

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
(改変 *vip3A*, *cry2A.127*, *cry1A.88*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.)
Iltis) (186165, OECD UI: DP-186165-2) 申請書等の概要

5

	第一種使用規程承認申請書	1
	生物多様性影響評価書	3
	第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	3
10	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
	① 和名、英名及び学名	3
	② 宿主の品種名又は系統名	3
	③ 国内及び国外の自然環境における自生地域	3
15	(2) 使用等の歴史及び現状	3
	① 国内及び国外における第一種使用等の歴史	3
	② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途	4
	(3) 生理学的及び生態学的特性	4
	イ 基本的特性	4
20	ロ 生息又は生育可能な環境の条件	5
	ハ 捕食性又は寄生性	5
	ニ 繁殖又は増殖の様式	5
	① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命	5
25	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	5
	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
	④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命	6
	ホ 病原性	6
30	へ 有害物質の産生性	6
	ト その他の情報	6
	2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	7
	(1) 供与核酸に関する情報	7
	イ 構成及び構成要素の由来	7
35	ロ 構成要素の機能	7
	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	7
	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	9
40	③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	12
	(2) ベクターに関する情報	12
	イ 名称及び由来	12
	ロ 特性	13

	①	ベクターの塩基数及び塩基配列	13
	②	特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能	13
	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	13
5	(3)	遺伝子組換え生物等の調製方法	13
	イ	宿主内に移入された核酸全体の構成	13
	ロ	宿主内に移入された核酸の移入方法	16
	ハ	遺伝子組換え生物等の育成の経過	16
	①	核酸が移入された細胞の選抜方法	16
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の菌体の残存の有無	16
	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	16
15	(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	17
	①	移入された核酸の複製物が存在する場所	17
	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	17
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	17
	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	18
	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	18
25	(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	18
	(6)	宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	19
	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	19
30	②	以下に掲げる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	20
3		遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	22
	(1)	使用等の内容	22
35	(2)	使用等の方法	22
	(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	23
	(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	23
40	(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	23
	(6)	国外における使用等に関する情報	23
		第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	24
1		競合における優位性	24

	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	24
	(2)	影響の具体的内容の評価	25
	(3)	影響の生じやすさの評価	25
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	25
5	2	有害物質の産生性	25
	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	25
	(2)	影響の具体的内容の評価	26
	(3)	影響の生じやすさの評価	26
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	27
10	3	交雑性	27
	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	27
	(2)	影響の具体的内容の評価	27
	(3)	影響の生じやすさの評価	27
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	27
15	4	その他の性質	27
		第三 生物多様性影響の総合的評価	28
		参考文献	30
		緊急措置計画書	35
		附属提出資料リスト	37
20		デュポン株式会社 宇都宮事業所 隔離ほ場 受容環境	38

第一種使用規程承認申請書

5

平成 24 年 8 月 9 日

農林水産大臣 郡司 彰 殿
環境大臣 細野 豪志 殿

10

氏名
デュポン株式会社
代表取締役社長 天羽 稔

15

申請者

住所
東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

20

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。

25

30

35

<p>遺伝子組換え生物等の種類 の名称</p>	<p>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 (改変 <i>vip3A</i>, <i>cry2A.127</i>, <i>cry1A.88</i>, <i>pat</i>, <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (186165, OECD UI: DP-186165-2)</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：栃木県宇都宮市清原工業団地 19-2 名称：デュポン株式会社 宇都宮事業所 隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 28 年 3 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <ol style="list-style-type: none"> (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。 (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。 (4) 本遺伝子組換えトウモロコシの種苗が、野鳥等の食害により拡散することを防止するため、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網を設置する。 <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) 本遺伝子組換えトウモロコシ及び比較対照の非遺伝子組換え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必要最小限に抑える。 (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。 (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非遺伝子組換え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。 (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。 (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)まで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。

生物多様性影響評価書

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

5

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

10 ① 和名、英名及び学名

和名：トウモロコシ

英名：corn, maize

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

15

② 宿主の品種名又は系統名

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、系統名は PHWWE である。

20

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

トウモロコシの原産地は、メキシコ、中米又は南米等と考えられている (OECD, 2003)。また、トウモロコシの亜種であるテオシントはメキシコ及びグアテマラに、
25 同じくトウモロコシの亜種である *Tripsacum* 属は米国、中米及び南米に自生して
いる (OECD, 2003)。

我が国において、自然環境下でトウモロコシ、テオシント及び *Tripsacum* 属が
自生している地域は知られていない。

30

(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

35

トウモロコシは、9000 年前にメキシコ南部で栽培植物化したと考えられている。
その後、コロンブスの新大陸発見を機に、ヨーロッパ、世界へと伝播し、現在で
は広く栽培され、食品、飼料等として利用されている (OECD, 2003)。

40

トウモロコシの栽培には、我が国においても長い栽培の歴史がある。我が国へ
は、天正年間 (1580 年頃) にポルトガル人が伝えたのが最初であるとされており、

九州、四国や本州で栽培されるようになった。明治時代に北海道開拓使によって、デント種及びフリント種が米国より導入され、現在では北海道から九州まで広く栽培されている（戸澤, 2005）。

5 ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

栽培地域：

我が国における 2011 年の青刈りトウモロコシ（デント種又はフリント種）の栽培面積は 9 万 2,700ha で、主な栽培地域は北海道である（農林水産省, 2012）。国外では、主に温暖地域で栽培され（OECD, 2003）、主要生産国は、米国、中国及びブラジルである（FAO, 2012）。

栽培方法：

米国を代表とする大規模な機械化された近代的方法から、古くから南米アンデス高地等で行われている種子を手で播くような伝統的な方法まで、様々な方法で栽培されている。我が国では、平均気温が 10～14℃に達する 4 月上中旬～5 月中下旬に、栽植密度 6,500～9,000 株/10 アール、播種深度約 3cm で播種し、発芽後に中耕、除草、培土等の管理を行う。子実用トウモロコシは、水分含量が 26～28% になった時期に収穫するのが好ましく、サイレージ用（青刈り）トウモロコシは、黄熟期に茎葉全体を収穫する（菊池, 1987）。

流通実態：

コメ、コムギとともに世界三大穀物の一つとされている。2010 年の世界総生産量は約 8 億 4,440 万トンであり、最大の生産国は米国で、世界総生産量の 37% を占めている（FAO, 2012）。デント種が生産の主流である（戸澤, 2005）。

2011 年に我が国は約 1,530 万トンを輸入しており、その 90% にあたる約 1,380 万トンは米国からである（財務省, 2012）。

用途：

種子は主に飼料として利用され、食品、工業分野では、デンプン、コーングリッツ、コーンオイル及びエタノールの原料として利用される。青刈りした茎葉は飼料として利用される。スイートコーンは生食用又は缶詰用に利用される（菊池, 1987）。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

40 —

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

5 トウモロコシの発芽最低温度は 10～11℃、最適温度は 33℃である（中村, 2001）。
トウモロコシは栽培植物化されるようになった後、自然環境で生存する能力を失
った。種子が越冬し翌年に発芽することもあるが、自然環境中で定着しない。成
10 長点が地上に出た 5～7 葉期に 6～8 時間以上、0℃以下の外気にさらされると生存
できない。また、遅霜により葉やけを起こすが、致命的な損傷には至らない。温
帯域で、適度な湿度と霜の降らない日数等の条件が揃えば良く生育する（OECD,
2003）。

ハ 捕食性又は寄生性

—

15

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

20 雌穂は苞皮で覆われているため、種子が自然に雌穂から脱粒し散布される可能
性は低く、種子の拡散には人間の仲介が必要である（OECD, 2003）。また、種子
の休眠性は極めて低い（CFIA, 1994）。種子の寿命は、子実水分 12%、温度 10℃、
相対湿度 55%以下の条件で 6～8 年である（中村, 2001）。

25 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

自然条件下で種子以外に植物体を再生しうる組織又は器官は知られていない。

30 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

35 典型的な風媒花で、他殖率は 95～99%である（中村, 2001）。交雑可能な近縁
野生種として、トウモロコシの亜種であるテオシント及び *Tripsacum* 属がある。
テオシントはトウモロコシと近接する場合、自然環境下で交雑する。*Tripsacum*
属はトウモロコシと非常に稀に交雑できるが、雑種は高い確率で生殖不能で、遺
伝学的にも不安定である（OECD, 2003）。なお、テオシント及び *Tripsacum* 属が
我が国において自生することは報告されていない。

アポミクシスの特性を有するとの報告はない。

40

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

5 一雄穂当たりの花粉の生産量は、約 1,800 万粒とされている (OECD, 2003)。晴天の場合、午前 10 時～11 時頃に花粉の放出が最も盛んとなり、午後になると激減する (菊池, 1987)。花粉の寿命は通常 10～30 分で、好適条件下ではさらに長い (CFIA, 1994)。花粉は球形で、直径は約 90～100 μm である (Pleasants *et al.*, 2001)。受粉は主に風媒によって行われる (OECD, 2003)。

10 我が国において、トウモロコシほ場周辺のヒマワリ (*Helianthus annuus*) とイヌホオズキ (*Solanum nigrum*) 葉上に堆積する花粉量を測定した結果、ほ場端から 1m で約 160 粒/cm²、5m で 20 粒/cm²、10m では 10 粒/cm²以下であった (Shirai and Takahashi, 2005)。北米における試験では、トウワタ (*Asclepias syriaca*) 葉上に堆積した花粉密度は、ほ場端から 1m で 35.4 粒/cm²、2m で 14.2 粒/cm²、3m で 5～20 粒/cm²、4～5m で 8.1 粒/cm²、10m は 1 粒/cm²であった (Hansen-Jesse and Obrycki, 2000 ; Pleasants *et al.*, 2001)。

ホ 病原性

—

20

へ 有害物質の産生性

トウモロコシにおいて、野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質の産生は知られていない。

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

5 イ 構成及び構成要素の由来

10 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（改変 *vip3A*, *cry2A.127*, *cry1A.88*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (186165, OECD UI: DP-186165-2) (以下「本組換えトウモロコシ」という。)における供与核酸の構成及び構成要素の由来を表 1 (8 ページ) に示した。また、その供与核酸の塩基配列を添付資料 1 の Appendix1 (社外秘情報につき非開示) に示した。

