシネート耐性遺伝子カセット	
構成要素	由 来 及 び 機 能
35S promoter	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV) Cabb-s 株由来で、 <i>AluI-DdeI</i> 断片として得た。このプロモーターは全組織中で目的遺伝子(<i>pat</i>)を恒常的に発現させる(文献 18)。
IVS2-ADH1	トウモロコシのアルコールデヒドロゲナーゼ 1S(Adh1-S)遺伝子(文献 14)由来のイントロンである。Adh1-S イントロンは植物中において目的遺伝子(<i>pat</i>)の発現量を高めるために用いられた(文献 15)。
<i>pat</i>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> の PAT 蛋白質をコードする遺伝子である。PAT 蛋白質は除草剤グルホシネート耐性を植物に付与することから、遺伝子導入の際、組換え体を選抜するためのマーカーとして使用された。 <i>pat</i> 遺伝子は植物における発現量を高めるために一部の塩基配列が改変された。ただし、この改変により発現する PAT 蛋白質のアミノ酸配列は変更されていない(文献 19)。
NOS term	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域で転写ターミネーター及び mRNA のポリアデニル化シグナルを含む(文献 16、文献 17)。この配列により、目的遺伝子(<i>pat</i>)の転写が終結される。
その他の領域	
構成要素	由 来 及 び 機 能
ColE1 ori	大腸菌(<i>Escherichia coli</i>)プラスミド pUC18(文献 20、文献 21)由来の複製開始領域で、バクテリア中でプラスミドの複製を開始させる複製起点。
<i>amp^R</i>	大腸菌(<i>Escherichia coli</i>)由来で、機能は -ラクタマーゼをコードし、抗生物質アンピシリン耐性を付与する(文献 21)。

表 2 GA21 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来及び機能

除草剤耐性遺伝子カセット	
構成要素	由 来 及 び 機 能
Act promoter + intron	植物体全体で目的遺伝子の転写開始を誘導するイネのアクチン 1 遺伝子由来プロモーターで、転写効率を高める働きをもつ第一イントロン領域までを含む(文献 32)。
sssu + mssu (以下、OTP と記す。)	ヒマワリのリブローズ-1,5-ビスリン酸カルボキシラーゼオキシゲナーゼ(RuBisCo)遺伝子の葉緑体輸送ペプチド配列(sssu)と、トウモロコシの <i>RuBisCo</i> 遺伝子の葉緑体輸送ペプチド配列(mssu)から成る optimized transit peptide(OTP)配列で、目的遺伝子である <i>mEPSPS</i> 遺伝子によって発現する mEPSPS 蛋白質を、その作用の場である葉緑体に輸送する働きをも

	つ (文献 33)。
<i>mEPSPS</i>	トウモロコシの 5-エノール-ピルビルシキミ酸 3-リン酸合成酵素 (EPSPS) 遺伝子の突然変異によって得られた遺伝子 (文献 22) で、除草剤グリホサートによって活性阻害を受けない 5-エノール-ピルビルシキミ酸 3-リン酸合成酵素 (<i>mEPSPS</i>) をコードし、野生型 EPSPS のアミノ酸配列における 102 番目のトレオニンがイソロイシンに、また、106 番目のプロリンがセリンに変わっている (文献 1)。
NOS	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> のノパリン合成酵素遺伝子のポリアデニル化配列で、転写を終結させる働きをもつ (文献 16)。
外骨格領域 (GA21 中には含まれない)	
構成要素	由 来 及 び 機 能
<i>amp</i>	バクテリオファージ M13 由来の <i>lacI</i> の一部配列、プロモーター- <i>plac</i> 及び β -ガラクトシダーゼあるいは <i>lacZ</i> 蛋白質をコードする一部配列から成る <i>lac</i> 配列 (文献 21) 及び大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) のプラスミド pBR322 由来のアンピシリン耐性を付与する β -ラクタマーゼ遺伝子 (<i>bla</i>) から成り (文献 34)、 β -ラクタマーゼを発現することで構築プラスミドを含む大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) を選抜・維持する。
<i>ori-puc</i>	大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) のハイコピープラスミド pUC19 由来の複製開始領域で、大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) においてプラスミドの自律増殖能を付与する (文献 35)。

ロ、構成要素の機能

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

Bt11の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能を表1に示した。また、GA21の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能を表2に示した。

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 (食品としてのアレルギー性を除く。) 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

改変Cry1Ab蛋白質 ;

土壌細菌である *Bacillus thuringiensis* から単離された殺虫活性蛋白質 (=Bt蛋白質) は、それぞれ特異的な昆虫種に対して殺虫活性を示す。感受性昆虫種が Bt 蛋白質を摂取して消化すると、活性ポリペプチド (=コア蛋白質) となり、昆

