

除草剤グリホサート耐性トウモロコシ
 (改変 *epsps grg23ace5*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)
 (Event VCO-Ø1981-5, OECD UI: VCO-Ø1981-5) 申請書等の概要

5	
第一	生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....1
	1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....1
	(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.....1
10	宿主の品種名又は系統名.....1
	国内及び国外の自然環境における自生地域.....1
	(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.....1
	主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途.....2
15	(3) 生理学的及び生態学的特性.....3
	イ、基本的特性.....3
	ロ、生息又は生育可能な環境の条件.....3
	ハ、捕食性又は寄生性.....3
	ニ、繁殖又は増殖の様式.....3
20	種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命.....3
	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.....4
	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
25	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.....4
	花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命 4
	ホ、病原性.....5
	ヘ、有害物質の産生性.....5
	ト、その他の情報.....5
30	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
	イ、構成及び構成要素の由来.....5
	ロ、構成要素の機能.....6
	目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカー
35	その他の供与核酸の構成要素それぞれの機能.....6

	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
	宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	13
5	(2) ベクターに関する情報	13
	イ、名称及び由来	13
	ロ、特性	14
	ベクターの塩基数及び塩基配列	14
	特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能	14
10	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	14
	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	14
	イ、宿主内に移入された核酸全体の構成	14
	ロ、宿主内に移入された核酸の移入方法	14
15	ハ、遺伝子組換え生物等の育成の経過	16
	核酸が移入された細胞の選抜の方法	16
	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
20	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
	(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	18
25	移入された核酸の複製物が存在する場所	18
	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	18
	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	22
30	(6)の において具体的に示される特性について、自然条件下での個体間及び世代間での発現の安定性	22
	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	23
35	(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	23

	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....23
	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.....23
5	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.....24
	a 形態及び生育の特性.....24
	b 生育初期における低温又は高温耐性.....24
	c 成体の越冬性又は越夏性.....25
10	d 花粉の稔性及びサイズ.....26
	e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率.....27
	f 交雑率.....28
	g 有害物質の産生性.....28
	3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....30
15	(1) 使用等の内容.....30
	(2) 使用等の方法.....30
	イ、隔離ほ場の施設.....31
	ロ、隔離ほ場での作業要領.....31
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.....31
	(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.....32
	(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.....32
25	(6) 国外における使用等に関する情報.....32
	第二 項目ごとの生物多様性影響評価.....33
	1. 競合における優位性.....33
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....33
	(2) 影響の具体的内容の評価.....33
30	(3) 影響の生じやすさの評価.....33
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....34
	2. 有害物質の産生性.....34
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....34
	(2) 影響の具体的内容の評価.....35
35	(3) 影響の生じやすさの評価.....35
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....35

	3. 交雑性.....	35
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	35
	(2) 影響の具体的内容の評価	35
	(3) 影響の生じやすさの評価	35
5	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	36
	4. その他の性質.....	36
	第三 生物多様性影響の総合的評価	37
	参考文献	39
	緊急措置計画書	
10	隔離ほ場試験計画書	

15

第一種使用規程承認申請書

平成 23 年 5 月 16 日

5

農林水産大臣 鹿野 道彦 殿
10 環境大臣 松本 龍 殿

氏 名 ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社
15 代表取締役社長 越部 圓

住 所 東京都渋谷区南平台町 1 5 番 1 3 号帝都渋谷ビル

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

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>除草剤グリホサート耐性トウモロコシ（改変 <i>epsps grg23ace5</i>, <i>Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (Event VCO-Ø1981-5, OECD UI: VCO-Ø1981-5)</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・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所那須研究所 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> <p>(1) 部外者の立入り及び獣害を防止するため、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、花粉の飛散を減少させるための防風林を設置している。</p> <p>(5) 鳥害を防ぐために、常時、防鳥網を設置する。</p> <p>2. 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本組換えトウモロコシ及び比較対照の非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最小限に抑える。</p> <p>(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。</p> <p>(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非組換えトウモロコシを隔離ほ場内に鋤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、非意図的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。</p> <p>(5) 本組換えトウモロコシの花粉の飛散を減少させるため、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) までに掲げる事項を第一種使用等を行う実験従事者に遵守させる。</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>
--	---

5

10

15

20

生物多様性評価書

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

和名、英名及び学名

10

和名：トウモロコシ

英名：maize、corn

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

15

宿主の品種名又は系統名

宿主は、トウモロコシのデント種に属する交配種 Hi- である。

20

国内及び国外の自然環境における自生地帯

トウモロコシの栽培起源種が現存するとの報告はなく、また、トウモロコシの起源に関与する祖先も確定されていない。しかし、その起源に関与したと考えられる自生植物としては、テオシント (*Teosinte*, *Z. mays* subsp. *mexicana*) とトリプサカム (*Tripsacum* 属) が知られている (戸澤, 2009)。

25

なお、我が国におけるテオシント及びトリプサカムの自生地帯に関する報告はない。

30

(2) 使用等の歴史及び現状

国内及び国外における第一種使用等の歴史

トウモロコシが我が国へ伝来したのは 1573～1591 年頃 (天正年間) に、ポルトガル人によって九州 (長崎) にもたらされたと言われている。その後、四国、本州、関東周辺地域へと広まり、さらに北海道地域まで広がったとされている (戸澤, 2009)。

35

トウモロコシは中南米地域に生育していた雑草のテオシン

トから派生したといわれ (H.H.Iltis, 1983) おおよそ 7,000 年前から中南米 (メキシコ、ペルー、ボリビア、グアテマラなど) を原産地として栽培された (戸澤, 2009)。その後、人為的に品種改良が繰り返された。紀元前 3000 年 ~ 紀元前 1500 年頃には、現代の品種に近いトウモロコシが栽培されるようになり、南北アメリカ大陸の各地に伝播し、さらにアジア地域へと拡大した。各地へ伝播する間にデント種等をはじめとした多種類の変異種が生じた (Pohl et al, 2007; Sluyter et al, 2006)。

上記のように、トウモロコシは我が国及び世界各地において既に長く栽培されている作物である。

主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

トウモロコシは世界で最も広く栽培されている穀物であり、小麦やイネとともに、三大穀物の一つにあげられている。国際連合食糧農業機関 (FAO) の統計情報によると、2009 年の世界のトウモロコシ生産量は約 8 億 1,882 万トンと推定され (FAOSTAT, 2011) 主要な生産国は、米国の推定 3 億 3,300 万トンを筆頭に、中国、ブラジル、メキシコ、アルゼンチン等である (FAOSTAT, 2011)。

我が国におけるトウモロコシの栽培地域は北海道から九州まで全国にわたっている。特に北海道の栽培面積が最大であり、飼料用と食品用のトウモロコシが栽培されている。たとえば、青刈りトウモロコシの作付面積は約 4 万 7,100 ha (平成 22 年産) であり、全国の作付面積 (9 万 2,800 ha) の約 51% を占めている (農林水産省大臣官房統計部編, 2011)。

トウモロコシの栽培には、コンバインを利用した大規模で機械化された方法が米国などでは採用されており、我が国でも北海道では機械化が進んでいる。基本的な栽培方法は、他の一般作物と同様に選定した畑地への土壌改良資材の投入、畑地の耕起及び整地、施肥、播種 (4 月から 6 月)、土壌施用型除草剤の散布、収穫 (9 月から 11 月) である。

我が国は、2009 年度に飼料用並びに食品用として約 1,633 万トンのトウモロコシを輸入したが、米国からの輸入が最も多く、1,575 万トンであった (農林水産省大臣官房国際部編, 2011)。

のうち、飼料用トウモロコシが総輸入量の約 70%を占めている。国内の家畜が消費する飼料をカロリー換算すると約半分が米国産である (USDA-FAS, 2008)。

5 トウモロコシは、米国や欧州連合 (EU) では主に飼料として利用されているが、食料品、食用油、澱粉などの加工用原料、産業用製品原料としても広く使用されている。一方、我が国では飼料用にはデント種、食品加工用にはスイート種等が利用
10 されている。また、輸入されたトウモロコシは、飼料用、食用油用、澱粉用など多岐にわたり利用されている。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ、基本的特性

15

ロ、生息又は生育可能な環境の条件

20 トウモロコシの種子発芽及び初期生長の最適温度は 30 ~ 35 であり、光合成速度の最適温度は 25 ~ 40 とされている (農学大事典, 2004)。また、トウモロコシの種子発芽の最低温度は 6 ~ 11 である (農学大事典, 1994)。現在のトウモロコシは、長期の栽培作物化の結果、自然条件下における自生能力を失っている (OECD, 2003)。

25 一方、生育時の水分条件であるが、トウモロコシは全生育期間で 350 ~ 500 トン / 10 アールの水を必要とする。しかし我が国は降水量が多いので特に灌漑施設等は必要としない。またトウモロコシの作物体は巨大であると同時に強い吸肥力があるので、肥沃な土壌条件が望まれる (戸澤, 2009)。

30 八、捕食性又は寄生性

二、繁殖又は増殖の様式

種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

35 成熟した種子は雌穂の周囲に着生し、包葉で覆われており、自

然環境下での脱粒の可能性は小さい。栽培種として改良されてきたトウモロコシには、野生植物として生き残る能力が残存していない。種子の休眠性は極めて低い。また、種子が地上に落下しても、土壌温度が約 6℃ に達するまで発芽せず(農学大事典,1994)、その未発芽種子は、容易に腐敗し枯死に至る。

5

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

10

トウモロコシは種子で繁殖する。自然条件下では栄養繁殖しない。自然条件下で、再生しうる組織又は器官からの出芽特性が種子以外にあるという報告はみられない。

15

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

トウモロコシは雌雄同株の一年生作物であるが、自家不和合性を有さないために自家受粉も可能である。しかし大部分は他家受粉により種子で繁殖する(OECD, 2003)。

20

トウモロコシ(染色体数 $2n=20$)の近縁種としては、テオシント(同 $2n=20$)とトリプサカム(同 $2n=18$)が知られているが、トウモロコシはテオシントと自然交雑する。しかし、テオシントはメキシコとグアテマラだけに自然分布し、わが国における分布の報告はない。一方、トリプサカムは非常に稀にトウモロコシと交雑できるが、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)。トリプサカムは、テオシントと同様に我が国での自生は報告されていない。

25

また、トウモロコシのアポミクシスの報告はない。

30

花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

トウモロコシは、風媒による他家受粉が主である。雄穂 1 個には 1,800~2,000 個の小穂が着生しており、約 1,800 万個の花粉粒を産生する(OECD, 2003)。花粉の寿命は、一般に乾燥条件下では長い(8 日間程度)。しかし、降雨等で吸水した花粉は、盛夏のほ場条件下で 24 時間以内に死滅する(OECD, 2003)。花粉の直径は 90~100µm の球形である。

35

トウモロコシ花粉の飛散距離は、山や林などの遮蔽物の有無や

風向きなどで異なるが、およそ 300～500m であり (Ingram, 2001)、交雑率は飛散距離 50m 以上の場所で 0.2% 以下である (Sanvido, *et al.*, 2008)。

5 ホ、病原性

 へ、有害物質の産生性

10 トウモロコシにおいて、自然条件下で周囲の野生動植物等の生息に影響を及ぼすような有害物質の産生性は報告されていない。

 ト、その他の情報

15

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

20 除草剤グリホサート耐性トウモロコシ (改変 *epsps grg23ace5*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (Event VCO-Ø1981-5, OECD UI: VCO-Ø1981-5) (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及び構成要素の由来は、表 1 (7～8 ページ) に示した。また、供与核酸の塩基配列を別添資料 D1 に示した (社外秘情報につき非開示) 。

25 なお、本組換えトウモロコシで発現する EPSPS GRG23ace5 蛋白質のアミノ酸 (社外秘情報につき非開示) が改変されている (別添資料 D2 ; 社外秘情報につき非開示) 。本組換えトウモロコシに導入された *epsps grg23ace5* 遺伝子は「改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子」とし、発現する蛋白質を「改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質」とする。

