

高オレイン酸ダイズ(*GmFad2-1, Glycine max* (L.) Merr. )(260-05, OECD UI : DD- 026005-3) 申請書等の概要

第一使用規程承認申請書 .....	1
生物多様性影響評価書	
第1 評価に当り収集した情報 .....	2
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報 .....	2
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況 .....	2
イ 分類学上の位置付け .....	2
ロ 宿主の品種名又は系統名 .....	2
ハ 国内及び国外の自然環境における自生地域 .....	2
(2) 使用等の歴史及び現状 .....	2
イ 国内及び国外における第一種使用等の歴史 .....	2
ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途 .....	2
(3) 生理学的及び生態学的特性 .....	3
イ 基本的特性 .....	3
ロ 生息又は生育可能な環境の条件 .....	3
ハ 捕食性又は寄生性 .....	3
ニ 繁殖又は増殖の様式 .....	4
ホ 病原性 .....	4
ヘ 有害物質の産生性 .....	5
ト その他の情報 .....	5
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 .....	5
(1) 供与核酸に関する情報 .....	5
イ 構成及び構成要素の由来 .....	5
ロ 構成要素の機能 .....	6
(2) ベクターに関する情報 .....	14
イ 名称及び由来 .....	14
ロ 特性 .....	14
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法 .....	14
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成 .....	14
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法 .....	17
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過 .....	17
(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 ..	21
イ 移入された核酸の複製物が存在する場所 .....	21
ロ 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代 における伝達の安定性 .....	21
ハ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れ ているかの別 .....	22
ニ 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	

ホ	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.....	22
ホ	ウイルスの感染その他の経路を經由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度 .....	22
(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	23
(6)	宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 .....	23
イ	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内容.....	23
ロ	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.....	23
3	遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	26
(1)	使用等の内容 .....	26
(2)	使用等の方法 .....	27
(3)	承認を受けようとするものによる第一種使用等の開始後における情報収集の方法.....	27
(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 .....	27
(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.....	27
(6)	国外における使用等に関する情報.....	27
第2	項目ごとの生物多様性影響の評価.....	29
1	競合における優位性.....	29
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	29
(2)	影響の具体的内容の評価 .....	30
(3)	影響の生じやすさの評価 .....	30
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	30
2	有害物質の産生性 .....	30
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	30
(2)	影響の具体的内容の評価 .....	31
(3)	影響の生じやすさの評価 .....	31
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	31
3	交雑性 .....	31
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	31
(2)	影響の具体的内容の評価 .....	31
第3	生物多様性影響の総合的評価.....	35
参考文献	.....	37
緊急措置計画書 (食用、飼料用に供する場合).....		39
高オレイン酸ダイズ ( <i>GmFad2-1</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (26Ø-Ø5, OECD UI : DD- Ø26Ø5-3) 別紙一覽.....		41

第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 8 月 17 日

農林水産大臣 亀井 善之 殿  
環境大臣 小池 百合子 殿

デュポン株式会社  
代表取締役社長 小林 昭生  
申請者  
住所  
東京都千代田区永田町 2 丁目 11 番 1 号  
山王パークタワー

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類 の名称	高オレイン酸ダイズ( <i>GmFad2-1, Glycine max</i> (L.) Merr.) (260-05, OECD UI : DD-Ø26ØØ5-3)
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、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	-

## 第1 評価に当り収集した情報

### 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

#### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

##### イ 分類学上の位置付け

和名：ダイズ

英名：Soybean /Soyabean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

(The International Plant Names Index, 2004)

##### ロ 宿主の品種名又は系統名

高オレイン酸ダイズ (*GmFad2-1*, *Glycine max* (L.) Merr.) (260-05, OECD UI: DD-026005-3) (以下、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と表記)の作出には、宿主として米国で一般的に用いられている成熟期に基づく分類で成熟グループ II (早生型) に属するダイズ品種 A2396 が用いられた。

##### ハ 国内及び国外の自然環境における自生地域

自然環境において、ダイズが自生している地域は、国内・国外ともに知られていない。

#### (2) 使用等の歴史及び現状

##### イ 国内及び国外における第一種使用等の歴史

現在、ダイズの出産地は中国であると考えられている。その祖先は野生種のツルマメ (*Glycine soja* Sieb. & Zucc.) と考えられている(農学大事典, 1994; OECD, 2000)。中国の文献において、約 5,000 年前にダイズが存在していたことが記録されており、紀元前 11 世紀頃の周時代には既にダイズが栽培されていたと見なされている(農学大事典, 1994; OECD, 2000)。我が国へのダイズの渡来時期は約 1,900 ~ 2,000 年前と推定され、その後、今日見られるように全国的に栽培が可能なるまでに普及した(農業技術体系, 2002)。

##### ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

今日、我が国では北海道から九州まで全国的に栽培可能であるが、主に北海道と東北の東日本における比重が高い(農業技術体系, 2002)。世界的には米国、ブ

ラジル、アルゼンチン等を中心に、北半球ではほぼ北緯 50 度から赤道直下まで、南半球では南緯 40 度までと世界的に広い範囲で栽培されている（農業技術体系, 2002）。

我が国では、米国のような大規模なダイズ単作機械化栽培が主に北海道で行なわれている他、水田転換畑での栽培やコムギや麦類の後作としての栽培が全国的に行なわれている（農業技術体系, 2002）。

ダイズの 2002 年における世界総生産量は約 1 億 8 千万トンである。最大の生産国は米国であり、約 75 百万トンと全世界の生産量の約 41%を占める（FAO Statistical Database, <http://apps.fao.org/page/collections>）。一方、日本における生産量は 27 万トンで、2002 年の統計によれば、我が国は約 5 百万トンのダイズを輸入しており、その輸入量の 76%にあたる約 380 万トンが米国からの輸入である（財務省貿易統計, <http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>）。輸入されたダイズのほとんどは、ベルトコンベア等でそのまま港に隣接している搾油工場に運ばれる。

ダイズは搾油用、食用、飼料用として多岐に利用される作物であり、我が国では全消費量の約 80%は搾油用に使われ、食用としては豆腐、味噌、納豆、醤油、豆乳、もやし、枝豆等があり、また、油粕の大部分は飼料に利用されている（農学大事典, 1994）。2002 年に我が国に輸入されたダイズのうち、約 4 百万トンが搾油用である（財務省貿易統計, <http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>）。

### （3） 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズの栽培適地は、生育期間中 18～28 程度、多照で適度に降雨のあるところが望ましいが、品種の多様化によって日長感応性が細分化しており、各種の気候に対する適応性は高い（農学大事典, 1994）。また、ダイズの好適土壌 pH は 6～7 の中性から弱酸性であるが、石灰含量が十分であればかなりの酸性にも耐える。生育の後期まで養水分の供給が必要なことから、肥沃度の高い土壌での生産性が高く、一般に塩基の欠乏しがちな火山灰土壌での生産性は低い（農学大事典, 1994）。

#### ハ 捕食性又は寄生性

## 二 繁殖又は増殖の様式

### 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

ダイズの種子は子房の心皮に由来する莢の中に形成される。日本で栽培されている品種は有限伸育性品種であり、裂莢しやすいことが知られている。一方、米国で栽培されている品種は無限伸育性品種であり、裂莢しにくいことが知られている(農業技術体系、2002)。ダイズ種子にはほとんど休眠性がない(OECD, 2000)。なお、種子を乾燥・低温条件下で貯蔵した場合、その寿命を長期間維持できるが、多湿や乾燥状態が繰り返される自然条件下では、種子は急速に発芽能力を失う(農業技術体系, 2002)。

### 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、これらの特性を有さない。

### 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無及び近縁野生種との交雑性

ダイズは、基本的に開花前に蕾の中で自家受粉が行なわれる自殖性植物である。自家不和合性は知られておらず、また、自然交雑率も 0.5～1%以下と極めて低い(農業技術体系, 2002; 農学大事典, 1994)。ダイズの近縁野生種としては、ツルマメ (*G. soja* Sieb. & Zucc.) が存在する(農学大事典, 1994; OECD, 2000)。ツルマメは、ダイズの祖先と考えられており、ダイズとの交雑が可能である(農業技術体系, 2002)。

なお、ツルマメは、シベリアのアムール川流域、中国、朝鮮半島、台湾及び日本に広く自生しており、我が国では全国的に分布している(農業技術体系, 2002)。ツルマメは一年生植物で、主に河原や土手に自生し、畑の周辺や果樹園にも生育が見られるが、農耕地における有害雑草とは考えられていない(Kasahara, 1982)。

### 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ダイズの雌ずい受精能力は開花 1 日前から開花後 2 日程度で、花粉の寿命は数時間である。また、約 2m 離れると交雑率は 0.036% となり、約 10m 離れると交雑率が 0% になることが示されている(別紙 1 参照)。

## ホ 病原性

## へ 有害物質の産生性

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

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は、米国デュポン社と米国パイオニア・ハイブ レッド・インターナショナル社の合弁会社である米国 Optimum Quality Grains, L.L.C.社によって開発された遺伝子組換えダイズである。高オレイン酸ダイズ 260-05 系統には、ダイズ(*G. max*)由来のリノール酸生合成反応を触媒する  $\Delta$ -12 デサチュラーゼをコードする *GmFad2-1* 遺伝子が導入されており、ジーンサイレンシング<sup>1</sup>によって、ダイズ内在性 *Fad2-1* 遺伝子及び本導入遺伝子の発現がいずれも抑制され、結果として、多価不飽和脂肪酸であるリノール酸やリノレン酸含有量が減少し、オレイン酸含有量が脂肪酸全体の 80%以上に高められている。

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統由来の油は、高い熱安定性が求められるような使用においても、通常の大豆油で行なわれる水素添加の必要がほとんどなく、さらに調理された食品自体の劣化も遅らせると期待されている。特に酸化安定性の高い油が求められる、クラッカーや煎餅、コーンフレークのスプレー用油として、また、天ぷらやとんかつ、ポテトチップス、フライドポテト等の揚げ油としての使用が推奨される。さらに、健康面や味覚、安定性を高めるために他の植物油とブレンドしての使用も考えられる。特に、健康面では、飽和脂肪酸や多価不飽和脂肪酸の過剰摂取を抑えることが大切であり、これらの脂肪酸を多く含まない高オレイン酸ダイズ 260-05 系統由来の油は、その使用場面に応じた理想的な油のベースとして期待される。

