

チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ（改変 *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (40416, OECD UI: DP-040416-8)申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性影響評価書の概要	3
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	3
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	3
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	3
(2) 使用等の歴史及び現状	3
(3) 生理学的及び生態学的特性	5
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
(2) ベクターに関する情報	11
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	12
(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 ..	15
(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 ..	17
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	17
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	20
(1) 使用等の内容	20
(2) 使用等の方法	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	21
(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	21
(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	21
(6) 国外における使用等に関する情報	21
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	22
1 競合における優位性	22
2 有害物質の產生性	23
3 交雑性	25
4 その他の性質	25
第三 生物多様性影響の総合的評価	26
参考文献	28
緊急措置計画書	32
付属提出資料リスト	34
デュポン株式会社 宇都宮事業所 隔離ほ場 受容環境	35

第一種使用規程承認申請書

5

平成 23 年 2 月 7 日

農林水産大臣 鹿野 道彦 殿
環境大臣 松本 龍 殿

10

氏名

デュポン株式会社

代表取締役社長 天羽 稔

申請者

住所

東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

15

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。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (改変 <i>cry1F, cry34Ab1, cry35Ab1, pat, Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (40416, OECD UI: DP-040416-8)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	<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 26 年 3 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <ul 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ところに掲げている。 (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、播種時及び成熟期に防鳥網を設置する。 <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <ul 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に鋤き込む等により、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ものに遵守させる。 (8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

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

① 和名、英名及び学名

10

和名：トウモロコシ

英名：Corn, maize

学名：*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis (OECD, 2003)

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、中米又は南米とされる (OECD, 2003)。国内外の自然環境下で、現在トウモロコシが自生している既知の地域はない。

25 (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

30 トウモロコシは、9000 年前に南部メキシコで栽培植物化されたと考えられており、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)。

35 トウモロコシは、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、近代的品種が米国から輸入されるようになり、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)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

栽培地域：

5 我が国における2009年のトウモロコシの栽培面積は、青刈りトウモロコシ(デント種又はフリント種)が9万2,300ha、スイートコーンが2万5,500haで、主な栽培地域はいずれも北海道である(農林水産省, 2010)。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(FAOSTAT, 2010)。

10

栽培方法：

15 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°Cに達する4月上旬~5月中下旬に、栽植密度10アール当たり6,500~9,000株、播種深度約3cmで播種し、
15 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)。

20

流通実態：

25 コメ、コムギとともに世界三大穀物の一つとされている。2009年の世界総生産量は約8億1,710万トンであり、最大の生産国は米国で、世界総生産量の41%を占めている(FAOSTAT, 2010)。種子の胚乳成分による分類では、デント種、フリント種、スイート種等があり、その内、デント種が世界的な生産の主流である(戸澤, 2005)。貿易統計(財務省貿易統計, 2010)によると、2009年に我が国は約1,630万トンを輸入しており、その96%にあたる約1,570万トンは米国からである。

用途：

30 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となる(菊池, 1987)。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

5

—

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

10 トウモロコシの発芽最低温度は10~11°C、最適温度は33°Cである（農業技術大系, 2004）。トウモロコシは古くから栽培植物化され、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。凍結による損傷度は、温度の低さ、土壌の状態、残余部分、凍結温度にさらされた時間、風の動き、相対湿度、植物の発育程度で決まるが、成長点が地上に出て
15 から（5~7葉期）6~8時間以上、零度以下の外気にさらされると生存できない。温帶域での晩春の軽い霜により葉やけを起こすが、霜で損傷を受けた葉の部分は成熟するまで残っているため、致命的な損傷にはならない。成熟に必要な湿度と霜の降りない日数等の条件が揃えば、温帶域でよく育つ（OECD, 2003）。

20 ハ 捕食性又は寄生性

—

ニ 繁殖又は増殖の様式

25 ① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

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い（OECD, 2003）。また、種子の休眠性はほとんどないとされ（CFIA, 1994）、種子の寿命は、種子水分 12%、温度 10°C、相対湿度 55%以内の条件で 6~8 年である（農業技術大系, 2004）。

30 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

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。

- 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

典型的な風媒花で、他殖率は95～99%である（農業技術大系, 2004）。交雑可能な近縁野生種としてテオシント及び *Tripsacum* 属がある。テオシントはメキシコ及びグアテマラに自生し、トウモロコシと近接する場合、自然環境下で交雑する。*Tripsacum* 属は米国、中米及び南米に自生するが、自然環境下でトウモロコシと交雑することはない（OECD, 2003）。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。

- ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

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、好適条件ではさらに長い（CFIA, 1994）。花粉は球形で、直径は約90～100μmである（Pleasants *et al.*, 2001）。受粉は主に風媒によって行われる（OECD, 2003）。

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

—

ヘ 有害物質の產生性

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產生は知られていない。

ト その他の情報

—

5 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

10

チヨウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ(改変 *cry1F*, *cry34Ab1*, *cry35Ab1*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (40416, OECD UI: DP-040416-8) (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は添付資料 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

20

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。

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
改变 $cry1F$ 遺伝子発現カセット		
$ubiZM1$ Promoter	900	<i>Z. mays</i> 由來のポリユビキチン構成的プロモーター*(Christensen et al., 1992)。
改变 $cry1F$	1,818	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i> 由來の改变Cry1F蛋白質をコードする遺伝子。植物における発現を高めるため塩基配列が改変され、アミノ酸配列の604番目のフェニルアラニンがロイシンに置換されている。
ORF25 Terminator	714	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> pTi15955由來の転写を停止するためのターミネーター(Barker et al., 1983)。
$cry34Ab1$ 遺伝子発現カセット		
$ubiZM1$ Promoter	900	<i>Z. mays</i> 由來のポリユビキチン構成的プロモーター*(Christensen et al., 1992)。
$cry34Ab1$	372	<i>B. thuringiensis</i> PS149B1株由來のCry34Ab1蛋白質をコードする遺伝子(Moellenbeck et al., 2001; Ellis et al., 2002; Herman et al., 2002)。
$pinII$ Terminator	310	<i>Solanum tuberosum</i> 由來プロテイナーゼインヒビターII遺伝子のターミネーター(Keil et al., 1986; An et al., 1989)。転写を停止する。
$cry35Ab1$ 遺伝子発現カセット		
TA Peroxidase Promoter	1,298	<i>Triticum aestivum</i> 由來のペルオキシダーゼプロモーター(Hertig et al., 1991)。構成的プロモーター*。
$cry35Ab1$	1,152	<i>B. thuringiensis</i> PS149B1株由來のCry35Ab1蛋白質をコードする遺伝子(Moellenbeck et al., 2001; Ellis et al., 2002; Herman et al., 2002)。
$pinII$ Terminator	310	<i>S. tuberosum</i> 由來プロテイナーゼインヒビターII遺伝子のターミネーター(Keil et al., 1986; An et al., 1989)。転写を停止する。
pat遺伝子発現カセット		
CaMV 35S Promoter	530	カリフラワーモザイクウイルス由來の35S構成的プロモーター*(Franck et al., 1980; Odell et al., 1985; Pietrzak, et al., 1986)。
pat	552	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由來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。植物における発現を高めるため塩基配列が改変されている。改変によるアミノ酸配列の変化はない。
CaMV35S Terminator	192	カリフラワーモザイクウイルス由來35Sターミネーター(Franck et al., 1980; Pietrzak, et al., 1986)。転写を停止する。

* 構成的プロモーター：植物体の全体において、目的遺伝子を発現させるプロモーター。

- ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により產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

- a. 目的遺伝子の発現により產生される蛋白質の機能

Bt 蛋白質

改変 Cry1F 及び Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質を含む殺虫性結晶蛋白質 (Bt 蛋白質) は、一般に害虫の中腸細胞で特異的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 (Schnepf *et al.*, 1998)。Bt 蛋白質は、殺虫対象とする昆虫相に特異性を有する (白井, 2003)。

改変 Cry1F 蛋白質 :

改変 Cry1F 蛋白質は、*B. thuringiensis* var. *aizawai* 由来であり、チョウ目害虫であるヨーロッパアワノメイガ (European corn borer : *Ostrinia nubilalis*) 等を標的とする。ヨーロッパアワノメイガは、後述のコーンルートワームとともに、米国のトウモロコシ栽培において最も被害を与える害虫の一つである。ヨーロッパアワノメイガはトウモロコシの茎まで入り込むため、殺虫剤の散布では薬剤が昆虫に届きにくく駆除することが難しい。しかしながら、本組換えトウモロコシにおいては、改変 Cry1F 蛋白質が產生されるため、ヨーロッパアワノメイガを効果的に駆除することができる。

