

白花オンシジウム (*PSYi*; *Oncidesa* Gower Ramsey) ('Honey Snow', MF-1) の申請書等の概要

目次

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	5
(1) 分類上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	5
① 和名、英名及び学名.....	5
② 宿主の品種名又は系統名	5
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域	6
(2) 使用等の歴史及び現状	7
① 国内及び海外における第一種使用等の歴史	7
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途.....	9
(3) 生理学及び生態学的特性.....	10
イ. 基本的特性	10
ロ. 生息又は生育可能な環境の条件	14
ハ. 捕食性又は寄生性	14
ニ. 繁殖又は増殖の様式.....	15
ホ. 病原性.....	17
ヘ. 有害物質の産生性	17
ト. その他の情報.....	17
2. 遺伝子組換え生物等の調整に関する情報.....	17
(1) 供与核酸に関する情報	17
イ. 構成要素及び構成要素の由来	17
ロ. 構成要素の機能	21
ハ. 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその旨.....	22
(2) ベクターに関する情報	24
イ. 名称及び由来.....	24
ロ. 特性	24
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	25
イ. 宿主内に移入された核酸全体の構成	25
ロ. 宿主に移入された核酸の移入方法.....	25
ハ. 遺伝子組換え生物等の育成の経過.....	25
(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	27
(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	29

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	30
3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	34
(1) 使用等の内容.....	34
(2) 使用等の方法.....	34
(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	35
(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	35
(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	35
(6) 国外における使用等に関する情報.....	35
第二 項目ごとの生物多様性影響評価.....	36
1. 競合における優位性.....	36
2. 有害物質の産生性	37
3. 交雑性.....	38
4. その他の性質.....	39
第三 生物多様性影響の総合的評価	40
引用文献	42
緊急措置計画書	44
隔離ほ場試験計画書	46
添付資料	62

第一種使用規程承認申請書

令和 3 年 11 月 25 日

農林水産大臣 金子 原二郎 殿
環境大臣 山口 壯 殿

氏名 国立大学法人筑波大学
申請者 学長 永田 恭介
住所 茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1

第一種使用規程の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、次の通り申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	白花オンシジウム (<i>PSYi</i> ; <i>Oncidesa</i> Gower Ramsey) ('Honey Snow', MF-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：茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1 名 称：筑波大学つくば機能植物イノベーション研究センター 遺伝子実験センター模擬的環境試験圃場Ⅲ(隔離ほ場) 使用期間：承認日から令和 7 年 5 月 31 日まで 1. 隔離ほ場の施設 (1) 部外者の立入を防止するため、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、本組換えオンシジウムの残渣等を洗浄によって除去するための洗い場を設置するとともに、当該オンシジウム植物体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) 本組換えオンシジウムの植物体が、野鳥等の食害により拡散することを防止するため、栽培期間中は防鳥網を設置する。なお、調査、作業等のために防鳥網を外す場合には、できる限り短時間とし、作業終了後、直ちに再度設置する。 (5) 本組換えオンシジウムの栽培は鉢で行い、越冬性、越夏性試

	験以外の調査はビニール温室を設置して行う。 2. 隔離ほ場での作業要領 (1) 本組換えオンシジウム及び比較対照の非組換えオンシジウム以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを、除草管理により最小限に抑える。 (2) 本組換えオンシジウムを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該オンシジウムが漏出しない構造の容器に入れる。 (3) オンシジウムに自然条件下での栄養繁殖性及び種子繁殖はないため、(2)により運搬又は保管する場合を除き、本組換えオンシジウムの栽培終了後は、当該オンシジウム及び比較対照の非組換えオンシジウムの根を含めた植物体全体を細断して隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。ただし、花については、オートクレーブで不活化後、廃棄する。 (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オンシジウム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に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。 (6) (1)から(5)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。 (7) 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。
--	--

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 オンシジウム

英名 *Oncidium* Ochid

学名 *Oncidesa*

② 宿主の品種名又は系統名

第一種使用等に用いる組換え体の宿主には、ラン科 (*Orchidaceae*) オンシジウム属 (*Oncidium*) とゴメサ属 (*Gomesa*) の人工交雑属オンシデッサ属 (*Oncidesa*, *Oncsa*. と略することがある) の園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統 (*Oncsa*. Gower Ramsey 'Honey Angel') を宿主として用いた。

従来、(旧) オンシジウム属、オドントグロッサム属 (*Odontoglossum*) と分類されていた洋ランは、地理的に中南米の太平洋側に分布するグループを(新)オンシジウム属、大西洋側及びカリブ海島嶼に分布するグループをゴメサ属と整理された。これに伴い、オンシジウム属とゴメサ属は新たな人工交雑属であるオンシデッサ属と分類する (洋ラン大全編集部, 2018)。そのため、文献情報等では、(旧)オンシジウム属、オドントグロッサム属、(新)オンシジウム属とゴメサ属についての分類が混合している場合がある。このため、本申請書においては、これらを取りまとめてオンシジウムと称する。

宿主であるオンシジウムの園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統 (*Oncsa*. Gower Ramsey 'Honey Angel') は、園芸種ゴールドディアナ (*Oncsa*. Goldiana) と園芸種ギアナゴールド (*Oncsa*. Guinea Gold) の交雑によって育種された園芸種ゴワーラムゼイ (*Oncsa*. Gower Ramsey) から、わが国の育種家による体細胞変異体により開発された園芸種である (図 1)。花卉色は黄色 (斑なし) で、2010 年以降、台湾において最も重要な切り花用園芸種である。

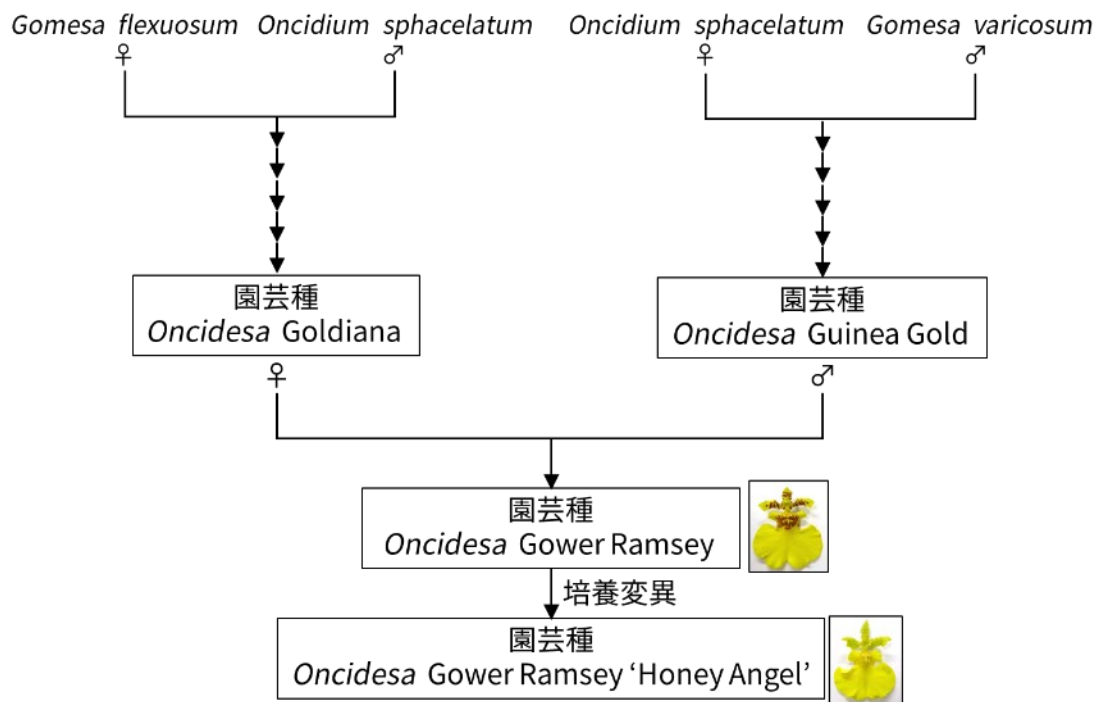


図1 本組換えオンシジウムの宿主となった園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の育成図

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

ラン科植物は、現在、地球上に約3万種が存在すると推定されている（The Royal Botanic Gardens, Kew; American Orchid Society）。オンシデッサ属は人工交雑属であり、野生には存在しない。オンシデッサ属の一方の祖先であるオンシジウム属は、南米のアンデス山脈を含む太平洋側を原産とする（洋ラン大全編集部, 2018）。オンシデッサ属のもう一方の祖先である、ゴメサ属は、中南米を中心に分布し、メキシコとカリブ海の島々からブラジル南部に分布する（洋ラン大全編集部, 2018）。オンシジウム属及びゴメサ属は、以前は同属と分類されていたように、両者の生態は酷似しているが、両属とも多くは冷涼で湿度の高い山間部に生育する樹木に気根を出して着生するが、岩石に着生するものもある（岡田, 1992；洋ラン大全編集部, 2018）。

本組換えオンシジウムの宿主であるオンシデッサ属は人工交雑属であり、野生には存在しない。加えて、園芸種ゴワーラムゼイ及び園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェルを含む園芸種ゴワーラムゼイの派生園芸種では、配偶子形成における減数分裂に欠陥があり、稔性のある配偶子を形成することができないため、雌雄いずれも不稔である（詳細後述）。園芸種ゴワーラムゼイ及び園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統は、台湾の主力切花商品として、15年以上にわたり大規模栽培が行われているが、生産者の経験によると台湾及び日本で自生化したという報告はない。

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び海外における第一種使用等の歴史

洋ランの栽培はヨーロッパから始まったもので、特にイギリスがその発祥とされている（塚本, 1956）。わが国へ最初に洋ランが持ち込まれたのは、1859年に長崎の出島に上陸したグラバー（Thomas Blake Glover）によるという伝承がある（洋ラン大全編集部, 2018）。明治末期に世界各地の品物とともに他の多くの植物とともにヨーロッパに持ち込まれ、愛好家による趣味の栽培が始まった（塚本, 1956）。明治 23 年（1890 年）、東京農林学校に着任した福羽逸人が 10 坪の温室にオンシジウムを含む複数の洋ランを導入した記録が残る（塚本, 1956）。オンシジウムは、1823-1825 年にカリブ海地域からもたらされたとされる（塚本, 1956）。

オンシジウムの商業化が広く進んだのは、世界的にもこの 50 年ほどのことで、栽培の歴史は浅い。過去数十年間、花卉色と花の咲かせやすさを中心に育種が進められているが、市場に受け入れられたのは、園芸種シャリーベイビー（*Oncsa. Sharry Baby*）、園芸種ゴールドディアナ（*Oncsa. Goldiana*）、園芸種ゴワーラムゼイ、園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統、園芸種ゴワーラムゼイ・レモンハート系統（*Oncsa. Gower Ramsey 'Lemon Heart'*）等、ごく少数に限られている（表 1）。

表 1 商業的に利用されるオンシジウムの園芸種

園芸種名 (用途)	花弁色	交配親	登録者/日時/国
<i>Oncsa. Sharry Baby</i> (切り花)	深紅	<i>Oncsa. Honolulu</i> × <i>Oncsa. Jamie Sutton</i>	D. O'Flaherty 1983年 米国
<i>Oncsa. Goldiana</i> (切り花/ガーデンフラワー)	黄色と深紅斑	<i>Gomesa flexuosum</i> × <i>Onc. sphacelatum</i>	F. Therton 1940年 米国
<i>Oncsa. Sweet Sugar</i> (鉢花)	黄色と深紅斑	<i>Oncsa. Aloha Iwananaga</i> × <i>Gomesa varicosum</i>	M. Sato 1990年 日本
<i>Oncsa. Wildcat</i> (切り花)	チョコレートブラウ ン、鮮やかな黄色、深 紅	(<i>Oncidium fuscatum</i> × <i>Rhynchostele ureskinneri</i>) × (<i>Oncidium leucochilum</i> × <i>Oncsa. Golden Guinea</i>)	
<i>Oncsa. Gower Ramsey</i> (切り花)	黄色と赤斑	<i>Oncsa. Goldiana</i> × <i>Oncsa. Guinea Gold</i>	Koh Keng Hoe 1977年 シンガポール
<i>Oncsa. Gower Ramsey</i> 'Honey Angel' (切り花)	黄色 (斑なし)	<i>Oncsa. Goldiana</i> × <i>Oncsa. Guinea Gold</i> (<i>Oncsa. Gower Ramsey</i> の 培養変異)	Okinawa AA 2002年 Tokyo Nursery 2005年 日本
<i>Oncsa. Gower Ramsey</i> 'Lemon Heart' (切り花)	黄色 (斑なし)	<i>Oncsa. Goldiana</i> × <i>Oncsa. Guinea Gold</i> (<i>Oncsa. Gower Ramsey</i> の 培養変異)	Occurred before <i>Oncidesa</i> Gower Ramsey 'Honey Angel'

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

オンシジウムは、生花仕様の切り花及び鉢物が用途となる。わが国で流通する切り花のほとんどは海外からの輸入品である。わが国に輸入されるオンシジウムの9割は台湾からで、タイやベトナムなどが続く。台湾における切り花用オンシジウムは輸出額第1位の輸出用花き商品であり、そのうちの85%はわが国向けとなっている。台湾で栽培されるオンシジウムの主要園芸種は、1992年から2009年までは園芸種ゴワーラムゼイであったが、2010年以降、本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統に置き換わった。図2に、台湾のオンシジウムの輸出額の推移及び主要園芸種を示すが、主要品種が園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統に切り替わった時期を境に輸出額が急増した。

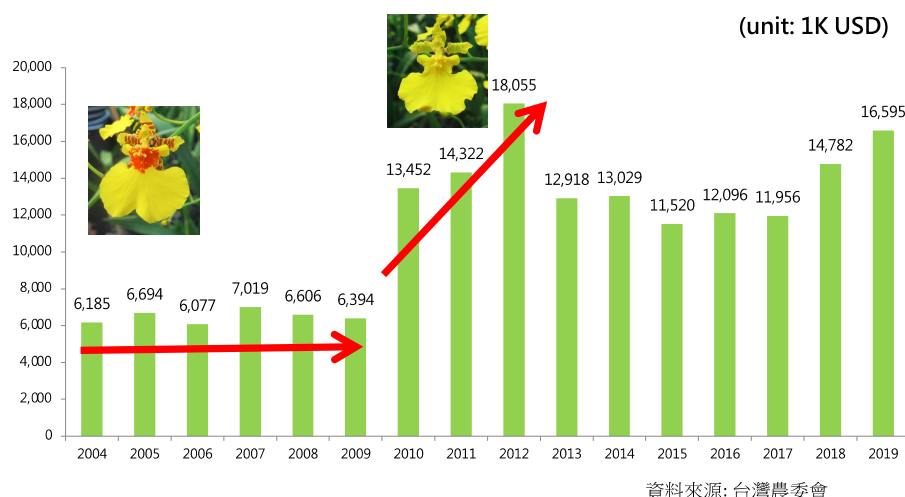


図2 台湾における切り花用オンシジウムの輸出額の推移
(グラフ出典: 台湾農業委員会)

わが国でも、切り花用洋ランの国内栽培は少量ある。オンシジウムに限定した統計はなかったが、オンシジウムを含む切り花用洋ランの統計によると、切り花用洋ラン類の作付面積上位5県は、徳島県、沖縄県、福岡県、埼玉県、静岡県の順となっており、この5県で全国栽培面積の6割近くとなる(平成30年度花き生産出荷統計)。切り花用洋ラン類の栽培は、全て施設栽培で、露地での栽培はない(平成18年度花き生産出荷統計)。国内作付け及び出荷量は減少傾向にあり、2002年度から2018年度の17年間で、42%及び46%減少した(図3)。鉢物に関しても、国内数県にて洋ラン専門業者による高付加価値の小規模栽培にとどまっている。

一方、オンシジウムを含む切り花用洋ランの輸入量は近年増加している。2007～2019年までの13年間、わが国の切り花用洋ランの総輸入量は、5.4～6.7千トン、総輸入額は57～71億円で推移しており、大きな変動はない(図4)。オンシジウムを含む切り花

用洋ランの主要な輸入相手国は台湾であり、年間 1,871 トン（第 2 位、シェア約 35%）、約 32 億円（第 1 位、シェア約 47%）の輸入実績がある（貿易統計 2019 年）。