#### (1) 供与核酸に関する情報

## イ 構成及び構成要素の由来

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の開発当初は、オレイン酸及びリシンともに含

<sup>1</sup> ジーンサイレンシング：外来遺伝子を植物の核ゲノムに導入した形質転換体において、導入遺伝子や内在遺伝子の発現が抑制される現象。

有量の高いダイズの作出を目指していたため、植物に高オレイン酸産生能を付与する *GmFad2-1* 遺伝子発現カセットを含むプラスミド pBS43 と、高リシン産生能を付与する *dapA* 遺伝子発現カセットを含むプラスミド pML102 の両方が導入に用いられた。なお、本章 2 の(4)で述べるように、本高オレイン酸ダイズ 260-05 系統に導入された *dapA* 遺伝子は発現していないことが確認されており、高オレイン酸形質のみが付与されている。高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の作出に用いたプラスミド pBS43 とプラスミド pML102 の供与核酸の構成及び構成要素の由来は、それぞれ表 1 (9 ページ) 及び表 2 (11 ページ) に示した通りである。また、プラスミド pBS43 及びプラスミド pML102 の塩基配列を別紙 2 に示した。

#### □ 構成要素の機能

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

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の目的遺伝子、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は、表 1 (9 ページ) 及び表 2 (11 ページ) の通りである。

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

本章 2 の(4)で述べるように、目的遺伝子である *GmFad2-1* 遺伝子と *dapA* 遺伝子、並びに選抜マーカーである *GUS* 遺伝子と *amp<sup>r</sup>* 遺伝子は発現していないことが確認されている(別紙 3)。そのため、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統において、目的遺伝子及び選抜マーカーの発現による蛋白質の産生は認められない。

宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

油糧作物において、種子形成時の多価不飽和脂肪酸の生合成は、膜存在性の 2 種類のデサチュラーゼに触媒される(Kinny, 1994)。まず、*Fad2* 遺伝子にコードされる  $\Delta^{12}$  デサチュラーゼにより、モノ不飽和脂肪酸であるオレイン酸(C18:1)の  $\Delta^{12}(n-6)$  位に第二の二重結合が挿入されてリノール酸(C18:2)となり(Okuley *et al.*, 1994 ; Heppard *et al.*, 1996)、次いで *Fad3* 遺伝子にコードされる  $\Delta^{15}$  デサチュラーゼにより、リノール酸の  $\Delta^{15}(n-3)$  位に第三の二重結合が導入されリノレン酸(C18:3)となる(Yadav *et al.*, 1993)(12 ページの図 1)。したがって、*Fad2* 遺伝子にコードされる  $\Delta^{12}$  デサチュラーゼを抑制することによって、オレイン酸からリノール酸への生合成反応が阻害され、オレイン酸含有量を高めることが可能となる。

なお、ダイズには2種類の *Fad2* 遺伝子が存在し、そのうちの一つ、*GmFad2-1* 遺伝子は登熟中の種子でのみ特異的に発現する(Hepperd *et al.*, 1996)。この遺伝子の発現は開花およそ19日後の油脂の貯蓄期に増加し、ダイズ種子中の多価不飽和脂肪酸の合成・貯蔵に関与している。もう一つの遺伝子 *GmFad2-2* は植物体全体で発現し、植物の細胞膜形成に必要な多価不飽和脂肪酸の合成に関与している。実際にダイズを供試したノーザンプロット分析の結果、*GmFad2-1* mRNA が種子中でしか検出されないのに対し、*GmFad2-2* mRNA は、ダイズの葉中、根中、茎中で検出された(Hepperd *et al.*, 1996) (13ページの図3)。そのため、高オレイン酸ダイズ260-05系統の作出には、2種類の *Fad2* 遺伝子のうち、登熟中の種子において多価不飽和脂肪酸の合成・貯蔵にのみ関与する *GmFad2-1* 遺伝子が用いられた。

高オレイン酸ダイズ260-05系統の作出にあたっては、オレイン酸に二重結合を付加してリノール酸を生合成する反応を触媒する  $\Delta 12$  デサチュラーゼの産生を抑えることで、オレイン酸含有量を高めることを試みた。そのために、*GmFad2-1* 遺伝子をダイズゲノム中に導入してジーンサイレンシング(森野ら, 1996; DNAP社の米国特許5034323)を誘導することにより種子中の *GmFad2-1* 遺伝子の発現を抑制する方法を用いた。ノーザンプロット分析を行なった結果、本系統中では当該遺伝子の発現蛋白質である  $\Delta 12$  デサチュラーゼが産生されていないことが確認され(別紙3参照)意図したとおり、ジーンサイレンシングにより外来性及び内因性 *GmFad2-1* 遺伝子の発現がいずれも抑制されたと考えられた。結果として、種子中のオレイン酸含量を従来のダイズでは17~30%であるのに対し、80%以上まで高めることができた。

一方、ダイズの種子貯蔵蛋白質の分析の結果、高オレイン酸ダイズ260-05系統では、親品種A2396と比較して  $\beta$ -コングリシニンの $\alpha$ 及び $\alpha'$ サブユニットが減少し、代わりにグリシニンの酸性サブユニットやA2、B1Aサブユニットの前駆体等が増加することが認められた。その他の貯蔵タンパクのプロフィールには差が認められなかった(別紙4)。ここで認められた  $\beta$ -コングリシニンの $\alpha$ 及び $\alpha'$ サブユニットの減少並びにグリシニンの増加の原因については、*GmFad2-1* 遺伝子に連結した  $\beta$ -コングリシニンプロモーターの導入によって、ダイズ内因性の  $\beta$ -コングリシニン遺伝子の発現がジーンサイレンシングにより抑制された結果ではないかと推測している。交雑育種法により改良されたダイズ品種(Nordlee, 1995)及び突然変異誘導ダイズ(Takahashi *et al.*, 1994; Kitamura, 1995)でも、 $\beta$ -コングリシニンの $\alpha$ 及び $\alpha'$ サブユニットが減少し、グリシニンの酸性サブユニットやグリシニンのA2、B1Aサブユニットの前駆体が増加した例が認められており、本高オレイン酸ダイズ260-05系統における  $\beta$ -コングリシニンの $\alpha$ 及び $\alpha'$ サブユニットの減少並びにグリシニンの含有量の増加は、従来のダイズで認められる変動の範囲内であると考えられた。

なお、高オレイン酸ダイズ260-05系統については、米国デュポン社により1995

年から 1996 年にかけて、米国の 24 箇所及びプエルトリコの 1 箇所においてほ場試験が行なわれ、脂肪酸、アミノ酸、イソフラボン、ラフィノース、スタキオース、フィチン酸及びトリプシンインヒビター等の構成成分の分析試験が行なわれているが、オレイン酸の含有量が 80%以上に高められた以外は分析を行なった全ての構成成分について、従来のダイズで認められる変動の範囲内であることが確認されている。

表 1 プラスミド pBS43 の供与核酸の構成及び構成要素の由来と機能

遺伝子	サイズ (kbp)	由来	機能
<i>GmFad2-1</i> 遺伝子発現カセット			
-コングリシニンプロモーター	0.630	<i>Glycine max</i> の種子貯蔵蛋白である -コングリシンの $\alpha$ サブユニット由来のプロモーター。	種子特異的プロモーター。種子の生育中に高レベルで遺伝子を発現させる。
<i>GmFad 2-1</i>	1.490	<i>Glycine max</i> 由来の $\delta$ -12 脂肪酸デサチュラーゼ配列をコードする cDNA。	5'及び 3'の非翻訳領域の一部と蛋白質コード領域からなる。産生酵素は、オレイン酸の $\delta$ -12( n-6 ) 位に第 2 の二重結合を付加してリノール酸を生成させる。
ファゼオリン 3 ターミネーター	1.186	<i>Phaseolus vulgaris</i> のファゼオリン種子貯蔵蛋白由来の 3 ターミネーター領域。	転写終了のシグナルを含み、ポリアダニル化を行なう。
GUS 遺伝子発現カセット			
35Sプロモーター	1.380	カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) プロモーター (Harpster et al., 1988)。	植物組織における高レベル発現を促す構成性プロモーター。
<i>Cab 22L untranslated leader</i>	0.059	<i>Petunia hybrida var. Mitchell</i> の光合成 22L クロロフィル a/b 結合蛋白由来の 5 untranslated leader。	untranslated leader 配列は、mRNA の安定化及び翻訳の改善を行なう。
<i>GUS</i>	1.856	<i>E. coli</i> の <i>uidA</i> 遺伝子由来で、-グルクロニダーゼ酵素 ( <i>uidA</i> 遺伝子)の配列をコード。	3' の非翻訳領域の一部と蛋白質コード領域からなる。D-グルクロン酸の 型配糖体に作用して、そのグルクロニド結合を加水分解する酵素。比色分析により形質転換植物を選抜する際に用いる。
<i>NOS 3</i>	0.796	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成遺伝子の 3 ターミネーター領域。	転写終了のシグナルを含み、ポリアダニル化を行なう。
その他			
<i>lac</i>	0.231	<i>Lac I</i> コード配列の一部、プロモーター <i>Plac</i> 及び -D-ガラクトシダーゼ ( <i>lacZa</i> )の一部。	本遺伝子は不完全で、 <i>E. coli</i> においても機能しない。
<i>ori</i>	0.599	<i>E. coli</i> 由来のプラスミド pUC19 の複製開始領域。	<i>E. coli</i> でプラスミドを複製させる。
<i>amp<sup>r</sup></i>	1.008	<i>E. coli</i> 由来で -ラクタマーゼ酵素をコード。	<i>E. coli</i> にアンピシリン耐性を付与する。

<i>f1 ori</i>	0.461	バクテリオファージ f1 由来の複製開始領域。	バクテリオファージ f1 により複製開始領域が認識され、単鎖 DNA を合成する。本複製開始領域は、f1 ファージが存在しない限り識別されない。
<i>lacZa 3</i>	0.166	lacZa 遺伝子の 3 末端。	本遺伝子は不完全で機能を持たない。