ロ 構成要素の機能

15 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

供与核酸の構成要素それぞれの機能を表 1 (8 ページ) に示した。

20

表 1 本組換えトウモロコシの作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
改変 vip3A 発現カセット	pinII ターミネーター	311 ジャガイモ (<i>Solanum tuberosum</i>) 由来のプロテアーゼインヒビターII遺伝子 (<i>pinII</i>) のターミネーター領域 (Keil <i>et al.</i> , 1986; An <i>et al.</i> , 1989)。転写を停止する。
	改変 vip3A	2,370 <i>Bacillus thuringiensis</i> AB88株由来の <i>vip3A</i> 遺伝子をトウモロコシでの発現を最適化するため改変した遺伝子 (Estruch <i>et al.</i> , 1996)。改変Vip3A蛋白質は、野生型Vip3A蛋白質における129番目のメチオニンがイソロイシンに、284番目のリシンがグルタミンに置換されている。
	ubiZM1 イントロン	1,013 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子のイントロン領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	ubiZM1 5'UTR	82 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子の5'非翻訳領域 (UTR) (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	ubiZM1 プロモーター	901 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子のプロモーター領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。植物体内での構成的な発現を誘導する。
cry2A.127 発現カセット	UBQ3 ターミネーター	1,089 シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) 由来のユビキチン3遺伝子のターミネーター領域 (Callis <i>et al.</i> , 1995)。転写を停止する。
	cry2A.127	1,905 Cry2A.127 蛋白質をコードする遺伝子。 <i>B. thuringiensis</i> (社外秘情報につき非開示) 株由来の遺伝子を基に DNA ショッピング法により得た (第一.2. (1) .ロ.②.a、9 ページ)。
	CTP	162 葉緑体移行ペプチド (Chloroplast Transit Peptide) をコードする遺伝子。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送するのに適した塩基配列になるよう合成した (米国 Patent No. US 7,563,863, B2)。
	adh1 イントロン	563 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のアルコール脱水素酵素遺伝子のイントロン1領域 (Dennis <i>et al.</i> , 1984)。
	BSV (AY) プロモーター	1,053 Banana Streak Virus 由来のプロモーター領域 (Acuminata Yunnan 株; Genbank accession DQ092436.1)。植物体内での構成的な発現を誘導する。
cry1A.88 発現カセット	SB-アクチン ターミネーター	1,043 ソルガム (<i>Sorghum bicolor</i>) 由来の SB-アクチン遺伝子の3'ターミネーター領域 (Genbank accession XM_002441128.1)。転写を停止する。
	cry1A.88	3,549 Cry1A.88 蛋白質をコードする遺伝子。 <i>B. thuringiensis</i> (社外秘情報につき非開示) 株由来の遺伝子を基に DNA ショッピング法により得た (第一.2. (1) .ロ.②.a、9 ページ)。
	adh1 イントロン	563 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のアルコール脱水素酵素遺伝子のイントロン1領域 (Dennis <i>et al.</i> , 1984)。
	BSV (AV) プロモーター	470 Banana Streak Virus 由来のプロモーター領域 (Acuminata Vietnam 株; Lheureux <i>et al.</i> , 2007)。植物体内での構成的な発現を誘導する。

表 1 本組換えトウモロコシの作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能（続き）

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
pat 遺伝子発現カセット	<i>ubiZM1</i> プロモーター	901 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子のプロモーター領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。植物体内での構成的な発現を誘導する。
	<i>ubiZM1</i> 5'UTR	82 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子の5' 非翻訳領域 (UTR) (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	<i>ubiZM1</i> イントロン	1,013 トウモロコシ (<i>Z. mays</i>) 由来のポリユビキチン遺伝子のイントロン領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	<i>pat</i>	552 <i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィノトリシンアセチルトランスフェラーゼ (PAT 蛋白質) をコードする遺伝子 (Wohlleben <i>et al.</i> , 1988)。トウモロコシでの発現を最適化するため塩基配列が改変されているが、産生される PAT 蛋白質のアミノ酸配列の変化はない。
	<i>pinII</i> ターミネーター	311 ジャガイモ (<i>S. tuberosum</i>) 由来のプロテアーゼインヒビターII 遺伝子 (<i>pinII</i>) のターミネーター領域 (Keil <i>et al.</i> , 1986; An <i>et al.</i> , 1989)。転写を停止する。

- 5 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同一性を有する場合はその旨

a. 目的遺伝子の発現により産生される蛋白質の機能

10

Bt 蛋白質

15 改変 Vip3A 蛋白質、Cry2A.127 蛋白質及び Cry1A.88 蛋白質は Bt 蛋白質（殺虫性蛋白質）である。Bt 蛋白質は一般に害虫の中腸細胞にある特異的な受容体に結合して細胞に小孔を形成し、中腸細胞を破壊することにより殺虫活性を示す (Lee *et al.*, 2003; OECD, 2007; Schnepf *et al.*, 1998)。以下に各 Bt 蛋白質の機能を記載した。

改変 Vip3A 蛋白質：

20 改変 Vip3A 蛋白質をコードする改変 *vip3A* 遺伝子は、トウモロコシでの発現を最適化するため、*B.thuringiensis* AB88 株由来の *vip3A* 遺伝子の塩基配列を改変して得た。改変 Vip3A 蛋白質は、野生型 Vip3A 蛋白質における 129 番目のメチオニンがイソロイシンに、284 番目のリシンがグルタミンに置換されている。

25 改変 Vip3A 蛋白質は、トウモロコシ栽培におけるチョウ目主要害虫であるコーンイヤールーム (Corn earworm、*Helicoverpa zea*)、フォールアーミーワーム (Fall armyworm、*Spodoptera frugiperda*) に殺虫活性を示す。コーンイヤールームに対する LC₅₀ 値 (半数致死濃度) を表 2 (11 ページ) に示した。なお、チョウ目以外の昆虫には殺虫活性を示さないことが報告されている (Raybould *et*

al., 2011)。

Cry2A.127 蛋白質：

5 Cry2A.127 蛋白質をコードする *cry2A.127* 遺伝子は、コーンイヤールームに対する殺虫活性を高めることを目的とし、*B.thuringiensis* (社外秘情報につき非開示) 株由来の (社外秘情報につき非開示) 遺伝子の塩基配列を基に、DNA シャッフリング法¹⁾により得た遺伝子である。

10 本遺伝子は、634 個のアミノ酸からなる Cry2A.127 蛋白質をコードする。Cry2A.127 蛋白質のアミノ酸配列を添付資料 2 (社外秘情報につき非開示) の 1 ページに示した。Cry2A.127 蛋白質は (社外秘情報につき非開示) 蛋白質と (社外秘情報につき非開示) %の相同性を持つ。いずれの蛋白質も、これまでに生物多様性影響評価を経ている Cry2A ファミリーの Bt 蛋白質である。

15 Cry2A.127 蛋白質は、トウモロコシ栽培におけるチョウ目主要害虫であるコーンイヤールーム、ヨーロッパアワノメイガ (*European corn borer, Ostrinia nubilalis*) 及びフォールアーミーワーム等に殺虫活性を示す。コーンイヤールーム及びヨーロッパアワノメイガに対する LC₅₀ 値を表 2 (11 ページ) に示した。なお、チョウ目昆虫以外のコウチュウ目の *Coleomegilla maculata*、ハチ目の *Apis mellifera*、アミメカゲロウ目の *Chrysoperla rufilabris*、ミジンコ目の *Ceriodaphnia dubia* 及びトビムシ目の *Folsomia candida* には活性を示さない (表 20 3、11 ページ)。

Cry1A.88 蛋白質：

25 Cry1A.88 蛋白質をコードする *cry1A.88* 遺伝子は、コーンイヤールームに対する殺虫活性を高めることを目的とし、*B.thuringiensis* (社外秘情報につき非開示) 株由来の (社外秘情報につき非開示) 遺伝子の塩基配列を基に、DNA シャッフリング法 (Crameri *et al.*, 1998; Stemmer, 1994) により得た遺伝子である。本遺伝子は、1,182 個のアミノ酸からなる Cry1A.88 蛋白質をコードする。Cry1A.88 蛋白質のアミノ酸配列を添付資料 2 (社外秘情報につき非開示) の 3 ページに示した。Cry1A.88 蛋白質は (社外秘情報につき非開示) 蛋白質と (社外秘情報につき非開示) %のアミノ酸配列相同性を持つ。いずれの蛋白質も、これまでに生物多様性影響評価を経ている Cry1A ファミリーの Bt 蛋白質である。

30 Cry1A.88 蛋白質は、トウモロコシ栽培におけるチョウ目主要害虫であるコーンイヤールーム、ヨーロッパアワノメイガ及びフォールアーミーワーム等に殺虫活性を示す。コーンイヤールーム及びヨーロッパアワノメイガに対する LC₅₀ 値を表 35 2 (11 ページ) に示した。なお、チョウ目昆虫以外のコウチュウ目の *Coleomegilla*

¹⁾ DNA シャッフリング法; クローニングした遺伝子を DNA 消化酵素で断片化し、プライマーを添加しない PCR により断片同士を結合させる。その後、基となった遺伝子の両端部分をプライマーに用いて PCR を行い、完全長の再構築された遺伝子を得る技術である (Crameri *et al.*, 1998; Stemmer, 1994)。本技術を用いて作出された遺伝子は、既に生物多様性影響評価を経ている DP-356043-5 ダイズや DP-098140-6 トウモロコシに導入されている。

maculata、ハチ目の *Apis mellifera* 及びトビムシ目の *Folsomia candida* には活性を示さない (表 3、11 ページ)。

5

表 2 各 Bt 蛋白質のコーンイヤールーム及びヨーロッパアワノメイガに対する殺虫活性

チョウ目害虫	LC ₅₀ 値 (ng/mg)		
	改変 Vip3A	Cry2A.127 ³⁾	Cry1A.88 ³⁾
コーンイヤールーム	22.29–23.73 ¹⁾	3.5	10
ヨーロッパアワノメイガ	– ²⁾	0.37	0.46

1) Anilkumar *et al.*, 2008

2) 改変 Vip3A 蛋白質は、ヨーロッパアワノメイガに対して殺虫活性を示さない。

3) 社内データ。

10

表 3 Cry2A.127 蛋白質及び Cry1A.88 蛋白質のチョウ目以外の昆虫に対する感受性¹⁾

目	学名	Cry2A.127 蛋白質	Cry1A.88 蛋白質
コウチュウ目	<i>Coleomegilla maculata</i>	感受性なし	感受性なし
ハチ目	<i>Apis mellifera</i>	感受性なし	感受性なし
アミメカゲロウ目	<i>Chrysoperla rufilabris</i>	感受性なし	– ²⁾
ミジンコ目	<i>Ceriodaphnia dubia</i>	感受性なし	– ²⁾
トビムシ目	<i>Folsomia candida</i>	感受性なし	感受性なし

1) Romeis *et al.* (2011) 及び US EPA (2007) を参照し、Cry2A.127 蛋白質及び Cry1A.88 蛋白質をそれぞれ各非標的生物に与えて感受性を調査した。

15

2) データなし。

PAT 蛋白質

20

PAT 蛋白質をコードする *pat* 遺伝子は、トウモロコシでの発現を最適化するため、*S. viridochromogenes* 由来の *pat* 遺伝子の塩基配列を改変した遺伝子である。産生される PAT 蛋白質のアミノ酸配列に変化はない。

