

府食第339号  
令和8年6月9日

内閣総理大臣  
高市 早苗 殿

食品安全委員会  
委員長 祖父江 友孝

### 食品健康影響評価の結果の通知について

令和8年2月3日付け消食基第50号をもって内閣総理大臣から食品安全委員会に意見を求められた食品「チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMZIR260系統」に係る食品健康影響評価の結果は下記のとおりですので、食品安全基本法（平成15年法律第48号）第23条第2項の規定に基づき通知します。

なお、食品健康影響評価の詳細は別添のとおりです。

### 記

「チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMZIR260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」（平成16年1月29日食品安全委員会決定）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。

別添

# 遺伝子組換え食品等評価書

チョウ目害虫抵抗性  
トウモロコシ MZIR260 系統  
(食品)

令和8年（2026年）6月

食品安全委員会

## 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. 既存品種の栽培及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 .....	8
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 .....	11
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 .....	13
1. 遺伝子導入に関する事項 .....	13

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 .....	15
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。） .....	17
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。） .	19
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 .....	19
7. 諸外国における認可、食用等に関する事項 .....	21
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 .....	21
Ⅲ. 食品健康影響評価結果 .....	21
<参照> .....	22

### <審議の経緯>

- 2026年2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50号）、関係書類の接受
- 2026年2月10日 第1013回食品安全委員会（要請事項説明）
- 2026年2月20日 第274回遺伝子組換え食品等専門調査会
- 2026年4月21日 第1022回食品安全委員会（報告）
- 2026年4月22日から2026年5月21日まで 国民からの意見・情報の募集
- 2026年6月3日 遺伝子組換え食品等専門調査会座長から食品安全委員会委員長に報告
- 2026年6月9日 第1027回食品安全委員会（報告）  
（6月9日付け内閣総理大臣に通知）

### <食品安全委員会委員名簿>

- 祖父江 友孝（委員長）
- 浅野 哲（委員長代理 第一順位）
- 頭金 正博（委員長代理 第二順位）
- 春日 文子（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>

- | (2026年3月31日まで) |        | (2026年4月1日から) |        |
|----------------|--------|---------------|--------|
| 児玉 浩明（座長）      |        | 児玉 浩明（座長）     |        |
| 佐々木 伸大（座長代理）   |        | 佐々木 伸大（座長代理）  |        |
| 伊藤 政博          | 中島 春紫  | 伊藤 政博         | 爲廣 紀正  |
| 小野 竜一          | 中村 亮介  | 小野 竜一         | 中島 春紫  |
| 古園 さおり         | 藤原 すみれ | 角田 茂          | 中村 亮介  |
| 柴田 識人          | 百瀬 愛佳  | 古園 さおり        | 藤原 すみれ |
| 爲廣 紀正          |        | 柴田 識人         |        |

### <第274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

「チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MZIR260 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 AX5707 系統を既存品種とし、*Bacillus thuringiensis* に由来する *eCry1Gb.1Ig* 遺伝子、*Escherichia coli* K-12 株に由来する *pmi* 遺伝子を導入して作出されており、*eCry1Gb.1Ig* タンパク質を発現することでチョウ目害虫抵抗性が、PMI タンパク質を発現することで形質転換体の選抜マーカーが付与される。

ツマジロクサヨトウ等のチョウ目害虫が本トウモロコシを摂取すると、*eCry1Gb.1Ig* タンパク質が昆虫の中腸上皮細胞膜上の受容体と結合して中腸組織を損傷させることにより殺虫活性を発揮する。

「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、導入遺伝子の供与体の安全性、導入遺伝子から産生されるタンパク質の毒性及びアレルギー誘発性、導入遺伝子の塩基配列等の解析、交配後の世代における導入遺伝子の安定性、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、非遺伝子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、「チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MZIR260 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：チョウ目害虫抵抗性トウモロコシMZIR260系統

性 質：チョウ目害虫抵抗性

申請者：シンジェンタジャパン株式会社

開発者：Syngenta Crop Protection, LLC. on behalf of Syngenta Crop Protection AG and its affiliates (米国)

「チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MZIR260 系統」(以下「トウモロコシ MZIR260」という。)は、*Bacillus thuringiensis* に由来する *eCry1Gb.1Ig* 遺伝子、*Escherichia coli* K-12 株に由来する *pmi* 遺伝子を導入して作出されており、*eCry1Gb.1Ig* タンパク質を発現することでチョウ目害虫抵抗性が、PMI タンパク質を発現することで形質転換体の選抜マーカーが付与される。

## 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に属するトウモロコシ (*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) のデント種 AX5707 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穀粒 (子実) である。

