

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*, *bar*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis.)(TC6275, OECD UI NO. DAS-Ø6275-8) 申請書等の概要

- 第一種使用規程承認申請書 1
- 生物多様性影響評価書の概要 3
- 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報 3
 - 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報 3
 - (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況 3
 - (2) 使用等の歴史及び現状 3
 - (3) 生理学的及び生態学的特性 4
 - 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 5
 - (1) 供与核酸に関する情報 5
 - (2) ベクターに関する情報 8
 - (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法 9
 - (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 11
 - (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 12
 - (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 12
 - 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 14
 - (1) 使用等の内容 14
 - (2) 使用等の方法 14
 - (3) 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 15
 - (4) 国外における使用等に関する情報 15
- 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 16
 - 1 競合における優位性 16
 - 2 有害物質の産生性 16
 - 3 交雑性 19
 - 4 その他 19
- 第三 生物多様性影響の総合的評価 20
- 参考文献 21
- 緊急措置計画書 22

第一種使用規程承認申請書

平成17年11月2日

農林水産大臣 中川昭一 殿

環境大臣 小池百合子 殿

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 モンティエー・ベイヤー
申請者 印
住所 東京都品川区東品川2丁目2番24号

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（同法第9条第4項において準用する場合を含む。）の規定により、次のとおり申請します。

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>cry1F</i> , <i>bar</i> , <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (TC6275, OECD UI : DAS-06275-8)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	隔離ほ場における栽培、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	所在地：栃木県那須塩原市千本松 768 番地 名称：独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所 隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 19 年 3 月 31 日まで 1 隔離ほ場の施設 (1) 部外者の立入を防止するために、隔離ほ場を取り囲むように、フェンスを設置している。 (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を、見やすい所に掲げている。

- (3) 土、本組換えトウモロコシの種子等が付着した隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等を洗浄するための洗い場を設置しているとともに、本組換えトウモロコシの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- (4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるために防風林を設置している。

2 隔離ほ場の作業要領

- (1) 本組換えトウモロコシ及び比較対照のトウモロコシ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- (2) 本組換えトウモロコシを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、本組換えトウモロコシが漏出しない構造の容器に入れる。
- (3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、本組換えトウモロコシの栽培終了後は、本組換えトウモロコシ及び比較対照のトウモロコシを隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。
- (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本組換えトウモロコシが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- (5) 本組換えトウモロコシの花粉の飛散を防止するため、除雄又は雄穂の袋がけを行う。
- (6) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
- (7) (1)から(6)に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
- (8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。

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

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

イ 和名、英名及び学名

和名：イネ科トウモロコシ属トウモロコシ

英名：maize、corn

学名：*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis

(The International Plant Names Index, 2004)

ロ 宿主の品種名

宿主としては Hi-II (デント種) を使用した。Hi-II は、近交系トウモロコシである A188 (ミネソタ大学から入手可能) と B73 (アイオワ州立大学から入手可能) に由来する。

ハ 国内及び国外の自然環境における自生地域

トウモロコシの祖先はメキシコ原産のイネ科植物テオシント種 (teosinte) であると言われている。幾千年にわたって種子の人為的選抜が行われ、テオシントは今日知られているトウモロコシとして作物化された。分枝および種子数の主な変化については、数百年の選抜を経た結果と考えられる。トウモロコシは、すでにテオシント種とは違い、種子を自然に散布させる能力を失っており、我が国の自然環境における自生地域はない。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ 国内及び国外における第一種使用等の歴史

子実用トウモロコシは、1930 年代以降、特に米国で交配により様々な品種が作り出されてきた。それらは、長い時間をかけてヒトの手により改良され、ヒトが手をかけなければ育たない。我が国には長年にわたり、食品加工用・飼料用として海外より輸入されている。

ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

トウモロコシは、現在、緯度 30 度から 55 度に至る範囲で栽培されているが、47 度以上の緯度で栽培されることは比較的少ない。2004 年の全世界における生産量は 7 億 2,138 万トンで、主な栽培国は米国 (2 億 9,992 万トン)、中国 (1 億 3,216 万トン)、ブラジル (4,186 万トン)、メキシコ (2,000 万トン)、フランス (1,639 万トン) である (FAOSTAT、2005)。

我が国においては全国にわたって栽培可能である。飼料用としてデント種が、食用としてスイート種が栽培されている。主に子実が輸入されて飼料として利用されるが、食用油、澱粉などの加工用など、食品としての用途も多岐にわたる。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ロ 生育可能な温度域、水分条件及び土壌条件

トウモロコシは、5~35℃で生育する。土壌への適応性は広く、多くの品種が広範囲な気候条件に適応して生育する。

ハ 捕食性又は寄生性

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

トウモロコシは種子で繁殖する。包葉に覆われた穂芯のついた雌花のある花序がある。したがって、個々の粒の種子拡散は自然には行なわれない。種子の休眠性は極めて低く、前年に栽培されこぼれ落ちた種子であっても、土壌温度が 6~11℃以上ないと発芽しないため、多くの場合、発芽せず枯死する。

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

トウモロコシは種子繁殖であり、塊茎や地下茎などによる栄養繁殖はしない。また、トウモロコシには、自然条件において植物体を再生しうる組織等がある、あるいはそこから発芽するというような報告はこれまでのところない。

- ③ 自殖、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

トウモロコシは雄穂と雌穂が分かれており、他家受粉が一般的で、雄穂から放出された花粉が同じ株が隣接しているトウモロコシの雌しべに運ばれ、受粉する。近縁野生種との間では、交雑は容易には起こらないことが知られており (Doebly, 1984)、我が国においては交雑可能な近縁野生種 (テオシント等) は存在しない。種子は受精によって作られ、アポミクシスは生じない。

- ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

トウモロコシ花粉は、直径約 0.1 mm 程度である。風により飛散するが、ほ場の端から 60 メートル以上飛散する花粉は、全体の 1%以下であると報告されている (Raynor *et al.*, 1972)。飛散した花粉の寿命は、通常 10~30 分程度であるが、気温及び湿度の条件が整えば、30 分以上と言われている (カナダ食品検査機関、1994)。

