

遺伝子組換え生物等の第一種使用規程の  
承認申請に係る審査報告書

チョウ目害虫抵抗性及び  
除草剤グリホサート耐性トウモロコシ  
DAS1131 系統

令和6年12月9日

農林水産省消費・安全局農産安全管理課

# 目 次

|                                   | 頁  |
|-----------------------------------|----|
| 1. 第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論 . . . . . | 1  |
| 2. 審査の概要 . . . . .                | 2  |
| 〈審査参考資料〉                          |    |
| 資料 1. 第一種使用規程承認申請書 . . . . .      | 7  |
| 資料 2. 審査データの概要 . . . . .          | 9  |
| 資料 3. 緊急措置計画書 . . . . .           | 59 |

Most of the summaries and evaluations contained in this report are based on unpublished proprietary data submitted for registration to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan. A registration authority outside of Japan should not grant a registration on the basis of an evaluation unless it has first received authorization for such use from the owner of the data submitted to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan or has received the data on which the summaries are based, either from the owner of the data or from a second party that has obtained permission from the owner of the data for this purpose.

# 1. 第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論

コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社より、令和5年9月7日付けで承認申請のあった「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ DAS1131 系統（以下「本組換えトウモロコシ」という。）」について、申請書類を用いて審査を行った。

本組換えトウモロコシは、アグロバクテリウム（*Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*）由来のプラスミド pBin19 を基に構築されたプラスミド PHP88492 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入することで、作出されている。

また、本組換えトウモロコシには、目的遺伝子である改変 *cry1Da2* 遺伝子及び *dgt-28 epsps* 遺伝子の発現カセットを含む T-DNA 領域が、染色体上に1コピー組み込まれている。これらの目的遺伝子の発現により産生される改変 Cry1Da2 蛋白質及び DGT-28 EPSPS 蛋白質によって、それぞれチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性が本組換えトウモロコシに付与されている。

審査の概要は、本報告書の2のとおりであり、学識経験者からは、承認申請のあった第一種使用規程に従って本組換えトウモロコシを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した生物多様性影響評価書の結論は妥当であるとの意見を得ている。

この結果を踏まえ、承認申請のあった第一種使用規程に従って本組換えトウモロコシを使用した場合には、我が国における生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

## (参考) これまでの審査経緯

| 日付         | 事項                            | 備考   |
|------------|-------------------------------|------|
| 令和5年9月7日   | 第一種使用規程承認申請                   |      |
| 令和5年10月4日  | 生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第1回） | 非公開※ |
| 令和6年6月3日   | 生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第2回） | 非公開※ |
| 令和6年10月18日 | 生物多様性影響評価検討会総合検討会における審査       | 公開   |
| 令和6年11月14日 | 学識経験者からの意見提出                  |      |

※公開とすることにより、開発企業の知的財産等が開示され、特定の者に不当な利益又は不利益をもたらすおそれがあるため。

## 2. 審査の概要

本組換えトウモロコシは、アグロバクテリウム (*R. radiobacter*) 由来のプラスミド pBin19 を基に構築されたプラスミド PHP88492 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入することで、作出されている。

本組換えトウモロコシについては、

- ① 改変 *cry1Da2* 遺伝子 (*Bacillus thuringiensis* 由来の *cry1Da2* 遺伝子及び改変 *cry1Ab* 遺伝子のそれぞれ一部塩基配列を組み合わせて作製、改変 Cry1Da2 蛋白質をコード)
- ② *dgt-28 epsps* 遺伝子 (*Streptomyces sviveus* 由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素の N 末端にセイヨウナタネ (*Brassica napus*) 及びアブラナ (*B. rapa*) 由来のキメラ葉緑体輸送ペプチドを連結した DGT-28 EPSPS 蛋白質をコード)

の各発現カセットを含む T-DNA 領域が染色体上に 1 コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達されていることが、遺伝子の分離様式、Southern by Sequencing 分析及びサザンブロッティングにより確認されている。

また、目的の蛋白質 (改変 Cry1Da2 蛋白質と DGT-28 EPSPS 蛋白質) が複数世代にわたり安定して発現していることが、ELISA 法及び除草剤グリホサート耐性の有無により確認されている。

### (1) 競合における優位性

栽培作物であるトウモロコシは、栽培化の過程で自生能力を失っており、これまでに、我が国の自然環境下でトウモロコシが自生した例は報告されていない。

栽培作物を宿主とした遺伝子組換え農作物が競合における優位性を獲得するためには、まず自生能力を獲得することが必要であり、そのためには、種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要であると考えられている。

本組換えトウモロコシには、改変 Cry1Da2 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性及び DGT-28 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性が付与されているが、いずれも種子の脱粒性及び休眠性に関与する形質ではない。このことから、これらの形質が付与されることにより、栽培作物であるトウモロコシが、我が国の自然環境下で自生するようになるとは考え難い。

また、本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸特性 (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、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率) について米国のほ場において調査した結果、形態及び生育の特性における子実の含水率、花粉の長径及び収穫種子の発芽率を除き、非遺伝子組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差や差異は認められなかった。統計学的有意差が認められた調査項目のうち子実の含水率について、本組換えトウモロコシの測定値は、コルテバ・アグリサイエンスが有する商業品種

間の変動の範囲内であり、また、花粉の長径における本組換えトウモロコシの測定値も、非遺伝子組換えトウモロコシで報告されている文献値の範囲と異なるものではなかった。さらに、収穫種子の発芽率についても、本組換えトウモロコシの平均値は98.5%と高く、休眠性は認められなかった。よって、本組換えトウモロコシと非遺伝子組換えトウモロコシとの間で認められたこれらの統計学的有意差は、競合における優位性を高めるものではないと考えられる。

以上のことから、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合に、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

## (2) 有害物質の産生性

トウモロコシは、我が国に導入されて以来長期にわたって、生産、利用等されてきているが、これまでに野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

この点、本組換えトウモロコシ中で産生される改変 Cry1Da2 蛋白質と DGT-28 EPSPS 蛋白質が、野生動植物等に直接有害な影響を与えるかについて評価したところ、改変 Cry1Da2 蛋白質は、特定のチョウ目昆虫種に対して特異的な殺虫活性を示す。他方、DGT-28 EPSPS 蛋白質については、野生動植物等に対する有害性は報告されていない。

また、改変 Cry1Da2 蛋白質と DGT-28 EPSPS 蛋白質が宿主の代謝経路に作用して有害物質を産生させる可能性について評価したところ、次のとおりであった。まず、改変 Cry1Da2 蛋白質が酵素活性を有するとの報告はなく、代謝経路に作用するとは考え難い。また、酵素である DGT-28 EPSPS 蛋白質は、他の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素（EPSPS 蛋白質）と同様の基質特異性を有し、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中においてホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応すると考えられる。また、EPSPS 蛋白質は、同経路における律速酵素ではないことが示唆されており、DGT-28 EPSPS 蛋白質が芳香族アミノ酸の生成量を増加させる可能性は低い。加えて、両蛋白質の作用機作は互いに独立していることから、相互に影響する可能性は低い。よって、これらの蛋白質が宿主の代謝経路に作用して意図しない有害物質を産生するとは考え難い。

実際に、米国のほ場において後作試験、鋤込み試験及び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本組換えトウモロコシ区と非遺伝子組換えトウモロコシ区との間に統計学的有意差は認められなかった。また、これらの蛋白質は、既知アレルゲンとの間に有意な相同性を有しておらず、アレルギンを誘発する可能性は低い。

これらのことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因し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種が特定された。

チョウ目昆虫種が、本組換えトウモロコシ中で産生される改変 Cry1Da2 蛋白質に曝露される経路としては、本組換えトウモロコシ栽培時に植物体を直接摂

食する場合及び本組換えトウモロコシから栽培ほ場外に飛散し食草に付着した花粉を摂食する場合が考えられ、これらの曝露経路でチョウ目昆虫種が個体群レベルで影響を受ける可能性についてそれぞれ評価したところ、次のとおりであった。

前者の曝露経路でチョウ目昆虫種が受ける影響は、トウモロコシの慣行栽培における殺虫剤散布等の防除によって受ける影響を超えるものでないと考えられる。

他方、後者の曝露経路について、我が国に生息し絶滅危惧種又は準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫種について、生息地、生息環境及び食草の点から検討した結果、自然環境下で本組換えトウモロコシから栽培ほ場外に飛散した花粉を摂食することにより影響を受ける可能性のある100種が特定された。しかしながら、栽培ほ場外に堆積するトウモロコシの花粉量は、ほ場からの距離に応じて減少し、10 m 離れると10 粒/cm<sup>2</sup> 以下と極めて少なくなることが報告されているため、特定されたチョウ目昆虫種が、生存に影響を与え得る量の本組換えトウモロコシの花粉に継続的に曝露される可能性があるのは、ほ場周辺に限られる上、生息地や食草の点から、特定されたチョウ目昆虫種がトウモロコシ栽培ほ場周辺に局所的に生息しているとは考え難い。また、本組換えトウモロコシの栽培ほ場から飛散した花粉が、ほ場周辺に生育する食草に付着し、それを摂食した場合の改変 Cry1Da2 蛋白質の曝露濃度を推計した結果等から、ほ場周辺であっても、特定されたチョウ目昆虫種が、致死濃度の改変 Cry1Da2 蛋白質に曝露される可能性は低いと考えられる。したがって、本組換えトウモロコシから飛散した花粉により、特定されたチョウ目昆虫種が個体群レベルで影響を受ける可能性は低いと考えられる。

以上のことから、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合に、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

### (3) 交雑性

我が国において、宿主であるトウモロコシ並びにトウモロコシと交雑可能な近縁野生種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の自生は報告されていない。このため、本組換えトウモロコシの交雑性に起因して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。

以上のことから、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合に、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

### (4) 結論

以上より、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国における生物多様性影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

## 〈審查參考資料〉

チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ  
 (改変 *cry1Da2*, *dgt-28 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)  
 (DAS1131, OECD UI: DAS-Ø1131-3) の申請書等の概要

目次

|   |    |
|---|----|
| 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 .....                                 | 3  |
| 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報 .....                       | 3  |
| 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報 .....                      | 3  |
| (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況 .....                   | 3  |
| (2) 使用等の歴史及び現状 .....                                | 3  |
| (3) 生理学的及び生態学的特性 .....                              | 5  |
| 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 .....                         | 8  |
| (1) 供与核酸に関する情報 .....                                | 8  |
| (2) ベクターに関する情報 .....                                | 16 |
| (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法 .....                            | 17 |
| (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 .....          | 19 |
| (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 .....         | 22 |
| (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 .....                      | 22 |
| 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 .....                         | 27 |
| (1) 使用等の内容 .....                                    | 27 |
| (2) 使用等の方法 .....                                    | 27 |
| (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 .....       | 27 |
| (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 .....  | 27 |
| (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 ..... | 27 |
| (6) 国外における使用等に関する情報 .....                           | 27 |
| 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 .....                            | 29 |
| 1 競合における優位性 .....                                   | 29 |
| 2 有害物質の産生性 .....                                    | 30 |
| 3 交雑性 .....   | 43 |
| 4 その他の性質 .....                                      | 44 |
| 第三 生物多様性影響の総合的評価 .....                              | 45 |
| 参考文献 .....  | 47 |
| 緊急措置計画書 .....                                       | 53 |
| 添付資料 .....  | 55 |

# 資料 1

## 第一種使用規程承認申請書

5

令和 5 年 9 月 7 日

農林水産大臣 野村 哲郎 殿

環 境 大 臣 西村 明宏 殿

10

氏名 コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社  
申請者 代表取締役社長 野村 真一郎  
住所 東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

15

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。

20

25

30

35

|                         |   |
|-------------------------|---|
| 遺伝子組換え生物等の<br>種類の名称     | チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ (改変 <i>cry1Da2</i> , <i>dgt-28 epsps</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) <i>Ilitis</i> ) (DAS1131, OECD UI: DAS-Ø1131-3) |
| 遺伝子組換え生物等の<br>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<br>第一種使用等の方法 | —   |

### 生物多様性影響評価書の概要

#### 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：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

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、系統名は B104-DAS である。

20

###### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

トウモロコシの野生種と見られる植物は現存せず (山田, 2001)、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。

25

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 (OECD, 2003)。テオシントとトリプサクムはメキシコとグアテマラ等に広範囲に自生しており、トリプサクムはさらに米国東部、南部から南米でも認められている (山田, 2001、OECD, 2003)。

30

我が国の自然環境下において、トウモロコシ及びその近縁種の自生について報告はない。

###### (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 (OECD, 2003)。考古学的検証に基づくと、最初にトウモロコシの利用が始まったのは紀元前 7000~5000 年頃であり、紀元前 3400 年頃には栽培が始まったと考えられている (戸澤, 2005)。また、南北アメリカ大陸の各地に伝播して栽培される過程で、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 (山田, 2001、戸澤, 2005)。1492 年のコロンブスの

40

アメリカ大陸到達後、コロンブスによってスペインを通じてヨーロッパに導入され、その後、中東、アフリカ及びアジアの各地域に伝播した。

5 我が国へは 1573～1591 年頃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、主に関東以南の山間地で栽培が行われていた。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（戸澤, 2005）。

## ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

### 10 ・主たる栽培地域

現在、トウモロコシは、北緯 58 度から南緯 40 度に至る範囲で栽培可能であり、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、全世界で広く栽培されている（戸澤, 2005、OECD, 2003）。

15 国連食糧農業機関（FAO）によると、2016 年における全世界のトウモロコシの栽培面積は約 1 億 9 千万 ha であり、上位国は、中国 3,898 万 ha、米国 3,511 万 ha、ブラジル 1,496 万 ha、インド 1,020 万 ha、メキシコ 760 万 ha である（FAO, 2018）。

20 現在、我が国で栽培されているトウモロコシは、統計上、飼料用青刈りデントコーンと生食用スイートコーンがあり、2017 年の青刈りデントコーンの作付面積は約 9 万 4,800ha で（農林水産省, 2018a）、同年のスイートコーンの作付面積は約 2 万 2,700ha である（農林水産省, 2018b）。

### ・栽培方法

25 海外では、米国をはじめとする主要栽培国において、大型機械を利用した大規模栽培が行われている。

一方、我が国では、飼料用トウモロコシを中心に栽培が行われており、慣行栽培法は次のとおりである。

30 北海道から九州に至る慣行播種期は 4 月中～下旬から 5 月中～下旬が最も多い。適正栽植密度は 10a あたり 6,000～8,000 本である。中耕、除草、土寄せは一連の作業で行い、生育初期に 2～3 回行う。収穫期は 9 月下旬から 10 月下旬で、関東や西南暖地ではやや早く、北海道や東北、東山ではやや遅い（瀧澤, 2001）。

35 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、栽培用として市販されているトウモロコシ種子のほとんどは、海外から輸入された一代雑種（F<sub>1</sub>）品種であり、収穫種子を翌年に栽培用として播種することは一般的でない。

### ・流通実態及び用途

40 世界第一のトウモロコシ生産国である米国では、その大部分がアイオワ州、イリノイ州、ネブラスカ州及びミネソタ州を中心としたコーンベルトと呼ばれる地域で栽培されている。2017 年における米国でのトウモロコシの利用用途の内訳は、46.3%が飼料（8.7%の蒸留粕を含む）、30.1%がエタノール製造、13.5%が輸出で、残りはコーンシロップ等の食品製造であった（NCGA, 2018）。

我が国では、2017 年に約 1,531 万トンのトウモロコシを輸入している。輸入トウモロコシのうちの約 1,037 万トンは飼料用であり、残りは食品・工業用及び栽

培用と考えられる（財務省, 2018）。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（農林水産省, 2018c）。

また、飼料用トウモロコシは、発芽可能な状態で輸入されるものが多いが、加熱・圧ぺんすること等が関税制度の下、義務づけられている（農林水産省, 2014）。

5

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

10 —

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

15 トウモロコシは、長い年月の間に栽培植物として馴化された結果、自然条件下における自生能力を失った作物である（OECD, 2003）。

トウモロコシ種子の発芽の最低温度は10～11℃、最適温度は33℃とされている。実際に播種されるのは13～14℃以上である（中村, 2001）。

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（瀧澤, 2001）。

20 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（日長反応性）は晩生種ほど敏感で、早生品種ほど鈍感である（柿本ら, 2001）。

これら温度条件等の他、トウモロコシは吸水により種子重が乾燥重の1.6～2.0倍になったときに幼根（初生根又は種子根）が抽出し、子実発芽となる（戸澤, 2005）。