##### (3) 摂取量

日本人の「とうもろこし・加工品」<sup>a</sup>の一日平均摂取量は、1.0 g である。コーン油の摂取量に関しては、「植物性油脂」<sup>a</sup>、「マーガリン」<sup>a</sup> 及び「その他の油脂」<sup>a</sup>に包含されており、日本人の植物性油脂の摂取量は 8.8 g、マーガリンの摂取量は 1.0 g、その他の油脂の摂取量は 0.0 g である。

---

<sup>a</sup> 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言われている。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（参照 2）、わが国において食用に供されることはない。

#### 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 4.4～35.3%、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）。

対乾燥重量当たりの含有量については、フィチン酸 1.94%以下、ラフィノース 0.509%以下である。トリプシンインヒビターの活性は、8.42 TIU (Trypsin Inhibitor Unit) /mg 乾燥重 以下である（参照 3）。

#### 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 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  $\alpha$ -ゼイン前駆体、30 kDa のキチナーゼ-A 及び 50 kDa の  $\gamma$ -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 5、6、7）、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 8、4）。

#### 7. 既存品種の栽培及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示す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、食品分野において食用油（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. までにより、トウモロコシ MZIR260 の安全性評価においては、既存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 MZIR260 は、チョウ目害虫抵抗性及び形質転換体の選抜マーカーが付与される。

### 2. 利用目的

トウモロコシ MZIR260 は、チョウ目害虫に殺虫活性を有することによりチョウ目害虫による食害を防ぐ。

### 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 MZIR260 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 MZIR260 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 MZIR260 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 MZIR260 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* タンパク質及び PMI タンパク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の理由

既存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 MZIR260 の作出に使用した導入用プラスミド pSYN24795 のベクターバックボーンは、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pVictor (参照 9) 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 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 pSYN24795 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 (参照 10)。

##### (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 pSYN24795 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-03* 遺伝子が含まれている (参照 11)。

##### (4) 伝達性等に関する事項

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

*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子及び *pmi* 遺伝子の供与体は、それぞれ *B. thuringiensis* 及び *E. coli* K-12 株である。

##### (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。)

*B. thuringiensis* はヒトや家畜等への病原性、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 12、13、14、15)。

*E. coli* は自然界やヒトの消化器官に広く存在している。*E. coli* K-12 株はヒトや家畜等への病原性、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 16、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

##### ① 遺伝子の機能並びに発現タンパク質の性質及び機能

##### a. *eCry1Gb.1Ig* 遺伝子

*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子は、Cry1Gb タンパク質及び Cry1Ig タンパク質に由来する構造から構成されるキメラ型タンパク質 *eCry1Gb.1Ig* タンパク質をコードしている。

Cry タンパク質は、その N 末端側から I、II、III の 3 つのドメイン及びプロトキシンテールと C 末端側領域から構成される立体構造を有し、そのうちドメイン II と III が感受性昆虫における受容体の認識や結合に関与すると考えられている。*eCry1Gb.1Ig* タンパク質は、Cry1Gb タンパク質のドメイン III を Cry1Ig タンパク質のドメイン III に置換したキメラ型 Cry タンパク質であり、ツマジロクサヨトウ等の特定のチョウ目昆虫に対して特異的な殺虫活性を示す（参照 17）。

一般に Cry タンパク質は、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、細胞溶解を引き起こして中腸組織に損傷を与え殺虫活性を示す（参照 15）。*eCry1Gb.1Ig* タンパク質が従来の Cry タンパク質と同様の作用機作を示すことがツマジロクサヨトウ (*Spodoptera frugiperda*) の中腸細胞で確認されている。また、*eCry1Gb.1Ig* タンパク質はツマジロクサヨトウの中腸上皮刷子縁膜小胞への結合において他のチョウ目害虫抵抗性の Bt タンパク質(Cry1Ab、Cry1Fa、Cry2Ab2 及び Vip3Aa)とは競合しないことが示唆された。

これらのことから、*eCry1Gb.1Ig* タンパク質は従来の Cry タンパク質と同様に標的昆虫の中腸上皮細胞に作用して殺虫効果を示し、さらに他のチョウ目害虫抵抗性の Bt タンパク質とは異なる受容体に結合すると考えられる（参照 18）。

##### b. *pmi* 遺伝子

*pmi* 遺伝子はマンノースリン酸イソメラーゼである PMI タンパク質をコードし、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。トウモロコシなどマンノースを炭素源として利用できない植物が PMI タンパク質を産生すると、炭素源としてマンノースを添加した培地で成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できる（参照 19）。

