

アリロキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ（改変 *aad-1*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis.）(DAS40474, OECD UI : DAS-40474-7) 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.....	4
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	4
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	4
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	4
(2) 使用等の歴史及び現状.....	4
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	5
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	6
(1) 供与核酸に関する情報.....	6
(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.....	15
(1) 使用等の内容.....	15
(2) 使用等の方法.....	15
(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法.....	16
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置....	16
(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果	16
(6) 国外における使用等に関する情報.....	16
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	17
1 競合における優位性.....	17
2 有害物質の産生性.....	17
3 交雑性.....	18
4 その他.....	18
第三 生物多様性影響の総合的評価.....	19
参 考 文 献.....	20
緊急措置計画書.....	21

第一種使用規程承認申請書

平成21年1月27日

5

農林水産大臣 石破 茂 殿

環 境 大 臣 齊藤 鉄夫 殿

10

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
申請者 代表取締役 フィリップ・ファイル 印
住所 東京都品川区東品川2丁目2番24号

15

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第4条第2項の規定により、次のとおり申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ (改変<i>aad-1</i>, <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (DAS40474, OECD UI : DAS-40474-7)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>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</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>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 23 年 3 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。</p> <p>(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。</p> <p>(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えトウモロコシの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該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。</p> <p>(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するための防風林を設置している。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本遺伝子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。</p> <p>(2) 本遺伝子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、当該トウモロコシが漏出しない構造の容器に入れる。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、本遺伝子組換えトウモロコシの栽培終了後は、当該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。</p> <p>(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、意図せずに本遺伝子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。</p> <p>(5) 本遺伝子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。</p>

	<p>(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。</p> <p>(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。</p> <p>(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書に基づき、速やかに対処する。</p>
--	--

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

5 (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

① 和名、英名及び学名

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

10

② 宿主の品種名

宿主はイネ科 (*Gramineae*) トウモロコシ属 (*Zea*) に属するトウモロコシ (*Z.mays*) のデント種であり、品種名は Hi-II である。

15 ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

トウモロコシの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 (文献 1)。

20 テオシント種は、我が国においては自生していない。また、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

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

25 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。

30 ② 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。

35 2007 年の全世界における生産量は 7 億 8,465 万トンで、主な栽培国は米国 (3 億 3,209 万トン)、中国 (1 億 5,183 万トン)、ブラジル (5,159 万トン)、メキシコ (2,250 万トン)、アルゼンチン (2,176 万トン) である (文献 2)。

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

てスウィ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。

5 (3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

10 我が国の栽培品種の発芽温度は、おおむね最低 7~8℃、最適 25~30℃、最高 40℃の範囲にある。播種から収穫までの全期間の温度は、日平均気温 22~23℃程度が望ましいとされている。生育期別には、初期と後期が比較的低温で、中期が高温であることが望ましい。夜温はある程度低い方がよく、暖地では 25℃以上、寒地では 20℃以上にならない方がよく、いずれの地域でも 15℃前後が望ましい。

15 トウモロコシの乾物 1g を生産するための要水量は他の作物より少ないが、乾物生産が多いため多量の水を必要とし、全生育期間では 350~500 トン/10a の水量を必要とする。

トウモロコシは土壤の酸性に対しても強く、正常に生育する pH の範囲は広い。栽培可能な pH は 5.0~8.0 の範囲にあるが、5.5~6.5 の範囲が望ましい。

20 トウモロコシ品種の早晩性については、播種期から成熟期に至る日数が品種間で差があり、我が国では 90~170 日である(文献 3)。

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われぬ(文献 1)。

30 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、土壤温度が 7~8℃以上ないと発芽しないため、多くの場合、発芽する前に腐敗し、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

35 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(文献 1)。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 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

5 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か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(文献4)、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

10 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、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最大堆積密度は、ほ場縁(0m)においては、ヒマワリ葉上で81.7個/cm²、イヌホオズキ葉上で71.1個/cm²であった。しかし、ほ場縁から5mの地点では、ヒマワリ葉上で19.6個/cm²、イヌホオズキ葉上で22.2個/cm²に減少し、さらに10mの地点では、ヒマワリ葉上では10個/cm²以下であった(文献5)。