25 また、トウモロコシの栽培は腐植に富む土壌が適し、pH5.0～8.0の範囲で栽培可能である（戸澤, 2005）。

#### ハ 捕食性又は寄生性

30 —

#### 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

35 完熟した種子は雌穂の苞皮で覆われており、脱粒しない。

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、自然条件下における自生能力を失っており、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（OECD, 2003）。

40 種子の休眠性は知られていない。種子の寿命は、主に温度と湿度によって左右され、低温乾燥下では長く、高温多湿下では短い（戸澤, 2005）。氷点下の気温は種子の発芽に悪影響を与え、トウモロコシ種子生産に影響を及ぼす主要な要因となっている。また、45℃以上の気温も種子の発芽に悪影響を及ぼすことが報告されている（Wych, 1988）。

さらに、収穫時に雌穂又は種子が地上に落下しても、土壌温度が 10°C に達し、適度な水分条件を伴うまで発芽しないため、その多くが自然状態では腐敗し枯死する（菊池, 1987、中村, 2001）。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°C 以下の外気にさらされると生存できない（OECD, 2003）。子実の活力を 6~8 年保存するには、子実水分 12%、温度 10°C、相対湿度 55% 以内に保つことが必要である（中村, 2001、OECD, 2003）。

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

トウモロコシは栄養繁殖せず、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

トウモロコシは雌雄同株植物の一年生作物で、主として風媒によって受粉する作物であり 95~99% は他家受粉によって作られた種子により繁殖するが、自家不和合性は知られておらず、自家受粉も可能である（千藤, 2001、OECD, 2003）。

トウモロコシと交雑可能なのは、同じ *Z. mays* 種に含まれトウモロコシの近縁野生種である一年生のテオシント (*Z. mays* subsp. *mexicana*) 及び *Tripsacum* 属である。トウモロコシとテオシントは近接している場合に自由に交雑するが、*Tripsacum* 属との交雑は非常に稀である（OECD, 2003）。テオシントはメキシコからグアテマラにかけて分布しており、*Tripsacum* 属の分布地域は北アメリカ東部、南部から南米となっている（山田, 2001、OECD, 2003）。

なお、我が国におけるトウモロコシと交雑可能なテオシント及び *Tripsacum* 属の野生種の自生について報告はない。また、受精を伴わない繁殖能力を有する種子の生産（アポミクシス）についての報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

トウモロコシは雌雄異花序で、雌花は葉腋について 1~3 本の雌穂を形成し、雌穂は茎の先端につく（柿本ら, 2001、OECD, 2003）。雄穂は抽出すると 3~5 日で開花し、開花始めから終わりまでの期間は盛夏で一般に 8~9 日である（中村, 2001）。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、抽出始めから抽出揃いまでの期間は 5~6 日である（中村, 2001）。一本の雄穂には 1,200~2,000 個の小穂があり、一雄穂当たりの花粉の生産量は、約 1,800 万粒とされている（OECD, 2003）。

花粉の稔性は花粉の充実度を観察することで推定できる（西尾, 2002）。

花粉の形状は球形で、直径は 90~120  $\mu\text{m}$  程度である（中村, 2001）。

受粉は主に風媒によって行われ、ほとんどの場合は他家受粉である（戸澤, 2005）。他品種、系統の花粉の混入を防ぐための隔離距離は、林、高層建築物などの障害物の有無などにより異なるものの、200~400 m とされている（千藤,

2001)。

我が国でのトウモロコシほ場周辺におけるヒマワリ (*Helianthus annuus*) 及びイヌホオズキ (*Solanum nigrum*) 葉へのトウモロコシの花粉の堆積密度を調査した研究では、ほ場の縁 (0 m) での最大花粉堆積密度はヒマワリの葉で 81.7 粒/cm<sup>2</sup>、  
5 イヌホオズキの葉では 71.1 粒/cm<sup>2</sup>であった (Shirai and Takahashi, 2005)。また、ほ場から 5 m 離れた場合の最大堆積密度は、ヒマワリの葉で 19.6 粒/cm<sup>2</sup>、イヌホオズキの葉では 22.2 粒/cm<sup>2</sup>、ほ場から 10 m 離れた場合はヒマワリの葉で 10 粒/cm<sup>2</sup>以内であった (Shirai and Takahashi, 2005)。

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 (Pleasants *et al.*, 2001)。調査の結果、トウモロコシ畑から 1 m、2 m、4~5 m 離れるにつれて、花粉の平均堆積密度は 35.4 粒/cm<sup>2</sup>、14.2 粒/cm<sup>2</sup>、そして 8.1 粒/cm<sup>2</sup>へと減少していくことが明らかとなっている。

花粉の寿命は通常 10~30 分であるが、好適条件下ではさらに長い (CFIA, 2012)。平均的な花粉は大気中に飛散した 2 時間後にはその発芽能力を 100 %失うという報告もある (Luna *et al.*, 2001)。

ホ 病原性

—

ヘ 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。

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の、我が国の畑以外での生育については、2013 年に熊本県内の港湾周辺で 1 個体、2015 年に鹿児島県内の港湾周辺で 1 個体の計 2 個体報告されている (農林水産省, 2014、農林水産省, 2017)。

## 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

### (1) 供与核酸に関する情報

#### 5 イ 構成及び構成要素の由来

10 チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ（改変 *cry1Da2*, *dgt-28 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DAS1131, OECD UI: DAS-Ø1131-3) (以下「本組換えトウモロコシ」という。)における供与核酸の構成及び構成要素の由来を表 1 (9 ページ) に示した。また、その供与核酸の塩基配列を添付資料 1 の Appendix A に示した。

#### ロ 構成要素の機能

15 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

20 本組換えトウモロコシの作出に用いた核酸のうち、供与核酸の構成要素それぞれの機能を表 1 (9 ページ) に示した。また、供与核酸を除く外側骨格領域の構成要素それぞれの機能を表 2 (11 ページ) に示した。

表 1 本組換えトウモロコシの作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能

| 構成要素                        | サイズ (bp)                 | 由来及び機能  |
|-----------------------------|--------------------------|---|
| その他                         | Right Border (RB)        | 24<br>アグロバクテリウム ( <i>Rhizobium radiobacter</i> ( <i>Agrobacterium tumefaciens</i> )) 由来のオクトピン型Tiプラスミド (pTi) のT-DNA領域の右側境界領域 (GenBank accession AF242881.1、Komari <i>et al.</i> , 1996)。 |
|                             | Ti Plasmid Region        | 108<br>アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) のpTi由来の配列 (GenBank accession AF242881.1、Komari <i>et al.</i> , 1996)。   |
|                             | <i>attB1</i>             | 24<br>バクテリオファージλ由来のインテグラーゼ認識組換え部位 (Invitrogen Gateway <sup>®</sup> クローニングシステム; Hartley <i>et al.</i> , 2000、Katzen, 2007)。  |
| 改変 <i>cry1Da2</i> 遺伝子発現カセット | <i>ubiZM1</i> Promoter   | 895<br>トウモロコシ ( <i>Zea mays</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子のプロモーター領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。植物体内での構成的発現を誘導する。   |
|                             | <i>ubiZM1</i> 5' UTR     | 83<br>トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子の5' 非翻訳領域 (UTR) (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。  |
|                             | <i>ubiZM1</i> Intron     | 1,016<br>トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子のイントロン領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。  |
|                             | 改変 <i>cry1Da2</i>        | 1,812<br>改変Cry1Da2蛋白質をコードする遺伝子。 <i>Bacillus thuringiensis</i> の <i>cry1Da2</i> 遺伝子に由来するコア蛋白質コード領域とC末端側の改変 <i>cry1Ab</i> 遺伝子の小断片からなる (US Patent 9890390 [Tan <i>et al.</i> , 2018])。     |
|                             | <i>ubiZM1</i> Terminator | 910<br>トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子のターミネーター領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992、US Patent 9688996 [Kumar <i>et al.</i> , 2017])。   |
| その他                         | <i>attB2</i>             | 24<br>バクテリオファージλ由来のインテグラーゼ認識組換え部位 (Invitrogen Gateway <sup>®</sup> クローニングシステム; Hartley <i>et al.</i> , 2000、Katzen, 2007)。  |
|                             | ELP1 Region 1            | 1,000<br>挿入標的配列領域 (Engineered landing pad) (US Patent 10160975 [Ainley <i>et al.</i> , 2018])。  |
|                             | ZFN                      | 34<br>ジンクフィンガーヌクレアーゼ標的配列 (Ainley <i>et al.</i> , 2013)。   |
|                             | ZFN                      | 34<br>ジンクフィンガーヌクレアーゼ標的配列 (Ainley <i>et al.</i> , 2013)。   |
|                             | ELP1 Region 2            | 1,000<br>挿入標的配列領域 (Engineered landing pad) (US Patent 10160975 [Ainley <i>et al.</i> , 2018])。  |
|                             | ZFN                      | 37<br>ジンクフィンガーヌクレアーゼ標的配列 (Ainley <i>et al.</i> , 2013)。   |

表 1 本組換えトウモロコシの作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能（続き）

| 構成要素                     | サイズ<br>(bp)            | 由来及び機能   |  |
|--------------------------|------------------------|--|--|
| dgt-28 epsps 遺伝子発現カセット   | <i>ubiZM1</i> Promoter | 895  | トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子のプロモーター領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。植物体内での構成的発現を誘導する。  |
|                          | <i>ubiZM1</i> 5' UTR   | 83   | トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子の5' 非翻訳領域 (UTR) (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。   |
|                          | <i>ubiZM1</i> Intron   | 1,016  | トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子のイントロン領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。  |
|                          | <i>dgt-28 epsps</i>    | 1,446  | <i>Streptomyces sviveus</i> 由来の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) をコードする遺伝子に <i>Brassica napus</i> 及び <i>Brassica rapa</i> 由来のキメラ葉緑体輸送ペプチド (TraP8) をコードする配列が連結されている (WO Patent 2013116700 [Lira <i>et al.</i> , 2013], Griffin <i>et al.</i> , 2021)。トウモロコシでの発現を最適化するため塩基配列が改変されている。 |
| <i>ubiZM1</i> Terminator | 910                    | トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子のターミネーター領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992、US Patent 9688996 [Kumar <i>et al.</i> , 2017])。 |  |
| その他                      | ZFN                    | 37   | ジンクフィンガーヌクレアーゼ標的配列 (Ainley <i>et al.</i> , 2013)。  |
|                          | Left Border (LB)       | 24   | アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) 由来の pTi の T-DNA 領域の左側境界領域 (GenBank accession AF242881.1、Komari <i>et al.</i> , 1996)。   |
|                          | Left Border (LB)       | 25   | アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) 由来の pTi の T-DNA 領域の左側境界領域 (GenBank accession AF242881.1、Komari <i>et al.</i> , 1996)。   |
|                          | Ti Plasmid Region      | 263  | アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) の pTi 由来の配列 (GenBank accession AF242881.1、Komari <i>et al.</i> , 1996)。   |
|                          | Left Border (LB)       | 25   | アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) 由来の pTi の T-DNA 領域の左側境界領域 (GenBank accession AF242881.1、Komari <i>et al.</i> , 1996)。   |

表 2 本組換えトウモロコシの作出に用いた核酸のうち外側骨格領域の構成並びにその構成要素の由来及び機能

| 構成要素 | サイズ<br>(bp)       | 由来及び機能  |
|------|-------------------|---|
| その他  | <i>oriV</i>       | 710 細菌由来の DNA 複製起点 (Komari <i>et al.</i> , 1996)。   |
|      | <i>oriT</i>       | 112 細菌由来の DNA 伝達起点 (Komari <i>et al.</i> , 1996)。   |
|      | <i>trfA</i>       | 1,149 細菌由来のトランス作用複製因子の遺伝子 (Komari <i>et al.</i> , 1996)。  |
|      | <i>spc</i>        | 789 細菌由来のスペクチノマイシン耐性マーカー遺伝子 (Fling <i>et al.</i> , 1985)。   |
|      | Ti Plasmid Region | 109 アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) 由来の octopine 型 Ti プラスミド (pTi) の配列 (GenBank Accession AF242881.1; Komari <i>et al.</i> , 1996)。 |
|      | Overdrive         | 24 アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) 由来の pTi の T-DNA 移行エンハンサー領域 (Peralta <i>et al.</i> , 1986)。                                      |
|      | Ti Plasmid Region | 14 アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) 由来の pTi の配列 (GenBank Accession AF242881.1; Komari <i>et al.</i> , 1996)。                        |

- 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

5 a. 目的遺伝子の発現により産生される蛋白質の機能

本組換えトウモロコシには、改変 *cry1Da2* 遺伝子及び *dgt-28 epsps* 遺伝子が導入されている。以下に、各遺伝子がコードする蛋白質の機能を記載した。

10 改変 Cry1Da2 蛋白質

Cry1Da2 蛋白質は Cry1 ファミリーに属する Cry 蛋白質である。Cry 蛋白質は *B. thuringiensis* に由来する殺虫蛋白質 (Bt 蛋白質) であり、感受性のある昆虫に摂食されると腸管内のプロテアーゼにより C 末端側領域が消化され、殺虫活性のあるコア蛋白質となる。コア蛋白質は中腸上皮細胞膜上にある特異的受容体と結合し、中腸組織を損傷させることにより殺虫活性を発揮する (OECD, 2007)。Cry 蛋白質のうち、Cry1 ファミリーに属する蛋白質は一般的にチョウ目昆虫に特異的な殺虫活性を示し、その殺虫活性を担うコア蛋白質は 3 つのドメイン (ドメイン I~ドメイン III) からなる (de Maagd *et al.*, 2001; OECD, 2007)。

20 改変 Cry1Da2 蛋白質は Cry1Da2 蛋白質に由来するコア蛋白質と C 末端側の改変 Cry1Ab 蛋白質由来の小断片から構成されており (図 1、12 ページ)、標的である *Spodoptera frugiperda* (ツマジロクサヨトウ) 等の特定のチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。

25



図 1 改変 Cry1Da2 蛋白質の模式図

30

5 改変 Cry1Da2 蛋白質の殺虫スペクトルを確認するため、生物検定を実施した。生物検定においては、トウモロコシ栽培における害虫である *S. frugiperda* 等のチョウ目昆虫及びその他の目に属する生物種に、改変 Cry1Da2 蛋白質をあらかじめ定めた期間中混餌投与し、各生物種の生存率を調査した。その結果、特定のチョウ目昆虫には改変 Cry1Da2 蛋白質に対する感受性が認められた（表 3、14 ページ；添付資料 2 の Table1、27 ページ）。一方、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目及びトビムシ目に属する生物種については、試験に用いた改変 Cry1Da2 蛋白質の最大濃度においても影響は認められなかった（表 3、14 ページ；添付資料 2 の Table1 及び Table2、27 及び 28 ページ）。

10 以上のことから、改変 Cry1Da2 蛋白質は、特定のチョウ目昆虫に特異的な殺虫活性を示すことが確認された。

表 3 改変 Cry1Da2 蛋白質の殺虫スペクトル

| 目                          | 科                        | 種                             | 影響濃度<br>(ppm)                             |
|----------------------------|--------------------------|-------------------------------|---|
| Lepidoptera<br>(チョウ目)      | Noctuidae<br>(ヤガ科)       | <i>Trichoplusia ni</i>        | LC <sub>50</sub> = 0.22<br>(0.12 – 0.33)  |
|                            |                          | <i>Chrysodeixis includens</i> | LC <sub>50</sub> = 3.4<br>(2.6 – 4.2)     |
|                            |                          | <i>Spodoptera frugiperda</i>  | LC <sub>50</sub> = 4.3<br>(3.1 – 5.6)     |
|                            |                          | <i>Helicoverpa zea</i>        | LC <sub>50</sub> = 5.1<br>(3.0 – 7.2)     |
|                            | Nymphalidae<br>(タテハチョウ科) | <i>Vanessa cardui</i>         | LC <sub>50</sub> = 2.0<br>(0.33 – 3.7)    |
|                            | Crambidae<br>(ツトガ科)      | <i>Diatraea saccharalis</i>   | NOEC > 3,000                              |
|                            |                          | <i>Diatraea grandiosella</i>  | NOEC > 3,000                              |
|                            |                          | <i>Ostrinia nubilalis</i>     | NOEC > 3,000                              |
|                            | Erebidae<br>(トモエガ科)      | <i>Anticarsia gemmatalis</i>  | NOEC > 3,000                              |
|                            | Coleoptera<br>(コウチュウ目)   | Chrysomelidae<br>(ハムシ科)       | <i>Diabrotica virgifera<br/>virgifera</i> |
| Staphylinidae<br>(ハネカクシ科)  |                          | <i>Dalotia coriaria</i>       | NOEC > 1,000                              |
| Coccinellidae<br>(テントウムシ科) |                          | <i>Coleomegilla maculata</i>  | NOEC > 1,000                              |
| Hymenoptera<br>(ハチ目)       | Apidae<br>(ミツバチ科)        | <i>Apis mellifera</i> (幼虫)    | NOEC > 1,250<br>(ng/larva)                |
|                            |                          | <i>Apis mellifera</i> (成虫)    | NOEC > 1,700<br>(ng/bee/day)              |
|                            | Eulophidae<br>(ヒメコバチ科)   | <i>Pediobius foveolatus</i>   | NOEC > 1,000                              |
| Neuroptera<br>(アミメカゲロウ目)   | Chrysopidae<br>(クサカゲロウ科) | <i>Chrysoperla rufilabris</i> | NOEC > 1,000                              |
| Collembola<br>(トビムシ目)      | Isotomidae<br>(ツチトビムシ科)  | <i>Folsomia candida</i>       | NOEC > 1,000                              |

