

除草剤グリホサート耐性ダイズ (*cp4 epsps*、*Glycine max* (L.) Merr.)

(MON89788, OECD UI: MON 89788-1)

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	
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	4
イ 基本的特性	4
ロ 生息又は生育可能な環境の条件	5
ハ 捕食性又は寄生性	5
ニ 繁殖又は増殖の様式	5
ホ 病原性	6
ヘ 有害物質の産生性	7
ト その他の情報	7
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	7
(1) 供与核酸に関する情報	7
イ 構成及び構成要素の由来	7
ロ 構成要素の機能	7
(2) ベクターに関する情報	11
イ 名称及び由来	11
ロ 特性	11
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	11
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	11
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法	14
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	14
(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	16
(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	19
(1) 使用等の内容	19
(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	21
1 競合における優位性.....	21
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	21
(2) 影響の具体的内容の評価.....	23
(3) 影響の生じやすさの評価.....	23
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	23
2 有害物質の産生性.....	23
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	23
(2) 影響の具体的内容の評価.....	24
(3) 影響の生じやすさの評価.....	24
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	24
3 交雑性.....	24
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	24
(2) 影響の具体的内容の評価.....	24
(3) 影響の生じやすさの評価.....	25
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	26
4 その他の性質.....	26
第三 生物多様性影響の総合的評価.....	26
引用文献.....	28
引用文献.....	29
緊急措置計画書.....	30

第一種使用規程承認申請書

平成 17 年 11 月 2 日

農林水産大臣 中川 昭一 殿
環境大臣 小池 百合子 殿

氏名 日本モンサント株式会社
申請者 代表取締役社長 山根精一郎 印
住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番地 10 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 (同法第 9 条第 4 項において準用する場合を含む。) 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	除草剤グリホサート耐性ダイズ (<i>cp4 epsps, Glycine max (L.) Merr.</i>) (MON89788-1)
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、廃棄及び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：茨城県稲敷郡河内町生板 4717 名称：日本モンサント隔離ほ場 使用期間：平成 18 年 4 月 1 日～平成 19 年 1 月 31 日 1 隔離ほ場の施設 (1) 部外者の立入りを防止するために、7,836 m ² の隔離ほ場の外周を囲むように約 1.5m の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) 土、本組換えダイズの種子等が付着した隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等を洗浄するための洗い場を設置しているとともに、本組換えダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するために、排水系統には沈殿槽、網等を設置している。 2 隔離ほ場の作業要領 (1) 本組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物

	<p>が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。</p> <p>(2) 本組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、遺伝子組換えダイズが漏出しない構造の容器に入れる。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、本組換えダイズの栽培終了後は、当該組換えダイズ及び比較対照のダイズ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、意図せずに本組換えダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。</p> <p>(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。</p> <p>(6) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。</p> <p>(7) (1)から(6)に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。</p> <p>(8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。</p>
--	--

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

イ. ダイズ [英名: soybean] はマメ科に属する一年生植物であり、その学名は *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属する *Glycine max* (L.) Merr. である。

ロ. 宿主はマメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属するダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) であり、品種名は(社外秘)である。(社外秘)は近年育成された従来品種であり、現在商業栽培が行なわれている除草剤グリホサート耐性ダイズ 40-3-2 系統 (*cp4 epsps, Glycine max* (L.) Merr.)(40-3-2, OECD UI: MON-04032-6)(平成 17 年 5 月 25 日にカルタヘナ法に基づき第一種使用規程承認)の導入母本である従来品種 A5403 よりも収量性に優れている。(社外秘)を母本として使用することで、(社外秘)の有する収量性に優れた遺伝的背景を利用し、現在よりも収量性の高い除草剤耐性ダイズ品種を作成する目的で(社外秘)を使用した。

ハ. *Soja* 亜属には栽培種であるダイズの他に、野生種として *G. soja* (和名: ツルマメ) や *G. gracilis* も含まれる (文献 1)。細胞学的、形態学的及び分子生物学的知見から、栽培種であるダイズ (*G. max*) は野生種である *G. soja* が祖先と考えられており、一方、*G. gracilis* は *G. soja* から *G. max* への分化における中間種あるいは *G. soja* と *G. max* の雑種と考えられている (文献 1)。これらの野生種の内、我が国に分布しているのはツルマメのみで、*G. gracilis* の分布は認められていない (文献 2; 文献 3)。尚、ツルマメは中国、朝鮮、日本、台湾及び旧ソ連に分布しており (文献 1)、わが国においては北海道、本州、四国、九州に分布し、主に河川敷や前植生が攪乱された工場現場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道ばたに自生している (文献 4; 文献 5; 文献 6)。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ. ダイズの起源地域は中国東北部で、紀元前 1100 年ころにこの地域で栽培化されたと推定され、その後、中国南部、東南アジア、朝鮮及び日本へ栽培が広がったと考えられる (文献 7)。日本へは縄文時代に渡来、栽培が始まったと考えられ、副食として利用されていたと思われる (文献 8)。

ロ. 国際連合食糧農業機関 (FAO) の統計情報に基づくと、2004 年の全世界におけるダイズの栽培面積は約 9,144 万 ha であり、上位国を挙げると米国が約 2,993 万 ha、ブラジルが約 2,148 万 ha、アルゼンチンが約 1,432 万 ha、中国が約 980 万 ha となっている。尚、同統計情報に基づく 2003 年の日本における栽培面積は約 15 万 ha であった (文献 9)。

2004年のわが国におけるダイズの輸入量は約441万トンであり、その内の約72%が米国から輸入されている(文献10)。2002年におけるダイズ供給量は合計で541万トン、そのうち輸入が514万トン、国産が27万トンとなっている。ダイズの用途別使用量は、製油用が約381万トン、食品用が約112万トン、その他が約28万トンとなっている。そのうち油用はほとんどが米国産である(文献11)。

わが国におけるダイズの利用方法は多岐に渡り、味噌、醤油、豆腐、納豆、ゆば、きな粉、煮豆、もやしとして食されるほか、分離蛋白、濃縮蛋白等が食品添加物として、さらに搾油が食用植物油として、脱脂ダイズが家畜用飼料として利用されている(文献8)。

