組換え DNA 技術応用飼料の安全性確認
（案）

チョウ目害虫抵抗性
トウモロコシ MZIR260系統

令和８年 11 月５日
農林水産省消費・安全局
畜水産安全管理課

目次

I　はじめに 3

II　確認対象飼料の概要 3

III　審議内容 3

第１　審査対象品目の概要 3

第２　安全性審査において比較対象として用いる既存品種の性質に関する事項 3

（１）既存品種の分類学上の位置付けに関する事項 3

（２）既存品種による家畜等の飼養実績に関する事項 3

（３）既存品種の利用方法に関する事項 3

（４）既存品種の遺伝的先祖、育種開発の経緯及び近縁の植物種に関する事項 4

（５）既存品種の構成成分等に関する事項 4

（６）既存品種の栽培及び流通過程において、家畜等に悪影響を及ぼす外来因子による汚染に関する事項 5

（７）既存品種の安全な利用に関する事項 5

（８）既存品種の寄生性及び定着性に関する事項 5

第３　組換え体の既存品種との相違等に関する事項 5

（１）新たに付加される形質又は改変される形質に関する事項 5

（２）利用目的に関する事項 5

（３）利用方法に関する事項 5

（４）安全性において検討が必要とされる既存品種との相違点に関する事項 6

（５）既存品種以外のものを比較対象とする場合は、その理由に関する事項 6

第４　挿入ＤＮＡ、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項 6

（１）ベクターの名称及び由来に関する事項 6

（２）ベクターの性質に関する事項 6

（３）挿入ＤＮＡの供与体に関する事項 7

（４）導入遺伝子及び遺伝子産物の性質に関する事項 7

（５）その他、導入遺伝子の機能並びに発現たん白質の性質及び機能に関する事項 8

（６）ベクターへの挿入ＤＮＡの組込方法等に関する事項 8

（７）コンストラクトに関する事項 9

第５　組換え体の作出及び組換え栽培系統に関する事項 １０

（１）遺伝子導入に関する事項 １０

（２）遺伝子産物の組換え栽培系統における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項 １１

（３）遺伝子産物のたん白質摂取量に関する事項 １２

（４）遺伝子産物（たん白質であるものに限る。）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項 １２

（５）組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項 １３

（６）既存品種との差異に関する事項 １３

（７）諸外国における認可、飼料利用等に関する事項 １３

第６　第２から第５までに掲げる資料により飼料の安全性に関する知見が得られていな

い場合は、次に掲げる試験のうち必要な試験の成績に関する事項..... １４
IV　審議結果..... １４
V　参考文献及び参考資料..... １４

「チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMZIR260系統」に係る安全性確認

I　はじめに

チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMZIR260系統（以下「MZIR260系統」という。）について、令和８年１月９日付けで遺伝子組換え飼料としての安全性確認の申請があったことから、「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」（平成 14 年 11 月 26 日農林水産省告示第 1780 号）に基づき審議を行った。

II　確認対象飼料の概要

飼料名：チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMZIR260系統
性　質：チョウ目害虫への抵抗性
申請者：シンジェンタジャパン株式会社（日本）
開発者：Syngenta Crop Protection, LLC. on behalf of Syngenta Crop Protection AG and its affiliates

III　審議内容

第１　審査対象品目の概要

MZIR260 系統は、トウモロコシ(*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)のデント種 AX5707 系統を既存品種として、*Bacillus thuringiensis* 由来の *eCry1Gb.1Ig* 遺伝子を導入し作出された。*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子によって産生される eCry1Gb.1Ig たん白質は、チョウ目害虫に特異的な殺虫活性を示す。なお、この eCry1Gb.1Ig たん白質は、Cry1Gb たん白質と Cry1Ig たん白質から構成されるキメラ型 Cry1 たん白質である。さらに選抜マーカーとして *Escherichia coli* 由来の *pmi* 遺伝子を導入しており、PMI たん白質を発現する。

第２　安全性審査において比較対象として用いる既存品種の性質に関する事項

（１）既存品種の分類学上の位置付けに関する事項

既存品種は、イネ科トウモロコシ属のトウモロコシ(*Z. mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)のデント種 AX5707 系統である。

（２）既存品種による家畜等の飼養実績に関する事項

トウモロコシは、長い間飼料利用されてきた歴史がある。日本においては、明治時代にデント種及びフリント種が導入され、九州、四国や本州で栽培されるようになった。その後、飼料用、子実用及び生食用として幅広く利用されている。

（３）既存品種の利用方法に関する事項

（ア）収穫時期（成熟程度）及び貯蔵方法

一般にトウモロコシの収穫は秋季に行われ、乾燥穀粒、青刈り又はサイレージとして利用されており、いずれも常温で貯蔵される。

（イ）家畜等の摂取（可食）部位

家畜等の摂取部位は、トウモロコシの穀粒（子実）及び茎葉である。

（ウ）家畜等の摂取量

我が国では、2024 年度に配合飼料の原料として約 1,131 万トンのトウモロコシが用いられており、主に育すう・成鶏用、ブロイラー用、養豚用、乳牛用及び肉牛用に利用されている(農林水産省, 2025)。また、混合飼料として約 25 万トン、単体飼料用トウモロコシとして約 14 万トンのトウモロコシが利用されている(農林水産省, 2025)。