25

除草剤グルホシネートは、その活性成分である L-グルホシネートによりグルタミン合成酵素活性を阻害するため、基質であるアンモニアが植物体内に蓄積し植物は枯死する。PAT 蛋白質は、L-グルホシネートをアセチル化し、N-アセチル-L-グルホシネートに変え無毒化することで、植物体にグルホシネートに対する耐性を付与する (OECD, 2002)。除草剤グルホシネートは非選択性の除草剤で、1 剤で幅広い雑草に対して防除効果を示す。

30

b. 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の相同性

5 ネブラスカ大学 Food Allergy Research and Resource Program (FARRP) の
既知アレルゲンデータベース (Release 12 - 2012年2月版) を用いてアミノ酸配
列相同性検索を行った。その結果、改変 Vip3A 蛋白質 (2012年4月検索)、
Cry2A.127 蛋白質 (2012年4月検索)、Cry1A.88 蛋白質 (2012年4月検索)
及び PAT 蛋白質 (2012年2月検索) と相同性を示す既知及び推定アレルゲンは
認められなかった。

10 ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

Bt 蛋白質 :

15 改変 Vip3A 蛋白質、Cry2A.127 蛋白質及び Cry1A.88 蛋白質はいずれも Bt 蛋
白質である。Bt 蛋白質の機能についてはこれまでに多くの研究がなされており、
標的昆虫の中腸細胞にある特異的な受容体に結合して細胞に小孔を形成し、中腸
細胞を破壊することにより殺虫活性を示すと考えられているが (Lee *et al.*, 2003;
OECD, 2007; Schnepf *et al.*, 1998)、酵素活性を有するとの報告はない。

PAT 蛋白質 :

20 PAT 蛋白質は基質特異性を有し、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グ
ルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化する反応を触媒するが、他のアミノ酸や
D-グルホシネートを基質としない (OECD, 1999)。

25 以上のことから、これら蛋白質が宿主の持つ代謝系を変化させる可能性は低い。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

30 本組換えトウモロコシの作出に用いたベクターはプラスミド PHP36682 であり
(図 1、14 ページ)、アグロバクテリウム (*Agrobacterium tumefaciens*) LBA4404
株由来のプラスミド pSB1 から作製された。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

5

プラスミド PHP36682 の塩基数は 67,097bp であり、T-DNA 領域塩基数は 24,167 bp で、その塩基配列は添付資料 1 の Appendix1（社外秘情報につき非開示）に示したとおりである。

10 ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

15

プラスミド PHP36682 の外側骨格領域には、選抜マーカーとして抗生物質スペクチノマイシン耐性 (*spc*) 遺伝子及びテトラサイクリン耐性 (*tet*) 遺伝子が含まれる。これら遺伝子は、微生物中でベクターを増殖させる際、形質転換プラスミドを含む微生物を選抜するために必要なマーカーとして機能する。しかしながら、これら抗生物質耐性遺伝子は、T-DNA 領域の外側に位置するため、宿主には導入されない。実際に、T0 世代（図 3、16 ページ）の葉から抽出したゲノム DNA を用い、外側骨格 5 領域（LB、*spc*、*tet*、*virG*、RB）を対象とした PCR 法により抗生物質耐性遺伝子を含むこれらの領域が本組換えトウモロコシに導入されていないことを確認した（添付資料 1 の Appendix2；社外秘情報につき非開示）。

20

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

25

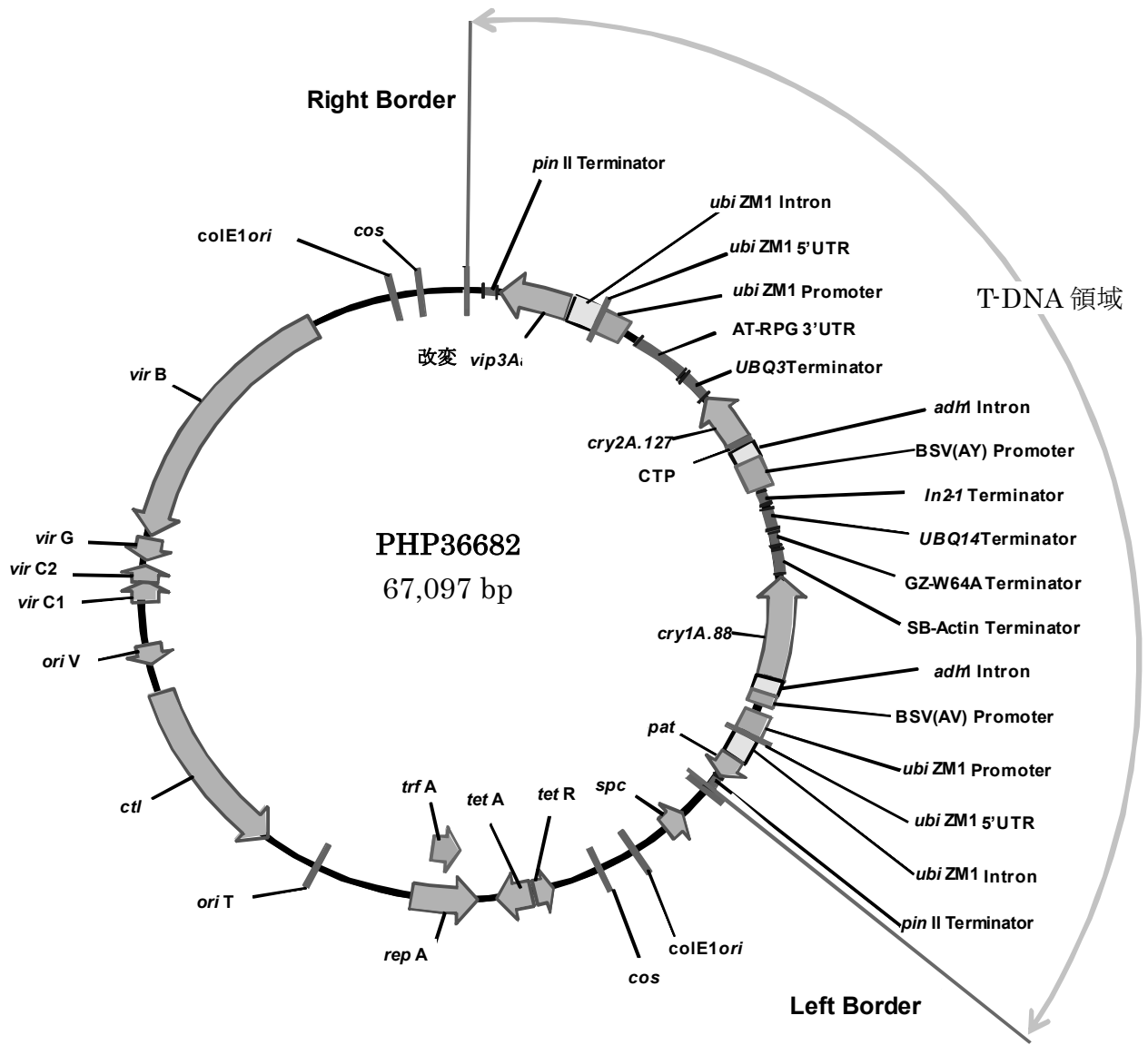
用いたベクターに感染性はない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

30

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

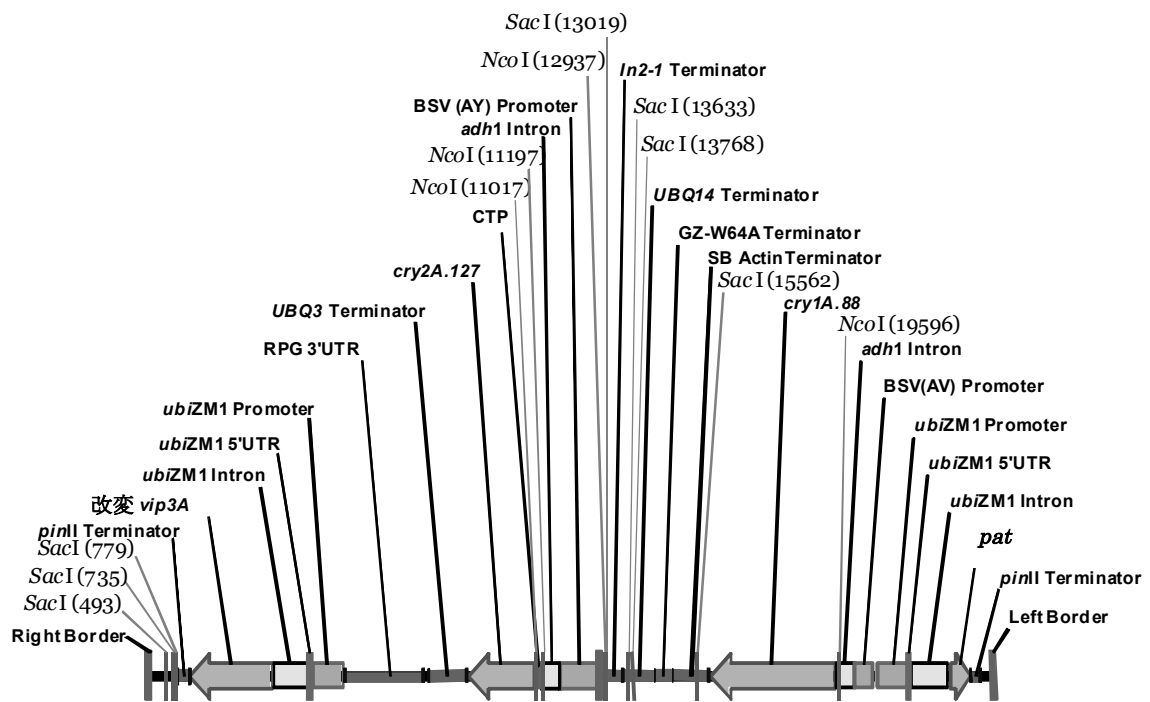
本組換えトウモロコシの作出に用いた供与核酸の構成及び制限酵素による切断部位を図 2（15 ページ）に示した。



5

図 1 プラスミド PHP36682 における供与核酸の構成及び制限酵素切断部位

10



T-DNA PHP36682

24,167 bp

5

図 2 T-DNA 領域における供与核酸の構成及び制限酵素による切断部位

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主内への核酸の移入には、アグロバクテリウム法を用いた。

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抜方法

10 核酸が移入された細胞は、除草剤ビアラホスを添加した培地で胚を生育させることにより選抜した。なお、PAT 蛋白質を産生する細胞の選抜には除草剤ビアラホス及びグルホシネートのいずれも利用可能であるが、除草剤ビアラホスはより効果的に目的とする細胞を選抜することができる (Dennehey *et al.*, 1994)。本組換えトウモロコシ作出には、除草剤ビアラホスを用いた。

