

除草剤ジカンバ及びグリホサート耐性ダイズ (改変 *dmo*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.)(MON87708 × MON89788, OECD UI: MON-87708-9 × MON-89788-1) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書 .....	1
生物多様性影響評価書 .....	3
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報 .....	3
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報 .....	3
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況 .....	3
① 和名、英名及び学名 .....	3
② 宿主の品種名又は系統名 .....	3
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域 .....	3
(2) 使用等の歴史及び現状 .....	4
① 国内及び国外における第一種使用等の歴史 .....	4
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途 .....	4
(3) 生理学的及び生態学的特性 .....	5
イ 基本的特性 .....	5
ロ 生息又は生育可能な環境の条件 .....	5
ハ 捕食性又は寄生性 .....	5
ニ 繁殖又は増殖の様式 .....	6
① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命 .....	6
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 .....	6
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 .....	6
④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命 .....	10
ホ 病原性 .....	10
ヘ 有害物質の産生性 .....	10
ト その他の情報 .....	10
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 .....	10
(1) 供与核酸に関する情報 .....	11
イ 構成及び構成要素の由来 .....	11
ロ 構成要素の機能 .....	11
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 .....	11

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	17
③	宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	22
(2)	ベクターに関する情報	23
イ	名称及び由来	23
ロ	特性	23
①	ベクターの塩基数及び塩基配列	23
②	特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能	23
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	23
(3)	遺伝子組換え生物等の調製方法	23
イ	宿主内に移入された核酸全体の構成	23
ロ	宿主内に移入された核酸の移入方法	26
ハ	遺伝子組換え生物等の育成の経過	26
①	核酸が移入された細胞の選抜の方法	26
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	26
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	27
(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	30
①	移入された核酸の複製物が存在する場所	30
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	30
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	30
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	30
⑤	ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝播されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度	31
(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	31
(6)	宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	31

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 .....	31
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 .....	32
	a 形態及び生育の特性 .....	32
	b 生育初期における低温耐性 .....	32
	c 成体の越冬性 .....	32
	d 花粉の稔性及びサイズ .....	32
	e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率 .....	32
	f 交雑率 .....	32
	g 有害物質の産生性 .....	32
3	遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 .....	33
(1)	使用等の内容 .....	33
(2)	使用等の方法 .....	33
(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 .....	33
(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 .....	33
(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 .....	33
(6)	国外における使用等に関する情報 .....	33
第二	項目ごとの生物多様性影響の評価 .....	35
1	競合における優位性 .....	35
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....	35
(2)	影響の具体的内容の評価 .....	35
(3)	影響の生じやすさの評価 .....	35
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 .....	35
2	有害物質の産生性 .....	35
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....	35
(2)	影響の具体的内容の評価 .....	35
(3)	影響の生じやすさの評価 .....	35
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 .....	35
3	交雑性 .....	36
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....	36
(2)	影響の具体的内容の評価 .....	36
(3)	影響の生じやすさの評価 .....	36

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 .....	36
第三 生物多様性影響の総合的評価 .....	37
引用文献 .....	38
緊急措置計画書 .....	49
除草剤ジカンバ及びグリホサート耐性ダイズ (改変 <i>dmo</i> , 改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.)(MON87708 × MON89788, OECD UI: MON-87708-9 × MON-89788-1) の資料リスト .....	51

第一種使用規程承認申請書

平成 24 年 10 月 26 日

農林水産大臣 郡司 彰 殿  
環境大臣 長浜 博行 殿

申請者 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 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	除草剤ジカンバ及びグリホサート耐性ダイズ (改変 <i>dmo</i> , 改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON87708 × MON89788, OECD UI: MON-87708-9 × 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

#### 5 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

##### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

###### ① 和名、英名及び学名

10

和名：ダイズ

英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

15

###### ② 宿主の品種名又は系統名

親系統の作出に使った品種名は以下のとおりである。

MON87708 は品種 A3525 を用いた。

MON89788 は品種 A3244 を用いた。

20

###### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

ダイズはマメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属する。*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 (OECD, 2000)。細胞学的、形態学的及び分子生物学的知見から、栽培種であるダイズ (*G. max*) は野生種である *G. soja* が祖先と考えられており、一方、*G. gracilis* は *G. soja* から *G. max* への分化における中間種又は *G. soja* と *G. max* の雑種であるという報告があるが (OECD, 2000)、確認はされていない。これらの野生種のうち、わが国に分布しているのはツルマメのみであり *G. gracilis* の分布は認められていない (日本雑草学会, 1991; 沼田ら, 1975)。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 (OECD, 2000)、わが国においては北海道、本州、四国及び九州に分布し、主に河川敷や前植生が攪乱された工場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や道端に自生している (浅野, 1995; 高橋ら, 1996; 沼田ら, 1975; 大橋, 1999)。また、北海道、東北及び四国で行われたツルマメの自生地に関する調査では、主に河川流域で自生地が確認された例が多く報告されている (河野ら, 2004; 菊池ら, 2005; 猿田ら, 2007; 2009; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009)。

なお、ダイズは夏型一年生の栽培種であり、自生しているという報告はない (OECD, 2000)。

40

## (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 (昆野, 1987)。わが国へは弥生時代に渡来、栽培が始まったと考えられている (山内ら, 1992)。

### 10       ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

15       国際連合食糧農業機関 (FAO) の統計情報によると、2010 年の全世界におけるダイズの栽培面積は約 10,239 万 ha であり、上位国を挙げると米国が約 3,101 万 ha、ブラジルが約 2,329 万 ha、アルゼンチンが約 1,813 万 ha、インドが約 912 万 ha となっている。なお、同統計情報に基づく 2010 年のわが国における栽培面積は約 13.8 万 ha であった (FAOSTAT, 2012)。

20       わ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 月下旬、東北地方南部、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 4 月上旬から下旬 (夏ダイズ) 及び 7 月上旬から 8 月上旬 (秋ダイズ) 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。雑草の防除については、生育期間中に除草を早めに行い、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ため、雑草は比較的発生し難くなる。また病害虫の防除は、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。収穫には、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 (栗原ら, 2000)。

30       2011 年のわが国におけるダイズの輸入量は約 283 万トンであり、そのうちの約 67%が米国から輸入されている (財務省, 2012)。2009 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<sup>1</sup>は約 367 万トンであった。国内消費仕向量の用途別内訳は、飼料用が約 11.5 万トン、種子用が約 0.7 万トン、加工用<sup>2</sup>が約 265.5 万トン、減耗量<sup>3</sup>が約 6.8 万トン、粗食料<sup>4</sup>が約 82.3 万トンとなっている (農林水産省, 2011a)。

<sup>1</sup> 国内生産量+輸入量-輸出量-在庫の増加量 (又は+在庫の減少量) から算出される。2009 年は、輸出量は約 0 万トン、在庫は約 5 万トン減であったため、 $23+339-0+5=367$  (万トン) が国内消費仕向量となる。

<sup>2</sup> ダイズの加工用の定義は搾油用、味噌用及び醤油用への仕向量とされている。

<sup>3</sup> 食料が生産された農場等の段階から、輸送、貯蔵を経て家庭の台所等に届く段階までに失われる全ての数量。

<sup>4</sup> 国内消費仕向量-(飼料用+種子用+加工用+減耗量) から算出される。



わ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、煮豆及び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 (御子柴, 1995)。

5

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

10      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 (OECD, 2000)。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 (後藤, 1995)。花には 1 本の雌ずいがあり、その基部の子房に 1~5 個  
15      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 (後藤, 1995)。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°C 以上を必要として 25°C 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 (昆野, 1987)。

20

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズ種子の発芽適温は 30~35°C、最低発芽温度及び最低生育温度は 2~4°C であり、10°C 以下での発芽は極めて悪い (昆野, 1987)。ダイズの栽培適地は、  
25      生育期間中 18~28°C 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受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 度のスウェーデンでも栽培可能である (昆野, 1987)。

MON87708 及び MON89788 の宿主である A3525 及び A3244 は、米国において、およそ北緯 38 度から 40 度の栽培地域に適した品種 (Maturity Group III) に  
30      分類される (Graphic Maps, 2012; Wiebold, 2002)。この栽培地域において、Maturity Group III に分類される品種は 5 月上旬から 6 月中旬の間に播種される。また、7 月中旬から 8 月上旬までが開花期に当たり (Schapaugh, 1997)、開花が始まる最も早い時期の日長時間は約 15 時間である (Lammi, 2008)。

35      なお、わが国において、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

40

—

## 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

5       ダイズの種子は裂莢した際に地表に落下する。わ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裂莢性の程度は低い。  
今回、遺伝子導入に用いた宿主である A3525 及び A3244 もまた難裂莢性である  
10       ことが認められている。ダイズの種子休眠性については知られていない。また、  
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（昆野、  
1995）。

### 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

15       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

20       ダイズ ( $2n=40$ ) と交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのは *G.*  
*soja* (和名: ツルマメ、 $2n=40$ ) のみである (日本雑草学会, 1991; 沼田ら, 1975;  
25       OECD, 2000)。ツルマメは北海道、本州、四国及び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跡地や畑の周辺、その他、日  
当たりの良い野原や道端に自生している (浅野, 1995; 高橋ら, 1996; 沼田ら,  
1975; 大橋, 1999)。また、北海道、東北及び四国で行われたツルマメの自生地  
30       に関する調査では、主に河川流域で自生地が確認された例が多く報告されてい  
る (河野ら, 2004; 菊池ら, 2005; 猿田ら, 2007; 2009; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009)。

      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  
ツルマメがわが国で確認されており (島本ら, 1997; 阿部ら, 2001)、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  
35       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の報告がある (阿部ら, 2001)。そのため、仮  
にこのような形態的中間型の個体がわが国で自生していたとしても、その生育  
40       する範囲はかなり限られていると考えられる。

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、通常開花前に開葯し、受粉が完了する。さらに、開花期の後半は、ほとんどの花が開花しない閉花受粉であるため (阿部ら, 2001)、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平均で 3.62% (Beard and Knowles, 1971)、ツルマメ同士における他家受粉率は平均で 2.3% (Kiang et al., 1992) と報告されている。

しかし、ダイズの家受粉率は、条件によっては上昇することもある。例えば、ダイズ間の他家受粉率については、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、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 (Abrams et al., 1978)。またツルマメ間の他家受粉率に関しても、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 (Fujita et al., 1997)。この集団から採取されたツルマメの 1 胚珠当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 胚珠当たりの平均的な花粉数 (Cruden, 1977) の間であった。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、又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。なお、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花粉を媒介する昆虫であるミツバチやクマバチなどが頻繁に観察されていた。このことから、このツルマメ集団の周りの環境には、他家受粉を引き起こす要因が通常よりも多く存在していたと考えられる (Fujita et al., 1997)。

ダイズとツルマメは、前述したようにいずれも閉花受粉を行う自殖性植物である。さらに、吉村ら (2006) は、ツルマメとダイズの開花時期は異なるため、一般にダイズとツルマメとの自然交雑は起こりにくいと述べている。吉村 (2008) は、関東地方では両者の開花には1ヵ月ほどの差がみられるとしている。なお、ツルマメの開花時期について、岩手県では 8 月上旬から 9 月中旬との報告がある (須田・白澤, 1995)。また、加賀ら (2006) は青森及び広島で採取されたツルマメ系統を秋田、茨城及び広島の 3 地点で栽培したところ、その開花期は 8 月中旬から 9 月中旬であったと報告している。

Nakayama and Yamaguchi (2002) は、ダイズとツルマメの間の交雑率を調査する目的で、丹波黒を用いた交雑試験を行っている。なお、丹波黒を用いた理由は、奥原早生や鶴の子大豆といった品種ではダイズとツルマメの開花期が全く重ならないか重なるとしても数日であるが、丹波黒はダイズ品種の中で開花期が遅いため、ダイズとツルマメの開花期が 2 週間程度重複したためであると報告している。そのため丹波黒とツルマメ (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。自然交雑実験終了後に結実したツルマメから採種された 686 粒の種子から植物体を生育させ、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植物体が 5 個体認められたことから、

