

低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ  
 (FAD2-1A, FATB1-A, 改変 cp4 epsps, Glycine max (L.) Merr.)  
 (MON87705 × MON89788, OECD UI: MON-87705-6 × MON-89788-1)  
 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書.....	1
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	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帯.....	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.....	6
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.....	11
ヘ 有害物質の産生性.....	11
ト その他の情報.....	11
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	11
(1) 供与核酸に関する情報.....	12
イ 構成及び構成要素の由来.....	12
ロ 構成要素の機能.....	12
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.....	12
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.....	19
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.....	25
イ 名称及び由来.....	25
ロ 特性.....	25
① ベクターの塩基数及び塩基配列.....	25
② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能.....	26
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.....	26
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	26
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成.....	26
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法.....	29
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過.....	29
① 核酸が移入された細胞の選抜の方法.....	29
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.....	29
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.....	29
(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.....	31
① 移入された核酸の複製物が存在する場所.....	31
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製数世代における伝達の安定性.....	31
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.....	31
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.....	31
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.....	32
(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.....	32
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	33
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.....	33
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.....	34
a 形態及び生育の特性.....	34

b	生育初期における低温又は高温耐性.....	34
c	成体の越冬性又は越夏性.....	34
d	花粉の稔性及びサイズ.....	34
e	種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率.....	34
f	交雑率.....	34
g	有害物質の産生性.....	34
3	遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	35
(1)	使用等の内容.....	35
(2)	使用等の方法.....	35
(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.....	35
(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.....	35
(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.....	35
(6)	国外における使用等に関する情報.....	35
第二	項目ごとの生物多様性影響の評価.....	37
1	競争における優位性.....	37
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	37
(2)	影響の具体的内容の評価.....	37
(3)	影響の生じやすさの評価.....	37
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	37
2	有害物質の産生性.....	37
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	37
(2)	影響の具体的内容の評価.....	37
(3)	影響の生じやすさの評価.....	37
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	38
3	交雑性.....	38
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	38
(2)	影響の具体的内容の評価.....	38
(3)	影響の生じやすさの評価.....	38
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	38
第三	生物多様性影響の総合的評価.....	39
	引用文献.....	40
	緊急措置計画書.....	49
	資料リスト.....	51

第一種使用規程承認申請書

平成 24 年 11 月 26 日

農林水産大臣  
環境大臣

郡司 彰 殿  
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	低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ ( <i>FAD2-1A</i> , <i>FATB1-A</i> , 改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON87705 × MON89788, OECD UI: MON-87705-6 × 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	—

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

5 (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

和名：ダイズ

10 英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

② 宿主の品種名又は系統名

15 親系統の作出に使った品種名は以下のとおりである。

MON87705 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; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009; 猿田ら, 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)。

## (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, 1992)。

### 10       ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

国際連合食糧農業機関 (FAO) の統計情報によると、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)。

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。また病虫害の防除は、ダイズの栽培で最も大切な作業の一つであり、生育初期の害虫に対しては早めに薬剤散布を行う。収穫には、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、

<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。

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)。

5 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)。

### (3) 生理学的及び生態学的特性

10

#### イ 基本的特性

15 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

25

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、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)。

30

MON87705 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) に分類される (Graphic Maps, 2012; Wiebold, 2002)。この栽培地域において、Maturity

<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。

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)。

5 5 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

—

10

#### 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

15 5 15 20 25 30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000

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

25

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

30 35 40 45 50 55 60 65 70 75 80 85 90 95 100 105 110 115 120 125 130 135 140 145 150 155 160 165 170 175 180 185 190 195 200 205 210 215 220 225 230 235 240 245 250 255 260 265 270 275 280 285 290 295 300 305 310 315 320 325 330 335 340 345 350 355 360 365 370 375 380 385 390 395 400 405 410 415 420 425 430 435 440 445 450 455 460 465 470 475 480 485 490 495 500 505 510 515 520 525 530 535 540 545 550 555 560 565 570 575 580 585 590 595 600 605 610 615 620 625 630 635 640 645 650 655 660 665 670 675 680 685 690 695 700 705 710 715 720 725 730 735 740 745 750 755 760 765 770 775 780 785 790 795 800 805 810 815 820 825 830 835 840 845 850 855 860 865 870 875 880 885 890 895 900 905 910 915 920 925 930 935 940 945 950 955 960 965 970 975 980 985 990 995 1000

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; 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; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009; 猿田ら, 2009)。

5

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、その生育する範囲はかなり限られていると考えられる。

15

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。

20

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

35

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 (須田ら, 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5cm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5cm離して栽培する試験区に加え、遺伝子組換えダイズから2m、4m、6m、8m及び10m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。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、2m、4m及び6m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)。

5 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。

10 実際、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5km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; 農林水産省, 2011c; 農林水産省, 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いて、2000年に広範囲の地域から採取された243系  
15 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)。

20 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  
25 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)。

30 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)。

35 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。

- 5      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
- 10     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。

15     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、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 (Oka, 1983; Chen and Nelson, 2004)。

20     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 個体の中間体を発見しているが、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

25     ている (Kuroda et al., 2010)。

#### ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

30     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

35     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)。

ホ 病原性

—

ヘ 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。

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。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ (*FAD2-1A*, *FATB1-A*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (OECD UI: MON-87705-6 × 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。

- a) 低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ (*FAD2-1A*, *FATB1-A*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (OECD UI: MON-87705-6) (以下、「MON87705」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。)

上記のように、MON87705 は低飽和脂肪酸・高オレイン酸に加えて既に除草剤グリホサート耐性の形質を有しているが、本スタック系統ダイズは、この MON87705 に新たに除草剤グリホサート耐性ダイズ MON89788 を掛け合わせるにより作出されている。この理由は、現在、米国で商品化されている優良

ダイズ品種のほとんどが既に MON89788 の形質を有していることである。優良ダイズ品種から MON89788 の導入遺伝子を分離させるよりも、MON89788 の形質を有するそれぞれの優良ダイズ品種に直接 MON87705 を掛け合わせることで、より効率的に低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性の形質を有する優良品種の育成が可能となる。

なお、MON87705 では改変 CP4 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性は、MON87705 作出時の選抜マーカーとして用いられた。

#### (1) 供与核酸に関する情報

##### イ 構成及び構成要素の由来

MON87705 及び MON89788 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来は、表 1~表 2 (p13~18) に示したとおりである。

##### ロ 構成要素の機能

#### ① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカーその他の供与核酸の構成要素それぞれの機能

MON87705 及び MON89788 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は、表 1~表 2 (p13~18) に示した。目的遺伝子である *FAD2-1A* 遺伝子断片、*FATB1-A* 遺伝子断片及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子の詳細についても、表 1~表 2 (p13~18) に記載した。