15 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

20 上述①の培地にカルベニシリンを添加し、アグロバクテリウムを除去した。さらに、プラスミド PHP36682 の外側骨格領域は本組換えトウモロコシのゲノムには導入されていないことが確認されており (添付資料 1 の Appendix2 ; 社外秘情報につき非開示)、アグロバクテリウムの菌体の残存はないと考えられる。

25 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

30 本組換えトウモロコシの育成経過は図 3 (16 ページ) のとおりであり、本図中に、該当する系統及び本申請における承認対象の範囲を示した。承認対象の範囲は、T1 世代以降である。

(社外秘情報につき非開示)

35 図 3 本組換えトウモロコシの育成経過

(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、植物染色体に取り込まれると、メンデルの法則に従い分離する。各導入遺伝子の分離比を検討するため、2011年及び2012年に米国の温室で栽培した本組換えトウモロコシのBC1F1、BC2F1及びF1*1世代(図3、16ページ)2葉期の葉からゲノムDNAを抽出し、改変*vip3A*遺伝子、*cry2A.127*遺伝子、*cry1A.88*遺伝子及び*pat*遺伝子の遺伝子特異的プライマーごとにPCR分析を行った(添付資料1のAppendix3;社外秘情報につき非開示)。

10 その結果、いずれのプライマーにおいても、遺伝子が導入されている個体(陽性個体)と遺伝子が導入されていない個体(陰性個体)の数が一致し、導入遺伝子が共分離していることが確認された。全プライマーにおける結果を一括して表4(17ページ)に記載した。BC1F1世代及びBC2F1世代の分離比は、期待される分離比1:1に適合したことから、導入遺伝子の複製物が染色体上に存在することが確認された。なお、F1*1世代は、期待されたとおり全て陽性個体であった。

表4 PCR分析を指標とした導入遺伝子の分離比

世代	サンプル数	分析結果 ¹⁾		χ^2 値 ²⁾
		陽性	陰性	
BC1F1	100	51	49	0.04
BC2F1	43	21	22	0.02

1) BC1F1世代及びBC2F1世代の期待される分離比は1:1。

20 2) χ^2 値は5%水準における棄却限界値(3.84)より小さく、帰無仮説は棄却されないため、統計学的有意差はないと判断される。

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

25 T1世代(図3、16ページ)のサザンブロット分析並びにBC1F1世代及びBC2F1世代(図3、16ページ)における定量PCR分析により、ゲノム中にT-DNAが1コピー移入され、後代に安定して伝達されていることが確認された(添付資料1のAppendix4;社外秘情報につき非開示)。

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

—

35

- 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

2011 年及び 2012 年に米国の温室で栽培した本組換えトウモロコシ BC1F1 及び BC2F1 世代 (図 3、16 ページ) 9 葉期の葉を用いた ELISA 法による分析で、いずれの個体にも改変 Vip3A 蛋白質、Cry2A.127 蛋白質、Cry1A.88 蛋白質及び PAT 蛋白質の全てが産生されていることが確認され、発現の安定性が認められた (表 5、18 ページ ; 添付資料 1 の Appendix5 ; 社外秘情報につき非開示)。

表 5 各蛋白質の産生量

(ng / mg 乾物重)

世 代*		改変 Vip3A 蛋白質	Cry2A.127 蛋白質	Cry1A.88 蛋白質	PAT 蛋白質
BC1F1	平均値±標準偏差	40 ± 8.3	47 ± 8.9	14 ± 3.0	81 ± 11
	最小値 - 最大値	23 - 58	26 - 59	7.8 - 20	59 - 100
BC2F1	平均値±標準偏差	40 ± 8.6	53 ± 15	15 ± 2.9	81 ± 10
	最小値 - 最大値	26 - 54	33 - 96	9.6 - 20	66 - 100

※ 本組換えトウモロコシ (陽性個体) n = 15。

- 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

移入された核酸は伝達を可能とする配列を含まないため、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

- (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

検出及び識別の方法 :

本組換えトウモロコシの検出及び識別は、抽出した DNA を用いて PCR 分析を行う。プライマー及び分析条件は以下のとおりである (添付資料 3 ; 社外秘情報につき非開示)。

- ・ 特異的プライマー対 : *cry1A.88* 遺伝子と SB-アクチンターミネーターのそれぞれに結合するプライマー。増幅産物のサイズは 270 bp。
- ・ 内在性遺伝子プライマー対 (陽性対照) : トウモロコシ内在性インベルターゼ遺伝子 (Genbank accession AF171874.1) に結合する 2 つのプライマー。増幅産物のサイズは 225 bp。
- ・ アニーリング温度 : 65 °C
- ・ サイクル数 : 35 回

なお、本組換えトウモロコシの商品化までに、系統特異的な識別方法を開発する予定である。

5 感度：

10 本組換えトウモロコシ又は非組換えトウモロコシから抽出した DNA の混合物 50 ng を用いた PCR 分析における、混合物中の本組換えトウモロコシ由来 DNA の検出限界量は 20 pg であった（添付資料 3；社外秘情報につき非開示）。したがって、本法の感度は 0.04 %（20 pg / 50 ng）と考えられた。

信頼性：

15 本組換えトウモロコシ又は非組換えトウモロコシ各 5 個体を用いた PCR 分析で再現性が得られている（添付資料 3；社外秘情報につき非開示）。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

20 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

25 本組換えトウモロコシに付与された特性は、改変 *vip3A* 遺伝子、*cry2A.127* 遺伝子及び *cry1A.88* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性、*pat* 遺伝子による除草剤グルホシネート耐性である。

30 本組換えトウモロコシにチョウ目害虫抵抗性の形質が付与されたことを確認するため、コーンイヤークワーム、ヨーロッパアワノメイガ及びフォールアーミーワームによる食害の程度を調査した。2011 年に米国・テネシー州のほ場で栽培した本組換えトウモロコシ F1*2 世代（図 3、16 ページ）について、コーンイヤークワームによる穂の食害を調査した。2011 年に米国・イリノイ州のほ場で栽培した本組換えトウモロコシ F1*2 世代について、ヨーロッパアワノメイガの食害による茎の穿孔距離を調査した。加えて、2011 年に米国・アイオワ州のほ場で栽培した本組換えトウモロコシ F1*2 世代について、フォールアーミーワームによる葉の食害を目視により調査した。

35 また、本組換えトウモロコシに除草剤グルホシネートに対する耐性の形質が付与されたことを確認するため、2012 年に米国の温室で栽培した本組換えトウモロコシ BC1F1 世代（図 3、16 ページ）について、播種 13 日後に除草剤グルホシネート 0.45kg a.i.²⁾/ha（通常量）を散布し、散布 7 日後に耐性の有無を目視により

²⁾ active ingredient（活性主成分）

調査した。

5 その結果、本組換えトウモロコシは上記のチョウ目害虫に対する抵抗性及びグルホシネートに対する耐性を有することが確認された（表 6、20 ページ；添付資料 1 の Appendix6；社外秘情報につき非開示）。

表 6 本組換えトウモロコシに付与された特性の調査結果

調査項目		本組換え トウモロコシ	非組換え トウモロコシ
コーンイヤークワームに対する抵抗性 (2011年、米国ほ場) 1)	平均値±標準偏差	0.6 ± 1.4	16.9 ± 15.5
	最小値 - 最大値	0 - 4.5	1.8 - 77.0
ヨーロッパアワノメイガに対する抵抗性 (2011年、米国ほ場) 2)	平均値±標準偏差	0.5 ± 1.1	21.7 ± 9.1
	最小値 - 最大値	0 - 3	8 - 45
フォールアーミーワームに対する抵抗性 (2011年、米国ほ場) 3)	平均値±標準偏差	9 ± 0	5 ± 1.4
	最小値 - 最大値	NA 5)	3 - 9
グルホシネート耐性 (2012年、米国温室) 4)		あり (葉害なし)	なし (葉害あり又は枯死)

- 1) 本組換えトウモロコシ n= 15、非組換えトウモロコシ n= 30。コーンイヤークワームによる穂の食害を計測し、合計した（単位：cm²）。
- 10 2) 本組換えトウモロコシ n= 10、非組換えトウモロコシ n= 20。ヨーロッパアワノメイガの食害による茎の穿孔距離を計測し、合計した（単位：cm）。
- 3) 本組換えトウモロコシ n= 15、非組換えトウモロコシ n= 30。フォールアーミーワームによる葉の食害を、Davis (1992) に記載された 9 段階指標を基にパイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社が作成した判定基準（1：ほとんどの葉に食害あり～9：食害なし又は針穴程度の食害、
- 15 添付資料 1 の Appendix6 Table1；社外秘情報につき非開示 参照）で調査した。
- 4) 本組換えトウモロコシ（陽性個体）n= 51、非組換えトウモロコシ n= 157。
- 5) 最小値と最大値が同値であり、範囲は示されない。
- 20 ② 以下に掲げる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

25 本組換えトウモロコシの宿主は非組換えトウモロコシ系統 PHWWE であり、導入遺伝子は改変 *vip3A* 遺伝子、*cry2A.127* 遺伝子、*cry1A.88* 遺伝子及び *pat* 遺伝子である。本組換えトウモロコシには、Bt 蛋白質である改変 Vip3A 蛋白質、Cry2A.127 蛋白質及び Cry1A.88 蛋白質が産生されることにより、コーンイヤークワーム等のチョウ目害虫に対する抵抗性が付与され、PAT 蛋白質が産生されることにより、除草剤グルホシネート耐性が付与されている。

我が国には、宿主であるトウモロコシと交雑可能な野生種及び雑草性のある交雑可能な植物種は存在しない。

5 Bt 蛋白質の機能について数多くの研究がなされているが (OECD, 2007)、Bt 蛋白質が酵素活性を有することを示す報告はない。一方、PAT 蛋白質は酵素活性を有し、L-グルホシネートの遊離アミノ基をアセチル化するが、基質特異性を有し、他のアミノ酸や D-グルホシネートは基質としない (第一.2. (1) .ロ.③、12 ページ)。

10 以上のことから、本組換えトウモロコシに産生されるこれら Bt 蛋白質及び PAT 蛋白質が、宿主の代謝経路を変化させることは考え難く、このため宿主の形態及び生育の特性等に影響を与える可能性は低いと考えられる。また、これら Bt 蛋白質及び PAT 蛋白質はそれぞれ機能が異なるため、相互に影響する可能性も考え難い。したがって、意図したチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性の特性を除き、本組換えトウモロコシは従来のトウモロコシの種としての範囲を超えるものではないと考えられる。

20 このため、隔離ほ場試験を行うに当たっては、本組換えトウモロコシの生理学的又は生態学的特性についてのデータを用いなくても、生物多様性影響評価を行うことが可能であると考えられる。