（エ）調製及び加工方法

トウモロコシ穀粒（子実）は、スチームフレーク処理、粉砕、圧ぺん、押出し加工等の処理を行った後、あるいは全粒のまま飼料として利用される。また、穀粒（子実）の製粉工程で副産物として生じるコーングルテンフィード、コーングルテンミール等も飼料として給与される。茎葉は、雌穂形成後～完熟前の植物体の地上部全体を収穫、裁断後に直接給与するか、サイロでの嫌気発酵処理によりサイレージとして調製される(OECD, 2002)。

（４）既存品種の遺伝的先祖、育種開発の経緯及び近縁の植物種に関する事項

トウモロコシの遺伝的先祖は同属のテオシント(*Z. mays subsp. mexicana*)で、人為的選抜を経て栽培型化されたと言われている（OECD, 2003)。原産地は、メキシコ、中米又は南米等と考えられている（OECD, 2003)。

（５）既存品種の構成成分等に関する事項

（ア）既存品種の主要栄養素等（たん白質、脂質等）の種類及びその量の概要

トウモロコシ穀粒（子実）の主要構成成分の種類及び乾燥重あたりの含有量は粗たん白質 5.72～17.3%、粗脂質 1.36～7.83%、灰分 0.616～6.28%、炭水化物 77.4～89.7%、総食物繊維(TDF)4.44～35.3%である。茎葉の主要構成成分の種類及び乾燥重あたりの含有量は、粗たん白質 2.37～16.3%、粗脂質 0.296～7.50%、灰分 0.66～13.2%、炭水化物 73.3～92.9%、酸性デタージェント繊維(ADF)5.13～47.4%、中性デタージェント繊維(NDF)18.3～67.8%である(AFSI,2025)。

（イ）既存品種に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等） 等の種類、作用及びその量の概要

トウモロコシに含まれる栄養阻害物質として、フィチン酸、ラフィノースが知られている。トウモロコシでは、リンの 60～75%がフィチン酸塩として存在するため、非反すう動物ではトウモロコシ中のリンは極めて吸収されにくい。ラフィノースは低分子量の炭水化物で、腸内でガス化し、腹部を膨満させる原因物質である(OECD, 2002)。トリプシンインヒビターも含まれるが(OECD, 2012)、含有量が少なく、栄養学的に問題にならないとされている(OECD, 2002)。穀粒（子実）における乾燥重あたりの含有量は、フィチン酸 1.94%以下、ラフィノース

0.509%以下、トリプシンインヒビター8.42 TIU/mg 以下である(AFSI,2025)。

（６）既存品種の栽培及び流通過程において、家畜等に悪影響を及ぼす外来因子による汚染に関する事項

トウモロコシには、ウイルス(Maize dwarf mosaic virus 等)、細菌(*Erwinia stewartii* 等)及び糸状菌(*Diplodia maydis* 等)による各種病害(モザイク病、萎凋細菌病、茎腐病等)が知られているが(OECD, 2003)、これらが家畜等に対して病原性を持つことは知られていない。

また、植物病原体の *Fusarium* spp.や、植物体を汚染する糸状菌の *Aspergillus flavus* 等により生産されるカビ毒が家畜等へ悪影響を及ぼすことが知られているが、組換え体の作出には、このような汚染がされた宿主を用いることはない。

なお、組換え体の作出においては、培養過程での汚染防止策が確立されており、再生中の植物や幼植物体は無菌的に維持されている。

（７）既存品種の安全な利用に関する事項

トウモロコシは、コメ、コムギとともに、世界の主要穀物の一つで、古くから食されている。デント種は主に飼料用として栽培されており、安全な飼料として長い利用の歴史をもつ。

（８）既存品種の寄生性及び定着性に関する事項

トウモロコシは種子植物であり、家畜等に対する寄生性及び定着性は知られていない。

以上、第２の（１）～（８）までにより、MZIR260 系統の安全性審査においては、既存品種が比較対象であると判断した。

第３　組換え体の既存品種との相違等に関する事項

（１）新たに付加される形質又は改変される形質に関する事項

MZIR260 系統は、*B. thuringiensis* 由来の *eCry1Gb.1Ig* 遺伝子がコードする eCry1Gb.1Ig たん白質を発現し、チョウ目害虫抵抗性が付与されている。

また、選抜マーカーとして、*E. coli* K-12 株由来の *pmi* 遺伝子がコードする PMI たん白質を発現している。

（２）利用目的に関する事項

MZIR260 系統は、チョウ目害虫抵抗性を付与し効率的に害虫防除を行うことを目的として作出された。

（３）利用方法に関する事項

①栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法に関する事項

MZIR260 系統の栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法は、既存品種と相違ない。

②家畜等の摂取（可食）部位、調製及び加工方法に関する事項

MZIR260 系統の家畜等の摂取部位、調製及び加工方法は、既存品種と相違ない。

③家畜等の摂取量に関する事項

MZIR260 系統の家畜等の摂取量は、既存品種と相違ない。

（４）安全性において検討が必要とされる既存品種との相違点に関する事項

MZIR260 系統は、*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子を導入して作出されており、eCry1Gb.1Ig たん白質及び PMI たん白質を発現することが既存品種との相違点である。