わが国でのダイズの慣行栽培法は以下のとおりである。ダイズの品種は、蒔いてから開花するまでの日数と、それ以降成熟するまでの日数によって、夏ダイズ、秋ダイズ、そして中間ダイズに分類される。播種適期は東北地方南部と北陸・東山地方で6月上旬(品種は中間ダイズ)、関東地方で6月中旬(中間ダイズ)、東海地方以西中国地方までは6月下旬(中間ダイズないし秋ダイズ)、九州地方で7月上旬から8月上旬(秋ダイズ)および4月上旬から下旬(夏ダイズ)となる。種まき密度は、品種や栽培条件によって異なるが、早生品種・寒地・遅蒔きの場合などでは密植が行われる。生育期間中は除草を早めに行い、初期の雑草を抑えれば、やがてダイズの茎葉が繁茂してくるので、雑草は比較的発生し難くなる。また病害虫の防除は、ダイズの栽培で最も大切な作業の一つであり、生育初期の害虫に対しては早めに薬剤散布を行う。収穫は、抜き取るか地ぎわから刈り取り、これを地干し、又は掛け干しして乾燥し脱粒機で脱粒する方法と、コンバインで刈り取り・脱粒を一緒に行う方法とがある(文献8)。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ダイズは種子繁殖する一年生の双子葉作物であり、子葉は対生し、次に卵形の初生葉が子葉と直角に対生して、それ以降は3片の小葉からなる複葉を生じる(文献1)。茎は主茎と分枝に分けられ、主茎節の複葉の葉腋から分枝が伸長し、また、根は一般に空中窒素固定能を有する根粒菌(*Bradyrhizobium japonicum*)の寄生によって根粒を着生する(文献8)。花には1本の雌ずいがあり、その基部の子房に1~5個の胚珠を内蔵しており、子房は受粉後に肥大して莢を形成する(文献8)。また、ダイズの花芽分化には日長と温度が大きく影響し、ある時間以上の暗期が花芽分化に必要で、温度は15℃以上を必要として25℃前後までは高いほど促進的に働き、短日高温では促進効果が大きい、長日高温では促進効果がないか、かえって遅れることがある(文献7)。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズ種子の発芽適温は 30~35℃、最低発芽温度及び最低生育温度は 2~4℃であり、10℃以下での発芽は極めて悪い (文献 7)。ダイズの栽培適地は、生育期間中 18~28℃程度、多照で適度の降雨のあることが望ましいとされているが、今日のダイズ品種では日長感応性が細かく分化して各種の気候に対する適応性が高くなっており、赤道直下のインドネシアから北緯 60° のスウェーデンでも栽培可能である (文献 7)。

尚、我が国において、ダイズが雑草化した事例はこれまで報告されていない。

ハ 捕食性又は寄生性

—

ニ 繁殖又は増殖の様式

- ① ダイズの種子は裂莢した際に地表に落下する。我が国で栽培されるダイズの裂莢性には品種間差があるが、ダイズが大規模に栽培され、収穫が機械化されている米国などでは、ほとんどの品種が難裂莢性であり脱粒性の程度は低い。また種子休眠性は知られていない。種子の発芽能力に関しては、常温で貯蔵した場合に通常約 3 年で失われる (文献 8)。
- ② ダイズは塊茎や地下茎などによる栄養繁殖を行わず、種子繁殖する。自然条件下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これまでのところない。
- ③ ダイズと交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのは *Glycine soja* (和名：ツルマメ) のみである (文献 1; 文献 2; 文献 3)。ツルマメは北海道、本州、四国、九州に分布するツル性の一年生植物で、主に河川敷や前植生が攪乱された工場現場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道ばたに自生している (文献 4; 文献 5)。

尚、1950年代にダイズとツルマメの形態的中間型を示す個体としてオオバツルマメが、わが国で確認されており (文献 12; 文献 13)、その形態がダイズに近かったことから、通常のツルマメと比べて、ダイズと交雑する可能性が高いことが予想された。しかし、過去 10 年以上にわたり日本各地より 800 近い集団からツルマメの収集を行った中にオオバツルマメのような形態的中間型を示す個体は、見つかっていないという報告があることから (文献 12)、仮にこのような形態的中間型の個体が、我が国で自生していたとしても、その生育する範囲はかなり限られていることが予想される。

ダイズとツルマメの自殖性及び他殖性の程度に関して、ダイズとツルマメは、通常開花前に開葯し、受粉が完了する上に、開花期の後半は、ほとんどの花が開花しないままに受粉する閉花受粉を行う為 (文献 12)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。また、それらの他家受粉率は、いくつかの文献によると、ダイズでは最大で 3% (文献 14; 文献 15; 文献 16; 文献 17; 文献 18; 文献 19)、ツルマメでは最大で 2.3% (文献 20) であったことが報告されている。

しかし、ダイズをミツバチの集団と一緒にハウス内で生育させた場合、その他家受粉率は 14% に達したと報告されている (文献 21)。またツルマメに関しても、秋田県雄物川流域で約 13% という高い他家受粉率を示す集団が発見されたとの報告がある。この集団から採取されたツルマメの 1 胚珠あたりの花粉数は平均で 600~700 粒で、この数は典型的な自家受粉植物と他家受粉植物の 1 胚珠あたりの平均的な花粉数の中間に位置していた (文献 22)。この高い他家受粉率の原因が、雄物川流域特有の環境条件によるものなのか、或いは集団内の遺伝的特性によるものなのかは明らかにされていない。しかし、雄物川流域のツルマメの集団は、護岸工事などによる環境の攪乱が行われておらず、集団サイズが大きく、訪花昆虫にとっては非常に魅力的な食料供給源であり、このツルマメの集団の周辺では、ミツバチやクマバチなどが頻繁に観察されていた。

ダイズとツルマメの交雑性に関しては、日本固有の栽培品種である丹波黒とツルマメ (Gls/93-J-01) を、それぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調査した報告がある (文献 23)。自然交雑実験終了後に結実したツルマメから取得された 686 個体の後代を調査した結果、ダイズとツルマメの雑種であると判断された後代が 5 個体認められたことから、その交雑率は 0.73% であった。

- ④ ダイズの花粉の生産量は極めて少なく、稔性は 2~4 時間で失われる。花粉の直径は 15~25 μ m である (文献 24)。また、花粉の飛散距離に関しては、農業環境技術研究所において平成 13 年に除草剤耐性の遺伝子組換えダイズを用いて交雑試験を行った結果、花粉親からの距離が 0.7m で 0.19%、3.5m で 0.025%、10.5m で 0% の交雑率を示していた。更に平成 14 年に同様に農業環境技術研究所で行われた試験では、花粉親からの距離が 0.7m で 0.16%、2.8m で 0.08%、3.5m で 0% であった (文献 25)。

ホ 病原性

—

へ 有害物質の産生性

他感作用物質等のような野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

ト その他の情報

—

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

除草剤グリホサート耐性ダイズ (*cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (OECD UI : MON-89788-1) (以下「本組換えダイズ」とする) の作出に用いられた供与核酸の構成とその由来は表 1(p9-10)に示した通りである。

