

除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリ  
 ケトン系耐性ダイズ (*pat*, 改変 *dmo*, *ft\_t.1*, *tdo*, *Glycine max* (L.) Merr.)  
 (MON94313, OECD UI: MON-94313-8) 申請書等の概要

## 目次

|                                                                  |    |
|------------------------------------------------------------------|----|
| 第一種使用規程承認申請書 .....                                               | 1  |
| 生物多様性影響評価書の概要 .....                                              | 3  |
| 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報 .....                                    | 3  |
| 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報 .....                                   | 3  |
| (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況 .....                                | 3  |
| ① 和名、英名及び学名 .....                                                | 3  |
| ② 宿主の品種名又は系統名 .....                                              | 3  |
| ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域 .....                                      | 3  |
| (2) 使用等の歴史及び現状 .....                                             | 4  |
| ① 国内及び国外における第一種使用等の歴史 .....                                      | 4  |
| ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途 .....                                    | 4  |
| (3) 生理学的及び生態学的特性 .....                                           | 5  |
| イ 基本的特性 .....                                                    | 5  |
| ロ 生息又は生育可能な環境の条件 .....                                           | 6  |
| ハ 捕食性又は寄生性 .....                                                 | 7  |
| ニ 繁殖又は増殖の様式 .....                                                | 7  |
| ① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命 .....                                      | 7  |
| 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 .....                 | 7  |
| 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 ..... | 7  |
| ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命 .....                               | 12 |
| ホ 病原性 .....                                                      | 12 |
| ヘ 有害物質の産生性 .....                                                 | 12 |
| ト その他の情報 .....                                                   | 12 |
| 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 .....                                      | 13 |
| (1) 供与核酸に関する情報 .....                                             | 13 |
| イ 構成及び構成要素の由来 .....                                              | 13 |
| ロ 構成要素の機能 .....                                                  | 15 |

|                                                                                                   |    |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| 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 .....                                           | 15 |
| 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 .....             | 22 |
| ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容 .....                                                                     | 26 |
| (2) ベクターに関する情報 .....                                                                              | 29 |
| イ 名称及び由来 .....                                                                                    | 29 |
| ロ 特性 .....                                                                                        | 30 |
| ① ベクターの塩基数及び塩基配列 .....                                                                            | 30 |
| ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能 .....                                                                  | 30 |
| 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 .....                                                        | 30 |
| (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法 .....                                                                          | 30 |
| イ 宿主内に移入された核酸全体の構成 .....                                                                          | 30 |
| ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法 .....                                                                          | 30 |
| ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過 .....                                                                           | 31 |
| ① 核酸が移入された細胞の選抜の方法 .....                                                                          | 31 |
| 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 .....                                                  | 31 |
| 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 ..... | 31 |
| (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 .....                                                        | 33 |
| ① 移入された核酸の複製物が存在する場所 .....                                                                        | 33 |
| 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 .....                                              | 35 |
| 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 .....                                                  | 38 |
| 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 .....                                          | 38 |
| 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播されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度 .....                              | 41 |
| (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 .....                                                       | 41 |

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 .....                                                | 41 |
| 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 .....                             | 41 |
| 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* ..... | 41 |
| a 形態及び生育の特性 .....                                                             | 42 |
| b 生育初期における低温耐性 .....                                                          | 42 |
| c 成体の越冬性 .....                                                                | 43 |
| d 花粉の稔性及びサイズ .....                                                            | 43 |
| e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率 .....                                                   | 43 |
| f 交雑率 .....                                                                   | 44 |
| g 有害物質の産生性 .....                                                              | 45 |
| 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 .....                                                   | 45 |
| (1) 使用等の内容 .....                                                              | 45 |
| (2) 使用等の方法 .....                                                              | 46 |
| (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 .....                                 | 46 |
| (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 .....                            | 46 |
| (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 .....                           | 46 |
| (6) 国外における使用等に関する情報 .....                                                     | 46 |
| 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 .....                                                      | 48 |
| 1 競合における優位性 .....                                                             | 48 |
| (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....                                               | 48 |
| (2) 影響の具体的内容の評価 .....                                                         | 49 |
| (3) 影響の生じやすさの評価 .....                                                         | 49 |
| (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 .....                                               | 49 |
| 2 有害物質の産生性 .....                                                              | 49 |
| (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....                                               | 49 |
| (2) 影響の具体的内容の評価 .....                                                         | 50 |
| (3) 影響の生じやすさの評価 .....                                                         | 50 |
| (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 .....                                               | 50 |
| 3 交雑性 .....                                                                   | 50 |
| (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....                                               | 50 |

|                                 |    |
|---------------------------------|----|
| (2) 影響の具体的内容の評価 .....           | 51 |
| (3) 影響の生じやすさの評価 .....           | 51 |
| (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 ..... | 53 |
| 4 その他の性質 .....                  | 53 |
| 第三 生物多様性影響の総合的評価 .....          | 54 |
| 参考文献 .....                      | 56 |
| 緊急措置計画書 .....                   | 70 |
| 別添資料リスト .....                   | 72 |

本評価書に掲載されている情報を無断で複製・転載することを禁ずる。

第一種使用規程承認申請書

2025 年 5 月 8 日

農林水産大臣 殿

5 環境大臣 殿

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社  
申請者 代表取締役社長 大島 美紀  
10 住所 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 5 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、  
15 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     | 除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ ( <i>pat</i> , 改変 <i>dmo</i> , <i>ft_t.1</i> , <i>tdo</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON94313, OECD UI: MON-94313-8) |
| 遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容 | 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                                                                                                                           |
| 遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法 | —                                                                                                                                                                       |

## 生物多様性影響評価書の概要

### 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

#### 5 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

##### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

###### ① 和名、英名及び学名

10

和名：ダイズ

英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

15

###### ② 宿主の品種名又は系統名

遺伝子導入に用いた宿主の品種名は A3555 である。

###### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

20

ダイズは、マメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属する夏型一年生の栽培種であり、自生しているという報告はない (OECD, 2000)。

25

*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 (OECD, 2000)。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* が祖先種と考えられており (吉村ら, 2016)、一方、*G. gracilis* は、*G. soja* から *G. max* への分化における中間種若しくは *G. soja* と *G. max* の雑種であるという報告があるが (OECD, 2000)、確認はされていない。これらの野生種のうち、我が国に分布しているのはツルマメのみであり、*G. gracilis* の分布は認められていない (吉村ら, 2016)。なお、ツルマメは、中国、朝鮮半島、台湾、ロシア及び我が国に分布しており (OECD, 2000)、我が国においては、北海道から九州南部まで分布し、河原の氾濫原や土手、路傍、畑の周辺や荒廃地等、適度の攪乱にさらされる場所を主な生育地としている (吉村ら, 2016)。

30

## (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

5       ダイズは、紀元前 17~11 世紀に中国東部で最初に栽培化されたと考えられて  
10       おり (OECD, 2000)、これまでの推定では我が国には 1900~2000 年前に渡来  
      したとされている (後藤, 2001)。他方、土器表面の圧痕の調査結果等から、縄  
      文時代に、日本国内でのツルマメの栽培行為により栽培型の形態を備えたダ  
      イズが生み出されたとする説もある (小畑, 2009; 小畑, 2010; 中山, 2015)。この  
      考古学から得られた知見は、ダイズとツルマメの単純反復配列 (simple  
      sequence repeat。以下「SSR」という。) マーカー (Kuroda et al., 2009) 及び葉緑  
      体 DNA の SSR における遺伝子型のパターン (Xu et al., 2002) から読みとれる  
      ダイズの起源に関する考察と矛盾のないものである。

15       西洋におけるダイズの導入は比較的新しく、現在の主要生産国である米国  
      には 1765 年に導入されているが (Hymowitz and Harlan, 1983)、北米での栽培  
      が本格的に拡大したのは 20 世紀に入ってからであり、さらに、1960 年代以  
      降、ブラジル等南米大陸での栽培が増加した (鄭, 2008)。

### ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

20

#### a 主たる栽培地域

      我が国において、ダイズは全国的に栽培可能であるが、主に北海道、東北  
      及び九州で栽培されており、2022 年における栽培面積は約 15 万 ha である  
      (FAO, 2024)。また、2022 年における世界総栽培面積は約 1 億 3,379 万 ha であ  
25       り、世界的にはブラジル (約 4,089 万 ha)、米国 (約 3,494 万 ha)、アルゼンチン  
      (約 1,587 万 ha)、インド (約 1,215 万 ha) 等を中心に、広い範囲で栽培されてい  
      る (FAO, 2024)。

#### b 栽培方法

30       我が国のダイズ栽培における播種適期は、地域や品種によって異なり、北  
      海道・東北では 5 月下旬、関東・北陸・近畿では 6 月上旬、中国・四国・九  
      州では 6 月下旬から 7 月上旬である。播種深度は 3~5 cm がよく、播種量は  
      畝間 70 cm、株間 20 cm で点播の場合 1 株 2~3 粒播き、最終的な苗立ち密度  
      を 1 m<sup>2</sup> 当たり 15 本程度確保できればよい。播種前の耕うんと播種と同時に  
35       除草剤を散布することで大部分の雑草を抑制できるが、中耕作業を 2 回程度  
      行うことは効果的である。中耕は除草のほか、土壌物理性の改善効果もある。



また、不定根発生の促進や倒伏防止のために中耕と同時に培土 (土寄せ) することが必要である。害虫や病害を発見した場合は、早めに適切な薬剤を散布し防除することが必要である (鄭, 2008)。収穫に際して、作付けが小面積の場合は、地上部を手で刈り、束ねてほ場に立てて天日乾燥した後に脱穀する。

5 大面積の場合は、機械による収穫が一般的であり、ビーンハーベスタ又は改良したコンバインによって刈取りと脱穀が一斉に行われる (鄭, 2008)。

### c 流通実態及び用途

10 ダイズの 2022 年における世界総生産量は約 3 億 4,886 万トンであり、主な生産国はブラジル (約 1 億 2,070 万トン)、米国 (約 1 億 1,638 万トン)、アルゼンチン (約 4,386 万トン) 及び中国 (約 2,028 万トン) である。一方、我が国における 2022 年の生産量は約 24 万トンである (FAO, 2024)。我が国は 2022 年に約 350 万トンのダイズを輸入しており、その輸入量の 73.5%にあたる 258 万トンが米国からの輸入である (財務省, 2024)。

15 ダイズは、世界的にみればその 9 割以上が食用油と家畜の飼料として利用されている。しかし、我が国も含めアジアでは古くから食品素材として盛んに利用されている。主な加工利用法は、豆腐、醤油、納豆、味噌、煮豆、炒り豆、きなこ、もやし等である。また、工業分野では、インク (ソイインク) や接着剤として広く利用されている (鄭, 2008)。脱脂ダイズから糖類等の可溶性分子を除いた濃縮ダイズ蛋白は、肉製品の増量剤や代用肉として使われている (山内, 1992)。ダイズのリン脂質のレシチンは、天然乳化剤として用いられる (鎌田, 1992)。一般に海外における種子生産の際には異品種の混入を避けるために隔離措置がとられており、我が国に輸入される際には、コンテナにバラ積みされることはなく、袋又は箱詰めされる。

25

## (3) 生理学的及び生態学的特性

### イ 基本的特性

30 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ずる (OECD, 2000)。ダイズの茎は、主茎と分枝とに分けられる。主茎の第 5 複葉が伸長するころ、第 1 複葉の葉腋から分枝の葉が現われ、 $n$  葉と  $(n-4)$  葉節の分枝とが同時に発生する。発芽後 2~3 週間すると、根に根粒が見え

35 始める。これは、根粒菌 (*Bradyrhizobium japonicum*) の寄生による。根粒菌は、播種後 20~30 日には空中窒素の固定を始める (後藤, 2001)。雌ずいは 1 本で、

その基部に子房があり 1~5 個の胚珠を内蔵している。莢は子房の心皮に由来し、莢に含まれる子実の数は 1~3 個が普通で、稀に 5 粒のものがある (後藤, 2001)。また、ダイズの花芽分化に最も大きく影響する環境要因は日長と温度である。花芽分化には、ある時間以上の暗期と 15°C 以上の温度が必要であり、このうち温度は、25°C 前後までは高いほど促進的に働く。加えて、花芽分化に対する日長と温度の影響は、両者の組合せによって異なり、短日条件では、高温による促進程度は大きい、長日条件では、高温による促進効果はないか、かえって遅れることがある (昆野, 2001a)。

ダイズは、開放花と閉鎖花という 2 つの異なる形態の花を同一個体がつける。開花して結実に至る開放花は、潜在的に他殖と自殖の両方を行うことが可能であるが (宮下ら, 1999)、ダイズでは通常開花前に開葯し同花受粉を行なうことが知られている (阿部・島本, 2001)。他方、閉鎖花は、開花することなく蕾の中で同花受粉による自殖のみ行う (宮下ら, 1999)。花は主茎、分枝の各葉腋に着生する (鄭, 2008)。開放花は、基部ががくに包まれ、1 枚の旗弁、2 枚の翼弁及び 2 枚の竜骨弁からなる。雌ずいと雄ずいは、いずれも竜骨弁に包まれ露出しない (鄭, 2008)。開放花は午前中に開花し、花粉は、開花直前に葯から放たれ自家受粉する。開花・受精の 7 日 (早生品種) ~14 日 (晩生品種) 目頃から莢が伸長し始め、約 10 日間で最大 (長さ 4~6 cm) に達する (鄭, 2008)。その後、子実の肥大が急速に生じ、30~45 日目には子実の乾物重が最大に達する (鄭, 2008)。種子の百粒重は、特殊なものを除き 10~50 g の範囲である (国分, 2002)。

#### 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°C であり (後藤, 2001)、土壌温度が 10°C 以上で発芽が可能となり、好適条件では 5~7 日で出芽する (OECD, 2000)。ダイズの生育適温は 25°C 付近であるが、低温条件が続くと生育が抑えられ、子実生産も阻害される (昆野, 2001b)。ダイズ栽培に適する土壌は、pH5.5~6.5、排水及び通気のよい埴土又は壤土である。ダイズでは乾物 1 g を生産するのに必要な水の量は約 600 g であり、特に乾物蓄積が最も多い開花期から約 1 か月後までの間は最も水分を必要とする (鄭, 2008)。また、ダイズは霜に対して耐性がなく、冬季の氷点下になるような条件では生き残ることができない。ダイズの種子が休眠性を示すことはほとんどなく、雑草としての特性はない (OECD, 2000)。

なお、ダイズは短日条件でより早く開花するため、栽培品種の適地を決定する際には、光周性及び温度応答が重要である。ダイズの栽培品種は、緯度

と日照時間によって決定され、北米には、北部(北緯 45 度)の成熟群 (Maturity Group。以下「MG」という。) 000 から赤道付近の MG X まで、13 の MG がある (OECD, 2000)。ダイズの栽培適地は、生育期間中やや高温、多照、かつ適湿であることが望ましいとされているが、品種改良がすすむにつれて栽培地域は拡大してきている (後藤, 2001)。

なお、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 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

ダイズは、1 個体で最大 400 の莢を形成し、各節の莢数は 2~20 である。各莢には 1~5 個の種子が入っている (OECD, 2000)。ダイズは、成熟期を過ぎると莢が乾燥して裂開し、種子が地表に落下する。裂莢性には品種間差があり、一般的に米国の無限伸育性品種は裂莢しにくい (大庭, 2001)。ダイズの育成品種では種子休眠性はほとんどみられない (OECD, 2000)。また、種子は、常温で貯蔵した場合に通常約 3 年で発芽力を失う (昆野, 2001c)。

### 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

ダイズは、種子繁殖する一年生の双子葉植物であり、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を有さない。

### ③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

#### a 自殖性、他殖性の程度

ダイズは、開放花と閉鎖花という 2 つの異なる形態の花を同一個体にもつことが知られているが (宮下ら, 1999)、一般的に自家受粉率が高い自殖性植物であり、他家受粉率は通常 1%未満である (OECD, 2000)。しかし、十分な花

粉媒介昆虫の存在下では 2.5%の事例も報告されている (Ahrent and Caviness, 1994)。また、花色の異なる 2 品種を用いた交雑性試験では、同一畝に 15.2 cm 間隔で交互に 2 品種を植えた場合、全 167 株中 56 株 (33.5%) では交雑が確認されず、交雑が確認された 111 株での交雑率は 0.65~6.32%、平均で 1.8% であった (Ray et al., 2003)。

b 自家不和合性の有無

自家不和合性は知られていない。

c 近縁野生種との交雑性の程度

・近縁野生種について

ダイズの近縁野生種としてはツルマメがある。ツルマメは、中国、朝鮮半島、台湾、ロシア及び我が国に分布する匍匐性又はツル性の一年生植物である (OECD, 2000)。一般に日当たりの良い野原、路傍、荒地、河原等に生息するほか、果樹園や畑地にも広がり (奥田, 1997)、河原の氾濫原や土手、路傍、畑の周辺、荒廃地等、適度の攪乱にさらされる場所を主な生息地とし、水田の畔や道路法面等にも個体群が観られる (吉村ら, 2016)。ヨモギ (*Artemisia indica*)、ススキ (*Miscanthus sinensis*)、ヨシ (*Phragmites australis*)、セイタカアワダチソウ (*Solidago altissima*) 等の丈の高い植物に絡み付いて生育する個体や、カナムグラ (*Humulus scandens*)、ヤエムグラ (*Galium spurium* var. *echinospermon*) 等のツル性植物とともに生育する個体のほか、地面を匍匐しながら生育する個体も見られる (吉村ら, 2016)。

ツルマメは、ダイズと同様に開放花と閉鎖花をつけ (宮下ら, 1999)、また、開放花においても、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せず自家受粉する (阿部・島本, 2001)。北海道鵲川流域及び秋田県雄物川流域で採集したツルマメ種子を栽培した結果、花の総数に占める開放花の割合は、前者が約 3%、後者が 1%以下と低かったと報告されている (宮下ら, 1999)。開花・受粉形態から、ツルマメは、典型的な自殖性植物であると考えられている。ツルマメ集団内における自然交雑率は、平均 2.2%であったことが報告されている (Kuroda et al., 2008) 一方、秋田県雄物川沿いのツルマメ集団では、自然交雑率が平均 13%と比較的高いものであったことが報告されている。この雄物川沿いの地域は護岸工事や人為的介入がほとんどなされておらず、ツルマメ集団の規模が大きく、訪花昆虫であるミツバチやクマバチが頻繁に観察されていた (Fujita et al., 1997)。このように、ツルマメ集団の規模が大きく、多数の開放花が同時期に開花する場合は、多くの訪花昆虫を誘引し、その結果、開放花における自然交雑の頻度が高くなる