30

ロ、構成要素の機能

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

5 本組換えトウモロコシの作出に用いられた供与核酸の各構成要素の機能を表1(7~8ページ)に示した。

表 1 供与核酸の構成及び各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 <i>epsps grg23ace5</i> 遺伝子発現カセット		
RB	25	プラスミド pTiT37 由来のノパリントタイプ T-DNA の右縁部分の DNA 配列で <i>Agrobacterium tumefaciens</i> からトウモロコシゲノムへ移した T-DNA の開始点として用いられた (Depicker <i>et al.</i> , 1982; Zambryski <i>et al.</i> , 1980; GenBank AB027254.1)。
<i>ScUbi4</i> promoter	1801	サトウキビ (<i>Saccharum officinarum</i> L.) 由来のコピキチン 4 遺伝子の非翻訳 5'領域 (Albert <i>et al.</i> , 2003) を含むプロモーターで植物体内のほとんどの細胞組織で標的遺伝子を恒常的に発現させる (Kawalleck <i>et al.</i> , 1993; Wei <i>et al.</i> , 2003; Genbank AF093504)。
maize AHAS CTP	198	トウモロコシ由来のアセトヒドロキシ酸合成酵素 (AHAS) 遺伝子の N 末端クロロプラスト輸送ペプチド配列で、発現蛋白質のクロロプラストへの輸送を可能にする (Fang <i>et al.</i> , 1992; GenBank X63553.1)。
改変 <i>epsps grg23ace5</i>	1242	<i>A. globiformis</i> 由来の 5-エノールピルピルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) (Schouten <i>et al.</i> , 2007; WO 特許 2008/100353 A3R4)。除草剤グリホサートに対する親和性を低下させるため、本遺伝子が発現する蛋白質のアミノ酸が改変されている (社外秘情報につき非開示) (別添資料 D2; 社外秘につき非開示)。
<i>CaMV 35S</i> terminator	270	カリフラワーモザイクウイルス由来の 3'末端非翻訳領域で、転写ターミネーター及び mRNA のポリアデニル化シグナルを含み、この配列により目的遺伝子の転写が終結される (Gardner <i>et al.</i> , 1981; GenBank V00140)。
LB	25	Ti プラスミド pTiA6 由来の左縁部分の DNA 配列で、 <i>A. tumefaciens</i> からトウモロコシゲノムへ移した T-DNA の終止点として用いられた (Depicker <i>et al.</i> , 1982; GenBank AB027254.1)。

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
外側骨格領域 (本組換えトウモロコシには導入されていない)		
<i>aad</i>	789	黄色ブドウ球菌 (<i>Staphylococcus aureus</i>) 由来の Tn7 アデニル転移酵素 (AAD) をコードする遺伝子でスペクチノマイシンとストレプトマイシン耐性を付与する。
<i>ori-T</i>	112	<i>A. tumefaciens</i> でベクターの自己複製可能な大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) 由来の複製起点。
<i>virC</i>	1306	<i>A. tumefaciens</i> の Ti プラスミド上にあり、植物染色体へ T-DNA 領域を組み込むときに関与し、その導入を促進する。
<i>virG</i>	804	
<i>virB</i>	9436	
target cross-over region	2741	相同組換えに用いたベクター pBR322 の配列領域である。 <i>A. tumefaciens</i> からの T-DNA の移入を促す。
	2745	
<i>tetR</i>	651	大腸菌 (<i>E. coli</i>) 由来の <i>tet</i> 遺伝子は、構造遺伝子 <i>tetA</i> と調節遺伝子 <i>tetR</i> とから構成され、テトラサイクリン存在下で <i>tetR</i> 蛋白質は <i>tetA</i> 遺伝子を発現誘導し、 <i>tetA</i> 蛋白質によりテトラサイクリンが除去され、テトラサイクリン耐性を細菌に付与する。このような機能を利用して、遺伝子組換え細菌の選抜に利用される。
<i>tetA</i>	1200	

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

5 非選択的な除草剤ラウンドアップ®の有効成分であるグリホサート（化学名：N-フォスホノメチルグリシン）は、L-フェニルアラニン、L-チロシン、L-トリプトファン等の芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素の一つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素（EPSPS）(E.C.2.5.1.19)と特異的に結合して EPSPS 活性を阻害する。そのためグリホサートを処理した植物では、蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯死に至る(Franz *et al.*, 1997)。

10 本組換えトウモロコシに導入された改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子は、*A. globiformis* 由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素（EPSPS）遺伝子を改変した遺伝子であり、既知 *epsps* 遺伝子がコードする EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列と改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子がコードする改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質のアミノ酸配列は高い配列相同性を有し（NCBI, 2011）グリホサートに高い耐性を持つ改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質(別添資料 D2；社外秘情報につき非開示)を発現する。この蛋白質は非感受性型に改変されているため、本組換えトウモロコシはグリホサート存在下でも活性阻害を受けず(Schouten *et al.*, 2008)、芳香族アミノ酸生合成経路のシキミ酸経路が正常に機能して生育することができる（図 1,10 ページ）。

25

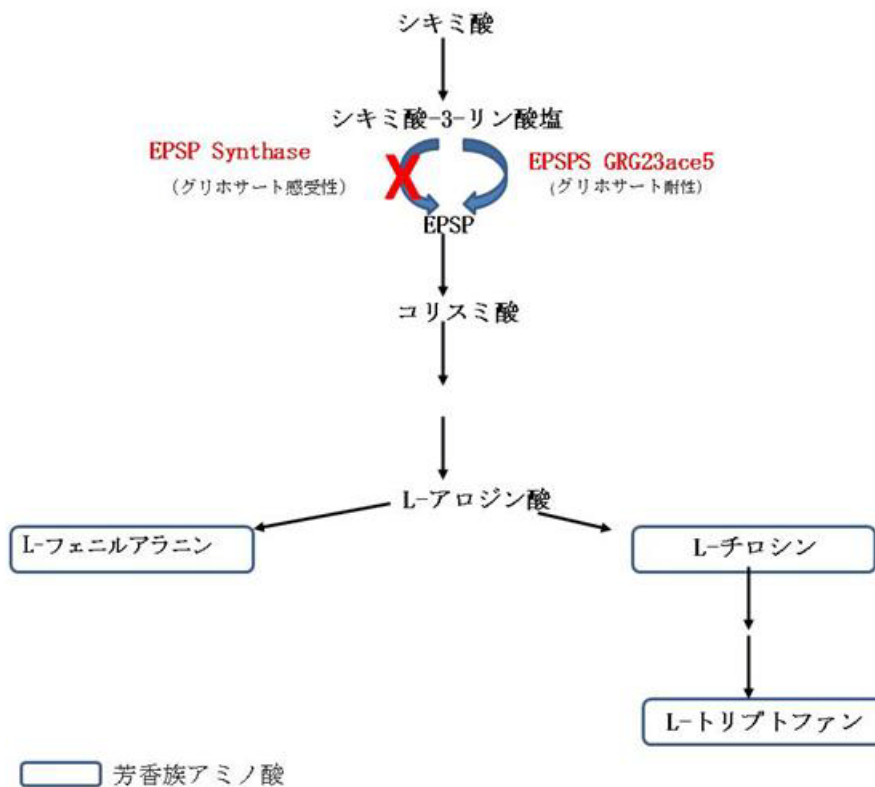


図 1 シキミ酸代謝経路におけるグリホサート及び EPSP 合成酵素の作用機序

5 さらに、本組換え遺伝子の発現はアルギニン、チロシンを除く
 主要アミノ酸の生合成に影響を及ぼさない(表 2, 11~12 ページ、
 別添資料 D5；社外秘情報につき非開示)。アルギニン、チロシンの
 含量は、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの間で
 統計学的有意差が見られたが、市販のトウモロコシ及び ILSI データ
 10 ベースの値の変動範囲内であった。

また、改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質のアミノ酸配列を、他の既
 知のアレルゲンをコードするアミノ酸配列との相同性を調べるた
 めに、利用可能な国際的な遺伝子データベース (Food Allergy
 Research and Resource Program (FARRP), 2010)を用いて検索した結
 15 果、相同性を示す配列は存在しないことが確認された(別添資料
 D3；社外秘情報につき非開示)。

表2 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの穀粒中の
アミノ酸含量

アミノ酸 (乾物重量%)		本組換え トウモロコシ (BC0S2 x B116)	非組換え トウモロコシ ¹ (BC0S2 x B116)	測定範囲	
				商業品種 ²	公開データ ベース ³
アラニン	平均値±SD	0.796 ± 0.111	0.865 ± 0.112	0.378-1.097	0.489-1.20
	測定範囲	0.527-0.934	0.529-1.003		
	p 値	0.164			
アルギニン	平均値±SD	0.395 ± 0.034	0.429 ± 0.038	0.267-0.524	0.119-0.637
	測定範囲	0.307-0.445	0.334-0.479		
	p 値	0.048 ³			
アスパラギン酸	平均値±SD	0.749 ± 0.099	0.789 ± 0.099	0.381-0.998	0.335-0.963
	測定範囲	0.478-0.907	0.521-0.906		
	p 値	0.344			
システイン	平均値±SD	0.128 ± 0.031	0.132 ± 0.022	0.071-0.216	0.125-0.325
	測定範囲	0.070-0.173	0.071-0.165		
	p 値	0.690			
グルタミン酸	平均値±SD	2.125 ± 0.297	2.320 ± 0.291	0.986-2.963	0.965-3.12
	測定範囲	1.379-2.489	1.465-2.699		
	p 値	0.153			
グリシン	平均値±SD	0.389 ± 0.030	0.400 ± 0.024	0.276-0.447	0.184-0.498
	測定範囲	0.312-0.432	0.349-0.439		
	p 値	0.429			
ヒスチジン	平均値±SD	0.311 ± 0.030	0.330 ± 0.036	0.176-0.363	0.137-0.416
	測定範囲	0.239-0.353	0.252-0.407		
	p 値	0.200			
イソロイシン	平均値±SD	0.374 ± 0.047	0.411 ± 0.047	0.192-0.494	0.179-0.568
	測定範囲	0.251-0.432	0.273-0.472		
	p 値	0.083			
ロイシン	平均値±SD	1.316 ± 0.210	1.465 ± 0.211	0.534-1.802	0.654-2.100
	測定範囲	0.778-1.584	0.843-1.687		
	p 値	0.093			

リシン	平均値±SD	0.305 ± 0.036	0.314 ± 0.044	0.197-0.418	0.172-0.597
	測定範囲	0.257-0.372	0.260-0.378		
	p 値	0.524			
メチオニン	平均値±SD	0.128 ± 0.033	0.132 ± 0.019	0.065-0.200	0.129-0.326
	測定範囲	0.075-0.184	0.077-0.148		
	p 値	0.653			
フェニルアラニン	平均値±SD	0.525 ± 0.075	0.587 ± 0.081	0.236-0.702	0.244-0.809
	測定範囲	0.334-0.622	0.352-0.676		
	p 値	0.050			
プロリン	平均値±SD	0.957 ± 0.132	1.021 ± 0.110	0.460-1.177	0.462-1.34
	測定範囲	0.630-1.132	0.689-1.134		
	p 値	0.207			
セリン	平均値±SD	0.497 ± 0.056	0.523 ± 0.060	0.272-0.644	0.254-0.728
	測定範囲	0.345-0.560	0.361-0.600		
	p 値	0.171			
トレオニン	平均値±SD	0.372 ± 0.038	0.391 ± 0.037	0.225-0.445	0.231-0.666
	測定範囲	0.273-0.420	0.289-0.441		
	p 値	0.253			
トリプトファン	平均値±SD	0.075 ± 0.008	0.076 ± 0.005	0.050-0.097	0.027-0.090
	測定範囲	0.060-0.087	0.063-0.082		
	p 値	0.656			
チロシン	平均値±SD	0.234 ± 0.036	0.282 ± 0.081	0.135-0.337	0.103-0.534
	測定範囲	0.165-0.281	0.157-0.441		
	p 値	0.008³			
バリン	平均値±SD	0.509 ± 0.061	0.539 ± 0.050	0.275-0.629	0.266-0.723
	測定範囲	0.351-0.578	0.394-0.595		
	p 値	0.222			