ホ 病原性

へ 有害物質の産生性

他感作用物質のような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知られていない。

ト その他の情報

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

イ 構成及び構成要素の由来

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*, *bar*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (TC6275, OECD UI : DAS-06275-8)を、以降「本組換えトウモロコシ」と称する。

構成要素は表 1のとおりである。

表 1 供与核酸の構成、構成要素の由来及び機能

名 前	機 能
改変型 <i>cry1F</i> カセット	
UBI1ZM	トウモロコシ由来のユビキチンプロモーター（イントロンと 5'末端の翻訳されない配列を含む）（Christensen <i>et al.</i> 、1992）。植物体の全体において遺伝子の転写を開始させる。
改変型 <i>cry1F</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 由来の <i>cry1F</i> 遺伝子のコア蛋白質をコードする遺伝子で、改変型 Cry1F 蛋白質を発現させる。トウモロコシでの発現量が高めるために塩基配列に改変を加えたもので、アミノ酸配列に関しては、604 位のフェニルアラニンがロイシンに置換されているのみである。
PINI	ジャガイモ由来のプロティナーゼ阻害物質 II からのターミネーター配列（An <i>et al.</i> 、1989）。遺伝子の転写を終結させる。
<i>bar</i> カセット	
CaMV35S-1841 enhancer	カリフラワーモザイクウイルス 1841 菌株由来の上流のエンハンサー（Pietrzak <i>et al.</i> 、1986）。遺伝子の転写効率を増強させる。
CaMV35S-1841 promoter	カリフラワーモザイクウイルス 1841 菌株由来の 35S のプロモーター（Pietrzak <i>et al.</i> 、1986）。遺伝子の転写を開始させる。
ADH1	トウモロコシ由来のアルコール脱水素酵素イントロン 1。 <i>bar</i> 遺伝子及び PAT 蛋白質の発現を高める。
<i>bar</i>	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> から単離されたフォスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ遺伝子（Thompson <i>et al.</i> 、1987）で、PAT 蛋白質を発現させる。トウモロコシでの発現量が高めるために、塩基配列に改変を加えたものであるが、アミノ酸配列は改変されていない。
PINI	ジャガイモ由来のプロティナーゼ阻害物質 II からのターミネーター配列（An <i>et al.</i> 、1989）。遺伝子の転写を終結させる。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

ロ 構成要素の機能

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それぞれの機能

挿入遺伝子の各要素の機能を表 1 に示した。

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

Bacillus thuringiensis var. *aizawai* (*B.t.a.*) は、世界的に広く自然の土壤中に存在する。全ての *Bacillus thuringiensis* 菌株は、デルタ-エンドトキシンという殺虫性蛋白質を生産する。天然のデルタ-エンドトキシンの多くは、ほぼ 120~140kDa の蛋白質から成る（Schnepf *et al.*、1998）。本蛋白質は感受性のある昆虫に摂取されると、完全長の蛋白質の結晶が腸のプロテアーゼにより溶解して、殺虫活性のあるコア蛋白質を放出する（図 1）。