##### ② 発現タンパク質と既知毒性タンパク質との構造相同性

*eCry1Gb.1Ig* タンパク質及び PMI タンパク質と既知の毒性タンパク質

との相同性の有無を確認するため、タンパク質データベース<sup>b</sup>を用いて、 $E\text{-value} < 1 \times 10^{-5}$ を指標として検索を行った。その結果、哺乳類に対する既知又は推定の毒性タンパク質は認められなかった。また、毒性タンパク質データベース<sup>c</sup>を用いて検索した結果、配列類似性を示す毒性タンパク質は認められなかった（参照 20、21）。

(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 pSYN24795 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する耐性を付与する *aadA-03* 遺伝子が含まれているが、トウモロコシ MZIR260 のゲノム中に導入されていないことが全ゲノムシーケンス解析により確認されている。

(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

*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、サトウキビ (*Saccharum officinarum*) 由来のユビキチン 4 遺伝子の第一イントロンを含む SoUbi4-02 プロモーターである。

*pmi* 遺伝子発現カセットのプロモーターは、トウモロコシ (*Z. mays*) 由来のポリユビキチン遺伝子の第一イントロンを含む Ubi1-43 プロモーターである。

② ターミネーターに関する事項

*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子発現カセットのターミネーターは、トウモロコシ (*Z. mays*) 由来のポリユビキチン遺伝子の ZmUbi361-05 ターミネーターである。

*pmi* 遺伝子発現カセットのターミネーターは、トウモロコシ (*Z. mays*) 由来のポリユビキチン遺伝子の Ubi1-04 ターミネーターである。

③ その他

導入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列は組み込まれていない。

**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**

既存品種の細胞に導入してもゲノムに挿入されない遺伝子は用いられていない。

<sup>b</sup> NCBI Entrez Protein Database、検索日：2023 年 8 月

<sup>c</sup> Syngenta Toxin Database、検索日：2023 年 8 月

## 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

*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子は、*B. thuringiensis* 由来の Cry1Gb タンパク質のドメイン III 配列を Cry1Ig タンパク質のドメイン III 配列に置換したキメラ型の *eCry1Gb.1Ig* タンパク質をコードするよう設計し、かつコドン最適化して合成された (参照 17)。

*pmi* 遺伝子は PMI タンパク質をコードし、*E. coli K-12* 由来の *manA* 遺伝子配列を基にコドン最適化して合成された。

### (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 pSYN24795 は、プラスミド pVictor のベクターバックボーンに、*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子発現カセットの構成 DNA 及び *pmi* 遺伝子発現カセットの構成 DNA を挿入することで作製された。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 導入用プラスミド pSYN24795 の意図する挿入領域 (T-DNA 領域) の構成要素 (一部省略)

構成 DNA	由来及び機能
Right Border Region	<i>Rhizobium radiobacter</i> ( <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ) のノパリン Ti-プラスミド由来の T-DNA の右側境界領域 (NCBI accession number J01826.1) (参照 22)。
(eCry1Gb.1Ig 遺伝子発現カセット)	
SoUbi4-02 プロモーター	サトウキビ ( <i>S. officinarum</i> ) 由来の第一イントロンを含むユビキチン 4 プロモーター (NCBI accession number AF093504.1) (参照 23)。
eCry1Gb.1Ig (eCry1Gb.1Ig-03)	<i>B. thuringiensis</i> 由来の 2 つの cry 遺伝子 (cry1Gb 遺伝子及び cry1Ig 遺伝子) に由来するキメラ遺伝子で、チョウ目害虫であるツマジロクサヨトウの防除を目的として開発された eCry1Gb.1Ig タンパク質をコードする (参照 17)。
ZmUbi361-05 ターミネーター	トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) のポリユビキチン遺伝子 (参照 24) 由来のターミネーター (NCBI accession number U29162.1 と類似)。
(pmi 遺伝子発現カセット)	
Ubi1-43 プロモーター	トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) のポリユビキチン遺伝子 (参照 25) 由来の第一イントロンを含むプロモーター (NCBI accession number S94464.1)。
pmi (pmi-15)	PMI タンパク質をコードする <i>E. coli</i> K-12 株由来の <i>manA</i> 遺伝子 (NCBI accession number M15380.1) (参照 19)。
Ubi1-04 ターミネーター	トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) のポリユビキチン遺伝子 (参照 25) 由来のターミネーター (NCBI accession number S94464.1 と類似)。
Left Border Region	<i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) のノパリン Ti-プラスミド由来の T-DNA の左側境界領域 (NCBI accession number J01825.1) (参照 26)。

## 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 pSYN24795 の塩基数、塩基配列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 pSYN24795 の意図する挿入領域は、T-DNA 領域の右側境界領域から左側境界領域までの eCry1Gb.1Ig 遺伝子発現カセットと pmi 遺