1. 非組換えトウモロコシ BC1 とは、本組換えトウモロコシ BC1 で分離した陰性個体である。
2. 商業品種とは AgR5539, AgR7584, AgR58036 である。
3. ILSI (2006) Crop Composition Database (Version 3.0) <http://www.cropcomposition.org>
閲覧日 : 2011 年 2 月 3 日
4. 分散分析 (ANOVA、 $p < 0.05$) により、統計学的有意差が認められたことを示す。

5

宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

5 EPSPS 蛋白質は植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり、植物では、葉緑体又は色素体に存在する。シキミ酸経路の第1段階は、3-デオキシ-D-アラビノ-ヘプツロソン酸-7-リン酸 (3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate, DAHP) 合成酵素によって制御されている。

10 また、EPSPS は、ホスホエノールピルビン酸塩とシキミ酸-3-リン酸塩から 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸(EPSP) と無機リン酸塩を生じる可逆反応を触媒する酵素であり、これらの基質と特異的に反応することが報告されている (Sikorski and Gruys, 1997)。EPSPS 活性の増大によって本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (OECD, 15 1999)。

一方、EPSPS 蛋白質と機能的に同一な改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質を発現させた本組換えトウモロコシのアミノ酸組成のうち、アルギニン含量及びシキミ酸経路の最終産物である芳香族アミノ酸のチロシン含量については統計学的有意差が認められたものの、市販のトウモロコシ及び ILSI データベースの値の変動範囲内であることから、EPSPS が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる (別添資料 D5; 社外秘情報につき非開示)。さらにシキミ酸-3-リン酸塩を基質として改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質が特異的に反応することが報告されており、改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質と EPSPS 蛋白質の Km 値は近似している (別添資料 D6; 社外秘情報につき非開示; Schouten *et al.*, 2008) (NCBI, 2011)。

したがって、改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子導入によって宿主の代謝系を変化させる可能性は極めて低いと考えられる。

30 (2) ベクターに関する情報

イ、名称及び由来

本組換えトウモロコシの作出に用いられたベクターは *Agrobacterium tumefaciens* 由来のプラスミド pAG3541 である。

35

ロ、特 性

ベクターの塩基数及び塩基配列

5

形質転換ベクターの全塩基数は 46,662bp である（別添資料 D1；社外秘情報につき非開示）。

特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

10

本組換えトウモロコシの作出に用いたプラスミド pAG3541 には、プラスミドの構築、選抜及び増殖に必要な選抜マーカー遺伝子としてスペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *aad* 遺伝子と *E. coli* 由来のテトラサイクリン耐性遺伝子 (*tetA*、*tetR*) を有しているが、*aad*、*tetA*、*tetR* はベクターの T-DNA 領域外にある。PCR 分析による導入遺伝子の解析において、本組換えトウモロコシに *aad*、*tetA*、*tetR* は導入されていないことが確認されている（別添資料 R1；社外秘情報につき非開示）。

15

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

20

本組換えトウモロコシの作出に使用された形質転換ベクター pAG3541 に感染性を示すような配列は知られていない。

25

(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

30

A. tumefaciens 由来のプラスミドベクター pAG3541 の構成図を図 2(15 ページ)に示し、さらに宿主内に移入された T-DNA 領域の遺伝子の構成を図 3(15 ページ)に示す。

ロ、宿主内に移入された核酸の移入方法

35

アグロバクテリウム形質転換法により、プラスミドベクター pAG3541 の T-DNA 領域を交配種 (Hi-II) の未熟胚の組織培養細

胞へ導入した。

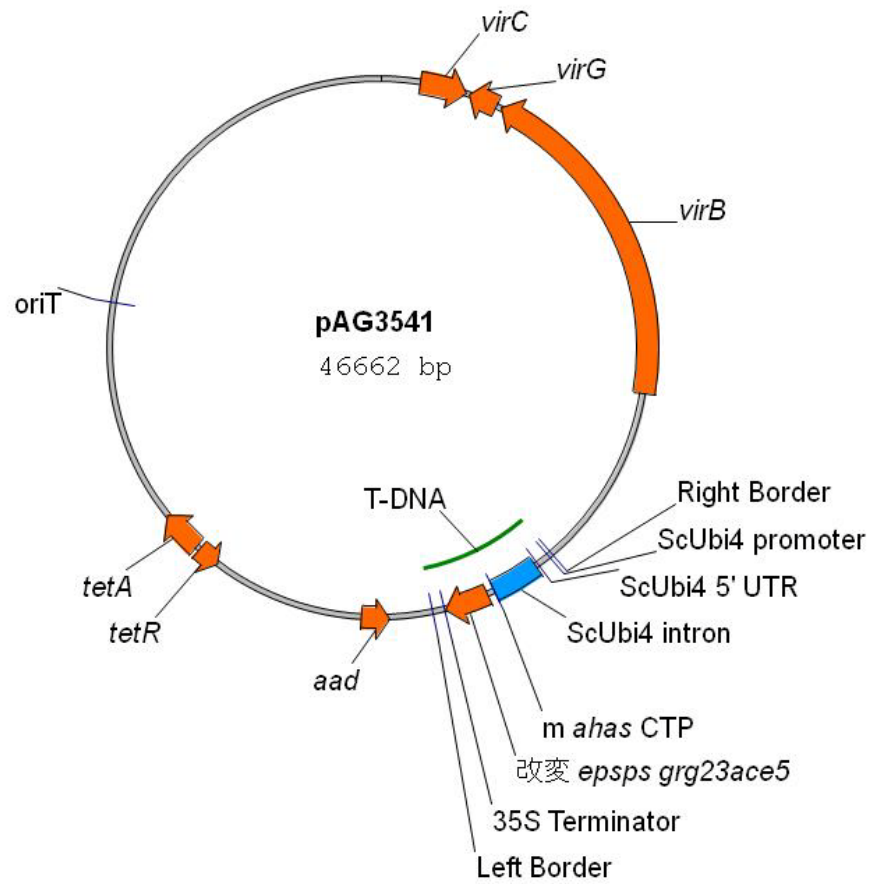


図2 ベクターpAG3541の構成図

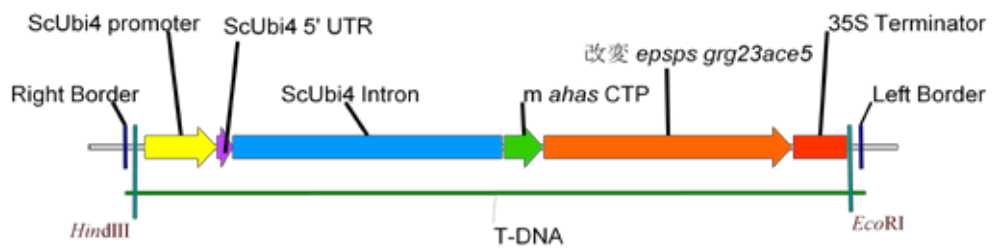


図3 ベクターpAG3541のT-DNA領域

5

八、遺伝子組換え生物等の育成の経過

核酸が移入された細胞の選抜の方法

5 アグロバクテリウム形質転換法により、宿主の未熟胚に改変
epsps grg23ace5 遺伝子を有するプラスミドベクターpAG3541 の
T-DNA 領域を導入し、形質転換カルスを作成した。形質転換カル
スは、グリホサートを添加した培地で培養し、グリホサート耐性
カルスを選抜した。このカルスより再生した植物体を T0 とし(別
10 添資料 R2 ; 社外秘情報につき非開示) 以降の交配親として用い
た。

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

15 チメンチンを添加した組織培養培地で培養することにより、形
質転換に用いたアグロバクテリウム菌体は、本組換えトウモロコ
シの組織から完全に除去された。

本組換えトウモロコシにアグロバクテリウム菌体が存在して
いないことを次の方法によって確認した。 本組換えトウモロコ
20 シをチメンチン無添加の培地に移した後に、その培地上でアグロ
バクテリウムのコロニーが形成されていないことを確認。 本組
換えトウモロコシの組織をすり潰して得た粗抽出液をアグロバ
クテリウム選択培地に塗布することによって、アグロバクテリウ
ムのコロニーが形成されないことを確認した(別添資料 R2 ; 社外
25 秘情報につき非開示)。

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
30 の育成の経過

本組換えトウモロコシの開発は 2007 年に開始された。交配種
Hi-II は、Maize Genetics Coop Stock Center から入手したデントコ
ーン種の近交系 Hi-IIA と Hi-IIB の交配で育成された。交配種 Hi-II

への遺伝子挿入により作出した T0 (3 葉期) にグリホサートの基準散布量の 4 倍量 (基準散布量 1.78 L/ha: 商品名 GlyStar 有効成分濃度 48%) を散布した。その結果得られた耐性個体の中から選抜した個体に近交系を戻し交雑して得られた世代を BC0 とした。

5

BC0 世代の自殖から得た BC0S2 世代に近交系を戻し交雑して得られた種子を発芽試験に用いた (社外秘情報につき非開示) (別添資料 D4; 社外秘情報につき非開示)。また、近交系 B109、B110、B116 は、アイオワ州立大学で育成された (別添資料 D4; 社外秘情報につき非開示)。

10

15

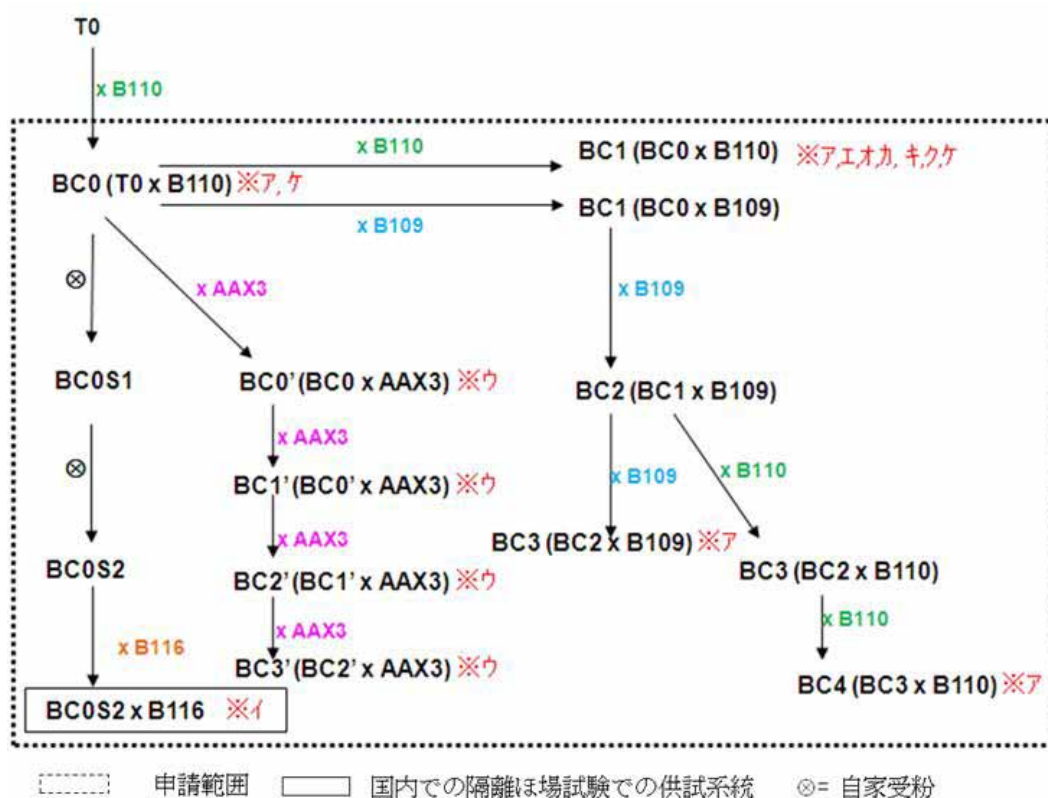


図 4 本組換えトウモロコシの育成経過

20

(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

移入された核酸の複製物が存在する場所

5

除草剤グリホサート散布に対する耐性個体数を指標として、改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子導入個体の分離比を、戻し交雑系統 BC1'、BC2'、BC3'を用いて解析した。その結果、除草剤グリホサートに対する耐性個体と感受性個体の分離比は、いずれの系統もほぼ 1:1 であることが確認され、改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子がメンデルの法則に従い安定して遺伝していると判断された(表 3, 18 ページ、別添資料 R5 ; 社外秘情報につき非開示)。