表 2 プラスミド pML102 の供与核酸の構成及び構成要素の由来と機能

遺伝子	サイズ (kbp)	由来	機能
<i>dapA</i> 遺伝子発現カセット			
<i>pTZ18R</i>	0.035	大腸菌 ( <i>Escherichia coli</i> ) の pBR322 に由来するプラスミド。	<i>E. coli</i> におけるクローニング及び増殖に使用。
<i>Kti3</i> プロモーター	2.091	<i>Glycine max</i> の Kunitz トリプシンインヒビターに由来するプロモーター。	種子の成熟過程で高レベル発現を促す種子特異性プロモーター。
<i>ssu CTC</i>	0.167	<i>Glycine max</i> の Rubisco の小サブユニット由来の葉緑体輸送ペプチドの N-末端配列。	蛋白質を葉緑体に運ぶ配列。
<i>dapA</i>	0.923	<i>Corynebacterium glutamicum</i> 由来のリシン非感受性ジヒドロピコリン酸合成酵素をコードする。	リシン生合成経路のピルビン酸及びアスパラギン酸 -セミアルデヒドから 2,3 ジヒドロピコリン酸を合成する反応を触媒する。(図 2参照)
<i>Kti3</i> 3' ターミネーター	0.195	<i>Glycine max</i> の Kunitz トリプシンインヒビター遺伝子 3' に由来する 3' ターミネーター。	転写終了のシグナルを含む。
その他			
<i>lac</i>	0.231	<i>LacI</i> コード配列の一部、プロモーター <i>Plac</i> 及び $\lambda$ -D-ガラクトシダーゼ ( <i>lacZa</i> ) の一部。	本遺伝子は不完全で、 <i>E. coli</i> においても機能しない。
<i>ori</i>	0.599	<i>E. coli</i> 由来のプラスミド pUC19 の複製開始領域。	<i>E. coli</i> でプラスミドを複製させる。
<i>amp<sup>r</sup></i>	1.008	<i>E. coli</i> 由来で $\beta$ -ラクタマーゼ酵素をコード。	<i>E. coli</i> にアンピシリン耐性を付与する。
<i>f1 ori</i>	0.461	バクテリオファージ f1 由来の複製開始領域。	バクテリオファージ f1 により複製開始領域が認識され、単鎖 DNA を合成する。本複製開始領域は、f1 ファージが存在しない限り識別されない。
<i>lacZa'3'</i>	0.166	<i>lacZa</i> 遺伝子の 3' 末端。	本遺伝子は不完全で機能を持たない。

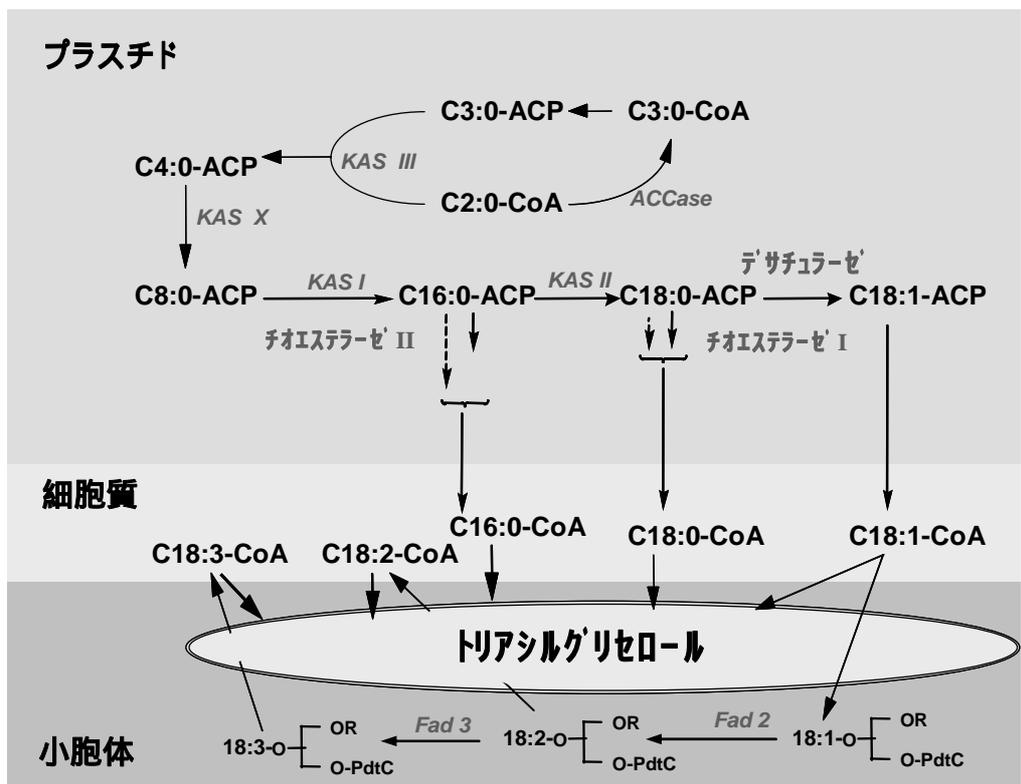


図 1 ダイズ種子中の脂肪酸合成経路

C18:1...オレイン酸、C18:2...リノール酸、C18:3...リノレン酸

*Fad2*... -12 デサチュラーゼをコードする遺伝子、*Fad3*... -15 デサチュラーゼをコードする遺伝子

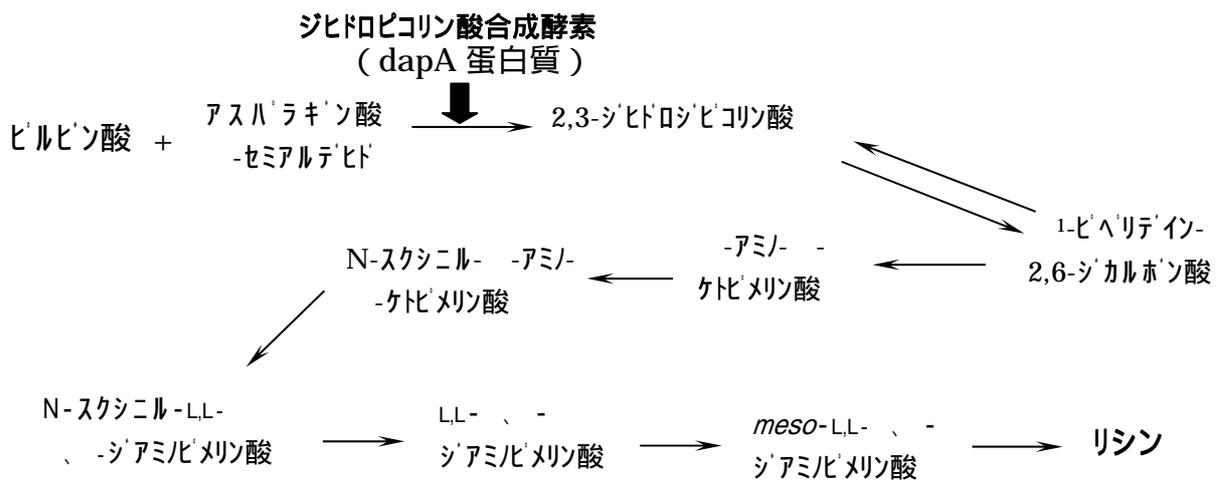


図 2 リシン生合成経路

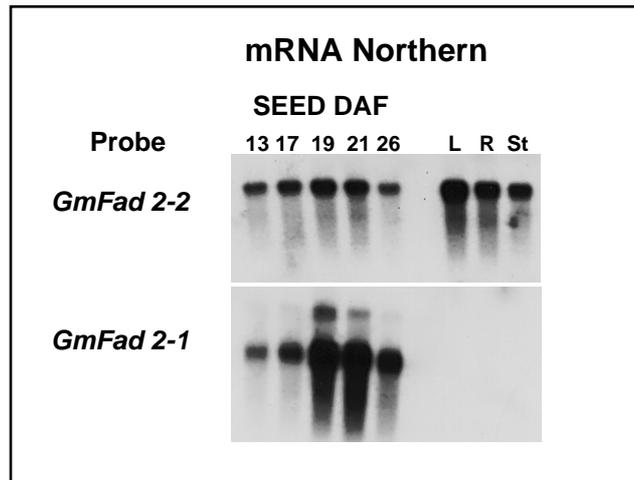


図 3 ダイズ組織における *GmFad2-1* mRNA 及び *GmFad2-2* mRNA の存在状態を示すノーザンプロット分析

上記図中の L は葉を、R は根を、St は茎を示し、DAF は Days after flowering (開花後の日数) を示している(Hepperd *et al.*, 1996)。

## (2) ベクターに関する情報

### イ 名称及び由来

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の作出に用いられたプラスミド pBS43 (図 4) とプラスミド pML102 (図 5) は、いずれも大腸菌 (*Escherichia coli*) のプラスミド pBR322 に由来する。

### ロ 特性

#### ベクターの塩基数及び塩基配列

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の作出に用いられたプラスミド pBS43 の塩基数は 10,303 bp であり、プラスミド pML102 の塩基数は 6,247 bp である。両プラスミドの全塩基配列は別紙 2 に示した通りである。

#### 特定の機能を有する塩基配列の種類

両プラスミドとも、供与核酸以外の領域には、微生物中でプラスミドを増殖する際に、形質転換プラスミドを含む微生物を選抜するための、pBR322 由来の抗生物質(アンピシリン)耐性マーカー遺伝子 (*amp<sup>r</sup>* 遺伝子) が含まれている。*amp<sup>r</sup>* 遺伝子は、大腸菌本来のプロモーターの制御下にあり、植物では発現しない。また、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統で実際に発現していないことをノーザンブロット分析によって確認している (別紙 3)。

