

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  
除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ  
DP910521 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 . . . . .	9
資料 2. 審査データの概要 . . . . .	11
資料 3. 緊急措置計画書 . . . . .	66

Most of the summaries and evaluations contained in this report are based on unpublished proprietary data submitted for registration to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan.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ルホシネート耐性トウモロコシ DP910521 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、精密な遺伝子導入を行う観点から、2段階の調製方法を用いて作出されている。第1段階として、パーティクルガン法を用いて相同組換えを触媒する FLP 蛋白質の標的配列を持つ中間系統を作出している。その後、第2段階として、大腸菌 (*Escherichia coli*) 等由来のプラスミド pUC19 を基に構築され、目的遺伝子等からなる挿入 DNA 領域を持つプラスミド PHP79620、*Flp* 遺伝子発現カセットを持つプラスミド PHP5096 等をパーティクルガン法により導入し、一過的に発現した FLP 蛋白質が触媒する相同組換えにより、挿入 DNA 領域を中間系統の標的配列で挟まれた領域と置換することで、本組換えトウモロコシが作出されている。

また、本組換えトウモロコシには、目的遺伝子である *cry1B.34* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子の発現カセットを含む挿入 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うち *cry1B.34* 遺伝子及び *pat* 遺伝子の発現により産生される Cry1B.34 蛋白質及びホスフィノスリシンアセチルトランスフェラーゼ (PAT 蛋白質) によって、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性が本組換えトウモロコシに付与されている。また、*pmi* 遺伝子の発現により産生されるマンノースリン酸イソメラーゼ (PMI 蛋白質) は、選抜マーカーとして機能する。

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、本組換えトウモロコシを承認申請のあった第一種使用規程に従って使用した場合に、生物多様性影響が生ずるおそれはないと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、精密な遺伝子導入を行う観点から、2段階の調製方法を用いて目的遺伝子を導入することで作出されている。第1段階として、パーティクルガン法を用いて、相同組換えを触媒するリコンビナーゼである FLP 蛋白質の標的配列をもつ Landing pad (LP) 配列を導入した中間系統を作出している。その後、第2段階として、*E. coli*等由来のプラスミド pUC19 を基に構築され、目的遺伝子等からなる挿入 DNA 領域を持つプラスミド PHP79620、*Flp* 遺伝子発現カセットを持つプラスミド PHP5096 等のヘルパープラスミドをパーティクルガン法により導入した後、一過的に発現した FLP 蛋白質が触媒する相同組換えにより、プラスミド PHP79620 の FLP 蛋白質の標的配列で挟まれた挿入 DNA 領域を、中間系統の LP 配列中の対応する配列と置換することで、本組換えトウモロコシが作出されている。

本組換えトウモロコシは、目的遺伝子である

- ① *cry1B.34* 遺伝子 (*Bacillus thuringiensis* 由来の *cry1B* 遺伝子、*cry1Ca1* 遺伝子及び *cry9Db1* 遺伝子のそれぞれ一部塩基配列を組み合わせることで作製され、Cry1B.34 蛋白質をコード)
- ② *pat* 遺伝子 (*Streptomyces viridochromogenes* 由来の PAT 蛋白質をコード)
- ③ *pmi* 遺伝子 (*E. coli* 由来の PMI 蛋白質をコード)

の各発現カセットを含む挿入 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、目的の蛋白質が複数世代にわたり安定して発現していることが、ELISA 法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、Cry1B.34 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性、PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性及び PMI 蛋白質による選抜マーカー特性が付与されているが、いずれも種子の脱粒性や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、発芽苗数、雄穂開花までの日数、稈長及び花粉の充実度を除き、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発芽苗数、雄穂開花までの日数及び稈長について、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った。また、本組換えトウモロコシの花粉の充実度の平均値は 99%であったため、非遺伝子組換えトウモロコシと比べて、稔性に、競合における優位な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。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、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 Cry1B.34 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質が、野生動植物等の生息又は生育に直接有害な影響を及ぼすかについて評価したところ、Cry1B.34 蛋白質は、特定のチョウ目昆虫に対して特異的な殺虫活性を示した。他方、PAT 蛋白質及び PMI 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、Cry1B.34 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 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、これらの蛋白質のうち、Cry1B.34 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 PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質は、ともに基質特異性を有し、前者は除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートのアセチル化を、後者はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸との異性化を特異的に触媒する。さらに、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質の作用機作は互いに独立していると考えられることから、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、有害物質の産生性に関して、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、Cry1B.34 蛋白質は既知アレルゲンとの間の有意な相同性を有しておらず、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質についても、これらを発現する組換えトウモロコシのこれまでの商業利用においてアレルギー誘発性を示したとの報告はない。

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 Cry1B.34 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が、生存に影響を与えう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 Cry1B.34 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 Cry1B.34 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ルホシネート耐性トウモロコシ  
 (*cry1B.34, pat, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)  
 (DP910521, OECD UI: DP-910521-2) の申請書等の概要

5 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
10	(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
15	(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 .....	21
	(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 .....	25
20	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 .....	25
	3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 .....	31
	(1) 使用等の内容 .....	31
	(2) 使用等の方法 .....	31
25	(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 .....	31
	(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 .....	31
	(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 .....	31
30	(6) 国外における使用等に関する情報 .....	31
	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 .....	33
	1 競合における優位性 .....	33
	2 有害物質の産生性 .....	34
	3 交雑性 .....	47
35	4 その他の性質 .....	48
	第三 生物多様性影響の総合的評価 .....	49
	参考文献 .....	51
	緊急措置計画書 .....	58
	添付資料 .....	60

# 資料 1

## 第一種使用規程承認申請書

令和 5 年 9 月 7 日

5

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

遺伝子組換え生物等の 種類の名称	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 ( <i>cry1B.34, pat, Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (DP910521, OECD UI: DP-910521-2)
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 PH184C 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）。

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。

### 35 ・流通実態及び用途

40 世界最大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℃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℃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℃、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 μm 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ルホシネート耐性トウモロコシ (*cry1B.34, pat, Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis) (DP910521, OECD UI: DP-910521-2) (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。第一.2. (3) .イ (17 ページ) で後述するように、本組換えトウモロコシの染色体には、T-DNA 領域のうち FRT1 から FRT87 までの領域 (以下「挿入 DNA 領域」という。) だけが含まれる。このため、本組換えトウモロコシにおける供与核酸は当該領域である。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。