その交雑率は 0.73%と報告している (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。

また、農業環境技術研究所において、2005 年に除草剤グリホサート耐性の遺伝子組換えダイズとツルマメを 5 cm 離して異なる 3 つの播種日で栽培し、ツルマメ個体の収穫種子を調査したところ、ダイズと自然交雑した交雑種子はそれぞれ  
5 ぞれの播種日で 7,814 粒中 0 粒、12,828 粒中 0 粒及び 11,860 粒中 1 粒であり、この交雑種子はダイズの播種時期をずらして両種の開花最盛期を最も近くした群から見つかったと報告されている (Mizuguti et al., 2009)。

さらに、2006 年及び 2007 年には除草剤グリホサート耐性の遺伝子組換えダイズのプロット (4 条 (10 個体/条)) の間にツルマメ 3 個体を網状の壁に沿わせて  
10 栽培した場合の自然交雑率が調査されている (吉村, 2008)。その結果、ダイズと自然交雑した交雑種子数は 2006 年の試験では 44,348 粒中 0 粒、ダイズとツルマメの開花期間の重複が 2006 年の試験より長くなった 2007 年の試験では 25,741 粒中 35 粒であったと報告されている (吉村, 2008)。また、農業環境技術研究所は 2006 年及び 2007 年に、前述の 5 cm 離して栽培する試験区に加え、遺伝子組  
15 換えダイズから 2 m、4 m、6 m、8 m 及び 10 m 離してツルマメを栽培した試験区を設定し、その自然交雑率を調査している。その結果、自然交雑した交雑種子は、2006 年の試験では 68,121 粒中 0 粒、ダイズとツルマメの開花期間の重複が 2006 年の試験より長くなった 2007 年の試験では 66,671 粒中 3 粒であった。  
20 なお、2007 年の試験において見られた 3 粒の交雑個体については、2 m、4 m 及び 6 m の区でそれぞれ 1 個体ずつ得られたと報告されている (吉村, 2008)。

よって、ダイズとツルマメ集団が隣接して生育し、かつ開花期が重なり合う場合は交雑し得るが、そのような特殊な条件の場合でも、ダイズとツルマメが交雑する頻度は極めて低いと考えられた。

実際に、1996 年以降、15 年間除草剤グリホサート耐性ダイズが輸入されているが、農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査 (2009 年、2010 年及び 2011  
25 年) のダイズ輸入実績港 10 港での調査の結果では、ダイズ陸揚地点から半径 5 km 以内において除草剤グリホサート耐性ダイズとツルマメの交雑体は認められなかった (農林水産省, 2011b, 2011c, 2012)。また、わが国と同様に、ツルマメの自生地域であり、かつ除草剤グリホサート耐性ダイズを輸入している韓国にお  
30 いて、2000 年に広範囲の地域から採取された 243 系統のツルマメに除草剤グリホサートを散布したところ、全ての系統が枯死し、除草剤グリホサート耐性ダイズとツルマメの交雑体は確認されなかったと報告されている (Kim et al., 2003)。

35 従来ダイズとツルマメの雑種形成及びその後のダイズからツルマメへの遺伝子浸透に関しては、わが国において経時的な調査が行われている。2003 年から 2006 年にかけてツルマメと従来ダイズの雑種が、どの程度自生地において形成

されているかを確認するために、日本各地のダイズ畑周辺で栽培ダイズとツルマメとの中間体が探索されている。その結果、調査した 58 地点 (秋田県 8 地点、茨城県 7 地点、愛知県 4 地点、広島県 6 地点及び佐賀県 33 地点) のうち秋田県の 1 地点及び佐賀県の 5 地点から、形態的にダイズとツルマメの中間的な特徴を持つ 17 個体の中間体が発見され、その後、マイクロサテライトマーカーにより、これらの中間体はすべてダイズとツルマメの自然交雑に由来することが明らかになった (Kuroda et al., 2010)。

しかし、これら発見された中間体と同じ集団内で生存し続けるかどうかの追跡調査を、中間体の見つかった秋田県 1 地点及び佐賀県 5 地点について行ったところ、佐賀県の 1 地点を除き翌年には雑種後代は確認されなかった。佐賀県の 1 地点では、翌年に 1 個体の雑種後代を確認したものの、翌々年は確認されなかった (Kuroda et al., 2010)。

さらに、ダイズからツルマメへの自然交雑の有無を DNA レベルで明らかにするために、F1 雑種及び雑種後代が発見された地点を含めて、秋田県、茨城県及び佐賀県の 14 地点の種子 1,344 サンプルをマイクロサテライトマーカーで解析した結果、従来ダイズ由来の遺伝子のツルマメ集団中への浸透は確認されなかった (Kuroda et al., 2008)。同様に Stewart et al. (2003) も「ダイズから野生種への遺伝子浸透に関する分子学的事実はない」と述べている。

このようにダイズとツルマメの雑種の生存が制限される理由として、雑種自体の競合性の低下が考えられる。ダイズは人為的な栽培環境に適応進化し、自然環境で生育していくための形質を失っている可能性が考えられる。実際に、自然環境に適応したツルマメと栽培作物であるダイズでは形態的及び生態的特性に大きな違いがある。したがって、雑種及び雑種後代が栽培作物であるダイズの遺伝子がある割合で有することにより、自然環境に適応するのに不利になっている可能性がある。

実際に、人為的に交配して得た従来ダイズとツルマメの雑種を親系統であるツルマメとともに播種した後で、それらの定着の様子を 3 年間追跡調査した結果、雑種系統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いたことが示されている (Oka, 1983)。さらに、従来ダイズとツルマメの雑種においては、休眠性及び倒伏性及び裂莢性はツルマメに比べ低下していることが報告されている (Chen and Nelson, 2004; Oka, 1983)。

前述したように、Kuroda et al. (2010) は 2003~2006 年に行った中間体の調査の結果、17 個体の中間体が発見しているが、雑種後代は速やかに自然環境から消失していたと報告している。その理由として、1) F1 雑種の休眠性は種子親であるツルマメの形質によって決定するため土壤中で生存するが、雑種後代種子で

は硬実種子の割合が減少するため冬期に種子が腐るか、又は発芽しても寒さにより枯死する、2) 雑種後代の種子が越冬して発芽しても、その競合性はツルマメより低いために他の植物との競合に勝てず、淘汰されたこと、の2つを挙げている (Kuroda et al., 2010)。

5

#### ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ダイズの花には1花当たり10本の雄ずいがあり、各雄ずいは1つの葯を持つ(後藤, 1995)。1葯当たりの花粉数は374~760粒 (Palmer et al., 1978)、約230~540粒 (Koti et al., 2004) との報告がある。花粉の寿命は短く、その発芽能力は湿度が一定でない条件下では約8時間で失われることが報告されている (Abel, 1970)。花粉の直径は15~25  $\mu\text{m}$  である (Palmer, 2000)。また、花粉の飛散距離に関しては、農業環境技術研究所が2001年から2004年の4年間に行った除草剤グリホサート耐性の遺伝子組換えダイズを用いた非組換えダイズとの交雑試験では、交雑が観測された最長距離での交雑率は花粉親からの距離が2001年は7.0 mで交雑率0.040%、2002年は2.8 mで0.08%、2003年は0.7~10.5 mまで調査したが交雑は認められず、2004年は3.5 mで0.022%であった (Yoshimura et al., 2006)。また、訪花昆虫の種類は、主にアザミウマ類、カメムシ目の昆虫が観察されたと報告している (Yoshimura et al., 2006)。

20

ホ 病原性

—

25

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又は生息に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

30

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雑草化したという報告はない。

35

#### 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

除草剤ジカンバ及びグリホサート耐性ダイズ (改変 *dmo*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87708 × MON89788, OECD UI: MON-87708-9 ×

MON-89788-1) (以下、「本スタック系統ダイズ」という。) は、以下の2つの遺伝子組換えダイズを従来の交雑育種法を用いて育成したスタック系統である。

- 5
- a) 除草剤ジカンバ耐性ダイズ (改変 *dmo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87708, OECD UI: MON-87708-9) (以下、「MON87708」という。)
  - b) 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、「MON89788」という。)

10 (1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

MON87708 及び MON89788 に導入された供与核酸の構成要素の由来は、表 1~表 2 (p12~16) に示したとおりである。

15

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

20

MON87708 及び MON89788 に導入された供与核酸の構成要素の機能は、表 1~表 2 (p12~16) に示した。そのうち、目的遺伝子である改変 *dmo* 遺伝子及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子の詳細についても、表 1~表 2 (p12~16) に記載した。

表 1 MON87708 の供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能<sup>5</sup>

構成要素	プラスミド 中の位置 (bp)	由来及び機能
T-DNA I		
B <sup>注1</sup> -Right Border Region	8,290-8,646	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む配列 (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)。
Intervening sequence	8,647-8,691	DNA クローニングの際に利用された配列。
P <sup>注2</sup> - <i>PCISV</i>	8,692-9,124	Peanut chlorotic streak caulimovirus (PCISV) の全ゲノムの転写によって生じる完全長転写物 (Full-Length Transcript, FLt) の転写を誘導するプロモーター (Maiti and Shepherd, 1998)。植物細胞内での恒常的な転写を誘導する。
Intervening sequence	9,125-9,144	DNA クローニングの際に利用された配列。
L <sup>注3</sup> - <i>TEV</i>	9,145-9,276	Tobacco Etch virus (TEV) 由来の 5'末端非翻訳領域 (Niepel and Gallie, 1999)。遺伝子発現の調節に関与する。
Intervening sequence	9,277	DNA クローニングの際に利用された配列。
TS <sup>注4</sup> - <i>RbcS</i>	9,278-9,520	<i>Pisum sativum</i> (エンドウ) 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遺伝子 ( <i>RbcS</i> ) に由来し、輸送ペプチドから成熟蛋白質の N 末端から 24 アミノ酸までをコードする配列 (Fluhr et al., 1986)。改変 DMO 前駆蛋白質を葉緑体へ輸送する。
Intervening Sequence	9,521-9,529	DNA クローニングの際に利用された配列。
CS <sup>注5</sup> -改変 <i>dmo</i>	9,530-10,552	<i>S. maltophilia</i> DI-6 株由来のジカンバモノオキシゲナーゼのコード配列 (Herman et al., 2005; Wang et al., 1997)。
Intervening Sequence	10,553-10,620	DNA クローニングの際に利用された配列。
T <sup>注6</sup> - <i>E9</i>	10,621-11,263	<i>P. sativum</i> (エンドウ) のリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子に由来する 3'末端非翻訳領域。mRNA のポリアデニル化を誘導する (Coruzzi et al., 1984)。
Intervening Sequence	11,264-11,352	DNA クローニングの際に利用された配列。
B-Left Border Region	1-442	<i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (Barker et al., 1983)。

<sup>5</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。



表 1 MON87708 の供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能 (続き)