可能性がある。

・ダイズとツルマメとの交雑について

ダイズとツルマメは、染色体数 ( $2n=40$ ) が同じであり、交雑が可能である (OECD, 2000)。一般的にツルマメの開花期はダイズより遅く、開花期のずれは、両者の遺伝子交流を妨げる一因と考えられているが (阿部・島本, 2001)、晩生の秋ダイズ型品種の作付地帯等では、両者の開花期が重なる可能性がある。開花期の重なるダイズ品種とツルマメを 50 cm 間隔で交互に配置して栽培した場合、個体別の交雑率は 0~5.89%、平均で 0.73%であった (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。また、除草剤耐性が付与された晩生の遺伝子組換えダイズ (以下「組換えダイズ」という。) を、開花ピークを近づけ、ツルマメが巻きついた状態で栽培した結果、交雑率は 0.136% (調査 25,741 個体中雑種 35 個体) であった一方、組換えダイズとツルマメの距離を離して栽培した場合、2、4、6 m の距離での交雑率はそれぞれ 0.013% (調査 7,521 個体、7,485 個体、7,508 個体中それぞれ雑種 1 個体) であり、8、10 m の距離では交雑種子は認められなかった (Mizuguti et al., 2010)。このようにダイズとツルマメが隣接して生育し、かつ開花期が重複する条件下では交雑が起こりうるが、このような特別な条件下においても、ダイズとツルマメが交雑する可能性は極めて低いと考えられる。

また、ダイズとツルマメの雑種形成については、我が国の自然環境下において調査が行われている。

2003 年に行われた調査では、ダイズとツルマメの雑種後代によくみられる形態的「中間体」を広島県 8 地点、秋田県 9 地点のツルマメ自生地において探索し、秋田県の 1 地点で 1 個体の中間体が発見された (加賀ら, 2005)。

2004 年には、秋田県、茨城県、愛知県、広島県及び佐賀県の合計 57 地点のツルマメ自生地 (ダイズ栽培ほ場の周辺) で調査が行われ、佐賀県 (調査地点数 33) の 3 地点から、11 個体の中間体が発見された一方、2003 年の調査で中間体が発見された地点からは、中間体は発見されなかった。この結果から、自生地における中間体の頻度は栽培実験の値よりも明らかに少ないとされている (黒田ら, 2005)。

2005 年に行われた秋田県、茨城県、高知県及び佐賀県の合計 39 地点のツルマメ自生地における調査では、2004 年にダイズが栽培されていたほ場と隣接する 14 地点を含め全地点で新たなダイズ中間体は発見されなかったことから、ダイズとツルマメの自然交雑率は非常に低いことが示唆されたとされている (黒田ら, 2006)。

2006年には、秋田県、兵庫県及び佐賀県の40地点で調査が行われた結果、佐賀県の2地点でそれぞれ1個体ずつ中間体が発見されたのみであった(黒田ら, 2007)。これらの結果から、ダイズとツルマメの雑種形成はツルマメの自生地で起きているものの、その頻度は低いと考えられた。

5

さらに、我が国では、1996年以降、約30年間組換えダイズが輸入されているが、農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査(2009年~2023年)のダイズ輸入実績港での調査の結果では、ダイズ陸揚げ地点から半径5km以内において、組換えダイズとツルマメの交雑体は認められなかった(農林水産省, 2011a; 農林水産省, 2011b; 農林水産省, 2012; 農林水産省, 2013; 農林水産省, 2014; 農林水産省, 2015; 農林水産省, 2017; 農林水産省, 2018a; 農林水産省, 2018b; 農林水産省, 2020; 農林水産省, 2021; 農林水産省, 2022a; 農林水産省, 2022b; 農林水産省, 2023; 農林水産省, 2024b)。また、我が国と同様に、ツルマメの自生地域であり、かつ除草剤グリホサート耐性ダイズを輸入している韓国において、2000年に広範囲の地域から採取された243系統のツルマメに除草剤グリホサートを散布したところ、全ての系統が枯死し、交雑により除草剤グリホサート耐性を獲得した組換えダイズとツルマメの交雑体は確認されなかったと報告されている(Kim et al., 2003)。

10

15

20

#### ・ダイズからツルマメへの遺伝子浸透について

ダイズからツルマメへの遺伝子浸透については、我が国の自然環境下において調査が行われている。

2004年に、2003年にダイズとツルマメの形態的中間体が発見された秋田県のツルマメ自生地1地点で調査が行われたところ、中間体の後代は発見されなかった(黒田ら, 2005)。

25

2005年には、2003年に中間体が発見された秋田県1地点及び2004年に中間体が発見された佐賀県3地点の計4地点で調査が行われたところ、中間体の後代の生存が確認されたのは佐賀県1地点の1個体のみであった(黒田ら, 2006)。

30

2006年にも、2005年と同じ4地点で調査が行われたところ、2004年及び2005年に中間体及びその後代が発見された佐賀県の地点では、3年連続して中間体が発見することはできず、発見された中間体は、佐賀県の上記と異なる1地点の1個体のみであった(黒田ら, 2007)。このことから、黒田ら(2007)は、中間体がツルマメ自生地で生存する確率は非常に低いことが示唆されたとしている。

35

また、2003~2006年の調査で発見された17個体の中間体の後代が速やかに

自然環境から消失していた理由として、より透水性の高い種皮を有することに伴い冬期に種子が腐敗した、冬期に発芽し枯死した、春期に発芽したものの他の個体との競合に勝てず成熟期まで生存できなかった等、中間体の後代の適応度がツルマメより低かったことに伴う自然淘汰を受けた可能性が高いとされている (Kuroda et al., 2010)。

実際に、ダイズとツルマメを人工交配して得た F<sub>3</sub> 雑種について、親系統のツルマメとともに播種した後の定着状況を 3 年間追跡調査した結果、雑種系統の定着率は、親のツルマメと比較して明らかに劣っていたことが示されている (Oka, 1983)。加えて、ダイズとツルマメの雑種や両者の中間の表現形を示す個体において、休眠性、倒伏性、裂莢性はツルマメに比べ低下していたことが報告されている (Oka, 1983; Chen and Nelson, 2004)。

また、国内産ツルマメをダイズ品種「フクユタカ」又は「リュウホウ」と人工交配して得た F<sub>1</sub> 雑種を国内で管理栽培し、その種子生産数及び種子の越冬率 (冬期を通じて土中に埋めた種子の発芽率及び休眠種子の割合) を親のツルマメと比較した結果、F<sub>1</sub> 雑種の種子生産数はツルマメと同等又はそれよりも少なく、種子の越冬率はツルマメより低かったことが報告されている (Kuroda et al., 2013)。その中で、栽培化に関連した形質である種子生産数や種子の越冬率に関する量的形質遺伝子座 (Quantitative trait locus。以下「QTL」という。) がダイズとツルマメの雑種後代の自然環境への適応度に関連していることが報告されており、雑種後代はダイズからこれらの遺伝子を受け取ったことにより適応度が下がったとされている (Kuroda et al., 2013)。

広島県産ツルマメとフクユタカとの F<sub>1</sub> 雑種から得られた F<sub>2</sub> 雑種において、個体当たりの種子生産数及び種子の越冬率に関し、それぞれ 2 つ及び 3 つの QTL の情報が得られるとともに、それらの QTL が及ぼす遺伝の相加及び優性成分の総和として、種子の生産数と越冬率に対して負の影響を及ぼすことが明らかになった。よって、ダイズとツルマメの雑種及び後代は、上記の 2 形質において雑種弱勢の状態にあり、組換えダイズの導入遺伝子が、交雑によってツルマメ集団内に拡がることはないと予測された。本予測は、後代における完全自殖又は 10% の他殖率を仮定したシミュレーションによっても支持されている (Kitamoto et al., 2012)。

また、2003 年から 2006 年に秋田県の 1 地点及び佐賀県の 5 地点において採取された 468 個体のツルマメ、17 個体の中間体及び 12 個体のダイズについて、分子マーカーによる解析が行われた結果、これらの中間体はダイズからツルマメへの遺伝子流動により生じたものと判断された一方、中間体からツルマメへの二次的な遺伝子流動は認められなかったことから、ダイズとツルマメの雑種形成の可能性はあるが、我が国の自然環境下において更なる遺伝

子浸透が起こることはほとんどないと考察されている (Kuroda et al., 2010)。

d アポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

ダイズがアポミクシスを生ずる特性を有するという報告は確認されていない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

雄ずいは 10 本あり、うち 1 本が離れており、それぞれが葯をもっている (後藤, 2001)。1 葯当たりの花粉数は 374~760 粒 (Palmer et al., 1978)、約 230~540 粒 (Koti et al., 2004) との報告がある。ダイズの花粉には粘着性があり (Yoshimura, 2011)、花粉の寿命は短く、その発芽能力は湿度によらず 8 時間でほぼ失われることが報告されている (Abel, 1970)。花粉の直径は、21 ~ 30  $\mu\text{m}$  である (Carlson and Lersten, 2004)。また、花粉の飛散距離に関しては、花粉採集器を用いた開花期 19 日間の観測の結果、1 日 1  $\text{cm}^2$  当たりの花粉密度の最大値は、ほ場から 1.0 m 及び 2.5 m 離れた地点で 1.235 粒であり、5 m の地点で 0.617 粒、10 m 及び 20 m の地点ではいずれも 0.309 粒であったことから、ほ場内及び周囲への花粉の飛散はほとんどないと報告されている (Yoshimura, 2011)。また、訪花する昆虫の種類は、アザミウマ類が最も頻度が高く、次いでそれらを捕食するカメムシ目の昆虫が観察されたと報告されている (Yoshimura et al., 2006)。

ホ 病原性

—

ヘ 有害物質の産生性

ダイズには、自然条件下で周囲の野生動植物等の生息又は生育に支障を及ぼすような有害物質の産生は知られていない。

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

バイエルグループは、複数の除草剤に対する耐性が付与された除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ (*pat*, 改変 *dmo*, *ft\_t.1*, *tdo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON94313, OECD UI: MON-94313-8) (以下「本組換えダイズ」という。) を作出した。

本組換えダイズには、*Streptomyces viridochromogenes* 由来の *pat* 遺伝子、*Stenotrophomonas maltophilia* 由来の改変 *dmo* 遺伝子、*Sphingobium herbicidovorans* 由来の R-2,4-ジクロロフェノキシプロピオン酸ジオキシゲナーゼ (R-2,4-dichlorophenoxypropionate dioxygenase, *rdpA*) 遺伝子を改変した *ft\_t.1* 遺伝子、及びイネ (*Oryza sativa*) 由来の *tdo* 遺伝子が導入されている。これらの遺伝子は、それぞれホスフィノスリシン N-アセチルトランスフェラーゼ (phosphinothricin N-acetyltransferase) 蛋白質 (以下「PAT 蛋白質」という。)、ジカンバモノオキシゲナーゼ (dicamba mono-oxygenase) 蛋白質 (以下「改変 DMO 蛋白質」という。)、FOPs 及び 2,4-D ジオキシゲナーゼ (fops and 2,4-D dioxygenase) 蛋白質 (以下「FT\_T.1 蛋白質」という。) 及びトリケトンジオキシゲナーゼ (triketone dioxygenase) 蛋白質 (以下「TDO 蛋白質」という。) を発現する。これらの蛋白質は、それぞれ本組換えダイズに除草剤グルホシネート耐性、除草剤ジカンバ耐性、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性及びトリケトン系除草剤耐性を付与する。本組換えダイズは、作用機序の異なる複数の除草剤を組み合わせた使用を可能にすることで、農業生産者に対し、難防除雑草や除草剤抵抗性雑草を効果的に管理するための複数の選択肢を提供する。

なお、本組換えダイズは米国、カナダ、ブラジル、パラグアイ及びウルグアイで販売予定であり、販売の際には、アリルオキシアルカノエート系除草剤及びトリケトン系除草剤のうち 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) 及びメソトリオンを適用対象とする予定である。また、上記各国において、生産者は、農薬ラベルの記載に従って農薬を使用することが法律で義務付けられており、グルホシネート、ジカンバ、2,4-D 及びメソトリオンの農薬ラベルには、本組換えダイズに使用可能である旨が記載される予定である。

### (1) 供与核酸に関する情報

#### イ 構成及び構成要素の由来

本組換えダイズの作出に用いた供与核酸の構成及び構成要素の由来を図 1 (p16) 及び表 1 (p17~21) に示した。

### 【PAT 蛋白質】

本組換えダイズには、*S. viridochromogenes* 由来の *pat* 遺伝子が導入されており、PAT 蛋白質を発現する。本組換えダイズで発現する PAT 蛋白質のアミノ酸配列は、プロセッシングにより N 末端のメチオニンが取り除かれていること以外、*S. viridochromogenes* 由来の野生型 PAT 蛋白質のアミノ酸配列と同一である。N末端のメチオニンの切断は一般的であり、自然界においても多くの蛋白質で起こっている (Meinzel and Giglione, 2008)。

本組換えダイズで発現する PAT 蛋白質の推定アミノ酸配列を別添資料 1 に示した。

### 【改変 DMO 蛋白質】

本組換えダイズには、*S. maltophilia* 由来の改変 *dmo* 遺伝子が導入されており、改変 DMO 蛋白質を発現する。本組換えダイズで発現する改変 DMO 蛋白質のアミノ酸配列は、N末端のメチオニンの直後にロイシンが挿入されていること以外、*S. maltophilia* 由来の野生型 DMO 蛋白質のアミノ酸配列と同一である。

本組換えダイズで発現する改変 DMO 蛋白質の推定アミノ酸配列を別添資料 1 に示した。なお、本組換えダイズにおいて、改変 DMO 蛋白質は、N 末端側に *Albino or pale green 6 (Apg6)* 遺伝子由来の葉緑体輸送ペプチドが付加された前駆蛋白質として産生される。前駆蛋白質は、葉緑体輸送ペプチドによって葉緑体に輸送された後、葉緑体輸送ペプチドが全て切り離され、340 アミノ酸からなる改変 DMO 蛋白質となる (別添資料 1 の図 2, p1)。

### 【FT\_T.1 蛋白質】

本組換えダイズには、土壌細菌 *S. herbicidovorans* 由来の *rdpA* 遺伝子を改変した *ft\_t.1* 遺伝子が導入されており、FT\_T.1 蛋白質を発現する。FT\_T.1 蛋白質のアミノ酸配列は、既に第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換えトウモロコシ MON87429 (2021 年 9 月 3 日承認) で発現する FT\_T 蛋白質 (環境省, 2021) をさらに改変したものである。FT\_T 蛋白質は、*rdpA* 遺伝子から発現する RdpA 蛋白質のアミノ酸配列に対し、酵素活性及び栽培地域における夏季の高温に対する安定性を向上させる目的で 30 か所のアミノ酸置換<sup>1</sup>が導入され

<sup>1</sup> 30か所のアミノ酸置換は、開始メチオニンを1番目として、6番目、9番目、10番目、11番目、12番目、13番目、14番目、16番目、82番目、103番目、105番目、130番目、134番目、145番目、169番目、178番目、180番目、209番目、210番目、213番目、214番目、217番目、224番目、226番目、235番目、246番目、289番目、291番目、292番目、294番目のアミノ酸に導入されている。

たものであり、この特性は FT\_T.1 蛋白質でも維持されている (Larue et al., 2019)<sup>2</sup>。FT\_T.1 蛋白質は、除草剤 2,4-D に対する活性をさらに向上させる目的で、FT\_T 蛋白質と比較して 3 か所のアミノ酸が置換 (105 番目のフェニルアラニンからチロシンへ、112 番目のトレオニンからアラニンへ、246 番目のグルタミンからリシンへの置換) されており、その結果、RdpA 蛋白質と比較して 31 か所のアミノ酸置換が導入されている。FT\_T.1 蛋白質のアミノ酸配列は、RdpA 蛋白質及び FT\_T 蛋白質のアミノ酸配列と、それぞれ約 89%及び約 99% 同一である。

本組換えダイズで発現する FT\_T.1 蛋白質の推定アミノ酸配列を別添資料 1 に示した。

### 【TDO 蛋白質】

本組換えダイズには、イネ (*O. sativa*) 由来の *tdo* 遺伝子が導入されており、TDO 蛋白質を発現する。本組換えダイズで発現する TDO 蛋白質のアミノ酸配列は、プロセッシングにより N 末端のメチオニンが取り除かれている以外、イネ由来の *tdo* 遺伝子<sup>3</sup>から発現する TDO 蛋白質のアミノ酸配列と同一である。N 末端のメチオニンの切断は一般的であり、自然界においても多くの蛋白質で起こっている (Meinzel and Giglione, 2008)。

本組換えダイズで発現する TDO 蛋白質の推定アミノ酸配列を別添資料 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

本組換えダイズの作出に用いた供与核酸の構成要素の機能を表 1 (p17~21) に示した。

<sup>2</sup> 当該論文において FT\_T.1 蛋白質は FT\_Tv7 蛋白質と呼称されている。

<sup>3</sup> Maeda ら (2019) により *HPPD INHIBITOR SENSITIVE 1 (HIS1)* 遺伝子として同定されている。