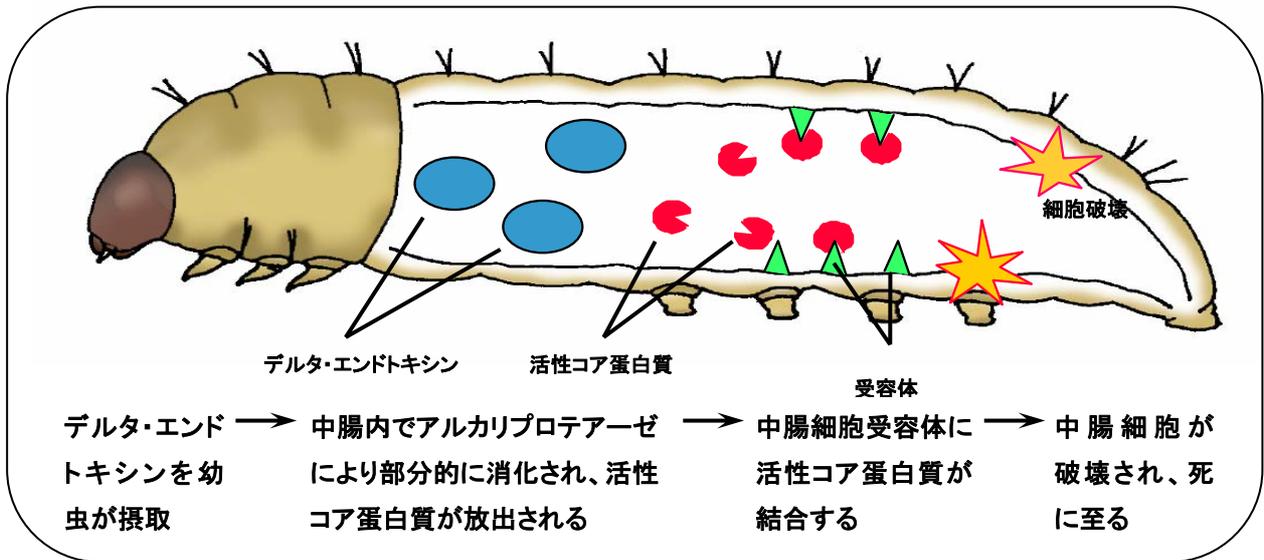


図 1 *B.t.* 蛋白質の標的昆虫・アワノメイガ (*Ostrinia nubilalis*) 等への作用機作

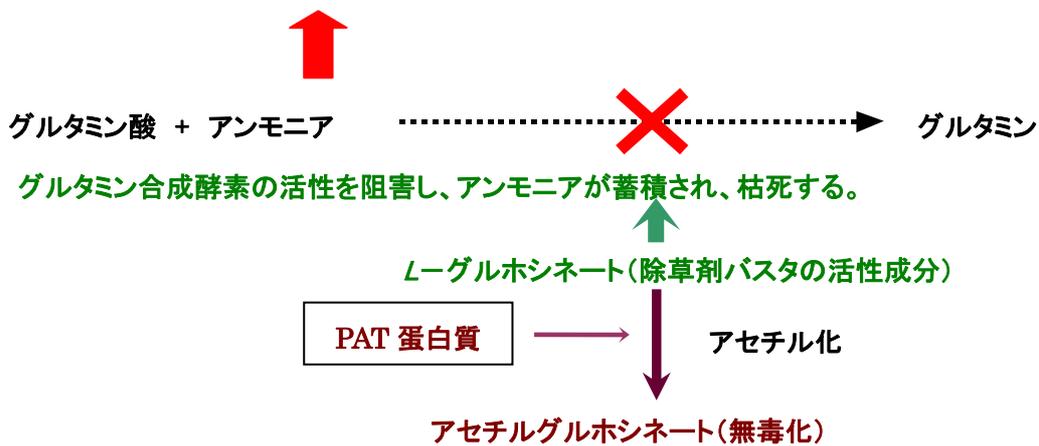


図 2 PAT (Phosphinothricin Acetyltransferase) 蛋白質によるグルホシネート除草剤に対する作用機作

コア蛋白質は 65~70kDa であり、中腸上皮にある特異的な受容体と結合することにより、蛋白質の立体配位構造が変化して、膜への侵入が起こる。蛋白質のオリゴマー形成は、中腸細胞膜に細孔構造をつくり、浸透圧性の細胞溶解が起こり、昆虫を死に至らしめる（図 1）。改変型 *cry1F* 遺伝子により発現する改変型 Cry1F 蛋白質は、*B.t. var. aizawai* が産生する Cry1F 蛋白質のコア蛋白質の部分であり、604 位のアミノ酸が、フェニルアラニンからロイシンに置換されている。

bar 遺伝子により発現する PAT 蛋白質は、除草剤であるグルホシネートをアセチル化し、無毒のアセチルグルホシネートに変換する。このことにより、除草剤耐性を示す（図 2）。

改変型 Cry1F 及び PAT 蛋白質が既知アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース（Swiss - Prot, PIR, GenPept, FARRP Protein Allergen Database）を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を共有していなかった。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

改変型 Cry1F 蛋白質は酵素ではないので、植物の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられる。また、PAT 蛋白質はきわめて特異的にグルホシネートをアセチル化する酵素であり（Tompson *et al.*, 1987）、植物中において基質となる蛋白質はグルホシネートのみである。したがって、PAT 蛋白質が他の代謝系に関与することは考えられない。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

導入した PHP12537 作製に用いたベクターは、*Agrobacterium tumefaciens* LBA 4404 株に由来する。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

発現ベクター-PHP12537 の塩基数は 49,698bp である。

② 特定の機能を有する塩基配列とその機能

tet 及び *spc* 遺伝子がそれぞれテトラサイクリンとスペクチノマイシンを発現し、発現ベクター PHP12537 の選択に用いられるが、T-DNA 領域の外側に位置するため、本組換えトウモロコシにこれらの遺伝子は導入されていない。

③ ベクターの感染性の有無

発現ベクター-PHP12537 の基となった *A. tumefaciens* LBA 4404 株由来のベクターの T-DNA 領域は、改変型 *cry1F* カセット及び *bar* カセットに置き換えられており、アグロバクテリウムの感染を可能とする配列は含まれておらず、感染性は知られていない。

(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

発現ベクターPHP12537の構成図を図3(P.10)に示した。また、添付資料1に発現ベクターPHP12537の作成過程を示す。本組換えトウモロコシにおける挿入遺伝子及び境界領域の塩基配列を調べた結果、発現ベクターPHP12537上のT-DNA領域のうち、UBI1ZMプロモーター及びUBI1ZMイントロンの一部と左側境界配列が欠失してトウモロコシゲノムに移入されていることが明らかになった(P.10, 図4)。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

核酸の宿主への導入はアグロバクテリウム法により行った。

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の方法

除草剤グルホシネート・アンモニウムを含む培地で培養す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

抗生物質を添加することにより、アグロバクテリウムを殺菌後、抗生物質を含まない再生培地に移して培養することによりアグロバクテリウム菌体が残存していないことを確認した。

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及び系統樹

本組換えトウモロコシは近交系トウモロコシと交配し、ヨーロッパアワノメイガ抵抗性及び農業形質から総合的に判断し、選抜育種を行った。次に自家受粉を行った後、近交系トウモロコシと交配し、商業用品種を得た。詳細を図5(P.11)に示す。

