

高オレイン酸含有並びに除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサート耐性  
ダイズ (*gm-fad2-1, gm-hra*, 改変 *cp4 epsps, Glycine max* (L.) Merr.) (305423×  
40-3-2, OECD UI: DP-305423-1×MON-04032-6)申請書等の概要

5	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 .....	2
	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
10	(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
15	2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 .....	6
	(1) 供与核酸に関する情報 .....	6
	(2) ベクターに関する情報 .....	17
	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法 .....	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 ...	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	24
	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 .....	24
20	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 .....	30
	(2) 使用等の方法 .....	30
	(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 .....	30
25	(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 .....	30
	(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 .....	30
	(6) 国外における使用等に関する情報 .....	31
30	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 .....	32
	1 競合における優位性 .....	32
	2 有害物質の産生性 .....	33
	3 交雑性 .....	34
	4 その他の性質 .....	36
35	第三 生物多様性影響の総合的評価 .....	37
	緊急措置計画書 .....	39
	参考文献 .....	41

第一種使用規程承認申請書

5

平成 21 年 11 月 25 日

農林水産大臣 赤松 広隆 殿  
環境大臣 小沢 鋭仁 殿

10

氏名

デュポン株式会社

代表取締役社長 天羽 稔

申請者

15

住所

東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

20

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	高オレイン酸含有並びに除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサート耐性ダイズ ( <i>gm-fad2-1</i> , <i>gm-hra</i> , 改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (305423×40-3-2, OECD UI: DP-305423-1×MON-04032-6)
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	—

25

## 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

##### 10 ① 和名、英名及び学名

和名：ダイズ

英名：Soybean / Soyabean

学名：*Glycine max* (L.) Merr. (The International Plant Names Index, 2004)

15

##### ② 宿主の品種名又は系統名

20 高オレイン酸含有並びに除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤<sup>1)</sup>及びグリホサート耐性ダイズ (*gm-fad2-1*, *gm-hra*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (305423× 40-3-2, OECD UI: DP-305423-1×MON-04032-6) (以下、「本スタック系統」という。) は、下記の2つの遺伝子組換えダイズを従来の交雑育種法により交配して育成した品種である。

25 ー高オレイン酸含有及び除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性ダイズ (*gm-fad2-1*, *gm-hra*, *Glycine max* (L.) Merr.)(DP-305423-1, OECD UI: DP-305423-1) (以下、「DP-305423-1」という。)

30 ー除草剤グリホサート耐性ダイズ (*cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (40-3-2, OECD UI: MON-04032-6) (以下、「MON-04032-6」という。)

各親系統の宿主は、以下の品種である。

DP-305423-1 : Jack

MON-04032-6 : A5403

##### 35 ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

国内外ともに、自然環境下でダイズが自生している地域は知られてない。

---

<sup>1)</sup> アセト乳酸合成酵素阻害剤としては、チフェンスルフロンメチルやトリベヌロンメチル等がある。

## (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

ダイズは一般に、中国中北部原産とみなされている。ダイズに関する最初の記録は、紀元前2838年に書かれた、中国の本「本草綱目(Pen Ts'ao Kong Mu)」にある。史実及び地理的な証拠から、ダイズが紀元前17世紀から11世紀の間に中国の東半分の領域で最初に栽培化されたことが示唆されている。現在、35カ国以上において商品作物として栽培されている (OECD, 2000)。

10

ダイズが我が国へ渡来した時期は、約 2,000 年前と推定され、現在では、全国的に栽培されている (農業技術体系, 2002)。

15

### ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

栽培地域：

米国、ブラジル、アルゼンチン等を中心に、広い地域で栽培されている (FAOSTAT, 2009)。我が国では、北海道、東北及び九州が主である (農林水産省, 2008a)。

20

栽培方法：

基肥として2~3kg/10aの窒素を施肥する。一般に、畝幅60~75cm、株間20cm、1株2粒播きで播種する。全株の80~90%の莢の色が変わり、軽く叩くとカラカラと音がするようになったら1週間以内に収穫し、種子の水分が15%程度に乾燥した後、脱穀する (作物学各論, 1999)。我が国では、主に北海道において、米国のような大規模な単作機械化栽培が行われている。また、全国的には水田転換畑での栽培やコムギ等麦類の後作としての栽培が行われている (農業技術体系, 2002)。

25

30

流通実態：

2007年における世界総栽培面積は約9,490万haで、最大の生産国である米国の栽培面積(約3,060万ha)がその32%を占める。また、2007年における世界総生産量は約2億1,600万トンで、米国は約7,070万トンと総生産量の33%を占める (FAOSTAT, 2009)。

35

我が国における2007年の栽培面積は13万8,000haで、生産量は23万トンである (農林水産省, 2008a)。2008年に371万トンのダイズを輸入しており、そのうちの273万トン(74%)が米国からのものである (財務省貿易統計, 2009)。また、ダイズ油かすも輸入しており、2008年の輸入量は168万トンで、そのうち、米国からの輸入量は45万トン(27%)である (財務省貿易統計, 2009)。

40

用途：

我が国では、ダイズ消費量の約 8 割は搾油用に使われ、残り約 2 割は、豆腐、味噌、納豆、醤油、豆乳、もやし、枝豆等として利用されている。搾油後の油かすは飼料として利用される（農林水産省, 2005；作物学各論, 1999）。

5

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

10 直生で草むら状の一年生草本植物であり、1.5メートルの高さに達する。初生葉は単葉で、対生する卵形葉であり、本葉は三小葉で互生であり、4枚以上の小葉からなる複葉が時折存在する。根粒を有する根系は主根から側根系が発生する。ほとんどの栽培品種は、微細な毛状突起で覆われているが、無毛種も存在する。その蝶型花は、5つのがく片を有する管状のがく、5枚の花弁（旗弁1枚、翼弁2枚及び竜骨弁2枚）を有する花冠、1本の雌ずい、1本の分離した後部雄ずいと9本の融合雄ずいから成る。雄ずいは柱頭の根元に環を形成し、受粉前日に伸長して、隆起した葯が柱頭の周りを環状にとりまく。莢はまっすぐであるかわずかに曲がっており、その長さは2~7cmであって、背側と腹側が接合した2つの部分からなる1枚の心皮で構成されている。種子の形状は通常卵型であるが、ほぼ球形なものから細長い形状や扁平な形状まで、品種によってさまざまである。量的短日植物であり、従って短日条件でより早く開花する。品種は生育特性により、有限伸育型、半無限伸育型又は無限伸育型の3種類に分類される(OECD, 2000)。

25

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズは、赤道近くから北緯約 60 度のスウェーデンまで広く栽培可能である（農学大事典, 2004；農業技術体系, 2002）。ダイズの好適土壌 pH は中性付近である（農学大事典, 2004）。

30

#### ハ 捕食性又は寄生性

—

35

#### 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

40

ダイズの種子は莢の中に形成されることから、脱粒性は裂莢の難易に依存する。我が国で栽培されている品種は裂莢しやすく、米国の品種は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。まれに越年した種子が翌年に発芽することがあるが、その場合も十分に育つことはない(OECD, 2000)。乾燥・低温の貯蔵条件下では、種子の寿命は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）。

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

5

自然条件下で、種子以外に植物体を再生することができる組織又は器官は知られていない。

10

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

15

ダイズは、基本的に開花前に自家受粉する自殖性植物である（農林水産省, 2008b）。自家不和合性は知られておらず、他殖率は 3%以下と報告されている（Garber and Odland, 1926 ; Caviness, 1966 ; Ahrent and Caviness, 1994 ; Poehlman and Sleper, 1995 ; 農業技術体系, 2002）。

20

我が国に生育する、ダイズと交雑可能な近縁野生種はツルマメ (*G. soja*) である。我が国では全国的に分布しており、シベリアのアムール川流域、中国、朝鮮半島及び台湾にも広く自生している（農業技術体系, 2002）。一年生植物で、野原、道ばた、河原等に生育が見られる（OECD, 2000）。ツルマメの他殖率については 2.2~2.3%（Kuroda *et al.*, 2008 ; Kiang *et al.*, 1992）との報告がある。また、13%であったとの報告（Fujita *et al.*, 1997）もあるが、この高い他殖率は、訪花昆虫が多い等が理由であると考察されている。

25

ダイズの開花期はツルマメよりも早く、両種の開花期は重なりにくいことが知られている（Nakayama and Yamaguchi, 2002）。我が国の北部、中部及び南部の計 7ヶ所でダイズほ場に隣接して生育するツルマメ種子を収穫し、マイクロサテライトマーカを用いてダイズとの自然交雑を調査した結果、ツルマメ種子 672粒中に交雑を示唆する遺伝マーカーは検出されなかった（Kuroda *et al.*, 2008）。人為的に開花時期を一致させ、組換えダイズにツルマメが巻きついた状態で生育させた交雑試験では、収穫したツルマメの種子 32,502粒中、1粒だけダイズと交雑していた（Mizuguti *et al.*, 2009）。また、両種の開花時期を人為的に一致させ、ダイズとツルマメを交互に 50cm 間隔で栽培した試験における両種間の交雑率は 0.73%であった（Nakayama and Yamaguchi, 2002）。

35

ダイズにはアポミクシスの特性を有するとの報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

40

ダイズの花粉の媒介方法は虫媒とされる（農林水産省, 2008b）。一花当たりの花粉の生産量は、約 3,500~3,700粒である（Chiang and Kiang, 1987）。ダイズ雌ずいの受精可能期間は、開花 1日前から開花後 2日間程度であり（OECD, 2000）、花粉の寿命は数時間である（農林水産省, 2008b）。花粉の直径は 21~30  $\mu\text{m}$  であ

る (Boerma and Specht, 2004)。ダイズ個体同士では、約 2m 離れると他殖率は 0.05%以下になり、約 10m 離れると他殖率が 0%になることが報告されている (農林水産省, 2008b)。

5 ホ 病原性

—

へ 有害物質の産生性

10

ダイズにおいて、野生動植物等の生息又は生育に影響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

15

—

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

20 (1) 供与核酸に関する情報

本スタック系統の親系統である DP-305423-1 ([http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public\\_comment/DP\\_305423\\_1\\_2009ap.pdf](http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/DP_305423_1_2009ap.pdf)) は米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社が、MON-04032-6 ([http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public\\_comment/40-3-2ap.pdf](http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/40-3-2ap.pdf)、及び USDA への無規制裁培申請書(1993)) は米国モンサント社が開発した。DP-305423-1 には、高オレイン酸形質を付与するための *gm-fad2-1* 遺伝子及び除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性を付与するための *gm-hra* 遺伝子が導入され、MON-04032-6 には、除草剤グリホサート耐性を付与するための改変 *cp4 epsps* 遺伝子が導入されている。