表 1 MON87705 の作出に用いられた PV-GMPQ/HT4404 の各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	由来及び機能
T-DNA I		
B <sup>注1</sup> -Left Border	7,657 – 8,098	<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左側境界配列を含む (Barker et al., 1983)。
Intervening Sequence	8,099 – 8,134	DNA クローニングの際に利用された配列
P <sup>注2</sup> - <i>FMV/EF-1α</i>	8,135 – 9,174	<i>Arabidopsis thaliana</i> の <i>EF-1α</i> プロモーター (Axelos et al., 1989) に Figwort Mosaic virus (FMV) 35S RNA の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>注3</sup> - <i>EF-1α</i>	9,175 – 9,220	<i>A. thaliana</i> の翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードする <i>EF-1α</i> 遺伝子のリーダー配列 (exon 1) (Axelos et al., 1989)。目的遺伝子の発現を高める。
I <sup>注4</sup> - <i>EF-1α</i>	9,221 – 9,842	<i>A. thaliana</i> の翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードする <i>EF-1α</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。
Intervening Sequence	9,843 – 9,851	DNA クローニングの際に利用された配列
TS <sup>注5</sup> - <i>CTP2</i>	9,852 – 10,079	<i>A. thaliana</i> の EPSPS 蛋白質をコードする <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; Herrmann, 1995)。改変 CP4 EPSPS 蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
CS <sup>注6</sup> -改変 <i>cp4 epsps</i>	10,080 – 11,447	<i>Agrobacterium</i> sp. CP4 株由来の CP4 EPSPS 蛋白質をコードしている <i>aroA</i> 遺伝子のコード配列 (Padgett et al., 1996; Barry et al., 1997)。
Intervening Sequence	11,448 – 11,505	DNA クローニングの際に利用された配列

<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 MON87705 の作出に用いられた PV-GMPQ/HT4404 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)

構成要素	プラスミド中の位置	由来及び機能
T-DNA I(つづき)		
T <sup>注7</sup> -E9	11,506 – 12,148	<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	12,149 – 12,236	DNA クローニングの際に利用された配列
P-7Sa'	12,237 – 13,077	<i>G. max</i> の $\beta$ -コングリシニン貯蔵蛋白質 (alpha'-bcsp) をコードしている <i>Sphas1</i> 遺伝子に由来するプロモーター及びリーダー配列 (Doyle et al., 1986)。 mRNA の転写を胚特異的に誘導する (Chen et al., 1986)
Intervening Sequence	13,078 – 11	DNA クローニングの際に利用された配列
<i>FAD2-1A</i> <sup>注8</sup>	12 – 277	$\Delta$ -12 デサチュラーゼをコードしている <i>G. max</i> の <i>FAD2-1A</i> 遺伝子に由来するイントロン#1 の部分配列 (Fillatti et al., 2003)。
<i>FATB1-A</i> <sup>P</sup>	278 – 578	パルミトイルアシルキャリア蛋白質チオエステラーゼをコードしている <i>G. max</i> の <i>FATB1-A</i> 遺伝子に由来する 5'非翻訳領域及び色素体ターゲティング配列の部分配列 (Fillatti et al., 2003)。
Intervening Sequence	579 – 616	DNA クローニングの際に利用された配列
B-Right Border	617 – 973	T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域 (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)。

表 1 MON87705 の作出に用いられた PV-GMPQ/HT4404 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)

構成要素	プラスミド中の位置	由来及び機能
外側骨格領域 (MON87705 には存在しない)		
Intervening Sequence	974 – 1,109	DNA クローニングの際に利用された配列
<i>aadA</i>	1,110 – 1,998	トランスポゾン <i>Tn7</i> 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、コード配列及び 3'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	1,999 – 2,528	DNA クローニングの際に利用された配列
OR <sup>注9</sup> - <i>ori.pBR322</i>	2,529 – 3,117	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <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	3,118 – 3,544	DNA クローニングの際に利用された配列
<i>CS-rop</i>	3,545 – 3,736	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であり、 <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	3,737 – 5,127	DNA クローニングの際に利用された配列
T-DNA II		
B-Left Border	5,128 – 5,569	T-DNA を伝達する際に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)。
Intervening Sequence	5,570 – 5,667	DNA クローニングの際に利用された配列
T- <i>H6</i>	5,668 – 6,103	2 次細胞壁の形成に関わる繊維蛋白質をコードしている <i>Gossypium barbadense</i> (ピマワタ) に由来する <i>H6</i> 遺伝子の 3'非翻訳領域配列 (John and Keller, 1995)。
Intervening Sequence	6,104 – 6,115	DNA クローニングの際に利用された配列

表 1 MON87705 の作出に用いられた PV-GMPQ/HT4404 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)

構成要素	プラスミド中の位置	由来及び機能
T-DNA II (つづき)		
<i>FAD2-1A<sup>P</sup></i>	6,116 – 6,381	Δ12 デサチュラーゼをコードしている <i>G. max</i> の <i>FAD2-1A</i> 遺伝子に由来するイントロン#1 の部分配列 (Fillatti et al., 2003)。
<i>FATB1-A<sup>P</sup></i>	6,382 – 6,682	パルミトイルアシルキャリア蛋白質チオエステラーゼをコードしている <i>G. max</i> の <i>FATB1-A</i> 遺伝子に由来する 5'非翻訳領域及び色素体ターゲティング配列の部分配列 (Fillatti et al., 2003)。
Intervening Sequence	6,683 – 6,693	DNA クローニングの際に利用された配列
B-Right Border	6,694 – 7,024	T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域 (Zambryski et al., 1982; Depicker et al., 1982)。
外側骨格領域 (MON87705 には存在しない)		
Intervening Sequence	7,025 – 7,173	DNA クローニングの際に利用された配列
OR-ori <i>V</i>	7,174 – 7,570	広宿主域プラスミド RK2 に由来する複製開始領域であり、アグロバクテリウム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	7,571 – 7,656	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)

注<sup>4</sup> I – Intron (イントロン)

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

注<sup>6</sup> CS – Coding Sequence (コード配列)

注<sup>7</sup> T – Transcriptional Termination Sequence (転写終結配列)

注<sup>8</sup> P<sub>-</sub> Partial sequence (部分配列)

注<sup>9</sup> OR – Origin of Replication (複製開始領域)

表 2 MON89788 の作出に用いられた PV-GMGOX20 の各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> <sup>*</sup>	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> <sup>*</sup>	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> <sup>*</sup>	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> -CTP2	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> -E9	643	エンドウ ( <i>Pisum sativum</i> ) のリブローズ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット ( <i>RbcS2</i> ) E9 遺伝子の 3'非翻訳領域配列 (Coruzzi et al., 1984)。mRNA の転写を終結させ、ポリアダニル化を誘導する。
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。

\* *Tsfl* は、近年 *EF-1α* として広く知られている。

表 2 MON89788 の作出に用いられた PV-GMGOX20 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)

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)。
<i>aadA</i>	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''(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)

5 <sup>2</sup>P-promoter (プロモーター)

<sup>3</sup>L-leader (リーダー配列)

<sup>4</sup>I-intron (イントロン)

<sup>5</sup>TS- targeting sequence (ターゲティング配列)

<sup>6</sup>CS- coding sequence (コード配列)

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

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

- 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 【*FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片の発現産物】

MON87705 に導入された *FAD2-1A* 遺伝子断片と *FATB1-A* 遺伝子断片は、ダイズの内在性遺伝子である *FAD2-1A* 遺伝子と *FATB1-A* 遺伝子の一部であり (表 1, p13~16)、*FAD2-1A* 遺伝子断片と *FATB1-A* 遺伝子断片による RNAi により、ダイズの内在性遺伝子である *FAD2* 遺伝子と *FATB* 遺伝子の発現がそれぞれ抑制される。