伝子発現カセットからなる領域である。

- (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 pSYN24795 は、ベクターバックボーンに含まれる抗生物質耐性マーカー遺伝子 (*aadA-03* 遺伝子) を利用した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 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。これらの植物体から、リアルタイム PCR 分析によって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い個体を選抜して、トウモロコシ MZIR260 の T<sub>0</sub> 世代が得られた。

- (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 MZIR260 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。

- (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 MZIR260 のゲノムに導入された挿入 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 MZIR260 の全ゲノムシーケンス解析で得た塩基配列 (平均リード深度 168~194) を導入用プラスミド pSYN24795 と照合した結果、トウモロコシ MZIR260 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 (参照 27)。また、トウモロコシ MZIR260 において導入用プラスミド pSYN24795 に由来する非意図的な配列は確認されなかった。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、Right Border Region (25bp) 及びそれに続く 16bp の配列 (intervening sequence) の欠失並びに Left Border Region

の 8bp の欠失を除いて同一であることが確認された (参照 28)。

また、トウモロコシ MZIR260 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 MZIR260 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 MZIR260 の近傍配列と比較した。その結果、トウモロコシ MZIR260 の近傍配列において、既存品種のゲノムと比較して 30 bp の欠失が認められた。このことを除き、トウモロコシ MZIR260 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 29)。

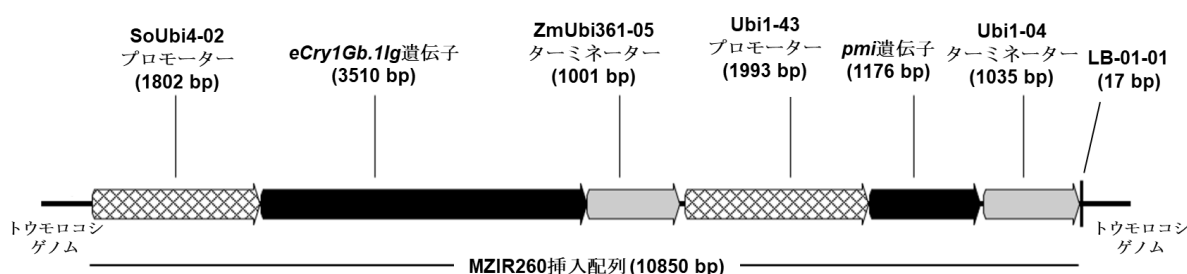


図 トウモロコシ MZIR260 のゲノム DNA 中に導入された DNA 領域 (模式図)

#### (4) 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 世代のトウモロコシ MZIR260 の葉から抽出されたゲノム DNA を用いて、全ゲノム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 T-DNA 領域に由来する導入遺伝子が、ゲノム中の 1 ヶ所に 1 コピー挿入されていた。また、導入遺伝子とゲノムの接合部の塩基配列が 3 世代で一致していた。このことから、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 27)。

#### (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

トウモロコシ MZIR260 に導入された DNA 領域及びその 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 ORF が導入遺伝子の塩基配列では 635 個、両近傍配列との接合部では 8 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<sup>d</sup>を用い、*E*-value < 100 を指標として相同性検索を行った。その結果、既知のアレルゲンと連続する 80 アミノ酸当たり 35%を超える相同性を示す ORF が 1 個検出された。当該 ORF はルピナス (*Lupinus angustifolius*) の 7S グロブリン、ウシ (*Bos taurus*) のコラーゲン、ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*) のコラーゲン、パンコムギ (*Triticum aestivum*) の高分子量 (HMW) グルテニン、ラッカセイ (*Arachis hypogaea*) の 7S グロブリン及び *Aspergillus fumigatus* の Asp f 16 (機能未知) と 35%以上の相同性を示した。しかしながら、当該 ORF は eCry1Gb.1Ig タンパク質とは異なる読み枠に存在し、かつ適切な開始コドンが存在せず、当該領域を含む eCry1Gb.1Ig 遺伝子配列から eCry1Gb.1Ig タンパク質が産生されていることが確認されていることから、翻訳される可能性は低いと考えられた。

既知のアレルゲンと連続する 8 アミノ酸との相同性を示す配列として、PMI タンパク質のアミノ酸配列である ORF (MZIR260\_insert\_234) がカエルの一種 (*Rana species* CH2001) の  $\alpha$ -パルブアルブミンと相同性を示すことが検出された。この 8 アミノ酸の一致に関しては、既に安全性審査の手続が終了した旨が公表されているコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR604<sup>e</sup>において、PMI タンパク質と *R. species* CH2001 由来の  $\alpha$ -パルブアルブミン感受性患者の血清 IgE との間で交差反応が認められず、PMI タンパク質のいかなるアミノ酸配列領域も、アレルゲンエピトープとして  $\alpha$ -パルブアルブミン感受性患者の血清 IgE によって認識されなかったという結果が得られている。