25

30

イ 構成及び構成要素の由来

DP-305423-1 及び MON-04032-6 の作出に用いた供与核酸の構成及び構成要素の由来をそれぞれ表 1 (7ページ) 及び表 2 (9ページ) に示した。

35

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

40

供与核酸の各構成要素の機能を表 1 (7ページ) 及び表 2 (9ページ) に示した。

表 1 DP-305423-1 の作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能 ①

構成要素	サイズ (kb)	由来及び機能
<i>gm-fad2-1</i> 遺伝子発現カセット (PHP19340 A)		
KTi3 プロモーター	2.08	ダイズ由来の Kunitz トリプシンインヒビター3 遺伝子のプロモーター領域で、転写を開始する。胚形成時の胚における転写活性が最も高く、その活性は葉における転写活性の約 1,000 倍ある (Jofuku and Goldberg, 1989; Jofuku <i>et al.</i> , 1989)。
<i>gm-fad2-1</i>	0.60	ダイズ由来の内在性 <i>FAD2-1</i> 遺伝子における 399 番目のヌクレオチドから 995 番目のヌクレオチドまでの領域からなる DNA 断片 (以下、「 <i>gm-fad2-1</i> 」という。) である。ダイズ内在性 <i>FAD2-1</i> 遺伝子は、オレイン酸からリノール酸への生合成を触媒する $\omega$ -6 デサチュラーゼをコードする。 <i>gm-fad2-1</i> 遺伝子は、ジーンサイレンシング <sup>2)</sup> を誘導し、 $\omega$ -6 デサチュラーゼの発現を抑制する目的で導入した。
KTi3 ターミネーター	0.20	ダイズ由来の Kunitz トリプシンインヒビター3 遺伝子のターミネーター領域で、転写を停止する (Jofuku and Goldberg, 1989; Jofuku <i>et al.</i> , 1989)。
<i>gm-hra</i> (改変 <i>als</i> ) 遺伝子発現カセット (PHP17752A)		
FRT1	0.05	酵母 ( <i>Saccharomyces cerevisiae</i> ) 由来の Flp 組換え酵素認識配列 (Broach <i>et al.</i> , 1982) である。
SAMS プロモーター	0.65	ダイズ由来の S-アデノシル-L-メチオニンシンテターゼ (SAMS) 遺伝子の構成的発現プロモーター領域 (Falco and Li, 2003) で、転写を開始する。
SAMS イントロン	0.59	ダイズ由来の SAMS 遺伝子における 5'非翻訳領域内に存在するイントロン領域で (Falco and Li, 2003)、遺伝子発現量や転写産物の安定性を高める。
<i>gm-hra</i> (改変 <i>als</i> )	1.97	ダイズ由来のアセト乳酸合成酵素遺伝子( <i>als</i> )を、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤の影響を受けないように改変した遺伝子 ( <i>gm-hra</i> ) で、GM-HRA 蛋白質前駆体をコードする。改変により、内在性アセト乳酸合成酵素 (ALS) の 178 番目のプロリンがアラニンに、555 番目のトリプトファンがロイシンに置換されている。また、N 末端に 5 つのアミノ酸 (メチオニン-プロリン-ヒスチジン-アスパラギン-トレオニン) が付加されている (Falco and Li, 2003)。
<i>als</i> ターミネーター	0.65	ダイズ由来の <i>als</i> 遺伝子のターミネーター領域で、転写を停止する (Falco and Li, 2003)。
FRT1	0.05	上述。
FRT6	0.05	FRT1 と 94%の相同性を持つ改変 FRT1 配列で、Flp 組換え酵素の認識配列である。

5

<sup>2)</sup> 内在性遺伝子とホモロジーのある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、導入遺伝子及び内在性遺伝子の発現がいずれも低く抑えられる現象が知られており、ジーンサイレンシングと呼ばれる (森野と島本, 1996)。



表 1 DP-305423-1 の作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能 ②

構成要素	サイズ (kb)	由来及び機能
その他の構成要素 (DP-305423-1 には導入されていない)		
T7 プロモーター	0.08	腸内細菌ファージ T7 ゲノム由来のプロモーター領域 (GenBank Accession No. V01146)。大腸菌において遺伝子の転写を開始する。
<i>hyg</i>	1.03	大腸菌 ( <i>Escherichia coli</i> ) 由来の抗生物質ハイグロマイシン耐性遺伝子 (GenBank Accession No. K01193)。大腸菌でのクローニングの際に選抜マーカーとして使用される。
T7 ターミネーター	0.12	腸内細菌ファージ T7 ゲノム由来のターミネーター領域 (GenBank Accession No. V01146) で、転写を停止する。
ori	0.37	colE1 プラスミド由来、大腸菌の複製開始点領域。

表 2 MON-04032-6 の作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能

構成要素	サイズ (kb)	由来及び機能
P-CMoVa (E35S)により制御される改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子発現カセット		
CMoVa (E35S)	0.61	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の35Sプロモーターで、重複エンハンサー領域を持つ。目的遺伝子の全組織での構成的発現に関与する。
CTP	0.23	ペチュニアの <i>epsps</i> 遺伝子の中で、EPSPS蛋白質のN末端側に存在する葉緑体移行配列をコードする塩基配列。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
改変 <i>cp4 epsps</i>	1.36	<i>Agrobacterium</i> CP4菌株由来の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。
NOS 3'	0.26	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA由来のノパリン合成酵素(NOS) 遺伝子の3'非翻訳領域で、mRNAの転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
P-MASにより制御される <i>uidA</i> 遺伝子発現カセット (MON-04032-6には導入されていない)		
P-MAS	0.42	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来の <i>mannopine synthase2'</i> 遺伝子のプロモーター領域。目的遺伝子の構成的発現に関与する。
<i>uidA</i> (GUS)	1.81	大腸菌由来の <i>uidA</i> 遺伝子。GUS( $\beta$ -D-glucuronidase)蛋白質をコードする。
7S3'	0.43	ダイズの7S種子貯蔵蛋白質 $\alpha$ サブユニットの3'末端非翻訳領域。
P-CMoVb (FMV)により制御される改変 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子発現カセット (MON-04032-6には導入されていない)		
CMoVb (FMV)	0.57	Figwort mosaic virusの35Sプロモーター。目的遺伝子の全組織での構成的発現に関与する。
CTP	0.22	ペチュニアの <i>epsps</i> 遺伝子の中で、EPSPS蛋白質のN末端側に存在する葉緑体移行配列をコードする塩基配列。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
改変 <i>cp4 epsps</i>	1.36	<i>Agrobacterium</i> CP4菌株由来の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子。
NOS 3'	0.26	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> T-DNA由来のノパリン合成酵素(NOS) 遺伝子の3'非翻訳領域で、mRNAの転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
その他の構成要素 (MON-04032-6には導入されていない)		
LAC	0.24	Lacリプレッサーをコードする部分配列、lacプロモーター、 $\beta$ ガラクトシダーゼをコードする部分配列からなる。大腸菌でのクローニングの際に選抜マーカーとして使用される。
<i>ori</i> -pUC	0.65	<i>Escherichia coli</i> プラスミドpUC119由来の複製開始点領域。
KAN( <i>nptII</i> )	1.32	大腸菌のトランスポゾンTn5より単離された遺伝子で、neomycin phosphotransferase type II(NPTII)蛋白質をコードする。

- 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

#### gm-fad2-1 遺伝子

gm-fad2-1 遺伝子は、ダイズ中で、オレイン酸からリノール酸への生合成を触媒する $\omega$ -6 デサチュラーゼをコードするダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子の一部である。本遺伝子は、ジーンサイレンシングを誘導して $\omega$ -6 デサチュラーゼの発現を抑制することを目的に導入された。DP-305423-1 においては、意図したようにダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子の発現レベルが抑制されており、結果としてリノール酸含有量が減少し、オレイン酸含有量が脂肪酸全体の 75%程度に高められている。

10

#### GM-HRA 蛋白質

gm-hra 遺伝子がコードする GM-HRA 蛋白質前駆体は、N 末端に葉緑体移行配列を有する。GM-HRA 蛋白質前駆体は、葉緑体への移行に伴い葉緑体移行配列が切断除去され、成熟型 GM-HRA 蛋白質（以下、「GM-HRA 蛋白質」という。）となる。

15

除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤は、植物中の分枝アミノ酸合成に関与する内在性アセト乳酸合成酵素（以下、「ALS」という。）の活性を特異的に阻害するため、植物中にバリン、ロイシン及びイソロイシンの分枝アミノ酸が合成されず、植物を枯死させる。GM-HRA 蛋白質は、アセト乳酸合成酵素阻害剤の存在下でも活性を有し、分枝アミノ酸合成経路が阻害されないため、植物に除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤に対する耐性を付与する。

20

25

GM-HRA 蛋白質と既知アレルギーとの構造相同性を検討するため、アレルギーデータベース（FARRP10）を用いたアミノ酸配列相同性検索を 2010 年に行った結果、GM-HRA 蛋白質と相同性を示す既知アレルギーはないことが確認されている。

30

#### 改変 CP4 EPSPS 蛋白質

除草剤グリホサートは、植物中の芳香族アミノ酸合成経路であるシキミ酸経路中の 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)の活性を阻害するため、植物中に芳香族アミノ酸が合成されず、植物を枯死させる。改変 *cp4 epsps* 遺伝子により産生される改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性を有し、シキミ酸経路が阻害されないため、植物に除草剤グリホサートに対する耐性を付与する。

35

改変 CP4 EPSPS 蛋白質と既知アレルギーとの構造相同性を検討するため、アレルギーデータベース（AD\_2010、TOX\_2010 及び PRT\_2010）を用いたアミノ酸配列相同性検索を 2010 年に行った結果、改変 CP4 EPSPS 蛋白質と相同性を示す既知アレルギーはないことが確認されている。

40

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

5 宿主の持つ代謝系を変化させる可能性について、*gm-fad2-1* 遺伝子、GM-HRA 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質についてそれぞれ検討し、さらにこれらが相互に影響する可能性を検討した。

*gm-fad2-1* 遺伝子

10 DP-305423-1 では、導入された *gm-fad2-1* 遺伝子によりダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子の発現レベルが抑制されることから、リノール酸の合成が抑制され、結果としてオレイン酸含有量が高くなる（第一.2.(1).ロ.②、10ページ）。

15 DP-305423-1 種子中の総脂肪酸量に対するオレイン酸含有率は、非組換えダイズの 21.1%から 76.5%に増加し、リノール酸の含有率は 52.5%から 3.62%に低下した。葉中のオレイン酸含有率は、非組換えダイズの 3.61%に対し DP-305423-1 は 4.43% (P 値<0.05)、リノレン酸含有率は、非組換えダイズの 50.0%に対し 47.4% (P 値<0.05) であった。このように、DP-305423-1 では *gm-fad2-1* 遺伝子によるオレイン酸含有率の増加が認められた。

