

遺伝子組換え食品等専門調査会における審議結果について

1. 審議結果

内閣総理大臣から食品安全委員会に意見を求められた半矮性トウモロコシ MON94804 系統に係る食品健康影響評価（令和 6 年 12 月 3 日付け消食基第 370 号）については、令和 6 年 12 月 23 日に開催された第 259 回遺伝子組換え食品等専門調査会において審議され、審議結果（案）が取りまとめられた。

2. 半矮性トウモロコシ MON94804 系統に係る食品健康影響評価についての意見・情報の募集について

上記品目に関する「審議結果（案）」を食品安全委員会ホームページ等に公開し、意見・情報を募集する。

1) 募集期間

令和 7 年 2 月 25 日（火）開催の食品安全委員会（第 973 回会合）の翌日の令和 7 年 2 月 26 日（水）から令和 7 年 3 月 27 日（木）までの 30 日間。

2) 受付体

電子メール（ホームページ上）、ファックス及び郵送

3) 意見・情報提供等への対応

いただいた意見・情報等を取りまとめ、遺伝子組換え食品等専門調査会の座長の指示のもと、必要に応じて専門調査会を開催し、審議結果を取りまとめ、食品安全委員会に報告する。

(案)

遺伝子組換え食品等評価書

半矮性トウモロコシ MON94804 系統
(食品)

令和7年(2025年)2月

食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会

目 次

<審議の経緯>	3
<食品安全委員会委員名簿>	3
<食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>	3
要 約	4
Ⅰ. 評価対象食品の概要	5
Ⅱ. 食品健康影響評価	5
第1. 食品健康影響評価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	5
1. 既存品種の分類学上の位置付けに関する事項	5
2. 既存品種の食経験に関する事項	5
3. 既存品種の食品としての利用方法に関する事項	5
4. 既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに近縁の植物種に関する事項	6
5. 既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項	6
6. 既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項	6
7. 既存品種の栽培および流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項	6
8. 既存品種の安全な摂取に関する事項	7
第2. 遺伝子組換え体の利用目的、利用方法及び既存品種との相違に関する事項	7
1. 新たに付加される形質又は改変される形質	7
2. 利用目的	7
3. 利用方法	7
4. 安全性において検討が必要とされる相違点	7
5. 既存品種以外のものを比較対象とする場合の理由	7
第3. 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	8
1. ベクターの名称及び由来に関する事項	8
2. ベクターの性質に関する事項	8
3. 挿入 DNA の供与体に関する事項	8
4. 導入遺伝子（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物（RNA 及びタンパク質）の性質に関する事項	9
5. そのほか導入遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能に関する事項	10
6. ベクターへの挿入 DNA の組込方法等に関する事項	10
7. 構築されたコンストラクトに関する事項	12
第4. 遺伝子組換え体の作出及び遺伝子組換え栽培系統に関する事項	12
1. 遺伝子導入に関する事項	12

2. 遺伝子産物の遺伝子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	16
3. 遺伝子産物のタンパク質摂取量が有意な量を占めるか否かに関する事項	16
4. 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項（遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を用いている場合にはその遺伝子産物についても評価すること。）	16
5. 遺伝子組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（既存品種及び既存品種に近縁な種に含まれる基質と反応する可能性に関する事項を含む。） .	17
6. 既存品種との差異に関する事項及び遺伝子組換え栽培系統に付与される形質の分類に関する事項	18
7. 諸外国における認可、食用等に関する事項	20
第5. 第1から第4までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要事項	20
III. 食品健康影響評価結果	20
<参照>	21

<審議の経緯>

2024年12月3日 内閣総理大臣から遺伝子組換え食品等の安全性に係る食品健康影響評価について要請（消食基第370号）、関係書類の接受

2024年12月10日 第965回食品安全委員会（要請事項説明）

2024年12月23日 第259回遺伝子組換え食品等専門調査会

2025年2月25日 第973回食品安全委員会（報告）

<食品安全委員会委員名簿>

山本 茂貴（委員長）

浅野 哲（委員長代理 第一順位）

祖父江 友孝（委員長代理 第二順位）

頭金 正博（委員長代理 第三順位）

小島 登貴子

杉山 久仁子

松永 和紀

<食品安全委員会遺伝子組換え食品等専門調査会専門委員名簿>

児玉 浩明（座長）

佐々木 伸大（座長代理）

伊藤 政博 手島 玲子

小野 道之 樋口 恭子

小野 竜一 藤原 すみれ

柴田 識人 百瀬 愛佳

爲廣 紀正

<第259回遺伝子組換え食品等専門調査会専門参考人名簿>

山川 隆（国立大学法人東京大学大学院）

要 約

「半矮性トウモロコシ MON94804 系統」について食品健康影響評価を実施した。

本系統は、トウモロコシ (*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) のデント種 HCL301 系統を既存品種とし、トウモロコシ (*Z. mays*) 由来の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子のコード配列に由来する 21 塩基長配列及びその逆方向反復配列並びにイネ (*Oryza sativa*) 由来の 3つの Osa-miR1425 フラグメントにより構成された *GA20ox_SUP* 配列を導入して作出されている。*GA20ox_SUP* 配列の転写産物である *GA20ox_SUP* RNA は、RNA 干渉機構により認識され、トウモロコシ内在性の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の発現を抑制する。当該発現抑制により、茎のジベレリン含有量が低下することで、節間が狭まり稈長が短くなる形質(半矮性)が付与される。

「遺伝子組換え食品(種子植物)に関する食品健康影響評価指針」(平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定)に基づき、導入された DNA の供与体の安全性、導入された DNA の塩基配列等の解析結果、交配後の世代における導入された DNA の安定性、植物の代謝経路への影響、植物の栄養成分及び有害成分の比較の結果等について確認した。その結果、本系統には、非組換えトウモロコシと比較して新たに安全性を損なうおそれのある要因は認められなかった。

したがって、「半矮性トウモロコシ MON94804 系統」については、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

I. 評価対象食品の概要

(申請内容)

名称：半矮性トウモロコシMON94804系統

性質：半矮性

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

開発者：Bayer Group (ドイツ)

