

遺伝子組換え生物等の第一種使用規程の  
承認申請に係る審査報告書

収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウ  
モロコシ DP202216 系統

平成31年3月26日

農林水産省消費・安全局農産安全管理課

# 目 次

	頁
1 . 第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論 . . . . .	1
2 . 審査の概要 . . . . .	2
 審査参考資料	
資料 1 . 第一種使用規程承認申請書 . . . . .	9
資料 2 . 審査データの概要 . . . . .	1 1
資料 3 . 緊急措置計画書 . . . . .	5 5

Most of the summaries and evaluations contained in this report are based on unpublished proprietary data submitted for registration to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan. A registration authority outside of Japan should not grant a registration on the basis of an evaluation unless it has first received authorization for such use from the owner of the data submitted to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan or has received the data on which the summaries are based, either from the owner of the data or from a second party that has obtained permission from the owner of the data for this purpose.

# 1. 第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論

デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社より、平成30年8月8日付けで承認申請のあった「収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシDP202216系統」（以下「本組換えトウモロコシ」という。）について、生物多様性影響評価を行った。

本組換えトウモロコシは、トウモロコシ内在性の*zmm28*遺伝子及び土壌微生物由来の*pat*遺伝子を導入して作出している。

本組換えトウモロコシは、トウモロコシ内在性の*zmm28*遺伝子から産生されるZMM28蛋白質の働きにより、非組換えトウモロコシと比較して収量を増加させるものである。

また、*pat*遺伝子の発現により生産されるPAT蛋白質の働きにより、除草剤グルホシネートに対し耐性を有するものである

審査の概要は、本報告書の2のとおりである。学識経験者からは、本組換えトウモロコシを承認申請のあった第一種使用規程に従って使用した場合に、生物多様性影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は、妥当であるとの意見を得ている。

これらの結果に基づいて、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

## (参考) これまでの審査経緯

日付	事項	備考
平成30年 8月 8日	第一種使用規程承認申請受理	
平成30年 8月24日	生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第1回）	非公開
平成30年10月22日	生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第2回）	非公開
平成30年11月30日	生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第3回）	非公開
平成31年 1月11日	生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第4回）	非公開
平成31年 2月 1日	生物多様性影響評価検討会総合検討会における審査	公開
平成31年 3月 8日	学識経験者からの意見提出	
平成31年 3月26日	審査報告書とりまとめ	

開発企業の知的財産等が開示され、特定の者に不当な利益又は不利益をもたらすおそれがあるため。

## 2. 審査の概要

本組換えトウモロコシは、アグロバクテリウム等由来のプラスミド pSB1 をもとに構築されたプラスミド PHP40099 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入して作出されている。

本組換えトウモロコシは、*Zea mays* 由来の ZMM28 蛋白質をコードする *zmm28* 遺伝子（トウモロコシ内在性遺伝子）及び土壌微生物 *Streptomyces viridochromogenes* 由来の PAT 蛋白質をコードする *pat* 遺伝子の発現カセットが染色体上に組み込まれていることが、導入遺伝子の分離様式により確認されている。また、発現カセットが1コピー組み込まれていることが、次世代シーケンサー分析を用いた境界領域の塩基配列により確認され、複数世代にわたり安定して伝達していることが PCR 分析により、確認されている。目的の遺伝子が複数世代において安定的に発現していることが、ELISA 法により確認されている。

本組換えトウモロコシに関し、生物多様性影響を生じさせる可能性のある性質である、(1) 競合における優位性、(2) 有害物質の産生性、(3) 交雑性、の3つの項目について評価を行った。

### (1) 競合における優位性

宿主が属する生物種であるトウモロコシは、我が国において長年にわたり栽培されてきたが、これまでに自然環境下で自生化したとの報告はない。

本組換えトウモロコシには、MADS ボックス転写因子<sup>1</sup>に属する ZMM28 蛋白質が導入されており、その蛋白質の働きにより収量増加性が付与されている。導入された遺伝子により生産される ZMM28 蛋白質は、本組換えトウモロコシ内で恒常的に発現していることから、他の内在性遺伝子発現への影響を調査するために、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの6葉期の葉を用い RNA シーケンス解析<sup>2</sup>により mRNA の遺伝子発現解析を行った。その結果、光合成や炭水化物の生合成過程に関わる遺伝子発現の変化が示された。このことから、本組換えトウモロコシにおいては、収量増加に関与する光合成が促進されている可能性が示された。遺伝子オントロジー解析<sup>3</sup>の結果、環境ストレス耐性に関わる遺伝子機能の有意な発現変動は示されなかった。また、2017年に米国及びカナダの12ヶ所のほ場で実施した農業特性に関する調査の結果、本組換えトウモロコシ

<sup>1</sup> MADS ボックス転写因子：植物の発生現象などに関与することが知られている下流遺伝子の発現を調節する蛋白質のこと。

<sup>2</sup> RNA シーケンス解析：次世代シーケンサーを用いて、mRNA の遺伝子発現量の変化を同定する手法。

<sup>3</sup> 遺伝子オントロジー解析：RNA シーケンス解析において、mRNA の遺伝子発現量の変化が同定され、同定された mRNA の遺伝子発現量の変化が、どのような生物学的影響に関わっているかを解析するための手法。

において競合における優位性を高めるような特性は認められなかった。

本組換えトウモロコシには、PAT 蛋白質の発現により除草剤グルホシネートに対する耐性も付与されている。しかし、当該除草剤の散布が想定されにくい自然条件下において、本組換えトウモロコシの競合における優位性が高まることは、ないと考えられた。

さらに、これまで承認された *pat* 遺伝子が組み込まれたトウモロコシでは内在性の ZMM28 蛋白質と PAT 蛋白質が共存しているが、これらのトウモロコシにおいて競合における優位性が高まり特性に変化が生じたとの報告はなく、相互に影響する可能性は低いと考えられた。このため、本組換えトウモロコシにおいても意図した収量増加及び除草剤グルホシネート耐性の特性を超えた新たな特性が付与されることはないと考えられた。

以上より、限定された環境で一定の作業要領を踏まえた隔離ほ場において栽培、保管、運搬、廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内で本組換えトウモロコシを使用する限り、影響を受ける野生動植物等とは特定されず、競合における優位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した。

## (2) 有害物質の産生性

宿主が属する生物種であるトウモロコシは、有害物質を産生するとの報告はなされていない。

本組換えトウモロコシ中には、*zmm28* 遺伝子及び *pat* 遺伝子の発現により ZMM28 蛋白質及び PAT 蛋白質が産生される。ZMM28 蛋白質及び PAT 蛋白質は、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なかった。

転写因子に属する ZMM28 蛋白質は、トウモロコシ内在性蛋白質であることから、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ことはないと考えられた。また、導入された遺伝子により産生される ZMM28 蛋白質は、本組換えトウモロコシ内で恒常的に発現していることから、他の内在性遺伝子発現への影響を調査するために、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの 6 葉期の葉を用い、RNA シーケンスによる mRNA の遺伝子発現解析を行った。その結果、光合成や炭水化物の生合成に関わる遺伝子発現の変化が示された。遺伝子オントロジー解析の結果、植物の二次代謝産物の生成に関わる遺伝子機能の有意な発現変動は示されなかった。また、2017 年にアメリカ及びカナダの 12 ヶ所のほ場で実施した栄養成分分析の結果、本組換えトウモロコシは非組換えトウモロコシと同等であると判断された。このため、ZMM28 蛋白質により、本組換え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ことはないと考えられた。

一方、PAT 蛋白質の作用は基質特異的であり、宿主の代謝経路に作用して新たな有害物質を産生することはないと考えられた。

また、除草剤グルホシネートの散布時、PAT 蛋白質の働きにより *N*-アセチル-L-グルホシネートが産生される。しかしながら、本代謝産物の毒性はグルホシネートより低く、農薬取締法の下、グルホシネートの分析化合物の一つとしてトウモロコシにおける残留基準値が定められており、農薬登録により安全な使用方法が定められ、人畜及び環境に対する安全性が確保されている。

さらに、ZMM28 蛋白質及び PAT 蛋白質の相互作用により予期しない代謝物が生じる可能性も低いと考えられた。

以上より、限定された環境で一定の作業要領を踏まえた隔離ほ場において栽培、保管、運搬、廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内で本組換えトウモロコシを使用する限り、影響を受ける野生動植物等とは特定されず、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した。

### (3) 交雑性

我が国において、トウモロコシが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トリプサクム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。

以上より、限定された環境で一定の作業要領を踏まえた隔離ほ場において栽培、保管、運搬、廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内で本組換えトウモロコシを使用する限り、影響を受ける野生動植物等とは特定されず、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した。

### (4) 結論

宿主が属する生物種であるトウモロコシは、我が国において長期にわたり栽培されているが、自生化しているとの報告はなされていない。

本組換えトウモロコシで生産される ZMM28 蛋白質は、収量増加性が付与されている。当該蛋白質は、内在性蛋白質であることから、他の内在性遺伝子への影響が懸念された。しかしながら、調査の結果、この形質を有することにより、本組換えトウモロコシが競合における優位性を高めるような特性は認められなかった。また、PAT 蛋白質により除草剤グルホシネート耐性が付与されているが、自然条件下で当該除草剤が散布されることは想定されにくい。さらに、両蛋白質が相互に影響することも考え難く、意図した特性を超えた新たな特性が付与されることも考え難い。これらのことから、本組換えトウモロコシが我が国の自然環境下で自生するようなことはなく、したがって競合における優位性が高まることはないと考えられた。

以上より、競合における優位性に起因して生物多様性影響が生じるおそ

れはないと判断した。

宿主が属する生物種であるトウモロコシについては、野生動植物等への有害物質を産生するとの報告はなされていない。

本組換えトウモロコシ中には、*zmm28* 遺伝子及び *pat* 遺伝子の発現により ZMM28 蛋白質及び PAT 蛋白質が生産される。両蛋白質は、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なかった。

ZMM28 蛋白質は、トウモロコシ内在性蛋白質であることから、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生産することはないと考えられた。また、PAT 蛋白質の作用は基質特異的であり、宿主の代謝経路に作用して新たな有害物質を産生することはないと考えられた。さらに、両蛋白質の相互作用により予期しない代謝物が生じる可能性も低いと考えられた。

以上より、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、有害物質の産生性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

さらに、交雑性については、我が国において、トウモロコシが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トリプサクム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ず、交雑性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

以上を総括すると、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、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に影響が生ずるおそれはないと判断した。



## 審查參考資料



## 資料1. 第一種使用規程承認申請書

隔離ほ場における試験栽培の承認を受けるために申請者から提出された申請書類。

### 第一種使用規程承認申請書

平成 30 年 8 月 8 日

農林水産大臣 齋藤 健 殿

環境大臣 中川 雅治 殿

氏名 デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
申請者 代表取締役社長 田中 能之 印  
住所 東京都千代田区永田町二丁目11番1号

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第4条第2項の規定により、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	収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ ( <i>zmm28, pat, Zea mays</i> subsp. <i>mays</i> (L.) Iltis) (DP202216, OECD UI: DP-202216-6)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	所在地：栃木県宇都宮市清原工業団地 19 番地 2 デュポン株式会社宇都宮事業所内 名称：デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社 組換え農作物隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 34 年（2022 年）3 月 31 日まで

	<p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。</p> <p>(2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。</p> <p>(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えトウモロコシの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該トウモロコシの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。</p> <p>(4) 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> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本遺伝子組換えトウモロコシ及び比較対象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。</p> <p>(2) 本遺伝子組換えトウモロコシを隔離ほ場の外に運搬又は保管する場合は、当該トウモロコシが漏出ししない構造の容器に入れる。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、本遺伝子組換えトウモロコシの栽培終了後は、当該トウモロコシ及び比較対象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。</p> <p>(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えトウモロコシが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。</p> <p>(5) 本遺伝子組換えトウモロコシの花粉の飛散を防止するため、除雄又は雄穂の袋がけを行う。</p> <p>(6) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。</p> <p>(7) (1)から(6)までに掲げる事項について第一種使用等を行う者に遵守させる。</p> <p>(8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。</p>
--	---

## 資料2：審査データの概要（審査に使用した評価データ）

### 生物多様性影響評価書の概要

#### 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

##### 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

###### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

###### ① 和名、英名及び学名

和名：イネ科 トウモロコシ属 トウモロコシ

英名：corn, maize

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

###### ② 宿主の品種名又は系統名

宿主は、イネ科 (*Poaceae*) トウモロコシ属 (*Zea*) のトウモロコシ (*Z. mays*) のデント種で、系統名は PH17AW である。

###### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

トウモロコシの野生種と見られる植物は現存せず（山田, 2001）、国外の自然環境におけるトウモロコシの自生は報告されていない。

なお、トウモロコシの起源に関与すると考えられる近縁種として、トウモロコシと交雑可能な *Zea* 属のテオシントと *Tripsacum* 属のトリプサクムの存在が知られている（OECD, 2003）。テオシントとトリプサクムはメキシコとグアテマラ等に広範囲に自生しており、トリプサクムはさらに米国東部、南部から南米でも認められている（山田, 2001、OECD, 2003）。