#### ベクターの感染性の有無

両プラスミドとも全塩基配列が明らかにされており、他の微生物への伝達を可能とする配列を含んでおらず、したがって感染性はない。

## (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

宿主内に移入された核酸全体の構成を、別紙 5 の図 9 (別紙 5、15 ページ) 及び図 10 (別紙 5、16 ページ) に示した。

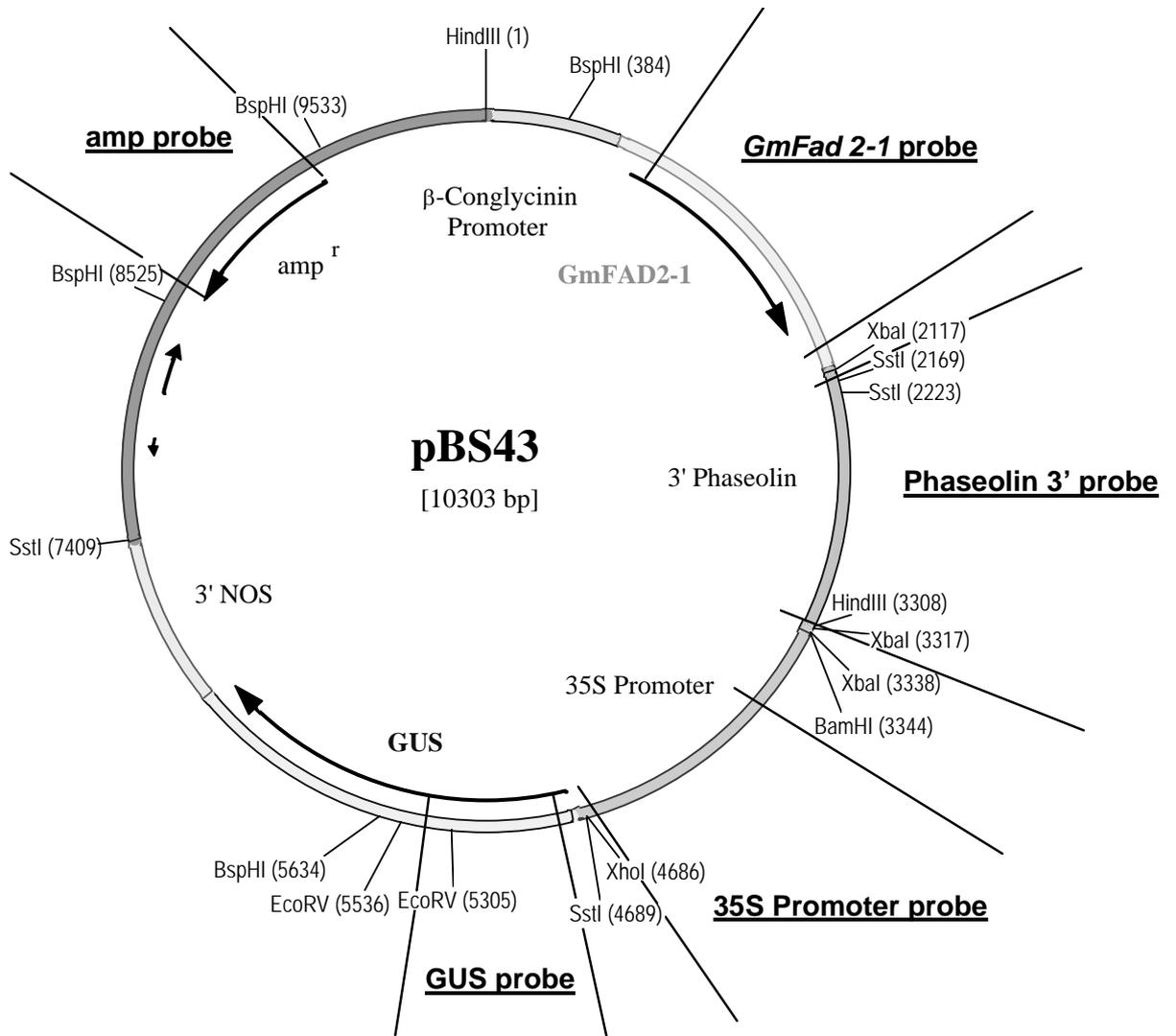


図 4 プラスミド pBS43 の構成

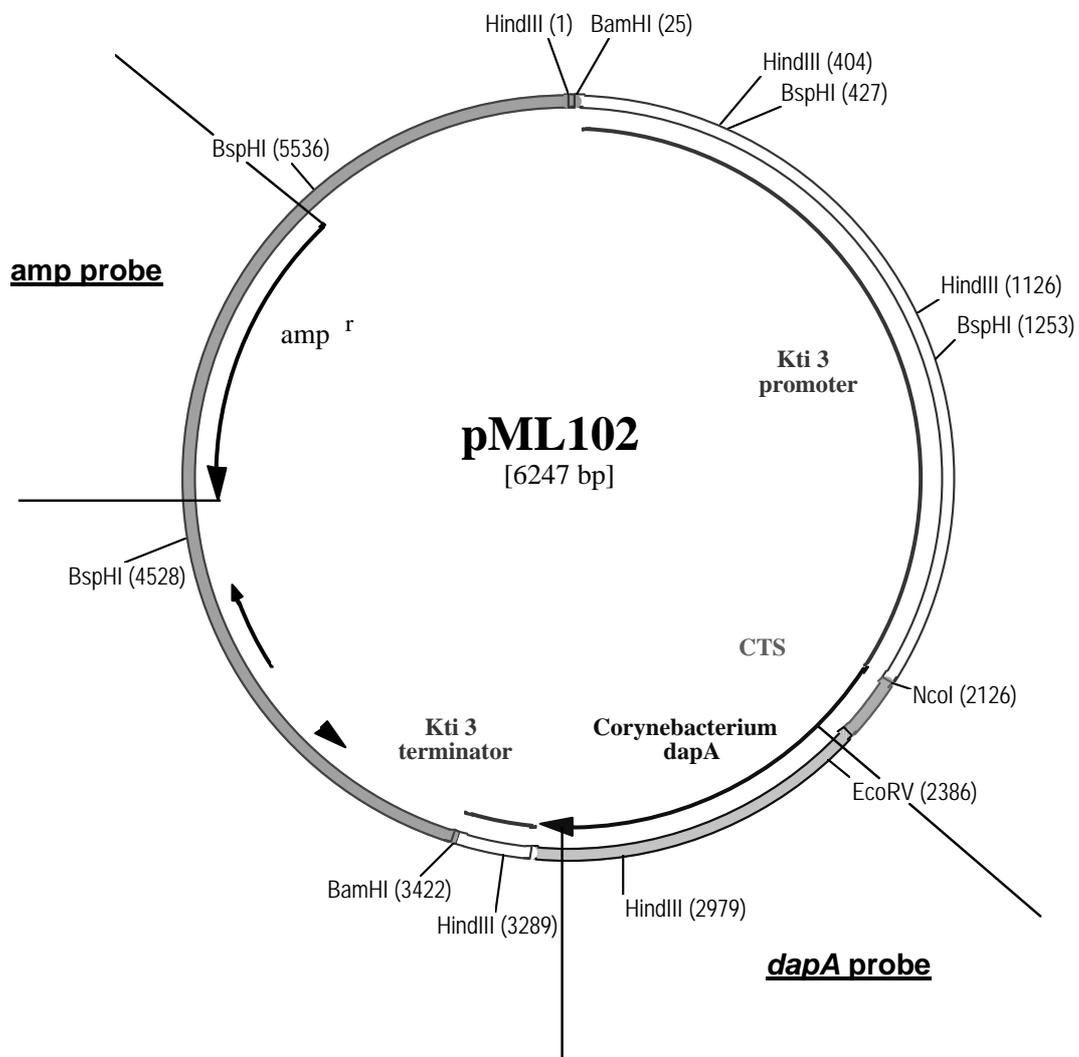


図 5 プラスミド pML102 の構成

## ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

核酸の宿主への移入は、パーティクルガン法により行なわれ、ダイズの成熟グループ II に属する品種 A2396 にプラスミド pBS43 及び、プラスミド pML102 を混合したものを導入した。

## ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

### 核酸が移入された細胞の選抜の方法

核酸が移入された形質転換細胞は、GUS 活性検定によって選抜した。

### アグロバクテリウムの菌体の残存の有無

### 育成の経過及び系統樹

選抜細胞から再分化した植物体(R0世代)において、GUS活性検定と *GmFad2-1* 遺伝子の PCR 分析によって組換え体を選抜した。R1 世代における脂肪酸組成及びリシンの分析の結果、高オレイン酸と高リシンの両方の形質を併せ持つ組換え体は得られなかったことから、R1 世代以降は高オレイン酸形質に基づいて選抜を行なった。優良系統として選抜した 260-05 系統の R0 以降の育成過程は図 6 (19 ページ) に示した通りである。

R0 世代及び R1 世代には、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座、*dapA* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座、及び *GUS* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座がヘテロで存在した。これらを自殖する過程で、GUS 蛋白質を発現していた *GUS* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座が分離・脱落し、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座と *dapA* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座のみをホモで持つ個体 G168、G94-1 及び G94-19 がサブラインとしてそれぞれ選抜された。*GUS* 遺伝子は、*GUS* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座に存在した一方、2 - (4) - ロ (21 ページ) で述べるように、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座にも、非発現の 1 コピーの完全な *GUS* 遺伝子発現カセット及び非発現の 1 コピーの不完全な *GUS* 遺伝子発現カセットとして存在する。また、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座、及び *dapA* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座の遺伝子も発現していないことから、以降、これらの遺伝子座を *GmFad2-1* 遺伝子発現カセット (非発現) 導入遺伝子座、*dapA* 遺伝子発現カセット (非発現) 導入遺伝子座と呼称することとした。

これらのサブラインは 260-05 系統の R0 世代の 1 個体に由来し、同様の育成過

程を経ており、したがって導入遺伝子は完全に同一である。なお、この選抜された3つのサブラインを高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と総称し、各サブラインの自殖後代が商品化される。また、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統について行なわれた各種評価試験の供試世代は表 3 (20 ページ) に示した通りである。

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は、我が国においては1999年5月に「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」(以下「指針」)に基づき、開放系における利用計画が指針に適合していることが確認されている。また、2000年5月にそれぞれ食品及び飼料としての安全性の確認がなされている(食品及び飼料に関しては、2001年3月と2003年3月にそれぞれ審査の法制化時に再認可された)。