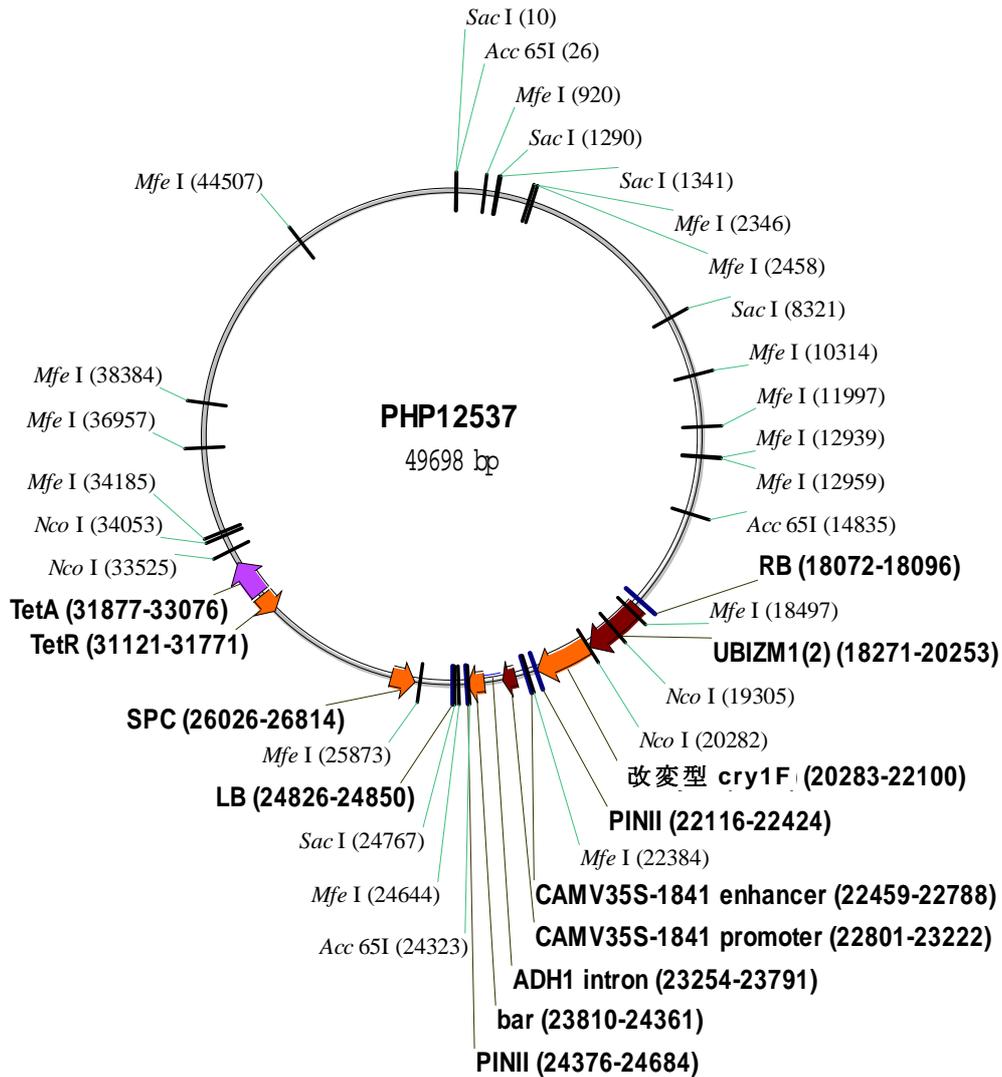


図 3 発現ベクターPHP12537 の構成図及び制限酵素切断部位
 (注: 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

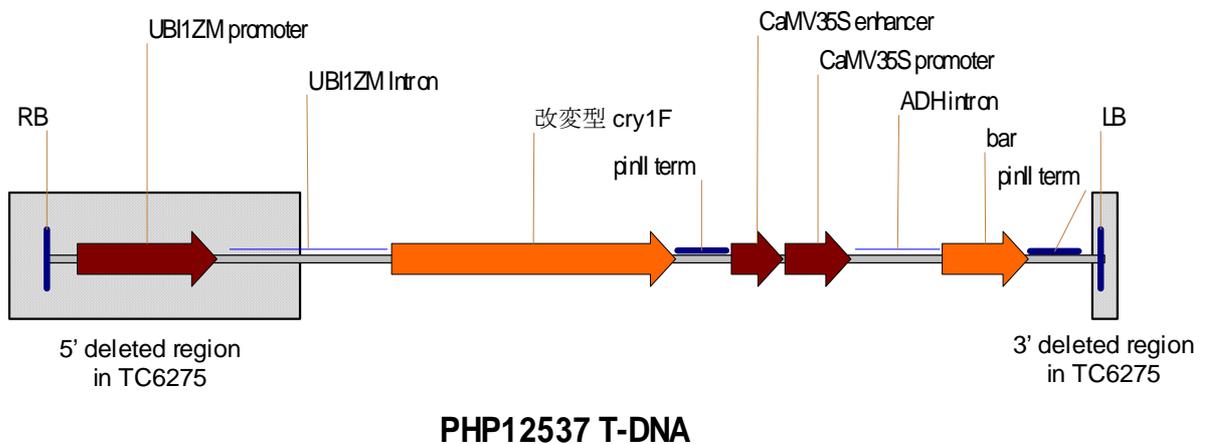


図 4 発現ベクターPHP12537 内 T-DNA 領域の挿入概要図
 (注: 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

図 5 本組換えトウモロコシの育成図

(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

イ 移入した核酸が存在する場所

移入した核酸は、いったん植物染色体に組み込まれると、メンデル遺伝の法則に従う。本組換えトウモロコシに導入された形質が、T1 及び T1S1 世代の集団でどのような分離を示すかを分析した。除草剤グルホシネート耐性の有無を調べた結果、核内遺伝子におけるメンデルの法則から予想される分離比と試験結果がほぼ一致したことにより、移入した核酸が染色体上に存在していることを確認した。

表 2 本組換えトウモロコシの T1 及び T1S1 世代の形質分離

世代	予測比率	除草剤耐性	感受性	有意差 (P>0.05)
T1	1:1	19	18	なし
T1S1	3:1	35	13	なし

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

ロ 移入された核酸のコピー数

移入された核酸のコピー数を確認するため T1S1 世代と BC5 世代についてサザンブロット分析を行った結果、改変型 *cry1F* 及び *bar* 遺伝子はそれぞれ 1 コピー移入されていることを確認した (添付資料 2)。

ハ 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

染色体上に複数コピーは存在しない。

ニ 自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

移入した核酸による蛋白質の発現の有無を、除草剤グルホシネート・アンモニウムの葉面塗布により調べた結果、各世代で安定して発現していることを確認した (添付資料 3)。なお、S1 ハイブリッドについて、除草剤耐性を示した 338 個体についてヨーロッパアワノメイガを用いた生物検定を行った結果、すべての個体がヨーロッパアワノメイガの食害に対する抵抗性を示した。このように、改変型 *Cry1F* 蛋白質の発現は個体間で安定していることが確認された。また、2001 年から 2002 年にかけてチリのは場において BC5 世代の改変型 *Cry1F* 蛋白質の発現量を調べた結果、植物各部位により発現量が異なり、チョウ目害虫のヨーロッパアワノメイガが食害する茎と葉での発現量が多かった (表 3)。

表 3 本組換えトウモロコシ改変型 Cry1F 蛋白質の発現量 (ng/mg 乾燥重量)

	本組換えトウモロコシ	
	平均	標準偏差
葉	16.7	4.6
穀粒	1.14	0.27
花粉	3.67	0.34
茎	11.0	2.67
全植物体	6.22	1.16