本組換えトウモロコシの隔離ほ場試験では、以下の生理学的及び生態学的特性に関する項目を調査する予定である。

- 25
- ・形態及び生育の特性
 - ・生育初期における低温耐性
 - ・成体の越冬性
 - ・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
- 30
- ・有害物質の産生性

なお、隔離ほ場における栽培では、除雄又は雄穂の袋がけを行うことにより花粉をほ場外に飛散させない措置をとり、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網を設置し、栽培終了後には鋤込みを行う。

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

5 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：栃木県宇都宮市清原工業団地 19-2

10 名称：デュポン株式会社 宇都宮事業所 隔離ほ場

使用期間：承認日から平成 28 年 3 月 31 日まで

隔離ほ場の施設

- 15
- 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。
 - 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。
 - ④ 本遺伝子組換えトウモロコシの種苗が、野鳥等の食害により拡散することを防止するため、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網を設置する。

25 隔離ほ場での作業要領

- ① 本遺伝子組換えトウモロコシ及び比較対照の非遺伝子組換え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必要最小限に抑える。
- 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。
- 30 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非遺伝子組換え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、意図せずに本遺伝子組換えトウモロコシが隔離ほ場の外に
- 35 持ち出されることを防止する。
- 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。
- 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。
- 40 ⑦ ①から⑥まで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。

5

(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

—

10

(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

緊急措置計画書を参照。

15

(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

—

20

(6) 国外における使用等に関する情報

25

米国では 2009 年から 2012 年の間に 197 箇所、カナダでは 2011 年に 2 箇所及びチリでは 2010 年から 2011 年の間に 11 箇所のほ場において、ほ場試験実施の通知をそれぞれ米国農務省 (USDA)、カナダ食品検査庁 (CFIA) 及びチリ農業牧畜局 (SAG) に行い栽培を行ったが、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間で、生物多様性に影響を与えるような相違は報告されていない。

30

なお、我が国においては、隔離ほ場試験終了後に「食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為」における第一種使用の申請を行う予定である。その他、食品としての安全性確認申請を厚生労働省に、飼料としての安全性の確認申請を農林水産省に行う予定である。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 第一.2. (6) .② (20 ページ) に記載したとおり、宿主及び導入遺伝子由来蛋白質の特性を考慮し、隔離ほ場試験を行うに当たっては、本組換えトウモロコシの生理学的又は生態学的特性についてのデータを用いなくても、生物多様性影響評価を行うことが可能であると考えた。

1 競合における優位性

10 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国においてトウモロコシが自生することは報告されていない。

15 本組換えトウモロコシに付与された特性は、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性である。これまでもチョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性を有するトウモロコシが承認されており、Bt 蛋白質及び PAT 蛋白質が宿主の代謝経路を変化させるとの報告はない。このことより、本組換えトウモロコシに付与された Bt 蛋白質（改変 Vip3A 蛋白質、Cry2A.127 蛋白質及び Cry1A.88 蛋白質）及び PAT 蛋白質が生理学的及び生態学的特性（形態及び生育の特性、生育初期における低温又は高温耐性、成体の越冬性又は越夏性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、並びに休眠性及び発芽率）に影響を及ぼすことはないと考えられる。したがって、本組換えトウモロコシの上記生理学的及び生態学的特性は、従来のトウモロコシの種としての範囲を超えるものではないと考えられる。

25 また、本組換えトウモロコシにはチョウ目害虫に対する抵抗性が付与されているが、チョウ目昆虫による食害はトウモロコシが我が国の自然環境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、本特性の付与が本組換えトウモロコシを自然環境で自生させ、さらに競合における優位性を高めるとは考え難い。また、除草剤グルホシネートに対する耐性も付与されているが、自然環境下では本除草剤が散布されることは想定され難い。したがって、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性の特性を有することにより、本組換えトウモロコシにおいて競合における優位性を高めるとは考えられない。

35 以上、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に付随する行為の範囲内では、競合における優位性に起因して生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

5

(3) 影響の生じやすさの評価

—

10 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

15 以上、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に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

20 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

トウモロコシが野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

25 本組換えトウモロコシ中には、改変 Vip3A 蛋白質、Cry2A.127 蛋白質、Cry1A.88 蛋白質及び PAT 蛋白質が産生される。これら蛋白質と既知アレルゲンとの間でアミノ酸配列の相同性は認められていない（第一.2. (1) .ロ.②、9 ページ）。

30 PAT 蛋白質の野生動植物に対する影響については数多くの研究が行われているが、有害性を示すとの報告はない（ILSI, 2011; OECD, 1999）。また、本組換えトウモロコシ中には、除草剤グルホシネート散布時、PAT 蛋白質により *N*-アセチルグルホシネートが産生されるが、グルホシネートの代謝物である *N*-アセチルグルホシネートは、農薬取締法の下、安全性評価が行われ、トウモロコシの残留基準値（0.1ppm）の対象化合物に含まれている。

35 本組換えトウモロコシに産生されるこれら Bt 蛋白質は、チョウ目害虫に対して殺虫活性を示す。したがって、本組換えトウモロコシを隔離ほ場で栽培した場合、花粉の飛散により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。チョウ目昆虫のうち、環境省の第4次レッドリスト³⁾に絶滅危惧種及び準絶滅危惧種として掲載されているチョウ目昆虫は196種である。このうち、チョウ目害虫抵抗性トウモロコシが栽培された場合にその飛散した花粉を幼虫期に食餌して影響を受ける可能性がある種を特定するため、山本ほか(2002)の評価手法を参考にし、1) 農耕地帯周辺で幼虫期に植物を食餌し、2) 幼虫の活動期がトウモロコシの開花期(5月下旬から10月下旬(山本ほか, 2002))と重複する可能性がある種を検討した。その結果、これらの条件を満たすチョウ目昆虫として、30種を特定した(添付資料4)。さらに、残りの166種中69種については生息域又は幼虫の活動期に関する情報が不足していた(添付資料4)。

5

10

以上のことから、影響を受ける可能性のあるチョウ目昆虫として、絶滅危惧種及び準絶滅危惧種から99種を特定した。

(2) 影響の具体的内容の評価

15

改変 Vip3A 蛋白質の標的害虫であるコーンイヤールームに対する LC₅₀ 値は、22.29 - 23.73 ng/mg である。本蛋白質はヨーロッパアワノメイガに対しては殺虫活性を示さない。Cry2A.127 蛋白質の標的害虫であるコーンイヤールーム及びヨーロッパアワノメイガに対する LC₅₀ 値は、それぞれ 3.5ng/mg 及び 0.37ng/mg である。Cry1A.88 蛋白質の標的害虫であるコーンイヤールーム及びヨーロッパアワノメイガに対する LC₅₀ 値は、それぞれ 10ng/mg 及び 0.46ng/mg である(第一.2. (1) .ロ.②、9 ページ)。

20

(3) 影響の生じやすさの評価

25

(1) で特定されたチョウ目昆虫 99 種について、本組換えトウモロコシを隔離ほ場で栽培した場合、花粉の飛散により影響を受ける可能性について評価した。その結果、これらチョウ目昆虫の生息地や食草はトウモロコシの栽培ほ場周辺に限定されるものとは考えられず、これらチョウ目昆虫がトウモロコシの栽培ほ場周辺に局所的に生息している可能性は極めて低いと考えられた。また、我が国及び北米における調査では、トウモロコシ栽培ほ場周辺に堆積する花粉量は、ほ場から 10m 離れると極めて低い値となる (≤ 10 粒/cm²; Shirai and Takahashi, 2005; Hansen-Jesse and Obrycki, 2000)。さらに、本隔離ほ場における栽培では、除雄又は雄穂の袋がけを行うことにより、花粉をほ場外に飛散させない措置をとる。したがって、本組換えトウモロコシからの花粉飛散によるチョウ目昆虫種の個体群レベルの影響は低いと考えられた。また、本隔離ほ場における栽培では、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網の設置を行い、栽培終了後には鋤込みを行うため、植物体及び種子がほ場外に漏出する可能性も考え難い。

30

35

³⁾ 環境省第4次レッドリスト http://www.biodic.go.jp/rdb/rl2012/RL2012siryo7_1.pdf

以上のことから、本隔離ほ場外におけるチョウ目昆虫種が、個体群レベルで本組換えトウモロコシによる影響を受ける可能性は低いと考えられた。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

5

以上、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に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はないと判断された。

10

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

15

宿主であるトウモロコシが、我が国において野生化した事例はなく、また交雑可能な近縁野生種であるテオシント及び *Tripsacum* 属の自生も報告されていない。このため、本組換えトウモロコシの交雑性に起因して生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

20

(2) 影響の具体的内容の評価

—

25

(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

30

以上、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に付随する行為の範囲内では、交雑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。

35

4 その他の性質

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性質はないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

5 第一.2.(6).②(20ページ)に記載したとおり、宿主及び導入遺伝子由来蛋白質の特性を考慮し、隔離ほ場試験を行うに当たっては、本組換えトウモロコシの生理学的又は生態学的特性についてのデータを用いなくても、生物多様性影響評価を行うことが可能であると考えた。

10 トウモロコシは、我が国において長年にわたり使用されてきたが、これまでに我が国において野生化し、野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼしたという報告はない。また、我が国にトウモロコシと交雑可能な野生植物はなく、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

15 本組換えトウモロコシに付与された Bt 蛋白質(改変 Vip3A 蛋白質、Cry2A.127 蛋白質及び Cry1A.88 蛋白質)及び PAT 蛋白質が、宿主の代謝経路を変化させる可能性は低く、害虫抵抗性及び除草剤耐性の特性が形態及び生育の特性、生育初期における低温又は高温耐性、成体の越冬性又は越夏性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、並びに休眠性及び発芽率の生理学的又は生態学的特性に影響を及ぼすとは考え難い。

20 本組換えトウモロコシには、チョウ目害虫に対する抵抗性が付与されているが、この特性の付与が本組換えトウモロコシを自然環境中で自生させ、さらに競合における優位性を高めるとは考え難い。また、除草剤グルホシネートに対する耐性も付与されているが、自然環境下でこれら除草剤が散布されることは想定され難い。

25 したがって、これらの特性が付与されていても、本組換えトウモロコシ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。

従来、トウモロコシが野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

30 本組換えトウモロコシ中に産生されるこれら Bt 蛋白質は、コーンイヤールーム等のチョウ目害虫に対して殺虫活性を示す。一方、PAT 蛋白質は、野生動植物に対する有害性は報告されていない。したがって、本組換えトウモロコシを隔離ほ場で栽培した場合、花粉の飛散により影響を受ける可能性のある野生動植物等として、我が国に生息する絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫 99 種を特定した。しかしながら、これらチョウ目昆虫種の生息地や食草はトウモロコシの栽培ほ場周辺に限定されるものとは考えられず、これらチョウ目昆虫が本隔離ほ場周辺に局所的に生息する可能性は極めて低いと考えられた。