15 飛散した花粉の寿命は、一夜または一昼夜であるが、5℃前後の低温下でシリカゲルを入れて封入すると、4~5日間は受精能力を失わない(文献3)。

ホ 病原性

20 _____

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。

25

ト その他の情報

30 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

35 アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ(改変 *aad-1*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DAS40474, OECD UI : DAS-40474-7) (以下「本組換えトウモロコシ」という。)の作出に用いられた供与核酸の構成とその由来は、表1(p.8)のとおりである。

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要素それぞれの機能

挿入遺伝子の各要素の機能を表 1 (p.8) に示した。

5

改変 *aad-1* カセットには、核マトリックス結合領域である *RB7 MAR* 遺伝子が含まれる。核マトリックス結合領域はゲノム DNA 配列に頻繁に見られる領域で、DNA のループ構造形成のために、核マトリックスに DNA を固定する役割をしていると考えられている。核マトリックス結合領域が導入遺伝子のいずれかの側に隣接していると、導入遺伝子の発現を高めることや、遺伝子の発現を抑制するジーンサイレンシングを減少させることが報告されている (文献 6、文献 7)。

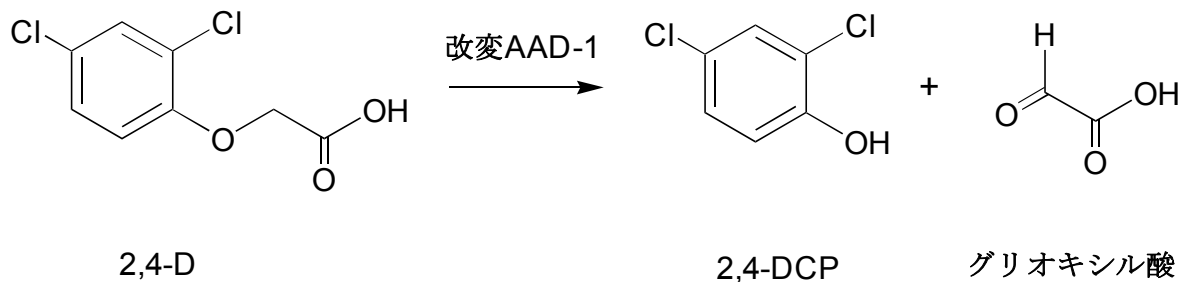
10

- 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

15

アリルオキシアルカノエート・デヒドロキシゲナーゼ (AryloxyAlcanoate Dioxygenase。以下「改変 AAD-1 蛋白質」という。) は、アリルオキシアルカノエート系除草剤 (添付資料 1 参照) に酸素添加することにより、除草活性のない化合物に変換する酵素である (文献 8)。例えば、改変 AAD-1 蛋白質は除草剤 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) に酸素を添加し、除草活性のない 2,4-ジクロロフェノール (2,4-DCP) とグリオキシル酸に変換する (図 1、p.7)。

20



25 図 1 改変 AAD-1 蛋白質の作用機作

改変 AAD-1 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 (FARRP version 7.00 Allergen Datebase) 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。

30

- ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

改変 AAD-1 蛋白質は、アリルオキシアルカノエート基をもつ化合物のうち光学異性体のないもの及び光学異性体である R 体の特異的に酸素添加する酵素である。

植物体中にはアリルオキシアルカノエート基をもつ化合物の存在は知られていないことから、改変 AAD-1 蛋白質は、植物体の他の代謝系を変化させることはないと考えられる。

5 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 <i>aad-1</i> カセット	
<i>RB7 MAR</i>	タバコ由来の核マトリックス結合領域(文献 9)。改変 AAD-1 蛋白質の発現を安定させる。
<i>ZmUbi1</i>	トウモロコシ由来のユビキチンプロモーターで、エクソン及びイントロン領域を含む(文献 10)。植物体の全体において遺伝子の転写を開始させる。
改変 <i>aad-1</i>	グラム陰性桿菌である <i>Sphingobium herbicidovorans</i> 由来のアリルオキシアルカノエート・デオキシゲナーゼ遺伝子を植物における発現に適したコドンに改変した遺伝子で、改変 AAD-1 蛋白質を発現させる。アミノ酸配列に関してはクローニングサイト導入のため、2 番目にアラニンが追加されている。
<i>ZmPer5 3'UTR</i>	トウモロコシ由来のターミネーター(文献 11)。遺伝子の転写を終止する。
<i>RB7 MAR</i>	タバコ由来の核マトリックス結合領域(文献 9)。改変 AAD-1 蛋白質の発現を安定させる。