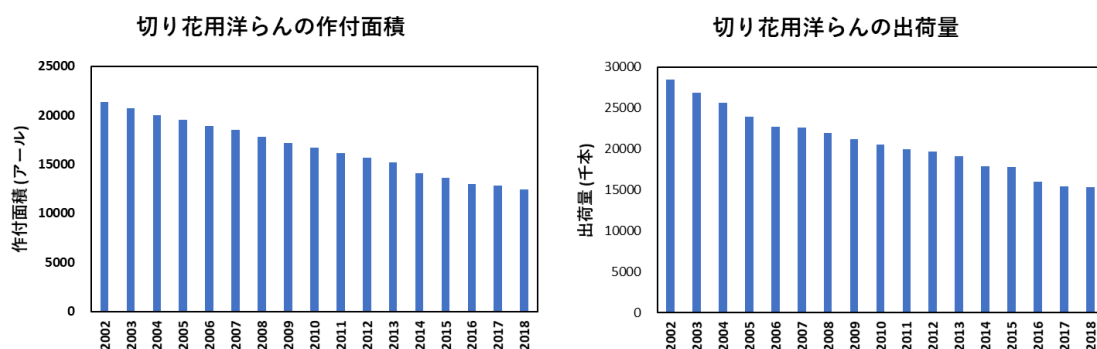


図 3 日本国内での切り花用洋ランの作付面積（左）と出荷量（右）
（データ出所: 平成 30 年度花き生産出荷統計）

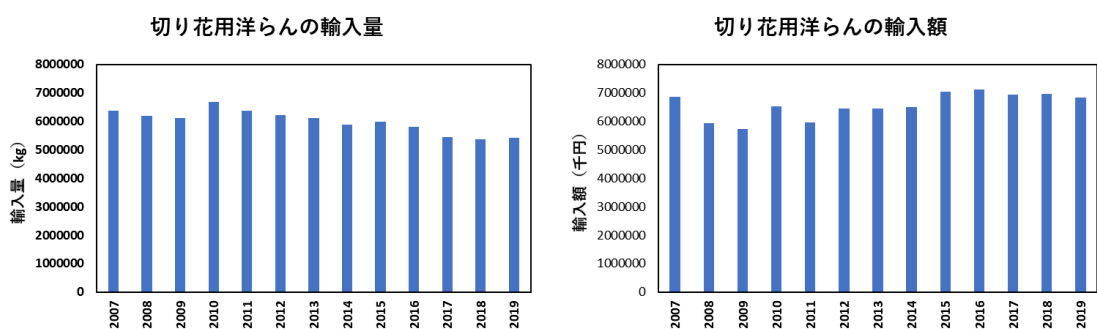


図 4 わが国の切り花用洋ランの輸入量（左）及び輸入額（右）
（データ出所: 貿易統計 2019）

(3) 生理学及び生態学的特性

イ. 基本的特性

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統は、園芸種ゴワーラムゼイの培養変異株である。オンシジウム属、ゴメサ属及びそれらの人工交雑属であるオンシデッサ属は、バルブ（偽鱗茎）を有する着生ランである。1つのバルブからは、1～3 枚の葉及び複数の苞葉が生じる（図 5）。また、1つのバルブから 1 つの花梗が生じ、花梗には多数の花が形成される（図 5）。園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の花梗長は 30～130 cm と長く（図 5）、切り花用に向く。花は、3 枚の花弁（1 枚の唇弁及び 2 枚の側花弁）、3 枚のがく片、雌蕊と雄蕊が融合した 1 本のずい柱、唇弁の先端の 4 つのがく（calyx）から構成される（図 6）。園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の花弁及びがく片は、完全に黄色（斑なし）であることを特徴とする（図 6）。

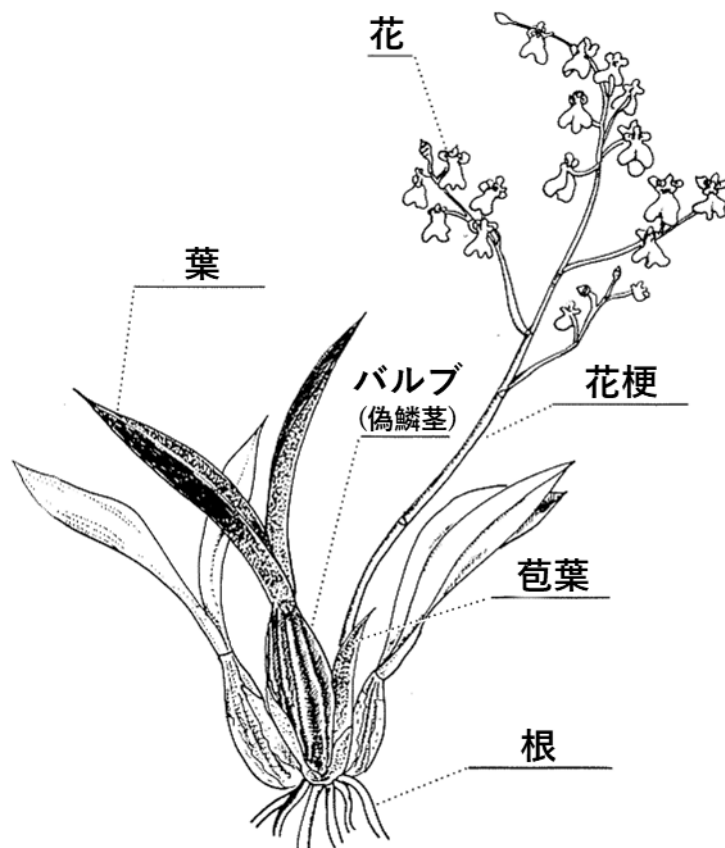


図 5 オンシジウムのイラスト (岡田 (1992)より改変)



図 6 園芸種ゴワーラムゼイ (左) 及び園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統 (右) の花

園芸種ゴワーラムゼイ及び園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含むその派生園芸種は雄性不稔である (高ら, 2019; Ko *et al.*, 2019)。園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種は、花粉及び花粉塊形

成は認められるものの、稔性を有すオンシデッサ属園芸種シャリーベイビーの花粉及び花粉塊と比較して、小型・少量かつ奇形である（図 7）。また、園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種の花は、花粉発芽試験において花粉発芽は見られない（表 2）（高ら, 2019 ; Ko *et al.*, 2019）。これらのことから、園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種は、花粉稔性がないと考えられている。園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種における花粉稔性欠失の原因は、配偶子形成における減数分裂の機能不全にあることが示唆されている（図 8）（Ko *et al.*, 2019）。

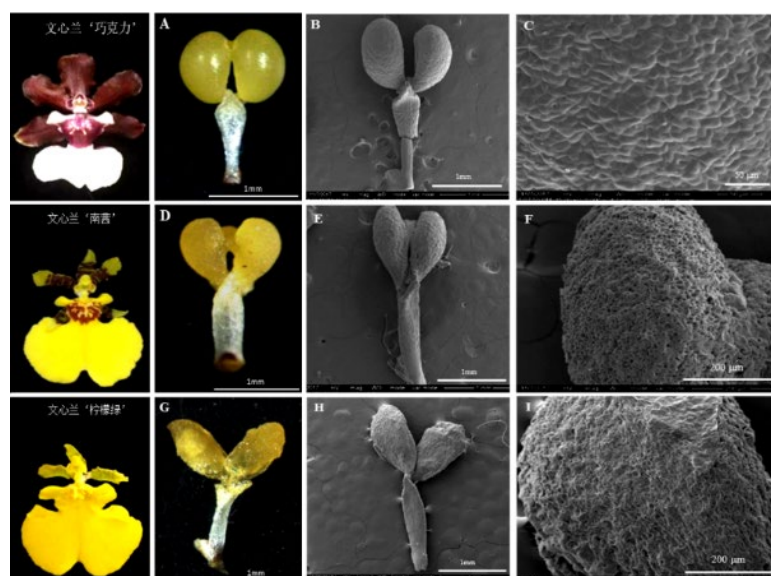


図 7 オンシジウムの花粉塊の比較

上段から切り花用園芸種のオンシデッサ属シャリーベイビー (*Oncsa. Sharry Baby*) (A, B, C)、園芸種ゴワーラムゼイ (*Oncsa. Gower Ramsey*) (D, E, F) 及び園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統 (*Oncsa. Gower Ramsey 'Honey Angel'*)。園芸種シャリーベイビーは、花粉稔性を有する系統であり対照として示した。(G, H, I) の花全体 (最右列) 及び花粉塊の光学顕微鏡像 (A, D, E)、走査電子顕微鏡像 (B, C, F, G, H, I) を示す。(Ko *et al.*, (2019) からの転載)

表 2 本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の花粉の発芽率^a.

試料	ショ糖濃度 ^b	花粉発芽 ^{cd}		
		3 日目	10 日目	15 日目
<i>Oncidium</i> Gower Ramsey 'Honey Angel'	0%	—	—	—
	1%	—	—	—
	2%	—	—	—
	3%	—	—	—
	10%	—	—	—
<i>Oncidium sphacelatum</i> ^e	0%	—	+	++
	1%	+	+	+++
	2%	+	++	+++
	3%	++	+++	+++
	10%	+	+	+++

^a 花粉発芽試験の培地は BK 培地 (Brewbaker and Kwack, 1963) を基本とし、ショ糖(0～10%) 及び柱頭抽出物 (0.2%) を添加した。培養は、25℃、暗所で行い、花粉発芽率を 3、10、15 日目に調査した。

^b BK 培地へ添加したショ糖の濃度

^c 発芽率を調査した培養開始からの日数

^d 花粉発芽率は、- (無し)、+ (少数)、++ (およそ半数)、+++ (多数) の 4 段階で評価した

^e *Oncidium sphacelatum* Lind.は、対照として用いた

(Kao *et al.* (2019) より転載・改変)

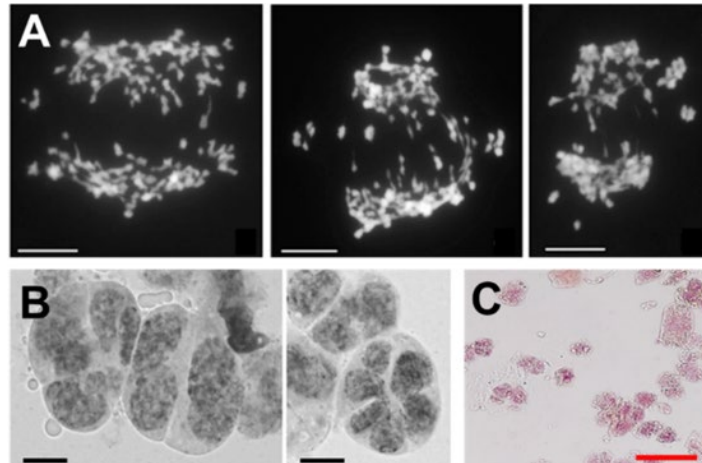


図 8 本組換えオンシジウムにおける減数分裂及び花粉の様子

減数分裂第 I 分裂後期の染色体の分離遅延がみられ、遅れにより染色体の分離の不均衡が生じる (A)。その結果、不均一な形状の小孢子が形成され (B)、最終的に不均一及び異常な形状の花粉粒が生じる (C)。その結果生じる花粉粒により、不規則な花粉塊形成はするものの不稔となる。減数分裂における染色体分配の不均衡は雄性配偶子形成だけでなく、雌性配偶子形成時にも生じると考えられる。スケールバーは 50 μm 。(Kao *et al.* (2019) より転載・改変)

ロ. 生息又は生育可能な環境の条件

オンシジウム属及びゴメサ属の野生種の自然分布は、中南米カリブ海地域及び南米太平洋側の冷涼で湿度の高い山間部に生育する樹上に着生する。このため、冷涼で通気が高く、比較的日当たりが良い環境が好む。野生のオンシジウム属及びゴメサ属の仲間は、中温性（冬季夜間 10～15℃、昼間 17～18℃を好む）と冷温性（冬季夜間 5～7℃、昼間 18℃を好む）がある（塚本、1956）。オンシデッサ属園芸種は中温性で、生育適温は冬季夜間 10～15℃とされる。オンシデッサ属園芸種の栽培が盛んな台湾は、冬季の最低気温は南部高雄市で 15.7℃（1981-2010 年の 1 月の平均最低気温）、台北市で 13.9℃（同）である。また、わが国の栽培者の報告では、オンシジウムは最低気温 5～6℃に保つことで越冬が可能であるという（岡田, 1992）。

オンシデッサ属園芸種の栽培が盛んな台湾の夏季の日平均気温は高雄市、台北市ともに 29.2℃（1981-2010 年の 7 月の日平均気温）であり、オンシジウムの耐暑性は比較的強いが、日射には弱いいため、通常、栽培期間を通じて寒冷紗等により遮光して栽培される。

ハ. 捕食性又は寄生性

—

ニ. 繁殖又は増殖の様式

1) 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統は雌雄ともに不稔であり、種子を得ない。

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

バルブを持つランでは、花が終わった後のバルブから花序が生じた部位の反対側から新たな茎頂が生じ、それが新たなバルブへと成長することが可能である。このため、人為的にバルブを切り分けることで、低頻度の栄養増殖は可能である（塚本、1956）。かつては商業栽培でも洋ランはこのような方法で増殖されており、大量にクローン増殖ができなかったため非常に高価であった。現在では、商業栽培用の洋ランの増殖は、無菌培養系を利用した方法が確立している。図9として、本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含むゴワーラムゼイ派生園芸種の商業栽培におけるプロトコーム様体（Protocorm-like body; PLB）を用い、栄養増殖の方法を例示する。

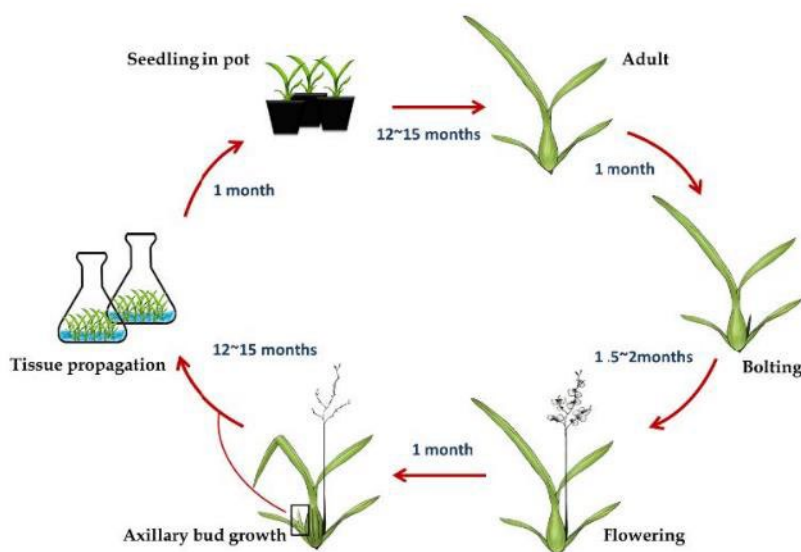


図9 園芸種ゴワーラムゼイ及びその派生園芸種の PLB を用いた増殖法

園芸種ゴワーラムゼイ及びゴワーラムゼイ派生園芸種の商業栽培では、偽鱗茎より生じた茎頂組織から *in vitro* 培養系で誘導した PLB を用い、栄養増殖する。増殖した PLB からシュートを誘導し、これを栽培のための実生とする。実生は、温室で 12~15 カ月栽培することで、偽鱗茎にペクチン、マンナン、デンプンなどの多糖類、オリゴ糖などを蓄積した成体となる（Wang *et al.*, 2008）。偽鱗茎が十分に発達した後、1.5~2 カ月程度で花梗形成がみられる。花序は、平均 30~130 cm に成長し、多数の花を形成する。花は自然界では 1 カ月以上持続するが、偽鱗茎から切り離された後も 2 週間程度