10

よって、本組換えトウモロコシの挿入遺伝子である改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子は、複数世代にわたって本組換えトウモロコシの染色体上に存在することが示唆された。

15

表 3 本組換えトウモロコシにおける後代の分離比

世代	供試 個体数	実測値		期待値		耐性率 (%)	χ^2	p 値 ¹
		陽性	陰性	陽性	陰性			
BC0' ²	28	12	16	14	14	42.9	0.571	—
BC1'	153	78	75	76.5	76.5	51.0	0.059	0.808
BC2'	58	29	29	29	29	50	0.000	1.000
BC3'	74	38	36	37	37	51.4	0.054	0.816

1. 3 世代(BC1', BC2', BC3')で得られた分離比について χ^2 検定を行い、解析した(p<0.05)。

2. アンダーラインの BC0'世代は、供試個体数が少ないため参考データとした。

20

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

本組換えトウモロコシ BC1(BC0 × 近交系 B110)のゲノム DNA を制限酵素 *Hind* で切断してサザンブロット分析を行った結果、予想されるフラグメント長 4,040 bp(図 5,19 ページ)近傍に一本のバンドが確認された(図 6, 20 ページ、別添資料 R4 ; 社外秘情報

25

につき非開示)。

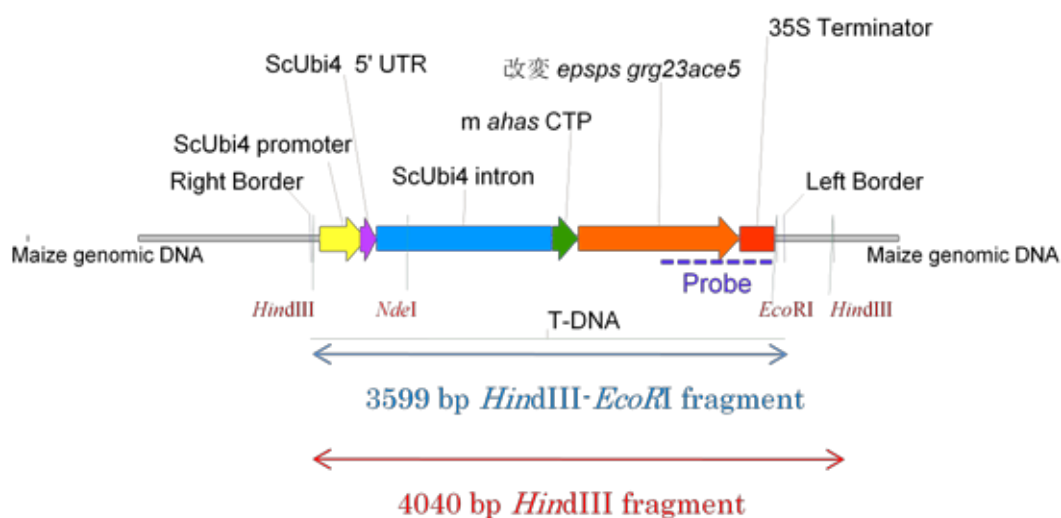
また制限酵素 *Hind* III と *Eco*RI で切断してサザンブロット分析を行った結果、予想されるフラグメント長 3,599 bp (図 5, 19 ページ) 近傍に一本のバンドが確認された(図 6, 20 ページ、別添資料 R4 ;

5

それらのことから、目的の改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子が断片化されず 1 コピーの完全長が挿入されていることが確認された。

また、移入した改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子が安定して複数世代に伝達されたことを本組換えトウモロコシの BC0、BC1、BC3、BC4 世代について解析した結果、いずれの世代でも改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子が安定して存在していることが確認された (図 7, 21 ページ、別添資料 R3 ; 社外秘情報につき非開示)。

10



15

図 5 改変ベクター pAG3541 の T-DNA 領域の挿入部位

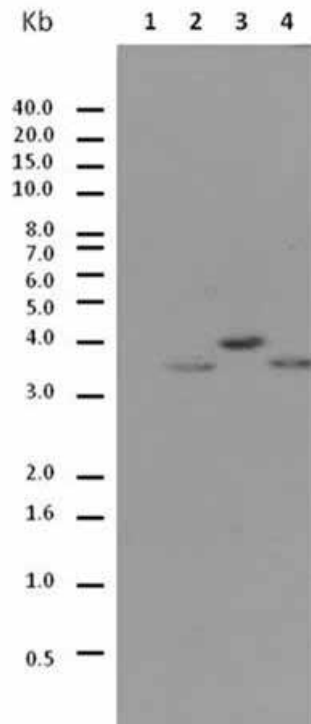
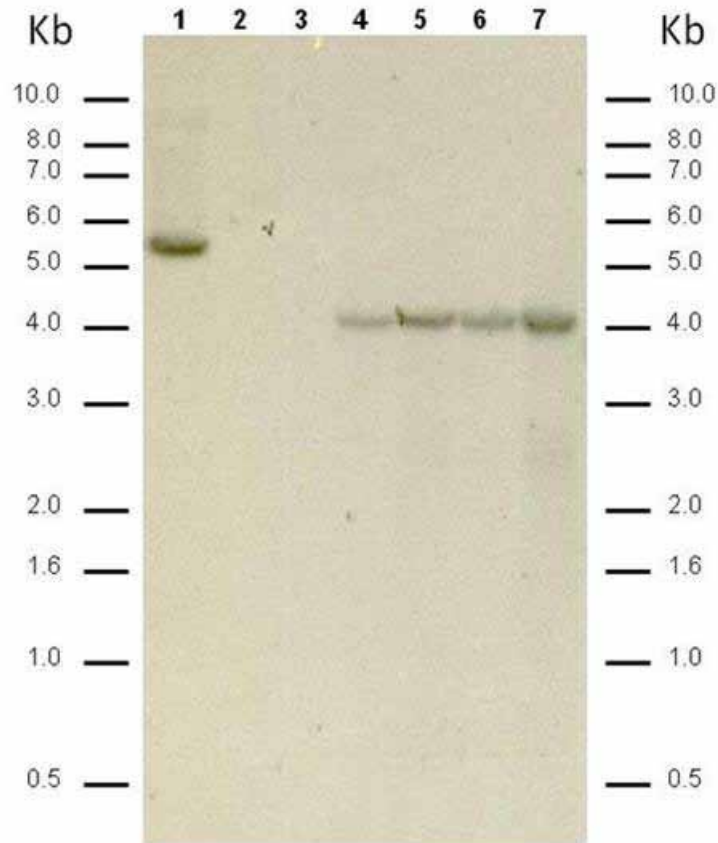


図 6 導入遺伝子のコピー数の解析

5

レーン	供試個体
1	ネガティブ・コントロール (近交系 B110、 <i>Hind</i> で切断)
2	ポジティブ・コントロール(近交系 B110 の DNA+ pAX3541(<i>Hind</i> + <i>Eco</i> RI で切断))
3	BC1 の DNA (<i>Hind</i> で切断)
4	BC1 の DNA (<i>Hind</i> + <i>Eco</i> RI で切断)



5

図7 導入遺伝子のサザンブロット解析(複数世代における安定性)

レーン	供試個体
1	ポジティブ・コントロール (BC1 で分離した陰性個体の DNA (<i>Hind</i> で切断)) + pAG3541 (<i>NdeI</i> で切断))
2	ネガティブ・コントロール(近交系 B110 の DNA (<i>Hind</i> で切断))
3	ネガティブ・コントロール(BC0 の非組換え体の DNA (<i>Hind</i> で切断))
4	BC0 の DNA (<i>Hind</i> で切断)
5	BC1 の DNA (<i>Hind</i> で切断)
6	BC3 の DNA (<i>Hind</i> で切断)
7	BC4 の DNA (<i>Hind</i> で切断)

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

5 染色体上に複数コピーは存在しない。

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

10 フランス国ヴィルモラン社のガラス温室で育成した本組換えトウモロコシの戻し交雑系統 BC1'、BC2' 及び近交系 AAX3 に除草剤グリホサートを散布処理し、グリホサートに対する耐性個体数と感受性個体数の分離比を調査するとともに、PCR 法による遺伝子分析を実施した。その結果、改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子を保持しない本組換えトウモロコシの陰性個体及び近交系 AAX3 はグリホサートに対する感受性を示す一方で、改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子を保持し改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質を発現する本組換えトウモロコシはグリホサートに対する高い耐性を示し、耐性個体数と感受性個体数の分離比がほぼ 1 : 1 となった (表 4, 23 ページ、別添資料 R12、R12 - 2 ; 社外秘情報につき非開示)。

20 以上の PCR 法による遺伝子分析と除草剤耐性試験の結果から、本組換えトウモロコシの保持する改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子及び改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質が個体間及び世代間で安定的に発現していることが確認された。

25 なお、隔離ほ場試験期間中に、本組換えトウモロコシに導入された改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子の転写された RNA または発現蛋白質を分析し、情報を収集する。

表 4 除草剤グリホサートに対する耐性を指標とした後代の分離比

供試世代	実測値		期待値		χ ² 値
	耐性個体数	感受性個体数	耐性個体数	感受性個体数	
BC1'	39	41	40	40	0.05
BC2'	38	42	40	40	0.2

1. BC1' 世代及び BC2' 世代の種子をそれぞれ播種し、3~4 週間後に除草剤グリホサート (薬量: 360g/L Glyphos™) を散布した。改変 *epspsgrg23ace5* 遺伝子がゲノムの 1ヶ所に存在する場合の分離比の期待値を 1:1 として χ² 検定を行った (p<0.05)。
2. 本除草剤耐性試験は、フランス国ヴィルモラン社の温室で実施した (2012 年)。

10 ウイルスの感染その他の経路を經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

15 本組換えトウモロコシに移入された核酸に伝達を可能とする配列は含まれていない。したがって、移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれはないと考えられる。

(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

20 本組換えトウモロコシは、挿入遺伝子の特異的な DNA 配列及び隣接する核ゲノム DNA の配列からなる本組換えトウモロコシに特異的に結合可能なプライマーセットを利用して、PCR 法による検出及び識別が可能である(別添資料 R12; 社外秘情報につき非開示)。なお、本組換えトウモロコシを一般的な使用のための第一種使用規程の承認申請を行うまでに、本法の再現精度についての確認を行う。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

5 本組換えトウモロコシは、改変 *epsps grg23ace5* 遺伝子を導入することにより除草剤グリホサートに対する耐性が付与されている。除草剤グリホサートの散布により改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質を発現する本組換えトウモロコシは高い除草剤耐性を示すことが確認された（表 4, 23 ページ、別添資料 R6；社外秘情報につき非開示）。

10 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

a 形態及び生育の特性

15 形態及び生育の特性を比較するために、2008 年に米国（アイオワ州）のほ場において 13 項目の表現型について、本組換えトウモロコシ（BC1）及び非組換えトウモロコシ（本組換えトウモロコシ BC1 で分離した陰性個体）の間の統計学的有意差を調べた。

20 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では、すべての調査項目において統計学的有意差は認められなかった（表 5, 24 ページと別添資料 R7；社外秘情報につき非開示）。

表 5 栽培時の表現型分析の結果
（社外秘情報につき非開示）

25

b 生育初期における低温又は高温耐性

30 本組換えトウモロコシ(BC1)の生育初期における低温処理による草丈、葉枯れへの影響を調査した。低温処理は7 で 10 時間光照射（50%遮光）、5 で 14 時間暗黒下で行い、低温処理開始後 25 日目までの草丈の伸長程度と葉枯れ程度を観察した。

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は、ともに低温処理を開始した直後から草丈の新たな伸長は認められず、低温処理開始 25 日後には、すべてにおいて著しい葉枯れ

と草丈の抑制が認められ、両者の間に統計学的有意差は認められなかった（図 8, 25 ページ、表 6, 25 ページ、別添資料 R8 ; 社外秘情報につき非開示）。

5

したがって、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低温障害を受けることが明らかとなった。



図 8 低温環境条件下での生育状況(25 日後)