ヨーロッパアワノメイガに対する本蛋白質の LC₅₀ 値 (半数致死濃度) は 0.58 μ g/g であった (Wolt, 2001)。本蛋白質は、ヨーロッパアワノメイガ以外にもフォールアーミーワーム (Fall armyworm: *Spodoptera frugiperda*)、サウスウェスタンコーンボーラー (Southwestern corn borer: *Diatraea grandiosella*)、ブラックカットワーム (Black cutworm: *Agrotis ipsilon*)、ウェスタンビーンカットワーム (Western bean cutworm: *Richia albicosta*) 及びコーンイヤーワーム (Corn earworm: *Helicoverpa armigera* 及び *H. zea*) に効果を有する (EPA, 2005a)。

他の Bt 蛋白質と同様、改変 Cry1F 蛋白質の殺虫効果は特異性が高く、標的とするヨーロッパアワノメイガ等のチョウ目害虫にだけ効果を示す。実際に、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目、トビムシ目等の非標的昆虫、哺乳類、鳥類、魚類に対する試験が行われているが、毒性は認められていない (EPA, 2005a)。

Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質：

Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質は、いずれも *B. thuringiensis* PS149B1 株由来であり、コウチュウ目害虫であるノーザンコーンルートワーム (Northern corn rootworm: *Diabrotica barberi*) 及びウエスタンコーンルートワーム (Western corn rootworm: *D. virgifera virgifera*) 等を標的とする (EPA, 2005b)。Cry34Ab1 蛋白質は、コーンルートワームに対して殺虫活性を有するが、Cry35Ab1 蛋白質は、単独では殺虫活性を示さない。両者は協調して働き (Ellis *et al.*, 2002)、同時に作用させた場合、殺虫活性は Cry34Ab1 蛋白質単独の場合に比べ最大で約 8 倍を示す (Herman *et al.*, 2002)。その作用機作は、Cry34Ab1 蛋白質がリン脂質膜に対する細孔形成蛋白質として働き、その細孔を Cry35Ab1 蛋白質が拡大し、膜の透過性を増大させると考えられている (EPA, 2005b; Masson *et al.*, 2004)。ノーザンコーンルートワーム及びウエスタンコーンルートワームに対する LC₅₀ 値は、それぞれ $5.56 \mu \text{ g/cm}^2$ 及び $44.5 \mu \text{ g/cm}^2$ (Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質合計) であった (Poletika, 2003)。

コーンルートワーム幼虫はトウモロコシ根を食し、被害をもたらす。その防除には、ダイズとの輪作及び殺虫剤散布が有効とされていたが、ダイズ畠中でも生存するコーンルートワームの分化型の発生や薬剤抵抗性の獲得により、これらの手段の効果は低下した。しかしながら、本組換えトウモロコシにおいては、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質が産生されるため、コウチュウ目害虫を効果的に駆除することができる。

他の Bt 蛋白質と同様、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質の殺虫効果は特異性が高く、標的とするコーンルートワーム等のコウチュウ目害虫にだけ効果を示す。実際に、チョウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目、カメムシ目等の非標的昆虫、哺乳類、鳥類、魚類に対する試験が行われているが、毒性は認められていない (EPA, 2005b)。

PAT 蛋白質

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。日本、米国を始め、世界中で安全に使用されている。PAT 蛋白質を産生する本組換えトウモロコシは、本除草剤を雑草防除に使用することを可能とした。

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 10 - January 2010) を用いたアミノ酸配列相同性検索の結果、改変 Cry1F、Cry34Ab1、Cry35Ab1 及び PAT 蛋白質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。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

10 Bt 蛋白質：

改変 Cry1F 及び Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質のいずれも酵素活性を有することは報告されていない。

PAT 蛋白質：

15 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*-グルホシネートは基質としない (OECD, 1999)。

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。

20

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

25

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 PHP27118 であり (図 1、13ページ)、アグロバクテリウム (*A. tumefaciens*) LBA4404 株由來のプラスミド pSB1 から作製された。

30 ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

35 プラスミド PHP27118 の塩基数は 54,910 bp であり、T-DNA 領域塩基数は 11,978 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。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

5 プラスミド PHP27118 の外骨格領域には、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 (*tetA*) 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、宿主に導入される T-DNA 領域ではなく、外骨格領域に存在するため、宿主には導入されない。実際に抗生物質耐性遺伝子が導入されていないことを確認している（添付資料 1 の Appendix2；社外秘情報につき非開示）。

10

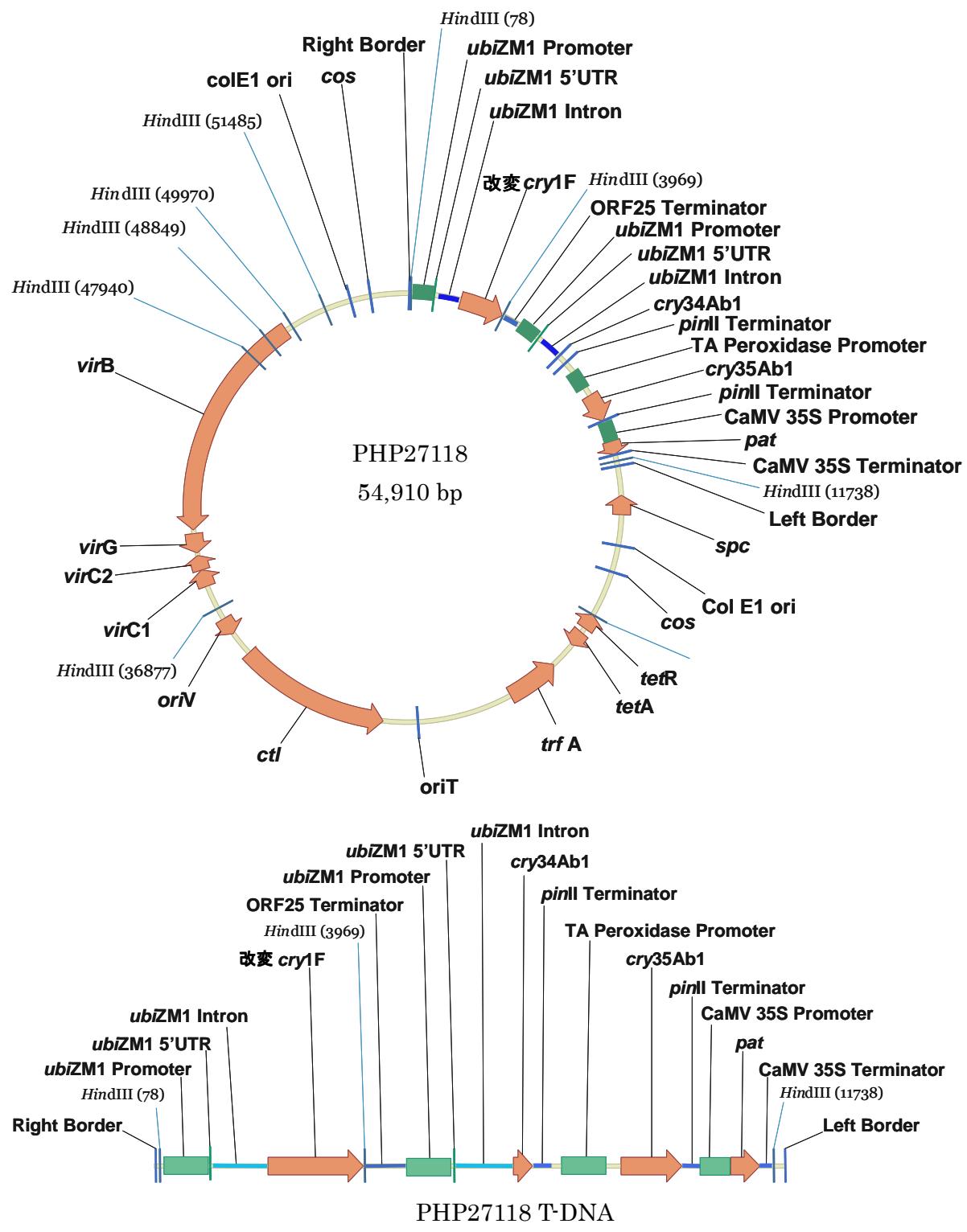
③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

15 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

20 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 1 (13ページ) に示した。



5

図 1 プラスミド PHP27118 及び 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

10

図の上段：プラスミド PHP27118。
図の下段：T-DNA 領域。

口 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、除草剤ビアラホスは細胞内で分解されて除草剤グルホシネートになるため、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 (Dennehey *et al.*, 1994)、本組換えトウモロコシ作出には、より効果の高い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。カルスの一部をカルベニシリンを含まない培地で培養し、アグロバクテリウムが生育しないことを確認した。さらに、プラスミド PHP27118 の外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 2 (14ページ；社外秘情報につき非開示) 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 以降である。