25

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	FRT1	48	出芽酵母 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) 由来のFLPリコンビナーゼ標的部 (Proteau <i>et al.</i> , 1986)。
<i>pmi</i> 遺伝子発現カセット*	<i>pmi</i>	1,216	大腸菌 ( <i>Escherichia coli</i> ) 由来のマンノースリン酸イソメラーゼ (PMI蛋白質) をコードする遺伝子 (Negrotto <i>et al.</i> , 2000)。コーディング領域の5'側に4塩基、3'側に36塩基の非翻訳領域を含む。
	<i>pinII</i> Terminator	311	ジャガイモ ( <i>Solanum tuberosum</i> ) 由来のプロテアーゼインヒビターII遺伝子 ( <i>pinII</i> ) のターミネーター領域 (Keil <i>et al.</i> , 1986、An <i>et al.</i> , 1989)。転写を停止する。
その他	Z19 Terminator	742	トウモロコシ ( <i>Zea mays</i> ) 由来の19-kDaゼイン遺伝子のターミネーター領域 (GenBank accession KX247647、Dong <i>et al.</i> , 2016)。転写を停止する。
<i>pat</i> 遺伝子発現カセット	<i>os-actin</i> Promoter	1,682	イネ ( <i>Oryza sativa</i> ) 由来のアクチン遺伝子のプロモーター領域 (GenBank accession CP018159、GenBank accession EU155408.1)。植物体内での構成的発現を誘導する。
	<i>os-actin</i> Intron	469	イネ ( <i>O. sativa</i> ) 由来のアクチン遺伝子のイントロン領域 (GenBank accession CP018159、GenBank accession EU155408.1)。
	<i>pat</i>	552	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィノスリシンアセチルトランスフェラーゼ (PAT蛋白質) をコードする遺伝子 (Wohlleben <i>et al.</i> , 1988)。
	CaMV 35S Terminator	194	カリフラワーモザイクウイルス由来の35Sターミネーター領域 (Franck <i>et al.</i> , 1980、Guilley <i>et al.</i> , 1982)。転写を停止する。
その他	<i>loxP</i>	34	バクテリオファージP1由来のCreリコンビナーゼ認識組換え部位 (Dale and Ow, 1990)。
	<i>sb-ubi</i> Terminator	584	ソルガム ( <i>Sorghum bicolor</i> ) 由来のユビキチン遺伝子のターミネーター領域 (Phytozome gene ID Sobic.004G049900.1、US Patent 9725731[Abbitt <i>et al.</i> , 2017])。転写を停止する。
	<i>sb-gkaf</i> Terminator	464	ソルガム ( <i>S. bicolor</i> ) 由来のガンマカフィリン遺伝子のターミネーター領域 (de Freitas <i>et al.</i> , 1994)。転写を停止する。

\* *pmi* 遺伝子発現カセットのプロモーターである *ubiZM1* Promoter (*Z. mays* 由来) は、後述する中間系統作成にあたりあらかじめ *loxP* とともに宿主に移入されている。挿入 DNA 領域が当該プロモーターの下流に部位特異的組換えにより挿入され、*pmi* 遺伝子と当該プロモーターが接続される (第一.2. (3) .イ、17 ページ)。

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 (bp)	由来及び機能
その他	<i>attB1</i>	24	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)。
<i>cry1B.34</i> 遺伝子発現カセット	MMV Enhancer	187	ミラビルスモザイクウイルス由来のエンハンサー領域 (Dey and Maiti, 1999)。
	MMV Enhancer	187	ミラビルスモザイクウイルス由来のエンハンサー領域 (Dey and Maiti, 1999)。
	LLDAV Promoter	1,226	ラミウム奇形葉関連ウイルス由来のプロモーター領域 (Zhang <i>et al.</i> , 2008)。植物体内での構成的発現を誘導する。
	<i>zm i6</i> Intron	604	トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来の翻訳開始因子 6 遺伝子のイントロン領域 (Phytozome gene ID GRMZM2G318475、US Patent 10344290 [Diehen <i>et al.</i> , 2019])。
	<i>zm</i> -extensin 5' UTR	67	トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のエクステンシン遺伝子の 5' 非翻訳領域 (UTR) (GenBank accession NM001111947.2、UniProt accession P14918)。
	<i>cry1B.34</i>	3,450	<i>Cry1B.34</i> 蛋白質をコードする遺伝子。 <i>Bacillus thuringiensis</i> の <i>cry1B</i> 遺伝子及び <i>cry1Ca1</i> 遺伝子*に由来するコア蛋白質コード領域と <i>cry9Db1</i> 遺伝子に由来する C 末端側コード領域からなる (WO Patent 2016061197 [Izumi and Yamamoto, 2016]、GenBank accession CAA30396.1、US Patent 7541517 [Flannagan and Abad, 2009])。
<i>os-ubi</i> Terminator	950	イネ ( <i>O. sativa</i> ) 由来のユビキチン遺伝子のターミネーター領域 (Phytozome gene ID LOC_Os06g46770.1、Wang <i>et al.</i> , 2000)。転写を停止する。	
その他	<i>attB3</i>	21	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 (Cheo <i>et al.</i> , 2004)。
	FRT87	48	出芽酵母 ( <i>S. cerevisiae</i> ) 由来の改変型 FLP リコンビナーゼ標的的部位 (Tao <i>et al.</i> , 2007)。

\* Bacterial Pesticidal Protein Resource Center にて定義された名称 (www.bpprc.org; Crickmore *et al.* 2021)。

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 (bp)	由来及び機能
その他	pUC <i>ori</i>	589	大腸菌 ( <i>E.coli</i> ) pUC19 由来の DNA 複製起点 (GenBank accession KP700956.1, Yanisch-Perron, <i>et al.</i> , 1985)。
	<i>bla</i> (Ap <sup>R</sup> )	861	大腸菌 ( <i>E.coli</i> ) 由来の $\beta$ -ラクタマーゼ (アンピシリン耐性) 遺伝子 (Sutcliffe, 1978, Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)。
	<i>attB4</i>	21	バクテリオファージ $\lambda$ 由来のインテグラーゼ認識組換え部位 (Cheo <i>et al.</i> , 2004)。
	CaMV 35S Terminator	194	カリフラワーモザイクウイルス由来の 35S ターミネーター領域 (Franck <i>et al.</i> , 1980, Guilley <i>et al.</i> , 1982)。転写を停止する。

- 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

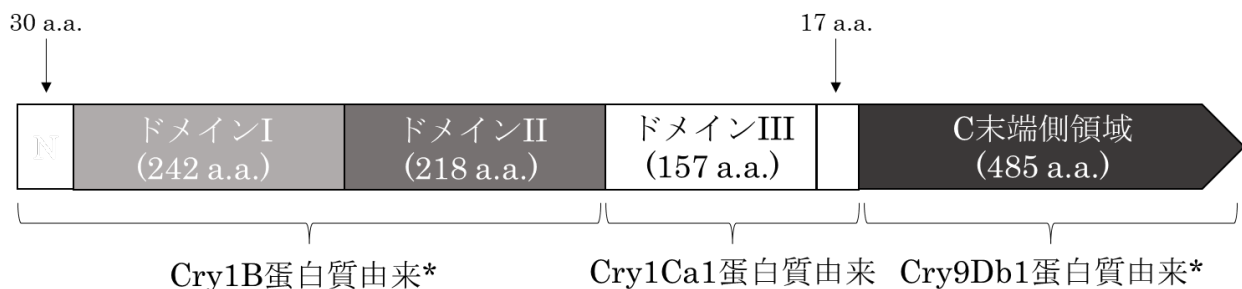
本組換えトウモロコシには、*cry1B.34* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子が導入されている。以下に、各遺伝子がコードする蛋白質の機能を記載した。

10 Cry1B.34 蛋白質

Cry1B.34 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 Cry1B.34 蛋白質のコア蛋白質は、標的である *Spodoptera frugiperda* (ツマジロクサヨトウ) 等のチョウ目害虫に対する殺虫活性を高めるため、Cry1B 蛋白質由来のドメイン I 及びドメイン II 並びに Cry1Ca1 蛋白質由来のドメイン III が組み合わされている (図 1、12 ページ)。また、N 末端領域及びドメイン I において 16 残基のアミノ酸が改変されている (Izumi and Yamamoto, 2016)。

25 一方、Cry1B.34 蛋白質の C 末端側領域には Cry9Db1 蛋白質由来の C 末端側領域を用いているが (図 1、12 ページ)、上述のとおり Cry 蛋白質の C 末端側領域は殺虫活性を担うコア蛋白質ではなく、昆虫の腸管内のプロテアーゼにより消化されると考えられる。



