

チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性ダイズ(改変 *cry1F*, 改変 *cry1Ac*, *pat*, *Glycine max*(L.) Merr.) (DAS81419, OECD UI : DAS-81419-2) 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の概要	2
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	2
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	2
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	2
(2) 使用等の歴史及び現状	2
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	3
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	9
(1) 供与核酸に関する情報	9
(2) ベクターに関する情報.....	14
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	15
(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.....	18
(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
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	20
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	24
(1) 使用等の内容.....	24
(2) 使用等の方法.....	24
(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.....	24
(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....	24
(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	24
(6) 国外における使用等に関する情報.....	24
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	26
1 競合における優位性.....	26
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	26
(2) 影響の具体的内容の評価	27
(3) 影響の生じやすさの評価	27
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	27
2 有害物質の産生性.....	27
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	27
(2) 影響の具体的内容の評価	28
(3) 影響の生じやすさの評価	29
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	30

3 交雑性.....	30
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	30
(2) 影響の具体的内容の評価.....	30
(3) 影響の生じやすさの評価.....	30
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	36
4 その他の性質.....	36
第三 生物多様性影響の総合的評価.....	37
参 考 文 献.....	39
緊 急 措 置 計 画 書.....	45
モニタリング計画書.....	48
添付資料リスト.....	53

第一種使用規程承認申請書

平成 27年 6月 4日

農林水産大臣 林 芳正 殿

環 境 大 臣 望月 義夫 殿

氏 名 ダウ・ケミカル日本株式会社
申請者 代表取締役 栗田 道郎 印
住 所 東京都品川区東品川二丁目2番24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	チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性ダイズ(改変 <i>cry1F</i> , 改変 <i>cry1Ac</i> , <i>pat</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (DAS81419, OECD UI : DAS-81419-2)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	別に定めるモニタリング計画書に基づき、申請者によるモニタリングを実施する。

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

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

5 ① 和名、英名及び学名

和名：ダイズ

英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

10 ② 宿主の品種名又は系統名

宿主には、米国において中生から晩生のダイズ品種である **Maverick** を用いた。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

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

なお、近縁野生種であるツルマメ (*Glycine soja*) は、中国、朝鮮半島、台湾、旧ソ連邦及び我が国において広く分布している (OECD, 2000)。我が国においては、北海道、本州、四国、九州に分布し、野原や荒地などに自生している (沼田ら, 1978)。

20

(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

25 ダイズは紀元前 17 世紀から紀元前 11 世紀の間に中国において栽培化されたことが示唆されている (OECD, 2000)。野生種であるツルマメが、中国大陸の東北部、長江 (揚子江) 流域、雲南などでみられるため、中国が起源地としてあげられている。日本には、弥生時代に伝来したといわれ、古事記の記載によると、1300 年前にはすでに各地で栽培されていた (鄭, 2008)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

30 我が国において、ダイズは全国的に栽培可能であるが、主に北海道、東北、九州で栽培されており、2013 年における栽培面積は約 13 万 ha である (FAO, 2014)。また、2013 年における世界総栽培面積は約 1 億 113 万 ha であり、世界的には米国 (約 3,070 万 ha)、ブラジル (約 2,786 万 ha)、アルゼンチン (約 1,942 万 ha)、インド (約 1,220 万 ha) 等を中心に、広い範囲で栽培されている

35 (FAO, 2014)。

国内栽培用のダイズ種子は、主要農作物種子法に基づいて農林水産大臣が定めた基準(農林水産省, 2000)に沿って、異物の混入状況等に関する審査が行われている。具体的には、異品種粒、異種穀粒及び雑草種子は栽培用ダイズ種子に混入しないように定められている(農林水産省, 2000)。そして、各都道府県が交

5 雑及び異物混入を防止するために厳格に管理する原種ほ及び原原種ほにおいて原種及び原原種が生産され、都道府県が定める指定種子生産ほ場において一般栽培用種子が生産される。その後、審査に合格した種子が栽培農家に供給される。

我が国のダイズ栽培における播種適期は、地域や品種によって異なり、北海道・東北では5月下旬、関東・北陸・近畿では6月上旬、中国・四国・九州では6月下旬から7月上旬である。播種深度は3~5 cmがよく、播種量は畝間70 cm、株間20 cmで点播の場合1株2~3粒播き、最終的な苗立ち密度を1 m²当たり15本程度確保できればよい。播種前の耕うんと播種と同時に除草剤を散布することで大部分の雑草を抑制できるが、中耕作業を2回程度行うことは効果的である。中耕は除草のほか、土壌物理性の改善効果もある。また、不定根

10 発生を促進や倒伏防止のために中耕と同時に培土(土寄せ)することが必要である。病虫害防除のために早めに適切な薬剤を散布する。収穫は小面積の場合は、地上部を手で刈り、束ねてほ場に立てて天日乾燥した後に脱穀する。大面積の場合は、機械による収穫が一般的である。ビーンハーベスタ、あるいは改良したコンバインによって刈取りと脱穀が一斉に行われる(鄭, 2008)。

15

ダイズの2013年における世界総生産量は約2億7,641万トンであり、主な生産国は米国(約8,948万トン)、ブラジル(約8,170万トン)、アルゼンチン(約4,931万トン)、中国(約1,250万トン)である。一方、我が国における2013年の生産量は約20万トンである(FAO, 2014)。我が国は2013年に約276万トンのダイズを輸入しており、その輸入量の60.1%にあたる166万トンが米国からの輸入である(財務省, 2014)。

20

ダイズは、世界的にみればその9割以上が食用油と家畜の飼料として利用されている。しかし、我が国も含めアジアでは古くから食品素材として盛んに利用されている。主な加工利用法は、豆腐、醤油、納豆、味噌、煮豆、炒り豆、きなこ、もやしなどである。また、工業分野では、インク(ソイインク)や接着剤として広く利用されている(鄭, 2008)。

25

30

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ダイズは、一年生の双子葉植物である。ダイズの品種は早晚性により、極早生、早生、中生、晩生、極晩生などの各品種群に分けられる。我が国では播種から開花までの長短(I~V)と、開花から成熟までの長短(a, b, c)の組合せによって9グループに詳しく分けられている。また、茎の成長習性の違いによって有限伸育型と無限伸育型に分けることができる。ダイズの種子は球形からやや

35

扁楕円形で、胚と種皮からなる無胚乳種子であり、胚は幼根と子葉からなる。幼根が伸長して種皮を突き破り発芽する。発芽後下胚軸が伸長し、子葉を地上に押し上げて出芽する。出芽後、子葉の上位節に初生葉とよばれる2枚の単葉が対をなす。初生葉の上位節以降の各節には、ダイズ本来の3小葉からなる複葉が展開する。主茎は、葉数の増加とともに節間を伸長させて成長し、主茎が本葉を4～5枚出した頃、第1本葉の葉腋から分枝が発生し、主茎と同様に葉を増やして伸長する。発芽後、幼根は土中へ深く伸長して主根となり、二次根である側根を発生する。側根は主根と一定の角度をなして伸長し、さらに三次根である二次側根を発生する。根の周辺に根粒菌が存在すると、根粒菌は根毛から侵入して根の皮層細胞に感染し、根粒が形成され、根粒菌が空気中の窒素ガス(N₂)を還元し、植物が利用可能なウレイド態窒素に変換して宿主植物に供給する(鄭, 2008)。ダイズには開放花、閉鎖花という2つの異なる形態の花を同一個体がもつことが知られており(宮下ら, 1999)、花は主茎、分枝の各葉腋に着生する(鄭, 2008)。開放花は基部ががくに包まれ、1枚の旗弁、2枚の翼弁及び2枚の竜骨弁からなる。雌ずいと雄ずいはいずれも竜骨弁に包まれ露出しない(鄭, 2008)。開放花は午前中に開花し、花粉は開花直前に葯から放たれるため自家受粉する。開花・受精の7日(早生品種)～14日(晩生品種)目頃から莢が伸長し始め、約10日間で最大(長さ4～6 cm)に達する(鄭, 2008)。その後、子実の肥大が急速に生じ、30～45日目には子実の乾物重が最大に達する(鄭, 2008)。また、閉鎖花は花弁を持たず開花することなく蕾の中で同花受粉を行う(宮下ら, 1999)。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズの種子は土壌温度が10℃に達すると発芽し、好適条件下では5～7日後に出芽する(OECD, 2000)。ダイズ栽培に適する土壌は、pH5.5～6.5、排水及び通気の良い埴土あるいは壤土である。ダイズでは乾物1gを生産するのに必要な水の量は約600gであり、特に乾物蓄積が最も多い開花期から約1ヵ月後までの間は最も水分を必要とする(鄭, 2008)。また、ダイズは霜に対して耐性がなく、冬季の氷点下になるような条件では生き残ることができない。ダイズの種子が休眠性を示すことはほとんどなく、雑草化の特性もない(OECD, 2000)。