尚、本組換えダイズに導入された*cp4 epsps*遺伝子から発現するCP4 EPSPS蛋白質は植物中での発現量を高めるため、CP4 EPSPS蛋白質の機能活性を変更することの無いように塩基配列に改変を加えたもので、*Agrobacterium sp.* CP4 株由来のアミノ酸配列と比較して、N末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。従って、本組換えダイズに挿入された*cp4 epsps*遺伝子は「改変型*cp4 epsps*遺伝子」とし、発現するCP4 EPSPS蛋白質を「改変型CP4 EPSPS蛋白質」とする。なお、本組換えダイズにおいて発現する改変型CP4 EPSPS蛋白質の推定アミノ酸配列は図 1 (p11) に示した。

ロ 構成要素の機能

本組換えダイズの作出に用いられた供与核酸の機能は表 1(p9-10)に示した。

【改変型 *cp4 epsps* 遺伝子】

① 除草剤グリホサートは、非選択的な除草剤であるラウンドアップの有効成分で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素の一つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS)(E.C.2.5.1.19) と特異的に結合してその活性を阻害する (文献 26; 文献 27)。そのため植物はグリホサートを処理すると EPSPS が阻害されることにより蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯れてしまう。本

組換えダイズの目的遺伝子である改変型 *cp4 epsps* 遺伝子は除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。改変型 *cp4 epsps* 遺伝子によって産生される改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸経路が正常に機能して生育することができる。

尚、EPSPS は植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり、植物中では葉緑体または色素体に存在する (文献 28)。シキミ酸経路は植物の固定する炭素の 5 分の 1 に関与すると考えられる重要な代謝経路である (文献 29; 文献 27)。本経路は、その第一段階に関与する 3-デオキシ-D-アラビノ-ヘプトロソン酸-7-リン酸 (3-deoxy-D-arabino-heptulosonate-7-phosphate, DAHP) 合成酵素によって調節を受けて制御されるが、DAHP から EPSPS が触媒する 5-エノールピルビルシキミ酸 3 リン酸 (EPSP) の生成を経てコリスミ酸が生成されるまでの段階では、中間代謝物質や最終生成物によって阻害されたり抑制される可能性が極めて低いことが明らかにされている (文献 30; 文献 31)。このことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを示唆しており、従って、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、通常の 40 倍の EPSPS を生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されており (文献 32)、加えて、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤グリホサート耐性作物 (ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ) の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、シキミ酸経路の最終産物である芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。これらのことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを支持している。また、EPSPS はホスホエノールピルビン酸塩 (PEP) とシキミ酸-3-リン酸塩 (S3P) から、EPSP と無機リン酸塩 (Pi) を生じる可逆反応を触媒する酵素であり (文献 33)、これらの基質と特異的に反応することが知られている (文献 34)。これら以外に唯一 EPSPS と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸であるが、その反応性は S3P との反応性の 200 万分の 1 にすぎず、生体内で基質として反応するとは考えられない。

② 改変型 CP4 EPSPS 蛋白質が、既知アレルゲンと構造的に関連のあるアミノ酸配列を共有するかどうかを確認するため 752 の既知アレルゲン、グリアジン及びグルテニンからなるデータベースを用いて比較を行った結果、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質の一次配列は既知アレルゲン、グリアジン及びグルテニンと構造的に関連のあるアミノ酸配列を共有していないことが確認された。

表 1 プラスミド・ベクター PV-GMGOX20 の作出に用いた供与核酸の構成要素の由来及び機能¹

構成要素	由来及び機能
T-DNA 領域	
右境界配列 (B-right border)	Ti プラスミド pTiT37 に由来する、ノパリン型 T-DNA の右境界配列 (25bp) を含む DNA 断片。右側境界配列は、T-DNA が <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへの T-DNA の伝達の際、伝達の開始点として利用される (文献 35)。
P-FMV/ <i>Tsfl</i>	シロイヌナズナ <i>Tsfl</i> プロモーター (文献 36) に Figwort Mosaic Virus (FMV) 35S プロモーターのエンハンサー配列 (文献 37) を結合させたキメラプロモーター。目的遺伝子の生殖器官及び栄養器官での恒常的発現に関与する。
L- <i>Tsfl</i>	シロイヌナズナの翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードする <i>Tsfl</i> 遺伝子のリーダー配列 (exon 1) (文献 36) 。目的遺伝子の発現を高める。
I- <i>Tsfl</i>	シロイヌナズナの翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードする <i>Tsfl</i> 遺伝子のイントロン配列 (文献 36)。目的遺伝子の発現を高める。
TS- <i>ctp2</i>	芳香族アミノ酸が合成される葉緑体へ CP4 EPSPS 蛋白質を輸送するシロイヌナズナ EPSPS 由来の葉緑体輸送ペプチドをコードする配列 (文献 38)。
CS- <i>cp4 epsps</i> (改変型 <i>cp4 epsps</i>)	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子 (文献 39; 文献 40)。植物中での発現量を高めるため、CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更することのないように塩基配列に改変を加えたもので、アミノ酸配列に関しては N 末端から二番目のセリンがロイシンに改変されたのみである。
T-E9	エンドウの ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9 遺伝子の 3'非翻訳領域 (文献 41)。mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
左境界配列 (B-left border)	Ti プラスミド pTiA6 に由来する左境界配列(25bp)を含む DNA 断片。左側境界配列は、T-DNA が <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへ伝達される際の終結点である (文献 42)。

¹ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表1 プラスミド・ベクター PV-GMGOX20 の作出に用いた供与核酸の構成要素の由来及び機能(続き)²

構成要素 ^{注1}	由来及び機能
T-DNA の外側の構成要素	
OR-ori V	広宿主域プラスミド RK2 に由来する <i>Agrobacterium</i> の複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> においてベクターに自律増殖機能を付与する (文献 43)。
CS-rop	<i>E. coli</i> 中でのプラスミドのコピー数の維持の為にプライマー蛋白質を抑制するコーディング配列 (文献 44)。
OR-ori-PBR322	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する (文献 45)。
<i>aadA</i>	大腸菌のトランスポゾン Tn7 に由来するアミノグリコシドアダニルトランスフェラーゼ (AAD) をコードする遺伝子であり、スペクチノマイシン或いはストレプトマイシン耐性を付与する (文献 46)。

注1

B—Border (境界配列)

P—Promoter (プロモーター)

L—Leader (リーダー配列)

I—Intron (イントロン)

TS—Targeting Sequence (ターゲティング配列)

CS—Coding Sequence (コーディング配列)

T—3' nontranslated transcriptional termination sequence and polyadenylation signal sequence (3 末端非翻訳終止配列、及びポリアダニル化シグナル配列)

OR—Origin of Replication (複製開始領域)