35

(社外秘情報につき非開示)

図 2 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、本組換えトウモロコシの BC1F1^{*1}、BC3F1^{*1} 及び BC3F1^{*2} 世代を用い、改変 *cry1F*、*cry34Ab1*、*cry35Ab1* 及び *pat* の遺伝子特異的プライマーごとに PCR 分析を行った。

10

その結果、いずれのプライマーにおいても、陽性個体数と陰性個体数が完全に一致したため、表 2 (15ページ) に全プライマーにおける結果を一括して記載した。いずれの世代においても、各導入遺伝子がメンデルの法則に従い 1:1 に分離したことから（添付資料 1 の Appendix3；社外秘情報につき非開示）、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。

15

表 2 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	期待値 ¹⁾		分析結果		χ^2 値
		陽性	陰性	陽性	陰性	
BC1F1 ^{*1}	100	50	50	48	52	0.160 ²⁾
BC3F1 ^{*1}	100	50	50	50	50	0 ²⁾
BC3F1 ^{*2}	99	49.5	49.5	57	42	2.27 ²⁾

2010 年に米国での温室で栽培した 2 葉期 (V2) の葉を用いた。

1) 期待される分離比は 1:1。

2) 統計学的有意差なし。5% 水準における帰無仮説の棄却限界値は 3.84。

20

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 世代のサザンプロット分析（添付資料 1 の Appendix4；社外秘情報につき非開示）、並びに BC1F1^{*1} 世代及び BC3F1^{*2} 世代における定量 PCR 分析（添付資料 1 の Appendix5；社外秘情報につき非開示）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。

* : 同一の世代名(例、F1)が複数ある場合、世代名の横に^{*1}、^{*2} 等を付記しそれぞれの世代を区別した。

- 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

5

- 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

10 本組換えトウモロコシ BC3F1^{*2} 世代及び PH4RF×BC3F3 世代の葉並びに PH4RF×BC3F3 世代の根を用いた ELISA 法による分析で、いずれの個体にも改変 Cry1F、Cry34Ab1、Cry35Ab1 及び PAT 蛋白質のすべ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 3、16 ページ；添付資料 1 の appendix6；社外秘情報につき非開示）。

15

表 3 改変 Cry1F、Cry34Ab1、Cry35Ab1 及び PAT 蛋白質の発現量

世代	組織	改変 Cry1F	Cry34Ab1	Cry35Ab1	PAT
BC3F1 ^{*2 1)}	葉	11 ± 3.6 (6.6 - 16)	44 ± 6.8 (33 - 50)	40 ± 8.1 (31 - 52)	21 ± 4.7 (16 - 27)
PH4RF×BC3F3 ²⁾	葉	9.6 ± 4.1 (0.78 - 16)	29 ± 3.5 (23 - 37)	30 ± 3.5 (23 - 36)	9.7 ± 2.5 (5.2 - 14)
	根	5.7 ± 1.3 (4.2 - 8.7)	28 ± 3.1 (23 - 33)	13 ± 2.4 (9.3 - 17)	0.81 ± 0.16 (0.57 - 1.1)

平均値±標準偏差（最小値－最大値）(ng / mg 乾物重)。

1) n = 5。2010 年に米国の温室で栽培した 9 葉期 (V9) の葉を用いた。

2) n = 20。2010 年に米国とカナダの 5ヶ所の圃場で栽培した 9 葉期 (V9) の葉及び根を用いた。

20

- ⑤ ウィ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

25 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、ウィ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 :

5 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 2；社外秘情報につき非開示）。

- 10
- 特異的プライマー対 : ORF25 ターミネーターと *UbiZM1* プロモーターのそれに結合するプライマー。増幅産物のサイズは 287 bp。
 - 内在性遺伝子プライマー対 : トウモロコシ内在性 *invertase* 遺伝子(Genbank accession number 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。陽性対照は、本プライマー対による増幅産物。
 - アニーリング温度 : 65 °C
 - 15 • 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。

20 感度 :

本組換えトウモロコシ及び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 100 pg であった（添付資料 2；社外秘情報につき非開示）。したがって、本法の感度は 0.2% (100 pg / 50 ng) と考えられた。

信頼性 :

30 本組換えトウモロコシ及び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 2；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

35 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

本組換えトウモロコシに付与された特性は、改変 *cry1F* 遺伝子によるチョウ目害虫抵抗性、*cry34Ab1/cry35Ab1* 遺伝子によるコウチュウ目害虫抵抗性、*pat* 遺

伝子による除草剤グルホシネート耐性である。

実際に、チョウ目害虫ヨーロッパアワノメイガに対する抵抗性、コウチュウ目害虫ウエスタンコーンルートワームに対する抵抗性、除草剤グルホシネート耐性を調査した試験により、本組換えトウモロコシがこれら特性を有することが確認されている（表 4、18ページ；添付資料 1 の Appendix7；社外秘情報につき非開示）。

表 4 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
ヨーロッパアワノメイガ（チョウ目）に対する抵抗性（2008年、米国ほ場） ¹⁾	9.0 ± 0.1 (8.0 - 9.0)	4.4 ± 0.6 (3.0 - 6.0)
ウエスタンコーンルートワーム（コウチュウ目）による根の食害程度（2008年、米国ほ場） ²⁾	0.1 ± 0.1 (0.0 - 0.4)	1.1 ± 0.6 (0.3 - 2.7)
除草剤グルホシネート耐性（2010年、米国温室） ³⁾	薬害なし (耐性あり)	薬害あり又は枯死 (耐性なし)

平均値±標準偏差（最小値-最大値）

1) n=48。F1*4 及び F1*5 世代を栽培し、5 葉期 (V5) になってから 1 週の間にヨーロッパアワノメイガ幼虫を 1 株あたり計 300 回接種。1 反復 1 世代につき 8 株、3 反復。接種約 3 週間後に葉の食害を 1 (ほとんどの葉が食害を受けている) から 9 (食害がないかほとんどない) のスコアで目視判定。

2) n=30。F1*4 及び F1*5 世代を栽培し、2 葉期 (V2) にウエスタンコーンルートワームの卵を 1 株あたり 1,000 個接種。1 反復 1 世代につき 5 株、3 反復。水熟期 (R2) に根の食害程度を 0 (食害なし) から 3 (3 節以上が食害を受けた状態) のスコアで目視判定。

3) 本組換えトウモロコシ n=50、非組換えトウモロコシ n=194。1 反復。BC3F1*1 世代を栽培し、播種 13 日後に除草剤グルホシネート 0.45 kg active ingredient (活性主成分:a.i.)/ha (通常量) を散布。散布 7 日後に耐性の有無を目視判定。

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

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 *cry1F*、*cry34Ab1/cry35Ab1* 及び *pat* 遺伝子である。

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 本組換えトウモロコシ中には、Bt蛋白質である改変Cry1F、Cry34Ab1/Cry35Ab1及び除草剤グルホシネート耐性を付与するPAT蛋白質が產生される。これまでにBt蛋白質が酵素活性を有するとの報告はない。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).①.③、11ページ）。

10 以上のことから、これらBt及びPAT蛋白質が、宿主の代謝経路を変化させる可能性、生理学的及び生態学的特性に影響を与える可能性は、いずれも考え難い。また、これら蛋白質はそれぞれ有する機能が異なるため、相互に影響する可能性も考え難い。したがって、意図した害虫抵抗性及び除草剤耐性の特性を除き、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。

15 実際、本組換えトウモロコシの導入遺伝子により產生される個々の蛋白質が生物多様性に影響を与えたとの報告はなく、またこれら遺伝子を有するスタック系統*において產生される蛋白質間で機能的相互作用が生じたとの報告はない。

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た。なお、本組換えトウモロコシの隔離ほ場試験では、これら特性に関わる以下の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、休眠性及び発芽率
- 有害物質の產生性

* • チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*cry1F, cry34Ab1, cry35Ab1, pat, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (1507×59122, OECD UI : DAS-01507-1×DAS-59122-7) (平成18年4月10日承認)
• コウチュウ目及びチョウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ (*cry34Ab1, cry35Ab1, cry1F, pat, cp4 epsps, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (59122×1507×NK603, OECD UI : DAS-59122-7×DAS-01507-1×MON-00603-6) (平成18年4月10日承認)
• チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネート及びグリホサート耐性トウモロコシ (*cry1A.105, 改変 cry2Ab2, cry1F, pat, 改変 cp4 epsps, 改変 cry3Bb1, cry34Ab1, cry35Ab1, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MON89034×*B.t.* Cry1F maize line 1507×MON88017×*B.t.* Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7, OECD UI: MON-89034-3×DAS-01507-1×MON-88017-3×DAS-59122-7) (MON89034, *B.t.* Cry1F maize line 1507, MON88017 及び *B.t.* Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該トウモロコシから分離した後代系統のもの(既に第一種使用規程の承認を受けたものを除く。)を含む。) (平成21年7月30日承認)