20

GM-HRA 蛋白質

GM-HRA 蛋白質が宿主の持つ代謝系を変化させる可能性について、はじめにアミノ酸合成への影響を、次に脂肪酸合成への影響を検討した。

25

アミノ酸合成について：

30 内在性 ALS 蛋白質は、分枝アミノ酸合成経路に作用する。そのうち、バリン・ロイシン合成経路においては、バリンによるフィードバック制御を受ける。また、イソロイシン合成経路においては、バリンによるフィードバック制御に加えて、初発段階の触媒酵素であるトレオニンデヒドラターゼが、イソロイシンによるフィードバック制御を受ける（生化学辞典, 1998）。したがって、内在性 ALS 蛋白質と同様、分枝アミノ酸合成経路に作用する GM-HRA 蛋白質においても、フィードバック制御が働く可能性が考えられる。

35 実際に、DP-305423-1 の種子及び葉中のアミノ酸組成の分析を行った結果、種子のトレオニン及びグルタミン酸に非組換えダイズとの間で統計学的有意差 (P<0.05) が認められたが、許容値又は文献値の範囲内であった。また、葉のロイシンについては、非組換えダイズに比べ統計学的に有意に (P<0.05) 増加していたが、その分析値は DP-305423-1 が 9.97%で非組換えダイズが 9.60%とその差はわずかであり、同じ経路で合成されるバリンに有意な増加が認められなかったことから、その有意差はフィードバック制御されなかったことにより生じた結果とは考え難い。

40

脂肪酸の生合成について：

DP-305423-1 種子中の脂肪酸組成を分析した結果、非組換えダイズに比べ、ヘ  
プタデカン酸及びヘプタデセン酸に統計学的に有意な増加 ( $P<0.05$ ) が認められ  
たが、これらは多くの動植物に含まれる一般的な脂肪酸であり (文部科学省、  
2005)、ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の総脂肪酸量に占める割合も、それ  
ぞれ 0.798%と 1.19%であった。

内在性 ALS は、分枝アミノ酸合成系においてピルビン酸及び  $\alpha$ -ケト酪酸を基  
質とする。これらは、脂肪酸合成系における基質でもある。GM-HRA 蛋白質は、  
内在性 ALS に比べ  $\alpha$ -ケト酪酸に対する基質親和性が低く、DP-305423-1 では、  
 $\alpha$ -ケト酪酸濃度がピルビン酸より相対的に高まり、 $\alpha$ -ケト酪酸から合成される  
ヘプタデカン酸及びヘプタデセン酸の含有量が増加するのではないかと推測し  
た。

### 15 改変 CP4 EPSPS 蛋白質

EPSPSは、芳香族アミノ酸を合成するシキミ酸経路における律速酵素ではない  
ことが示唆されており、改変CP4 EPSPS蛋白質が産生されることにより、総  
EPSPS活性が高まったとしても、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、  
また、米国モンサント社が商品化した除草剤グリホサート耐性遺伝子組換え作物  
(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の芳香族アミノ酸含量は、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。

EPSPSは、基質であるホスホエノールピルビン酸塩(PEP)及びシキミ酸-3-リン  
酸塩(S3P)と特異的に反応することが知られている。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であり、生体内で基質として反応するとは考  
え難い。

### 導入遺伝子の発現が相互に影響する可能性について

代謝系及び基質：

*gm-fad2-1* 遺伝子、*gm-hra* 遺伝子及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子の発現は、それぞ  
れオレイン酸からリノール酸への合成、分枝アミノ酸合成 (図 1、13ページ) 及  
び芳香族アミノ酸合成 (図 2、14ページ) に関わる。これらの代謝経路はいずれ  
も植物体内で独立したものであり基質も異なるため、上記導入遺伝子の発現が相  
互に影響することは考え難い。

アミノ酸組成：

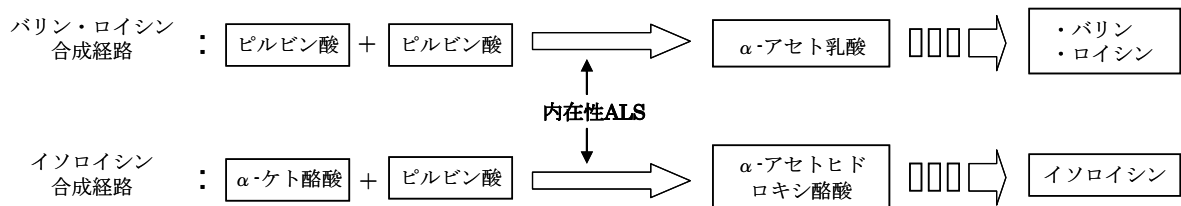
実際、本スタック系統、親系統 DP-305423-1 及び MON-04032-6、並びに非組  
換えダイズの種子中のアミノ酸組成を分析した。その結果、本スタック系統と親

系統 (DP-305423-1 及び MON-04032-6) の間で統計学的有意差 (P<0.05) のある分析項目が認められたが、いずれも、自社商業品種又は文献値の範囲内であった (表 3、15ページ)。したがって、本スタック系統の導入遺伝子が発現することによるアミノ酸組成への影響は認められなかった。

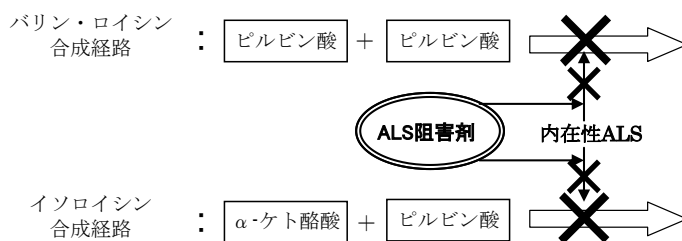
5

以上、本スタック系統において導入遺伝子の発現が相互に影響を及ぼすことはないと考えられた。

10 i) 非組換えダイズへの除草剤非散布時



20 ii) 非組換えダイズへのアセト乳酸合成酵素阻害剤散布時



30 iii) 本スタック系統へのアセト乳酸合成酵素阻害剤散布時

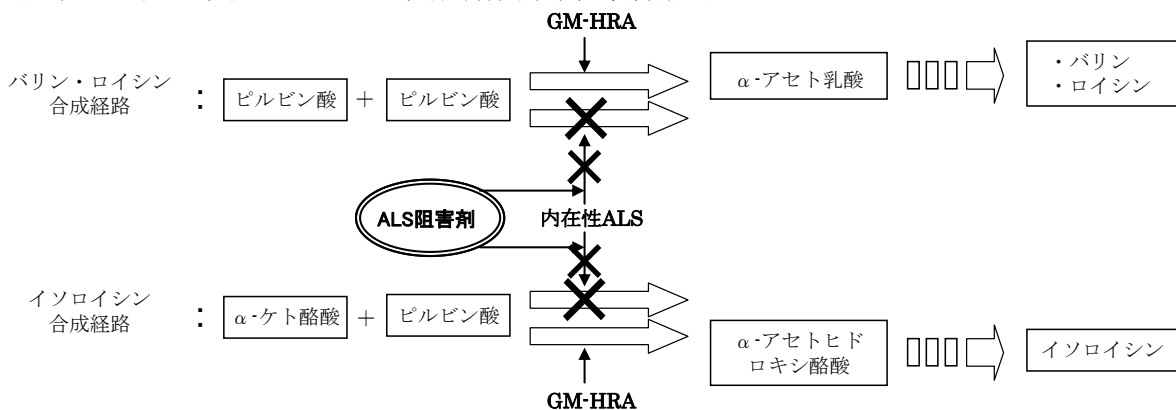
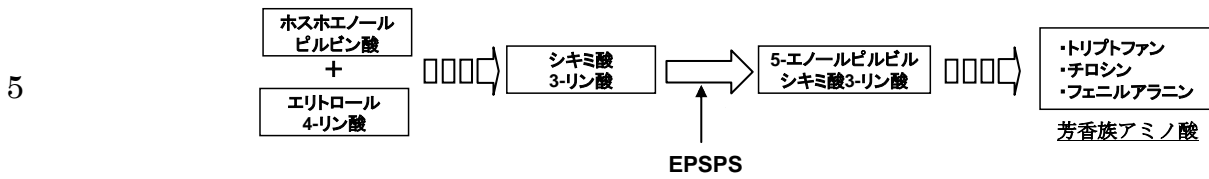


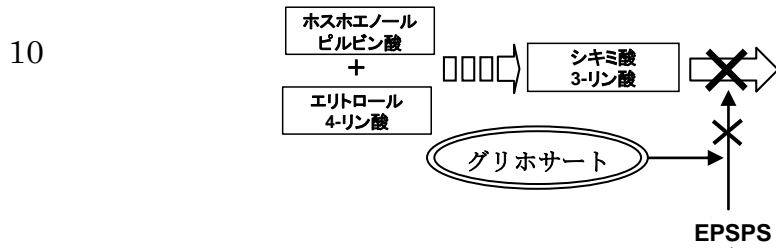
図 1 GM-HRA 蛋白質の作用機作

- i) 植物の内在性アセト乳酸合成酵素 (ALS) は、バリン、ロイシン及びイソロイシンの分枝アミノ酸を合成する。
- 40 ii) 非組換えダイズでは、ALS がアセト乳酸合成酵素阻害剤 (ALS 阻害剤) により阻害され、分枝アミノ酸が合成されず枯死する。
- iii) 本スタック系統では GM-HRA 蛋白質が産生され、ALS 阻害剤の影響を受けないため、分枝アミノ酸合成が可能となる。

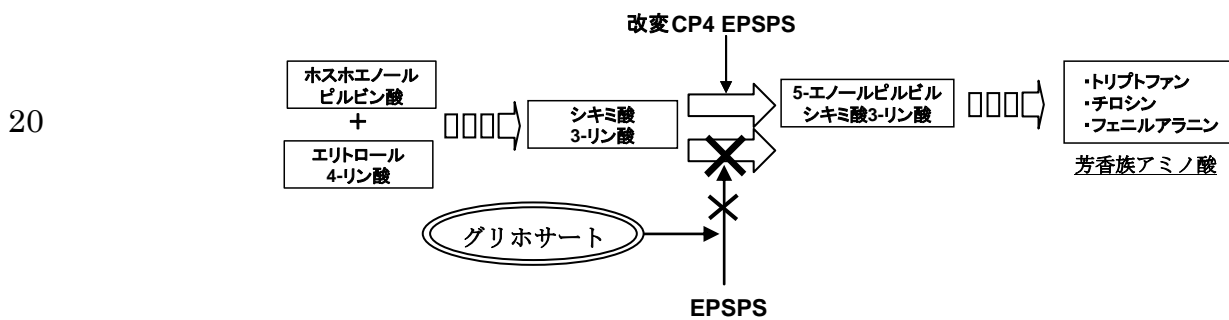
i) 非組換えダイズへの除草剤非散布時



ii) 非組換えダイズへの除草剤グリホサート散布時



iii) 本組換えダイズへの除草剤グリホサート散布時



25

図 2 改変 CP4 EPSPS 蛋白質の作用機作

- 30
- i) EPSPS は、5-エノールピルビルシキミ酸 3-リン酸の合成に関わる酵素であり、5-エノールピルビルシキミ酸 3-リン酸は、トリプトファン、チロシン及びフェニルアラニンの芳香族アミノ酸の合成に用いられる。
- ii) 非組換えダイズにおいては、除草剤グリホサートにより EPSPS 活性が阻害される結果、芳香族アミノ酸が合成できなくなり植物は枯死する。
- iii) 本スタック系統では改変 CP4 EPSPS 蛋白質が産生され、除草剤グリホサートの影響を受けないため、芳香族アミノ酸合成が可能となる。