LC<sub>50</sub> : 半数致死濃度。括弧内は 95%信頼区間。

NOEC : 無影響濃度。生存率に影響を生じなかった濃度の最大値。試験に用いた最大濃度でも影響が認められなかった場合は不等号 (>) により示した。

5

## DGT-28 EPSPS 蛋白質

DGT-28 EPSPS 蛋白質は 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(以下「EPSPS 蛋白質」という。)である。EPSPS 蛋白質は、植物及び微生物において、芳香族アミノ酸、ビタミン及び多くの二次代謝産物の生合成に  
5 関与している。植物の EPSPS 蛋白質は色素体内に局在しており、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素として、ホスホエノールピルビン酸と 3-ホスホシキミ酸を縮合して 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸を生成する。EPSPS 蛋白質は、その基質であるホスホエノールピルビン酸及び 3-ホスホシキミ酸に対して特異性がある (OECD, 1999)。

10 除草剤グリホサートは EPSPS 蛋白質の可逆的競合阻害剤であり、芳香族アミノ酸の合成を妨げることにより植物を枯死させる。本組換えトウモロコシにおいて産生される DGT-28 EPSPS 蛋白質は、元より除草剤グリホサートに対して感受性を持たない *S. sviveus* 由来の EPSPS 蛋白質であり、除草剤グリホサート存在下でもシキミ酸合成経路を機能させることにより、植物に除草剤グリ  
15 ホサートに対する耐性を付与する (Griffin *et al.*, 2021)。

また、トウモロコシでの発現を最適化するため *dgt-28 epsps* 遺伝子の塩基配列が改変されているが、産生される DGT-28 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列に変化はない。また、DGT-28 EPSPS 蛋白質の N 末端には、*B. napus* 及び *B. rapa* 由来の葉緑体輸送ペプチドが連結されている (Lira *et al.*, 2013)。

20 b. 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の相同性

Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE) データベース <sup>1)</sup> (2021 年 1 月版) を用いてアミノ酸配列相同性検索を行った。その結果、改変  
25 Cry1Da2 蛋白質及び DGT-28 EPSPS 蛋白質と相同性を有する既知アレルギーンは認められなかった (添付資料 3 及び添付資料 4)。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

30 改変 Cry1Da2 蛋白質は Bt 蛋白質である。Bt 蛋白質の機能についてはこれまでに多くの研究がなされているが (OECD, 2007)、酵素活性を有するとの報告はない。

EPSPS 蛋白質は、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中においてホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応する酵素である  
35 (OECD, 1999)。他方、DGT-28 EPSPS 蛋白質は、除草剤グリホサートに非感受性であることを除き、構造的にも機能的にも他の EPSPS 蛋白質と類似しており、同一の作用機作を有する (Griffin *et al.*, 2021)。したがって、DGT-28 EPSPS 蛋白質は他の EPSPS 蛋白質と同様の基質特異性を有し、シキミ酸経路中においてホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応すると考えら  
40 れる。

---

<sup>1)</sup> Health and Environmental Science Institute (HESI) 及び Protein Allergens, Toxins, and Bioinformatics (PATB) Committee によるデータベース (<http://comparedatabase.org>)。

なお、EPSPS 蛋白質はシキミ酸経路における律速酵素ではないと示唆されており (Weiss and Edwards, 1980 ; Herrmann, 1983)、通常の 40 倍の EPSPS 蛋白質を生成する植物培養細胞においても最終生成物の芳香族アミノ酸の過剰な生成は認められていない (Smart *et al.*, 1985)。よって、DGT-28 EPSPS 蛋白質の産生により、芳香族アミノ酸の生成量が増加する可能性は低い。

これらのことから、DGT-28 EPSPS 蛋白質の産生により宿主の代謝系が変化する可能性は低いと考えられた。

さらに、改変 Cry1Da2 蛋白質及び DGT-28 EPSPS 蛋白質それぞれの作用機作は独立していることから、相互に影響する可能性は低い。

以上のことから、これらの蛋白質が宿主の持つ代謝系を変化させる可能性は低いと考えられた。

## (2) ベクターに関する情報

### イ 名称及び由来

本組換えトウモロコシの作出に用いたベクターはプラスミド PHP88492 であり (図 2、17 ページ)、アグロバクテリウム (*R. radiobacter* (*A. tumefaciens*)) 由来のプラスミド pBin19 から作製された。

### ロ 特性

#### ① ベクターの塩基数及び塩基配列

プラスミド PHP88492 の塩基数は 18,024 bp であり、T-DNA 領域の塩基数は 12,664 bp である。

#### ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

プラスミド PHP88492 の外側骨格領域には、選抜マーカーとして抗生物質スペクチノマイシン耐性 (*spc*) 遺伝子が含まれる。*spc* 遺伝子は、微生物を用いてプラスミド PHP88492 を増殖させる際の選抜マーカーとして機能する。

なお、*spc* 遺伝子を含む外側骨格領域が本組換えトウモロコシの染色体に挿入されていないことは、T<sub>1</sub> 世代 (図 3、18 ページ) における塩基配列解析により確認した (第一. 2. (4) .②、19 ページ)。

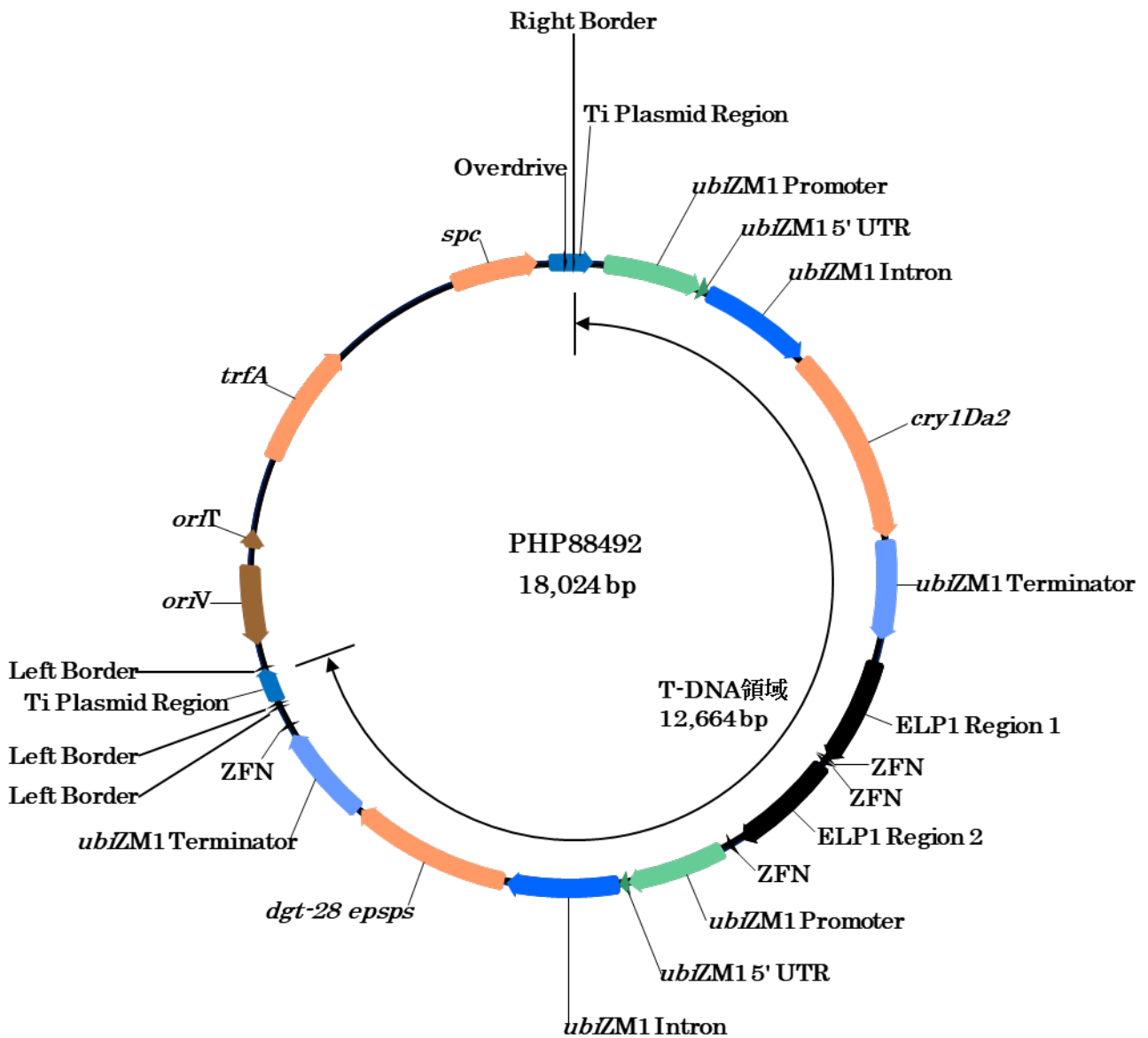
#### ③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

プラスミド PHP88492 には感染を可能とする配列は含まれておらず、感染性はない。

(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

5 本組換えトウモロコシの作出に用いたプラスミド PHP88492 における供与核酸の構成を図 2 (17 ページ) に示した。



10 図 2 プラスミド PHP88492 における供与核酸の構成  
供与核酸は PHP88492 の T-DNA 領域である。

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は、アグロバクテリウム法を用いた。

5 ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜方法

10 核酸が移入された細胞は、除草剤グリホサートを添加した培地で胚を生育させることにより選抜した。

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

15 上述①の培地にカルベニシリンを添加し、アグロバクテリウムを除去した。さらに、本組換えトウモロコシの T<sub>1</sub> 世代の種子から抽出した DNA 中にプラスミド PHP88492 の外側骨格領域は認められず、アグロバクテリウムの菌体の残存はないと考えられた（添付資料 5）。

20 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

25 本組換えトウモロコシの育成経過は図 3（18 ページ）のとおりであり、本図中に、該当する系統及び本申請における承認対象の範囲を示した。承認対象の範囲は、T<sub>1</sub> 世代以降である。

（社外秘情報につき非開示）

30

図 3 本組換えトウモロコシの育成経過

(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 移入した核酸は、植物染色体に取り込まれると、メンデルの法則に従い分離する。本組換えトウモロコシに移入された核酸の複製物の分離比を検討するため、BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>\*<sup>1</sup>、BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>\*<sup>2</sup>、T<sub>2</sub>、T<sub>4</sub>及びT<sub>6</sub>の5世代(図3、18ページ)の葉からそれぞれゲノムDNAを抽出し、リアルタイムPCR法により分析した(添付資料6)。分析には、各導入遺伝子特異的プライマーペアを用い、改変 *cry1Da2* 遺伝子及び *dgt-28 epsps* 遺伝子の移入の有無を確認した。その結果、いずれの世代における分離比も、メンデルの法則に従った場合に期待される分離比に適合したことから(表4、19ページ)、本組換えトウモロコシに移入された核酸の複製物が染色体上に存在することが確認された。

15 表4 本組換えトウモロコシに移入された核酸の複製物の分離比

| 世代  | 分析個体数 | 分離比の期待値 | 分析結果             |                  | P値 <sup>3)</sup> |
|---|-------|---------|------------------|------------------|------------------|
|   |       | 陽性：陰性   | 陽性 <sup>1)</sup> | 陰性 <sup>2)</sup> |                  |
| BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> * <sup>1</sup> | 100   | 1：1     | 52               | 48               | 0.6892           |
| BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> * <sup>2</sup> | 100   | 1：1     | 53               | 47               | 0.5485           |
| T <sub>2</sub>                                | 100   | 3：1     | 70               | 30               | 0.2482           |
| T <sub>4</sub> <sup>4)</sup>                  | 100   | 1：0     | 100              | 0                | -                |
| T <sub>6</sub> <sup>4)</sup>                  | 100   | 1：0     | 100              | 0                | -                |

- 1) 改変 *cry1Da* 遺伝子及び *dgt-28 epsps* 遺伝子のいずれも検出された個体数。  
 2) 上記のいずれも検出されなかった個体数。  
 3) カイ二乗検定。P値が0.05未満の場合、統計学的有意差有り。  
 4) ホモ接合体。

20 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

25 本組換えトウモロコシにおける導入遺伝子のコピー数及び完全性並びに外側骨格領域の有無を、Southern by Sequencing (SbS) 分析により調べた(添付資料7; Brink *et al.*, 2019; Zastrow-Hayes *et al.*, 2015)。

30 プラスミド由来のDNAがゲノムDNAに挿入されると、両者の間に特異的な接合部位が生じる。SbS分析においては、宿主に導入されたプラスミドの塩基配列と相同な配列を含むゲノムDNAを選択的に濃縮し、塩基配列解析を行うことにより、ゲノムDNAに挿入された配列及び特異的な接合部位を特定する。本組換えトウモロコシにPHP88492のT-DNA領域が意図したとおり1コピー挿入された場合には、SbS分析によりT-DNA領域が検出されるとともに、ゲノムDNAとの接合部位がT-DNA領域の5'末端及び3'末端にそれぞれ1か所、計2か所特定されることが想定される。

35 本組換えトウモロコシのSbS分析においては、まずT<sub>1</sub>世代(図3、18ページ)

の葉から抽出した全ゲノム DNA を断片化し、ライブラリーを作成した。次に、作成したライブラリーから、導入用プラスミド PHP88492 の全塩基配列を網羅するキャプチャープローブとハイブリダイズするゲノム DNA 断片を選択的に濃縮した。さらに、濃縮されたゲノム DNA 断片の塩基配列を解析し、T-DNA 領域、  
5 PHP88492 の全塩基配列及び宿主ゲノムの塩基配列と照合した。

その結果、供試した T<sub>1</sub> 世代 10 個体のうち 6 個体が PHP88492 由来の DNA を含む組換え体であった。組換え体 6 個体のいずれについても PHP88492 由来の配列として完全長の T-DNA 領域の配列のみが検出された（添付資料 5 の Figure 6 ~Figure 11；平均カバレッジ深度 2,449~4,318）。また、いずれの組換え体についても T-DNA 領域の 5' 末端及び 3' 末端と宿主ゲノム DNA との接合領域がそれぞれ 1 か所特定された。このことから、本組換えトウモロコシの T<sub>1</sub> 世代のゲノム DNA には、PHP88492 由来の挿入 DNA 領域が意図したとおり 1 コピー挿入されており、完全長の改変 *cry1Da2* 遺伝子発現カセット及び *dgt-28 epsps* 遺伝子発現カセットがそれぞれ 1 コピー含まれていることが確認された。  
10

さらに、いずれの組換え体についても PHP88492 由来の配列とゲノム DNA との意図しない接合部位は認められなかったことから、PHP88492 の外側骨格領域がゲノム DNA に挿入されていないことが確認された。  
15

また、各導入遺伝子の配列をプローブとしたサザンブロット分析を、T<sub>1</sub>、T<sub>2</sub>、T<sub>3</sub>、T<sub>4</sub> 及び T<sub>6</sub> の 5 世代（図 3、18 ページ）において実施した結果、移入された核酸の複製物が複数世代にわたり安定して伝達されていることが確認された（添付資料 8）。  
20