30 \* 野生型蛋白質のアミノ酸配列を改変

図 1 Cry1B.34 蛋白質の模式図

Cry1B.34 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チョウ目害虫である *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、Cry1B.34 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 Cry1B.34 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 Cry1B.34 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)。

以上のことから、Cry1B.34 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 Cry1B.34 蛋白質の殺虫スペクトル

目	科	種	影響濃度 (ppm)
Lepidoptera (チョウ目)	Nymphalidae (タテハチョウ科)	<i>Vanessa cardui</i>	LC <sub>50</sub> = 0.065 (0.038 - 0.092)
	Erebidae (トモエガ科)	<i>Anticarsia gemmatalis</i>	LC <sub>50</sub> = 0.12 (0.095 - 0.15)
	Noctuidae (ヤガ科)	<i>Trichoplusia ni</i>	LC <sub>50</sub> = 0.31 (0.27 - 0.34)
		<i>Chrysodeixis includens</i>	LC <sub>50</sub> = 0.26 (0.23 - 0.29)
		<i>Spodoptera frugiperda</i>	LC <sub>50</sub> = 5.1 (4.5 - 5.7)
		<i>Helicoverpa zea</i>	NOEC > 3000
	Crambidae (ツトガ科)	<i>Diatraea grandiosella</i>	LC <sub>50</sub> = 6.5 (4.6 - 8.5)
		<i>Diatraea saccharalis</i>	LC <sub>50</sub> = 6.6 (4.5 - 8.7)
		<i>Ostrinia nubilalis</i>	LC <sub>50</sub> = 17 (13 - 22)
Coleoptera (コウチュウ目)	Chrysomelidae (ハムシ科)	<i>Diabrotica virgifera virgifera</i>	NOEC > 3,000
	Staphylinidae (ハネカクシ科)	<i>Dalotia coriaria</i>	NOEC > 1,000
	Coccinellidae (テントウムシ科)	<i>Coleomegilla maculata</i>	NOEC > 8,000
Hymenoptera (ハチ目)	Apidae (ミツバチ科)	<i>Apis mellifera</i> (幼虫)	NOEC > 1,250 (ng/larva)
		<i>Apis mellifera</i> (成虫)	NOEC > 1,700 (ng/bee/day)
	Eulophidae (ヒメコバチ科)	<i>Pediobius foveolatus</i>	NOEC > 8,000
Neuroptera (アミメカゲロウ目)	Chrysopidae (クサカゲロウ科)	<i>Chrysoperla rufilabris</i>	NOEC > 8,000
Collembola (トビムシ目)	Isotomidae (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。

## PAT 蛋白質

除草剤グルホシネートは、その活性成分である L-グルホシネートによりグルタミン合成酵素活性を阻害するため、基質であるアンモニアが植物体内に蓄積し植物は枯死する。PAT 蛋白質は、L-グルホシネートをアセチル化し、N-アセチル-L-グルホシネートに変え無毒化することで、植物に除草剤グルホシネートに対する耐性を付与する (OECD, 2002)。なお、トウモロコシでの発現を最適化するため *pat* 遺伝子の塩基配列を改変しているが、産生される PAT 蛋白質のアミノ酸配列に変化はない。

## PMI 蛋白質

PMI 蛋白質はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸を可逆的に相互変換する。トウモロコシを含む多くの植物はマンノースを炭素源として利用できないが、PMI 蛋白質を産生する植物は炭素源としてマンノースを含む培地において生長することが可能なため、遺伝子組換え植物の選抜マーカーとして用いられる (Negrotto *et al.*, 2000、第一.2. (3) .ハ.①、20 ページ)。

### 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、Cry1B.34 蛋白質と相同性を示すアレルゲンは認められなかった(添付資料 3)。また、本組換えトウモロコシで産生される PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質のアミノ酸配列は、既に承認を受けている *B.t. Cry1F maize line 1507*<sup>2)</sup> 等で産生される PAT 蛋白質及び MIR162<sup>3)</sup> 等で産生される PMI 蛋白質と同一であり、既に安全性の評価が終了している。これらの蛋白質を産生するトウモロコシは既に商業化され安全に使用されており、これまでにアレルギー誘発性を示したとの報告はない。

### ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

Cry1B.34 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。

PAT 蛋白質は基質特異性を有し、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グ

<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>)。

<sup>2)</sup> チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*cry1F*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (*B.t. Cry1F maize line 1507*, OECD UI: DAS-Ø15Ø7-1)。

我が国における承認状況；食品：2002 年 7 月 8 日、飼料：2003 年 3 月 27 日、環境：2005 年 3 月 2 日。

<sup>3)</sup> チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ (改変 *vip3A*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MIR162, OECD UI: SYN-IR162-4)。

我が国における承認状況；食品：2010 年 1 月 21 日、飼料：2010 年 6 月 1 日、環境：2010 年 6 月 11 日。

ルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒するが、他のアミノ酸やD-グルホシネートを基質としない (OECD, 1999)。

PMI 蛋白質は基質特異性を有し、マンノース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸との異性化を触媒するが、他の天然基質は知られていない (Freeze, 2002)。

5 また、これらの蛋白質の作用機作は互いに独立していると考えられることから、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。

10

## (2) ベクターに関する情報

### イ 名称及び由来

15 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 PHP79620 であり (図 2、18 ページ)、大腸菌 (*E. coli*) 等由来のプラスミド pUC19 から作製された (Yanisch-Perron, *et al.*, 1985)。

### ロ 特性

20

#### ① ベクターの塩基数及び塩基配列

25 プラスミド PHP79620 の塩基数は 17,763 bp であり、挿入 DNA 領域の塩基数は 13,917 bp である。挿入 DNA 領域の塩基配列を添付資料 1 の Appendix A に示した。

#### ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

30 プラスミド PHP79620 の外側骨格領域には抗生物質アンピシリン耐性 (*bla* (Ap<sup>R</sup>)) 遺伝子が含まれる。本遺伝子は、微生物を用いてプラスミド PHP79620 を増殖させる際、形質転換プラスミドを含む微生物を選抜するためのマーカーとして機能する。

35 なお、本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> 世代における塩基配列解析により確認した (第一.2. (4) . ②、21 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

40 プラスミド PHP79620 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 挿入 DNA 領域は、*cry1B.34* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子の発現カセットを含む。プラスミド PHP79620 における挿入 DNA 領域の構成を図 2 (18 ページ) に示した。

10 また、本組換えトウモロコシの染色体に挿入された核酸全体について、添付資料 4 及び図 3 (19 ページ) に示した。本組換えトウモロコシの作出においては、プラスミド PHP79620 に含まれる挿入 DNA 領域を、部位特異的組換えを用いてトウモロコシのゲノム DNA に挿入した。

部位特異的組換えにはリコンビナーゼである FLP 蛋白質を用いた。FLP 蛋白質は標的配列である FRT1 及び FRT87 の配列特異的に組換えを誘導する。

15 はじめに、これらの標的配列を含む挿入標的配列 (Landing Pad sequence; 以下「LP 配列」という。) を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。) PH184C 系統に導入し、1 コピーの LP 配列が染色体に挿入され、かつ、その挿入によって内在性遺伝子の破壊が生じていない系統 (以下「中間系統」という。) を選抜した (図 3、19 ページ)。

