

除草剤グリホサート耐性ダイズ  
(改変 *cp4 epsps*、*Glycine max* (L.) Merr.)(MON89788, OECD UI: MON-89788-1)  
申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書 .....	1
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報 .....	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
(2) 使用等の歴史及び現状 .....	3
(3) 生理学的及び生態学的特性 .....	4
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 .....	7
(1) 供与核酸に関する情報 .....	7
(2) ベクターに関する情報 .....	13
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法 .....	14
(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性 .....	17
(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 .....	19
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 .....	20
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 .....	22
(1) 使用等の内容 .....	22
(2) 使用等の方法 .....	23
(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 .....	23
(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 .....	23
(5) 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果 .....	23
(6) 国外における使用等に関する情報 .....	23
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 .....	25
1 競合における優位性 .....	25
2 有害物質の産生性 .....	26
3 交雑性 .....	27
4 その他の性質 .....	31
第三 生物多様性影響の総合的評価 .....	32
引用文献 .....	34
緊急措置計画書 .....	35

# 第一種使用規程承認申請書

平成19年6月7日

農林水産大臣 赤城 徳彦 殿  
環境大臣 若林 正俊 殿

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

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

遺伝子組換え生物等の種類 の名称	除草剤グリホサート耐性ダイズ (改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON89788, OECD UI: MON-89788-1)
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

### 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

#### 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

##### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

###### イ. 和名、英名及び学名

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

###### ロ. 宿主の品種名

宿主はマメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属するダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) であり、品種名は A3244 である。A3244 は近年育成された従来品種であり、現在商業栽培が行なわれている除草剤グリホサート耐性ダイズ 40-3-2 系統 (改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.)(40-3-2, OECD UI : MON-04032-6)(平成 17 年 5 月 25 日にカルタヘナ法に基づき第一種使用規程承認) の導入母本である従来品種 A5403 よりも収量性に優れている。A3244 を母本とすることで、A3244 の有する収量性に優れた遺伝的背景を利用し、現在よりも収量性の高い除草剤グリホサート耐性ダイズ品種を作成することができると考えられた。

###### ハ. 国内及び国外の自然環境における自生地域

*Soja* 亜属には栽培種であるダイズのほかに、野生種として *G. soja* (和名: ツルマメ) や *G. gracilis* も含まれる (文献 1)。細胞学的、形態学的及び分子生物学的知見から、栽培種であるダイズ (*G. max*) は野生種である *G. soja* が祖先と考えられており、一方、*G. gracilis* は *G. soja* から *G. max* への分化における中間種あるいは *G. soja* と *G. max* の雑種と考えられている (文献 1)。これらの野生種の内、我が国に分布しているのはツルマメのみで、*G. gracilis* の分布は認められていない (文献 2; 文献 3)。なお、ツルマメは中国、韓国、日本、台湾及びロシアに分布しており (文献 1; 文献 4)、我が国においては北海道、本州、四国、九州に分布し、主に河川敷や前植生が攪乱された工場現場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道ばたに自生している (文献 5; 文献 6; 文献 3; 文献 7)。

## (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

ダイズの起源地域は中国東北部で、紀元前 1100 年頃にこの地域で栽培化されたと推定され、その後、中国南部、東南アジア、朝鮮及び日本へ栽培が広がったと考えられる (文献 8)。日本へは縄文時代に渡来、栽培が始まったと考えられ、副食として利用されていたと思われる (文献 9)。

### ロ. 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

国際連合食糧農業機関 (FAO) の統計情報に基づくと、2005 年の全世界におけるダイズの栽培面積は約 9,211 万 ha であり、上位国を挙げると米国が約 2,883 万 ha、ブラジルが約 2,295 万 ha、アルゼンチンが約 1,404 万 ha、中国が約 927 万 ha となっている。なお、同統計情報に基づく 2005 年の我が国における栽培面積は約 13 万 ha であった (文献 10)。

2005 年の我が国におけるダイズの輸入量は約 418 万トンであり、その内の約 75%が米国から輸入されている (文献 11)。2005 年におけるダイズの国内生産量は約 23 万トンであり、国内消費仕向量\*は約 434 万トンであった。国内消費仕向量の用途別内訳は、製油用が約 308 万トン、食品用が約 87 万トン、味噌・醤油用が約 17 万トン、飼料用が約 13 万トン、その他が約 9 万トンとなっている (文献 12)。

我が国におけるダイズの利用方法は多岐に渡り、味噌、醤油、豆腐、納豆、ゆば、きな粉、煮豆、もやしとして食されるほか、分離蛋白、濃縮蛋白等は食品添加物として、搾油は食用植物油として、脱脂ダイズは家畜用飼料として利用されている (文献 9)。

我が国でのダイズの慣行栽培法は以下のとおりである。播種適期は北海道地方で 5 月中旬～6 月上旬、東北地方、北陸・東山地方で 6 月上旬、関東地方で 6 月中旬、東海地方以西中国地方までは 6 月下旬、九州地方で 7 月上旬から 8 月上旬 (秋ダイズ) および 4 月上旬から下旬 (夏ダイズ) となる。播種密度は、品種や栽培条件によって異なるが、早生品種・寒地・遅播きの場合などでは密植が行われる。生育期間中は除草を早めに行い、初期の雑草を抑えれば、やがてダイズの茎葉が繁茂してくるので、雑

\* 国内生産量+輸入量-輸出量-在庫の増加量(または+在庫の減少量)から算出される。2005 年は輸出量は 0、在庫は約 7 万トン増であったため、 $23+418-0-7=434$ (万トン)が国内消費仕向量となる

草は比較的発生し難くなる。また病虫害の防除は、ダイズの栽培で最も大切な作業の一つであり、生育初期の害虫に対しては早めに薬剤散布を行う。収穫は、抜き取るか地ぎわから刈り取り、これを地干し、又は掛け干しして乾燥し脱粒機で脱粒する方法と、コンバインで刈り取り・脱粒を一緒に行う方法とがある (文献 9)。

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

ダイズは種子繁殖する一年生の双子葉作物であり、子葉は対生し、次に卵形の初生葉が子葉と直角に対生して、それ以降は3片の小葉からなる複葉を生じる (文献 1)。茎は主茎と分枝に分けられ、主茎節の複葉の葉腋から分枝が伸長し、また、根は一般に空中窒素固定能を有する根粒菌の寄生によって根粒を着生する (文献 13)。花には1本の雌ずいがあり、その基部の子房に1~5個の胚珠を内蔵しており、子房は受粉後に肥大して莢を形成する (文献 9)。また、ダイズの花芽分化には日長と温度が大きく影響し、ある時間以上の暗期が花芽分化に必要で、温度は15℃以上を必要として25℃前後までは高いほど促進的に働き、短日高温では促進効果が大きい、長日高温では促進効果がないか、かえって遅れることがある (文献 8)。