は持続される。花が終わった後、偽鱗茎の花序が生じた部位の反対側から新たな茎頂を得る

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

a. 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイは、雌雄ともに不稔であり、自殖他殖いずれも不可である。

b. 近縁野生種との交雑性

i) 日本における近縁野生種

わが国に、本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統あるいは他のゴワーラムゼイ派生園芸種の近縁野生種は存在しない。

ii) 近縁野生種と園芸品種との自然条件下での交雑性

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統あるいは他のゴワーラムゼイ派生園芸種の近縁野生種は自然には存在しない。また、本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統あるいは他のゴワーラムゼイ派生園芸種は、雌雄ともに不稔であり、自然条件下での交雑性はない。

iii) 近縁野生種と園芸品種との人為的交雑性

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種は雌雄ともに不稔であり、人為的にも交雑性することはない（表 4）。

c. アポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

オンシジウム属園芸種において、アポミクシスを生じる特性は知られていない。

4) 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

a. 花粉の生産量及び形状

オンシジウムは、他のラン科植物同様、数万個以上の花粉の集合体である花粉塊を形成する。本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含むゴワーラムゼイ派生園芸種は、小型かつ奇形で、花粉数も少ない（図 7、図 8）。

b. 花粉の稔性

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統では、稔性のある花粉を形成しない（表 2、図 7）。

c. 花粉の媒介方法

ラン科植物は一般に昆虫により花粉が媒介される。オンシデッサ属洋ランは人工交雑属であり、花粉を媒介する昆虫は特定されていない。

d. 花粉の飛散距離及び寿命

ラン科植物の花粉は花粉塊を形成するため、一般に風により広範囲に飛散しない。人工交雑種であるオンシデッサ属洋ランでは、花粉を媒介する昆虫は特定されておらず、虫媒による飛散距離は観察されていない。園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の花粉及び花粉塊は、そもそも花粉稔性を有さないため寿命は評価不能である。

ホ. 病原性

—

ヘ. 有害物質の産生性

オンシデッサ属園芸種は、これまでに長期間の使用等の経験があるが、わが国を含めて有害物質を産生するとの報告はない。

ト. その他の情報

—

2. 遺伝子組換え生物等の調製に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

イ. 構成要素及び構成要素の由来

本組換えオンシジウムの作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は表 3 に示した通りである。組換え DNA 分子の構成図は図 10、図 11、図 12 に示した通りである。

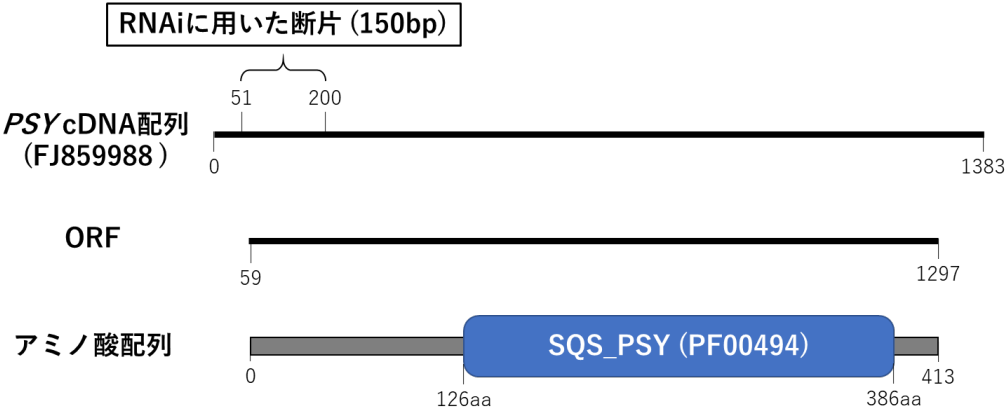
表 3 供与核酸の構成、構成要素の由来及び機能

構成要素	塩基長(bp)	由来及び機能
フィトエンシンターゼ遺伝子発現抑制 RNAi 分子発現 カセット		
<i>Pchrc</i>	1,500	オンシデッサ属園芸種ゴワーラムゼイ (<i>Oncsa. Gower Ramsey</i>) 由来の花器官特異的な転写誘導活性を有する <i>chromoplast specific carotenoid associated</i> 遺伝子のプロモーター領域。本プロモーター下流に隣接する遺伝子を形質転換植物内で発現するために必須の構成要素である。本プロモーターは花器官特異的にプロモーター活性を発揮する (Chiou <i>et al.</i> , 2008)
<i>PSY</i> (部分配列)	150	オンシデッサ属園芸種ゴワーラムゼイ (<i>Oncsa. Gower Ramsey</i>) 由来のフィトエンシンターゼ (<i>phytoene synthase; PSY</i>) 遺伝子の cDNA の 150-bp (+51~200 bp) の部分配列 (図 10)。PSY 全長を含まず、また PSY の機能ドメイン (SQS_PSY (PF00494)、図 10) も含まないので、PSY の機能は有さない。 <i>GUS</i> 部分配列を挟んで、インバートリピート構造となることで、植物細胞内で内生 <i>PSY</i> 遺伝子発現を RNA 干渉によって抑制する RNAi 分子を構成する。
<i>GUS</i> (部分配列)	750	大腸菌 (<i>Escherichia coli</i>) 由来の β -glucuronidase 遺伝子の部分配列。 <i>GUS</i> 全長を含まず、機能を有する GUS タンパク質は発現しない。 <i>PSY</i> 部分配列のインバートリピートの間に挟まれることで、植物細胞内で内生 <i>PSY</i> 遺伝子発現を RNA 干渉によって抑制する RNAi 分子を構成する。
<i>NOS-T</i>	1,125	アグロバクテリウム (<i>Rhizobium radiobacter</i>) 由来の Ti プラスミドのノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域で、転写を終結及び mRNA のポリ A 付加配列を含み、上流の遺伝子の転写を終結させる (Bevan <i>et al.</i> , 1983)
RB	162	アグロバクテリウム (<i>R. radiobacter</i>) 由来の T-DNA 右境界配列 (Right-border)。
LB	148	アグロバクテリウム (<i>R. radiobacter</i>) 由来の T-DNA 左境界配列 (Left-border)。
選択マーカー HPT 発現カセット		
35S-P	423	カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) 由来の 35S RNA のプロモーター領域。本プロモーター下流に隣接する遺伝子を形質転換植物内で発現するために必須の構成要素である。CaMV ゲノムは環状二本鎖 DNA で、宿主植物の遺伝子発現系を利用して増殖するために必要な遺伝子を有している。

		このゲノムにコードされる 35S RNA のプロモーターは強力 で、植物体のほとんど全ての器官で、何れの成長段階でも強 く発現するため、外来遺伝子を植物で発現させる際によく用 いられる (Mitsuhara <i>et al.</i> , 1996)
<i>HPTII</i>	1,026	大腸菌 (<i>E. coli</i>) 由来のハイグロマイシン B リン酸基転移酵 素遺伝子。本酵素はハイグロマイシン B をリン酸化し、不活 化する。そのため、本酵素を発現する植物細胞はハイグロマ イシン B 耐性となる (Gritz & Davies, 1983)。この機能を利用 して、 <i>HPTII</i> 遺伝子は選抜マーカー遺伝子として汎用さ れる。本組換えオンシジウムにおいても選抜マーカーとして 利用した。
35S-T	175	カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) 由来の 35S RNA の 3'非翻訳領域で、転写を終結及び mRNA のポリ A 付加配 列を含み、上流の遺伝子の転写を終結させる (Barker <i>et al.</i> , 1983)。
非 T-DNA 領域		
pVS1 <i>StaA</i>	630	<i>Pseudomonas</i> 属細菌の pVS1 プラスミド由来のタンパク質 をコードする遺伝子で、グラム陰性菌中でプラスミドの安定 化に寄与する。
pVS1 <i>RepA</i>	1074	<i>Pseudomonas</i> 属細菌の pVS1 由来のレプリコン(DNA の複 製を制御する最小機能複製単位)領域。アグロバクテリウム においてベクターの維持に必要な遺伝子 (Heeb <i>et al.</i> , 2000)。
pVS1 <i>oriV</i>	195	<i>Pseudomonas</i> 属細菌のプラスミド pVS1 由来のプラスミド DNA の複製起点共通配列。アグロバクテリウムにおける本 プラスミドの複製開始点として機能する。
<i>bom</i>	141	pBR322 プラスミド由来の伝達起点因子。伝達には、伝達起 点に特異的に働く <i>mob</i> (<i>mobilization</i>) 遺伝子群が必要で、 本因子だけではプラスミドの伝達は起こらない (磯原ら, 1991)。
pBR ori	589	pBR322 プラスミド由来の複製開始点。大腸菌におけるプラ スミドの複製開始点として機能する。
<i>aadA</i>	795	pBR322 プラスミド由来の <i>Aminoglycoside</i> <i>phosphotransferase</i> 遺伝子。アグロバクテリウム及び大腸 菌に、スペクチノマイシン耐性を付与する。

277 注：供与核酸のうち、本表に記載されていない部分については、本組換えオンシジウムにお

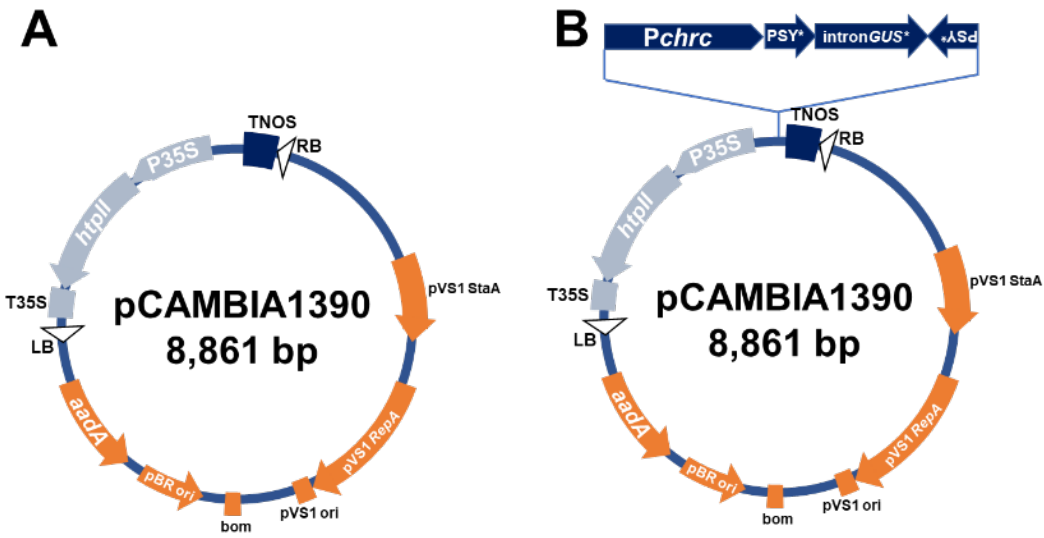
278 いて生物多様性に影響を及ぼさない。
279



280
281 図 10 *Phytoene synthase* (*PSY*) 遺伝子の RNAi 分子 (*PSYi*) に用いた部分配列
282
283
284



285
286 図 11 形質転換ベクター pCambia1390-pCHRC-PSYi の T-DNA 領域の構造
287
288
289



290
291 図 12 pCambia1390 (A) 及び pCambia1390-pCHRC-PSYi (B) の構成図
292
293

ロ. 構成要素の機能

1) 目的遺伝子、発現調節領域、局在性シグナル、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

本組換えオンシジウムの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 3 に示した。

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タンパク質の機能及び当該タンパク質がアレルギー性（食品としてのアレルギー性を除く）を有することが明らかとなっているタンパク質との相同性を有する場合はその旨

【フィトエンシンターゼ遺伝子発現抑制 RNAi 分子 (*PSYi*)】

本組換えオンシジウムに導入された目的遺伝子により産生されるのは、園芸種ゴウラムゼイ由来の *PSY* 遺伝子 cDNA (全長約 1.4 kbp) の 5' 領域の 150 bp の部分配列及び大腸菌由来の β -*glucuronidase* (*GUS*) 遺伝子 (全長約 1.8 kbp) の 750 bp の部分配列より RNAi 分子 (*PSYi*) である (図 11、図 12B)。本 RNAi 分子は、宿主植物の内生フィトエンシンターゼ遺伝子の mRNA に対し、RNA 干渉を引き起こし、その発現を抑制する (Liu *et al.*, 2019)。

PSY 遺伝子は、園芸種ゴウラムゼイの花の主要色素であるネオキササンチン、ビオラキササンチン、ルテインを含むカロテノイド化合物の生合成経路の鍵酵素である、ゲラニルゲラニル二リン酸 (Geranylgeranyl diphosphate, GGPP) からフィトエンへの生合成を触媒するフィトエンシンターゼをコードする。本組換えオンシジウムに含まれるのは、その 150 bp の部分配列であり、機能を有する *PSY* 酵素の発現に必要な情報を持たず、タンパク質は産生しない。

GUS 遺伝子は、D-グルクロン酸の β 型配糖体に作用してそのグルクロニド結合を加水分解する酵素の一種である大腸菌の酵素 uidA をコードする。本組換えオンシジウムに含まれるのは、その 750 bp の部分配列であり、機能を有する uidA 酵素の発現に必要な情報を持たず、タンパク質は産生しないと考えられる。

本 RNAi 分子発現は、オンシデッサ属園芸種ゴウラムゼイにおいて、花卉特異的に転写活性を有する *chromoplast specific carotenoid associated* (*Chrc*) 遺伝子のプロモーター領域 (*PChrc*) の制御化で発現する (図 11、図 12B) (Liu *et al.*, 2019)。このため、本 RNAi 分子による *PSY* 遺伝子の転写抑制は、花器官のみで発揮される。

【ハイグロマイシン B リン酸基転移酵素タンパク質】

アミノグリコシド系抗生物質であるハイグロマイシン B は、原核生物及び真核生物において、リボソーム上でのアミノアシル tRNA の認識やペプチジル tRNA の転座を妨害し、mRNA の誤読やタンパク質合成の阻害を引き起こし、生育を阻害する

(Cavanas *et al.*, 1978)。多くの植物もハイグロマイシン B に対して感受性を示す。ハイグロマイシン B リン酸基転移酵素は、ATP のリン酸基をハイグロマイシン B へ転移する反応を触媒するキナーゼで、リン酸化されたハイグロマイシン B は生育阻害活性を失う (Rao *et al.*, 1983)。本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含むオンシジウムも、ハイグロマイシン B を含む培地上では、PLB を形成しない。一方、ハイグロマイシン B リン酸基転移酵素を発現する組換え体の PLB はハイグロマイシン B に抵抗性となるため、ハイグロマイシン B を含む培地上で培養することにより組換え PLB を選抜できる。ハイグロマイシン B リン酸基転移酵素については古くから幅広く多様な植物種で使用されており、様々な実験データや論文等をもとに、ヒトや動物及び生物多様性に対して影響があったという報告はこれまでのところない (EFSA Panel on Genetically Modified Organisms, 2004)。

【その他】

Ti プラスミドベクター及びアグロバクテリウムを用いた植物の形質転換では、Ti プラスミドベクターの T-DNA 領域のみが宿主植物の核ゲノム DNA 中に導入されることが多いが、T-DNA 領域以外のベクター骨格を構成する DNA 配列が、宿主植物の核ゲノム DNA 中に導入される例も知られている (De Buck *et al.*, 2000 ; Kononov *et al.*, 2002 ; Yin *et al.*, 2000)。本組換えオンシジウムでは、Ti プラスミドベクター全長が宿主植物の核ゲノム DNA 中に挿入されていると考えられる (後述)。

本組換えオンシジウムの形質転換に用いた pCambia1390-pCHRC-PSYi ベクターの非 T-DNA 領域には、*Pseudomonas* 属細菌の pVS1 プラスミドに由来する *StmA* 遺伝子及び *RepA* 遺伝子、大腸菌の pBR322 プラスミド由来の *aadA* 遺伝子が含まれる。*StmA* 遺伝子及び *RepA* 遺伝子は、アグロバクテリウムにおける、本プラスミドベクターの安定化や増幅に機能する、*aadA* 遺伝子は細菌において宿主のスペクチノマイシン耐性の付与に機能するタンパク質をコードする。これらの遺伝子は高等植物における発現調節配列を持ち合わせていないため、高等植物中では発現しないと一般的に認識されている。実際に、RT-PCR 法により、本組換えオンシジウムの葉及び花における pVS1-*StmA* 遺伝子、pVS1-*RepA* 遺伝子及び *aadA* 遺伝子の発現を調べたところ、いずれの発現も検出されなかった (別紙 5)。

ハ．宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその旨

PSY 部分配列及び GUS 部分配列より構成される PSYi 分子は、本組換えオンシジウムの花器官の細胞において内生フィトエンシンターゼ遺伝子の mRNA に対し、RNA 干渉を引き起こし、その発現を抑制する (Liu *et al.*, 2019)。PSY タンパク質は、ゲラニルゲラニル二リン酸 (Geranylgeranyl diphosphate, GGPP) からフィトエンへの生合成を触媒する酵素で、園芸種ゴワーラムゼイの花器官の主要色素であるネオキサント