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<sup>f</sup>を用い、*E*-value <  $1 \times 10^{-5}$  を基準として BLASTP プログラムにより相同性検索を行った。その結果、既知毒性タンパク質と相同性を示す配列は検出されなかった (参照 30、31)。

## 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 MZIR260 の根、葉、花粉、地上部、茎葉及び穀粒における、eCry1Gb.1Ig タンパク質及び PMI タンパク質の発現量を ELISA 法により分析した (参照 32)。結果は表 2 のとおりである。

---

<sup>d</sup>Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE) database (version 2024) 検索日：2024 年 5 月、7 月

<sup>e</sup>コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR604 (平成 20 年 9 月 11 日食品安全委員会において了承)

<sup>f</sup> Syngenta toxin database 検索日：2024 年 5 月、7 月

表2 トウモロコシ MZIR260 中に産生される eCry1Gb.1Ig タンパク質及び PM I タンパク質の部位、時期別産生量

( $\mu\text{g/g}$  乾燥重)

遺伝子産物	組織	採取時期	平均値 ±標準偏差 <sup>1), 2)</sup>	範囲
eCry1Gb.1Ig タンパク質	葉	6 葉期(V6)	233 ± 78.7*	64.7–492*
		絹糸抽出期(R1)	266 ± 80.4	95.7–429
		成熟期(R6)	681 ± 163	339–1140
		収穫期(R6 Senescence)	490 ± 175	144–1370
	根	6 葉期(V6)	380 ± 73.2*	215–758*
		絹糸抽出期(R1)	379 ± 56.7	158–478
		成熟期(R6)	535 ± 96.7	297–905
		収穫期(R6 Senescence)	547 ± 107	305–747
	地上部	6 葉期(V6)	215 ± 46.9	89.8–378
		絹糸抽出期(R1)	198 ± 76.0	93.8–341
		成熟期(R6)	324 ± 68.0	202–482
	花粉	絹糸抽出期(R1)	773 ± 50.91	699–816
	茎葉	糊熟期(R4)	274 ± 71.0	125–474
成熟期(R6)		297 ± 42.3	221–368	
穀粒	成熟期(R6)	297 ± 42.3	221–368	
	収穫期(R6 Senescence)	262 ± 48.9	168–347	
PMI タンパク質	葉	6 葉期(V6)	20.5 ± 2.12*	15.1–25.7*
		絹糸抽出期(R1)	13.3 ± 2.67	9.25–20.0
		成熟期(R6)	16.1 ± 6.64	3.24–33.7
		収穫期(R6 Senescence)	4.78 ± 2.34	<LOD <sup>3)</sup> –14.3
	根	6 葉期(V6)	18.6 ± 3.35*	9.40–30.8*
		絹糸抽出期(R1)	7.03 ± 1.16	4.79–9.88
		成熟期(R6)	9.03 ± 2.08	3.81–17.8
		収穫期(R6 Senescence)	5.95 ± 1.19	2.45–10.7
	地上部	6 葉期(V6)	21.0 ± 2.15	12.8–31.5
		絹糸抽出期(R1)	13.2 ± 1.40	8.76–16.6
		成熟期(R6)	8.57 ± 2.42	4.24–14.0
	花粉	絹糸抽出期(R1)	17.6 ± 14.65	9.93–39.6
	茎葉	糊熟期(R4)	11.1 ± 2.12	<LOD–16.1
成熟期(R6)		10.1 ± 2.75	6.08–16.0	
穀粒	成熟期(R6)	10.1 ± 2.75	6.08–16.0	
	収穫期(R6 Senescence)	6.73 ± 1.42	4.05–12.3	

1) 平均値及び範囲については n=20。数値の右肩に\*があるものは分析サンプルを 1 つ失ったため n=19。

2) 標準偏差については n=4 (ほ場ごとの平均値に基づく)。

3) LOD : 検出限界

### 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

(1) 遺伝子産物がヒトのタンパク質一日摂取量において有意な量を占めるかについて

日本人一人が一日に摂取する「とうもろこし・加工品」の平均摂取量 1.0 g<sup>a</sup> の原料を全てトウモロコシ MZIR260 に置き換えて eCry1Gb.1Ig タンパク質及