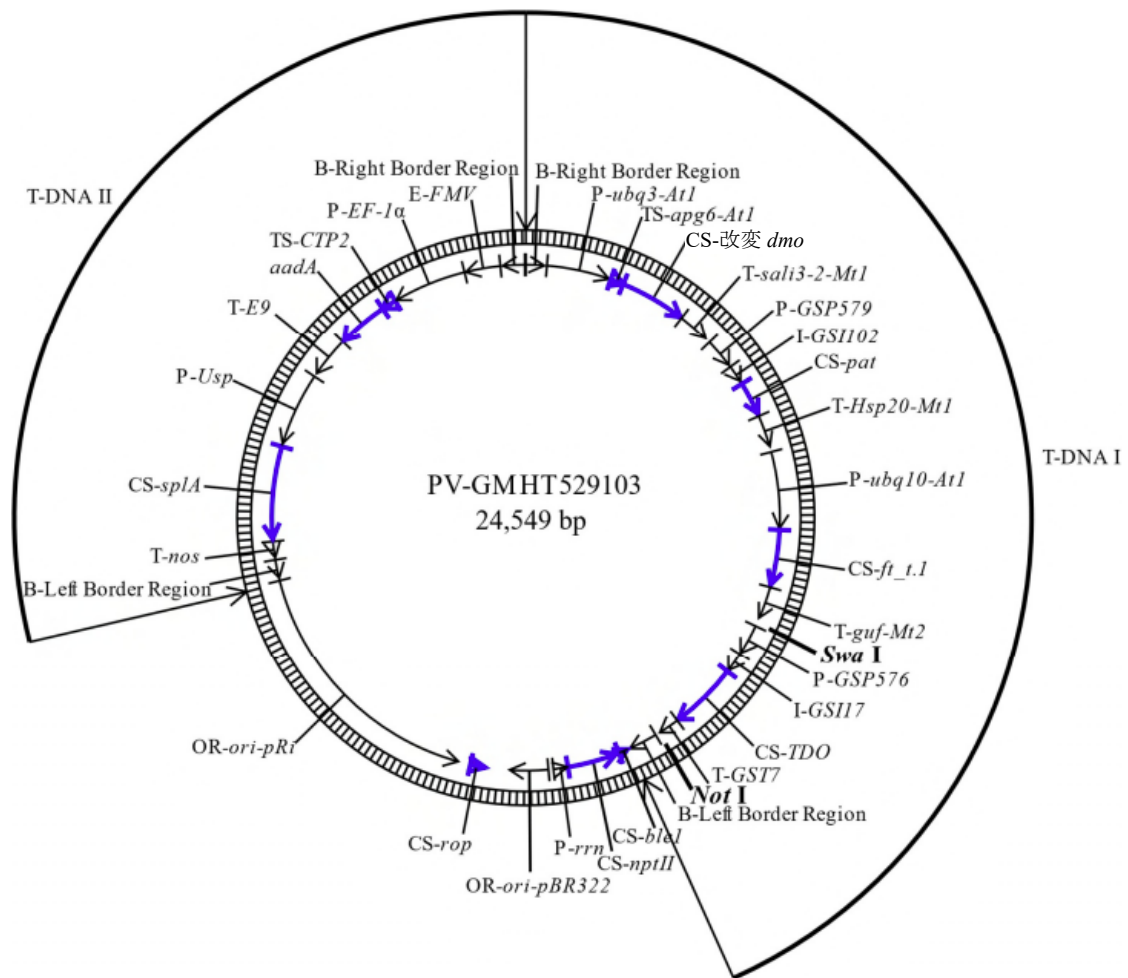


図1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 のプラスミドマップ\*  
本組換えダイズの育成過程で、上図の T-DNA I 領域はもつが、T-DNA II 領域はもたない個体を選抜した。なお、本組換えダイズ中に T-DNA II 領域及びベクターバックボーンが含まれていないことを、次世代シーケンシング (NGS) により確認している (第一の2-(4)-②, p35~37)。

5

表 1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能\*

| 構成要素                                | プラスミド中の位置   | 由来及び機能                                                                                                                                                             |
|-------------------------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| T-DNA I 領域                          |             |                                                                                                                                                                    |
| その他                                 |             |                                                                                                                                                                    |
| B <sup>1</sup> -Right Border Region | 1-285       | <i>Rhizobium radiobacter</i> ( <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)。         |
| Intervening Sequence                | 286-324     | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                  |
| 改変 <i>dmo</i> 遺伝子発現カセット             |             |                                                                                                                                                                    |
| P <sup>2</sup> - <i>ubq3-At1</i>    | 325-1,332   | シロイヌナズナ ( <i>Arabidopsis thaliana</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子 <i>ubq3</i> のプロモーター、リーダー及びイントロンで (Norris et al., 1993)、植物細胞における転写を誘導する。                                      |
| TS <sup>3</sup> - <i>apg6-At1</i>   | 1,333-1,536 | シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の熱ショック蛋白質 (Hsp101) ホモログをコードしている <i>Albino or pale green 6</i> ( <i>Ap6</i> ) 遺伝子のターゲティング配列。目的蛋白質を葉緑体へと輸送する (Myouga et al., 2006)。 |
| CS <sup>4</sup> -改変 <i>dmo</i>      | 1,537-2,559 | <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 由来のジカンバモノオキシゲナーゼ (DMO) のコード配列 (Wang et al., 1997; Herman et al., 2005)。除草剤ジカンバ耐性を付与する。                                         |
| Intervening Sequence                | 2,560-2,578 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                  |
| T <sup>5</sup> - <i>sali3-2-Mt1</i> | 2,579-3,078 | タルウマゴヤシ ( <i>Medicago truncatula</i> ) のアルミニウム誘導性遺伝子 <i>sali3-2</i> の 3'末端非翻訳領域の配列で (GenBank accession: ON111455)、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (Hunt, 1994)。         |
| その他                                 |             |                                                                                                                                                                    |
| Intervening Sequence                | 3,079-3,156 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                  |
| <i>pat</i> 遺伝子発現カセット                |             |                                                                                                                                                                    |
| P-GSP579                            | 3,157-3,656 | シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の複数のプロモーター及び 5'末端非翻訳領域の配列を基に作成されたプロモーター及び 5'末端非翻訳領域の配列で (GenBank accession: ON111456)、植物細胞における転写を誘導する (To et al., 2021)。          |
| I <sup>6</sup> -GSI102              | 3,657-3,966 | シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の複数のイントロン配列を基に作成されたイントロン配列で (GenBank accession: ON111457)、遺伝子発現の調節に関与する (To et al., 2021)。                                        |
| Intervening Sequence                | 3,967-3,972 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                  |

表1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)\*

| 構成要素                    | プラスミド中の位置   | 由来及び機能                                                                                                                                                        |
|-------------------------|-------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| CS- <i>pat</i>          | 3,973-4,524 | <i>Streptomyces viridochromogenes</i> に由来するホスフィノスリシン N-アセチルトランスフェラーゼ (PAT) のコード配列。除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (Wohlleben et al., 1988; Wehrmann et al., 1996)。        |
| Intervening Sequence    | 4,525-4,532 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                             |
| T- <i>Hsp20-Mt1</i>     | 4,533-5,032 | タルウマゴヤシ ( <i>M. truncatula</i> ) の熱ショック蛋白質をコードする推定 <i>Hsp20</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列で (GenBank Accession: OK149196)、転写の終結及び mRNA のポリアダデニル化を誘導する (Hunt, 1994)。    |
| その他                     |             |                                                                                                                                                               |
| Intervening Sequence    | 5,033-5,115 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                             |
| <i>ft_t.1</i> 遺伝子発現カセット |             |                                                                                                                                                               |
| P- <i>ubq10-At1</i>     | 5,116-6,317 | シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子 <i>ubq10</i> のプロモーター、リーダー及びイントロンで (Norris et al., 1993)、植物細胞における転写を誘導する。                                         |
| Intervening Sequence    | 6,318-6,323 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                             |
| CS- <i>ft_t.1</i>       | 6,324-7,211 | <i>Sphingobium herbicidovorans</i> に由来する <i>rdpA</i> 遺伝子の改変型から発現する FOPs 及び 2,4-D ジオキシゲナーゼ (FT_T.1) のコード配列で、ダイズにおいて除草剤 2,4-D に対する耐性を付与する (Larue et al., 2019)。 |
| Intervening Sequence    | 7,212-7,219 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                             |
| T- <i>guf-Mt2</i>       | 7,220-7,719 | タルウマゴヤシ ( <i>M. truncatula</i> ) の機能未知遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列で (GenBank Accession: MH931406)、転写の終結及び mRNA のポリアダデニル化を誘導する (Hunt, 1994)。                              |
| その他                     |             |                                                                                                                                                               |
| Intervening Sequence    | 7,720-7,857 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                             |
| <i>tdo</i> 遺伝子発現カセット    |             |                                                                                                                                                               |
| P-GSP576                | 7,858-8,357 | シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の複数のプロモーター及び 5'末端非翻訳領域の配列を基に作成されたプロモーター及び 5'末端非翻訳領域の配列で (GenBank accession: ON111459)、植物細胞における転写を誘導する (To et al., 2021)。     |

表1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)\*

| 構成要素                        | プラスミド中の位置     | 由来及び機能                                                                                                                                                                  |
|-----------------------------|---------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| I-GSII7                     | 8,358-8,657   | シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の複数のイントロン配列を基に作成されたイントロン配列で (GenBank accession: ON111460)、遺伝子発現の調節に関与する (To et al., 2021)。                                             |
| Intervening Sequence        | 8,658-8,692   | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                       |
| CS-TDO                      | 8,693-9,748   | イネ ( <i>Oryza sativa</i> ) 由来のトリケトンジオキシゲナーゼ (TDO) のコード配列で、除草剤メソトリオンに対する耐性を付与する (Maeda et al., 2019)。                                                                    |
| Intervening Sequence        | 9,749-9,778   | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                       |
| T-GST7                      | 9,779-10,078  | トウモロコシ ( <i>Zea mays</i> ) 由来の複数の 3'末端非翻訳領域の配列を基に作成された 3'末端非翻訳領域の配列で (GenBank accession: ON111462)、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (To et al., 2021)。                        |
| その他                         |               |                                                                                                                                                                         |
| Intervening Sequence        | 10,079-10,178 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                       |
| B-Left Border Region        | 10,179-10,620 | <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (Barker et al., 1983)。                                                          |
| ベクターバックボーン (本組換えダイズには存在しない) |               |                                                                                                                                                                         |
| Intervening Sequence        | 10,621-10,657 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                       |
| CS-ble1                     | 10,658-10,809 | トランスポゾン Tn5 由来のブレオマイシン耐性遺伝子のコード配列の一部である (Mazodier et al., 1985)。                                                                                                        |
| Intervening Sequence        | 10,810-10,829 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                       |
| CS-nptII                    | 10,830-11,624 | <i>Escherichia coli</i> のトランスポゾン Tn5 に由来し、ネオマイシンフォスフォトランスフェラーゼ II (NPT II) をコードする <i>neo</i> 遺伝子のコード配列 (Beck et al., 1982)。ネオマイシン及びカナマイシン耐性を付与する (Fraley et al., 1983)。 |
| P-rrn                       | 11,625-11,849 | <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) のリボソーム RNA オペロンプロモーター (Bautista-Zapanta et al., 2002)。植物細胞内での恒常的な転写を誘導する。                                               |
| Intervening Sequence        | 11,850-11,925 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                       |
| OR <sup>7</sup> -ori-pBR322 | 11,926-12,514 | プラスミド pBR322 由来の複製開始領域 (Sutcliffe, 1979)。 <i>E. coli</i> 中においてベクターに自律増殖能を付与する。                                                                                          |

表1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)\*

| 構成要素                         | プラスミド中の位置     | 由来及び機能                                                                                                                                                                             |
|------------------------------|---------------|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Intervening Sequence         | 12,515-12,941 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                                  |
| CS-rop                       | 12,942-13,133 | プラスミド ColE1 に由来する repressor of primer (rop) 蛋白質のコード配列であり、 <i>E. coli</i> においてプラスミドのコピー数を維持する (Giza and Huang, 1989)。                                                               |
| Intervening Sequence         | 13,134-13,321 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                                  |
| OR-ori-pRi                   | 13,322-17,435 | プラスミド pRi に由来する複製開始領域。 <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) 中においてベクターに自律増殖能を付与する (Ye et al., 2011)。                                                                     |
| Intervening Sequence         | 17,436-17,442 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                                  |
| T-DNA II 領域 (本組換えダイズには存在しない) |               |                                                                                                                                                                                    |
| B-Left Border Region         | 17,443-17,761 | <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (Barker et al., 1983)。                                                                     |
| Intervening Sequence         | 17,762-17,793 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                                  |
| T-nos                        | 17,794-18,046 | <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) pTi 由来のノパリン合成酵素 (NOS) をコードしている <i>nos</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列で、転写の終結及び mRNA のポリアダニル化を誘導する (Bevan et al., 1983; Fraley et al., 1983)。 |
| Intervening Sequence         | 18,047-18,062 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                                  |
| CS-splA                      | 18,063-19,520 | <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) C58 株に由来し、スクロースをフルクトース及びグルコース-1-リン酸に変換するスクロースフォスフォリラーゼをコードする <i>splA</i> 遺伝子のコード配列 (Piper et al., 1999)。                           |
| Intervening Sequence         | 19,521-19,532 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                                  |
| P-Usp                        | 19,533-20,711 | ソラマメ ( <i>Vicia faba</i> ) 由来の種子蛋白質をコードする遺伝子の 5'末端非翻訳領域、プロモーター及びエンハンサー配列 (Baumlein et al., 1991)。植物細胞内での恒常的な転写を誘導する。                                                               |
| Intervening Sequence         | 20,712-20,762 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                                  |
| T-E9                         | 20,763-21,405 | エンドウ ( <i>Pisum sativum</i> ) のリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域 (Coruzzi et al., 1984)。転写の終結及び mRNA のポリアダニル化を誘導する。                                  |



表1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)\*

| 構成要素                        | プラスミド中の位置     | 由来及び機能                                                                                                                                                                |
|-----------------------------|---------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Intervening Sequence        | 21,406-21,420 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                     |
| <i>aadA</i>                 | 21,421-22,212 | トランスポゾン Tn7 由来の 3'(9)- <i>O</i> -ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (アミノグリコシド改変酵素) のコード配列 (Fling et al., 1985)。スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する。                                             |
| TS-CTP2                     | 22,213-22,440 | シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) の葉緑体輸送ペプチド領域をコードしている <i>ShkG</i> 遺伝子のターゲティング配列 (Klee et al., 1987; Herrmann, 1995)。目的蛋白質を葉緑体へと輸送する。 |
| Intervening Sequence        | 22,441-22,449 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                     |
| P- <i>EF-1α</i>             | 22,450-23,597 | シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の伸長因子 <i>EF-1α</i> 遺伝子のプロモーター、リーダー及びイントロンで目的遺伝子の植物体内での恒常発現に関与する (Axelos et al., 1989)。                                               |
| Intervening Sequence        | 23,598-23,620 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                     |
| E <sup>8</sup> - <i>FMV</i> | 23,621-24,157 | Figwort Mosaic Virus (FMV) 35S RNA のエンハンサー (Richins et al., 1987)。植物細胞内での転写を高める (Rogers, 2000)。                                                                       |
| Intervening Sequence        | 24,158-24,203 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                     |
| B-Right Border Region       | 24,204-24,534 | <i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)。                              |
| ベクターバックボーン (本組換えダイズには存在しない) |               |                                                                                                                                                                       |
| Intervening Sequence        | 24,535-24,549 | DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。                                                                                                                                     |

<sup>1</sup> B-Border (境界配列)

<sup>2</sup> P-Promoter (プロモーター)

<sup>3</sup> TS-Targeting Sequence (ターゲティング配列)

<sup>4</sup> CS-Coding Sequence (コード配列)

5 <sup>5</sup> T-Transcription Termination Sequence (転写終結配列)

<sup>6</sup> I-Intron (イントロン)

<sup>7</sup> OR-Origin of Replication (複製開始領域)

<sup>8</sup> E-Enhancer (エンハンサー)

- 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

## 5 【PAT 蛋白質】

PAT 蛋白質は、本組換えダイズに除草剤グルホシネートへの耐性を付与する。除草剤グルホシネートは、グルタミン合成酵素と結合することにより除草活性を発揮する (OECD, 2006a; OECD, 2006b)。グルタミン合成酵素は、光呼吸等により生成されたアンモニアを植物に同化させる主要酵素である。グルホシネートがグルタミン合成酵素と結合することにより、グルタミン合成酵素が阻害されて、植物体内にアンモニアが蓄積し、枯死する。PAT 蛋白質はグルホシネートをアセチル化するアセチルトランスフェラーゼである (OECD, 2006a; OECD, 2006b)。グルホシネートは、この酵素の働きでアセチル化されると、除草活性のない *N*-アセチルグルホシネートとなる。*N*-アセチルグルホシネートは、グルタミン合成酵素と結合できないため、光呼吸を阻害せず、アンモニア蓄積が回避される。本組換えダイズは、PAT 蛋白質の産生により、除草剤グルホシネートが散布されても枯死しない。

なお、PAT 蛋白質を発現する遺伝子組換え農作物は、これまでにダイズ、トウモロコシ、ワタ、セイヨウナタネ等を宿主とする複数の系統において第一種使用規程の承認を受けており (農林水産省, 2024a)、いずれの系統も、承認された第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国における生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断されている。また、本組換えダイズで発現する PAT 蛋白質のアミノ酸配列は、既に第一種使用規程の承認を受けている組換えトウモロコシ MON87419 (2017 年 7 月 28 日承認) (環境省, 2017) 及び MON87429 (環境省, 2021) で発現する PAT 蛋白質のアミノ酸配列と同一である。

## 【改変 DMO 蛋白質】

改変 DMO 蛋白質は、本組換えダイズに除草剤ジカンバへの耐性を付与する。除草剤ジカンバは、合成オーキシンの除草剤であり、広葉雑草に細胞分裂異常を引き起こすことによって、除草活性を示す (Ahrens, 1994)。DMO 蛋白質は、除草剤ジカンバを脱メチル化し、除草活性のない 3,6-ジクロロサリチル酸 (3,6-dichlorosalicylic acid) 及びホルムアルデヒド (HCHO) へと変換する (Chakraborty et al., 2005)。この作用により、改変 DMO 蛋白質は本組換えダイズに除草剤ジカンバ耐性を付与している。