35

表 3 本スタック系統と親系統種子中のアミノ酸組成 ①

分析項目		% 乾 物 重				自社商業 品種の 範囲 <sup>1)</sup>	文献値の 範囲
		本スタック 系統 (BC1 F5 世代)	対照 親系統 (DP-3054 23-1)	対照 親系統 (MON-0403 2-6)	(参考)非組 換えダイズ (BC1F6 null 世代)		
メチオニン	平均値	0.695	0.713	0.661	0.714	0.322	0.431 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.0443	0.0395	0.0582	0.0510		
	P 値		0.231	0.0294 <sup>3)</sup>	0.206	0.911	0.681 <sup>4)</sup>
	FDR <sup>2)</sup>		0.260	0.222	0.265		
シスチン	平均値	0.614	0.613	0.594	0.638	0.429	0.370 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.0513	0.0465	0.0615	0.0615		
	P 値		0.974	0.254	0.171	0.820	0.808 <sup>4)</sup>
	FDR		0.974	0.508	0.237		
リシン	平均値	2.45	2.58	2.53	2.56	2.06	2.29 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.211	0.176	0.157	0.109		
	P 値		0.0466 <sup>3)</sup>	0.227	0.0798	3.14	2.86 <sup>5)</sup>
	FDR		0.0839	0.508	0.161		
トリプトファン	平均値	0.471	0.508	0.482	0.496	0.356	0.356 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.0345	0.0481	0.0337	0.0393		
	P 値		0.00395 <sup>3)</sup>	0.328	0.0343 <sup>3)</sup>	0.668	0.67 <sup>6)</sup>
	FDR		0.0119 <sup>3)</sup>	0.509	0.154		
トレオニン	平均値	1.85	1.95	1.87	1.91	0.743	1.14 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.133	0.0877	0.101	0.0723		
	P 値		0.00604 <sup>3)</sup>	0.396	0.0769	2.67	1.89 <sup>6)</sup>
	FDR		0.0155 <sup>3)</sup>	0.509	0.161		
イソロイシン	平均値	1.68	1.79	1.78	1.78	1.52	1.46 <sup>5)</sup>
	標準偏差	0.115	0.0865	0.0975	0.0658		
	P 値		0.00215 <sup>3)</sup>	0.00598 <sup>3)</sup>	0.00492 <sup>3)</sup>	2.08	2.12 <sup>5)</sup>
	FDR		0.00966 <sup>3)</sup>	0.108	0.0443 <sup>3)</sup>		
ヒスチジン	平均値	1.16	1.21	1.17	1.17	0.680	0.878 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.0886	0.100	0.112	0.103		
	P 値		0.116	0.698	0.708	1.49	1.22 <sup>6)</sup>
	FDR		0.149	0.785	0.749		
バリン	平均値	1.77	1.87	1.84	1.84	1.59	1.5 <sup>6)</sup>
	標準偏差	0.127	0.0982	0.105	0.0825		
	P 値		0.00802 <sup>3)</sup>	0.0720	0.0449 <sup>3)</sup>	2.15	2.44 <sup>6)</sup>
	FDR		0.0180 <sup>3)</sup>	0.324	0.161		
ロイシン	平均値	2.83	2.99	2.93	2.97	2.37	2.2 <sup>6)</sup>
	標準偏差	0.172	0.105	0.135	0.0751		
	P 値		0.00187 <sup>3)</sup>	0.0370 <sup>3)</sup>	0.00476 <sup>3)</sup>	3.54	4.0 <sup>6)</sup>
	FDR		0.00966 <sup>3)</sup>	0.222	0.0443 <sup>3)</sup>		
アルギニン	平均値	2.71	3.00	2.76	2.81	1.50	2.29 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.166	0.250	0.175	0.144		
	P 値		0.000243 <sup>3)</sup>	0.370	0.103	3.75	3.49 <sup>5)</sup>
	FDR		0.00437 <sup>3)</sup>	0.509	0.174		
フェニルアラニン	平均値	2.00	2.10	2.06	2.07	1.26	1.6 <sup>6)</sup>
	標準偏差	0.145	0.0959	0.106	0.0980		
	P 値		0.0218 <sup>3)</sup>	0.120	0.0806	2.67	2.35 <sup>4)</sup>
	FDR		0.0436 <sup>3)</sup>	0.432	0.161		

\* 脚注の説明については、次ページを参照。



表 3 本スタック系統と親系統種子中のアミノ酸組成 ②

分析項目		% 乾物重				自社商業 品種の 範囲 <sup>1)</sup>	文献値の 範囲
		本スタック 系統 (BC1 F5 世代)	対照 親系統 (DP-3054 23-1)	対照 親系統 (MON-0403 2-6)	(参考)非組 換えダイズ (BC1F6 null 世代)		
グリシン	平均値	1.85	1.93	1.91	1.89	1.18 — 2.33	1.46 <sup>4)</sup> — 2.02 <sup>5)</sup>
	標準偏差	0.116	0.0831	0.112	0.0966		
	P 値		0.0665	0.166	0.378		
	FDR <sup>2)</sup>		0.0921	0.497	0.426		
アラニン	平均値	1.60	1.73	1.65	1.66	1.40 — 2.02	1.49 <sup>5)</sup> — 2.10 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.118	0.139	0.116	0.0983		
	P 値		0.00286 <sup>3)</sup>	0.205	0.106		
	FDR		0.0103 <sup>3)</sup>	0.508	0.174		
アスパラ ギン酸	平均値	4.73	4.92	4.83	5.01	3.88 — 6.14	3.81 <sup>4)</sup> — 5.12 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.368	0.220	0.324	0.214		
	P 値		0.0643	0.287	0.00810 <sup>3)</sup>		
	FDR		0.0921	0.509	0.0486 <sup>3)</sup>		
グルタミ ン酸	平均値	7.44	7.92	7.53	7.69	6.04 — 9.36	5.84 <sup>4)</sup> — 8.72 <sup>5)</sup>
	標準偏差	0.513	0.286	0.450	0.396		
	P 値		0.00149 <sup>3)</sup>	0.484	0.0664		
	FDR		0.00966 <sup>3)</sup>	0.581	0.161		
プロリン	平均値	2.28	2.31	2.26	2.27	1.15 — 3.05	1.69 <sup>4)</sup> — 2.61 <sup>5)</sup>
	標準偏差	0.203	0.137	0.134	0.109		
	P 値		0.428	0.749	0.934		
	FDR		0.453	0.793	0.934		
セリン	平均値	2.19	2.28	2.23	2.26	1.10 — 3.09	1.11 <sup>4)</sup> — 2.48 <sup>4)</sup>
	標準偏差	0.182	0.0999	0.126	0.134		
	P 値		0.0526	0.363	0.149		
	FDR		0.0860	0.509	0.224		
チロシン	平均値	1.30	1.35	1.31	1.34	0.523 — 1.84	1.02 <sup>4)</sup> — 1.62 <sup>5)</sup>
	標準偏差	0.119	0.102	0.107	0.111		
	P 値		0.142	0.848	0.316		
	FDR		0.170	0.848	0.379		

n=18、各系統を 2005 年に北米の 6ヶ所で栽培し、成熟期 (R8 期) に各ほ場それぞれ 3 プロットから種子を収穫した。線形混合モデルによる検定を行った。

- 1) 2005 年及び 2007 年に北米の延べ 12ヶ所で栽培した商業非組換えダイズ延べ 8 品種の分析結果に基づき、分析値の 99%を含むよう設定した上限値と下限値の範囲。
- 2) FDR (False Discovery Rate; 誤りの発見率; Benjamini and Hochberg、1995) を考慮した P 値。同一のサンプルの複数の分析項目について、それぞれ  $P < 0.05$  の有意差検定を行うと、分析項目が増えるにしたがい、誤って有意差があると判断する擬陽性の割合が増す。このような場合には FDR の方法を適用すると、擬陽性の割合を制御して有意差検定を行うことができる。
- 3) 本スタック系統との比較において統計学的有意差あり ( $P$  値  $< 0.05$ )。
- 4) ILSI (2006)。
- 5) Taylor *et al.* (1999)。
- 6) OECD (2001)。

## (2) ベクターに関する情報

### イ 名称及び由来

5

親系統の作出に用いたベクターは、以下のとおりである。

DP-305423-1 : 大腸菌由来のプラスミド pSP72 から構築されたプラスミド  
PHP19340 (図 3、18ページ) 及び PHP17752 (図 4、19ページ)。

10

MON-04032-6 : 大腸菌由来のプラスミド pUC 119 等から構築されたプラスミド  
PV-GMGTO4 (図 5、20ページ)。

### ロ 特性

#### ① ベクターの塩基数及び塩基配列

15

親系統の作出に用いられたプラスミドの塩基数は、以下のとおりである。

DP-305423-1    PHP19340    : 5,438bp

                  PHP17752    : 7,026bp

MON-04032-6    PV-GMGTO4 : 10,505bp

20

#### ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

25

親系統作出の選抜マーカーとして、以下の遺伝子が利用された。これらマーカー遺伝子は、DP-305423-1 及び MON-04032-6 に導入されていないことが確認されている。

DP-305423-1    PHP19340 : *hyg* 遺伝子 (抗生物質ハイグロマイシン耐性マーカー遺伝子)

                  PHP17752 : *hyg* 遺伝子

MON-04032-6    PV-GMGTO4 : *nptII* 遺伝子 (抗生物質カナマイシン耐性マーカー遺伝子) 及び LAC (大腸菌でのクローニングの際に選抜マーカーとして使用)