RNAi は真核生物において遺伝子発現調節のために一般的に起こる機構である。RNAi は、二本鎖 RNA (dsRNA) が Dicer と呼ばれる酵素により切断され 21-25 塩基の siRNA が形成されることにより引き起こされる。siRNA は RNAi-induced silencing complex (RISC) と結合し、標的となる相補的な配列を持つ mRNA と結合する (Siomi and Siomi, 2009)。siRNA と結合した mRNA が分解されることにより蛋白質の産生が阻害されることとなる。RNAi は特異性が高く、遺伝子の発現抑制効果も高いことから、特定の形質の付与や遺伝子の機能の解析に利用されている (Kusaba, 2004)。

なお、*FAD2-1A* 遺伝子断片は、 $\Delta 12$  デサチュラーゼをコードしているダイズの *FAD2-1A* 遺伝子に由来するイントロン#1 の部分配列 (Fillatti et al., 2003)、*FATB1-A* 遺伝子断片はパルミトイルアシルキャリア蛋白質 (ACP)<sup>7</sup> チオエステラーゼをコードしているダイズの *FATB1-A* 遺伝子の 5'非翻訳領域及び色素体ターゲティング配列の部分配列に由来する (Fillatti et al., 2003)。これらの配列は蛋白質の翻訳領域をコードしているものではないため、MON87705 の導入遺伝子から新たな蛋白質が産生されるとは考えにくい。

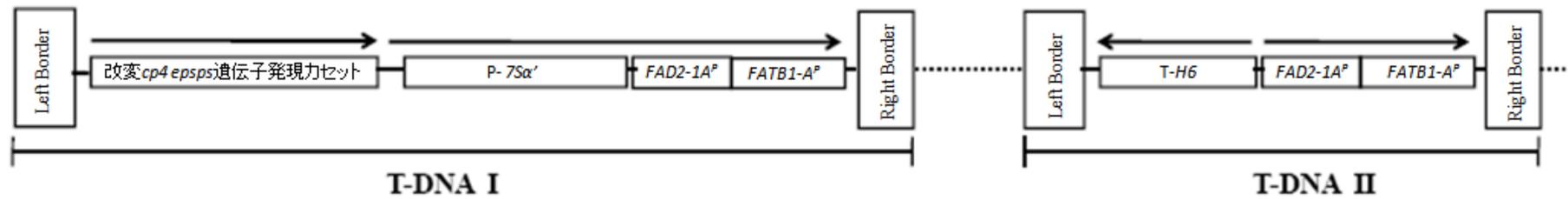
MON87705 はアグロバクテリウム法により T-DNA 領域を 2 つ有するプラスミドベクター PV-GMPQ/HT4404 (表 1, p13) を導入することにより作出された。MON87705 に導入された 2 つの T-DNA 領域 (T-DNAI 及び T-DNAII) には、ダイズの脂肪酸生合成経路の酵素である *FAD2* 遺伝子及び *FATB* 遺伝子の発現を RNAi により抑制するために設計された DNA 断片が含まれる。T-DNAI 中には 7*Sa*'プロモーターに制御される *FAD2-1A* 遺伝子のイントロンと *FATB1-A* 遺伝子の 5'非翻訳領域のセンス鎖が含まれる。T-DNAII には *FAD2-1A* 遺伝子のイントロンと *FATB1-A* 遺伝子の 5'非翻訳領域のアンチセンス鎖が含まれる。MON87705 の作出の際、*FAD2-1A* 遺伝子断片と *FATB1-A* 遺伝子断片から転写される RNA が二本鎖 RNA (dsRNA) を形成するように、プラスミド・ベクター PV-GMPQ/HT4404 (表 1, p13) の T-DNAI 中の *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A*

<sup>7</sup> ACP=Acyl Carrier Protein; アシルキャリア蛋白質

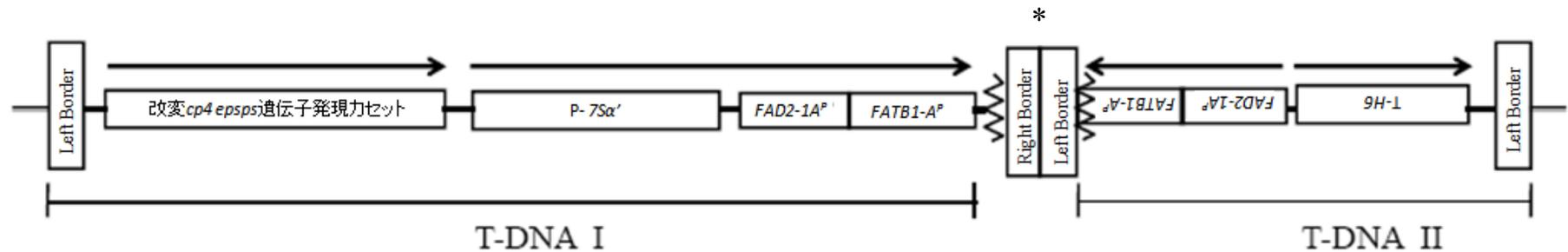
遺伝子断片と T-DNAII 中の *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片が逆方向反復の形 (図 1, p21) で核ゲノム中の 1 ヶ所に隣接した形で組み込まれた個体をインベーター法<sup>8</sup>により選抜している。

---

<sup>8</sup> インベーター分析は、主に一塩基多型や遺伝的変異の検出及び遺伝子の定量的な分析を行うためのシグナル増幅技術である。インベーター分析は PCR による遺伝子増幅を必要とせず、Invader<sup>®</sup>法と呼ばれる切断過程により検出が行われる。この切断過程では、構造を特異的に認識できる Cleavase<sup>®</sup>と呼ばれる酵素によって標的遺伝子配列が切断され、蛍光が検出される。なお、Invader<sup>®</sup>及び Cleavase<sup>®</sup>は、Third Wave Technologies 社の商標として登録されている。



### PV-GMPQ/HT4404 の配列



### MON87705 中の配列

図 1 MON87705 の作出に用いられた PV-GMPQ/HT4404 及び MON87705 中における T-DNAI 及び T-DNAII の模式図<sup>9</sup>

P-promoter (プロモーター)

T – Transcriptional Termination Sequence (転写終結配列)

<sup>P</sup> – Partial sequence (部分配列)

\* MON 87705 中では T-DNAI 由来の *FATB1-A* 遺伝子断片と T-DNAII 由来の *FATB1-A* 遺伝子断片の間に、Right Border 由来の 20bp 及び Left Border 由来の 38bp が導入されている。

<sup>9</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。

## 【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】

5 植物は除草剤グリホサートを処理すると 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  
10 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 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。

15 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  
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。

20 親系統で発現する改変 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データベース (AD\_2012<sup>10</sup>) を用いて、FASTA 型ア  
ルゴリズムによって比較したが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列  
は認められなかった。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