虫の中腸表面の特異的な受容体に結合して細胞を破壊するため、消化器官が損傷を受けて死に至ることが知られている（文献 26）。この作用機作は *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* 由来の Cry1Ab 蛋白質でも同様である。Cry1Ab 蛋白質の殺虫活性については、カナダ政府のデータベース（文献 23）に詳細な調査結果が掲載されており、トウモロコシ栽培における主要害虫であるチョウ目昆虫のヨーロッパアンコーンボラー（*Ostrinia nubilalis*）、Corn earworm（*Helicoverpa zea*）、Fall armyworm（*Spodoptera frugiperda*）等に殺虫活性を示す。一方、Cry1Ab 蛋白質は他のチョウ目以外の昆虫には殺虫活性がないか極めて低い。なお、改変 Cry1Ab 蛋白質が既知アレルゲンと相同性を持たないことが、公的に利用可能なデータベース（SWISS-PROT、FARRP 等）を用いた相同性検索によって確認されている。

PAT 蛋白質；

除草剤グルホシネートは植物のグルタミン酸合成酵素を阻害するため、植物は細胞内のアンモニアの蓄積によって枯死するが、PAT蛋白質が発現した場合にはグルホシネートをアセチル化し、不活性化するためにグルタミン酸合成酵素の阻害が起こらない。したがって、PAT蛋白質を発現する植物は除草剤グルホシネート耐性を示すことから、Bt11を選抜するためのマーカーとして利用されている。なお、PAT蛋白質が既知アレルゲンと相同性を持たないことが、公的に利用可能なデータベース（SWISS-PROT、FARRP等）を用いた相同性検索によって確認されている。

mEPSPS 蛋白質；

除草剤グリホサートは、植物の芳香族アミノ酸合成経路の一部であるシキミ酸経路の 5-エノール-ピルビルシキミ酸 3-リン酸合成酵素（EPSPS）の活性を阻害し、芳香族アミノ酸合成を止めることで植物を枯死させる非選択性茎葉処理型除草剤である（文献 36）。*mEPSPS* 遺伝子がコードする mEPSPS 蛋白質は除草剤グリホサートの存在下でも EPSPS 活性を示し、植物内在性 EPSPS に代わって芳香族アミノ酸の合成を可能とすることによって除草剤グリホサート耐性を付与する。なお、mEPSPS 蛋白質が、既知アレルゲンと相同性を持たないことが、公的に利用可能なデータベース（SWISS-PROT、FARRP 等）を用いた相同性検索によって確認されている。

宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

改変 Cry1Ab 蛋白質が酵素活性を持つという報告はない。PAT 蛋白質は L-ホスフ

イノトリシン（除草剤グルホシネートの活性成分）及びジメチルホスフィノトリシンに非常に高い基質特異性を持ち、これ以外に PAT 蛋白質の基質となる他の蛋白質もしくはアミノ酸は報告されていない（文献 29）。mEPSPS 蛋白質はシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり（文献 30）、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) と特異的に反応することが報告されている（文献 31）。

以上のことから、これらが宿主の持つ代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低く、宿主においていずれも独立して機能すると考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ、名称及び由来

Bt11の作出に用いられたプラスミドpZO1502は大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のpUC18を基に構築された。また、GA21の作出に用いられたプラスミドpDPG434は大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のpUC19等に由来する（文献37）。

ロ、特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

Bt11の作出に用いられたプラスミドpZO1502の塩基数は7,240bpである。また、GA21の作出に用いられたプラスミドpDPG434の塩基数は6,128bpである（文献1）。

特定の機能を有する塩基配列がある場合はその機能

Bt11の作出に用いられたプラスミドpZO1502及びGA21の作出に用いられたプラスミドpDPG434は、細菌の選抜マーカーとして使用される *amp* 遺伝子を含むことからアンピシリン耐性を有するが、Bt11及びGA21中にこの抗生物質耐性マーカー遺伝子は移入されていない。

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

Bt11の作出に用いられたプラスミドpZO1502及びGA21の作出に用いられたプラスミドpDPG434に、感染性を示すような配列があるという報告はない。

(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

Bt11 の宿主内に移入された核酸は、プラスミド pZO1502 を制限酵素 *NotI* で切断して *amp^R* 遺伝子を削除した部分である。また、GA21 の宿主への核酸の移入には、プラスミド pDPG434 を制限酵素 *NotI* で切断して得られた、除草剤耐性遺伝子カセット (Act promoter+intron/ OTP/ *mEPSPS*/ NOS) のみから成る DNA 断片が用いられている (文献 1)。