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズ種子の発芽適温は30~35℃、最低発芽温度及び最低生育温度は2~4℃であり、10℃以下での発芽は極めて悪い (文献 8)。ダイズの栽培適地は、生育期間中18~28℃程度、多照で適度の降雨のあることが望ましいとされているが、今日のダイズ品種では日長感応性が細かく分化して各種の気候に対する適応性が高くなっており、赤道直下のインドネシアから北緯60°のスウェーデンでも栽培可能である (文献 8)。

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

ダイズの種子は裂莢した際に地表に落下する。我が国で栽培されるダイズの裂莢性

には品種間差があるが、ダイズが大規模に栽培され、収穫が機械化されている米国などでは、ほとんどの品種が難裂莢性であり脱粒性の程度は低い。また種子休眠性は知られていない。種子の発芽能力に関しては、常温で貯蔵した場合に通常約3年で失われる(文献9)。

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または器官からの出芽特性

ダイズは塊茎や地下茎などによる栄養繁殖を行わず、種子繁殖する。自然条件下において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性があるという報告はこれまでのところない。

③ 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

ダイズと交雑可能な近縁野生種として我が国に分布しているのは *G. soja* (和名: ツルマメ) のみである(文献2; 文献3; 文献1)。ツルマメは北海道、本州、四国、九州に分布するツル性の一年生植物で、主に河川敷や前植生が攪乱された工場現場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道ばたに自生している(文献5; 文献6; 文献3; 文献7)。

なお、1950年代にダイズとツルマメの形態的中間型を示す個体としてオオバツルマメが我が国で確認されており(文献14; 文献15)、その形態がダイズに近かったことから、通常のツルマメと比べて、ダイズと交雑する可能性が高いことが予想された。しかし、過去10年以上にわたり日本各地より800近い集団からツルマメの収集を行った中にオオバツルマメのような形態的中間型を示す個体は見つかっていないという報告があることから(文献15)、仮にこのような形態的中間型の個体が我が国で自生していたとしても、その生育する範囲はかなり限られていることが予想される。

ダイズとツルマメの自殖性及び他殖性の程度に関して、ダイズとツルマメは、通常開花前に開葎し、受粉が完了する上に、開花期の後半は、ほとんどの花が開花しないままで受粉する閉花受粉を行うため(文献15)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。これまでに、通常のは場条件でダイズ同士における他家受粉率は最大で3.62%(文献16)、ツルマメ同士における他家受粉率は最大で2.3%(文献17)と報告されている。

特異的な条件では交雑率が上昇することもある。例えば、ダイズの開花期にミツバチの巣箱をダイズは場の中心に設置した場合、その他家受粉率は平均で2.96~7.26%

となり、局所的には 19.5%に達したと報告されている (文献 18)。またツルマメに関しても、秋田県雄物川流域で約 13%という高い他家受粉率を示す集団が発見されたとの報告がある (文献 19)。この集団から採取されたツルマメの 1 胚珠あたりの花粉数は平均で 600~700 粒で、この数は典型的な自家受粉植物と他家受粉植物の 1 胚珠あたりの平均的な花粉数の中間に位置していた。この高い他家受粉率の原因が、雄物川流域特有の環境条件によるものなのか、あるいは集団内の遺伝的特性によるものなのかは明らかにされていない。しかし、雄物川流域のツルマメの集団は、護岸工事などによる環境の攪乱が行われておらず、集団サイズが大きく、訪花昆虫にとっては非常に魅力的な食料供給源であり、このツルマメの集団の周辺ではミツバチやクマバチなどが頻繁に観察されていた。

ダイズとツルマメの交雑性に関しては、上述したようにいずれも閉花受粉をおこなう自殖性植物であることに加え、一般的にダイズの開花期はツルマメよりも約 1 ヶ月近く早く、それぞれの開花期間は重なりにくいことが知られている (文献 15)。他のダイズ品種と比べて開花期が遅い日本固有の栽培品種である丹波黒とツルマメ (GIs/93-J-01) をそれぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調査した報告では、自然交雑実験終了後に結実したツルマメから取得された 686 個体の後代を調査した結果、ダイズとツルマメの雑種であると判断された後代が 5 個体認められたことから、その交雑率は 0.73%と報告されている (文献 20)。

#### ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ダイズの花粉の生産量は極めて少なく、稔性は 2~4 時間で失われる。花粉の直径は 15~25 $\mu\text{m}$  である (文献 21)。また、花粉の飛散距離に関しては、農業環境技術研究所において平成 13 年に除草剤耐性の遺伝子組換えダイズを用いて交雑試験を行った結果、花粉親からの距離が 0.7m で 0.19%、3.5m で 0.025%、10.5m で 0%の交雑率を示していた。さらに平成 14 年に同研究所で行われた試験では、花粉親からの距離が 0.7m で 0.16%、2.8m で 0.08%、3.5m で 0%の交雑率であった (文献 22)。

#### ホ 病原性

—

#### へ 有害物質の産生性

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

## ト その他の情報

これまで、運搬等においてこぼれ落ちたダイズが畑以外で生育したという報告はない。

## 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

### (1) 供与核酸に関する情報

#### イ 構成及び構成要素の由来

除草剤グリホサート耐性ダイズ (改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (OECD UI : MON-89788-1) (以下「本組換えダイズ」とする) の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は p8 の図 1 及び p9~10 の表 1 に示した。