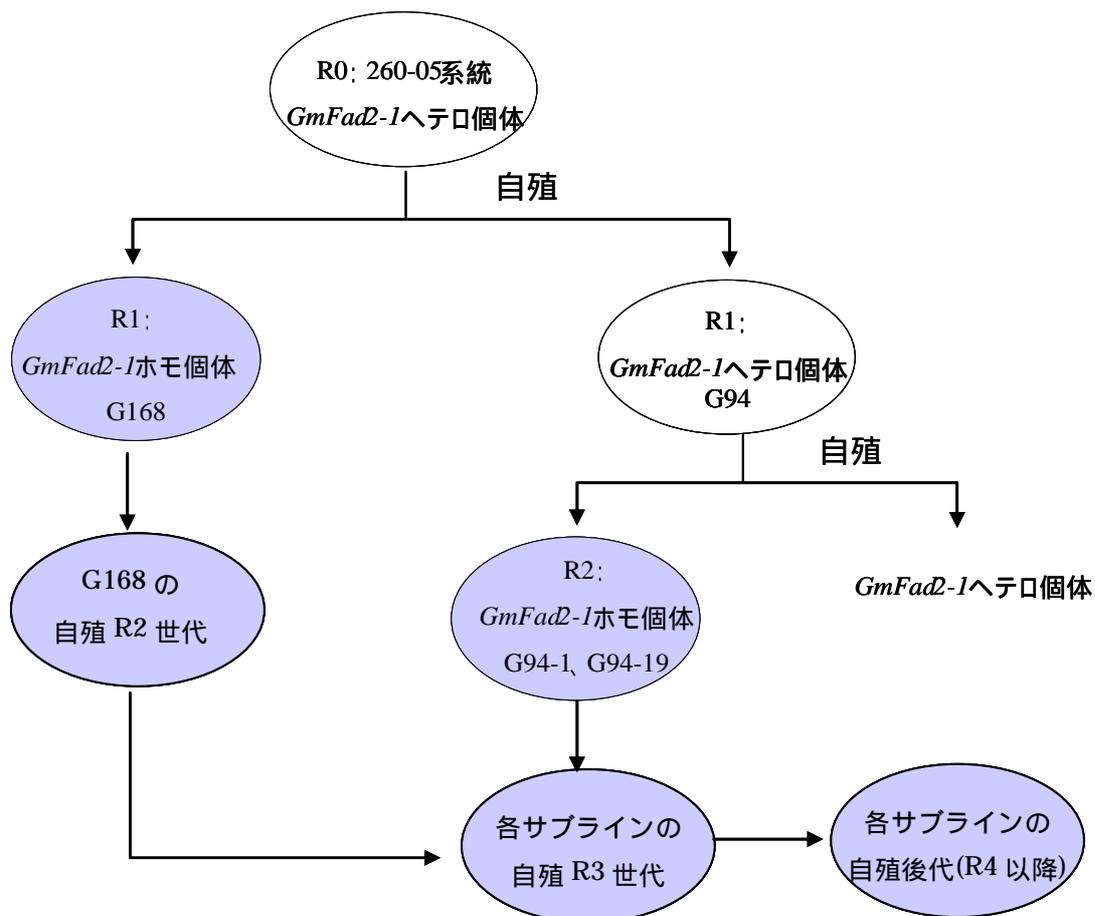


図 6 高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の育成概要図

260-05 系統の R0 世代は、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座、*dapA* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座、及び *GUS* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座をヘテロで持つ。

R0 世代から得られた R1 世代において、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座、*dapA* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座をホモで持ち、*GUS* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座が分離・脱落した個体 G168 を選抜した。一方、R1 世代のヘテロ個体から得られた R2 世代において、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座、*dapA* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座をホモで持ち、*GUS* 遺伝子発現カセット導入遺伝子座が分離・脱落した個体、G94-1 及び G94-19 を選抜した。一方、2 - (4) - 口 (20 ページ) で述べるように、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座に、1 コピーの完全な *GUS* 遺伝子発現カセット(非発現)及び 1 コピーの不完全な *GUS* 遺伝子発現カセット(非発現)が存在する。

選抜された G168、G94-1 及び G94-19 は、いずれも *GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座及び *dapA* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座をホモで持ち、これら選抜された 3 つのサブラインを総称して「高オレイン酸ダイズ 260-05 系統」と呼ぶ。

表 3 高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の各評価試験に供試された世代

供試世代	評価	参照
R2	ノーザンプロット分析による <i>GmFad2-1</i> 、 <i>GUS</i> 、 <i>dapA</i> 及び <i>amp<sup>r</sup></i> 遺伝子が発現していないことの確認 (GUS については R6 世代を用いて葉でも発現していないことを確認)	別紙 3
R6	高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の種子蛋白質の分析	別紙 4
R6	サザンプロット分析による導入遺伝子の解析	別紙 5 の図 1 ~ 8
R1、R2 及び R6	サザンプロット分析による導入遺伝子の安定性	別紙 5 の図 11、12
R4、R5 R6 及び R7	脂肪酸組成分析による高オレイン酸形質の安定性	別紙 6
R4 及び R5	米国及びプエルトリコにおけるほ場試験	別紙 8
R8	北海道農業研究センターにおける隔離ほ場試験	別紙 9

#### (4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

##### イ 移入された核酸の複製物が存在する場所

サザンブロット分析によってダイズゲノムに組み込まれていることが確認されている。

##### ロ 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統において導入遺伝子のコピー数と各発現カセット全体が挿入されているかどうかの確認をするために、サザンブロット分析を行なった。分析は、1996 年に米国で米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社によって栽培された R6 世代の高オレイン酸ダイズ 260-05 系統及び親品種 A2396 を供試して行なわれた。その結果、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統には *GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座と *dapA* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座が存在することが示された(別紙 5 の図 1~8)。

*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座には、2 コピーの完全な *GmFad2-1* 遺伝子発現カセット、1 コピーの完全な *GUS* 遺伝子発現カセット、1 コピーの不完全な *GUS* 遺伝子発現カセット、2 コピーの完全な *amp<sup>r</sup>* 遺伝子発現カセット、並びに 1 コピーの不完全な *amp<sup>r</sup>* 遺伝子発現カセットが導入されていた。

一方、*dapA* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座には 1 コピーの不完全な *dapA* 遺伝子発現カセットが導入されていた。両導入遺伝子座における挿入遺伝子の模式図を、それぞれ別紙 5 の図 9 と図 10 に示した。

高オレイン酸形質付与に必要な *GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座が安定的に後代に受け継がれていることを確認するために、サザンブロット分析を行なった(制限酵素：*Bam*HI、プローブ：*Phaseolin 3*、別紙 5 の図 11 及び 12)。分析は米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社によって 1993 年から 1995 年にかけて米国で栽培された R1 及び R2 世代、並びに 1996 年に米国で栽培された R6 世代の高オレイン酸ダイズ 260-05 系統及び親品種 A2396 を供試して行なわれた。その結果、高オレイン酸形質付与に必要な *GmFad2-1* 遺伝子発現カセット(非発現)導入遺伝子座が安定的に後代に受け継がれていることが確認された。

導入遺伝子の発現を確認するために、ノーザンブロット分析を行なった。分析は 1993 年から 1995 年にかけて米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社によって米国において栽培された R2 世代の高オレイン酸ダイズ 260-05 系統及び親品種 A2396 の種子並びに 1996 年に米国において栽培された R6 世代の高オ

レイン酸ダイズ 260-05 系統及び親品種 A2396 の葉組織を供試して行なわれた。その結果、*GmFad2-1* 遺伝子、*dapA* 遺伝子、並びに選抜マーカーである *GUS* 遺伝子と *amp<sup>r</sup>* 遺伝子は発現していないことが確認された（別紙 3）。

また、2005 年には、R10 世代の種子を用いて、米国の圃場で契約農家により高オレイン酸ダイズ 260-05 系統が栽培され、高オレイン酸種子の生産が行われたが、高いオレイン酸含有量に変化がなかったことから、R10 世代まで *GmFad2-1* 遺伝子発現カセット（非発現）導入遺伝子座が安定的に受け継がれていることが傍証された。

#### ハ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別

上述のように、サザンブロット分析の結果、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット（非発現）は 2 コピーでタンデムに存在し、*dapA* 遺伝子発現カセットと別の遺伝子座に導入されていることが示された。さらに、R6 世代におけるサザンブロット分析の結果に基づくと、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット（非発現）導入遺伝子座と *dapA* 遺伝子発現カセット（非発現）導入遺伝子座の分離は認められず、したがって最終選抜系統（260-05 系統）において、これら 2 つの遺伝子座はいずれもホモ化・固定されていることが確認された。

また、*GmFad2-1* 遺伝子発現カセット（非発現）遺伝子座上には、ベクター pBS43 の一部が 2 コピー隣接して逆位反復で導入されていることが確認された。その挿入部位の各遺伝子の模式図を別紙 5 の図 9 に示した。

#### ニ 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

米国あるいはプエルトリコで、1995 年から 1997 年に行なわれたほ場試験で得られた R4、R5、R6 及び R7 世代種子について、脂肪酸組成の分析を行なった結果、対照の親品種 A2396 におけるオレイン酸含有量が全脂肪酸の 17-30%であったのに対し、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統では 80%以上の高いオレイン酸含有量を示し、獲得された形質が世代間で安定であることが確認された（別紙 6 参照）。

#### ホ ウイルスの感染その他の経路を經由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度

移入された核酸に他の野生動植物等への伝達を可能とする配列は含まれておらず、したがって伝達性はない。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

本高オレイン酸ダイズ 260-05 系統に導入されている挿入 DNA の近傍配列に基づいた、2 種のプライマー（それぞれ 18bp 及び 19bp）を用いた定性 PCR 法が、米国デュポン社により開発されている（別紙 7）。ダイズゲノム DNA 配列を基にした、2 種のプライマー（共に 18bp）を用いて PCR を同時に行なうことにより、近傍配列をプライマーとした PCR 法は、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統を特異的に検出することが確認されている。本法は、20ng の DNA サンプルから検出することが可能である。また、反復試験により高い再現性を示すことが確認されている。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 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内容