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

10 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 26 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（高さ 1.5 m）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ところに掲げている。

20 (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、播種時及び成熟期に防鳥網を設置する。

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最小限に抑える。

30 (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に鋤き込む等により、確実に不活化する。

35 (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、除雄又は雄穂の袋かけを行う。

- (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ものに遵守させる。
- (8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。

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、カナダ、チリ及びアルゼンチンでは場試験実施の通知を行い、2006年から2010年にかけて、延べ492箇所のほ場において栽培を行ったが、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 (18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た結果、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

従来、トウモロコシが我が国において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及びコウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性だけである。これまでにチョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに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栽培されており、Bt 蛋白質及び PAT 蛋白質が宿主の代謝経路を変化させる可能性は考え難い。したがって、これら害虫抵抗性並びに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ことはないと考えられる。実際、本組換えトウモロコシに導入されたすべての遺伝子を有するスタック系統が海外で栽培されているが、スタック系統と非組換えトウモロコシの間で、自生性等の上記特性に相違が生じたとの報告はない。

20 25 本組換えトウモロコシには、チョウ目及びコウチュウ目害虫に対する抵抗性が付与されているが、これら害虫による食害は、トウモロコシが我が国で生育することを困難にさせる主要因ではないことから、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において競合における優位性が高まるることはないと考えられる。さらに、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ため、こ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が高まるとはないと考えられる。

30 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

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 有害物質の產生性

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產生するとの報告はない。

25 本組換えトウモロコシ中に產生される改変 Cry1F 蛋白質及び Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質は、それぞれチョウ目害虫及びコウチュウ目害虫に対しても殺虫活性を有するが、その他の野生動植物種に対しての毒性は認められていない。PAT 蛋白質についても、野生動植物に対する有害性は報告されていない。本組換えトウモロコシへの除草剤グルホシネート散布時に、PAT 蛋白質により *N*-アセチルグルホシネートが產生される。しかしながら、PAT 蛋白質を產生する遺伝子組換え作物が生物多様性に影響を及ぼしたとする報告はない。なお、*N*-アセチルグルホシネートは、トウモロコシの残留基準値の対象化合物に含まれている。

30 また、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）。

35 本組換えトウモロコシを隔離ほ場で栽培した場合、花粉の飛散及び直接摂食により影響を受ける可能性のある野生動植物等として、チョウ目及びコウチュウ目

昆虫が特定された。

(2) 影響の具体的な評価

5 改変 Cry1F 蛋白質の標的害虫であるヨーロッパアワノメイガ、フォールアーミーワーム、サウスウェスタンコーンボーラー、ブラックカットワーム及びコーンイヤーワーム (2 種のうち *Helicoverpa armigera*) に対する LC₅₀ (半数致死濃度) は、それぞれ 0.58 $\mu\text{g/g}$ 、2.49 $\mu\text{g/g}$ 、50 $\mu\text{g/g}$ 超、69.2 $\mu\text{g/g}$ 及び 100 $\mu\text{g/g}$ 超である (Wolt, 2001)。また、Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質の標的害虫であるノーザンコーンルートワーム及びウェスタンコーンルートワームに対する LC₅₀ は、5.56 $\mu\text{g/cm}^2$ 及び 44.5 $\mu\text{g/cm}^2$ である (Poletika, 2003)。

(3) 影響の生じやすさの評価

15 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 ($\leq 10 \text{ 粒/cm}^2$; 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。加えて、本組換えトウモロコシから飛散した花粉を食餌植物とともに摂食する可能性のあるチョウ目昆虫種及びコウチュウ目昆虫種が、本組換えトウモロコシ栽培ほ場周辺に局所的に生息するとの報告もない。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及びコウチュウ目昆虫種の個体群レベルの影響は低いと考えられた。

25 また、本隔離ほ場における栽培では播種時及び成熟期の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低い。

30 以上のことから、本隔離ほ場外におけるチョウ目昆虫種及びコウチュウ目昆虫種が、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

35 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、有害物質の產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。

3 交雑性

5 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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。

(2) 影響の具体的な内容の評価

—

15

(3) 影響の生じやすさの評価

—

20 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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、交雫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

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の判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

第一. 2. (6) ② (18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た結果、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。

トウモロコシ (*Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) は、我が国において長年にわたり使用してきた。これまでに我が国においてトウモロコシが野生化し、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。

本組換えトウモロコシに付与された特性が、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。

本組換えトウモロコシには、チョウ目及びコウチュウ目害虫に対する抵抗性が付与されているが、これら害虫による食害は、トウモロコシが我が国で生育することを困難にさせる主要因ではない。さらに、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。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において競合における優位性が高まる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の判断された。

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產生するとの報告はない。

本組換えトウモロコシ中に產生される改変 Cry1F 蛋白質及び Cry34Ab1/Cry35Ab1 蛋白質は、それぞれチョウ目害虫及びコウチュウ目害虫に対しては殺虫活性を有するが、その他の野生動植物種に対しての毒性は認められていない。PAT 蛋白質についても、野生動植物に対する有害性は報告されていない。また、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。

5 本組換えトウモロコシを隔離ほ場で栽培した場合、花粉の飛散及び直接摂食により影響を受ける可能性のある野生動植物等として、チョウ目及びコウチュウ目昆虫が特定された。トウモロコシ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、除雄又は雄穂の袋掛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、本組換えトウモロコシから飛散した花粉を食餌植物とともに摂食する可能性のあるチョウ目昆虫種及びコウチュウ目昆虫種が、本組換えトウモロコシ栽培ほ場周辺に局所的に生息するとの報告もない。また、本隔離ほ場における栽培では播種時及び成熟期の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低い。

10

15 以上のことから、花粉の飛散及び直接摂食によりチョウ目昆虫種及びコウチュウ目昆虫種が、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。

20 したがって、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、有害物質の產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 我が国にトウモロコシと交雑可能な野生植物はない。したがって、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、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隨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.
- Barker, R.F., Idler, K.B., Thompson, D.V., and Kemp, J.D. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Mol. Biol.* 2: 335-350.
- CFIA (Canadian Food Inspection Agency). 1994. The biology of *Zea mays* (L.) (Maize). (<http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dir/dir9411e.pdf>).
- 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 Mol. Biol.* 18: 675-689.
- Dennehey, B. K., Petersen, W. L., Ford-Santino, C., Pajeau, 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.
- Ellis, R.T., Stockhoff, B.A., Stamp, L., Schnepf, H.E., Schwab, G.E., Knuth, M., Russell, J., Cardineau, G.A. and Narva, K.E. 2002. Novel *Bacillus thuringiensis* Binary Insecticidal Crystal Proteins Active on Western Corn Rootworm, *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte. *Appl. Environ. Microbiol.* 68: 1137 – 1145.
- EPA (U.S. Environmental Protection Agency). 2005a. Biopesticide Registration Action Document. *Bacillus thuringiensis Cry1F Corn*. (http://www.epa.gov/pesticides/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_006481.pdf).

EPA (U.S. Environmental Protection Agency). 2005b. Biopesticide Registration Action Document. *Bacillus thuringiensis* Cry34Ab1 and Cry35Ab1 Proteins and the Genetic Material Necessary for Their Production in Event DAS-59122-7 Corn.
5
[\(http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_006490.pdf\).](http://www.epa.gov/oppbppd1/biopesticides/ingredients/tech_docs/brad_006490.pdf)

FAOSTAT, 2010. (<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx>).
10 Accessed on October 22, 2010.

Franck, A., Guilley, H., Jonard, G., Richards, K., and Hirth, L. 1980. Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. *Cell* 21: 285-294.
15 Hansen-Jesse, L., and J.J. Obrycki. 2000. Field deposition of Bt transgenic corn pollen: lethal effects on the monarch butterfly. *Oecologia*, 125: 241-248.

Herman, R.A., Scherer, P.N., Young, D.L., Mihaliak, C.A., Meade, T., Woodsworth,
20 A.T., Stockhoff, B.A., and Narva, K.E. 2002. Binary Insecticidal Crystal Protein from *Bacillus thuringiensis*, Strain PS149B1: Effects of Individual Protein Components and Mixtures in Laboratory Bioassays. *J. Econ. Entomol.* 95(3): 635-639.

Hertig, C., Rebmann, G., Bull, J., Mauch, F., and Dudler, R. 1991. Sequence and tissue-specific expression of a putative peroxidase gene from wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Mol. Biol.* 16: 171-174.
25

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 Res.* 14: 5641-5650.
30

菊池一徳. 1987. トウモロコシの生産と利用: pp 16-17, 55, 227-243. 株式会社 光琳.