なお、改変 DMO 蛋白質を発現する遺伝子組換え農作物は、これまでにダ

イズ、トウモロコシ、ワタ、セイヨウナタネ等を宿主とする複数の系統において第一種使用規程の承認を受けており (農林水産省, 2024a)、いずれの系統も、承認された第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国における生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断されている。また、本組換えダイズで発現する改変 DMO 蛋白質のアミノ酸配列は、既に第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換えトウモロコシ MON87429 (環境省, 2021) で発現する改変 DMO 蛋白質<sup>4</sup>のアミノ酸配列と同一である。

#### 【FT\_T.1 蛋白質】

FT\_T.1 蛋白質は、既に第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換えトウモロコシ MON87429 で発現する FT\_T 蛋白質と同様に、アリルオキシアルカノエート基をもつ除草剤 (アリルオキシアルカノエート系除草剤) である 2 つの除草剤グループ、アリルオキシフェノキシプロピオン酸 (FOP) 系除草剤及びフェノキシカルボン酸系除草剤への活性を有する (HRAC, 2022)。FOP 系除草剤は、イネ科植物においてアセチル CoA カルボキシラーゼの機能を阻害することで、また、フェノキシカルボン酸系除草剤は、合成オーキシシン系除草剤の一種であり植物ホルモンの調節経路を攪乱することで除草作用をもたらす。FOP 系除草剤及びフェノキシカルボン酸系除草剤に対する感受性は作物ごとに異なる。例えば、トウモロコシは FOP 系除草剤に対し感受性を示すが、フェノキシカルボン酸系除草剤の一種である除草剤 2,4-D に対しては部分的な耐性を有している。一方で、ダイズは FOP 系除草剤に対する完全な耐性を有するが、除草剤 2,4-D に対しては感受性を示す (Larue et al., 2019)。このことから、本組換えダイズは、FT\_T.1 蛋白質が発現することにより除草剤 2,4-D<sup>5</sup>に対する耐性を新たに獲得している。

前述のとおり、FT\_T.1 蛋白質は、土壤細菌 *S. herbicidovorans* 由来の *rdpA* 遺伝子を改変した *ft\_t.1* 遺伝子から発現する。*rdpA* 遺伝子から発現する RdpA 蛋白質は、二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼの一種であり (Müller et al., 2006)、構造的類似性の高い FT\_T.1 蛋白質も二価鉄/ $\alpha$ -ケトグル

---

<sup>4</sup> MON87429では、葉緑体輸送ペプチドのプロセッシングに由来するN末端への1アミノ酸 (システイン) の付加があるものとないものの2種類の改変DMO蛋白質が発現する。本組換えダイズで発現する改変DMO蛋白質は、このうち輸送ペプチド由来のアミノ酸の付加がないものと同じのアミノ酸配列を有する。

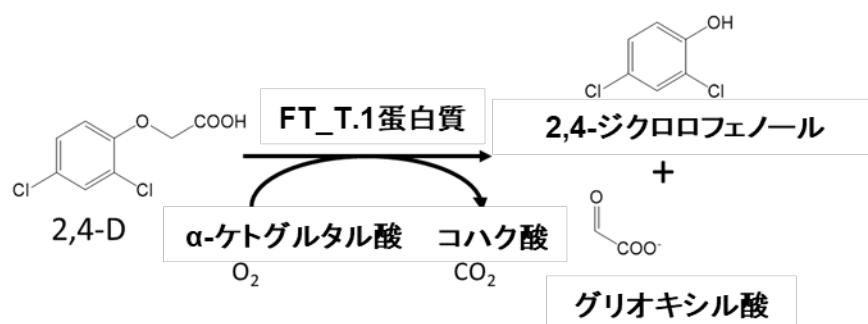
<sup>5</sup> 本組換えダイズに使用可能なアリルオキシアルカノエート系除草剤として、2,4-Dを種子販売時に指定する予定である。

タル酸依存性ジオキシゲナーゼとして働く。二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼは、ヒトや家畜等によって安全に利用されてきた細菌、菌類、植物、脊椎動物等、幅広い生物種において同定されている (Hausinger, 2004; Kundu, 2012)。

5

二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼは、1 原子の鉄に配位する 2 つのヒスチジン残基及び 1 つのアスパラギン酸又はグルタミン酸残基を含む、古典的なジオキシゲナーゼの活性中心を有しており、鉄と  $\alpha$ -ケトグルタル酸を補因子として 2,4-D 等の基質を酸化し、コハク酸と酸化物を生成する (De Carolis and De Luca, 1994; Bugg, 2003; Hausinger, 2004)。FT\_T.1 蛋白質も同様に、 $\alpha$ -ケトグルタル酸及び酸素の存在下で 2,4-D を除草活性の無い 2,4-ジクロロフェノール及びグリオキシル酸へ分解し、コハク酸及び二酸化炭素を生成する (図 2, p24) (Larue et al., 2019)。

10



15

図 2 FT\_T.1 蛋白質の生化学的作用機序\*

### 【TDO 蛋白質】

20

TDO 蛋白質は、本組換えダイズにトリケトン系除草剤への耐性を付与する。トリケトン系除草剤は、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ (4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, HPPD) 阻害型除草剤を構成する化学グループの一種である。HPPD は、植物のチロシン代謝経路に関与する酵素であり、HPPD の阻害によって下流の代謝産物であるプラストキノンやトコフェロール類等の欠乏が引き起こされる (Mitchell et al., 2001)。プラストキノンは光化学系 II の機能及びカロテノイド合成に必須であり、カロテノイド及びトコフェロール類は光合成機構の抗酸化に重要な役割を果たしている。感受性植物に対して HPPD 阻害型除草剤を処理することにより、植物においてこれらの防御分子が欠乏し、白化症状を呈し枯死する。

25

30

ジャポニカ型イネの特定の栽培種は、トリケトン系除草剤に対する自然耐

性を有している。この原因蛋白質として二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼの一種である TDO 蛋白質が同定され、トリケトン系除草剤を酸化することが報告されている (Maeda et al., 2019)。TDO 蛋白質は、他の二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼと同様に、鉄と  $\alpha$ -ケトグルタル酸を補因子として基質を酸化し、コハク酸と酸化物を生成する。トリケトン系除草剤であるメソトリオン<sup>6</sup>を基質とした生化学的試験により、TDO 蛋白質は、メソトリオンの 5 位の炭素を酸化し、HPPD 阻害活性が低下したヒドロキシメソトリオンへ、続いて同じ炭素をさらに酸化し、HPPD 阻害活性が認められないオキシメソトリオンへ変換することが示されている (図 3, p25) (Duff et al., 2024)。また、最終的に、オキシメソトリオンは非酵素的反応によってヒドロキシサントンへと変換された後、グルコシル及びマロニル抱合体へ速やかに代謝されることが報告されている (Dai et al. (2022) の Figure 5(b), p9 及び Figure S6)。TDO 蛋白質は、このようにトリケトン系除草剤を連続的に 2 段階酸化することによって、本組換えダイズにトリケトン系除草剤耐性を付与すると考えられる。

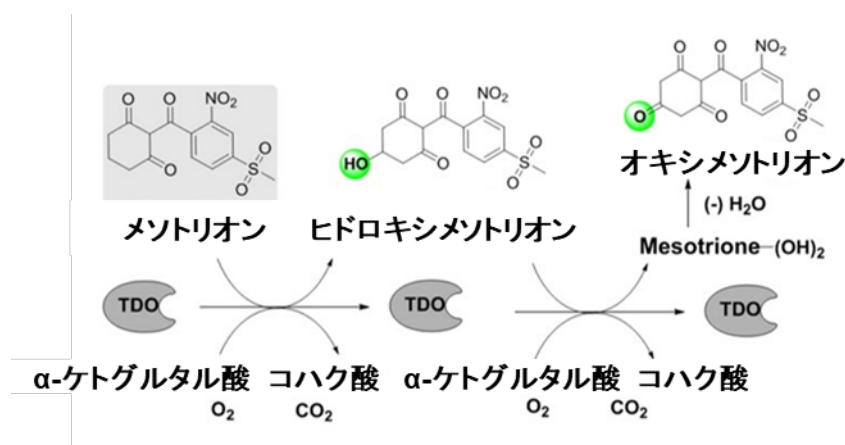


図 3 TDO 蛋白質の生化学的作用機序\*

Duff et al. (2024) の Fig. 5F を改変。

【PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質と既知のアレルゲンの相同性】

PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質が既知のアレルゲンと類似のアミノ酸配列を共有するか否かを判断するため、

<sup>6</sup> 本組換えダイズに使用可能なトリケトン系除草剤として、メソトリオンを種子販売時に指定する予定である。

AD\_2024<sup>7</sup>に登録されている既知のアレルゲンについて、FASTA 型アルゴリズム及び連続する 8 アミノ酸残基の相同性検索を行った。その結果、既知のアレルゲンと類似の配列は認められなかった。

## 5 ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

### 【PAT 蛋白質】

PAT 蛋白質は、グルホシネートに高い特異性を有することが知られている。グルホシネートはアミノ酸ホスフィノスリシンの D 体と L 体のラセミ混合物であるが、グルホシネートの除草剤活性は L 体のアミノ酸である L-ホスフィノスリシンが有している (OECD, 2006b; OECD, 2006a)。PAT 蛋白質は L-ホスフィノスリシンに特異的に活性を示し、その他の L 体アミノ酸及び D-ホスフィノスリシンは、PAT 蛋白質によりアセチル化されることはないと報告されている (Wehrmann et al., 1996; OECD, 2006a)。グルホシネート及び高濃度のその他 L 体アミノ酸を基質として供試した競合アッセイでは、PAT 蛋白質によるグルホシネートのアセチル化の阻害は認められなかった (Wehrmann et al., 1996; OECD, 2006a)。なお、近年の代謝プロファイリングにおいて、ダイズを含む複数の植物で 2 つのアミノ酸 (アミノアジピン酸及びトリプトファン) の PAT 蛋白質を介した非特異的なアセチル化が報告されている (Christ et al., 2017)。しかしながら、これら 2 つのアミノ酸に対する PAT 蛋白質の活性は、L-ホスフィノスリシンに対する活性と比べて非常に低い<sup>8</sup>ものであり、PAT 蛋白質の L-ホスフィノスリシンに対する高い基質特異性を否定するものではない。以上のことから、PAT 蛋白質が宿主の代謝系を変化させる可能性は極めて低いと考えられる。

### 【改変 DMO 蛋白質】

DMO 蛋白質は、ジカンバに高い特異性を示すことが知られている。ジカンバは、フェニル環上のカルボキシ基及びクロロ基を介して、DMO 蛋白質

---

<sup>7</sup>AD\_2024: COMPARE (COMprehensive Protein Allergen REsource) データベースに登録されている配列から構成されるデータベースで、2,748件のアミノ酸配列が含まれる (2024年2月2日更新)。

<sup>8</sup> PAT蛋白質のL-ホスフィノスリシンに対する活性の指標となる $V_{\max}/K_m$ は $1.96E-03$ であるのに対し、アミノアジピン酸及びトリプトファンに対する $V_{\max}/K_m$ はそれぞれ $8.38E-08$  (前者の20,000分の1以下) 及び $1.08E-08$  (同180,000分の1以下) と報告されている (Christ et al., 2017)。

の触媒部位のアミノ酸と相互作用することが知られており、このクロロ基がジカンバの代謝に必須である (D'Ordine et al., 2009; Dumitru et al., 2009)。植物及び他の真核生物において、ジカンバのようにクロロ基を含むフェニル環からなる化合物の存在は限定的であることが知られていることから (Gribble, 2010)、改変 DMO 蛋白質が植物の内在性化合物を代謝することは考え難い。実際に、クロロ基を有さず、カルボキシ基及びメトキシ基のみを有するフェニル環からなる植物内在性化合物のうち、最も構造的にジカンバに類似している *o*-アニス酸 (2-メトキシ安息香酸) についても、DMO 蛋白質によって代謝されないことを、除草剤ジカンバ耐性ダイズ MON87708 (2013 年 10 月 31 日承認) の生物多様性影響評価において確認している (環境省, 2013)。

以上のことから、改変 DMO 蛋白質が宿主の代謝系を変化させる可能性は極めて低いと考えられる。

#### 【FT\_T.1 蛋白質】

イ (p13) に記載したように、本組換えダイズで発現する FT\_T.1 蛋白質は、遺伝子組換えトウモロコシ MON87429 で発現する FT\_T 蛋白質に対して、除草剤 2,4-D に対する活性をさらに向上させる目的で 3 か所のアミノ酸置換が導入されている。そのため FT\_T 蛋白質よりも除草剤 2,4-D に対する高い活性 (最大反応速度  $V_{max}$  において約 2.5 倍の活性) を有するが、これらのアミノ酸置換は FT\_T 蛋白質と比較した際の FT\_T.1 蛋白質の基質特異性には影響しておらず、両者は同じ除草剤に対し活性を示す<sup>9</sup> (Larue et al. (2019) の Table 1, p7)。

また、FT\_T 蛋白質については、組換えトウモロコシ MON87429 の生物多様性影響評価において、植物内在性化合物に対する特異性を精査している (環境省, 2021)。その中で、*in silico* スクリーニングにより植物代謝産物データベースから選定<sup>10</sup>され、かつ入手可能であった 32 の植物内在性化合物を酵

<sup>9</sup> Larue et al. (2019) の Table 1 において、FT\_T.1 蛋白質の活性は、FT\_T 蛋白質と比較して除草剤 2,4-D 及び MCPA に対して向上している。本反応の基質における切断部は、2,4-D 及び MCPA においては炭素数 2 の側鎖である一方、ジクロルプロップ及びメコプロップにおいては FOP 系除草剤と同じく炭素数 3 の側鎖である。FT\_T.1 蛋白質は切断部の側鎖に基づいて基質選択性が改変されていることから (Larue et al., 2019)、その活性が 2,4-D 及び MCPA の両方に対して向上していることは予想外ではない。なお、現時点で本組換えダイズにおいて除草剤 MCPA を適用対象として登録する予定は無い。

<sup>10</sup> 既知の基質 (合成オーキシシン系除草剤ジクロルプロップ) との構造的類似性及び FT\_T 蛋白質の活性部位への適合性を基準とした *in silico* スクリーニングにより、トウモロコシ、ナタネ、ワタ、コムギ、ダイズを含む様々な生物学的資源に由来する天然物のデータベース NAPRALERT (<https://pharmacognosy.pharmacy.uic.edu/napralert/>) から、潜在的な基質となりうる植物内在性化合物を選定した。

素活性試験に供試した結果、FT\_T 蛋白質はいずれの候補化合物に対しても活性がないことが示され、FT\_T 蛋白質が内在性化合物を代謝して宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと評価している。

5 前述のとおり、FT\_T 蛋白質と FT\_T.1 蛋白質のアミノ酸配列がほぼ同一であること及び両者の除草剤に対する特異性が一致していることを鑑みれば、FT\_T.1 蛋白質が宿主の代謝系を変化させる可能性は、FT\_T 蛋白質と同様に極めて低いと考えられる。

### 【TDO 蛋白質】

10 TDO 蛋白質の潜在的な基質となりうる植物内在性化合物を探索するため、FT\_T 蛋白質において行ったもの (p27~28) と同様の *in silico* スクリーニングを、TDO 蛋白質の既知の基質であるメソトリオンとの構造的類似性及び TDO 蛋白質の活性部位へのメソトリオンの予想立体配座を基準に行った。なお、本スクリーニングの概要及び詳細はそれぞれ図 4 (p29) 及び別添資料 2 に  
15 記載した。スクリーニングの結果選定された植物内在性化合物のうち入手可能な 32 化合物、メソトリオン及び他の HPPD 阻害型除草剤に対する TDO 蛋白質の活性を、生化学的解析により評価した。その結果、TDO 蛋白質は潜在的な基質として選定されたいずれの植物内在性化合物に対しても活性を示さず、HPPD 阻害型除草剤のうちトリケトン系除草剤 (メソトリオン、テンボトリオン、スルコトリオン) に対して特異的な活性を示した (別添資料 2 の Table  
20 2, p24~25) ことから、TDO 蛋白質が内在性化合物を代謝して宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられた。

したがって、TDO 蛋白質がトリケトン系除草剤耐性を付与する作用機序及びその特異性は明らかであり、宿主の代謝系を変化させる可能性は極めて  
25 低いと考えられる。



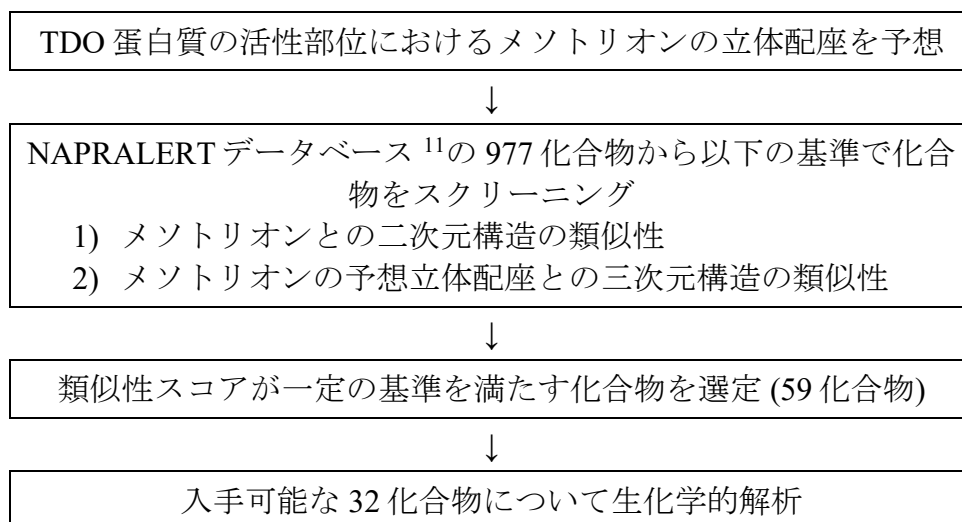


図 4 TDO 蛋白質の潜在的な植物内在性基質の探索方法概要\*

【PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質間の相互作用】

PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質はいずれも基質特異性が高い上、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立している。よって、本組換えダイズで発現しているこれら蛋白質が、植物体において相互に影響するとは考えにくい。