び PMI タンパク質の推定摂取量を計算すると、それぞれ 262  $\mu\text{g}$  及び 6.73  $\mu\text{g}$  となり、一人一日当たりのタンパク質摂取量 71.4 g に占める割合は、それぞれ  $3.67 \times 10^{-4} \%$  及び  $9.43 \times 10^{-6} \%$  となる。したがって、これらの遺伝子産物のタンパク質摂取量が一日のタンパク質の摂取量の有意な量を占めることはない判断される。

#### 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。

*eCry1Gb.1Ig* 遺伝子の供与体 *B. thuringiensis* 及び *pmi* 遺伝子の供与体 *E. coli* K-12 株のアレルギー誘発性は知られていない（参照 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。

*eCry1Gb.1Ig* タンパク質及び PMI タンパク質のアレルギー誘発性は知られておらず、実際に両タンパク質はアレルゲンデータベース<sup>g</sup>にアレルゲンとして登録されていない。

- (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

① *eCry1Gb.1Ig* タンパク質

a. 人工胃液に対する感受性

*E. coli* で発現させた *eCry1Gb.1Ig* タンパク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（タンパク質染色）分析を行った結果、*eCry1Gb.1Ig* タンパク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 付近の位置に 60 分後まで検出された。ウエスタンブロット分析では、*eCry1Gb.1Ig* タンパク質の完全長及び *eCry1Gb.1Ig* タンパク質に由来するバンドは試験開始 1 分後には消失した（参照 33）。

*eCry1Gb.1Ig* タンパク質を人工胃液で 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（参照 34）。

b. 人工腸液に対する感受性

*E. coli* で発現させた *eCry1Gb.1Ig* タンパク質の人工腸液中における消化性について確認するために、SDS-PAGE 分析及びウエスタンブロット分

---

<sup>g</sup> COMPARE database (version 2025)

析を行ったその結果、両試験において、eCry1Gb.1Ig タンパク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、処理後 1 分から検出された約 80 kDa の eCry1Gb.1Ig タンパク質断片も 10 分後には検出されなかった一方で、約 58 kDa と 54 kDa の 2 つの eCry1Gb.1Ig タンパク質断片は処理後 5 分から 48 時間後まで検出された（参照 35）。

c. 加熱処理に対する感受性

*E. coli* で発現させた eCry1Gb.1Ig タンパク質の加熱処理に対する感受性について確認するために、4~95℃の各温度条件で 30 分間加熱処理した後、ELISA 法で分析した。その結果、95℃で 30 分間の処理により eCry1Gb.1Ig タンパク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（参照 36）。

② PMI タンパク質

トウモロコシ MZIR260 で発現する PMI タンパク質は、既に安全性審査の経路を経た旨の公表がなされたコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ Event 5307 系統<sup>h</sup>で発現する PMI タンパク質とアミノ酸配列が同一である。当該品目における評価結果を適用することが可能であり、その物理化学的処理に対する感受性に起因してアレルギーが誘発される可能性は低いと考えられた。

(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關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

eCry1Gb.1Ig タンパク質及び PMI タンパク質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に、アレルゲンデータベース<sup>i</sup>を用い、*E*-value < 100 を指標として相同性検索を行った。

その結果、eCry1Gb.1Ig タンパク質のアミノ酸配列に対し、連続する 80 アミノ酸配列当たり 35%を超える相同性を示す配列及び連続する 8 アミノ酸配列との相同性を示す配列は検出されなかった（参照 37、38）。

PMI タンパク質のアミノ酸配列に対し、連続する 80 アミノ酸配列当たり 35%を超える相同性を示す配列は認められなかった。一方、PMI タンパク質のアミノ酸配列と、カエル (*R. species* CH2001) の既知アレルゲンである  $\alpha$ -パルブアルブミン (Accession Number CAC83047.1) が連続する 8 アミノ酸が一致した（参照 38）。この 8 アミノ酸の一致に関しては、既に安全性審査の経路を経た旨の公表がなされたコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ MIR604<sup>e</sup>

<sup>h</sup> コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ Event5307 系統（平成 25 年 1 月 28 日食品安全委員会において了承）

<sup>i</sup> COMPARE database (version 2023)、検索日：2023 年 7 月

において発現する PMI タンパク質と *R. species* CH2001 由来の  $\alpha$ -パルブアルブミン感受性患者の血清 IgE との間で交差反応が認められず、PMI タンパク質のいかなるアミノ酸配列領域も、アレルゲンエピトープとして  $\alpha$ -パルブアルブミン感受性患者の血清 IgE によって認識されなかったという結果が得られている。

上記（１）から（４）まで及び前項 3 から総合的に判断し、eCry1Gb.1Ig タンパク質及び PMI タンパク質については、アレルギー誘発性の可能性は低いことを確認した。