我が国の自然環境下において、トウモロコシ及びその近縁種の自生について報告はない。

###### (2) 使用等の歴史及び現状

###### ① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

トウモロコシの原産地がアメリカ大陸であることは間違いないが、その栽培起源地域については諸説あり、米国南西部、メキシコ及び中央アメリカの複数地域説、メキシコと南米の複数地域説、メキシコとグアテマラの複数地域説及びメキシコ南部単独説がある（OECD, 2003）。考古学的検証に基づくと、最初にトウモロコシの利用が始まったのは紀元前 7000～5000 年頃であり、紀元前 3400 年頃に

は栽培が始まったと考えられている（戸澤, 2005）。また、南北アメリカ大陸の各地に伝播して栽培される過程で、デント、ポップ、スイート、フリントのような変異種が生じたと考えられる（山田, 2001、戸澤, 2005）。1492年のコロンブスのアメリカ大陸到達後、コロンブスによってスペインを通じてヨーロッパに導入され、その後、中東、アフリカ及びアジアの各地域に伝播した。

我が国へは 1573～1591 年頃にポルトガル人によって長崎へ伝えられたフリント種が最初とされ、主に関東以南の山間地で栽培が行われていた。また、明治時代になって北海道へ米国からデント種とフリント種が新たに導入され、全国的に栽培が普及した（戸澤, 2005）。

## ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

### ・主たる栽培地域

現在、トウモロコシは、北緯 58 度から南緯 40 度に至る範囲で栽培可能であり、米国、中国、ブラジル、アルゼンチン及びヨーロッパ諸国などを中心に、全世界で広く栽培されている（戸澤, 2005、OECD, 2003）。

国連食糧農業機関（FAO）によると、2016年における全世界のトウモロコシの栽培面積は約 1 億 9 千万 ha であり、上位国は、中国 3,895 万 ha、米国 3,511 万 ha、ブラジル 1,496 万 ha、インド 1,020 万 ha、メキシコ 760 万 ha である（FAO, 2017）。

現在、我が国で栽培されているトウモロコシは、統計上、飼料用青刈りデントコーンと生食用スイートコーンがあり、2016年の青刈りデントコーンの作付面積は約 9 万 3,400ha で（農林水産省, 2017a）、同年のスイートコーンの作付面積は約 2 万 4,000ha である（農林水産省, 2017b）。

### ・栽培方法

海外では、米国をはじめとする主要栽培国において、大型機械を利用した大規模栽培が行われている。

一方、我が国では、飼料用トウモロコシを中心に栽培が行われており、慣行栽培法は次のとおりである。

北海道から九州に至る慣行播種期は 4 月中～下旬から 5 月中～下旬が最も多い。適正栽植密度は 10a あたり 6,000～8,000 本である。中耕、除草、土寄せは一連の作業で行い、生育初期に 2～3 回行う。収穫期は 9 月下旬から 10 月下旬で、関東や西南暖地ではやや早く、北海道や東北、東山ではやや遅い（瀧澤, 2001）。

なお、国内主要種苗メーカーの品種リストに基づくと、現在、栽培用として市販されているトウモロコシ種子のほとんどは、海外から輸入された一代雑種（F1）品種であり、収穫種子を翌年に栽培用として播種することは一般的でない。

### ・流通実態及び用途

世界第一のトウモロコシ生産国である米国では、その大部分がアイオワ州、イリノイ州、ネブラスカ州及びミネソタ州を中心としたコーンベルトと呼ばれ

る地域で栽培されている。2016年における米国でのトウモロコシの利用用途の内訳は、46.0%が飼料（7.6%の蒸留粕を含む）、28.9%がエタノール製造、15.3%が輸出で、残りはコーンシロップ等の食品製造であった（NCGA, 2017）。

我が国では、2017年に約1,531万トンのトウモロコシを輸入している。輸入トウモロコシのうちの約1,012万トンは飼料用であり、残りは食品・工業用及び栽培用と考えられる（財務省, 2018）。なお、飼料用トウモロコシの大部分は、配合・混合飼料の原料として利用されている（農林水産省, 2018）。

また、飼料用トウモロコシは、発芽可能な状態で輸入されるものが多いが、加熱・圧ぺんすること等が関税制度の下、義務づけられている（農林水産省, 2014）。

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

—

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

トウモロコシは、長い年月の間に栽培植物として馴化された結果、自然条件下における自生能力を失った作物である（OECD, 2003）。

トウモロコシ種子の発芽の最低温度は10～11℃、最適温度は33℃とされている。実際に播種されるのは13～14℃以上である（中村, 2001）。

品種や地域によって栽培時期は多少異なるが、主に春に播種されて秋に収穫される一年生の作物である（瀧澤, 2001）。

また、トウモロコシはもともと短日植物であり、その感光性（日長反応性）は晩生種ほど敏感で、早生品種ほど鈍感である（柿本ら, 2001）。

これら温度条件等の他、トウモロコシは吸水により種子重が乾燥重の1.6～2.0倍になったときに幼根（初生根又は種子根）が抽出し、子実発芽となる（戸澤, 2005）。また、トウモロコシの栽培は腐植に富む土壌が適し、pH5.0～8.0の範囲で栽培可能である（戸澤, 2005）。

#### ハ 捕食性又は寄生性

—

#### ニ 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

完熟した種子は雌穂の苞皮で覆われており、脱粒しない。

トウモロコシは長い間栽培植物として利用してきた過程で、自然条件下における自生能力を失っており、その種子を分散させるためには人間の仲介が必要である（OECD, 2003）。

種子の休眠性は知られていない。種子の寿命は、主に温度と湿度によって左

右され、低温乾燥下では長く、高温多湿下では短い（戸澤, 2005）。氷点下の気温は種子の発芽に悪影響を与え、トウモロコシ種子生産に影響を及ぼす主要な要因となっている。また、45°C以上の気温も種子の発芽に悪影響を及ぼすことが報告されている（Wych, 1988）。

さらに、収穫時に雌穂又は種子が地上に落下しても、土壌温度が10°Cに達し、適度な水分条件を伴うまで発芽しないため、その多くが自然状態では腐敗し枯死する（菊池, 1987、中村, 2001）。また、仮に発芽しても生長点が地上に出た後は6~8時間以上0°C以下の外気にさらされると生存できない（OECD, 2003）。子実の活力を6~8年保存するには、子実水分12%、温度10°C、相対湿度55%以内に保つことが必要である（中村, 2001、OECD, 2003）。

- ・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または器官からの出芽特性

トウモロコシは栄養繁殖せず、種子繁殖する。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があるという報告はない。

- ・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植物の一年生作物で、主として風媒によって受粉する作物であり95~99%は他家受粉によって作られた種子により繁殖するが、自家不和合性は知られておらず、自家受粉も可能である（千藤, 2001、OECD, 2003）。

トウモロコシと交雑可能なのは、同じ *Z. mays* 種に含まれトウモロコシの近縁野生種である一年生のテオシント (*Z. mays* subsp. *mexicana*) 及び *Tripsacum* 属である。トウモロコシとテオシントは近接している場合に自由に交雑するが、*Tripsacum* 属との交雑は非常に稀である（OECD, 2003）。テオシントはメキシコからグアテマラにかけて分布しており、*Tripsacum* 属の分布地域は北アメリカ東部、南部から南米となっている（山田, 2001、OECD, 2003）。

なお、我が国におけるトウモロコシと交雑可能なテオシント及び *Tripsacum* 属の野生種の自生について報告はない。また、受精を伴わない繁殖能力を有する種子の生産（アポミクシス）についての報告はない。

- ・花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

トウモロコシは雌雄異花序で、雌花は葉腋について1~3本の雌穂を形成し、雄穂は茎の先端につく（柿本ら, 2001、OECD, 2003）。雄穂は抽出すると3~5日で開花し、開花始めから終わりまでの期間は盛夏で一般に8~9日である（中村, 2001）。一方、雌穂の絹糸抽出は雄穂開花のおよそ1日後に始まり、抽出始めから抽出揃いまでの期間は5~6日である（中村, 2001）。一本の雄穂には1,200~2,000個の小穂があり、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）。

花粉の稔性は花粉の充実度を観察することで推定できる（西尾, 2002）。

花粉の形状は球形で、直径は90~120 µm程度である（中村, 2001）。

受粉は主に風媒によって行われ、ほとんどの場合は他家受粉である（戸澤,

2005)。他品種、系統の花粉の混入を防ぐための隔離距離は、林、高層建築物などの障害物の有無などにより異なるものの、200～400 m とされている（千藤, 2001）。

我が国でのトウモロコシほ場周辺におけるヒマワリ (*Helianthus annuus*) 及びイヌホオズキ (*Solanum nigrum*) 葉へのトウモロコシの花粉の堆積密度を調査した研究では、ほ場の縁 (0m) での最大花粉堆積密度はヒマワリの葉で 81.7 粒/cm<sup>2</sup>、イヌホオズキの葉では 71.1 粒/cm<sup>2</sup>であった (Shirai and Takahashi, 2005)。また、ほ場から 5m 離れた場合の最大堆積密度は、ヒマワリの葉で 19.6 粒/cm<sup>2</sup>、イヌホオズキの葉では 22.2 粒/cm<sup>2</sup>、ほ場から 10m 離れた場合はヒマワリの葉で 10 粒/cm<sup>2</sup>以内であった (Shirai and Takahashi, 2005)。

また、北米でも全 7 ヲ所のトウモロコシ畑周辺で、延べ 1,700 本以上のトウワタ (*Asclepias syriaca*) を用いて花粉堆積密度の調査が行われている (Pleasants *et al.*, 2001)。調査の結果、トウモロコシ畑から 1m、2m、4～5m 離れるにつれて、花粉の平均堆積密度は 35.4 粒/cm<sup>2</sup>、14.2 粒/cm<sup>2</sup>、そして 8.1 粒/cm<sup>2</sup>へと減少していくことが明らかとなっている。

さらに、カナダのトウモロコシ畑周辺のトウワタの葉上における花粉堆積密度を調査しており、ほ場の縁から 1m 及び 5m 離れた地点での平均堆積密度は、それぞれ平均 28 粒/cm<sup>2</sup> 及び 1.4 粒/cm<sup>2</sup>であったと報告している (Sears *et al.*, 2000)。

花粉の寿命は通常 10～30 分であるが、好適条件下ではさらに長い (CFIA, 2012)。平均的な花粉は大気中に飛散した 2 時間後にはその発芽能力を 100 % 失うという報告もある (Luna *et al.*, 2001)。

#### ホ 病原性

—

#### へ 有害物質の産生性

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育または生息に影響を及ぼす有害物質の産生は報告されていない。

#### ト その他の情報

これまで、運搬等においてこぼれ落ちたトウモロコシの、我が国の畑以外での生育については、2013 年に熊本県内の港湾周辺で 1 個体、2015 年に鹿児島県内の港湾周辺で 1 個体の計 2 個体報告されている (農林水産省, 2014、農林水産省, 2017c)。

## 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

収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*zmm28, pat*<sup>1)</sup>, *Zea mays subsp. mays* (L.) Iltis) (DP202216, OECD UI: DP-202216-6) (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 に示した。また、その供与核酸の塩基配列を添付資料 1 の Appendix 1 に示した。

#### ロ 構成要素の機能

- ① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカーその他の供与核酸の構成要素それぞれの機能

供与核酸の構成要素それぞれの機能を表 1 に示した。

---

<sup>1)</sup> 添付資料 1 及び添付資料 7 における *mo-pat* 遺伝子と同一。

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	
T-DNA領域			
その他	Right Border (RB)	25	アグロバクテリウム ( <i>Rhizobium radiobacter</i> ( <i>Agrobacterium tumefaciens</i> )) 由来のTiプラスミド (pTi) のT-DNA領域の右側境界領域 (Komari <i>et al.</i> , 1996)。
	Ti Plasmid Region	152	アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) のpTi由来の配列 (Komari <i>et al.</i> , 1996)。
	<i>loxP</i>	34	バクテリオファージ P1由来のCreリコンビナーゼ認識組換え部位 (Dale and Ow, 1990)。
	<i>attB4</i>	21	バクテリオファージλ由来のインテグラーゼ認識組換え部位 (Cheo <i>et al.</i> , 2004)。
<i>zmm28</i> 遺伝子発現カセット	<i>zm-gos2</i> プロモーター	857	トウモロコシ ( <i>Zea mays</i> ) 由来の翻訳開始因子 <i>gos2</i> 遺伝子のプロモーター領域 (de Pater <i>et al.</i> , 1992)。植物体内での構成的発現を誘導する。
	<i>ubiZM1</i> イントロン	1,013	トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のユビキチン遺伝子のイントロン領域 (Christensen <i>et al.</i> , 1992)。
	<i>attB1</i>	24	バクテリオファージλ由来のインテグラーゼ認識組換え部位 (Invitrogen Gateway <sup>®</sup> クローニングシステム; Hartley <i>et al.</i> , 2000、Katzen, 2007)。
	<i>zmm28</i>	857	トウモロコシ ( <i>Z. mays</i> ) 由来のMADSボックス転写因子をコードする遺伝子 (Münster <i>et al.</i> , 2002、Pařenicová <i>et al.</i> , 2003)。5'側及び3'側領域にそれぞれ60 bp及び41 bpの非翻訳領域を含む。
	<i>attB2</i>	24	バクテリオファージλ由来のインテグラーゼ認識組換え部位 (Invitrogen Gateway <sup>®</sup> クローニングシステム; Hartley <i>et al.</i> , 2000、Katzen, 2007)。
	<i>pinII</i> ターミネーター	308*	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。
その他	<i>attB3</i>	21	バクテリオファージλ由来のインテグラーゼ認識組換え部位 (Cheo <i>et al.</i> , 2004)。
	<i>loxP</i>	34	バクテリオファージP1由来のCreリコンビナーゼ認識組換え部位 (Dale and Ow, 1990)。