青色ラベル : 組換えトウモロコシ

黄色ラベル : 非組換えトウモロコシ

白色ラベル : 処理識別番号

10

表 6 低温環境条件下での生育状況(草丈)

低温処理 開始後日数	本組換えトウモロコシ (BC1)	非組換えトウモロコシ (BC1) ¹	p 値 ²
	平均草丈(cm)±SD	平均草丈(cm)±SD	
0	26.2 ± 2.97	26.0 ± 2.71	0.877
5	27.7 ± 3.83	27.7 ± 3.27	1.000
7	27.8 ± 4.24	27.9 ± 3.75	0.956
13	25.4 ± 4.22	24.3 ± 4.11	0.562
21	17.6 ± 4.50	17.0 ± 3.77	0.750
25	13.5 ± 2.80	13.4 ± 2.59	0.935

1. 非組換えトウモロコシ BC1 は、本組換えトウモロコシ BC1 で分離した陰性個体。

2. Student の t-検定を行った(p<0.05)。n=10。

15

c 成体の越冬性又は越夏性

トウモロコシは夏型一年生植物であり、結実後、冬期には通常枯死する。再成長して、栄養繁殖や種子を生産することはない。

20

d 花粉の稔性及びサイズ

5 温室内で成長させた開花期の本組換えトウモロコシ (BC1) 及び非組換えトウモロコシ (本組換えトウモロコシ BC1 で分離した陰性個体) の花粉を採取し、酢酸カーミンで染色して花粉の稔性及びサイズを調べた。

10 その結果、酢酸カーミンで染色された稔性花粉の出現頻度は、本組換えトウモロコシでは 95.2%、対照の非組換えトウモロコシでは 95.1% であり、統計学的有意差は認められなかった (表 7, 26 ページ)。

表 7 花粉の稔性

	本組換え トウモロコシ (BC1)	非組換え トウモロコシ (BC1) ¹	p 値 ²
稔性花粉の出現頻度 (%)	95.2	95.1	0.779

1. 非組換えトウモロコシ BC1 は、本組換えトウモロコシ BC1 で分離した陰性個体。
2. 稔性花粉の出現頻度は百分率 (%) で示し、逆正弦変換後に Student の t-検定を行った ($p < 0.05$)。
3. ランダムに選んだ 6 区から少なくとも各区 20 花粉を採取し、得られた花粉を酢酸カーミンで染色して顕微鏡下で観察した。

20 また、本組換えトウモロコシ (BC1) の花粉粒のサイズについて、非組換えトウモロコシ (近交系 B110) との統計学的有意差は認められなかった (図 9, 27 ページ、別添資料 R9; 社外秘情報につき非開示)。

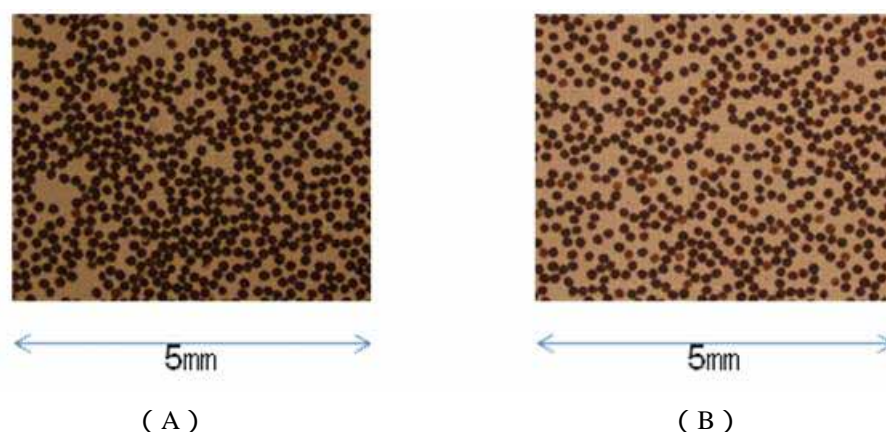


図9 花粉粒のサイズ

- (A) 本組換えトウモロコシ (BC1) (酢酸カーミンで染色)
 (B) 非組換えトウモロコシ (近交系 B110) (酢酸カーミンで染色)

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

本組換えトウモロコシ (BC0S2 × 近交系 B116) と非組換えトウモロコシ (BC0S2 × 近交系 B116) の種子発芽率は 99.6% で、統計学的有意差は認められなかった (表 8, 27 ページ、別添資料 R10; 社外秘情報につき非開示)。

表 8 種子発芽率

	本組換え トウモロコシ (BC0S2 × 近交系 B116)	非組換え トウモロコシ (BC0S2 × 近交系 B116) ¹	p 値 ²
発芽率(%)	99.6	99.6	1.000

1. 非組換えトウモロコシ (BC0S2 × 近交系 B116) は、本組換えトウモロコシ (BC0S2 × 近交系 B116) の陰性個体。
2. 50 粒/区、5 反復で、計 250 粒の組換え体及び非組換え体の種子をそれぞれ供試した。種子発芽率は百分率 (%) で示し、逆正弦変換後に Student の t-検定を行った (p < 0.05)。

f 交雑率

我が国ではトウモロコシと交雑可能な近縁野生種の自生は報告されていない。したがって、交雑の可能性はないため、交雑率についての調査は行わなかった。

5

g 有害物質の産生性

米国内のほ場において、本組換えトウモロコシ (BC1) による有害物質の産生性を、非組換えトウモロコシとの比較で調査した。

10

鋤込み試験：

播種 1 週間後に検定植物であるハツカダイコンの発芽率、播種 2 週間後に草丈、根長、地上部生体重、地上部乾物重を調査したところ、すべての調査項目について、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシの栽培区との間でハツカダイコンの生育に統計学的有意差は認められなかった(表 9、28 ページ、別添資料 R11；社外秘情報につき非開示)。

15

表 9 鋤込み試験におけるハツカダイコンの生育調査

	本組換えトウモロコシ (BC1) を鋤き込んだ土壤		非組換えトウモロコシ (BC1) ¹ を鋤き込んだ土壤		p 値 ²
	平均	SD ³	平均	SD ³	
発芽率 (%) ⁴	97.0	4.8	96.0	5.2	0.678
生体重 (g) ⁵	24.5	4.2	24.3	4.3	0.910
乾物重 (g) ⁵	1.5	0.3	1.5	0.2	0.852
草丈 (mm) ⁵	84	12	85	36	0.697
根長 (mm) ⁵	213	64	206	67	0.456

20

1. 非組換えトウモロコシ BC1 とは、本組換えトウモロコシ BC1 で分離した陰性個体である。
2. Student の t-検定を行った(p<0.05)。ただし、発芽率については逆正弦変換後に Student の t-検定を行った。
- 3 SD = 標準偏差
4. 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシをそれぞれ鋤き込んだ土

25

壤を用いて、10粒/区、10反復で、計100粒のハツカダイコンの種子を発芽させた。

5. 本組換えトウモロコシを鋤き込んだ土壌で栽培したハツカダイコン 97 個体、非組換えトウモロコシを鋤き込んだ土壌で栽培したハツカダイコン 96 個体を供試した。

後作試験：

本組換えトウモロコシの生育により土壌中に有害物質が分泌される可能性を検討した。すべての調査項目において本組換えトウモロコシの試験区と非組換えトウモロコシの試験区との間でハツカダイコンの生育に統計学的有意差は認められなかった（表 10,29 ページ、別添資料 R11；社外秘情報につき非開示）。

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

表 10 後作試験におけるハツカダイコンの生育調査

	本組換えトウモロコシ (BC1)を栽培した 土壌		非組換えトウモロコシ (BC1) ¹ を栽培した 土壌		p 値 ²
	平均	SD ³	平均	SD ³	
発芽率 (%) ⁴	96.0	5.2	97.0	4.8	0.678
生体重 (g) ⁵	28.7	4.9	27.7	3.6	0.600
乾物重 (g) ⁵	1.9	0.4	1.8	0.2	0.578
草丈 (mm) ⁵	90	13	90	12	0.800
根長 (mm) ⁵	188	57	194	56	0.513

1. 非組換えトウモロコシ BC1 とは、本組換えトウモロコシ BC1 で分離した陰性個体である。
2. Student の t-検定を行った(p<0.05)。ただし、発芽率については逆正弦変換後に Student の t-検定を行った。
3. SD = 標準偏差
4. 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシをそれぞれ栽培した後にトウモロコシを除去した土壌に、10粒/区、10反復で、計100粒のハツカダイコンの種子を播種し発芽させた。
5. 本組換えトウモロコシを栽培した後にトウモロコシを除去した土壌で生育

させたハツカダイコン 96 個体、非組換えトウモロコシを栽培した後にトウモロコシを除去した土壌で生育させたハツカダイコン 97 個体を供試した。

3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

5 (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。

10 (2) 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・食品産業技術総合研究機構
畜産草地研究所那須研究所 隔離ほ場

15 使用期間：承認日から平成 28 年 3 月 31 日まで

イ、隔離ほ場の施設

部外者の立入り及び獣害を防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。

20 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ところに掲げている。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、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。

25 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風林を設置している。

鳥害を防ぐために、常時、防鳥網を設置する。

30 口、隔離ほ場での作業要領

本組換えトウモロコシ及び比較対照の非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最小限に抑える。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。

35 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

5 の栽培終了後は、当該トウモロコシ及び比較対照の非組換えトウモロコシを隔離ほ場内に鋤込む等により確実に不活化する。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、非意図的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。

本組換えトウモロコシの花粉の飛散を減少させるため、除雄又は雄穂の袋がけを行う。

10 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。

から までに掲げる事項を第一種使用等を行う実験従事者に遵守させる。

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。

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**

20 **(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。

25 **(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**

本組換えトウモロコシに関して、米国においては2008年からほ場試験を実施している。さらに、スペインにおいては2009年及び2010年に、またスロバキア共和国ならびにチェコ共和国では2010年に、ほ場試験を実施している。2011年においてもスペイン、スロバキア共和国、チェコ共和国、カナダにおいて野外

5

試験を同様に実施中である。また、米国内の野外試験結果によって商業的価値が認められたので米国農務省動植物検疫局（APHIS）に対して2011年12月に無規制裁培（商業栽培）の許可申請を行った。米国食品医薬品局（FDA）に対して食品及び飼料としての利用許可を申請中である。

10

我が国においては、本組換えトウモロコシについては、食品としての安全性審査のための申請を厚生労働省に、飼料としての安全性審査のための申請を農林水産省に、順次行う予定である。

第二 項目ごとの生物多様性影響評価

1. 競合における優位性

5 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

10 トウモロコシが、我が国に導入されてから長期間の栽培経験があり、その間、自然条件下で自生したとの報告はない。また、我が国においてトウモロコシが野生化し、野生動植物等の生息や生育に影響を与えたという報告もない。

15 本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる形質として、形態及び生育の特性(2008年実施)、生育初期における低温耐性(2010年実施)、花粉の稔性及びサイズ(2008年実施)、種子の生産量及び脱粒性(2008年実施)、発芽率(2010年実施)について、米国にて調査を行った。その結果、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの間に統計学的有意差は認められなかった。

20 本組換えトウモロコシには、改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質の発現による除草剤グリホサート耐性が付与されているが、グリホサートが散布されることが想定しにくい自然条件下においては、グリホサ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。

25 以上のことから、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

30 (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

5 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

10 (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、我が国に導入されてから長期間の栽培経験があり、その間、有害物質を産生したとする報告はない。また、アレロパシー物質の産生性についての報告もない。

15 本組換えトウモロコシ中には、除草剤グリホサートに耐性を持つ改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質が発現しているが、本蛋白質のアミノ酸配列は、既知アレルゲンと類似性のある配列を有していないことが、国際的な遺伝子データベースとの相同性検索で確認されている。また、改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質と機能的に同一な EPSPS 蛋白質は、植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質の一つであるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (OECD 1999)。実際、改変 EPSPS GRG23ace5 蛋白質を発現している本組換えトウモロコシのアミノ酸組成のうち、アルギニン含量及びシキミ酸経路の最終産物である芳香族アミノ酸のチロシン含量については非組換えトウモロコシとの間で統計学的有意差が認められたが、市販のトウモロコシ及び ILSI データベースの値の変動範囲内であることから、EPSPS が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる(別添資料 D5；社外秘情報につき非開示)。