構成要素	プラスミド 中の位置 (bp)	由来及び機能
プラスミド外側骨格配列 (MON87708 には存在しない)		
Intervening Sequence	443-528	DNA クローニングの際に利用された配列。
OR <sup>注7</sup> -ori V	529-925	広宿主域プラスミド RK2 に由来する複製開始領域。 <i>Agrobacterium</i> 中においてベクターに自律増殖能を付与する (Stalker et al., 1981)。
Intervening Sequence	926-1,662	DNA クローニングの際に利用された配列。
CS-rop	1,663-1,854	ColE1 プラスミドに由来するプライマー蛋白質のリプレッサーのコード配列。 <i>E. coli</i> 中においてプラスミドのコピー数を維持する (Giza and Huang, 1989)。
Intervening Sequence	1,855-2,281	DNA クローニングの際に利用された配列。
OR-ori-pBR322	2,282-2,870	pBR322 由来の複製開始領域。 <i>E. coli</i> 中においてベクターに自律増殖能を付与する (Sutcliffe, 1979)。
Intervening Sequence	2,871-3,400	DNA クローニングの際に利用された配列。
aadA	3,401-4,289	トランスポゾン Tn7 由来の 3" (9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (アミノグリコシド改変酵素) の細菌プロモーター及びコード配列並びに 3'末端非翻訳領域 (Fling et al., 1985)。スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する。
Intervening Sequence	4,290-4,384	DNA クローニングの際に利用された配列。
T-DNA II (MON87708 には存在しない)		
B-Left Border Region	4,385-4,795	<i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (Barker et al., 1983)。
Intervening Sequence	4,796-4,809	DNA クローニングの際に利用された配列。
T-E9	4,810-5,452	<i>P. sativum</i> (エンドウ) のリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子に由来する 3'末端非翻訳領域。mRNA のポリアデニル化を誘導する (Coruzzi et al., 1984)。
Intervening Sequence	5,453-5,458	DNA クローニングの際に利用された配列。
CS-改変 cp4 epsps	5,459-6,826	<i>Agrobacterium</i> CP4 株の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) をコードする <i>aroA</i> ( <i>epsps</i> ) 遺伝子のコード配列 (Barry et al., 1997; Padgett et al., 1996)。

表 1 MON87708 の供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能 (続き)

構成要素	プラスミド中の位置 (bp)	由来及び機能
TS-CTP2	6,827-7,054	<i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナ) の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) 遺伝子 ( <i>ShkG</i> ) の葉緑体輸送ペプチドをコードする配列 (Herrmann, 1995; Klee et al., 1987)。改変 CP4 EPSPS 蛋白質を葉緑体へと輸送する。
Intervening Sequence	7,055-7,063	DNA クローニングの際に利用された配列。
L-DnaK	7,064-7,159	<i>Petunia hybrida</i> (ペチュニア) の <i>Hsp70</i> 遺伝子に由来する 5'末端非翻訳領域リーダー配列 (Rensing and Maier, 1994)。遺伝子の発現の調節に関与する。
Intervening Sequence	7,160-7,162	DNA クローニングの際に利用された配列。
P-FMV	7,163-7,714	Figwort mosaic virus (FMV) 35S RNA のプロモーター (Rogers, 2000)。植物細胞内での転写を誘導する。
Intervening Sequence	7,715-7,761	DNA クローニングの際に利用された配列。
B-Right Border Region	7,762-8,118	<i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)。
プラスミド外側骨格配列 (MON87708 には存在しない)		
Intervening sequence	8,119-8,289	DNA クローニングの際に利用された配列。

注<sup>1</sup> B-Border (境界配列)

注<sup>2</sup> P-Promoter (プロモーター)

注<sup>3</sup> L-Leader (リーダー配列)

5 注<sup>4</sup> TS-Targeting Sequence (ターゲティング配列)

注<sup>5</sup> CS-Coding Sequence (コード配列)

注<sup>6</sup> T-3' non-translated transcriptional termination sequence and polyadenylation signal sequences (3'末端非翻訳転写終結配列及びポリアデニル化シグナル配列)

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

10

表 2 MON89788 の供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能<sup>6</sup>

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
T-DNA 領域		
B <sup>1</sup> -Right Border	357	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 (Depicker et al., 1982)。
P <sup>2</sup> -FMV/ <i>Tsfl</i>	1,040	シロイヌナズナ <i>Tsfl</i> プロモーター (Axelos et al., 1989) に Figwort Mosaic Virus (FMV) 35S プロモーターのエンハンサー配列 (Richins et al., 1987) 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>Tsfl</i>	46	シロイヌナズナの翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードする <i>Tsfl</i> 遺伝子のリーダー配列 (exon 1) (Axelos et al., 1989)。翻訳の際のリボソーム結合部位である。
I <sup>4</sup> - <i>Tsfl</i>	622	シロイヌナズナの翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードする <i>Tsfl</i> 遺伝子のイントロン配列 (Axelos et al., 1989)。目的遺伝子の発現を高める。
TS <sup>5</sup> - <i>CTP2</i>	228	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 (Klee et al., 1987)。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>	1,368	<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</i> ( <i>epsps</i> ) 遺伝子のコーディング配列 (Padgett et al., 1996; Barry et al., 1997)。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>	643	エンドウ ( <i>Pisum sativum</i> ) のリブローソ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット ( <i>RbcS2</i> ) <i>E9</i> 遺伝子の 3'非翻訳領域配列 (Coruzzi et al., 1984)。mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
B-Left Border	442	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 (Barker et al., 1983)。

<sup>6</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。

表 2 MON89788 の供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能 (続き)

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
T-DNA の外側の構成要素(MON89788 には存在しない)		
OR <sup>8</sup> -ori V	397	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 (Stalker et al., 1981)。
CS-rop	192	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 (Giza and Huang, 1989)。
OR-ori-PBR322	629	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能を付与する (Sutcliffe, 1979)。
aadA	889	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 <sup>1</sup> (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 (Fling et al., 1985)。スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する。

<sup>1</sup>B-border (境界配列)

<sup>2</sup>P-promoter (プロモーター)

5 <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 (コード配列)

<sup>7</sup>T-Transcription Termination Sequence (転写終結配列)

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

注) *Tsfl* は、近年 *EF-1α* として広く知られている。

- 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 【改変 DMO 蛋白質】

MON87708 中で発現する改変 DMO 蛋白質は、土壌及び植物に偏在するグラム陰性細菌である *Stenotrophomonas maltophilia* DI-6 株に由来する (Denton and Kerr, 1998; Krueger et al., 1989)

DMO蛋白質はジカンバから除草活性のないDCSA (3,6-dichlorosalicylic acid; 3,6-ジクロロサリチル酸) とホルムアルデヒド (HCHO) への脱メチル反応を触媒する酵素で (Chakraborty et al., 2005)、この働きにより植物にジカンバ耐性を付与する (図 1, p17)。DMO蛋白質はRieske型非ヘム鉄オキシゲナーゼ (Rieske-type non-heme iron oxygenase) の一種であり、還元酵素、フェレドキシンとともに三成分酸化還元系を構成する。これら3つの蛋白質は他の多くのオキシゲナーゼと同様に酸化還元系において共役的に働き、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチド (NADH) から酸素へ電子を運び、電子アクセプター基質 (この場合は除草剤ジカンバ) の脱メチル反応を触媒する (Chakraborty et al., 2005)。この酸化還元系を図 1 (p17) に示した。

20

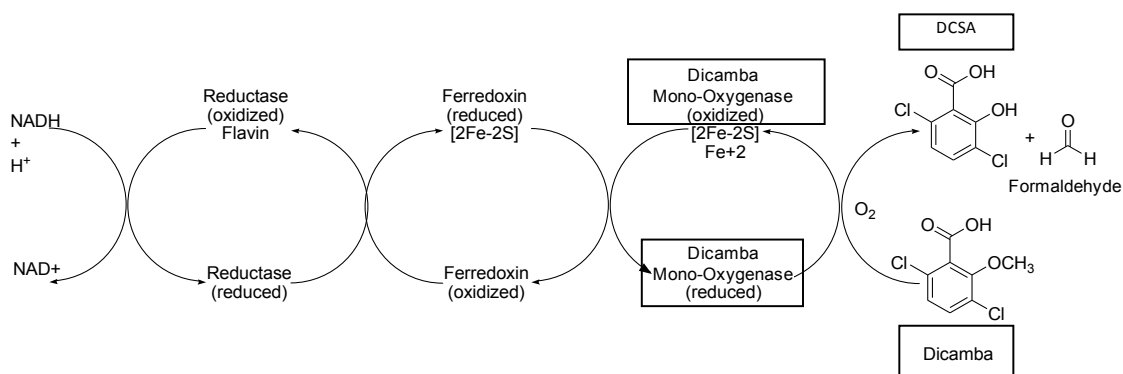


図 1 DMO 蛋白質の三成分酸化還元系<sup>7</sup>

図は NADH から DMO 蛋白質までの電子伝達系であり、ジカンバの脱メチル反応により DCSA が生成される。

25

<sup>7</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。

DMO 蛋白質の結晶構造は3つの DMO 蛋白質単量体からなる三量体であることが明らかとなっている (図 2, p19)。それぞれの単量体は Rieske [2Fe-2S] クラスターを含む Rieske [2Fe-2S] クラスタードメインと非ヘム鉄センターを含む非ヘム鉄センタードメインを有している (D'Ordine et al., 2009; Dumitru et al., 2009)。

5 これらのドメインは全ての Rieske 型モノオキシゲナーゼに共通して存在し、電子伝達に関与する主要なドメインであることが知られている (Ferraro et al., 2005)。

NADH から運ばれた電子は、ダイズ内在性の還元酵素とフェレドキシンを介して末端 DMO 蛋白質へ伝達される (図 1, p17)。この電子が酸素を還元的に活性化し、ジカンバの脱メチル反応を触媒する。電子伝達は隣接する単量体間で起こるため、DMO 蛋白質は単量体同士の間隔と配置が正しくなるよう三量体を形成する必要がある (D'Ordine et al., 2009)。単量体内では Rieske [2Fe-2S] クラスタードメインと非ヘム鉄センタードメインの距離が離れているため、電子伝達が起こらない (D'Ordine et al., 2009; Dumitru et al., 2009)。

15

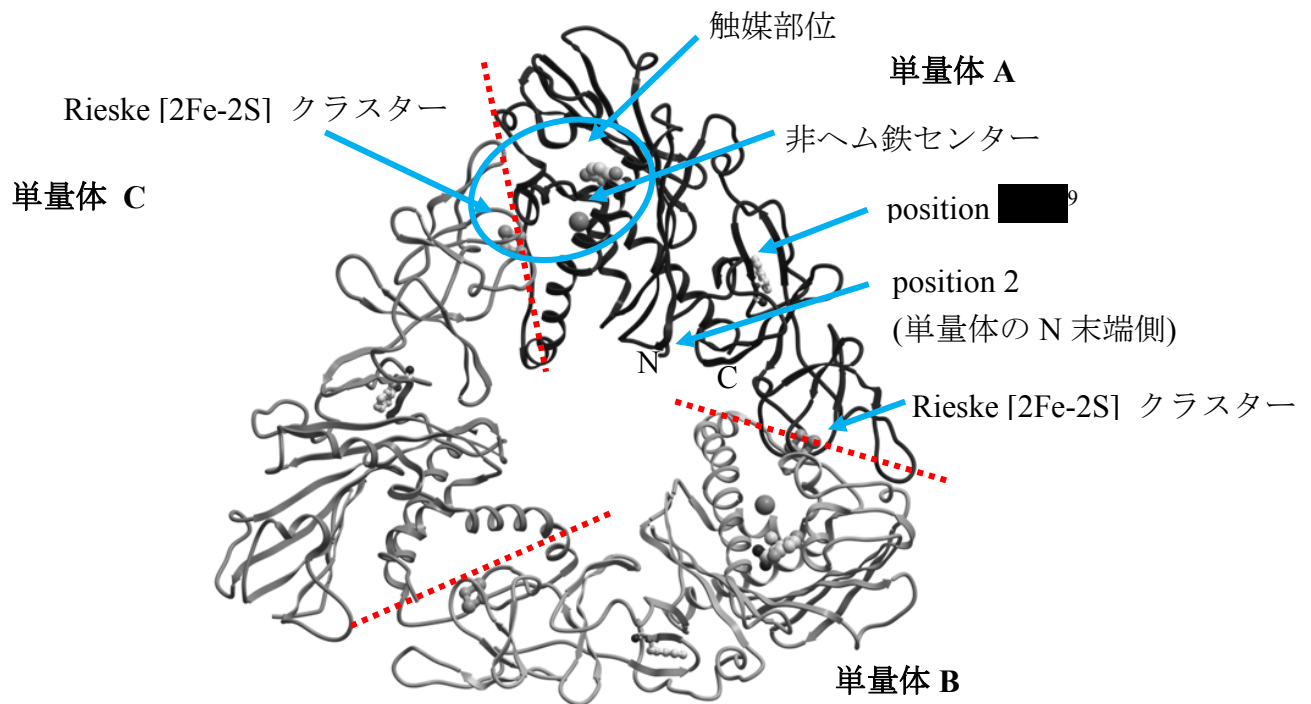


図 2 DMO 蛋白質の結晶構造<sup>8</sup>

DMO 蛋白質の結晶構造かつ活性型である三量体の模式図 (D'Ordine et al., 2009)。非ヘム鉄センターを含む非ヘム鉄センタードメイン、N 末端と C 末端、Rieske [2Fe-2S] クラスタ