\**pat* 遺伝子発現カセットに用いた *pinII* ターミネーターより 5'側の 3 bp が短い。

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	
T-DNA 領域			
pat 遺伝子発現カセット	<i>ubiZM1</i> プロモーター	900	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発現を誘導する。
	<i>ubiZM1</i> 5'UTR	83	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)。
	FRT1	48	出芽酵母 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) 由来の Flp リコンビナーゼ標的的部位 (Proteau <i>et al.</i> , 1986)。
	<i>pat</i>	552	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィンオキシドシナーゼ (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、塩基配列中の GC 含量を高めるよう改変されているが、産生される PAT 蛋白質のアミノ酸配列に変化はない。
<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。	
その他	FRT87	48	出芽酵母 ( <i>S. cerevisiae</i> ) 由来の改変型 Flp リコンビナーゼ標的的部位 (Tao <i>et al.</i> , 2007)。
	Ti Plasmid Region	57	アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) の pTi 由来の配列 (Komari <i>et al.</i> , 1996)。
	Left Border (LB)	25	アグロバクテリウム ( <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> )) 由来の pTi の T-DNA 領域の左側境界領域 (Komari <i>et al.</i> , 1996)。

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	
プラスミド外側骨格領域（本組換えトウモロコシには存在しない）			
その他	<i>spc</i>	789	細菌由来のスペクチノマイシン耐性マーカー遺伝子（Fling <i>et al.</i> , 1985）。
	<i>colE1 ori</i>	370	大腸菌由来の DNA 複製起点（Tomizawa <i>et al.</i> , 1977）。
	<i>cos</i>	14	バクテリオファージλ由来の付着末端（Komari <i>et al.</i> , 1996）。
	<i>tetR</i>	651	細菌由来のテトラサイクリン耐性遺伝子の調節遺伝子（Komari <i>et al.</i> , 1996）。
	<i>tetA</i>	1,200	細菌由来のテトラサイクリン耐性遺伝子（Komari <i>et al.</i> , 1996）。
	<i>trfA</i>	1,149	細菌由来のトランス作用複製因子の遺伝子（Komari <i>et al.</i> , 1996）。
	<i>oriT</i>	112	細菌由来の DNA 伝達起点（Komari <i>et al.</i> , 1996）。
	<i>ctl</i>	6,271	細菌由来のセントラルコントロールオペロン領域（Komari <i>et al.</i> , 1996）。
	<i>oriV</i>	711	細菌由来の DNA 複製起点（Komari <i>et al.</i> , 1996）。
	<i>virD1</i>	444	アグロバクテリウム（ <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ）由来の T-DNA の植物ゲノムへの挿入に必要な遺伝子（Komari <i>et al.</i> , 1996）。
	<i>virC1</i>	695	
	<i>virC2</i>	609	
	<i>virG</i>	804	
	<i>virB</i>	9,436	
	<i>colE1 ori</i>	370	大腸菌由来の DNA 複製起点（Tomizawa <i>et al.</i> , 1977）。
<i>cos</i>	14	バクテリオファージλ由来の付着末端（Komari <i>et al.</i> , 1996）。	

- 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

a. 目的遺伝子の発現により産生される蛋白質の機能

本組換えトウモロコシには、*zmm28* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が導入されている。以下に、各遺伝子がコードする蛋白質の機能を記載した。

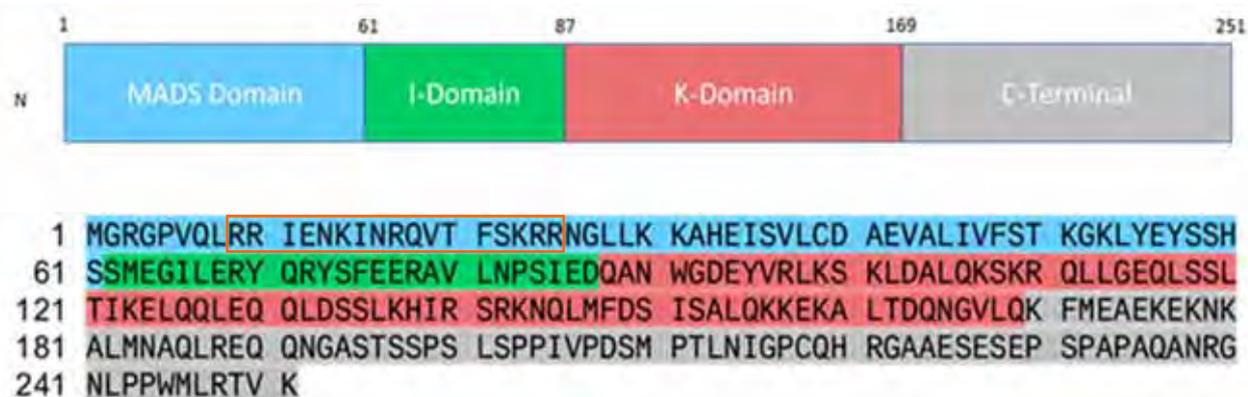
### ZMM28 蛋白質

*zmm28* 遺伝子はトウモロコシ (*Z. mays*) 内在性遺伝子であり、植物中で構成的に発現させたスクリーニング調査において収量増加に関わる有用遺伝子として同定され、続く検討試験においても収量増加の特性を付与することが確認された。

*zmm28* 遺伝子がコードする ZMM28 蛋白質は 251 個のアミノ酸からなり、分子量は約 28 kDa である。ZMM28 蛋白質の推定アミノ酸配列はトウモロコシ内在性 ZMM28 蛋白質 (GenBank Accession NP\_001105155.1) と一致する (添付資料 2)。このため、ZMM28 蛋白質は内在性 ZMM28 蛋白質が関与する経路に作用すると考えられる。

ZMM28 蛋白質は遺伝子の発現を調節する MADS ボックス転写因子ファミリーに属し (Münster *et al.*, 2002、De Bodt *et al.*, 2003)、さらに当該ファミリーのうち MIKC タイプに分類される (De Bodt *et al.*, 2003)。MIKC タイプは、N 末端にある MADS ドメインと、それに続く Intervening (I) ドメイン、ケラチン様 (K) ドメイン及び C 末端ドメインから構成される (図 1; Pařenicová *et al.*, 2003)。

図 1. MIKC タイプの MADS ボックス転写因子の構造及び ZMM28 蛋白質のアミノ酸配列



SeqNLS (Machine Learning & Evolution Laboratory, <http://mleg.cse.sc.edu/seqNLS/>)を用いて予測された核局在シグナルの位置を四角囲いで示した。

また、アミノ酸配列から ZMM28 蛋白質は MADS ドメイン内に核局在シグナルを有していると考えられる (図 1 の下図)。実際に ZMM28 蛋白質に蛍光蛋白質 (GFP) を融合させ、細胞内における局在を調査したところ、核に局在していることが確認された (添付資料 3 の Figure 2)。

これらのことから、本組換えトウモロコシにおいて、ZMM28 蛋白質は転写因子として機能していると考えられる。

本組換えトウモロコシにおいては、*zmm28* 遺伝子発現カセットに構成的発現を誘導するトウモロコシ由来 *zm-gos2* プロモーターを用い、ZMM28 蛋白質を構成的に発現させた。

実際、本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの葉を用い、ELISA 法により各生育ステージにおける ZMM28 蛋白質の産生を分析した結果、非組換えトウモロコシにおける ZMM28 蛋白質は 5 葉期では定量限界未満であったのに対し、本組換えトウモロコシにおける ZMM28 蛋白質では 5 葉期には既に発現が認められた (表 3)。さらに、6 葉期から糊熟期の各生育ステージにおいて、ZMM28 蛋白質は本組換えトウモロコシでは非組換えトウモロコシと比較して発現の増加が認められた (図 2；添付資料 4)。

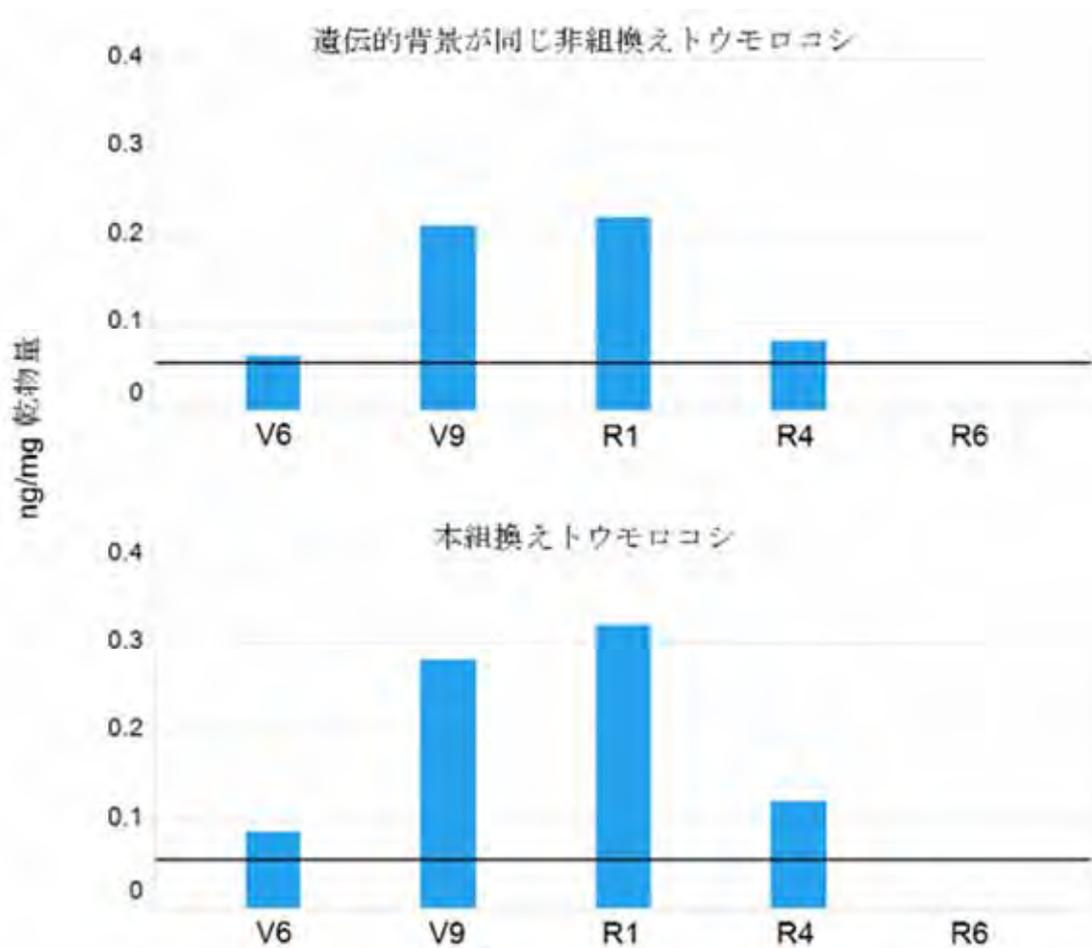


図 2. 各生育ステージにおける ZMM28 蛋白質の産生量  
米国及びカナダのは場で栽培した本組換えトウモロコシ F<sub>1</sub>\*<sup>3</sup> 世代及び遺伝的背景が同じ非組換えトウモロコシ (各 n = 24)。定量下限値 (0.054 ng/mg 乾物重) を黒線で示した。  
V6：6 葉期、V9：9 葉期、R1：絹糸抽出期、R4：糊熟期、R6：成熟期。

また、本組換えトウモロコシにおける、内在性遺伝子の発現への影響を調査するために本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの6葉期の葉を用い、網羅的な遺伝子発現解析及び遺伝子オントロジー解析を実施した（添付資料3）。まず、RNAシーケンス解析により本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの葉において発現量の変化が見られた遺伝子を調査したところ、発現増加している遺伝子が192個、発現減少している遺伝子が64個同定された。次に、これらの転写産物について、遺伝子オントロジーのカテゴリーに当てはめたところ、11個のカテゴリーに分けられた（添付資料3のTable 1）。さらに、これらのカテゴリーを分類すると、その大半が光合成や炭水化物の生合成過程に関わる遺伝子発現の増加に関わるものであった（添付資料3のFigure 1）。以上の結果から、本組換えトウモロコシにおいては光合成反応が促進されている可能性が示された。