（５）既存品種以外のものを比較対象とする場合は、その理由に関する事項

既存品種以外のものは比較対象としていない。

第４　挿入ＤＮＡ、遺伝子産物及びコンストラクトの構築に関する事項

（１）ベクターの名称及び由来に関する事項

MZIR260 系統の作出に用いられた導入用プラスミド pSYN24795 のベクターバックボーンは、*E. coli* 等に由来するプラスミド pVictor を基に構築した。

（２）ベクターの性質に関する事項

①ベクターの塩基数及びその塩基配列を示す事項

導入用プラスミドpSYN24795のベクターバックボーンの塩基数及び塩基配列は明らかにされている。

②既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

導入用プラスミドpSYN24795のベクターバックボーンの構成要素及び塩基配列は明らかにされており、既知の有害塩基配列は含まれていない。

③組換え体の選抜に関わる遺伝子に関する事項

導入用プラスミドpSYN24795のベクターバックボーンには、ベクター構築時の細菌選抜マーカーとして、ストレプトマイシン及びスペクチノマイシンへの耐性を付与する *aadA-03*遺伝子が含まれている。また、導入用プラスミドpSYN24795の挿入 DNA 領域には、遺伝子組換え体の選抜マーカーとして、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 PMI たん白質をコードする *pmi* 遺伝子が含まれている。

④伝達性及び自律的可動性に関する事項

導入用プラスミドpSYN24795のベクターバックボーンには、伝達を可能とする配列や自律的可動性を示す配列は含まれていない。

⑤既存品種への依存性に関する事項

導入用プラスミドpSYN24795のベクターバックボーンに含まれる全ての構成要素の性質は明らかにされており、植物や家畜等での増殖を可能とする配列を含まない。

（３）挿入ＤＮＡの供与体に関する事項

①名称、由来及び分類に関する事項

MZIR260系統に導入された*eCry1Gb.1Ig*遺伝子は、*B. thuringiensis*の*cry1Gb*遺伝子及び*cry1Ig*遺伝子に由来する。また、*pmi*遺伝子は*E. coli* K-12株に由来する。

②安全性に関する事項

・*eCry1Gb.1Ig*遺伝子の供与体である*B. thuringiensis*によるヒトや家畜等への病原性が非標的種で報告された例はない。また、微生物農薬として使用されており、長年にわたりヒト、動物、環境に対して安全に使用された実績がある。毒性を示す可能性は極めて低いと考えられる（OECD, 2007)。

・*pmi*遺伝子の供与体である*E. coli*は自然界やヒトの消化器官に広く存在していることが知られている。K-12株は長年にわたり安全に使用されており、多くの研究が行われているが、毒素産生性は報告されておらず、ヒトやその他の動物に対して非病原性であると考えられている(US EPA, 1997)。

（４）導入遺伝子及び遺伝子産物の性質に関する事項

①導入遺伝子の機能に関する事項

・*eCry1Gb.1Ig*遺伝子は、Cry1Gbたん白質とCry1Igたん白質に由来する構造から構成されるキメラ型たん白質のeCry1Gb.1Igたん白質を発現する。当該たん白質は、感受性昆虫の中腸上皮細胞膜上の特異的な受容体と結合し、細胞膜に小孔を形成することで細胞溶解を引き起こし、結果として中腸組織に損傷を与えることにより殺虫活性を示す。なお、eCry1Gb.1Igたん白質を用いた競合結合試験を行った結果、他のチョウ目害虫抵抗性のBtたん白質(Cry1Ab、Cry1Fa、Cry2Ab2及びVip3Aa)とは異なる受容体に結合することが示唆されている。

・*pmi*遺伝子はPMIたん白質を発現する。当該たん白質はマンノース-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たん白質を産生する植物は炭素源としてマンノースを添加した培地で生長することができるため、植物の形質転換体選抜マーカーとして用いることが可能となる(Negrotto *et al.*, 2000)。

②組換え体の選抜に関わる遺伝子のうち、抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する

事項

導入用プラスミドpSYN24795のベクターバックボーンには、抗生物質であるストレプトマイシン及びスペクチノマイシンへの耐性を付与する *aadA-03* 遺伝子が存在するが、MZIR260 系統には本遺伝子を含むベクターバックボーン配列が導入されていないことを確認している。

③導入遺伝子及び組換え体の選抜に関わる遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

ア　プロモーターに関する事項

eCry1Gb.1Ig 遺伝子カセットは、サトウキビ(*Saccharum officinarum*)由来のSoUbi4-02 プロモーター、*pmi* 遺伝子カセットは、トウモロコシ(*Z. mays*)由来の Ubi1-43 プロモーターが使用されている。

イ　ターミネーターに関する事項

eCry1Gb.1Ig 遺伝子カセットは、トウモロコシ(*Z. mays*)由来のポリユビキチン遺伝子の ZmUbi361-05 ターミネーター、*pmi* 遺伝子カセットは、トウモロコシ(*Z. mays*)由来のユビキチン遺伝子の Ubi1-04 ターミネーターが使用されている。