5 ーを含む Rieske [2Fe-2S] クラスタドメインなどの特徴的な構造を単量体 A に記した。単量体 A と単量体 C が形成する触媒部位は青い丸で囲っている。また、単量体 C の Rieske [2Fe-2S] クラスタも矢印で記した。電子移動は隣接する単量体間で起こるため、単量体 C

10 の Rieske [2Fe-2S] クラスタドメインと単量体 A の非ヘム鉄センタードメインとの間で電子移動が起こる。赤い点線は、隣接している非ヘム鉄センタードメインと Rieske [2Fe-2S] クラスタドメインの各サブユニット間で電子移動が起こる接合部分を表しており、単量体同士の境界線上を示している。なお、結晶構造解析に供試された DMO 蛋白質は野生型 DMO 蛋白質や改変 DMO 蛋白質ではなく、C 末端側にヒスチジンタグが付加されており、N 末端側から 2 番目の位置にアラニンが挿入されている。【社外秘につき非開示】

15

<sup>8</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>9</sup> 社外秘につき非開示

MON87708 には、改変 *dmo* 遺伝子発現カセットが導入されており、このカセットから前駆蛋白質 (以下、「改変 MON87708 DMO 前駆蛋白質」とする。) が発現する。改変 MON87708 DMO 前駆蛋白質は、改変 DMO 蛋白質の N 末端側に 84 個のアミノ酸 (葉緑体輸送ペプチド (CTP) 由来の 57 個、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 (RbcS) 由来の 24 個及び intervening sequence 由来の 3 個) が付加しているプロセシング前の蛋白質である (Behrens et al., 2007; Comai et al., 1988)。これまでに MON87708 において改変 MON87708 DMO 前駆蛋白質から 84 個のアミノ酸が切り離された完全長蛋白質 (以下、この形態の蛋白質を「改変 MON87708 DMO 蛋白質」とする。) と、本来であれば切り離されるはずの RbcS 及び intervening sequence に由来する 27 個のアミノ酸が残った蛋白質 (以下、この形態の蛋白質を「改変 MON87708 DMO+27 蛋白質」とする。) の 2 つの形態の蛋白質が存在することがウエスタンブロット分析により明らかになっている (図 3, p20)。なお、改変 MON87708 DMO+27 蛋白質ではメチオニンアミノペプチダーゼによる N 末端プロセシングによってメチオニン残基が取り除かれていないため、結果として 367 個のアミノ酸ポリペプチドとなる (図 3, p20)。

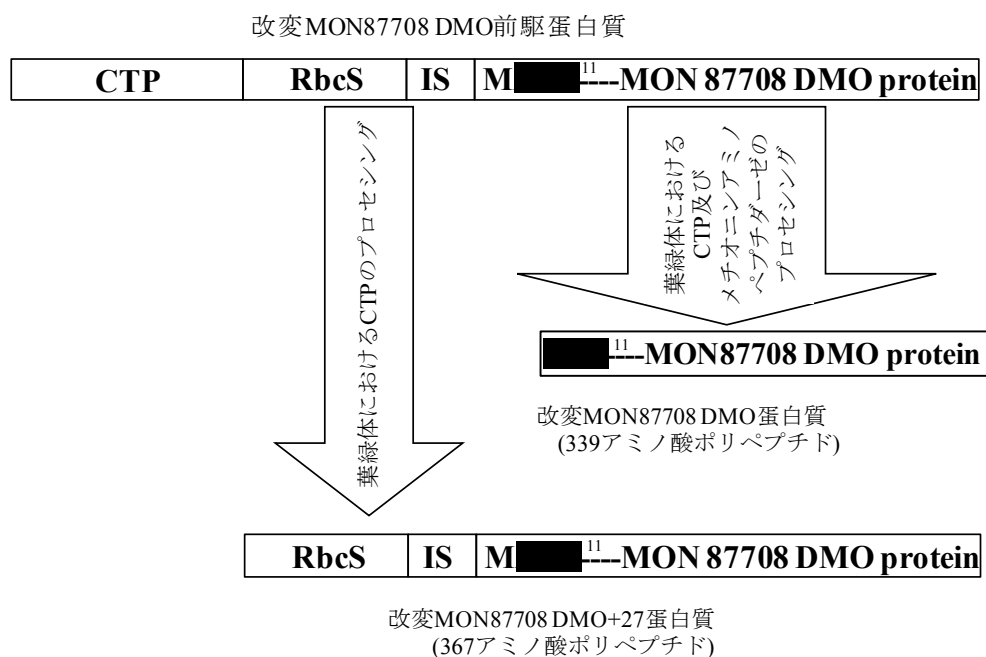


図 3 改変 MON87708 DMO 前駆蛋白質のプロセシング<sup>10</sup>

MON87708 で産生される改変 MON87708 DMO 前駆蛋白質には、葉緑体輸送ペプチド (CTP) の 57 個のアミノ酸、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 (RbcS) の N 末端側から 24 個のアミノ酸及び intervening sequence (IS) にコードされる 3 個のアミノ酸が付加されている。M<sup>11</sup> は N 末端側のアミノ酸配列を表す。葉緑体での前駆蛋白質のプロセシングにより、CTP、RbcS、IS 及び N 末端側のメチオニン (M) が切り離され、改変 MON87708 DMO 蛋白質となる (339 アミノ酸)。また、CTP だけが切り離される別のプロセシングが起き改変 MON87708 DMO+27 蛋白質となった場合、そのアミノ酸数は、改変 MON87708 DMO 蛋白質に N 末端側がメチオニンアミノペプチダーゼによるプロセシングを受けなかったため残ったメチオニン (M) (1 個のアミノ酸) と RbcS 及び IS のうちの 27 個のアミノ酸を足した 367 アミノ酸となる。

<sup>10</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>11</sup> 社外秘につき非開示



以降、この評価書において改変 DMO 蛋白質とは、改変 MON87708 DMO 蛋白質と改変 MON87708 DMO+27 蛋白質の両方を指すこととする。

前述 (p17~16) したように、MON87708 が除草剤ジカンバに対して耐性を持つためには、MON87708 内で発現する改変 DMO 蛋白質が MON87708 内で三量体を形成する必要がある。MON87708 が除草剤ジカンバに対する耐性を持つこと、及び MON87708 から精製された改変 DMO 蛋白質にジカンバに対する脱メチル化酵素活性が確認されていること (Monsanto Company, 2010) から、MON87708 内においても DMO 蛋白質三量体が形成され、機能していると考えられた。以降、MON87708 中に含まれる単量体である改変 MON87708 DMO 蛋白質、単量体である改変 MON87708 DMO+27 蛋白質及びこれら単量体の組合せにより形成される三量体を総称して、「改変 MON87708 DMO」とする。

### 【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】

15 植物はグリホサート进行处理すると 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (酵素番号: E.C.2.5.1.19、以下「EPSPS 蛋白質」という。) 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。MON89788 の目的遺伝子である改変 *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 蛋白質を発現する。改変 *cp4 epsps* 遺伝子によって  
20 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合成が正常に機能して生育することができる。

なお、改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、野生型 CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更せずに植物中での発現量を高めるために野生型 *cp4 epsps* 遺伝子の塩基配列に改変  
25 を加えたものであり、発現蛋白質の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。

親系統で発現する改変 MON87708 DMO 及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質が、既知のアレルゲンと類似のアミノ酸配列を共有するかどうか AD\_2012<sup>12</sup>を用いて、  
30 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。

---

<sup>12</sup> AD\_2012: Food Allergy Research and Resource Program Database (FARRP) (<http://www.allergenonline.com>) から得られた配列をもとに作成されたデータベースで、2011 年 12 月の時点で 1,603 配列が含まれる。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

**【改変 DMO 蛋白質】**

5 一般的に酵素の基質特異性は、酵素触媒反応に必要な構造の有無によって定まる。DMO 蛋白質のジカンバへの特異性は触媒部位で起こる特定の相互作用によるものである (D'Ordine et al., 2009; Dumitru et al., 2009)。DMO 蛋白質によるジカンバ代謝の際の結晶構造解析の結果によると、ジカンバのカルボキシル基と塩素原子が DMO 蛋白質の触媒部位に位置するアミノ酸と作用する (Dumitru et al., 2009)。カルボキシル基は DMO 蛋白質の触媒部位において、アミノ酸と 6 つ  
10 の水素結合を形成している。この水素結合は、酵素と基質の結合に重要な役割を果たしている。一方、ジカンバの塩素原子は基質を正しい位置に安定させる役割を持つ。これらの相互作用は DMO 蛋白質結晶構造解析において DMO 蛋白質の触媒部位にジカンバが存在するときに確認されている。したがって、ジカンバのフェニル環だけでなく、これらの化学基も、触媒作用に必要な基質の正しい配置に非常に重要な役割を果たすことが示されている (D'Ordine et al.,  
15 2009; Dumitru et al., 2009)。

以上のことから、構造的にジカンバに類似した化合物 (メトキシ基を含むフェニルカルボン酸) は DMO 蛋白質の基質となる可能性が考えられた。そこで改変 MON87708 DMO の基質特異性の確認のため、各種除草剤と DMO 蛋白質との基質反応性試験を行ったところ、DMO 蛋白質は基質のジカンバに対して高い特異性をもち、他の構造が類似している除草剤を代謝して新たな代謝産物を産生することはないことが確認された。同様に、ダイズ内在性化合物と DMO 蛋白質との基質反応性試験を行ったところ、改変 MON87708 DMO がダイズ内在性化合物を代謝し、新たな代謝産物を産生することはないことが確認された。よって、  
20 改変 MON87708 DMO が除草剤ジカンバ以外の化合物を代謝し、宿主であるダイズの代謝系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た。

**【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】**

改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である 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 蛋白質の活性が増大しても、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。また、EPSPS 蛋白質は基質であるホスホエノールピルビン酸塩とシキミ酸-3-リン酸塩 (以下「S3P」という。) と特異的に反応することが知られており (Gruys et al.,  
30 1992)、これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質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。しかし、EPSPS 蛋白質のシキミ酸及び S3P との反応について、反応の起こりやすさを示す特異性定数 (Specificity constant)  $k_{cat}/K_m$  の値で比較すると、EPSPS 蛋白質のシキミ酸との反応特異性は、EPSPS 蛋白質の S3P との反応特異性の約 200 万分の 1 に過ぎず (Gruys et al., 1992)、シ

キミ酸が EPSPS 蛋白質の基質として反応する可能性は極めて低い。よって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

## (2) ベクターに関する情報

5

### イ 名称及び由来

親系統の作出に用いられたプラスミド・ベクターは以下のとおりである。

10

MON87708: *Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された PV-GMHT4355

MON89788: *E. coli* 由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された PV-GMGOX20

### ロ 特性

15

#### ① ベクターの塩基数及び塩基配列

親系統の作出に用いられたプラスミド・ベクターの塩基数は以下のとおりである。

20

MON87708: PV-GMHT4355; 11,352 bp

MON89788: PV-GMGOX20; 9,664 bp

#### 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

MON87708 及び MON89788 の作出時に用いた *E. coli* における構築ベクターの選抜マーカーとして利用された抗生物質耐性遺伝子はスペクチノマイシンやストレプトマイシンに対する耐性を付与する *aadA* 遺伝子である。なお、この抗生物質耐性遺伝子はいずれの宿主にも導入されていない。