## 【*FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片】

25 植物油の生合成経路はよく知られており、一般的な植物生化学のテキストに  
要約されている (Buchanan et al., 2000)。植物の脂肪酸合成はプラスチドにおいて  
行われ、C<sub>2</sub>化合物が単位となって段階的にアシル鎖と縮合する (図 2, p24 の反  
30 応①)。この反応は、植物の脂肪酸合成酵素により起こり、パルミトイル-ACP  
(16:0-ACP) やステアロイル-ACP (18:0-ACP) が産生される。ダイズにおいて、  
大部分のステアロイル-ACP はプラスチドの可溶性酵素である Δ<sup>9</sup> デサチュラー  
ゼにより不飽和化されて、オレオイル-ACP (18:1-ACP) になる (図 2, p24 の反応  
35 ②)。これらの脂肪酸鎖は 2 つの異なるアシル-ACP チオエステラーゼ、FATA と  
FATB によって ACP から切り離される (図 2, p24 の反応③と④)。FATA は主に  
18:1-ACP を加水分解し、オレイン酸を産生する (図 2, p24 の反応④)。一方、  
FATB は炭素数が 14 から 18 までの飽和脂肪酸残基をもつアシル-ACP (14:0-ACP

---

<sup>10</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、2012  
年 1 月の時点で 1,603 配列が含まれる。

~18:0-ACP) を加水分解するが、主にパルミトイル-ACP (16:0-ACP) やステアロイル-ACP (18:0-ACP) を加水分解し、パルミチン酸やステアリン酸を産生する (図 2, p24 の反応③)。その後、産生された遊離脂肪酸はプラスチド膜においてアシル-CoA となり小胞体へ輸送される。

5

FATA によって ACP から切り離され、遊離脂肪酸となったオレイン酸はプラスチド膜においてオレオイル-CoA となった後にプラスチドを離れ、小胞体における脂質生合成系のケネディ経路に入る (図 2, p24)。小胞体における脂肪酸の多価不飽和化は、2 つの膜結合型酵素、FAD2 と FAD3 により起こる。FAD2 はオレイン酸 (18:1) からリノール酸 (18:2) への  $\Delta 12$  不飽和化を触媒し (図 2, p24 の反応⑤)、FAD3 はリノール酸 (18:2) からリノレン酸 (18:3) への  $\Delta 15$  不飽和化を触媒する (図 2, p24 の反応⑥)。種子油は最終的に種子の細胞中のオイルボディに蓄積する。

15 MON87705 では *FATBI-A* 遺伝子断片による RNAi によって内在性の *FATB* 遺伝子の発現が抑制されている。前述のように、チオエステラーゼである *FATB* は、炭素数が 14 から 18 までの飽和脂肪酸残基をもつアシル-ACP (14:0-ACP ~ 18:0-ACP) を加水分解し (図 2, p24 の反応①)、そのうち主にパルミトイル-ACP (16:0-ACP) 及びステアロイル-ACP (18:0-ACP) を加水分解することが知られており、飽和脂肪酸の産生に重要なプラスチドの酵素である。実際に、ダイズにおいて *FATB* が抑制された結果、油分中の飽和脂肪酸、特にパルミチン酸 (16:0) の含有量が減少したことが報告されている (Kinney, 1996)。したがって、MON87705 においても *FATB* の抑制が主にパルミトイル-ACP (16:0-ACP) 及びステアロイル-ACP (18:0-ACP) の加水分解の低下を引き起こし、そのためにダイズ油分中の飽和脂肪酸、パルミチン酸 (16:0) 及びステアリン酸 (18:0) の含有量が減少する。また、これに伴い、ダイズ油分中の不飽和脂肪酸の割合が増加する。

30 また、MON87705 では *FAD2-1A* 遺伝子断片による RNAi によって、内在性の *FAD2* 遺伝子の発現が抑制されている。前述のように、*FAD2* は  $\Delta 12$  デサチュラーゼであり、小胞体において単価不飽和脂肪酸から多価不飽和脂肪酸への反応を触媒する (図 2, p24 の反応⑤)。したがって、MON87705 においては、小胞体で *FAD2* が抑制することにより、リノール酸 (18:2) へ不飽和化されるオレイン酸 (18:1) の量が減少することで、種子の細胞中のオイルボディに蓄積するオレイン酸 (18:1) の量が高まる。その結果、オレイン酸 (18:1) をもつジアシルグリセロールが多く作られる。その後、ジアシルグリセロールはジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ (DGAT) によりトリアシルグリセロールになり、結果的に油分中のオレイン酸 (18:1) の含有量が増加し、リノール酸 (18:2) の含有量が減少する。