「半矮性トウモロコシ MON94804 系統」(以下「トウモロコシ MON94804」という。)は、トウモロコシ (*Zea mays*) 由来の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子のコード配列に由来する 21 塩基長配列及びその逆方向反復配列並びにイネ (*Oryza sativa*) 由来の 3 つの Osa-miR1425 フラグメントにより構成された *GA20ox_SUP* 配列を導入して作出されている。*GA20ox_SUP* 配列の転写産物である *GA20ox_SUP* RNA は、RNA 干渉機構 (以下「RNAi 機構」という。)により認識され、トウモロコシ内在性の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の発現を抑制する。当該発現抑制により、茎のジベレリン含有量が低下することで、節間が狭まり稈長が短くなる形質 (半矮性) が付与される。

II. 食品健康影響評価

第 1. 食品健康影響評価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 (*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) のデント種 HCL301 系統である。

2. 既存品種の食経験に関する事項

トウモロコシは、古くから多くの食経験があり (参照 1)、現在では世界中で食品や飼料等に広く利用されている。

3. 既存品種の食品としての利用方法に関する事項

(1) 収穫時期 (成熟程度) と貯蔵方法

一般にトウモロコシの収穫は秋季に行われ、乾燥後、常温で貯蔵される。

(2) 摂取 (可食) 部位

トウモロコシの摂取 (可食) 部位は雌穂に形成される子実である。

(3) 摂取量

日本人の「とうもろこし・加工品」^aの一日平均摂取量は、1.0g である。

^a 令和元年「国民健康・栄養調査報告」食品群別摂取量の食品分類

(4) 調理及び加工方法

デント種は主に飼料用として栽培されているが、コーンスターチの原料として利用されるほか、食用油やスナック菓子に加工される。

4. 既存品種の遺伝的先祖及び育種開発の経緯並びに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、同属のテオシントで、人為的選抜を経て栽培化したといわれている。原産地は、中米、南米等と考えられている（参照 2）。栽培適性の異なる多くの品種が育成された結果、現在では北緯 60 度から南緯 40 度辺りまで栽培地域が拡大し、世界的に広く栽培される作物となった（参照 1）。

トウモロコシの近縁種には、テオシント及びトリプサカム属が知られているが、我が国において食用に供されることはない（参照 2）。

5. 既存品種由来の食品の構成成分等に関する事項

(1) 既存品種の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要

トウモロコシの子実の主要栄養素組成（対乾燥重量）は、総食物繊維 5.8～35.3%、粗タンパク質 5.7～17.3%、粗脂質 1.4～7.8%、灰分 0.6～6.3%、炭水化物 77.4～89.7%である（参照 3）。

(2) 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）等の種類及びその量の概要

トウモロコシには、ヒトの健康に悪影響を与える毒性物質の産生性は知られていない。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。トリプシンインヒビターも含まれているが、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（参照 4）。

対乾燥重量の含有量については、フィチン酸 0.11～1.9%、ラフィノース 0.020～0.47%である（参照 3）。トリプシンインヒビターの活性は、0.49～8.42 TIU (Trypsin Inhibitor Unit) /mg DW である（参照 5）。

6. 既存品種のアレルギー誘発性等に関する事項

トウモロコシの脂質輸送タンパク質 (Lipid Transfer Protein) と呼ばれる分子量 9 kDa のタンパク質、16 kDa のトリプシンインヒビター、26 kDa の α -ゼイン前駆体、30 kDa のキチナーゼ-A 及び 50 kDa の γ -ゼインが食物アレルギーである可能性が示唆されているが（参照 6、7、8）、一般的にトウモロコシはアレルギー誘発性のある食品とは考えられていない（参照 4、9）。

7. 既存品種の栽培および流通過程において、健康に影響を及ぼす外来因子に関する事項

トウモロコシには、ウイルス、細菌及び糸状菌による各種病害が知られている

が（参照 2）、これらがヒトに対して病原性をもつことは知られていない。

8. 既存品種の安全な摂取に関する事項

トウモロコシは世界の主要穀物の一つで、古くから多くの食経験がある。デン
ト種は、食品分野においてコーン油、コーンスターチ等の原料として幅広く利用
されている。

以上 1～8 より、トウモロコシ MON94804 の安全性評価においては、従来のト
ウモロコシが比較対象であると判断した。

第 2. 遺伝子組換え体の利用目的、利用方法及び既存品種との相違に関する事項

1. 新たに付加される形質又は改変される形質

トウモロコシ MON94804 は、半矮性が付与される。

2. 利用目的

トウモロコシ MON94804 は、半矮性を付与したことにより、強風による栽培
時の倒伏被害の軽減が期待できる。また、生育中後期において噴霧器等の農業機
械を使用しても短稈であれば植物体を傷つける可能性が低くなるため、生育段階
や病害虫の発生状況に応じて、肥料や農薬を正確に施用することが可能になる。

3. 利用方法

(1) 栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法

トウモロコシ MON94804 の栽培方法、収穫時期、種子の製法及び管理方法
は、従来のトウモロコシと変わらない。

(2) 可食部位、調理及び加工方法

トウモロコシ MON94804 の可食部位、調理及び加工方法は、従来のトウモ
ロコシと変わらない。

(3) 摂取量

トウモロコシ MON94804 の摂取量は、従来のトウモロコシと変わらない。

4. 安全性において検討が必要とされる相違点

トウモロコシ MON94804 は、*GA20ox_SUP* 配列を導入して作出されており、
GA20ox_SUP RNA 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の理由

既存品種と従来品種以外のものは比較対象としていない。

第3. 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

トウモロコシ MON94804 の作出に使用した導入用プラスミド PV-ZMAP527892 のベクターバックボーンは、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 及び RK2 などを基に作製された。

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 PV-ZMAP527892 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なっている（参照 10）。

(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 PV-ZMAP527892 のベクターバックボーンの塩基配列は明らかになっており、既知の有害塩基配列は含まれていない。

(3) 遺伝子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 PV-ZMAP527892 のベクターバックボーンには、スペクチノマイシン及びストレプトマイシンに対して耐性を付与する *aadA* 遺伝子（参照 11）が含まれている。