* 全植物体は6サンプル、その他は30サンプルを分析。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

ホ ウイルスの感染その他の経路を經由して供与核酸が野生動植物等に伝達されるおそれ

本組換えトウモロコシには、伝達性を有する配列は含まれておらず、本組換えトウモロコシに導入された遺伝子が伝達されることはない。

(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

本組換えトウモロコシ内に改変型 Cry1F 蛋白質が存在することを、ELISA キット (Strategic Diagnostics Inc. 製) を使用して確認する方法が確立されている。また、PCR 法にて本組換えトウモロコシの識別法が開発されている。添付資料 4 に両検出方法を示した。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 移入された核酸の複製物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 (特定の組織又は生育段階において特異的に発現している場合は、その内容を含む)

改変型 Cry1F 蛋白質を発現している本組換えトウモロコシは、米国におけるほ場試験において、主要なトウモロコシの害虫であるヨーロッパアワノメイガ (*Ostrinia nubilalis*)、サウスウエスタンコーンボラー (*Diatraea grandiosella*)、フォールアーミーワーム (*Spodoptera frugiperda*) 等に対する優れた抵抗性を示すことが確認された (Babcock *et al.*, 2003)。また、*B.t. var. aizawai* 由来の Cry1F 蛋白質は、ヨーロッパアワノメイガ、オオタバコガ (*Heliothis virescens*)、シロイチモジヨトウ (*Spodoptera exigua*) に殺虫活性を示す (Chambers *et al.*, 1991)。

一方、オオカバマダラ (*Danaus plexippus*)、マイマイガ (*Lymantria dispar*) 等の非標的チョウ目昆虫を含め、オオミジンコ、ミミズ、コリンウズラ、ミツバチ、クサカゲロウ、寄生蜂、テントウムシの非標的生物に対する改変型 Cry1F 蛋白質の影響は少ないものと考えられた (添付資料 5)。

PAT 蛋白質は除草剤グルホシネートを特異的にアセチル化する酵素であり、他の代謝系に影響を与えない。

ロ 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

① 形態及び生育の特性

2002 年に米国 (イリノイ州、ネブラスカ州) 及びカナダ (オンタリオ州) のほ場において、農作物

としての一般的な栽培特性について調査した。その結果、穀粒水分、生長速度、草高、穂長、発芽数、最終生育粒、茎幹・根部倒伏率、植物の健全性について、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差は認められなかった。したがって、本組換えトウモロコシの形態及び生育の特性について、非組換えトウモロコシと相違はないものと判断した。

表 4 2002 年に米国及びカナダで実施した本組換えトウモロコシの栽培試験成績

社外秘情報につき非開示

② 生育初期における低温又は高温耐性

本組換えトウモロコシについては、今回ほ場で試験を行なう予定である。

③ 成体の越冬性又は越夏性

トウモロコシは夏型 1 年生作物であり、成熟後、自然に枯死する。そのため、越冬性については試験を行っていない。

④ 花粉の稔性及びサイズ

新鮮な花粉は水分含量が多いが、急速に脱水して花粉が開裂し、その活性が消失する。開裂した花粉、褪色した花粉の観察によって、花粉の生存と能力消滅の判定ができる。表 5 に示す通り、本組換えトウモロコシと同系統の非組み換えトウモロコシの間には、花粉生存能力の消滅について飛散後 60 分で差がないことが示された。米国とチリでの試験で見られた花粉生存能力の消滅の差は、それぞれの環境での温度及び湿度に関連したものと判断した。

表 5 花粉飛散後 60 分での開裂し褪色した白色花粉の測定結果

(単位：%)

	チリ		米国及びカナダ	
	開裂花粉	白色花粉	開裂花粉	白色花粉
本組換えトウモロコシ	100	90	50	60
同系統の非組み換えトウモロコシ	100	90	50	60

* 約 75,000~100,000 の花粉について目視で%を求めた。3 反復の平均値。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

⑤ 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

米国でのほ場試験において、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシでは、低温及び高温条件下での発芽率に差異はなかった(表 6)。また、トウモロコシの休眠性については、発芽率が高いことからないものと考えられる。

表 6 本組換えトウモロコシと同系統の非組換えトウモロコシの発芽率

	冷涼条件下(5℃)での 発芽率(%)	温暖条件下(25℃)での 発芽率(%)
本組換えトウモロコシ	91	99
同系統の非組み換えトウ モロコシ	94	— 1)

1) 一般のトウモロコシの発芽率は、92～100%である。

* 100 種子/反復、4 反復の平均値。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

⑥ 交雑率

我が国において交雑可能な近縁野生種は自生していないので、試験を行っていない。

⑦ 有害物質の産生性

米国で行った非標的チョウ目に対する影響試験では、改変型 Cry1F 蛋白質のオオカバマダラ、ポールワーム、マイマイガに対する影響は少ないものと考えられた（添付資料 5）。また、本組換えトウモロコシと同じ宿主を用いて作出し、同じ改変型 Cry1F 蛋白質を発現する組換え Cry1F トウモロコシ 1507 の後作試験、鋤込み試験、土壌微生物相試験では、意図しない有害物質は産生されていないことが確認されている（http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/1507ap.pdf）。

本組換えトウモロコシについては、今回ほ場において、後作試験、鋤込み試験、土壌微生物相試験を行い、周辺植物相への影響も調べる予定である。

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

隔離ほ場における栽培、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

所在地：栃木県那須塩原市千本松 768 番地

(郵便番号 329-2794)

名称：独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所 隔離ほ場

使用期間：承認日～平成 19 年 3 月 31 日

隔離ほ場の施設

- ① 部外者の立入を防止するために、隔離ほ場を取り囲むように、フェンスを設置している。
- ② 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を、

見やすい所に掲げている。

- ③ 土、本組換えトウモロコシの種子等が付着した隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等を洗浄するための洗い場を設置しているとともに、本組換えトウモロコシの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- ④ 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるために防風林を設置している。