40 また、トウモロコシのほ場周辺に堆積する花粉量は、ほ場から 10m 離れると極めて低い (≤ 10 粒/cm²)。さらに、本隔離ほ場における栽培では、除雄又は雄穂の袋がけを行うことにより、花粉をほ場外に飛散させない措置をとる。加えて、本

隔離ほ場における栽培では播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網の設置を行い、栽培終了後には鋤込みを行うため、植物体及び種子がほ場外に漏出する可能性は考え難い。したがって、花粉の飛散によりチョウ目昆虫種が、個体群レベルで本組換えトウモロコシによる影響を受ける可能性は低いと考えられた。

- 5 これらのことから、本組換えトウモロコシ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。

- 10 以上、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に付随する行為の範囲内では、我が国における生物多様性影響を生ずるおそれはないと総合的に判断された。

参考文献

- An, G., Mitra, A., Choi, H.K., Costa, M.A., An, K., Thornburg, R.W. and Ryan, C.A. (1989). Functional Analysis of the 3' Control Region of the Potato Wound-Inducible Proteinase Inhibitor II Gene. *Plant Cell* 1: 115-122.
- Anilkumar, K.J., Rodrigo-Simon, A., Ferre, J., Pusztai-Carey, M., Sivasupramaniam, S. and Moar, W.J. (2008). Production and Characterization of *Bacillus thuringiensis* Cry1Ac-Resistant Cotton Bollworm *Helicoverpa zea* (Boddie). *Applied and Environmental Microbiology*. (74): 462-469.
- Callis, J., Carpenter, T., Sun, C.W. and Vierstra, R.D. (1995). Structure and evolution of genes encoding polyubiquitin and ubiquitin-like proteins in *Arabidopsis thaliana* ecotype Columbia. *Genetics*. 139(2): 921-939.
- CFIA (Canadian Food Inspection Agency). (1994). The biology of *Zea mays* (L.). (<http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dir/dir9411e.pdf>) Accessed on February 8th, 2012.
- Christensen, A.H., Sharrock, R.A., and Quail, P.H. (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.
- Cramer, A., Raillard, S-A., Bermudez, E. and Stemmer, W.P.C. (1998). DNA shuffling of a family of genes from diverse species accelerates directed evolution. *Nature*. 391: 288-291.
- Davis, F.M., Ng, S.S., Williams, W.P. (1992). Visual rating scales for screening whorl-stage corn for resistance to fall armyworm. Mississippi. Agricultural And Forestry Experiment Station Technical Bulletin 186, December 1992.
- Dennehey, B. K., Petersen, W. L., Ford-Santino, C., Pajean, M. and Armstrong, C. L. (1994). Comparison of selective agents for use with the selectable marker gene bar in maize transformation. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 36: 1-7.

- Dennis, E.S., Gerlach, W.L., Pryor, A.J., Bennetzen, J.L., Inglis, A., Llewellyn, D., Sachs, M.M., Ferl, R.J. and Peacock, W.J. (1984). Molecular analysis of the alcohol dehydrogenase (*adh1*) gene of maize. *Nucleic Acids Research*. 12(9): 3983-4000.
- 5
- Estruch, J.J., Warren, G.W., Mullins, M.A., Nye, G.J., Craig, J.A. and Koziel, M.G. (1996). Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 93(11): 5389-5394.
- 10
- FAO. (2012). FAOSTAT. (<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>)
Accessed on March 12th, 2012.
- Hansen-Jesse, L.C. and Obrycki. J. J. (2000). Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*. 125: 241-248.
- 15
- ILSI. (2011). A Review of the Environmental Safety of the PAT Protein: Center for Environmental Risk Assessment, ILSI Research Foundation.
(http://cera-gmc.org/docs/cera_publications/pub_05_2011.pdf)
Accessed on August 1st, 2012.
- 20
- Keil, M., Sanches-Serrano, J., Schell, J. and Willmitzer, L. (1986). Primary structure of a proteinase inhibitor II gene from potato (*Solanum tuberosum*). *Nucleic Acids Research*. 14(14): 5641-5650.
- 25
- 菊池一徳. (1987). トウモロコシの生産と利用. 株式会社 光琳. pp.16-17, p.55, pp. 66-68.
- Lheureux, F., Laboureau, N., Muller, E., Lockhart, B.E. and Iskra-Caruana, M.L. (2007). Molecular characterization of banana streak acuminata Vietnam virus isolated from *Musa acuminata siamea* (banana cultivar). *Archives of Virology*. 152(7): 1409-1416.
- 30
- Lee, M.K., Walters, F.S., Hart, H., Palekar, N. and Chen J.S. (2003). The Mode of Action of the *Bacillus* Protein Vip3A Differs from That of Cry1Ab δ -Endotoxin. *Applied and Environmental Microbiology*. 69: 4648-4657.
- 35
- 中村茂文. (2001). トウモロコシ・生育のステージと生理、生態、トウモロコシの品種生態. 転作全書第三巻. 雑穀. 農文協. 東京. pp.42-43, p.98.
- 40

農林水産省. (2012). 平成 23 年産飼肥料作物の作付（栽培）面積.
(http://www.maff.go.jp/j/tokei/pdf/menseki_siryoku_11.pdf)
Accessed on April 6th, 2012.

5 OECD. (1999). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology
No. 11: Consensus document on general information concerning the genes
and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide.
ENV/JM/MONO(99)13.
(<http://www.zhb.gov.cn/download/5198.pdf>)
10 Accessed on June 26th, 2012.

OECD. (2002). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology,
No. 25. MODULE II: PHOSPHINOTHRICIN. ENV/JM/MONO(2002)14.
(<http://www.oecd.org/dataoecd/17/39/46815748.pdf>)
15 Accessed on June 26th, 2012.

OECD. (2003). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology,
No. 27: Consensus Document of the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize).
ENV/JM/MONO(2003)11.
20 (<http://www.oecd.org/dataoecd/17/40/46815758.pdf>)
Accessed on June 26th, 2012.

OECD. (2007). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in
Biotechnology, No.42. Consensus Document on Safety Information on
25 Transgenic Plants Expressing *Bacillus Thuringiensis* - Derived Insect
Control Proteins. ENV/JM/MONO(2007)14.
(<http://www.oecd.org/dataoecd/36/61/46815888.pdf>)
Accessed on June 26th, 2012.

30 Pleasants, J.M., Hellmich, R.L., Dively, G.P., Sears, M.K., Stanley-Horn, D.E.,
Mattila, H.R., Foster, J.E., Clark, P and Jones, G. D. (2001). Corn pollen
deposition on milkweeds in and near cornfields. *Proceedings of the National
Academy of Sciences*. 98(21): 11919-11924.

35 Raybould. A. and Vlachos. D. (2011). Non-target organism effects tests on Vip3A
and their application to the ecological risk assessment for cultivation of
MIR162 maize. *Transgenic Research* 20: 599-611.

- Romeis, J., Hellmich, R., Candolfi, M., Carstens, K., De Schrijver, A., Gatehouse, A., Herman, R., Huesing, J., McLean, M., Raybould, A., Shelton, A. and Waggoner, A. (2011). Recommendations for the design of laboratory studies on non-target arthropods for risk assessment of genetically engineered plants. *Transgenic Research* 20: 1-22.
- 5
- Schnepf, E., Crickmore, N., Van Rie, J., Lereclus, D., Baum, J., Feitelson, J., Zeigler, D.R. and Dean, D.H. (1998). *Bacillus thuringiensis* and its pesticidal crystal proteins. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*. 62 (3): 775-806.
- 10
- Shirai, Y. and Takahashi, M. (2005). Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudozizeeria maha*. *Applied Entomology and Zoology*. 40(1): 151-159.
- 15
- Stemmer, W.P.C. (1994). DNA shuffling by random fragmentation and reassembly: In vitro recombination for molecular evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 91: 10747-10751.
- 20
- 戸澤英男. (2005). トウモロコシ—歴史・文化、特性・栽培、加工・利用—. 農文協. pp.58-59, p.88, pp.127-130.
- US EPA. (2007). White Paper on Tier-Based Testing for the Effects of Proteinaceous Insecticidal Plant-Incorporated Protectants on Non-Target Arthropods for Regulatory Risk Assessments. USDA-APHIS and US Environmental Protection Agency. (<http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/pips/non-target-arthropods.pdf>) Accessed on July. 31, 2012.
- 25
- 30 Wohleben, W., Arnold, W., Broer, I., Hillemann, D., Strauch, E. and Puhler, A. (1988). Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene*. 70(1): 25-37.
- 35
- 山本勝利, 大黒俊哉, 松村雄. (2002). わが国における鱗翅目のレッドリスト掲載種への Bt トウモロコシ花粉の影響評価. 独立行政法人農業環境技術研究所(編) 農業環境研究叢書 第 14 号. 独立行政法人農業環境技術研究所. pp.62-81.

財務省. (2012). 財務省貿易統計.

(<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>)

Accessed on March. 12th, 2012.

緊急措置計画書

平成 24 年 8 月 9 日

5

氏名 デュポン株式会社
代表取締役社長 天羽 稔
住所 東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

10

15 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（改変 *vip3A*, *cry2A.127*, *cry1A.88*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (186165, OECD UI: DP-186165-2) (以下「本組換えトウモロコシ」という。) について、今後、科学的根拠に基づき、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は、当該影響を効果的に防止するため、以下の措置をとることとする。

20

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

25

第一種使用等を行う栽培試験責任者は、弊社内に設置されている生物多様性影響管理委員会に報告を行う。また、弊社内に緊急措置に適切に対応するための危機対策本部を速やかに設置する。危機対策本部は、社長を本部長とし、管理部門（法務部及び財務部、安全衛生環境部、人事部、総務部、広報部、バイオテクノロジー事業部）の部門長等から構成される。危機対策本部が、生物多様性影響管理委員会、栽培試験責任者及び本組換えトウモロコシの開発者である米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社との円滑な連絡を確保する。

(個人名・所属は個人情報につき非開示)

2 第一種使用等の状況の把握の方法

5 第一種使用等を行っている栽培試験者が、第一種使用等の状況に関して可能な限り
5 情報収集を行う。

3 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
10 内容を周知するための方法

10

本組換えトウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的
的根拠に基づき認められた場合には、栽培試験者に伝える。

15 また必要に応じて、ホームページ等、日本国内の適切な媒体を通して、本件につい
15 て通知する。

4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置をとり、その使用等を継続する
20 ための具体的な措置の内容

20

科学的根拠に基づき、本組換えトウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与える
おそれがあると認められた場合には、直ちに栽培試験を中止し、本組換えトウモロコ
シを隔離ほ場内において鋤込む等、不活化又は拡散防止のための必要な措置を取る。