Masson, L., Schwab, G., Mazza, A., Brousseau, R., Potvin, L. and Schwartz, J-L.
35 (2004). A Novel *Bacillus thuringiensis* (PS149B1) Containing a Cry34Ab1/Cry35Ab1 Binary Toxin Specific for the Western Corn Rootworm *Diabrotica virgifera virgifera* LeConte Forms Ion Channels in Lipid Membranes. *Biochemistry* 43: 12349-12357.

- Moellenbeck, D.J., Peters, M.L., Bing, J.W., Rouse, J.R., Higgins, L.S., Sims, L., Nevshemal, T., Marshall, L., Ellis, R.T., Bystrak, P.G., Lang, B.A., Stewart, J.L., Kouba, K., Sondag, V., Gustafson, V., Nour, K., Xu, D., Swenson, J.,
5 Zhang, J., Czapla, T., Schwab, G., Jayne, S., Stockhoff, B.A., Narva, K., Schnepf, H.E., Stelman, S.J., Poutre, C., Koziel, M., and Duck, N. 2001. Insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis* protect corn from corn rootworms. *Nature Biotechnol.* 19: 668-672.
- 10 農業技術大系 作物編第7巻 2004. 社団法人 農山漁村文化協会.
- 農林水産省. 2010. 分野別分類/作付面積・生産量、家畜の頭数など 作物統計.
(<http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/index.html>) . Accessed on October 25, 2010.
- 15 Odell, J.T., Nagy, F. and Chua, N.-H. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature* 313: 810-812.
- 20 OECD. 1999. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 11: Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinotrichicin herbicide. ENV/JM/MONO(99)13.
([http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/no\(99\)13&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/no(99)13&doclanguage=en)).
- 25 OECD. 2002. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 25. MODULE II: PHOSPHINOTHRICIN. ENV/JM/MONO(2002)14.
([http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/no\(2002\)14&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/no(2002)14&doclanguage=en))
- 30 OECD. 2003. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 27: Consensus Document of the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize).
([http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono\(2003\)11&doclanguage=en](http://www.oecd.org/officialdocuments/displaydocumentpdf/?cote=env/jm/mono(2003)11&doclanguage=en)).

- Pietrzak, M., Shillito, R., Hohn, T. and Potrykus, I. 1986. Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new plant expression vector. *Nucleic Acids Res.* 14(14): 5857-5868.
5
- Pleasants, J.M., Hellmich, R.L., Dively, G.P., Sears, M.K., D. Stanley-Horn, D.E., Mattila, H.R., Foster, J.E., Clark, T.L., and G. D. Jones. 2001. Corn pollen deposition on milkweeds in and near cornfields. *PNAS*, 98: 11919-24.
- 10 Poletika, N. N. 2003. Non-target Invertebrate Ecological Risk Assessment for Field Corn Expressing Cry34Ab1 and Cry35Ab1 Insecticidal Crystal proteins in Event DAS-59122-7. Dow AgroScience LLC. Study ID:GH-C 5681. (社内報告書)
- 15 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. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* 62 (3) : 775-806.
- 白井 洋一. 2003. 害虫抵抗性遺伝子組換え作物が非標的昆虫に及ぼす影響：現在までの研究事例. 日本応用動物昆虫学会誌 47: 1-11.
20
- Shirai, Y. and Takahashi, M. 2005. Effects of transgenic Bt corn pollen on a non-target lycaenid butterfly, *Pseudozizeeria maha*. *Appl. Entomol. Zool.* 40(1) : 151-159.
25
- 戸澤 英夫. 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, 88-91, 127-130.
- Wolt, J. D. 2001. Risk of Herculex I Corn Pollen to Pale Grass Blue Butterfly. Dow AgroScience LLC. Study ID:GH-C 5328. (社内報告書)
30
- 財務省貿易統計. 2010. (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>). Accessed on October 25, 2010.

緊急措置計画書

平成 23 年 2 月 7 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

- チョウ目及びコウチュウ目害虫抵抗性並びに除草剤グルホシネット耐性トウモロコシ(改変 *cry1F, cry34Ab1, cry35Ab1, pat, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (40416,
15 OECD UI: DP-040416-8) (以下「本組換えトウモロコシ」という)について、第一種使用規程に従った使用が承認された場合においても、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

- 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・ハイブレッド・インターナショナル社との円滑な連絡を確保する。本組織は、バイオテクノロジー事業部長が
30 副責任者となる。

(個人名・所属は個人情報につき非開示)

35 2 第一種使用等の状況の把握の方法

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を周知するための方法
- 5 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根拠に基づき認められた場合には、栽培試験者に伝える。
- 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、本件について通知する。
- 10
- 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ための具体的な措置の内容
- 15 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。
- 20 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制
- 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

(社外秘情報につき非開示)

デュポン株式会社 宇都宮事業所 隔離ほ場 受容環境

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

10 2. 住所

栃木県宇都宮市清原工業団地 19-2

15 3. 連絡先電話番号

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)

20 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 (個人名は個人情報につき非開示) (デュポン株式会社 バイオテクノロジー事業部 登録部長)
(個人名は個人情報につき非開示) (デュポン株式会社 宇都宮事業所 総務部マネージャー)