本章 2 の(1)口で詳細を述べたように、*GmFad2-1* 遺伝子の導入によるジーンサイレンシングによって、外来及び内因性 *GmFad2-1* 遺伝子の発現が抑制され、オレイン酸からリノール酸への生合成反応を触媒する  $\Delta 12$  デサチュラーゼが産生されなかった結果、種子中でのオレイン酸含有量が高められている。また、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統では、親品種 A2396 と比較して  $\gamma$ -コングリシニンの  $\alpha$  及び  $\alpha'$  サブユニットが減少し、代わりにグリシニンの酸性サブユニットやグリシニンの A2、B1A サブユニットの前駆体等が増加することが認められた（別紙 4）。*GmFad2-1* 遺伝子に連結した  $\gamma$ -コングリシニンプロモーターの導入によって、ダイズ内因性の  $\gamma$ -コングリシニン遺伝子の発現がジーンサイレンシングにより抑制された結果ではないかと推測している。なお、 $\gamma$ -コングリシニン量が低下してグリシニンやグリシニン前駆体が増加する変化は、交雑育種法により改良されたダイズ品種 (Julie Nordlee, 1995)、及び突然変異誘導ダイズ (Takahashi *et al.*, 1994 ; Kitamura, 1995) でも認められており、従来のダイズで認められる変動の範囲内であると考えられた（別紙 4 参照）。

ロ 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

1995 年から 1996 年にかけて、米国で 24 ヶ所、プエルトリコで 1 ヶ所において、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統のほ場試験が行なわれ、種子の発芽率、植物体の外観、開花時期、種子のつき方、熟度、収穫量、病害及び虫害に対する感受性について評価されている。いずれの項目においても、導入遺伝子の影響によると考えられる差は認められなかった。また、米国の 5 箇所の栽培ほ場において、

栽培試験の翌年の5月から6月にかけて、栽培ほ場の観察を行なったが越冬した個体は認められなかった（別紙8、ページ2及び3）。以上のことから、オレイン酸含有量及びグリシニンが高められている以外に、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と宿主の属する分類学上の種との間に相違はないと考えられた。

さらに、万一のこぼれ落ちによる環境影響を想定して、北海道農業試験場（現北海道農業研究センター）において隔離ほ場試験を行ない、環境影響への評価が行なわれた。以下に隔離ほ場試験の結果（別紙9）を要約した。なお、成体の越冬性及び有害物質の産生性については、米国の試験・観察結果に基づいて記載した。

### 形態及び生育の特性

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の形態及び生育の特性として、発芽率、開花始、開花期、花色、主茎長、主茎節数、茎の太さ、分枝数、葉色、毛じの色、毛じの多少、生育習性、草型、裂莢の難易、一株地上重、一株莢実重、一株稔実莢数、莢の色、一株粒重、一株完全粒数、一株完全粒重、莢あたり粒数、百粒重、種皮色、臍の色について、対照の親品種 A2396 と比較して評価された。主茎節数において統計学的有意差（高オレイン酸ダイズ 260-05 系統 23.2 に対して親品種 A2396 は 20.1）が認められた以外は、評価を行なった他のすべての項目で高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 との間に相違はみられなかった（別紙9、3～6 ページ）。なお、本隔離ほ場試験で観察された主茎節数は、ダイズの主茎節数の変動の範囲内（8～33 節）である（農業技術体系, 2002）。

### 生育初期における低温耐性

生育初期における低温耐性を直接調べたデータはないが、隔離ほ場で採種後乾燥した高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 の種子を隔離ほ場の土中に埋め（12月初め）、60日後（2月初め）に土中の種子を回収して観察したところ、発芽した種子はなく、60日後にはすべての種子が腐敗していた（別紙9、8 ページ）。

なお、米国におけるほ場試験においては、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統を栽培した畑を翌年研究者が訪れて観察しているが、越冬して発芽・生育した個体は観察されなかった。これらのことから、運送中に万一同こぼれ落ちた場合でも、高オレイン酸ダイズ 260-05A 系統の種子が低温時に発芽・生育する可能性は従来のダイズと同程度であり、幼芽が低温耐性を持ち、越冬する可能性は極めて低いと考えられた。

## 成体の越冬性又は越夏性

ダイズは一年生栽培植物であり、結実後、冬季には通常自然に枯死し、越冬することは知られていない。また、収穫後に再成長して栄養繁殖したり、種子を生産することもない。日本の隔離ほ場試験での観察は行なわなかったが、米国におけるほ場試験において、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統を栽培した畑を翌年研究者が訪れて観察を行なった結果、収穫後に再成長した個体は観察されなかった。

## 花粉の稔性及びサイズ

花粉の稔性及びサイズを直接調べたデータはないが、隔離ほ場で、一株稔実莢数、一株完全粒数、莢あたり粒数を調査した結果、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 との間に有意差は認められなかった。花粉の稔性が変化した場合には、これらの項目に差異が見られると考えられる。これらの項目について、親品種 A2396 との相違が認められなかったことから、花粉の稔性については、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と従来のダイズとの間で差異はないと考えられた。

## 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量に係る項目として、一株稔実莢数、一株粒重、一株完全粒数、一株完全粒重、莢あたり粒数、百粒重について調査が行なわれた。評価を行なったすべての項目において、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 との間に相違は認められなかった。また、脱粒性に係る項目として裂莢の難易が評価されたが、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統及び親品種 A2396 とともに裂莢程度は難であった。

休眠性及び発芽率については、本試験に供試された高オレイン酸ダイズ 260-05 系統種子及び親品種 A2396 を播種し、播種後 19 日目に発芽率を調査した。その結果、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の発芽率は 91%で、親品種 A2396 の 88%と同程度であった。よって、休眠性についても、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 との間に同程度であると考えられた。

これらの結果から、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統における種子の生産量等の特性に関して、従来のダイズとの間で差異はないと考えられた。

## 交雑率

隔離ほ場試験において、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と隣接して従来のダイズ品種ツルムスメ及びツルマメが栽培され、自然交雑の調査が行なわれ

た。その結果、ツルムスメから得られた種子における自然交雑率は0%であり、従来の知見で得られている交雑率0.5~1%(農業技術体系, 2002; 農学大事典, 1994)を超えるものではなかった。

今回の試験では、ツルマメについては、開花時期が異なったため実際の交雑率を評価することはできなかったが、高オレイン酸ダイズ260-05系統と非組換えダイズとの交雑率が従来の自然交雑率と同等であったことから、従来の知見で得られているツルマメと従来ダイズ品種との交雑率(0.7%)(Nakayama Y. and Yamaguchi H., 2002)と同程度であると考えられた。

### 有害物質の産生性

ダイズについては、周辺の植物や土壌微生物に影響を与えるような有害物質を根から分泌することは知られていない。また、枯死した後に他の植物に影響を与えるような他感物質が産生されることも知られていない。

確認のため、高オレイン酸ダイズ260-05系統及び非組換えダイズを用いて2005年に米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社の網室において栽培したサンプルを供試して、有害物質(根から分泌され他の植物に影響を与えるもの、根から分泌され土壌微生物に影響を与えるもの及び植物体が内部に有し、枯死した後に他の植物に影響を与えるもの)の産生性に関する追加試験を行なった(別紙10)。その結果、高オレイン酸ダイズ260-05系統の有害物質の産生性について非組換えダイズの間には有意差は認められなかった。

また、米国のほ場試験においては、高オレイン酸ダイズ260-05系統を栽培した畑を翌年研究者が訪れて観察を行なっているが(別紙8)、高オレイン酸ダイズ260-05系統の栽培に起因すると考えられる後作物への明らかな影響は報告されておらず、何らかの非意図的な変化によって、枯死した後に他の植物に影響を与えるような物質が高オレイン酸ダイズ260-05系統中に新たに産生されたとは考えられない。

これらのことを総合的に判断し、高オレイン酸ダイズ260-05系統における有害物質の産生性について、従来のダイズとの間に差異はないと考えられた。

## 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

### (1) 使用等の内容

食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれら

に付随する行為。

(2) 使用等の方法

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

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

申請書の別添資料「緊急措置計画書」を参照。

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

(6) 国外における使用等に関する情報

国外における高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の安全性に係る承認の状況は、表 4の通りである。

表 4 国外における高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の安全性に係る承認の状況

国名	安全性の承認の種類	承認時期
米国	食品及び飼料としての安全性	1997 年
	無規制裁培許可	1997 年
カナダ	食品としての安全性	2000 年
	飼料としての安全性	2000 年
	環境に対する安全性	2000 年
オーストラリア/ ニュージーランド	食品としての安全性	2000 年

なお、我が国においては 1999 年 5 月に「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」(以下「指針」)に基づき、開放系における利用計画が指針に適合して

いることが確認されている。また、2000年5月にそれぞれ食品及び飼料としての安全性の確認がなされている(食品及び飼料に関しては、2001年3月と2003年3月にそれぞれ審査の法制化時に再認可された)。

## 第2 項目ごとの生物多様性影響の評価

ダイズ(*Glycine max* (L.) Merr.) は、長年にわたり食品・飼料への加工用として海外より輸入されてきた。また、食用として我が国でも栽培されている。

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は、搾油を第一の利用目的として、現在、米国においてのみ栽培・消費されており、搾油用に我が国には輸入されていない。また、米国においては一般ダイズの混入を防いでその付加価値を保つために、栽培から収穫物の運搬及び搾油まで、流通の各段階で分別管理をする「IP ハンドリング」と呼ばれるシステムが導入され、栽培から搾油まで終始一般ダイズとは分別した流通管理がなされている。このため、我が国に輸入される一般ダイズに高オレイン酸ダイズ 260-05 系統が、非意図的に混入する可能性は極めて低い。