ロ、宿主内に移入された核酸の移入方法

Bt11における核酸の宿主への移入方法は、エレクトロポレーション法である。また、GA21における核酸の宿主への移入方法は、パーティクルガン法である (文献1)。

ハ、遺伝子組換え生物等の育成の経過

核酸が移入された細胞の選抜の方法

Bt11 においては、グルホシネートを添加した培地で形質転換細胞の選抜が行われた。また、GA21 においては、グリホサートを添加した培地で形質転換細胞の選抜が行われた (文献 1)。

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及び系統樹

本スタック系統は、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である Bt11 と、除草剤グリホサート耐性トウモロコシである GA21 を用いて、交雑育種法により作出された。

なお、我が国における Bt11 及び GA21 の申請・承認状況は以下のとおりである。

Bt11:

1996年5月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、模擬的環境利用について指針への適合性が確認された (輸入のための隔離ほ場試験)。

1996年9月 厚生省 (現在の厚生労働省) によって、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品として利用した際の安全性が確認された。

- 1996年9月 農林水産省によって、「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用について指針への適合性が確認された。
- 1996年10月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入について指針への適合性が確認された。
- 2001年3月 厚生労働省によって、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に従い、食品として利用した際の安全性が承認された。
- 2001年5月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、模擬的環境利用について指針への適合性が確認された(栽培のための隔離ほ場試験)。
- 2002年6月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、栽培について指針への適合性が確認された。
- 2003年3月 農林水産省によって、「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手續」に従い、飼料として利用した際の安全性が承認された。
- 2007年4月 農林水産省及び環境省によって、「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」に従い、第一種使用等(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)が承認された。
- GA21:
- 1998年5月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、模擬的環境利用について指針への適合性が確認された。
- 1998年12月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入及び栽培について指針への適合性が確認された。
- 1999年11月 厚生省(現在の厚生労働省)によって、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品として利用した際の安全性が確認された。

- 1999年12月 農林水産省によって、「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用について指針への適合性が確認された。
- 2003年3月 厚生労働省によって、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に従い、食品として利用した際の安全性が承認された。
- 2003年3月 農林水産省によって、「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に従い、飼料として利用した際の安全性が承認された。
- 2005年11月 農林水産省及び環境省によって、「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」に従い、第一種使用等(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)が承認された。

(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

イ、移入された核酸の複製物が存在する場所(染色体上、細胞小器官内、原形質内の別)

Bt11 においては分離比検定及びシーケンス解析によって、挿入遺伝子が染色体上に存在することが確認された。また、GA21 においてはサザンブロット分析及び分離比検定によって、挿入遺伝子が染色体上に存在することが確認された。

ロ、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

Bt11 においては、挿入遺伝子が染色体上に 1 コピー存在し、複数世代において安定して伝達されることが確認されている。また、GA21 においては、挿入遺伝子が染色体上の 1 ヶ所に存在し、移入された除草剤耐性遺伝子カセット (Act promoter+intron/OTP/*mEPSPS*/NOS)断片に由来する 6 つの連続的領域から成ること、また、これらが複数世代において安定して伝達されることが確認されている。

ハ、(6)のイ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

Bt11におけるチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性の発現の安定性は、ELISA法による分析及び生物検定により確認されている。また、GA21における除草剤グリホサート耐性の発現の安定性は、生物検定により確認されている。

本スタック系統におけるBt11由来のチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性、GA21由来の除草剤グリホサート耐性の発現の安定性を調査するため、本スタック系統、親系統であるBt11もしくはGA21及び非組換えトウモロコシを用いて、ヨーロッパアンコーンボーラーに対する抵抗性検定試験、除草剤グルホシネート散布試験及びグリホサート散布試験を実施した。

ヨーロッパアンコーンボーラーに対する抵抗性検定試験の結果、本スタック系統とBt11の間で葉の食害及び殺虫活性に有意差は見られなかった(表3)。また、除草剤グルホシネート及びグリホサート散布試験においては、それぞれの除草剤の1倍、4倍、8倍の薬量での薬害程度に本スタック系統と親系統の間で有意差は見られなかった(表4及び表5)。

以上のことから、本スタック系統におけるチョウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性は、親系統であるBt11及びGA21と同程度であり、付与された特性はBt11やGA21と同様に安定的であることが確認されている。

表 3 本スタック系統におけるチョウ目害虫抵抗性の程度

(米国シンジェンタ社温室、2004年)