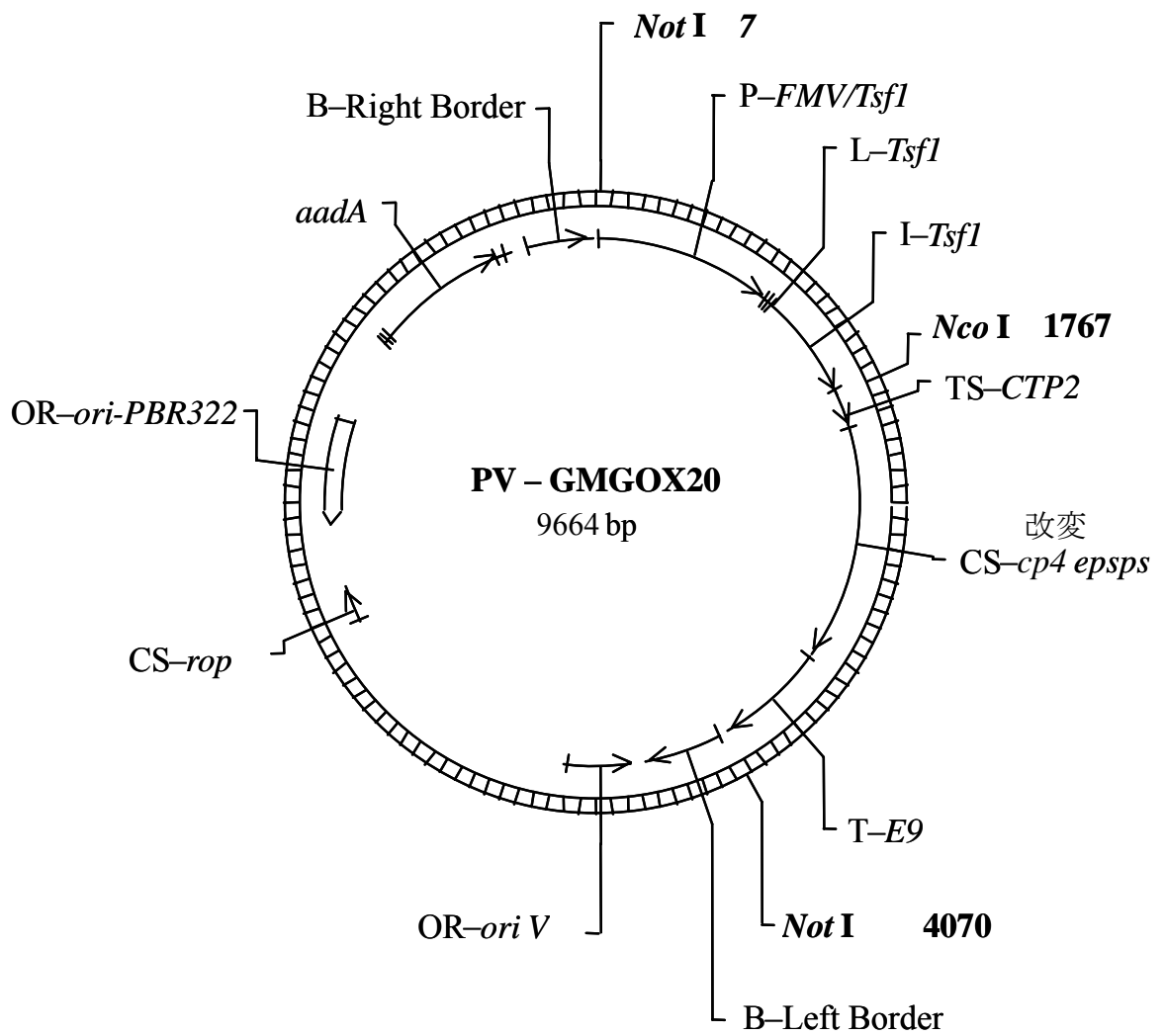


図 1 PV-GMGOX20 のプラスミドマップ<sup>1</sup>

本組換えダイズに導入された T-DNA 領域は上図の B-Right Border から時計回りに B-Left Border までの領域である。

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

表 1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMGOX20 の各構成要素の由来及び機能<sup>2</sup>

構成要素	由来及び機能
T-DNA 領域	
B <sup>1</sup> -right border	T-DNA を伝達する際に伝達の開始点として利用される右側境界配列を含む <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来の DNA 領域 (文献 23)。
P <sup>2</sup> -FMV/ <i>Tsf1</i>	シロイヌナズナ <i>Tsf1</i> プロモーター (文献 24) に Figwort Mosaic Virus (FMV) 35S プロモーターのエンハンサー配列 (文献 25) を結合させたキメラプロモーター。目的遺伝子の全組織での恒常的発現に関与する。
L <sup>3</sup> - <i>Tsf1</i>	シロイヌナズナの翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードする <i>Tsf1</i> 遺伝子のリーダー配列 (exon 1) (文献 24)。翻訳の際のリボソーム結合部位である。
I <sup>4</sup> - <i>Tsf1</i>	シロイヌナズナの翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードする <i>Tsf1</i> 遺伝子のイントロン配列 (文献 24)。目的遺伝子の発現を高める。
TS <sup>5</sup> - <i>CTP2</i>	シロイヌナズナ EPSPS の <i>shkG</i> 遺伝子に由来する葉緑体輸送ペプチドをコードする配列 (文献 26)。芳香族アミノ酸の合成が行われる色素体へ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を輸送する。
CS <sup>6</sup> -改変 <i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4 株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) をコードしている <i>aroA (epsps)</i> 遺伝子のコーディング配列 (文献 27; 文献 28)。植物中での発現量を高めるため、CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更することのないように塩基配列に改変を加えたもので、アミノ酸配列に関しては N 末端から二番目のセリンがロイシンに改変されたのみである。
T <sup>7</sup> - <i>E9</i>	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 ( <i>RbcS2</i> ) E9 遺伝子の 3'非翻訳領域配列 (文献 29)。mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
B-left border	T-DNA を伝達する際に伝達の終結点として利用される左側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域 (文献 30)。

表 1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMGOX20 の各構成要素の由来及び機能<sup>2</sup>  
(続き)

構成要素	由来及び機能
T-DNA の外側の構成要素(本組換えダイズには存在しない)	
OR <sup>8</sup> -ori V	広宿主域プラスミド RK2 に由来する <i>Agrobacterium</i> の複製開始領域であり、 <i>A. tumefaciens</i> においてベクターに自律増殖機能を付与する (文献 31)。
CS-rop	プライマー蛋白質のリプレッサー (repressor of primer) のコーディング配列であり、 <i>Escherichia coli</i> 中においてプラスミドのコピー数を維持する (文献 32)。
OR-ori-PBR322	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E.coli</i> においてベクターに自律増殖機能を付与する (文献 33)。
aadA	トランスポゾン Tn 7 由来の、アミノグリコシド改変酵素である 3'(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼの細菌プロモーター及びコーディング配列 (文献 34)。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。

<sup>1</sup> B—Border (境界配列)

<sup>2</sup> P—Promoter (プロモーター)

<sup>3</sup> L—Leader (リーダー配列)

<sup>4</sup> I—Intron (イントロン)

<sup>5</sup> TS—Targeting Sequence (ターゲティング配列)

<sup>6</sup> CS—Coding Sequence (コーディング配列)

<sup>7</sup> T—3' nontranslated transcriptional termination sequence and polyadenylation signal sequence  
(3 末端非翻訳終止配列、及びポリアダニル化シグナル配列)

<sup>8</sup> OR—Origin of Replication (複製開始領域)

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

## 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られた供与核酸の機能は p9~10 の表 1 に記載した。その内、目的遺伝子である改変 *cp4 epsps* 遺伝子の詳細については以下に記載した。

#### 【改変 *cp4 epsps* 遺伝子】

本組換えダイズで発現する改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、*Agrobacterium* CP4 株より単離された遺伝子で、5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) をコードしており、除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。改変 *cp4 epsps* 遺伝子の塩基配列は別添資料 1、推定アミノ酸配列は p12 の図 2 に示すとおりである。改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、植物中での発現量を高めるために野生型 CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更することのないように野生型 *cp4 epsps* 遺伝子の塩基配列に改変を加えたものであり、アミノ酸配列に関しては N 末端から二番目のセリンがロイシンに改変されているのみである。なお、改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットのプロモーターには、目的遺伝子の全組織での恒常的発現を高める目的でシロイヌナズナ由来の *Tsf1* プロモーター (文献 24) に Figwort Mosaic Virus (FMV) 35S プロモーターのエンハンサー配列 (文献 25) を結合させたキメラプロモーターが用いられている。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が芳香族アミノ酸生合成の場である葉緑体で機能するように、改変 *cp4 epsps* 遺伝子の上流にはシロイヌナズナ EPSPS の *shkG* 遺伝子に由来する葉緑体輸送ペプチドをコードする塩基配列 (CTP2) (文献 26) が組み込まれている (p8 の図 1)。