25

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

30 科学的根拠に基づき、本組換えトウモロコシが我が国の生物多様性に影響を与える
おそれがあると認められた場合には、速やかに農林水産省消費・安全局農産安全管理
30 課及び環境省自然環境局野生生物課に連絡するとともに、緊急措置対応のための体制
及び連絡窓口を報告する。

付属提出資料リスト

添付資料 1. 社外秘情報につき非開示

添付資料 2. 社外秘情報につき非開示

5 添付資料 3. 社外秘情報につき非開示

添付資料 4. 影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫一覧

I. 隔離ほ場の所在地等

5 1. 名称

デュポン株式会社 宇都宮事業所 隔離ほ場

2. 住所

10

栃木県宇都宮市清原工業団地 19-2

3. 連絡先電話番号

15

03-5521-2476 (デュポン株式会社 バイオテクノロジー事業部)
028-667-5211 (デュポン株式会社 宇都宮事業所)

4. 地図

20

別紙 1 参照

II. 責任者等

1. 隔離ほ場試験の責任者、隔離ほ場の管理責任者

25

(個人名・所属は個人情報につき非開示)

III. 試験期間

30

承認日から平成 28 年 3 月 31 日まで

IV. 施設概要

35

部外者の立入りを禁止するためのフェンス、立入禁止であること及び管理責任者を明示するための標識、機械、器具又は靴等に付着した遺伝子組換え農作物を洗浄するための洗い場、大雨による農作物の流出を防ぐための側溝を設置している。

V. 面積

1. 隔離ほ場全体の面積

5

1904.5 m²

2. 試験に使用する面積

10

337.9 m²

3. 試験区の配置図

図 4 及び図 5 (40 及び 41 ページ) 参照

15

VI. 隔離ほ場の周辺環境

1. 隔離ほ場周辺の地形

20

隔離ほ場の標高は約 120m である。ほ場の北東及び北西約 1km にそれぞれ刈沼川及び四ヶ字用水が、また北西 2km に鬼怒川があり、これらの標高は約 100m である (別紙 1)。

2. 土地利用状況

25

隔離ほ場は、清原工業団地の中央に位置する。清原工業団地は、南北 3.1 km、東西 1.6 km、総面積 3.9 km² である。

3. 周辺の環境保護区

30

環境省の定める自然保護地域 (国立公園、国定公園、原生自然環境保全地域、自然環境保全地域等) のうち、隔離ほ場から最も近いのは、35km 離れた日光国立公園である。

35

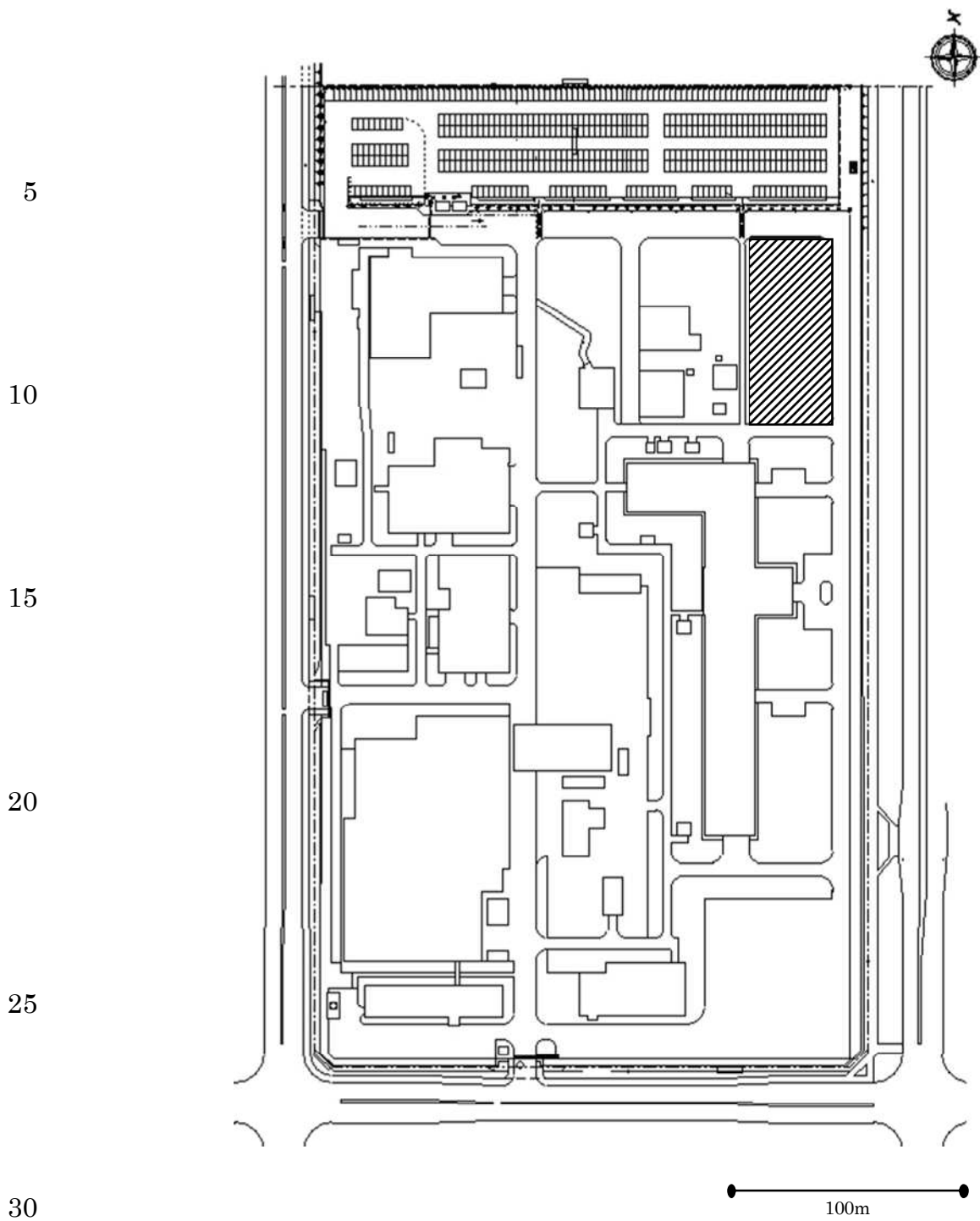


図4 デュポン株式会社宇都宮事業所における隔離ほ場の位置
 隔離ほ場の位置を斜線で示した。

35

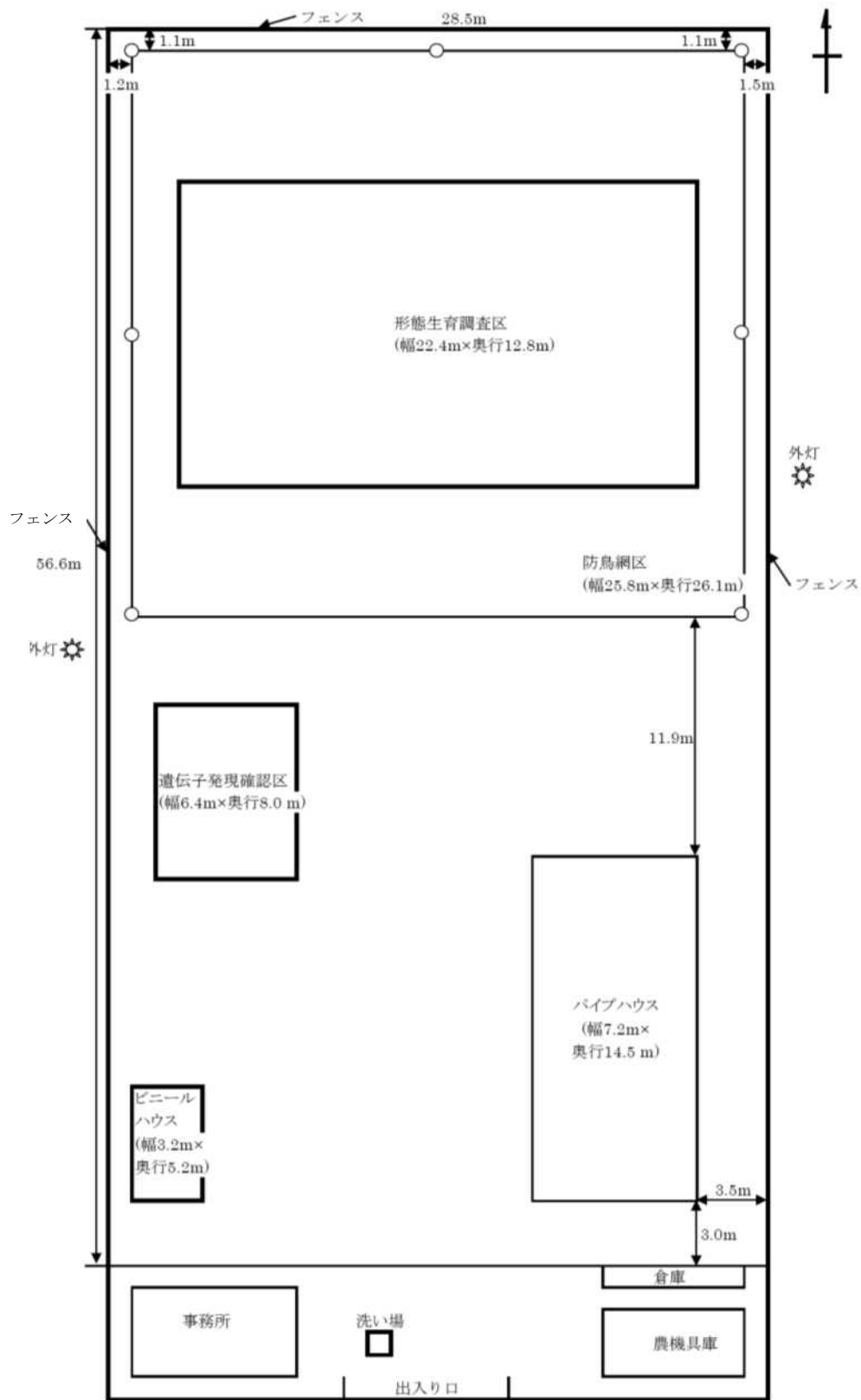


図 5 隔離ほ場施設及び栽培試験区の配置図

4. 気象条件

① 平年値

5

隔離ほ場の最寄の気象情報観測地点である宇都宮地方気象台（栃木県宇都宮市明保野町 1-4）における気象データの平年値を別紙 2 に示した。

気象庁ホームページ気象統計情報ページ

10 アクセス 2012 年 3 月 13 日 :

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_sfc_ym.php?prec_no=41&prec_ch=%E6%A0%83%E6%9C%A8%E7%9C%8C&block_no=47615&block_ch=%E5%AE%87%E9%83%BD%E5%AE%AE&year=&month=&day=&elm=normal&view=