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

35

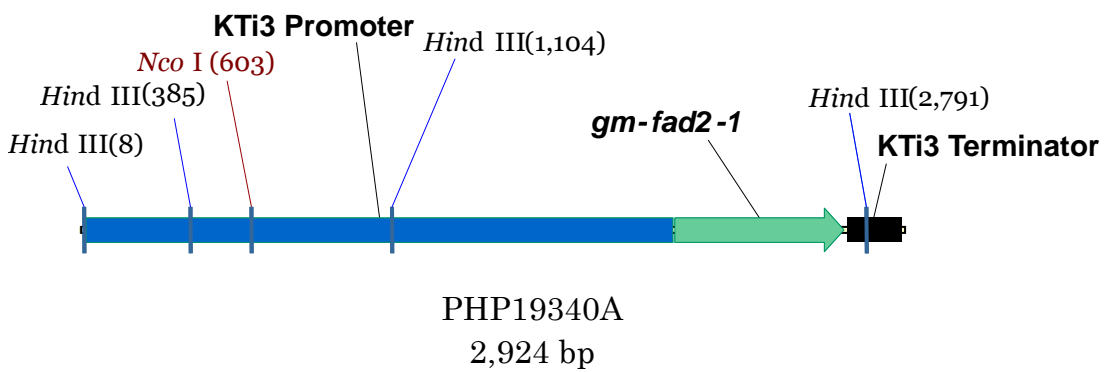
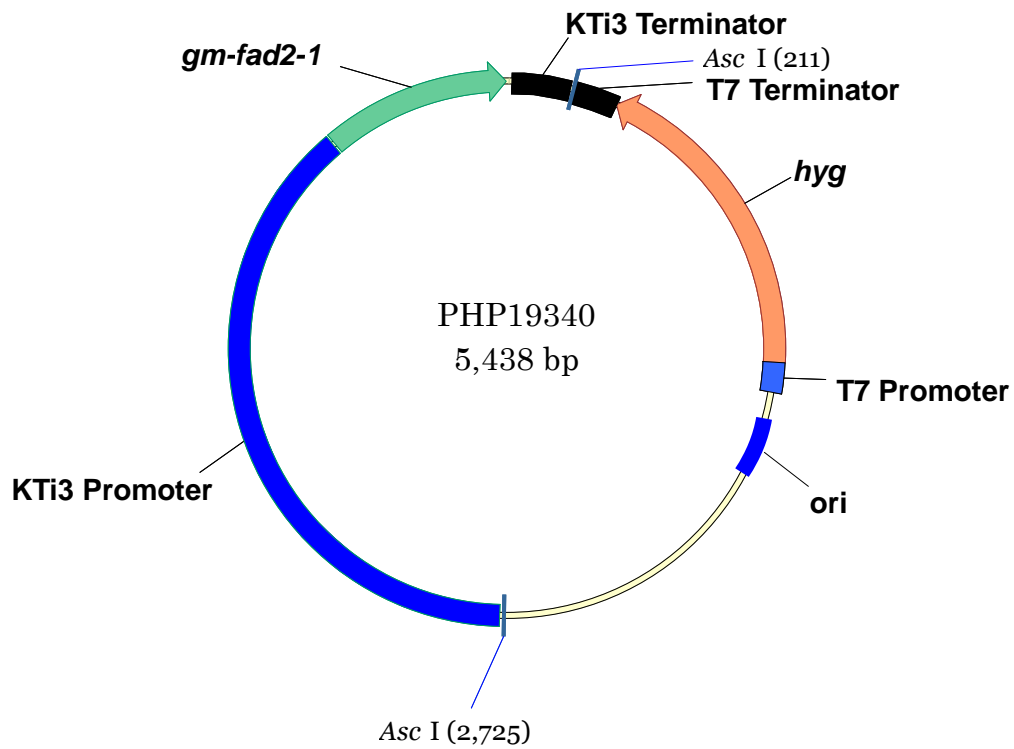
これらベクターに感染性はない。

## (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

40

核酸の移入に用いた直鎖状 DNA 断片 PHP19340A 及び PHP17752A 並びにプラスミド PV-GMGTO4 における供与核酸の構成及び制限酵素による切断部位を、図 3～図 5 (18～20ページ) に示した。



5

図 3 プラスミド PHP19340 及び直鎖状 DNA 断片 PHP19340A における供与核酸の構成及び制限酵素による切断部位

10

図の上段：プラスミド PHP19340。

図の下段：プラスミド PHP19340 から制限酵素 *Asc* I によって切り出される直鎖状 DNA 断片 PHP19340A。

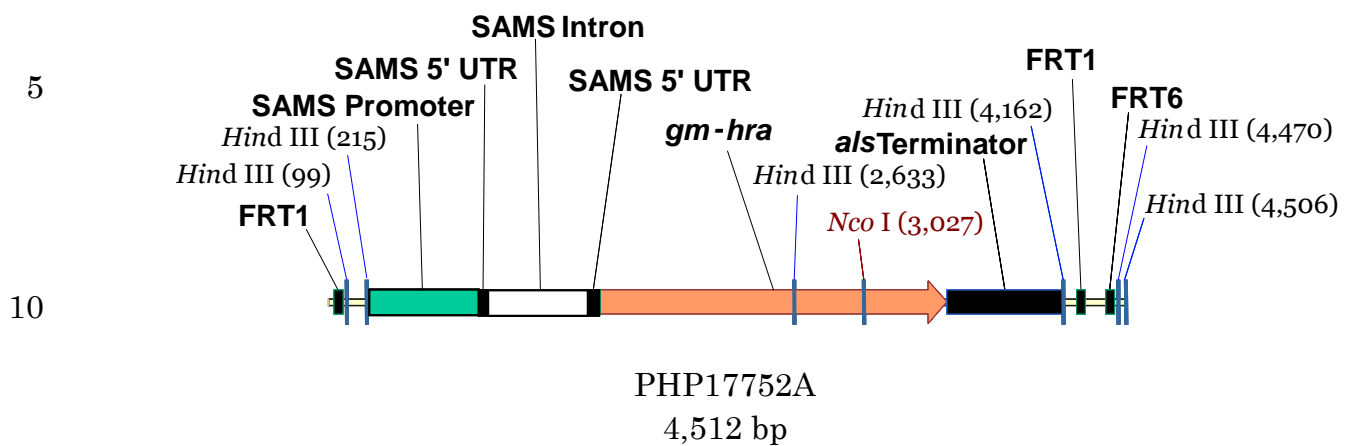
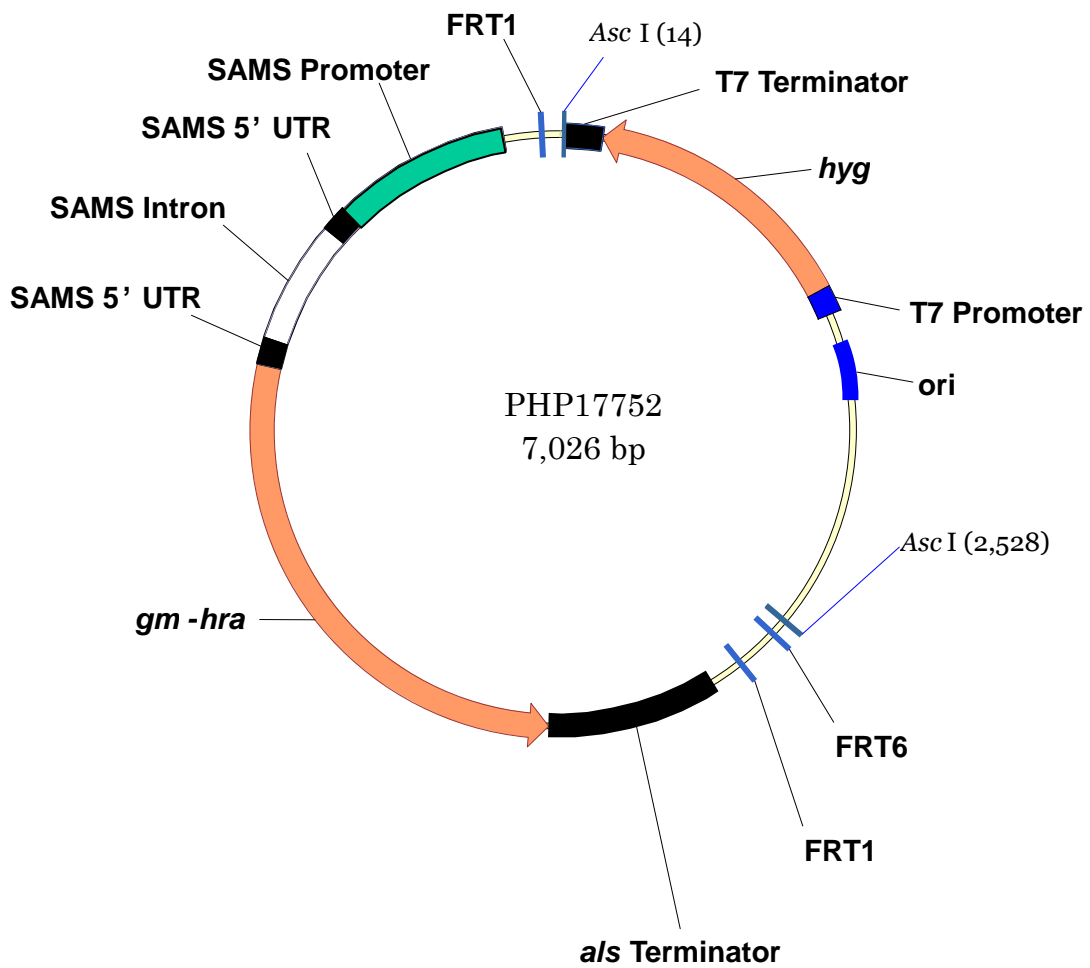
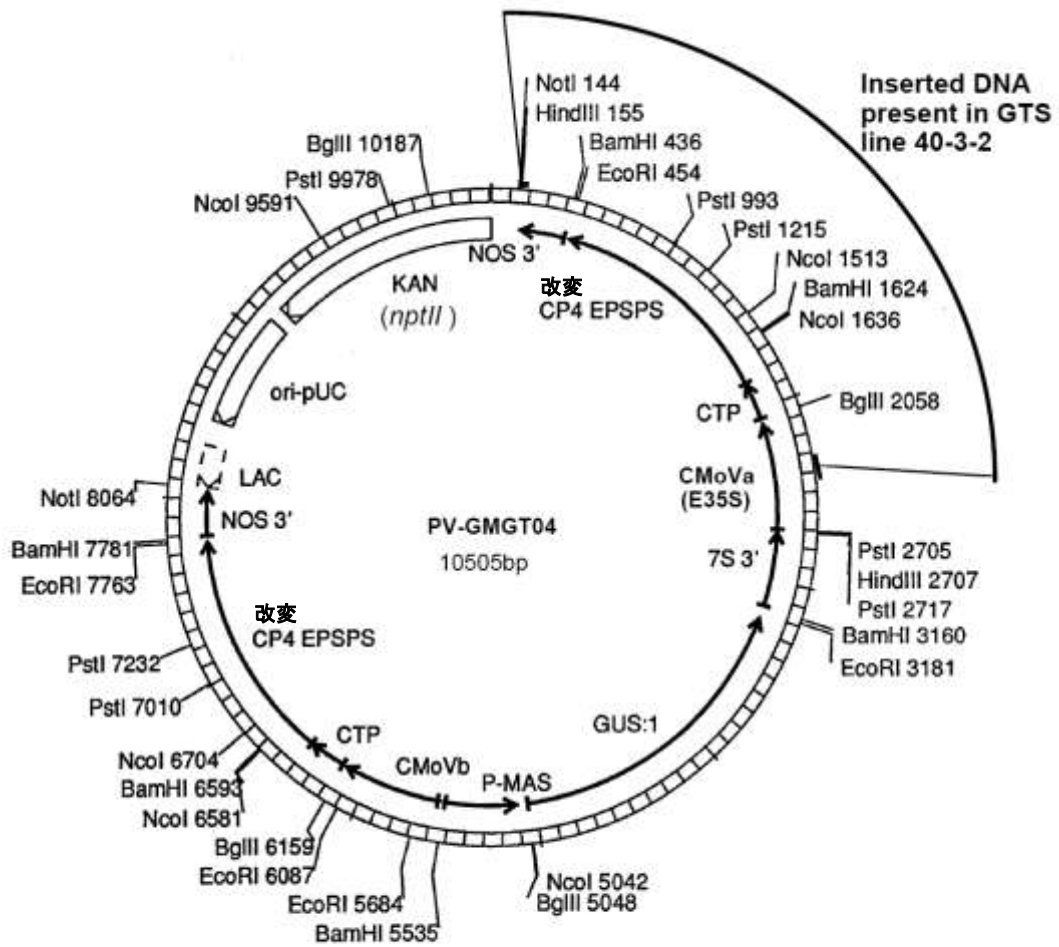