² 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

```

1    MLHGASSRPA TARKSSGLSG TVRIPGDKSI SHRSFMFGGL ASGETRITGL
51   LEGEDVINTG KAMQAMGARI RKEGDTWIID GVGNGLLAP EAPLDFGNAA
101  TGCRLTMGLV GYDFDSTFI GDASLTKRPM GRVLNPLREM GVQVKSEDGD
151  RLPVTLRGPV TPTPITYRVP MASAQVKS AV LLAGLNTPGI TTVIEPIMTR
201  DHTEKMLQGF GANLTVETDA DGVRTIRLEG RGKLTGQVID VPGDPSSTAF
251  PLVAALLVPG SDVTILNVLM NPTRTGLILT LQEMGADIEV INPRLAGGED
301  VADLRVRSST LKGVTVPEDR APSMIDEYPI LAVAAFAEG ATVMNGLEEL
351  RVKESDRLSA VANGLKLVG DCDEGETSLV VRGRPDGKGL GNASGAAVAT
401  HLDHRIAMSF LVMGLVSENP VTVDDATMIA TSFPEFMDLM AGLGAKIELS
451  DTKAA

```

図 1 本組換えダイズの作出に用いられた改変型 *cp4 epsps* 遺伝子の推定アミノ酸配列

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

本組換えダイズの作出に用いられたベクターは、大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された (文献 47)。

ロ 特性

本組換えダイズの作出に用いられた PV-GMGOX20 の全塩基数は 9,664bp である。大腸菌における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として、スペクチノマイシンやストレプトマイシンに対する耐性を付与する *E. coli* のトランスポゾン Tn7 に由来する *aadA* 遺伝子が T-DNA 領域外に存在している。各構成要素の詳細は表 1(p9-10) に示した通りである。

また、本ベクターの感染性は知られていない。

(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

本組換えダイズの作出には、上記の *aadA* 遺伝子を有する pBR322 由来のベクターを元にして、改変型 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット ([P-FMV/Tsf1]-[L-Tsf1]-[I-Tsf1]-[TS-

ctp2]-[CS-改変型*cp4 epsps*]-[T-E9]) を連結したプラスミドPV-GMGOX20 を構築し、このプラスミドをベクターとして用いた(表 1, p9-10; 図 2, p13)。

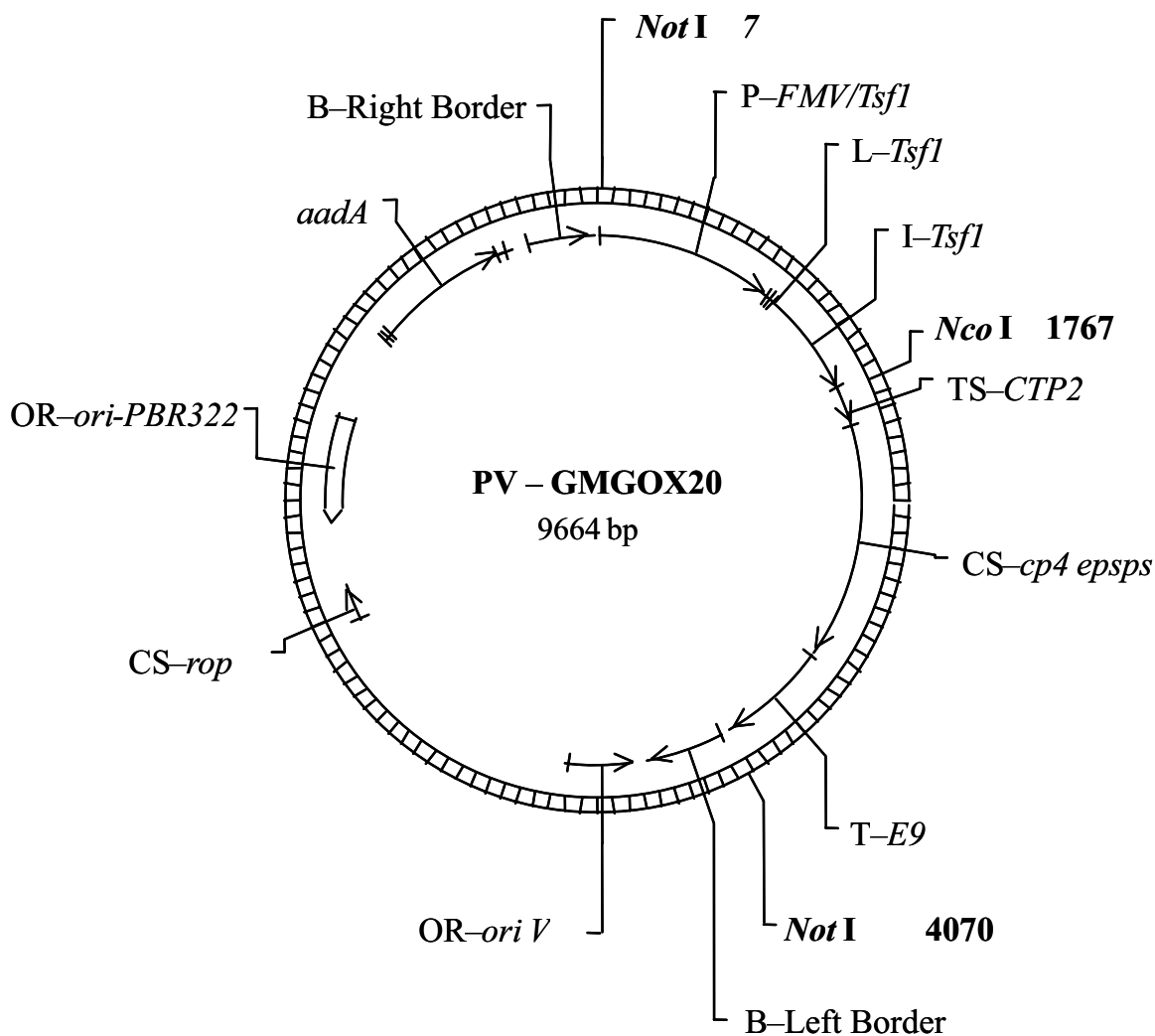


図 2 PV-GMGOX20 のプラスミドマップ³

本組換えダイズに導入された T-DNA 領域は上図の右境界配列 (Right Border) から時計回りに左境界配列 (Left Border) までの領域である。

³ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミド PV-GMGOX20 をアグロバクテリウム法によって、非組換えダイズ品種(社外秘)の種子から摘出した胚芽に導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

プラスミド PV-GMGOX20 を導入した *Agrobacterium tumefaciens* を滅菌した外植片に接種した後インキュベートし、2~4 日間アグロバクテリウムと共存培養した。その後、500mg/L のカルベニシリンを含む除菌培地でアグロバクテリウムを除いた。そして、グリホサートを含む選抜培地で培養することにより、形質転換体の選抜を行った。その後、各再生個体を自殖により維持しつつ、除草剤グリホサートに対する耐性能、挿入遺伝子の解析、農業形質などの観点から更なる選抜を行い、最終的に商品化系統として MON89788 系統を選抜した

尚、本組換えダイズの育成図を図 3 (p15) に記載した。

[社外秘情報につき非開示]