## 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。）

eCry1Gb.1Ig タンパク質は、*B. thuringiensis* の 2 つの Cry1 タンパク質に由来するドメインによって構成されるキメラ型の Cry タンパク質であることから、他の Cry タンパク質と同様に酵素活性を持たず、トウモロコシ MZIR260 栽培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 タンパク質は、マンノース-6-リン酸とフルクトース-6-リン酸を相互変換する酵素である。高い基質特異性を有しており、他の天然基質は知られていない（参照 39）ことから、トウモロコシ MZIR260 栽培系統のそのほか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 MZIR260 と非遺伝子組換えトウモロコシ<sup>j</sup>について、穀粒及び茎葉の主要構成成分、ミネラル類、ビタミン類、アミノ酸組成、脂肪酸組成、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（参照 40）。

#### ① トウモロコシ穀粒における主要構成成分

##### a. 主要構成成分

穀粒の主要構成成分（水分、総食物繊維、粗タンパク質、粗脂質、酸性及び中性デタージェント繊維、灰分、炭水化物、デンプン）について分析を行った結果、対照の非遺伝子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。

##### b. 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、ナトリウム、セレン、亜鉛）について分析を行った結果、銅と

---

<sup>j</sup> トウモロコシ MZIR260 と同じ遺伝的背景を持つ

マンガンに統計学的有意差が認められたが、トウモロコシ MZIR260 の平均値は、同時に栽培した参考品種の分析値及び文献で報告されている既存のトウモロコシ品種の分析値（参照 3）の範囲内であった。

c. ビタミン類

穀粒のビタミン A ( $\beta$ -カロテン)、ビタミン B<sub>1</sub> (チアミン)、ビタミン B<sub>2</sub> (リボフラビン)、ビタミン B<sub>3</sub> (ナイアシン)、ビタミン B<sub>6</sub> (ピリドキシン)、ビタミン B<sub>9</sub> (葉酸) 及びビタミン E ( $\alpha$ -トコフェロール) について分析を行った結果、ビタミン A ( $\beta$ -カロテン)、ビタミン B<sub>1</sub> (チアミン)、ビタミン B<sub>6</sub> (ピリドキシン) 及びビタミン E ( $\alpha$ -トコフェロール) に統計学的有意差が認められたが、トウモロコシ MZIR260 の平均値は、同時に栽培した参考品種の分析値及び文献で報告されている既存のトウモロコシ品種の分析値（参照 3）の範囲内であった。

d. 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、対照の非遺伝子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。

e. 脂肪酸

穀粒の脂肪酸 22 成分について分析を行った結果、対照の非遺伝子組換えトウモロコシとの間でパルミトレイン酸(16:1)、ヘプタデカン酸(17:0) 及びエイコセン酸 (20:1) に統計学的有意差が認められたが、トウモロコシ MZIR260 の平均値は、同時に栽培した参考品種の分析値及び文献で報告されている既存のトウモロコシ品種の分析値（参照 3）の範囲内であった。

f. 二次代謝産物及び栄養阻害物質

穀粒の二次代謝産物及び栄養阻害物質（フェルラ酸、フルフラール、イノシトール、p-クマル酸、フィチン酸、ラフィノース、トリプシンインヒビター）について分析を行った結果、p-クマル酸及びラフィノースにおいてトウモロコシ MZIR260 と対照の非遺伝子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、p-クマル酸及びラフィノースを含めたトウモロコシ MZIR260 における全ての二次代謝産物及び栄養阻害物質の平均値は、同時に栽培した参考品種の分析値及び文献で報告されている既存のトウモロコシ品種の分析値（参照 3）の範囲内であった。

② トウモロコシ茎葉における主要構成成分

茎葉における主要構成成分の分析の結果、灰分、酸性及び中性デタージェント繊維において、トウモロコシ MZIR260 と対照の非遺伝子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。また、水分、粗タンパ

ク質、粗脂質及び炭水化物においては統計学的有意差が認められたが、トウモロコシ MZIR260 の平均値は、同時に栽培した参考品種の分析値及び文献で報告されている既存のトウモロコシ品種の分析値の範囲内であった（参照3）。

(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 MZIR260 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「食品健康影響評価済みの遺伝子組換え植物を掛け合わせた品種の食品健康影響評価に関する事項」の「1 遺伝子組換え植物に関する事項」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。」に分類されるものである。

## 7. 諸外国における認可、食用等に関する事項

米国においては、2025 年 4 月に米国食品医薬品庁（FDA）により食品及び飼料としての安全性の確認が終了した。

オーストラリア・ニュージーランドにおいては、2025 年 6 月にオーストラリア・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承認された。

カナダにおいては、2026 年 1 月にカナダ保健省（Health Canada）に食品としての利用が、カナダ食品検査庁（CFIA）に環境・飼料としての利用が承認された。