## (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た PV-GMHT529103 は、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 (Sutcliffe, 1979) 等をもとに構築した。詳細を表 1 (p17~21) に記載した。

<sup>11</sup> NAPRALERT (<https://pharmacognosy.pharmacy.uic.edu/napralert/>) は、トウモロコシ、ナタネ、ワタ、コムギ、ダイズを含む様々な生物学的資源に由来する天然物のデータベースである。

## ロ 特性

### ① ベクターの塩基数及び塩基配列

5       本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の全塩基数は 24,549 bp である。なお、PV-GMHT529103 の塩基配列を別添資料 3 に記載した。

### ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

10       *E. coli* 及びアグロバクテリウムにおける構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として、ネオマイシン及びカナマイシン耐性を付与する *nptII* 遺伝子がベクターバックボーンに存在している。また、形質転換後の選抜マーカー遺伝子として、スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *aadA* 遺伝子並びにスクロースフォスホリラーゼを発現させる *splA* 遺伝子が T-DNA  
15       II 領域に存在している。

### 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

20       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

25       宿主内に移入された PV-GMHT529103 の構成要素を表 1 (p17~21) に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置を図 1 (p16) に示した。

### ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

30       PV-GMHT529103 中の T-DNA I 領域及び T-DNA II 領域をアグロバクテリウム法により、非遺伝子組換えダイズ (以下「非組換えダイズ」という。) 品種 A3555 の分裂組織に導入した。

## 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

5 非組換えダイズ品種 A3555 の分裂組織と PV-GMHT529103 を含む *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) AB30 株を共存培養した後、スペクチノマイシンを含有する培地により形質転換された細胞の選抜を行った。

10 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

カルベニシリン、セフトキシム及びチメンチンを添加した組織培養培地により、形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体を除去した。さらに、本  
15 組換えダイズの R<sub>3</sub> 世代の種子<sup>12</sup>において、形質転換に用いた PV-GMHT529103 のベクターバックボーンを標的とした PCR を行ったところ、本組換えダイズには PV-GMHT529103 のベクターバックボーンは存在しなかった (別添資料 4 の Table 1, p12)。このことから、本組換えダイズには形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体は残存しないことを確認した。

20

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

25 形質転換された再分化個体 (R<sub>0</sub>) を自殖し、R<sub>1</sub> 世代を作出した。R<sub>1</sub> 世代において、T-DNA II 領域をもたず T-DNA I 領域をホモで有する個体を、*splA* 遺伝子の表現型解析<sup>13</sup>並びに *aadA* 遺伝子の PCR 及び T-*salI*3-2-MtI 配列の定量的 TaqMan PCR により選抜した。こうして得られた個体の後代から、望ましい農業特性 (意図しない性質や生産者にとって望ましくない性質を示さず、宿主と  
30 同等の収量等を示すこと)、形質の有効性、導入遺伝子の存在状態等を指標に最終的に本組換えダイズを選抜した。

本組換えダイズの育成図を図 5 (p32) に示した。なお、本申請の対象は、R<sub>3</sub> 世代及び同世代から派生する全ての交雑後代系統である。

<sup>12</sup> バルクにした収穫種子の中からランダムに約300粒取り、DNAを抽出しPCRに用いた。

<sup>13</sup> *splA*遺伝子の発現によって種子が委縮しているものを除外した。

5

【社外秘につき非開示】

10 図 5 本組換えダイズの育成図

【社外秘につき非開示】

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5        本組換えダイズの導入遺伝子が染色体上に存在するか否かを調べるため、本組換えダイズの F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 及び F<sub>4</sub> 世代 (図 5, p32) において、導入遺伝子の分離比をカイ二乗検定で分析した (別添資料 5)。

10        分離比検定に供試する世代として、T-DNA I 領域をホモで有する R<sub>3</sub> 世代を MON89788 と交配し、T-DNA I 領域をヘミで有する F<sub>1</sub> 世代を作出した後、F<sub>1</sub> 世代を自殖し F<sub>2</sub> 世代を、次に、T-DNA I 領域をヘミで有する F<sub>2</sub> 世代を自殖し F<sub>3</sub> 世代を、さらに、T-DNA I 領域をヘミで有する F<sub>3</sub> 世代を自殖し F<sub>4</sub> 世代を作出した。F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 及び F<sub>4</sub> 世代において、定性的エンドポイント TaqMan PCR により T-DNA I 領域の分離比を確認した。

15        その結果、実測値とメンデルの分離法則に基づく期待値の間にカイ二乗検定による統計学的有意差は認められなかったことから、導入遺伝子は同法則に矛盾せずに遺伝していることを確認した (表 2, p34)。したがって、本組換えダイズの導入遺伝子は染色体上に存在していると考えられた。

表 2 本組換えダイズの育成過程における導入遺伝子の分離様式\*

| 世代             | 供試<br>個体数 | 実測値         |             |       | メンデルの分離法則に基づく期待値 (1:2:1 分離) |             |        | $\chi^2$ | P 値 <sup>1</sup> |
|----------------|-----------|-------------|-------------|-------|-----------------------------|-------------|--------|----------|------------------|
|                |           | ホモ陽性<br>個体数 | ヘミ陽性<br>個体数 | 陰性個体数 | ホモ陽性<br>個体数                 | ヘミ陽性<br>個体数 | 陰性個体数  |          |                  |
| F <sub>2</sub> | 262       | 68          | 131         | 63    | 65.50                       | 131.00      | 65.50  | 0.19     | 0.909            |
| F <sub>3</sub> | 527       | 134         | 251         | 142   | 131.75                      | 263.50      | 131.75 | 1.43     | 0.489            |
| F <sub>4</sub> | 291       | 76          | 144         | 71    | 72.75                       | 145.50      | 72.75  | 0.20     | 0.904            |

<sup>1</sup> 各世代から得られた分離比をカイ二乗検定で分析した (有意水準  $\alpha = 0.05$ )。

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

本組換えダイズにおける導入遺伝子の挿入箇所数及びコピー数、ベクター由来の非意図的な配列の有無、導入遺伝子及びその近傍配列の塩基配列並びに複数世代における伝達の安定性を確認するために、次世代シーケンシング(NGS, Next Generation Sequencing)<sup>14</sup> 並びに導入遺伝子領域の PCR 及び塩基配列解析を実施した (別添資料 6)。

NGS では、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズから抽出したゲノムをランダムに断片化し、断片の両端から約 150 bp ずつの短い塩基配列 (リード) をシーケンシングするペアエンド法により、全ゲノムの解析に十分な量を解析した。その結果、本組換えダイズ (R<sub>3</sub> 世代) で 160.8 Gb (平均リード深度 <sup>15</sup>136)、対照の非組換えダイズで 180.3 Gb (平均リード深度 126) の塩基配列を解析し、いずれも平均リード深度が 75 を超えること <sup>16</sup>を確認した (別添資料 6 の Appendix Table 3, p46)。

本組換えダイズ (R<sub>3</sub> 世代) に由来するリードを PV-GMHT529103 の塩基配列とアライメント <sup>17</sup>した結果、導入遺伝子の全ての配列が検出されていることを確認した (別添資料 6 の Appendix Figure 4, p51)。

またこの解析から、本組換えダイズには、PV-GMHT529103 に由来する非意図的な配列が挿入されていないことも確認した (別添資料 6 の Appendix Figure 4, p51)。

導入遺伝子の挿入箇所数を決定するため接合領域の解析を行った結果、本組換えダイズでは 2 つの接合領域が特定された (別添資料 6 の p28)。これらはそれぞれ導入遺伝子の 5' 及び 3' 末端を含む配列であった (別添資料 6 の Appendix Figure 30, p100~101, 末尾の confidential attachment に収録)。対照の非

<sup>14</sup>NGSは、塩基配列解析とバイオインフォマティクスにより、サザンブロッティングと同等の分子特性解析を可能とする技術である。NGSにおいては、フラグメント化した大量のサンプルゲノムDNAの配列を解析することで、全ゲノム解析を行う。次に、これらのフラグメントの塩基配列情報を用い、T-DNA領域と宿主の内在性配列との接合領域を特定することで、T-DNA領域の導入箇所数及び配列並びに非意図的な断片の有無を決定する (Kovalic et al., 2012)。

<sup>15</sup> 平均リード深度は、ダイズゲノムに1コピーで存在する内在性遺伝子 (*leI*) について読まれた塩基数から算出した。

<sup>16</sup> 平均リード深度が75以上であれば導入遺伝子領域の全ての配列を検出することが可能であること (Kovalic et al., 2012) 及び平均リード深度が11であっても25塩基長の短い導入遺伝子領域の配列及び非意図的な配列を検出できることが報告されている (Cade et al., 2018)。

<sup>17</sup>Bowtie 2 v2.3.4.1 (Langmead and Salzberg, 2012) を使用して、解析した塩基配列をアライメントした。Bowtie2でフラグメントの片側の配列に対するアライメントを行う場合、30 bp 以上の相同性を検出基準としている。

組換えダイズでは、接合領域は特定されなかった (別添資料 6 の p28)。

以上の解析から、本組換えダイズの核ゲノム中 1 か所に 1 コピーの導入遺伝子が組み込まれており、ベクター由来の非意図的な配列は挿入されていないことを確認した。

5

また、本組換えダイズ ( $R_3$  世代) において検出された導入遺伝子、接合領域及び近傍配列に対し、部位特異的 PCR 及び塩基配列解析を行った結果、目的の遺伝子が導入されていることを確認した (別添資料 6 の Appendix Figure 6, p53~57 及び Appendix Figure 7, p58~75, いずれも末尾の confidential attachment に収録)。なお、本組換えダイズにおける導入遺伝子の模式図を図 6 (p37) に示した。

10

さらに、複数世代 ( $R_3$ 、 $R_4$ 、 $R_5$ 、 $R_6$  及び  $R_7$  世代) の本組換えダイズを対象にした NGS において、導入遺伝子が安定して後代に遺伝していることを確認した (別添資料 6 の p32)。

15



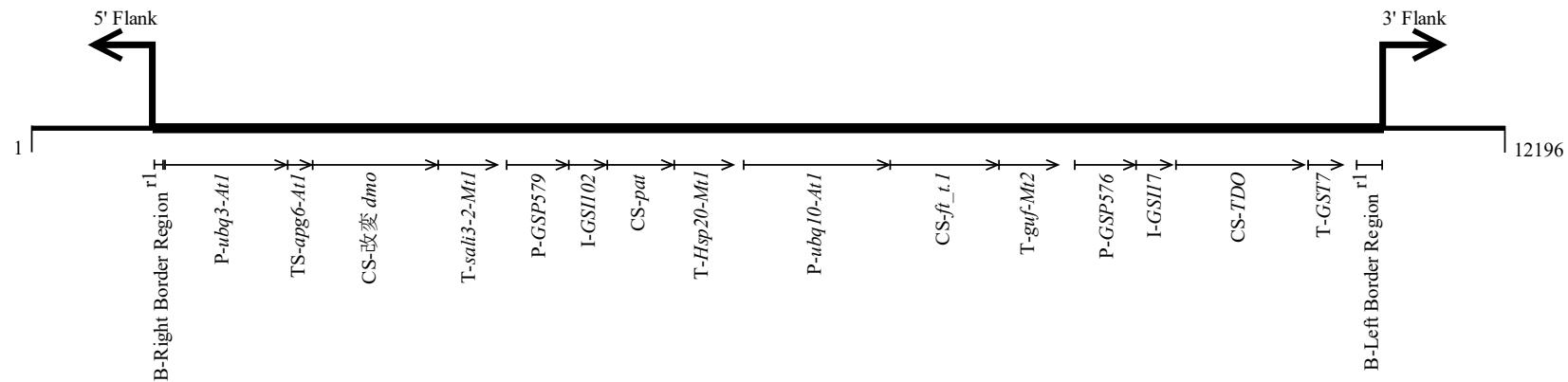


図6 本組換えダイズにおける導入遺伝子の模式図\*

- 5 本組換えダイズにおける導入遺伝子中の構成要素の大きな位置と配列の方向を示す。図上部の直角に曲がった矢印は、導入遺伝子と近傍配列の境界を示している。なお、本組換えダイズにおいて目的の導入遺伝子は PV-GMHT529103 と一致した配列で導入されている。図中の「r1」の表記は、本組換えダイズに導入された B-Right Border Region 及び B-Left Border Region が、PV-GMHT529103 の当該エレメントと比較して短くなっていることを示す。

- 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

1 コピーのため該当しない (別添資料 6 の p28)。

5

- ④ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体  
間及び世代間での発現の安定性

10 本組換えダイズの複数世代 (R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> 世代) の種子において  
PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質が安定して発  
現していることをウエスタンブロッティングにより確認した (別添資料 7 の  
Figure 2~5, p16~19)。

15 また、2020 年に米国の 5 か所 (アイオワ州、ミズーリ州、ネブラスカ州、イ  
リノイ州、ウィスコンシン州) で行ったほ場試験において本組換えダイズの地  
上部、種子、葉及び根のサンプル (種子以外の組織: R<sub>5</sub> 世代、種子: R<sub>6</sub> 世代) を  
採取し、PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質及び FT\_T.1 蛋白質の発現量をマルチ  
プレックスイムノアッセイにより、TDO 蛋白質の発現量を ELISA 法により分  
析した (別添資料 8)。その結果、本組換えダイズの地上部、種子、葉及び根に  
20 おける PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質の発現  
を確認した (表 3~表 6, p39~40)。

表 3 本組換えダイズの各組織における PAT 蛋白質の発現量 (2020 年、米国)\*

| 組織  | 生育段階 <sup>1</sup> | 平均値 (SE)<br>範囲 (μg/g DW) <sup>2</sup> | LOQ/LOD<br>(μg/g DW) <sup>3</sup> |
|-----|-------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 地上部 | BBCH 77           | 12 (0.74)<br>6.7-18                   | 0.007/0.003                       |
| 種子  | BBCH 99           | 3.8 (0.14)<br>2.6-4.6                 | 0.007/0.003                       |
| 葉   | BBCH 14-15        | 19 (1.1)<br>12-29                     | 0.014/0.007                       |
| 根   | BBCH 77           | 3.7 (0.25)<br>1.7-5.4                 | 0.007/0.003                       |

<sup>1</sup> 各組織の採取時における生育段階。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準 (Meier, 2001)。BBCH 14-15 = 3-4 葉期、BBCH 77 = 子実肥大期、BBCH 99 = 種子の収穫。

<sup>2</sup> 蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表示している。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値－最大値) は、全てのほ場で採取された各組織の値を基に計算している (n=20)。SE=標準誤差、DW=乾燥重。

<sup>3</sup> LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

10 表 4 本組換えダイズの各組織における改変 DMO 蛋白質の発現量 (2020 年、米国)\*

| 組織  | 生育段階 <sup>1</sup> | 平均値 (SE)<br>範囲 (μg/g DW) <sup>2</sup> | LOQ/LOD<br>(μg/g DW) <sup>3</sup> |
|-----|-------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 地上部 | BBCH 77           | 150 (7.4)<br>100-230                  | 0.007/0.004                       |
| 種子  | BBCH 99           | 40 (1.2)<br>32-49                     | 0.007/0.004                       |
| 葉   | BBCH 14-15        | 68 (3.7)<br>45-100                    | 0.007/0.004                       |
| 根   | BBCH 77           | 20 (1.1)<br>10-27                     | 0.007/0.004                       |

<sup>1</sup> 各組織の採取時における生育段階。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準 (Meier, 2001)。BBCH 14-15 = 3-4 葉期、BBCH 77 = 子実肥大期、BBCH 99 = 種子の収穫。

<sup>2</sup> 蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表示している。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値－最大値) は、全てのほ場で採取された各組織の値を基に計算している (n=20)。SE=標準誤差、DW=乾燥重。

<sup>3</sup> LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

表 5 本組換えダイズの各組織における FT\_T.1 蛋白質の発現量 (2020 年、米国)\*

| 組織  | 生育段階 <sup>1</sup> | 平均値 (SE)<br>範囲 (μg/g DW) <sup>2</sup> | LOQ/LOD<br>(μg/g DW) <sup>3</sup> |
|-----|-------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 地上部 | BBCH 77           | 11 (0.48)<br>7.5-15                   | 0.046/0.028                       |
| 種子  | BBCH 99           | 6.1 (0.16)<br>4.7-7.2                 | 0.023/0.014                       |
| 葉   | BBCH 14-15        | 20 (0.60)<br>14-25                    | 0.023/0.014                       |
| 根   | BBCH 77           | 4.1 (0.25)<br>2.3-6.0                 | 0.023/0.014                       |

<sup>1</sup> 各組織の採取時における生育段階。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準 (Meier, 2001)。BBCH 14-15 = 3-4 葉期、BBCH 77 = 子実肥大期、BBCH 99 = 種子の収穫。

5 <sup>2</sup> 蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表示している。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値－最大値) は、全てのほ場で採取された各組織の値を基に計算している (n=20)。SE=標準誤差、DW=乾燥重。

<sup>3</sup>LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

10

表 6 本組換えダイズの各組織における TDO 蛋白質の発現量 (2020 年、米国)\*

| 組織  | 生育段階 <sup>1</sup> | 平均値 (SE)<br>範囲 (μg/g DW) <sup>2</sup> | LOQ/LOD<br>(μg/g DW) <sup>3</sup> |
|-----|-------------------|---------------------------------------|-----------------------------------|
| 地上部 | BBCH 77           | 12 (0.58)<br>8.8-17                   | 1.0/0.421                         |
| 種子  | BBCH 99           | 5.0 (0.36)<br>2.8-8.1                 | 0.50/0.312                        |
| 葉   | BBCH 14-15        | 41 (1.9)<br>25-53                     | 1.0/0.413                         |
| 根   | BBCH 77           | <LOQ                                  | 0.50/0.341                        |

<sup>1</sup> 各組織の採取時における生育段階。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準 (Meier, 2001)。BBCH 14-15 = 3-4 葉期、BBCH 77 = 子実肥大期、BBCH 99 = 種子の収穫。