除草剤グリホサートは、非選択的な除草剤であるラウンドアップの有効成分で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素の一つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS)(E.C.2.5.1.19) と特異的に結合してその活性を阻害する (文献 35; 文献 36)。そのため、植物はグリホサートを処理すると EPSPS が阻害されることにより蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯れてしまう。改変 *cp4 epsps* 遺伝子によって産生される改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸経路が正常に機能して生育することができる。

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

図 2 本組換えダイズの作出に用いられた改変 *cp4 epsps* 遺伝子から推定した改変 CP4 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列<sup>3</sup>

- 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

改変 CP4 EPSPS 蛋白質が、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、アレルゲンデータベース 5 (AD5<sup>4</sup>) を用いて FASTA 型アルゴリズムによって比較したが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列は認められなかった。

- ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

以下の理由より、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が発現することにより宿主の持つ代謝系が変化することはないと考えられる。

EPSPS は植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり、植物中では葉緑体または色素体に存在する (文献 37)。シキミ酸経路は植物の固定する炭素の 5 分の 1 に関与すると考えられる重要な代謝経路である (文献 38; 文献 36)。本経路は、その第一段階に関与する 3-デオキシ-D-アラビ

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

<sup>4</sup> GenBank, EMBL, PIR, RCSB PDB の NRL3D 版、SwissProt などのデータベースから「アレルゲン・グリアジン・グルテニン」を検索し、集めたデータベース

ノ-ヘプツロン酸-7-リン酸 (3-deoxy-D-arabino-heptulosonate -7-phosphate, DAHP) 合成酵素によって調節を受けて制御されるが、DAHP から EPSPS が触媒する 5-エノールピルビルシキミ酸 3 リン酸 (EPSP) の生成を経てコリスミ酸が生成されるまでの段階では、中間代謝物質や最終生成物によって阻害されたり抑制される可能性が極めて低いことが明らかにされている (文献 39; 文献 40)。このことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを示唆しており、したがって、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、通常の 40 倍の EPSPS を生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されており (文献 41)、加えて、モンサント・カンパニーがこれまでに開発した除草剤グリホサート耐性作物 (ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ、アルファルファ、テンサイ) の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物中のアミノ酸組成を調べて、シキミ酸経路の最終産物である芳香族アミノ酸含量に对照の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。

また、EPSPS はホスホエノールピルビン酸塩 (PEP) とシキミ酸-3-リン酸塩 (S3P) から、EPSP と無機リン酸塩 (Pi) を生じる可逆反応を触媒する酵素であり (文献 42)、これらの基質と特異的に反応することが知られている (文献 43)。これら以外に唯一 EPSPS と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸であるが、その反応性は S3P との反応性の 200 万分の 1 にすぎず、生体内で基質として反応するとは考えにくい。

以上のことから、植物 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である改変 CP4 EPSPS 蛋白質の植物における発現によって、植物の代謝経路に何らかの影響を及ぼす可能性は極めて低いと判断される。

## (2) ベクターに関する情報

### イ 名称及び由来

本組換えダイズの作出に用いられたベクターは、*E. coli* 由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された (文献 44)。

### ロ 特性

#### ① ベクターの塩基数及び塩基配列

本組換えダイズの作出に用いられたプラスミド・ベクター PV-GMGOX20 の全塩基数は 9,664bp である。本プラスミド・ベクターの全塩基配列は、別添資料 1 に示した。

## ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合はその機能

本ベクターは選抜マーカー遺伝子として、*E. coli* のトランスポゾン Tn7 由来の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 3'(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼを発現する *aadA* 遺伝子を持つ (文献 34)。

## ③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

本ベクターの感染性は知られていない。

## (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

### イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

本組換えダイズの作出のために構築されたプラスミド・ベクターPV-GMGOX20 を精製し、核酸の移入に用いた。プラスミド・ベクターPV-GMGOX20 は改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット ([P-*FMV/TsfI*]-[L-*TsfI*]-[I-*TsfI*]-[TS-*CTP2*]-[CS-改変 *cp4 epsps*]-[T-E9]) をふくむ T-DNA 領域と、その外側にある *E. coli* でのプラスミドの構築・選抜及び維持・増殖のための領域から構成される (p8 の図 1、p9~10 の表 1)。プラスミド・ベクターPV-GMGOX20 の T-DNA 領域の外側には *E. coli* で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 3'(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼを発現する *aadA* 遺伝子が含まれるが、アグロバクテリウム法を用いて核酸を移入したため、T-DNA 領域の外側は宿主には移入されていない。

### ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミド・ベクターPV-GMGOX20 をアグロバクテリウム法によって、非組換えダイズ品種 A3244 の種子から摘出した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択の方法

従来ダイズ品種 A3244 の分裂組織とプラスミド・ベクターPV-GMGOX20 を含む *A. tumefaciens* ABI 株を共置培養した後、グリホサート、カルベニシリン及びクラフォランを添加した組織培養培地で細胞の選抜を行った。この際グリホサートによって形質転換していない細胞を、カルベニシリン及びクラフォランによりアグロバクテリウムを除去した。

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

カルベニシリン及びクラフォランを添加した除菌培地によりアグロバクテリウム菌体は除去されている。

- ③ 核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認した系統、隔離ほ場試験に供した系統その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過及び系統樹

分裂細胞から培地上で再分化させて得られた再分化個体 (R0) を自殖した。R1 世代において改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現、グリホサートへの耐性及び導入遺伝子のホモ接合性を確認し、選抜された個体の後代を導入遺伝子解析及び形態特性調査の対象とした。その結果、最終的に商品化系統として MON89788 系統を選抜した。本組換えダイズの育成図を図 3 (p16) に記載した。なお、本評価書における本組換えダイズ MON89788 系統とは、遺伝子導入して得られた再分化個体 (=R0 世代) 及びその後代の全てを指している。

本組換えダイズの我が国における申請状況は以下のとおりである。

2006 年 5 月 農林水産省・環境省より「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」に基づき、第一種使用規程 (隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為) の承認を受けた。

2007 年 2 月 厚生労働省に「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続き」に基づく食品利用としての安全性確認の申請を行った。

2007 年 2 月 農林水産省に「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づく飼料利用としての安全性確認の申請を行った。



[社外秘に付き非開示]