(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)

(2) ベクターに関する情報

10 イ 名称及び由来

pDAS1740 作製に用いたベクターは、大腸菌に由来する。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

15 ベクター pDAS1740 の塩基数は 8,512bp であり、導入に用いた直鎖状 DNA の塩基数は 6,236bp である。ベクター pDAS1740 の塩基配列は添付資料 2 に示した。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

20 *ap^r* 遺伝子の発現によりアンピシリン耐性を付与し、ベクター pDAS1740 の選択に用いられるが、導入に用いた直鎖状 DNA には *ap^r* 遺伝子は含まれないため、本組換えトウモロコシに *ap^r* 遺伝子は導入されていない。

なお、本組換えトウモロコシ中における *ap^r* 遺伝子の存在の有無を PCR により確認した結果、*ap^r* 遺伝子は存在しないことが明らかになった(添付資料 3)。

③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報
 導入に用いた pDAS1740 の直鎖状 DNA は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。

5 (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

ベクターpDAS1740 の構成図を図 2(p.9)に、導入に用いた直鎖状 DNA の構成図を図 3(p.10)に示した。また、添付資料 4 に pDAS1740 の作成過程を示す。

10 ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

核酸の宿主への移入はウイスキー法により行った(文献 12)。すなわち、宿主トウモロコシである Hi-II の未成熟胚をカルス化させ、液体培養することにより、胚懸濁液を得た。次に、胚懸濁液に pDAS1740 の直鎖状 DNA と針状のシリコンカーバイトウイスキー繊維を加えて攪拌することにより、シリコンカーバイトウイスキー繊維が細胞に穴を開け、
 15 pDAS1740 の直鎖状 DNA を宿主へ移入した。

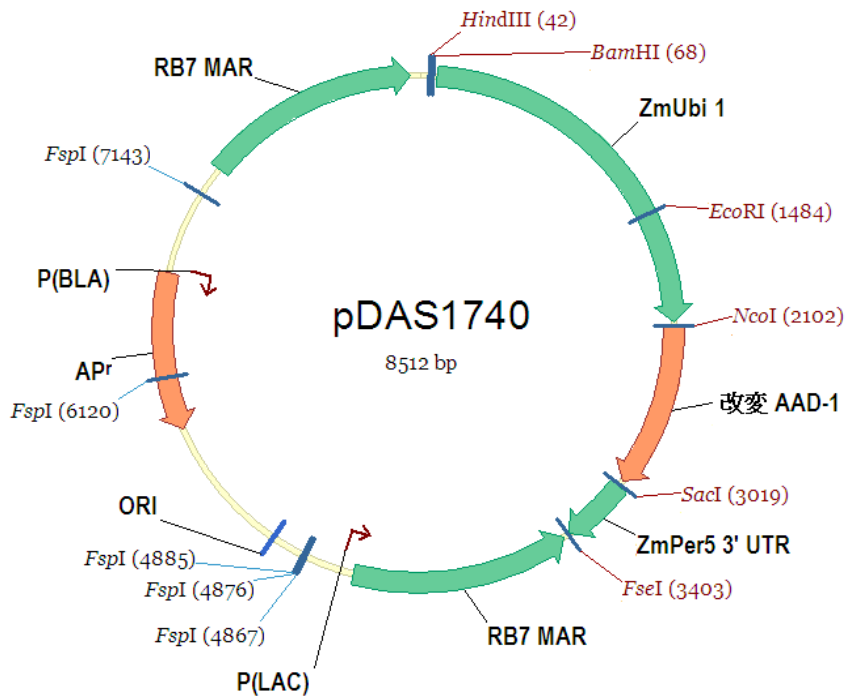


図 2 ベクターpDAS1740 の構成図及び制限酵素切断部位

20 (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)