ウ　既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

導入用プラスミドpSYN24795の各構成要素の由来および機能は明らかにされており、既知の有害塩基配列を含まない。

エ　導入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等に関する事項

MZIR260 系統は本事項に該当しない。

（5）その他、導入遺伝子の機能並びに発現たん白質の性質及び機能に関する事項

MZIR260 系統は本事項に該当しない。

（6）ベクターへの挿入ＤＮＡの組込方法等に関する事項

eCry1Gb.1Ig 遺伝子は、*B. thuringiensis* 由来の *cry1Gb* 遺伝子がコードするCry1Gb たん白質のドメイン III 配列を、同じく *B. thuringiensis* 由来の *cry1Ig* 遺伝子がコードする Cry1Ig たん白質のドメイン III 配列に置換、コドンを最適化して合成された。

pmi 遺伝子は、*E. coli* K-12 由来の *manA* 遺伝子配列を基に合成された。

導入用プラスミド pSYN24795 は、そのベクターバックボーン配列を有する中間ベクターに、*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子カセット及び *pmi* 遺伝子カセットの構成 DNA を挿入することで構築された。導入用プラスミド pSYN24795 の挿入 DNA 領域の構成要素は表１のとおりである。

表１　MZIR260 系統の作出に用いた導入用プラスミド pSYN24795 の各構成要素の由来及び機能（一部省略）

構成要素	由来	機能
eCry1Gb.1Ig 遺伝子カセット		
SoUbi4-02 プロモーター	サトウキビ (*S. officinarum*)	テトラユビキチン(*ubi4*)遺伝子の第一イントロンを含むプロモーター配列で、植物体の全組織で目的遺伝子を恒常的に発現させる(Wei *et al.*, 1999)。
eCry1Gb.1Ig 遺伝子 (*eCry1Gb.1Ig-03*)	*B. thuringiensis*	2 つの *cry* 遺伝子(*cry1Gb* 遺伝子と *cry1Ig* 遺伝子)から構成されたキメラ遺伝子で、eCry1Gb.1Ig たん白質をコードする(Chae *et al.*, 2022)。
ZmUbi361-05 ターミネーター	トウモロコシ (*Z. mays*)	ポリユビキチン遺伝子のターミネーター配列で、転写を終結させる。
pmi 遺伝子カセット		
Ubi1-43 プロモーター	トウモロコシ (*Z. mays*)	ポリユビキチン遺伝子の第一イントロンを含むプロモーター配列で､植物体の全組織で目的遺伝子を恒常的に発現させる(Christensen *et al.*, 1992)。
pmi 遺伝子 (*pmi-15*)	*E. coli* K-12 株	PMI たん白質をコードする *manA* 遺伝子で、遺伝子組換え体の選抜マーカーとして用いられた(Negrotto *et al.*, 2000)。
Ubi1-04 ターミネーター	トウモロコシ (*Z. mays*)	ユビキチン遺伝子由来のターミネーター配列で、転写を終結させる。
ベクターバックボーン（境界領域を含む）		
LB-01-01	*Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*)	ノパリン Ti-プラスミド由来の T-DNA の左側境界配列で、植物細胞への T-DNA の移入に必要(Yadav *et al.*, 1982)。
RB-01-01	*R.radiobacter*（*A. tumefaciens*)	ノパリン Ti-プラスミド由来の T-DNA の右側境界配列で、植物細胞への T-DNA の移入に必要(Wang et al., 1984)。

（７）コンストラクトに関する事項

①塩基数及び塩基配列に関する事項

導入用プラスミド pSYN24795 の塩基数、全塩基配列は明らかになっている

②挿入領域に関する事項

導入用プラスミドpSYN24795の意図する挿入領域は、右側境界配列(RB-01-01)から左側境界配列(LB-01-01)までの、*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子カセットと *pmi* 遺伝子カセットからなるT-DNA領域であり、アグロバクテリウム法により既存品種に導入した。

③純度に関する事項

導入用プラスミドpSYN24795は、ベクターバックボーンに抗生物質耐性マーカー遺伝子(*aadA-03*遺伝子)を有しており、これを利用したプラスミドの選抜及び増殖を通して目的外の遺伝子の混入がないよう純化されている。また、塩基配列解析により、導入用プラスミドpSYN24795内に目的外の遺伝子の混入はないことを確認している。

第５　組換え体の作出及び組換え栽培系統に関する事項

（１）遺伝子導入に関する事項

①遺伝子の既存品種への導入方法に関する事項

遺伝子の既存品種への導入は、既存品種に、導入用プラスミド pSYN24795 のT-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入した後、抗生物質チメンチンによりアグロバクテリウムを除去し、マンノースを含む選択培地で培養することで、マンノース存在下で成長できるカルスを選抜した。選抜したカルスを、植物ホルモンを含む培地で培養することで植物体を再生した。これらの植物体にリアルタイム PCR 分析を行い、導入遺伝子の配列が存在し、かつ導入用プラスミドpSYN24795 のベクターバックボーン配列が確認されなかった植物体を選抜することで、MZIR260 系統の T_0 世代を作出した。

②組換え栽培系統に関する事項

MZIR260 系統について、形質転換個体の選択方法、個体の継代方法及び系統の考え方が育成図等で示されており、安全性評価を実施する世代及び系統の範囲は特定されている。