導入用プラスミド PV-ZMAP527892 の T-DNA 領域には、除草剤グリホサートに対して耐性を付与する *cp4 epsps* 遺伝子が含まれており選抜マーカーとして利用されたが、トウモロコシ MON94804 の作出の過程で除去されるため、トウモロコシ MON94804 には存在しない。

(4) 伝達性等に関する事項

導入用プラスミド PV-ZMAP527892 のベクターバックボーンには伝達を可能とする塩基配列は含まれていない。

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

GA20ox_SUP 配列は、*ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子のコード配列に由来する 21 塩基長配列及びその逆方向反復配列並びに 3 つの Osa-miR1425 フラグメントから構成されている。

ZmGA20ox3 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の供与体はトウモロコシ (*Z. mays*) であり、3 つの Osa-miR1425 フラグメントの供与体はイネ (*O. sativa*) である（参照 12、13）。

(2) 安全性に関する事項（アレルギー誘発性、毒素産生性を含む。）

トウモロコシは食品及び飼料としての長い使用の歴史を有し、主食として供されている重要な作物である。トウモロコシのアレルギー誘発性及び毒素産生

性については、第1の5(2)及び6に記載のとおりである。

イネは食品及び飼料としての長い使用の歴史を有し、世界人口のおよそ半数以上に主食として供されている重要な作物である。イネがヒトに対するアレルギー誘発性及び毒素産生性を有しているとの報告はない(参照14)。

4. 導入遺伝子(遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を含む。)及びその遺伝子産物(RNA及びタンパク質)の性質に関する事項

(1) 導入遺伝子の機能に関する事項

トウモロコシ MON94804 には、タンパク質を産生する遺伝子は導入されていない。トウモロコシ MON94804 に導入された *GA20ox_SUP* 配列から発現する *GA20ox_SUP* RNA は、RNAi 機構により、標的の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の発現を抑制することによって、茎のジベレリン含有量を低下させる。これにより、トウモロコシ MON94804 の節間は従来品種と比較して狭まり稈長が短くなる半矮性という特性が付与される。

(2) 遺伝子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 PV-ZMAP527892 のベクターバックボーンには、スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *aadA* 遺伝子(参照11)が含まれているが、ベクターバックボーンはトウモロコシ MON94804 中に導入されていない。

(3) 導入遺伝子及び遺伝子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

① プロモーターに関する事項

GA20ox_SUP 配列発現カセットのプロモーターは、イネツングロ桿状ウイルス(RTBV)由来の配列(*RTBV-1*プロモーター)である(参照15)。

② ターミネーターに関する事項

GA20ox_SUP 配列発現カセットのターミネーターは、トウモロコシ(*Z. mays*)由来の複数の3'末端非翻訳領域の配列を基に作製された配列(*GST43*ターミネーター)である(参照16)。

③ その他

目的遺伝子の発現を高めるため、*GA20ox_SUP* 配列発現カセットには、トウモロコシ(*Z. mays*)由来の *hsp70* 遺伝子のイントロン及びその近傍領域に存在するエクソン配列の一部からなる *Hsp70* イントロン配列を含む(参照17)。

5. そのほか導入遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能に関する事項

中間系統作出のために既存品種のゲノムに導入された *Agrobacterium* CP4 株由来の *cp4 epsps* 遺伝子は 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) を (参照 18、19)、バクテリオファージ P1 由来のキメラ *Cre* 遺伝子は *Cre* タンパク質をそれぞれ産生する。

CP4 EPSPS は、形質転換後の細胞に除草剤グリホサート耐性を付与し、形質転換された細胞の選抜に利用された。

リコンビナーゼである *Cre* タンパク質は、中間系統のゲノム DNA に 2 か所存在する標的配列 *loxP* の間で部位特異的組換えを誘導する。

これらの遺伝子は、いずれもトウモロコシ MON94804 の作出の過程において一時的に既存品種及び中間系統のゲノムに導入された後にゲノムから除去されるため、トウモロコシ MON94804 には残存しない。

6. ベクターへの挿入 DNA の組込方法等に関する事項

(1) 挿入 DNA のクローニング又は合成方法に関する事項

GA20ox_SUP 配列は、ジベレリン 20 酸化酵素 3 及び 5 をコードするトウモロコシ (*Z. mays*) の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子のコード配列 (参照 12) に由来する 21 塩基長配列及びその逆方向反復配列並びにイネ (*O. sativa*) 由来の 3 つの *Osa-miR1425* フラグメント (参照 13) の配列を基に合成された。

(2) ベクターへの挿入 DNA の組込方法に関する事項

導入用プラスミド PV-ZMAP527892 は、プラスミド pBR322 及び RK2 等より構成されたベクターバックボーンと *GA20ox_SUP* 配列発現カセット及び *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットを含む T-DNA 領域より作製された。導入用プラスミド PV-ZMAP527892 の挿入 DNA 領域の構成要素は表 1 のとおり。

表1 導入用プラスミド PV-ZMAP527892 の挿入 DNA 領域の構成要素（一部省略）

構成DNA	由来及び機能
LB [*]	<i>Rhizobium radiobacter</i> (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域で、T-DNA 領域を伝達する際に利用される左側境界配列を含む（参照 20）。
<i>loxP</i>	バクテリオファージ P1 由来の <i>loxP</i> 組換え部位の配列であり、Cre リコンビナーゼにより認識される（参照 21）。
(<i>GA20ox_SUP</i> 配列発現カセット)	
<i>RTBV-1</i>	イネツングロ桿状ウイルス (RTBV) 由来のプロモーター及びリーダーであり、維管束の師部組織（参照 22）及びトウモロコシの節間において優先的に転写を誘導する（参照 15）。なお、 <i>RTBV-1</i> プロモーターは野生型 <i>RTBV</i> の ORF4 の後半半分を含むが、ORF4 の開始アミノ酸であるメチオニンは含まない。したがって、 <i>RTBV-1</i> プロモーターからタンパク質が発現することはないと考えられる。
<i>Hsp70</i>	トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来の熱ショックタンパク質 (HSP70) をコードする <i>hsp70</i> 遺伝子のイントロン及びその近傍領域に存在するエクソン配列の一部（参照 23）。遺伝子発現の制御に関わり、植物における発現を高める（参照 17）。
<i>GA20ox_SUP</i>	ジベレリン 20 酸化酵素 3 及び 5 をコードするトウモロコシ (<i>Z. mays</i>) の <i>ZmGA20ox3</i> 遺伝子及び <i>ZmGA20ox5</i> 遺伝子のコード配列（参照 12）に由来する 21 塩基長配列及びその逆方向反復配列並びに <i>GA20ox_SUP</i> の primary micro RNA (pri-miRNA) の基本骨格構造となるイネ (<i>O. sativa</i>) 由来の 3 つの Osa-miR1425 フラグメント（参照 13）により構成されている配列であり、 <i>GA20ox_SUP</i> 配列発現カセットの一部を形成する（GenBank accession: OL473856）。
<i>GST43</i>	トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来の複数の 3' 末端非翻訳領域の配列を基に作製された 3' 末端非翻訳領域（参照 16）。転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する。