図 3 本組換えダイズの系統図

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

##### イ 移入された核酸の複製物が存在する場所

本組換えダイズの挿入遺伝子はメンデルの法則に従って次世代に遺伝していることから、染色体上に存在する (別添資料 2)。

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

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、本組換えダイズのゲノム中 1ヶ所に 1 コピーの T-DNA 領域が組み込まれていることが確認された (別添資料 3 の p31 の Fig. 4)。また、T-DNA 領域以外の外側骨格領域は挿入されておらず (別添資料 3 の p32 の Fig. 5)、T-DNA 領域内の改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットも全ての構成要素が組み込まれていることが確認された (別添資料 3 の p33~36 の Fig. 6~9)。さらに、挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された (別添資料 3 の p37 の Fig. 10)。

なお、本組換えダイズにおける導入遺伝子の模式図を p18 に図 4 として示した。

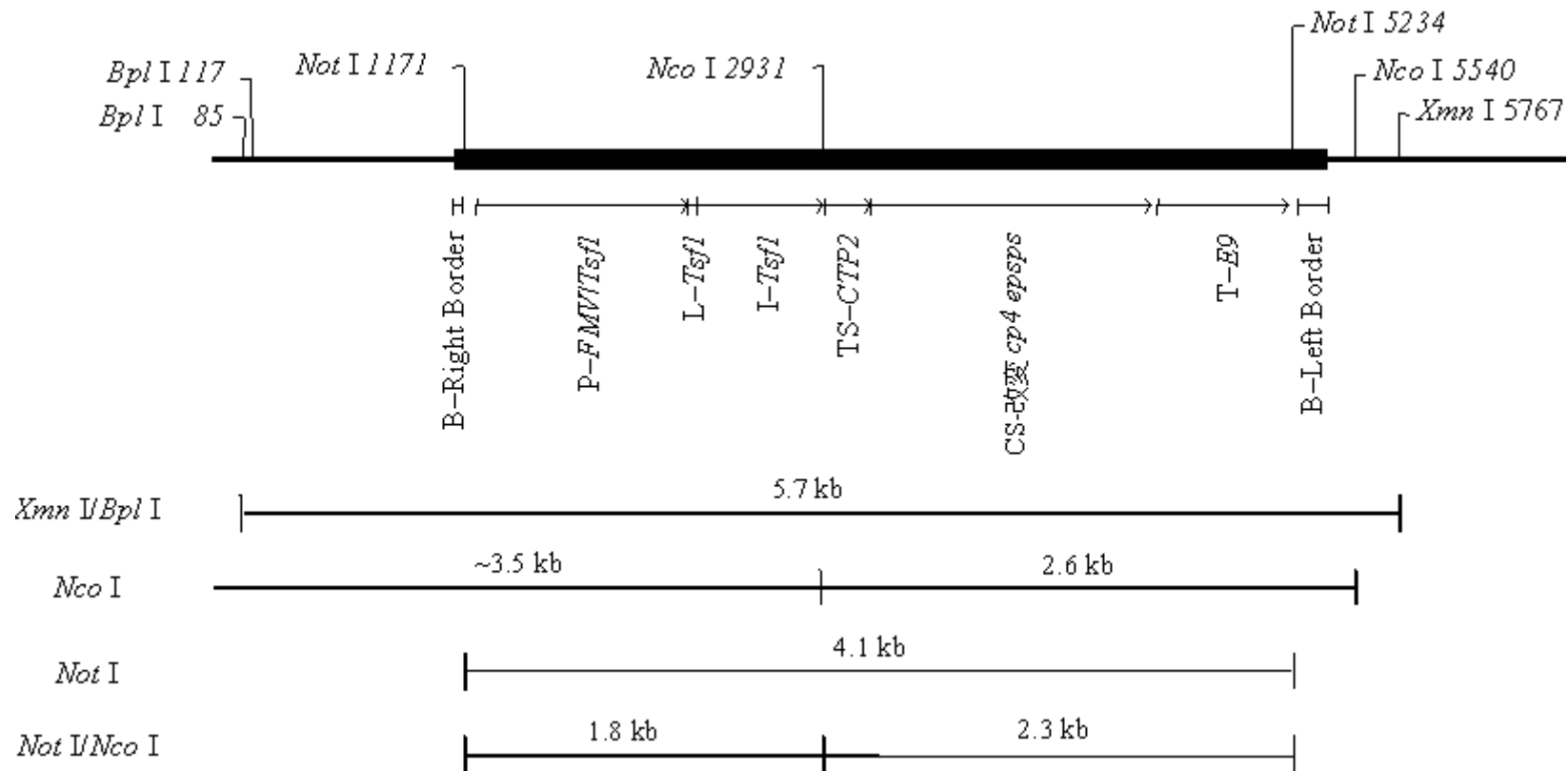


図 4 本組換えダイズの導入遺伝子地図<sup>5</sup>

<sup>5</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

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

1 コピーなので該当しない (別添資料 3 の p31 の Fig. 4)

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

ウエスタンブロット分析によって本組換えダイズにおける改変 CP4 EPSPS 蛋白質発現の安定性を調べた。本組換えダイズの自殖後代 4 世代 (R4<sup>a</sup>、R5<sup>b</sup>、R6<sup>c</sup>、R6<sup>d</sup>、R6<sup>e</sup>、R7<sup>f</sup>、及び R7<sup>g</sup>) の葉及び種子サンプルから蛋白質を抽出し、改変 CP4 EPSPS 蛋白質に特異的なポリクローナル抗体を用いたウエスタンブロット分析を行った。この結果、供試した全ての世代において改変 CP4 EPSPS 蛋白質の分子量と一致するバンドが検出され、目的とする形質が安定的に発現していることが確認された (別添資料 4 の p17, Figure2)

以上の結果から、本組換えダイズに導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、複数の後代に安定して遺伝しており、また、それら後代で改変 CP4 EPSPS 蛋白質が発現していることが示された。

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

プラスミド・ベクターPV-GMGOX20 は自律増殖が可能な宿主域が *E. coli* などのグラム陰性菌に限られており、自然界において野生動植物等に対する伝達性はない。

本組換えダイズの作出にはアグロバクテリウム法を用いているが、アグロバクテリウムが残存していないことを確認しているため、移入された DNA 断片が野生植物等に伝達されるおそれは無い。

(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

挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムの DNA 配列をプライマーとして用いることにより、本組換えダイズを特異的に検出可能である (別添資料 5)。

## (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な内容

本組換えダイズへ導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子は除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質をコードしており、植物体内でこの蛋白質が発現することにより、除草剤グリホサートの影響を受けずに生育することができる (別添資料 6 の p6 の図 4)。

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<sup>6</sup>

2006 年に日本モンサント株式会社河内研究農場の隔離ほ場において、本組換えダイズの隔離ほ場試験を行った。試験には本組換えダイズの R7 世代を供試した (p16 の図 3)。対照の非組換えダイズとしては、本組換えダイズの遺伝子導入母本である A3244 を用いた。