図 3 本組換えダイズの系統図

(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

イ 移入された核酸の複製物が存在する場所

本組換えダイズの挿入遺伝子はメンデルの法則にしたがって次世代に遺伝していることから、染色体上に存在する (別添資料 11)。

ロ 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

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、本組換えダイズのゲノム中 1ヶ所に 1 コピーの T-DNA 領域が組み込まれていることが確認された (別添資料 1 の p20 の Fig. 4)。また、T-DNA 領域以外の外側骨格領域は挿入されておらず (別添資料 1 の p21 の Fig. 5)、T-DNA 領域内の改変型 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットも全ての構成要素が組み込まれていることが確認された (別添資料 1 の p22~25 の Fig. 6,7,8,9)。更に、挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された (別添資料 1 の p26 の Fig. 10)。

ハ 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

1 コピーなので該当しない (別添資料 1 の p20 の Fig. 4)

ニ (6)のイ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

改変型 CP4 EPSPS 蛋白質の発現の安定性に関しては、R1 世代から R7 世代までの各世代で選抜グリホサート散布を行い確認している。なお、本組換えダイズの葉及び種子中での改変型 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量を ELISA 法により分析した (別添資料 2)結果、CP4 EPSPS 蛋白質の発現量は、収穫時の葉において平均値 40 μ g/g 生重で、その発現量の範囲は 22~57 μ g/g 生重であり、一方、種子においては平均値 120 μ g/g 生重で、発現量の範囲は 97~140 μ g/g 生重であった (別添資料 2 の p7 の Table 1)。

ホ 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

プラスミド PV-GMGOX20 は自律増殖可能な宿主域が、*E. coli* と *A. tumefaciens* などのグラム陰性菌に限られており、自然条件下において野生動植物に対する伝達性はない。

(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

サザンブロット分析による特異的な検出、識別が可能であり、その検出感度については、約 10 μ g のゲノミック DNA を用いれば検出可能である。なお、PCR による検出・同定方法に関しては、現在開発中である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 本組換えダイズ中において改変型 *cp4 epsps* 遺伝子がコードする改変型 CP4 EPSPS 蛋白質が発現していることが除草剤グリホサートを散布することによって選抜の過程で確認されている。

ロ⁴2004 年~2005 年に米国とアルゼンチンの 4 箇所のは場および米国の温室において、本組換えダイズの特性検定試験を行った。対照品種は本組換えダイズの導入親である(社外秘)を用いた。また、参考品種として従来商業品種も供試した。

① 形態及び生育の特性

9 項目 (苗立ち率、初期の草勢、50%開花期までの日数、主茎長、倒伏性、脱粒性、最終株数、百粒重、収量) について本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ及び比較の従来ダイズ品種の間の形態特性及び生育の差異を調査するため、アルゼンチンの 3 箇所のは場 (Pergamino, Tacuari, Marcos Juarez) において本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ(社外秘)及び従来品種 20 品種を供試し、各 3 反復の試験を行った (別添資料 3)。

その結果、苗立ち率、50%開花期までの日数及び百粒重を除く全ての項目で差異は認められなかった (別添資料 3 の p5 の Table 1)。苗立ち率に関しては、Tacuari のは場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは 222.3 個体、対照の非組換えダイズでは 180.2 個体であった。また、50%開花期までの日数に関しては、Pergamino のは場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは 45 日、対照の非組換えダイズでは 47 日であった。百粒重に関しては、Pergamino と Tacuari の 2 箇所のは場で差異が認められ、本組換えダイズの値はそれぞれ 19.0g と 16.8g、対照の非組換えダイズの値はそれぞれ 20.0g と 17.5g であった。 (別添資料 3 の p5 の Table 1)。

② 生育初期における低温又は高温耐性

⁴ 本項目中の以下に続く①~⑦に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

生育初期における低温耐性試験は、対照である非組換えダイズ(社外秘)並びに従来品種 4 品種を日中 15°C/夜間 8°Cで設定された人工気象室で 20 日間栽培し、その後、初期の草勢、主茎節数、主茎長及び全体重(生重量と乾重量)について比較した。その結果、いずれの項目についても本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間で有意な差異は認められなかった(別添資料 4 の p6 の Table 1)。

③ 成体の越冬性又は越夏性

ダイズは夏型一年生植物であり、成熟期には自然に枯死する。再成長して栄養繁殖したり、種子を生産することはない。実際に、海外でのほ場試験において、本組換えダイズは成熟期に枯死していることが確認されている。以上のことから、成体の越冬性試験は行わなかった。なお、本組換えダイズにおいて、隔離ほ場試験の試験終了時には成熟期に枯死していることを観察する予定である。

④ 花粉の稔性及びサイズ

米国のほ場で栽培された本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ(社外秘)及び従来品種 4 品種から花粉を採取し、その稔性とサイズを調査した。その結果、本組換えダイズの花粉稔性は 78.8%であり、対照の非組換えダイズの 74.3%と比較して有意な差異は認められなかった。また、本組換えダイズと対照の非組換えダイズの花粉サイズはそれぞれ 23.7 μ m と 23.1 μ m であり、有意な差異は認められなかった(別添資料 5 の p4 の Table 1)。

⑤ 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

第一の 2-(6)-イ-①(p15)に上述したとおり、種子の生産量及び脱粒性に統計学的有意差は認められなかった。

20°C16 時間と 30°C8 時間の条件下における種子の発芽率について、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ(社外秘)及び従来品種 4 品種より収穫した種子を、4 反復各 100 粒ずつ温室にて播種し、休眠性と発芽率の調査を行った。発芽種子については正常発芽率と異常発芽率に分けて測定し、非発芽種子については枯死種子率、硬実種子率及び吸水膨潤状態の種子(viable firm-swollen seed)率に分けて測定した(別添資料 6)。その結果、本組換えダイズ(99.3%)、対照の非組換えダイズ(100%)及び従来品種(92~100%)の間で発芽率に差異は認められなかった(別添資料 6 の p5 の Table 1)。また、異常発芽率、枯死種子率、硬実種子率及び吸水膨潤状態(viable firm-swollen seed)の種子率の項目についても差異は認められなかった(別添資料 6 の p5 の Table 1)。

⑥ 交雑率

我が国においてはダイズと交雑可能な近縁野生種としてツルマメが生育している。本組換えダイズとツルマメとの間の交雑率の試験は行っていないが、本組換えダイズと対照の非組換えダイズ、及び従来のダイズ品種との間で種子の生産量、花粉形態及び花粉稔性など生殖に関わる形質に有意な差異は認められなかったことから、ツルマメとの交雑率に関しても差異が無いと推測される。なお、本組換えダイズとツルマメとの交雑率に関しては、隔離ほ場試験で試験を行う予定である。