評価項目*1	Bt11 × GA21		Bt11		非組換えトウモロコシ	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
第1世代試験： 葉の食害程度*2	1.0 b *3	0	1.0 b	0	7.6 a	0.6
第2世代試験： 生存幼虫数/植物	0.0 b	0	0.0 b	0	6.9 a	3.0
第2世代試験： 穂軸食入痕長 (cm)	0.0 b	0	0.0 b	0	3.4 a	2.5
第2世代試験： 雌穂食害長 (cm)	0.0 b	0	0.0 b	0	16.8 a	5.6
第2世代試験： 茎の食入痕長 (cm)	0.0 b	0	0.0 b	0	26.9 a	7.6

*1： 米国のトウモロコシ栽培では主要標的害虫であるヨーロッパアンコーンボーラー (*Ostrinia nubilalis* Hübner) は2世代続けて発生するため、トウモロコシの生育期(第1世代試験)と成熟期(第2世代試験)での評価を行った。

*2： 葉の食害程度は以下の9段階スケールに基づいて評価した(文献24)。

- 1 食害が認められないか、軽微な食害痕(2~3の小さなスポットのみ)に止まっている。
- 2 すべて2mm以下の小さな食害痕で被害が1枚か2枚の葉に止まる。
- 3 小さな穿入痕が3枚以上の葉に認められる。
- 4~8 食害面積の拡大に基づく(4=食害痕の幅が1.3cm以下、8=食害が葉の半分程度にまで及ぶ)。
- 9 葉は大きく損傷し、食害が実質的に葉脈まで及ぶ。

*3： 統計については評価項目ごとに実施しており、各評価項目において、同じ英文字の平均値間に有意差はない(P=0.05)。

表 4 本スタック系統における除草剤グルホシネートへの耐性

(米国シンジェンタ社温室、2006年)

除草剤 散布濃度*1	薬害程度 (%) *2					
	Bt11 × GA21		Bt11		非組換えトウモロコシ	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
無散布	0 h *3	0.0	0 h	0.0	0 h	0.0
1 ×	0.3 h	0.2	0.3 h	0.4	97.5 a	2.5
4 ×	4.3 g	0.5	4.2 g	0.4	100 a	0.0
8 ×	14.7 f	1.0	13.8 f	0.6	99.4 a	1.2

*1: 温室で栽培した各供試トウモロコシ(3~4葉期、播種後12日目)に、グルホシネートを有効成分とする除草剤を、推奨薬量(1×)、4倍(4×)及び8倍(8×)で散布し、散布後14日目に薬害程度を観察した(10植物体、3反復)。

*2: 0%(健全)から100%(完全枯死)で目視観察により評価した。

*3: 同じ英文字の平均値間に有意差はない(P=0.05)。

表 5 本スタック系統における除草剤グリホサートへの耐性

(米国シンジェンタ社温室、2006年)

除草剤 散布濃度*1	薬害程度 (%) *2					
	Bt11 × GA21		GA21		非組換えトウモロコシ	
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差
無散布	0 h *3	0.0	0 h	0.0	0 h	0.0
1 ×	0 h	0.0	0 h	0.0	100 a	0.0
4 ×	27.9 d	0.4	28.0 d	2.0	100 a	0.0
8 ×	36.9 bc	2.2	38.2 b	3.3	100 a	0.0

*1: 温室で栽培した各供試トウモロコシ(2~3葉期、播種後9日目)に、グリホサートを有効成分とする除草剤を、推奨薬量(1×)、4倍(4×)及び8倍(8×)で散布し、散布後17日目に薬害程度を観察した(10植物体、3反復)。

*2: 0%(健全)から100%(完全枯死)で目視観察により評価した。

*3: 同じ英文字の平均値間に有意差はない(P=0.05)。

二、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

Bt11及びGA21に移入された核酸に伝達を可能とする配列は含まれていない。したがって、両者に移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれはないと考えられる。

(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

Bt11 及び GA21 の定量的 PCR 法による系統特異的検出方法が、European Commission により公開されており、Bt11 ではゲノム DNA の濃度比で、GA21 では GA21 と対照の穀粒との重量比で、検出感度はいずれも 0.1%であった（文献 27、文献 28）。

本スタック系統を検出及び識別するためには、1つの種子又は植物体を上述の2方法で分析し、いずれの分析でも陽性の結果が出た場合、本スタック系統であることが確認できる。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ、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

本スタック系統に付与された特性は、Bt11 への挿入遺伝子に由来する改変 Cry1Ab 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並びに GA21 への挿入遺伝子に由来する mEPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性である。