さらに、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の栽培用種子は、唯一米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社が、米国の契約農家に対してのみ種子の販売を行っており、日本の農家への販売は行っていない。加えて、米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社は、日本国内向けに、ダイズ種子の販売は行っていないため、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統が非意図的な混入によって、我が国において栽培用の非組換えダイズ種子に混入する可能性はないと考えられる。今後、仮に食品加工用に輸入される場合には、他の一般ダイズの混入の可能性及び運搬途中でのこぼれ落ちを防止するために、専用コンテナを利用して運搬し、そのまま食品加工業者に納入される。よって、運搬時にこぼれ落ちる可能性は極めて低い。

一方、我が国におけるこれまでのダイズの輸入や栽培の歴史の中で、ダイズが野生化し、野生動植物の生育に支障を及ぼしたという報告はないことから、本生物多様性影響評価においては、生物多様性影響評価実施要領の別表第三に基づき、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 において相違が見られた点について考察することとする。

### 1 競合における優位性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズについては、これまでも我が国において輸入や栽培がなされてきているが、自生化及び雑草化したという報告はない。平成 10 年に我が国で行なわれた高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の隔離ほ場試験において、自生化や競合における優位性に関連する特性（種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率、他）について調査を行なったが、いずれの項目についても高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 との間に差異は認められなかった。

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は、種子中のオレイン酸の含有量が 80%程度に高められているが、種子中の高オレイン酸形質が競合における優位性を高めるとは考えられない。

以上の結果より、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と従来ダイズには、競合における優位性に影響を与える差はないと結論され、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

## (2) 影響の具体的内容の評価

## (3) 影響の生じやすさの評価

## (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

影響を受ける可能性のある野生動植物が特定されなかったことから、競合における優位性に関して生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

## 2 有害物質の産生性

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズについては、周辺の植物や土壌微生物に影響を与えるような有害物質を根から分泌することは知られていない。また、枯死した後に他の植物に影響を与えるような有害物質が産生されることも知られていない。

また、実際にこれらの物質について、2005 年に米国において、米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社によって確認試験が行なわれた。その結果、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の有害物質（根から分泌され他の植物へ影響を与えるもの、根から分泌され土壌微生物に影響を与えるもの、植物体が内部に有し枯死した後に他の植物に影響を与えるもの）の産生性について非組換えダイズの間には有意差は認められなかった。（別紙 10）

また、米国のほ場試験においては、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統を栽培した畑を翌年研究者が訪れて観察を行なっているが（別紙 8）高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の栽培に起因すると考えられる後作物への明らかな影響は報告され

ておらず、何らかの非意図的な変化によって、枯死した後に他の植物に影響を与えるような物質が高オレイン酸ダイズ 260-05 系統中に新たに産生されたとは考えられない。

これらのことを総合的に判断し、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統における有害物質の産生性について、従来ダイズとの間に差異はないと考えられた。

以上の結果より、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と従来ダイズの間で、有害物質の産生性に差があることを示唆する証拠はないと結論され、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

#### (3) 影響の生じやすさの評価

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

影響を受ける可能性のある野生動植物等が特定されなかったことから、有害物質の産生性に関して生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

### 3 交雑性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズと交雑可能な近縁野生種として、ツルマメが我が国に自生していることが知られている。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

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統とツルマメが交雑した場合には、雑種が形成されるものと考えられる。また、その場合には、形成された雑種とツルマメとの交雑により、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統に導入された遺伝子がツルマメの集団中に検出される可能性も否定はできない。

ダイズとツルマメは雑種を生じ、その雑種の生育や生殖には障害が見られないことが知られているが、従来知見で得られているツルマメと従来ダイズ品種との交雑率は、0.7%と報告されている(Nakayama Y. and Yamaguchi H., 2002)。一方、ツルマメ間での自然交雑率については 2.3% (Kiang ら、1992) とされている。また、訪花昆虫が多いなどの自然条件下では、交雑率が 13%との報告もなされている (Fujita ら、1997)。

### (3) 影響の生じやすさの評価

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は、我が国での栽培を予定しておらず、運搬の際は全て IP ハンドリングが行なわれている。運搬の途中で万一こぼれ落ちた場合には、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統とツルマメが交雑する可能性は完全には否定できない。しかしながら、以下に示す実験結果及び論文の報告から、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統とツルマメが交雑し、さらに当該導入遺伝子がツルマメの集団中に浸透してゆく可能性は極めて低いと考えられる。

- 1) ダイズ及びツルマメは、いずれも自殖性植物であり通常受粉が開花前に完了しまた、不順な気候の際や開花期の後半では、ほとんど開花することなく受精を行なう。ツルマメ間の交雑率については、最高で 2.3% (Kiang et al., 1992) であると報告されている。また、訪花昆虫が多いなどの自然条件下では、交雑率が 13%との報告もなされている (Fujita et al., 1997)。一方、ダイズの品種間の自然交雑率は、0.5%から 3%と報告されている(Ahrent and Caviness, 1994; Carlson and Lersten, 1987; Caviness, 1996; Chang and Kiang, 1987; Garver and Odland 1926; Wever and Hanson, 1961)。さらに、約 2m 離れると 0.036%と非常に低率であり、10m 離れると交雑率は 0%になることが報告されている (別紙 1)。
- 2) 一般的に、ダイズの開花期はツルマメより早く (Nakayama Y. and Yamaguchi H., 2002) ダイズとツルマメの開花期は重なりにくいことが知られている。Nakayama らにより、ツルマメ (Gls/93-J-01) 及びダイズ (丹波黒) を用いて、開花時期を重ね、交互に 50cm の間隔をあけて栽培した実験条件下で自然交雑率を求める実験が行なわれた。当該試験における訪花昆虫の調査では、訪花昆虫として、バラハキリバチモドキ、コハナバチ科の一種及びアザミウマの一種が見られた。この試験の条件下においても、ツルマメとダイズ品種との交雑率は、0.7%であった(Nakayama Y. and Yamaguchi H., 2002)。
- 3) 実際に、平成 10 年に北海道で行なわれた隔離ほ場試験において、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統を畦幅 60cm、株間 30cm で栽培し、その両側に隣接して従来のダイズ品種であるツルムスメを開花期を合わせて栽培し、自然交雑の調査を行なった。その結果、ツルムスメから得られた種子における自然交雑率は 0%であり、従来知見で得られている交雑率 0.5 ~ 1% (農業技術体系, 2002 ;

農学大事典, 1994) と同等であった。また、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統において、花粉の稔性が変化した場合に差異が生じると考えられる、一株稔実莢数、一株粒重、一株完全粒数、一株完全粒重、莢あたりの粒数及び百粒重において、非組換え系統である親品種 A2396 との間に相違は見られなかった。このことより、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と非組換え体の中で、花粉稔性に差異はないと考えられた。これらのことから、ツルマメと高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の交雑率は従来のダイズとツルマメの交雑率と同様に非常に低いと結論される。

- 4) ダイズやツルマメの葉緑体の持つ DNA には両者を特徴付ける二つの多型があり、それらの組み合わせによりダイズやツルマメの葉緑体 DNA は 3 種類の型 (I 型、II 型及び III 型) に分類することができる。I 型は、近代の栽培ダイズに多くみられ、III 型は、ツルマメ、または栽培原種及びツルマメと栽培種の間中型である *G.gracilis* に多くみられることが明らかにされている。Abe ら (1999) は、日本において収集したツルマメの葉緑体 DNA を用いてその分類を行ない、日本のツルマメと栽培ダイズ間の浸透交雑の程度が検証した。その結果、日本において収集したツルマメ (全 330 地域) の葉緑体 DNA は、その多くが III 型であり、I 型を示したツルマメは 1.8% (6 地域) であることが確認された。I 型を示した 6 地域のツルマメのうち、4 地域では、ツルマメと同様の形態的特徴を示した。その理由の一つとして、交雑により生じた雑種が自然選択圧により、野生型に戻っていった結果 (dedomestication) であると推測されている。

以上、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統とツルマメとの交雑の可能性について検討した結果、

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は IP ハンドリングされ輸入されることから、運搬時にこぼれ落ちる可能性がほとんど考えられないこと、

仮にこぼれ落ちた場合でも、自然条件下で路上で成育し、開花する可能性は低いこと、

ダイズ、ツルマメ共に、閉花受粉のため基本的に他家受粉しないこと、

実際にダイズ間の自然交雑率を調べた試験の結果、2m 離れた時で 0.036%、10m で 0% であることが報告されていること、

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統を用いて、従来ダイズ品種ツルムスメとの交雑率 (株間 30 cm、畝間 80 cm で) を調べた実験の結果、交雑率は 0% で従来のダイズに比べ交雑率が高められたわけではないこと、

ダイズ、ツルマメ間の交雑率については、ダイズとツルマメは一般的に開花期が重なりにくいことが知られており、開花期を合わせて交互に株間 50 cm の隣接栽培を行った場合でも 1% 未満であったこと、

から、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統とツルマメの交雑率は、従来のダイズ

とツルマメと同等に低いと判断された。

次に、仮に高オレイン酸ダイズ 260-05 系統とツルマメが交雑した場合に、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統に導入した遺伝子が、ツルマメ中に定着し、それが自然界に浸透する可能性を考察したところ、

ツルマメ間の自然交雑率を調べた試験の結果、訪花昆虫が特に多いなどの条件下で 13%であったが、通常の条件下では 2.3%程度であることが報告されていること、

ツルマメの葉緑体 DNA による多型分析の結果、交雑個体でも表現型が野生型に戻る可能性が高いことが示唆されたこと、即ち、交雑したダイズの DNA がツルマメ群に定着する可能性が低いこと

から、仮に高オレイン酸ダイズ 260-05 系統とツルマメが交雑した場合でも、導入遺伝子がツルマメ中に定着し、自然界に浸透していく可能性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の判断

以上のことから、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の輸入に伴い、交雑性に関して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

### 第3 生物多様性影響の総合的評価

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統では、外来 *GmFad2-1* 遺伝子の導入によるジーンサイレンシングによって、外来及び内因性 *GmFad2-1* 遺伝子の発現がいずれも抑制され、その結果、オレイン酸に二重結合を付加してリノール酸を生合成する反応を触媒する  $\Delta 12$  デサチュラーゼが産生されず、種子中のオレイン酸含有量が高まっている。