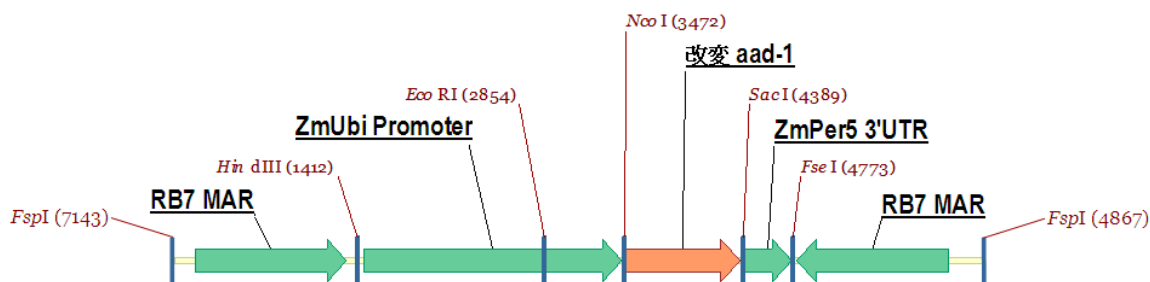


図 3 pDAS1740 の直鎖状 DNA の構成図

(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)

5

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選択の方法

除草剤ハロキシホップを含む培地で培養することにより選抜した。

10 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菌体の残存の有無

15 ③ 核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認した系統、隔離ほ場試験に供した系統その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過

再生させた植物体に、アリルオキシアルカノエート系除草剤であるキザロホップを散布することで改変 AAD-1 蛋白質が産生されていることを確認した。さらに、米国及びカナダの野外ほ場における導入遺伝子解析、蛋白質発現の確認、除草剤耐性及び農業形質等から総合的に判断し、本組換えトウモロコシを選抜した。

20 詳細を図 4(p.10)に示す。また、各試験に用いられた世代を表 2(p.10)に示す。

社外秘情報につき非開示

25 図 4 本組換えトウモロコシの育成図

表 2 各試験に用いられた世代

社外秘情報につき非開示

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5 移入した核酸は、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。除草剤キザロホップ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 3、p.11)。

表 3 本組換えトウモロコシの T1 及び T1S1 世代の形質分離

10

社外秘情報につき非開示

② 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

15 移入された核酸のコピー数を確認するために複数世代(BC3S2、F1、T1S1、T1S2 及び T1S3)についてサザンブロット分析を行った結果、1 コピーの改変 *aad-1* カセットのほか、に改変 *aad-1* カセットがさらに 1 コピー移入されていることが示唆された(添付資料 3)。

20

③ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別 現時点では、明らかにされていない。

④ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

25 本組換えトウモロコシの T1S2、BC1 及び BC2 世代において、葉における改変 AAD-1 蛋白質の発現量を ELISA 法により調べた。その結果、遺伝子型がヘテロである BC1 及び BC2 世代における AAD-1 蛋白質は同程度の発現量であった。一方で、T1S2 世代は遺伝子型がホモであるため、AAD-1 蛋白質の発現量は、遺伝子型がヘテロである BC1 及び BC2 世代における AAD-1 蛋白質の発現量と比べ、約 2 倍量であった。以上より、異なる
30 世代間においても、改変 AAD-1 蛋白質の発現は安定していると考えられる(表 4、p.11)。

表 4 本組換えトウモロコシの葉における改変 AAD-1 蛋白質の発現量(ng/cm²)

社外秘情報につき非開示

35

⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度 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

5 本組換えトウモロコシ内に改変 AAD-1 蛋白質が存在することを、ELISA 法を使用して確認する方法が確立されている(添付資料 5)。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

10 本組換えトウモロコシには、改変 *aad-1* 遺伝子が導入されており、改変 AAD-1 蛋白質が発現することによりアリルオキシアルカノエート系除草剤に対する耐性が付与されている。アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性を付与された本組換えトウモロコシを栽培することにより、栽培農家は使用する除草剤の選択肢が増えるとともに、他の除草剤に抵抗性を獲得した雑草を防除することができる。

15 2008 年に米国(ミネソタ州、インディアナ州、ミシシッピ州)の 3 ヲ所のほ場において、除草剤キザロホップ耐性試験を行った。除草剤キザロホップを 92g active ingredient(有効成分)/ha 散布し、2 週間後に障害度を 0%(健全)~100%(枯死)で目視評価した結果、非組換えトウモロコシは全て枯死したのに対し、本組換えトウモロコシは十分な除草剤耐性を示した(表 5、p.12)。

20

表 5 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの除草剤耐性

社外秘情報につき非開示

25 ② 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

a 形態及び生育の特性

30 2008 年に米国(インディアナ州)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(BC3S2 世代)。その結果、草丈、着雌穂高、地上部生重量、開花期、絹糸抽出期、成熟期、茎幹・根部倒伏率について、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(表 6、p.12)。