図 4 プラスミド PHP17752 及び直鎖状 DNA 断片 PHP17752A における供与核  
酸の構成及び制限酵素による切断部位

図の上段：プラスミド PHP17752。

図の下段：プラスミド PHP17752 から制限酵素 *Asc* I によって切り出される  
直鎖状 DNA 断片 PHP17752A。



5 図 5 プラスミド PV-GMGT04 における供与核酸の構成及び制限酵素による切断部位

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

5 宿主内への核酸の移入には、DP-305423-1 及び MON-04032-6 いずれの場合もパーティクルガン法が用いられた。

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方法

10

DP-305423-1 : 体細胞胚カルスをアセト乳酸合成酵素阻害剤クロロスルフロンを  
含む培地で継代培養し、*gm-fad2-1* 遺伝子と *gm-hra* 遺伝子の  
導入が確認されたカルスを選抜した (T0 世代)。

15

MON-04032-6 : 茎頂細胞をサイトカニン及びオーキシンを含む培地で生育させ不定芽を誘導し再分化させ、再分化個体の中から GUS 反応に陽性を示した個体が形質転換個体(=R0 世代)として選抜された。

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の菌体の残存の有無

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及び系統樹

25

親系統の作出から選抜・育成の経過は次のとおりである。

DP-305423-1 :

30

T0 世代の植物体を温室で生育させ種子 (T1 世代) を採取した。T1 世代以降を用いて実施したほ場栽培の結果に基づき、商品化系統として DP-305423-1 を選抜した。

MON-04032-6 :

35

R0世代以降について、グリホサート耐性の評価、耐性の遺伝様式の評価、農業形質評価及び挿入遺伝子の分析が行われ、最終的に米国及びプエルトリコで行われたほ場試験結果に基づき、商品化系統としてMON-04032-6が選抜された。

40

本スタック系統は、交雑育種法により DP-305423-1 及び MON-04032-6 を交配して作出した。その経過を、図 6 (22ページ; 社外秘情報につき非開示) に示した。本申請における承認対象の範囲は、F1 以降である。また、我が国における DP-305423-1 及び MON-04032-6 の申請及び承認状況は、表 4 (22ページ) のと

おりである。

(社外秘情報につき非開示)

5

図 6 本スタック系統の育成経過

表 4 DP-305423-1 及び MON-04032-6 の申請・承認状況

申請先	申請内容	申請・承認状況	
		DP-305423-1	MON-04032-6
厚生労働省	食品としての安全性	2009年4月申請	2001年3月承認
農林水産省	飼料としての安全性	2009年4月申請	2003年3月承認
農林水産省 及び環境省	第一種使用等（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）	学識経験者の意見聴取(総合検討会：2009年3月)及びパブリックコメント(2009年5～6月)終了	2005年5月承認

10

(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

15

DP-305423-1 の高オレイン酸形質及び *gm-hra* 遺伝子の有無、並びに MON-04032-6 の除草剤耐性の有無について、分離比を解析した結果、いずれも期待値の 3 : 1 に一致することが確認されている。したがって、メンデルの法則に従って伝達されていることから、移入された核酸の複製物は、ダイズ染色体ゲノム上に存在すると考えられた。

20

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

25 DP-305423-1 :

挿入領域をクローニングし塩基配列を決定した結果、遺伝子は下記 4 領域に挿入されたことが示された。

30

- ・領域 1 : 1 コピーの完全な *gm-fad2-1* 遺伝子発現カセット (PHP19340A) と 1 コピーの完全な *gm-hra* 遺伝子発現カセット (PHP17752A) に加えて、3 つの PHP19340A 断片及び 1 つの KTi3 プロモーター断片からなる。
- ・領域 2 : 1 つの PHP19340A 断片からなる。
- ・領域 3 : 1 つの KTi3 プロモーター断片及び 495 bp のプラスミド外骨格領域からなる。
- ・領域 4 : 逆方向に挿入された PHP19340A 断片からなる。

35

これら挿入遺伝子が後代に安定して遺伝することを確認するため、T4 及び T5 世代各 7 個体、並びに F2 世代 100 個体を用い、サザンブロット分析を行った結果、F2 世代の 1 個体の挿入領域 1 の *gm-hra* 遺伝子発現カセット及び隣接する KTi3 プロモーター断片が脱落したと考えられた。そこで、さらに F2 世代 1,000 個体について遺伝子の有無を確認した結果、遺伝子の脱落は観察されなかった。したがって、DP-305423-1 の挿入遺伝子は、後代に安定して遺伝することが確認された。

10 MON-04032-6 :

1 コピーの改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット領域に加え、250bp 及び 72bp の改変 *cp4 epsps* 遺伝子断片が挿入されていたが、これら遺伝子断片は機能していないことがノーザンブロット及びウェスタンブロット分析により確認されている。これら挿入遺伝子は、後代に安定して遺伝することがサザンブロット分析により示されている。

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

② (22ページ) で述べたように、DP-305423-1 及び MON-04032-6 に移入された核酸の複製物は、それぞれ安定して後代に遺伝していることが確認されている。このことから、DP-305423-1 及び MON-04032-6 の複数の挿入領域はいずれも強く連鎖していると考えられた。

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

本スタック系統の親系統の発現安定性は、以下の方法で確認された。

- DP-305423-1 に導入された *gm-fad2-1* 遺伝子：種子中の主要脂肪酸組成分析
- DP-305423-1 に導入された *gm-hra* 遺伝子：除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤散布試験及び ELISA 法による GM-HRA 蛋白質発現量測定
- MON-04032-6 に導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子：除草剤グリホサート散布試験

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

移入された核酸は伝達を可能とする配列を含まないため、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

① 検出の方法

5

DP-305423-1 及び MON-04032-6 のリアルタイム定量 PCR 法による系統特異的検出方法が、European Commission ウェブサイトに公開されている (Joint Research Centre, 2009a & 2009b)。検出された DP-305423-1 又は MON-04032-6 のコピー数の、ダイズ内在性遺伝子 (レクチン遺伝子) のコピー数に対する割合が、各親系統の含有量として算出される。

10

② 感度

DP-305423-1 の定量限界は 0.09%、MON-04032-6 は、0.1%である。

15

③ 信頼性

上述①の DP-305423-1 及び MON-04032-6 の検出の方法については、European Network of GMO Laboratories 加盟の各 12 及び 14 ヶ所の試験機関において、いずれも 4 反復で試験が行われ、信頼性が確認されている。

20

本スタック系統の検出及び識別には、1 つの種子又は植物体を上述の 2 つの方法で分析し、いずれの分析でも陽性の結果が出た場合、本スタック系統であることが確認できる。

25

(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

30

本スタック系統に付与された特性は、DP-305423-1 由来の *gm-fad2-1* 遺伝子による種子のオレイン酸高含有、*gm-hra* 遺伝子による除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性、及び MON-04032-6 由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子による除草剤グリホサート耐性である。

35

これら遺伝子の機能的な相互作用の可能性について検討した。

*gm-fad2-1* 遺伝子は、ダイズ内在性 *FAD2-1* 遺伝子の発現レベルを抑制するため、脂肪酸であるリノール酸の合成が抑制され、結果としてオレイン酸含有量が高くなる。*gm-hra* 遺伝子がコードする GM-HRA 蛋白質は、分枝アミノ酸 (バリン、ロイシン及びイソロイシン) 合成経路中のアセト乳酸合成酵素活性を有し、ピルビン酸及び  $\alpha$ -ケト酪酸を基質とする。改変 *cp4 epsps* 遺伝子がコードする改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、芳香族アミノ酸 (トリプトファン、チロシン及びフェ

40

ニルアラニン) 合成経路であるシキミ酸経路中の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)の活性を有する。EPSPS の基質となるのは、ホスホエノールピルビン酸塩(PEP)、シキミ酸-3-リン酸塩(S3P) 及びシキミ酸である。

5 このように、いずれの遺伝子も関与する代謝経路は互いに独立しており、GM-HRA 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質の基質及び作用も異なるため、予期しない代謝物が生じることは考え難い。

10 実際に、親系統由来遺伝子の本スタック系統における相互作用について検討するため、本スタック系統、親系統 (DP-305423-1 又は MON-04032-6) 及び非組換えダイズを用い、主要脂肪酸組成分析、並びに除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサート散布試験を行った。

15 種子中の主要脂肪酸組成分析の結果、本スタック系統と親系統 (DP-305423-1) の間で統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (表 5、26ページ)。また、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤又はグリホサート散布試験の結果、通常量、16 倍及び 32 倍のいずれの薬量においても、本スタック系統と親系統 (DP-305423-1 又は MON-04032-6) の間で統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (表 6、26ページ)。

20 以上、親系統 DP-305423-1 及び MON-04032-6 に付与された形質は、本スタック系統においても変化しておらず、親系統由来の遺伝子が本スタック系統において発現することによる相互作用はないと考えられた。

25 したがって、本スタック系統と宿主の属する分類学上の種であるダイズとの生理学的又は生態学的な相違について、我が国で実施した親系統 DP-305423-1 及び MON-04032-6 による隔離ほ場試験結果 ([http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public\\_comment/DP\\_305423\\_1\\_2009ap.pdf](http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/DP_305423_1_2009ap.pdf) 及び [http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public\\_comment/40-3-2ap.pdf](http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/40-3-2ap.pdf)) に基づき評価した。