30 (別添資料 D6；社外秘情報につき非開示; Schouten *et al.*, 2008; NCBI, 2011)。

また、米国内での本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシを用いた鋤込み試験及び後作試験を実施した結果、検定植物のハツカダイコンの生育に相違は見られなかったことから、本組換えトウモロコシにおいて有害物質の産生はないと判断された。

5 以上のことから、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

10 (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

15 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。

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

25 宿主であるトウモロコシと交雑可能な近縁野生種としてテオシントとトリプサクムが報告されているが我が国には自生していない。

したがって、本組換えトウモロコシの栽培によって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

30

(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

5 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。

4. その他の性質

10 生物多様性影響の評価を行うことが適当であると考えられる本組換えトウモロコシの性質は、上記のほかに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 トウモロコシが、我が国に導入されてから長期間の栽培経験があり、その間、自然条件下で自生したとの報告はない。また、我が国においてトウモロコシが野生化し、野生動植物等の生息や生育に影響を与えたという報告もない。

本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシの間で競合における優位性に関わる諸形質を比較検討した結果、統計学的有意差は認められず、競合における優位性は高まらないと考えられた。

10 本組換えトウモロコシには、改変 EPSPSGRG23ace5 蛋白質の発現による除草剤グリホサート耐性が付与されているが、除草剤グリホサートの散布が想定しにくい自然環境下においては、除草剤グリホサ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にくい。

15 したがって、本組換えトウモロコシを作業要領等によって管理された環境下にある隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及び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。

20 トウモロコシが、我が国に導入されてから長期間の栽培経験があり、その間、有害物質を産生したとする報告はない。

本組換えトウモロコシで発現している改変 EPSPSGRG23ace5 蛋白質自体に関して、野生動植物等に対する有害性の報告はない。さらに有害物質の産生性に関する試験においても、有害物質の産生は確認されなかった。したがって、野生動植物等に対する有害性は考えられない。

25 また、本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。

30 したがって、本組換えトウモロコシを作業要領等によって管理された環境下にある隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及び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が生ずるおそれはないと判断された。

35 宿主であるトウモロコシと交雑可能な近縁野生種としてテオシントとトリブサクムが報告されているが日本には自生していない。したがって、本組換えトウモロコシについて、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。

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に付随する行為の範囲内では、我が国において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。

5

参考文献

- CFIA (Canadian Food Inspection Agency) , “The Biology of *Zea mays* (L.) (Maize) : Biology Document BIO1994-11 (1994)
- Depicker,A., Stachel,S., Dhaese,P., Zambryski,P. & Goodman,H.M., J.
5 Molec.,“Agro vector sequences”Appl. Genet., *1* : 561–574 (1982)
- Fang,L., Gross,P., Chen,C. and Lillis,M., “mz AHAS leader” Plant Mol. Biol. *18* (6) : 1185-1187 (1992)
- FAOSTAT, FAO (Food and Agriculture Organization of the United Nations)
Database Preliminary 2009, “Data Now Available For Selected Countries And
10 Products (2011) updated May 17, 2011
<http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567>
- FARRP (Food Allergy Research and Resource Program) Database
Protein Allergen Online Database version 10.0, (2010.1)
<http://www.allergenonline.org> (閲覧日: 2011 年 2 月 1 日)
- 15 ● Franz,J.E., Mao,M.K., and Sikorski,J.A., “Glyphosate – A Unique Global
Herbicide” American Chemical Society. Monograph 189. Washington, DC.
(1997)
- Gardner,R., Howarth,A., Hahn,P., Brown-Luedi,M., Shepherd,R., Messing,J.,
“35S terminator ” Nucleic Acids Research *9* (12) : 2871-2888 (1981)
- 20 ● Ingram,J., “The separation distances required to ensure cross-pollination is below
specified limits in non-seed crops of sugar beet, maize, and oilseed rape” Plant
Varieties and Seeds *13* : 181-189 (2001)
- Iltis, H. H.,“From teosinte to Maize” Science *222* (4626) : 886-894 (1983)
- Kawalleck,P., Somssich,I.E., Feldbruegge,M., Hahlbrock,K. and Weisshaar,B.,
25 “Polyubiquitin gene expression and structural properties of the ubi4-2 gene in
Petroselinum crispum”Plant Molecular Biology *21*: 673-684 (1993)
- NCBI BLAST Basic Local Alignment Search Tool データベース, GRG23ACE5,
<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> 閲覧日 25/05/2011
- 農学大事典(新編), 監修:山崎耕宇, 久保祐雄, 西尾敏彦, 石原邦、株式会
30 社養賢堂発行:433-434, 964 (2004)
- 農学大事典(第 2 次増訂改版), 監修:野口弥吉, 川田信一郎、株式会社養賢
堂発行 536-541 (1994)
- 農林水産省大臣官房統計部編,“平成 22 年産飼肥料作物の作付 (栽培) 面積”
(2011)
35 [http://www.maff.go.jp/j/toukei/kouhyou/sakumotsu/menseki/pdf/menseki_shiryou_10.p
df](http://www.maff.go.jp/j/toukei/kouhyou/sakumotsu/menseki/pdf/menseki_shiryou_10.pdf) (閲覧日: 2011 年 5 月 10 日)

- 農林水産省ウェブサイト,“我が国への作物別主要輸出国と最大輸出国における栽培状況の推移” (2009) <http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/> (閲覧日: 2011年5月10日)
- 農林水産省大臣官房国際部編,“農産物貿易統計 ” トウモロコシ (2009)
5 http://www.maff.go.jp/j/kokusai/kokusei/kaigai_nogyo/k_tokei/noubou.html (閲覧日: 2011年5月10日)
- OECD,“Consensus Document on Compositional Considerations for New Varieties of Maize (*Zea mays*) : Key Food and Feed Nutrients, Anti-Nutrients and Secondary Plant Metabolites” (20-August 2002; ENV/JM/MONO/25) (2002)
- 10 ● OECD,“Consensus Document on the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (maize)” (23-July-2003; ENV/JM/MONO/11) 日本語訳 (2003)
- Pohl,M.E.D., Piperno,D.R., Pope,K.O., Jones,J.G.,“Microfossil Evidence for Pre-Columbian Maize Diepersals in the Nertropics from San Andres, Tobasco, Mexico”*Proc.Natl.Acad.Sci.* **104** (16) : 6870-6875 (2007)
- 15 ● Sanvido,O., Widmer,F., Winzeler,M., Streit,B., Szerencsis,E.and Bigler,F., “Definition and feasibility of isolation distances for transgenic maize cultivation”*Transgenic Res.* **17**: 317-335 (2008)
- Schouten,L.C., Peters,C., Vande Berg,B., Hinson,T. ,Beilinson,V., “IMPROVED GRG23 EPSPSYNTHASES: COMPOSITIONS AND METHODS OF USE”
20 Publication Number: WO 2008/100353(International Publication Date:21 Aug.2008)
- Sikorski,J.A. and Gruys,K.J., “Understanding Glyphosate’s Molecular Mode of Action with EPSP Synthase: Evidence Favoring an Allosteric Inhibitor Model ” *Accounts of Chemical Research* **30** (1) : 2-8 (1997)
- 25 ● Sluyter,A. and Dominguez,G., “Early Maize (*Zea mays* L.) Cultivation in Mexico: Dating Sedimentary Pollen Records and its Implications” *Proc.Natl.Acad.Sci.* **103** (4) : 1147-1151 (2006)
- 戸澤英男 シリーズ<食品の科学> 「トウモロコシの科学」 (貝沼圭二, 中久喜輝夫, 大坪研一編集, 株式会社朝倉書店発行) (2009)
- 30 ● USDA-FAS, “ Grain: World Markets and Trade” (2008)
<http://usda.mannlib.cornell.edu/usda/fas/grain-market//2000s/2008/grain-market-12-11-2008> (閲覧日: 2011年5月10日)
- Wei,H., Wang,M., Moore,P.H. and Albert,H.H.,“Comparative Expression analysis of Two Sugarcane Polyubiquitin Promoters and Flanking Sequences in
35 Transgenic Plants” *J. Plant Physiology* **160**: 1241-1251 (2003)
- Zambryski,P., Holsters,M., Kruger,K., Depicker,A., Schell,J., Van Montagu,M.

and Goodman,H.M., “Tumor DNA structure in plant cells transformed by *A. tumefaciens*” Science **209** : 1385-1391 (1980)

別添資料一覧

5	別添資料 R1	Polymerase Chain Reaction(PCR) Analysis of Event VCO-Ø1981-5 for Absence of Antibiotic Marker Genes (社外秘情報につき非開示)
	別添資料 R2	Absence of Residual <i>Agrobacterium</i> on Transformed Maize Plants (社外秘情報につき非開示)
10	別添資料 R3	Multiple Generation Analysis of the Genetic Stability of Transformation Event VCO-Ø1981-5 (社外秘情報につき非開示)
	別添資料 R4	Molecular Characterization of the <i>epsps grg23ace5</i> of Event VCO-Ø1981-5 (社外秘情報につき非開示)
15	別添資料 R5	Segregation Analysis of <i>epsps grg23ace5</i> Maize Event VCO-Ø1981-5 (社外秘情報につき非開示)
	別添資料 R6	EPSPS GRG23ace5 Expression in Maize Confers Glyphosate Tolerance in Greenhouse and Field Environments (社外秘情報につき非開示)
20	別添資料 R7	Evaluation of Agronomic Performance of Event VCO-Ø1981-5 (社外秘情報につき非開示)
	別添資料 R8	Evaluation of Seedling Cold Tolerance of Event VCO-Ø1981-5 (社外秘情報につき非開示)
25	別添資料 R9	Evaluation of Pollen Morphology of Event VCO-Ø1981-5 (社外秘情報につき非開示)
	別添資料 R10	Laboratory Seed Germination Analysis of Event VCO-Ø1981-5 (社外秘情報につき非開示)
30	別添資料 R11	EPSPS GRG23ace5 Expression in Maize Does not Generate Harmful Substances in soil (社外秘情報につき非開示)
	別添資料 R12	Specific Method for the Determination of Event VCO-Ø1981-5 (社外秘情報につき非開示)
35	別添資料 R12-2	PCR 法及びグリホサート散布試験を用いた Event VCO-Ø1981-5(BC1' 及び BC2') のスクリーニング (社外秘情報につき非開示)

- 別添資料 D1 DNA sequence of pAG3541 (46662 bp)
(社外秘情報につき非開示)
- 5 別添資料 D2 *epsps grg23ace5* and EPSPS GRG23ace5 sequences.
(社外秘情報につき非開示)
- 別添資料 D3 Allergenicity and toxicity: bioinformatic analyses
(社外秘情報につき非開示)
- 別添資料 D4 Description of the maize lines used in this study
(社外秘情報につき非開示)
- 10 別添資料 D5 Amino acid contents in the Event Event VCO-Ø1981-5
(社外秘情報につき非開示)
- 別添資料 D6 EPSPS ACE5 enzymatic function in the presence of glyphosate
(社外秘情報につき非開示)

15

緊急措置計画書

平成 23 年 5 月 16 日

5

氏名 ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社
代表取締役社長 越部 圓
住所 東京都渋谷区南平台町 1 5 番 1 3 号 帝都渋谷ビル

10

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性トウモロコシ（改変 *epsps grg23ace5, Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis）(Event VCO-Ø1981-5, OECD UI: VCO-Ø1981-5)（以下、「本組換えトウモロコシ」という。）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科学的根拠に基づき立証された場合、以下の処置を執ることとする。

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

20

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科学的根拠に基づき立証された場合、隔離ほ場試験責任者（表 1-1）は、生物多様性影響管理委員会（連絡先：ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社代表取締役社長）（表 1-2）に報告し、必要な緊急措置を講ずる。

25

2 第一種使用等の状況の把握の方法

試験栽培の担当者から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

30

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を周知するための方法

35

本組換えトウモロコシの使用に伴い、生物多様性影響を生ずるおそれがあると認めた場合には、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「第一種使用等をしている者」に連絡するとともに、弊社のホームページにおいて情報提供を行い、問い合わせ専用窓口を設置する。