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

PV-GMHT4355 及び PV-GMGOX20 の感染性はいずれも知られていない。

35

## (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

MON87708 及び MON89788 の宿主内に移入された供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては、それぞれ図 4~図 5 (p24~25) に示した。

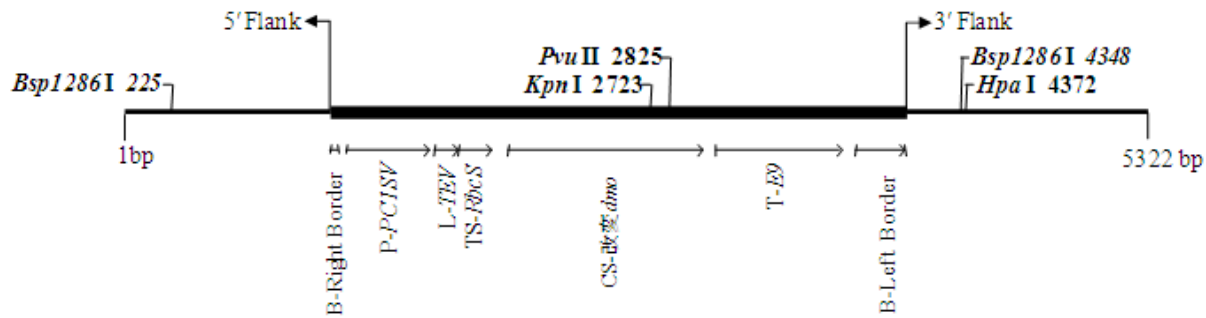


図 4 MON87708 の導入遺伝子地図<sup>13</sup>

- 5 図中の矢印は導入遺伝子の 5'及び 3'末端とそれに続く近傍のダイズ内在性配列を示している。図中の数字は核ゲノム中における位置を示しているため、表 1 (p12~14) に示すプラスミド中の位置とは数字が一致しない。

<sup>13</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。

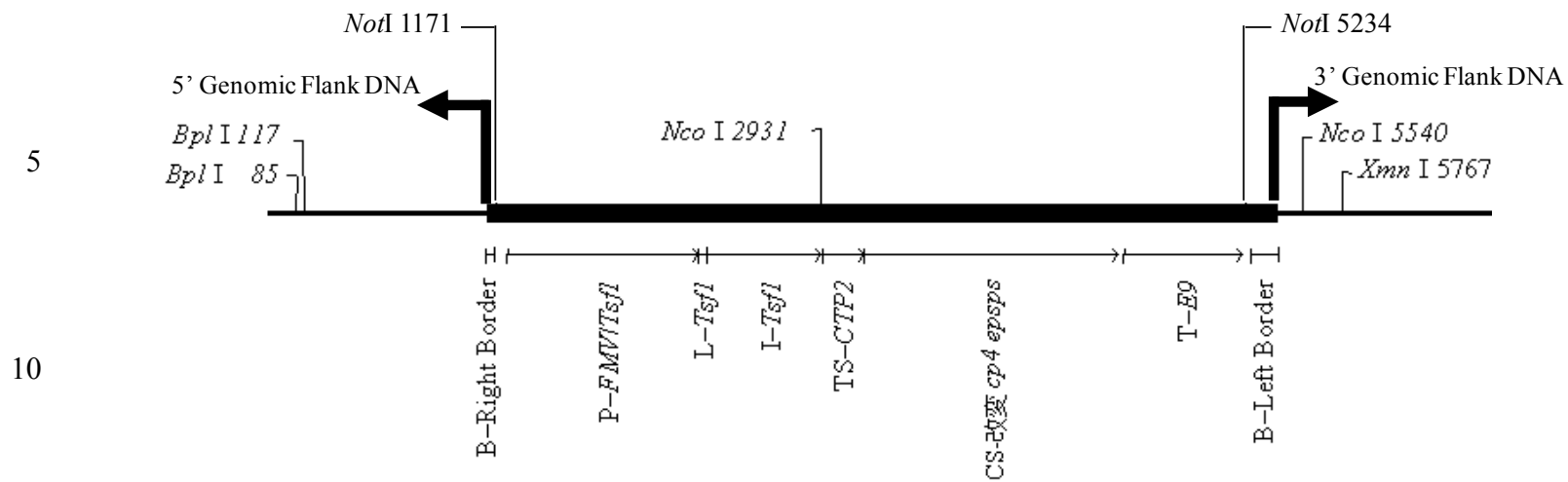


図 5 MON89788 の導入遺伝子地図<sup>14</sup>

図中の矢印は導入遺伝子の 5'及び 3'末端とそれに続く近傍のダイズ内在性配列を示している。

図中の数字は核ゲノム中における位置を示しているため、表 2 (p15~16) に示すサイズとは数字が一致しない。

注) *Tsfl* は、近年 *EF-1a* として広く知られている。

<sup>14</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。

## ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主内への核酸の移入については以下の方法を用いて行った。

- 5 MON87708: アグロバクテリウム法によりプラスミド・ベクター PV-GMHT4355 の T-DNA I 領域及び T-DNA II 領域を移入した。その後、形質転換された再分化個体 (R0) を自殖し、その後代である R1 世代において通常の散布量よりも低薬量で除草剤グリホサート散布を行い改変 *cp4 epsps* 遺伝子の有無に関するスクリーニングを行った。ここでグリホサートによって傷害を受けた
- 10 個体のみを T-DNA II (改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットを含む領域) を持たない個体として選抜した。
- MON89788: アグロバクテリウム法によりプラスミド・ベクター PV-GMGOX20 の T-DNA 領域を移入した。

## 15 ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

### ① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

- 形質転換細胞の選抜は、MON87708 及び MON89788 とともにグリホサートを添加した培地を用いて行った。
- 20

### 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

- 25 MON87708 においては、形質転換細胞の選抜培養培地へ抗生物質カルベニシリン、セフトキシム及びチカルシリン・クラブラン酸を添加することにより形質転換に用いたアグロバクテリウムの除去を行った。また、MON89788 においては、カルベニシリン及びクラフォランを添加することにより形質転換に用いたアグロバクテリウムの除去を行った。
- 30 さらに、MON87708 及び MON89788 において、形質転換に用いたプラスミド・ベクター PV-GMHT4355 及び PV-GMGOX20 の外側骨格領域を標的とした PCR 分析を行ったところ、プラスミド・ベクター PV-GMHT4355 及び PV-GMGOX20 の外側骨格領域は存在しなかった。これらのことから、MON87708 及び MON89788 には形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体は残存しないことを
- 35 確認した (Monsanto Company, 2009; Urquhart and Paul, 2011)。

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

5 本スタック系統ダイズは、MON87708及びMON89788を交雑育種法により育成したスタック系統である。図 6 (p28) に本スタック系統の育成例を示す。なお、以下にMON87708、MON89788及び本スタック系統ダイズのおが国における申請・認可状況を記載した (表 3, p29)。

5

10

【社外秘につき非開示】

15

図 6 本スタックシステムの育成例

20

【社外秘につき非開示】



表 3 MON87708、MON89788 及び本スタック系統ダイズのおが国における申請・認可状況

2012年10月現在

	食品 <sup>15</sup>	飼料 <sup>16</sup>	環境 <sup>17</sup>
MON87708	2012年1月 申請	2012年1月 申請	2011年10月 申請
MON89788	2007年11月 安全性確認	2007年10月 安全性確認	2008年1月 第一種使用規程承認
本スタック系統ダイズ	■■■■ <sup>18</sup> 申請予定	■■■■ <sup>18</sup> 届出予定	2012年10月 申請

<sup>15</sup> 食品衛生法に基づく。

<sup>16</sup> 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

<sup>17</sup> 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く。

<sup>18</sup> 社外秘につき非開示

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5 MON87708 及び MON89788 の導入遺伝子は染色体上に存在することが確認されている (Monsanto Company, 2006; Phillips et al., 2010)。

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

10

**【MON87708】**

1 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、MON87708 の核ゲノム中  
1 カ所に 1 コピーの T-DNA I 領域が組み込まれていることが確認された。また、  
T-DNA II 領域及び外側骨格領域は導入されておらず、T-DNA I 領域内の改変 *dmo*  
15 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。さら  
さらに、導入遺伝子は安定して後代に遺伝していることを、複数世代におけるサザ  
ンブロット分析によって確認した (Song et al., 2011)。

**【MON89788】**

20 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、MON89788 の核ゲノム中  
1 カ所に 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。また、  
T-DNA 領域以外の外側骨格領域は導入されておらず、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  
25 た。さらに、導入遺伝子は安定して後代に遺伝していることを、複数世代におけ  
るサザンブロット分析によって確認した (Dickinson et al., 2006)。

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

30 MON87708 及び MON89788 は全て 1 コピーなので該当しない (Dickinson et al.,  
2006; Song et al., 2011)。

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

35

発現の安定性については以下のように確認した。

MON87708: ウェスタンブロット分析による改変 MON87708 DMO の発現確認  
(Morey and Niemeyer, 2009; Tauchman and Niemeyer, 2010)

MON89788: ウェスタンブロット分析による改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現確認  
(Mozaffar and Silvanovich, 2006)

- 5 ⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に  
伝播されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度

MON87708 及び MON89788 に移入された核酸の配列には伝達を可能とする機能はないため、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

10

- (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

15 導入遺伝子及びその周辺の核ゲノムの DNA 配列をプライマーとして用いる PCR により、MON87708 及び MON89788 を特異的に検出することが可能である (Burns, 2008; Dickinson and Masucci, 2006)。本スタック系統ダイズを検出及び識別するためには、上記の方法を 1 個体由来のサンプルごとに行う必要がある。

- (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

- 20 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

本スタック系統ダイズには各親系統に由来する以下の特性が付与されている。  
MON87708: 導入遺伝子に由来する改変 MON87708 DMO による除草剤ジカン  
25 バ耐性

MON89788: 導入遺伝子に由来する改変 CP4 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホ  
サート耐性

これらの蛋白質の機能的な相互作用の可能性について検討した。

30

改変 MON87708 DMO は、ジカンバから DCSA とホルムアルデヒドへの脱メチル反応を触媒する酵素であり、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である。第一の 2-(1)-ロ-③ (p22~23) に記載したとおり、改変 MON87708 DMO 及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質はそれぞれ高い基質特異性を持つ。また、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立して作用している。したがって、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が相互作用を示す可能性は低いと考えられた。

35

したがって、本スタック系統ダイズにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が相互作用を示すことにより、それぞれの性質が変化することはないと判断し、本スタック系統ダイズ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特性の相違については、親系統である MON87708 及び MON89788  
5 を個別に調査した結果に基づき評価した。

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

10

前項で述べたとおり、本スタック系統ダイズにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が植物代謝経路に新たな影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。したがって、本スタック系統ダイズ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特性の相違は、親系統である MON87708 についてはわが  
15 国及び米国の人工気象室において個別に調査した a~g の結果、及び MON89788 についてはわが国において個別に調査した a~g の結果に基づき評価することができ、親系統と対照の非組換えダイズには相違がないことが確認されている (Baltazar and Kendrick, 2009; 日本モンサント株式会社, 2011; 日本モンサント株式会社, 2007)。

20

なお、各親系統の生理学的又は生態学的特性に関する情報は日本版バイオセーフティクリアリングハウスホームページ<sup>19</sup>から参照できる。

- a 形態及び生育の特性
- b 生育初期における低温耐性
- 25 c 成体の越冬性
- d 花粉の稔性及びサイズ
- e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率
- f 交雑率
- g 有害物質の産生性