15

② 過去 3 年分の気象データ

宇都宮地方気象台における過去 3 年分（2009～2011 年）の気象データを別紙 3 に示した。

20

気象庁ホームページ気象統計情報ページ

アクセス 2012 年 3 月 13 日（下記 URL は 2009 年の気象データ）:

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_s1.php?prec_no=41&prec_ch=%E6%A0%83%E6%9C%A8%E7%9C%8C&block_no=47615&block_ch=%E5%AE%87%E9%83%BD%E5%AE%AE&year=2009&month=&day=&view=p1

25

5. 台風の襲来歴

① 平年値

- 5 気象庁ホームページ気象統計情報によると、隔離ほ場のある関東甲信地方への台風接近数⁴⁾の平年値は、3.1個である（表7、43ページ）。

気象庁ホームページ気象統計情報ページ
アクセス 2012年3月13日：

- 10 http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/average/average.html#nasei_islands

表7 関東甲信地方（伊豆諸島及び小笠原諸島を除く）への台風接近数の平年値

	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	年間
接近数					0.0	0.2	0.4	0.9	1.1	0.6	0.0		3.1

平年値は、1981年から2010年の30年平均である。

- 15 空白の月は、平年値を求める統計期間内に該当する台風が一例もなかったことを示す。
接近は2か月にまたがる場合があり、各月の接近数の合計と年間の接近数とは必ずしも一致しない。

⁴⁾ 台風の中心が茨城県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県、東京都（島しょ部を除く）、神奈川県、山梨県、長野県のいずれかの気象官署から300km以内に入った場合を「関東甲信地方（伊豆諸島及び小笠原諸島を除く）に接近した台風」としている（気象庁による定義）。

② 過去 10 年の隔離ほ場周辺への台風接近数

気象庁ホームページ気象統計情報によると、隔離ほ場のある関東甲信地方に、2001 年～2011 年の間に接近した台風は、計 35 個である。

5

気象庁ホームページ気象統計情報ページ

アクセス 2012 年 6 月 22 日 :

http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto_koshin.html

10

6. 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

2007 年に隔離ほ場を建設して以来、冠水したことはない。

15 7. 過去 10 年における強風の経験とその程度

2007 年に隔離ほ場を建設して以来、強風による設備の被害はなく、植物体がほ場外に飛ばされたこともない。

20 8. 市町村が策定するハザードマップ上の位置付け

隔離ほ場は、宇都宮市発行ハザードマップにおいて浸水想定区域や土砂災害警戒区域に指定されていない。

25 宇都宮市役所ホームページ、ハザードマップ（洪水・土砂災害）

アクセス 2012 年 6 月 1 日 :

<http://www.city.utsunomiya.tochigi.jp/kotsu/bosai/018220.html>

30 9. 周辺地域における鳥獣害の発生状況

30

隔離ほ場周辺にカラス、スズメ、ネズミ及びウサギが見られるが、防鳥網や侵入防止柵の設置及び殺鼠剤や忌避剤を用い、これら鳥獣による被害回避を行っている。

35

VII. 隔離ほ場周辺の生物相

1. 遺伝子組換え農作物を隔離ほ場で栽培等を行うことによって、影響を受ける可能性のある野生動植物等及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

5

- ① 影響を受ける可能性のある野生動植物等

チョウ目の昆虫。

10

- ② ①の中に希少種が含まれる場合はその名称

15

チョウ目昆虫の希少種として、環境省の第4次レッドリスト⁵⁾に絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に区分されるチョウ目昆虫 196 種が掲載されている。このうち、本組換えトウモロコシを隔離ほ場で栽培した場合、花粉の飛散により影響を受ける可能性のあるチョウ目昆虫として 30 種、生息域又は幼虫の活動期に関する情報が不足している 69 種が特定された（生物多様性影響評価書の添付資料 4）。

2. 交雑可能な近縁野生種及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

20

なし。

⁵⁾ 環境省第4次レッドリスト http://www.biodic.go.jp/rdb/rl2012/RL2012siryo7_1.pdf

VIII. 栽培管理等

1. 栽培履歴

5 隔離ほ場における栽培履歴は以下のとおりである（2012年6月現在）。

	栽培年月	作物
2007年	3月 - 5月	コムギ
	5月 - 9月	トウモロコシ
	5月 - 12月	ダイズ*
	6月 - 8月	ヒマワリ
	6月 - 12月	ワタ
	9月 - 12月	ハツカダイコン
	12月	コマツナ
2008年	1月 - 3月	コマツナ
	1月 - 3月	ダイズ*
	3月 - 12月	セイヨウナタネ
	5月 - 11月	トウモロコシ
	6月 - 11月	ダイズ
	11月 - 12月	エンバク
2009年	1月 - 4月	エンバク
	5月 - 8月	ダイズ
	5月 - 9月	テオシント、トウモロコシ*、ナルテル
	7月 - 8月	セイヨウナタネ
	11月 - 12月	コムギ
2010年	1月 - 4月	コムギ
	6月 - 9月	アルファルファ
	7月 - 11月	テオシント、トウモロコシ、ナルテル
2011年	4月 - 12月	テオシント、トウモロコシ*、ナルテル
	4月 - 12月	セイヨウナタネ*
	8月 - 12月	ハツカダイコン
	9月 - 10月	ヒマワリ
	11月 - 12月	オオムギ
2012年	1月 - 3月	オオムギ
	3月 -	トウモロコシ*
	5月 -	ダイズ*、ツルマメ

* 遺伝子組換え作物を含む。

2. 気象災害時の対応

気象災害が起こった場合、まず試験区域における被害状況を確認し、必要に応じ回収等の拡散防止措置を行う。

5

3. 栽培終了後の利用計画（ボランティア植物の監視を含む）

本組換えトウモロコシの栽培終了後、休閒緑肥としてアルファルファ、麦等を栽培する予定である。今後とも隔離ほ場では、遺伝子組換えダイズ又はトウモロコシ等を栽培する計画である。なお、ボランティア植物の発生を確認した場合、ただちに隔離ほ場内に鋤込む等の適切な手段で不活化する。

10

4. 隔離ほ場試験における生物多様性影響の安全対策に関する措置

① 隔離ほ場の施設

- 5 (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。
- 10 (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。
- (4) 本遺伝子組換えトウモロコシの種苗が、野鳥等の食害により拡散することを防止するため、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網を設置する。

15 ② 隔離ほ場での作業要領

- (1) 本遺伝子組換えトウモロコシ及び比較対照の非遺伝子組換え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必要最小限に抑える。
- (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。
- 20 (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非遺伝子組換え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。
- 25 (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。
- (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。
- 30 (7) (1)から(6)まで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。

35

以上

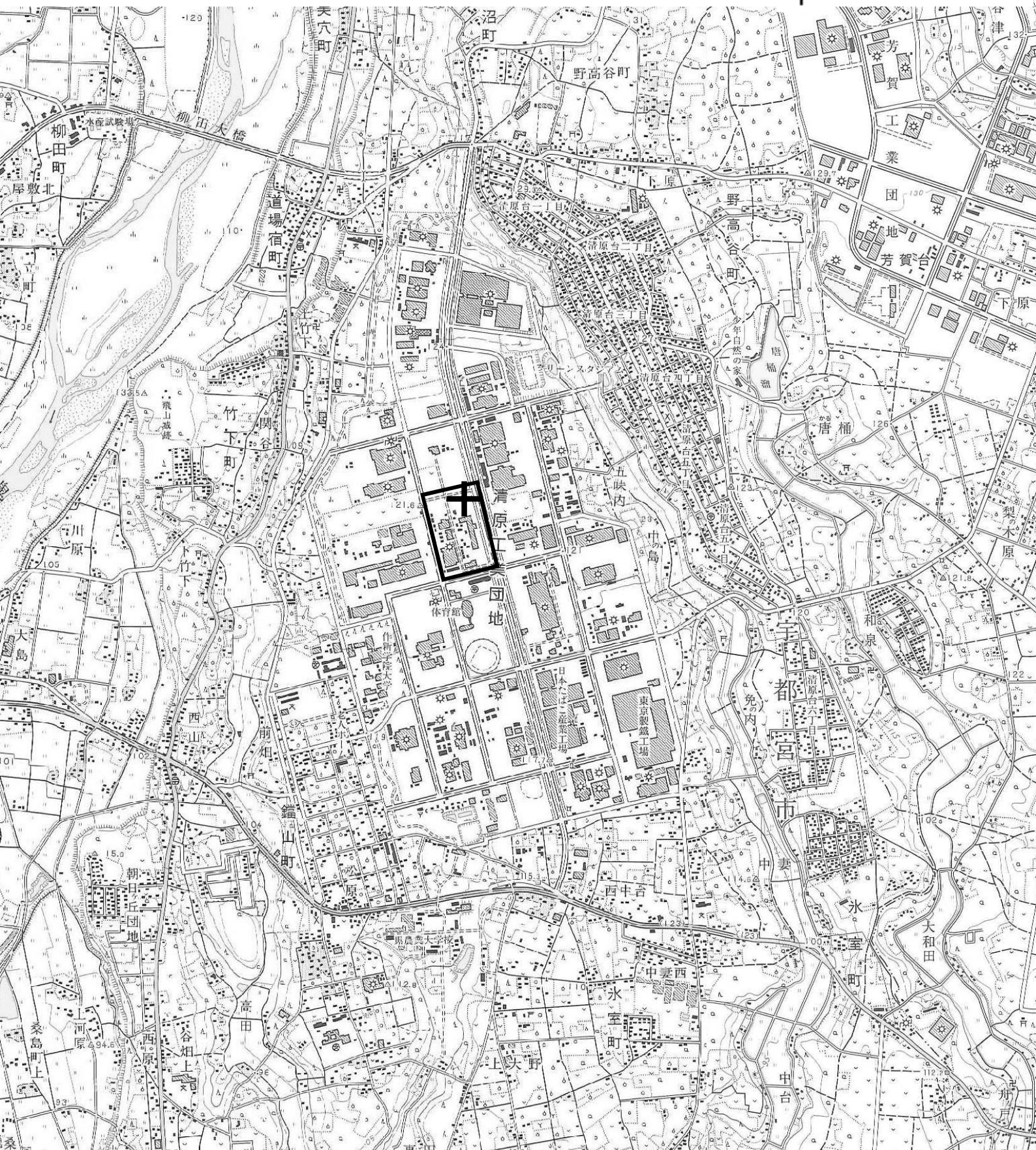


図 デュポン株式会社宇都宮事業所の周辺地図

宇都宮事業所の所在地を四角で囲み、隔離ほ場の所在地を「+」で示した。

この地図は、国土地理院長の承認を得て、同院発行の2万5千分の1地形図を複製したものである。
(承認番号 平24情複、第473号)

この地図を第三者がさらに複製する場合には、国土地理院の長の承認を得なければならない。