### ① 形態及び生育の特性

形態及び生育に関する特性を比較するため、種苗登録のための種苗特性分類調査項目を参考に、23 項目 (発芽始め、発芽期、発芽揃い、発芽株数、発芽率、小葉の形、毛茸の多少、毛茸の色、開花始め、開花終わり、花色、伸育型、成熟期、主茎長、主茎節数、分枝数、最下着莢節位、最下着莢節位高、草型、収穫期の植物重、収穫種子の形状 (粒色、粒揃い及び粒形)) について本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズとの間の形態特性及び生育の差異を調査した。この結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で全ての項目で差異は認められなかった (別添資料 6 の p9 の表 2, p10~12 の図 5~8)。

### ② 生育初期における低温又は高温耐性

本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズを最低温度を 20℃ に設定した閉鎖系温室で生育させ、本葉 2 葉期程度の幼苗を 5℃ (12 時間日長) に設定した人工気象室内で 35 日間生育させた後の生育状況を観察した。この結果、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズは、人工気象室へ移してから 35 日後には枯凋が始まっており、その程度に差異はなかった (別添資料 6 の p15 の図 9~10)。

<sup>6</sup> 本項目中の以下に続く①~⑦に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

### ③ 成体の越冬性又は越夏性

隔離ほ場で生育した本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズを成熟期の後も引き続き生育させ、我が国の冬期における生育状況を観察した。11月7日に冬期における生育状況を観察したが、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズともに枯死しており、その程度に差異は認められなかった (別添資料6のp16の図11)。

### ④ 花粉の稔性及びサイズ

本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズから採取した花粉をヨウ素ヨードカリ溶液で染色し、花粉の稔性及びサイズを比較した。その結果、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズともに高い花粉稔性を示しており、その稔性に大きな差異は認められなかった。また、花粉の形態や大きさにも相違は観察されなかった (別添資料6のp18の図12~13)。

### ⑤ 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

同一条件において栽培した本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズについて、種子の生産量に関する項目 (稔実莢数、一株あたりの粗粒重 (g)、一株あたりの精粒重 (g)、百粒重 (g)) を調査した。この結果、百粒重において統計学的有意差が認められたが、その他の項目においては統計学的有意差は認められなかった (別添資料6のp19の表3)。統計学的有意差の認められた百粒重は、本組換えダイズが17.12g、対照の非組換えダイズが18.54gであった。

脱粒性については、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズを成熟期に収穫し、植物体をビニールハウス内で10日間自然乾燥した後に裂莢の程度を観察した。本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズのいずれも難裂莢性であり、差異は認められなかった (別添資料6のp19の表3)。

発芽率については25℃でシャーレに置床した収穫直後の種子の発芽率を経時的に調査を行ったが大きな差異は認められず、最終発芽株数においても統計学的有意差は認められなかった (別添資料6のp19の表3~4)。

### ⑥ 交雑率

形態・生育特性調査区における対照の非組換えダイズを種子親、本組換えダイズを花粉親とし、対照の非組換えダイズの収穫種子における交雑体の発生頻度を調査することにより本組換えダイズの交雑性調査を行った。なお、交雑体の判定については花

粉親にあたる本組換えダイズの有する除草剤グリホサート耐性の有無を指標とした。

形態及び生育特性調査区で栽培された対照の非組換えダイズのうち、1 反復あたり 8 個体から種子をバルクで収穫した。種子を収穫した個体は、プロットの内側 2 条で栽培されており、隣接するプロットの本組換えダイズとは最短で 1.15m の距離があった。各反復毎に 500 粒を無作為に選び、播種した後、初生葉が展開するまで閉鎖系温室内で生育させた。播種後 10 日目に除草剤グリホサート (製品名: ラウンドアップ・ハイロード、100 倍液) を散布した。除草剤散布後 8 日目にグリホサート耐性を有するために生存している個体数 (すなわち交雑体数) を計数した。なお、除草剤散布時に初生葉が展開していないような生育不良個体については、除草剤の影響が明確に現れず除草剤耐性の判定が困難な場合があるため、ラテラルフロー法により改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現の有無を確認した。

計 1,500 粒の非組換えダイズ区の種子を播種し、1,487 粒が発芽した (別添資料 6 の p20 の表 5)。このうち、生育不良の個体は 11 個体であった。除草剤グリホサート散布及びラテラルフロー法による検定の結果、対照の非組換えダイズの収穫種子において交雑体は認められず、本組換えダイズと対照の非組換えダイズの交雑率は 0%であった。

#### ⑦ 有害物質の産生性

本組換えダイズから土壤微生物あるいは他の植物に影響を与える物質が産生されていないことを確認するために土壤微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験を行った。その結果、調査を行った全ての項目で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 6 の p23 の表 6~8)。

ダイズの根には根粒菌が共生しているため、本組換えダイズから根粒菌に影響を与える物質が産生されていないことを確認するために根粒菌への影響についても調査を行った。本組換えダイズと対照の非組換えダイズ各 12 個体 (4 個体/プロット、3 反復) について、根に着生する根粒を採取し直径 2mm 以上の根粒を計数及び計重したところ、根粒菌数及び根粒菌重に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 6 の p23 の表 9)。

### 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、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。

(2) 使用等の方法

—

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

—

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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

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

—

(6) 国外における使用等に関する情報

本組換えダイズの諸外国における申請状況は以下のとおりである。

- |          |   |
|----------|---|
| 2006年6月  | 米国農務省 (USDA) へ無規制裁培 (商業栽培) のための申請を行った。                                |
| 2006年6月  | カナダ厚生省 (Health Canada) 及びカナダ食品検査局 (CFIA) へそれぞれ食品、環境・飼料としての安全性の申請を行った。 |
| 2006年10月 | オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ) へ食品としての安全性審査の申請を行った。                    |
| 2007年1月  | 米国食品医薬品局 (FDA) より食品及び飼料としての安全性認可を受けた。                                 |
| 2007年6月  | カナダ厚生省 (Health Canada) より食品の安全性認可を受けた。                                |
| 2007年7月  | カナダ食品検査局 (CFIA) より環境・飼料としての安全性認可を受けた。                                 |
| 2007年7月  | 米国農務省 (USDA) より無規制裁培の認可を受けた。  |

なお、本組換えダイズの我が国における申請状況は以下のとおりである。



- 2006年5月 農林水産省・環境省より「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」に基づき、第一種使用規程（隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為）の承認を受けた。
- 2007年2月 厚生労働省に「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続き」に基づく食品利用としての安全性確認の申請を行った。
- 2007年2月 農林水産省に「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づく飼料利用としての安全性確認の申請を行った。

## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価<sup>7</sup>

### 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 (文献 1)。我が国においても、ダイズは縄文時代には既に栽培されており、イネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでダイズが我が国の自然条件下で雑草化した例は報告されていない。