なお、RNAシーケンス解析により発現量の変化が見られた遺伝子には、ストレス応答や二次代謝物の生成等に潜在的に関与すると考えられる遺伝子も含まれていた（添付資料3のTable 2）。これらの遺伝子はストレス応答や二次代謝物の生成を含む複数のGene Ontology Termを有しているが、遺伝子オントロジーのエンリッチメント解析（adjusted  $p < 0.05$ ）において、ストレス耐性や二次代謝産物の生成に関する特定の機能カテゴリーは示されなかった。また、2017年に米国及びカナダの12ヶ所のほ場で実施した栄養構成成分分析及び農業的特性の調査の結果から、本組換えトウモロコシは従来のトウモロコシと同等であると判断された（添付資料5）。このことから、これらのストレス応答や二次代謝物の生成等に潜在的に関与すると考えられる遺伝子の発現量の変化により、競合における優位性が高まったり、有害物質を産生したりする可能性は低いと考えられる。

このようなZMM28蛋白質の葉における早期発現及び発現増加は、初期栄養成長期における本組換えトウモロコシの生長を促す。実際に、米国において2016年に行った調査では、6葉期、8葉期及び10葉期の各生育ステージにおいて平均草丈が本組換えトウモロコシにおいて顕著に高くなっていたことが観察された（添付資料6）。なお、葉における光合成速度（二酸化炭素交換速度及び光合成電子伝達速度）については、統計学的有意差は認められなかったが、本組換えトウモロコシでは対照のトウモロコシと比較して平均して7%程度高い値が認められた（添付資料6）。このように、本組換えトウモロコシでは、ZMM28蛋白質の発現の増加により、光合成や炭水化物の生合成過程に関わる遺伝子発現の変化及び初期の栄養成長が促進されることで収量の増加がもたらされると考えられた。後述（第一.2.(6).①）のとおり、米国において2014年に行った収量調査の結果、本組換えトウモロコシの平均収量（13,564 kg/ha）は、非組換えトウモロコシ（13,206 kg/ha）と比較して統計学的に有意な増加（358 kg/ha 増）が認められた（表4）。このことから、本組換えトウモロコシの収量に好影響がもたらされたことが示された。

### PAT 蛋白質

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、*Streptomyces viridochromogenes* 由来 *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。

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, 2002a)。

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

Comprehensive Protein Allergen Resource (COMPARE) データベース<sup>2)</sup> (2018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、ZMM28 蛋白質及び PAT 蛋白質と相同性を示すアレルゲンは認められなかった (添付資料 1 の Appendix 2)。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

ZMM28 蛋白質の構成的発現により期待される特性は収量増加であり、ZMM28 蛋白質はトウモロコシ内在性蛋白質であることから、ZMM28 蛋白質により本組換えトウモロコシの構成成分及び代謝物にトウモロコシの種としての範囲を超えた変化が生じるとは考え難い。

PAT 蛋白質は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酵素であり、基質特異性を有する (OECD, 1999)。このことから、PAT 蛋白質により本組換えトウモロコシの構成成分及び代謝物にトウモロコシの種としての範囲を超えた変化が生じるとは考え難い。

(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たベクターはプラスミド PHP40099 であり (図 3)、アグロバクテリウム (*Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*)) 等由来のプラスミド pSB1 から作製された (Komari *et al.*, 1996)。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

プラスミド PHP40099 の塩基数は 50,401 bp であり、T-DNA 領域の塩基数は 7,470 bp で、その塩基配列は添付資料 1 の Appendix 1 に示したとおりである。

<sup>2)</sup> Health and Environmental Science Institute (HESI) 及び Protein Allergenicity Technical Committee (PATC) によるデータベース (<http://comparedatabase.org>)、保持配列数 2,038。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

プラスミド PHP40099 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 (*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、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、T<sub>1</sub> 世代 (図 4) の葉<sup>3)</sup>及び T<sub>3</sub> 世代 (図 4) の種子<sup>4)</sup>から抽出した各ゲノム DNA を用い、それぞれ Southern by Sequence (SbS) 分析<sup>5)</sup> (第一. 2. (4) . ②; 添付資料 1 の Appendix 5) 及び外側骨格 5 領域 (LB の外側領域、*spc*、*tetA*、*virG*、RB の外側領域) を対象とした PCR 分析 (添付資料 1 の Appendix 3) を行った結果、抗生物質耐性遺伝子を含むこれらの外側骨格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。

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

宿主に導入された T-DNA 領域に感染を可能とする配列は含まれておらず、感染性はない。

---

3) 構成要素領域を含む導入用プラスミド PHP40099 の特異的配列を対象としたプローブセットを用いた SbS 分析により導入遺伝子の移入が確認された 6 個体。

4) 本組換えトウモロコシ特異的プライマーペアを用いた PCR 分析により導入遺伝子の移入が確認された 10 粒。

5) キャプチャー技術と次世代シーケンスを組み合わせた解析手法。断片化した植物ゲノム全体から、特異的なプローブセットを用いて任意の配列 (ここでは導入用プラスミドの構成要素由来の配列) を含む DNA 断片を選択的に回収 (キャプチャー) し、次世代シーケンサーを用いて塩基配列解析を行う。本法を用いることにより、挿入された DNA 断片及びその近傍の塩基配列情報が得られる (Zastrow-Hayes *et al*, 2015)。

(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

本組換えトウモロコシの作出に用いたプラスミド PHP40099 における供与核酸の構成を図 3 に示した。

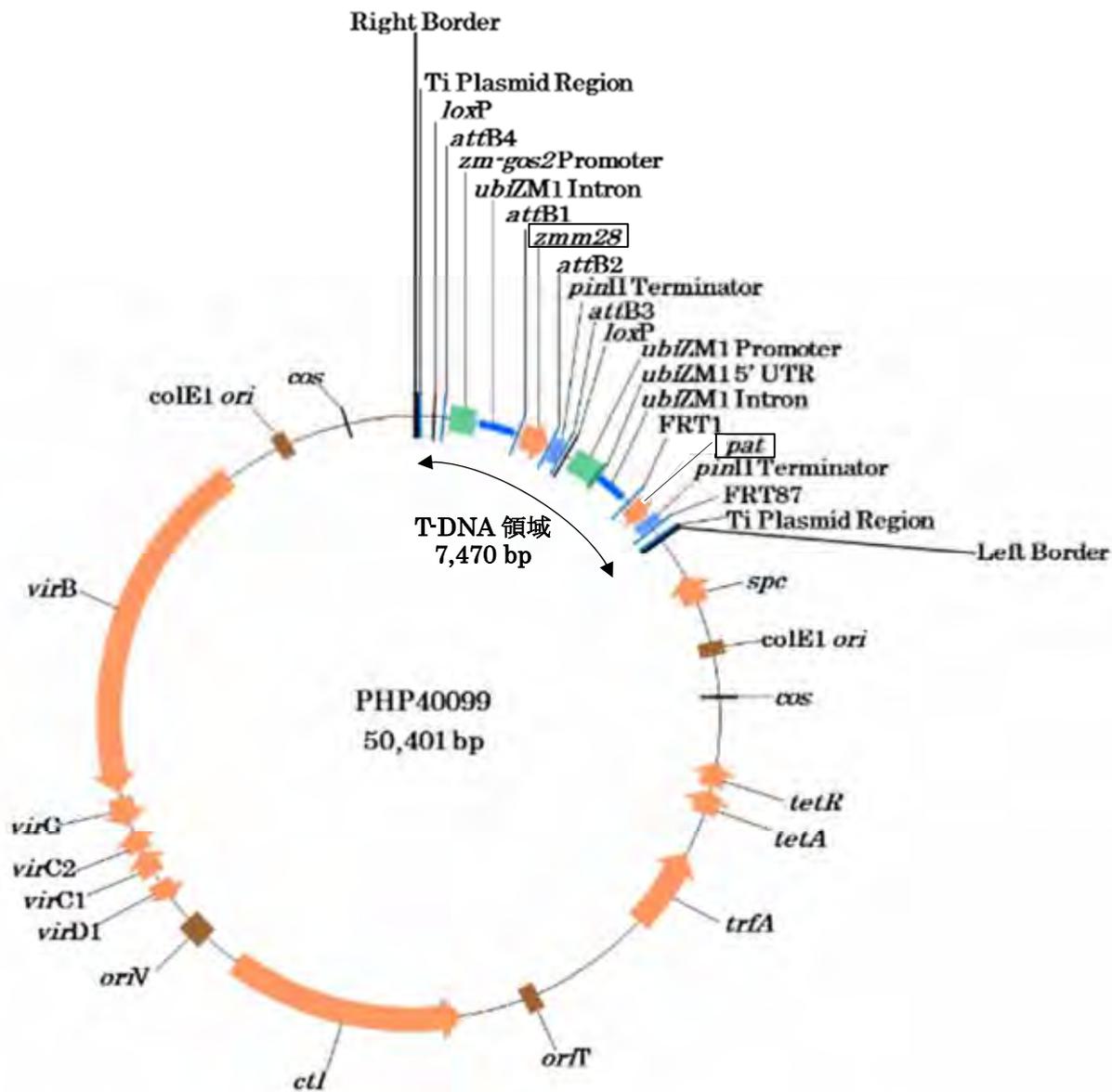


図 3. プラスミド PHP40099 における供与核酸の構成  
本組換えトウモロコシに導入した遺伝子を四角囲いで示した。

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。

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

核酸が移入された細胞は、除草剤グルホシネートを添加した培地で胚を生育させることにより選抜した。

② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウムの菌体の残存の有無

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 PHP40099 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 SbS 分析（添付資料 1 の Appendix 5）及び PCR 分析（添付資料 1 の Appendix 3）により確認されており、アグロバクテリウムの菌体の残存はないと考えられる。

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

本組換えトウモロコシの育成経過は図 4 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、T<sub>1</sub> 世代以降である。

（社外秘情報につき非開示）

図 4. 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

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。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  $T_2$  及び  $F_1^{*1}$  世代 (図 4) の 3 葉期の葉からゲノム DNA を抽出し、PCR 分析を行った (添付資料 1 の Appendix 4)。PCR 分析には、各導入遺伝子特異的プライマーペア及びその 5'側トウモロコシゲノムの境界領域を増幅する本組換えトウモロコシ特異的プライマーペアを用いた。その結果、いずれの世代においても、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) の分離比は、それぞれ期待される分離比 3 : 1 及び 1 : 1 から有意に異なるものではなかった。

以上のように、導入遺伝子はメンデルの法則に矛盾することなく伝達され、移入された核酸の複製物は、トウモロコシ染色体上に存在することが確認された (表 2)。

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	期待される分離比	分析結果		P 値
		陽性個体 : 陰性個体	陽性個体	陰性個体	
$T_2$	100	3 : 1	80	20	0.2482
$F_1^{*1}$	100	1 : 1	54	46	0.4237

統計解析：カイ二乗検定。

## 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

本組換えトウモロコシに移入された導入遺伝子のコピー数を調べるため、8 個体の  $T_1$  世代 (図 4) の葉から抽出したゲノム DNA を用いて、SbS 分析を行った。約 400 bp にランダムに断片化した本組換えトウモロコシのゲノム DNA から、構成要素領域を含む導入用プラスミド PHP40099 の特異的配列を対象としたプローブセット (各全長 70~74 bp) を用いて、PHP40099 由来の配列を含む DNA 断片を選択的に回収し、次世代シーケンサーを用いて解析した (添付資料 1 の Appendix 5)。その結果、試験に用いた 8 個体のうち 6 個体が組換え体であり、いずれの組換え体においても T-DNA 領域由来の配列とゲノムとの接合部は 2 つ特定され、それぞれ T-DNA 領域の 5'末端及び 3'末端とゲノムとの接合部であった。このことから、意図した T-DNA 領域が本組換えトウモロコシゲノム中に 1 コピー移入されていることが確認された。また、得られた DNA 断片中に PHP40099 の外骨格領域由来の配列は含まれておらず、T-DNA 領域だけがゲノムに挿入されていることが確認された。

さらに、 $T_2$  世代及び  $F_1^{*1}$  世代 (図 4) において、各遺伝子特異的プライマーペア及び本組換えトウモロコシ特異的プライマーペアを用いた PCR 分析を行

った結果、本組換えトウモロコシ中の導入遺伝子は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Appendix 5）。

- 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

—

- 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

ZMM28 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現の安定性について、本組換えトウモロコシ T<sub>2</sub> 世代及び F<sub>1</sub>\*<sub>1</sub> 世代（図 4）の葉を用い ELISA 法による分析を行った（添付資料1のAppendix 6）。その結果、各世代及び各分析時期における本組換えトウモロコシの ZMM28 蛋白質は非組換えトウモロコシの ZMM28 蛋白質の最大値以上に産生されていることが確認された。また、PAT 蛋白質はいずれの本組換えトウモロコシにおいても産生されていることが確認された（表 3）。

表 3. 本組換えトウモロコシの葉における各蛋白質の産生量  
(ng / mg 乾物重)