20 次に、得られた中間系統にパーティクルガン法により PHP79620 及びヘルパープラスミド (PHP5096、PHP73572 及び PHP21875) を導入した (図 3 A 及び B、19 ページ; 添付資料 4)。PHP5096 は *Flp* 遺伝子発現カセットを含んでいるため、導入に伴い FLP 蛋白質が産生される (図 3 B、19 ページ)。その結果、PHP79620 中の FRT1 及び FRT87 と、既に染色体に挿入されている LP 配列中の FRT1 及び FRT87 との間で部位特異的組換えが誘導され (図 3 B 及び C、19 ページ)、PHP79620 のうち挿入 DNA 領域 (図 2、18 ページ) だけが染色体上の LP 配列中に挿入された (図 3 D、19 ページ)。

25 なお、PHP73572 及び PHP21875 には *zm-wus2* 遺伝子及び *zm-odp2* 遺伝子が含まれており、形質転換における植物体の再生率を向上させる (Lowe *et al.*, 30 2016)。

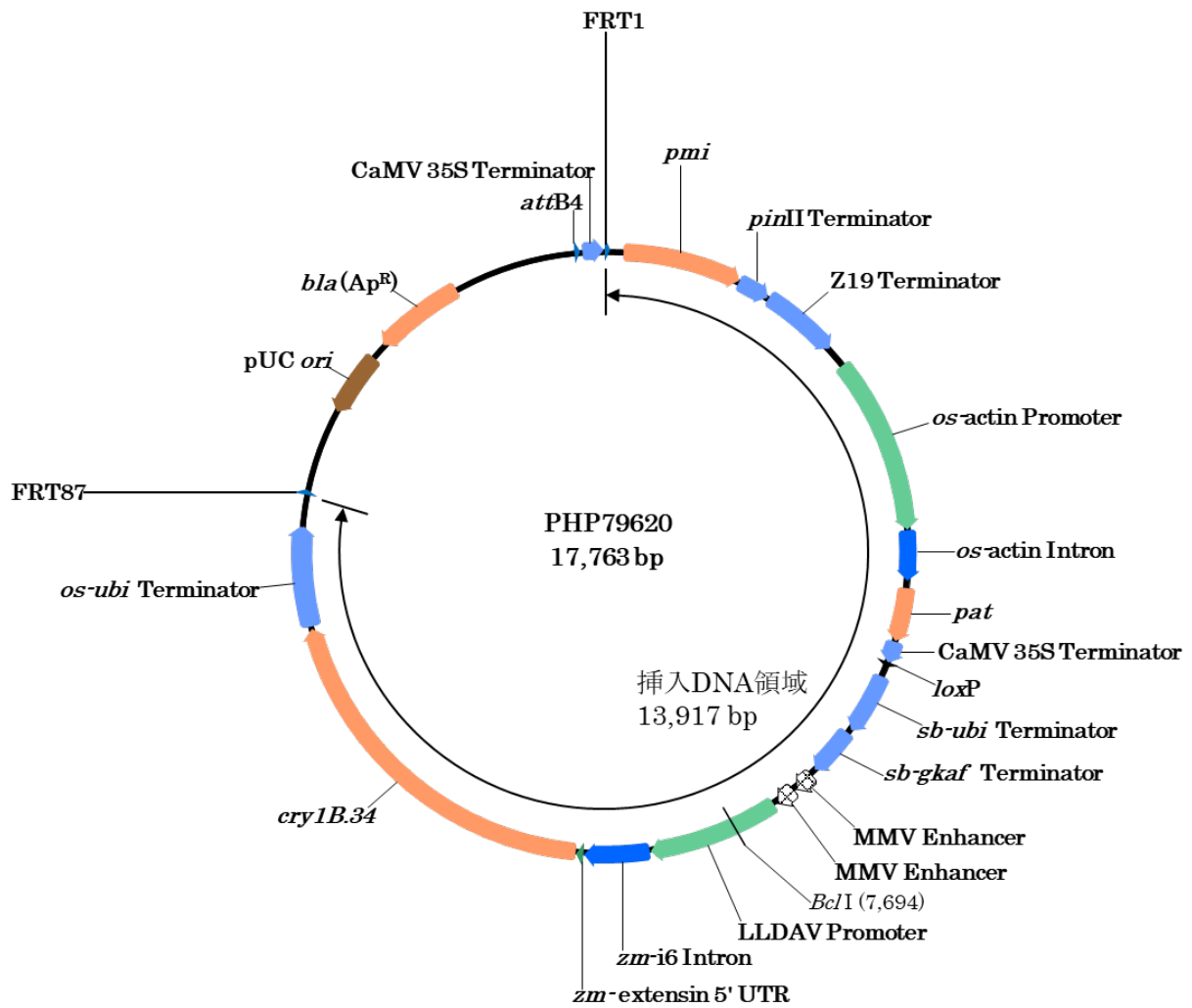


図 2 プラスミド PHP79620 における供与核酸の構成  
供与核酸は PHP79620 の挿入 DNA 領域である。

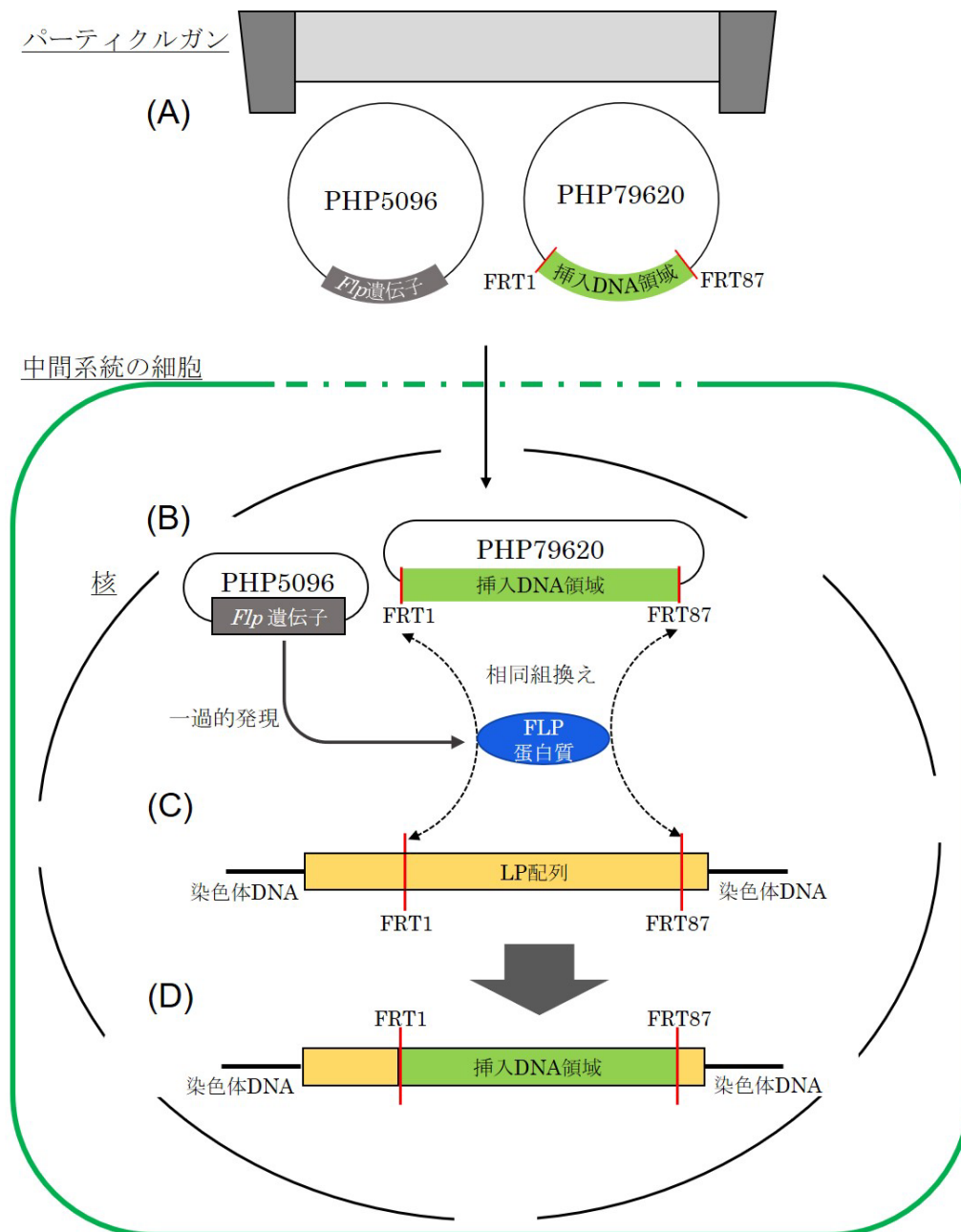


図 3 部位特異的組換えによる本組換えトウモロコシの作出

- 5 A: パーティクルガンによる導入用ベクター-PHP79620 及び PHP5096 の中間系統への導入。  
 植物体への再分化促進のために共導入された PHP73572 及び PHP21875 は図から省略した。  
 B: 挿入 DNA 領域を有する PHP79620 及び *Flp* 遺伝子を有する PHP5096。中間系統の細胞の核内で一過的に *Flp* 遺伝子を発現する。その後植物体から失われる。  
 C: 中間系統の染色体 DNA に予め組み込まれていた LP 配列。  
 10 D: 本組換えトウモロコシの染色体 DNA 上の挿入 DNA 領域。一過的に発現した FLP 蛋白質の機能により、染色体 DNA 上の LP 配列内の FRT1 及び FRT87 配列と、導入された挿入 DNA 領域の同じ配列との間で相同組換えが誘起され、両配列に挟まれた領域が置換された。

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、パーティクルガン法を用いた。

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、炭素源としてマンノース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 —

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

20

本組換えトウモロコシの育成経過は図 4 (20 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、T1 世代以降である。

25

(社外秘につき非開示)

図 4 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、 $F_1^{*1}$ 、 $F_2$ 、 $BC_1$ 、 $BC_1S_1$ 及び $BC_1S_3$ の5世代(図4、20ページ)の葉又は種子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5)。分析には、各導入遺伝子特異的プライマーペア及び本組換えトウモロコシ  
10 に移入された核酸の5'末端とゲノムDNAとの接合部位に特異的なプライマーペアを用い、*cry1B.34* 遺伝子、*pat* 遺伝子、*pmi* 遺伝子及び核酸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、21ページ)、本組換えトウモロコシ  
15 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。

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>	
$F_1^{*1}$	99	1：1	46	53	0.4817
$BC_1$	100	1：1	47	53	0.5485
$BC_1S_1$	165	3：1	130	35	0.2612
$BC_1S_3^{4)}$	100	1：0	100	0	-
$F_2$	243	3：1	175	68	0.2828

- 1) *cry1B.34* 遺伝子、*pat* 遺伝子、*pmi* 遺伝子及び本組換えトウモロコシにおける移入核酸の5'末端とゲノムDNAとの接合部位の全てが検出された個体数。 $F_2$ 世代については、各導入遺伝子特異的なプライマーペアを用いた分析を実施しなかったため、系統特異的な挿入部位が確認された個体数。
- 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。

25 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

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6; Zastrow-Hayes *et al.*, 2015; Brink *et al.*, 2019)。

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。

35 前述のとおり、本組換えトウモロコシの作出においては1コピーのLP配列を有する中間系統を用い、当該LP配列中に部位特異的組換えにより PHP79620 由

来の挿入 DNA 領域を挿入している（第一.2. (3) .イ、17 ページ）。したがって、本組換えトウモロコシに挿入 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 LP 配列及び挿入 DNA 領域が検出されるとともに、ゲノム DNA との接合部位が LP 配列の 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。