30

III. 試験期間

承認日から平成 26 年 3 月 31 日まで

35 IV. 施設概要

部外者の立ち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

5

1. 隔離ほ場全体の面積

1904.5 m²

10 2. 試験に使用する面積

576.0 m²

3. 試験区の配置図

15

図3及び図4(37及び38ページ)参照

VI. 隔離ほ場の周辺環境

20 1. 隔離ほ場周辺の地形

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)。

25

2. 土地利用状況

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3.1km、東西1.6km、総面積3.9km²である。

30

3. 周辺の環境保護区

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。

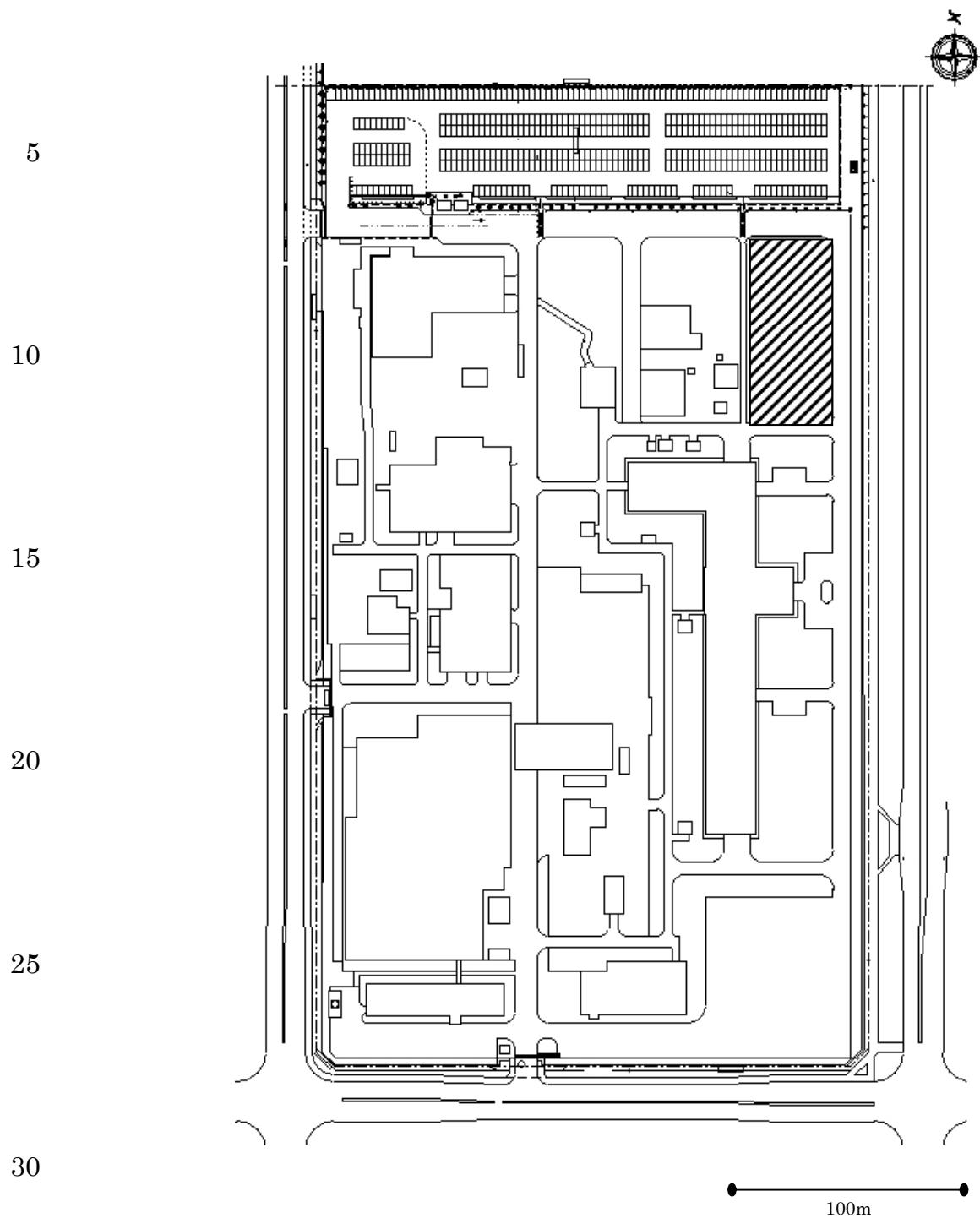


図3 デュポン株式会社宇都宮事業所における隔離ほ場の位置
隔離ほ場の位置を斜線で示した。

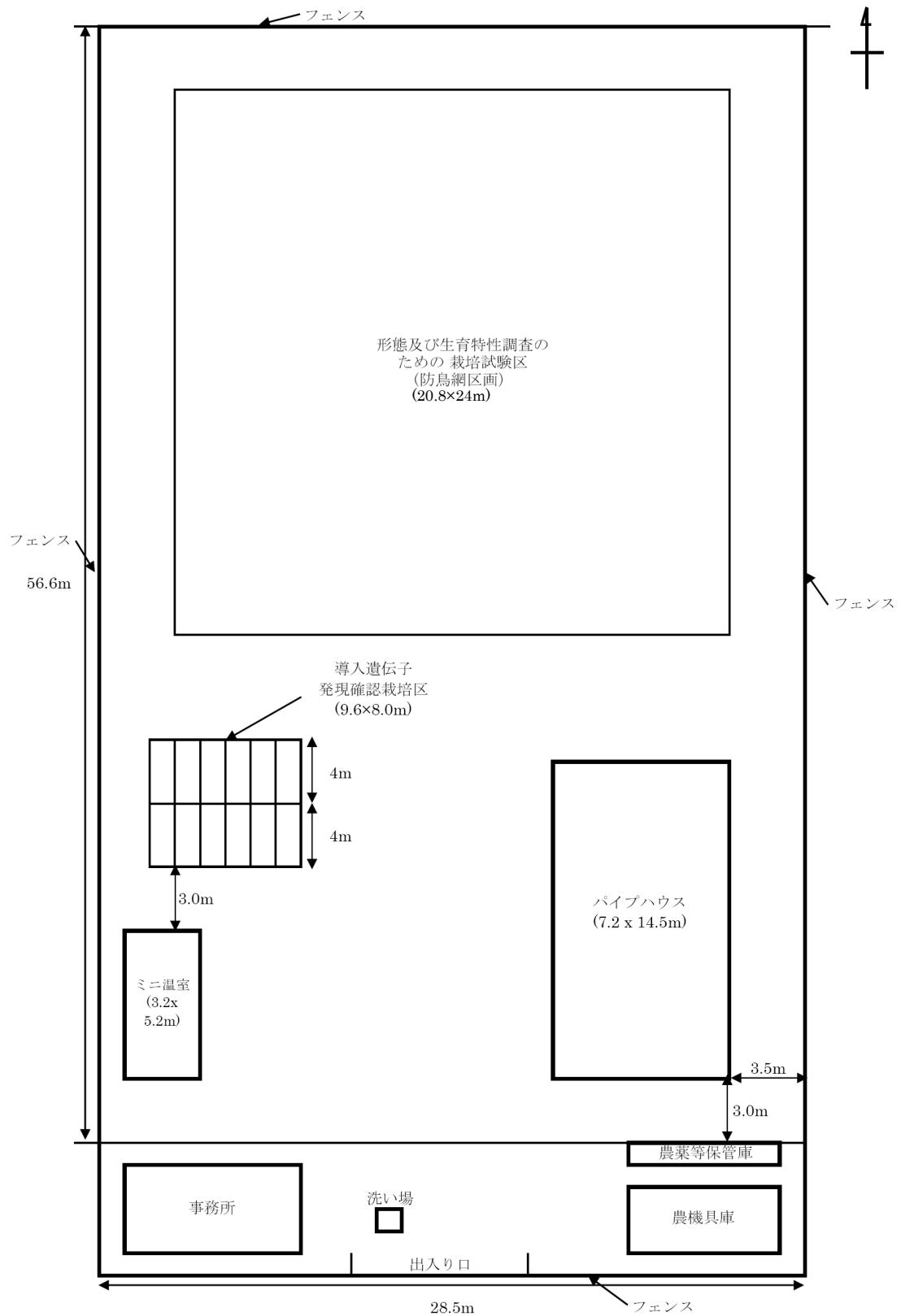


図 4 隔離ほ場施設及び栽培試験区の配置図

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、アクセス 2010 年 11 月 19 日：
http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_sfc_ym.php?prec_no=41&prec_ch=%93%C8%96%D8%8C%A7&block_no=47615&block_ch=%89F%93s%8B%7B&year=2007&month=&day=&elm=normal&view=p1）。
10

② 過去 3 年分の気象データ

15 宇都宮地方気象台における過去 3 年分の気象データを別紙 3 に示した（気象庁ホームページ気象統計情報ページ、下記 URL は 2007 年の気象データ。アクセス 2010 年 11 月 19 日：
http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_s1.php?prec_no=41&prec_ch=%93%C8%96%D8%8C%A7&block_no=47615&block_ch=%89F%93s%8B%7B&year=2007&month=&day=&view=p1）。
20

5. 台風の襲来歴

① 平年値

25 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*の平年値は、2.8 回である（表 5、39 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 2010 年 11 月 22 日：
http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/average/average.html）。
30

表 5 関東甲信地方（伊豆諸島およ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	0.3	0.8	1.0	0.5	0.0		2.8

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。

* 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（伊豆諸島およ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台風の接近回数

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、
2000 年～2009 年に台風が接近した回数は、計 33 回である（気象庁ホームページ
5 気象統計情報ページ、アクセス 2010 年 11 月 22 日：
http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto_koshin.html）。

6. 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

10 2007 年に隔離ほ場を建設して以来、冠水したことはない。

7. 過去 10 年における強風の経験とその程度

15 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。

8. 市町村が策定するハザードマップ上の位置付け

20 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。

9. 周辺地域における鳥獣害の発生状況

25 隔離ほ場周辺にカラス及びスズメ等が見られるが、防鳥網によってこれら鳥類の
侵入を防ぐことができる。

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
5 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

- ① 影響を受ける可能性のある野生動植物等

10 チョウ目及びコウチュウ目昆虫。

- 10 ② ①の中に希少種が含まれる場合はその名称

15 レッドデータブックとちぎ（アクセス 2010 年 9 月 30 日：
<http://www.pref.tochigi.lg.jp/shizen/sonota/rdb/>）に記載されている絶滅危惧種
のチョウ目及びコウチュウ目昆虫のうち、トウモロコシを含むイネ科植物を食するものは、本隔離ほ場周辺 600m の環境に生息しないと考えられるため、影響を受ける可能性のある希少種は周辺に生息しないと考えられる。

- 20 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。

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。

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

* 遺伝子組換え作物を含む。

2. 気象災害時の対応

10

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。

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）

15

本組換えトウモロコシの栽培終了後、休閑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。

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) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場はフェンスで取り囲み、出入口に鍵をかける。
- (2) 本遺伝子組換えトウモロコシの種苗が、野鳥の食害等により拡散することを防止するため、播種時及び成熟期に防鳥網を設置する。
- (3) 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最小限に抑える。
- (4) 試験終了後の当該トウモロコシ植物体は、隔離ほ場に鋤き込む等により確実に不活化するか、漏出しない構造の容器に入れる。
- (5) 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出ることを防止する。
- (6) 花粉の飛散を防止させるための除雄又は雄穂の袋がけを行う。
- (7) 隔離ほ場施設の機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を適切に行う。
- (8) (1)から(7)までに掲げる事項を第一種使用等を行うものに遵守させる。
- (9) 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は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。