⑦ 有害物質の産生性

ダイズにおいて有害物質の産生性は報告されていない。本組換えダイズは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ-①に示したように、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸合成経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤ラウンドアップ耐性作物（ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ）の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。従って、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えダイズ中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

米国の温室で行われた鋤き込み試験及び後作試験では、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ(社外秘)及び従来品種 6 品種を栽培したほ場でレタス栽培を行ったが、その草丈、生重量及び乾重量に有意な差異は認められなかった (別添資料 7 の p4 の Table 1)。また、隔離ほ場試験においても後作、鋤き込み、土壌微生物相試験を行う予定である。

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：茨城県稲敷郡河内町生板 4717

名称：日本モンサント隔離ほ場

使用期間：平成 18 年 4 月 1 日から平成 19 年 1 月 31 日まで

1. 隔離ほ場の施設

- (1) 部外者の立入りを防止するために、7,836 m²の隔離ほ場の外周を囲むように約 1.5m の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) 土、本組換えダイズの種子等が付着した隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等を洗浄するための洗い場を設置しているとともに、遺伝子組換えダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するために、排水系統には沈殿槽、網等を設置している。

2. 隔離ほ場の作業要領

- (1) 本組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- (2) 本組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、遺伝子組換えダイズ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、本組換えダイズの栽培終了後は、当該組換えダイズ及び比較対照のダイズ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ダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- (5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
- (6) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。
- (7) (1)から(6)に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
- (8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。

尚、日本モンサント株式会社河内研究農場の隔離ほ場地図を別添資料 8 として示した。

(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

別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。

(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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

(5) 実験室等での使用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

これまで本組換えダイズについて2001~2005年の間に国外において(社外秘)141ヶ所の圃場試験が行われているが、非組換えダイズと比較して生物多様性影響を生ずるおそれがあるような相違は報告されていない。

なお、本組換えダイズに関しては(以下社外秘)。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価⁵

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズは縄文時代には既に我が国で栽培されており、米麦とともに最も長い使用経験があるが、これまでダイズが我が国の自然条件下で雑草化した例は報告されていない。

本組換えダイズの競合における優位性に起因する生物多様性影響については、米国とアルゼンチンの4箇所のほ場および米国の温室で実施した試験の結果に基づき、以下の

⁵ 本項目中で、第一の2-(6)の①~⑦に記載された試験結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社
に帰属する。また、本項目の2.(2)の第二パラグラフ及び第三パラグラフに記載された生物検定の結果に係る
権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

とおり評価した。

競合における優位性に関わる諸形質（形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、花粉の稔性及びサイズ、種子の発芽率、休眠性及び脱粒性（第一、2-(6)、ロ、①~⑤, p17~18)を比較検討した。その結果、3箇所のほ場のうち、1又は2箇所で後述するように苗立ち率、50%開花期までの日数及び百粒重について有意差が認められた以外は、対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められなかった。

苗立ち率に関しては、Tacuari のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは 222.3 個体、対照の非組換えダイズでは 180.2 個体であったが、他の 2 箇所のほ場では有意差は認められなかった。

50%開花期までの日数に関しては、Pergamino のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは 45 日、対照の非組換えダイズでは 47 日であったが、他の 2 箇所のほ場では有意差は認められなかった。また、本組換えダイズの 50%開花期までの日数は参考品種として供試した従来品種 20 品種の値 (44~46 日) の範囲内であり、対照の非組換えダイズ(社外秘)との差もわずか 2 日間であった。

百粒重に関しては、Pergamino と Tacuari の 2 箇所のほ場で差異が認められ、本組換えダイズの値はそれぞれ 19.0g と 16.8g、対照の非組換えダイズの値はそれぞれ 20.0g と 17.5g であった。しかし、本組換えダイズの値は参考品種として供試した従来品種 20 品種の値の範囲内にあり (Pergamino では 19.5~22.5g, Tacuari では 16.3g~17.8g)、従来品種の変動の範囲を超えるものではないと判断された。

従って、これら差異の認められた形質が本組換えダイズの競合における優位性を高めるとは考えにくい。

本組換えダイズは非選択性除草剤グリホサートに高い耐性を持つが、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

以上のことから本組換えダイズは非組換えダイズとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上の結果から、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズは縄文時代には既に我が国で栽培されており、米麦とともに最も長い使用経験があるが、これまでにダイズにおいて有害物質の産生性は報告されていない。

本組換えダイズは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ-①に示したように、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤ラウンドアップ耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。従って、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えダイズ中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

また、2005年に米国の温室で行われた鋤き込み試験及び後作試験では、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に有害物質の産生性に起因するような差異は認められなかった(別添資料7)。

以上のことから、有害物質の産生性について、本組換えダイズは非組換えダイズとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使

用する範囲内では、有害物質の産生性に起因する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

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上の事から、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

第一、1-(3)、ニ、③ (p5) に記載したように、ダイズと交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのはツルマメのみである (文献 1; 文献 2; 文献 3)。従って、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

(2) 影響の具体的内容の評価

ダイズとその近縁野生種であるツルマメとの間で交雑が生じると、その雑種は生育や生殖に障害が見られず、正常に生育することが知られている (文献 12)。従って、本組換えダイズに関しても、ツルマメと交雑した場合は、雑種が形成されると考えられる。また、当該雑種からツルマメへの戻し交配を経て、本組換えダイズ由来の改変型 *cp4 epsps* 遺伝子がツルマメの集団中に検出される可能性も否定できない。

しかし、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下において、グリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。実際に、グリホサート耐性ナタネを 3 年間、グリホサート耐性ダイズについては 10 年間にわたり自然条件下での定着性が調査されているが、対照の非組換え体と比較して差異は認められなかったと報告されている。このことから挿入された改変型 *cp4 epsps* 遺伝子は宿主植物の自然条件下での競合における優位性に影響を与えないと判断されている (文献 48)。

更に、(文献 49)は人為的に交配して得たダイズとツルマメの雑種系統を、親系統と共に栽培管理の異なる環境下に播種した後、それらの定着の様子を 3 年間追跡調査している。その結果、調査開始前に雑草防除を行っていない環境下に播種された雑種系統は、そのほとんどが雑草との競合に敗れて消滅していた。また、調査開始前に雑草防除が行われた環境下に播種された雑種系統についても、2 年目の定着率は親系統であるツルマメと比較して明らかに劣っており、その差は 3 年目の観察時には更に顕著になっていた。

以上のことから、本組換えダイズとツルマメが交雑することにより形成される雑種が、我が国の自然条件に適応して、野生種を駆逐していく可能性は極めて低いと判断された。同様に、本組換えダイズ由来の改変型 *cp4 epsps* 遺伝子が近縁野生種であるツルマメの集団中に優占的に浸透していく可能性も極めて低いと判断された。