ン、ビオラキサンチン、ルテインを含むカロテノイド化合物の生合成経路の鍵酵素である (図 13)。このため、花器官における *PSY* 遺伝子の発現抑制は、カロテノイド化合物の蓄積を阻害することで、花色を園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の黄色から白色へと変化させる (Liu *et al.*, 2019)。

一方、*PSYi* 分子の発現カセットは、花器官で特異的にプロモーター発現活性を発揮する *Pchrc* プロモーター配列によって発現が調節される。このため、花器官以外では *PSYi* 分子の影響を受けず *PSY* は正常に発現し、カロテノイド生合成及びその下流の代謝物の生合成には影響を与えないと考えられる。他の代謝系への影響がないことの確認の一例として、花序から揮発する揮発性化合物について調査を行ったが、本組換えオンシジウムと園芸種ゴワーラムゼイの間で違いは確認されなかった (図 14)。

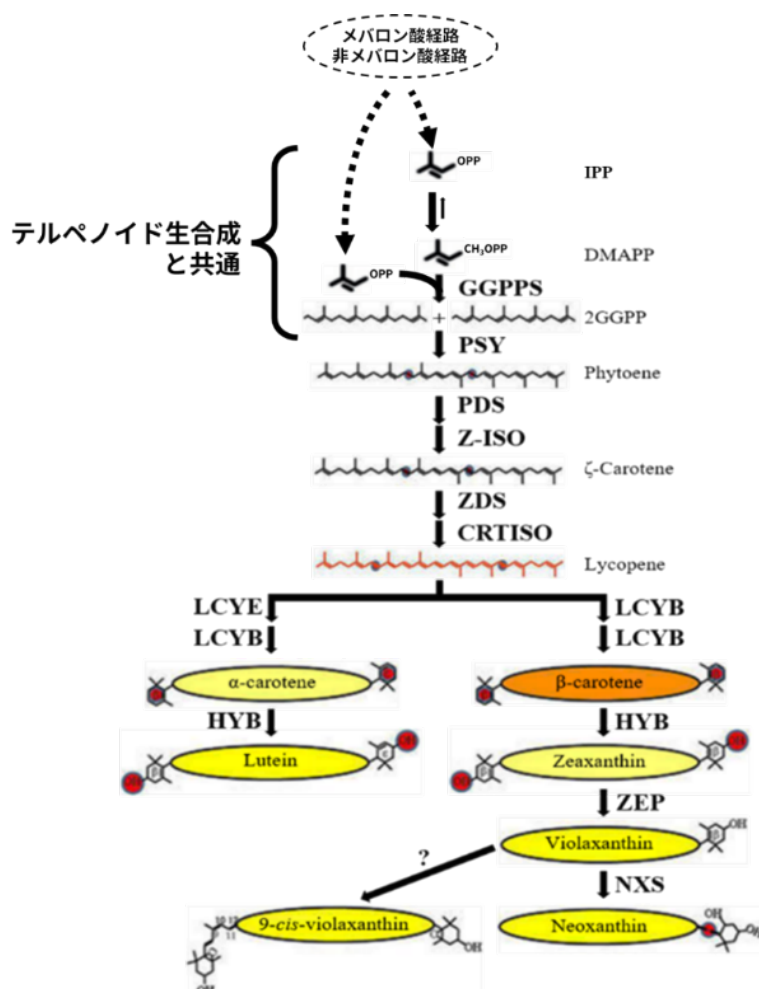


図 13 園芸種ゴワーラムゼイの花におけるカロテノイド生合成経路

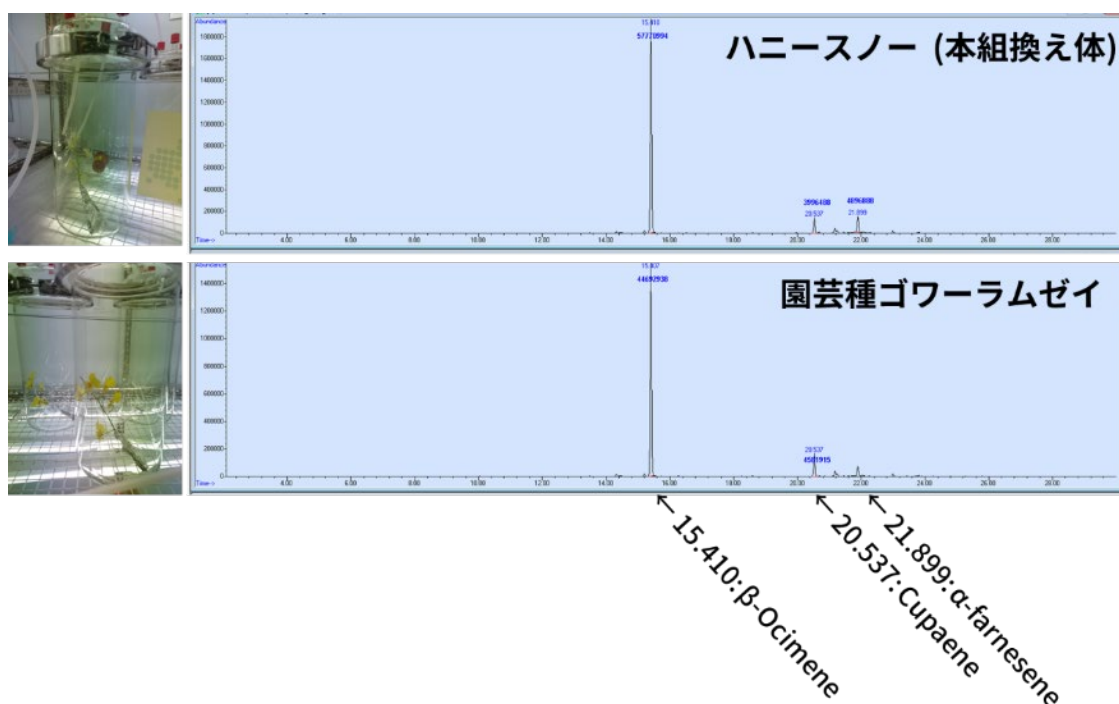


図 14 本組換えオンシジウムと園芸種ゴワーラムゼイの花序からの揮発成分の比較

本組換えオンシジウム（ハニースノー）及び園芸種ゴワーラムゼイの花序を切除し、集気瓶中に 4 時間封入し、揮発性成分を回収し、GC-MS 分析を行った（Agilent 7890B GC system and 5977B GC/MSD; GC カラム HP-5MS (30m x 250 μ m x 0.25 μ m)）。両者から検出されたピークに大きな違いはなかった。

(2) ベクターに関する情報

イ. 名称及び由来

本組換えオンシジウムの作出に用いられた pCAMBIA1390-pCHRC-PSYi は、バイナリーベクター pCAMBIA1390（オーストラリア、Marker Gene Technologies Inc.）のマルチクローニングサイトに *PChrc* プロモーター及び *PSY* 遺伝子の部分配列及び *GUS* 遺伝子の部分配列からなる *PYSi* 分子を挿入したものである。

ロ. 特性

1) ベクターの塩基数及び塩基配列

本組換えオンシジウムの作出に用いられた pCAMBIA1390-pCHRC-PSYi の全塩基数は 12,327bp である。pCAMBIA1390 の全塩基配列は、GenBank に公開されている（アクセッションナンバー AF234307）。

2) 特定の機能を有する配列がある場合には、その機能

pCAMBIA1390 の非 T-DNA 領域は、大腸菌 (*E. coli*) のプラスミド pBR322 に由来する複製開始点 (pBR322 *ori*)、及び *Pseudomonas* 属細菌のプラスミド pVS1 に由来するレプリコン (DNA の複製を制御する最小機能複製単位, pVS1-*REP*) 及び複製共通配列複製開始点 (pVS *Sta*) (Itoh *et al.*, 1985) を有する。

pCAMBIA1390 の非 T-DNA 領域にはこのほかに細菌由来のスペクチノマイシン耐性遺伝子 (*aminoglycoside phosphotransferase, aadA*) が存在し、大腸菌及びアグロバクテリウムにスペクチノマイシン耐性を付与する。

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

本ベクターに感染性の知られている配列は含まれていない。

(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

本組換えオンシジウムには、組換え体の作出に用いられた pCAMBIA1390-pCHRC-PSYi の配列の約 6 kbp の T-DNA 領域 2 コピー及びベクター骨格の T-DNA 領域以外の配列が宿主核ゲノム配列に挿入されたと推察された (図 15) (別紙 2、別紙 3、別紙 4)。

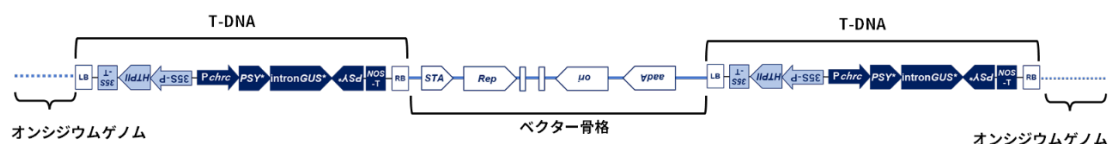


図 15 本組換えオンシジウムゲノムに挿入された外来遺伝子構造物の模式図

ロ. 宿主に移入された核酸の移入方法

宿主植物への外来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の方法

2009 年 8 月から 11 月にかけて、本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の PLB に pCAMBIA1390-pCHRC-PSYi を保持したアグロバクテリウムに感染させた後、ハイグロマイシン B (30 ppm) を含む培地で選抜・培養した (Liu *et al.*, 2019)。

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

無菌培養下で維持する本組換えオンシジウムから採取した葉片及び根片をカナマイシン含有 (200 ppm) 及び非含有 0.5×MS 寒天培地に静置、または、無菌水に葉片を入れて懸濁後の上清をカナマイシン含有 (200 ppm) 及び非含有 0.5x MS 寒天培地に塗布し、それぞれ室温・暗所下で 1 週間培養し、バクテリアの増殖がないことを確認することで、選抜後の本組換えオンシジウムにアグロバクテリウムが残存しないことを確認した (別紙 6)。

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

本組換えオンシジウムの育成図は図 1 及び図 16 に示した。1) で鉢上げした 50 系統について、花色を評価したところ、約 60%が淡黄色から白色の花弁を示した (Liu *et al.*, 2019)。さらに選抜を進め、最終的に、完全に白色の花を有し、花色以外の形質は宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統と違いがない系統として、本組換えオンシジウム、ハニースノー系統 1 系統が単離された (図 16)(Liu *et al.*, 2019)。

本組換えオンシジウムは選抜後、台湾ではおよそ 10 世代栄養体繁殖が行われており、台湾における生物多様性影響評価に必要な情報の収集には第 4 世代が使用された。筑波大学つくば機能植物イノベーション研究センターは、第 6 世代及び第 7 世代が輸入されており、生物多様性影響評価の一部の試験は、第 7 世代及びその後代を使用して実施された (図 16)。

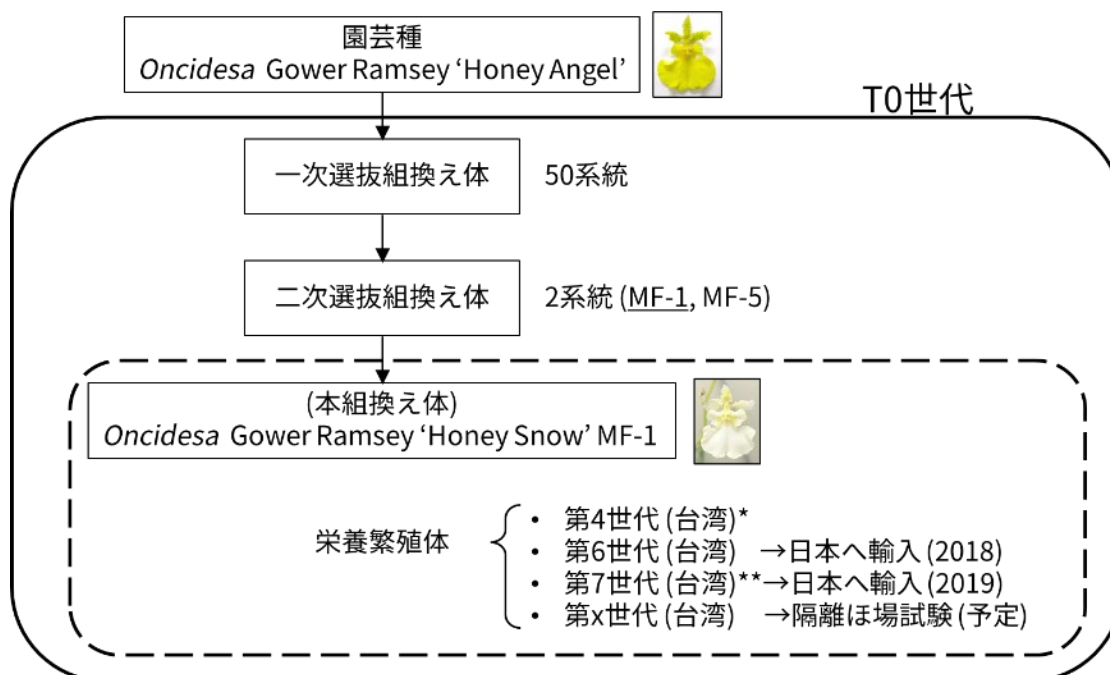


図 16 生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いた系統

*及び**を付けた系統（栄養繁殖体）を生物多様性影響に用いた。実線内は全て T0 世代、破線内は承認範囲を示す。

* 台湾でのフィールド調査（生物多様性影響試験）に用いた系統（栄養繁殖体）

** わが国での生物多様性影響評価試験に用いた系統（栄養繁殖体）

(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（染色体上、細胞小器官内、原形質内の別）

本組換えオンシジウムと非組換えオンシジウム（園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統）の葉から、ゲノム DNA を抽出し、サザンハイブリダイゼーションを行い、pCAMBIA1390-pCHRC-PSYi ベクターに由来する外来遺伝子がゲノム中の 1 か所にのみ安定して組み込まれていることを確認した（図 17）。

Ti プラスミドベクター及びアグロバクテリウムを用いた植物の形質転換では、Ti プラスミドベクターの T-DNA 領域のみが宿主植物の核ゲノム DNA 中に導入されることが多いが、非 T-DNA 領域の配列が核ゲノム DNA 中に導入される場合もある。本組換えオンシジウムの核ゲノム DNA 中における非 T-DNA 領域の存在を確認したところ、T-DNA 領域に加えて、pCAMBIA1390-pCHRC-PSYi プラスミドの非 T-DNA 領域のうち、pVS1 プラスミド由来の *StaA* 遺伝子及び *RepA* 遺伝子、pBR322 プラスミド由来の *aadA* 遺伝子及び複製開始点の DNA 断片が本組換えオンシジウムのゲノム DNA 中に移入されていることを確認した（別紙 2）。さらに、インバース PCR 法にて、外来遺伝子構造物と隣接するオンシジウムゲノム配列を決定し、本組換えオンシジウムにおける外来挿入遺伝子の構造及び外来遺伝子構造物と隣接する

オンシジウムゲノム配列を決定した (別紙 3)。

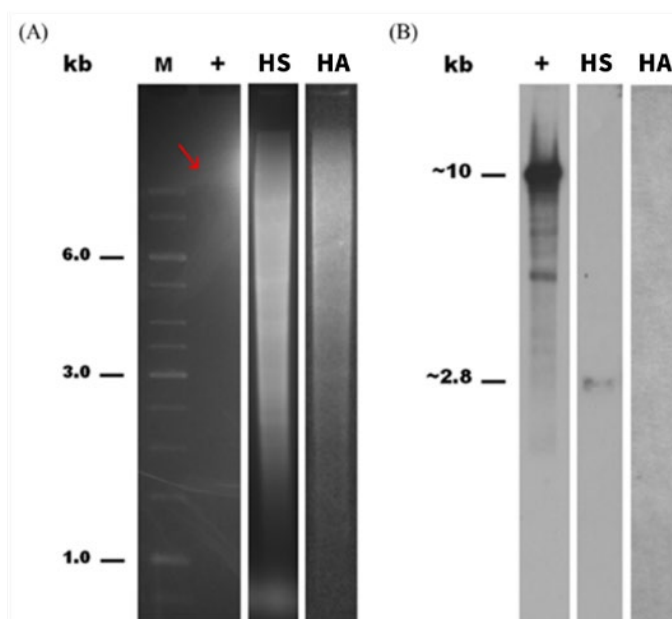


図 17 導入遺伝子の宿主核ゲノムへの組み込みの確認

本組換えオンシジウム (ハニースノー: HS) 及びその宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統 (HA) から抽出したゲノム DNA 40 μ g を制限酵素 *EcoRV* で一晩切断処理し、1%アガロースゲル電気泳動で展開した後、ナイロンメンブレンへトランスファーした。陽性コントロールとして pCAMBIA1390 プラスミド DNA 10 ng を用いた (+)。プローブには、組換えオンシジウムの作出に用いた pCAMVBIA1390-pCHRC-PSYi ベクターの T-DNA 上に座乗するハイグロマイシン耐性遺伝子 (*HPTII*) の部分配列を用いた。³²P 標識したプローブはオートラジオグラフィーにより検出した。本組換えオンシジウムのゲノム DNA 消化物から、約 2.8 kbp 付近にただ 1 本のバンドが得られたことから、本組換えオンシジウムの外来遺伝子の挿入箇所は、1 か所であると推定された。