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  
25

—

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  
30

本組換えトウモロコシにおける改変 *Cry1Da2* 蛋白質及び *DGT-28 EPSPS* 蛋白質の産生量を ELISA 法により分析した（表 5、21 ページ；添付資料 9 及び添付資料 10）。分析には、2021 年に米国の温室で栽培した本組換えトウモロコシの BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>\*<sup>1</sup> 世代及び BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>\*<sup>2</sup> 世代（図 3、18 ページ）の 9 葉期の葉並びに 2020 年に北米 6 ヲ所（米国のイリノイ州、ネブラスカ州及びテキサス州各 1 か所、アイオワ州 2 か所並びにカナダのオンタリオ州 1 か所）のほ場で栽培した F<sub>1</sub>\*<sup>3</sup> 世代（図 3、18 ページ）の 9 葉期の葉、9 葉期の根、絹糸抽出期の花粉及び成熟期の子実を用いた。  
35

その結果、改変 *Cry1Da2* 蛋白質の産生は、試験に供した個体のいずれの組織においても確認された。また、改変 *Cry1Da2* 蛋白質が世代間で安定して産生されることが、各世代の 9 葉期の葉における産生量により確認された。一方、*DGT-28 EPSPS* 蛋白質の産生量は、9 葉期の葉又は絹糸抽出期の花粉の一部において定量  
40

下限値未満であった。しかしながら、(6) の①において具体的に示した特性である除草剤グリホサート耐性の有無を確認した結果、試験に供した 5 世代の本組換えトウモロコシの全ての個体に除草剤グリホサート耐性が付与されていることが確認された (第一.2. (6) .①、22 ページ)。このことから、DGT-28 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性は、個体間及び世代間で安定して発現していると考えられた。

5

表 5 本組換えトウモロコシにおける各蛋白質の産生量  
(ng / mg 乾物重)

10

| 遺伝子産物                | 世代 <sup>1)</sup>                             | 採取部位             | 定量下限値 | 平均値 ± 標準偏差<br>(最小値 - 最大値) |
|----------------------|--|------------------|-------|---------------------------|
| 改変<br>Cry1Da2<br>蛋白質 | BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> <sup>*1</sup> | 葉                | 0.27  | 50 ± 10<br>(41 - 66)      |
|                      | BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> <sup>*2</sup> | 葉                | 0.27  | 53 ± 5.2<br>(47 - 60)     |
|                      | F <sub>1</sub> <sup>*3</sup>                 | 葉                | 0.27  | 32 ± 7.5<br>(21 - 49)     |
|                      |  | 根                | 0.14  | 29 ± 6.8<br>(19 - 42)     |
|                      |  | 花粉               | 0.54  | 41 ± 4.1<br>(34 - 53)     |
|                      |  | 子実               | 0.14  | 8.1 ± 2.2<br>(4.2 - 12)   |
| DGT-28 EPSPS<br>蛋白質  | BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> <sup>*1</sup> | 葉                | 22    | 120 ± 24<br>(110 - 160)   |
|                      | BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> <sup>*2</sup> | 葉                | 22    | 88 ± 20<br>(66 - 110)     |
|                      | F <sub>1</sub> <sup>*3</sup>                 | 葉 <sup>2)</sup>  | 22    | 40 ± 19<br>(<22 - 78)     |
|                      |  | 根                | 5.4   | 11 ± 3.6<br>(5.7 - 20)    |
|                      |  | 花粉 <sup>2)</sup> | 22    | 19 ± 7.0<br>(<22 - 31)    |
|                      |  | 子実               | 5.4   | 25 ± 6.2<br>(14 - 39)     |

1) BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub><sup>\*1</sup> 世代及び BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub><sup>\*2</sup> 世代は n=5、F<sub>1</sub><sup>\*3</sup> 世代は n=24。

2) 分析値が定量限界未満のサンプルについては、定量限界値の 1/2 の値を用いて平均値を算出した。

15

- 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

5 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、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

- (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

検出及び識別の方法：

10 本組換えトウモロコシは、移入された核酸の 5'末端とゲノム DNA との接合部位に特異的なプライマーを用いた定量 PCR 法による検出及び識別が可能である（添付資料 11）。

感度：

15 本法の検出限界値は、非遺伝子組換えトウモロコシ（以下「非組換えトウモロコシ」という。）のゲノム DNA に対する本組換えトウモロコシのゲノム DNA の混入率として 0.012%である（添付資料 11）。

信頼性：

20 独立した研究室 2 か所において再現性が得られている（添付資料 11）。

- (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

25 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

本組換えトウモロコシに付与された特性は、改変 *cry1Da2* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性及び *dgt-28 epsps* 遺伝子による除草剤グリホサート耐性である。

30 本組換えトウモロコシにチョウ目害虫抵抗性が付与されたことを確認するため、2019 年～2020 年にアルゼンチンのほ場 1 か所において 4 反復で栽培した本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシについて、7 葉期～9 葉期に *S. frugiperda* による葉の食害程度を調査した（添付資料 12）。

35 その結果、本組換えトウモロコシがチョウ目害虫抵抗性を有することが確認された（表 6、23 ページ）。

表 6 本組換えトウモロコシにおけるチョウ目害虫抵抗性<sup>1)</sup>

|         | 本組換え<br>トウモロコシ <sup>2)</sup> | 非組換え<br>トウモロコシ <sup>2)</sup> | P 値 <sup>3)</sup> |
|---------|------------------------------|------------------------------|-------------------|
| 平均値     | 0.41                         | 5.94                         | < 0.0001          |
| 95%信頼区間 | -0.339 – 1.149               | 5.167 – 6.706                |                   |

1) 0 (葉に食害無し) ~9 (葉がほぼ完全に食害されている) の 10 段階で評価 (Davis *et al.*, 1992)。

5 2) n=4

3) 線形混合モデルによる統計解析。

10 本組換えトウモロコシに除草剤グリホサート耐性の形質が付与されたことを確認するため、本組換えトウモロコシの BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>\*<sup>1</sup>、BC<sub>1</sub>F<sub>1</sub>\*<sup>2</sup>、T<sub>2</sub>、T<sub>4</sub>及び T<sub>6</sub> の 5 世代 (図 3、18 ページ) について、4 葉期に除草剤グリホサート 1.3 kg a.e./ha (通常量) を散布し、散布 7 日後に耐性の有無を目視により調査した (添付資料 6)。

その結果、本組換えトウモロコシが除草剤グリホサート耐性を有することを確認した (表 7、23 ページ)。

15 表 7 本組換えトウモロコシにおける除草剤グリホサート耐性

| 世代  |                  | 本組換え<br>トウモロコシ | 非組換え<br>トウモロコシ |
|---|------------------|----------------|----------------|
| BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> * <sup>1</sup> | 耐性個体数*<br>(総個体数) | 52<br>(52)     | 0<br>(48)      |
| BC <sub>1</sub> F <sub>1</sub> * <sup>2</sup> | 耐性個体数*<br>(総個体数) | 53<br>(53)     | 0<br>(47)      |
| T <sub>2</sub>                                | 耐性個体数*<br>(総個体数) | 70<br>(70)     | 0<br>(30)      |
| T <sub>4</sub>                                | 耐性個体数*<br>(総個体数) | 100<br>(100)   | 0<br>(0)       |
| T <sub>6</sub>                                | 耐性個体数*<br>(総個体数) | 100<br>(100)   | 0<br>(0)       |

\*目視により葉害及び枯死が認められなかった個体を耐性と判定した。

20 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

本組換えトウモロコシと宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無を確認するため、本組換えトウモロコシの F<sub>1</sub>\*<sup>3</sup> 世代 (図 3、18 ページ) 及び対照として同

<sup>2)</sup> acid equivalent (酸当量)

様の遺伝的背景を有する非組換えトウモロコシB104-DAS×PH4257系統を米国のほ場において栽培し、比較した（添付資料13及び添付資料14）<sup>3)</sup>。形態及び生育の特性（第一.2.（6）.②.a、24ページ）については、2020年に米国のアイオワ州3か所、イリノイ州2か所、インディアナ州、ミズーリ州、ネブラスカ州、ペンシルバニア州及びテキサス州各1か所並びにカナダのオンタリオ州2か所の計12か所のほ場で調査した（添付資料13）。また、その他の特性については、2020年にアイオワ州のほ場1か所において調査した（添付資料14）。各ほ場あたり4反復で栽培し、統計解析により測定値を比較した。

5

10

a. 形態及び生育の特性

形態及び生育の特性として発芽苗数、雄穂開花までの日数、稈長、成熟までの日数、倒伏率、最終株数、脱落雌穂数、子実の含水率、収量及び子実の百粒重の調査結果を評価した（添付資料13）。その結果、子実の含水率を除き、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間で、統計学的有意差（P値<0.05）は認められなかった（表8、24ページ；添付資料13のTable 17、31ページ）。また、統計学的有意差が認められた子実の含水率において、本組換えトウモロコシにおける個々の測定値は、全て自社商業品種における変動の範囲内であった。

15

20

表 8 形態及び生育の特性<sup>1)</sup>

| 分析項目 <sup>2)</sup> |         | 非組換え<br>トウモロコシ | 本組換え<br>トウモロコシ | 自社商業品種<br>変動の範囲 <sup>3)</sup> |
|--------------------|---------|----------------|----------------|-------------------------------|
| 子実の含水率 (%)         | 平均値     | 19.9           | 19.6           | 9.0 - 33.8                    |
|                    | 最小値-最大値 | 9.5 - 31.7     | 9.1 - 29.8     |                               |
|                    | 信頼区間    | 15.7 - 24.2    | 15.4 - 23.9    |                               |
|                    | P 値     |                | 0.0108         |                               |

1) 評価した10項目のうち統計学的有意差が認められた1項目を示した。

2) ほ場あたり4反復で調査（n=48）。

3) 本組換えトウモロコシ及び対照の非組換えトウモロコシに加え、反復当たり自社商業品種16品種のうち任意の4品種を栽培し（n=192）、得られた測定値の最小値及び最大値を範囲として示した。

25

b. 生育初期における低温耐性

生育初期における低温耐性を人工気象室において評価した。20℃で2葉期まで育成した本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシを、4℃で約2週間生育させた後、低温障害を目視評価した。試験は4反復で実施し、反復あたりそれぞれ4個体を栽培した。その結果、いずれの個体にも萎凋及び発育不全が認めら

30

<sup>3)</sup> 本組換えトウモロコシについては、令和4年度第2回生物多様性影響評価総合検討会（令和5年3月17日開催）において、「農林水産大臣がその生産又は流通を所管する遺伝子組換え植物に係る第一種使用規程の承認の申請について」（平成19年12月10日付け19消安第8999号、環自野発第071210001号農林水産省消費・安全局長、農林水産省農林水産技術会議事務局、林野庁長官、環境省自然環境局長通知）第3の（6）に規定される隔離ほ場での情報収集（隔離ほ場試験）は不要と判断されている。

れ、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に違いは認められなかった（添付資料14のTable 6、11ページ）。

#### c. 成体の越冬性

5        2020年5月24日に露地に播種した本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの状態を、成熟後の2020年10月18日に目視評価した。試験は4反復で実施し、反復あたりそれぞれ8個体を観察した。その結果、いずれの個体も枯死しており、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に違いは認められなかった（添付資料14のTable 6、11ページ及びAppendix B、15ページ）。

10

#### d. 花粉の稔性及びサイズ

      本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの花粉の充実度及び長径を検鏡した。花粉の充実度については、ヨード・ヨードカリ液染色により評価した。試験は4反復で実施し、反復あたりそれぞれ約100個の花粉を用いて染色率を算出した。また、長径の計測についても4反復で実施し、反復あたりそれぞれ花粉16個を調査した。その結果、花粉の長径において、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差（ $P<0.05$ ）が認められたものの、本組換えトウモロコシの花粉の長径の測定値は88.75～119.99  $\mu\text{m}$ であり、従来のトウモロコシの花粉の長径の範囲である90～120  $\mu\text{m}$ 程度（第一.1. (3) .ニ.④、6ページ）と異なるものではなかった（添付資料14のTable 5及びTable 6、11ページ；同Appendix A、14ページ）。

15

20

#### e. 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

      種子の生産量について、形態及び生育の特性における収量を用いて評価した。第一.2. (6) .②.a (24ページ)に記載したとおり、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差（ $P<0.05$ ）は認められなかった（添付資料13のTable 17、31ページ）。

25

30

      脱粒性について、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシのいずれについても、収穫時に種子の脱粒が認められたとの報告はなかった。

35

      休眠性及び発芽率については、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシから収穫した種子を湿潤状態で6日間、23°Cで静置した際の発芽率により評価した。試験は4反復で実施し、反復あたりそれぞれ100粒を調査した。その結果、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差（ $P<0.05$ ）が認められたものの、本組換えトウモロコシの発芽率の平均値は98.5%と高く、休眠性は認められなかった（添付資料14のTable 6、11ページ）。

#### f. 交雑率

40        我が国に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、交雑率の調査は行わなかった。

g. 有害物質の産生性

本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの有害物質の産生性を比較するため、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を実施した。

5 後作試験：

本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシを完熟期まで栽培し、根圏土壌を採取した。採取した土壌を用いて検定作物のハツカダイコンを栽培し、発芽率及び乾物重を調査した。調査は4反復で実施し、発芽率については反復あたりそれぞれの土壌について24粒、乾物重については反復あたりそれぞれの土壌について8株を調査した。その結果、発芽率及び乾物重のいずれについても、本組換えトウモロコシ栽培後土壌と非組換えトウモロコシ栽培後土壌との間に統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (添付資料14のTable 5及びTable 6、11ページ)。

15 鋤込み試験：

本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの植物体を含む土壌で検定作物のハツカダイコンを栽培し、発芽率及び乾物重を調査した。試験は4反復で実施し、発芽率については反復あたりそれぞれの土壌について24粒、乾物重については反復あたりそれぞれの土壌について8株を調査した。その結果、発芽率及び乾物重のいずれについても、本組換えトウモロコシ鋤込み土壌と非組換えトウモロコシ鋤込み土壌との間に統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (添付資料14のTable 5及びTable 6、11ページ)。

25 土壌微生物相試験：

本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシを栽培した後の根圏土壌における微生物数 (細菌数、放線菌数及び糸状菌数) を計測した。試験は4反復で実施した。その結果、いずれの微生物数についても、本組換えトウモロコシ栽培後土壌と非組換えトウモロコシ栽培後土壌との間に統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (添付資料14のTable 7、12ページ)。

30

### 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

5 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

#### (2) 使用等の方法

10 —

(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

15 —

(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

20 緊急措置計画書を参照。

(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

25 —

#### (6) 国外における使用等に関する情報

30 本組換えトウモロコシの国外における申請状況は、表 9 (28 ページ) のとおりである。

表 9 国外における申請状況

(2024年8月現在)

| 申請国              | 目的             | 申請/承認年月       |     |      | 申請先                            |
|------------------|----------------|---------------|-----|------|--------------------------------|
| 米国               | 無規制裁培          | (社外秘情報につき非開示) |     | 申請   | 米国農務省 (USDA)                   |
|                  | 食品・飼料としての利用    | 2023年         | 12月 | 確認終了 | 米国食品医薬品庁 (FDA)                 |
|                  | 発現蛋白質の許容値設定免除  | (社外秘情報につき非開示) |     |      | 米国環境保護庁 (EPA)                  |
| カナダ              | 環境安全性、飼料としての利用 | (社外秘情報につき非開示) |     |      | カナダ食品検査庁 (CFIA)                |
|                  | 食品としての利用       | (社外秘情報につき非開示) |     |      | カナダ保健省機関 (HC)                  |
| 欧州               | 輸入             | (社外秘情報につき非開示) |     | 申請   | 欧州食品安全機関 (EFSA)                |
| オーストラリア・ニュージーランド | 食品             | 2024年         | 7月  | 承認   | オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) |

5 なお、我が国においては、食品としての安全性の確認申請を2023年5月に厚生労働省に行った。また、飼料としての安全性の確認申請を2022年12月に農林水産省に行った。

## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 宿主であるトウモロコシは、我が国において長年にわたる使用実績がある。したがって、本生物多様性影響評価においては、生物多様性影響評価実施要領の別表第三に基づき、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの比較により、影響が生ずる可能性について考察した。