なお、ダイズは短日条件でよく開花するため、栽培品種の適地を決定する際には、光周性及び温度応答が重要である。ダイズの栽培品種は、緯度と日照時間によって決定され、北米には、北部(北緯45度)の成熟群(MG)000から赤道付近の成熟群(MG)Xまで、13の成熟群(MG)があり(OECD, 2000)、遺伝子導入に用いた宿主であるMaverickは、米国において、成熟群(MG)IIIに分類されている(Sleper *et al.*, 1998)。

ハ 捕食性又は寄生性

ニ 繁殖又は増殖の様式

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

ダイズは、1個体で最大400の莢を形成し、各節の莢数は2~20である。各莢には1~5個の種子が入っている。莢は成熟後、乾燥状態におくと、背軸面で
5 裂開して種子が飛散する。また、一般的に米国の品種は裂莢しにくい。ダイズ
種子にはほとんど休眠性がなく、まれに越年した種子が翌年に発芽することが
あるが、その場合も十分に育つことはない(OECD, 2000)。種子の発芽力は、通
常の貯蔵条件下では2年後にほとんど失われる(古谷, 1977)。

10 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

ダイズは種子繁殖する一年生の双子葉植物であり、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を有さない。

15 ③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

ダイズには開放花、閉鎖花という2つの異なる形態の花を同一個体にもつこ
とが知られているが、一般的にダイズは自家受粉率が高い自殖性植物であり、
他家受粉率は通常1%未満である(OECD, 2000)。自家不和合性は知られていな
20 い。ダイズの近縁野生種としてはツルマメがあり、中国、朝鮮半島、台湾、旧
ソ連邦及び我が国において広く分布している。ツルマメはツル性の一年生植物
であり、野原や荒地などに自生しており(沼田ら, 1978)、ツルマメ集団内におけ
る自然交雑率は平均2.2%であったことが報告されている(Kuroda *et al.*, 2008)。
一方、秋田県雄物川沿いのツルマメ集団では、自然交雑率が平均13%と比較的
25 高いものであったことが報告されている。この地域は護岸工事や人為的介入が
なされておらず、ツルマメ集団の規模が大きく、訪花昆虫であるミツバチやク
マバチが頻繁に観察されていた。このように、このツルマメ集団の周辺環境は、
自然交雑が通常よりも起こりやすいものであったと考えられる(Fujita *et al.*,
1997)。

30 ダイズとツルマメは染色体数($2n=40$)が同じであり、交雑が可能である
(OECD, 2000)。一般的にツルマメの開花期はダイズより遅く、それぞれの開花
期間が重なりにくい。他のダイズ品種と比べて開花期が遅い我が国固有の栽
培品種である丹波黒とツルマメそれぞれ30個体を30cm間隔で交互に配置した
条件下での平均交雑率は0.73%(686個体中5個体)であったと報告されている
35 (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。また、2005年に、除草剤耐性遺伝子組換
えダイズにツルマメが巻きついた状態で、開花期の一部が重複した条件下での
交雑率を調べた研究では、検定種子32,502個体中、開花最盛期が最も近かった
組合せのツルマメ11,860個体の中から交雑個体が1個体見つかったと報告され
ている(Mizuguti *et al.*, 2009)。2007年に、より開花期の遅い組換えダイズ品

種を用い、開花ピークをより近づけ、組換えダイズにツルマメが巻きついた状態で行われた実験では、25,741 個体中、交雑個体は 35 個体で交雑率は 0.136 % であった。さらに、組換えダイズから 2、4、6、8 及び 10 m 離してツルマメを栽培した場合は、2 m の距離での交雑個体は 7,521 個体中 1 個体、4 m の距離
5 での交雑個体は 7,485 個体中 1 個体及び 6 m の距離での交雑個体は 14,952 個体中 1 個体であった。また、8 m 及び 10 m の距離において、それぞれ 14,964 個体及び 21,749 個体を調査したが、交雑個体は得られなかった (Mizuguti *et al.*, 2010)。

また、ダイズとツルマメの雑種形成及びダイズからツルマメへの遺伝子浸透
10 については、我が国の自然環境下において調査が行われている。2003 年に行われた調査では、ダイズとツルマメの雑種後代によくみられる形態的「中間体」を広島県 8 地点、秋田県 9 地点のツルマメの自生地において探索し、秋田県の 1 地点で 1 個体の中間体が発見された (加賀ら, 2005)。さらに 2004 年には、秋田県 8 地点、茨城県 6 地点、愛知県 4 地点、広島県 6 地点、佐賀県 33 地点の合計
15 57 地点のツルマメ集団 (ダイズの栽培畑と隣接) を調査し、佐賀県の 3 地点から、11 個体の中間体が発見された (黒田ら, 2005)。しかし、2003 年に行われた調査で中間体が発見された地点からは、中間体は発見されなかった (黒田ら, 2005)。この結果より、ダイズとツルマメの雑種形成はツルマメの自生地で起きているものの、その頻度は低いと考えられた。さらに、2005 年に行った秋田県、茨城
20 県、高知県及び佐賀県における計 39 地点における調査では、新たなダイズ中間体は発見されなかった。また、2004 年までに秋田県の 1 地点と佐賀県の 3 地点で発見された 12 個体の中間体のうち、後代の生存が確認できたのは佐賀県 1 地点の 1 個体のみであった。2004 年は中間体が多数の種子を生産していたが、2005 年には中間体がほとんど発見されなかった (黒田ら, 2006)。2006 年には、2005
25 年までに中間体が発見された秋田県 1 地点と佐賀県 3 地点における後代の自生モニタリング調査及び秋田県、兵庫県、佐賀県の新たな 40 地点における中間体の調査が行われた。その結果、後代モニタリングでは佐賀県の 1 地点で 1 個体が見つかったのみであった。新たな 40 地点で行われた調査では、佐賀県の 2 地点でそれぞれ 1 個体ずつ中間体が発見されたのみであった (黒田ら, 2007)。また、
30 2003 年から 2006 年にかけて秋田県の 1 地点及び佐賀県の 5 地点にて採取した 468 個体のツルマメ、17 個体の中間体、12 個体のダイズについて、20 種類のマイクロサテライトマーカー及び 2 種類の葉緑体 dCAPS マーカーを用い、多型パターンの解析を行った。その結果、中間体はすべてツルマメと晩生ダイズの交雑によるものであり、これらはダイズからツルマメへの遺伝子流動により生
35 じたが、遺伝子浸透が起こる可能性は低いと報告されている (Kuroda *et al.*, 2010)。

さらに、ダイズとツルマメの交雑個体及びツルマメの種子生産数と冬季の種子生存率が調査されている。交雑個体については、青森県及び広島県において採取されたツルマメとそれぞれの地域で頻繁に栽培されているダイズ品種を人工的に受粉させた。そして、それぞれのダイズとツルマメ及び交雑個体 (F1) を、
40

2005年に秋田県、茨城県及び広島県にある3ほ場において栽培し、各ほ場において1個体あたりの種子生産数及び冬季の種子生存率を求めた。種子生産数に関しては、ツルマメでは421 - 5,137粒となり、交雑個体では636 - 2,744粒となった。次に、種子の休眠性を確認するため、冬から春にかけて種子を埋土し、種子生

5 存率を調査したところ、ツルマメでは77.5 - 100.0 %となり、交雑個体では10.0 - 25.0 %となった。さらに、翌年に発芽する種子数を算出するために、種子生産数と冬季の種子生存率を乗算したところ、ツルマメでは410 - 5,137粒であったのに対して交雑個体では139 - 378粒となり、交雑個体の翌年に発芽する種子数はツルマメより大幅に低下した(添付資料1)。

10 また、ダイズにはアポミクシスを生ずる特性を有するという報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ダイズの1花当たりの花粉の生産量は平均3,600粒前後であり(Chiang and Kiang, 1987)、花粉の寿命は数時間である。受精可能な期間は、開花1日前から開花後2日程度で同じ花の中で受粉する(OECD, 2000)。2001年～2004年に

15 独立行政法人農業環境技術研究所で行われた花粉の飛散距離と交雑率に関する研究では、最も高い交雑率は花粉源から0.7 mで0.19 %であり(2001年)、10.5 m離れると交雑率は0 %であった(Yoshimura *et al.*, 2006)。さらに、ダイズほ場にて、風による花粉の飛散状況を調査した結果、ほ場内では0.386粒/cm²/日、