※LB は、トウモロコシ MON94804 に導入された際に導入用プラスミド PV-ZMAP527892 と比較して短くなっている。また、トウモロコシ MON94804 に Right Border Region（右側境界配列を含む。）は導入されていない。

7. 構築されたコンストラクトに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列並びに制限酵素による切断地図に関する事項

導入用プラスミド PV-ZMAP527892 の塩基数、塩基配列及び制限酵素による切断地図は明らかになっている（参照 10）。

(2) 既存品種に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域がコンストラクト上で明らかであること

導入用プラスミド PV-ZMAP527892 の意図する挿入領域は、T-DNA 領域の右側境界領域（RB）から左側境界領域（LB）までである。なお、T-DNA 領域中の *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット及び *loxP* 配列の一つは遺伝子組換え体を作成する過程で除去されるため、トウモロコシ MON94804 には残存しない。

(3) 導入しようとするコンストラクトは、目的外の遺伝子が混入しないよう純化されていること

導入用プラスミド PV-ZMAP527892 は、スペクチノマイシン及びストレプトマイシンによる選抜を通じて目的外の遺伝子の混入がないよう純化されており、塩基配列の解析により目的外の遺伝子の混入がないことを確認している。

第4. 遺伝子組換え体の作出及び遺伝子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

既存品種に導入用プラスミド PV-ZMAP527892 の *GA20ox_SUP* 配列発現カセット及び *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットを含む T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入した後、グリホサート耐性をマーカーとして用いて選抜し、形質転換再生個体を得た。次に、自殖により得た個体について、T-DNA 領域をホモで有し、ベクターバックボーンをもたない個体を PCR 法により選抜した。選抜した個体を用い、Cre リコンビナーゼ発現カセットをもつ組換えトウモロコシ系統^bと交配し、Cre/*lox* 法により T-DNA 領域から選択マーカーとして用いた *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット及び *loxP* 配列の一つが除去された個体を作成した。その後、自殖により Cre リコンビナーゼ発現カセットを持たない個体を選抜してトウモロコシ MON94804 が得られた。

(2) 遺伝子組換え栽培系統に関する事項（系統の考え方に基づいた記述、育成図）

トウモロコシ MON94804 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、食品健康影響評価を実施する世代及び系統の範囲は特定されている。

^b HCL301 Cre 系統は、従来トウモロコシ品種 HCL301 系統を既存品種とし、導入用プラスミド PV-ZMOO513642 を用いたアグロバクテリウム法による形質転換を行うことで作出された。T-DNA 領域をホモで有し、ベクターバックボーンを持たない個体を PCR 及びサザンブロット解析により選抜した。

(3) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

トウモロコシ MON94804 のゲノムに導入された DNA 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確認するために、次世代シーケンス解析、PCR 分析及び塩基配列解析を実施した。

トウモロコシ MON94804 のシーケンス解析で得た塩基配列（リード）の平均リード深度は 156 であった。得られたリードの全てを導入用プラスミド PV-ZMAP527892 と照合した結果、トウモロコシ MON94804 では、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、目的の DNA 領域が 1 箇所に 1 コピー導入されたことが示された。また、トウモロコシ MON94804 において導入用プラスミド PV-ZMAP527892 由来の非意図的な配列は確認されなかった。Cre リコンビナーゼ発現カセットをもつ組換えトウモロコシ系統の導入用プラスミド PV-ZMOO513642 の配列と照合した結果、トウモロコシ MON94804 には PV-ZMOO513642 に由来する配列は存在しないと考えられた。さらに、トウモロコシ MON94804 に導入された DNA 領域について PCR 産物の塩基配列を解析し、導入用プラスミド PV-ZMAP527892 の目的の挿入 DNA 領域と比較した結果、両者は同一であることが確認された（参照 24）。

また、トウモロコシ MON94804 に導入された DNA の近傍配列が既存品種のゲノム由来であることを確認するために、トウモロコシ MON94804 に導入された DNA の 5' 末端近傍配列及び 3' 末端近傍配列に特異的なプライマーを作成し、既存品種を用いて PCR 分析及び塩基配列の解析を行った後、これをトウモロコシ MON94804 の近傍配列と比較した。その結果、トウモロコシ MON94804 の近傍配列において、既存品種のゲノムと比較して 41 bp の欠失が認められた。この欠失を除き、トウモロコシ MON94804 の近傍配列と既存品種の塩基配列は一致しており、導入された DNA 領域の近傍配列が既存品種のゲノム由来であることが確認された（参照 24）。

また、既存品種のゲノムに DNA を挿入することにより既存品種の内在性遺伝子が損なわれていないことを確認するために、トウモロコシ MON94804 の 5' 末端近傍配列（1,000 bp）、欠失した 41 bp 及び 3' 末端近傍配列（1,000 bp）の計 2,041 bp について、トウモロコシのゲノムデータベース^oを用いて FASTA 型アルゴリズムによる相同性検索を行った。その結果、導入された DNA はゲノムの 1 番染色体に座乗しており、導入された DNA 領域においてトウモロコシ内在性の遺伝子は認められなかった。したがって、DNA の挿入によって既知の内在性遺伝子は損なわれていないと考えられた（参照 25）。