30

---

<sup>19</sup> 各親系統の生理学的又は生態学的特性に関する情報は以下の URL から参照できる。

**[MON87708]**

[http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public\\_comment/H24\\_9\\_26\\_zikanba\\_sp3.pdf](http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/H24_9_26_zikanba_sp3.pdf)

**[MON89788]**

[https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info\\_id=1003&ref\\_no=2](https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=1003&ref_no=2)

### 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

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

30

MON87708、MON89788 及び本スタック系統ダイズの諸外国における申請・認可状況は以下の表 4 (p34) に示したとおりである。

表 4 MON87708、MON89788 及び本スタック系統ダイズの諸外国における申請・認可状況

2012 年 10 月現在

機関	安全性審査の種類	MON87708	MON89788	本スタック系統ダイズ
米国食品医薬品庁 (FDA)	食品・飼料	2011 年 10 月 安全性確認	2007 年 1 月 安全性確認	—*
米国農務省 (USDA)	環境	2010 年 7 月 申請	2007 年 7 月 安全性確認	—*
カナダ保健省 (Health Canada)	食品	2012 年 10 月 安全性確認	2007 年 6 月 安全性確認	—*
カナダ食品検査庁 (CFIA)	環境・飼料	2012 年 10 月 安全性確認	2007 年 7 月 安全性確認	■ <sup>20</sup>
欧州食品安全機関 (EFSA)	食品・飼料	2011 年 1 月 申請	2008 年 12 月 安全性確認	2012 年 3 月 申請
オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)	食品	2012 年 5 月 安全性確認	2008 年 7 月 安全性確認	—*
台湾食品薬物管理局 (TFDA)	食品	■ <sup>20</sup>	2007 年 12 月 安全性確認	■ <sup>20</sup>
韓国食品医薬品庁 (KFDA)	食品	■ <sup>20</sup>	2009 年 2 月 安全性確認	■ <sup>20</sup>
韓国農村振興庁 (RDA)	環境	■ <sup>20</sup>	2009 年 1 月 安全性確認	■ <sup>20</sup>
中国農業部 (MOA)	環境・食品・飼料	■ <sup>20</sup>	2008 年 8 月 安全性確認	—*

5 \*FDA、USDA、Health Canada、FSANZ 及び MOA においてスタック系統は規制されていないため、申請は行っていない。

10 また、MON87708、MON89788 及び本スタック系統ダイズのわが国における申請・認可状況は表 3 (p29) に記載した。

<sup>20</sup> 社外秘につき非開示

## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 本スタック系統ダイズは MON87708 及び MON89788 の自殖系統から、交雑育種法により作出した。

10 第一の 2-(6)-① (p31~32) で述べたとおり、MON87708 で発現する改変 MON87708 DMO 及び MON89788 で発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、それぞれ異なる作用機作をもち、独立して作用していると考えられる。また、改変 MON87708 DMO 及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質のいずれも高い基質特異性を有している。よって、本スタック系統ダイズにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が植物代謝経路に新たな影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

15 したがって、本スタック系統ダイズの生物多様性影響は、MON87708 及び MON89788 の検討結果に基づいて評価できると判断した。

20 したがって、本スタック系統ダイズの生物多様性影響の評価は、各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。以下の「1 競合における優位性」、「2 有害物質の産生性」、「3 交雑性」の各項目について、資料 1 及び資料 2 のとおり、各親系統において生物多様性影響が生ずるおそれはないと結論されている。このため、本スタック系統ダイズは、競合における優位性、有害物質の産生性及び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。

### 1 競合における優位性

- 25
- (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定
  - (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

### 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
  - (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

35

### 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
- (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
- (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断



### 第三 生物多様性影響の総合的評価

5 本スタック系統ダイズは除草剤ジカンバ耐性ダイズ MON87708 及び除草剤グリホサート耐性ダイズ MON89788 から、交雑育種法により作出した。本スタック系統ダイズの各親系統である MON87708 で発現する改変 MON87708 DMO 及び MON89788 で発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、それぞれ高い基質特異性を有し、異なる作用機作を持つことから、本スタック系統ダイズにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が相互作用を示す可能性は低く、各親系統が有する形質を併せ持つ以外に評価すべき形質の変化はないと考えられた。このことから、本スタック系統ダイズの生物多様性影響は、各親系統の生物多様性影響評価に基づいて評価できると判断した。

15 各親系統において、競合における優位性、有害物質の産生性及び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評価されていることから、総合的評価として、本スタック系統ダイズを第一種使用規程に従って使用した場合に、わが国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと判断された。

引用文献

- Abel, G.H. 1970. Storage of Soybean Pollen for Artificial Crossing. *Agronomy Journal* 62: 121-123.
- 5
- Abrams, R.I., C.R. Edwards and T. Harris. 1978. Yields and cross-pollination of soybeans as affected by honey bees and alfalfa leafcutting bees. *American Bee Journal* 118: 555-558.
- 10
- Axelos, M., C. Bardet, T. Liboz, A. Le Van Thai, C. Curie and B. Lescure. 1989. The gene family encoding the *Arabidopsis thaliana* translation elongation factor EF-1 $\alpha$ : Molecular cloning, characterization and expression. *Molecular and General Genetics* 219: 106-112.
- 15
- Baltazar, M.B. and D.L. Kendrick. 2009. An Assessment of the Effect of Cold Stress on the Growth of Dicamba-Tolerant Soybean MON 87708 under Growth Chamber Conditions. Monsanto Technical Report MSL0021852. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 20
- Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson and J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology* 2: 335-350.
- Barry, G.F., G.M. Kishore, S.R. Padgett and W.C. Stallings. 1997. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. Patent 5,633,435, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
- 25
- Beard, B.H. and P.F. Knowles. 1971. Frequency of cross-pollination of soybeans after seed irradiation. *Crop Science* 11: 489-492.
- 30
- Behrens, M.R., N. Mutlu, S. Chakraborty, R. Dumitru, W.Z. Jiang, B.J. LaVallee, P.L. Herman, T.E. Clemente and D.P. Weeks. 2007. Dicamba resistance: Enlarging and preserving biotechnology-based weed management strategies. *Science* 316: 1185-1188.
- 35
- Burns, L. 2008. Soybean GM\_A92205 EndPoint TaqMan PCR with *PUB* Internal Control for single seed. Monsanto Technical Report BQ-QC-10711-01. St. Louis, Missouri. (社内報告書)

- Chakraborty, S., M. Behrens, P.L. Herman, A.F. Arendsen, W.R. Hagen, D.L. Carlson, X.-Z. Wang and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba *O*-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Purification and characterization. Archives of Biochemistry and Biophysics 437: 20-28.
- 5
- Chen, Y. and R.L. Nelson. 2004. Genetic variation and relationships among cultivated, wild, and semiwild soybean. Crop Science 44: 316-325.
- 10
- Comai, L., N. Larson-Kelly, J. Kiser, C.J.D. Mau, A.R. Pokalsky, C.K. Shewmaker, K. McBride, A. Jones and D.M. Stalker. 1988. Chloroplast transport of a ribulose biphosphate carboxylase small subunit-5-enolpyruvyl 3-phosphoshikimate synthase chimeric protein requires part of the mature small subunit in addition to the transit peptide. The Journal of Biological Chemistry 263: 15104-15109.
- 15
- Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards and N.-H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. The EMBO Journal 3: 1671-1679.
- 20
- Cruden, R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. Evolution 31: 32-46.
- D'Ordine, R.L., T.J. Rydel, M.J. Storek, E.J. Sturman, F. Moshiri, R.K. Bartlett, G.R. Brown, R.J. Eilers, C. Dart, Y. Qi, S. Flasiniski and S.J. Franklin. 2009. Dicamba monooxygenase: Structural insights into a dynamic Rieske oxygenase that catalyzes an exocyclic monooxygenation. Journal of Molecular Biology 392: 481-497.
- 25
- Denton, M. and K.G. Kerr. 1998. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. Clinical Microbiology Reviews 11: 57-80.
- 30
- Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski and H.M. Goodman. 1982. Nopaline synthase: Transcript mapping and DNA sequence. Journal of Molecular and Applied Genetics 1: 561-573.
- 35
- Dickinson, E.C. and J.D. Masucci. 2006. PCR and DNA sequence analysis of conventional soybean to examine the MON 89788 insertion site. Monsanto Technical

- Report MSL-20320. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- Dickinson, E.C., N.G. Pineda, N.K. Scanlon, A.J. Whetsell and J.D. Masucci. 2006. Molecular analysis of glyphosate-tolerant soybean MON 89788. Monsanto Technical Report MSL-20160. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 5
- Dumitru, R., W.Z. Jiang, D.P. Weeks and M.A. Wilson. 2009. Crystal structure of dicamba monooxygenase: A Rieske nonheme oxygenase that catalyzes oxidative demethylation. *Journal of Molecular Biology* 392: 498-510.
- 10
- FAOSTAT. 2012. <http://faostat.fao.org/site/567/Default.aspx#ancor> [Accessed April 5, 2012].
- Ferraro, D.J., L. Gakhar and S. Ramaswamy. 2005. Rieske business: Structure-function of Rieske non-heme oxygenases. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 338: 175-190.
- 15
- Fling, M.E., J. Kopf and C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.
- 20
- Fluhr, R., P. Moses, G. Morelli, G. Coruzzi and N.-H. Chua. 1986. Expression dynamics of the pea *rbcS* multigene family and organ distribution of the transcripts. *The EMBO Journal* 5: 2063-2071.
- 25
- Fujita, R., M. Ohara, K. Okazaki and Y. Shimamoto. 1997. The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*). *Journal of Heredity* 88: 124-128.
- Giza, P.E. and R.C.C. Huang. 1989. A self-inducing runaway-replication plasmid expression system utilizing the Rop protein. *Gene* 78: 73-84.
- 30
- Graphic Maps. 2012. North America. Worldatlas, Galveston, Texas. <http://www.worldatlas.com/webimage/countrys/na.htm> [Accessed May 10, 2012].
- 35
- Gruys, K.J., M.C. Walker and J.A. Sikorski. 1992. Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. *Biochemistry* 31: 5534-5544.

- Herman, P.L., M. Behrens, S. Chakraborty, B.M. Chrastil, J. Barycki and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba *O*-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Gene isolation, characterization, and heterologous expression. The Journal of Biological Chemistry 280: 24759-24767.
- 5
- Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. The Plant Cell 7: 907-919.
- 10 Kiang, Y.T., Y.C. Chiang and N. Kaizuma. 1992. Genetic diversity in natural populations of wild soybean in Iwate Prefecture, Japan. Journal of Heredity 83: 325-329.
- 15 Kim, K.-U., T.-D. Kang, J.-H. Lee, I.-J. Lee, D.-H. Shin, Y.-H. Hwang, S.-U. Kim and H.-M. Kim. 2003. Physio-ecological characteristics of wild soybeans (*Glycine soja*) collected throughout Korea and their response to glyphosate. Korean Journal of Weed Science 23: 153-159.
- 20 Klee, H.J., Y.M. Muskopf and C.S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: Sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. Molecular and General Genetics 210: 437-442.
- 25 Koti, S., K.R. Reddy, V.G. Kakani, D. Zhao and V.R. Reddy. 2004. Soybean (*Glycine max*) pollen germination characteristics, flower and pollen morphology in response to enhanced ultraviolet-B radiation. Annals of Botany 94: 855-864.
- 30 Krueger, J.P., R.G. Butz, Y.H. Atallah and D.J. Cork. 1989. Isolation and identification of microorganisms for the degradation of dicamba. Journal of Agricultural and Food Chemistry 37: 534-538.
- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D.A. Vaughan. 2008. Gene flow and genetic structure of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. Crop Science 48: 1071-1079.
- 35 Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D. Vaughan. 2010. The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. Molecular Ecology 19: 2346-2360.