③コピー数及び挿入近傍配列

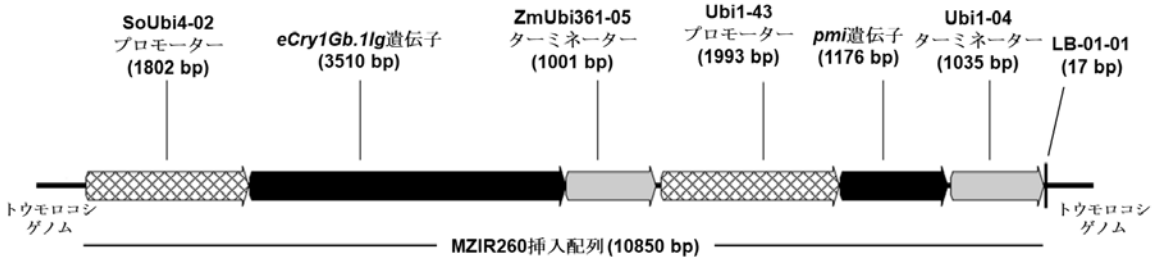
既存品種に導入された遺伝子のコピー数、ベクターバックボーンの有無及び挿入近傍配列を評価するため、全ゲノムシーケンス(WGS)、PCR 分析及び塩基配列解析を行った。

MZIR260系統のWGSにより得られた塩基配列（リード深度の中央値168～194）を導入用プラスミドpSYN24795と照合した結果、導入されたDNA領域の5’末端配列及び 3’末端配列を含む 2 つの接合領域が特定され、導入用プラスミドpSYN24795 のT-DNA領域由来の導入遺伝子が１ヶ所に１コピー導入されたこと、導入用プラスミドpSYN24795のベクターバックボーンが挿入されていないことが確認された（図）。

さらに、トウモロコシ MZIR260 に導入された DNA 領域と導入用プラスミド

pSYN24795 に含まれる挿入 DNA 領域とを比較した結果、両者はSoUbi4-02 プロモーターにおける１塩基置換、RB-01-01（25bp）及びそれに 続く 16bp の配列（intervening sequence）の欠失並びに LB-01-01 の 8bp の欠失を除いて同一であることが確認された

MZIR260 系統に挿入された DNA の近傍の DNA 配列の変化について、PCR 分析及び塩基配列解析を行ったところ、MZIR260 系統の挿入近傍配列において、既存品種のゲノムと比較して 30bp の欠失が認められた。また、挿入近傍配列について NCBI non-redundant (nr) protein database を利用した BLASTX 検索を行ったところ、相同性を示す配列は認められなかったことから、遺伝子の挿入によって既知のトウモロコシ内在性遺伝子は損なわれていないことが示された。



（図） トウモロコシMZIR260のゲノムDNA中に導入されたDNA領域（模式図）

④組換え栽培系統における導入遺伝子の安定性に関する資料

導入された遺伝子の後代における安定性を確認するために、３世代の MZIR260 系統の葉から抽出されたゲノム DNA を用いて、WGS を行った。その結果、各世代においてT-DNA由来の導入遺伝子が、ゲノム中の１ヶ所に１コピー挿入され、また、導入遺伝子と近傍配列との接合部を含む連続した塩基配列が３世代で一致していたことから、導入遺伝子が世代間で安定していることが確認された。

⑤オープンリーディングフレーム（以下「ＯＲＦ」という。）の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

MZIR260 系統の導入遺伝子及びその両近傍配列との接合部それぞれに対して、６つの読み枠においてＯＲＦ検索を行った。終止コドンと終止コドンに挟まれた 30 アミノ酸以上の配列をＯＲＦとして検索を行った結果、導入遺伝子の配列では 159 個のＯＲＦ及び両近傍配列との接合部では 2 個のＯＲＦが検出されたが、これらのＯＲＦについて、既知の毒性たん白質と相同性は認められなかった。

（２）遺伝子産物の組換え栽培系統における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

MZIR260 系統における eCry1Gb.1Ig たん白質と PMI たん白質の発現量をELISA法により測定した。その結果、eCry1Gb.1Ig たん白質及び PMI たん白質は、葉、根、地上部、花粉、茎葉及び穀粒（子実）で発現しており、各組織において生育期間を通じて安定的に発現していることが確認された。

（３）遺伝子産物のたん白質摂取量に関する事項

MZIR260 系統には抗生物質耐性マーカー遺伝子が導入されていないことを確認しており、MZIR260 系統は本事項に該当しない。

（４）遺伝子産物（たん白質であるものに限る。）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

・eCry1Gb.1Ig たん白質

①人工胃液による酸処理及び酵素（ペプシン）処理

E. coli で発現させた eCry1Gb.1Ig たん白質の人工胃液中における消化性について確認するために、SDS-PAGE 分析を行った結果、eCry1Gb.1Ig たん白質の完全長と考えられるバンドは試験開始 1 分後には消失したが、3～4 kDa 付近に 2 つのフラグメントが検出され、これらは 60 分間の処理時間を通して確認された。ウェスタンブロット分析では、完全長の eCry1Gb.1Ig たん白質及び eCry1Gb.1Ig たん白質に由来するバンドは、試験開始 1 分後には消失した。また eCry1Gb.1Ig たん白質を人工胃液で 2 分間処理した後、人工腸液処理を行い、SDS-PAGE 分析を行った結果、約 3～4 kDa の 2 つのフラグメントは人工腸液処理 30 秒後には検出されなかった。