20 ほ場から2.5 mの地点で0.694粒/cm²/日、5 mで0.309粒/cm²/日、10 mで0.077粒/cm²/日であり、風媒による交雑は少ないものと示唆されている(Yoshimura, 2011)。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されている(Yoshimura *et al.*, 2006)。

25 ホ 病原性

へ 有害物質の産生性

ダイズには、自然条件下で周囲の野生動植物等の生息又は生育に支障を及ぼすような有害物質の産生は知られていない。

30

ト その他の情報

① ダイズと交雑可能なツルマメの生育を制限する要因

一般的に自然環境下で自生する植物の群落は、他の植物との競合、昆虫など

35 による食害、環境要因などにより制限されている(Tilman, 1997)。

海外から我が国へ輸入されたダイズ種子が国内運搬中にこぼれ落ちた後に生育するダイズ個体とツルマメが交雑する可能性がある場所は、ダイズの輸送経路周辺に限られる。

空き地、道路沿い、河川敷などで行われた、ツルマメの生活史と生育環境の調査によると、出芽した個体は生育初期には暑さと乾燥により死亡し、生き残った個体もその後の草刈などによって多数死亡することが確認されている(中山ら, 2000)。さらに、2 回以上の除草行為などにより攪乱された集団では、発生時期に関わらずほぼすべてが死亡したことも報告されている(中山ら, 2000)。

また、ツルマメは、河原や工事現場のように常に攪乱されている不安定な環境に自生している場合には、消滅する個体群も少なくないことが報告されている(羽鹿ら, 2003)。加えて、遷移の進んだ自生地では、雑草との競合により消えつつある個体群も見られ、攪乱が生じた後にツルマメが増殖を繰り返すことが可能な期間はかなり短い印象を受けたと報告されている(羽鹿ら, 2003)。

② ダイズと交雑可能なツルマメを摂食する昆虫

農林水産省新農業展開ゲノムプロジェクトにおいては、害虫抵抗性遺伝子組換えダイズ(Bt ダイズ)から野生ツルマメへの遺伝子拡散と雑種の適応度に関する知見の収集を目的とし、ツルマメを摂食するチョウ目昆虫の解明及びチョウ目幼虫の摂食がツルマメに及ぼす影響等についての調査が行われた(添付資料 2)。2011 年及び 2012 年に東北地方、関東地方、中国・四国地方及び九州地方において行われたツルマメを寄主植物とするチョウ目昆虫の調査では、16 科 66 種が確認された。各地方それぞれ数カ所のツルマメ自生地において、ツルマメ生育期間(5~11 月)にツルマメを摂食している幼虫の探索において全国的に広く発生が確認されたものは、ネズミエグリキバガ(*Acria ceramitis*)、ダイズサヤムシガ(*Matsumuraeses falcana*)、ウコンノメイガ(*Pleuroptya ruralis*)、ヨモギエダシャク(*Ascotis selenaria cretacea*)、チャバネキボシアツバ(*Paragabara ochreipennis*)、オオウンモンクチバ(*Mocis undata*)、オオタバコガ(*Helicoverpa armigera*)、ハスモンヨトウ(*Spodoptera litura*)の 8 種で、4 地方すべてで確認された。また、ツルマメの発芽実生を摂食するチョウ目昆虫としては、クロクモヤガ(*Hermonassa cecilia*)、カブラヤガ(*Agrotis segetum*)、オオカブラヤガ(*Agrotis tokionis*)、シロヒトリ(*Chionarctia nivea*)が確認されたが、地域によって発生量の多い種は異なり、時期によっても発生する種は異なった(添付資料 2)。

また、生殖成長期の摂食調査で摂食量が最も多かったシロヒトリ 1 頭が、ツルマメ個体群中の特定の個体を選択的に摂食した場合においても、ツルマメの種子生産数を減少させるほどの摂食量は確認されなかった。また、調査期間中はツルマメの種子生産数を減少させるようなチョウ目幼虫の大発生や集中的分布は確認されなかった。実際に、ツルマメ自生地における調査でも、陸生貝類のウスカワマイマイ(*Acusta despecta sieboldiana*)によって葉が著しく摂食された個体群が複数見つかったものの、チョウ目昆虫によって強い選択圧がかかるような摂食を受けたツルマメ個体群は発見されなかった(添付資料 2)。

さらに、2011 年に中国・四国地方で行われたツルマメを寄主植物とする昆虫相に関する調査では、合計 5 目 40 科 99 種が同定されており、バッタ目に属す

- るオンブバッタ (*Atractomorpha lata*) とツチイナゴ (*Patanga japonica*) がツルマメを摂食する主要種と考えられることが報告されている (菊地, 2013)。また、昆虫によるツルマメへの食害を目ごとに行った調査では、バッタ目及びコウチュウ目昆虫による食害が最も多く、チョウ目昆虫の食害程度は平均で 2 % 以下と極めて低いことが確認された (Goto *et al.*, 2016)。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

- 10 チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性ダイズ (改変 *cry1F*, 改変 *cry1Ac*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.) (DAS81419, OECD UI : DAS-81419-2) (以下「本組換えダイズ」という。)の作出に用いられた供与核酸の構成とその由来は、表 1 (p.10~11) のとおりである。

表 1 供与核酸の構成、構成要素の由来及び機能

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
T-DNA Border B	24	アグロバクテリウム (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) 由来の T-DNA 境界配列 (Barker <i>et al.</i> , 1983)。
改変 <i>cry1F</i> カセット		
<i>AtUbi10 promoter</i>	1,322	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) 由来のポリユビキチン 10 (UBQ10) 遺伝子のプロモーター。5' 末端非翻訳領域及びイントロンを含む (Norris <i>et al.</i> , 1993)。遺伝子を植物体全体で発現させる。
改変 <i>cry1F</i>	3,447	改変 Cry1F 蛋白質をコードする遺伝子。 <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> の <i>cry1F</i> 遺伝子に由来するコア蛋白質コード領域と C 末端側コード領域 (<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>berliner</i> 1715 の <i>cry1Ab</i> 遺伝子及び <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> の <i>cry1Ca3</i> 遺伝子に由来する) からなる (図 1, p.11)。植物における発現を高めるため塩基配列が改変されている。アミノ酸配列は、C 末端側領域において 604 番目のフェニルアラニンがロイシンに、608 番目のチロシンがセリンに、619 番目のグルタミン酸がアラニンに、640 番目のグルタミンがアルギニンに置換されている。
<i>AtuORF23 3'UTR</i>	457	アグロバクテリウムのプラスミド pTi15955 由来の ORF23 の転写終結点とポリアデニル化部位からなる 3' 末端非翻訳領域 (Barker <i>et al.</i> , 1983)。遺伝子の転写を終結する。
改変 <i>cry1Ac</i> カセット		
<i>CsVMV promoter</i>	517	キャッサバベインモザイクウイルス (Cassava vein mosaic virus) 由来のプロモーター。5' 末端非翻訳領域を含む (Verdaguer <i>et al.</i> , 1998)。遺伝子を植物体全体で発現させる。
改変 <i>cry1Ac</i>	3,471	改変 Cry1Ac 蛋白質をコードする遺伝子。 <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> の <i>cry1Ac</i> 遺伝子に由来するコア蛋白質コード領域と C 末端側コード領域 (<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>berliner</i> 1715 の <i>cry1Ab</i> 遺伝子及び <i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>aizawai</i> の <i>cry1Ca3</i> 遺伝子に由来する) からなる (図 2, p.11)。植物における発現を高めるため塩基配列が改変されている。アミノ酸配列は、C 末端側領域において 612 番目のフェニルアラニンがロイシンに、616 番目のチロシンがセリンに、627 番目のグルタミン酸がアラニンに、648 番目のグルタミンがアルギニンに置換されている。
<i>AtuORF23 3'UTR</i>	457	アグロバクテリウムのプラスミド pTi15955 由来の ORF23 の転写終結点とポリアデニル化部位からなる 3' 末端非翻訳領域 (Barker <i>et al.</i> , 1983)。遺伝子の転写を終結する。