ロ、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

本スタック系統には Bt11 由来のチョウ目害虫抵抗性と GA21 由来の除草剤グリホサート耐性が付与されているが、これらの特性には親系統である Bt11 あるいは GA21 との間で有意差は見られないことが示されている。また、Bt11 由来の改変 Cry1Ab 蛋白質及び PAT 蛋白質並びに GA21 由来の mEPSPS 蛋白質は、それぞれの蛋白質の特性からいずれも独立して機能すると考えられ、本スタック系統において互いに影響して宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた。

以上のことから、本スタック系統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な相違については、親系統である Bt11 及び GA21 について、我が国で実施された隔離ほ場試験結果に基づき評価を行った（別紙 1、別紙 2）。

形態及び生育の特性

Bt11 と対照の非組換えトウモロコシの間で、発芽揃い、雄穂抽出期、絹糸抽出期、開花始、開花終、開花期間、成熟期、草型、分けつ数、雌穂総数、有効雌穂数、粒色、粒形、稈長、着雌穂高、雌穂長、雌穂径、粒列数、一列粒数、百粒重、刈り取り後の生体重について調査を行った。その結果、すべての調査項目で有意差あるいは相違は見られなかった。また、GA21 と対照の非組換えトウモロコシの間で、発芽揃い、発芽率、雄穂抽出期、絹糸抽出期、稈長、着雌穂高、草型、成熟期、収穫期の生体重、分けつ数、雌穂数、雌穂長、雌穂径、粒列数、一列粒数、百粒重、粒形、粒色について調査を行った。その結果、すべての調査項目で有意差あるいは相違は見られなかった。

生育初期における低温又は高温耐性

Bt11 及び GA21 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。

成体の越冬性

トウモロコシは夏型一年生作物であり、子実の成熟に伴って成体は枯れ上がり枯死する。加えて、トウモロコシは種子以外に植物体を再生しうる組織又は器官を持たず、また、トウモロコシの生育ステージ及び栽培環境にもよるが、0 以下の温度に 6～8 時間以上曝されると生存できないと考えられている（文献 3）。

Bt11 及び GA21 は、隔離ほ場試験において、いずれも対照の非組換えトウモロコシと同様に成熟後に枯死することが観察された。

花粉の稔性及びサイズ

Bt11 と対照の非組換えトウモロコシについて、花粉をニュートラルレッド溶液で染色し顕微鏡下で観察した結果、稔性（染色による花粉の充実度）、形状及びサイズに相違は見られなかった。また、GA21 と対照の非組換えトウモロコシについて、花粉をアセトカーミン溶液で染色し観察した結果、稔性（染色による花粉の充実度）、形状及びサイズに相違は見られなかった。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量に関しては、Bt11 と対照の非組換えトウモロコシとの間で、雌穂長、雌穂径、粒列数、一列粒数、百粒重について有意差は見られなかった。また、GA21 と対照の非組換えトウモロコシとの間で、種子の生産量について有意差は見られなかった。

脱粒性に関しては、トウモロコシの種子は雌穂に着生しており、加えて、雌穂が苞皮で覆われているため、自然に脱粒することはない（文献 3）。Bt11 及び GA21 も対照の非組換えトウモロコシと同様に、収穫時の雌穂は苞皮に覆われていた。

発芽率に関しては、Bt11 及び GA21 の播種用種子及び収穫種子のいずれにおいても対照の非組換えトウモロコシと同程度であった。休眠性については調査を行っていないものの、異なる温度条件下で播種された播種用種子及び収穫種子の発芽率に、対照の非組換えトウモロコシとの間で差が見られなかったことから、Bt11 と GA21 の休眠性が非組換えトウモロコシと大きく異なる可能性は低いと考えられる。

交雑率

我が国にはトウモロコシと交雑可能な近縁野生種が自生しているとの報告はないことから、Bt11 及び GA21 とともに交雑率の試験は行わなかった。

有害物質の産生性

Bt11 及び GA21 について、鋤込み試験、後作試験、土壌微生物相試験を行った結果、いずれの試験においても対照の非組換えトウモロコシとの間で有意差は見られなかった。

3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

食用又は飼料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

(2) 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

「緊急措置計画書」を参照。

(3) 国外における使用等に関する情報

Bt11 に関しては、米国においては 1996 年に栽培の認可、食品及び飼料安全性の確認がなされており、また、1998 年にスイート種の販売認可が得られている。その他、カナダ、アルゼンチン、南アフリカ等において、現在までに食品・飼料としての使用及び栽培を行うための認可を得ている。なお、欧州連合（EU）においては食品・飼料としての使用のための認可を得ている。商業栽培は米国、カナダ、アルゼンチン及び南アフリカの 4 ヶ国で実施されている。