競合における優位性に関わる諸形質 (形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率 (第一の 2-(6)-ロ-①～⑤、p20～21)) を比較調査した結果、種子の百粒重を除く、全ての項目で対照の非組換えダイズとの間に差異あるいは統計学的有意差は認められなかった。

なお、統計学的有意差の認められた種子の百粒重に関しては、本組換えダイズが 17.12g、対照の非組換えダイズが 18.54g であった (第一の 2-(6)-ロ-⑤、p21)。

本組換えダイズと対照の非組換えダイズ種子の間で百粒重において統計学的有意差が認められたが、この形質のみが変化したとしても本組換えダイズの競合における優位性が高まるとは考えがたい。

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

また、英国では除草剤耐性の形質が付与された遺伝子組換え作物 (除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ及びトウモロコシ、除草剤グリホサート耐性テンサイ) を気候条件の異なる 12 箇所のは場で放任栽培し、自然条件下での競合における優位性を 10 年間にわたり調査している。調査の結果、全ての遺伝子組換え作物の個体群のサイズは、対照の非組換え作物と同様に、播種の翌年から他の多年生植物との競合により縮小した (文献 45)。さらに、カナダでは除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネを用いて、競合における優位性に関わる形質を調査しているが、除草剤グリホサート

<sup>7</sup> 本項目中で、第一の 2-(6)ロ.の①～⑦に記載された試験結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

耐性の形質は、セイヨウナタネ本来の競合における優位性を高めないことが確認された (文献 46)。これら海外で行われた試験は本組換えダイズを用いた直接的な試験ではない。しかし、除草剤グリホサートに対する耐性を有する本組換えダイズが、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めることはないとする結論を支持すると考えられる。

以上のことから、競合における優位性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

## (2) 影響の具体的内容の評価

—

## (3) 影響の生じやすさの評価

—

## (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、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

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、有害物質の産生性の有無を土壌微生物相試験、鋤込み試験、後作試験、根粒菌調査 (第一の 2-(6)-ロ-⑦、p22) により比較検討したが、差異は認められなかった。

本組換えダイズは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はなく、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が確認されている (第一の 2-(1)-ロ-②, p12)。また、第一の 2-(1)-ロ-③ (p12~13) に示したように、改変 CP4 EPSPS 蛋白

質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、モンサント・カンパニーがこれまでに開発した除草剤グリホサート耐性作物 (ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ、アルファルファ、テンサイ) の食品/飼料安全性の評価の過程で、芳香族アミノ酸含量に対照の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。したがって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えダイズ中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

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

## (2) 影響の具体的内容の評価

—

## (3) 影響の生じやすさの評価

—

## (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、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。

# 3 交雑性

## (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

第一の 1-(3)-ニ-③ (p5~6) 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分布しているのはツルマメのみである (文献 2; 文献 3; 文献 1)。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交雑が生じると、その雑種は生育や生殖に障害が見られず、正常に生育することが知られている (文献 15)。したがって、

本組換えダイズに関しても、ツルマメと交雑した場合は雑種が形成されると考えられる。また、当該雑種からツルマメへの戻し交配を経て、本組換えダイズ由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子がツルマメの集団中に検出される可能性も否定できない。

### (3) 影響の生じやすさの評価

我が国においてツルマメは北海道、本州、四国、九州に分布し、主に河川敷や前植生が攪乱された工場現場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道ばたに自生している (文献 5; 文献 6; 文献 3; 文献 7)。したがって、本組換えダイズが我が国で第一種使用規程に従って使用された場合、本組換えダイズとツルマメが交雑する機会があることは否定できない。

しかし、ダイズとツルマメは、通常開花前に開葎し、受粉が完了する上に、開花期の後半は、ほとんどの花が開花しないままで受粉する閉花受粉を行うため (文献 15)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。さらに、ダイズとツルマメ間の交雑においては、一般的にダイズの開花期はツルマメよりも約 1 ヶ月近く早く、それぞれの開花期間は重なりにくいことが知られている (文献 15)。実際、他のダイズ品種と比べて開花期が遅い日本固有の栽培品種である丹波黒とツルマメをそれぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調べた結果、得られた 686 個体のツルマメの後代の中にダイズとツルマメの雑種であると判断された後代が 5 個体確認されており、その交雑率は 0.73%と報告されている (文献 20)。よって、一般的に自然条件下では、ダイズとツルマメが交雑する可能性は低いと考えられた。

これまでにダイズ品種間の自然交雑率を調査した試験において、自然交雑率は概して非常に低い事が報告されている (p30 の表 2)。これらの報告によると、自然条件下で花粉親と種子親を同一の畦内あるいは隣接した畦に配置した場合、ダイズ品種間における自然交雑率は 0.03~3.62%であった (文献 47; 文献 48; 文献 49; 文献 50; 文献 51; 文献 16; 文献 52; 文献 53; 文献 54)。また、自然交雑率は花粉源から種子親までの距離が離れると減少することが示されている (文献 51; 文献 53; 文献 54)。我が国においても、文献 22 が除草剤グリホサート耐性ダイズと非組換えダイズの間での交雑率を 2 ヶ年にわたり調査しており、花粉源から 0.7m では自然交雑率は 0.2%以下であったが、10.5m では交雑は認められなかったと報告している。

実際に、本隔離ほ場試験において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとを隣接した試験区で栽培し、本組換えダイズを花粉親としたときの自然交雑率を調査したところ、交雑は認められず、上述した従来ダイズにおける自然交雑率を超えるものではなかった (別添資料 6 の p20)。さらに、本隔離ほ場試験において、花粉の稔性及びサイズを調査しているが、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズともに高い花粉稔

性を示しており、その稔性に大きな違いは認められなかった。また、花粉の形態や大きさにも相違は認められなかった (別添資料 6 の p18 の図 12 及び 13)。以上の結果より、本組換えダイズの交雑性は従来のダイズを超えるものではなく、本組換えダイズの高雑性が高まるとは判断されなかった。

また、第二の 1 の(1) (p25～26) に上述したように、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下において、グリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えにくい。

さらに、文献 55 は人為的に交配して得たダイズとツルマメの雑種系統を親系統と共に栽培管理の異なる環境下に播種した後、それらの定着の様子を 3 年間追跡調査している。その結果、調査開始前に雑草防除を行っていない環境下に播種された雑種系統は、そのほとんどが雑草との競合に敗れて消滅していた。また、調査開始前に雑草防除が行われた環境下に播種された雑種系統についても、2 年目の定着率は親系統であるツルマメと比較して明らかに劣っており、その差は 3 年目の観察時には更に顕著になっていた。