以上

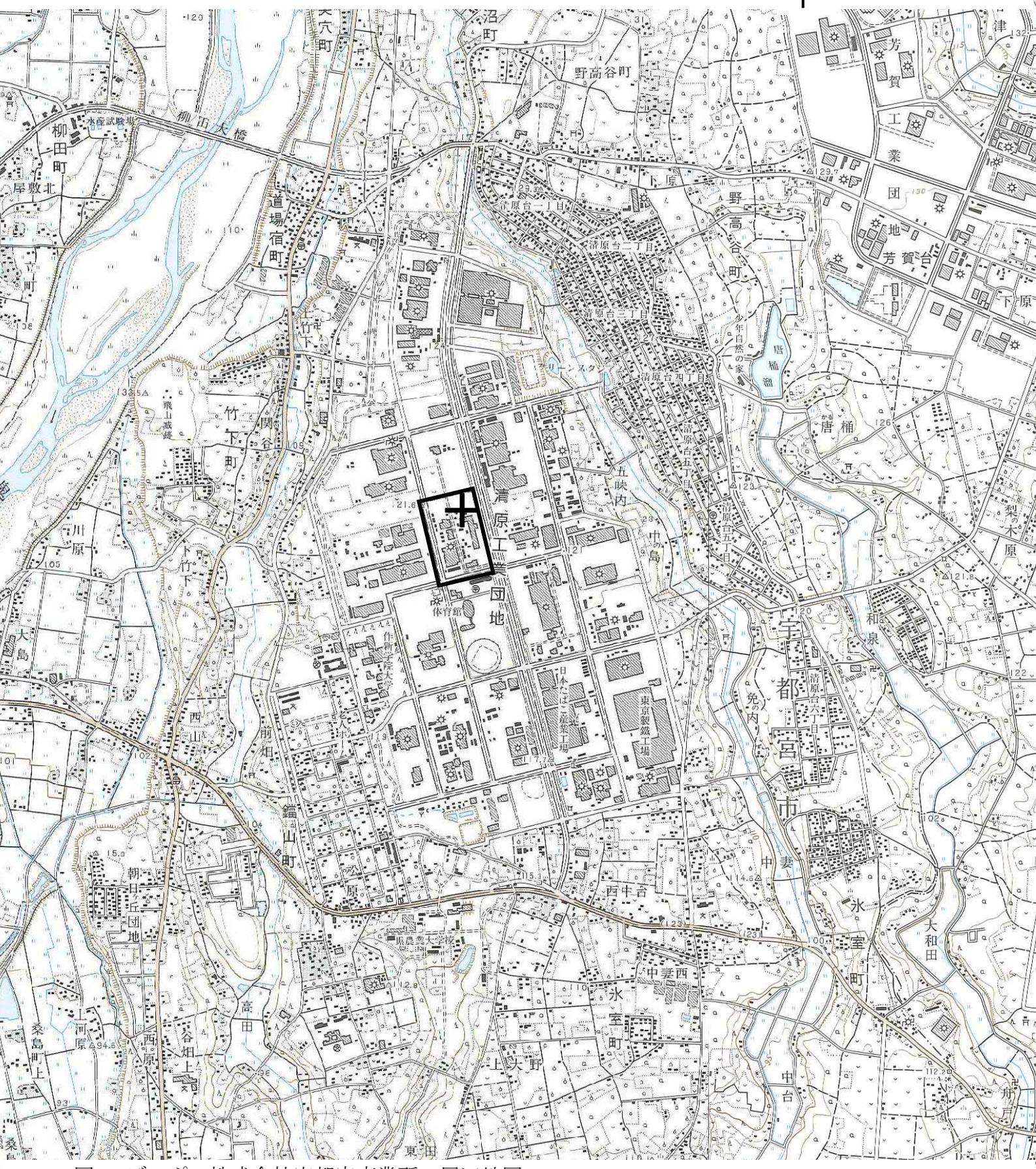


図 デュポン株式会社宇都宮事業所の周辺地図

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22業復、第984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。

宇都宮 平年値(年・月ごとの値) 主な要素

要素	気圧 (hPa)		降水量 (mm)		気温 (°C)		蒸気圧 (hPa)		相対湿度 (%)		風向・風速 (m/s)		日照時間 (時間)		全天日射 (MJ/m ²)		雪 (cm)		雲量		大気現象	
	現地	海面	合計	平均	最高	最低	平均	最高	平均	最多風向	合計	平均	合計	平均	合計	最大	積雪の深さ (cm)	平均	雪日数	霧日数	雷日数	
統計期間	1971 ~2000	1989 ~2000	1989 ~2000	1971 ~2000	1971 ~2000	1973 ~2000	1971 ~2000	1971 ~2000	1971 ~2000	1971 ~2000	1971 ~2000	1971 ~2000	1971 ~2000	1971 ~2000								
資料年数	30	30	30	30	30	30	30	30	30	12	30	28	30	30	30	30	30	30	30	30	30	
1月	998.5	1015.9	26.8	2.1	8.1	-3.5	4.4	62	2.9	北北東	204.8	9.2	9	5	5	3.9	5.1	1.3	0.0		1971 ~2000	
2月	997.9	1015.3	46.9	2.8	8.7	-2.7	4.5	60	3.1	北北東	184.2	11.4	11	7	7	4.9	6.3	1.1	0.2			
3月	998.7	1015.8	81.5	6.2	12.1	0.7	5.9	61	3.3	北北東	191.7	13.6	5	3	3	6.1	3.5	1.1	0.4			
4月	998.0	1014.7	119.3	12.1	18.0	6.6	9.3	65	3.3	北北東	175.6	15.6	0	0	0	6.7	0.5	2.2	1.2			
5月	995.7	1012.1	144.1	16.8	22.3	11.8	13.3	70	3.0	北北東	178.6	16.9	—	—	—	7.4	0.0	1.9	3.5			
6月	993.3	1009.5	193.6	20.3	24.7	16.6	18.4	78	2.8	北北東	111.9	13.7	—	—	—	8.7	0.0	2.1	3.6			
7月	993.3	1009.2	183.9	23.8	28.2	20.4	23.7	81	2.7	北北東	120.4	14.0	—	—	—	8.6	0.0	2.4	4.8			
8月	994.2	1010.1	201.0	25.3	30.1	21.8	25.2	79	2.8	北北東	149.3	14.6	—	—	—	7.9	0.0	0.9	5.9			
9月	996.9	1013.1	234.5	21.4	25.8	17.9	20.1	79	2.9	北北東	111.0	11.2	—	—	—	8.2	0.0	1.3	3.2			
10月	1000.2	1016.8	120.1	15.7	20.6	11.1	13.3	74	2.8	北北東	148.8	10.3	—	—	—	6.8	0.0	2.0	0.8			
11月	1001.5	1018.5	66.3	9.7	15.3	4.4	8.7	71	2.7	北	163.3	8.5	—	—	—	5.3	0.1	2.3	0.2			
12月	1000.2	1017.5	25.5	4.4	10.6	-1.2	5.6	66	2.6	北北東	198.5	8.1	2	1	1	3.8	2.0	1.5	0.2			
年	997.4	1014.0	1443.4	13.4	18.7	8.6	12.7	70	2.9	北北東	1938.0	12.2	27	9	10	6.5	17.6	20.0	24.0			

宇都宮 2007年（月ごとの値） 主な要素

月	現地	気圧(hPa)	降水量(mm)			気温(°C)			湿度(%)			風向・風速(m/s)			日照時間(h)			全日射量(MJ/m ²)			雪(cm)			大気現象					
			最大			平均			最高			最低			最大風速			最大瞬間風速			風向			雪			雪日数		
			日	1時間	10分間	日平均	日最高	日最低	最高	最低	平均	最高	最低	風速	風速	風速	風速	風速	風速	風速	風速	風速	風速	風速	平均	最大	合計	雪日数	霧日数
1	1002.3	1019.7	36.0	34.0	20.0	4.2	9.8	-0.9	14.7	-4.1	65	21	2.6	14.4	西北西	26.2	西北西	214.5	9.9	-	-	-	-	-	4.4	1	2	0	
2	999.0	1016.2	21.5	8.0	4.5	2.5	5.7	11.4	0.5	15.9	-4.0	59	17	3.3	14.2	西	23.7	北西	212.9	13.1	-	-	-	-	-	4.1	0	3	1
3	997.6	1014.7	36.5	11.0	9.5	2.5	8.0	14.6	2.3	24.6	-2.6	54	14	3.3	14.8	南南西	24.2	南	215.8	15.9	-	-	-	-	-	5.2	1	0	1
4	997.6	1014.5	112.5	27.5	11.0	5.0	11.7	17.5	6.7	27.2	-0.2	71	14	3.4	14.1	北北西	22.1	北北西	170.1	16.5	-	-	-	-	-	7.3	1	3	5
5	991.3	1007.6	139.5	39.5	5.0	18.0	23.9	12.6	29.7	7.4	66	20	3.4	15.7	北	25.8	北	227.8	19.8	-	-	-	-	-	6.4	0	3	5	
6	993.8	1009.9	115.0	50.0	34.5	10.5	21.9	27.1	31.8	12.3	75	18	3.0	12.8	北	19.9	北	142.4	17.2	-	-	-	-	-	8.3	0	0	4	
7	990.1	1006.1	259.0	99.5	19.5	6.0	22.8	26.6	19.9	33.3	17.8	82	34	2.7	14.1	北北東	22.5	北北東	62.0	11.1	-	-	-	-	-	9.0	0	0	3
8	995.8	1011.6	151.5	50.5	28.5	21.5	27.2	32.6	23.2	37.0	20.1	76	39	2.8	11.3	南東	18.6	西	190.5	17.6	-	-	-	-	-	7.3	0	0	7
9	997.3	1013.4	226.5	70.5	18.5	11.0	23.6	28.3	20.3	34.2	14.8	80	36	3.0	15.0	東南東	26.3	東	119.1	12.3	-	-	-	-	-	8.5	0	1	0
10	1001.2	1017.8	135.0	84.5	11.5	4.5	16.8	21.4	12.7	27.5	7.3	74	30	2.6	12.0	北北東	20.3	北	148.8	11.3	-	-	-	-	-	7.3	0	1	0
11	1001.1	1018.1	27.0	18.0	9.5	6.0	10.2	15.3	5.9	19.9	-1.8	71	27	2.5	10.0	北	16.9	西	154.1	8.9	-	-	-	-	-	5.8	0	1	0
12	998.5	1015.8	60.5	26.5	9.5	2.5	5.6	11.2	0.8	15.7	-3.0	72	24	2.6	11.3	西南西	16.3	北	179.7	8.2	-	-	-	-	-	4.9	0	2	1