表 1 供与核酸の構成、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
<i>pat</i> カセット		
<i>CsVMV promoter</i>	517	キャッサバベインモザイクウイルス由来のプロモーター。5' 末端非翻訳領域を含む(Verdaguer <i>et al.</i> , 1998)。遺伝子を植物体全体で発現させる。
<i>pat</i>	552	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を植物における発現に適したコドンに改変した遺伝子で、PAT 蛋白質を発現させる。発現する PAT 蛋白質のアミノ酸配列に関しては改変されていない(Wohlleben <i>et al.</i> , 1988)。
<i>AtuORF1 3' UTR</i>	704	アグロバクテリウムのプラスミド pTi15955 由来の ORF1 の転写終結点及びポリアデニル化部位からなる 3' 末端非翻訳領域(Barker <i>et al.</i> , 1983)。遺伝子の転写を終結する。
外骨格領域		
T-DNA Border A	24	アグロバクテリウム由来の T-DNA 境界配列(Barker <i>et al.</i> , 1983)。
T-DNA Border A	24	アグロバクテリウム由来の T-DNA 境界配列(Barker <i>et al.</i> , 1983)。
T-DNA Border A	24	アグロバクテリウム由来の T-DNA 境界配列(Barker <i>et al.</i> , 1983)。
<i>Ori Rep</i>	1,020	広域宿主プラスミド RK2 の複製開始点に由来する配列(Stalker <i>et al.</i> , 1981)。
<i>trfA</i>	1,149	広域宿主プラスミド RK2 に由来する配列。プラスミドの複製に必要な複製開始蛋白質をコードする(Stalker <i>et al.</i> , 1981)。
<i>SpecR</i>	789	<i>Escherichia coli</i> の <i>SpecR</i> 遺伝子に由来する配列。スペクチノマイシン耐性を付与する(Fling <i>et al.</i> , 1985)。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

社外秘情報につき非開示

5 図 1 改変 *cry1F* 遺伝子の模式図

社外秘情報につき非開示

図 2 改変 *cry1Ac* 遺伝子の模式図

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

挿入遺伝子の各要素の機能を表 1 (p.10~11) に示した。

5

- 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

10 Cry 蛋白質

土壤中に一般的に存在するグラム陽性菌である *B. thuringiensis* が産生する結晶性の蛋白質 (Cry 蛋白質) であるプロトキシンは、感受性昆虫に摂食されると腸管内のプロテアーゼにより消化され、殺虫活性のある毒素 (コア蛋白質) となる。コア蛋白質は、中腸上皮にある特異的な受容体と結合し、不可逆的に細胞膜に侵入する。さらに、いくつかの受容体と毒素の複合体による凝集体が形成され、これらが中腸細胞膜に細孔構造をつくることによって、細胞の破壊が誘導され昆虫を死に至らしめる (OECD, 2007)。

15

【改変 Cry1F 蛋白質】

20 改変 Cry1F 蛋白質を発現する改変 *cry1F* 遺伝子は、*cry1F* 遺伝子に由来するコア蛋白質コード領域と C 末端側コード領域 (*cry1Ab* 遺伝子及び *cry1Ca3* 遺伝子に由来する) からなる (図 1、p.11)。植物における発現を高めるため塩基配列が改変されており、アミノ酸配列は、C 末端側領域において 604 番目のフェニルアラニンがロイシンに、608 番目のチロシンがセリンに、619 番目のグルタミン酸がアラニンに、640 番目のグルタミンがアルギニンに置換されている。

25

なお、本組換えダイズ中で発現する改変 Cry1F 蛋白質の活性部分であるコア蛋白質は、野生型 *B. thuringiensis* の Cry1F 蛋白質のコア蛋白質と同一である。また、C 末端側領域は、Cry 蛋白質の結晶構造に関与し、感受性昆虫の中腸内においてコア蛋白質の形成の際にプロテアーゼによって消化されるため、殺虫活性には影響を与えない。

30

改変 Cry1F 蛋白質が既知アレルゲンとアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 14) を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を有していなかった。

35 【改変 Cry1Ac 蛋白質】

改変 Cry1Ac 蛋白質を発現する改変 *cry1Ac* 遺伝子は、*cry1Ac* 遺伝子に由来するコア蛋白質コード領域と C 末端側コード領域 (*cry1Ab* 遺伝子及び *cry1Ca3* 遺伝子にそれぞれ由来する) からなる (図 2、p.11)。植物における発現を高めるため塩基配列が改変されており、アミノ酸配列は、C 末端側領域において 612 番

目のフェニルアラニンがロイシンに、616番目のチロシンがセリンに、627番目のグルタミン酸がアラニンに、648番目のグルタミンがアルギニンに置換されている。

5 なお、本組換えダイズ中で発現する改変 Cry1Ac 蛋白質の活性部分であるコア蛋白質は、野生型 *B. thuringiensis* の Cry1Ac 蛋白質のコア蛋白質と同一である。また、C 末端側領域は、Cry 蛋白質の結晶構造に関与し、感受性昆虫の中腸内においてコア蛋白質の形成の際にプロテアーゼによって消化されるため、殺虫活性には影響を与えない。

10 改変 Cry1Ac 蛋白質が既知アレルゲンとアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 14) を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を有していなかった。

15 Cry1 蛋白質 (Cry1F 蛋白質及び Cry1Ac 蛋白質) はチョウ目昆虫に対してのみ殺虫活性を示すことが知られている (Prieto-Samsónov *et al.*, 1997)。改変 Cry1F 蛋白質は、ダイズを加害するチョウ目害虫のうち、ベルベットビーンキャタピラー (*Anticarsia gemmatalis*)、ソイビーンルーパー (*Pseudoplusia includens*)、タバコバッドワーム (*Heliothis virescens*)、フォールアーミーワーム (*Spodoptera frugiperda*) に対して殺虫活性を示すことが明らかになっている (添付資料 3、Table1 及び Table2、p.13)。また、改変 Cry1Ac 蛋白質は、ベル

20 ベットビーンキャタピラー、ソイビーンルーパー、タバコバッドワームに対して殺虫活性を示すことが明らかになっている (添付資料 3、Table1 及び Table2、p.13)。本組換えダイズは、改変 Cry1F 蛋白質及び改変 Cry1Ac 蛋白質の両 Cry 蛋白質を発現するため、両方の殺虫活性を併せもつ (添付資料 4、Table 1、p.13)。

25 また、他の Cry 蛋白質と同様、Cry1F 蛋白質及び Cry1Ac 蛋白質の殺虫効果は特異性が高く、チョウ目昆虫にだけ効果を示す。実際に、コウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目、トビムシ目等の非標的昆虫、哺乳類、鳥類等に対する試験が行われているが、影響は認められていない (OECD, 2007)。

30 なお、野生型 *B. thuringiensis* を利用した Bt 製剤は、米国、ヨーロッパ及び日本等で長年にわたり、チョウ目害虫防除に使用されている。

PAT 蛋白質

ホスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ (Phosphinothricin AcetylTransferase、以下「PAT 蛋白質」という。) は、グルホシネートの L 型異性体を、植物への毒性がない安定した化合物である

35 *N*-アセチル-L-グルホシネート (2-アセトアミド-4-メチルホスフィニコ-ブタン酸) に迅速に変換する。

グルタミン酸の構造類似体であるグルホシネートの L 型異性体は、細菌や植物のグルタミン合成酵素の拮抗阻害剤であり、除草剤としての活性を有する。したがって、除草剤グルホシネートに感受性の植物では、グルタミン合成酵素

40 阻害のために大量のアンモニアが細胞中に蓄積し、最終的に植物細胞死が起こ

る。一方、*N*-アセチル-L-グルホシネートはグルタミン合成酵素を阻害しないため、PAT 蛋白質を発現する遺伝子組換え植物ではアンモニアの影響を受けず、除草剤グルホシネートへの耐性を示す(OECD, 2002)。

5 PAT 蛋白質が既知アレルゲンとアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 14) を用いて調べたところ、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を有していなかった。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

10 Cry 蛋白質は酵素ではないことから、改変 Cry1F 蛋白質及び改変 Cry1Ac 蛋白質は植物の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられる。PAT 蛋白質は除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離アミノ基を極めて特異的にアセチル化する酵素であり、他のアミノ酸や D-グルホシネートをアセチル化することはない(OECD, 1999)。また、L-アミノ酸が過剰に存在する場合においても、PAT 蛋白質による L-グルホシネートのアセチル化反応が影響
15 を受けることはない(OECD, 1999)。したがって、PAT 蛋白質が植物体の他の代謝系を変化させることはないと考えられる。

除草剤グルホシネートの代謝産物である *N*-アセチル-L-グルホシネートの動物に対する毒性(急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、発がん性、生殖発生毒性)はグルホシネートより低いことが確認されており(食品安全委員会, 2010)、グル
20 ホシネートが散布された場合における *N*-アセチル-L-グルホシネートの濃度を最大に見積もっても、散布されたグルホシネート以上に影響を及ぼす濃度にはならないと考えられる。なお、*N*-アセチル-L-グルホシネートは、ダイズの残留基準値の対象化合物に含まれている。