隔離ほ場の作業要領

- ① 本組換えトウモロコシ及び比較対照のトウモロコシ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- ② 本組換えトウモロコシを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、本組換えトウモロコシが漏出しない構造の容器に入れる。
- ③ ②により運搬又は保管する場合を除き、本組換えトウモロコシの栽培終了後は、本組換えトウモロコシ及び比較対照のトウモロコシを隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。
- ④ 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本組換えトウモロコシが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- ⑤ 本組換えトウモロコシの花粉の飛散を防止するため、除雄又は雄穂の袋がけを行う。
- ⑥ 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
- ⑦ ①から⑥に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
- ⑧ 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。

(3) 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

「緊急措置計画書」を参照。

(4) 国外における使用等に関する情報

国外における本組換えトウモロコシの安全性に係る承認の状況を表 7に示した（添付資料6参照）。

表 7 国外における本組換えトウモロコシの安全性に係る承認の状況

国名	承認機関	承認時期	承認内容
米 国	米国食品医薬品局	2004年 6月	食品及び飼料安全性
	米国農務省	2004年11月	無規制裁培
	米国環境保護局	2005年 5月	植物農薬登録

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

第1の2の(6)に示したとおり、2002年に米国及びカナダで実施した栽培試験の結果、穀粒水分、生長速度、草高、穂長、発芽数、その他倒伏等の諸特性について、本組換えトウモロコシは同系統の非組換えトウモロコシとの相違は見られなかった。本組換えトウモロコシは、チョウ目害虫抵抗性を持つ。しかし、チョウ目害虫による食害は、トウモロコシが我が国の自然条件下において生育することを困難にさせる主な要因ではないことから、チョウ目害虫抵抗性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。また、本組換えトウモロコシは、除草剤グルホシネート耐性を持つが、グルホシネートを散布されることが想定しにくい自然条件下においてグルホシネート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

したがって、本組換えトウモロコシは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えトウモロコシとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えトウモロコシは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらの付随する行為の範囲内では、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。

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

本組換えトウモロコシについては、我が国において有害物質の産生性を調査していないが、本組換

エトウモロコシと同じ宿主を用いて作出し、同じ改変型Cry1F蛋白質を発現する組換えCry1Fトウモロコシ1507の後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験では、意図しない有害物質は産生されていないことが確認されている。本組換えトウモロコシは、除草剤グルホシネート耐性を付与するPAT蛋白質とチョウ目害虫抵抗性を示す改変型Cry1F蛋白質を産生する。PAT蛋白質については、有害物質としては知られておらず、PAT蛋白質が他の代謝系に関与するとは考えられていない。改変型Cry1F蛋白質については、非標的昆虫に対する影響試験を実施し、影響は少ないことを確認している。また、同様にミツバチ、ミジンコ等の非標的生物についても試験を実施し、影響は少ないことを確認している。

しかしながら、可能性は少ないが、本組換えトウモロコシを我が国の隔離ほ場で栽培した場合、本組換えトウモロコシの花粉で発現する改変型Cry1F蛋白質によりチョウ目昆虫に何らかの影響を与える可能性は否定できない。したがって、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。

(2) 影響の具体的内容の評価

チョウ目昆虫への影響に関して、本組換えトウモロコシと同じ宿主を用いて作出し、同じ改変型Cry1F蛋白質を発現する組換えCry1Fトウモロコシ1507でのヤマトシジミに対する生物検定結果を用いて評価を行なうこととした。なお、ヤマトシジミは*B.t.*蛋白質に対して感受性であることに加えて、集団飼育がしやすく、採集や継代飼育が容易である等の理由により選ばれた。

ヤマトシジミに対する生物検定では、ふ化後12時間以内の1齢幼虫を用いた。直径1cm、長さ5.5cmの小試験管に所定量の花粉を載せたカタバミ葉片（直径1cm）、湿らせたろ紙片及びヤマトシジミの1齢幼虫（5頭）を収容し、シリコン栓をした。ヤマトシジミ幼虫を新しい葉片と交換しながら7日間飼育し、生存虫数及び発育段階を調査した。なお、以前に行ったトーマ血球計算板を用いた花粉重量調査において、花粉1個の重量が $6.4 \pm 0.4 \times 10^{-7} \text{g}$ （平均値±標準誤差）であったことより、この花粉1個当たりの重量を、本生物検定における花粉密度の換算に用いた。その結果、組換えCry1Fトウモロコシ1507では、100個/cm²の花粉密度で、約50%のヤマトシジミの幼虫が死亡した（添付資料7）。

また、チリでのほ場試験における組換えCry1Fトウモロコシ1507と本組換えトウモロコシの改変型Cry1F蛋白質の発現量を比較した結果、本組換えトウモロコシの蛋白質発現量は、ヨーロッパアワノメイガの攻撃部位である茎で1507系統の2倍であったが、花粉での発現量は3.67ng/mgと約6分の1であった（表8）。本組換えトウモロコシは組換えCry1Fトウモロコシ1507と同じ宿主を用いて作出し、育成過程において同系統のトウモロコシと交配させていることより、本組換えトウモロコシの花粉の形状及び性状は組換えCry1Fトウモロコシ1507との大きな差異はないと想定される。

したがって、本組換えトウモロコシでは、ヤマトシジミの幼虫が約50%死亡する花粉密度は約600個/cm²であると推定される。

表 8 本組換えトウモロコシと1507系統における改変型Cry1F蛋白質発現量の比較 (チリでの試験)

(単位: ng/mg乾燥重量)

	本組換えトウモロコシ ¹⁾		1507系統 ²⁾	
	平均値	S.D.	平均値	S.D.
花粉	3.67	0.34	21.9	2.9
茎	11.0	2.67	5.8	1.7

¹⁾ 花粉、茎ともに 30 サンプルを分析

²⁾ 花粉、茎ともに 20 サンプルを分析

(注: 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

(3) 影響の生じやすさの評価

トウモロコシ花粉の堆積密度を推定した研究によれば、トウモロコシの全開花期間で日平均風向が南、日平均風速が 3 m/秒と仮定したときの風下における最大堆積花粉数の累積値は、ほ場縁から10mの地点で約4,000個/cm²、20mの地点で約2,000個/cm²と推定され、ほ場縁約15,000個/cm²のそれぞれ約1/4、約1/8となる。この研究では、花粉を捕集するためにワセリンを塗布したスライドガラスを使用し、毎日交換することにより1日当たりの堆積花粉数を計数し、全開花期間の累積値を求めている。したがって、推定された最大堆積花粉数は、これ以上の堆積はないという限界値を示している (Kawashima *et al.*, 2004)。