データに付加していく記号の意味

宇都宮 2008年（月ごとの値）主な要素

月	気圧(hPa)			降水量(mm)			気温(°C)			湿度(%)			風向・風速(m/s)			日照時間 (MJ/m ²)			全天日射量			雲量			大気現象					
	現地 海面 合計			最大			平均			最高 最低			平均 風速			最大瞬間風速			降雪			雪(cm)			霧日数			雷日数		
	平均	平均	日	1時間	10分間	日平均	日最高	日最低	最高	最低	平均	風速	風速	風向	風速	風速	風向	風速	合計	平均	雪日数	5	1	4.9	5	1	0			
1	1000.6	1018.0	16.5	8.0	3.0	1.0	2.7	8.1	-1.9	13.3	-5.6	63	18	2.5	11.7	西	18.0	203.7	9.7	1	1	4.9	5	1	0					
2	997.9	1015.4	30.0	12.5	3.5	1.0	2.6	8.3	-2.6	14.4	-5.9	57	16	3.2	15.6	北北西	29.2	220.5	13.3	12	8	8	4.7	6	0	0				
3	998.6	1015.7	79.0	26.0	9.5	5.0	8.2	14.2	3.2	20.3	-2.4	62	15	3.2	12.8	北北東	22.6	191.7	14.4	—	—	—	6.4	2	3	2				
4	997.6	1014.3	185.5	53.0	8.5	3.5	13.1	18.6	8.4	27.4	1.0	66	14	3.9	17.6	北北東	26.9	169.3	15.6	—	—	—	7.1	1	1	2				
5	995.9	1012.3	190.0	84.0	25.0	5.5	17.3	22.3	13.3	29.9	8.6	71	15	3.2	10.1	南南西	16.3	北東	154.6	16.2	—	—	8.1	0	1	2				
6	994.2	1010.5	146.0	39.0	10.0	8.5	20.5	25.1	16.5	30.1	10.1	76	33	2.9	11.2	北北東	17.5	北東	112.2	15.4	—	—	8.7	0	2	3				
7	993.5	1009.4	32.0	17.0	8.5	3.5	25.4	30.3	22.1	33.8	16.9	77	46	2.4	11.8	北東	17.2	北東	107.9	15.0	—	—	9.2	0	0	6				
8	993.1	1009.1	516.5	116.0	72.0	22.5	25.1	29.9	22.1	35.2	17.5	81	47	2.8	11.3	東南東	14.8	東	97.6	13.0	—	—	9.2	0	1	15				
9	996.3	1012.4	169.0	36.0	36.0	20.5	22.5	27.1	18.9	32.3	11.9	77	33	2.5	11.9	南東	15.4	北北東	124.5	12.7	—	—	7.7	0	0	5				
10	1001.4	1018.0	114.0	41.5	15.5	11.0	17.1	22.1	12.9	26.0	6.7	75	31	2.4	9.0	北北東	12.1	北北東	158.1	11.3	—	—	7.4	0	1	2				
11	1000.1	1017.1	75.0	30.0	10.0	4.5	10.1	15.1	5.5	20.8	-1.4	71	24	2.7	10.3	西南西	14.4	南西	153.8	8.9	—	—	6.3	0	0	0				
12	1000.3	1017.6	43.0	10.5	5.0	1.5	6.4	11.7	1.3	17.7	-3.6	71	23	2.6	13.3	北北西	19.2	北北西	198.4	8.6	—	—	3.9	2	1	0				

データに付加している記号の意味

宇都宮 2009年（月ごとの値） 主な要素

月	現地	氣壓(hPa)		降水量(mm)		氣溫(°C)						風向・風速(m/s)						日照						全天日射量(MJ/m ²)			大氣現象													
		合計		最大		平均		最高			最低			平均			最大風速			最大瞬間風速			風向			日照時間(h)			平均		最深積雪		平均		雪日數		霧日數		雷日數	
		平均	海面	平均	1時間	10分間	日平均	日最高	日最低	最高	最低	平均	最小	最高	最低	平均	風速	風速	風速	風速	風向	風向	風向	風向	平均	合計	最大	合計	平均	雪日數	霧日數	雷日數								
1	1000.1	1017.5	1080.0	38.5	85	2.0	3.6	9.1	-1.0	15.2	-5.6	65	14	2.8	18.1	北北東	27.1	北北東	183.2	9.0	-	-	-	-	5.3	6	1	0	0	0										
2	998.1	1015.3	44.5	18.5	4.5	1.0	5.0	10.5	0.1	22.1	-3.2	61	14	2.9	15.6	西北西	22.6	西北西	168.8	11.4	1	1	1	1	5.8	3	0	0	0	0										
3	998.8	1015.9	84.0	45.0	7.5	3.0	7.5	13.4	2.2	22.9	-1.2	58	11	3.4	15.6	西北西	22.1	西北西	196.7	15.0	1	1	1	1	6.0	2	0	0	0	0										
4	996.4	1013.1	191.5	53.0	14.5	9.0	13.6	19.9	8.0	27.2	0.2	62	11	3.2	12.6	西南西	18.7	西北西	215.4	18.0	-	-	-	-	5.9	0	1	1	3	3										
5	995.3	1011.7	93.5	36.0	28.5	10.5	18.9	23.8	14.6	30.1	7.6	67	17	3.2	12.3	西北西	17.1	西北西	158.3	16.3	-	-	-	-	8.0	0	1	1	1	1										
6	991.5	1007.6	129.0	40.0	16.0	8.0	21.3	26.0	17.9	33.6	11.2	77	36	2.6	9.5	北北東	14.5	北北東	92.8	14.1	-	-	-	-	9.0	0	0	0	4	4										
7	991.5	1007.5	212.0	45.0	33.5	12.5	24.9	29.4	21.7	35.3	18.1	79	35	2.8	12.7	西北西	20.4	西	73.3	12.9	-	-	-	-	9.4	0	0	0	6	6										
8	994.1	1010.0	137.0	66.0	25.5	9.0	24.9	29.6	21.6	34.6	16.3	76	29	2.9	14.6	北北東	24.4	北北東	114.8	14.1	-	-	-	-	8.5	0	0	0	2	2										
9	997.2	1013.4	33.5	17.5	10.5	3.5	21.5	26.4	17.7	32.2	14.6	70	23	2.7	9.0	北	13.6	北	136.8	13.9	-	-	-	-	7.8	0	1	1	1	1										
10	998.3	1014.8	183.0	80.5	21.0	6.0	16.6	21.6	12.4	26.4	7.7	71	28	2.9	15.5	北北東	22.2	南	160.9	10.9	-	-	-	-	6.6	0	0	0	1	1										
11	1002.6	1019.6	125.0	60.0	11.0	3.0	10.8	15.7	6.4	22.0	0.6	75	24	2.5	16.1	北北東	21.9	北北東	127.1	8.0	-	-	-	-	6.9	0	0	0	3	0										
12	997.7	1014.9	53.0	18.5	8.5	2.5	6.0	11.1	1.5	16.7	-4.5	66	21	2.7	12.1	西南西	17.3	西	198.1	8.7	-	-	-	-	4.6	2	1	1	0	0										

データに付加している記号の意味