### 1 競合における優位性

#### 10 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

15 植物が自然環境下で他の植物と競合するためには、当該植物が自然環境下で自生する、すなわち人の手を借りずに繁殖し、群落を維持することが必要である。植物の自生には種子の脱粒性及び休眠性が重要であるが、栽培作物であるトウモロコシは栽培化の過程でこれらの特性を失っており、自生することができない (OECD, 2003、後藤ら, 2018)。これまでに、我が国の自然環境下においてトウモロコシが自生するとの報告はない。

20 本組換えトウモロコシには改変 Cry1Da2 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性及び DGT-28 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性が付与されているが、いずれも上記特性に関与する形質ではない。したがって、これら付与された特性により本組換えトウモロコシが我が国の自然環境下で自生するようになるとは考え難い。

25 米国のほ場における栽培結果等をもとに、本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸特性 (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、非組換えトウモロコシと比較した結果、形態及び生育の特性における子実の含水率、花粉の長径及び収穫種子の発芽率において、統計学的有意差が認められた。しかしながら、子実の含水率については、本組換えトウモロコシの測定値は自社商業品種における変動の範囲内であった (第一.2. (6) .②.a、24 ページ)。

30 花粉の長径についても、本組換えトウモロコシの測定値は従来のトウモロコシ品種における花粉の長径の文献値と異なるものではなかった (第一.2. (6) .②.d、25 ページ)。また、収穫種子の発芽率についても、本組換えトウモロコシにおける平均値は 98.5% と高く、休眠性は認められなかった (第一.2. (6) .②.e、25 ページ)。

35 よって、これらの特性が、本組換えトウモロコシの競合における優位性を高める可能性は低いと考えられた。

40 以上のことから、本組換えトウモロコシの競合における優位性に起因して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

—

5 (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

10

以上のことから、本組換えトウモロコシの競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

15 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

20

トウモロコシが野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

25

本組換えトウモロコシは改変 Cry1Da2 蛋白質により特定のチョウ目昆虫に対して特異的に殺虫活性を示す(第一.2. (1) .ロ.②、12 ページ)。一方、除草剤グリホサート耐性を付与する DGT-28 EPSPS 蛋白質が野生動植物等に有害性を示すとの報告は無い。

30

これらの蛋白質のうち、改変 Cry1Da2 蛋白質が酵素活性を有するとの報告はない。また、酵素である DGT-28 EPSPS 蛋白質は他の EPSPS 蛋白質と同様の基質特異性を有し、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中においてホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応すると考えられる。加えて、EPSPS 蛋白質は同経路における律速酵素ではないことが示唆されており、DGT-28 EPSPS 蛋白質の産生により芳香族アミノ酸の生成量が増加する可能性も低い。さらに、改変 Cry1Da2 蛋白質及び DGT-28 EPSPS 蛋白質それぞれの作用機作は独立していることから、相互に影響する可能性は低い。よって、これらの蛋白質が宿主の代謝経路に作用して意図しない有害物質を産生するとは考え難い(第一.2. (1) .ロ.③、15 ページ)。

35

実際に、米国のほ場において後作試験、鋤込み試験及び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本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった(第一.2. (6) .②.g、26 ページ)。

40

また、改変 Cry1Da2 蛋白質及び DGT-28 EPSPS 蛋白質は、既知アレルゲンとの間に有意な相同性を有しておらず、アレルギーを誘発する可能性は低い(第一.2. (1) .ロ.②.b、12 ページ)。

以上のことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因し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が特定された。

5 さらに、特に影響を受けやすいチョウ目昆虫として、種としての存続が危惧されている絶滅危惧種及び準絶滅危惧種のチョウ目昆虫が考えられた。また、チョウ目昆虫が本組換えトウモロコシに暴露される経路としては、本組換えトウモロコシの植物体を直接食餌する場合と、本組換えトウモロコシから飛散した花粉が食草に付着し、それを摂食する場合が考えられた。しかしながら、トウモロコシの慣行栽培を行うほ場において、トウモロコシの植物体を食害するチョウ目昆虫は農業上の害虫として殺虫剤等により防除される。そのため、ほ場内においてチョウ目昆虫が本組換えトウモロコシの植物体を直接食餌することによって受ける影響は、慣行栽培における防除によって受ける影響を超えないと考えられる。これらのことから、本評価においては、絶滅危惧種及び準絶滅危惧種のチョウ目昆虫が、本組換えトウモロコシから飛散した花粉を食草とともに摂食することにより

15 チョウ目昆虫のうち、環境省レッドリスト 2020<sup>4)</sup>に絶滅危惧種及び準絶滅危惧種として掲載されているものは 199 種である。このうち、本組換えトウモロコシの花粉を幼虫期に摂取して影響を受ける可能性がある種を特定するため、山本ほか (2003) の評価手法を参考に、農耕地帯周辺で幼虫期に植物を摂取し、かつ幼虫の活動期がトウモロコシの開花期 (5 月下旬から 10 月下旬) と重複する可能性がある種を検討した。その結果、これらの条件を満たすチョウ目昆虫として、30  
20 種が特定された。残りの 169 種中 70 種については生息域又は幼虫の活動期に関する情報が不足していた。したがって、これらを合わせ、影響を受ける可能性のあるチョウ目昆虫として 100 種が特定された (表 10、32 ページ)。

---

<sup>4)</sup> <https://www.env.go.jp/content/900515981.pdf>

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫

| 和名                         | 学名                                    | 生息地、生息環境  | 幼虫の食草              | 発生回数    | 成虫発生期   | 越冬態 |
|----------------------------|---------------------------------------|---|--------------------|---------|---|-----|
| <b>影響を受ける可能性があるチョウ目昆虫種</b> |                                       |   |                    |         |   |     |
| <b>絶滅危惧 IA 類 (CR)</b>      |                                       |   |                    |         |   |     |
| オオルリシジミ本州亜種                | <i>Shijimiaeoides divinus barine</i>  | 半自然草原   | マメ科のクララ            | 年 1 回   | 九州 5 月上旬～中旬、長野県伊那地方 6 月上旬頃、佐久地方や妙高高原 5 月下旬～6 月上旬、青森県下の産地では 5 月下旬より発生して 6 月上～中旬頃が最盛期 | 蛹   |
| ヒメヒカゲ長野県・群馬県亜種             | <i>Coenonympha oedippus annulifer</i> | 半自然草原 (主に湿性草原)  | カヤツリグサ科のスゲ類        | 年 1 回   | 暖地では 6 月中・下旬から、寒地では 7 月上・中旬   | 幼虫  |
| ウスイロヒョウモンモドキ               | <i>Melitaea protomedia</i>            | 乾性草原  | オミナエシ及びカノコソウ       | 年 1 回   | 低標高地では 6 月中旬から下旬、高標高地では 7 月上旬から中旬   | 幼虫  |
| ヒョウモンモドキ                   | <i>Melitaea scotosia</i>              | 湿性草原  | キク科のキセルアザミ及びタムラソウ  | 年 1 回   | 低標高地では 6 月上旬、低山帯で 7 月上旬、高原地域では 7 月中～下旬  | 幼虫  |
| アサギリヨトウ (キンダムラサキヨトウ)       | <i>Sideridis incommoda</i>            | 静岡県富士宮市朝霞高原のみ   | ヨモギ (キク科)          | 年 1 回   | 8 月   | 蛹   |
| <b>絶滅危惧 IB 類 (EN)</b>      |                                       |   |                    |         |   |     |
| チャマダラセセリ                   | <i>Pyrgus maculatus maculatus</i>     | 山地の広い草原、ところどころに二次林があり、近くに耕作地があるような人為の影響を受けた環境、人家、畑地など | バラ科のキジムシロ、ミツバチグリなど | 年 1～3 回 | 本州では通常年 2 回、5～6 月、7～8 月頃  | 蛹   |
| ツマグロキチョウ                   | <i>Eurema laeta betheseba</i>         | 採草地、農地、河川敷、河川堤防                                       | マメ科のカワラケツメイ        | 年 3～4 回 | 秋型は 9 月下旬頃から、夏型は 5 月下旬頃から出現   | 成虫  |
| ヤマキチョウ                     | <i>Gonepteryx maxima maxima</i>       | 明るい疎林や林縁部、草原、湿地<br>食樹は火山の裾野などの高原地帯に多い                 | クロウメモドキ科のクロツバラ     | 年 1 回   | 7～8 月   | 成虫  |
| ヒメシロチョウ                    | <i>Leptidea amurensis</i>             | 採草地、農地、河川堤防、人家周辺、林縁                                   | マメ科のツルフジバカマなど      | 年 2～4 回 | 本州では通常年 3 回、4～5 月、6～7 月、8～9 月頃に発生、寒冷地では 5～6 月、7 月の年 2 回発生                           | 蛹   |

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫 (続き)

| 和名                  | 学名  | 生息地、生息環境                       | 幼虫の食草                                 | 発生回数 | 成虫発生期  | 越冬態 |
|---------------------|---|--------------------------------|---------------------------------------|------|--|-----|
| ミヤマシジミ              | <i>Plebejus argyrognomon praeterinsularis</i> | 採草地、農地、河川敷、河川堤防                | マメ科のコマツナギ                             | 多化   | 5月中旬～11月上旬   | 卵   |
| オオルリシジミ九州亜種         | <i>Shijimiaeoides divinus asonis</i>          | 半自然草原                          | マメ科のクララ                               | 年1回  | 九州5月上旬～中旬、長野県伊那地方6月上旬頃、佐久地方や妙高高原5月下旬～6月上旬、青森県下の産地では5月下旬より発生して6月上～中旬頃が最盛期 | 蛹   |
| シルビアシジミ             | <i>Zizina emelina</i>                         | 河川堤防、農地、採草地                    | マメ科のミヤコグサ、ヤハズソウ、シロツメクサなど              | 多化   | 4月下旬～11月   | 幼虫  |
| ヒメヒカゲ本州中部・近畿・中国地方亜種 | <i>Coenonympha oedippus arothius</i>          | 半自然草原 (主に湿性草原)                 | カヤツリグサ科のスゲ類                           | 年1回  | 6～7月   | 幼虫  |
| コヒョウモンモドキ           | <i>Melitaea ambigua nippona</i>               | 半自然草原                          | ゴマノハグサ科のクガイソウ、オオバコなど                  | 年1回  | 低山帯では6月下旬から出現し、7月中旬頃が最盛期、標高1,500 m付近では7月中旬頃から現れ、7月下旬が最盛期                 | 幼虫  |
| ミツモンケンモン            | <i>Cymatophoropsis trimaculata</i>            | クロウメモドキ、クロツバラが生える疎林            | クロウメモドキ科のクロウメモドキ、クロツバラ                | 年2回  | 5～6月及び7～8月   | 蛹   |
| 絶滅危惧 II 類 (VU)      |   |                                |                                       |      |  |     |
| ウラギンスジヒョウモン         | <i>Argyronome laodice japonica</i>            | 採草地、農耕地周辺、河川堤防、疎林などの草原         | スマレ類                                  | 年1回  | 5～10月  | 卵   |
| ヒョウモンチョウ本州中部亜種      | <i>Brenthis daphne rabdia</i>                 | 湿潤な草原あるいは溪畔などの湿地               | ワレモコウ、ナガボノシロワレモコウ                     | 年1回  | 6月中旬～8月下旬  | 幼虫  |
| ウラナミジャノメ日本本土亜種      | <i>Ypthima multistriata nipponica</i>         | 疎林、草原、湿地                       | イネ科のシナダレスズメガヤ、イヌビエなど、カヤツリグサ科のショウジョウスゲ | 年1回  | 7～8月   | 幼虫  |
| ガマヨトウ               | <i>Capsula aerata</i>                         | 北海道、本州の寄主植物がある湿地環境             | ガマ (ガマ科)                              | 年1回  | 7～8月   | 不明  |
| キスジウスキヨトウ           | <i>Capsula sparganii</i>                      | 北海道 (北方四島を含む)、本州、四国、九州、対馬の湿地環境 | ガマ (ガマ科)、ミクリ (ミクリ科)                   | 年1回  | 6～9月   | 不明  |

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫 (続き)

| 和名                     | 学名                                 | 生息地、生息環境  | 幼虫の食草   | 発生回数  | 成虫発生期                           | 越冬態 |
|------------------------|------------------------------------|---|---|-------|---------------------------------|-----|
| <b>準絶滅危惧 (NT)</b>      |                                    |   |   |       |                                 |     |
| ギンイチモンジセセリ             | <i>Leptalina unicolor</i>          | 山地および平地や丘陵地の草原  | ススキ、チガヤなど                                     | 年1~3回 | 寒冷地では年1回の発生(6~7月)、それ以外の場所では2~3化 | 幼虫  |
| カバイロシジミ                | <i>Glaucopsyche lycormas</i>       | 北海道、青森県北部の津軽半島と下北半島の海岸沿い                              | マメ科のクサフジ、オオバクサフジ、ヒロハノクサフジ、クララ、ムラサキツユクサ、アカツメクサ | 年1回   | 5月下旬~9月上旬                       | 蛹   |
| ヒョウモンチョウ北海道・本州北部亜種     | <i>Brenthis daphne iwatensis</i>   | 湿潤な草原あるいは溪畔などの湿地                                      | ワレモコウ類、オニシモツケ、エゾノシモツケソウ                       | 年1回   | 6月中旬~8月下旬                       | 幼虫  |
| カラフトヒョウモン              | <i>Clossiana iphigenia</i>         | 札幌市以東の低山地から山地   | ミヤマスマミレ・エゾノタチツボスマミレ・アイヌタチツボスマミレなど             | 年1回   | 5月下旬~8月                         | 幼虫  |
| シロオビヒメヒカゲ北海道西部亜種       | <i>Coenonympha hero neoperseis</i> | 北海道南西部の開けた草地  | ヒカゲスゲ、ヒメノガリヤス、スズメノカタビラなど                      | 年1回   | 6月中・下旬頃                         | 幼虫  |
| クワトゲエダシヤク              | <i>Apochima excavata</i>           | 北海道、本州、九州の桑林  | クワ(クワ科)、ソメイヨシノ、リンゴ(バラ科)                       | 年1回   | 初夏                              | 蛹   |
| オナガミズアオ                | <i>Actias gnoma</i>                | 北海道、本州、四国、九州  | ハンノキ、カワラハンノキ、ヤシャブシ(カバノキ科)                     | 年1~2回 | 初夏~秋                            | 蛹   |
| マエアカヒトリ                | <i>Aloa lactinea</i>               | 本州、四国、九州、屋久島、トカラ列島、沖縄島、石垣島、西表島の畑地、その周辺の畦、農道、小川の縁などの草地 | ネギ(ネギ科)、ダイズ(マメ科)、トウモロコシ(イネ科)、ミソハギ(ミソハギ科)      | 年2回   | 6~7月                            | 不明  |
| ハマヤガ                   | <i>Agrotis desertorum</i>          | 本州(秋田県、新潟県、石川県)の海岸砂浜                                  | カワラヨモギ  | 年1回   | 8月中旬~9月中旬                       | 幼虫  |
| キシタアツバ                 | <i>Hypena claripennis</i>          | 本州(宮城県付近を北限)、四国、九州、対馬の人里的な環境                          | ヤブマオ(イラクサ科)                                   | 不明    | 4~9月                            | 前蛹  |
| <b>情報不足であったチョウ目昆虫種</b> |                                    |   |   |       |                                 |     |
| <b>絶滅危惧 IA 類 (CR)</b>  |                                    |   |   |       |                                 |     |
| カバシタムクゲエダシヤク           | <i>Sebastosema bubonaria</i>       | 本州の疎林のある河川敷   | ツルウメモドキ、ニシギギ、コマユミ(ニシギギ科)                      | 年1回   | 3~4月                            | 不明  |
| ノシメコヤガ                 | <i>Sinocharis korbae</i>           | 岩手県盛岡市内の人里的な環境  | 不明  | 年1回   | 6~7月                            | 不明  |