②人工腸液によるアルカリ処理及び酵素（パンクレアチン）処理

E. coli で発現させた eCry1Gb.1Ig たん白質を用い、人工腸液中での消化性を SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析で評価した。SDS-PAGE 分析及びウェスタンブロット分析の両試験において、完全長の eCry1Gb.1Ig たん白質は、試験開始 1 分後には消失し、開始 1 分後に検出された約 80 kDa の eCry1Gb.1Ig たん白質断片も 10 分後には消失した。また、処理後 48 時間にわたり、約 58 kDa と 54 kDa の 2 つの eCry1Gb.1Ig たん白質の分解産物が検出された。

③加熱処理

E. coli で発現させた eCry1Gb.1Ig たん白質を、4、25、37、65 及び 95℃の条件で 30 分間処理した後、ELISA 法で分析することで、加熱処理に対する感受性を評価した。その結果、95℃、30 分間の加熱処理により eCry1Gb.1Ig たん白質濃度は検出限界値未満となり、免疫反応性は失われていた。このことから、eCry1Gb.1Ig たん白質は加熱処理に対して安定ではないことが示された。

・PMI たん白質

MZIR260 系統で発現する PMI たん白質は、既に遺伝子組換え飼料として安全性が確認されたコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ Event 5307 系統等で発現する PMI たん白質とアミノ酸配列が同一である。当該品目の PMI たん白質は既に安全性が確認されていることから、MZIR260 系統の PMI たん白質に係る物理化学的処理に対する感受性に関する試験は省略可能と考えられる。

（５）組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項

eCry1Gb.1Ig たん白質は、他の Cry たん白質と同じドメイン構造を有している。Cry たん白質は酵素活性を持たないと考えられていることから、eCry1Gb.1Ig たん白質も酵素活性を持たず、MZIR260 系統の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた。

PMI たん白質は、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酵素であるが、その反応はマンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸に対して特異的であり、他の天然基質は知られていない(Freeze, 2002)。そのため、MZIR260 系統のその他の代謝経路に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられた。

（６）既存品種との差異に関する事項

①栄養素、有害生理活性物質等に関する事項

MZIR260 系統及び対照の非組換えトウモロコシの穀粒（子実）及び茎葉について、穀粒（子実）における主要構成成分、ミネラル類、ビタミン類、アミノ酸組成、脂肪酸組成、二次代謝産物及び栄養阻害物質、茎葉における主要構成成分及びミネラル類の分析を行ったところ、複数の項目において対照の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。ただし、MZIR260 系統の平均値はいずれも同時に栽培した参考品種の分析値及びAFSI (2023)で報告されている既存品種の分析値の範囲内であった。そのため、これらの相違が安全性に影響を与えているとは考えられない。

②改変された栄養成分の構成又は代謝に関する事項

MZIR260 系統は本事項に該当しない。

③外界における生存及び増殖能力に関する事項

これまでに実施したほ場試験において、MZIR260 系統と非組換えトウモロコシとの間に、外界における生存及び増殖能力の差異は認められなかった。

④生存及び増殖能力の制限要因に関する事項

MZIR260 系統と非組換えトウモロコシにおいて、生存及び増殖能力の制限要因に関しても変わりはない。

⑤不活化法に関する事項

MZIR260 系統も既存品種と同様に、物理的防除（耕転）や化学的防除（感受性を示す除草剤の使用）等、トウモロコシを枯死させる従来の方法で不活化される。

（７）諸外国における認可、飼料利用等に関する事項

表２　諸外国における認可状況

機関	安全性審査の種類	申請・認可時期

米国農務省(USDA)	環境	[redacted]
米国食品医薬品庁(FDA)	食品・飼料	2025 年 4 月確認終了
カナダ保健省(Health Canada)	食品	2026 年 1 月承認
機関	安全性審査の種類	申請・認可時期
カナダ食品検査庁(CFIA)	環境・飼料	2026 年 1 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)	食品	2025 年 6 月承認

第６　第２から第５までに掲げる資料により飼料の安全性に関する知見が得られていない場合は、次に掲げる試験のうち必要な試験の成績に関する事項

MZIR260 系統は本事項に該当しない。

IV　審議結果

チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MZIR260 系統について、「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づき審議した結果、飼料として摂取する家畜等への安全上の問題はないと判断した。

V　参考文献及び参考資料

参考文献

AFSI. (2025). Agriculture and Food Systems Institute Crop Composition Database, v. 10.1. https://www.cropcomposition.org [Accessed October 30, 2025].

Altschul, S. F., T. L. Madden, A. A. Schaffer, J. Zhang, Z. Zhang, W. Miller and D. J. Lipman. (1997). Gapped BLAST and PSI-BLAST: a new generation of protein database search programs. *Nucleic Acids Res*, 25: 3389-3402.

Ammons D. R., A. Reyna, J. C. Granados, M. S. Samlal, and J. N. Rampersad. (2009). An investigation of Bacillus thuringiensis in rectal-collected fecal samples of cows. Current microbiology 59: 532-536.

Betz, F., B. Hammond and R. Fuchs. (2000). Safety and advantages of Bacillus thuringiensis-protected plants to control insect pests. *Regul Toxicol Pharm*, 32: 156-173.