GA21 に関しては、米国において 1997 年 11 月に米国農務省（USDA）によって無規制裁培（商業栽培）が承認され、また、1998 年 2 月に米国食品医薬局（FDA）によって食品及び飼料としての安全性の確認がされている。

なお、我が国における Bt11 及び GA21 の申請・承認状況は以下のとおりである。

Bt11:

- | | |
|----------|--|
| 1996年5月 | 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、模擬的環境利用について指針への適合性が確認された（輸入のための隔離ほ場試験）。 |
| 1996年9月 | 厚生省（現在の厚生労働省）によって、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品として利用した際の安全性が確認された。 |
| 1996年9月 | 農林水産省によって、「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の（2）」に基づき、飼料利用について指針への適合性が確認された。 |
| 1996年10月 | 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入について指針への適合性が確認された。 |
| 2001年3月 | 厚生労働省によって、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に従い、食品として利用した際の安全性が承認された。 |
| 2001年5月 | 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、模擬的環境利用について指針への適合性が確認された（栽培のための隔離ほ場試験）。 |

- 2002年6月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、栽培について指針への適合性が確認された。
- 2003年3月 農林水産省によって、「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手續」に従い、飼料として利用した際の安全性が承認された。
- 2007年4月 農林水産省及び環境省によって、「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」に従い、第一種使用等(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)が承認された。
- GA21:
- 1998年5月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、模擬的環境利用について指針への適合性が確認された。
- 1998年12月 農林水産省によって、「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入及び栽培について指針への適合性が確認された。
- 1999年11月 厚生省(現在の厚生労働省)によって、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品として利用した際の安全性が確認された。
- 1999年12月 農林水産省によって、「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用について指針への適合性が確認された。
- 2003年3月 厚生労働省によって、「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に従い、食品として利用した際の安全性が承認された。
- 2003年3月 農林水産省によって、「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手續」に従い、飼料として利用した際の安全性が承認された。
- 2005年11月 農林水産省及び環境省によって、「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」に従い、第一種使用(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)が承認された。

第2 項目ごとの生物多様性影響の評価

本スタック系統は、Bt11 と GA21 由来の自殖系統から、交雑育種法により作出した。

第 1.2 (6) で述べたとおり、

改変 Cry1Ab 蛋白質、PAT 蛋白質及び mEPSPS 蛋白質が宿主の代謝経路に影響を及ぼすおそれはないと考えられること、

本スタック系統のチョウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性の程度は、それぞれの親系統と同程度であったこと、

から、これらの蛋白質が本スタック系統の植物体内において相互に影響を受ける可能性は低く、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。

以上のことから、本スタック系統の生物多様性影響の評価は、Bt11 と GA21 の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。

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

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシについては長期の使用経験があり、我が国の自然環境下で自生した例は報告されていない。

本スタック系統の親系統であるBt11とGA21の野生動植物等と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、Bt11とGA21ともに競合における優位性に影響を及ぼすような差異は認められなかった。

本スタック系統は、チョウ目害虫抵抗性が付与されているが、チョウ目昆虫による食害は、トウモロコシが我が国の自然環境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。たとえ非組換えトウモロコシに比べて一時的に生存率が高まることがあったとしても、この性質のみにより、栽培作物であるトウモロコシを自然条件下で自生させて競合における優位性を高めるとは考えにくい。また、本スタック系統には、除草剤グルホシネート及びグリホサートへの耐性が付与されているが、グルホシネート及びグリホサート散布が想定しにくい我が国の自然環境下で、この性質により

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、これら付与された性質により競合における優位性が高まるとは考えにくい。

以上のことより、本スタック系統について競合における優位性に起因する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

(3) 影響の生じやすさの評価

(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

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシについては長期の使用経験があり、野生動植物等に対して影響を与える有害物質の産生は報告されていない。

Bt11 及び GA21 において、鋤込み試験、後作試験、土壌微生物相試験を行った結果、いずれの試験でも対照の非組換えトウモロコシとの間で有意差が見られなかったことから、本スタック系統においても意図しない有害物質の産生性はないと考えられる。

本スタック系統には、Bt11 に由来する PAT 蛋白質産生性及び GA21 に由来する mEPSPS 蛋白質産生性が付与されているが、PAT 蛋白質及び mEPSPS 蛋白質は有害物質としては知られていない。また、改変 Cry1Ab 蛋白質、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質のアミノ酸配列が既知アレルゲンと相同性を持たないことを確認している。さらに、本スタック系統のチョウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性の程度はそれぞれの親系統と同程度であり、また、Bt 11 由来の改変 Cry1Ab 蛋白質及び PAT 蛋白質並びに GA21 由来の mEPSPS 蛋白質は、各々が独立して機能