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫 (続き)

| 和名              | 学名                                    | 生息地、生息環境                               | 幼虫の食草   | 発生回数  | 成虫発生期     | 越冬態 |
|-----------------|---------------------------------------|--|---|-------|-----------|-----|
| 絶滅危惧 IB 類 (EN)  |                                       |  |   |       |           |     |
| ミスジコスカシバ        | <i>Scalarignathia montis</i>          | 長野県追分の高ボッチ高原                           | 不明  | 不明    | 不明        | 不明  |
| チャホシホソバナミシヤク    | <i>Brabira kasaii</i>                 | 青森県下北郡東通村大利                            | 幼虫は未発見 同属のキリバナホソナミシヤクはウド(ウコギ科)を食べる                  | 推定年1回 | 7~8月      | 不明  |
| ヒトスジシロナミシヤク本州亜種 | <i>Epirrhoe hastulata echigoensis</i> | 新潟県糸魚川市葛葉峠                             | ヨーロッパの名義タイプ亜種はヤエムグラを食す                              | 年1回   | 5月上旬      | 不明  |
| ソトオビエダシヤク       | <i>Isturgia arenacearia</i>           | 本州(長野県)の河川敷内のマメ科草本の粗生する乾性草原            | ツルフジバカマ、クサフジ、ヤハズエンドウなどマメ科植物                         | 年2回以上 | 5~9月      | 不明  |
| ヒメカクモンヤガ        | <i>Chersotis deplanata</i>            | 利尻島、本州(関東地方、中部地方の高原)                   | 不明  | 年1回   | 7~8月      | 不明  |
| ヘリグロヒメヨトウ       | <i>Condica illustrata</i>             | 長野県松本盆地周辺の丘陵地、八坂村、明科町                  | キク科   | 不明    | 不明        | 不明  |
| オガサワラヒゲヨトウ      | <i>Dasypolia fani</i>                 | 本州(岩手県、宮城県、栃木県、群馬県、長野県)の内陸盆地セリ科植物のある草原 | ヨーロッパの同属種では大型のセリ科を食す                                | 年1回   | 初冬、翌年3~4月 | 成虫  |
| オイワケクロヨトウ       | <i>Lacanobia aliena</i>               | 北海道定山溪、青森県手賀町、長野県菅平高地の草原と関係すると思われる     | ホースシューヴェッチ(マメ科、 <i>Hippocrepis comosa</i> L.)などの草本類 | 年1回   | 6月        | 不明  |
| クロコシロヨトウ        | <i>Leucapamea hikosana</i>            | 九州(福岡県英彦山)                             | 不明 同属のコマエアカシロヨトウはスゲ属の一種(カヤツリグサ科)を食べる                | 推定年2回 | 不明        | 不明  |
| ミスズコヤガ          | <i>Paraphyllophila confusa</i>        | 長野県長野市飯縄高原と大町市葛温泉のみ<br>ガマ、ヨシなどが優占する湿地  | 産卵管の形状から単子葉類を食している可能性が高い                            | 年1回   | 7月        | 不明  |
| コンゴウミドリヨトウ      | <i>Staurophora celsia</i>             | 岡山県新見市の草原                              | ヨーロッパではヤマアワ、ヒロハノコメスキ、ミヤマハルガヤ(イネ科)                   | 推定年1回 | 11月       | 不明  |

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫 (続き)

| 和名             | 学名                                  | 生息地、生息環境  | 幼虫の食草   | 発生回数  | 成虫発生期        | 越冬態 |
|----------------|-------------------------------------|---|---|-------|--------------|-----|
| 絶滅危惧 II 類 (VU) |                                     |   |   |       |              |     |
| アシナガモモブトスカシバ   | <i>Macroscelisia longipes</i>       | 本州、九州、四国のゴキヅルの生える水辺                               | ゴキヅル (ウリ科)                                    | 年 2 回 | 6~10 月       | 不明  |
| ベニモンマダラ道南亜種    | <i>Zygaena nippona hakodatensis</i> | 北海道函館周辺、本州 (青森県、岩手県) の草原                          | クサフジ (マメ科)                                    | 年 1 回 | 7~8 月        | 幼虫  |
| クロフカバシヤク       | <i>Archiearis notha okanoi</i>      | 本州 (青森県、岩手県) の丘陵地                                 | イタリアポブラ (ヤナギ科) セイヨウハコヤナギ、ヤマナラシ (ヤナギ科) で飼育可    | 年 1 回 | 4~5 月        | 不明  |
| アキヨシトガリエダシヤク   | <i>Hypoxystis pulcheraria</i>       | 本州 (山口県秋吉台) カルスト台地の草原                             | 不明  | 年 2 回 | 6~7 月と 8~9 月 | 不明  |
| ヒロバカレハ         | <i>Gastropacha quercifolia</i>      | 本州 (宮城県、長野県、静岡県) の草原                              | 不明 ヨーロッパではバラ科、ヤナギ科などを食す                       | 年 1 回 | 8 月          | 不明  |
| スキバホウジャク       | <i>Hemaris radians</i>              | 北海道、本州、四国、九州、対馬、沖縄島、西表島                           | オミナエシ、オトコエシ、スイカズラ (以上スイカズラ科)、アカネ (アカネ科)       | 不明    | 5~9 月        | 不明  |
| ミヤノスゲドクガ       | <i>Laelia miyanoi</i>               | 本州 (愛知県、岐阜県)                                      | 不明 本属の他の種はイネ科やカヤツリグサ科などを食べる                   | 不明    | 6~7 月        | 不明  |
| ヌマベウスキヨトウ      | <i>Chilodes pacificus</i>           | 北海道、本州のヨシ草原を中心とした湿地環境                             | 不明 生息地からヨシ、マコモなどイネ科やカヤツリグサ科の湿地植物に依存していると考えられる | 不明    | 5~10 月       | 不明  |
| キュウシュウスジヨトウ    | <i>Doerriesa coenosa</i>            | 本州 (千葉県、三重県)、九州、対馬の海岸の湿地                          | 不明  | 年 2 回 | 5~8 月        | 不明  |
| エゾスジヨトウ        | <i>Doerriesa striata</i>            | 北海道、本州の湿地環境 採集記録などからモウセンゴケを伴う傾斜地の貧栄養湿地に生息すると推測される | 不明 生息地からヨシ、マコモなどイネ科やカヤツリグサ科の湿地植物に依存していると考えられる | 年 2 回 | 6~9 月        | 不明  |
| シラユキコヤガ        | <i>Eulocastra sasakii</i>           | 本州 (秋田県、岐阜県、愛知県、福井県) の湿地                          | 幼虫の食草としてヌマガヤが報告されている                          | 年 1 回 | 7 月          | 不明  |
| オオチャバネヨトウ      | <i>Nonagria puengeleri</i>          | 北海道、本州、九州の湿地環境                                    | ガマ (ガマ科)                                      | 年 1 回 | 7~8 月        | 不明  |

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫 (続き)

| 和名                | 学名                               | 生息地、生息環境   | 幼虫の食草  | 発生回数 | 成虫発生期     | 越冬態 |
|-------------------|----------------------------------|--|--|------|-----------|-----|
| ギンモンアカヨトウ         | <i>Plusilla rosalia</i>          | 北海道、本州、四国、九州の低湿地、河川敷、火山草原<br>低湿地でよく検出、水辺を好むものと思われる | ヤナギタデ (タデ科)  | 不明   | 4~9月      | 不明  |
| マガリスジコヤガ          | <i>Protodeltote wiscotti</i>     | 北海道東部、本州の沼沢地                                       | 不明   | 年1回  | 7~8月      | 不明  |
| エゾクシヒゲモンヤガ        | <i>Pseudohermonassa velata</i>   | 北海道 (北部、東部) の湿原                                    | 不明   | 年1回  | 7月        | 不明  |
| イチモジヒメヨトウ         | <i>Xylomoia fusei</i>            | 本州の沼沢地や河川敷に限られた低湿地環境                               | クサヨシ (イネ科)   | 年1回  | 5月        | 不明  |
| クシロモクメヨトウ         | <i>Xylomoia graminea</i>         | 北海道、本州 (秋田県) の限られた低湿地環境                            | ヨーロッパではヨシ (イネ科) が知られている                            | 年1回  | 7~8月      | 不明  |
| <b>準絶滅危惧 (NT)</b> |                                  |  |  |      |           |     |
| ハイイロボクトウ          | <i>Phragmataecia castaneae</i>   | 北海道、本州、四国、九州の平地                                    | ヨシ (イネ科)   | 年1回  | 6~7月      | 不明  |
| ヤホシホソマダラ          | <i>Balataea octomaculata</i>     | 本州、四国、九州   | イネ科のササ、タケ類、ヌマガヤ                                    | 年1回  | 6~8月      | 不明  |
| ツシマキモンチラシ         | <i>Eterusia watanabei</i>        | 対馬、本州  | 不明 ヒサカキ (サカキ科) で飼育可                                | 年1回  | 6~7月      | 不明  |
| ルリハダホソクロバ         | <i>Rhagades pruni</i>            | 本州、九州、対馬、五島列島などの火山性草原や河川敷                          | ズミ (バラ科)   | 年1回  | 6~8月      | 不明  |
| ベニモンマダラ本土亜種       | <i>Zygaena nippona nippona</i>   | 本州 (長野県、山梨県) の草原                                   | クサフジ、ツルフジバカマ (マメ科)                                 | 年1回  | 7~8月      | 幼虫  |
| ゴマフツトガ            | <i>Chilo pulveratus</i>          | 本州 (群馬県、静岡県、愛知県、三重県)、沖縄島の湿地                        | 不明   | 年1回  | 7月        | 不明  |
| モリオカツトガ           | <i>Chrysoteuchia moriokensis</i> | 北海道、本州 (東北地方、関東北部、北陸) の湿地                          | 不明 同属のテンスジツトガはムギ (イネ科) を食べる                        | 不明   | 7~8月      | 不明  |
| カワゴケミズメイガ         | <i>Paracymoriza vagalis</i>      | 九州 (宮崎県、鹿児島県) と屋久島                                 | カワゴケソウ、カワゴロモ                                       | 多化   | 5~10月     | 不明  |
| ムナカタミズメイガ         | <i>Parapoynx ussuriensis</i>     | 北海道、本州 (新潟県以北)                                     | イネ (イネ科) とタヌキモ (タヌキモ科)                             | 年2回  | 6~7月と8~9月 | 不明  |
| シロマダラカバナミシヤク      | <i>Eupithecia extensaria</i>     | 北海道、本州の草原  | 不明 ヨーロッパではヨモギ属の <i>Artemisia maritima</i> の花と実を食べる | 年1回  | 6~7月      | 不明  |

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫 (続き)

| 和名           | 学名                            | 生息地、生息環境  | 幼虫の食草  | 発生回数    | 成虫発生期        | 越冬態 |
|--------------|-------------------------------|---|--|---------|--------------|-----|
| ヒメスズメ        | <i>Deilephila askoldensis</i> | 北海道、本州、四国、九州の火山性草原、河川敷                            | カワラマツバ、キバナカワラマツバ (アカネ科)  | 年 1 回   | 6~7 月        | 不明  |
| クワヤマエグリシャチホコ | <i>Ptilodon kuwayamae</i>     | 北海道、本州、四国、九州の山地の草原                                | ヤマハギ (マメ科)<br>ヤナギ科のヤナギ類で飼育可  | 年 2 回   | 6 月と 8 月     | 不明  |
| カバイロシャチホコ    | <i>Ramesa tosta</i>           | 本州、四国、九州の草地                                       | メヒシバ (イネ科)   | 年 2 回   | 5 月と 8 月     | 不明  |
| ウスジロドクガ      | <i>Calliteara virginea</i>    | 本州の東北地方や本州中部の草原                                   | ハギ類 (マメ科)  | 年 1 回   | 5~6 月        | 不明  |
| トラサンドクガ      | <i>Kidokuga torasan</i>       | 本州、四国、九州、対馬の草地                                    | 不明<br>クスギ (ブナ科) で飼育可   | 年 2 回   | 5 月と 7~8 月   | 不明  |
| スゲドクガ        | <i>Laelia coenosa</i>         | 北海道、本州の湿地   | マツカサススキ (カヤツリグサ科)、ヒメガマ (ガマ科)、ヨシ (イネ科)  | 年 2 回   | 5~6 月と 8~9 月 | 不明  |
| シロホソバ        | <i>Eilema degenerella</i>     | 北海道、本州、四国、九州                                      | 地衣類  | 年 2 回   | 5~8 月        | 不明  |
| ヤネホソバ        | <i>Eilema fuscodorsalis</i>   | 本州 (宮崎県以南)、四国、九州、対馬、屋久島、奄美大島、西表島                  | 地衣類、コケ類  | 年 3~4 回 | 4~9 月        | 不明  |
| ゴマベニシタヒトリ    | <i>Phyparia purpurata</i>     | 本州 (群馬県、長野県)<br>長野県諏訪湖周辺の山地や浅間山周辺の高原性草原           | キンギンボク (スイカズラ科)、オオバコ (オオバコ科)、ヤブムグラ (アカネ科)、ノコギリソウ (キク科)   | 年 1 回   | 7 月          | 不明  |
| ミカボコブガ       | <i>Meganola mikabo</i>        | 北海道 (南西部)、本州 (青森県、秋田県、群馬県、長野県)、九州 (大分県)           | カシワ (ブナ科)  | 年 1 回   | 8 月          | 不明  |
| チョウカイシロコブガ   | <i>Nola umetsui</i>           | 本州、秋田県にかほ市 (鳥海山麓)<br>ススキ草原と低層湿地、ハンノキ林が混交する環境に生息する | 不明 本属の他の種ではシソ科、スイカズラ科 (ツマグロコブガ)、カヤツリグサ科 (クロスジシロコブガ)、マンサク科 (クロフマエモンコブガ)、ブナ科、カバノキ科、バラ科 (カバイロコブガ) などが知られている | 年 1 回   | 7~8 月        | 不明  |

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫 (続き)

| 和名           | 学名                           | 生息地、生息環境                                     | 幼虫の食草                      | 発生回数    | 成虫発生期        | 越冬態 |
|--------------|------------------------------|--|----------------------------|---------|--------------|-----|
| ウスズミケンモン     | <i>Acronicta carbonaria</i>  | 本州、四国、九州のクヌギを主とする二次林                         | クヌギ (ブナ科)                  | 年 2 回   | 5 月と 7~8 月   | 不明  |
| クビグロケンモン     | <i>Acronicta digna</i>       | 北海道、本州、四国、九州、対馬の湿地環境                         | カキツバタ (アヤメ科)、イタドリ (タデ科)    | 年 2 回   | 4~5 月と 7~8 月 | 不明  |
| ウスジロケンモン     | <i>Acronicta lutea</i>       | 北海道、本州 (青森県、岩手県、秋田県、長野県) の草原                 | ワレモコウ (バラ科)                | 年 1 回   | 5~6 月        | 不明  |
| アカヘリヤガ       | <i>Adisura atkinsoni</i>     | 関東地方以西の本州、四国、九州                              | フヨウ (アオイ科)、フジマメ、ノアズキ (マメ科) | 年 1 回   | 8~9 月        | 不明  |
| コシロシタバ       | <i>Catocala actaea</i>       | 北海道、本州、四国、九州のクヌギやコナラの二次林                     | クヌギなど (ブナ科)                | 年 1 回   | 6~10 月       | 不明  |
| ミヤマキシタバ      | <i>Catocala ella</i>         | 北海道、本州<br>本州では主に長野県以東に分布するが、関東地方の平野部からの記録はない | ハンノキ (カバノキ科)               | 年 1 回   | 7~9 月        | 不明  |
| ヒメシロシタバ      | <i>Catocala nagioides</i>    | 北海道、本州、四国、九州、対馬の冷温帯の山地                       | カシワ (ブナ科)                  | 年 1 回   | 6~10 月       | 不明  |
| カギモンハナオイアツバ  | <i>Cidariplura signata</i>   | 本州、四国、九州、屋久島の明るい雑木林の林縁や河川敷などの草地              | 不明 同属のキスジハナオイアツバは藻類を食べる    | 年 1~2 回 | 5~7 月        | 不明  |
| アオモンギンセダカモクメ | <i>Cucullia argentea</i>     | 本州、四国、九州、対馬で局所的に生息                           | カワラヨモギ (キク科)               | 年 1 回   | 8~9 月        | 不明  |
| ホシヒメセダカモクメ   | <i>Cucullia fraudatrix</i>   | 北海道、本州<br>本州中部では高原地帯や河川敷                     | ヨモギ、オオヨモギ (キク科)            | 年 1 回   | 8~9 月        | 蛹   |
| ギンモンセダカモクメ   | <i>Cucullia jankowskii</i>   | 北海道、本州、九州の河川敷や火山性草原                          | ヨモギ、オオヨモギ (キク科)            | 年 1 回   | 8~9 月        | 不明  |
| ダイセンセダカモクメ   | <i>Cucullia mandschuriae</i> | 本州や九州の草原                                     | ノコンギク、ユウガギク (キク科)          | 年 1 回   | 8~9 月        | 不明  |
| ウスミモンキリガ     | <i>Eupsilia contracta</i>    | 北海道、本州、四国、九州のハンノキの自生する湿地                     | ハンノキ (カバノキ科)               | 年 1 回   | 冬季           | 不明  |
| ヒダカミツボシキリガ   | <i>Eupsilia hidakaensis</i>  | 北海道日高地方 (新冠町)                                | シナノキ (アオイ科)                | 年 1 回   | 冬季           | 不明  |