実際に野外においてトウモロコシ花粉の植物葉上における堆積密度を調べた研究では、我が国におけるヒマワリ及びイヌホオズキ葉上のトウモロコシ花粉の堆積密度は、最大でもほ場縁から1mの地点で約150個/cm²であり、5mの地点で約20個/cm²であった (Shirai and Takahashi, 2005)。また、米国におけるトウワタ葉上のトウモロコシ花粉の堆積密度は、ほ場内が最大で約170個/cm²であり、ほ場縁から1m及び2mの地点で、それぞれ35個/cm²及び14個/cm²まで減少した (Pleasants *et al.*, 2001)。さらに、カナダにおけるトウワタ葉上のトウモロコシ花粉の堆積密度は、ほ場内1m以内で約80個/cm²であり、ほ場縁から1m以内の地点では約30個/cm²であった (Sears *et al.*, 2000)。このように、野外においてトウモロコシ花粉の植物葉上における堆積密度を調べたいくつかの研究より、野外におけるトウモロコシ花粉の実際の堆積密度は、上述した推定堆積密度よりかなり低いものと考えられる。

(2)で述べたように本組換えトウモロコシの花粉によりヤマトシジミの幼虫が約50%死亡する花粉密度は約600個/cm²と推定され、Kawashimaらのモデル式より約600個/cm²の花粉が堆積する距離を計算すると約45mと推定される。この範囲内であれば、非標的チョウ目昆虫が本組換えトウモロコシ花粉の影響を受ける可能性があるが、この範囲内だけに影響を受けるすべての個体群が存在することは考えられない。さらに、上述したように、実際の野外におけるトウモロコシ花粉の植物葉上における堆積密度は、Kawashimaらのモデル式による推定堆積密度より低いと考えられることから、非標的チョウ目昆虫が個体群として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限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、本組換えトウモロコシから産生される改変型Cry1F蛋白質により非標的チョウ目

昆虫の個体群に影響を与えるものではないと考える。しかし、本組換えトウモロコシの我が国の自然条件下での生育に関する特性が明らかにされていないため、隔離ほ場試験においては、念のために除雄又は雄穂の袋がけを行う。

(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は限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれがないと判断された。

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

我が国では、本組換えトウモロコシと交雑可能な近縁野生種は自生していないため、交雑性によって影響を受ける野生動植物等は特定されないと判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えトウモロコシは、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれがないと判断された。

4 その他

上記の他に生物多様性影響の評価を行うことが適切であると考えられる本組換えトウモロコシの性質はないと考える。

第三 生物多様性影響の総合的評価

競合における優位性に関わる諸形質（穀粒水分、生長速度、草高、穂長、発芽数、その他倒伏等）について、本組換えトウモロコシは非組換えトウモロコシとの相違は認められなかった。また、本組換えトウモロコシはチョウ目害虫抵抗性を持つが、チョウ目害虫による食害はトウモロコシが我が国の自然条件下において生育することを困難にさせる主な要因ではないため、チョウ目害虫抵抗性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。さらに、本組換えトウモロコシは除草剤グルホシネート耐性を持つが、グルホシネートを散布されることが想定しにくい自然条件下において、グルホシネート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えトウモロコシとの間に大きな相違はないと考えられ、第一種使用規程に従って、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

有害物質の産生性については、PAT蛋白質は有害物質としては知られていない。改変型Cry1F蛋白質により影響を受ける可能性のある野生動植物としては、非標的チョウ目昆虫が考えられるが、本組換えトウモロコシと同じ宿主を用いて作出し、同じ改変型Cry1F蛋白質を発現する組換えCry1Fトウモロコシ1507の花粉を用いたヤマトシジミに対する生物検定結果と、トウモロコシ花粉の飛散によるほ場周辺における最大堆積量及び野外でのトウモロコシ花粉の葉上での堆積量より、非標的チョウ目昆虫に影響を与える可能性は少ないと判断した。さらに、組換えCry1Fトウモロコシ1507の後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験では、意図しない有害物質は産生されていないことが確認されている。

以上のことから、本組換えトウモロコシは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、第一種使用規程に従って、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生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。

また、本組換えトウモロコシと交雑可能な近縁野生種は我が国に自生していないため、本組換えトウモロコシは、第一種使用規程に従って、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、交雑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。

よって、総合評価として、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、我が国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと結論された。