4 遺伝子組換え植物を不活化し、または拡散防止措置をとって、その使用等を継続するための具体的な措置の内容

5 隔離ほ場管理責任者は、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認められた場合は、直ちに栽培試験を中止し、本組換えトウモロコシを鋤込み、抜き取り、焼却等の不活化処分をする等、必要な措置を実行する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

10 生物多様性影響が生ずるおそれがあると科学的根拠に基づき判断された場合、弊社は、そのことを直ちに農林水産省消費・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報告する。

表 1-1 隔離ほ場管理委員会名簿

(個人名は個人情報につき非開示)

平成 24 年 12 月現在

氏名	所属機関・職名
隔離ほ場試験責任者	独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所那須研究所 草地研究監
	独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所那須研究所 飼料作物研究領域上席研究員
	独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所那須研究所 那須企画管理室長
	ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社 代表取締役社長
	ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社 バイオテクノロジー事業部 部長
	ヴィルモラン株式会社 遺伝子組換え担当部長
	ヴィルモラン株式会社 遺伝子組換え許認可担当主任

表 1-2 生物多様性影響管理委員会委員名簿（個人名は個人情報につき非
開示）

平成 24 年 12 月現在

氏 名	所属機関・職名
(委員長)	ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社 代表取締役社長
	ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社 バイオテクノロジー事業部 部長
	ヴィルモラン株式会社 研究開発本部長
	ヴィルモラン株式会社 遺伝子組換担当部長
	ヴィルモラン株式会社 遺伝子組換許認可担当主任
	アセニクス株式会社 取締役 許認可担当部長
	アセニクス株式会社 取締役 除草剤耐性担当部長
	玉川大学 学術研究所 教授
	玉川大学 学術研究所

ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社 隔離ほ場試験における受容環境

I. 隔離ほ場の所在地等

- 5 1.名称
独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所
那須研究所
- 2.住所
栃木県那須塩原市千本松 768
- 10 3.電話番号
・独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所
那須研究所 電話番号 0287-37-7252
・ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社 電話番号 03-3463-7426
- 4.地図
- 15 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所
那須研究所 隔離ほ場周辺図 (図 1)

II. 責任者等

- 1.隔離ほ場試験責任者及び副責任者
- 20 責任者: (個人名・所属は個人情報につき非開示)
- 2.隔離ほ場管理責任者
(個人名・所属は個人情報につき非開示)
- 3.隔離ほ場管理委員会
- 25 (1) 検討事項
- ・申請に係わる第一種使用等の方法
 - ・緊急措置計画書の内容
 - ・生物多様性影響が生じるおそれがあると認められる事態か否かの判断
- 30
- ・本組換えトウモロコシの第一種使用等を行うものの教育訓練の方法
 - ・その他、本組換えトウモロコシの第一種使用等による生物多様性影響の防止に関する事項
- (2) 委員会の招集と責任の所在
- 35
- ・隔離ほ場試験責任者は、隔離ほ場管理委員会を適宜招集し、本委員会における討議・決定事項に責任を負う。

- ・ 隔離ほ場管理責任者は、決定事項の実行に責任を持つ。

(3) 隔離ほ場管理委員会名簿

(個人名は個人情報につき非開示)

5

平成 24 年 12 月現在

氏名	所属機関・職名
(隔離ほ場試験責任者)	独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所那須研究所 草地研究監
	独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所那須研究所 飼料作物研究領域上席研究員
	独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構 畜産草地研究所那須研究所 那須企画管理室長
	ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社 代表取締役社長
	ブイ・シー・シー・ジャパン株式会社 バイオテクノロジー事業部 部長
	ヴィルモラン株式会社 遺伝子組換担当部長
	ヴィルモラン株式会社 遺伝子組換許認可担当主任

III. 試験期間

承認日から平成 28 年 3 月 31 日まで

10 IV. 隔離ほ場施設概要

隔離ほ場は防風林で囲まれており、部外者の立ち入り及び獣害を防ぐためのフェンス（高さ 1.6m）を設置し、立ち入り禁止であること及び管理責任者を明示するための標識、組換え隔離ほ場調査室、及び洗い場を設置している。また防鳥網を常時設置している(図 2)。

15

V. 使用面積等

1. 隔離ほ場全体の面積 (図 3)
45a (4,500 m²)
2. 試験に使用する面積
4.5a (450 m²)
- 5 3. 試験の配地図 (図 4)

VI. 隔離ほ場の周辺環境

1. 地形
栃木県の北端、関東平野に位置する (図 1, 13 ページ)。
- 10 2. 周辺の土地利用状況
周辺は、試験ほ場、雑木林、採草地、放牧地、道路、用水路 (隔離ほ場のフェンスから 19m) として利用されている。
3. 周辺の環境保護区の名称と隔離ほ場からの距離
15 隔離ほ場境界より半径 1 km 以内に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等) はない。
なお、上記の自然保護地域のうち、隔離ほ場に最も近いのは日光国立公園であり、隔離ほ場からの距離は約 7 km である。

4. 気象条件等

隔離ほ場の最寄りである気象情報観測地点・栃木県黒磯アメダス観測所（栃木県那須塩原市埼玉）の過去 30 年間の気象データの平均値を示した(表 1, 4 ページ; 気象庁統計情報ホームページよりダウンロード、2011 年 12 月 20 日アクセス)。

なお 2010 年の平均気温は 13.1 度、降水量 1,959mm であった。

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_amd_ym.php?prec_no=41&prec_ch=%93%C8%96%D8%8C%A7&block_no=0329&block_ch=%8D%95%88%E9&year=&month=&day=&elm=normal&view=

表 1 栃木県黒磯アメダス観測所（栃木県那須塩原市埼玉）における気象データの平年値

要素	降水量 (mm)	平均気温 ()	最高気温 ()	最低気温 ()	平均風速 (m/s)	日照時間 (時間)
統計期間	1981 ~ 2010	1981 ~ 2010	1981 ~ 2010	1981 ~ 2010	1981 ~ 2010	1987 ~ 2010
資料年数	30	30	30	30	30	24
<u>1月</u>	31.5	0.6	5.4	-4.2	2.2	154.4
<u>2月</u>	39.0	1.2	6.1	-3.7	2.4	158.4
<u>3月</u>	80.1	4.3	9.7	-0.9	2.5	177.8
<u>4月</u>	110.9	10.1	15.9	4.2	2.4	177.8
<u>5月</u>	140.6	15.0	20.5	9.5	2.1	163.4
<u>6月</u>	173.4	18.7	23.4	14.4	1.7	116.9
<u>7月</u>	238.4	22.2	26.8	18.6	1.5	110.2
<u>8月</u>	247.7	23.5	28.4	19.8	1.5	127.1
<u>9月</u>	229.5	19.7	24.3	15.9	1.7	110.3
<u>10月</u>	136.4	14.0	18.9	9.2	1.9	132.0
<u>11月</u>	74.2	8.1	13.5	2.8	1.9	144.3
<u>12月</u>	35.0	3.1	8.4	-1.9	2.1	153.9
年	1526.1	11.7	16.8	7.0	2.0	1722.6

5. 台風の襲来歴

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越地方への台風接近数の過去 30 年の平年値は、3.1 個である（気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アクセス 2011 年 12 月 19 日）、
<http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/average/average.html#kanto>

過去 10 年間の隔離ほ場周辺への台風の接近数

10 関東甲信越地方に接近し*¹、かつ隔離ほ場最寄りの観測地点（栃木県那須塩原市 黒磯アメダス観測所）に近づいた（半径 300 km 以内）台風の個数は過去 10 年で合計 33 個であった。

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

その中で最大風速*²が 17m/s 以上の台風はなかった。

6. 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

15 隔離ほ場は平成 10 年 3 月 23 日に竣工されたが、現在まで冠水したことはない。また、研究所内の他の施設においても、過去 50 年にわたって冠水していない。

7. 過去 10 年における強風(風速 15m/s 以上)の経験とその程度・頻度

20 2006 年 4 月 3 日(18.3m/s) ,4 月 9 日(15.2m/s) ,12 月 27 日(17.7m/s) ,
12 月 29 日(15.2m/s)

2007 年 1 月 7 日(15.1m/s) , 5 月 11 日(16.6m/s)

2008 年 2 月 23 日(17.6m/s) , 5 月 6 日(15.8m/s) , 12 月 26 日(16.7m/s)

2009 年 1 月 10 日(18.1m/s) , 2 月 8 日(15.8m/s) , 2 月 16 日(15.3m/s) ,
3 月 14 日(15.7m/s) , 3 月 21 日(15.3m/s) , 3 月 23 日(15.7m/s) ,

25 4 月 15 日(15.8m/s) , 5 月 14 日(18.4m/s),

2010 年 4 月 14 日(15.0m/s),

2011 年 4 月 28 日(15.5m/s), 12 月 4 日(16.1m/s)

（独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所
30 那須研究所 隔離ほ場内に設置されている風速計にて測定）強風によって栽培中の作物が倒伏したことはない。

*¹ 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 300 km 以内に入った場合を「関東甲信越地方に接近した台風」としている。

（台風の統計資料（気象庁）：<http://www.jma.go.jp/jma/menu/report.html>）

*² 台風の低気圧域内の定義が最大風速（10 分間平均）が 17m/s であることによる
気象庁（台風とは）：<http://www.jma.go.jp/jma/kishou/now/typhoon/1-1.html>

8. 市町村が策定するハザードマップの位置付け

隔離ほ場周辺は浸水地域に該当しない。

9. 周辺地域における鳥獣害の発生状況

2004年に隔離ほ場から約800m離れた生産ほ場で熊によるトウモロコシの食害発生があった。2005年以降に被害はない。なお隔離ほ場は金網で囲われており、鳥獣害が発生したことはない。

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及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

影響を受ける可能性のある野生動植物はない。

2. 交雑可能な近縁野生種及びその中に希少種が含まれている場合はその名称等

交雑可能な近縁野生種はない。

VIII. 栽培管理等

1. 隔離ほ場の栽培履歴

ほ場No.	作物	栽培期間(2008年)												
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
No.1	非遺伝子組換えヘアリーベッチ	→	→	→	→								←	←
No.2	非遺伝子組換えヘアリーベッチ	→	→	→	→								←	←
No.3	非遺伝子組換えトウモロコシ					←	←	←	←	←	←	←		
No.3	非遺伝子組換えヘアリーベッチ	→	→	→	→								←	←

ほ場No.	作物	栽培期間(2009年)												
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
No.1	非遺伝子組換えヘアリーベッチ	→	→	→	→									
No.2	非遺伝子組換えヘアリーベッチ	→	→	→	→									
No.3	非遺伝子組換えヘアリーベッチ	→	→	→	→									
No.3	遺伝子組換えトウモロコシ									←	←	←	←	←
No.3	非遺伝子組換えトウモロコシ									←	←	←	←	←

ほ場No.	作物	栽培期間(2010年)												
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
No.1	なし(休閑)													
No.2	遺伝子組換えトウモロコシ							←	←	←	←	←	←	←
No.2	非遺伝子組換えトウモロコシ							←	←	←	←	←	←	←
No.3	なし(休閑)													

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、

必要と判断した場合には緊急措置計画書に従って速やかに対策を講ずるが基本的には独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所那須研究所のマニュアルに準ずる。

- 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）
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き込む等の適切な手段で処分する。なお、翌年は休耕する。

- 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) 部外者の立入り及び獣害を防止するため、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。
 - 15 (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、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) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風林を設置している。
 - 20 (5) 鳥害を防ぐために、常時、防鳥網を設置する。

5. 作業要領
 - (1) 本組換えトウモロコシ及び比較対照の非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最小限に抑える。
 - 25 (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)により運搬又は保存する場合を除き、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非組換えトウモロコシを隔離ほ場内に鋤込む等により、確実に不活化する。
 - 30 (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、非意図的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減少させるため、除雄又は雄穂の袋がけを行う。
 - 35 (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実験従事者に遵守させる。
- (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