40

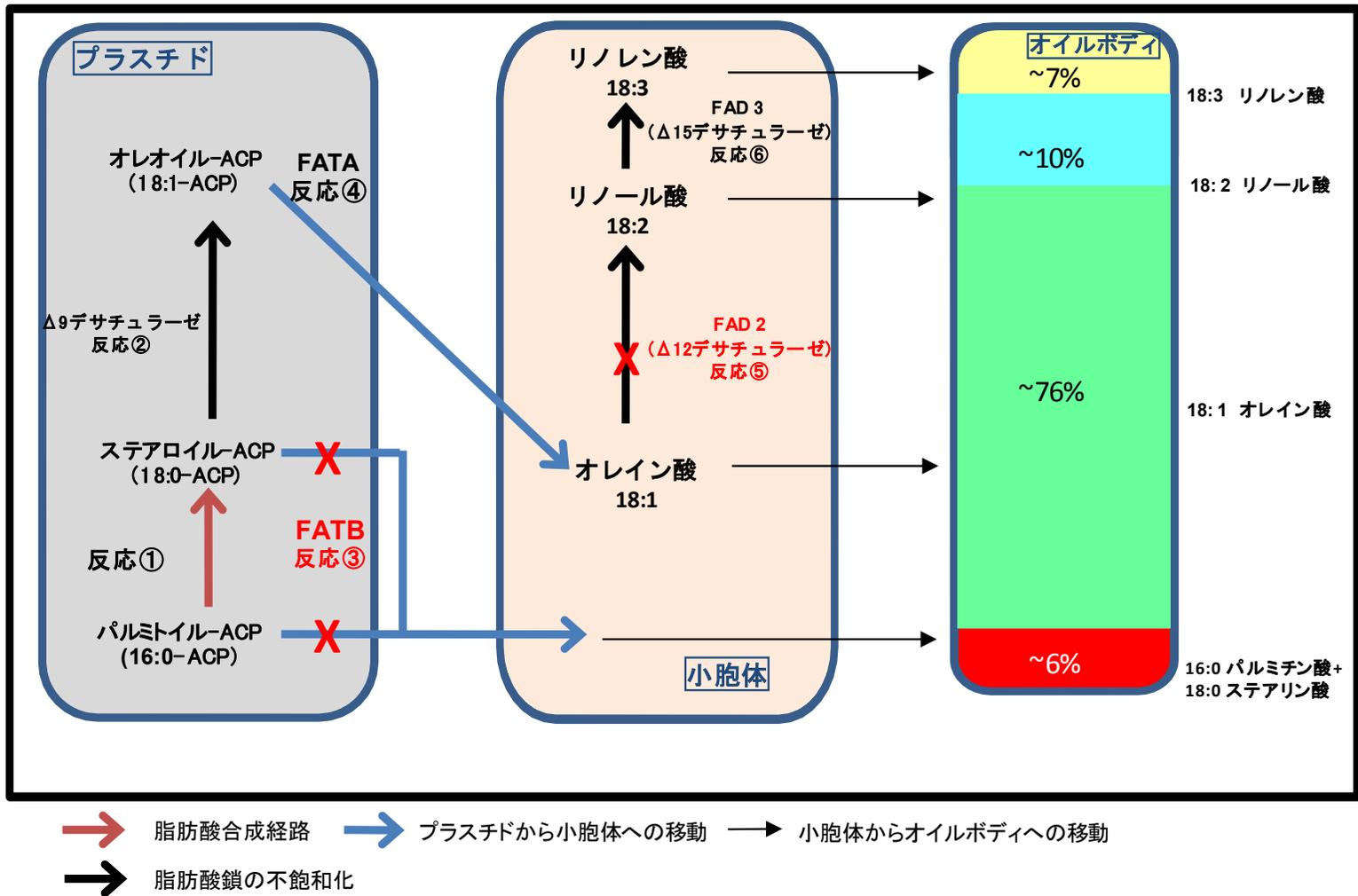


図 2 ダイズの脂肪酸生合成経路<sup>11</sup>

×は、MON87705 において内在性酵素 (FATB1-A 及び FAD2-1A) RNA の翻訳が抑制されることを示す。

<sup>11</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。

## 【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】

5 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  
10 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  
15 が知られており (Gruys et al., 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  
20 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

20

#### 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。

25

MON87705: *E. coli* 由来のベクター pBR322 などを基に構築された  
PV-GMPQ/HT4404

MON89788: *E. coli* 由来のベクター pBR322 などを基に構築された  
PV-GMGOX20

30

#### ロ 特性

##### 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。

35

MON87705: PV-GMPQ/HT4404; 13,088 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

5 MON87705 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。

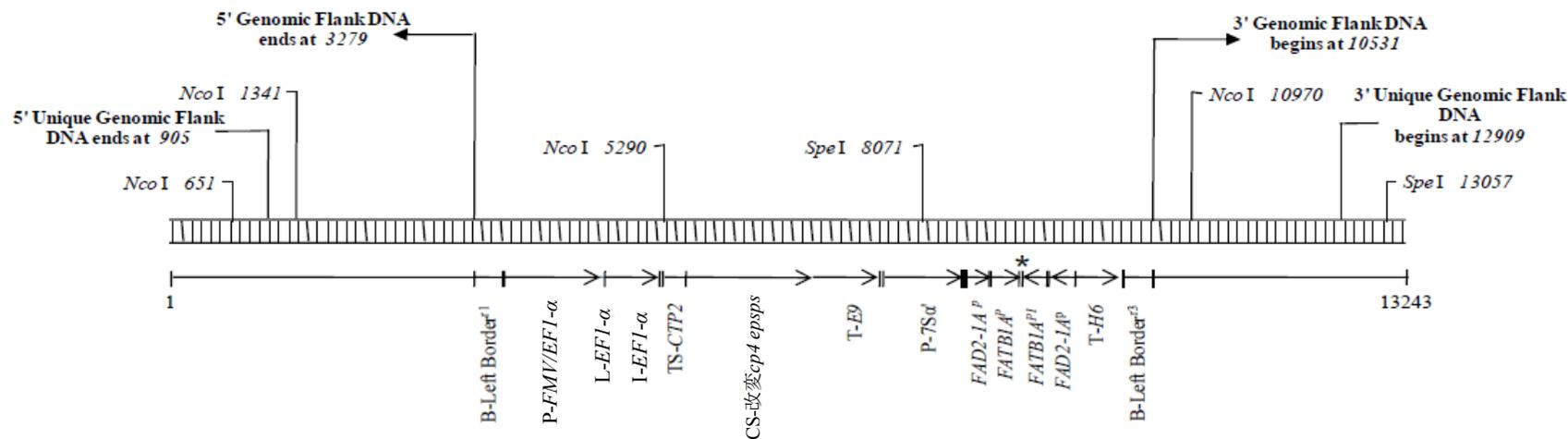
10 ③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する  
情報

PV-GMPQ/HT4404 及び PV-GMGOX20 の感染性はいずれも知られていない。

15 (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

MON87705 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を、それぞれ図 3~図 4 (p27~28) に示した。



5 図3 MON87705の導入遺伝子地図<sup>12</sup>

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(p13~16)に示すプラスミド中の位置の数字とは一致しない。

図中の直角に曲がった矢印は導入遺伝子の5'及び3'末端とそれにつづく近傍のダイズ内在性配列を示している。

\* で示した箇所は導入遺伝子のRight Border及びLeft Borderである(図1, p21)。

10

<sup>12</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。

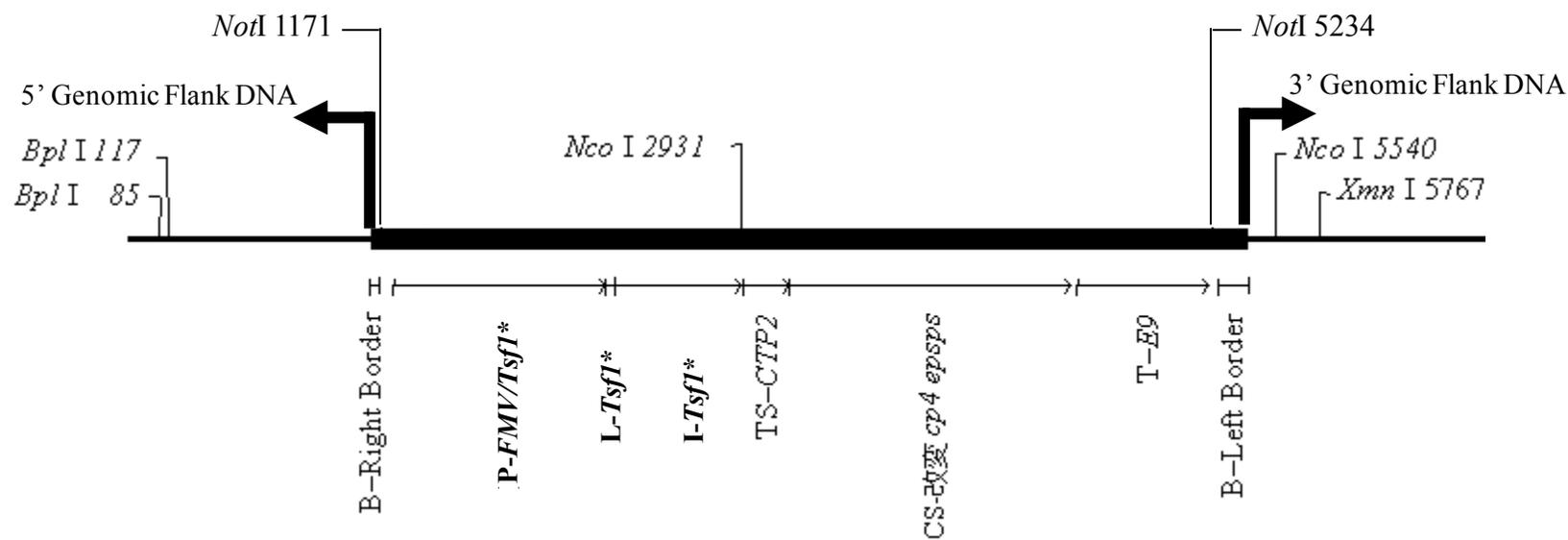


図 4 MON89788 の導入遺伝子地図<sup>13</sup>

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。

5 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 (p17~18) に示すプラスミド中の位置の数字とは一致しない。