参考文献

1. An G, Mitra A, Choi M, Costa M, An K, Thornburg TW, Ryan CA (1989) Functional analysis of the 3' control region of the potato wound-inducible protease inhibitor II gene. *Plan Cell* **1**, 115-122.
2. Babcock JM, Bing J (2003) 'Field efficacy of maize-optimized Cry1F (TC6275) for the control of Lepidoptera pests of corn. (Dow AgroSciences LLC, Midwest Research Center, Indiana) 社外秘情報につき非開示
3. Canadian Food Inspection Agency (1994) 'The Biology of *Zea mays* L. (Corn/Maize).' (CFIA, Plant Products Division, Plant Biotechnology Office, Ottawa)
4. Chambers JA, Jelen A, Gilbert MP, Jany CS, Johnson TB, Gawron-Burke C (1991) Isolation and characterization of a novel insecticidal crystal protein gene from *Bacillus thuringiensis* subsp. *aizawai*. *J. Bacteriol.* **173**, 3966-3976.
5. Christensen AH, Sharrock RA, Quail PH (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.
6. Doebley JF (1984) Maize introgression into teosinte - a reappraisal. *Ann.Missouri Bot.Gard.* **71**, 1100-1113.
7. Essner R (2003) 'Nutrient composition and /or quantitative analysis of Cry1F and BAR protein expression levels in maize hybrid, inbred and progenitor lines containing event TC6275.' (Pioneer Hi-Bred International Inc., Johnston, Iowa) 社外秘情報につき非開示
8. FAOSTAT (2005), <http://faostat.fao.org>
9. Kawashima S, Matsuo K, Mingyuan DU, Takahashi Y, Inoue S, Yonemura S (2004) ' An algorithm for estimating potential deposition of corn pollen for environmental assessment.' *Environ. Biosafety Res.* **3**, 197-207.
10. Locke ME, Tyree C (2002) 'Characterisation of DNA inserted into transgenic corn event TC6275.' (DuPont Experimental Station Laboratories, Wilmington, Delaware) 社外秘情報につき非開示
11. Pleasants JM, Hellmich RL, Dively GP, Sears MK, Stanley-Horn DE, Mattila HR, Foster JE, Clark TL, Jones GD (2001) 'Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields.' <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.211287498>
12. Pietrzak.M., Shillito RD, Hohn T, Potrykus I (1986) Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. *Nucleic Acid Research* **14**, 5857-5868.
13. Raynor GS, Ogden EC, Hayes JV (1972) Dispersion and deposition of corn pollen from experimental sources. *Agronomy Journal* **64**, 420-427.
14. Schnepf E, Crickmore N, Van Rie J, Lereclus D, Baum J, Feitelson J, Zeigler DR, Dean DH (1998) *Bacillus thuringiensis* and its Pesticidal Crystal Proteins. *Microbiol.Mol.Biol.Rev* **62**, 775-806.
15. Sears MK, Stanley-Horn DE, Mattila HR (2000) 'Ecological impact of BT corn pollen on the Manarch butterfly in Ontario.' <http://www.biotech-info.net/Searsreport.pdf>
16. Shirai Y, Takahashi M (2005) 'Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudaeschnia maha*. *Apple Entomol. Zool.* **40**, 151-159.
17. Thompson CJ, Rao Movva N, Tizard R, Cramer R, Davies JE, Lauwerys M, Botterman J (1987) Characterization of the herbicide-resistance gene *bar* from *Streptomyces hygroscopicus*. *EMBO J.* **6**, 2519-2523

緊急措置計画書

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 モンティアー・ベイヤー
住所 東京都品川区東品川2丁目2番24号

第一種使用規程の承認を申請している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, bar, Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis) (TC6275, OECD UI : DAS-06275-8)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合に当該影響を効果的に防止するため、以下の措置を講ずる。

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

栽培実験管理責任者（表1参照）が、本組換えトウモロコシが生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断した場合に、生物多様性影響管理委員会（表2参照）に報告し、同委員会は、緊急措置対応のための社内体制（広報部、業務部、登録部）及び連絡窓口を通じて栽培実験管理責任者とともに緊急措置を講ずる。同委員会は、生物多様性影響を防止するため、遺伝子組換え体等の管理の方法について各方面からの意見を検討するための委員会であり、可能な限り、ダウ・ケミカル日本株式会社に所属しないこの分野の専門家が選ばれている。

2. 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

栽培実験管理責任者が、本組換えトウモロコシが生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断した場合には、生物多様性影響管理委員会に報告し、同委員会は、農林水産先端技術産業振興センター、農業者団体、那須塩原市役所及び栃木県に対して、本組換えトウモロコシが生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断されたこと、さらに緊急措置を講ずる必要があることを連絡する。また、ダウ・ケミカル日本株式会社のホームページにおいても、かかる予見される影響について告知し、一般からの問い合わせに対応する専用窓口を設置する。

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

栽培実験作業管理主任者（表1参照）が、本組換えトウモロコシが生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断した場合には、直ちに栽培試験を中止し、前述の管理委員会の承認のもとに本組換えトウモロコシを鋤き込み、もしくは抜き取り、焼却等の不活化処分をする。

4. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響管理委員会が、本組換えトウモロコシが我が国において生物多様性影響を生ず

るおそれがあると判断した場合に、遅滞なく農林水産省消費・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通知するとともに、あわせて緊急措置対応のための社内組織体制及び連絡窓口等について報告する。

表 1 隔離ほ場管理者名簿（個人名・所属は個人情報のため非開示）

氏 名	所属機関・職名
(栽培実験責任者)	独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所
(作業管理主任者)	独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所
(情報提供主任者)	独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所
(広報担当者)	独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所
	独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所
	ダウ・ケミカル日本株式会社
	社団法人 農林水産先端技術産業振興センター

表 2 生物多様性影響管理委員会委員名簿（個人名・所属は個人情報のため非開示）

氏 名	所 属	電話番号
(管理責任者)	ダウ・ケミカル日本株式会社	
(主任)	ダウ・ケミカル日本株式会社	
	ダウ・ケミカル日本株式会社	
	社団法人 農林水産先端技術産業振興センター	
	独立行政法人 農業・生物系特定産業技術研究機構 畜産草地研究所	

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, bar, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (TC6275, OECD UI : DAS-Ø6275-8)

生物多様性影響評価書

添 付 資 料

目 次

添付資料 1	発現ベクターPHP12537の作成過程	2
添付資料 2	細胞内に移入した核酸の存在状態の確認試験	3
添付資料 3	本組換えトウモロコシのメンデル分離－各世代ごとの性質	16
添付資料 4	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の確認 試験	17
添付資料 5	非標的生物に対する影響	20
添付資料 6	米国における承認書簡	22
添付資料 7	Cry1F 害虫抵抗性及びグルホシネート耐性トウモロコシ 1507 系統の隔離ほ場にお ける環境に対する安全性評価（抜粋）	44

社外秘情報につき非開示

ダウ・ケミカル日本株式会社

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, bar, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis.)

(TC6275, OECD UI NO. DAS-06275-8)

隔離ほ場試験計画書

目 次

1. 試験評価項目.....	2
2. ほ場の所在地に関する地図.....	6
3. 隔離ほ場内における試験区の配置図.....	7
4. 委員会名簿.....	9
5. 委員会での検討事項.....	10
6. 管理責任者.....	10

社外秘情報につき非開示

ダウ・ケミカル日本株式会社