表 10 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫（続き）

| 和名        | 学名                         | 生息地、生息環境   | 幼虫の食草                                  | 発生回数 | 成虫発生期  | 越冬態 |
|-----------|----------------------------|--|--|------|--------|-----|
| ギンスジアカヤガ  | <i>Heliothis bivittata</i> | 九州（長崎）<br>自衛隊演習地の草原など  | 不明                                     | 不明   | 8月下旬   | 不明  |
| ミスジキリガ    | <i>Jodia sericea</i>       | 北海道、本州、四国、九州のク<br>スギやコナラの二次林                                       | クヌギ、アラカシ、カシワ<br>（以上ブナ科）                | 年1回  | 冬季     | 不明  |
| ツリフネソウトラガ | <i>Sarbanissa yunnana</i>  | 九州（大分県、熊本県）の九重<br>山、阿蘇山  | ツリフネソウ、キツリフネ、<br>ハガクレツリフネ（ツリフ<br>ネソウ科） | 年2回  | 6月と8月  | 不明  |
| ニセトガリヨトウ  | <i>Virgo confusa</i>       | 北海道南部から九州<br>平地から低山地の草原に生息   | 不明                                     | 年1回  | 8月～10月 | 不明  |
| アサマウスモンヤガ | <i>Xestia descripta</i>    | 浅間山湯ノ平、長野県川上村、<br>国師岳、岡谷市高ボッチなど<br>の草原<br>標高1,900 m 付近の高原に生<br>息する | 不明                                     | 不明   | 不明     | 不明  |

出典：

青木 典司ほか 2005 日本産幼虫図鑑 学習研究社

秋田県 2002 秋田県の絶滅のおそれのある野生生物 2002 秋田県版レッドデータブック 動物編 秋田県環境と文化のむら協会

石川県 2009 改訂・石川県の絶滅のおそれのある野生生物 いしかわレッドデータブック〈動物編〉2009

[http://www.pref.ishikawa.lg.jp/sizen/reddata/rdb\\_2009/documents/ikkatu.pdf](http://www.pref.ishikawa.lg.jp/sizen/reddata/rdb_2009/documents/ikkatu.pdf) [Accessed Mar, 2024]

井上 寛・杉 繁朗・黒子 浩・森内 茂・川辺 湛・大和田 守・1982 日本産蛾類大図鑑 講談社

環境省 2006 改訂・日本の絶滅のおそれのある野生生物 5 [昆虫類] 環境省自然保護局野生生物課（編） 自然環境研究センター

環境省 2017 環境省レッドリスト 2017 補遺資料 <https://www.env.go.jp/content/900510134.pdf> [Accessed May, 2023]

環境省 2018 環境省レッドリスト 2018 補遺資料 <https://www.env.go.jp/content/900511595.pdf> [Accessed May, 2023]

環境省 2020a 環境省レッドリスト 2020 <https://www.env.go.jp/content/900515981.pdf> [Accessed May, 2023]

環境省 2020b 環境省レッドリスト 2020 補遺資料 <https://www.env.go.jp/content/900515327.pdf> [Accessed May, 2023]

環境省 2023 環境省絶滅危惧種検索 <https://ikilog.biodic.go.jp/Rdb/env> [Accessed May, 2023]

岸田 泰則 2011a 日本産蛾類標準図鑑 1 学習研究社

岸田 泰則 2011b 日本産蛾類標準図鑑 2 学習研究社

- 岐阜県 2010 岐阜県の絶滅のおそれのある野生動物（動物編）改訂版 6. 昆虫類 <https://www.pref.gifu.lg.jp/page/4343.html> [Accessed Mar, 2024]
- 駒井 古実・吉安 裕・那須 義次・斉藤 寿久 2011 日本の鱗翅類—系統と多様性 東海大学出版
- 白水 隆 2006 日本産蝶類標準図鑑 学習研究社
- 手代木 求 1990 日本産蝶類幼虫・成虫図鑑〈1〉 タテハチョウ科 東海大学出版会
- 手代木 求 1997 日本産蝶類幼虫・成虫図鑑〈2〉 シジミチョウ科 東海大学出版会
- 中島 秀雄・阪本 優介・松井 悠樹・中 秀司 2017 カバシタムクゲエダシヤクの幼生期 *Tinea* 23: 281-290
- 中村 正直・工藤 広悦・内藤 幸之助, 1996. 葦毛湿原(豊橋市岩崎町)で獲られた蛾類目録(葦毛第2 湿原(指定外地)の蛾類調査 蛾類通信 189: 223-230
- 長野県 2004 長野県版レッドデータブック〜長野県の絶滅のおそれのある野生動物〜動物編 長野県自然保護研究所
- 福田 晴夫・浜 栄一・葛谷 健・高橋 昭・高橋 真弓・田中 蕃・田中 洋・若林 守男・渡辺 康之 1982 原色日本蝶類生態図鑑Ⅰ 保育社
- 福田 晴夫・浜 栄一・葛谷 健・高橋 昭・高橋 真弓・田中 蕃・田中 洋・若林 守男・渡辺 康之 1983 原色日本蝶類生態図鑑Ⅱ 保育社
- 福田 晴夫・浜 栄一・葛谷 健・高橋 昭・高橋 真弓・田中 蕃・田中 洋・若林 守男・渡辺 康之 1984a 原色日本蝶類生態図鑑Ⅲ 保育社
- 福田 晴夫・浜 栄一・葛谷 健・高橋 昭・高橋 真弓・田中 蕃・田中 洋・若林 守男・渡辺 康之 1984b 原色日本蝶類生態図鑑Ⅳ 保育社
- みんなで作る日本産蛾類図鑑 2024 <http://www.jpmoth.org/> [Accessed Mar, 2024]
- 安田 守 2010 イモムシハンドブック 文一総合出版
- 安田 守 2012 イモムシハンドブック2 文一総合出版
- 矢田 脩 2007 新訂 原色昆虫大図鑑 第Ⅰ巻(蝶・蛾 篇) 北隆館
- 矢野 高広 2011 高ボッチ高原のミスジコスカシバ やどりが 230, 6-7
- 山口むしの会 2024 <https://yamagutinomusi.sakura.ne.jp/> [Accessed Mar, 2024]
- 山本 光人・中臣 謙太郎・佐藤 力夫・中島 秀雄・大和田 守 1987 日本産蛾類生態図鑑 杉 繁郎(編) 講談社
- 吉松 慎一 1994 スマベウスキョトウの幼生期と人工飼育 蛾類通信 177:22-23

## (2) 影響の具体的内容の評価

生物検定の結果、改変 Cry1Da2 蛋白質の殺虫活性はチョウ目昆虫に特異的であったが、感受性は種によって異なっていた（第一.2. (1) .ロ.②、11 ページ；表 3、  
5 14 ページ）。検定に用いたチョウ目昆虫のうち、改変 Cry1Da2 蛋白質の主な標的害虫である *S. frugiperda* に対する LC<sub>50</sub> 値は 4.3 ppm であった。また、トウモロコシを食害する害虫ではないが、飛散した花粉を摂食する可能性のあるチョウ目昆虫である *V. cardui* に対する LC<sub>50</sub> 値は 2.0 ppm であった。

10 なお、特定された 100 種のチョウ目昆虫の改変 Cry1Da2 蛋白質に対する感受性は調査されていない。

## (3) 影響の生じやすさの評価

15 特定された 100 種のチョウ目昆虫が自然環境下で本組換えトウモロコシに個体群レベルで暴露される経路として、本組換えトウモロコシの栽培ほ場から飛散した花粉が食草に付着し、それを当該チョウ目昆虫の幼虫が摂食する場合が考えられた。また、栽培ほ場外に飛散するトウモロコシの花粉量はほ場からの距離に応じて減少することが確認されており（第一.1. (3) .④、6 ページ）、我が国における調査としては、栽培ほ場から 10 m 離れたヒマワリの葉上に堆積する花粉量は  
20 10 粒/cm<sup>2</sup> 以下との報告がある（Shirai and Takahashi, 2005）。よって、本組換えトウモロコシの花粉がこれら特定された 100 種のチョウ目昆虫に継続的に摂取される可能性が生じ得るのは、ほ場周辺に限られる。

したがって、特定された 100 種のチョウ目昆虫に個体群レベルで影響が生じ得るのは、これらのチョウ目昆虫がトウモロコシの栽培ほ場周辺に局所的に生息し、  
25 かつ、ほ場周辺において食草に付着した本組換えトウモロコシの花粉の摂食を介して致死濃度の改変 Cry1Da2 蛋白質に暴露される場合であると考えられた。

30 しかしながら、特定された 100 種のチョウ目昆虫のうち小蛾類のツトガ亜科及びミズメイガ亜科については、トウモロコシ栽培地という限定された環境を主要な生息地とする種はない。また、大蛾類のマエアカヒトリについては、トウモロコシを摂食するが、生息数の増加がみられるにも関わらず、栽培地で近年の加害報告がないことを考慮すると、トウモロコシを優先的に摂食するものではないと考えられる。したがって、影響を受ける可能性は限定的である。その他のチョウ目昆虫の生息地や食草がトウモロコシの栽培ほ場周辺に限定されることも考え難い  
35 （農林水産省, 2013; 表 10、32 ページ）。これらのことから、特定された 100 種のチョウ目昆虫種がトウモロコシ栽培ほ場周辺に局所的に生息している可能性は低い。

さらに、本組換えトウモロコシの栽培ほ場から飛散した花粉がほ場の周辺に生育する食草に付着し、それを特定されたチョウ目昆虫の幼虫が摂食する場合の影響を、改変 Cry1Da2 蛋白質に感受性を示す *V. cardui* を例に検討した（添付資料  
40

15) 。その結果、食草に 425 粒/cm<sup>2</sup> の密度で花粉が堆積すると仮定<sup>5)</sup>しても、*V. cardui* の改変 Cry1Da2 蛋白質への推定暴露濃度は 0.33 ppm であり、LC<sub>50</sub> 値 (2.0 ppm) と比較して低い値であった。また、実際のほ場周辺では雑草管理がなされることで食草の密度が低下し (Gathmann *et al.*, 2006) 、幼虫の活動期に花粉の付着した食草がほ場周辺に生育しているとは限らない。加えて、食草に花粉が付着したとしても、気温、相対湿度 (Fonseca and Westgate, 2005) 及び紫外線 (Koti *et al.*, 2005) 等の環境要因が花粉を損傷させ、花粉中の蛋白質の安定性に影響を及ぼす可能性がある。これらのことから、ほ場周辺であっても、特定された 100 種のチョウ目昆虫が食草に付着した本組換えトウモロコシの花粉の摂食を介して致死濃度の改変 Cry1Da2 蛋白質に暴露される可能性は低い。

以上のことから、本組換えトウモロコシ中に産生される改変 Cry1Da2 蛋白質の殺虫活性により、特定された 100 種のチョウ目昆虫種が個体群レベルで影響を受ける可能性は低いと考えられた。

15

#### (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、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

20

### 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

25

宿主であるトウモロコシが我が国において野生化した事例はなく、また交雑可能な近縁野生種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の自生も報告されていない。このため、本組換えトウモロコシの交雑性に起因して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。

30

#### (2) 影響の具体的内容の評価

—

35

#### (3) 影響の生じやすさの評価

—

---

<sup>5)</sup> 開花期のトウモロコシ栽培ほ場内に生育するトウワタへの平均花粉堆積密度が 65~425 粒/cm<sup>2</sup> と報告されている (Sears *et al.*, 2001) ことから、ほ場の周辺に生育する食草上の本組換えトウモロコシの花粉密度を 425 粒/cm<sup>2</sup> と仮定した (添付資料 15)。

(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、本組換えトウモロコシの交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

5

4 その他の性質

—

### 第三 生物多様性影響の総合的評価

トウモロコシは我が国において長年にわたり栽培されてきたが、野生化して野生動物等との生息又は生育に影響を及ぼしたという報告はない。

5

競合における優位性：

栽培作物であるトウモロコシは栽培化の過程で種子の脱粒性及び休眠性を失っており、自生することができない。本組換えトウモロコシには改変 Cry1Da2 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性及び DGT-28 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性が付与されているが、いずれも上記特性に関与する形質ではない。したがって、これら付与された特性により本組換えトウモロコシが我が国の自然環境下で自生するようになるとは考え難い。

10  
15  
20  
25  
米国のほ場における栽培結果等をもとに、本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸特性（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、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）について評価を行った結果、形態及び生育の特性における子実の含水率、花粉の長径及び収穫種子の発芽率に非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差が認められた。しかしながら、本組換えトウモロコシの子実の含水率の測定値は自社商業品種における変動の範囲内であった。花粉の長径についても、本組換えトウモロコシの測定値は従来のトウモロコシの花粉の長径の文献値と異なるものではなかった。また、収穫種子の発芽率についても、本組換えトウモロコシにおける平均値は 98.5%と高く、休眠性は認められなかった。よって、本組換えトウモロコシのこれらの特性が競合における優位性を高める可能性は低いと考えられた。

したがって、本組換えトウモロコシ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：

従来、トウモロコシが野生動物等との生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

30  
本組換えトウモロコシ中に産生される改変 Cry1Da2 蛋白質は特定のチョウ目昆虫に対して特異的に殺虫活性を示す。また、DGT-28 EPSPS 蛋白質については、野生動物等に対する有害性は報告されていない。

35  
40  
これらの蛋白質のうち、改変 Cry1Da2 蛋白質が酵素活性を有するとの報告はない。また、酵素である DGT-28 EPSPS 蛋白質は他の EPSPS 蛋白質と同様の基質特異性を有し、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中においてホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応すると考えられた。加えて、EPSPS 蛋白質は同経路における律速酵素ではないことが示唆されており、DGT-28 EPSPS 蛋白質の産生により芳香族アミノ酸の生成量が増加する可能性も低い。さらに、改変 Cry1Da2 蛋白質及び DGT-28 EPSPS 蛋白質それぞれの作用機作は独立していることから、相互に影響する可能性は低い。よって、これらの蛋白質が宿主の代謝経路に作用して意図しない有害物質を産生するとは考え難い。

実際に、米国ほ場において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った結果、いずれの調査においても本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に

統計学的有意差は認められなかった。

5 以上のことから、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因し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が特定された。さらに、我が国に生息する絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫のうち、自然環境下で本組換えトウモロコシの花粉を摂取することにより影響を受ける可能性のある100種を特定した。

10 トウモロコシの花粉の飛散量はほ場からの距離に応じて減少することから、特定されたチョウ目昆虫が本組換えトウモロコシの花粉に暴露されるのはほ場周辺に限られると考えられた。一方、生息地及び食草の点から、特定された100種のチョウ目昆虫種がトウモロコシ栽培ほ場周辺に局所的に生息しているとは考え難い。また、ほ場周辺であっても、特定された100種のチョウ目昆虫が、本組換えトウモロコシの花粉の摂食を介して致死濃度の改変 Cry1Da2 蛋白質に暴露される可能性は低い。よって、本組換えトウモロコシの花粉の飛散により、特定されたチョウ目昆虫種が個体群レベルで影響を受ける可能性は低いと考えられた。

15 したがって、本組換えトウモロコシの有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

交雑性：

20 我が国において宿主であるトウモロコシと交雑可能な近縁野生種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の自生は報告されていないことから、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

以上のことから、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないと総合的に判断された。

25

## 参考文献

- 5 Ainley, W.M., Sastry-Dent, L., Welter, M.E., Murray, M.G., Zeitler, B., Amora, R., Corbin, D.R., Miles, R.R., Arnold, N.L., Strange, T.L., Simpson, M.A., Cao, Z., Carroll, C., Pawelczak, K.S., Blue, R., West, K., Rowland, L.M., Perkins, D., Samuel, P., Dewes, C.M., Shen, L., Sriram, S., Evans, S.L., Rebar, E.J., Zhang, L., Gregory, P.D., Urnov, F.D., Webb, S.R. and Petolino, J.F. (2013). Trait stacking via targeted genome editing. *Plant Biotechnology Journal*. 11: 1126-1134.
- 10 Ainley, W.M., Blue, R.C., Murray, M.G., Corbin, D.R., Miles, R.R. and Webb, S.R. (2018). Engineered landing pads for gene targeting in plants. US Patent. Patent No. US 10160975.
- 15 Brink, K., Anitha, S., Beatty, M., Anderson, J.A., Lyon, M., Weaver, J. and Dietrich, N. (2019). Comparison of Southern-by-Sequencing (SbS™) technology and Southern Blot Analysis for Molecular Characterization of Genetically Modified Crops. *Journal of Regulatory Science*. 7: 1-14.
- 20 CFIA. (2012). The Biology of *Zea mays* (L.) (Maize). (<http://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/biology-documents/zea-mays-l-/eng/1330985739405/1330985818367>).
- 25 Accessed on February 25<sup>th</sup>, 2014.
- Christensen, A.H., Sharrock, R.A. and Quail, P.H. (1992). Maize polyubiquitin genes: structure, thermal perturbation of expression and transcript splicing, and promoter activity following transfer to protoplasts by electroporation. *Plant Molecular Biology*. 18: 675-689.
- 30 Davis, F.M., Ng, S.S. and Williams, W.P. (1992). Visual Rating Scales for Screening Whorl-Stage Corn for Resistance to Fall Armyworm. Mississippi Agricultural and Forestry Experiment Station Technical Bulletin. Volume 186. Mississippi State University.
- 35 de Maagd, R.A., A. Bravo and N. Crickmore. (2001). How *Bacillus thuringiensis* has evolved specific toxins to colonize the insect world. *Trends in Genetics*. 17: 193-199.
- 40 FAO. (2018). FAOSTAT. (<http://www.fao.org/faostat/en/#home>). Accessed on October 23<sup>rd</sup>, 2018.