世代及び分析時期			ZMM28 蛋白質 <sup>1)</sup>	
			本組換えトウモロコシ <sup>2)</sup>	非組換えトウモロコシ <sup>2)</sup>
T <sub>2</sub>	5 葉期	平均値±標準偏差 (最小値-最大値)	0.045±0.0092 (0.034 - 0.059)	<0.027
	9 葉期	平均値±標準偏差 (最小値-最大値)	0.28±0.058 (0.19 - 0.34)	0.16±0.023 (0.14 - 0.19)
F <sub>1</sub> * <sub>1</sub>	5 葉期	平均値±標準偏差 (最小値-最大値)	0.062±0.012 (0.044 - 0.078)	<0.027
	9 葉期	平均値±標準偏差 (最小値-最大値)	0.40±0.024 (0.37 - 0.43)	0.31±0.025 (0.28 - 0.35)
			PAT 蛋白質 <sup>3)</sup>	
T <sub>2</sub>	9 葉期	平均値±標準偏差 (最小値-最大値)	86±5.4 (78 - 90)	
F <sub>1</sub> * <sub>1</sub>		平均値±標準偏差 (最小値-最大値)	55±4.6 (48 - 60)	

1) 定量下限値は 0.027 ng/mg 乾物重。

2) 本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシ、各 n = 5。

3) 定量下限値は 0.11 ng/mg 乾物重。

- 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は、*zmm28* 遺伝子発現カセット領域と *pat* 遺伝子発現カセット領域それぞれに特異的なプライマーを用いて、PCR 法による検出及び識別が可能である（添付資料 7）。

感度：本法における *zmm28* 遺伝子及び *pat* 遺伝子の検出限界値は、ゲノム DNA 濃度比でそれぞれ 0.2 %（10 pg/5 ng）及び 0.1 %（5 pg/5 ng）である（添付資料 7）。

信頼性：本法による PCR 分析には本組換えトウモロコシ 200 個体及び非組換えトウモロコシ 8 個体を用いた。各サンプルを少なくとも 4 回分析し、いずれも同じ結果が得られている（添付資料 7、5）。

- (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

本組換えトウモロコシに付与された特性は、*zmm28* 遺伝子による収量増加及び *pat* 遺伝子による除草剤グルホシネート耐性である。

本組換えトウモロコシにおける、内在性遺伝子の発現への影響を調査するために本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの 6 葉期の葉を用い、網羅的な遺伝子発現解析及び遺伝子オントロジー解析を実施した（添付資料 3）。まず、RNA シークエンス解析により本組換えトウモロコシ及び非組換えトウモロコシの葉において発現量の変化が見られた遺伝子を調査したところ、発現増加している遺伝子が 192 個、発現減少している遺伝子が 64 個同定された。次に、これらの転写産物について、遺伝子オントロジーのカテゴリーに当てはめたところ、11 個のカテゴリーに分けられた（添付資料 3 の Table 1）。さらに、これらのカテゴリーを分類すると、その大半が光合成や炭水化物の生合成過程に関わる遺伝子発現の増加に関わるものであった（添付資料 3 の Figure 1）。以上の結果から、本組換えトウモロコシにおいては光合成反応が促進されている可能性が示された。

なお、RNA シークエンス解析により発現量の変化が見られた遺伝子には、ストレス応答や二次代謝物の生成等に潜在的に関与すると考えられる遺伝子も含まれていた（添付資料 3 の Table 2）。これらの遺伝子はストレス応答や二次代謝物の生成を含む複数の Gene Ontology Term を有しているが、遺伝子オントロジーのエンリッチメント解析（adjusted  $p < 0.05$ ）において、ストレス耐性や二次代謝産物の生成に関する特定の機能カテゴリーは示されなかった。一方で、RNA シークエ

ンス解析により発現量の変化が見られた遺伝子の中には、アブシジン酸の生合成経路の酵素であるゼアキサンチンエポキシダーゼ活性に潜在的に関与すると考えられる遺伝子等も含まれていた（添付資料3のTable 2）。これらは、上述のとおり、遺伝子オントロジーのエンリッチメント解析において特定の機能カテゴリーには分類されなかったが、隔離ほ場試験で、ZMM28蛋白質の早期発現及び発現増加による種子の休眠性への影響等を評価する予定である。また、2017年に米国及びカナダの12ヶ所のほ場で実施した栄養構成成分分析及び農業的特性の調査の結果から、本組換えトウモロコシは従来のトウモロコシと同等であると判断された（添付資料5）。このことから、これらのストレス応答や二次代謝物の生成等に潜在的に関与すると考えられる遺伝子の発現量の変化により、競合における優位性が高まったり、有害物質を産生したりする可能性は低いと考えられる。

また、ZMM28蛋白質の葉における早期発現及び発現増加は、初期栄養成長期における本組換えトウモロコシの生長を促す。実際に、米国において2016年に行った調査では、6葉期、8葉期及び10葉期の各生育ステージにおいて平均草丈が本組換えトウモロコシにおいて顕著に高くなっていたことが観察された（添付資料6）。なお、葉における光合成速度（二酸化炭素交換速度及び光合成電子伝達速度）については、統計学的有意差は認められなかったが、本組換えトウモロコシでは対照のトウモロコシと比較し、平均して7%程度高い値が認められた（添付資料6）。このように、本組換えトウモロコシでは、ZMM28蛋白質の発現の増加により、光合成や炭水化物の生合成過程に関わる遺伝子発現の変化及び初期の栄養成長が促進されることで収量の増加がもたらされると考えられた。

本組換えトウモロコシによる収量への影響を確認するため、2014年に本組換えトウモロコシ T<sub>2</sub> 世代（図4）以降のハイブリッド3品種（熟期108日から110日）を用い、10の異なる環境（米国アイオワ州、イリノイ州、ネブラスカ州、インディアナ州、テネシー州及びカリフォルニア州のほ場）において収量調査を実施した（添付資料1のAppendix 7）。

その結果、本組換えトウモロコシの2014年の平均収量は、非組換えトウモロコシと比較して358 kg/ha増加し、統計学的に有意であり、本組換えトウモロコシ収量への好影響が認められた（表4）。

表4. 本組換えトウモロコシに付与された収量増加の調査結果

年	N <sup>1)</sup>	平均収量 (kg/ha)		差 (kg/ha) [95%信頼区間]	P 値 <sup>2)</sup>
		本組換え トウモロコシ	非組換え トウモロコシ		
2014	96	13,564	13,206	358 [119 - 602]	0.0047 <sup>3)</sup>

1) 本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシを比較したペア数（ほ場数×ハイブリッド品種数×反復数（2~4反復））。1反復当たりの本組換え及び非組換えトウモロコシは各約120個体。

2) 統計解析：線形混合モデル。

3) 統計学的有意差あり（P値<0.05）

また、PAT蛋白質の発現により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、本組換えトウモロコシ T<sub>2</sub>

世代及び F<sub>1</sub>\*<sup>1</sup> 世代（図 4）について、播種 20 日後に除草剤グルホシネート 0.45 kg a.i.<sup>6)</sup>/ha（通常量）を散布し、散布 5 日後に耐性の有無を目視により調査した（添付資料 1 の Appendix 7）。その結果、除草剤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 5）。

表 5. 本組換えトウモロコシに付与されたグルホシネート耐性の調査結果

調査項目		本組換え トウモロコシ	非組換え トウモロコシ
T <sub>2</sub>	耐性個体数 / 供試個体数	80 / 80	0 / 20
F <sub>1</sub> * <sup>1</sup>	耐性個体数 / 供試個体数	54 / 54	0 / 46

- 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のデント種 PH17AW 系統であり、導入遺伝子は *zmm28* 遺伝子及び *pat* 遺伝子である。本組換えトウモロコシでは、ZMM28 蛋白質が構成的に発現されることにより収量増加が期待され、PAT 蛋白質が発現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。

ZMM28 蛋白質の構成的発現による生理学的特性の変化により本組換えトウモロコシに期待される特性は収量増加であるが、ZMM28 蛋白質はトウモロコシ内在性蛋白質であり、本組換えトウモロコシの生態学的特性に従来のトウモロコシの種としての範囲を超える変化が生じるとは考え難い。

また、PAT 蛋白質の発現により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、当該除草剤の散布が想定されにくい自然条件下において、PAT 蛋白質の発現により本組換えトウモロコシに下記の生理学的又は生態学的特性についてトウモロコシの種としての範囲を超える変化が生じることも考え難い。実際、PAT 蛋白質を有する除草剤グルホシネート耐性トウモロコシは、これまでも生物多様性影響評価を経ており、国内外におけるこれらの栽培により生物多様性影響が生じたとの報告はない。

さらに、既に第一種使用規程の承認を受けている PAT 蛋白質を有する除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ中で内在性 ZMM28 蛋白質と PAT 蛋白質は共存しているが、これまでこれらトウモロコシにより生物多様性影響が生じたとの報告はない。このため、本組換えトウモロコシにおいても意図した収量増加及び除草剤グルホシネート耐性の特性を超えた新たな特性が付与されるとは考え難い。

以上のことから、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。

<sup>6)</sup> active ingredient（活性主成分）

本組換えトウモロコシの隔離ほ場試験では、以下の生理学的又は生態学的特性に関する項目を調査する予定である。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ため、交雑性に関する調査は実施しない。

- 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
- 有害物質の産生性

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

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 番地 2 デュポン株式会社宇都宮事業所内

名称：デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
組換え農作物隔離ほ場

使用期間：承認日から平成 34（2022 年）年 3 月 31 日まで

#### 隔離ほ場の施設

- 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。

#### 隔離ほ場での作業要領

- ① 本組換えトウモロコシ及び比較対象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。
- ② 本組換えトウモロコシを隔離ほ場の外に運搬又は保管する場合は、当該トウモロコシが漏出しない構造の容器に入れる。
- ③ ②により運搬又は保管する場合を除き、本組換えトウモロコシの栽培終了後は、当該トウモロコシ及び比較対象の非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、意図せずに本組換えトウモロコシが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- ⑤ 本組換えトウモロコシの花粉の飛散を防止するため、除雄又は雄穂の袋がけを行う。
- ⑥ 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
- ⑦ ①から⑥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。

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

—

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

緊急措置計画書を参照。

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

—

- (6) 国外における使用等に関する情報

米国では 2009 年から 2017 年の間に延べ約 3.4 ha、カナダでは 2017 年に約 0.014 ha 及びチリでは 2015 年から 2016 年の間に延べ約 0.60 ha の圃場において試験栽培を行ったが、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に、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。

年	栽培面積 (ha)		
	米国	カナダ	チリ
2009	0.037	—	—
2010	0.009	—	—
2011	0.064	—	—
2012	0.011	—	—
2013	0.057	—	—
2014	0.406	—	—
2015	0.300	—	0.257
2016	1.251	—	0.342
2017	1.278	0.014	—
合計	3.414	0.014	0.599

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等の申請を行う予定である。その他、食品としての安全性の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。

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. *The Plant Cell* 1: 115-122.
- CFIA. (2012). *The Biology of Zea mays* (L.) (Maize). (<http://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/biology-documents/zea-mays-l-/eng/1330985739405/1330985818367>). Accessed on February 25<sup>th</sup>, 2014.
- Cheo, D.L., Titus, S.A., Byrd, D.R.N., Hartley, J.L., Temple, G.F. and Brasch, M.A. (2004). Concerted assembly and cloning of multiple DNA segments using in vitro site-specific recombination: Functional analysis of multi-segment expression clones. *Genome Research*. 14: 2111-2120.
- 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.
- Dale, E.C. and Ow, D.W. (1990). Intra- and intermolecular site-specific recombination in plant cells mediated by bacteriophage P1 recombinase. *Gene*. 91: 79-85.
- De Bodt, S., Raes, J., Van de Peer, Y. and Theißen, G. (2003). And then there were many: MADS goes genomic. *Trends in Plant Science* 8(10): 475-483.
- de Pater, B.S., van der Mark, F., Rueb, S., Katagiri, F., Chua, N-H., Schilperoort R.A. and Hensgens, L.A.M. (1992). The promoter of the rice gene GOS2 is active in various different monocot tissues and binds rice nuclear factor ASF-1. *The Plant Journal* 2(6): 837-844.
- FAO. (2017). FAOSTAT. (<http://www.fao.org/faostat/en/#home>). Accessed on February 19<sup>th</sup>, 2018.
- Fling, M.E., Kopf, J. and Richards, C. (1985). Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3' (9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research*. 13: 7095-7106.

- Hartley, J.L., Temple, G.F. and Brasch, M.A. (2000). DNA cloning using in vitro site-specific recombination. *Genome Research*. 10: 1788-1795.
- 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](http://cera-gmc.org/docs/cera_publications/pub_05_2011.pdf)).  
Accessed on January 25<sup>th</sup>, 2018.
- Katzen, F. (2007). Gateway<sup>®</sup> recombinational cloning: a biological operating system. *Expert Opinion on Drug Discovery* 2(4): 571-589.
- Keil, M., Sanchez-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.
- Komari, T., Hiei, Y., Saito, Y., Murai, N. and Kumashiro, T. (1996). Vectors carrying two separate T-DNAs for co-transformation of higher plants mediated by *Agrobacterium tumefaciens* and segregation of transformants free from selection markers. *The Plant Journal* 10: 165-174.
- Luna, S.V., Figueroa, J.M., Baltazar, B.M., Gomez, R.L., Townsend, R. and Schoper, J.B. (2001). Maize pollen longevity and distance isolation requirements for effective pollen control. *Crop Science*, 41, 1551-1557.
- Münster, T., Deleu, W., Wingen, L.U., Ouzunova, M., Cacharrón, J., Faigl, W., Werth, S., Kim, J.T.T., Saedler, H. and Theißen, G. (2002). Maize MADS-Box Genes Galore. *Maydica* 47: 287-301.
- Nakai, S., Hoshikawa, K., Shimono, A. and Ohsawa Ryo. (2015). Transportability of confined field trial data from cultivation to import countries for environmental risk assessment of genetically modified crops. *Transgenic Research*. 24: 929-944.
- NCGA. (2017). World of Corn 2017.  
(<http://www.worldofcorn.com/pdf/WOC-2017.pdf>).  
Accessed on April 21<sup>st</sup>, 2017.
- 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>).  
Accessed on January 25<sup>th</sup>, 2018.