^o ZMA_2022: トウモロコシのリファレンスゲノム (GenBank *Zea mays* reference genome, GCF_902167145.1_Zm-B73-REFERENCE-NAM-5.0、ダウンロード日: 2022 年 1 月) から抽出されたデータベース (検索日: 2022 年 4 月)

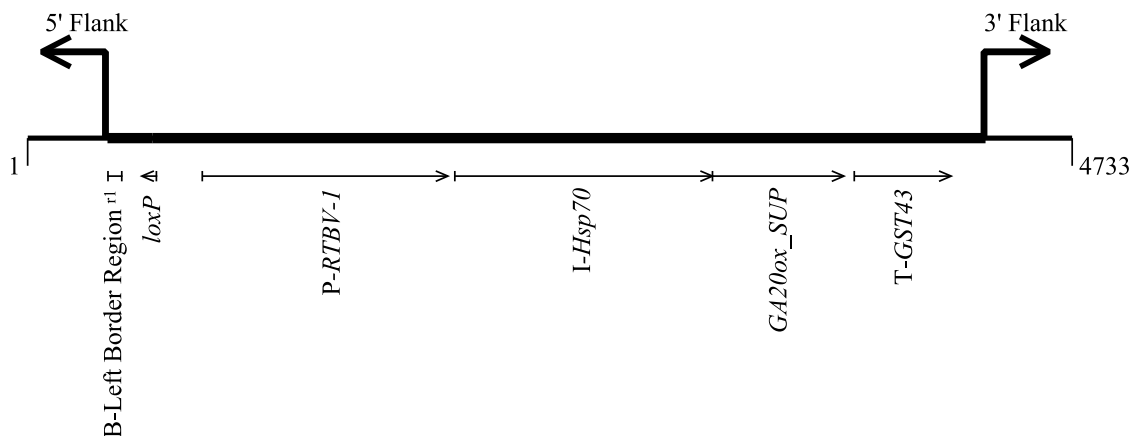


図1 トウモロコシ MON94804 のゲノム DNA 中に導入された DNA 領域
 図中の「rl」の表記は、トウモロコシ MON94804 に導入された B-Left Border Region が導入用プラスミド PV-ZMAP527892 と比較して短くなっていることを意味する。また、トウモロコシ MON94804 に B-Right Border Region は導入されていない。

(4) 遺伝子組換え栽培系統における導入遺伝子の安定性に関する事項

導入された *GA20ox_SUP* 配列の後代における安定性を確認するために、5 世代のトウモロコシ MON94804 の穀粒から抽出されたゲノム DNA を用いて、次世代シーケンス解析を行った。その結果、各世代において導入された DNA 領域に起因する 2 つの接合領域のみが検出され、導入された DNA 領域が世代間で安定していることが確認された（参照 24）。

また、複数世代にわたる *GA20ox_SUP* RNA の発現の安定性を確認するために、5 世代のトウモロコシ MON94804 から採取した葉から抽出された RNA を用いてノーザンブロット解析を行った。その結果、*GA20ox_SUP* RNA のバンドが、トウモロコシ MON94804 の 5 世代において観察された。したがって、*GA20ox_SUP* RNA が世代間で安定して発現していることが示された。

(5) ORF の有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

① 境界領域における ORF の解析

トウモロコシ MON94804 に導入された DNA 領域の 5' 末端近傍配列及び 3' 末端近傍配列との接合部位において意図しないオープンリーディングフレーム（以下「ORF」という。）が生じていないことを確認するために、6 通りの読み枠（表 3 通り、裏 3 通り）において ORF 検索を行った。その結果、終止コドンから終止コドンまでの連続する 8 アミノ酸以上の接合部を跨ぐ ORF が 12 個検出された。

これらの ORF と既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベース^dを用いて相同性検索を行った。その結果、既知のア

^d AD_2022: COMPARE (COMprehensive Protein Allergen REsource) から 2022 年 2 月にダウンロードしたアレルゲン配列のデータベースで、2,463 配列を含む。（検索日：2022 年 4 月）

レルゲンと連続する 80 アミノ酸に対して 35%を超える相同性を示す配列及び連続する 8 アミノ酸以上の配列が一致する配列は検出されなかった。

また、これらの ORF と既知の毒性タンパク質との構造相同性の有無を確認するため、毒性タンパク質データベース^e及びタンパク質データベース^fを用い、E-value が 1×10^{-5} 以下を指標として相同性検索を行った。その結果、相同性を示す配列は検出されなかった。

② 導入された DNA 領域の解析

トウモロコシ MON94804 に導入された DNA 領域において、意図しないタンパク質が産生され、それらが既知のアレルゲン及び毒性タンパク質と構造相同性を有するかを確認するため、導入された DNA 領域の 6 通りの読み枠（表 3 通り、裏 3 通り）から翻訳された全てのアミノ酸配列について、相同性検索を行った。

既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認するため、アレルゲンデータベース^dを用いて相同性検索を行った。その結果、連続する 80 アミノ酸に対して 35%を超える相同性を示す配列は検出されなかった。また、既知のアレルゲンと連続する 8 アミノ酸以上の配列が一致する配列を検索した結果、6 通りの読み枠のうち、一つの読み枠におけるアミノ酸配列が、ウシ由来 I 型コラーゲン $\alpha 2$ 鎖前駆体との間に一致を示した。しかしながら、このアミノ酸配列には、開始コドンがコードするメチオニンが欠如しているため、タンパク質を発現しないと考えられた。

また、既知の毒性タンパク質との構造相同性の有無を確認するため、毒性タンパク質データベース^eを用い、E-value が 1×10^{-5} 以下を指標として相同性検索を行った。その結果、相同性を示す配列は検出されなかった。さらに、タンパク質データベース^fを用い、E-value が 1×10^{-5} 以下を指標として相同性検索を行った。その結果、6 通りの読み枠のうち、一つの読み枠におけるアミノ酸配列が、イネツングロ桿状ウイルス (RTBV) との間に相同性を示した。しかしながら、相同性を示したアミノ酸配列は導入された DNA 領域中の *RTBV-1* プロモーターであり、配列中にメチオニンを含まないことからタンパク質を発現しないと考えられた。