以上

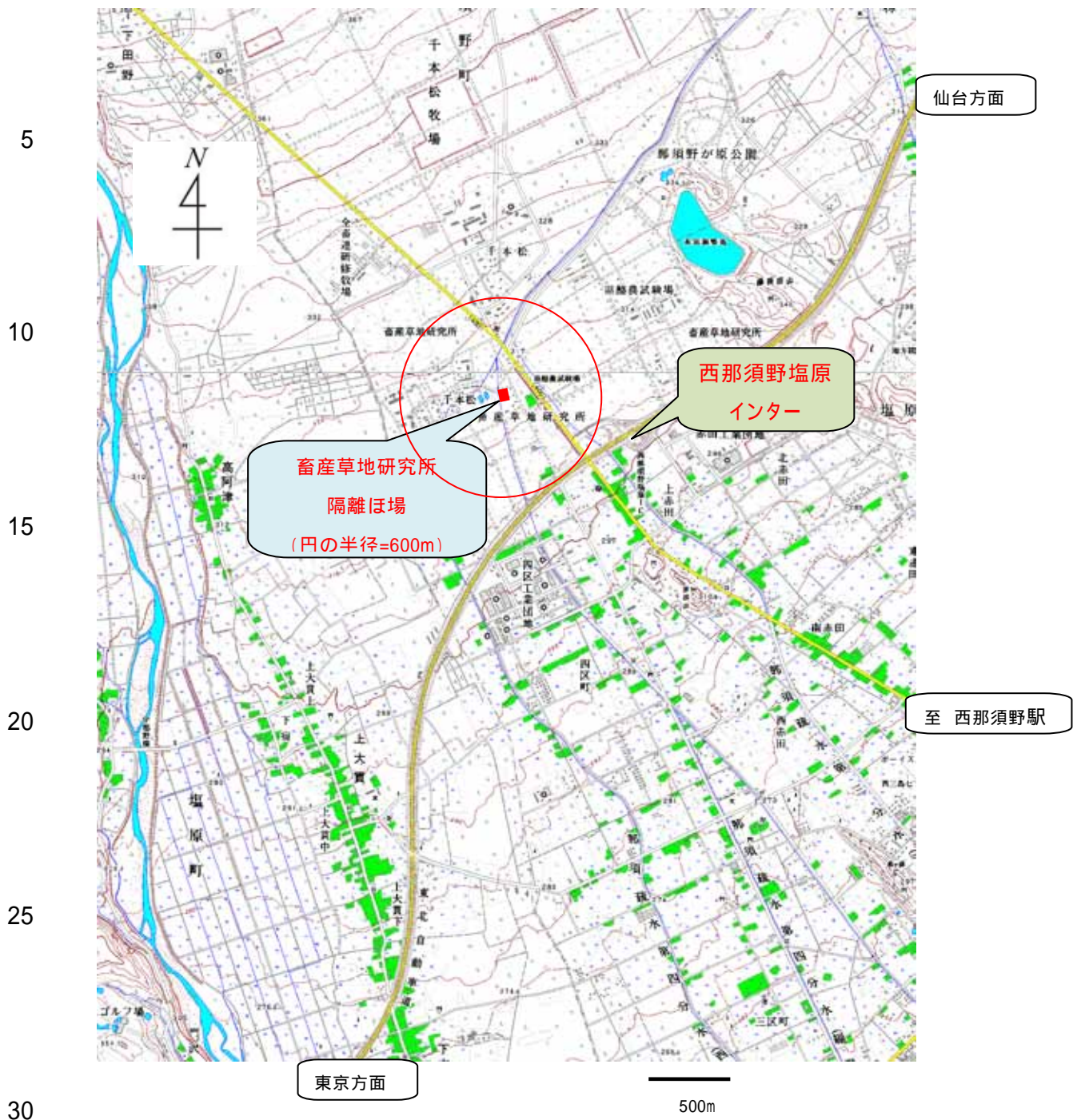


図1 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所 那須研究所 隔離ほ場周辺図

この地図は、国土地理院長の承認を得て、同院発行の数値地図 25000(地図画像)を複製したものである。(承認番号 平23情複、第458号)



5

図2. 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所那須研究所
隔離ほ場の設備

立ち入り禁止であること及び管理責任者を明示するための標識
組換え体隔離ほ場調査室（収穫物の秤量や花粉の調査等を行う）
洗い場

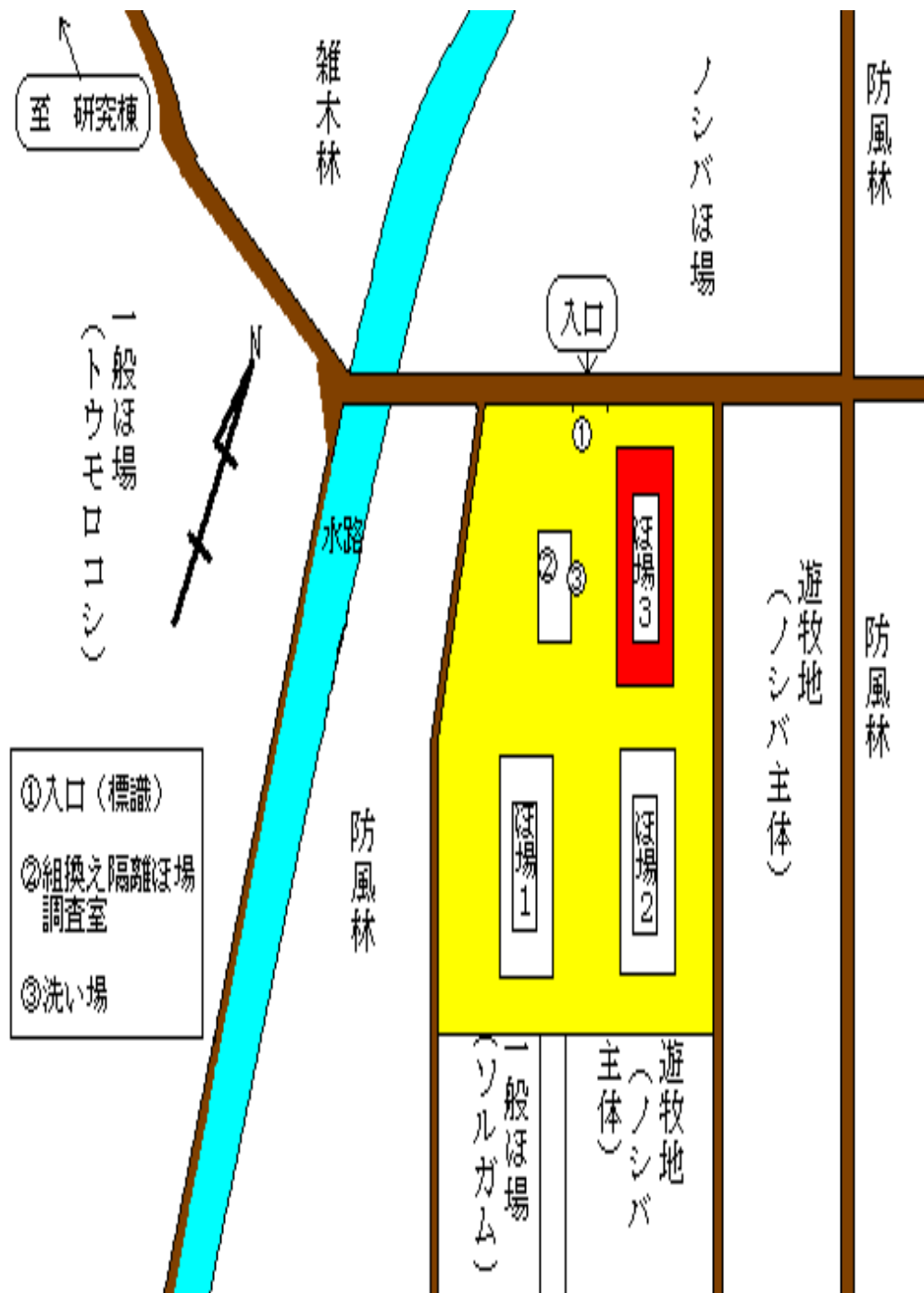


図 3 . 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構畜産草地研究所
那須研究所 隔離ほ場配置図

5

今回の試験ではほ場 3(4.5a)を使用。黄色部分は隔離ほ場を示す。

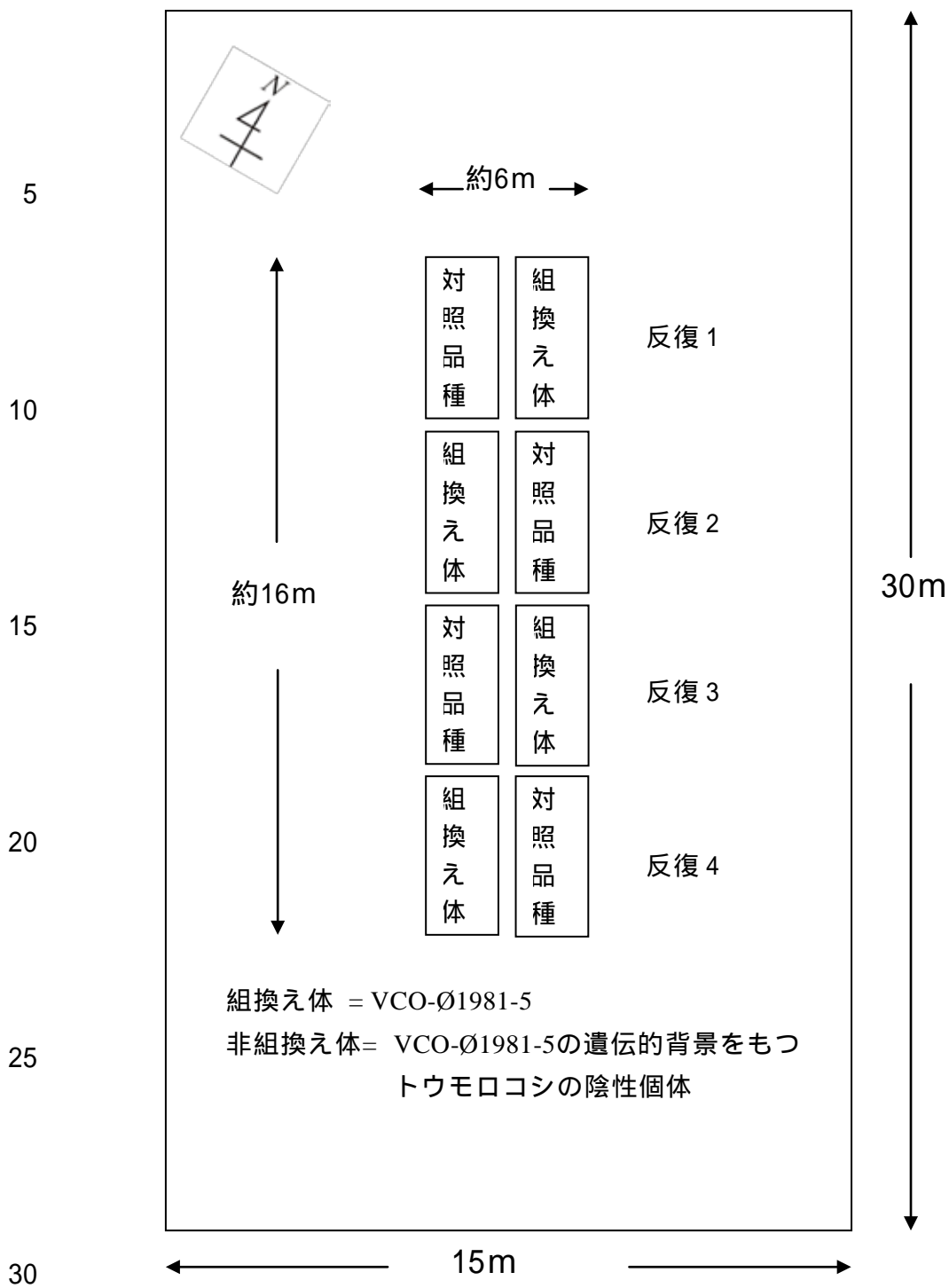


図 4. 試験区配置図

栽培品種は、社外秘情報につき非開示

第2 隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画

【社外秘情報につき非開示】

5