25 (2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

導入した pDAB9582 のもととなったベクター pDAB2407 は、アグロバクテリウム (*A. tumefaciens*) と大腸菌 (*E. coli*) に由来する。

30 ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

発現ベクター pDAB9582 の塩基数は 18,143 bp である。pDAB9582 の塩基配列は添付資料 5 に示した。

35 ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

発現ベクター pDAB9582 はスペクチノマイシン耐性を付与する *SpecR* 遺伝子を有する。*SpecR* 遺伝子は、発現ベクター pDAB9582 を構築する際の選抜マーカーとして利用したが、T-DNA 領域の外側に位置するため、本組換えダイズに

SpecR 遺伝子は導入されていない。

なお、本組換えダイズ中における *SpecR* 遺伝子の存在の有無をサザンブロット分析により確認した結果、*SpecR* 遺伝子は存在していないことが確認された(添付資料6、表2、p.6~9)。

5

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

10 発現ベクターpDAB9582のもととなったベクターのT-DNA領域は、表1(p.10~11)に示した供与核酸に置き換えられており、アグロバクテリウムの感染を可能とする配列は含まれておらず、感染性は知られていない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

15 発現ベクターpDAB9582の構成図を図3(p.17)に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

核酸の宿主への導入はアグロバクテリウム法により行った。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

20 ① 核酸が移入された細胞の選択の方法

アグロバクテリウム感染後の培養組織から形成された不定芽及びシュートを、除草剤グルホシネートを含む培地で培養することにより選抜した。

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

アグロバクテリウム菌体の残存の有無を確認するために、T1及びT2世代における種子を磨砕し、pDAB9582の外骨格領域に含まれる*SpecR*遺伝子を対象としたPCR法を行った。その結果、*SpecR*遺伝子は検出されず、本組換えダイズにはアグロバクテリウム菌体が残存しないことが確認された。

30

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

35 再分化後の植物体にグルホシネートを塗布することにより耐性を有する個体を選抜した。選抜された植物体については、PCR法及びサザンブロット分析による導入遺伝子の解析を行った。さらに、米国の野外ほ場(インディアナ州及び

プエルトリコ自治連邦区)において、後代系統における導入遺伝子の解析、蛋白質発現の確認、除草剤耐性及び農業形質から総合的に判断し、本組換えダイズを選抜した。申請の範囲はT1世代以降の後代系統である。育成の詳細を図4(p. 18)に示す。

5

本組換えダイズの我が国における認可の状況は次のとおりである(2016年8月現在)。

10

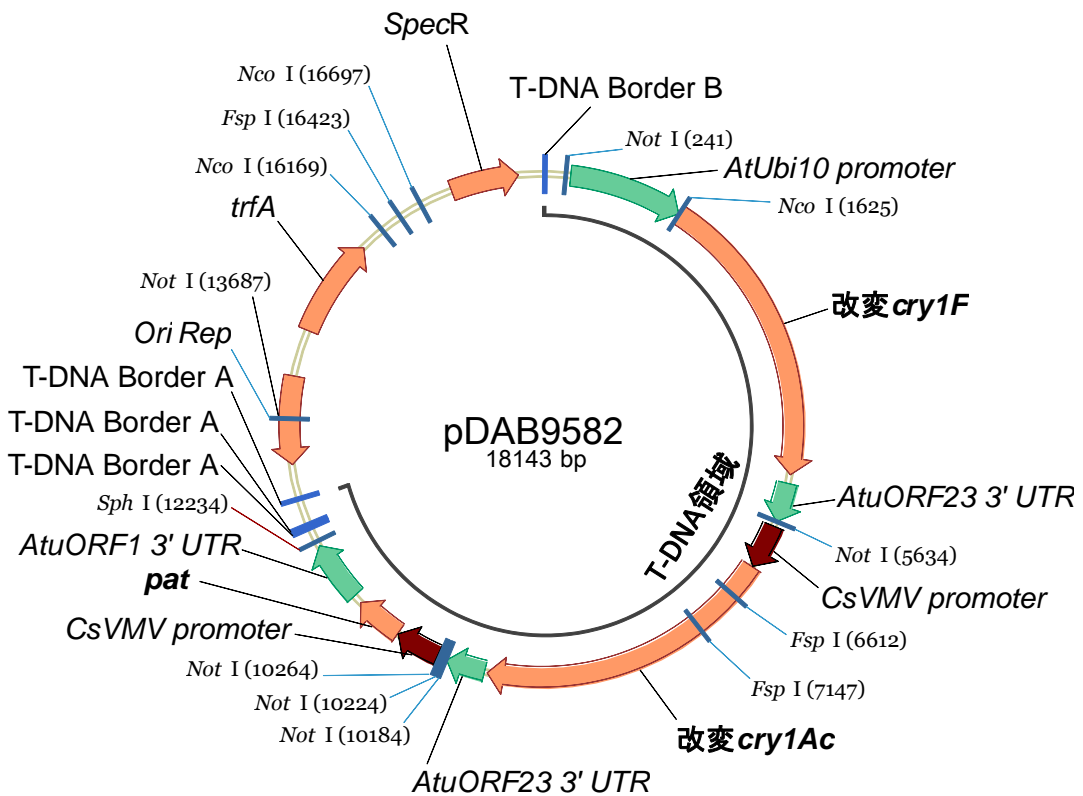
2013年8月2日 農林水産省及び環境省より「遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律」に基づく第一種使用規程(隔離ほ場試験)の承認を得た(使用期間:2013年8月2日から2017年3月31日まで)。

15

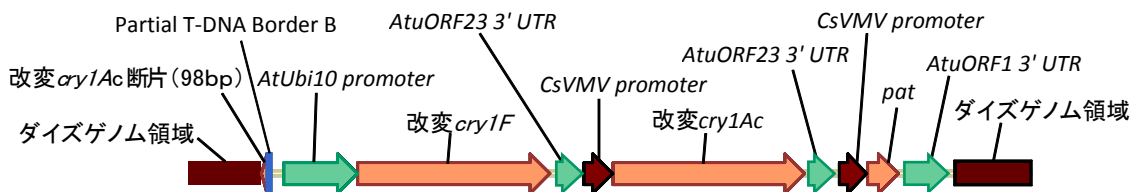
2014年12月26日 厚生労働省より「食品衛生法」に基づく食品利用の承認を得た。

20

2015年5月27日 農林水産省より「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」に基づく飼料利用の承認を得た。



5



10

図3 発現ベクターpDAB9582の構成図(上段)及びT-DNA領域の挿入概要図(下段)

15 ※上段図の()内の数字は、T-DNA Border Bを起点としたプラスミド上の制限酵素切断位置を示す

(本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

20

図 4 本組換えダイズの育成図

5 (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 移入した核酸の複製物が存在する場所

10 移入した核酸は、いったん染色体に組み込まれると、メンデル遺伝の法則に従う。本組換えダイズに導入された形質が、F2 世代(図 4、p.18)の集団でどのような分離を示すかを分析した(2012 年、米国インディアナ州)。T3 世代の系統に非組換えダイズを交配して得られた F1 世代 5 個体を自家受粉し、その F2 世代の集団における PAT 蛋白質の発現の有無をラテラルフローストリップ法*により調べた。また、本組換えダイズに特異的なプライマーを用いた PCR 法により移入した核酸の有無を調べた。

15 その結果、PCR 法により PAT 蛋白質が検出された個体ではラテラルフローストリップ法で移入核酸がすべて検出された。得られた観測値は、核内遺伝子におけるメンデルの分離法則に矛盾していないことより、移入した核酸が染色体上に存在していることを確認した(表 2、p.18)。

20 表 2 本組換えダイズの F2 世代の分離比検定¹⁾

② 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

25 T-DNA 領域における個々の構成要素の挿入を確認するために、宿主ゲノム境界領域を含む本組換えダイズにおける挿入遺伝子全体のクローニング及び塩基配列決定を行った。挿入遺伝子領域 12,496 bp、挿入遺伝子領域 5'末端の近傍配列 1,297 bp 及び 3'末端の近傍配列 1,379 bp を含む合計 15,172 bp の塩基配列を決定した(添付資料 7)。T-DNA Border については、T-DNA Border A は移入
30 されておらず、T-DNA Border B は一部が移入されており、その他の構成要素