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 4、20 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 PHP79620 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、挿入 DNA 領域を含む LP 配列、PHP79620 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 PHP79620 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 PHP79620 由来の配列として完全長の挿入 DNA 領域の配列のみが検出され、その 5'末端及び 3'末端はそれぞれ LP 配列と意図したとおり接合していることが確認された（添付資料 6 の Figure 13～Figure 18；平均カバレレッジ深度 999～1,809）。また、いずれの組換え体についても LP 配列の 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、PHP79620 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 *cry1B.34* 遺伝子発現カセット、*pat* 遺伝子発現カセット及び *pmi* 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。

さらに、いずれの組換え体についても PHP79620 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、PHP79620 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。

なお、本組換えトウモロコシの作出において PHP79620 と共に用いた PHP73572、PHP21875 及び PHP5096 並びに中間系統の作出に用いたプラスミド（添付資料 4）についても分析を行った結果、これらのプラスミドに由来する意図しない DNA 断片が本組換えトウモロコシ中に残存していないことが確認された（添付資料 6）。

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>、BC<sub>1</sub>、BC<sub>1</sub>S<sub>1</sub>、BC<sub>1</sub>S<sub>2</sub> 及び BC<sub>1</sub>S<sub>3</sub> の 5 世代（図 4、20 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 7）。

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

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

5 本組換えトウモロコシにおける Cry1B.34 蛋白質、PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質の産生量を ELISA 法により分析した (表 5、24 ページ; 添付資料 8 及び添付資料 9)。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 F<sub>1</sub>\*<sup>1</sup> 世代及び F<sub>2</sub> 世代 (図 4、20 ページ) の 9 葉期の葉並びに 2020 年に北米 6 カ所 (米国のアイオワ州、イリノイ州、ネブラスカ州、ペンシルバニア州及びテキサス州各 1 ヶ所並びにカナダのオンタリオ州 1 ヶ所) のほ場で栽培した F<sub>1</sub>\*<sup>2</sup> 世代 (図 4、  
10 20 ページ) の 9 葉期の葉、9 葉期の根、絹糸抽出期の花粉並びに成熟期の子実を用いた。

その結果、花粉における Cry1B.34 蛋白質を除き、いずれの個体にもこれら全ての蛋白質が産生されていることが確認された。また、各世代の 9 葉期の葉における産生量から、これらの蛋白質について世代間での発現の安定性が確認された。

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)

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 (最小値 - 最大値)
Cry1B.34 蛋白質	F <sub>1</sub> *1	葉	0.14	970 ± 50 (900 - 1,000)
	F <sub>2</sub>	葉	0.14	940 ± 190 (720 - 1,200)
	F <sub>1</sub> *2	葉	0.14	500 ± 180 (240 - 900)
		根	0.28	320 ± 75 (160 - 450)
		花粉 <sup>2)</sup>	0.28	0.21 ± 0.27 (<0.28 - 1.4)
		子実	0.14	5.5 ± 2.8 (1.6 - 11)
PAT 蛋白質	F <sub>1</sub> *1	葉	0.11	190 ± 22 (170 - 230)
	F <sub>2</sub>	葉	0.11	180 ± 28 (140 - 200)
	F <sub>1</sub> *2	葉	0.11	100 ± 16 (66 - 130)
		根	0.054	73 ± 19 (39 - 99)
		花粉	0.22	64 ± 11 (52 - 95)
		子実	0.054	10 ± 3.3 (5.1 - 17)
PMI 蛋白質	F <sub>1</sub> *1	葉	0.54	15 ± 1.2 (13 - 16)
	F <sub>2</sub>	葉	0.54	14 ± 3.7 (11 - 20)
	F <sub>1</sub> *2	葉	0.54	15 ± 2.6 (7.2 - 29)
		根	0.27	8.1 ± 2.7 (3.3 - 15)
		花粉	1.1	22 ± 5.0 (17 - 37)
		子実	0.27	5.2 ± 1.8 (2.3 - 8.7)