- OECD. (2002a). 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>). Accessed on January 25<sup>th</sup>, 2018.
- OECD. (2002b). Series on the Safety of Novel Foods and Feeds, No. 6: Consensus document on compositional considerations for new varieties of maize (*Zea mays*). Key food and feed nutrients, anti-nutrients and secondary plant metabolites. Organisation for economic co-operation and development. ENV/JM/MONO (2002) 25. (<http://www.oecd.org/science/biosafety-biotrack/46815196.pdf>). Accessed on January 25<sup>th</sup>, 2018.
- OECD. (2003). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 27: Consensus document on the Biology of *Zea mays* subsp. *mays* (Maize). ENV/JM/MONO 11. (<http://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815758.pdf>). Accessed on February 25<sup>th</sup>, 2014.
- Pařenicová, L., de Folter, S., Kieffer, M., Horner, D.S., Favalli, C., Busscher, J., Cook, H.E., Ingram, R.M., Kater, M.M., Davies, B., Angenent, G.C. and Colombo, L. (2003). Molecular and Phylogenetic Analyses of the Complete MADS-Box Transcription Factor Family in Arabidopsis: New Openings to the MADS World. *The Plant Cell* 15: 1538-1551.
- 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 of the United States*, 98, 11919-11924.
- Proteau, G., Sidenberg, D. and Sadowski, P. (1986). The minimal duplex DNA sequence required for site-specific recombination promoted by the FLP protein of yeast in vitro. *Nucleic Acids Research*. 14(2): 4787-4802.
- Sears, M.K., Stanley-Horn, D.E. and Matilla, H.R. (2000). Preliminary report on the ecological impact of Bt corn pollen on the Monarch butterfly in Ontario. (<http://cera-gmc.org/files/cera/GmCropDatabase/docs/articles/searsreport.pdf>). Accessed on April 23<sup>rd</sup>, 2015.
- 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.
- Tao, Y., Bidney, D., Gordon-Kamm, W. and Lyznik, L. (2007). Modified FRT recombination sites and methods of use. World Intellectual Property Organization. Application No.PCT/US2006/027380.
- Tomizawa, J-I., Ohmori, H. and Bird, R.E. (1977). Origin of replication of colicin E1 plasmid DNA. Proceedings of the National Academy of Sciences. 74: 1865-1869.
- Wohlleben, 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.
- Wych, R.D. (1988). Production of hybrid seed corn. In G.F. Sprague and J.W. Dudley (eds.), Corn and Corn Improvement (3<sup>rd</sup> ed.). Madison, Wisconsin: American Society of Agronomy, Inc.: 565-607.
- Zastrow-Hayes, G.M., Lin, H., Sigmund, A.L., Hoffman, J.L., Alarcon, C.M., Hayes, K.R., Richmond, T.A., Jeddelloh, J.A., May, G.D. and Beatty, M.K. (2015). Southern-by-Sequencing: A Robust Screening Approach for Molecular Characterization of Genetically Modified Crops. The Plant Genome 8: 1-15.
- 柿本陽一・山田実. (2001). “トウモロコシの起源と特性 転作全書 第三巻 雑穀”. 農山漁村文化協会. 東京.
- 菊池一徳. (1987). “トウモロコシの生産と利用”. 光琳. 東京.
- 財務省. (2018). 財務省貿易統計.  
(<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>).  
Accessed on February 19<sup>th</sup>, 2018.
- 消費者庁. (2014). アレルギー物質を含む加工食品の表示ハンドブック（平成 26 年 3 月改訂）.  
(<http://www.caa.go.jp/foods/pdf/syokuhin1446.pdf>).  
Accessed on January 25<sup>th</sup>, 2018.
- 食品安全委員会. (2013). 農薬評価書 グルホシネート（第 3 版）.  
(<http://www.fsc.go.jp/fsciis/attachedFile/download?retrievalId=kya20130612154&fileId=201>).  
Accessed on January 22<sup>nd</sup>, 2018.

- 瀧澤康孝. (2001). “子実用トウモロコシの栽培 転作全書 第三巻 雑穀”. 農山漁村文化協会. 東京.
- 千藤茂行. (2001). “トウモロコシの品種生態. IV 採取. 転作全書 第三巻 雑穀”. 農山漁村文化協会. 東京.
- 戸澤英男. (2005). “トウモロコシ—歴史・文化、特性・栽培、加工・利用—”. 農山漁村文化協会.
- 中村茂文. (2001). “生育のステージと生理, 生態 転作全書 第三巻 雑穀”. 農山漁村文化協会. 東京.
- 西尾剛. (2002). “新農学実験マニュアル 改訂第3版”. 株式会社ソフトサイエンス社.
- 日本食品化学研究振興財団. (2018). 農薬等の基準値 品目名：グルホシネート.  
([http://ffcr.sakura.ne.jp/pesticide\\_db/html/front/pesticide\\_detail?id=18900](http://ffcr.sakura.ne.jp/pesticide_db/html/front/pesticide_detail?id=18900)).  
Accessed on February 6<sup>th</sup>, 2018.
- 農林水産省. (2014). 飼料用トウモロコシの流通・加工実態調査結果報告書 平成 26年 3月 26日公表.  
(<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/pdf/140326-01.pdf>).  
Accessed on April 23<sup>rd</sup>, 2015.
- 農林水産省. (2017a). 平成 28 年産作物統計（普通作物・飼料作物・工芸農作物）平成 29 年 6 月 16 日公表.  
([https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&stat\\_infid=000031589177&lid=000001173263](https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&stat_infid=000031589177&lid=000001173263)).  
Accessed on February 19<sup>th</sup>, 2018.
- 農林水産省. (2017b). 平成 28 年産野菜生産出荷統計 平成 29 年 11 月 27 日公表.  
([https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&stat\\_infid=000031645267&lid=000001196823](https://www.e-stat.go.jp/stat-search/files?page=1&layout=datalist&stat_infid=000031645267&lid=000001196823)).  
Accessed on February 19<sup>th</sup>, 2018.
- 農林水産省. (2017c). 「平成 27 年度トウモロコシ生育等実態調査」の結果について平成 29 年 3 月 22 日公表.  
(<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/170322.html>).  
Accessed on March 22<sup>nd</sup>, 2017.
- 農林水産省. (2018). 飼料をめぐる情勢 平成 30 年 1 月公表.  
([http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l\\_siryu/index.html](http://www.maff.go.jp/j/chikusan/sinko/lin/l_siryu/index.html)).

Accessed February 19<sup>th</sup>, 2018.

山田実. (2001). “トウモロコシの起源と特性 転作全書 第三巻 雑穀”. 農山漁村文化協会. 東京.

デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
隔離ほ場 受容環境

I. 隔離ほ場の所在地等

1. 名称

デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
組換え農作物隔離ほ場

2. 住所

栃木県宇都宮市清原工業団地 19 番地 2 デュポン株式会社宇都宮事業所内

3. 連絡先電話番号

03-5521-8549 (デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
登録部)

028-667-5641 (デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
宇都宮事務所)

4. 地図

別紙 1 参照

II. 責任者等

隔離ほ場試験の責任者、隔離ほ場の管理責任者

(個人名・所属は個人情報につき非開示)

(デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
登録部)

(デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
登録部)

### III. 試験期間

収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ(*zmm28, pat, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DP202216, OECD UI: DP-202216-6) (以下、「本組換えトウモロコシ」という。)の承認日から平成34年(2022年)3月31日まで

### IV. 施設概要

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並びに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

1904.5 m<sup>2</sup>

#### 2. 試験に使用する面積

121 m<sup>2</sup>

#### 3. 試験区の配置図

図5及び図6参照

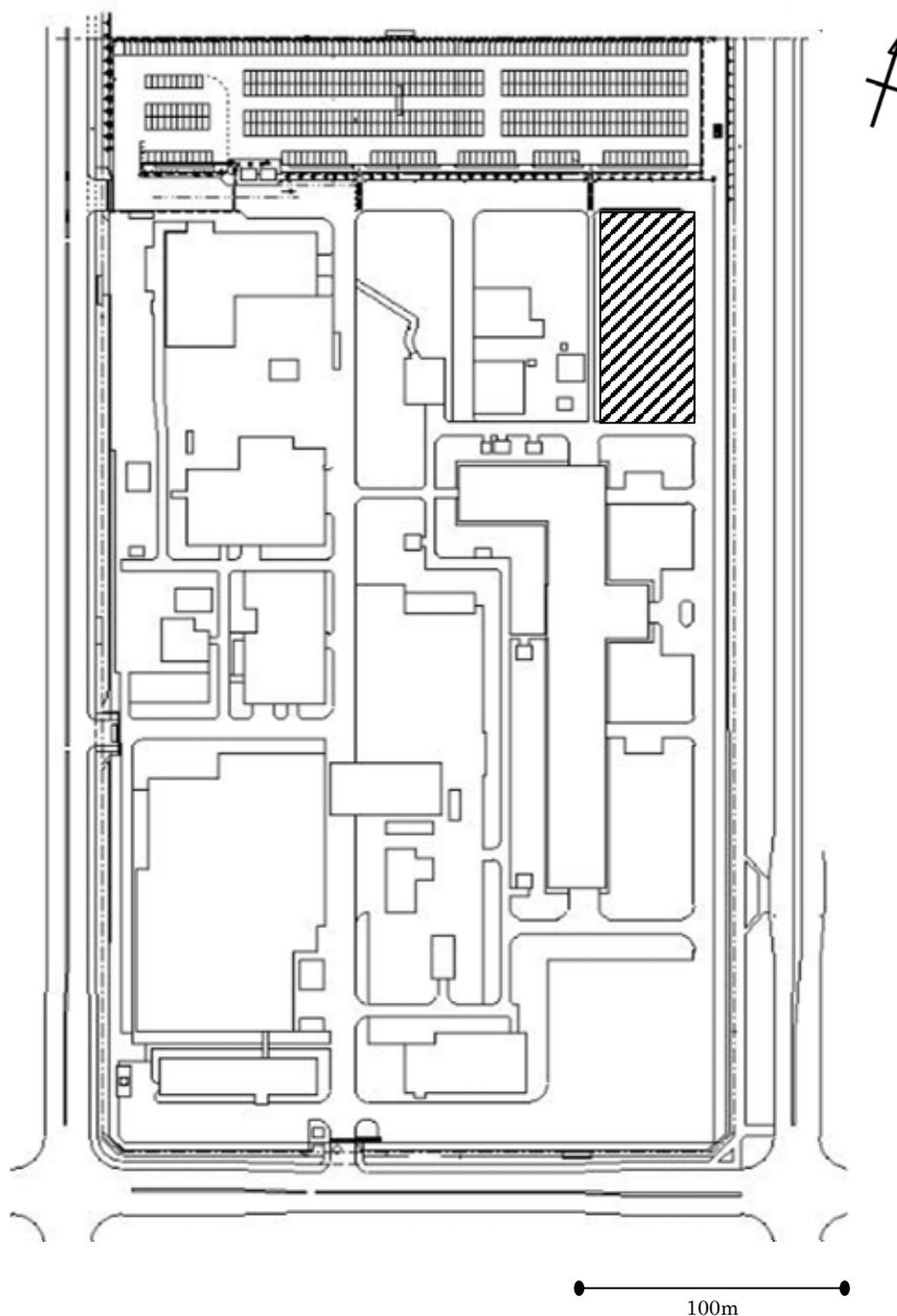


図5 デュポン株式会社宇都宮事業所内におけるデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社 組換え農作物隔離ほ場の位置  
隔離ほ場の位置を斜線で示した。