高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は脂肪酸組成を改変した高付加価値ダイズであり、搾油を第一の利用目的としている。したがって、搾油目的でダイズが栽培されていない我が国で、本高オレイン酸ダイズ 260-05 系統が栽培される予定はない。高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の栽培を行なっている米国においては、一般ダイズの混入を防いでその付加価値を保つために、従来より導入されている厳密な IP ハンドリングによって、栽培から収穫物の運搬及び搾油まで、終始一般ダイズとは分別管理がなされている。

平成 10 年度に申請が行なわれた当時は、袋詰め・専用コンテナを利用したの運搬よりももう少し大規模な、一般ダイズの混入を避けるための分離措置（IP ハンドリング）による運搬を想定していたため、万一のこぼれ落ちによる環境影響を想定して、北海道農業試験場（現北海道農業研究センター）において隔離ほ場試験を行ない、環境影響への評価が行なわれた。

現在、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は我が国に輸入されていないが、今後、仮に食品加工用に輸入される場合には、他の一般ダイズの混入の可能性及び運搬途中でのこぼれ落ちの可能性を防止するために、専用コンテナを利用して運搬し、そのまま食品加工業者に納入される。よって、運搬時にこぼれ落ちる可能性は極めて低い。また、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の栽培用種子は、唯一米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社が、米国の契約農家にのみ販売を行なっており、日本の農家への販売は行なっていない。米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社は、日本国内向けにダイズ種子の販売は行なっていないため、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統が非意図的な混入によって、我が国において栽培用の非組換えダイズ種子に混入する可能性もないと考えられる。

宿主の属する分類学上の種であるダイズには、我が国において輸入や栽培等を通じた長期間の使用経験があるが、我が国で自生化・雑草化した事例は報告されていない。平成 10 年に我が国で行なわれた高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の隔離ほ場試験において、自生化や雑草性に関連する特性（種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）について調査を行なったが、いずれの項目についても高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 との間に差異は認められなかった。このため、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の輸入に伴い、影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されず、競合における優位性に起因して生物多様性に影響

を生ずるおそれはないと判断された。

宿主であるダイズについては、そもそも周辺の植物や土壌微生物に影響を与えるような有害物質を根から分泌することも、枯死した後に他の植物に影響を与えるような他感物質を産生することも知られていない。隔離ほ場試験における評価、米国でのほ場試験における評価、食品・飼料としての安全性評価のいずれにおいても、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A2396 との間で、生物学的に有意と考えられる非意図的な差は認められておらず、したがって、当該遺伝子の導入及びジーンサイレンシングが、宿主ダイズの代謝経路に関与して非意図的影響を及ぼしているとは考えられない。このように、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と親品種 A 2396 中との間で有害物質の産生性に差があることを示唆する証拠は認められなかった。このため、本高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の輸入に伴い、影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されず、有害物質の産生性に起因して生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

交雑性に起因して影響を受ける野生動植物として、ダイズと交雑可能な近縁野生種であるツルマメが特定された。しかしながら、ツルマメとダイズ品種との交雑率は、0.7%と非常に低いことが報告されていること(Nakayama Y. and Yamaguchi H., 2002)、隔離ほ場試験において、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の交雑性は、従来知見で得られている交雑率 0.5～1%と同等であることが確認されていること、さらに、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統は我が国で栽培が行なわれることはない。また、運搬途中にこぼれ落ちる可能性が極めて低いと考えられる。加えて、栽培作物であるダイズが我が国で自生したという報告もないことから、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統がこぼれ落ちて自生し、ツルマメと交雑して導入遺伝子が自然環境下に浸透していく可能性はさらに低いと判断された。

以上のことより、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統を第一種使用規程にしたがって使用した場合に、生物多様性影響が生ずるおそれはないと結論された。

## 参考文献

- Abe, J., Hasegawa, A., Fukushi, H., Mikami, T., Ohara, M. and Shimamoto, Y. 1999. Introgression between wild and cultivated soybeans of Japan revealed by RFLP analysis for chloroplast DNAs. *Economic Botany* 53(3), 285-291.
- FAO Statistical Database. 2004. (<http://apps.fao.org/page/collections>)
- Harpster *et al.* 1988. *Mol. Gen. Genet.* 212:182-190.
- Heppard, E.P., Kinney, A. J., Stecca, K.L., Miao, G-H. 1996. *Plant Physiol.* 110:311-319.
- Nordlee, J. A. 1995. Screening of Soybean (*Glycine max*) Germplasm for Binding to Immunoglobulin E by Immunoelectroblotting. A thesis for the Degree of Master of Science. The Graduate College at the University of Nebraska.
- Kasahara, Y. 1982. *In: Geobotany 2; Biology and Ecology of Weeds.* (Holzner, W., Numata, M. eds.) pp285-297. W. Junk, Netherlands.
- Kinney, A.J. (1994) *Curr. Opin. Biotechnol.* 5:144-151.
- Kitamura, K. 1995. *JARQ* 29:1-8.
- 森野 和子, 島本 功. 1996. 「植物の相同性依存型ジーンサイレンシング」植物工学別冊 植物細胞工学シリーズ5, pp. 161-169, 秀潤社
- Nakayama, Y. and Yamaguchi, H. 2002. *Weed Biology and Management* 2: 25-30
- 農学大事典 第2次増訂改版 野口弥吉, 川田信一郎 監修. 1994: 537-541.  
株式会社 養賢堂発行.
- 農業技術体系 作物編第6巻 ダイズ・アズキ・ラッカセイ. 2002 (最終追補年度).  
社団法人 農山漁村文化協会
- OECD. 2000. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 15: Consensus Document on the Biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean).  
([http://www.olis.oecd.org/olis/2000doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono\(2000\)9](http://www.olis.oecd.org/olis/2000doc.nsf/LinkTo/env-jm-mono(2000)9))
- Okuley, J., Lightner, J., Feldman, K., Yadav, N., Lark, E., Browse, J. 1994. *Plant*

Cell 6:147-158.

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 編著. 2003:  
77-95. 北海道大学図書刊行会発行

Takahashi, K., Banba, H., Kikuchi, A., Ito, M., Nakamura, S. 1994. *Breeding Science* 44:65-66.

The International Plant Names Index. 2004. (<http://www.ipni.org/index.html>).

Yadav, N.S., Wierzibicki, A., Aegerter, M., Caster, C.S., Perez-Grau, L., Kinney, A.J., Hitz, W.D. *et al.* 1993. *Plant Physiol.* 103:467-476.

財務省貿易統計. 2002. (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>)

## 緊急措置計画書（食用、飼料用に供する場合）

平成 16 年 8 月 17 日

氏名 デュポン株式会社  
代表取締役社長 小林 昭生

住所 東京都千代田区永田町 2 丁目 11 番 1 号  
山王パークタワー

高オレイン酸ダイズ(*GmFad2-1, Glycine max* (L.) Merr.) (260-05, OECD UI: DD-026005-3) (以下、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統と表記)について、我が国において生物多様性影響が生ずるおそれはないとして、第一種使用規程に従った使用が承認された場合においても、今後、科学的根拠に基づき、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合には、当該影響を効果的に防止するため、以下の措置をとることとする。

### 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

弊社内に、緊急措置に適切に対応するための危機対策本部を速やかに設置する。危機対策本部は、社長を本部長とし、管理部門（法務部及び財務部、安全環境部、人事部、総務部、広報部）の部門長から構成される。同時に、本申請の直接の担当部門であるバイオテクノロジー事業部内に、バイオテクノロジー事業部長を責任者とする本措置に適切に対応するための組織を設置する。本組織は、危機対策本部並びに、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の開発者である米国デュポン社との円滑な連絡を確保する。

### 2. 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の開発者である米国デュポン社と連絡をとり、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行なう。

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

米国デュポン社は、米国における高オレイン酸ダイズ 260-05 系統種子の購入者及び取扱い業者、ダイズの栽培者が加入する団体に対して、広く情報を提供するための連絡体制を保有している。したがって、今後、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統が我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的根拠に基づき立証された場合には、米国デュポン社は、これらの連絡体制を使って、関係各者と連絡を取る。

また必要に応じて、弊社のホームページ等、日本国内の適切な媒体を通して、本件について通知する。

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

今後、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統が我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的根拠に基づき立証された場合には、弊社は、米国デュポン社とともに、日本向けに輸出している取扱い業者及び種子取扱い業者に対して本件を通知する。

5. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

科学的根拠に基づき、高オレイン酸ダイズ 260-05 系統が我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると認められた場合には、弊社は、速やかに農林水産省農産安全管理課及び環境省野生生物課に連絡するとともに、緊急措置対応のための体制及び連絡窓口を報告する。

高オレイン酸ダイズ (*GmFad2-1, Glycine max* (L.) Merr.)  
(260-05, OECD UI : DD- 02605-3) 別紙一覧

別紙 1 第 2 回「第 1 種使用規定承認組換え作物栽培実験指針」検討会資料  
5-1 : 栽培実験対象作物別の隔離距離の考え方 2. ダイズ

別紙 2 プラスミド pBS43 及びプラスミド pML102 の塩基配列  
( 社外秘につき非開示 )

別紙 3 ノーザンプロット分析による、ampr 遺伝子及び GmFad2-1 遺伝子、  
dapA 遺伝子、GUS 遺伝子が発現していないことの確認  
( 社外秘につき非開示 )

別紙 4 高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の種子蛋白質の分析  
( 社外秘につき非開示 )

別紙 5 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 ( 社外秘につき非開示 )

別紙 6 オレイン酸含有量の分析 ( 社外秘につき非開示 )

別紙 7 高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の検出法 ( 社外秘につき非開示 )

別紙 8 米国等における高オレイン酸ダイズ 260-05 系統のほ場試験結果  
( 社外秘につき非開示 )

別紙 9 日本における高オレイン酸ダイズ 260-05 系統の隔離ほ場試験結果  
( 社外秘につき非開示 )

別紙 10 有害物質 ( 根から分泌され他の植物に影響を与えるもの、根から分  
泌され土壌微生物に影響を与えるもの及び植物体が内部に有し、枯  
死した後に他の植物に影響を与えるもの ) の産生性に関する追加試  
験結果 ( 社外秘につき非開示 )