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

- 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 10）。

感度：

15 本法の検出限界値は、非組換えトウモロコシのゲノム 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 0.0085%である（添付資料 10）。

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 10）。

- (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

25 本組換えトウモロコシに付与された特性は、*cry1B.34* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性、*pat* 遺伝子による除草剤グルホシネート耐性並びに *pmi* 遺伝子によるマンノースを炭素源として含む培地における選抜マーカー特性である。

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年にブラジルのほ場 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、8 葉期に *S. frugiperda* による葉の食害程度を調査した（添付資料 11）。

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、26 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 トウモロコシ <sup>2)</sup>	非組換え トウモロコシ <sup>2)</sup>	P 値 <sup>3)</sup>
平均値	1.73	8.13	< 0.0001
95%信頼区間	1.241 – 2.231	7.644 – 8.634	

- 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)。  
 2) n=4  
 3) 線形混合モデルによる統計解析。

5

本組換えトウモロコシに除草剤グルホシネ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 F<sub>1</sub>\*<sup>1</sup>、F<sub>2</sub>、BC<sub>1</sub>、BC<sub>1</sub>S<sub>1</sub> 及び BC<sub>1</sub>S<sub>3</sub> の 5 世代 (図 4、20 ページ) について、4 葉期に除草剤グルホシネート 0.65 kg a.i.<sup>4)</sup>/ha (通常量) を散布し、散布 3~9 日後に耐性の有無を目視により調査した (添付資料 5)。

10

その結果、本組換えトウモロコシが除草剤グルホシネート耐性を有することが確認された (表 7、26 ページ)。

15

表 7 本組換えトウモロコシにおける除草剤グルホシネート耐性

世代		本組換え トウモロコシ	非組換え トウモロコシ
F <sub>1</sub> * <sup>1</sup>	耐性個体数* (総個体数)	46 (46)	0 (53)
BC <sub>1</sub>	耐性個体数* (総個体数)	47 (47)	0 (53)
BC <sub>1</sub> S <sub>1</sub>	耐性個体数* (総個体数)	130 (130)	0 (35)
BC <sub>1</sub> S <sub>3</sub>	耐性個体数* (総個体数)	100 (100)	0 (0)
F <sub>2</sub>	耐性個体数* (総個体数)	175 (175)	0 (68)

\*目視により薬害及び枯死が認められなかった個体を耐性と判定した。

また、前述のとおり (第一.2. (3) .ハ.①、20 ページ)、本組換えトウモロコシが *pmi* 遺伝子によるマンノースを炭素源として含む培地における選抜マーカー特性を有することが確認されている。

20

<sup>4)</sup> active ingredient (活性主成分)

- 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

5 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  
5 するため、本組換えトウモロコシのF<sub>1</sub>\*2世代（図 4、20ページ）及び対照として同  
様の遺伝的背景を有する非組換えトウモロコシPH184C×PH47K2系統を米国の  
ほ場において栽培し、比較した（添付資料12及び添付資料13）<sup>5)</sup>。形態及び生育の  
特性（第一.2. (6) .②.a、27ページ）については、2020年に米国のアイオワ州及び  
10 イリノイ州各2か所、インディアナ州、ミネソタ州、ネブラスカ州、ペンシルバニ  
ア州、テキサス州及びウィスコンシン州各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12）。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13）。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。

15 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 12）。その結果、発芽苗数、雄穂開花までの日数  
及び稈長において、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  
20 計学的有意差（P 値<0.05）が認められた（表 8、28 ページ；添付資料 12 の Table  
17、31 ページ）。しかしながら、これらの項目について、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。

---

<sup>5)</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長、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。

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 トウモロコシ	本組換え トウモロコシ	自社商業品種 変動の範囲 <sup>3)</sup>
発芽苗数 (個体/m <sup>2</sup> )	平均値	5.9	6.0	4.4 - 6.8
	最小値-最大値	4.6 - 6.6	5.0 - 6.5	
	信頼区間	5.7 - 6.0	5.9 - 6.2	
	P 値	/		
雄穂開花までの日 数 (日)	平均値	67.0	66.3	50 - 79
	最小値-最大値	53 - 74	51 - 73	
	信頼区間	63.1 - 70.8	62.4 - 70.2	
	P 値	/		
稈長 (cm)	平均値	213.2	208.8	177.4 - 261.8
	最小値-最大値	185.2 - 248.8	180.8 - 247.0	
	信頼区間	203.3 - 223.0	199.0 - 218.6	
	P 値	/		

1) 評価した 10 項目のうち統計学的有意差が認められた 3 項目を示した。

2) ほ場あたり 4 反復で調査 (n=48)。

- 5 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 20 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。

10 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13のTable 6、11ページ)。

15

c. 成体の越冬性

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13のTable 6、11ページ及びAppendix B、15ページ)。

20

25 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

25

花粉16個を調査した。その結果、花粉の充実度において、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充実度の平均値は99%と高く、稔性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた (添付資料13のTable 5及びTable 6、11ページ)。

5

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 (27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12のTable 17、31ページ)。

10

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。

15

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 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (添付資料13のTable 6、11ページ)。

20

f. 交雑率

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。

25

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。

30

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13のTable 5及びTable 6、11ページ)。

35

40

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

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13のTable 5及びTable 6、11ページ)。

5

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13のTable 7、12ページ)。

10

### 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 (32 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	2024年	7月	承認	カナダ食品検査庁 (CFIA)
	食品としての利用	2024年	7月	承認	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	(社外秘情報につき非開示)			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が2024年3月に厚生労働省により確認されている。また、飼料としての安全性が2024年3月に農林水産省により確認されている。

## 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、後藤ほか, 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 Cry1B.34 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性、PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性及び PMI 蛋白質によるマンノースを炭素源として含む培地における選抜マーカー特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発芽苗数、雄穂開花までの日数及び稈長並びに花粉の充実度に統計学的有意差が認められた。しかしながら、発芽苗数、雄穂開花までの日数及び稈長について、本組  
30 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, 27 ページ)。花粉の充実度についても、本組換えトウモロコシの平均値は 99% と高く、稔性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた (第一.2.(6).②.d, 28 ページ)。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。

35 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。

#### 40 (2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

5 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本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。

10

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

15

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。

20

本組換えトウモロコシは Cry1B.34 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、除草剤グルホシネート耐性を付与する PAT 蛋白質及びマンノースを炭素源として含む培地における選抜マーカー特性を付与する PMI 蛋白質が野生動植物等に有害性を示すとの報告は無い。

25

これらの蛋白質のうち、Cry1B.34 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 PAT 蛋白質は基質特異性を有し、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒するが、他のアミノ酸や D-グルホシネートを基質としない。PMI 蛋白質も基質特異性を有し、マンノース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸との異性化を触媒するが、他の天然基質は知られていない。さらに、これらの蛋白質の作用機作は互いに独立していると考えられることから、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)。