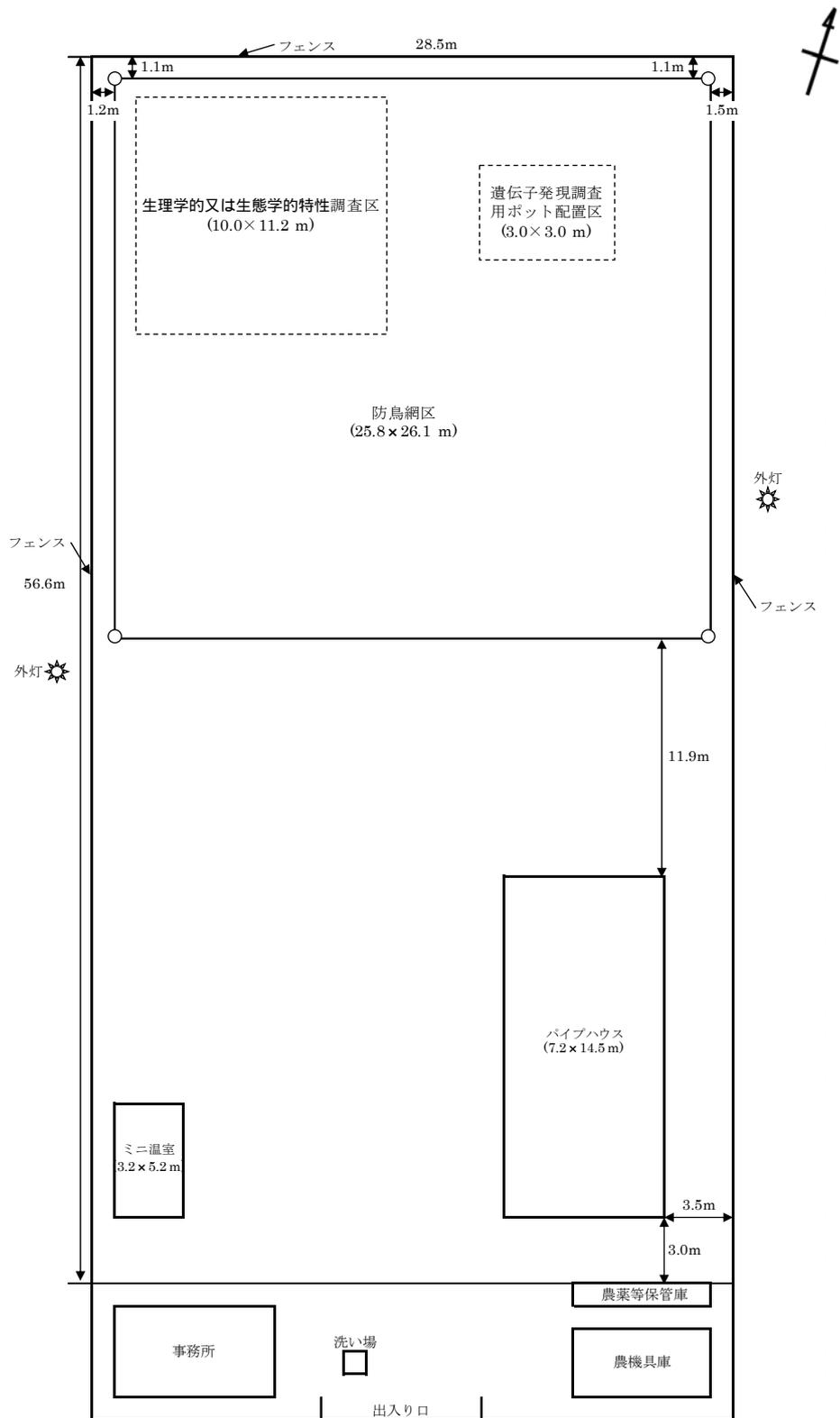


図 6 隔離ほ場施設及び栽培試験区の配置図

## VI. 隔離ほ場の周辺環境

### 1. 隔離ほ場周辺の地形

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

### 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、南北約 3.1 km、東西約 1.6 km、総面積約 3.9 km<sup>2</sup> である。

### 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、約 35 km 離れた日光国立公園である。

### 4. 気象条件

#### ① 平年値

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各種データ・資料ページ（アクセス：2018 年 1 月 9 日）  
[http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml\\_sfc\\_ym.php?prec\\_no=41&block\\_no=47615&year=2017&month=&day=&view=p1](http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_sfc_ym.php?prec_no=41&block_no=47615&year=2017&month=&day=&view=p1)

#### 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（2015 年～2017 年）の気象データを別紙 3 に示した。

気象庁ホームページ各種データ・資料ページ（アクセス：2018 年 1 月 9 日）  
2015 年の気象データ

[http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly\\_s1.php?prec\\_no=41&block\\_no=47615&year=2015&month=&day=&view=p1](http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_s1.php?prec_no=41&block_no=47615&year=2015&month=&day=&view=p1)

2016 年の気象データ

[http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly\\_s1.php?prec\\_no=41&block\\_no=47615&year=2016&month=&day=&view=p1](http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_s1.php?prec_no=41&block_no=47615&year=2016&month=&day=&view=p1)

## 2017年の気象データ

[http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly\\_s1.php?prec\\_no=41&block\\_no=47615&year=2017&month=&day=&view=p1](http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_s1.php?prec_no=41&block_no=47615&year=2017&month=&day=&view=p1)

## 5. 台風の襲来歴

## ① 平年値

気象庁ホームページによると、隔離ほ場のある関東甲信地方への台風接近数<sup>7)</sup>の平年値は、3.1個である（表6）。

気象庁ホームページ各種データ・資料ページ（アクセス：2018年1月9日）

<http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/average/average.html>

表6 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。

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。

## 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によると、隔離ほ場のある関東甲信地方に、2007年から2016年の間に接近した台風は、計30個である。

気象庁ホームページ各種データ・資料ページ（アクセス：2018年1月9日）

[http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto\\_koshin.html](http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto_koshin.html)

<sup>7)</sup> 台風の中心が東京都、栃木県、群馬県、埼玉県、茨城県、千葉県、神奈川県、長野県、山梨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）。

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。

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。

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。

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：2018年1月9日）

<http://www.city.utsunomiya.tochigi.jp/kurashi/anshin/bosai/1003241.html>

9. 周辺地域における鳥獣害の発生状況

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。

## 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

- ① 影響を受ける可能性のある野生動植物等

該当なし。

- ② ①の中に希少種が含まれる場合はその名称

該当なし。

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

該当なし。

## VIII. 栽培管理等

## 1. 栽培履歴

隔離ほ場における過去3年間の栽培履歴は以下のとおりである。

栽培年月		作物
2015年	1月 - 4月	オオムギ
	5月 - 11月	トウモロコシ*
	6月 - 11月	テオシント
	7月 - 11月	ヒマワリ
	12月 -	オオムギ
2016年	1月 - 4月	オオムギ
	5月 - 10月	トウモロコシ*
	6月 - 10月	テオシント、ダイズ*
	12月 -	オオムギ
2017年	1月 - 4月	オオムギ
	5月 - 11月	トウモロコシ*
	6月 - 11月	テオシント、ダイズ*
	7月 - 11月	ヒマワリ
	12月 -	オオムギ

\* 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。

## 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、遺伝子組換えトウモロコシ又はダイズ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、直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 隔離ほ場の施設

- (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。

##### ② 隔離ほ場での作業要領

- (1) 本組換えトウモロコシ及び比較対象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。
- (2) 本組換えトウモロコシを隔離ほ場の外に運搬又は保管する場合は、当該トウモロコシが漏出しない構造の容器に入れる。
- (3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、本組換えトウモロコシの栽培終了後は、当該トウモロコシ及び比較対象の非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、意図せずに本組換えトウモロコシが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- (5) 本組換えトウモロコシの花粉の飛散を防止するため、除雄又は雄穂の袋がけを行う。
- (6) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
- (7) (1)から(6)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。

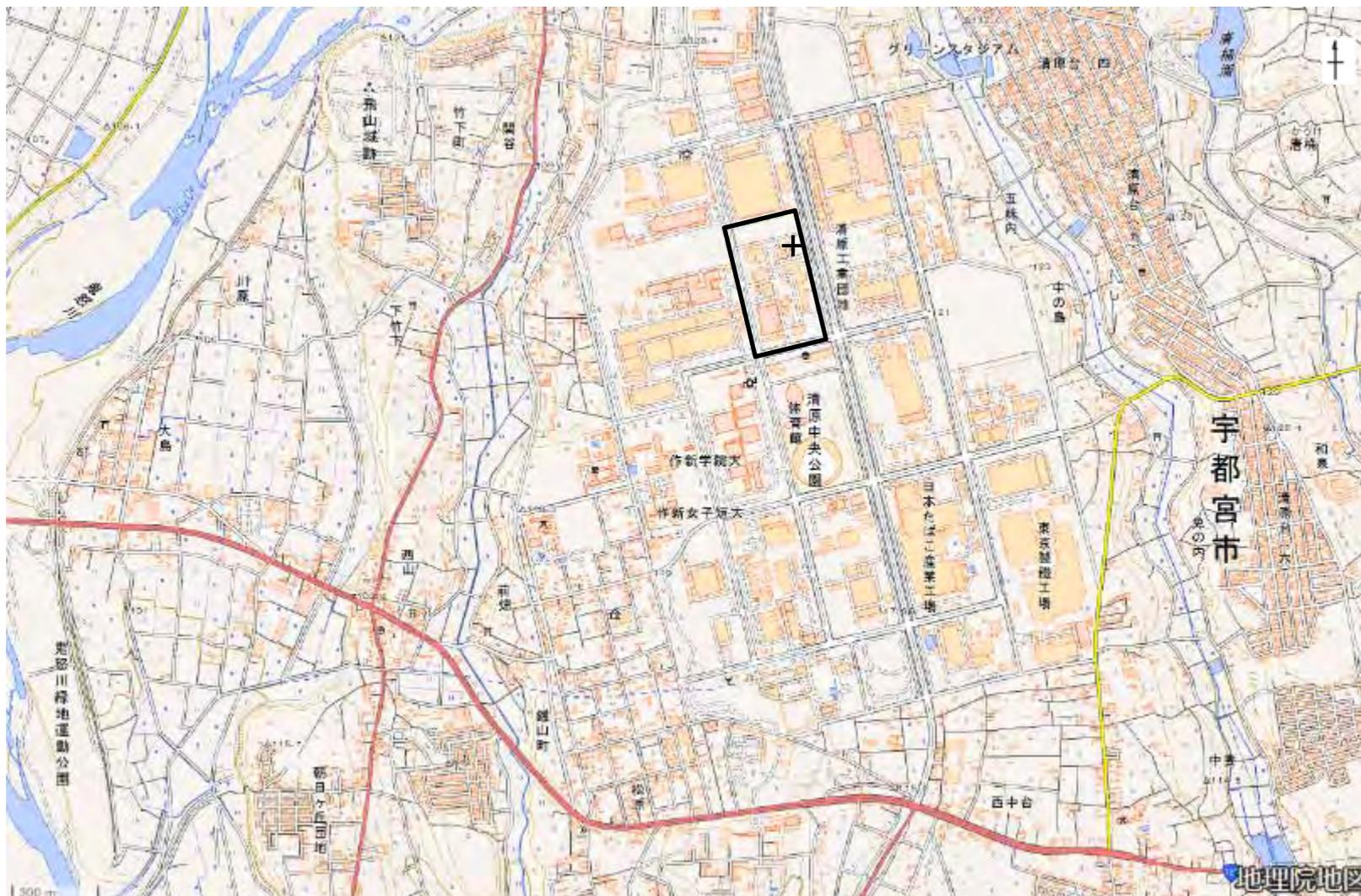


図 デュポン株式会社宇都宮事業所の周辺地図

デュポン株式会社 宇都宮事業所の所在地を四角で囲み、デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社 組換え農作物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1地形図を複製したものである（承認番号 平29情複、第600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。

資料2：審査データの概要

宇都宮 平年値(年・月ごとの値) 主要要素

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)	全天日射量 (MJ/m <sup>2</sup> )	雪 (cm)			霧量	大気現象		
	現地平均	海面平均	合計	平均	日最高	日最低	平均	平均	平均	最多風向	合計	平均	降雪の深さ		最深積雪	平均	雪日数	霧日数	雷日数
													合計	日合計の最大					
統計期間	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1990～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010
資料年数	30	30	30	30	30	30	30	30	30	21	30	30	30	30	30	30	30	30	30
1月	998.5	1016.0	33.9	2.5	8.3	-2.7	4.5	62	2.9	北北東	204.8	9.4	10	4	5	4.2	5.6	1.1	0.0
2月	998.3	1015.8	42.9	3.3	9.1	-1.9	4.6	60	3.0	北北東	186.2	11.7	10	6	6	5.0	6.1	1.2	0.2
3月	998.4	1015.6	88.4	6.8	12.6	1.5	6.0	61	3.2	北北東	187.9	13.8	5	3	3	6.2	3.6	1.2	0.5
4月	997.6	1014.4	120.5	12.5	18.5	7.0	9.3	64	3.2	北北東	179.5	16.0	0	0	0	6.6	0.6	1.8	1.7
5月	995.6	1012.1	146.6	17.2	22.5	12.5	13.6	70	3.0	北北東	166.9	16.7	—	—	—	7.6	0.0	1.7	3.2
6月	993.3	1009.5	174.7	20.6	25.2	16.9	18.5	77	2.7	北北東	112.1	14.2	—	—	—	8.6	0.0	1.4	3.2
7月	992.9	1008.9	205.8	24.2	28.7	20.8	23.8	80	2.6	北北東	114.1	14.1	—	—	—	8.7	0.0	1.5	5.3
8月	994.3	1010.2	209.8	25.6	30.5	22.2	25.5	78	2.8	北北東	138.9	14.6	—	—	—	8.1	0.0	0.7	6.4
9月	997.1	1013.3	220.4	21.9	26.4	18.4	20.4	77	2.8	北北東	112.2	11.6	—	—	—	8.2	0.0	1.2	2.8
10月	1000.1	1016.8	146.5	16.1	20.9	11.8	13.6	74	2.9	北北東	145.0	10.4	—	—	—	6.9	0.0	1.2	1.0
11月	1001.3	1018.3	68.1	10.1	15.5	5.0	8.9	71	2.6	北北東	164.5	8.8	—	—	—	5.4	0.1	2.0	0.3
12月	999.8	1017.1	35.5	4.9	10.7	-0.3	5.8	66	2.6	北北東	199.1	8.3	3	2	2	4.0	2.0	1.4	0.2
年	997.3	1014.0	1493.1	13.8	19.1	9.3	12.9	70	2.9	北北東	1911.3	12.5	28	9	10	6.6	17.9	16.4	24.8