表 6 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの栽培試験結果

社外秘情報につき非開示

35

b 生育初期における低温又は高温耐性

2008年に米国ダウ・アグロサイエンス社の温室において栽培した4葉期(播種2週間後)の本組換えトウモロコシ(F1世代)及び非組換えトウモロコシ(1植物体/反復、4反復)を、5°C(12時間明、12時間暗)に設定した人工気象器に入れ、2週間後に、障害度を0%(健全)~100%(枯死)で目視評価した。その結果、本組換えトウモロコシは非組換えトウモロコシと同程度の障害を示し、統計学的有意差は認められなかった(表7、p.13)。

表7 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの低温処理による平均障害度(%)

社外秘情報につき非開示

10

c 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。

15

d 花粉の稔性及びサイズ

2008年に米国ダウ・アグロサイエンス社の温室において栽培した本組換えトウモロコシ(F1世代)及び非組換えトウモロコシの花粉を採取し、ヨウ素ヨウ化カリウム溶液で染色し、顕微鏡下で観察した。その結果、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの花粉の直径はともに約100µmで、形状も差は見られなかった。また、花粉の稔性についても、統計学的有意差は認められなかった(表8、p.13)。

20

表8 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの花粉の稔性

社外秘情報につき非開示

25

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

2008年に米国(アイオワ州、インディアナ州)の4ヵ所のほ場において、本組換えトウモロコシ(F1世代)と非組換えトウモロコシの収量を調査した。その結果、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの間に統計学的有意差は認められなかったことから(表9、p.13)、本組換えトウモロコシの種子の生産量は、非組換えトウモロコシと相違ないものと考えられる。

30

表9 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの収量

社外秘情報につき非開示

35

2008年に米国でのほ場試験において、本組換えトウモロコシ(BC3S1世代)と非組換えトウモロコシについて、種子の脱粒性を調査した。10雌穂(500~1200粒/雌穂)を調査した結果、調査した10雌穂全体のうち本組換えトウモロコシでは2粒、非組換えトウモロコシでは1粒のみ脱粒し、脱粒性はほとんど認められなかった。

5

2008年に米国の4カ所のほ場において、本組換えトウモロコシ(F1世代)及び非組換えトウモロコシを1区当たり48~50種子を播種し(3反復)、平均発芽数を比較した。その結果、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの平均発芽数はそれぞれ41(発芽率:82~85%)及び42(発芽率:84~88%)でほぼ同数であった(表10、p.14)。

10

表10 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの発芽数

社外秘情報につき非開示

15 さらに、2008年にアイオワ州のほ場試験において得られた本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの収穫種子において、収穫後すぐに休眠覚醒処理を行わずに発芽率を調べた。その結果、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの発芽率は、それぞれ99%及び98%であり、ともに極めて高く、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの間に統計学的有意差は認められなかった(表11、p.14)。

20

表11 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの収穫種子の発芽率

社外秘情報につき非開示

25 以上のように、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの発芽率がともに高いことから、休眠性はいずれも浅いと考えられた。

f 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。

30

g 有害物質の産生性

2008年に米国ダウ・アグロサイエンス社の温室において本組換えトウモロコシ(F1世代)及び非組換えトウモロコシを栽培し(播種39日後、8~10葉期)、後作試験及び鋤込み試験を行った。

35

<後作試験>

本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシを栽培した後の土壌にハツカダイコンを播種し、7日後に発芽率(16種子/区、5反復)を、14日後に乾燥重量(5個体合計/

区、5 反復)を調査した。その結果、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの間に統計学的有意差は認められなかった(表 12、p.15)。

表 12 後作試験におけるハツカダイコンの発芽率及び乾燥重量

5

社外秘情報につき非開示

< 鋤込み試験 >

本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシを収穫後、乾燥、粉末化し、土壌と混和してハツカダイコンを播種し(16 種子/区、5 反復)、7 日後に発芽率を、14 日後に乾燥重量を調査した。その結果、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの間に統計学的有意差は認められなかった(表 13、p.15)。

10

表 13 鋤込み試験におけるハツカダイコンの発芽率及び乾燥重量

社外秘情報につき非開示

15

なお、隔離ほ場試験において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を実施する予定である。

20 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

25 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 23 年 3 月 31 日まで

隔離ほ場の施設

- 30 ① 部外者の立入りを防止するため、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。
- 35 ③ 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本組換えトウモロコシの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、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、花粉の飛散を防止するための防風林を設置している。