## 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

「チョウ目害虫抵抗性トウモロコシ MZIR260 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—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, pp.323-327.
2. 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.  
<http://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815758.pdf> [Accessed Jan. 18, 2024].
3. AFSI. (2024). Agriculture and Food Systems Institute Crop Composition Database, v. 10.0. <https://www.cropcomposition.org> [Accessed 30 September 2024].
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. Series on the safety of novel foods and feeds, No. 6. Organisation for economic co-operation and development. ENV/JM/MONO (2002) 25 <http://www.oecd.org/science/biosafety-biotrack/46815196.pdf> [Accessed 23 July, 2024].
5. 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(4): 744-751.
6. 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.
7. Lee, S.-H., M. Benmoussa, S. K. Sathe, K. H. Roux, T. S.S. and B. R. Hamaker. (2005). A 50 kDa maize  $\gamma$ -zein has marked cross-reactivity with the almond major protein. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53: 7965-7970.
8. Codex Alimentarius Commission. (1999). Draft recommendations for the labeling of foods that can cause hypersensitivity (Draft amendment to the general standard for the labelling of prepackaged foods). Codex Alimentarius Commission, Alinorm 99/22, Appendix III: p60.
9. Poulsen, P. (1997). Inhibition of gene expression. Danisco A/S, assignee. Patent No. WO 97/04112. Geneva, Switzerland: World Intellectual Property Organization.
10. Plasmid pSYN24795: Plasmid Lineage Analysis and Sequence. Assessment. Report No. RIR-0007259. Syngenta Crop Protection, LLC. (Volume 1 & 2)
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. Siegel, J. (2001). The mammalian safety of *Bacillus thuringiensis*-based insecticides. *J Invertebr Pathol*, 77(1): 13-21.
  13. 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: 547-559.
  14. Taylor, S. and S. L. Hefle. (2001). Food allergies and other food sensitivities - A publication of the Institute of Food Technologists' Expert Panel on Food Safety and Nutrition. *Food Technology*, 55: 68-83.
  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. ENV/JM/MONO(2007)14.
  16. 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 May 13, 2025].
  17. 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.
  18. 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.
  19. 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.
  20. 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.
  21. Phosphomannose Isomerase (PMI): Assessment of Amino Acid Sequence Similarity to Known or Putative Toxins. Assessment. Report No. RIR-0002627-23. Syngenta Crop Protection, LLC.
  22. 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.
23. Wei, H., H. H. Albert and P. H. Moore. (1999). Differential expression of sugarcane polyubiquitin genes and isolation of promoters from two highly-expressed members of the gene family. *Journal of Plant Physiology*, 155: 513-519.
  24. 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.
  25. 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.
  26. 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.
  27. 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)
  28. Event MZIR260 Maize: Insert and Flanking Sequence Analysis. Final Report Amendment 1. Report No. RIR-0007263 A1. Syngenta Crop Protection, LLC. (Volume 1 & 2)
  29. Event MZIR260 Maize: Genomic Insertion Site Analysis. Final Report. Report No. RIR-0007265. Syngenta Crop Protection, LLC. (Volume 1 & 2)
  30. Event MZIR260 Maize: Allergenicity and Toxicity Bioinformatics Assessment of Insert Stop to Stop ORFs (European Union). Assessment. Report No. RIR-0006919-24. Syngenta Seeds, LLC.
  31. Event MZIR260 Maize: Allergenicity and Toxicity Bioinformatics Assessment of Junction Stop to Stop ORFs (European Union). Assessment. Report No. RIR-0006932-24. Syngenta Seeds, LLC.
  32. 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.
  33. In Vitro Digestibility of Microbially Produced ECRY1GB.1IG Protein under Simulated Mammalian Gastric Conditions. Final Report. Report No. S22-

07060. Syngenta Crop Protection, LLC.
34. 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.
  35. 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.
  36. Effect of Temperature on the Immunoreactivity of eCry1Gb.1Ig Protein. Final Report. Report No. TK0549454. Syngenta Seeds, LLC.
  37. eCry1Gb.1Ig: Assessment of Amino Acid Sequence Similarity to Known or Putative Allergens. Report No. RIR-0006807-23. Syngenta Crop Protection, LLC.
  38. Phosphomannose Isomerase(PMI): Assessment of Amino Acid Sequence Similarity to Known or Putative Allergens. Report No. RIR-0001201-23. Syngenta Crop Protection, LLC.
  39. 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.
  40. Compositional Analysis of Forage and Grain from Event MZIR260 Maize Grown in the USA in 2022. Report. Report No. RIR-0007247. Syngenta Seeds, LLC.