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

サザンハイブリダイゼーションにより、外来核酸は、本組換えオンシジウムのゲノム中のただ 1 か所であることが確認されている (図 16)。一方で、Ti プラスミドベクター中のベクターフレームの配列が PCR により増幅された (別紙 2)。このことから、外来核酸の移入は、本組換えオンシジウムゲノム中のただ 1 か所にベクターフレームをはさみ T-DNA 配列が少なくとも 2 コピー以上タンデムで挿入されていると考えられた (別紙 3)。そこで、定量ゲノミック PCR により本組換えオンシジウムゲノム中の T-DNA 領域及び非 T-DNA 領域の外来遺伝子構造物のコピー数を推定

したところ、T-DNA 領域及び非 T-DNA 領域の挿入数は 2 及び 1 程度と特定した (図 15, 別紙 4)。

本組換えオンシジウムは、雌雄両配偶子形成に機能欠失があり子孫は残せないため、後代における移入された核酸の伝達の安定性は評価していない。

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

本組換えオンシジウムには、複数コピーの T-DNA 配列の挿入が推察されるが、サザンハイブリダイゼーションで 1 つのバンドのみを検出し、かつ、インバース PCR による挿入位置に隣接するオンシジウムゲノム配列が決定されたことから、ゲノムの 1 か所にのみ挿入されていると結論した。

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

—

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

—

(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

本組換えオンシジウムは、導入核酸中の人為的に連結されたセグメント間、具体的には、*PChrc* プロモーター及び RNAi 分子中の *GUS* 部分配列に設計したプライマー対を用いたゲノミック PCR による検出及び非組換え体との識別が可能である (図 18、別紙 6)。PCR による検知法の詳細な実験条件は、別紙 7 に示す。図 18 に示す通り、根、花梗、葉のいずれの器官から抽出した 100-250 ng のゲノム DNA から検出が可能である。

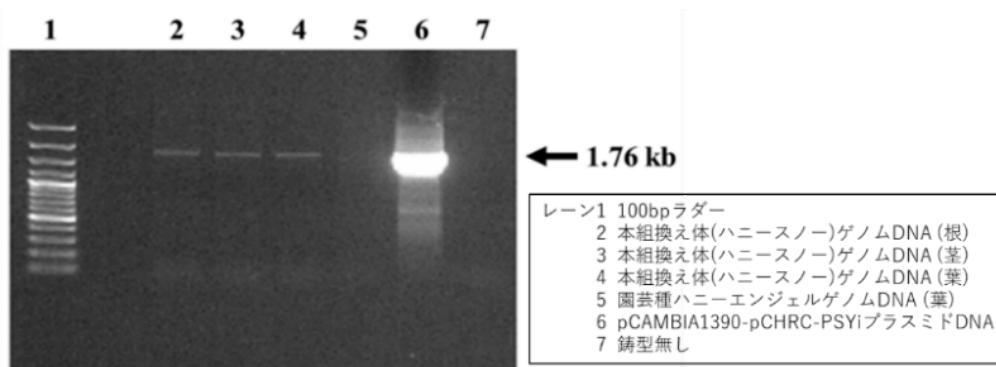


図 18 本組換えオンシジウムの PCR 法による検出の概要

詳細については別紙 7 として示す。

(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または形態学的特性の具体的な内容

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の花は黄色であるが、本組換えオンシジウムでは花器官でカロテノイド生合成系の鍵酵素であるフィトエンシンターゼをコードする *PSY* 遺伝子を RNA 干渉により発現抑制することで、花色が白色に変化した (図 19) (Liu *et al.*, 2019)。

また、選抜マーカーとして、*HPTII* 遺伝子を共導入されたため、抗生物質ハイグロマイシン B に対して耐性が付与されている。

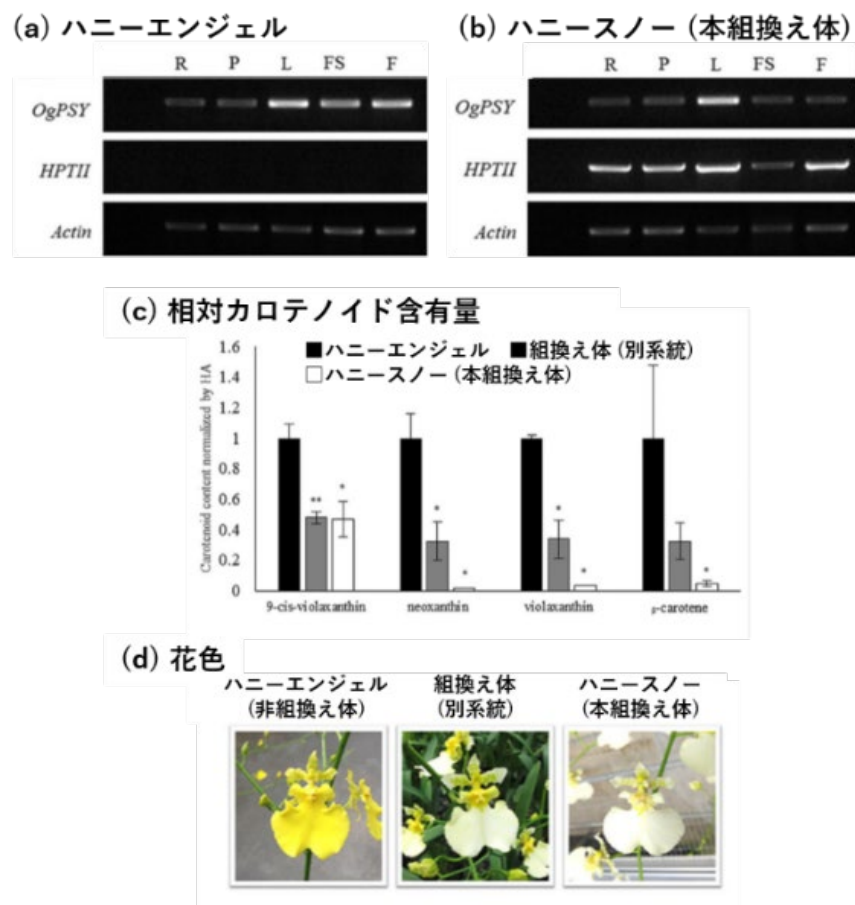


図 19 本組換えオンシジウムとその宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統との相違点

(a)(b) RT-PCR による園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統及び本組換えオンシジウム (ハニースノー) の各器官 (R: 根、P: 偽鱗茎、L: 葉、FS: 花茎、F: 花) における内生フィトエンシンターゼ遺伝子の転写物量。(c) 園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を 1 としたときの花における各種カロテノイドの相対含有量。(d) 園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統及び本組換えオンシジウムの花色。Liu *et al.* (2019) より転載・改変。

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相違の有無及び相違がある場合にはその程度

1) 形態及び生育の特性

台湾で実施された研究ほ場試験の結果では、本組換えオンシジウムと本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の間で花色以外の形質、具体的に、葉の枚数、PLB 培養からバルブ数、節数、花成までの日数、花の大きさ、花の形状、花数に違いはなかった（表 6）。

表 6 台湾で行われたほ場試験による本組換えオンシジウム（ハニースノー）とその宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統との形態及び生育の比較

	ハニーエンジェル		ハニースノー		P 値 ^b
	平均値 ^a	標準誤差 ^a	平均値 ^a	標準誤差 ^a	
シュート当たりの葉数	4.8	0.1	4.6	0.2	0.56
偽鱗茎数	1.0	0.0	1.0	0.0	—
節数	2.4	0.2	2.4	0.2	0.66
花成時間	(低温期 ^c) 51.4 (日)	1.1	50.7 (日)	1.1	0.75
	(高温期 ^d) 44.6 (日)	0.8	45.3 (日)	0.5	0.62
花の大きさ	(幅) 2.35 (cm)	0.01	2.37 (cm)	0.01	0.69
	(縦) 3.30 (cm)	0.01	3.31 (cm)	0.01	0.86
花の形状	Flat with wide lip	—	Flat with wide lip	—	—
花色	明るい黄色	—	白色	—	—
花茎たりの花数	162.1	1.7	174.6	1.3	0.61

^a 10 個体を用いた試験から得た観測値の平均又は標準誤差を示す

^b t 検定による有意確率（各 n= 10）

^c 栽培期：3 月～5 月

^d 栽培期：6 月～8 月

2) 生育初期における低温又は高温耐性

オンシジウムの商業栽培において、台湾南部（嘉義市や台南市）では夜温が 5～6℃まで下がる日が 2～3 日続くことがあるが、植物にはダメージがないことが経験的に知られている。また、台湾内陸部（南投市、台中市）では夜温が 0℃近く

まで下がり、霜が下りることもある。霜が下りた葉は、部分的に障害を受けるが、すぐに回復し、枯死することがないことが経験的に知られている。

高温に関しては、台湾の栽培地域で障害の報告はないが、オンシジウムは、強い日差しには弱いので、通常、夏季は寒冷紗で 50%程度遮光して栽培する。

本組換えオンシジウムとその宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の間の相違は、花色のみであり、生育初期における低温又は高温耐性に違いあるとは考えにくい。

3) 成体の越冬性又は越夏性

通常の商業栽培では、PLB 培養により増殖するため、台湾での越冬性のデータはない。

オンシジウム（オンシデッサ属）に関する越夏性に関してはあまり情報がないが、その祖先であるオンシジウム属及びゴメサ属は、中南米の低緯度地域に分布するものの、両属とも多くは冷涼で湿度の高い山間部に生育する樹木に気根を出して着生するため（岡田, 1992; 洋ラン大全編集部, 2018）、高温にもそれ程強くない。また、台湾の栽培地域でも、通常、夏季は寒冷紗で 50%程度遮光して栽培しており、強い日差しには弱い。

本組換えオンシジウムとその宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統の間の相違は、花色のみであり、成体の越冬性又は越夏性に違いあるとは考えにくい。

4) 花粉の稔性及びサイズ

前述の通り、本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ及びその派生園芸種は、稔性のある花粉を形成することができない。また前述の通り、園芸種ゴワーラムゼイ及びその派生園芸種は花粉及び花粉塊の形成は見られるものの、花粉稔性を有するオンシデッサ属植物と比較し、小さく奇形である（図 7、図 8）。本組換えオンシジウムにおいても、その宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統との正逆交雑試験や他ラン科植物の種間交雑試験により、稔性がないことが確認されたことから、花粉の稔性はないことを確認した（表 3、表 4）。

表 3 本組換えオンシジウムとその宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統との正逆人工交雑試験

種子親 X 花粉親	ハニーエンジェル系統 X ハニースノー 系統（本組換え体）	ハニースノー系統（本組換え体） X ハニーエンジェル系統
交配筒花数	30(10)	25(10)
交雑率	0/30(10)	0/25(10)

表 4 本組換えオンシジウムの花粉と他種との種間交雑試験

		種子親		
		<i>Oncsa.</i> Twinkle 'Red'	<i>Oncsa.</i> Kaizumic Dilight 'Green Stone'	<i>Phalenopsis</i> <i>Aphrodite</i> 'N2K01'
花粉親	ハニーエンジェル （園芸種）	0/2	0/6	0/6
	ハニースノー （本組換え体）	0/2	0/6	0/6
	自家交雑	0/2	0/2	0/2

5) 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

園芸種ゴワーラムゼイ及びその派生園芸種では、稔性のある配偶子ができないため、種子は得られない。本組換えオンシジウムにおいても、園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統と同様に種子は得られない。

6) 交雑率

前述の通り、園芸種ゴワーラムゼイ及びその派生園芸種では、稔性のある配偶子ができないため、種子は得られない。本組換えオンシジウムにおいても、その宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統との正逆交雑試験や他ラン科植物の種間交雑試験により、稔性がないことが確認されたことから、花粉の稔性はないことが確認されている（表 3、表 4）。

7) 有害物質の産生性

オンシジウム園芸種において、有害物質産生性の報告はない。本組換えオンシジウムにおける、i) 根から分泌され他の植物に影響を与える可能性のある有害物質

の産生性、ii) 根から分泌され土壌微生物に影響を与える可能性のある有害物質の産生性、及び iii) 植物が枯死した後に他の植物に影響を与える可能性のある有害物質の産生性の試験として、土壌微生物の平板培養試験（土壌の代わりに水苔を調査）及びサンドイッチ試験を実施し、いずれの結果においても、園芸種ゴワラムゼイ・ハニーエンジェル系統と本組換えオンシジウムの間で有意な差は検出されなかった（Ko *et al.*, 2019）（別紙 8）。

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：茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1 (図 20、図 21、図 22)

名称：筑波大学つくば機能植物イノベーション研究センター

遺伝子実験センター模擬的環境試験ほ場Ⅲ（隔離ほ場）

使用期間：承認日から令和 7 年 5 月 31 日

① 隔離ほ場の施設（図 23）

- 1) 部外者の立入を防止するため、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、本組換えオンシジウムの残渣等を洗浄によって除去するための洗い場を設置するとともに、当該オンシジウム植物体の隔離ほ場の外への漏出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- 4) 本組換えオンシジウムの栽培は鉢で行い、越冬性、越夏性試験以外の調査は隔離ほ場区画内に設置したビニール温室にて行う。

② 隔離ほ場での作業要領

- 1) 本組換えオンシジウム及び比較対照の非組換えオンシジウム以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを、除草管理により最小限に抑える。
- 2) 本組換えオンシジウムを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該オンシジウムが漏出しない構造の容器に入れる。
- 3) オンシジウムに自然条件下での栄養繁殖性及び種子繁殖はないため、(2)により運搬又は保管する場合を除き、本組換えオンシジウムの栽培終了後は、当該オ

657 オンシジウム及び比較対照の非組換えオンシジウムの根を含めた植物体全体を細
658 断して隔離ほ場内にすき込むか、オートクレーブ等で不活化後廃棄する。ただ
659 し、花については、オートクレーブ等で不活化後、廃棄する。

660 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
661 こと等により、意図せずに本組換えオンシジウムが隔離ほ場の外に持ち出され
662 ることを防止する。

663 5) 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
664 行う。

665 6) 1)から 5)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。

666 7) 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は、別に定
667 める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。

668

669 (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
670 —

671

672 (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
673 の措置
674 本申請書に添付した緊急措置計画書を参照

675

676 (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
677 等の結果
678 —

679

680 (6) 国外における使用等に関する情報

681 本組換えオンシジウムは、台湾国立大学植物科学研究所の葉開温教授のグループに
682 より育成された (Liu *et al.*, 2019)。2016 年 10 月に、第二種使用目的で、筑波大学
683 に導入されている。以後、筑波大学で、同上の葉教授との共同研究として、第二種使
684 用として、温室での実用栽培に近い条件で栽培室にて、生物多様性影響評価と他形質
685 評価を行ってきている。台湾では、2017 年に行政院農業委員会 (Council of
686 Agriculture) により、栽培植物の展示と一般栽培が承認されている。米国では、農務
687 省動植物検疫所 (USDA-APHIS) の AIR (Am I Regulated) 制度にて、2020 年 6 月に
688 日本あるいは台湾から本組換えオンシジウムの切り花の米国への輸入ができることが
689 認められている。

690

第二 項目ごとの生物多様性影響評価

1. 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種は、配偶子形成に係る減数分裂の過程に欠陥があり、稔性を有す花粉及び花粉塊を形成することはない（図 7、図 8）（高ら, 2019; Ko *et al.*, 2019）。

一方で、バルブを形成するラン科植物では、花が終わった後のバルブから、翌年、花序が生じた部位の反対側から新たな茎頂が生じ、それが新たなバルブへと成長することが可能である。このため、人為的にバルブを切り分けることで、低頻度の栄養増殖は可能ではある（塚本, 1956）。栄養繁殖は人工的に管理された環境でのみ見られる現象であり、自然界では有性増殖による繁殖が一般的である（塚本, 1956）。