30

表 5 本スタック系統と親系統種子中の主要脂肪酸組成の比較

ダイズ系統	脂肪酸含有率 (%総脂肪酸)				
	パルミチン酸 (C16:0)	ステアリン酸 (C18:0)	オレイン酸 (C18:1)	リノール酸 (C18:2)	リノレン酸 (C18:3)
本スタック系統 (BC1F5 世代)	6.5 a*±0.4	4.3 a ± 0.2	76.0 a ± 4.1	3.9 a ± 2.6	5.6 a ± 1.4
対照 親系統 (DP-305423-1)	6.3 a ± 0.5	4.4 a ± 0.3	76.5 a ± 3.7	3.6 a ± 2.6	5.4 a ± 1.1
(参考) 非組換えダイズ (BC1F6 null 世代)	10.3 b ± 0.2	5.0 b ± 0.4	21.1 b ± 2.4	52.5 b ± 1.6	9.4 b ± 1.4

n=18、平均値±標準偏差。各系統を 2005 年に北米の 6 ヶ所で栽培し、成熟期 (R8 期) に各ほ場それぞれ 3 プロットから種子を収穫した。線形混合モデル及び Tukey 法による検定を行った。

\* 異なる英文字間に統計学的有意差 (P<0.05) あり。

5

表 6 本スタック系統と親系統の除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサート散布による葉害の比較

除草剤	ダイズ系統	各農薬散布量における葉害 (%)			
		非散布	通常量 <sup>1)</sup>	16 倍	32 倍
アセト乳酸 合成酵素 阻害剤	本スタック系統 (BC1F6 世代)	0.0 ± 0.0	0.0 a <sup>2)</sup> ± 0.0	0.0 a ± 0.0	0.0 a ± 0.0
	対照 親系統 (DP-305423-1)	0.0 ± 0.0	3.3 a ± 6.1	0.0 a ± 0.0	0.0 a ± 0.0
	(参考) 非組換えダイズ (BC1F6 null 世代)	0.0 ± 0.0	3.3 a ± 5.2	10.8 b ± 6.7	13.3 b ± 5.2
グリホ サート	本スタック系統 (BC1F6 世代)	0.0 ± 0.0	0.0 a <sup>2)</sup> ± 0.0	18.3 a ± 6.8	34.2 a ± 10.7
	対照 親系統 (MON-04032-6)	0.0 ± 0.0	4.2 a ± 10.2	30.8 a ± 11.6	38.3 a ± 10.3
	(参考) 非組換えダイズ (BC1F6 null 世代)	0.0 ± 0.0	60.0 b ± 12.2		

n=3、平均値±標準偏差。各系統 10 個体 3 反復を温室で栽培し、3 葉期 (V3 期) に除草剤を散布した。散布後 14 及び 21 日後に、0% (全く影響を受けていない) から 100% (完全に枯死している) のスケールで、反復ごとに葉害程度を判定。分散分析及び各除草剤の散布量 (通常量、16 倍、32 倍) ごとの Sidak 法 (Westfall *et al.*, 2006) による多重比較を行った。

1) アセト乳酸合成酵素阻害剤: クロリムロン 11.2 g active ingredient (a.i.)/ha + チフェンスルフロン 3.6 g a.i./ha。

15 グリホサート: グリホサート 1.7 kg acid equivalent (a.e.)/ha。

2) 異なる英文字間に統計学的有意差 (P<0.05) あり。

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

5 a 形態及び生育の特性

形態及び生育の特性として、表 7 (28ページ) に記載した項目について、親系統 DP-305423-1 及び DP-305423-1 の育成過程で挿入遺伝子が分離・脱落して生じた非組換えダイズ BC1F6 null を用いた調査、並びに親系統 MON-04032-6 及び MON-04032-6 の宿主品種 A5403 を用いた調査が行われ、いずれの調査項目においても相違のないことが確認されている。

15 b 生育初期における低温又は高温耐性

DP-305423-1 及び MON-04032-6 は、生育初期における低温処理によって、非組換えダイズと同様に枯死した。

20 c 成体の越冬性又は越夏性

DP-305423-1 の植物体を、収穫期以降もほ場で栽培を続けた結果、非組換えダイズと同様に枯死した。また、MON-04032-6 及び非組換えダイズのいずれにおいても、収穫後に地上部からの新芽形成は観察されなかった。

25 d 花粉の稔性及びサイズ

DP-305423-1 及び MON-04032-6 の花粉を採取、染色し、観察した結果、花粉の稔性及びサイズのいずれにおいても、非組換えダイズとの間に相違のないことが確認されている。

表 7 形態及び生育の特性調査結果

	DP-305423-1	MON-04032-6
発芽揃い	○	○
発芽率	○	○
発芽期	—	○
開花始	—	○
開花期	○	○
開花揃	—	○
開花終	—	○
黄葉期	—	○
落葉期	—	○
莢黄変期	—	○
成熟期	○	○
小葉の形	○	—
葉の色	—	○
葉の大きさ	—	○
毛茸(毛じ)の色	—	○
毛茸(毛じ)の多少	○	○
毛茸(毛じ)の長短	—	○
毛茸(毛じ)の形状	—	○
毛茸(毛じ)の剛軟	—	○
花数	—	○
花色	—	○
草型	○	○
伸育型	—	○
生育習性	—	○
主茎長	○	○
茎の太さ	—	○
最下着莢(主茎)節位高	○	○
最下着莢主茎節位	—	○
主茎節数	○	○
分枝数	○	○
地下部全重	—	○
一株全重	—	○
一株莢実重	—	○
一株稔実莢数	—	○
一株稔実莢重	—	○
一株総莢数	○	—
一株(全)粒重	○	○
一株成熟(完全)粒数	○	○
一株成熟(完全)粒重	○	○
莢の色	—	○
莢当たりの粒数	—	○
裂莢の難易	○	○
百粒重	○	○
子実の形	○	—
種皮色	—	○
粒の揃い	—	○
臍の色	—	○

○：調査が行われた項目

—：調査が行われなかった項目

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

5 種子の生産量：②. a (27ページ) に示した調査において、DP-305423-1 の場合、一株総莢数、一株全粒重、一株成熟粒数、一株成熟粒重及び百粒重を、MON-04032-6 の場合、一株稔実莢数、一株稔実莢重、一株粒重、一株完全粒数、一株完全粒重、莢当たりの粒数、百粒重の調査が行われ、非組換えダイズとの間に相違のないことが確認されている。

10 裂莢性：②. a (27ページ) に示した調査において、裂莢性を裂莢の難易で評価した結果、DP-305423-1 と非組換えダイズはいずれも「難」で、両者間の裂莢性に相違は認められなかった。また、MON-04032-6 及び非組換えダイズのいずれにおいても、成熟1ヶ月後に落下莢又は落下種子のないことが確認されている。

15 休眠性及び発芽率：ダイズ種子にはほとんど休眠性がないとされている(OECD, 2000)。DP-305423-1 及びMON-04032-6 から収穫した種子の発芽率調査の結果、発芽率はそれぞれ98%以上及び95%以上であり、いずれも非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められていない。

20 f 交雑率

25 DP-305423-1 又は非組換えダイズと、それぞれに隣接して栽培した非組換えダイズとの交雑率を米国で調査した結果、0.3%及び0.7%であった。また、我が国の隔離ほ場試験において、DP-305423-1 と隣接して生育する非組換えダイズとの交雑は認められなかった。

30 開花期を調節したツルマメとMON-04032-6との交雑率の隔離ほ場及び非閉鎖系温室における調査では、MON-04032-6とツルマメの交雑は、非組換えダイズと同様、認められなかった。

30 g 有害物質の産生性

35 DP-305423-1 及びMON-04032-6 について行った、鋤込み試験、後作試験及び土壌微生物相試験の結果、いずれの試験においても非組換えダイズとの間で統計学的有意差のないことが確認されている。

### 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### (1) 使用等の内容

5

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

10

—

#### (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

15

—

#### (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

20

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

25

—

(6) 国外における使用等に関する情報

5 DP-305423-1 及び MON-04032-6 の国外における申請・承認状況は、以下のとおりである。

申請国	申請先	目的	申請・承認年月	
			DP-305423-1	MON-04032-6
米国	米国農務省 (USDA)	無規制裁培	2006年12月申請	1994年5月承認
	米国食品医薬品庁 (FDA)	食品・飼料としての利用	2009年1月確認終了	1995年1月確認終了
カナダ	カナダ食品検査庁 (CFIA)	環境安全性、飼料としての利用	2009年5月承認	1995年11月承認
	カナダ保健省 (HC)	食品としての利用	2009年5月承認	1996年4月承認
EU	欧州食品安全機関 (EFSA)	食品・飼料・輸入	2007年6月申請	1996年4月承認
オーストラリア/ニュージーランド	豪州・ニュージーランド食品基準機関(FSANZ)	食品(輸入)	2008年9月申請	2000年7月承認

10 本スタック系統は高オレイン酸含有ダイズとして付加価値のあるダイズ油の搾油を目的としており、商業栽培は、米国だけで実施する予定である。

15 なお、本スタック系統に付与されたアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性形質は、遺伝子導入された細胞を選抜するためのマーカーとしてのみ利用され、本スタック系統をアセト乳酸合成酵素阻害剤耐性のダイズとして農家に販売する予定はない。また、表 6 (26ページ) の試験において、本スタック系統における除草剤耐性レベルを、米国の農薬登録で認められている最大使用量に加えて、その 16 倍及び 32 倍の薬量で散布して評価した。この 16 倍及び 32 倍の薬量での散布は、除草剤耐性レベルを評価する目的で実施したものであり、商業栽培におけるこのような薬量での散布は想定していない。



## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 本スタック系統は、交雑育種法により DP-305423-1 及び MON-04032-6 を交配  
して作出した。本スタック系統における *gm-fad2-1* 遺伝子、*gm-hra* 遺伝子及び  
10 改変 *cp4 epsps* 遺伝子の発現は、それぞれオレイン酸からリノール酸への合成、  
分枝アミノ酸合成及び芳香族アミノ酸合成に関わる。これらの代謝経路はいずれ  
も植物体内で独立したものであり基質も異なるため、上記導入遺伝子の発現が相  
15 互に影響することは考え難い（第一.2.(1).③、11ページ）。実際に、本スタック  
系統のアミノ酸組成は、親系統又は非組換えダイズと同程度であり（第一.2.(1).  
③、11ページ）、主要脂肪酸組成、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性及びグ  
20 リホサート耐性は、それぞれの親系統と同程度であった（第一.2.(6).①、24ペー  
ジ）。

15 したがって、本スタック系統については、親系統が有する形質を併せ持つこと  
以外に評価すべき形質の変化はないと考えられるため、生物多様性影響の評価は、  
親系統の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。