以上のことから、仮にトウモロコシ MON94804 に導入された DNA 領域において意図しないタンパク質が産生され、又はその両末端近傍配列に跨る塩基配列に由来する領域が翻訳されたとしても、それらがアレルゲン又は毒性タン

^e TOX_2022: Swiss-Prot database (URL: <https://www.uniprot.org/>、ダウンロード日: 2022 年 1 月) から抽出された毒性タンパク質配列のデータベースであり、8,131 配列を含む。(検索日: 2022 年 4 月)

^f PRT_2022: NCBI FTP server (<https://ftp.ncbi.nlm.nih.gov/ncbi-asn1/protein.fasta/>) から 2022 年 1 月にダウンロードしたタンパク質配列のデータベースで、184,933,782 配列を含む。(検索日: 2022 年 4 月)

パク質を産生する可能性は低いと考えられた。

2. 遺伝子産物の遺伝子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

トウモロコシ MON94804 の葉、根、茎、地上部及び穀粒について、GA20ox_SUP RNA (pri-miRNA) 及び GA20ox_SUP RNA (成熟 miRNA) の発現を、半定量的ノーザンブロット解析により分析した。結果は表 2 のとおりである。

表 2 トウモロコシ MON94804 の転写産物の発現解析の結果

転写産物		組織*	転写産物の検出の有無 (約 10 µg の総 RNA あたりのバンドの強度)
GA20ox_SUP RNA	pri-miRNA	葉	有 (10 pg~25 pg)
		根	有 (5 pg~10 pg)
		茎	有 (50 pg~75 pg)
		地上部	有 (25 pg~50 pg)
		穀粒	無 (5 pg 未満)
	成熟 miRNA	葉	有 (10 pg~25 pg)
		根	有 (2.5 pg~5 pg)
		茎	有 (25 pg~50 pg)
		地上部	有 (10 pg~25 pg)
		穀粒	有 (2.5 pg ~ 5 pg)

*n=1

3. 遺伝子産物のタンパク質摂取量が有意な量を占めるか否かに関する事項

トウモロコシ MON94804 に導入された GA20ox_SUP 配列発現カセットは、RNAi 機構により標的の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の発現を抑制するための GA20ox_SUP RNA を発現するものであり、当該発現カセットからタンパク質は産生されない。

4. 遺伝子産物 (タンパク質) のアレルギー誘発性に関する事項 (遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子を用いている場合にはその遺伝子産物についても評価すること。)

(1) 導入遺伝子の供与体 (遺伝子組換え体の選抜に関わる遺伝子の供与体を含む。) のアレルギー誘発性 (グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同じ。) に関する知見が明らかであること

GA20ox_SUP 配列の供与体であるトウモロコシ及びイネは一般的にアレルギー誘発性食品とはみなされていない (参照 4、14)。

(2) 遺伝子産物（タンパク質）についてそのアレルギー誘発性に関する知見が明らかであること

GA20ox_SUP 配列から新たなタンパク質は産生されない。

(3) 遺伝子産物（タンパク質）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

GA20ox_SUP 配列から新たなタンパク質は産生されないため、本事項は該当しない。

(4) 遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン（グルテン過敏性腸疾患に関与するタンパク質を含む。以下「アレルゲン等」という。）との構造相同性に関する事項

GA20ox_SUP 配列から新たなタンパク質は産生されないため、本事項は該当しない。

以上のことから、タンパク質として発現しないため、アレルギーを誘発する可能性はないと考えられた。

5. 遺伝子組換え栽培系統の代謝経路への影響に関する事項（既存品種及び既存品種に近縁な種に含まれる基質と反応する可能性に関する事項を含む。）

ジベレリンは、成長に重要な植物ホルモンであり、茎伸長、種子発芽、葉の生育、花成など、様々な植物の発生過程の調節に関与している（参照 26、27）。*GA20ox_SUP* 配列発現カセットから産生される *GA20ox_SUP* RNA の pri-miRNA は、植物における miRNA の生合成過程を経て、成熟 miRNA となる。miRNA の生合成過程において pri-miRNA から切り出された RNA 断片は、細胞内で分解されると考えられる。

GA20ox_SUP RNA の成熟 miRNA は、RNAi 機構を通じて、ジベレリン生合成経路の酵素遺伝子であるトウモロコシ内在性の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の発現を抑制する。*GA20ox_SUP* RNA の成熟 miRNA は、標的の *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の発現を特異的に抑制するように設計されており、標的遺伝子に最も近い相同遺伝子である *ZmGA20ox1* 遺伝子の発現量に影響がないことが確認されていることから、標的遺伝子以外の既存品種の遺伝子の発現を抑制することはないと考えられる。

さらに、トウモロコシの転写産物データベース^gを用いて解析を行った結果、*ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子の転写産物以外のトウモロコシ由来の転写産物には、*GA20ox_SUP* RNA の成熟 miRNA により抑制され得る他の配列は存在しないことが確認された（参照 28）。

そのため、影響を受ける代謝経路はトウモロコシ内在性 *ZmGA20ox3* 遺伝子及び *ZmGA20ox5* 遺伝子に関与する既存のジベレリン生合成経路であると考えられ

^g NCBI データベース（ダウンロード日：2022年4月）（検索日：2022年4月）

る。実際に、これらの標的遺伝子の抑制により活性型ジベレリン含有量が低下した栄養組織では、節間や稈長が短くなり、葉幅と葉長に変化が認められたが、活性型ジベレリン含有量の変化が認められない生殖組織においては、生殖成長特性と収量構成要素に一貫した差異は認められていない。

以上のことから、GA20ox_SUP RNA の成熟 miRNA の発現によって栄養組織における既存のジベレリン生合成経路の代謝産物の量が一時的に増減する可能性はあるが、活性型ジベレリンの含有量の値は、従来品種で認められる変動の範囲内であった。したがって、トウモロコシ MON94804 においては、新規の代謝産物が生じるものではないと考えられた。