していると考えられ、互いに影響して宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低い。以上のことから、両者の交配系統である本スタック系統において、新たに有害物質が産生される可能性はないと考えられた。

本スタック系統には、Bt11 由来の改変 Cry1Ab 蛋白質の産生性が付与されている。Cry1Ab 蛋白質は、米国におけるトウモロコシ栽培上の重要害虫であるヨーロッパシヨウ目昆虫であるヨロピアンコーンボラー (*Ostrinia nubilalis*)、Corn earworm (*Helicoverpa zea*)、Fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) 等のシヨウ目昆虫に対して高い殺虫活性及び特異性を示すことが確認されている (文献 23)。したがって、本スタック系統を栽培した場合に、生育している本スタック系統を直接摂食する、もしくは本スタック系統から飛散した花粉を食餌植物とともに摂食するシヨウ目昆虫に何らかの影響を与える可能性がある。生育している本スタック系統を直接摂食する可能性のあるシヨウ目昆虫としては、アワノメイガ (*Ostrinia furnacalis*) 等のシヨウ目昆虫が想定されるが、これらの種は農業上の害虫として防除されることが通例であることから、ここでは対象としない。しかし、本スタック系統から飛散した花粉を食餌植物とともに摂食することでシヨウ目昆虫に何らかの影響を与える可能性については、否定が出来ない。そこで、本スタック系統によって影響を受ける可能性のある野生動植物等として、シヨウ目昆虫が特定された。

(2) 影響の具体的内容の評価

本スタック系統の親系統であり、改変 Cry1Ab 蛋白質を発現する Bt11 の隔離ほ場試験において、Bt 蛋白質に対する感受性が高く、集団飼育がしやすいシヨウ目昆虫のヤマトシジミ (*Zizeeria maha argia*) 1 齢幼虫に、Bt11 花粉を 500 ~ 4,000 粒/cm² の花粉密度で摂食させて死亡率を調査した。その結果、摂食開始から 7 日後までの間にヤマトシジミの半数個体の致死が観測された花粉密度は 2,000 ~ 4,000 粒/cm² であった。

(3) 影響の生じやすさの評価

トウモロコシ花粉飛散について、開花期間中、風向や風速が花粉飛散に好適な条件であった場合の堆積花粉数については、測定した堆積花粉数並びに風向及び風速などを基に、Kawashima らにより導かれた推定式から、ほ場端から 10m で約 4,000 粒/cm²、20m で約 2,000 粒/cm² と推定されている (文献 25)。この値は開花期間中、ほ場に一定方向に強い風速の風 (3m/s) が吹き続けると仮定した場合のものであり、花粉の捕集にワセリンを塗布したスライドグラスを使用している。この報告に基づく Bt11 の場合、摂食開始から 7 日後までの間にヤマトシジミの半数個体の致死が観測

されたのは 2,000 ~ 4,000 粒/ cm² であったことから、堆積花粉数が約 2,000 粒/ cm² となるのは、ほ場から約 20m 離れた場合と推定される。しかし、トウモロコシの花
粉飛散により影響を受けるほ場周辺の範囲内だけに、特定のチョウ目昆虫が局所的に
生息するとは考えられない。よって、これらチョウ目昆虫種が個体レベルで影響を受
ける可能性はあっても、その個体群や種の存続レベルで影響を受ける可能性は考えら
れないことから、Bt11 の花粉飛散が特定の昆虫種又はその個体群の維持に支障を及
ぼすおそれはないと判断された。

以上のことから、我が国に生息するチョウ目昆虫が Bt11 由来の改変 Cry1Ab 蛋白
質に曝露されることにより、個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと判断され、
よって本スタック系統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。

(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、本スタック系統は、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響
を生じるおそれはないと判断された。

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

トウモロコシは近縁野生種であるテオシントと自然交雑可能であるが、我が国には
この近縁野生種は自生しておらず、自然交雑の可能性はないことから、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

(3) 影響の生じやすさの評価

(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。

4. その他の性質

上記の他に、本スタック系統に関して生物多様性影響の評価を行うべき性質はないと判断された。

第3 生物多様性影響の総合的評価

本スタック系統は、Bt11 と GA21 由来の自殖系統から、交雑育種法により作出した。

第 1.2 (6) で述べたとおり、

改変 Cry1Ab 蛋白質、PAT 蛋白質及び mEPSPS 蛋白質が宿主の代謝経路に影響を及ぼすおそれはないと考えられること、

本スタック系統のチョウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性の程度は、それぞれの親系統と同程度であったこと、