(3) 影響の生じやすさの評価

わが国においてツルマメは北海道、本州、四国、九州に分布し、主に河川敷や前植生が攪乱された工場現場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道ばたに自生している (文献 4; 文献 5; 文献 6)。従って、本組換えダイズが我が国で第一種使用規程に従って使用された場合、本組換えダイズとツルマメが交雑する機会があることは否定できないと考えられる。

ダイズとツルマメの自殖性及び他家殖性の程度に関して、ダイズとツルマメは、通常開花前に開葯し、受粉が完了する上に、開花期の後半は、ほとんどの花が開花しないままに受粉する閉花受粉を行う為 (文献 12)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。また、それらの他家受粉率は、いくつかの文献によると、ダイズでは最大で 3% (文献 14; 文献 15; 文献 16; 文献 17; 文献 18; 文献 19)、ツルマメでは最大で 2.3% (文献 20) であったことが報告されている。しかし、ツルマメに関して、秋田県雄物川流域で約 13% という高い他家受粉率を示す集団が発見されたとの報告もある。この集団から採取されたツルマメの 1 胚珠あたりの花粉数は平均で 600~700 粒で、この数は典型的な自家受粉植物と他家受粉植物の 1 胚珠あたりの平均的な花粉数の中間に位置していた (文献 22)。この高い他家受粉率の原因が、雄物川流域特有の環境条件によるものなのか、或いは集団内の遺伝的特性によるものなのかは明らかにされていない。しかし、雄物川流域のツルマメの集団は、護岸工事などによる環境の攪乱が行われておらず、集団サイズが大きく、訪花昆虫にとっては非常に魅力的な食料供給源であり、このツルマメの集団の周辺では、ミツバチやクマバチなどが頻繁に観察されていた。

また、ダイズとツルマメ間での交雑の生じやすさについて、一般的にダイズの開花期はツルマメよりも約 1 ヶ月近く早く、それぞれの開花期間は重なりにくいことが知られている (文献 12)。しかし、他のダイズ品種と比べて、開花期が遅い日本固有の栽培品種

である丹波黒とツルマメ (Gls/93-J-01) を、それぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調べた結果、得られた 686 個体のツルマメの後代の中にダイズとツルマメの雑種であると判断された後代が、5 個体確認され、その交雑率は 0.73%であったと報告されている (文献 23)。

以上のことから、本組換えダイズとツルマメは、それぞれの集団が隣接して生育し、かつ開花期が重なり合う場合は、低い割合で交雑し得るが、そのような特殊な条件以外の自然条件下での交雑率は極めて低いことが予想された。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えダイズは限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

4 その他の性質

ダイズには根粒菌が共生することが知られている。本組換えダイズの挿入遺伝子には根粒菌由来の構成要素は存在しないため、根粒菌への挿入遺伝子の水平伝達の可能性はないと考えられる。

第三 生物多様性影響の総合的評価

ダイズは縄文時代には既に我が国で栽培されており、米麦とともに最も長い使用経験がある。

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、花粉の稔性及びサイズ、種子の発芽率、休眠性)を比較検討した。その結果、苗立ち率、50%開花期までの日数及び百粒重について対照の非組換えダイズとの間に差異が認められたが、その他の項目では統計学的有意差は検出されなかった。

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で有意差の認められた苗立ち率、50%開花期までの日数及び百粒重は、3 箇所全てのほ場で差異が認められたわけではなく、また 50%開花期までの日数及び百粒重に関しては、本組換えダイズの値は従来ダイズ品種の変動範囲内にあった。従って、これらの項目における差異は挿入遺伝子による差異ではなく、これにより競合における優位性に影響が生ずるとは考えられない。

また、本組換えダイズは除草剤グリホサートに耐性を持つが、グリホサートを散布さ

れることが想定しにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

従って、本組換えダイズは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えダイズとの間に大きな相違は無いと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、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。

ダイズに関して、これまでに有害物質の産生性は報告されていない。本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で有害物質の産生性に関わる諸形質を、鋤き込み試験、後作試験によって比較検討したが、差異は認められなかった。

従って、本組換えダイズは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えダイズとの間に大きな相違は無いと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為により、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

ダイズと交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのはツルマメのみである。従って、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。しかし、本組換えダイズがツルマメと交雑する可能性は一般的に極めて低く、仮に交雑したとしてもその雑種が我が国の自然条件に適応して、野生植物を駆逐していく可能性は極めて低いと判断された。同様に、本組換えダイズ由来の改変型 *cp4 epsps* 遺伝子が近縁野生種であるツルマメの集団中に優占的に浸透していく可能性も極めて低いと判断された。

従って、本組換えダイズは、我が国の自然条件下で生育した場合の特性は明らかにされていないが、非組換えダイズとの間に大きな相違は無いと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為により、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

よって、総合的評価として、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、我が国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと結論された。

引用文献

[社外秘情報につき非開示]

緊急措置計画書

平成 17 年 11 月 2 日

氏名 日本モンサント株式会社
 代表取締役社長 山根 精一郎
 住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性ダイズ (*cp4 epsps*、*Glycine max* (L.) Merr.)(MON89788, OECD UI: MON 89788-1) (以下、本組換え体という)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じで行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、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とは、本組換え体に関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

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は以下に示す通りである。

平成 17 年 11 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部
	日本モンサント株式会社 河内研究農場
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

* : 管理責任者

2 第一種使用等の状況の把握の方法

第一種使用等の状況は、日本モンサント河内研究農場実験従事者から得られた情報により把握する。

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

実験従事者に直接口頭で伝える。

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

具体的措置として、本組換え体を隔離ほ場内で鋤き込むか焼却するなどして隔離ほ場外への本組換え体の放出が行われないようにすること、また隔離ほ場周辺をモニタリングすることにより本組換え体が隔離ほ場外へ放出されていないことを確認すること等、必要な措置を実行する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省及び環境省に報告する。

モニタリング計画書

平成 17 年 11 月 2 日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根 精一郎

住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番地 10 号

1. 実施体制及び責任者

現時点での実施体制及び責任者は以下に示す通りである。

平成 17 年 11 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 東京都中央区銀座四丁目 10 番地 10 号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部
	日本モンサント株式会社 河内研究農場
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

* : 管理責任者

2. モニタリングの対象となる野生動植物等の種類の名称

(1)名称 ツルマメ(*Glycine soja*)

3. モニタリングを実施する場所及びその場所における対象となる野生動植物等の生息又は生育状況

隔離ほ場周辺 10m^{注)}の範囲内においてモニタリングを実施する。

なお、2005 年 8 月の時点で隔離ほ場周辺 75m の範囲（民家の敷地内を除く）

でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。

注)農林水産省 第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針(平成16年2月24日)