15 <sup>2</sup> 蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表示している。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値－最大値) は、全てのほ場で採取された各組織の値を基に計算している (根を除いて n=20。根においては 14 反復が定量限界未満であり、定量限界以上であった 6 反復の平均値及び標準誤差は 0.91 (0.088) μg/g DW であった)。SE=標準誤差、DW=乾燥重。

<sup>3</sup>LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

- 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播されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度

5 移入された核酸の配列には伝達を可能とする機能はないため、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

10 本組換えダイズは、本組換えダイズに特異的に結合可能なプライマーセットを利用して、Real-Time Quantitative TaqMan PCR による検出及び識別が可能である (別添資料 9; 別添資料 10)。

15 本 PCR の検出限界は 5 コピーであり、このコピー数は供試 DNA 量を 100 ng とする条件においてゲノム DNA 量比で 0.006%以下に相当する (別添資料 10, p4, p9~10)。

本 PCR の信頼性については、米国バイエルグループと米国 Eurofins BioDiagnostics 社において検証され、確認されている (別添資料 10)。

- 20 (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

25 本組換えダイズへ導入された *pat* 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子、*ft\_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子は、それぞれ PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質を発現することにより、除草剤グルホシネート耐性、除草剤ジカンバ耐性、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性及びトリケトン系除草剤耐性を付与する。

- 30 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\*

35 本組換えダイズについて、「農林水産大臣がその生産又は流通を所管する遺伝子組換え植物に係る第一種使用規程の承認の申請について」(平成 19 年 12 月 10 日付け 19 消安第 8999 号、環自野発第 071210001 号 農林水産省消費・

安全局長、農林水産省農林水産技術会議事務局長、林野庁長官、環境省自然環境局長通知) 第 3 の 1 の (6) に規定される隔離ほ場における情報収集が不要と判断されたことが、2025 年 3 月 6 日に開催された令和 6 年度第 2 回生物多様性影響評価検討会総合検討会において報告されている。

- 5       したがって、以下に掲げる本組換えダイズの生理学的又は生態学的特性の評価にあたり、米国において実施したほ場及び温室試験の結果を使用した。なお、各試験には、本組換えダイズの R<sub>5</sub> 世代 (f 交雑率を除く特性の評価) 又は R<sub>7</sub> 世代 (f 交雑率の評価) を供試し、また、対照の非組換えダイズとしては、本組換えダイズと同様の遺伝的背景を有する従来商業品種 A3555 を供試した。

10

#### a 形態及び生育の特性

- 15       2020 年に米国の 8 か所のほ場 (アイオワ州 2 か所、イリノイ州、インディアナ州、ミズーリ州、ネブラスカ州、オハイオ州及びウィスコンシン州) において、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ及び従来商業品種 4 品種 (全ほ場合計で従来商業品種 15 品種) をほ場あたり 4 反復で栽培し、苗立ち数 (個体数/m<sup>2</sup>)、開花までの日数 (播種日から 50%の花が開花するまでの日数)、成熟までの日数 (播種日から 90%の莢が成熟した莢色を呈するまでの日数)、主茎長 (cm)、倒伏率 (%)、裂莢率 (%)、最終株数 (個体数/m<sup>2</sup>)、種子の水分含有率 (%)、百粒重 (g)、収量 (t/ha) の 10 特性を調査した (別添資料 11)。

- 20       上記 10 特性について本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間で統計解析を行った結果、百粒重を除く 9 特性において統計学的有意差は認められなかった。百粒重においては統計学的有意差が認められ、本組換えダイズの百粒重の平均値 (15.3 g) は対照の非組換えダイズの百粒重の平均値 (16.2 g) より  
25       軽かったが、本組換えダイズの百粒重の平均値は、従来商業品種の平均値の範囲内 (14.7 ~ 19.4 g) であった (別添資料 11 の Table 5, p24)。

#### b 生育初期における低温耐性

- 30       2024 年に米国のバイエルグループの人工気象室において、生育初期における低温耐性試験を実施した。生育初期における低温耐性を比較するために、4 ~ 5 葉期の本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ及び従来商業品種 4 品種の幼苗を日中 12°C/夜間 8°C に設定した人工気象室で栽培した。低温処理開始後 11 日目及び 20 日目に草丈 (cm) を、低温処理開始後 20 日目に乾燥重 (g)  
35       を調査した。

その結果、草丈及び乾燥重のいずれにおいても本組換えダイズと対照の非

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 (別添資料 12 の Table 4, p12 及び Table 5, p13)。

c 成体の越冬性

5

2021 年に米国のほ場 (イリノイ州) で実施した栽培試験において、栽培期間終了後に本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズのいずれも枯死していることを確認した (別添資料 13 の Figure 1, p7 及び Figure 2, p8)。

10 d 花粉の稔性及びサイズ

2020 年に米国のほ場 (イリノイ州) において、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ及び従来商業品種 4 品種を 4 反復で栽培し、花粉の稔性 (充実度) (%) 及びサイズ ( $\mu\text{m}$ ) を調査した。その結果、花粉の稔性及びサイズ共に  
15 本組換えダイズと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 (別添資料 14 の Table 2, p13)。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

20 生産量 :

項目 a (形態及び生育の特性, p42) に記載したとおり、収量 (t/ha) において本組換えダイズと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。また、百粒重においては統計学的有意差が認められたが、本組換えダイズの百粒重の平均値 (15.3 g) は、従来商業品種の平均値の範囲内 (14.7  
25 ~ 19.4 g) であった。

脱粒性 :

項目 a (形態及び生育の特性, p42) に記載したとおり、裂莢率 (%) において本組換えダイズと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  
30 なかった。

休眠性及び発芽率 :

2021 年に米国の SGS North America Inc. 社の人工気象室において、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ及び従来商業品種 4 品種の種子を 4 反復各約  
35 100 粒ずつ播種し、Association of Official Seed Analysts (AOSA) が標準試験法とする 2 つの温度条件、至適条件 (25°C 8 日間) 及び準至適条件 (10°C 7 日間

の後 25°C 7 日間) の下、種子の発芽試験を実施した。試験においては、種子の発芽率 (%)、死亡種子率 (%) 並びに生存種子における吸水膨潤状態種子<sup>18</sup>率 (%) 及び硬実種子<sup>19</sup>率 (%) を調査した (別添資料 15)。

試験の結果、準至適条件では、吸水膨潤状態種子率及び硬実種子率において本組換えダイズ及び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。種子の発芽率及び死亡種子率においては統計学的有意差が認められたが、本組換えダイズの発芽率 (99.3%) 及び死亡種子率 (0.8%) の平均値は、いずれも従来商業品種の平均値の範囲内 (99.0 ~ 99.8% 及び 0.3 ~ 1.0%) であった (別添資料 15 の Table 3, p20)。

至適条件では、吸水膨潤状態種子率及び硬実種子率において本組換えダイズ及び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。種子の発芽率及び死亡種子率においては統計学的有意差が認められたが、本組換えダイズの発芽率 (100.0%) 及び死亡種子率 (0.0%) の平均値はいずれも従来商業品種の平均値の範囲内 (98.5 ~ 100.0% 及び 0.0 ~ 1.5%) であった (別添資料 15 の Table 3, p20)。

#### f 交雑率

2022 年に米国のほ場 (ウィスコンシン州) において、本組換えダイズ (R<sub>6</sub> 世代) 及び対照の非組換えダイズを栽培し、交雑率 (%) を調査した (別添資料 16)。紫色の花と紫色の胚軸の表現型を示す本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズの両者を花粉親として、白色の花と緑色の胚軸の表現型を示す非組換えダイズ品種を種子親として用いた。調査区として、花粉親に本組換えダイズを用いた試験ブロックと、花粉親に非組換えダイズを用いた対照ブロックを設置した。各ブロックは、0.76 m の間隔で植えられた 9 条 (花粉親 5 条及び種子親 4 条) で構成され、種子親が植えられた各条の両側に、花粉親が植えられた条が位置するように配置した。また、調査区は他のダイズ畑から 6 m 以上隔離した。

栽培の結果、両ブロックともに、良好な株立ちを示したこと及び花粉親と種子親間で開花期が同期していたことを確認した。成熟後に各ブロックの種子親から収穫した種子 (R<sub>7</sub> 世代) それぞれ 1,200 個を人工気象室内に播種し、発芽した個体 (試験ブロック 1,189 個体、対照ブロック 1,187 個体) の発芽期における胚軸の色を評価することで、ブロック別に交雑率を算出した。

<sup>18</sup> 未発芽の生存種子のうち吸水膨潤状態にある種子。

<sup>19</sup> 未発芽の生存種子のうち水を吸収せず硬い状態にある種子。



得られた交雑率について本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間で統計解析を行った結果、本組換えダイズ (0.08%) と対照の非組換えダイズ (0.00%) との間に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 16 の Table 1, p9)。なお、本組換えダイズの交雑率 (0.08%) は、花粉親と種子親間の距離が同様の条件下<sup>20</sup>で得られたダイズ品種間における交雑率の文献値の範囲内 (0 ~ 0.19%) であった (Yoshimura et al., 2006; Kim et al., 2020)。

#### g 有害物質の産生性

##### 10 土壌微生物相試験：

2023 年に米国のバイエルグループの温室において本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ及び従来商業品種 6 品種を 6 反復で栽培し、栽培後の土壌を用い土壌微生物相試験を行った (別添資料 17)。

その結果、土壌微生物の菌数において、本組換えダイズ区の土壌と対照の非組換えダイズ区の土壌との間に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 17 の Table 1, p8)。

##### 鋤込み試験及び後作試験：

2022 年に米国のバイエルグループの温室において本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ及び従来商業品種 6 品種を 6 反復で栽培し、植物体を鋤き込んだ土壌及び栽培後の土壌をそれぞれ用い鋤込み試験及び後作試験を行った (別添資料 18)。鋤込み試験及び後作試験においては、検定植物 (ハツカダイコン) の発芽率及び乾燥重を調査した。

その結果、両試験のいずれの調査項目においても、本組換えダイズ区の土壌と対照の非組換えダイズ区の土壌との間に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 18 の Table 1, p10)。

### 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### 30 (1) 使用等の内容

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。

---

<sup>20</sup> 花粉親と種子親間の距離は、Yoshimuraら (2006) では0.7 ~ 10.5 m、Kimら (2020) では0.5 ~ 10.5 mであった。

(2) 使用等の方法

—

5

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

—

10

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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

15

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

—

20

(6) 国外における使用等に関する情報

本組換えダイズの主要栽培予定国及び輸入予定国における申請及び認可等の状況は表 7 (p47) のとおりである。

25

なお、本組換えダイズの我が国における申請及び認可等の状況は表 8 (p47) のとおりである。

表 7 本組換えダイズの主要栽培予定国及び輸入予定国における申請及び認可等の状況\*

2025 年 5 月現在

| 機関                             | 安全性審査の種類 | 申請時期    | 認可時期                   |
|--------------------------------|----------|---------|------------------------|
| カナダ保健省 (Health Canada)         | 食品       | 2022年4月 | 2023年10月               |
| カナダ食品検査庁 (CFIA)                | 環境・飼料    | 2022年4月 | 2023年10月               |
| 米国農務省 (USDA)                   | 環境       | 2022年7月 | 2023年11月 <sup>21</sup> |
| 米国食品医薬品庁 (FDA)                 | 食品・飼料    | 2022年9月 | 2024年9月                |
| オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ) | 食品       | 2023年5月 | 2024年5月                |

5

表 8 本組換えダイズの我が国における申請及び認可等の状況\*

2025 年 5 月現在

| 機関        | 内容                                  | 申請時期     | 認可時期    |
|-----------|-------------------------------------|----------|---------|
| 消費者庁      | 食品 <sup>22</sup>                    | 2025年1月  | —       |
| 農林水産省     | 飼料 <sup>23</sup>                    | 2023年9月  | —       |
| 農林水産省・環境省 | 環境 (第一種使用<br>規程：隔離ほ場) <sup>24</sup> | 2022年11月 | 2023年7月 |
| 農林水産省・環境省 | 環境 (第一種使用<br>規程：一般使用)               | 2025年5月  | —       |

<sup>21</sup> 米国農務省 (USDA) による規制ステータス評価 (Regulatory Status Review) の第一段階 (RSR ステップ1) の結果、規制対象にあたらないと判断された。

<sup>22</sup> 食品衛生法に基づく。

<sup>23</sup> 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

<sup>24</sup> 2025年3月6日に開催された令和6年度第2回生物多様性影響評価検討会総合検討会において、隔離ほ場における情報収集が不要と判断されたことが報告されている。

## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

### 1 競合における優位性

#### 5 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズは雑草性を有しておらず、ダイズがこれまで北米において栽培ほ場の外で発見されたという報告はない (OECD, 2000)。我が国においても、ダイズはイネ、ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでに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。

本組換えダイズは、PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質の発現により、除草剤グルホシネート耐性、除草剤ジカンバ耐性、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性及びトリケトン系除草剤耐性が付与されているが、これらの除草剤が散布されることが想定されにくい自然条件下において、本形質が競合における優位性を高めるとは考え難い。除草剤耐性形質を有する組換えダイズが 1996 年以降輸入されている我が国において、2009 年から 2023 年まで農林水産省によって遺伝子組換え植物実態調査が実施されているが、組換えダイズが世代交代を繰り返すことにより生育範囲が経年的に拡大しているといった状況はこれまでの調査で認められていない (農林水産省, 2011a; 農林水産省, 2011b; 農林水産省, 2012; 農林水産省, 2013; 農林水産省, 2014; 農林水産省, 2015; 農林水産省, 2017; 農林水産省, 2018a; 農林水産省, 2018b; 農林水産省, 2020; 農林水産省, 2021; 農林水産省, 2022a; 農林水産省, 2022b; 農林水産省, 2023; 農林水産省, 2024b)。

また、競合における優位性に関わる諸形質として、本組換えダイズの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並びに種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率に関わる評価項目を米国において調査した結果、これらの形質に関わる評価項目のうち百粒重、種子の発芽率及び死亡種子率を除くいずれの項目においても、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差や違いは認められなかった (第一の 2-(6)-②-a~e, p42~44)。統計学的有意差が認められた百粒重、種子の発芽率及び死亡種子率についても、本組換えダイズの平均値は、いずれも同時に栽培した従来商業品種の平均値の範囲内であったことから (第一の 2-(6)-②-a~e, p42~44)、これらの試験で認められた統計学的有意差は、非組換えダイズの品種間変動の範囲内であり、本組換えダイズの競合における優位性を高

めるものではないと考えられた。

以上のことから、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。

5

## (2) 影響の具体的内容の評価

—

10

## (3) 影響の生じやすさの評価

—

## (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

15

以上のことから、本組換えダイズは、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

20

## (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズにおいて、自然条件下で野生動植物等の生育又は生息に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

25

本組換えダイズ中では除草剤グルホシネート耐性、除草剤ジカンバ耐性、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性及びトリケトン系除草剤耐性をそれぞれ付与する PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質が発現しているが、いずれも有害物質としては知られておらず、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことを確認している (第一の 2-(1)-ロ-②, p22~26)。

30

また、第一の 2-(1)-ロ-③ (p26~29) に記載したように、PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質は、いずれも基質特異性が非常に高く、構造的に類似する植物内在性化合物を基質とすることがないため、これらの蛋白質が宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することは考えにくい。加

35

えて、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立していることから、これら蛋白質が、植物体において相互に影響し、予期しない有害物質を産生することも考えにくい。

5 実際には、本組換えダイズにおける有害物質の産生性を評価するため、米国において土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験を行った結果、調査したいずれの項目においても本組換えダイズと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(第一の2-(6)-②-g, p45)。

10 以上のことから、有害物質の産生性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

## (2) 影響の具体的内容の評価

15 —

## (3) 影響の生じやすさの評価

—

20

## (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えダイズは、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。

25

## 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

30 第一の1-(3)-ニ-③ (p7~12) 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我が国に自生する植物はツルマメのみである(吉村ら, 2016)。したがって、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は、低い確率で交雑が生じ、雑種が形成される (OECD, 2000)。したがって、交雑性に起因する具体的な影響としては、本組換えダイズ由来の *pat* 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子、*ft\_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子が当該雑種からツルマメの集団中に浸透した後に、その集団の競合における優位性が高まることが考えられた。

## (3) 影響の生じやすさの評価

交雑性に起因する影響の生じやすさを評価するにあたり、1) 本組換えダイズがツルマメと交雑する可能性、2) 本組換えダイズ由来の *pat* 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子、*ft\_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子がツルマメの遺伝的背景の中で競合における優位性を高める可能性の2点を検討した。

### 1) 本組換えダイズがツルマメと交雑する可能性

第一の1-(3)-ニ-③ (p7~12) に記載したように、ダイズとツルマメはともに、自家受粉率の高い自殖性植物である (OECD, 2000; 阿部・島本, 2001)。また、一般的にツルマメの開花期はダイズより遅く、この開花期のずれは、両者の遺伝子交流を妨げる一因と考えられている (阿部・島本, 2001)。さらに、ダイズとツルマメが隣接して生育し、かつ開花期が重複する条件下においても、ダイズとツルマメが交雑する可能性は極めて低いことが報告されている (Nakayama and Yamaguchi, 2002; Mizuguti et al., 2010)。

また、ダイズとツルマメの雑種形成については、我が国の自然環境下において2003年から2006年にかけて経時的な調査が行われた結果、ツルマメ自生地においてダイズとツルマメの形態的中間体が発見される頻度は栽培実験の値よりも明らかに少ないことが報告されるとともに、ダイズとツルマメの自然交雑率は非常に低いことが示唆されたとされている (加賀ら, 2005; 黒田ら, 2005; 黒田ら, 2006; 黒田ら, 2007)。

本組換えダイズには、*pat* 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子、*ft\_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子により、それぞれ除草剤グルホシネート耐性、除草剤ジカンバ耐性、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性及びトリケトン系除草剤耐性への耐性が付与されている。これら除草剤耐性形質が、花粉の形態及び稔性、種子の生産性等、生殖に関わる特性を変化させることは想定しにくいことから、本組換えダイズの交雑性が従来ダイズと比較して高まっていることは考え難