図中の直角に曲がった矢印は導入遺伝子の 5'及び 3'末端とそれにつづく近傍のダイズ内在性配列を示している。

\* *Tsfl* は、近年 *EF-1α* として広く知られている。

<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。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

5 MON87705 及び MON89788 への核酸の移入は、いずれもアグロバクテリウム法を用いて実施した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

10

形質転換細胞の選抜は、MON87705 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。

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

15

MON87705 においては培地へ、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、MON89788 においては培地へ、カルベニシリン及びセフトキシムを添加することによりアグロバクテリウムの除去を行った。

20

さらに、MON87705 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-GMPQ/HT4404 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-GMPQ/HT4404 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、MON87705 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確認した (Monsanto Company, 2008; Urquhart and Paul, 2011)。

25

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

30

本スタック系統サイズは、MON87705 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 5 (p30) に本スタック系統の育成例を示す。なお、以下に MON87705、MON89788 及び本スタック系統サイズのわが国における申請・認可状況を記載した (表 3, p30)。

5

【社外秘につき非開示】

図 5 本スタック系統ダイズの育成図

10

【社外秘のため非開示】

表 3 MON87705、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<sup>14</sup>

15

2013年3月現在

	食品 <sup>15</sup>	飼料 <sup>16</sup>	環境 <sup>17</sup>
MON87705	2012年9月 安全性確認	2013年3月 安全性確認	2010年12月 第一種使用規程申請 2011年11月 パブリック・コメント結果の公表
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>	■ <sup>18</sup>	2012年11月 第一種使用規程申請

<sup>14</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。

<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

MON87705 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 (Phillips et al., 2009; Monsanto Company, 2006)。

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

### 【MON87705】

15 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、MON87705 の核ゲノム中1カ所に1コピーの T-DNA I 領域及び T-DNA II 領域が隣接した形で組み込まれていることが確認された。また、外側骨格領域は導入されておらず、導入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって確認した (Skipwith et al., 2009)。

### 20 【MON89788】

サザンブロット分析による挿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挿入されておらず、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た。さらに、挿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)。

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

MON87705 及び MON89788 は全て1コピーなので該当しない (Dickinson et al., 2006; Skipwith et al., 2009)。

35 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

発現の安定性については以下のように確認した。

MON87705: ノーザンブロット分析による *FAD2-1A* 遺伝子と *FATB1-A* 遺伝子の mRNA レベルの確認及びウエスタンブロット分析による改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現確認 (Geng and Silvanovich, 2008; Smith et al., 2008)

5 MON89788: ウエ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 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

10

MON87705 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。

15 (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

20 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ことにより、MON87705 及び MON89788 を特異的に検出することが可能である (Hill, 2007; 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

- 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。

MON87705 導入遺伝子に由来する *FAD2-1A* 遺伝子断片、*FATB1-A* 遺伝子断片及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質による低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性

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

これらの遺伝子断片及び蛋白質の機能的な相互作用の可能性について検討した。

MON87705 に導入された *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片は、ダイズの脂肪酸生合成経路の酵素である *FAD2* 遺伝子及び *FATB* 遺伝子の発現を RNAi により抑制する。*FAD2-1A* 遺伝子断片による RNAi により、油分中のオレイン酸 (18:1) の含有量が増加し、リノール酸 (18:2) の含有量が減少する。*FATB1-A* 遺伝子断片による RNAi により、油分中のパルミチン酸 (16:0) 及びステアリン酸 (18:0) の含有量が減少する。

RNAi は特異性が高く、遺伝子の発現抑制効果も高いことが知られている (Kusaba, 2004)。また、MON87705 に導入された *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片は、転写の開始や蛋白質の翻訳を行うものではないため、これらの導入遺伝子から新たな蛋白質が産生されるとは考えにくい。

一方、MON87705 及び MON89788 中で発現する改変 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である。EPSPS 蛋白質は高い基質特異性を有し、シキミ酸合成経路の律速酵素ではないことから、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が発現することにより 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。

本スタック系統ダイズは、改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現している MON87705 に、同じ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する MON89788 を掛け合わせることで作出されていることから、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量が親系統と比べて高まる可能性が考えられる。一方、上述したように、*FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片は、脂肪酸生合成経路に特異的に作用し、蛋白質を産生し

ない。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質はシキミ酸合成経路を触媒し、高い基質特異性を有する。このことから、この 2 つの遺伝子断片及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質の関与する代謝経路はお互いに独立しているため、たとえ改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量が親系統と比べて高まったとしても、これら遺伝子断片及び蛋白質が相互作用を示す可能性は低いと考えられた。

5

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遺伝子断片及び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 MON87705 及び MON89788 を個別に調査した結果に基づき評価した。

10

- 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

15

前項で述べたとおり、本スタック系統ダイズにおいて目的の脂肪酸改変以外に、それぞれの親系統由来の遺伝子断片及び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 MON87705 及び MON89788 につ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 (日本モンサント株式会社, 2010; 日本モンサント株式会社, 2007; Dunn, 2008)。

20

25 なお、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。

30

- a 形態及び生育の特性
- b 生育初期における低温又は高温耐性
- c 成体の越冬性又は越夏性
- 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

<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。

[MON87705]

[http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public\\_comment/H23\\_10\\_17\\_FAD2ap1.pdf](http://www.bch.biodic.go.jp/download/lmo/public_comment/H23_10_17_FAD2ap1.pdf)

[MON89788]

[https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info\\_id=1003&ref\\_no=1](https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=1003&ref_no=1)

### 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

MON87705、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 (p36) に示したとおりである。

表 4 MON87705、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<sup>20</sup>

2013年3月現在

機関	安全性審査の種類	MON87705	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1月 安全性確認	2007年1月 安全性確認	—*
米国農務省 (USDA)	環境	2011年12月 安全性確認	2007年7月 安全性確認	—*
カナダ保健省 (Health Canada)	食品	2011年9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	2011年9月 安全性確認	2007年7月 安全性確認	2011年11月 安全性確認
欧州食品安全機関 (EFSA)	食品・飼料	2010年2月 申請	2008年12月 安全性確認	2011年8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	2011年7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>21</sup>	2007年12月 安全性確認	■■■■■ ■■■■■ <sup>21</sup>
韓国食品医薬品庁 (KFDA)	食品	■■■■■ ■■■■■ <sup>21</sup>	2009年2月 安全性確認	■■■■■ ■■■■■ <sup>21</sup>
韓国農村振興庁 (RDA)	環境	■■■■■ ■■■■■ <sup>21</sup>	2009年1月 安全性確認	■■■■■ ■■■■■ <sup>21</sup>
中国農業部 (MOA)	環境・食品・飼料	■■■■■ ■■■■■ <sup>21</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。

また、MON87705、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 (p30) に記載した。

10

<sup>20</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。

<sup>21</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

本スタック系統ダイズは MON87705 及び MON89788 から、交雑育種法により作出した。

5

本スタック系統ダイズには MON87705 に由来する *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATBI-A* 遺伝子断片及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び MON89788 に由来する改変 *cp4 epsps* 遺伝子が発現している。