隔離ほ場での作業要領

- 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。
- 5 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、当該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、当該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。
- 10 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。
- 15 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書に基づき、速やかに対処する。

20 (3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

25 「緊急措置計画書」を参照。

(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

30

(6) 国外における使用等に関する情報

米国(2004～2008年)では延べ110カ所、カナダ(2007～2008年)では延べ4カ所のほ場において試験を行ってきたが、非組換えトウモロコシと比較して生物多様性影響を生じるおそれがあるような相違は報告されていない。

35 なお、2009年に、米国においては、農務省(USDA)に無規制承認申請(栽培承認)を、連邦食品医薬品局(FDA)に食品及び飼料安全承認申請を行う予定である。また、カナダにおいても、厚生省(Health Canada)に食品としての承認申請を、食品検査庁(CFIA)に飼料及び環境安全の承認申請を行う予定である。

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

5 第一の2の(6)に示したとおり、2008年に米国で実施したほ場試験の結果、形態及び生育の特性、種子の生産量・脱粒性・休眠性及び発芽率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相違は見られなかった。

10 本組換えトウモロコシは、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性を持つが、アリルオキシアルカノエート系除草剤を散布されることが想定しにくい自然条件下においてアリルオキシアルカノエート系除草剤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。

15 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、競合における優位性について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

20 (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

25 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

30 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

トウモロコシには、他感作用物質のような野生動植物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。

35 本組換えトウモロコシは、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性を付与する改変AAD-1蛋白質を産生する。改変AAD-1蛋白質については、有害物質としては知られておらず、改変AAD-1蛋白質が他の代謝系に関与するとは考えられていない。

5 なお、米国において、後作試験及び鋤込み試験を実施した結果、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの相違は見られなかった。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、有害物質の産生性について、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、有害物質の産生性に起因する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

10

(3) 影響の生じやすさの評価

15 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えトウモロコシ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、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。

20 3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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。

25 (2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

30

(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。

35 4 その他

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(形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量・脱粒性・休眠性及び発芽率)について、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アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性を持つが、アリルオキシアルカノエート系除草剤を散布されることが想定しにくい自然条件下において、アリルオキシアルカノエート系除草剤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。

5 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。

15 トウモロコシには、他感作用物質のような野生動植物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。また、改変 AAD-1 蛋白質は有害物質としては知られていない。有害物質の産生性について、後作試験及び鋤込み試験を行った結果、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。

20 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。

25 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。

30 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づけられた。

参 考 文 献

社外秘情報につき非開示

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 フィリップ・ファイル
住所 東京都品川区東品川2丁目2番24号

5

10 第一種使用規程の承認を申請しているアシルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ(改変*aad-1*, *Zea mays* subsp.*mays* (L.)Iltis) (DAS40474, OECD UI : DAS-40474-7)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。

15 1. 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者

栽培実験責任者(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責任者とともに緊急措置を講ずる。

20

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

25 栽培実験責任者が、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の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、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。

30 3. 遺伝仕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、抜き取り、焼却等の不活化処分をする。

35

4. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

40 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は、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、併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
	ダウ・ケミカル日本株式会社

表 2 生物多様性影響管理委員会委員名簿（個人名・所属・電話番号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	
	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	

アリロキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ

(改変 *aad-1*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis.)

(DAS40474, OECD UI : DAS-40474-7)

5

生物多様性影響評価書

添 付 資 料

10

添付資料 1 AAD-1 蛋白質が活性を示す除草剤

添付資料 2 pDAS1740 の塩基配列

15 添付資料 3 細胞内に移入した核酸の存在状態の確認試験

添付資料 4 pDAS1740 の直鎖状 DNA の作成過程

添付資料 5 改変 AAD-1 蛋白質検出法 (ELISA 法)

社外秘情報につき非開示

20

ダウ・ケミカル日本株式会社

25

アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性トウモロコシ

(改変 *aad-1*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis.)

(DAS40474, OECD UI : DAS-40474-7)

5

隔離ほ場試験計画書

10

目 次

	1. 試験評価項目	2
	2. ほ場の所在地に関する地図	5
15	3. 隔離ほ場内における試験区の配置図	6
	4. 委員会名簿	8
	5. 委員会での検討事項	9
	6. 管理責任者	9

20

社外秘情報につき非開示

25

ダウ・ケミカル日本株式会社