い。

実際に、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズを、非組換えダイズと隣接して栽培した際の交雑率を米国のは場において調査した結果、本組換えダイズと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ず、また、本組換えダイズの交雑率は、花粉親と種子親間の距離が同様の条件下で得られたダイズ品種間における交雑率の文献値の範囲内であった (第一の 2-(6)-②-f, p44~45)。

上記のことから、本組換えダイズの交雑性は従来の非組換えダイズと比較して高まっておらず、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性は、従来の非組換えダイズと同じく極めて低いと考えられた。

2) 本組換えダイズ由来の *pat* 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子、*ft\_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子がツルマメの遺伝的背景の中で競合における優位性を高める可能性

仮に本組換えダイズとツルマメが交雑した場合も、本組換えダイズ由来の導入遺伝子がツルマメ集団中に遺伝子浸透していくためには、雑種及び後代が自然環境中で生存し、ツルマメと交雑を繰り返す必要がある。しかしながら、第一の 1-(3)-ニ-③ (p7~12) に記載したように、ダイズとツルマメの雑種及びその後代は、ダイズの遺伝子がある割合で有することにより、自然環境への適応にツルマメと比べ不利となり、淘汰されることが報告されている (Oka, 1983; Chen and Nelson, 2004; Kuroda et al., 2010; Kitamoto et al., 2012; Kuroda et al., 2013)。

また、1 (1) (p48~49) で論じたように、本組換えダイズには、PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質の発現により除草剤グリホシネート耐性、除草剤ジカンバ耐性、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性及びトリケトン系除草剤耐性が付与されているが、これらの除草剤が散布されることが想定されにくい自然条件下において、本形質が競合における優位性を高めるとは考え難い。Kubo ら (2013) は、除草剤グリホサート耐性組換えダイズとツルマメの雑種における形態特性、開花特性及び繁殖特性は、親系統のダイズやツルマメと同等かそれらの中間的性質であったことから、除草剤グリホサートが散布されることが無い場合、導入遺伝子は適応度に影響しないと報告している。



上記のことから、本組換えダイズとツルマメの雑種が我が国の自然条件に適応していく可能性は極めて低く、本組換えダイズに由来する除草剤耐性形質のみにより雑種の競合性がツルマメより高まることはないと考えられた。

- 5       したがって、本組換えダイズの交雑性に起因する生物多様性影響の生じやすさは極めて低いと考えられた。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

- 10       以上のことから、本組換えダイズは、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

- 15       —

### 第三 生物多様性影響の総合的評価

競合における優位性：

- 5     ダイズは雑草性を有しておらず、我が国においてイネ、ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでに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。

- 10     本組換えダイズは、PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質の発現により、除草剤グルホシネート耐性、除草剤ジカンバ耐性、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性及びトリケトン系除草剤耐性が付与されているが、これらの除草剤が散布されることが想定されにくい自然条件下において、本形質が競合における優位性を高めるとは考え難い。

- 15     競合における優位性に関わる諸形質に関わる評価項目を米国において調査した結果、百粒重、種子の発芽率及び死亡種子率を除くいずれの項目においても、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差や違いは認められなかった。統計学的有意差が認められた百粒重、種子の発芽率及び死亡種子率についても、本組換えダイズの平均値は、いずれも同時に栽培した従来商業品種の平均値の範囲内であったことから、これらの試験で認められた統計学的有意差は、非組換えダイズの品種間変動の範囲内であり、本組換えダイズの競合における優位性を高めるものではないと考えられた。
- 20     したがって、本組換えダイズは、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。

有害物質の産生性：

- 25     ダイズにおいて、自然条件下で野生動植物等の生育又は生息に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

本組換えダイズ中で発現する PAT 蛋白質、改変 DMO 蛋白質、FT\_T.1 蛋白質及び TDO 蛋白質は、いずれも有害物質としては知られておらず、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことを確認している。

- 30     また、これらの蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する植物内在性化合物を基質とすることがないため、これらの蛋白質が宿主の代謝系に作用して有害物質を産生するとは考えにくい。加えて、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立していることから、これら蛋白質が、植物体において相互に影響し、予期しない有害物質を産生することも考えにくい。

- 35     実際に、本組換えダイズにおける有害物質の産生性を評価するため、土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験を行った結果、いずれの調査項目においても本組換えダイズと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。

したがって、本組換えダイズは、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。

5 交雑性：

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。具体的な影響として、本組換えダイズ由来の *pat* 遺伝子、改変 *dmo* 遺伝子、*ft\_t.1* 遺伝子及び *tdo* 遺伝子がツルマメの集団中に浸透した後に、その集団の競合における優位性が高まることが考えられた。

- 10 交雑性に起因する影響の生じやすさを検討したところ、我が国の自然条件下においてダイズとツルマメが交雑する頻度は極めて低いと考えられること、付与された除草剤耐性形質が、生殖に関わる特性を変化させることは想定しづらく、本組換えダイズの交雑性が従来ダイズと比較して高まっていることは考え
- 15 難しいこと、さらには米国のほ場での調査結果から、本組換えダイズの交雑率と対照の非組換えダイズの交雑率との間に統計学的有意差は認められず、本組換えダイズの交雑性は従来の非組換えダイズと比較して高まっていなかったことから、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性は、従来のダイズと同じく極めて低いと考えられた。

- また、仮に本組換えダイズとツルマメが交雑した場合も、国内外で行われた
- 20 調査研究結果から、その雑種が我が国の自然条件に適応していく可能性は極めて低く、加えて、本組換えダイズに由来する除草剤耐性形質のみにより雑種の競合性がツルマメより高まることはないと考えられた。

したがって、本組換えダイズは、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。

25

以上のことから、本組換えダイズを第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと総合的に判断された。

## 参考文献

- Abel, G.H. 1970. Storage of soybean pollen for artificial crossing. *Agronomy Journal* 62: 121-123.
- Ahrens, W.H. 1994. Dicamba. 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid. Pages 91-94 in *Herbicide Handbook*. Seventh Edition. Weed Science Society of America, Champaign, Illinois.
- Ahrent, D.K. and C.E. Caviness. 1994. Natural Cross-Pollination of Twelve Soybean Cultivars in Arkansas. *Crop Science* 34: cropscl1994.0011183X003400020013x.
- Axelos, M., C. Bardet, T. Liboz, A. Le Van Thai, C. Curie and B. Lescure. 1989. The gene family encoding the *Arabidopsis thaliana* translation elongation factor EF-1 $\alpha$  molecular cloning characterization and expression. *Molecular and General Genetics* 219: 106-112.
- Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson and J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology* 2: 335-350.
- Baumlein, H., W. Boerjan, I. Nagy, R. Bassuner, M. Van Montagu, D. Inze and U. Wobus. 1991. A novel seed protein gene from *Vicia faba* is developmentally regulated in transgenic tobacco and *Arabidopsis* plants. *Mol Gen Genet* 225: 459-467.
- Bautista-Zapanta, J.-n., K. Suzuki and K. Yoshida. 2002. Characterization of four ribosomal RNA operons in the genome of *Agrobacterium tumefaciens* MAFF301001. *Nucleic Acids Research Supplement* (2): 91-92.
- Beck, E., G. Ludwig, E.A. Auerswald, B. Reiss and H. Schaller. 1982. Nucleotide sequence and exact localization of the neomycin phosphotransferase gene from transposon Tn5. *Gene* 19: 327-336.
- Bevan, M., W.M. Barnes and M.-D. Chilton. 1983. Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA. *Nucleic Acids Research* 11: 369-385.

Bugg, T.D.H. 2003. Dioxygenase enzymes: catalytic mechanisms and chemical models. *Tetrahedron* 59: 7075-7101.

Cade, R., K. Burgin, K. Schilling, T.-J. Lee, P. Ngam, N. Devitt and D. Fajardo. 2018. Evaluation of whole genome sequencing and an insertion site characterization method for molecular characterization of GM maize. *Journal of Regulatory Science* 6(1):1-14.

Carlson, J.B. and N.R. Lersten. 2004. Reproductive Morphology. Pages 59-95 in *Soybeans: Improvement, Production, and Uses*.

Chakraborty, S., M. Behrens, P.L. Herman, A.F. Arendsen, W.R. Hagen, D.L. Carlson, X.-Z. Wang and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba *O*-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Purification and characterization. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 437: 20-28.

Chen, Y. and R.L. Nelson. 2004. Genetic variation and relationships among cultivated, wild, and semiwild soybean. *Crop Science* 44: 316-325.

Christ, B., R. Hochstrasser, L. Guyer, R. Francisco, S. Aubry, S. Hörtensteiner and J.-K. Weng. 2017. Non-specific activities of the major herbicide-resistance gene *BAR*. *Nature Plants* 3: 937-945.

Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards and N.-H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *The EMBO Journal* 3: 1671-1679.

D'Ordine, R.L., T.J. Rydel, M.J. Storek, E.J. Sturman, F. Moshiri, R.K. Bartlett, G.R. Brown, R.J. Eilers, C. Dart, Y. Qi, S. Flasiniski and S.J. Franklin. 2009. Dicamba monooxygenase: Structural insights into a dynamic Rieske oxygenase that catalyzes an exocyclic monooxygenation. *Journal of Molecular Biology* 392: 481-497.

Dai, S., N. Georgelis, M. Bedair, Y.-J. Hong, Q. Qi, C.T. Larue, B. Sitoula, W. Huang, B. Krebel, M. Shepard, W. Su, K. Kretzmer, J. Dong, T. Slewinski, S. Berger, C. Ellis, A. Jerga and M. Varagona. 2022. Ectopic expression of a rice triketone dioxygenase gene confers mesotrione tolerance in soybean. *Pest Management Science*.

De Carolis, E. and V. De Luca. 1994. 2-Oxoglutarate-dependent dioxygenase and related enzymes: Biochemical characterization. *Phytochemistry* 36: 1093-1107.

Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski and H.M. Goodman. 1982. Nopaline synthase: Transcript mapping and DNA sequence. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 561-573.

Duff, S.M.G., M. Zhang, F. Zinnel, T. Rydel, C.M. Taylor, D. Chen, G. Tilton, P. Mamanella, D. Duda, Y. Wang, B. Xiang, B. Karunanandaa, R. Varagona, J. Chittoor, Q. Qi, E. Hall, G. Garvey, J. Zeng, J. Zhang, X. Li, T. White, A. Jerga and J. Haas. 2024. Structural and functional characterization of triketone dioxygenase from *Oryza Sativa*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* 1868: 130504.

Dumitru, R., W.Z. Jiang, D.P. Weeks and M.A. Wilson. 2009. Crystal structure of dicamba monooxygenase: A Rieske nonheme oxygenase that catalyzes oxidative demethylation. *Journal of Molecular Biology* 392: 498-510.

FAO. 2024. FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> [Accessed January 24, 2024].

Fling, M.E., J. Kopf and C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.

Fraley, R.T., S.G. Rogers, R.B. Horsch, P.R. Sanders, J.S. Flick, S.P. Adams, M.L. Bittner, L.A. Brand, C.L. Fink, J.S. Fry, G.R. Galluppi, S.B. Goldberg, N.L. Hoffmann and S.C. Woo. 1983. Expression of bacterial genes in plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 80: 4803-4807.

Fujita, R., M. Ohara, K. Okazaki and Y. Shimamoto. 1997. The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*). *Journal of Heredity* 88: 124-128.

Giza, P.E. and R.C.C. Huang. 1989. A self-inducing runaway-replication plasmid expression system utilizing the Rop protein. *Gene* 78: 73-84.

Goto, H., H. Shimada, M.J. Horak, A. Ahmad, B.M. Baltazar, T. Perez, M.A. McPherson,

D. Stojšin, A. Shimono and R. Ohsawa. 2016. Characterization of Natural and Simulated Herbivory on Wild Soybean (*Glycine soja* Seib. et Zucc.) for Use in Ecological Risk Assessment of Insect Protected Soybean. PLOS ONE 11: e0151237.

Gribble, G.W. 2010. Occurrence. Pages 9-348 in Naturally Occurring Organohalogen Compounds - A Comprehensive Update. Volume 91. Springer-Verlag, New York, New York.

Hausinger, R.P. 2004. Fe(II)/ $\alpha$ -Ketoglutarate-Dependent Hydroxylases and Related Enzymes. Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology 39: 21-68.

Herman, P.L., M. Behrens, S. Chakraborty, B.M. Chrastil, J. Barycki and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba *O*-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Gene isolation, characterization, and heterologous expression. Journal of Biological Chemistry 280: 24759-24767.

Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. Plant Cell 7: 907-919.

HRAC. 2022. HRAC Mode of Action Classification 2022. [https://hracglobal.com/files/HRAC\\_MOA\\_Poster\\_January\\_6\\_2022.pdf](https://hracglobal.com/files/HRAC_MOA_Poster_January_6_2022.pdf) [Accessed July 28, 2022].

Hunt, A.G. 1994. Messenger RNA 3' end formation in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 45: 47-60.

Hymowitz, T. and J.R. Harlan. 1983. Introduction of soybean to North America by Samuel Bowen in 1765. Economic Botany 37: 371-379.

Kim, D.Y., M.S. Eom, H.J. Kim, E.M. Ko, I.-S. Pack, J.-H. Park, K.W. Park, K.-H. Nam, S.D. Oh, J.K. Kim, J.S. Seo and C.-G. Kim. 2020. Gene flow from transgenic soybean, developed to obtain recombinant proteins for use in the skin care industry, to non-transgenic soybean. Applied Biological Chemistry 63: 65.

Kim, K.-U., T.-D. Gang, J.-H. Lee, I.-J. Lee, D.-H. Shin, Y.H. Hwang, S.-U. Kim and H.M. Kim. 2003. Physio-ecological characteristics of wild soybeans (*Glycine soja*)

collected throughout Korea and their response to glyphosate.

Kitamoto, N., A. Kaga, Y. Kuroda and R. Ohsawa. 2012. A model to predict the frequency of integration of fitness-related QTLs from cultivated to wild soybean. *Transgenic Research* 21: 131-138.

Klee, H.J., Y.M. Muskopf and C.S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: Sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Molecular and General Genetics* 210: 437-442.

Koti, S., K.R. Reddy, V.G. Kakani, D. Zhao and V.R. Reddy. 2004. Soybean (*Glycine max*) Pollen Germination Characteristics, Flower and Pollen Morphology in Response to Enhanced Ultraviolet-B Radiation. *Annals of Botany* 94: 855-864.

Kovalic, D., C. Garnaat, L. Guo, Y. Yan, J. Groat, A. Silvanovich, L. Ralston, M. Huang, Q. Tian, A. Christian, N. Cheikh, J. Hjelle, S. Padgett and G. Bannon. 2012. The use of next generation sequencing and junction sequence analysis bioinformatics to achieve molecular characterization of crops improved through modern biotechnology. *The Plant Genome* 5: 149-163.

Kubo, A., M. Aono, N. Nakajima, T. Nishizawa, M. Tamaoki and H. Saji. 2013. Characterization of hybrids between wild and genetically modified glyphosate-tolerant soybeans. *Plant Biotechnology* 30: 335-345.

Kundu, S. 2012. Distribution and prediction of catalytic domains in 2-oxoglutarate dependent dioxygenases. *BMC Research Notes* 5: 410.

Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D. Vaughan. 2010. The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. *Molecular Ecology* 19: 2346-2360.

Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D.A. Vaughan. 2008. Gene flow and genetic structure of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science* 48: 1071-1079.

Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka, H. Yano, T. Yoshitake, S. Kato and D. Vaughan. 2013.



QTL affecting fitness of hybrids between wild and cultivated soybeans in experimental fields. *Ecology and Evolution* 3: 2150-2168.

Kuroda, Y., N. Tomooka, A. Kaga, S.M.S.W. Wanigadeva and D.A. Vaughan. 2009. Genetic diversity of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) and Japanese cultivated soybeans [*G. max* (L.) Merr.] based on microsatellite (SSR) analysis and the selection of a core collection. *Genetic Resources and Crop Evolution* 56: 1045-1055.

Langmead, B. and S.L. Salzberg. 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods* 9: 357-359.

Larue, C.T., M. Goley, L. Shi, A.G. Evdokimov, O.C. Sparks, C. Ellis, A.M. Wollacott, T.J. Rydel, C.E. Halls, B. Van Scoyoc, X. Fu, J.R. Nageotte, A.M. Adio, M. Zheng, E.J. Sturman, G.S. Garvey and M.J. Varagona. 2019. Development of enzymes for robust aryloxyphenoxypropionate and synthetic auxin herbicide tolerance traits in maize and soybean crops. *Pest Management Science* 75: 2086-2094.

Müller, T.A., T. Fleischmann, J.R. van der Meer and H.-P.E. Kohler. 2006. Purification and characterization of two enantioselective  $\alpha$ -ketoglutarate-dependent dioxygenases, RdpA and SdpA, from *Sphingomonas herbicidovorans* MH. *Applied and Environmental Microbiology* 72: 4853-4861.

Maeda, H., K. Murata, N. Sakuma, S. Takei, A. Yamazaki, M.R. Karim, M. Kawata, S. Hirose, M. Kawagishi-Kobayashi, Y. Taniguchi, S. Suzuki, K. Sekino, M. Ohshima, H. Kato, H. Yoshida and Y. Tozawa. 2019. A rice gene that confers broad-spectrum resistance to 2,4-dichlorophenoxyacetic acid herbicides. *Science* 365: 393-396.

Mazodier, P., P. Cossart, E. Giraud and F. Gasser. 1985. Completion of the nucleotide sequence of the central region of Tn 5 confirms the presence of three resistance genes. *Nucleic Acids Research* 13: 195-205.

Meier, U. 2001. Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH Monograph. Second Edition. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Grossbeeren, Germany.

Meinzel, T. and C. Giglione. 2008. Tools for analyzing and predicting N-terminal protein

modifications. *Proteomics* 8: 626-649.

Mitchell, G., D.W. Bartlett, T.E.M. Fraser, T.R. Hawkes, D.C. Holt, J.K. Townson and R.A. Wichert. 2001. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Management Science* 57: 120-128.

Mizuguti, A., K. Ohigashi, Y. Yoshimura, A. Kaga, Y. Kuroda and K. Matsuo. 2010. Hybridization between GM soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) and wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) under field conditions in Japan. *Environ Biosafety Res* 9: 13-23.