- Lammi, J.J. 2008. Online-Photoperiod Calculator. <http://www.sci.fi/~benefon/sol.html> [Accessed May 10, 2012].
- 5 Maiti, I.B. and R.J. Shepherd. 1998. Isolation and expression analysis of peanut chlorotic streak caulimovirus (PCISV) full-length transcript (FLt) promoter in transgenic plants. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 244: 440-444.
- 10 Mizuguti, A., Y. Yoshimura and K. Matsuo. 2009. Flowering phenologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed Biology and Management* 9: 93-96.
- 15 Monsanto Company. 2006. MON 89788: Segregation data. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- Monsanto Company. 2009. Summary of PCR Analysis to Confirm the Absence of *Agrobacterium* Used To Produce Dicamba-Tolerant Soybean MON 87708. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 20 Monsanto Company. 2010. Specificity of dicamba mono-oxygenase (DMO) enzyme from MON 87708 using *o*-anisic acid as a substrate. Monsanto Technical Report RPN-10-499. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 25 Morey, J.M. and K.E. Niemeyer. 2009. Western blot analysis of DMO protein in dicamba-tolerant soybean MON 87708 leaf across multiple generations produced in the greenhouse during 2007 and 2008. Monsanto Technical Report MSL0021459. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 30 Mozaffar, S. and A. Silvanovich. 2006. Western blot analysis of CP4 EPSPS protein in MON 89788 tissues across multiple generations. Monsanto Technical Report MSL20284. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 35 Nakayama, Y. and H. Yamaguchi. 2002. Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. *Weed Biology and Management* 2: 25-30.

- Niepel, M. and D.R. Gallie. 1999. Identification and characterization of the functional elements within the tobacco etch virus 5' leader required for cap-independent translation. *Journal of Virology* 73: 9080-9088.
- 5 OECD. 2000. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) merr. (soybean). ENV/JM/MONO(2000)9. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.15. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.
- 10 Oka, H.-I. 1983. Genetic control of regenerating success in semi-natural conditions observed among lines derived from a cultivated x wild soybean hybrid. *Journal of Applied Ecology* 20: 937-949.
- 15 Padgett, S.R., D.B. Re, G.F. Barry, D.E. Eichholtz, X. Delannay, R.L. Fuchs, G.M. Kishore and R.T. Fraley. 1996. New weed control opportunities: Development of soybeans with a Roundup Ready™ gene. Pages 53-84 in *Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Environmental, Economic, Regulatory, and Technical Aspects*. S.O. Duke (ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.
- 20 Palmer, R.G. 2000. Genetics of four male-sterile, female-fertile soybean mutants. *Crop Science* 40: 78-83.
- 25 Palmer, R.G., M.C. Albertsen and H. Heer. 1978. Pollen production in soybeans with respect to genotype, environment, and stamen position. *Euphytica* 27: 427-433.
- 30 Phillips, S., J. Rinehart, A. Knox and D. Kendrick. 2010. Revised summary: Heritability and stability of the *dmo* expression cassette in dicamba-tolerant soybean MON 87708 across multiple generations. Monsanto Technical Report RPN-08-505. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 35 Rensing, S.A. and U.-G. Maier. 1994. Phylogenetic analysis of the stress-70 protein family. *Journal of Molecular Evolution* 39: 80-86.
- Richins, R.D., H.B. Scholthof and R.J. Shepherd. 1987. Sequence of figwort mosaic virus DNA (caulimovirus group). *Nucleic Acids Research* 15: 8451-8466.
- Rogers, S.G. 2000. Promoter for transgenic plants. Patent 6,018,100, U.S. Patent Office,

Washington, D.C.

- 5 Schapaugh, W.T. 1997. Selection of soybean varieties. Pages 4-7 in Soybean Production Handbook. Kansas State University Agricultural Experiment Station and Cooperative Extension Service, Manhattan, Kansas.
- 10 Song, Z., K.D. Lawry, J.F. Rice and Q. Tian. 2011. Amended report for MSL0022670: Molecular analysis of dicamba-tolerant soybean MON 87708. Monsanto Technical Report MSL0023278. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 15 Stalker, D.M., C.M. Thomas and D.R. Helinski. 1981. Nucleotide sequence of the region of the origin of replication of the broad host range plasmid RK2. *Molecular and General Genetics* 181: 8-12.
- 20 Sutcliffe, J.G. 1979. Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid pBR322. Pages 77-90, Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Cold Spring Harbor, New York.
- 25 Tauchman, S. and K.E. Niemeyer. 2010. Assessment of total DMO protein levels in soybean tissues collected from MON 87708 produced in United States field trials during 2008. Monsanto Technical Report MSL0022510. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 30 Urquhart, W. and S. Paul. 2011. PCR analysis to confirm the absence of *Agrobacterium tumefaciens* used to produce MON89788. Monsanto Technical Report MSL0023745. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 35 Wang, X.-Z., B. Li, P.L. Herman and D.P. Weeks. 1997. A three-component enzyme system catalyzes the O demethylation of the herbicide dicamba in *Pseudomonas maltophilia* DI-6. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1623-1626.
- Wiebold, B. 2002. Soybean variety adaptation. United Soybean Board, University of Missouri College of Agriculture, Food, and Natural Resources, Columbia, Missouri. <http://www.plantsci.missouri.edu/soydoc/adapt.htm> [Accessed February 1, 2011].



- Yoshimura, Y., K. Matsuo and K. Yasuda. 2006. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environmental Biosafety Research* 5: 169-173.
- 5 Zambryski, P., A. Depicker, K. Kruger and H.M. Goodman. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: Analysis of the boundaries of T-DNA. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 361-370.
- 10 浅野 貞夫 1995 原色図鑑/芽ばえとたね 全国農村教育協会 東京 p. 62
- 阿部 純・島本 義也 2001 第 6 章 ダイズの進化：ツルマメの果たしてきた役割. 栽培植物の自然史－野生植物と人類の共進化－ 山口 裕文・島本 義也 (編) 北海道大学図書刊行会 北海道 pp. 77-95
- 15 大橋 広好 1999 マメ科. 新装版 日本の野生植物 草本 II 離弁花類 佐竹 義輔・大井 次三郎・北村 四郎・亘理 俊次・富成 忠夫 (編) 平凡社 東京 p. 211
- 20 加賀秋人・黒田洋輔・友岡憲彦・Duncan Vaughan・大澤良・佐治光・田部井豊 2006 (2) 遺伝子組換え植物の導入遺伝子の環境拡散リスクと植物多様性影響評価に関する研究 ⑤ダイズとツルマメの雑種後代の適応度に関する研究 遺伝子組換え生物の開放系利用による遺伝子移行と生物多様性への影響評価に関する研究 環境省 東京 pp. 145-155
- 25 河野雄飛・高田吉丈・湯本節三 2004 東北地域における野生大豆 (ツルマメ) の収集 一岩手県内北上川および北部河川流域一 植物遺伝資源探索導入調査報告書 独立行政法人 農業生物資源研究所 茨城 通巻第 20 巻 pp. 11-17.
- 30 菊池彰夫・猿田正恭・岡部昭典 2005 吉野川流域における野生大豆 (ツルマメ) の収集 植物遺伝資源探索導入調査報告書 独立行政法人 農業生物資源研究所 茨城 通巻第 21 巻 pp. 1-7.
- 栗原 浩・蓬原 雄三・津野 幸人・山田 盾 2000 第 6 章 豆類 2.ダイズ. 作物栽培の基礎 農山漁村文化協会 東京 pp. 233-246
- 35 後藤 寛治 1995 ダイズの起源と特性 III 植物としての特性. 農業技術大系

- 作物編 6 農山漁村文化協会 東京 pp. 基 19-25
- 昆野 昭晨 1987 13. 食用作物 ダイズ. 農学大事典 第2次増訂改版 農学大事典編集委員会 (編) 養賢堂 東京 pp. 551-557
- 5
- 昆野 昭晨 1995 生育のステージと生理, 生態 I 種子と発芽. 農業技術大系作物編 6 農山漁村文化協会 東京 pp. 基 29-33
- 財務省 2012 財務省貿易統計
- 10 <http://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm> [Accessed April 5, 2012]
- 猿田正恭・菊池彰夫・岡部昭典 2007 四万十川流域における野生大豆 (ツルマメ) の収集 植物遺伝資源探索導入調査報告書 独立行政法人 農業生物資源研究所 茨城 通巻第23巻 pp. 1-7.
- 15
- 猿田正恭・高田吉丈・岡部昭典 2009 愛媛県における野生大豆 (ツルマメ) の探索・収集 植物遺伝資源探索導入調査報告書 独立行政法人 農業生物資源研究所 茨城 通巻第25巻 pp. 13-19.
- 20 島本 義也・福士 泰史・阿部 純 1997 飼料用ダイズ (オオバツルマメ) の細胞質ゲノムの特徴 育種学雑誌 47 (別 2): 159.
- 須田 裕・白澤 澄江 1995 岩手県紫波郡矢巾町の花暦 -開花時期と開花期間-. 岩手大学教育学部研究年報 第55巻第1号 165-183.
- 25
- 高橋 将一・羽鹿 牧太・異儀田 和典 1996 九州中部で収集したツルマメの生育特性 九州農業研究 九州農業試験研究機関協議会 熊本 第58号 p. 51.
- 友岡憲彦・Muthaiyan Pandiyan・田口哲彦・根本英男・加賀秋人・伊勢村武久・Duncan A. Vaughan 2009 北海道におけるマメ科植物遺伝資源の探索収集、2008年 植物遺伝資源探索導入調査報告書 独立行政法人 農業生物資源研究所 茨城 通巻第25巻 pp 1-11.
- 30
- 日本雑草学会 (編) 1991 第II編 雑草名. 改訂・雑草学用語集 日本雑草学会 東京 p. 67
- 35

- 日本モンサント株式会社 2007 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) の  
隔離ほ場における生物多様性影響評価試験結果報告書 (社内報告書)
- 5 日本モンサント株式会社 2011 除草剤ジカンバ耐性ダイズ  
(改変 *dmo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87708, OECD UI: MON-87708-9) の隔離  
ほ場における生物多様性影響評価試験結果報告書 (社内報告書)
- 10 沼田 真・浅野 貞夫・奥田 重俊・吉沢 長人・桑原 義晴・岩瀬 徹 1975 新  
版・日本原色雑草図鑑 沼田 真・吉沢 長人 (編) 全国農村教育協会 東京 p.  
107
- 農林水産省 2011a 平成 21 年度食料需給表 (確定値)  
<http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/fbs/pdf/fbs-fy21d.pdf> [Accessed May 10, 2012]
- 15 農林水産省 2011b 「平成 21 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果につい  
て [http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c\\_data/pdf/21kekka.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/21kekka.pdf) [Accessed  
September 5, 2012]
- 20 農林水産省 2011c 「平成 22 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果につい  
て [http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c\\_data/pdf/22\\_natane.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/22_natane.pdf) [Accessed  
September 5, 2012]
- 25 農林水産省 2012 「平成 23 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果につい  
<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/pdf/120912-02.pdf> [Accessed October 18,  
2012]
- 30 御子柴 公人 1995 日本人とダイズ I. ダイズの日本史. 農業技術大系 作物  
編 6 農山漁村文化協会 東京 pp. 基 3-8
- 山内 文男 1992 1. 大豆食品の歴史. 大豆の科学 山内 文男・大久保 一良  
(編) 朝倉書店 東京 pp. 1-13
- 35 山田哲也・羽鹿牧太・松永亮一・高橋浩司 2008 静岡県伊豆半島におけるツ  
ルマメの探索・収集 植物遺伝資源探索導入調査報告書 独立行政法人 農業  
生物資源研究所 茨城 通巻第 24 巻 pp. 1-7

5 吉村泰幸 2008 遺伝子組換え植物と野生種との交雑率評価－圃場条件下における遺伝子組換えダイズとツルマメとの自然交雑－. 第23回日本雑草学会シンポジウム講演要旨 遺伝子組換え植物の生態系影響と管理－LMOの適正な利用のために－ 日本雑草学会(編) 日本雑草学会 pp. 30-33