10 本スタック系統ダイズで発現する *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATBI-A* 遺伝子断片は、脂肪酸合成経路の酵素をコードする *FAD2-1A* 遺伝子及び *FATBI-A* 遺伝子の発現を RNAi により特異的に抑制し、これら遺伝子断片からは蛋白質は産生しない。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質はシキミ酸合成経路を触媒し、高い基質特異性を有する。このことから、この2つの遺伝子断片及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質の関与する代謝経路はお互いに独立している。このことから、すでに改変  
15 CP4 EPSPS 蛋白質を発現している MON87705 に、同じ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する MON89788 を掛け合わせることで作出された本スタック系統ダイズ中で、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量が親系統と比べて仮に高まったとしても、これらの遺伝子断片及び蛋白質が相互作用を示す可能性は低いと考えられた。

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遺伝子断片及び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た。  
20

以上のことから、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  
25 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。  
30

### 1 競合における優位性

- (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定
- (2) 影響の具体的内容の評価
- (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

### 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
- (2) 影響の具体的内容の評価
- 40 (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

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

5 (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

### 第三 生物多様性影響の総合的評価

本スタック系統ダイズは低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ MON87705 及び除草剤グリホサート耐性ダイズ MON89788 から、  
5 交雑育種法により作出した。

本スタック系統ダイズには MON87705 に由来する *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片及び改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び MON89788 に由来する改変 *cp4 epsps* 遺伝子が発現している。

本スタック系統ダイズで発現する *FAD2-1A* 遺伝子断片及び *FATB1-A* 遺伝子断片は、脂肪酸生合成経路の酵素をコードする *FAD2-1A* 遺伝子及び *FATB1-A* 遺伝子の発現を RNAi により特異的に抑制し、これら遺伝子断片からは蛋白質は產生しない。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質はシキミ酸合成経路を触媒し、高い基質特異性を有する。このことから、この2つの遺伝子断片及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質の関与する代謝経路はお互いに独立している。このことから、すでに改変  
10 CP4 EPSPS 蛋白質を発現している MON87705 に、同じ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する MON89788 を掛け合わせることで作出された本スタック系統ダイズ中で、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量が親系統と比べて仮に高まったとしても、これらの遺伝子断片及び蛋白質が相互作用を示す可能性は低いと考えられた。

したがって、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  
20 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。

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  
25 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  
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  
20  
5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. Patent 5,633,435, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
- Beard, B.H. and P.F. Knowles. 1971. Frequency of cross-pollination of soybeans after seed irradiation. *Crop Science* 11: 489-492.
- 25  
Buchanan, B.B., W. Gruissem and R.L. Jones. 2000. Phenylpropanoid and phenylpropanoid-acetate pathway metabolites. Pages 1286-1289 in *Biochemistry and Molecular Biology of Plants*. American Society of Plant Biologists, Rockville, Maryland.
- 30  
Chen, Y. and R.L. Nelson. 2004. Genetic variation and relationships among cultivated, wild, and semiwild soybean. *Crop Science* 44: 316-325.
- Chen, Z.-L., M.A. Schuler and R.N. Beachy. 1986. Functional analysis of regulatory  
35  
elements in a plant embryo-specific gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 83: 8560-8564.
- 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.

Cruden, R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: A conservative indicator of breeding systems in flowering plants. Evolution 31: 32-46.

5

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.

10 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)

15 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)

20 Doyle, J.J., M.A. Schuler, W.D. Godette, V. Zenger, R.N. Beachy and J.L. Slightom. 1986. The glycosylated seed storage proteins of *Glycine max* and *Phaseolus vulgaris*: Structural homologies of genes and proteins. Journal of Biological Chemistry 261: 9228-9238.

25 Dunn, J.M. 2008. An assessment of the effect of cold stress on biotechnology-derived soybean MON 87705 under growth chamber conditions Monsanto Technical Report REG-07-167. St. Louis, Missouri. (社内報告書)

FAOSTAT. 2012. <http://faostat.fao.org/site/567/Default.aspx#ancor> [Accessed April 5, 2012].

30 Fillatti, J.J., N.A. Bringe and K. Dehesh. 2003. Nucleic acid constructs and methods for producing altered seed oil compositions. International Publication Number WO 2003/080802 A3. International Application Published under the Patent Cooperation Treaty (PCT), World Intellectual Property Organization.

35 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.

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.

5 Geng, T. and A. Silvanovich. 2008. Western blot analysis of CP4 EPSPS protein in MON 87705 mature soybean seed across multiple generations produced in the United States and Puerto Rico during 2006 and 2007 in support of a Japan Stage III application. Monsanto Technical Report MSL0021243. St. Louis, Missouri. (社内報告書)

10 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.

Graphic Maps. 2012. North America. Worldatlas, Galveston, Texas. <http://www.worldatlas.com/webimage/countrys/na.htm> [Accessed May 10, 2012].

15 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.

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

Hill, P. 2007. Soybean GM\_A94978 EndPoint TaqMan PCR with *PUB* internal control for single seed. Monsanto Technical Report BQ-QC-10583-01. St. Louis, Missouri. (社内報告書)

25 John, M.E. and G. Keller. 1995. Characterization of mRNA for a proline-rich protein of cotton fiber. *Plant Physiology* 108: 669-676.

30 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.

35 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.

Kinney, A.J. 1996. Development of genetically engineered soybean oils for food applications. *Journal of Food Lipids* 3: 273-292.

- 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.
- 5
- 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.
- 10
- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D. Vaughan. 2010. The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. *Molecular Ecology* 19: 2346-2360.
- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D.A. Vaughan. 2008. Gene flow and genetic structure of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science* 48: 1071-1079.
- 15
- Kusaba, M. 2004. RNA interference in crop plants. *Current Opinion in Biotechnology* 15: 139-143.
- 20
- Lammi, J. 2008. Online-Photoperiod Calculator. <http://www.tornio.info/sol.html>.
- 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.
- 25
- Monsanto Company. 2006. MON 89788: Segregation data. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- Monsanto Company. 2008. Summary of PCR analysis to confirm the absence of *Agrobacterium* used to produce MON 87705 soybean. 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.

- 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.
- 5
- 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.
- 10
- 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.
- 15
- Palmer, R.G. 2000. Genetics of four male-sterile, female-fertile soybean mutants. *Crop Science* 40: 78-83.
- 20
- 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.
- Phillips, S., A. Knox and D. Kendrick. 2009. Heritability and stability of genes present in biotechnology-derived soybean MON 87705 across multiple generations. Monsanto Technical Report RPN-08-504. St. Louis, Missouri. (社内報告書)
- 25
- 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.
- 30
- 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.
- Siomi, H. and M.C. Siomi. 2009. On the road to reading the RNA-interference code. *Nature* 457: 396-404.
- 35
- Skipwith, A., K.R. Lawry, Q. Tian and J.D. Masucci. 2009. Amended report for MSL0022130: Molecular analysis of soybean MON 87705. Monsanto Technical Report

MSL0022384. St. Louis, Missouri. (社内報告書)

Smith, H.Q., Q. Tian and J.D. Masucci. 2008. Analysis of the endogenous *FAD2-1A* and *FATB1A* RNA levels in soybean MON 87705. Monsanto Technical Report  
5 MSL0021372. St. Louis, Missouri. (社内報告書)

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.