### 1 競合における優位性

20

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズが我が国において野生化したという報告はない。

25 本スタック系統の親系統 DP-305423-1 及び MON-04032-6 を用いた隔離ほ場試  
験において、競合における優位性に関わる諸特性（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  
30 粒性、休眠性及び発芽率）について評価が行われた。その結果、DP-305423-1 及  
び MON-04032-6 のいずれの場合も、非組換えダイズとの間で諸特性に相違のな  
いことが確認されている（第一.2.(6).②. a~e、27~29ページ）。

35 本スタック系統では、*gm-fad2-1* 遺伝子により、オレイン酸含有率が 75%程度  
まで増加している（第一.2.(6).①、24ページ）。しかしながら、種子中のオレイ  
ン酸が発芽時におけるエネルギー供給等に特に影響を及ぼしているとの報告はな  
い。

40 また、本スタック系統には、*gm-hra* 遺伝子及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子により除  
草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサートに対する耐性が付与されている。  
しかしながら、通常これら除草剤が散布されることがない自然環境下では、本ス  
タック系統の競合における優位性が高まるとは考え難い。

以上、本スタック系統に関して、競合における優位性に起因して生物多様性影  
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

—

5

(3) 影響の生じやすさの評価

—

10 (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起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

15

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

20 ダイズが野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

本スタック系統に産生される GM-HRA 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質については有害物質であるとの報告はなく、既知アレルゲンとの相同性も認められていない (第一.2.(1).ロ.②、10ページ)。DP-305423-1 では、意図したオレイン酸含有率の増加以外に、種子中のヘプタデカン酸、ヘプタデセン酸及び葉中のロイシンにおいて、非組換えダイズに比べ統計学的有意な増加が認められた (第一.2.(1).ロ.③、11ページ)。しかしながら、これら脂肪酸及びロイシンは多くの動植物種にも含まれ、有害物質であるという報告はない。

30

実際、DP-305423-1 及び MON-04032-6 を用いた隔離ほ場における後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験の結果、有害物質の産生性に関する各評価項目において非組換えダイズとの間に統計学的有意差のないことが確認されている (第一.2.(6).②. g、29ページ)。したがって、本スタック系統中においても有害物質が産生されることは考え難い。

35

以上、本スタック系統に関して、有害物質の産生性に起因して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。

40 (2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

5 (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、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

10

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

15 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、我が国に自生するダイズと交雑可能なツルマメがある。

(2) 影響の具体的内容の評価

20 ダイズとツルマメの自然交雑により生じた雑種に、生育や生殖に関する障害は見られないことが知られている (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。したがって、本スタック系統とツルマメが交雑して雑種を形成し、本スタック系統に導入された遺伝子がツルマメの集団中に浸透する可能性が考えられる。

25 (3) 影響の生じやすさの評価

我が国において、本スタック系統とツルマメが交雑する可能性は否定できない。そこで、交雑性に関する影響の生じやすさを評価するに当たり、まず、従来のダイズ又は親系統とツルマメの雑種が生ずる可能性並びに本スタック系統とツルマメの雑種が生ずる可能性を検討した。次に、雑種が生じた場合に、集団中で優占化する可能性について考察し、本スタック系統の導入遺伝子が、ツルマメの集団中に浸透する可能性について検討した。

35 従来のダイズとツルマメの雑種が生ずる可能性：

ツルマメは全国的に分布し (農業技術体系, 2002)、野原、道ばた、河原等に自生する (OECD, 2000)。

40 しかしながら、ダイズの開花期はツルマメよりも早く、両種の開花期は重なりにくいことが知られている (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。我が国の北部、中部及び南部の計7ヶ所でダイズほ場に隣接して生育するツルマメ種子を収穫し、マイクロサテライトマーカーを用いてダイズとの自然交雑を調査した結果、ツル

5 マメ種子 672 粒中に交雑を示唆する遺伝マーカーは検出されなかった (Kuroda *et al.*, 2008)。また、両種の開花時期を人為的に一致させ、ダイズとツルマメを交互に 50cm 間隔で栽培した試験における両種間の交雑率は 0.73%であった (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。このように、交雑の可能性を高めた条件下でも、従来のダイズとツルマメの雑種が生ずる可能性は低いと考えられた。

親系統とツルマメの雑種が生ずる可能性：

10 DP-305423-1 及び MON-04032-6 の生殖に関わる形質、すなわち花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量について、非組換えダイズとの間に相違は認められていない (第一.2.(6).②.d~e、27~29ページ)。ほ場における DP-305423-1 と非組換えダイズとの交雑率は、これまでに知られているダイズ間の他殖率 (3%以下) を超えるものではなかった。また、ほ場における MON-04032-6 とツルマメの交雑は認められず (第一.2.(6).②.f、29ページ)、人為的に開花時期を一致させ、  
15 MON-04032-6 にツルマメが巻きついた状態で生育させた交雑試験では、収穫したツルマメの種子 32,502 粒中、1 粒だけ MON-04032-6 と交雑していた (Mizuguti *et al.*, 2009)。このように、従来のダイズの場合と同様、親系統がツルマメと雑種を生ずる可能性は低いと考えられた。

20 本スタック系統とツルマメの雑種が生ずる可能性：

前述のように、親系統がツルマメと雑種を生ずる可能性は、従来のダイズと同様、低いと考えられた。親系統に導入された遺伝子の本スタック系統における発現が、本スタック系統の生殖に関わる形質に影響を及ぼす可能性は考え難い。これらことから、本スタック系統がツルマメと雑種を生ずる可能性も、従来のダイズと同様、低いと考えられた。

本スタック系統とツルマメの雑種が生じた場合に、集団中で優占化する可能性：

30 仮に本スタック系統とツルマメが交雑した場合、その雑種は *gm-fad2-1* 遺伝子、*gm-hra* 遺伝子及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子により、オレイン酸高含有並びに除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサート耐性形質を有すると考えられる。しかしながら、前述のように、これら形質が競合における優位性を高めるとは考え難いため (第二.1.(1)、32ページ)、その雑種がツルマメの集団において優占化する  
35 可能性は低いと考えられた。

## 結 論

40 以上、我が国に自生するツルマメが本スタック系統と交雑する可能性は、従来のダイズと同様、低いと考えられた。仮に交雑して雑種を生じたとしても、その雑種がツルマメの集団において優占化する可能性は考え難い。したがって、本スタック系統の導入遺伝子が、ツルマメの集団中に浸透する可能性は低いと考えられた。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

5 以上、本スタックシステムの交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

4 その他の性質

10 —

### 第三 生物多様性影響の総合的評価

5           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おり、我が国でも食用として栽培されている。これまで、我が国においてダイズが野生化し、野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼしたという報告はない。

10           本スタック系統は、DP-305423-1 及び MON-04032-6 を交雑育種法により交配して作出した。本スタック系統において、*gm-fad2-1* 遺伝子、*gm-hra* 遺伝子及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子の発現が機能的に相互に影響することは考え難い。実際に、本スタック系統のアミノ酸組成は、親系統又は非組換えダイズと同程度であり、主要脂肪酸組成、除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤耐性及びグリホサート耐性は、それぞれの親系統と同程度であった。したがって、本スタック系統の生物多様性  
15           影響の評価は、親系統の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。

            競合における優位性に関し、親系統の諸特性の評価が行われ、いずれの親系統の場合も、非組換えダイズとの間で相違は認められていない。

20           本スタック系統では、*gm-fad2-1* 遺伝子により、オレイン酸含有率が高められているが、種子中のオレイン酸が発芽時におけるエネルギー供給等に特に影響を及ぼしているとの報告はない。また、本スタック系統には、*gm-hra* 遺伝子及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子により除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサートに対する耐性が付与されているが、通常これら除草剤が散布されることがない自然  
25           環境下では、本スタック系統の競合における優位性が高まるとは考え難い。

            以上、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

30           ダイズが野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

            本スタック系統に産生される GM-HRA 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、有害物質であるとの報告はなく、既知アレルゲンとの間で相同性も認められなかった。また、DP-305423-1 では、意図したオレイン酸の増加以外に、種子中のヘ  
35           プタデカン酸、ヘプタデセン酸及び葉中のロイシンにおいて、非組換えダイズに比べ統計学的有意な増加が認められた。しかしながら、これら脂肪酸及びロイシンは多くの動植物種にも含まれ、有害物質であるという報告はない。実際、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験の結果、親系統と非組換えダイズの間  
40           に統計学的有意差は認められていない。

            以上、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

5 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、ダイズと交雑  
可能なツルマメが特定された。ダイズとツルマメの開花期は重なりにくく、交雑  
率が低いことが知られている。親系統の生殖に関わる形質は、非組換えダイズと  
10 同程度であった。また、DP-305423-1 と非組換えダイズとの交雑率、MON-04032-6  
とツルマメとの交雑率はいずれも低かった。したがって、本スタック系統がツル  
マメと雑種を生ずる可能性は、従来ダイズと同様、低いと考えられた。仮に本  
スタック系統とツルマメの雑種を生じた場合、その雑種はオレイン酸高含有並び  
15 に除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサート耐性の形質を有すると考え  
られる。しかしながら、これら形質が競合における優位性を高めることは考え難  
く、雑種がツルマメの集団において優占化する可能性は低い。したがって、本ス  
タック系統の導入遺伝子が、ツルマメの集団中に浸透する可能性は低いと判断さ  
れた。

15 以上、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

上記の各評価に基づき、本スタック系統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が生ずるおそれはないと総合的に結論された。

20

## 緊急措置計画書

平成 21 年 11 月 25 日

5 氏名 デュポン株式会社  
代表取締役社長 天羽 稔  
住所 東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

10

15 高オレイン酸含有並びに除草剤アセト乳酸合成酵素阻害剤及びグリホサート耐性  
ダイズ (*gm-fad2-1*, *gm-hra*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (305423×  
40-3-2, OECD UI: DP-305423-1×MON-04032-6) (以下、「本スタック系統」という。) について、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。

20 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

25 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、バイオテクノロジー事業部）の部門長等から構成される。危機対策本部が、本スタック系統の開発者である米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社との円滑な連絡を確保する。本組織は、バイオテクノロジー事業部長が副責任者となる。

(個人名・所属は個人情報につき非開示)

30



## 2 第一種使用等の状況の把握の方法

5 弊社は、本スタックシステムの開発者である米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社と連絡をとり、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

10

15 米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社は、米国における本スタックシステム種子の購入者及び穀物取扱い業者、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、科学的根拠に基づき、本スタックシステム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、米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社は、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。

20

## 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

25 科学的根拠に基づき、本スタックシステム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、米国パイオニア・ハイブレット・インターナショナル社とともに、日本向けに輸出している穀物取扱い業者に対して本件を通知する。

30

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

35 科学的根拠に基づき、本スタックシステム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、速やかに農林水産省消費・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。

## 参考文献

(社外秘情報につき非開示)