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種は、5～6℃に保つことで越冬させることができることが知られる（岡田, 1992）。わが国における洋ラン栽培は、ほぼすべて施設園芸であり、露地での越冬性に関する知見は少ないが、本第一種使用等を実施する茨城県つくば市では、12 月から 3 月までの間、日最低気温の平均値が 5℃以下となることから自然環境中での越冬は難しいと考えられる（表 7、表 8）。

本組換えオンシジウムとその宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統との相違は、花色と抗生物質ハイグロマイシンへの耐性であり、その他の生態及び生育に相違はない（第一の 2 の(6)の②の 1 及び表 3）。花色の黄色から白色への変化により訪花昆虫相に変化が起こる可能性はある。しかし、本組換えオンシジウム及び本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種の送粉昆虫はわが国で特定されていないこと、また、そもそも本組換えオンシジウム及び本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種は、稔性のある花粉及び花粉塊を形成しないことから、訪花昆虫の変化が本組換えオンシジウムの自然界における競合における優位性に作用する可能性は低いと考えられる。抗生物質ハイグロマイシン耐性が付与された遺伝子組換え植物はこれまでに多数の使用例があり、自然環境下で競合の優位性に作用したという報告はされていない（EFSA Panel on Genetically Modified Organisms, 2004）。

本組換えオンシジウムには、T-DNA 領域以外にベクター骨格由来の DNA 断片が挿入されている。ベクター骨格由来には、*Pseudomonas* 属細菌の pVS1 プラスミドに由来する *StaA* 遺伝子及び *RepA* 遺伝子、大腸菌の pBR322 プラスミド由来の *aadA* 遺伝子が含まれるが、本組換えオンシジウム中では発現しないことが確認されており、競合の優位性に作用することはない。

以上から、第一種使用規程に従い本組換えオンシジウムを隔離ほ場で栽培する限り、本組換えオンシジウムが隔離ほ場で繁殖するおそれはなく、かつ、本組換えオンシジウムは、非組換えオンシジウムに比べて競合における優位性が高まるとは考え難く、ばかりでなく、かつ、本申請においては隔離ほ場で栽培に限定されることから、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されない。

(2) 影響のある具体的な内容

—

(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

本組換えオンシジウムを第一種使用規程に従って使用等した場合に、競合における優位性について影響を受ける野生動植物等が特定されなかったことから、生物多様性影響が生じるおそれはないと判断した。

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

オンシジウムが日本の自然生態系に対して生物多様性に著しく影響を生じさせるような有害物質を産生しているという報告はされていない（第一の 1 の(3)の④の 4) の f)。

本組換えオンシジウムに導入した目的遺伝子は、内生の *PSY* 遺伝子の転写抑制する RNAi 分子であり、かつ、花器官で特異的に発現する。このため、花器官でのカロテノイド生合成の代謝のみに影響を与えるが、花器官での揮発性炭化水素等、その他の代謝系に直接影響しないと考えられる。

ハイグロマイシン B リン酸基転移酵素は、ハイグロマイシン B をリン酸化する酵素であるが、基質特異性が高く、ハイグロマイシン B 類似のアミノグリコシド系抗生物質の一部の化合物のみをリン酸化することが報告されており、宿主の代謝系を変化させることはないものと考えられる。

本組換えオンシジウムには、T-DNA 領域以外にベクター骨格由来の DNA 断片の一部または全部が挿入されていることが確認されている。ベクター骨格由来には、*Pseudomonas* 属細菌の pVS1 プラスミドに由来する *StaA* 遺伝子及び *RepA* 遺伝子、大腸菌の pBR322 プラスミド由来の *aadA* 遺伝子が含まれるが、本組換えオンシジウム中では発現しないことが確認されており、宿主の代謝系を変化させることはないものと考えられる。

加えて、また、第一の2の(6)の②の7)に記したとおり、本組換えオンシジウムと非組換えオンシジウムとの比較から、根圏土壌法及びサンドイッチ法によるバイオアッセイによって他の植物に対する有害物質の産生性に有意差が検出されず、希釈平板法により栽培土壌中の主要微生物の集団頻度においても有意差が検出されなかった。

これらのことより、有害物質の産生性において本組換えオンシジウムより直接的な影響を受ける可能性が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

—

(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

本組換えオンシジウムを第一種使用規程に従って使用等した場合に、有害物質の産生性について影響を受ける野生動植物等が特定されなかったことから、生物多様性影響が生じるおそれはないと判断した。

3. 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含むオンシデッサ属は人工交雑属であり、野生には存在しない。また、オンシデッサ属の交雑親にあたるオンシジウム属及びゴメサ属の自然分布は、中南米カリブ地域及び南米大陸太平洋側地域であり、わが国にそれらの野生種は存在しない。

また、本組換えオンシジウム及びその宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含むゴワーラムゼイ派生園芸種は、配偶子形成に係る減数分裂の過程に欠陥があり、稔性を有す雌雄いずれの配偶子も形成することはないことが強く示唆される(表4, 図7, 図8)(高ら, 2019; Ko *et al.*, 2019)。

本組換えオンシジウムに導入された供与核酸は配偶子形成に関与しない。また、交雑試験でも、本組換えオンシジウムが稔性を持たないことが確認されている(表2, 表3)。

これらのことより、本組換えオンシジウムは自他を問わず交雑することはないため、交雑する可能性がある野生種は特定されない。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

799

800 (3) 影響の生じやすさの評価

801 —

802

803 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

804 本組換えオンシジウムと交雑可能な野生種は特定されなかったことから、生物多様
805 性影響が生じるおそれはないと判断した。

806

807 4. その他の性質

808 該当しない。

809

810 第三 生物多様性影響の総合的評価

811 競合における優位性について：

812 オンシジウムは、愛好家による栽培も含め国内においてオンシジウムは 100 年以
813 上栽培されてきた歴史があるが、これまでに野外に逸出して自然条件下で定着した
814 との報告はない。また、わが国よりもさらに温暖な風土を持ち、かつ、大規模なオン
815 シジウムの商業栽培が行われている台湾においても、これまでに野外に逸出して自
816 然条件下で定着したとの報告はない。

817 本組換えオンシジウムは、園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統に、花器
818 官特異的なカロテノイド生合成の抑制、及び、抗生物質ハイグロマイシン耐性を付与
819 したものであり、その他の生態及び生育について、園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエ
820 ンジェル系統との間で相違はない。また、花器官特異的なカロテノイド生合成の変化
821 に伴う花色の黄色から白色への変化により、訪花昆虫相に変化が起こる可能性はあ
822 る。しかし、本組換えオンシジウム及び本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴ
823 ワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種の送
824 粉昆虫はわが国で特定されていないこと、また、そもそも本組換えオンシジウム及び
825 本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統
826 を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種は、稔性のある花粉及び花粉塊を形成しな
827 いことから、訪花昆虫の変化が本組換えオンシジウムの自然界における競合におけ
828 る優位性に作用する可能性は低いと考えられる。また、本組換えオンシジウムには、
829 T-DNA 領域以外にベクター骨格由来の DNA 断片が挿入されているが、ベクター骨
830 格上の遺伝子は本組換えオンシジウム中では発現しないことが確認されており、競
831 合の優位性に作用することはない。このことから、本組換えオンシジウムは、園芸種
832 ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統に対して競合における優位性はないと考え
833 られる。

834 以上のことから、本組換えオンシジウムの競合における優位性に起因する生物多
835 様性影響が生じるおそれはないと判断された。

836 有害物質産生性について：

838 オンシジウムが日本の自然生態系に対して生物多様性に著しく影響を生じさせる
839 ような有害物質を産生しているという報告はない。

840 本組換えオンシジウムでは、花器官特異的にカロテノイド生合成の鍵酵素の一つ
841 である、フィトエンシンターゼをコードする内生の *PSY* 遺伝子の転写が抑制される。
842 このため、花器官において、カロテノイド生合成が抑制されることで、宿主の黄花か
843 ら白花に花色が変化している。その一方で、花器官における他の代謝系、及び花器官
844 以外での代謝系には影響がないと考えられる。

845 加えて、本組換えオンシジウムは、*HPTII* 遺伝子によりハイグロマイシンホスホ

トランスフェラーゼが発現しているが、ハイグロマイシンホストトランスフェラーゼが生物多様性に影響を与える有害物質として作用するという報告はない（EFSA Panel on Genetically Modified Organisms, 2004）。

本組換えオンシジウムには、T-DNA 領域以外にベクター骨格由来の DNA が挿入されているが、ベクター骨格上の遺伝子は本組換えオンシジウム中では発現しないことが確認されており、有害物質を産生することはない。

また、第一の 2 の(6)の②の 7) に記したとおり、本組換えオンシジウムと非組換えオンシジウムとの比較から、根圏土壌法、サンドイッチ法及び希釈平板法のいずれの手法を用いた場合も、他の植物や栽培土壌中の微生物に与える潜在的な影響に違いは認められなかった。

以上のことから、本組換えオンシジウムの有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないと判断された。

交雑性について：

本組換えオンシジウムの宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含むオンシデッサ属は人工交雑属であり、わが国を含めその野生種は自然界に存在しない。

加えて、本組換えオンシジウム、及び、その宿主である園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含む園芸種ゴワーラムゼイ派生園芸種は、配偶子形成に係る減数分裂の過程に欠陥があり、稔性を有す雌雄いずれの配偶子も形成することはないと強く示唆される（表 4、図 7、図 8）（高ら, 2019 ; Ko *et al.*, 2019）。また、本組換えオンシジウムに導入された供与核酸は、いずれも、園芸種ゴワーラムゼイ・ハニーエンジェル系統を含むゴワーラムゼイ派生園芸種の稔性不稔を回復させる機能は有しない。このことは、本組換えオンシジウムを用いた交雑試験でも確認されている（表 2、表 3）。

これらのことより、本組換えオンシジウムは自他を問わず交雑することはないため、交雑する可能性がある野生種は特定されない。

以上のことから、本組換えオンシジウムの交雑性に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないと総合的に判断される。

- 引用文献
- American Orchid Society. Orchids Plus (オンライン) <https://www.orchidsplus.com/orchid-abbreviations/> (引用日: 2020 年 5 月 4 日)
- Barker RF, Idler KB, Kemp JD. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Mol. Biol.* 2: 335-350, 1983
- Kononov ME, Bassuner B, Gelvin SB. Integration of T-DNA binary vector 'backbone' sequences into the tobacco genome: evidence for multiple complex patterns of integration. *Plant J.* 11: 945-957, 2002
- Bevan MW, Flavell RB, Chilton MD. A chimeric antibiotic resistance gene as a selectable marker for plant cell transformation. *Nature* 304: 184-187, 1983
- Cavanas MJ, Vazoquez D, Modolell J. Dual interference of hygromycin B with ribosomal translocation and with aminoacyl-tRNA recognition. *Eur. J. Biochem.* 87: 21-27, 1978
- Chiou CY, Wu K, Yeh KW. Characterization and promoter activity of chromoplast specific carotenoid associated gene (CHRC) from *Oncidium* Gower Ramsey. *Biotechnol. Lett.* 30: 1861-1866, 2008
- De Buck S, De Wilde C, Van Montagu M, Depicker A. T-DNA vector backbone sequences are frequently integrated into the genome of transgenic plants obtained by *Agrobacterium*-mediated transformation. *Molecular Breeding* 6: 459-468, 2000
- EFSA Panel on Genetically Modified Organisms. Opinion of the Scientific Panel on Genetically Modified Organisms on the use of antibiotic resistance genes as marker genes in genetically modified plants. 48: 1-18, 2004
- Gritz L, Davies J. Plasmid-encoded hygromycin B resistance: the sequence of *hygromycin B phosphotransferase* gene and its expression in *Escherichia coli* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Gene* 25: 179-188, 1983
- Heeb S, Itoh Y, Nishijyo T, Schnider U, Keel C, Wade J, Walsh U, O'Gara F, Haas, D. Small, stable shuttle vectors based on the minimal pVS1 replicon for use in gram-negative, plant-associated bacteria. *Mol. Plant Microbe. Interact.* 13: 232-237, 2000
- Itoh Y, Haas D. Cloning vectors derived from the *Pseudomonas* plasmid pVS1. *Gene* 36: 27-36, 1985
- Ko SS, Liu YC, Chung MC, Shih MC, Mohammadmehdi H, Oguchi T, Watanabe KN, Yeh KW. Environmental biosafety assessment on transgenic *Oncidium* orchid modified by RNA interference of *Phytoene Synthase* genes. *Plant Biotechnology* 36: 181-185, 2019
- Liu YC, Yeh CW, Chung JD, Tsai CY, Chiou CY, Yeh KW. Petal-specific RNAi-mediated silencing of the *phytoene synthase* gene reduces xanthophyll levels to generate new

Oncidium orchid varieties with white-colour blooms. *Plant Biotechnology J.* 17: 2035-2037, 2019
 Mitsuhashi I, Ugaki M, Hirochika H, Ohshima M, Murakami T, Gotoh Y, Katayose Y, Nakamura S, Honkura R, Nishimiya S, Ueno K, Mochizuki A, Tsugawa H, Otsuki Y, Ohashi Y. Efficient promoter cassettes for enhanced expression of foreign genes in dicotyledonous and monocotyledonous plants. *Plant Cell Physiol.* 37: 49-59, 1996
 Rao RN, Hobbs JN, Alborn Jr WE, Kirst HA, Paschal JW. Genetic and enzymatic basis of hygromycin B resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother* 24: 689-695, 1983
 The Royal Botanic Gardens, Kew. World Checklist of Selected Plant Families (*Oncidium*). (オンライン) https://wcsp.science.kew.org/namedetail.do?name_id=139096. (引用日: 2020 年 6 月 25 日)
 The Royal Botanic Gardens Kew. World Checklist of Selected Plant Families (*Gomesa*). (オンライン) https://wcsp.science.kew.org/namedetail.do?name_id=91261. (引用日: 2020 年 6 月 25 日)
 Yin Z., Wang GL. Evidence of multiple complex patterns of T-DNA integration into the rice genome. *Theoretical and Applied Genetics* 100: 461-470, 2000
 岡田弘. 園主が教える図解洋ランづくりコツのコツ. 東京, 農山漁村文化協会, 1992
 高玉莹, 时欢, 王云, 陈燕, 赖钟雄, 叶开温, 高玉莹. 文心兰不育花粉粒形态学观察及相关基因的克隆及表达分析 (訳: オンシジウム不稔花粉粒の形態学的観察及び関連遺伝子のクローニングと発現分析). *西北植物學報* 38: 17-26, 2019
 塚本洋太郎. 原色薔薇洋蘭図鑑, 大阪, 保育社, 1956
 洋ラン大全編集部. 洋ラン大全—有料花から珍ラン奇ランまで—, 東京, 誠文堂新光社, 2018
 磯原豊司雄, 鎌田博. アグロバクテリウム感染系—Ti プラスミド、Ri プラスミドを用いて—. *化学と生物* 29: 659-665, 1991

緊急措置計画書

令和3年11月25日

氏名 国立大学法人 筑波大学
学長 永田 恭介
住所 茨城県つくば市天王台一丁目1番1

第一種使用規程の承認を申請している白花オンシジウム（*PSYi*；*Oncidesa* Gower Ramsey）（Honey Snow, MF-1）（以下、本 LMO という）の第一種使用等において、生物多様性への影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊学は生物多様性への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、こうした危険度を軽減する方法への協力などを必要に応じて行う。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、生物多様性への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。なお、生物多様性への影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本 LMO に関して、科学的にわ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とるための実施体制及び責任者は以下に示す通りとする。

令和4年6月現在

筑波大学遺伝子組換え実験安全委員会 委員	
生命環境系・教授	
生命環境系・准教授	
生命環境系・教授	
生命環境系・助教	
生命環境系・准教授	個人情報のため非開示
人間系・教授	
生命環境系・准教授	
医学医療系・准教授	
医学医療系・准教授	
医学医療系・准教授	
生命環境系・准教授	

医学医療系・教授		
医学医療系・准教授		
生命環境系・教授		個人情報のため非開示
生存ダイナミクス研究センター・講師		
国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 食品研究部門 食品加工・素材研究領域・バイオ素材開発グループ・上級研究員		