から、これらの蛋白質が本スタック系統の植物体内において相互に影響を受ける可能性は低く、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。したがって、本スタック系統の生物多様性影響の評価は、Bt11 と GA21 の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。

競合における優位性：宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシについては長期の使用経験があり、我が国の自然環境下で自生することは報告されていない。また、競合における優位性に係わる諸形質として、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、休眠性及び発芽率を本スタック系統の親系統である Bt11 及び GA21 について検討した結果、いずれの項目においても競合における優位性に影響を及ぼすと考えられるような差異は認められなかった。また、本スタック系統はチョウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性を持つものの、これらの形質を併せ持ったとしても我が国の自然環境下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、本スタック系統が、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。

有害物質の産生性：宿主であるトウモロコシについては長期の使用経験があり、野生動植物等に対して影響を与える有害物質の産生性は報告されていない。また、Bt11 及び GA21 の鋤込み試験、後作試験、土壌微生物相試験より、本スタック系統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た。本スタック系統で産生される PAT 蛋白質及び mEPSPS 蛋白質は有害物質としては知られておらず、改変 Cry1Ab 蛋白質、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質のアミノ酸配列が既知アレルゲンと相同性を持たない。さらに、本スタック系統のチョウ目害虫抵抗性、除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性の程度がそれぞれの親系統と同程度であり、改変 Cry1Ab 蛋白質、PAT 蛋白質、mEPSPS 蛋白質は、各々が独立して機能していると考えられ、互いに

影響して宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いことから、両者の交配系統である本スタック系統において、新たに有害物質が産生されるおそれはないと考えられた。一方、改変 Cry1Ab 蛋白質によって影響を受ける可能性のある野生動植物等としてチョウ目昆虫を特定して検討を行ったが、Bt11 におけるヤマトシジミを用いた生物検定及び文献情報より、本スタック系統の栽培によって我が国に生息するチョウ目昆虫が個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。これらのことから、本スタック系統について、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。

交雑性：我が国にはトウモロコシと交雑可能な近縁野生種は自生していないことから、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。

以上のことから、本スタック系統を第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国において生物多様性影響を生ずるおそれはないと総合的に判断した。

引用文献

社外秘につき非開示

緊急措置計画書（栽培目的の場合）

平成 19 年 4 月 23 日

氏名 シンジェンタ シード株式会社
代表取締役社長 大伴 秀郎
住所 千葉県香取郡多古町高津原向ノ台 401-2

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（改変 *cry1Ab*, *pat*, *mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) *Iltis*）（ Bt11×GA21, OECD UI: SYN-BT011-1×MON-00021-9）（以下、「本スタック系統」という。）の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定のために関係機関への協力等を必要に応じて行う。更に、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。

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

個人名・所属は個人情報につき非開示。

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、本スタック系統の開発者である米国シンジェンタ シード社と連絡をとり、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

本スタック系統の使用に伴い生物多様性影響を生ずるおそれがあると認めた場合には、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使用等をしている者に連絡するとともに、弊社のホームページにおいて情報提供を行い、問い合わせ専用窓口を設置する。

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

具体的な措置として、特定された問題に応じ、本スタック系統の環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本スタック系統があった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること等、必要な措置を実施する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

本スタック系統が我が国において生物多様性影響を及ぼすおそれがあると認められた場合は、速やかに、農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。

緊急措置計画書（食用・飼料に供する場合）

平成 19 年 4 月 23 日

氏名 シンジェンタ シード株式会社
代表取締役社長 大伴 秀郎
住所 千葉県香取郡多古町高津原向ノ台 401-2

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（改変 *cry1Ab*, *pat*, *mEPSPS*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) *Iltis*）（ Bt11×GA21, OECD UI: SYN-BT011-1×MON-00021-9）（以下、「本スタック系統」という。）の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定のために関係機関への協力等を必要に応じて行う。更に、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。

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

個人名・所属は個人情報につき非開示。

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、本スタック系統の開発者である米国シンジェンタ シード社と連絡をとり、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

本スタック系統の使用に伴い生物多様性影響を生ずるおそれがあると認めた場合には、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使用等をしている者に連絡するとともに、弊社のホームページにおいて情報提供を行い、問い合わせ専用窓口を設置する。

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

具体的な措置として、特定された問題に応じ、本スタック系統の環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本スタック系統があった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること等、必要な措置を実施する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

本スタック系統が我が国において生物多様性影響を及ぼすおそれがあると認められた場合は、速やかに、農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。