* 毛細管現象により検体がメンブレン上を移動する際、検体中の抗原と標識抗体及び捕捉抗体の三者により免疫複合体が形成され、その標識物の集積を目視で判定する方法。本試験では、本組換えダイズが発現する PAT 蛋白質について、メンブレン上の抗体で捕捉、バンドの目視によって、その発現の有無を確認した。

については全て完全な形で移入されていることが明らかになった(図 3 下段、p.17)。一方で、挿入遺伝子の 5'末端において 135 bp が新たに挿入されており、この内の 98 bp は改変 *cry1Ac* 遺伝子の 1,990~2,087 bp 領域の相補的な配列と 99%の一致が見られた。また、挿入領域では 3'末端において 9 bp が新たに挿入

5

されていること、さらにダイズゲノムから 57 bp が欠失していることが明らかになった。
次に、移入された核酸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を確認するため、F2 世代、T1 世代、T2 世代、T3 世代及び T4 世代におけるサザンブロット分析を行った結果、本組換えダイズに導入された改変 *cry1F* カセット、改変 *cry1Ac* カセット、*pat* カセット及び 98 bp の改変 *cry1Ac* 遺伝子断片は 1 コピーであり、複数世代において安定して伝達されることが確認された(添付資料 6、表 2、p.6~9)。

10

15

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

98 bp の改変 *cry1Ac* 遺伝子断片は、T-DNA 挿入領域の 13 bp 上流に隣接している(添付資料 7)。

20

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

本組換えダイズの T4 世代から T6 世代において、葉における改変 Cry1F 蛋白質、改変 Cry1Ac 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現量を ELISA 法により調べた(2013 年、米国インディアナ州)。その結果、複数世代において改変 Cry1F 蛋白質、改変 Cry1Ac 蛋白質及び PAT 蛋白質が安定して発現していることを確認した(表 3~表 5、p.20)。

25

表 3 本組換えダイズの T4、T5 及び T6 世代での葉、根及び種子における改変 Cry1F 蛋白質の発現量 (ng/mg 乾燥重量)

社外秘情報につき非開示

5 表 4 本組換えダイズの T4、T5 及び T6 世代での葉、根及び種子における改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量 (ng/mg 乾燥重量)

社外秘情報につき非開示

10 表 5 本組換えダイズの T4、T5 及び T6 世代での葉における PAT 蛋白質の発現量 (ng/mg 乾燥重量)

社外秘情報につき非開示

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

15 本組換えダイズには、伝達性を有する配列は含まれておらず、本組換えダイズに導入された核酸が野生動植物等に伝達されることはない。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

20 本組換えダイズは、本組換えダイズに特異的なプライマーを用いて、PCR 法による検出及び識別が可能である (添付資料 8)。

本 PCR 法の検出限界値はゲノム DNA 量比で 0.04 % である (添付資料 8、Table 6、P22)。

25 本 PCR 法の信頼性については、米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国ユーロフィン・ジーンズキャン社において、施設間互換性 (inter-laboratory transferability) が確保されていることが確認されている (添付資料 8、Table 12、p.27)。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

30 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

本組換えダイズには、改変 *cry1F* 遺伝子、改変 *cry1Ac* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が導入されており、それぞれ改変 Cry1F 蛋白質、改変 Cry1Ac 蛋白質及び PAT

蛋白質が発現する。改変 Cry1F 蛋白質及び改変 Cry1Ac 蛋白質の発現により、
チョウ目害虫に対する抵抗性をもち、チョウ目害虫の影響を受けずに生育する
ことができる。栽培農家はチョウ目害虫防除のための殺虫剤散布量を軽減する
ことが可能となる。また、PAT 蛋白質の発現により除草剤グルホシネートに対
5 する耐性をもつが、除草剤グルホシネート耐性は選抜の際のマーカーとして使
用した。

実際に、本組換えダイズ T4 世代における改変 Cry1F 蛋白質及び改変 Cry1Ac
蛋白質の主要チョウ目害虫に対する防除効果を調べた結果(2011 年、米国ミシ
シッピ州)、本組換えダイズはダイズを加害する主要チョウ目害虫に対して十分
10 な防除効果を示した(添付資料 4、Table 1、p.13)。

また、2013 年にダウ・ケミカル日本株式会社小郡開発センターで行った隔離
ほ場試験において、本組換えダイズ(T6 世代)は除草剤グルホシネートに対して
十分な耐性を示した(「隔離ほ場試験結果報告書」、図 1、p.2)。

15 ② 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

2013 年に、ダウ・ケミカル日本株式会社小郡開発センターにおいて隔離ほ場
試験を行い、本組換えダイズ(T6 世代)と対照の非組換えダイズ(Maverick)の相
違いを検討した。

20

a 形態及び生育の特性

形態及び生育の特性として、発芽率、発芽揃い、開花始期、開花終期、成熟
期、小葉の形、毛じの多少、伸育型、主茎長、最下着莢節位高、主茎節数、分
枝数、収穫期の地上部生体重、稔実莢数、一株全粒重、一株成熟粒重、百粒重
25 及び子実の特性(大きさ、形、種皮の地色及び臍の色)について、種苗登録の基
準であるダイズ栽培種に関する農林水産植物種類別審査基準(農林水産省、
2012a)の項目を参考に、本組換えダイズと非組換えダイズの比較を行った。

隔離ほ場において、本組換えダイズ及び非組換えダイズはともに播種 3 日後
に発芽を開始した。発芽率について、本組換えダイズと非組換えダイズの間
30 に統計学的有意差は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 1、p.3)。
発芽揃いについては、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に相違は認めら
れなかった。また、開花始期、開花終期、成熟期について、本組換えダイズと
非組換えダイズの間には相違は認められず(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 2、p.4)、
小葉の形、毛じの多少、伸育型及び子実の特性についても本組換えダイズと非
35 組換えダイズの間には相違は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 3
及び表 6、p.4 及び p.6)。さらに、主茎長、最下着莢節位高、主茎節数、分枝数、
収穫期の地上部生体重、稔実莢数、一株全粒重、一株成熟粒重及び百粒重のい
ずれの項目においても本組換えダイズと非組換えダイズの間には統計学的有意差
は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 4 及び表 5、p.5)。

40

b 生育初期における低温耐性

本組換えダイズと非組換えダイズの生育初期における低温耐性について検討した。初生葉展開期まで生育した本組換えダイズ及び非組換えダイズ(各6個体)を4℃、16時間日長に設定した恒温器内で栽培し、生育状況を観察した。その結果、30日後には本組換えダイズ及び非組換えダイズともに、葉の白化、植物体の萎縮及び著しい生育障害の症状を呈し、その程度に差は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、図3、p.7)。

c 成体の越冬性

本組換えダイズと非組換えダイズの成体の越冬性について検討した。ほ場で生育した株(16株)を成熟後も収穫せずに翌年まで放置し、冬季の自然条件下における植物体の状況を観察した。2013年2月に供試個体を観察した結果、本組換えダイズ及び非組換えダイズはともに、いずれの株も枯死していたことより、越冬性は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、図4、p.7)。

d 花粉の稔性及びサイズ

花粉の形状に差は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、図5、p.8)。また、ヨウ素ヨウ化カリウム溶液で染色した本組換えダイズと非組換えダイズの花粉の稔性(充実度)及びサイズについて調査した。その結果、本組換えダイズと非組換えダイズの間には統計学的有意差は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表7、p.9)。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量については、本組換えダイズと非組換えダイズの稔実莢数、一株全粒重、一株成熟粒重、百粒重を比較した。その結果、全ての項目において統計学的有意差が認められなかったことから、本組換えダイズと非組換えダイズの種子の生産量に差異はないと判断した(「隔離ほ場試験結果報告書」、表5、p.5)。

裂莢性については、完熟期に本組換えダイズ及び非組換えダイズの裂莢の程度を観察した。その結果、本組換えダイズ及び非組換えダイズはともに難裂莢性であり、差は見られなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表8、p.9)。

また、本組換えダイズ及び非組換えダイズの収穫種子を、収穫後すぐに休眠覚醒処理を行わずにシャーレで発芽させ、発芽率を調査することで、休眠性を評価した。その結果、本組換えダイズ及び非組換えダイズはともに100%の発芽率を示し、休眠性は極めて浅いと判断された(「隔離ほ場試験結果報告書」、表7、p.9)。

f 交雑率

交雑性試験区(「隔離ほ場試験結果報告書」、別添図2、p.14)に本組換えダイ

ズ及び非組換えダイズを株間 25 cm の間隔で交互に栽植し、その非組換えダイズから得られた種子 3,000 粒を隔離ほ場内に再び播種した。播種した 3,000 粒のうち、2,876 粒が発芽した(発芽率 95.9 %)。本葉 1 葉期に除草剤グルホシネート