30

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、29 ページ)。

35

また、Cry1B.34 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。PAT 蛋白質及び PMI 蛋白質についても、これらの蛋白質を産生するトウモロコシは既に商業化され安全に使用されており、これまでにアレルギー誘発性を示したとの報告はない (第一.2. (1) .ロ.②.b、15 ページ)。

40

なお、除草剤グルホシネート散布時には、本組換えトウモロコシに産生される PAT 蛋白質が除草剤グルホシネートを代謝し、N-アセチル-L-グルホシネートを産生する。しかしながら、本代謝産物の動物に対する毒性はグルホシネートより低く (食品安全委員会、2013)、農薬取締法の下、グルホシネートの分析対象化合物

の一つとしてトウモロコシにおける残留基準値が定められ、農薬登録により安全な使用方法が定められ、人畜及び環境に対する安全性が確保されている（日本食品化学研究振興財団, 2020）。加えて、自然環境下では当該除草剤の散布は想定されない。

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、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個体群レベルで影響を受ける可能性について検討した。

チョウ目昆虫のうち、環境省レッドリスト 2020<sup>6)</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、36 ページ）。

25

<sup>6)</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 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1,500m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 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>Macroscelesia 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 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) 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 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) 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) 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 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 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) 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 ヌギやコナラの二次林	クヌギ、アラカシ、カシワ (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 山、阿蘇山	ツリフネソウ、キツリフネ、 ハガクレツリフネ (ツリフ 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 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、 国師岳、岡谷市高ボッチなど の草原 標高 1,900 m 付近の高原に生 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、Cry1B.34 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、14  
5 ページ）。検定に用いたチョウ目昆虫のうち、Cry1B.34 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 5.1 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 0.065 ppm であった。

なお、特定された 100 種のチョウ目昆虫の Cry1B.34 蛋白質に対する感受性は  
10 調査されていない。

(3) 影響の生じやすさの評価

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  
15 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) .ニ.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 10 粒/cm<sup>2</sup> 以下との報告がある（Shirai and Takahashi, 2005）。よって、本組  
20 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  
25 ののは、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、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 Cry1B.34 蛋白質に暴露される場合であると考えられた。

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  
30 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、36 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  
40 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、Cry1B.34 蛋白質に感受性を示す *V. cardui* を例に検討した（添付資料 14）。

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>7)</sup>しても、*V. cardui* の Cry1B.34 蛋白質への推定暴露濃度は 0.0020 ppm であり、LC<sub>50</sub> 値 (0.065 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 Cry1B.34 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 Cry1B.34 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

—

#### (3) 影響の生じやすさの評価

35

—

---

<sup>7)</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 14)。

(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 Cry1B.34 蛋白質による  
10 チョウ目害虫抵抗性、PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性及び PMI 蛋白質による選抜マーカー特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。

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発芽苗数、雄穂開花までの日数及び稈長並びに花粉の充実度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、発芽苗数、雄穂開花までの日数及び稈長について、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。また、花粉の充実度についても本組換えトウ  
20 モロコシの平均値は 99% と高く、稔性に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。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。

25

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。

本組換えトウモロコシ中に産生される Cry1B.34 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、PAT 蛋白質及び PMI 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。

これらの蛋白質のうち、Cry1B.34 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 PAT 蛋白質は基質特異性を有し、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒するが、他のア  
35 ミノ酸や D-グルホシネートを基質としない。PMI 蛋白質も基質特異性を有し、マンノース 6-リン酸とフルクトース 6-リン酸との異性化を触媒するが、他の天然基質は知られていない。さらに、これらの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。

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。

- 5 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、生息地や食草の点から、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
- 10 摂食を介して致死濃度のCry1B.34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。

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。

15

交雑性：

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。

20

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。

## 参考文献

- Abbitt SE, inventor. August 8, 2017. SB-UBI terminator sequence for gene expression in plants. US Patent, Patent No. US 9725731 B2.
- 5
- An, G., Mitra, A., Choi, H.K., Costa, M.A., An, K., Thornburg, R.W. and Ryan, C.A. (1989). Functional Analysis of the 3' Control Region of the Potato Wound-Inducible Proteinase Inhibitor II Gene. *The Plant Cell* 1: 115-122.
- 10
- 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.
- 15
- 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>). Accessed on February 25<sup>th</sup>, 2014.
- 20
- Cheo, D.L., Titus, S.A., Byrd, D.R.N., Hartley, J.L., Temple, G.F. and Brasch, M.A. (2004). Concerted assembly and cloning of multiple DNA segments using in vitro site-specific recombination: Functional analysis of multi-segment expression clones. *Genome Research*. 14: 2111-2120.
- 25
- Crickmore, N., Berry, C., Panneerselvam, S., Mishra, R., Connor, T.R., Bonning, B.C. (2021). A structure-based nomenclature for *Bacillus thuringiensis* and other bacteria-derived pesticidal proteins. *Journal of Invertebrate Pathology*. 186: 107438.
- 30
- Dale, E.C. and Ow, D.W. (1990). Intra- and intermolecular site-specific recombination in plant cells mediated by bacteriophage P1 recombinase. *Gene*. 91: 79-85.
- 35
- 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.
- 40
- de Freitas, F.A., Yunes, J.A., da Silva, M.J., Arruda, P. and Leite, A. (1994). Structural characterization and promoter activity analysis of the  $\gamma$ -kafirin gene from sorghum. *Molecular and General Genetics*. 245: 177-186.

- 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.
- 5 Dey, N. and Maiti, I.B. (1999). Structure and promoter/leader deletion analysis of mirabilis mosaic virus (MMV) full-length transcript promoter in transgenic plants. *Plant Mol Biol*. 40: 771-782.
- Diehen, S., Nott, A., Selinger, D.A., Simmons, C., Bhyri, P. and Tavva, V. (2019).  
10 Regulatory sequences for modulating transgene expression in plants. United States Patent. Patent No. US 10344290.
- Dong, J., Feng, Y., Kumar, D., Zhang, W., Zhu, T., Luo, M-C. and Messing, J. (2016).  
15 Analysis of tandem gene copies in maize chromosomal regions reconstructed from long sequence reads. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 113: 7949-7956.
- FAO. (2018). FAOSTAT.  
20 (<http://www.fao.org/faostat/en/#home>).  
Accessed on October 23<sup>rd</sup>, 2018.
- Flannagan, R.D. and Abad, A. (2009). *Bacillus thuringiensis* CRY9 nucleic acids. United States Patent. Patent No. US 7541517.
- 25 Fonseca, A.E. and Westgate, M.E. (2005). Relationship between desiccation and viability of maize pollen. *Field Crops Research*. 94: 114-125.
- Franck, A., Guilley, H., Jonard, G., Richards, K. and Hirth, L. (1980). Nucleotide  
30 sequence of cauliflower mosaic virus DNA. *Cell*. 21: 285-294.
- Freeze, H. H. (2002). Phosphomannose isomerase. *Handbook of glycosyltransferases and related genes*. Edition 1. Taniguchi, N., Honke, K. and Fukuda, M., Eds. Springer-Verlag, Tokyo and New York: pp. 595-599.
- 35 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.
- 40 Guilley, H., Dudley, R.K., Jonard, G., Balázs, E. and Richards, K.E. (1982). Transcription of cauliflower mosaic virus DNA: Detection of promoter sequences, and characterization of transcripts. *Cell*. 30: 763-773.