6. 既存品種との差異に関する事項及び遺伝子組換え栽培系統に付与される形質の分類に関する事項

(1) 既存品種との差異に関する事項

米国のほ場で栽培されたトウモロコシ MON94804 及び非組換えトウモロコシについて、穀粒及び地上部の主要構成成分、アミノ酸、脂肪酸、ミネラル類、ビタミン類、栄養阻害物質及び二次代謝産物の分析を行い、統計学的有意差について検討を行った。

① トウモロコシ穀粒における構成成分

a. 主要構成成分

穀粒の主要構成成分（粗タンパク質、粗脂肪、炭水化物、繊維質、灰分）について分析を行った結果、対照の非組換えトウモロコシとの間で総食物繊維に統計学的有意差が認められたが、トウモロコシ MON94804 の総食物繊維の平均値は文献値の範囲内であった（参照 3）。

b. アミノ酸

穀粒のアミノ酸 18 成分について分析を行った結果、対照の非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差は認められなかった。

c. 脂肪酸

穀粒の脂肪酸 9 成分について分析を行った結果、対照の非組換えトウモロコシとの間でステアリン酸に統計学的有意差が認められたが、トウモロコシ MON94804 のステアリン酸の平均値は文献値の範囲内であった（参照 3）。

d. ミネラル類

穀粒の無機質（カルシウム、銅、鉄、マグネシウム、マンガン、リン、カリウム、亜鉛）について分析を行った結果、対照の非組換えトウモロコシ

^h トウモロコシ MON94804 と同様の遺伝的背景をもつ。

シとの間でカルシウムに統計学的有意差が認められたが、トウモロコシ MON94804 のカルシウムの平均値は文献値の範囲内であった（参照 3）。

e. ビタミン類

穀粒のビタミン A (β -カロテン)、ビタミン B1 (チアミン)、ビタミン B2 (リボフラビン)、ビタミン B3 (ナイアシン)、ビタミン B6 (ピリドキシン)、ビタミン B9 (葉酸) 及びビタミン E (α -トコフェロール) について分析を行った結果、対照の非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差は認められなかった。

f. 栄養阻害物質

穀粒の栄養阻害物質（フィチン酸、ラフィノース）について分析を行った結果、対照の非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差は認められなかった。

g. 二次代謝産物

穀粒の二次代謝産物（フェルラ酸、*p*-クマル酸）について分析を行った結果、対照の非組換えトウモロコシとの間でフェルラ酸に統計学的有意差が認められたが、トウモロコシ MON94804 のフェルラ酸の平均値は文献値の範囲内であった（参照 3）。

② トウモロコシ地上部における構成成分

地上部の粗タンパク質、粗脂肪、炭水化物、酸性デタージェント繊維、中性デタージェント繊維、灰分、カルシウム及びリンについて分析を行った結果、対照の非組換えトウモロコシとの間で粗タンパク質、炭水化物、酸性デタージェント繊維、中性デタージェント繊維及び灰分に統計学的有意差が認められたが、いずれにおいても平均値は文献値の範囲内であった。（参照 3）。

また、活性型ジベレリン含有量に影響を受ける可能性がある成分として、細胞壁成分である酸性デタージェント繊維、中性デタージェント繊維、総食物繊維及び酸性デタージェントリグニンが示唆されており（参照 29、30）、このうち、上記の構成成分分析に含まれていない酸性デタージェントリグニンについて、上記の構成成分分析と同様に含有量の分析を行った。その結果、トウモロコシ地上部において、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が、トウモロコシ MON94804 の酸性デタージェントリグニンの平均値は、商業品種変動ⁱの範囲内であった（参照 31）。

ⁱ 95%の信頼区間で商業品種集団の 99%が含まれるように定めた範囲。

(2) 遺伝子組換え栽培系統に付与される形質の分類に関する事項

トウモロコシ MON94804 は、「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」（平成 16 年 1 月 29 日食品安全委員会決定）別添 1 の「① 導入された遺伝子によって、既存品種の代謝系には影響なく、害虫抵抗性、除草剤耐性、ウイルス抵抗性などの形質が付与されるもの。」に分類される。

7. 諸外国における認可、食用等に関する事項

カナダにおいて、カナダ保健省（Health Canada）により食品としての利用が、カナダ食品検査庁（CFIA）により飼料としての利用が 2024 年 2 月に承認された。

オーストラリア・ニュージーランドにおいて、オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関（FSANZ）により食品としての利用が 2024 年 10 月に承認された。

米国及び欧州で安全性審査の申請等が行われた。

第 5. 第 1 から第 4 までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要な事項

第 1 から第 4 までの事項により、安全性の知見が得られている。

III. 食品健康影響評価結果

「半矮性トウモロコシ MON94804 系統」については、「遺伝子組換え食品（種子植物）に関する食品健康影響評価指針」に基づき評価した結果、人の健康を損なうおそれはないと判断した。

<参照>

1. 戸澤英男 2005 トウモロコシ ー歴史・文化、特性・栽培、加工・利用ー 農山漁村文化協会 東京
2. OECD. 2003. Consensus document on the biology of *Zea mays* subsp. *mays* (maize). ENV/JM/MONO(2003)11. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 27. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
3. AFISI. 2020. Crop Composition Database, Version 8.0. Agriculture & Food Systems Institute, Washington, D.C. <https://www.cropcomposition.org/> [Accessed January 4, 2020].
4. 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. ENV/JM/MONO(2002)25. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 6. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
5. AFISI. 2024. Crop Composition Database, Version 10.0. Agriculture & Food Systems Institute, Washington, D.C. <https://www.cropcomposition.org/> [Accessed December 3, 2024]
6. Pastorello, E.A., L. Farioli, V. Pravettoni, M. Ispano, E. Scibola, C. Trambaioli, M.G. Giuffrida, R. Ansaloni, J. Godovac-Zimmermann, A. Conti, D. Fortunato and C. Ortolani. 2000. The maize major allergen, which is responsible for food-induced allergic reactions, is a lipid transfer protein. *Journal of Allergy and Clinical Immunology* 106: 744-751.
7. Pastorello, E.A., L. Farioli, V. Pravettoni, J. Scibilia, A. Conti, D. Fortunato, L. Borgonovo, S. Bonomi, L. Primavesi and B. Ballmer-Weber. 2009. Maize food allergy: Lipid-transfer proteins, endochitinases, and alpha-zein precursor are relevant maize allergens in double-blind placebo-controlled maize-challenge-positive patients. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* 395: 93-102.
8. Volpicella, M., C. Leoni, I. Fanizza, M. Distaso, G. Leoni, L. Farioli, T. Naumann, E. Pastorello and L.R. Ceci. 2017. Characterization of maize chitinase-A, a tough allergenic molecule. *Allergy* 72: 1423-1429.
9. Codex Alimentarius. 1999. Draft recommendations for the labeling of foods that can cause hypersensitivity (Draft amendment to the general standard for the labelling of prepackaged foods). Page 60 in Report of the Twenty-Sixth Session of the Codex Committee on Food Labelling. Codex Alimentarius Commission, Joint FAO/WHO Food Standards Programme, Food and

Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.

10. Sequence of Genetic Elements in PV ZMAP527892 (社内文書)
11. 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.
12. Song, J., B. Guo, F. Song, H. Peng, Y. Yao, Y. Zhang, Q. Sun and Z. Ni. 2011. Genome-wide identification of gibberellins metabolic enzyme genes and expression profiling analysis during seed germination in maize. *Gene* 482: 34-42.
13. Lacombe, S., H. Nagasaki, C. Santi, D. Duval, B. Piégu, M. Bangratz, J.-C. Breitler, E. Guiderdoni, C. Brugidou, J. Hirsch, X. Cao, C. Brice, O. Panaud, W.M. Karlowski, Y. Sato and M. Echeverria. 2008. Identification of precursor transcripts for 6 novel miRNAs expands the diversity on the genomic organisation and expression of miRNA genes in rice. *BMC Plant Biology* 8: 123.
14. OECD. 2016. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of rice (*Oryza sativa*): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and other constituents. ENV/JM/MONO(2016)38. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
15. Paciorek, T., B.J. Chiapelli, J.Y. Wang, M. Paciorek, H. Yang, A. Sant, D.L. Val, J. Boddu, K. Liu, C. Gu, L.F. Brzostowski, H. Wang, E.M. Allen, C.R. Dietrich, K.M. Gillespie, J. Edwards, A. Goldshmidt, A. Neelam and T.L. Slewinski. 2022. Targeted suppression of gibberellin biosynthetic genes *ZmGA20ox3* and *ZmGA20ox5* produces a short stature maize ideotype. *Plant Biotechnology Journal* 20: 1140-1153.
16. To, J.P.C., I.W. Davis, M.S. Marengo, A. Shariff, C. Baublite, K. Decker, R.M. Galvão, Z. Gao, O. Haragutchi, J.W. Jung, H. Li, B. O'Brien, A. Sant and T.D. Elich. 2021. Expression elements derived from plant sequences provide effective gene expression regulation and new opportunities for plant biotechnology traits. *Frontiers in Plant Science* 12: 712179.
17. Brown, S.M. and C.G. Santino. 1997. Enhanced expression in plants. Patent 5,593,874, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
18. Padgett, S.R., D.B. Re, G.F. Barry, D.E. Eichholtz, X. Delannay, R.L. Fuchs, G.M. Kishore and R.T. Fraley. 1996. New weed control opportunities: Development of soybeans with a Roundup Ready™ gene. Pages 53-84 in *Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Environmental, Economic, Regulatory and Technical Aspects*. S.O. Duke (ed.). CRC Press, Inc., Boca

Raton, Florida.

19. Barry, G.F., G.M. Kishore, S.R. Padgett and W.C. Stallings. 2001. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. Patent 6,248,876, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
20. Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson and J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology* 2: 335-350.
21. Russell, S.H., J.L. Hoopes and J.T. Odell. 1992. Directed excision of a transgene from the plant genome. *Molecular and General Genetics* 234: 49-59.
22. Yin, Y. and R.N. Beachy. 1995. The regulatory regions of the rice tungro bacilliform virus promoter and interacting nuclear factors in rice (*Oryza sativa* L.). *The Plant Journal* 7: 969-980.
23. Rochester, D.E., J.A. Winer and D.M. Shah. 1986. The structure and expression of maize genes encoding the major heat shock protein, hsp70. *EMBO Journal* 5: 451-458.
24. Amended from M-811545-03-1: Molecular Characterization of Short Stature Maize MON 94804 (M-811545-04-1) (社内文書)
25. Bioinformatic Evaluation of the MON 94804 Insertion Site Utilizing the ZMA_2022 Database (M-813989-01-2) (社内文書)
26. Achard, P. and P. Genschik. 2009. Releasing the brakes of plant growth: How GAs shutdown DELLA proteins. *Journal of Experimental Botany* 60: 1085-1092.
27. Nelissen, H., B. Rymen, Y. Jikumaru, K. Demuyne, M. Van Lijsebettens, Y. Kamiya, D. Inzé and G.T.S. Beemster. 2012. A local maximum in gibberellin levels regulates maize leaf growth by spatial control of cell division. *Current Biology* 22: 1183-1187.
28. Bioinformatic Evaluation of the Potential for Degenerate Matches Between the GA20ox_SUP miRNA Sequence and the *Zea Mays* (Maize) Transcriptome (社内文書)
29. Voorend, W., H. Nelissen, R. Vanholme, A. De Vlieghe, F. Van Breusegem, W. Boerjan, I. Roldán-Ruiz, H. Muylle and D. Inzé. 2016. Overexpression of GA20-OXIDASE1 impacts plant height, biomass allocation and saccharification efficiency in maize. *Plant Biotechnology Journal* 14: 997-1007.
30. Wu, H., B. Bai and H. Li. 2023. A gibberellin-deficient maize mutant exhibits altered plant height, stem strength and drought tolerance. *Plant Cell*

Reports 42: 1687-1699.

31. Compositional Analyses of Acid Detergent Lignin of Maize Grain and Forage from MON 94804 Grown in United States During the 2020 Season (社内文書)