5 した。その結果、2,876 個体中 3 個体の生存が確認された。したがって、交雑率は 0.10 %であった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 9、p.10)。なお、それぞれの生存個体については、ラテラルフローストリップ法を用いて、改変 Cry1F 蛋白質、改変 Cry1Ac 蛋白質及び PAT 蛋白質が発現していることを確認した。

10 g 有害物質の産生性

本組換えダイズと非組換えダイズの有害物質の産生性を比較するために、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った。

<後作試験>

15 収穫期の本組換えダイズ及び非組換えダイズの根域土壌を各区 8 ヶ所から採取し混和後(8 株/区、4 反復区)、セルトレイ(25 穴)に詰めた。各セルにハツカダイコンの種子を 1 粒ずつ播種し、7 日後に発芽率、21 日後に草丈及び乾燥重量の調査を行った。

その結果、検定植物であるハツカダイコンの発芽率、草丈、乾燥重量のいずれも本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で統計学的有意差は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 10、p.11)。

20

<鋤込み試験>

25 収穫期の本組換えダイズ及び非組換えダイズの植物体地上部を刈取り(4 株/区、4 反復区)、4 株分を 1 サンプルとし、乾燥及び粉碎した後、園芸培土とよく混和した(乾燥粉末の重量比約 0.6 %)。セルトレイ(25 穴)に混和した土壌を入れ、ハツカダイコンの種子を 1 粒ずつ播種し、播種 6 日後に発芽率、20 日後に草丈、乾燥重量の調査を行った。

その結果、検定植物であるハツカダイコンの発芽率、草丈、乾燥重量のいずれも本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で統計学的有意差は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 11、p.11)。

30

<土壌微生物相試験>

35 本組換えダイズ及び非組換えダイズの収穫後の土壌を各区 3 ヶ所から採取した(3 サンプル/区、4 反復区)。希釈平板法により、細菌数、放線菌数及び糸状菌数を測定した。その結果、本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で統計学的有意差は認められなかった(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 12、p.12)。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

5

(2) 使用等の方法

別に定めるモニタリング計画書に基づき、申請者によるモニタリングを実施する。

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

別に定めるモニタリング計画書に基づき、モニタリングを実施する。

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

「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

20

(6) 国外における使用等に関する情報

25 米国(2010～2014年)の延べ275カ所のほ場において試験を行ってきたが、本組換えダイズは非組換えダイズと比較して生物多様性影響を生じるおそれがあるような相違は報告されていない。

なお、本組換えダイズの国外における申請状況は以下のとおりである(表6、p.25)。

表6 本組換えダイズの国外における申請状況(2016年8月現在)

申請国	申請先機関	申請目的	申請状況
米国	米国農務省(USDA)	栽培	2012年9月 ¹⁾
	米国食品医薬品庁(FDA)	食品、飼料	2012年10月 ²⁾
カナダ	カナダ保健省(Health Canada)	食品	2012年11月 ³⁾
	カナダ食品検査庁(CFIA)	栽培、飼料	2012年11月 ³⁾
オーストラリア・ ニュージーランド	オーストラリア・ニュージーラ ンド食品基準機関(FSANZ)	食品	2013年6月 ⁴⁾
EU	欧州食品安全機関(EFSA)	食品、飼料	社外秘情報に つき非表示
韓国	韓国食品医薬品安全処(MFDS)	食品	2014年3月 ⁵⁾
	韓国農村振興庁(RDA)	飼料、環境	2013年12月 ⁶⁾

1) 2014年4月、安全性確認終了。

2) 2014年2月、安全性確認終了。

3) 2014年11月、安全性確認終了。

5 4) 2014年5月、安全性確認終了。

5) 2016年4月、安全性確認終了。

6) 2016年3月、安全性確認終了。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

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

5 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、自然環境下において雑草化しているとの報告はなされていない。

10 第一の 2 の(6)に示したとおり、2013 年にダウ・ケミカル日本株式会社小郡開発センターにおいて隔離ほ場試験を行い、本組換えダイズと非組換えダイズの競合に関わる諸形質の相違を検討した。その結果、発芽率、主莖長、最下着
15 莢節位高、主莖節数、分枝数、収穫期の地上部生体重、稔実莢数、一株全粒重、一株成熟粒重、百粒重、花粉の充実度、花粉の直径及び収穫種子の発芽率において統計学的有意差は認められなかった。また、発芽揃い、開花始期、開花終期、成熟期、小葉の形、毛じの多少、伸育型、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、裂莢性及び子実の特性においては、本組換えダイズと非組換えダイズの相違は見られなかった。

20 また、本組換えダイズの導入遺伝子である改変 *cry1F* 遺伝子及び改変 *cry1Ac* 遺伝子により発現する改変 Cry1F 蛋白質及び改変 Cry1Ac 蛋白質は酵素ではないため、植物の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられる。また、*pat*
25 遺伝子により発現する PAT 蛋白質は基質特異性が高く、植物体の他の代謝系を変化させることはないと考えられる。したがって、これら導入遺伝子による影響が宿主のもつ代謝系を変化させることはないと考えられる。

30 さらに、本組換えダイズは改変 *cry1F* 遺伝子及び改変 *cry1Ac* 遺伝子の発現により、改変 Cry1F 蛋白質及び改変 Cry1Ac 蛋白質を産生することから、チョ
25 ウ目害虫に対して抵抗性を示すこととなるため、適応度が上がることが想定された。しかし、植物が自然環境下において、他の野生植物と競合し、生存及び増殖するためには、種子の休眠性や飛散性などいくつかの特性を合わせもつことが必要であることが知られている (Lingenfelter and Hartwig, 2007) ことから、本組換えダイズのチョウ目害虫抵抗性のみをもって競合における優位性が
30 高まるとは考えにくい。加えて、隔離ほ場試験においては、種子の休眠性及び種子の飛散に関わる裂莢性が調査され、本組換えダイズ及び非組換えダイズは共に休眠性は極めて浅く、難裂莢性であり、これらの性質において本組換えダイズが非組換えダイズと比較して変化していないことが確認されている。

35 したがって、本組換えダイズに付与されたチョウ目害虫抵抗性によって、我が国の自然環境下において競合における優位性が高められるとは考えにくい。

 また、本組換えダイズには、*pat* 遺伝子の発現により PAT 蛋白質が産生されることから除草剤グルホシネート耐性をもつが、除草剤グルホシネートを散布

されることが想定しにくい自然条件下において、除草剤グルホシネート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

以上のことから、競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

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

10

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

15 以上のことから、本組換えダイズは、食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

20 ダイズには、他感作用物質のような野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

第一の2の(1)の口の③に記載したとおり、改変 Cry1F 蛋白質及び改変 Cry1Ac 蛋白質は酵素ではなく、植物の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられる。一方、PAT 蛋白質は除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離アミノ基を極めて特異的にアセチル化する酵素であり、他の

25 アミノ酸や D-グルホシネートをアセチル化することはない(OECD, 1999)。また、PAT 蛋白質は L型アミノ酸が過剰に存在する場合においても、PAT 蛋白質による L-グルホシネートのアセチル化反応が影響を受けることはない(OECD, 1999)。したがって、PAT 蛋白質が植物体の他の代謝系を変化させることはないと考えられる。

30 また、改変Cry1F蛋白質及び改変Cry1Ac蛋白質が既知アレルゲンとアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 14)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を有していなかった。PAT蛋白質についても、既知アレルゲンとアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen

35 Database version 14)を用いて比較した結果、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を有していなかった。

なお、除草剤グルホシネートの代謝産物である*N*-アセチル-L-グルホシネート

の動物に対する毒性(急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、発がん性、生殖発生毒性)はグルホシネートより低いことが確認されており(食品安全委員会, 2010)、グルホシネートが散布された場合における*N*-アセチル-L-グルホシネートの濃度を最大に見積もっても、散布されたグルホシネート以上に影響を及ぼす濃度にはならないと考えられる。なお、*N*-アセチル-L-グルホシネートは、ダイズの残留基準値の対象化合物に含まれている。

5

また、第一の2の(6)に示したとおり、本組換えダイズと非組換えダイズの有害物質の産生性を比較するために、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った結果、本組換えダイズと非組換えダイズの間統計学的有意差は認められなかった。

10

本組換えダイズ中に産生される改変Cry1F蛋白質及び改変Cry1Ac蛋白質は、チョウ目昆虫に対しては殺虫活性を有するが、その他の野生動植物種に対しての毒性は認められていない。また、PAT 蛋白質については、有害物質としては知られていない。