- Hartley, J.L., Temple, G.F. and Brasch, M.A. (2000). DNA cloning using in vitro site-specific recombination. *Genome Research*. 10: 1788-1795.
- Izumi Wilcoxon M, Yamamoto T, inventors. 21 April 2016. Insecticidal polypeptides having improved activity spectrum and uses thereof. World Intellectual Property Organization, Patent No. WO 2016/061197 A9
- Katzen, F. (2007). Gateway® recombinational cloning: a biological operating system. *Expert Opinion on Drug Discovery*. 2: 571-589.
- Keil, M., Sanches-Serrano, J., Schell, J. and Willmitzer, L. (1986). Primary structure of a proteinase inhibitor II gene from potato (*Solanum tuberosum*). *Nucleic Acids Research*. 14(14): 5641-5650.
- 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.
- Lowe, K., Wu, E., Wang, N., Hoerster, G., Hastings, C., Cho, M.-J., Scelonge, C., Lenderts, B., Chamberlin, M., Cushatt, J., Wang, L., Ryan, L., Khan, T., Chow-Yiu, J., Hua, W., Yu, M., Banh, J., Bao, Z., Brink, K., Igo, E., Rudrappa, B., Shamseer, P., Bruce, W., Newman, L., Shen, B., Zheng, P., Bidney, D., Falco, C., Register, J., Zhao, Z.-Y., Xu, D., Jones, T. and Gordan-Kamm, W. (2016). Morphogenic regulators *Baby boom* and *Wuschel* improve monocot transformation. *The Plant Cell*. 28: 1998-2015.
- 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.
- 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.
- Negrotto, D., Jolley, M., Beer, S., Wenck, A.R. and Hansen, G. (2000). The use of phosphomannose-isomerase as a selectable marker to recover transgenic maize plants (*Zea mays* L.) via *Agrobacterium* transformation. *Plant Cell Reports*. 19: 798-803.
- OECD. (1999). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11: Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide.

ENV/JM/MONO(99)13.

([https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO\(99\)13/en/pdf](https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(99)13/en/pdf)).

Accessed on April 20<sup>th</sup>, 2023.

- 5 OECD. (2002). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 25. MODULE II: PHOSPHINOTHRICIN. ENV/JM/MONO(2002)14. ([https://one.oecd.org/document/env/jm/mono\(2002\)14/en/pdf](https://one.oecd.org/document/env/jm/mono(2002)14/en/pdf)). Accessed on April 20<sup>th</sup>, 2023.
- 10 OECD. (2003). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 27: Consensus Document of the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). 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.
- 15 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.
- 20 ENV/JM/MONO(2007)14. ([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.
- 25 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.
- 30 Proteau, G., Sidenberg, D. and Sadowski, P. (1986). The minimal duplex DNA sequence required for site-specific recombination promoted by the FLP protein of yeast in vitro. Nucleic Acids Research. 14(2): 4787-4802.
- 35 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.
- 40 Shirai, Y. and Takahashi, M. (2005). Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudozizeeria maha*. Applied Entomology and Zoology. 40 (1): 151-159.
- Sutcliffe, J.G. (1978). Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322. Proceedings of the National Academy of

Sciences of the United States of America. 75(8):3737-3741.

- 5 Tao, Y., Bidney, D., Gordon-Kamm, W. and Lyznik, L. (2007). Modified FRT recombination sites and methods of use. World Intellectual Property Organization. Application No.PCT/US2006/027380.
- 10 Wang, J., Jiang, J. and Oard, J.H. (2000). Structure, expression and promoter activity of two polyubiquitin genes from rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Science*. 156: 201-211.
- 15 Wohlleben, W., Arnold, W., Broer, I., Hillemann, D., Strauch, E. and Puhler, A. (1988). Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene*. 70(1): 25-37.
- 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 Yanisch-Perron, C., Vieira, J. and Messing, J. (1985). Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene*. 33(1):103-19.
- 30 Zastrow-Hayes, G.M., Lin, H., Sigmund, A.L., Hoffman, J.L., Alarcon, C.M., Hayes, K.R., Richmond, T.A., Jeddelloh, 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.
- 35 Zhang, L., Lockhart, B., Dahal, G. and Olszewski, N. (2008). Studies on biology and genomic characterization of a caulimo-like virus associated with a leaf distortion disease of *Lamium maculatum*. *Archives of Virology*. 153: 1181-1184.
- 40 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.
- 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>).

Accessed on October 23<sup>rd</sup>, 2018.

食品安全委員会. (2013). 農薬評価書 グルホシネート (第3版).

(<https://www.fsc.go.jp/fsciis/attachedFile/download?retrievalId=kya20130612154&fileId=201>).

Accessed on August 1<sup>st</sup>, 2023.

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.

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.

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.

日本食品化学研究振興財団. (2020). 農薬等の基準値 品目名: グルホシネート.

([http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide\\_detail?id=18900](http://db.ffcr.or.jp/front/pesticide_detail?id=18900)).

Accessed on August 1<sup>st</sup>, 2023.

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.

([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.

(<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 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) 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>).

5 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>).

10

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.

15

([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.

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.

20

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.

25

## 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ルホシネート耐性トウモロコシ (*cry1B.34, pat, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DP910521, OECD UI: DP-910521-2) (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・ハイブレッド・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・ハイブレッド・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・ハイブレッド・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 Recombination Fragment Region from Plasmid PHP79620 (STUDY NUMBER: PHI-2020-160).  
5
2. Environmental Risk Assessment for the Cultivation of Maize Containing Event DP-91Ø521-2: U.S. (STUDY NUMBER: PHI-2021-111).
3. Comparison of the Amino Acid Sequence of the Cry1B.34 Protein to the Amino Acid Sequences of Known and Putative Protein Allergens (STUDY NUMBER: PHI-2021-106\_201).  
10
4. Overview of Process to Generate Final Event DP-91Ø521-2 (STUDY NUMBER: PHI-R081-Y21).  
15
5. Segregation Analysis and Tissue Production of Multiple Maize Generations Containing Event DP-91Ø521-2 (STUDY NUMBER: PHI-2020-067).
6. Southern-by-Sequencing Analysis of the T1 Generation of DP-91Ø521-2 Maize (STUDY NUMBER: PHI-2021-045).  
20
7. Characterization of DP-91Ø521-2 Maize for Insertion Stability in Five Generations Using Southern Blot Analysis (STUDY NUMBER: PHI-2021-052).  
25
8. Expressed Trait Protein Concentration of a Maize Line Containing Event DP-91Ø521-2 (STUDY NUMBER: PHI-2020-024\_700).
9. Expression Analysis of Multiple Maize Generations Containing Event DP-91Ø521-2 (STUDY NUMBER: PHI-2021-019).  
30
10. Development and Validation of an Event-Specific Quantitative Real-Time PCR (qPCR) Detection Method for Maize Event DP-91Ø521-2 (STUDY NUMBER: PHI-2021-104).  
35
11. Field-Based Fall Armyworm Efficacy and Greenhouse-Based Sugarcane Borer Efficacy of Maize Containing Event DP-91Ø521-2 (STUDY NUMBER: PHI-R057-Y21-002).
- 40 12. Agronomic Characteristics of a Maize Line Containing Event DP-91Ø521-2 (STUDY NUMBER: PHI-2020-025\_001).
13. Japan Stage-3 Succeeding Crop, Plow-in, Over-Wintering, Cold Tolerance

Testing, and Soil Sampling for Maize Event DP-910521-2 (STUDY NUMBER: PHI-2020-102\_002).

- 5 14.DP910521 中に產生される Cry1B.34 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