4. モニタリングの期間

本組換えダイズの栽培期間中とする。

5. 実施時期、頻度その他のモニタリングの方法

- 1) 本組換えダイズの栽培期間中に、隔離ほ場周辺10m以内にツルマメが生育しているかどうかを確認する。
- 2) 隔離ほ場周辺10m以内にツルマメが生育しており秋に種子をつけていた場合には、位置情報を記録すると共に、秋にツルマメ1集団あたり最低50粒の種子をサンプリングする。
- 3) 1)により、ツルマメの生育が認められない場合には、隔離ほ場から75mの範囲内で調査可能な範囲において最もほ場に近いツルマメの集団について、2)と同様の作業を行う。なお、隔離ほ場75m以内の土地は水田・畑・道路・用水路・民家等として利用されている。隔離ほ場周辺の地図を別添1*として添付した。2005年8月の時点で隔離ほ場周辺75mの範囲(民家の敷地内を除く)でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。

収集されたツルマメ種子に改変型 *cp4 epsps* 遺伝子が移行しているかどうかを1粒ごとに検定する。検定方法は収集されたサンプルの量等を考慮して適宜決定する。

6. モニタリングの結果の解析の方法

交雑検定の結果を基に、ダイズからツルマメへの距離に依存した自然交雑の有無・頻度を解析する。

7. 農林水産大臣及び環境大臣への結果の報告の方法

本組換えダイズの第一種使用規程(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)の申請時の最終試験報告書中にモニタリング結果を記載し、報告する。

8. その他必要な事項

モニタリングの期間中に採取されたツルマメから改変型 *cp4 epsps* 遺伝子が検出される等、当該遺伝子のツルマメへの移行が認められ、又はその疑いがある場合にあつては、農林水産省及び環境省とモニタリングの期間等について協議を行うものとする。

* 別添 1 については個人情報等を含む為、社外秘

除草剤グリホサート耐性ダイズ
(*cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON89788-1)
別添資料一覧

- 別添資料 1 Summary of Southern Blot Analyses of Glyphosate-Tolerant Second-Generation Soybean MON89788
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 2 Assessment of CP4 EPSPS Protein Levels in Leaf and Seed Tissues from MON89788 Soybean Produced in 2004/2005 Argentina Field Trials
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 3 Phenotypic Evaluation of Glyphosate-Tolerant Soybean Second Generation MON89788
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 4 Effect of Low Temperature Exposure on Second Generation Glyphosate Tolerant Soybean MON89788 for an Assessment of Equivalence and Weed Potential Under Growth Chamber Conditions in 2005
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 5 Pollen Morphology and Viability Evaluation of Glyphosate-Tolerant Soybean Second Generation MON89788 in a U.S. Field Trial During 2005
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 6 Dormancy and Germination Evaluation of Glyphosate-Tolerant Soybean Second Generation MON89788 in a Single Temperature Regime Using Seed Produced in Puerto Rico in 2004-2005
[社外秘情報につき非開示]
- 別添資料 7 Residual Effects Evaluation of MON89788 Glyphosate-Tolerant

Soybean Second Generation in a U.S. Greenhouse Trial During 2005
for an Assessment of Equivalence and Weed Potential

[社外秘情報につき非開示]

別添資料 8 日本モンサント隔離ほ場

別添資料 9 生物多様性影響の管理体制

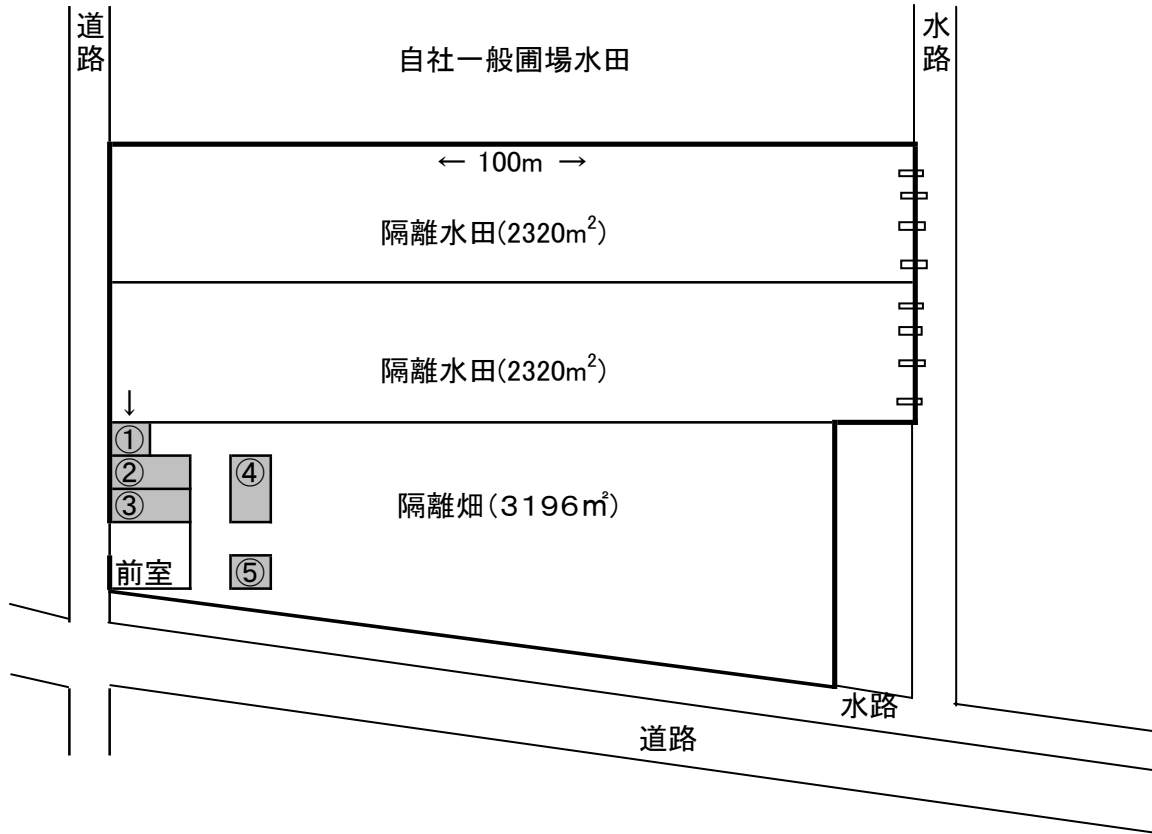
[社外秘情報につき非開示]

別添資料 10 隔離ほ場での実験計画

[社外秘情報につき非開示]

別添資料8

日本モンサント隔離ほ場
茨城県稲敷郡河内町生板4717



- | | |
|--------|-----------|
| □ フェンス | ④ ビニールハウス |
| ① 洗場 | ⑤ 焼却炉 |
| ② 農機具庫 | ⑥ 排水パイプ |
| ③ 作業室 | |

隔離ほ場全体図及び設備の配置

隔離ほ場の場所: 茨城県稲敷郡河内町生板4717