- Fling, M.E., Kopf, J. and Richards, C. (1985). Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3' (9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research*. 13: 7095-7106.
- 5 Fonseca, A.E. and Westgate, M.E. (2005). Relationship between desiccation and viability of maize pollen. *Field Crops Research*. 94: 114-125.
- Gathmann, A., Wirooks, L., Eckert, J. and Schuphan, I. (2006). Spatial distribution of *Aglais urticae* (L.) and its host plant *Urtica dioica* (L.) in an agricultural landscape: implications for *Bt* maize risk assessment and post-market monitoring. *Environmental Biosafety Research*. 5: 27-36.
- 10 Griffin, S.L., Chekan, J.R., Lira, J.M., Robinson, A.E., Yerkes, C.N., Siehl, D.L., Wright, T.R., Nair, S.K. and Cicchillo, R.M. (2021). Characterization of a Glyphosate-Tolerant Enzyme from *Streptomyces svecius*: A Distinct Class of 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate Synthases. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 69(17):5096-5104.
- 15
- Hartley, J.L., Temple, G.F. and Brasch, M.A. (2000). DNA cloning using in vitro site-specific recombination. *Genome Research*. 10: 1788-1795.
- 20
- Herrmann, K.M. (1983). "The common aromatic biosynthetic pathway". *Amino Acids: Biosynthesis and Genetic Regulation*. Herrmann, K.; Somerville, R. eds., Addison-Wesley Publishing Co. 301-322.
- 25
- Katzen, F. (2007). Gateway® recombinational cloning: a biological operating system. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2(4): 571-589.
- Komari, T., Hiei, Y., Saito, Y., Murai, N. and Kumashiro, T. (1996). Vectors carrying two separate T-DNAs for co-transformation of higher plants mediated by *Agrobacterium tumefaciens* and segregation of transformants free from selection markers. *The Plant Journal*. 10(1): 165-174.
- 30
- Koti, S., Reddy, K.R., Reddy, V.R., Kakani, V.G. and Zhao, D. (2005). Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. *Journal of Experimental Botany*. 56: 725-736.
- 35
- Kumar, S., Gupta, M. and Alabed, D. (2017). Use of a Maize Untranslated Region for Transgene Expression in Plants. US Patent. Patent No. US 9688996.
- 40
- Lira, J.M., Cicchillo, R.M., Yerkes, C. and Robinson, A.E. (2013). *Glyphosate Resistant Plants and Associated Methods*. World Intellectual Property

Organization. Patent No. WO 2013116700.

- 5 Luna, S.V., Figueroa, J.M., Baltazar, B.M., Gomez, R.L., Townsend, R. and Schoper, J.B. (2001). Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Science*. 41: 1551-1557.
- 10 NCGA. (2018). World of Corn 2018.  
([http://www.worldofcorn.com/pdf/NCGA\\_WOC2018.pdf](http://www.worldofcorn.com/pdf/NCGA_WOC2018.pdf)).  
Accessed on October 23<sup>rd</sup>, 2018.
- 15 OECD. (1999). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No.10. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to glyphosate herbicide. ENV/JM/MONO(99)9.  
([https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(99\)9/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(99)9/en/pdf)).  
Accessed on April 27<sup>th</sup>, 2023.
- 20 OECD. (2003). Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). Series on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology, No. 27. Organisation for economic co-operation and development. ENV/JM/MONO (2003)11.  
([https://one.oecd.org/document/env/jm/mono\(2003\)11/en/pdf](https://one.oecd.org/document/env/jm/mono(2003)11/en/pdf)).  
Accessed on April 27<sup>th</sup>, 2023.
- 25 OECD. (2007). Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* - derived insect control proteins. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No.42. Organisation for economic co-operation and development. ENV/JM/MONO(2007)14.  
30 ([https://one.oecd.org/document/env/jm/mono\(2007\)14/en/pdf](https://one.oecd.org/document/env/jm/mono(2007)14/en/pdf)).  
Accessed on April 27<sup>th</sup>, 2023.
- 35 Peralta, E.G., Hellmiss, R. and Ream, W. (1986). *Overdrive*, a T-DNA transmission enhancer on the *A. tumefaciens* tumour-inducing plasmid. *The EMBO Journal*. 5: 1137-1142.
- 40 Pleasants, J.M., Hellmich, R.L., Dively, G.P., Sears, M.K., Stanley-Horn, D.E., Mattila, H.R., Foster, J.E., Clark, P and Jones, G. D. (2001). Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 98: 11919-11924.
- Sears, M.K., Hellmich, R.L., Stanley-Horn, D.E., Oberhauser, K.S., Pleasants, J.M., Mattila, H.R., Siegfried, B.D. and Dively, G.P. (2001). Impact of *Bt* corn pollen

- on monarch butterfly populations: A risk assessment. Proceedings of the National Academy of Sciences. 98: 11937-11942.
- 5 Shirai, Y. and Takahashi, M. (2005). Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudaeschnia maha*. Applied Entomology and Zoology. 40 (1): 151-159.
- 10 Smart, C.C., Johanning, D., Müller, G. and Amrhein, N. (1985). Selective overproduction of 5-enol-pyruvylshikimic acid 3-phosphate synthase in a plant cell culture which tolerates high doses of the herbicide glyphosate. Journal of Biological Chemistry. 260(30): 16338-16346.
- 15 Tan, S.Y., Sheets, J.J., Glancy, T., Woosley, A.T., Worden, S.E., Alabed, D., Burton, S., McLaughlin, K.C., Narva, K.E. and Meade, T. (2018). Cry1d for Controlling Corn Earworm. US Patent. Patent No. US 9890390.
- Weiss, U. and Edwards, J.M. (1980). "Regulation of the shikimate pathway". The biosynthesis of aromatic compounds, New York : John Wiley. 287-301.
- 20 Wych, R.D. (1988). Production of hybrid seed corn. In G.F. Sprague and J.W. Dudley (eds.), Corn and Corn Improvement (3<sup>rd</sup> ed.). Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc.: 565-607.
- 25 Zastrow-Hayes, G.M., Lin, H., Sigmund, A.L., Hoffman, J.L., Alarcon, C.M., Hayes, K.R., Richmond, T.A., Jeddleloh, J.A., May, G.D. and Beatty, M.K. (2015). Southern-by-Sequencing: A Robust Screening Approach for Molecular Characterization of Genetically Modified Crops. The Plant Genome 8: 1-15.
- 30 柿本陽一・山田実. (2001). "トウモロコシの起源と特性 転作全書 第三巻 雑穀". 農山漁村文化協会. 東京.
- 菊池一徳. (1987). "トウモロコシの生産と利用". 光琳. 東京.
- 35 後藤秀俊, 黒川俊二, 笠井美恵子, 福田美雪, 高橋靖幸, 井上公一, 中井秀一, 山根精一郎, 津田麻衣, 大澤良. (2018). "遺伝子組換え作物の生物多様性影響の競合における優位性に関する考察". 育種学研究. 20: 105-114
- 財務省. (2018). 財務省貿易統計.  
(<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>).  
40 Accessed on October 23<sup>rd</sup>, 2018.
- 瀧澤康孝. (2001). "子実用トウモロコシの栽培 転作全書 第三巻 雑穀". 農山漁村文化協会. 東京.

- 千藤茂行. (2001). “トウモロコシの品種生態. IV 採取. 転作全書 第三巻 雑穀”. 農山漁村文化協会. 東京.
- 5 戸澤英男. (2005). “トウモロコシ—歴史・文化、特性・栽培、加工・利用—”. 農山漁村文化協会.
- 中村茂文. (2001). “生育のステージと生理, 生態 転作全書 第三巻 雑穀”. 農山漁村文化協会. 東京.
- 10 西尾剛. (2002). “新農学実験マニュアル 改訂第3版”. 株式会社ソフトサイエンス社.
- 農林水産省. (2013). 第4次レッドリストの改訂に伴う評価の確認について. 平成24年度第7回生物多様性影響評価検討会総合検討会.  
15 ([https://warp.ndl.go.jp/info:ndljp/pid/10262996/www.s.affrc.go.jp/docs/committee/diversity/130228/pdf/siryo\\_9.pdf](https://warp.ndl.go.jp/info:ndljp/pid/10262996/www.s.affrc.go.jp/docs/committee/diversity/130228/pdf/siryo_9.pdf))  
Accessed on August 16<sup>th</sup>, 2024.
- 農林水産省. (2014). 飼料用トウモロコシの流通・加工実態調査結果報告書 平成26年3月26日公表.  
20 (<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/pdf/140326-01.pdf>).  
Accessed on April 23<sup>rd</sup>, 2015.
- 農林水産省. (2017). 「平成27年度トウモロコシ生育等実態調査」の結果について  
25 平成29年3月22日公表.  
(<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/170322.html>).  
Accessed on March 22<sup>nd</sup>, 2017.
- 農林水産省. (2018a). 平成29年産作物統計 (普通作物・飼料作物・工芸農作物)  
30 平成30年7月26日公表.  
(<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00500215&tstat=000001013427&cycle=7&year=20170&month=0&tclass1=000001032288&tclass2=000001032753&tclass3=000001112815>).  
35 Accessed on October 23<sup>rd</sup>, 2018.
- 農林水産省. (2018b). 平成29年産野菜生産出荷統計 平成30年11月12日公表.  
(<https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00500215&tstat=000001013427&cycle=7&year=20170&month=0&tclass1=000001032286&tclass2=000001032933&tclass3=000001121095>).  
40 Accessed on October 23<sup>rd</sup>, 2018.

- 農林水産省. (2018c). 飼料をめぐる情勢 平成 30 年 11 月公表.  
([http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l\\_siryo/index.html](http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryo/index.html)).  
Accessed November 21<sup>th</sup>, 2018.
- 5 農林水産省. (2023). カルタヘナ法に基づき第一種使用規程を承認した遺伝子組換え  
農作物一覧 (作物別、承認順) .  
(<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-35.pdf>).  
Accessed on June 16<sup>th</sup>, 2023.
- 10 山田実. (2001). “トウモロコシの起源と特性 転作全書 第三巻 雑穀”. 農山漁村  
文化協会. 東京.
- 15 山本勝利, 大黒俊哉, 松村雄. (2003). “III. 農業環境技術研究所における Bt トウモロ  
コシ緊急調査 5. わが国における鱗翅目のレッドリスト掲載種への Bt トウモ  
ロコシ花粉の影響評価 農業環境研究叢書 第 14 号”. 独立行政法人農業環境  
技術研究所. 茨城.

## 資料 3

### 緊急措置計画書

令和 5 年 6 月 23 日

5 氏名 コルテバ・アグリサイエンス日本株式会社  
代表取締役社長 野村 真一郎  
住所 東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

10 チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性トウモロコシ（改変 *cry1Da2*,  
*dgt-28 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DAS1131, OECD UI: DAS-Ø1131-  
3)（以下「本組換えトウモロコシ」という。）の第一種使用等において、今後、生物多  
様性影響が生ずるおそれがあると科学的に認められた場合、当該影響を効果的に防止  
するため、以下の措置をとることとする。

15

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

弊社は緊急措置に適切に対応するための社内委員会を速やかに設置する。社内委員  
会の構成メンバーを以下の表にまとめた。

20

（個人名・所属は個人情報につき非開示）

25 2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、本組換えトウモロコシの開発者である米国パイオニア・ハイブレット・イ  
ンターナショナル社と連絡を取り、第一種使用等の状況について情報収集を行う。

30 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

35 米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社は、米国における本組換え  
トウモロコシ種子の購入者及び穀物取扱い業者、トウモロコシの栽培者が加入する団  
体に対して、広く情報を提供するための連絡体制を保有している。したがって、今後、  
本組換えトウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的  
に認められた場合、米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社は、本連  
絡体制により、関係各者と連絡を取る。

40 また、必要に応じて、弊社のホームページ等、国内の適切な媒体を通して、一般に  
広く知らせる。

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

5 本組換えトウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に認められた場合、弊社は、米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社とともに、我が国向けに輸出している穀物取扱業者、種子取扱業者及び我が国の栽培者等に対して本件を連絡する等の適切な措置を講ずる。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

10

本組換えトウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に認められた場合、弊社は、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連絡するとともに、緊急措置対応のための体制及び連絡窓口を報告する。

15

添付資料（社外秘）

1. Description and Sequence of the T-DNA Region from Plasmid PHP88492 (STUDY NUMBER: PHI-2020-140).  
5
2. Environmental Risk Assessment for the Cultivation of Maize Containing Event DAS-Ø1131-3: U.S. (STUDY NUMBER: PHI-2021-112).
3. Comparison of the Amino Acid Sequence of the Cry1Da2 Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens (STUDY NUMBER: PHI-2021-073\_201).  
10
4. Comparison of the Amino Acid Sequence of the DGT-28 EPSPS Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens (STUDY NUMBER: PHI-2021-074\_201).  
15
5. Confirmation of the Absence of Agrobacterium Backbone Regions for Maize Event DAS-Ø1131-3 (STUDY NUMBER: PHI-R020-Y21).
6. Segregation Analysis and Tissue Production of Multiple Maize Generations Containing Event DAS-Ø1131-3 (STUDY NUMBER: PHI-2020-068).  
20
7. Southern-by-Sequencing Analysis of the T1 Generation of DAS-Ø1131-3 Maize (STUDY NUMBER: PHI-2021-044).  
25
8. Characterization of DAS-Ø1131-3 Maize for Insertion Stability in Five Generations Using Southern Blot Analysis (STUDY NUMBER: PHI-2021-051).
9. Expressed Trait Protein Concentration of a Maize Line Containing Event DAS-Ø1131-3 (STUDY NUMBER: PHI-2020-019\_700).  
30
10. Expression Analysis of Multiple Maize Generations Containing Event DAS-Ø1131-3 (STUDY NUMBER: PHI-2021-018).  
35
11. Development and Validation of an Event-Specific Quantitative Real-Time PCR (qPCR) Detection Method for Maize Event DAS-Ø1131-3 (STUDY NUMBER: PHI-2021-042).
- 40
12. Field-Based Fall Armyworm Efficacy and Greenhouse-Based Sugarcane Borer Efficacy of Maize Containing Event DAS-Ø1131-3 During 2018-2020 in Latin America (Argentina) (STUDY NUMBER: PHI-R055-Y21-002).

13. Agronomic Characteristics of a Maize Line Containing Event DAS-Ø1131-3 (STUDY NUMBER: PHI-2020-021\_001).
- 5 14. Japan Stage-3 Succeeding Crop, Plow-in, Over-Wintering, Cold Tolerance Testing, and Soil Sampling for Maize Event DAS-Ø1131-3 (STUDY NUMBER: PHI-2020-102\_001).
- 10 15. DAS1131 中に産生される改変 Cry1Da2 蛋白質の非標的チョウ目昆虫における暴露濃度及びその影響