962

963 2 第一種使用等の状況の把握の方法

964 第一種使用等の状況は、実験従事者から得られた情報により把握するとともに、筑波大
965 学遺伝子組換え実験安全委員会の委員による査察を行う。

966

967 3 第一種使用等をしている者に緊急措置に従って対処する必要があること及び緊急措置の
968 内容を周知するための方法

969 実験従事者に直接口頭で伝え、事実を記録する。

970

971 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
972 具体的な措置等

973 生物多様性影響を生ずる恐れがあると認められた場合は、直ちに本組換えオンシジウム
974 の栽培を中止し、栽培中の本組換えオンシジウムは隔離ほ場内に鋤き込み等による不
975 活化を行うよう実験従事者に対し、指示する。さらに、隔離ほ場周辺を調査し、環境中に
976 放出された本組換えオンシジウムが存在した場合は、それを回収し、隔離ほ場内に鋤き込
977 む等による不活化を行う。

978

979 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

980 生物多様性への影響が生じる可能性が示唆された場合、弊学はそのことを直ちに農林
981 水産省及び環境省に報告する。

隔離ほ場試験計画書

第一部 受容環境

1. 隔離ほ場の所在地等

(1) 名称

筑波大学つくば機能植物イノベーション研究センター
遺伝子実験センター模擬的環境試験圃場 III (隔離ほ場)

(2) 住所

茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1

(3) 電話番号

029-853-6006

(4) 地図

図 20 及び図 21 に示す。

2. 責任者等

(1) 隔離ほ場試験の責任者

【個人情報につき非開示】

(2) 隔離ほ場管理責任者

【個人情報につき非開示】

3. 試験期間

承認日から令和 7 年 5 月 31 日まで

4. 施設概要

部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むように、高さ 230 cm のフェンス (有刺鉄線、メッシュフェンス (メッシュの大きさ、縦 110 mm x 横 46 mm)、コンクリート基部) を設置している。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。土、遺伝子組換え体の残渣等が付着した隔離ほ場で使用した機械、器具及び靴等を洗浄するための洗い場を設置しているとともに、遺伝子組換え体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及び網等を設置している (図 22)。試験栽培期間中、隔離ほ場内に設置しているビニルハウスを使用し、出入り口及び側窓に防鳥網を準備した。

1016 5. 面積

1017 (1) 隔離ほ場全体の面積

1018 851 m²

1019 (2) 試験に使用する面積

1020 約 18.6 m²

1021 (3) 試験区の配置図

1022 図 22 に示す

1023

1024 6. 隔離ほ場の周辺環境

1025 (1) 隔離ほ場周辺の地形

1026 隔離ほ場のあるつくば市は茨城県の南西部の関東平野に位置する。隔離ほ場のあ
1027 る筑波大学は、筑波・稲敷台地と呼ばれる標高 20～30 m の関東ローム層に覆われ
1028 た平坦な地形に位置する。約 2.5 km 離れた場所には桜川があり、また南北に小貝
1029 川、谷田川、西谷田川などの河川がある。

1030 (2) 土地利用状況

1031 隔離ほ場の周辺は大学構内である。隔離ほ場の周構内は 6 m 以上の高さの街路
1032 樹で囲まれている。また、大学の周辺は、畑、民家が散在しているが、500 m 以上
1033 離れている。隔離ほ場から半径 500 m の範囲にはオンシジウム栽培農家はない。

1034 (3) 周辺の環境保護区

1035 隔離ほ場は、環境省の定める自然保護地域（国立公園、国定公園、自然環境保全
1036 地域等）ではない。また、最も近い自然保護地域は、水郷筑波国定公園の筑波地区
1037 及び水郷地区（霞ヶ浦）であり、茨城県土浦市の霞ヶ浦まで約 7 km である。

1038 (4) 気象条件の平年値

1039 ① 隔離ほ場の最寄りの気象庁の観測所である、つくば（館野）観測所（茨城県つく
1040 ば市長峰 1 番 2）における気象データの平年値を表 8 に示す。

1041 ② 隔離ほ場の最寄りの気象庁の観測所である、つくば（館野）観測所における過去
1042 3 年分の気象データを表 9 に示す。

1043 (5) 台風の襲来履歴

1044 隔離ほ場のある関東地域への過去 10 年間の台風の接近数を表 10 に示す。

1045 (6) 過去 10 年間の隔離ほ場冠水の状況

1046 大学構内の使用予定隔離ほ場及び周辺の隔離ほ場において、過去 10 年間にわた
1047 って冠水した記録はない。

1048 (7) 強風による被害の状況

1049 大学構内の使用予定の隔離ほ場及び周辺の隔離ほ場施設は、過去 10 年間にわた
1050 って被害を受けた記録はない。

(8) 市町村が策定するハザードマップ上の位置づけ

つくば市の災害ハザードマップでは浸水が想定される区域とはなっていない
(https://www.city.tsukuba.lg.jp/_res/projects/default_project/_page/001/000/602/p5-6.pdf)。

つくば市の災害ハザードマップでは、茨城県南部を震源とするマグニチュード
7.3 の地震又はつくば市の直下を震源とするマグニチュード 6.9 の地震が起きた場
合の震度は最大で震度 6 強が予想されている

(https://www.city.tsukuba.lg.jp/_res/projects/default_project/_page/001/000/602/p39-40.pdf)。

(9) 隔離ほ場における鳥獣害の被害

隔離ほ場にはフェンスが設置され、ビニルハウス出入り口及び側窓には網を設置
するが、鳥獣の被害が考えられる。

7. 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
能性のある野生動物等及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等
影響を受ける可能性のある野生動物等はない。

(2) 交雑可能な近縁野生種及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等
交雑可能な近縁野生種はない。

8. 栽培管理

(1) 栽培履歴

2018 年 7 月～2020 年 4 月までの青紫色ファレノプシス (CcF3'5'H, Phalaenopsis
Wedding Promenade)(311) の第一種使用 (18-46P-0002) が行われた。それ以前の
栽培履歴はない。

(2) 気象災害時の対応

気象災害が起こった場合、まず試験区域における被害状況を確認し、必要と判断し
た場合には緊急措置計画書に従って速やかに対策を講ずる。

(3) 栽培終了後の利用計画

現段階で、本遺伝子組換えオンシジウムの栽培終了後の栽培計画はない。

(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。

- 1087 (3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本組換えオンシジウム
1088 の残さ等を洗浄によって除去するための洗い場を設置するとともに、当該オ
1089 ンシジウムの隔離ほ場の外への漏出を防止するための設備を排水系統に設置
1090 している。
- 1091 (4) 本組換えオンシジウムの植物体が、野鳥等の食害により拡散することを防止
1092 するため、栽培期間中は防鳥網を設置する。なお、調査、作業のために防鳥網
1093 を外す場合には、できる限り短時間とし、作業終了後、直ちに再度設置する。
- 1094 (5) 本組換えオンシジウムの栽培は鉢で行う。また、越冬性、越夏性試験以外の
1095 調査はビニルハウスを設置して行う。

1096

1097 ② 隔離ほ場での作業要領

- 1098 (1) 本組換えオンシジウム及び比較対照の非組換えオンシジウム以外の植物
1099 が、隔離ほ場内で生育することを、除草管理により最小限に抑える。
- 1100 (2) 本組換えオンシジウムを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当
1101 該オンシジウムが漏出しない構造の容器に入れる。
- 1102 (3) オンシジウムに自然条件下での栄養繁殖性及び種子繁殖はないため、(2)
1103 により運搬又は保管する場合を除き、本組換えオンシジウムの栽培終了後
1104 は、当該オンシジウム及び比較対照の非組換えオンシジウムの根を含めた
1105 植物体全体を細断して隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化す
1106 る。ただし、花については、オートクレーブで不活化後、廃棄する。
- 1107 (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
1108 すること等により、意図せずに本組換えオンシジウムが隔離ほ場の外に持
1109 ち出されることを防止する。
- 1110 (5) 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
1111 理を行う。
- 1112 (6) (1)から(5)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
1113 る。
- 1114 (7) 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は、別
1115 に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。

1116 表 7 本組換えオンシジウムの生物多様性影響評価における調査項目の概要

調査項目	特定網 室試験	隔離ほ 場試験	調査方法	結果の概要
1. 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並びに染色体上に服コピーが存在している場合には、隣接しているか離れているかの別	○		サザン解析による解析した。	移入された核酸は組換え体ゲノム中の 1 か所にのみ存在した。
	○		栄養繁殖によって増殖した個体における安定性を確認した。	組換え体当代と栄養繁殖個体の間に差異は見られなかった。
	○		目的及び目的以外の移入された核酸及び隣接するゲノム塩基配列を解析した。	インバース PCR により、挿入位置に隣接するオンシジウムゲノム配列を単離し、シーケンスを決定した。
			定量ゲノミック PCR によりゲノム中の T-DNA 領域及び非 T-DNA 領域のコピー数を解析した。	T-DNA 領域及び非 T-DNA 領域の挿入数は 2 及び 1 程度と決定された。
2. 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について、自然条件下での個体間及び世代間での安定性	○		RT-PCR 法により解析した。	移入された RNAi の標的となる遺伝子の発現の低下を確認した。
	●		栄養繁殖によって増殖した個体間におけるその安定性を継続調査予定。	
3. 花色の安定性	○		目視による観察により調査した。	組換え体の花色は複数世代にわたり、白色で安定していた。

		●	隔離ほ場における花色の安定性を調査予定。	
4. 形態の特性	○		偽鱗茎、節数、花の大きさ、花の形状、花色、花茎あたりの花数を調査した。	宿主と組換え体の間で違いはなかった。
		●	隔離ほ場において上記と同様の調査を実施する予定。	
5. 生育の特性	○		葉数、花成時間を調査した。	宿主と組換え体の間で違いはなかった。
		●	隔離ほ場において同様の調査を実施する予定。	
6. 種子の生産量等		●	隔離ほ場においても稔実しないことを確認する予定。	
7. 幼苗の低温又は高温耐性		●	隔離ほ場における幼苗の生育を調査予定。	
8. 成体の越冬又は越夏性		●	隔離ほ場における越冬及び越夏を調査予定。	
9. 花粉稔性	○		花粉発芽率を調査した。	宿主、組換え体とも、花粉稔性はない。
10. 花粉のサイズ	○		花粉及び花粉塊のサイズを調査した。	宿主、組換え体とも花粉及び花粉塊は、稔性のある同属栽培種と比較し、奇形で小さい。
11. 交雑率	○		人工交配による正逆	宿主、組換え体と

			交配により交雑性を調査した。	も交雑性はない。
	○		人工交配により他園芸種との種間交雑性を調査した。	宿主、組換え体とも交雑性はない。
12. 有害物質の産生性				
根から分泌され他の植物に影響を与えるもの	○		根圏土壌法にて調査した。	宿主と組換え体の間で差異は認められなかった。
		●	隔離ほ場でポット栽培後の培土（水苔）について、根圏土壌法にて調査予定。	
根から分泌され土壌微生物に影響を与えるもの	○		平板培養法にて調査した。	宿主と組換え体の間で差異は認められなかった。
		●	隔離ほ場でポット栽培後の培土（水苔）について、平板培養法にて調査予定。	
植物体が内部に有し、枯死した後に他の植物に影響を与えるもの	○		サンドイッチ法にて調査した。	宿主と組換え体の間で差異は認められなかった。
		●	隔離ほ場でポット栽培した植物体について、サンドイッチ法にて調査予定。	
13. アグロバクテリウムの残存性	○		培養法及びアグロバクテリウムのゲノムに座上する遺伝子を標的とした PCR 法で残存性を調査した。	本組換え体にアグロバクテリウムの残存がないことが確認された。
14. 訪花昆虫		●	隔離ほ場にて訪花昆虫相の調査を予定。	

1117 ○：実施済み、●：実施予定

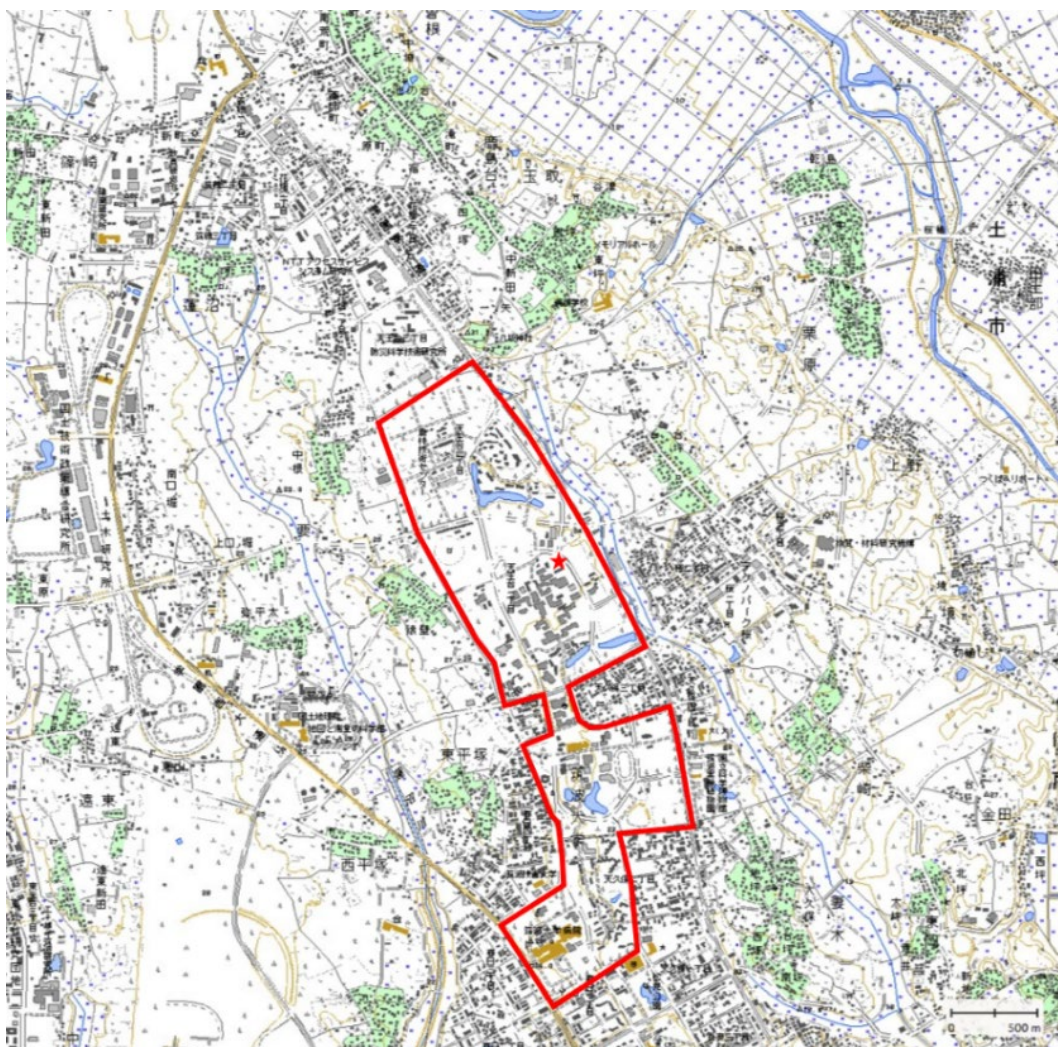
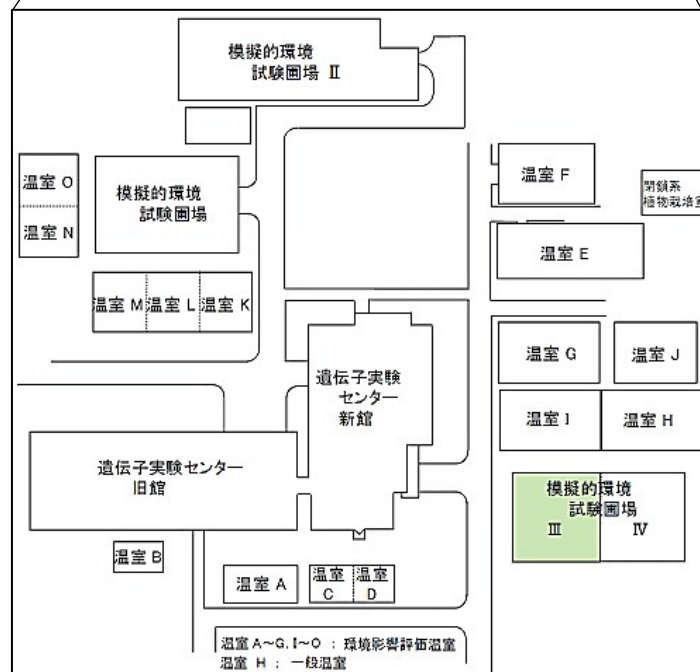