以上、本組換えダイズの自然交雑率は従来ダイズの交雑率と同程度であること、従来の知見よりダイズとツルマメの開花期は重なりにくく、その交雑率も低いことから、本組換えダイズとツルマメの自然条件下での交雑率は極めて低いと推察された。また、仮に本組換えダイズとツルマメが交雑することにより雑種が形成されたとしても、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下において、グリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えにくいため、その雑種が我が国の自然条件に適応して野生植物を駆逐していく可能性は極めて低いと判断された。同様に、選択圧のかからない条件下では、本組換えダイズ由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子が近縁野生種であるツルマメの集団中に優占的に浸透していく可能性も極めて低いと判断された。

#### (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。

表 2 ダイズにおける交雑率に関する文献調査

参考文献	交雑率 (%)	花粉源からの距離(m)	試験設計の概要
文献 47	0.04 (一莢あたり)	0.3	花粉親を種子親と同じ畦内に間隔をおいて配置し、1年間の試験を行った。供試された花粉親及び種子親は各 1 品種。交雑率は 1 莢あたりで計算されている。
文献 48	0.07 ~ 0.18	0.8	花粉親、種子親を隣接する畦に配置し、2年間の試験を行った。花粉親、種子親はそれぞれ数品種を供試した。
文献 49	0.38 ~ 2.43	0.1	同じ畦内で花粉親と種子親を隣接させ、1年間の試験を行った。花粉親、種子親はそれぞれ数品種を供試した。
文献 50	0.2 ~ 1	0.1	同じ畦内で花粉親を隣接させ、2ヶ所の試験地で1年間試験を行った。花粉親、種子親はそれぞれ数品種供試した。
文献 51	0.03 ~ 0.44 0.007 ~ 0.04 0 ~ 0.02 0 ~ 0.01	0.9 2.7 - 4.6 6.4 - 8.2 10 - 15.5	花粉親と種子親との間の距離による交雑率を調査。花粉親、種子親は各 1 品種ずつ供試し、3年間の試験を行った。
文献 16	0.3 ~ 3.62	0.8	畦内や隣接する畦間で様々に両親を配置し、3年間試験を行った。花粉親、種子親はそれぞれ数品種を供試した。
文献 25	1.15 ~ 7.74	1 畦分の畦幅 (文献中に記載なし)	数エーカーの大規模な花粉親区の中に 1 畦の小さな種子親区を配置し、ハチにより授粉させた。
文献 56	0.5 ~ 1.03 (試験区の配置により変動)	0.1 - 0.6	花粉親と種子親の位置関係を様々に設定し、ハチにより受粉させ、4年間の試験を行った。複数品種を供試した。
文献 52	0.09 ~ 1.63	1.0	種子親と花粉親を隣接する畦に配置し、2年間試験を行った。花粉親、種子親はそれぞれ数品種を供試した。
文献 53	0.44 ~ 0.45 0.04 ~ 1.4 検出されず	0.5 1.0 6.5	花粉親と種子親の間の距離による交雑率の変動を調査した。試験は 1 年間。供試された花粉親、種子親は各 1 品種。
文献 54	0.29 ~ 0.41 0.03 ~ 0.05	0.9 5.4	花粉親と種子親の間の距離による交雑率の変動を調査した。試験は 1 年間。供試された花粉親、種子親は各 1 品種。
文献 54	1.8	0.15	花粉親を種子親と同じ畦内に間隔をおいて配置し、1年間の試験を行った。供試された花粉親及び種子親は各 1 品種。

#### 4 その他の性質

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



### 第三 生物多様性影響の総合的評価

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

競合における優位性に関わる諸形質（形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）を比較検討した。その結果、種子の百粒重について対照の非組換えダイズとの間に差異が認められたが、その他の項目では差異あるいは統計学的有意差は認められなかった。なお、統計学的有意差の認められた種子の百粒重に関しては、本組換えダイズが 17.12g、対照の非組換えダイズが 18.54g であった。本組換えダイズと対照の非組換えダイズ種子の間で百粒重において統計学的有意差が認められたが、この形質のみが変化したとしても本組換えダイズの競合における優位性が高まるとは考えがたい。

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

以上から、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

ダイズに関して、これまでに有害物質の産生性は報告されていない。本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、有害物質の産生性の有無を土壤微生物相試験、鋤込み試験、後作試験、根粒菌調査により比較検討したが、差異は認められなかった。

本組換えダイズは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ-① (p11) に述べたように、CP4 EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないことが確認されている。

以上から、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。

ダイズと交雑可能な近縁野生種として我が国に分布しているのはツルマメのみで

ある。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等としてツルマメが特定された。

上述のとおり、本隔離ほ場試験において本組換えダイズと対照の非組換えダイズ間での自然交雑率を調査した結果、従来のダイズと同程度であった。さらに、本隔離ほ場試験において、花粉の稔性及びサイズを調査しているが、本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間で差異は認められなかった。したがって、本組換えダイズの他殖性が高まってはいないと判断された。さらに、従来の知見よりダイズとツルマメの開花期は重なりにくく、その交雑率も低いことから、本組換えダイズとツルマメの自然条件下での交雑率も極めて低いと推察された。

また、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下において、グリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えにくいいため、ダイズとツルマメが仮に交雑したとしても、その雑種が我が国の自然条件に適応して野生植物を駆逐していく可能性は極めて低いと判断された。同様に、選択圧のかからない条件下では、本組換えダイズ由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子が近縁野生種であるツルマメの集団中に優占的に浸透していく可能性も極めて低いと判断された。

以上から、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。

よって、総合的評価として、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生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

引用文献

[社外秘情報につき非開示]

緊急措置計画書 (栽培目的の場合)

平成 19 年 6 月 7 日

氏名 日本モンサント株式会社  
代表取締役社長 山根精一郎

住所 東京都中央区銀座 4 丁目 10 番 10 号

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

- 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。

平成 19 年 6 月現在

社内委員	
*	日本モンサント (株) 住所 東京都中央区銀座 4 丁目 10 番 10 号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント (株) 農薬規制・環境部
	日本モンサント (株) 河内研究農場
	日本モンサント (株) バイオ規制・環境部
	日本モンサント (株) バイオ規制・環境部
	日本モンサント (株) バイオ規制・環境部
	日本モンサント (株) バイオ規制・環境部

\* : 管理責任者

## 2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

## 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

生物多様性影響に関して必要に応じて生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。

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

具体的措置として、特定された問題に応じ、本組換え体の環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換え体があった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること等、必要な措置を実行する。

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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

緊急措置計画書 (食用・飼料用に供する場合)

平成 19 年 6 月 7 日

氏名 日本モンサント株式会社  
代表取締役社長 山根精一郎

住所 東京都中央区銀座 4 丁目 10 番 10 号

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

- 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。

平成 19 年 6 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 住所 東京都中央区銀座 4 丁目 10 番 10 号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部
	日本モンサント株式会社 河内研究農場
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

\* : 管理責任者

## 2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

## 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

生物多様性影響に関して必要に応じて生産国の生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。

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

具体的措置として、特定された問題に応じ、輸入された本組換え体の環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換え体があった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること等、必要な措置を実行する。

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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