吉村泰幸・水口亜樹・松尾和人 2006 ほ場で遺伝子組換えダイズとツルマメが交雑する可能性は低い. 独立行政法人農業環境技術研究所 研究成果情報 第23集 pp.22-23

10

## 緊急措置計画書

平成24年10月26日

5

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 東京都中央区銀座四丁目10番10号

10

第一種使用規程の承認を申請している除草剤ジカンバ及びグリホサート耐性ダイズ(改変 *dmo*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87708 × MON89788, OECD UI: MON-87708-9 × MON-89788-1) (以下、「本スタック系統ダイズ」という。) の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると、科学的根拠に基づき立証された場合、以下の措置を執ることとする。

15

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

20 平成24年10月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目 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 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 油糧作物担当課長
	日本モンサント株式会社 広報部 部長
	日本モンサント株式会社 広報部

\*: 管理責任者

## 2 第一種使用等の状況の把握の方法

5 弊社は、モンサント・カンパニーと連絡をとり、種子、穀物生産、収穫物の状況に関し、種子製造、種子供給、販売、穀物取扱業者など使用の可能性のある関係各者から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

弊社は、モンサント・カンパニーと連絡をとり、生産農家や穀物取扱業者などの取引ルートへ本組換え体の適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

15

## 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

20

生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合、弊社は、モンサント・カンパニーの協力のもと、本スタック系統ダイズが環境中に放出されないように必要かつ適切な措置をとるとともに、環境中に放出された本スタック系統ダイズは、環境中で生存しないように不活化する。

25

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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

30

除草剤ジカンバ及びグリホサート耐性ダイズ (改変 *dmo*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.)(MON87708 × MON89788, OECD UI: MON-87708-9 × MON-89788-1) の資料リスト

- 5 資料 1 生物多様性影響評価検討会での検討の結果「除草剤ジカンバ耐性ダイズ (改変 *dmo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87708, OECD UI: MON-87708-9)」  
(総合検討会における検討日: 2012 年 6 月 29 日)
- 10 資料 2 生物多様性影響評価検討会での検討の結果「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)」  
(総合検討会における検討日: 2007 年 10 月 4 日)

## 生物多様性影響評価検討会での検討の結果

名称：除草剤ジカンバ耐性ダイズ（改変 *dmo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87708, OECD UI: MON87708-9)

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

申請者：日本モンサント株式会社

### (1) 生物多様性影響評価の結果について

本組換えダイズは、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築されたプラスミド PV-GMHT4355 の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

本組換えダイズは、*Stenotrophomonas maltophilia* 由来の改変 DMO 蛋白質(ジカンバモノオキシゲナーゼ)をコードする改変 *dmo* 遺伝子を含む T-DNA 領域が染色体上に 1 コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達されていることが遺伝子の分離様式及びサザンブロット分析により確認されている。また、目的の遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることがウエスタンブロット分析及び ELISA 分析により確認されている。

#### ア 競合における優位性

宿主が属する生物種であるダイズは、我が国において長期にわたり栽培されているが、自生化しているとの報告はなされていない。

2008年に米国のほ場及び2010年に我が国の隔離ほ場において、本組換えダイズの競合における諸形質について調査が行われた結果、我が国の隔離ほ場試験における発芽率、一株当たりの粗粒重及び百粒重において、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められた。また、我が国の隔離ほ場試験における統計処理を行わなかった項目では、発芽揃いにおいて本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に違いが認められた。

発芽率については、本組換えダイズでは 99.2%、対照の非組換えダイズでは 100%であった。しかしながら、いずれも高い発芽率を示しており、本試験で認められた発芽率の差が競合における優位性を高めることはないと考えられた。

発芽揃いについては、本組換えダイズが 6月22日、対照の非組換えダイズが 6月23日であり、本組換えダイズが 1日早かった。しかしながら、その差はわずかであり、また発芽始めに違いは認められなかった。このため、この差異により競合における優位性が高まることはないと考えられた。

一株当たりの粗粒重の平均値は、本組換えダイズでは 54.7g、対照の非組換えダイズでは 51.0g であり、本組換えダイズの方が高かった。しかしながら、本組換えダイズの一株当たりの粗粒重の平均値は、本隔離ほ場で 2006年から 2009年までに行われた栽培試験における従来ダイズの粗粒重の範囲に収まっていた。百粒重の平均値は、本組換えダイズでは 20.6g、対照の非組換えダイズでは 19.6g であり、本組換えダイズのほうが高かった。



しかしながら、本組換えダイズの百粒重の平均値は、本隔離ほ場で 2006 年から 2009 年までに行われた栽培試験における従来ダイズの百粒重の範囲に収まっていたことに加え、これまでに報告されている従来ダイズの百粒重の範囲内であった。これらのことから、本試験において認められた一株当たりの粗粒重及び百粒重の差異により競合における優位性が高まることはないと考えられた。

本組換えダイズには改変 DMO 蛋白質の発現により除草剤ジカンバ耐性が付与されているが、ジカンバを散布されることが想定しにくい自然条件下においてジカンバ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難い。

以上より、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

#### イ 有害物質の産生性

宿主が属する生物種であるダイズは、野生動植物等への有害物質を産生するとの報告はなされていない。

本組換えダイズにおいて発現する改変 DMO 蛋白質は有害物質であるとする報告はなく、既知アレルゲンと類似の配列を有さないことが確認されている。さらに、改変 DMO 蛋白質はジカンバに対し基質特異性を有し、ジカンバと構造的に類似するダイズ内在性物質を基質とすることがないため、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することはないと考えられた。

我が国の隔離ほ場において、本組換えダイズの有害物質（根から分泌されて他の植物及び土壌微生物へ影響を与えるもの、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）の産生性の有無を土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験により検討した結果、本組換えダイズの試験区と対照の非組換えダイズの試験区との間に差異は認められなかった。

以上より、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

#### ウ 交雑性

ダイズの近縁種としてはツルマメが知られており、ともに染色体数が  $2n=40$  であり交雑可能であることから、影響を受ける可能性のある野生植物としてツルマメを特定し、以下の検討を行った。

ダイズとツルマメの人為的な交雑を行った雑種の生育には特に障害が見られないことから、我が国の自然環境下において本組換えダイズとツルマメが交雑した場合は、その雑種が生育するとともに、当該雑種からツルマメへの戻し交雑を経て、本組換えダイズに移入された遺伝子がツルマメの集団中で拡散していく可能性がある。また、ツルマメは全国に分布し、河原や土手、畑の周辺や果樹園等に自生していることから、本組換えダイズが近接して生育した場合、交雑する可能性がある。

しかしながら、

- ① ダイズとツルマメの雑種形成及び後代への遺伝子浸透について、数年間、日本各地のダイズ畑周辺においてツルマメ集団を追跡調査し、遺伝マーカー等を用いて交雑の有無

を分析したところ、雑種後代が継続して存在することを示す結果は得られなかったとの報告があること、

- ② 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、開花期が重複するダイズ品種とツルマメとを交互に株間 50cm の隣接栽培を行った場合でも、交雑率は 0.73% であるとの報告があること、
- ③ 除草剤グリホサート耐性遺伝子組換えダイズとツルマメを、播種時期をずらして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、収穫したツルマメ種子のうち、両種の開花最盛期を最も近くした群(11,860 粒)の中の 1 粒がダイズと交雑していたとの報告があること

などに加え、2010 年に我が国の隔離ほ場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、非組換えダイズへの自然交雑を調査したところ、交雑は認められなかった。また、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの生殖に関わる諸形質を調査した結果、一株当たりの粗粒重及び百粒重で統計学的有意差が認められた。しかしながら、統計学的有意差が認められた粗粒重及び百粒重の平均値は、これまでに本隔離ほ場で試験栽培された従来ダイズの範囲内であった。このことから、本組換えダイズの生殖特性は従来ダイズの変動の範囲内であり、本組換えダイズの生殖特性にはツルマメとの交雑性に影響を与えるような違いはないと考えられた。このため、本組換えダイズとツルマメとの交雑性は従来ダイズとツルマメとの交雑率と同様に極めて低いと考えられた。

また、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合、その雑種は改変 *dmo* 遺伝子により、ジカンバ耐性の形質を有すると考えられる。しかしながら、本形質は除草剤が散布されない自然条件下では競合における優位性を高めるとは考え難く、これらの形質を有する雑種が生じたとしても、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低いと考えられた。

以上より、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

## (2) 生物多様性影響評価を踏まえた結論

以上を踏まえ、本組換えダイズを第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

(別紙)

生物多様性影響評価検討会での検討の結果

- 1 (略)
- 2 (略)
- 3 (略)
- 4 (略)
- 5 名称：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)

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

申請者：日本モンサント(株)

(1) 生物多様性影響評価の結果について

ア 競合における優位性

宿主が属する生物種であるダイズ (*Glycine max* (L.) Merr.) は、我が国において長期にわたり栽培されているが、自生化しているとの報告はなされていない。

本組換えダイズでは、移入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子によりグリホサート耐性が付与されている。しかし、自然環境下においてグリホサートが選択圧となることは想定されず、この形質により競合における優位性が高まるとは考えにくい。

我が国の隔離ほ場において、競合における優位性に関わる諸形質につ

いて調査が行われており、種子の百粒重にのみ、非組換えダイズとの間で有意差が認められた。しかしながら、この差異のみにより競合における優位性が高まるとは考えにくい。

以上より、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

#### イ 有害物質の産生性

宿主が属する生物種であるダイズについては、野生動植物等への有害物質を産生するとの報告はなされていない。

本組換えダイズでは、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の産生性が付与されているが、本蛋白質が有害物質であるとの報告はなく、既知のアレルゲンとのアミノ酸配列の相同性は認められていない。また、本蛋白質は基質特異性が高く、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。

我が国の隔離ほ場において、本組換えダイズの有害物質（根から分泌され他の植物に影響を与えるもの、根から分泌され土壤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）の産生性が調査されているが、非組換えダイズとの有意差は認められていない。

以上より、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

## ウ 交雑性

### (ア) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国に自生しているツルマメ (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) は、ダイズと交雑することが知られているため、影響を受ける可能性のある野生植物としてツルマメが特定される。

### (イ) 影響の具体的内容の評価

既存の文献によれば、ダイズとツルマメの雑種の生育や生殖には障害が見られないことから、我が国の自然環境下において本組換えダイズとツルマメが交雑した場合は、その雑種が生育するとともに、当該雑種からツルマメへの戻し交雑を経て、本組換えダイズに移入された遺伝子がツルマメの集団中で低い割合でとどまらずに拡散していく可能性がある。

### (ウ) 影響の生じやすさの評価

ツルマメは全国の日当たりのよい野原、道ばた等に広く自生していることから、本組換えダイズが我が国において栽培された場合は、双方が近接して生育する機会があることは否定できない。しかしながら、

- a ダイズ及びツルマメは共に閉花受精を行う典型的な自殖性作物であり、また、一般にダイズの開花期はツルマメより 1 ヶ月近く早いこと、
- b 既存の文献によれば、開花時期がツルマメと重なるダイズの系統とツルマメを隣接して生育させた場合であっても、その交雑率は 1 %

未満であったこと、

c 我が国における隔離ほ場試験の結果から、本組換えダイズの交雑性は、従来のダイズと同程度であり、ツルマメとの交雑率も従来のダイズと同程度と考えられること、

d 改変 *cp4 epsps* 遺伝子の発現により付与されるグリホサート耐性は自然環境下での選択圧に対して優位に働く可能性は低いと考えられること、

などから、我が国の自然環境下で本組換えダイズとツルマメが稀に近接して生育した場合であっても、それらが交雑する可能性及び移入された遺伝子がツルマメの集団中で低い割合でとどまらずに拡散していく可能性は、確率的に極めて低いと考えられる。

## (2) 生物多様性影響評価書を踏まえた結論

以上を踏まえ、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した生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。