Cade, R., K. Burgin, K. Schilling, T. Lee, P. Ngam, N. Devitt and D. Fajardo. (2018). Evaluation of whole genome sequencing and an insertion site characterization method for molecular characterization of GM maize. *J Reg Sci*, 6: 1-14.

Chae, H., Z. Wen, T. Hootman, J. Himes, Q. Duan, J. McMath, J. Ditillo, R. Sessler, J. Conville, Y. Niu, P. Matthews, F. Francischini, F. Huang and M. Bramlett. (2022). eCry1Gb.1Ig, A Novel Chimeric Cry Protein with High Efficacy against Multiple Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*) Strains Resistant to Different GM Traits. *Toxins*, 14: 852.

Christensen, A. H., R. A. Sharrock and P. H. Quail. (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.

Fabrick, J. A. and J. Wu. (2023). Chapter Four - Mechanisms and molecular genetics of insect resistance to insecticidal proteins from Bacillus thuringiensis. In JL Jurat-Fuentes (Ed.). *Advances in Insect Physiology* 65: 123-183.

Fling, M. E., J. Kopf and C. Richards. (1985). Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3"(9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research*, 13: 7095-7106.

Freeze, H. H. (2002). Phosphomannose isomerase. *In*. Handbook of glycosyltransferases and related genes. Edition 1. pp. 595-599. Taniguchi, N., Honke, K., Fukuda, M. (Eds), Springer-Verlag, Tokyo and New York.

Hansen, G., A. Das and M. D. Chilton. (1994). Constitutive expression of the virulence genes improves the efficiency of plant transformation by *Agrobacterium*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 7603-7607.

Heeb, S., Y. Itoh, T. Nishijyo, U. Schnider, C. Keel, J. Wade, U. Walsh, F. O'Gara and D. Haas. (2000). Small, stable shuttle vectors based on the minimal pVS1 replicon for use in gram-negative, plant-associated bacteria. *Mol Plant Microbe Interact*, 13: 232-237.

Itoh, T. and J. Tomizawa. (1979). Initiation of replication of plasmid ColE1 DNA by RNA polymerase, ribonuclease H, and DNA polymerase I. *Cold Spring Harbor Symposia on quantitative biology* 43: 409-417.

Itoh, Y., J. M. Watson, D. Haas and T. Leisinger. (1984). Genetic and molecular characterization of the Pseudomonas plasmid pVS1. *Plasmid*, 11: 206-220.

Negrotto, D., M. Jolley, S. Beer, A. R. Wenck and G. Hansen. (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.

Nuccio, M. L. (2018). Expression cassettes derived from maize. Syngenta Participations AG, assignee. U.S. Patent No. 10,006,037 B2. Washington, DC: U.S. Patent Office.

OECD. (2002). Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. Series on the safety of novel foods and feeds, No. 6. Organisation for economic co-operation and development. ENV/JM/MONO (2002) 25. https://one.oecd.org/document/env/jm/mono(2002)25/en/pdf [Accessed November 10, 2025].

OECD. (2003). Consensus Document on the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). *Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology*, *No. 27*. ENV/JM/MONO11. https://one.oecd.org/document/env/jm/mono(2003)11/en/pdf [Accessed November 10, 2025].

OECD. (2007). Consensus Document on Safety Information on Transgenic Plants Expressing *Bacillus thuringiensis* - Derived Insect Control Protein. ENV/JM/MONO(2007)14. https://one.oecd.org/document/ENV/JM/MONO(2007)14/en/pdf [Accessed November 10, 2025].

Poulsen, P. (1997). Inhibition of gene expression. Danisco A/S, assignee. Patent No. WO 97/04112. Genova, Switzerland: World Intellectual Property Organization.

Roh, J., J. Choi, M. Li, B. Jin and Y. Je. (2007). Bacillus thuringiensis as a specific, safe, and effective tool for insect pest control. *J Microbiol Biotechnol*, 17(4): 547-559.

Siegel, J. (2001). The mammalian safety of Bacillus thuringiensis-based insecticides. *J Invertebr Pathol*, 77(1): 13-21.

US EPA. (1997). Final Risk Assessment of Escherichia coli K-12 Derivatives https://www.epa.gov/sites/default/files/2015-09/documents/fra004.pdf [Accessed Accessed November 10, 2025].

USP. (2000). The United States Pharmacopeia, 24th rev. The National Formulary, 19th ed. Rockville, MD: United States Pharmacopoeial Convention, Inc.: 2235.

Wang, K., L. Herrera-Estrella, M. Van Montagu and P. Zambryski. (1984). Right 25 bp terminus sequence of the nopaline T-DNA is essential for and determines direction of DNA

transfer from *Agrobacterium* to the plant genome. *Cell*, 38: 455-462.

Wei, H., H. H. Albert and P. H. Moore. (1999). Differential expression of sugarcane polyubiquitin genees and isolation of promoters from two highly-expressed members of the gene family. *Journal of Plant Physiology*, 155: 513-519.

Winans, S. C. (1990). Transcriptional induction of an *Agrobacterium* regulatory gene at tandem promoters by plant-released phenolic compounds, phosphate starvation, and acidic growth media. *Journal of Bacteriology*, 172: 2433-2438.