10 Stewart, C.N., M.D. Halfhill and S.I. Warwick. 2003. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nature Reviews Genetics* 4: 806-817.

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

15 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)

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].

25 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.

30 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.

35 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

- 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
- 5 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
- 10 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 —岩手県内北上川および北部河川流域— 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
- 15 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
- 20 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
- 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
- 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
- 30 財務省 2012 財務省貿易統計  
<http://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm> [Accessed April 5, 2012]
- 35 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.

- 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.
- 5 島本 義也・福土 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.
- 10 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.
- 15 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
- 20 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)
- 25 日本モンサント株式会社 2010 低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ (*FAD2-1A*, *FATB1-A*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87705, OECD UI: MON-87705-6) 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)
- 30 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
- 35 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]
- 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

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]

5 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]

10 農林水産省 2012 「平成 23 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について <http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/pdf/120912-02.pdf> [Accessed October 18, 2012]

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

15 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

20 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

25 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

緊急措置計画書

平成24年11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低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ (*FAD2-1A*, *FATB1-A*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87705 × MON89788, OECD UI: MON-87705-6 × 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11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がある関係各者から可能な限り情報収集を行う。

## 10 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

15 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スタック系統ダイズの適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

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

30 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。

## 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「低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ (*FAD2-1A*, *FATB1-A*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87705, OECD UI: MON-87705-6)」  
(総合検討会における検討日: 2011 年 4 月 15 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: MON89788-1)」  
(総合検討会における検討日: 2007 年 10 月 4 日)
- 15

## 生物多様性影響評価検討会での検討の結果

名称：低飽和脂肪酸・高オレイン酸及び除草剤グリホサート耐性ダイズ (*FAD2-1A*, *FATB1-A*, 改変 *cp4 epsps*, *Glycine max* (L.) Merr.)(MON87705, OECD UI: MON-87705-6)

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、大腸菌由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された PV-GMPQ/HT4404 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、ダイズ由来の  $\Delta$ -12 デサチュラーゼをコードする *FAD2-1A* 遺伝子の断片、パルミトイルアシルキャリア蛋白質チオエステラーゼをコードする *FATB1-A* 遺伝子の断片及び *Agrobacterium* sp. CP4 株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素蛋白質をコードする改変 *cp4 epsps* 遺伝子等を含む T-DNA I 領域及び T-DNA II 領域が隣接した形で染色体上に 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やサザンブロット分析により確認されている。本組換えダイズの *FAD2-1A* 遺伝子及び *FATB1-A* 遺伝子の発現については、移入された *FAD2-1A* 遺伝子の断片と *FATB1-A* 遺伝子の断片による RNAi よって抑制されていることがノーザンブロット解析により確認されている。また、改変 *cp4 epsps* 遺伝子の発現については、複数世代にわたり改変 CP4 EPSPS 蛋白質が安定して発現していることがウエスタンブロット分析によって検出されている。これらのことから、移入された核酸が染色体上に存在し、その伝達や発現は安定したものであると判断された。

#### (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。

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、発芽個体数、分枝数、一株当たりの精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、統計処理を行わなかった項目では、発芽期及び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。

発芽個体数は、本組換えダイズが 944 個体、対照の非組換えダイズが 879 個体であった。しかしながら、収穫種子の発芽個体数において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められなかった。さらに、米国で行われた発芽試験においても本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められな

かった。

発芽期については本組換えダイズが 7 月 12 日、対照の非組換えダイズが 7 月 13 日であり、発芽揃いについては、本組換えダイズが 7 月 13 日、対照の非組換えダイズが 7 月 14 日であり、それぞれの項目における差は 1 日のみであった。

分枝数は、本組換えダイズが 7.0 本、対照の非組換えダイズが 6.1 本であった。しかしながら、種子の生産に関わる項目(稔実莢数、一株当たりの粗粒重、一株当たりの精粒重及び百粒重)において、本組換えダイズの種子の生産性が高まるような違いは認められなかった。

一株当たりの精粒重は、本組換えダイズが 41.3 g、対照の非組換えダイズが 44.6 g であった。しかしながら、精粒重が低いことが本組換えダイズの種子の生産性を高めるものではないと考えられた。

百粒重は、本組換えダイズが 18.2 g、対照の非組換えダイズが 19.4 g であった。しかしながら、本組換えダイズの百粒重の平均値は、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、観察された差異は競合における優位性を高めるものではないと考えられた。

本組換えダイズでは移入された *FAD2-1A* 遺伝子の断片及び *FATB1-A* 遺伝子の断片による RNAi により、種子中の飽和脂肪酸含量が低下しており、また、オレイン酸からリノール酸へ不飽和化される量が減少することで、結果的にオレイン酸含量が増加しリノール酸含量が減少している。一般的にダイズ種子中の油分は、ダイズ種子におけるエネルギー源として貯蔵され、主に発芽などにおいて利用されることが知られている。しかしながら、本組換えダイズにおいて、種子中の飽和脂肪酸含量の低下やオレイン酸含量の増大が発芽におけるエネルギー供給において特に有用であるとの報告はない。また、本組換えダイズは改変 *cp4 epsps* 遺伝子の恒常的な発現により、除草剤グリホサートに耐性を持つ。しかしながら、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下において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。

本組換えダイズは、改変 CP4 EPSPS 蛋白質を産生するが、当該蛋白質が有害物質であるとする報告はなく、既知のアレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことが確認されている。改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路において EPSPS 蛋白質と同様の酵素としてはたらくが、EPSPS 蛋白質は本経路における律速酵素ではなく、また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質は基質特異性が高いため、当該蛋白質が宿主の代謝系に影響を及ぼし、新たな有害物質を産生する可能性は極めて低いと考えられた。移入された *FAD2-1A* 遺伝子の断片と *FATB1-A* 遺伝子の断片に

については、これら遺伝子の断片による RNAi よって本組換えダイズの *FAD2-1A* 遺伝子と *FATB1-A* 遺伝子の発現が抑制されるのみで、これらが起因となり新たな蛋白質が産生され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、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められなかった。

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低い割合にとどまらずに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、

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の集団を追跡調査した結果、ダイズとツルマメの雑種後代を示唆する遺伝マーカーは検出されなかったとの報告があること、  
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、人為的に開花期を一致させて交互に株間 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、

除草剤グリホサート耐性組換えダイズ 40-3-2 系統とツルマメの開花期を一致させ、隣接して栽培し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 32,502 粒中 1 粒がダイズと交雑していたとの報告がある。

さらに、我が国の隔離ほ場において本組換えダイズと対照品種である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。生殖に関わる形質(花粉の稔性、花粉形態、種子の生産性)を調査したが、本組換えダイズの特性は種の範囲を超えるものでなく、本組換えダイズとツルマメとの交雑性は従来のダイズとツルマメ同様に極めて低いと推測された。

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 *cp4 epsps* 遺伝子により、グリホサート耐性の形質を有すると考えられるが、本形質が競合における優位

性を高めるとは考え難く、グリホサート耐性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る。

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、根から分泌され土壌微生物に影響を与えるもの、植物体が内部に有し枯死した後に他の植物に影響を与えるもの）の産生性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。