Myouga, F., R. Motohashi, T. Kuromori, N. Nagata and K. Shinozaki. 2006. An *Arabidopsis* chloroplast-targeted Hsp101 homologue, APG6, has an essential role in chloroplast development as well as heat-stress response. *The Plant Journal* 48: 249-260.

Nakayama, Y. and H. Yamaguchi. 2002. Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. *Weed Biology and Management* 2: 25-30.

Norris, S.R., S.E. Meyer and J. Callis. 1993. The intron of *Arabidopsis thaliana* polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. *Plant Molecular Biology* 21: 895-906.

OECD. 2000. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). ENV/JM/MONO(2000)9. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.15. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

OECD. 2006a. Pages 360-369 in Part 2 Consensus document on traits. Section 3 General Information Concerning the Genes and their Enzymes that Confer Tolerance to Phosphinothricin Herbicide. Safety Assessment of Transgenic Organisms, Volume 1: OECD Consensus Documents OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264095380-en>.

OECD. 2006b. Pages 370-377 in Part 2 Consensus document on traits. Section 4 Herbicide Biochemistry, Herbicide Metabolism and the Residues in Glufosinate-Ammonium (Phosphinothricin) - Tolerant Transgenic Plants. Safety Assessment of

Transgenic Organisms, Volume 1: OECD Consensus Documents. OECD Publishing, Paris. <https://doi.org/10.1787/9789264095380-en>.

Oka, H.-I. 1983. Genetic control of regenerating success in semi-natural conditions observed among lines derived from a cultivated x wild soybean hybrid. *Journal of Applied Ecology* 20: 937-949.

Palmer, R.G., M.C. Albertsen and H. Heer. 1978. Pollen production in soybeans with respect to genotype, environment, and stamen position. *Euphytica* 27: 427-433.

Piper, K.R., S. Beck Von Bodman, I. Hwang and S.K. Farrand. 1999. Hierarchical gene regulatory systems arising from fortuitous gene associations: controlling quorum sensing by the opine regulon in *Agrobacterium*. *Mol Microbiol* 32: 1077-1089.

Ray, J.D., T.C. Kilen, C.A. Abel and R.L. Paris. 2003. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. *Environ Biosafety Res* 2: 133-138.

Richins, R.D., H.B. Scholthof and R.J. Shepherd. 1987. Sequence of figwort mosaic virus DNA (caulimovirus group). *Nucleic Acids Research* 15: 8451-8466.

Rogers, S.G. 2000. Promoter for transgenic plants. Patent 6,018,100, U.S. Patent Office, Washington, D.C.

Sutcliffe, J.G. 1979. Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid pBR322. Pages 77-90 in *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, Cold Spring Harbor, New York.

Tilman, D. 1997. Mechanisms of plant competition. Pages 239-261 in *Plant Ecology*. Second Edition. M. J. Crawley (ed.) (ed.). Blackwell Science, Ltd., Oxford, England.

To, J.P.C., I.W. Davis, M.S. Marengo, A. Shariff, C. Baublite, K. Decker, R.M. Galvão, Z. Gao, O. Haragutchi, J.W. Jung, H. Li, B. O'Brien, A. Sant and T.D. Elich. 2021. Expression Elements Derived From Plant Sequences Provide Effective Gene Expression Regulation and New Opportunities for Plant Biotechnology Traits. *Frontiers in Plant Science* 12.

Wang, X.-Z., B. Li, P.L. Herman and D.P. Weeks. 1997. A three-component enzyme system catalyzes the O demethylation of the herbicide dicamba in *Pseudomonas maltophilia* DI-6. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1623-1626.

Wehrmann, A., A.V. Vliet, C. Opsomer, J. Botterman and A. Schulz. 1996. The similarities of *bar* and *pat* gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology* 14: 1274-1278.

Wohlleben, W., W. Arnold, I. Broer, D. Hillemann, E. Strauch and A. Pühler. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin *N*-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* 70: 25-37.

Xu, D., J. Abe, J. Gai and Y. Shimamoto. 2002. Diversity of chloroplast DNA SSRs in wild and cultivated soybeans: evidence for multiple origins of cultivated soybean. *Theoretical and Applied Genetics* 105: 645-653.

Ye, X., E.J. Williams, J. Shen, S. Johnson, B. Lowe, S. Radke, S. Strickland, J.A. Esser, M.W. Petersen and L.A. Gilbertson. 2011. Enhanced production of single copy backbone-free transgenic plants in multiple crop species using binary vectors with a pRi replication origin in *Agrobacterium tumefaciens*. *Transgenic Res* 20: 773-786.

Yoshimura, Y. 2011. Wind tunnel and field assessment of pollen dispersal in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *J Plant Res* 124: 109-114.

Yoshimura, Y., K. Matsuo and K. Yasuda. 2006. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environmental Biosafety Research* 5: 169-173.

Zambryski, P., A. Depicker, K. Kruger and H.M. Goodman. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: Analysis of the boundaries of T-DNA. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 361-370.

阿部純・島本義也. 2001. 第 6 章 ダイズの進化： ツルマメの果たしてきた役割. 栽培植物の自然史－野生植物と人類の共進化－ 山口裕文・島本義也 (編) 北海道大学図書刊行会 北海道 77-95

大庭寅雄. 2001. ダイズの品種生態と選択 5. 栽培条件と品種の反応. 転作全書第二巻 ダイズ・アズキ 農山漁村文化協会 東京 102-105

奥田重俊. 1997. ツルマメ. 日本野生植物館 奥田重俊 (編) 小学館 東京 88

小畑弘己. 2009. 日本先史時代のマメ類と栽培化. さまざまな栽培植物と農耕文化：ユーラシア農耕史 4 木村栄美 (編) 臨川書店 京都 252-261

小畑弘己. 2010. 縄文時代におけるアズキ・ダイズ栽培について. 先史学・考古学論究 V 上巻 龍田考古会 (編) 龍田考古会 熊本 239-272

加賀秋人・友岡憲彦・Phuntsho, U.・黒田洋輔・小林伸哉・伊勢村武久・Gilda, M-J.・Vaughan, D. A. . 2005. 野生ダイズと栽培ダイズとの自然交雑集団の探索と収集—秋田県及び広島県における予備的調査—. 植物遺伝資源探索導入調査報告書 21:59-71

鎌田慶朗. 1992. 3.大豆の化学. 大豆の科学 山内文男・大久保一良 (編) 朝倉書店 東京 27-47

環境省. 2013. 除草剤ジカンバ耐性ダイズ (改変 *dmo*, *Glycine max* (L.) Merr.)(MON87708, OECD UI : MON-87708-9) 申請書等の概要 .  
[https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=1643&ref\\_no=1](https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1643&ref_no=1)  
[Accessed December 12, 2024]

環境省. 2017. 除草剤ジカンバ及びグルホシネート耐性トウモロコシ (改変 *dmo*, *pat*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis)(MON87419, OECD UI: MON-87419-8) 申請書等の概要 .  
[https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=1818&ref\\_no=1](https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1818&ref_no=1)  
[Accessed March 12, 2025]

環境省. 2021. 除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシ (改変 *dmo*, *pat*, *ft\_t*, 改変 *cp4 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MON87429, OECD UI: MON-87429-9) 申請書等の概要 .  
[https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info\\_id=1926&ref\\_no=1](https://www.biodic.go.jp/bch/lmo/OpenDocDownload.do?info_id=1926&ref_no=1)  
[Accessed December 20, 2024]

菊地淳志. 2013. 中国・四国地方におけるダイズ原種ツルマメを寄主植物とする昆虫相. 関西病虫害研究会報 55:129-133

黒田洋輔・加賀秋人・Apa, A.・Vaughan, D. A.・友岡憲彦・矢野博・松岡伸之. 2005. 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリングー秋田県, 茨城県, 愛知県, 広島県, 佐賀県における現地調査からー. 植物遺伝資源探索導入調査報告書 21:73-95

黒田洋輔・加賀秋人・Joe, G.・Vaughan, D. A.・友岡憲彦. 2006. 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリングー秋田県, 茨城県, 高知県, 佐賀県における現地調査からー. 植物遺伝資源探索導入調査報告書 22:21-12

黒田洋輔・加賀秋人・Janet, P.・Vaughan, D. A.・友岡憲彦・矢野博. 2007. 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリングー秋田県, 兵庫県, 佐賀県における現地調査からー. 植物遺伝資源探索導入調査報告書 23:29-27

国分牧衛 2002. ダイズ. 作物学事典 日本作物学会 (編) 朝倉書店 東京 370-377

後藤寛治. 2001. ダイズの起源と特性. 転作全書 第二巻 ダイズ・アズキ 農山漁村文化協会 東京 33-41

昆野昭晨. 2001a. 生育のステージと生理・生態 III 花芽分化の生理. 転作全書 第二巻 ダイズ・アズキ 農山漁村文化協会 東京 68-73

昆野昭晨. 2001b. 生育のステージと生理・生態 II 栄養成長の生理、生態. 転作全書 第二巻 ダイズ・アズキ 農山漁村文化協会 東京 50-67

昆野昭晨. 2001c. 生育のステージと生理・生態 I 種子と発芽. 転作全書 第二巻 ダイズ・アズキ 農山漁村文化協会 東京 45-49

財務省. 2024. 概況品別国別表 財務省貿易統計. <http://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm?M=13&P=0> [Accessed January 24, 2024]

鄭紹輝. 2008. ダイズ. 作物学概論 大門弘幸 (編) 朝倉書店 東京 132-146

中山誠二. 2015. 縄文時代のダイズの栽培化と種子の形態分化. 植生史研究 第 23 巻 第 2 号 33-42

中山祐一郎・山口裕文. 2000. トランスジェニック作物からの遺伝子の生態系への拡散防止に関する研究:2 ダイズの祖先野生種ツルマメはどこでどのように生活しているのか. 雑草研究 別号 講演会講演要旨 39:182-183

農林水産省. 2011a. 「平成 21 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. [https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/21\\_kekka.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/21_kekka.pdf) [Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2011b. 「平成 22 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. [https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/22\\_natane.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/22_natane.pdf) [Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2012. 「平成 23 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. [https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/23\\_kekka.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/23_kekka.pdf) [Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2013. 「平成 24 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. [https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/24\\_kekka.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/24_kekka.pdf) [Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2014. 「平成 25 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. [http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h25\\_kekka.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h25_kekka.pdf) [Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2015. 「平成 26 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. [https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h26\\_houkoku.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h26_houkoku.pdf) [Accessed September 16, 2022]

農林水産省. 2017. 「平成 27 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. <https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-42.pdf> [Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2018a. 「平成 28 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
平成 30 年 2 月 6 日 公表 .  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-134.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2018b. 「平成 29 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
平成 30 年 12 月 20 日 公表 .  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-172.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2020. 「平成 30 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について 令和  
2 年 9 月 7 日 公表 .  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-226.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2021. 「令和元年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について 令和  
3 年 1 月 8 日 公表 .  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-272.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]

農林水産省. 2022a. 「令和 2 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について 令和  
4 年 7 月 26 日 公表 .  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-17.pdf>  
[Accessed July 28, 2022]

農林水産省. 2022b. 「令和 3 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について 令和  
4 年 7 月 26 日 公表 .  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-21.pdf>  
[Accessed July 28, 2022]

農林水産省. 2023. 「令和 4 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について 令和  
5 年 6 月 30 日 公表 .  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-39.pdf>  
[Accessed January 24, 2024]



農林水産省. 2024a. カルタヘナ法に基づき第一種使用規程を承認した遺伝子組換え農作物一覧（作物別、特性等別）. <https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-76.pdf>

[Accessed January 21, 2025]

農林水産省. 2024b. 「令和5年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について令和6年6月26日公表. <https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-66.pdf>

[Accessed December 5, 2024]

羽鹿牧太・高橋浩司・平賀勸. 2003. 房総半島におけるツルマメの探索・収集. 植物資源探索導入調査報告書 19:7-15

宮下京子・松田晴光・大原雅・三澤為一・島本義他 1999. ツルマメおよびダイズにおける開放花と閉鎖花の着花・結実動態. 北海道大学農学部農場研究報告 41-48

山内文男. 1992. 3.大豆の化学. 大豆の科学 山内文男・大久保一良 (編) 朝倉書店 東京 1-13

吉村泰幸・加賀秋人・松尾和人. 2016. 遺伝子組換えダイズの生物多様性影響評価に必要なツルマメの生物情報集. 農業環境技術研究所報告 第36号: 47-69

## 緊急措置計画書

2025年5月8日

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社  
代表取締役社長 大島 美紀  
住所 東京都千代田区丸の内一丁目6番5号

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ (*pat*, 改変 *dmo*, *ft\_t1*, *tdo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON94313, OECD UI: MON-94313-8) (以下「本組換えダイズ」という。) の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると、科学的に判断された場合、以下の措置を執ることとする。

- 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は以下に示すとおりである。

2025年5月現在

| 社内委員          |                                                                                    |
|---------------|------------------------------------------------------------------------------------|
| 【個人情報につき非開示】* | バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーアフェアーズ S&T 部長<br>東京都千代田区丸の内一丁目6番5号<br>(電話番号 03-6266-7384) |
| 【個人情報につき非開示】  | バイエルホールディング株式会社 広報本部 社外広報マネジャー                                                     |
| 【個人情報につき非開示】  | バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーアフェアーズ S&T                                                |
| 【個人情報につき非開示】  | バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーアフェアーズ S&T 河内試験圃場 サイトリーダー                                 |

\*：管理責任者

## 2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、バイエルグループと連絡をとり、種子、穀物生産、収穫物の状況に関し、種子生産、種子供給、販売、穀物取扱業者等使用の可能性のある関係各者から情報収集を行う。

## 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

弊社は、バイエルグループと連絡をとり、生産農家や穀物取扱業者などの取引ルートへ本組換えダイズの適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

## 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

生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合、弊社は、バイエルグループの協力のもと、本組換えダイズが環境中に放出されないように必要かつ適切な措置を執るとともに、環境中に放出された本組換えダイズに対し、科学的根拠に基づきリスクの程度に応じて、速やかに機動的な対応を行う。

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

弊社は、信頼性のある証拠及びデータにより生物多様性影響が生ずるおそれが示唆された場合、そのことを直ちに農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。

除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及び  
トリケトン系耐性ダイズ (*pat*, 改変 *dmo*, *ft\_t.1*, *tdo*, *Glycine max* (L.) Merr.)

(MON94313, OECD UI: MON-94313-8) の

別添資料リスト

- |    |         |                                                                                                                                                                                                                          |
|----|---------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| 5  | 別添資料 1  | 本組換えダイズで発現する PAT、改変 DMO、FT_T.1 及び TDO 蛋白質の推定アミノ酸配列 (社外秘)                                                                                                                                                                 |
|    | 別添資料 2  | Substrate Screen of Triketone Dioxygenase (TDO) from <i>Oryza sativa</i> (M-817739-01-1) (社外秘)                                                                                                                           |
| 10 | 別添資料 3  | Sequence of Genetic Elements in PV-GMHT529103 (社外秘)                                                                                                                                                                      |
|    | 別添資料 4  | PCR Analysis to Confirm the Absence of <i>Agrobacterium tumefaciens</i> Used to Produce MON 94313 (TRR0001508) (社外秘)                                                                                                     |
|    | 別添資料 5  | Segregation Analysis of the T-DNA Insert in Herbicide Tolerant Soybean MON 94313 Across Three Generations (TRR0001184) (社外秘)                                                                                             |
| 15 | 別添資料 6  | Amended from TRR0001418: Molecular Characterization of Herbicide Tolerant Soybean MON 94313 (M-815764-02-1) (社外秘)                                                                                                        |
|    | 別添資料 7  | Demonstration of the Presence of DMO, FT_T.1, PAT, and TDO Proteins in Soybean Seed Samples Across Multiple Generations of MON 94313 (TRR0001514) (社外秘)                                                                  |
| 20 | 別添資料 8  | Assessment of DMO, PAT, FT_T.1, and TDO Protein Levels in Herbicide Treated Soybean Forage, Grain, Leaf, and Root Tissues Collected from MON 94313 Produced in United States Field Trials During 2020 (TRR0001494) (社外秘) |
| 25 | 別添資料 9  | A Recommended Procedure for Real-Time Quantitative TaqMan® PCR for MON 94313 (社外秘)                                                                                                                                       |
|    | 別添資料 10 | In House Validation of “A Recommended Procedure for Real-Time Quantitative TaqMan® PCR for MON 94313” for Global Submissions (社外秘)                                                                                       |
| 30 | 別添資料 11 | Phenotypic Evaluation and Environmental Interactions of Soybean MON 94313 in 2020 U. S. Field Trials (M-819924-01-1) (社外秘)                                                                                               |

- 別添資料 12 Assessment of the Effect of Cold Stress on Growth of Soybean  
MON 94313 in 2024 under Controlled Environmental Conditions (M-  
868248-01-1) (社外秘)
- 5 別添資料 13 Overwintering Photographs for Soybean MON 94313 in a 2021 U.S. Field  
Trial (M-825982-01-1) (社外秘)
- 別添資料 14 Amended Report for M-820305-01-1 (TRR0001582): Pollen Viability and  
Morphology Evaluation of Soybean MON 94313 Grown in a 2020 US  
Field Trial (M-820305-02-1) (社外秘)
- 10 別添資料 15 Dormancy and Germination Evaluation of Soybean MON 94313 at  
Optimum (25°C) and Suboptimum (10, 25°C) Temperatures (M-820191-  
01-1) (社外秘)
- 別添資料 16 Assessment of Outcrossing Rate of MON 94313 Soybean in 2022 U.S.  
Field Trials (M-849950-01-1) (社外秘)
- 15 別添資料 17 Enumeration of soil microorganisms from a growth chamber study  
assessing potential residual effects from MON 94313 soybean (M-  
830767-01-1) (社外秘)
- 別添資料 18 Assessment of the residual effects of herbicide-tolerant soybean  
MON 94313 on an indicator species grown in a growth chamber in the U.S.  
in 2022 (M-844589-01-1) (社外秘)

20