Yadav, N. S., J. Vanderleyden, D. R. Bennett, W. M. Barnes and M. D. Chilton. (1982). Short direct repeats flank the T-DNA on a nopaline Ti plasmid. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 79: 6322-6326.

Zastrow-Hayes, G., H. Lin, A. Sigmund, J. Homan, C. Alarcon, K. Hayes, T. Richmond, J. Jeddeloh, G. May and M. Beatty. (2015). Southern-by-sequencing: a robust screening approach for molecular characterization of genetically modified crops. *Plant Genome*, 8(1).

Zwack, P. J., Y. Wu, C. Leininger, J. Williams, E. E. Richards, C. Wood, S. Wong and M. Bramlett. (2024). Characterization of the mode of action of eCry1Gb.1Ig, a fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) active protein, with a novel site of action. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 201: 105881.

財務省 (2024). 貿易統計 https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&toukei=00500100&tstat=000001018079&cycle=7&year=20230&month=0&tclass1=000001164306. [Accessed November 10, 2025]

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 東京. pp. 2–3, pp. 56–59, p. 127.

農林水産省 (2025). 飼料月報＜速報版＞令和6年度4月～3月. https://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryo/cyosa/attach/pdf/kako-240.pdf. [Accessed November 6, 2025]

参考資料（申請者提出　社外秘）

1. Plasmid pSYN24795: Plasmid Lineage Analysis and Sequence. Assessment. Report No. RIR-0007259. Syngenta Crop Protection, LLC. (Volume 1 & 2)
2. eCry1Gb.1Ig: Assessment of Amino Acid Sequence Similarity to Known or Putative Toxins. Assessment. Final Report Amendment 1. Report No. RIR-0006809-23_A1. Syngenta Crop Protection, LLC.
3. Phosphomannose Isomerase (PMI): Assessment of Amino Acid Sequence Similarity to Known or Putative Toxins. Assessment. Report No. RIR-0002627-23. Syngenta Crop

Protection, LLC.
4. Event MZIR260 Maize: Insert Copy Number and Genetic Stability Analyses of T1, T3, and F1 Generations. Final Report. Report No. RIR-0007340. Syngenta Crop Protection, LLC. (Volume 1 & 2)
5. Event MZIR260 Maize: Insert and Flanking Sequence Analysis. Final Report Amendment 1. Report No. RIR-0007263 A1. Syngenta Crop Protection, LLC. (Volume 1 & 2)
6. Event MZIR260 Maize: Genomic Insertion Site Analysis. Final Report. Report No. RIR-0007265. Syngenta Crop Protection, LLC. (Volume 1 & 2)
7. Event MZIR260 Maize: Basic Local Alignment Search Tool for Translated Nucleotides (BLASTX) Analyses of Maize Genomic Sequences Flanking the Insert. Assessment. Report No. RIR-0013777_24_SR1. Syngenta Seeds, LLC.
8. Quantification of eCry1Gb.1Ig and Phosphomannose Isomerase in Tissues from Multiple Generations of Maize Derived from Transformation Event MZIR260. Final Report. Report No. RIR-0010739. Syngenta Crop Protection, LLC.
9. Event MZIR260 Maize: Allergenicity and Toxicity Bioinformatics Assessment of Insert Open Reading Frames between Stop Codons (Japan). Assessment. Report No. RIR-0006883-24. Syngenta Seeds, LLC.
10. Event MZIR260 Maize: Allergenicity and Toxicity Bioinformatics Assessment of Junction Open Reading Frames between Stop Codons (Japan). Assessment. Report No. RIR-0006887-24. Syngenta Seeds, LLC.
11. Quantification of eCry1Gb.1Ig, and Phosphomannose Isomerase in Event MZIR260 Maize Tissues. Final Report Amendment 2. Report No. RIR-0006800 A2. Syngenta Crop Protection, LLC.
12. Comparison of eCry1Gb.1Ig Protein Produced in Recombinant *Escherichia coli* with eCry1Gb.1Ig Protein Produced in Event MZIR260 Derived Maize Plants. Final Report Amendment 1. Report No. TK0549521 A1. Syngenta Crop Protection, LLC.
13. *In Vitro* Digestibility of Microbially Produced ECRY1GB.1IG Protein under Simulated Mammalian Gastric Conditions. Final Report. Report No. S22-07060. Syngenta Crop Protection, LLC.
14. *In vitro* Digestibility of Microbially Produced eCry1Gb.1Ig Protein under Sequential Simulated Mammalian Gastric and Simulated Mammalian Intestinal Conditions. Final Report. Report No. RIR-0012792. Syngenta Seeds, LLC.
15. *In Vitro* Digestibility of Microbially Produced eCry1Gb.1Ig Protein under Simulated Mammalian Intestinal Conditions. Final Report Amendment 1. Report No. S22-07065. Syngenta Crop Protection, LLC.
16. Effect of Temperature on the Immunoreactivity of eCry1Gb.1Ig Protein. Final Report. Report No. TK0549454. Syngenta Seeds, LLC.
17. Compositional Analysis of Forage and Grain from Event MZIR260 Maize Grown in the USA in 2022. Report. Report No. RIR-0007247. Syngenta Seeds, LLC.