資料2：審査データの概要

宇都宮 2015年(月ごとの値) 主な要素

月	気圧(hPa)		降水量(mm)			気温(℃)				湿度(%)		風向・風速(m/s)					日照時間(h)	全天日射量(MJ/m <sup>2</sup> )	雷(cm)			霧量(平均)	大気現象				
	現地	海面	合計	最大			平均		最高	最低	平均	最小	平均風速	最大風速		最大瞬間風速			降雷	最深積雷	平均		雷日数	霧日数	雷日数		
				日	1時間	10分間	日平均	日最高						日最低	風速	風速										風向	風速
1	997.8	1015.2	55.5	22.5	6.0	1.5	3.2	8.8	-1.6	15.0	-5.0	58	18	2.9	14.2	西北西	20.4	西北西	204.6	9.7	5	5	5	4.5	6	2	0
2	998.1	1015.4	42.0	14.5	5.5	1.5	3.7	8.9	-0.7	17.3	-4.8	61	12	3.0	13.3	北西	20.1	北西	185.6	11.9	—	—	—	5.0	4	3	0
3	999.7	1016.7	79.0	28.5	7.0	2.0	8.5	14.5	3.1	23.7	-1.1	54	9	3.3	15.3	西北北	21.8	西北西	204.8	15.5	—	—	—	5.3	1	1	1
4	1000.1	1016.9	96.0	19.5	4.5	2.0	13.6	19.3	8.3	30.1	0.6	67	13	2.9	10.8	南	16.9	南南西	153.5	15.4	3	3	2	7.4	1	3	2
5	993.6	1009.8	90.5	26.0	11.5	7.0	20.2	26.4	14.6	31.2	7.2	57	11	3.0	10.2	北	15.0	東北東	250.5	22.2	—	—	—	6.4	0	0	1
6	992.5	1008.6	153.5	24.5	11.0	6.0	21.4	26.1	17.8	31.6	13.0	73	19	2.8	10.0	北	14.3	北	119.7	15.8	—	—	—	9.0	0	1	5
7	993.5	1009.4	349.0	141.0	33.5	21.5	25.6	30.3	22.1	36.2	17.9	77	31	2.5	11.1	南南西	19.3	南南西	160.1	16.6	—	—	—	7.9	0	1	7
8	993.9	1009.8	101.5	22.0	9.5	6.5	25.4	29.7	22.4	36.5	16.8	78	36	3.3	13.7	北北西	22.2	北西	120.6	13.9	—	—	—	8.4	0	0	4
9	996.6	1012.8	423.5	177.5	46.5	15.5	21.4	25.5	18.4	30.7	12.1	76	25	2.9	11.6	東南東	17.0	南東	102.9	11.7	—	—	—	8.7	0	0	3
10	999.1	1015.7	49.5	21.5	10.0	5.0	16.7	21.8	12.3	29.2	4.5	65	19	2.8	12.3	北北西	17.4	北東	204.6	13.2	—	—	—	6.3	0	1	0
11	1004.7	1021.6	149.5	37.5	11.5	4.5	12.3	16.3	8.7	21.9	2.0	75	22	2.7	11.9	北北東	17.0	北東	119.0	7.5	—	—	—	7.2	0	2	0
12	1002.3	1019.5	61.5	52.0	10.5	4.0	7.2	12.4	2.4	19.2	-3.4	61	18	2.8	13.4	北	21.9	北	196.0	8.9	—	—	—	4.3	0	0	0

宇都宮 2016年(月ごとの値) 主な要素

月	気圧(hPa)		降水量(mm)			気温(℃)				湿度(%)		風向・風速(m/s)					日照時間(h)	全天日射量(MJ/m <sup>2</sup> )	雷(cm)			霧量(平均)	大気現象				
	現地	海面	合計	最大			平均		最高	最低	平均	最小	平均風速	最大風速		最大瞬間風速			降雷	最深積雷	平均		雷日数	霧日数	雷日数		
				日	1時間	10分間	日平均	日最高						日最低	風速	風速										風向	風速
1	999.1	1016.5	40.5	22.5	4.0	1.5	3.4	9.3	-1.6	15.4	-6.2	60	15	2.8	12.4	西	19.1	北北東	211.0	10.1	12	6	6	4.2	9	1	0
2	1001.6	1019.0	34.5	15.0	5.0	1.5	4.7	11.0	-0.4	21.5	-4.3	61	16	2.9	12.3	北	17.7	北北西	193.4	12.8	4	2	4	5.0	7	1	0
3	1002.0	1019.1	57.0	18.0	7.5	5.5	8.4	14.1	3.5	20.6	-3.8	60	11	2.9	11.9	北西	19.0	北西	177.5	14.5	—	—	—	6.9	3	1	1
4	997.1	1013.7	135.0	41.0	7.5	4.0	13.8	19.5	8.9	25.4	2.9	65	13	3.2	14.1	南	24.2	南	157.2	15.8	—	—	—	7.8	0	2	1
5	997.0	1013.3	88.0	35.0	13.0	3.5	19.2	25.0	14.1	31.7	9.5	63	14	3.2	10.8	南	17.3	南南西	193.1	19.0	—	—	—	7.7	0	1	1
6	993.3	1009.4	111.0	35.0	6.5	1.5	21.7	26.3	17.8	32.6	10.4	71	19	3.0	12.8	北	18.3	北	141.9	16.5	—	—	—	8.1	0	0	0
7	994.2	1010.2	81.0	15.0	10.0	4.5	24.2	28.8	20.9	33.6	17.9	78	32	2.5	10.7	東北北	16.7	東	100.0	14.0	—	—	—	8.8	0	1	2
8	989.5	1005.3	431.5	128.0	83.0	20.0	26.2	31.4	22.8	36.2	19.7	76	34	3.5	15.4	北北東	23.1	北	144.3	15.8	—	—	—	8.4	0	0	8
9	997.7	1013.7	399.5	108.0	51.5	14.0	23.3	27.2	20.4	33.6	14.7	81	38	3.0	10.8	北北東	15.5	北	90.9	11.3	—	—	—	9.2	0	1	5
10	1001.2	1017.8	65.0	41.0	6.5	1.5	17.1	21.7	13.0	30.8	6.0	69	21	2.3	8.4	南西	11.1	西南西	146.8	10.8	—	—	—	7.4	0	2	0
11	1002.4	1019.4	91.5	45.0	9.5	2.0	9.5	14.6	4.7	19.7	-1.7	71	22	2.3	10.5	北	14.9	北	163.6	9.3	5	5	4	6.0	1	3	0
12	1000.9	1018.2	57.0	24.5	7.0	2.0	6.0	12.1	0.5	17.8	-4.4	63	18	2.7	12.9	北北東	19.7	北北東	216.6	9.5	—	—	—	4.0	0	3	0

宇都宮 2017年(月ごとの値) 主な要素

月	気圧(hPa)		降水量(mm)			気温(℃)				湿度(%)		風向・風速(m/s)					日照時間(h)	全天日射量(MJ/m <sup>2</sup> )	雷(cm)			霧量(平均)	大気現象				
	現地	海面	合計	最大			平均		最高	最低	平均	最小	平均風速	最大風速		最大瞬間風速			降雷	最深積雷	平均		雷日数	霧日数	雷日数		
				日	1時間	10分間	日平均	日最高						日最低	風速	風速										風向	風速
1	997.9	1015.3	18.0	8.0	3.0	0.5	3.1	9.4	-1.9	17.2	-6.4	57	15	3.1	11.9	西	19.3	西北西	223.4	10.5	1	1	1	4.0	7	0	0
2	996.8	1014.1	7.5	3.5	1.0	0.5	4.3	10.8	-1.2	20.3	-5.3	48	12	3.2	14.6	西北西	22.2	西北西	222.3	14.1	2	2	2	4.2	6	2	0
3	997.5	1014.6	61.0	30.0	6.0	1.5	6.6	12.3	1.3	18.2	-3.1	56	10	3.1	13.9	北	21.2	北	193.3	14.9	—	—	—	6.3	3	2	0
4	996.1	1012.8	111.5	34.5	8.5	2.0	13.2	19.7	7.7	27.7	2.0	60	9	3.3	15.3	西北西	22.5	西北西	208.6	18.7	—	—	—	7.0	0	0	4
5	996.1	1012.5	83.5	44.5	11.0	6.0	19.1	24.4	14.2	32.3	6.9	67	12	3.0	10.7	西北西	15.9	西北西	190.1	18.3	—	—	—	7.1	0	1	3
6	992.4	1008.5	127.5	75.0	22.5	5.5	20.9	26.1	16.7	29.9	11.2	69	19	2.8	14.1	西北西	19.4	西北西	153.5	18.4	—	—	—	8.2	0	0	6
7	993.1	1009.0	188.5	72.0	39.0	10.0	26.4	31.2	22.9	34.6	20.1	78	34	2.7	13.0	北東	17.9	北東	132.7	16.3	—	—	—	8.1	0	0	6
8	992.0	1008.0	210.0	53.0	30.0	12.5	25.1	29.2	22.2	36.1	19.1	83	38	2.6	10.4	東北東	15.3	西北西	150.0	11.0	—	—	—	9.7	0	1	4
9	995.7	1011.8	112.0	24.0	7.5	3.0	21.9	26.8	18.0	33.5	12.7	77	24	2.9	14.2	南南東	21.3	北	148.9	14.3	—	—	—	7.9	0	1	1
10	1002.2	1018.8	343.5	95.5	30.5	7.0	15.7	19.8	12.3	28.1	3.6	83	28	3.0	15.5	北	22.4	北	101.7	8.8	—	—	—	8.0	0	1	1
11	1000.8	1017.8	34.0	18.5	3.5	1.0	9.6	15.5	4.3	22.1	-0.6	72	21	2.5	13.1	北西	18.7	北西	181.0	9.9	—	—	—	5.0	0	2	1
12	999.0	1016.4	10.5	5.5	2.0	1.0	3.8	10.1	-1.3	14.0	-4.7	68	22	2.7	12.6	西南西	17.2	西	225.9	9.6	—	—	—	3.7	3	3	0

添付資料一覧

1. (社外秘情報につき非開示)
2. (社外秘情報につき非開示)
3. (社外秘情報につき非開示)
4. (社外秘情報につき非開示)
5. (社外秘情報につき非開示)
6. (社外秘情報につき非開示)
7. (社外秘情報につき非開示)

## 資料3. 緊急措置計画書

申請に係る第一種使用等により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に、申請者自らが可能な範囲で行う生物多様性影響を効果的に防止するための措置を定めた申請書類。

## 緊急措置計画書

平成 30 年 8 月 8 日

氏名 デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社  
代表取締役社長 田中 能之  
住所 東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

収量増加及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ (*zmm28, pat, Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (DP202216, OECD UI: DP-202216-6) (以下、「本組換えトウモロコシ」という。)について、今後、生物多様性影響が生ずるおそれがあると科学的に認められた場合、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。

## 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、生物多様性影響管理委員会(表1)に報告を行う。また、弊社グループ会社内に緊急措置に適切に対応するための危機対策本部(表2)を速やかに設置する。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。

表1. 生物多様性影響管理委員会委員名簿(平成30年8月現在)  
(個人名・所属は個人情報につき非開示)

氏名	所属及び職位
	ダウ・アグリサイエンス日本株式会社 登録部長
	デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社 登録部
	デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社 登録部
	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

### 資料3. 緊急措置計画書

表2. 危機対策本部名簿（平成30年8月現在）

（個人名・所属は個人情報につき非開示）

氏名	本部職位	所属及び職位
	本部長	デュポン株式会社、デュポン・スペシャルティ・プロダクツ株式会社及びデュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社
	副本部長	デュポン株式会社及びデュポン・スペシャルティ・プロダクツ株式会社
	—	デュポン・プロダクション・アグリサイエンス株式会社
	—	デュポン株式会社
	—	デュポン株式会社及びデュポン・スペシャルティ・プロダクツ株式会社 取締役兼デュポン株式会社
	—	デュポン株式会社
	—	デュポン・スペシャルティ・プロダクツ株式会社
	—	デュポン株式会社

## 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

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に認められた場合、栽培試験関係者に伝える。また、必要に応じて、弊社のホームページ等、国内の適切な媒体を通して、一般に広く知らせる。

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

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に認められた場合、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。

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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に認められた場合、弊社は、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。