図 20 筑波大学地形図

国土交通省国土地理院 web サイト <http://watchizu.gsi.go.jp/> より得たもの改変。赤線で囲まれた領域が筑波大学（筑波キャンパス）を示す。★はつくば機能植物イノベーション研究センター遺伝子実験センターの場所を示す。



1124

1125

1126

図21 つくば機能植物イノベーション研究センター遺伝子実験センター及び隔離ほ場の所在

1127

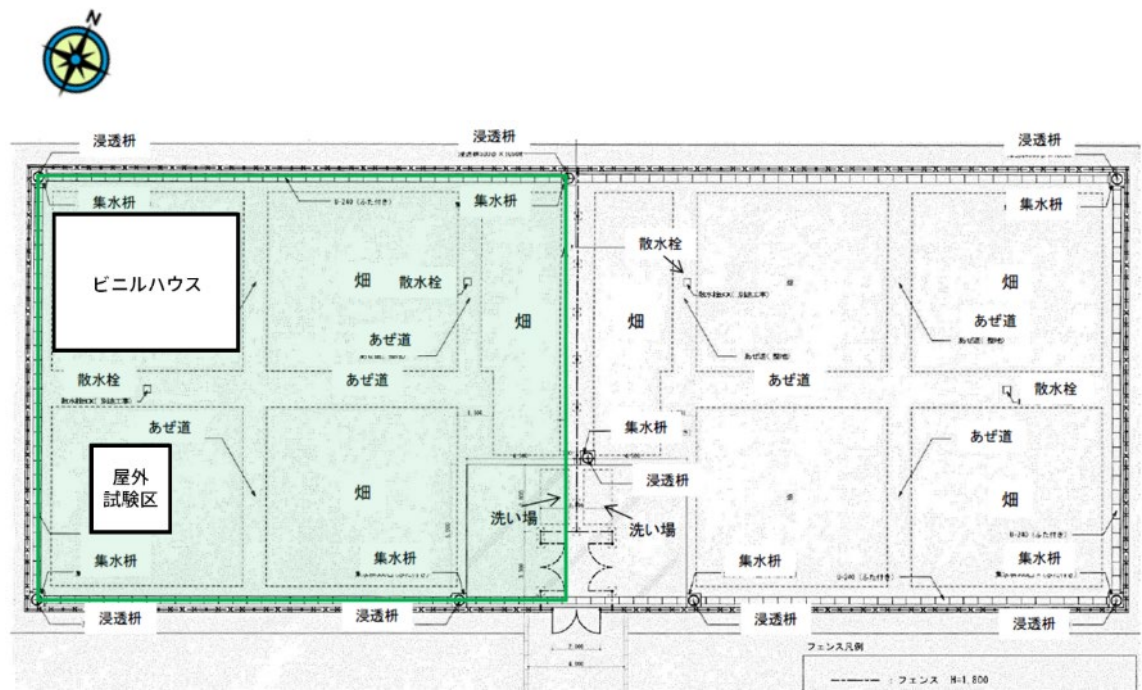


図 22 当該隔離ほ場内の配置図



図 23 隔離ほ場の設備

1138 表 8 茨城県つくば市における気象データの平年値

要素	降水量(mm)		気温(℃)			風速・風向		月日照時間 (時間)
	月合計	日降水量 の月平均	日平均	日最高	日最低	平均風速 (m/s)	最多風向 (16方位)	
統計期間	1991-2020	1991-2020	1991-2020	1991-2020	1991-2020	1991-2020	1991-2020	1991-2020
資料年数	30	30	30	30	30	30	30	30
1月	50.6	25.1	3.1	9.3	-2.8	2.3	西北西	206.8
2月	47.1	22.5	4.2	10.2	-1.8	2.5	北西	181.8
3月	95.5	30.1	7.7	13.6	1.7	2.6	北東	182.6
4月	109.8	34.1	12.8	18.7	6.9	2.8	北東	181.4
5月	129.8	40.8	17.4	22.7	12.3	2.6	東	182.8
6月	131.8	38.2	20.8	25.2	16.9	2.3	東	129.3
7月	134.6	43.3	24.6	29.1	21.0	2.4	南	152.8
8月	118.2	53.7	25.9	30.6	22.1	2.4	南	182.8
9月	187.6	69.2	22.3	26.8	18.5	2.3	北東	136.4
10月	193.5	69.3	16.6	21.3	12.1	2.1	北東	138.4
11月	79.1	31.7	10.5	16.3	5.2	1.9	北西	153.6
12月	48.5	22.2	5.3	11.5	-0.5	2.1	北西	185.7

1139

1140 気象庁過去の気象データ・ダウンロードよりつくば館野のデータを入手し、解析した（ア
1141 クセス2022年2月24日）。

1142 <https://www.data.jma.go.jp/gmd/risk/obsdl/index.php>

1143

1144

1145 表9 茨城県つくば市における過去3年分の気象データ

年	月	降水量 (mm)				気温(℃)					風速(m/s)						月日照時間 (時間)
		月合計	最大			平均			最高	最低	平均		最大		最大瞬間		
			1日	1時間	10分間	月平均	日最高	日最低			風速	風向	風速	風向	風速	風向	
2018	1	21.0	9.5	5.0	1.5	2.4	8.6	-3.7	14.6	-6.8	2.3	西北西	8.6	西北西	18.3	西北西	220.1
	2	7.5	3.0	1.0	0.5	3.5	9.4	-2.6	13.7	-7.0	2.1	北東	8.6	北西	17.0	北西	178.1
	3	163.0	45.5	13.5	6.0	10.2	16.6	3.7	24.9	-2.4	2.5	北東	9.1	南南東	17.1	西北西	199.3
	4	98.0	47.0	10.5	4.0	15.5	21.6	9.3	28.7	2.9	2.7	南南西	11.9	南南西	21.7	南南西	204.6
	5	164.0	46.5	20.0	5.0	18.4	23.9	13.1	28.5	5.5	2.5	南南西	8.7	南	15.8	南	196.1
	6	86.0	22.5	7.0	2.0	21.5	25.8	17.9	32.4	12.8	2.6	北東	10.4	南	17.5	南	167.7
	7	107.0	44.0	24.0	12.5	27.5	32.3	23.5	36.7	18.2	2.8	南南西	9.2	南南西	17.4	南南西	226.2
	8	71.5	26.5	15.0	8.0	27.0	32.1	22.8	37.4	14.3	2.7	南南西	10.7	南南西	19.1	北東	211.2
	9	256.0	34.0	24.5	12.5	22.1	26.5	18.7	32.4	11.3	2.4	北東	12.3	南	24.2	南	91.5
	10	47.0	19.0	15.5	5.0	17.8	22.5	13.2	32.7	5.7	2.1	北東	16.5	南	32.7	南南西	148.6
	11	42.5	19.5	7.0	2.5	12.2	17.4	7.3	22.8	0.5	1.7	北東	5.3	北北西	10.0	東北東	156.4
	12	31.0	13.5	5.0	1.5	5.9	11.8	0.4	21.4	-5.3	1.9	北西	7.9	西北西	15.7	西南西	155.6
2019	1	16.5	16.5	5.0	1.5	3.0	10.3	-3.6	15.5	-7.1	2.2	西北西	8.9	西北西	18.2	北西	238.4
	2	44.5	26.5	5.0	1.5	5.3	10.9	-0.5	19.0	-4.9	2.0	北西	8.5	北西	16.1	西北西	139.4
	3	102.0	43.5	11.0	2.5	8.9	14.8	2.9	24.2	-2.7	2.3	西北西	10.1	南南西	18.1	南西	182.9
	4	82.0	18.0	5.0	1.5	12.3	18.4	6.2	24.6	-2.3	2.5	北東	8.6	南南西	15.6	北西	204.2
	5	95.5	65.5	29.0	8.0	18.7	24.7	12.6	34.1	2.7	2.5	南南東	8.1	南南東	15.3	南東	238.6
	6	141.5	54.5	8.0	2.0	20.9	24.9	17.1	30.6	13.4	2.3	北東	6.8	南南西	14.6	北東	133.5
	7	160.0	32.5	14.5	7.0	23.5	27.0	20.8	34.2	17.3	2.2	北東	8.0	南	14.5	南	82.2
	8	57.5	12.0	11.0	8.5	27.4	31.8	23.9	35.5	20.4	2.2	南	8.5	南南西	20.2	北北西	192.4
	9	172.5	104.0	26.5	8.5	23.8	28.5	19.8	34.9	14.7	2.1	北東	12.3	北西	29.6	東北東	158.3
	10	377.0	147.5	31.5	7.0	18.4	22.3	14.8	29.7	10.3	2.3	北東	17.8	南	32.5	南南東	116.7
	11	106.0	40.5	7.5	2.5	11.2	16.8	5.9	22.9	-2.0	1.8	北東	8.4	北西	16.2	北西	175.9
	12	65.5	24.5	9.5	3.5	6.7	12.1	1.6	19.3	-4.0	1.8	北西	9.4	西北西	18.9	北西	134.3
2020	1	131.5	71.5	26.5	15.0	5.4	10.9	0.1	17.5	-4.9	1.9	北西	8.3	西	16.4	西北西	162.3
	2	23.0	9.0	4.0	1.0	6.3	12.4	0.3	17.6	-7.9	2.2	北東	9.7	南南西	17.8	西	196.2
	3	103.0	38.5	5.5	2.0	9.4	15.3	3.3	23.4	-3.5	2.5	北西	9.9	西北西	19.7	西北西	181.4
	4	194.5	73.5	15.5	4.0	11.5	17.3	5.5	23.7	-0.1	2.6	北東	9.4	北北東	20.8	北北東	201.3
	5	132.0	49.0	18.0	14.5	18.4	23.6	13.7	28.6	6.8	2.3	南	7.4	南	15.0	北東	172.6
	6	199.5	50.0	16.0	6.5	22.3	26.6	18.5	33.1	15.3	2.3	北東	9.0	南南西	18.2	南南西	143.1
	7	233.5	36.5	17.0	12.0	23.4	26.8	20.9	30.7	16.9	2.4	南	10.8	南	22.6	南南西	47.0
	8	63.0	61.5	43.0	20.5	27.8	33.1	23.5	36.5	20.1	2.0	南	6.9	南	14.4	北北西	269.4
	9	70.0	20.0	20.0	13.0	23.5	27.7	20.4	34.7	12.5	2.3	北東	7.2	南	13.5	南西	121.2
	10	165.0	53.0	5.0	1.5	16.0	20.6	12.0	25.8	2.7	1.6	北西	4.4	北西	9.1	東北東	112.4
	11	14.0	7.0	2.5	1.0	11.8	17.7	6.1	24.4	0.8	1.8	北西	7.8	西北西	16.0	北西	171.5
	12	7.0	4.5	2.5	1.0	5.2	11.7	-0.6	15.8	-6.2	1.8	西北西	7.2	北西	14.0	北西	183.7

1146

1147 気象庁過去の気象データ・ダウンロードより茨城県つくば市館野の観測データを入手した

1148 (アクセス2021年2月24日)

1149 <https://www.data.jma.go.jp/gmd/risk/obsdl/index.php>

1150

1151 表 10 関東甲信地方への過去 10 年間の台風の接近数

年	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	年間
2011							1		1				2
2012						1			1	1			2
2013									1	2			3
2014							1	1		2			4
2015									1				1
2016								4	1	1			6
2017							1	1	1	2			5
2018						1	1	2	2	1			6
2019						1	1		1	1			4
2020									1	1			2

1152
1153 台風が中心が茨城県、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
1154 県、山梨県、長野県のいずれかの気象官署から 300 km 以内に入った場合とする。接近は 2 か
1155 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。
1156 （気象庁ウェブサイト、気象統計情報ページ、アクセス 2021 年 2 月 25 日）
1157 https://www.data.jma.go.jp/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto_koshin.html
1158
1159

第二部 隔離ほ場での試験計画

隔離ほ場での本組換えオンシジウムの生物多様性影響評価試験の研究調査項目として、次の 7 項目を予定する。

- (1) 花の形態及び花色に関する調査
- (2) 形態及び生育特性に関する調査
- (3) 雄性不稔の確認調査
- (4) 生育初期における低温または高温耐性に関する調査
- (5) 越冬性、越夏性に関する調査
- (6) 訪花昆虫相に関する調査
- (7) 有害物質の産生性に関する調査

それぞれの項目についての実験計画は以下のとおりである。

(1) 花器官の形態形成及び花色に関する調査

- 目的 : 本組換えオンシジウムの花の形態及び花色の安定性を調査する。
- 場所 : 隔離ほ場のビニルハウス
- 数量 : 本組換えオンシジウム及びその宿主植物、各 12～15 鉢。
- 実施方法 : 本組換えオンシジウムをプラスチック鉢に定植してビニルハウスで栽培し、目視による花色及び花器官の形態の調査を行う。

(2) 花器官以外の形態及び生育特性に関する調査

- 目的 : 本組換えオンシジウムの花器官以外の形態及び生育特性を調査し、宿主植物と比較する。
- 場所 : 隔離ほ場のビニルハウス
- 数量 : 本組換えオンシジウム及びその宿主植物、各 12～15 鉢。試験 (1) と兼ねる。
- 実施方法 : 本組換えオンシジウムをプラスチック鉢に定植してビニルハウス温室で栽培し、草型外観及び生育速度などを調査し、宿主植物と比較する。

(3) 雄性不稔の確認調査

- 目的 : 本組換えオンシジウムが花粉を産生できないことを確認する。
- 場所 : 隔離ほ場のビニルハウス
- 数量 : 本組換えオンシジウム及びその宿主植物、各 12～15 鉢。試験 (1) と兼ねる。

1196 実施方法 : 本組換えオンシジウムをプラスチック鉢に定植してビニルハウス温室で
1197 栽培し、花粉産生の有無を調査する。
1198

1199 (4) 生育初期における低温又は高温耐性に関する調査

1200 目的 : 本組換えオンシジウム幼苗の低温又は高温耐性を宿主と比較する。

1201 場所 : 隔離ほ場のビニルハウス及び屋外

1202 数量 : 本組換えオンシジウム及びその宿主植物幼苗ともに、各群 6 鉢。

1203 実施方法 : 本組換えオンシジウム幼苗をプラスチック鉢に定植して隔離ほ場の屋
1204 外で栽培し、冬期間あるいは夏期間における生育や草型外観等を調査し、
1205 宿主植物と比較する。
1206

1207 (5) 越冬性、越夏性に関する調査

1208 目的 : 本組換えオンシジウムの越冬性、越夏性を宿主と比較する。

1209 場所 : 隔離ほ場のビニルハウス及び屋外

1210 数量 : 宿主及び組換えオンシジウムともに、各群 6 鉢。

1211 実施方法 : 本組換えオンシジウムをプラスチック鉢に定植して隔離ほ場の屋外栽培
1212 し、冬期間あるいは夏期間における生存率や健全性等を調査し、宿主植
1213 物と比較する。
1214

1215 (6) 訪花昆虫相に関する調査

1216 目的 : 本組換えオンシジウムへの訪花昆虫相を調査し、宿主植物と比較する。

1217 場所 : 隔離ほ場のビニルハウス

1218 数量 : 本組換えオンシジウム及びその宿主植物、各 12~15 鉢。試験 (1) と兼ね
1219 る。

1220 実施方法 : 晴天微風日を選び、ビニルハウスの出入り口を開放し、プラスチック鉢
1221 に定植した本組換えオンシジウム及びその宿主植物に訪花する昆虫の採
1222 取及び観察を行い、訪花昆虫の同定を行う。
1223

1224 (7) 有害物質の産生性に関する調査

1225 目的 : 本組換えオンシジウムの有害物質の産生性を調査し、宿主と比較する。

1226 場所 : 隔離ほ場のビニルハウス

1227 数量 : 本組換えオンシジウム及びその宿主植物、各 12~15 鉢。試験 (1) と兼ね
1228 る。

1229 実施方法 : 本組換えオンシジウムをプラスチック鉢に定植して隔離ほ場のビニルハ
1230 ウスで栽培し、サンドイッチ法による葉のアレロパシー活性のバイオアッ
1231 セイ、平板希釈培養法による培養土 (水苔で代替) 中の微生物生菌数調査、

- 1232 水苔を封入した寒天培地による根滲出物に関するアレロパシー活性のバ
1233 イオアッセイ等を実施し、宿主植物と比較する。