15

したがって、本組換えダイズ中に産生される改変Cry1F蛋白質及び改変Cry1Ac蛋白質は、チョウ目昆虫に対しては殺虫活性を示すため、何らかの影響を受ける野生動植物として我が国に生息するチョウ目昆虫が特定された。

20

我が国に生息するチョウ目昆虫が本組換えダイズに暴露される経路としては、チョウ目昆虫が①本組換えダイズを直接食餌する場合、②本組換えダイズから飛散した花粉を食餌する場合及び③本組換えダイズが交雑によりツルマメと雑種を形成しチョウ目害虫抵抗性を獲得した交雑個体を食餌する場合が想定された。そこで、これらの経路から改変Cry1F蛋白質及び改変Cry1Ac蛋白質に暴露され、何らかの影響を受ける可能性のあるチョウ目昆虫を、環境省第4次レッドリスト(環境省, 2012)において絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に選定されている

25

チョウ目昆虫について検討した。これらのチョウ目昆虫の分布・生息地及び幼虫の食草に関する情報を用いて絞り込みを行った結果、影響を受けることが否定できない種として17種を特定した(添付資料9)。加えて、42種については、分布・生息地及び幼虫の食草に関する情報が不足していると判断された(添付資料9)。

30

(2) 影響の具体的内容の評価

改変Cry1F蛋白質及び改変Cry1Ac蛋白質は、チョウ目昆虫に対して特異的に殺虫活性を示すが、LC₅₀(半数致死濃度)からも明らかなようにその活性は種によって異なることが確認されている(添付資料3、Table 1、p.13)。

35

本組換えダイズの標的害虫であるバルベットビーンキャタピラー、ソイビーンルーパー、タバコバッドワーム、フォールアーミーワームに対するLC₅₀(半数致死濃度)は、改変Cry1F蛋白質については、それぞれ5 ng/cm²、4.7 ng/cm²、51 ng/cm²、39 ng/cm²である。また、改変Cry1Ac蛋白質については、それぞれ2 ng/cm²、31 ng/cm²、5.6 ng/cm²、>3,000 ng/cm²である(添付資料3、Table 1、

p.13)。

(3) 影響の生じやすさの評価

5 まず、(1)で特定されたチョウ目昆虫種が、本組換えダイズを直接食餌することにより個体群レベルでの影響を受ける可能性について考察した。

これらのチョウ目昆虫の幼虫が本組換えダイズを直接食餌することにより、個体群レベルで影響を受けるのは、我が国へ輸入された本組換えダイズが国内運搬中にこぼれ落ち生育する場所に、そのチョウ目昆虫種の個体群が局所的に生息している場合に限られる。しかし、これらのチョウ目昆虫種が、ダイズの
10 主要輸送経路である幹線道路沿いに限定的に生息しているとは考えにくい。加えて、これらの昆虫種がダイズのみを食餌する可能性は低いと考えられた(添付資料9)。

したがって、(1)で特定されたチョウ目昆虫種の幼虫が、直接本組換えダイズを食餌し、個体群レベルで影響を受ける可能性は極めて低いと考えられる。

15

続いて、(1)で特定されたチョウ目昆虫種が、本組換えダイズから飛散した花粉を食餌する可能性について考察した。

ダイズの花粉生産量は極めて少なく、かつ花粉に粘着性があるため、花粉が飛散する可能性は低いと考えられる。実際に我が国のダイズほ場で行われた調
20 査では、開花期間中に畝間に飛散した花粉量の平均は0.18粒/cm²/日であった(Yoshimura *et al.*, 2006)。

よって、(1)で特定されたチョウ目昆虫種の幼虫が、花粉を食餌し、個体群レベルで影響を受ける可能性は極めて低いと考えられる。

25 最後に、本組換えダイズが交雑によりツルマメと雑種を形成し、チョウ目害虫抵抗性を獲得した交雑個体を(1)で特定されたチョウ目昆虫種が食餌する可能性について考察した。

前述のとおり、(1)で特定されたチョウ目昆虫種がダイズの主要輸送経路となる幹線道路沿いに限定して生息している可能性は低いと考えられた。

30 次に、第二の3に記載したとおり、国内運搬中にこぼれ落ちたダイズ種子が生育する可能性は低いと考えられること、及びダイズとツルマメの交雑率が低いことから、自然条件下で本組換えダイズがツルマメと雑種を形成する可能性は極めて低いと考えられる。万が一、本組換えダイズがツルマメと雑種を形成したとしても、改変Cry1F蛋白質及び改変Cry1Ac蛋白質をもつ雑種が我が国の自然条件に
35 適応してツルマメ集団内で優占化する可能性は低いと考えられた。

よって、(1)で特定されたチョウ目昆虫種が、本組換えダイズが交雑によりツルマメと雑種を形成しチョウ目害虫抵抗性を獲得した交雑個体を食餌し、個体群レベルで影響を受ける可能性は極めて低いと考えられる。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えダイズは、食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

5

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズと交雑可能な近縁野生種として、我が国にはツルマメが自生している(OECD, 2000)。したがって、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

10

(2) 影響の具体的内容の評価

ダイズとツルマメは染色体数がともに $2n=40$ であり交雑可能である(OECD, 2000)。したがって、交雑性に関する具体的な影響としては、本組換えダイズ由来の改変 *cry1F* 遺伝子及び改変 *cry1Ac* 遺伝子が当該雑種からツルマメの集団中に浸透した後に、その集団の競合における優位性が高まることが考えられた。

15

(3) 影響の生じやすさの評価

本組換えダイズが我が国で第一種使用規程に従って使用された場合、輸送中にこぼれ落ちた本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性がある。

20

しかし、隔離ほ場試験において、本組換えダイズと非組換えダイズとを株間 25 cm で交互に栽植し、その非組換えダイズから得られた種子 3,000 粒のうち発芽した 2,876 個体における除草剤グルホシネート耐性の有無を調査したところ、3 個体が除草剤耐性を示した(「隔離ほ場試験結果報告書」、表 9、p.10)。したがって、本組換えダイズと非組換えダイズとの交雑率は 0.10 % となり、交雑の可能性は極めて低いことが確認された。ダイズの通常の家受粉率は 1 % 未満であることが知られており(OECD, 2000)、本組換えダイズと非組換えダイズとの交雑率は、通常ダイズの交雑率を超えるものではないと考えられた。

25

30

実際、第一の 1 の (3) のニの ③ に記載したように、ダイズとツルマメは主として自殖性植物であり、両種が隣接して生育し、かつ開花期が重複した場合においても、その交雑率は低いことが知られている。一般的にツルマメの開花期はダイズより遅く、それぞれの開花期が重なりにくく、比較的开花期が遅い栽培品種の丹波黒とツルマメとの平均交雑率は 0.73 % であったことが報告されている(Nakayama and Yamaguchi, 2002)。また、組換えダイズにツルマメを巻き

35

付けた状態で、開花期が重複した条件下では、ツルマメから得られた種子から発芽した11,860個体のうち、交雑個体は1個体であったことが報告されている (Mizuguti *et al.*, 2009) さらに組換えダイズから2、4、6、8及び10 m離してツルマメを栽培した場合(得られた個体数は、それぞれ7,521個体、7,485個体、
5 14,952個体、14,965個体及び21,749個体)、組換えダイズから2、4及び6 mの距離では交雑個体はそれぞれ1個体であり、8及び10 mの距離では交雑個体は得られなかったと報告されている (Mizuguti *et al.*, 2010)。このように、ダイズとツルマメが隣接して生育し、かつ開花期が重複する条件下では交雑が起こり得るが、このような特別な条件下においても、ダイズとツルマメが交雑する可能性
10 は極めて低いと考えられた。

本組換えダイズには、改変Cry1F蛋白質及び改変Cry1Ac蛋白質の発現により、チョウ目害虫抵抗性が付与されている。したがって、本組換えダイズとツルマメが交雑し、改変*cry1F*遺伝子及び改変*cry1Ac*遺伝子がツルマメ集団に移行し、
15 チョウ目害虫抵抗性が付与された場合、その集団の競合における優位性が高まる可能性が考えられた。そこで、①本組換えダイズ由来の改変*cry1F*遺伝子及び改変*cry1Ac*遺伝子がツルマメ集団の競合における優位性を高める可能性、及び②輸入された本組換えダイズとツルマメの交雑個体が発生する可能性を考察することにより、評価を行った。

20

①本組換えダイズ由来の改変*cry1F*遺伝子及び改変*cry1Ac*遺伝子がツルマメ集団の競合における優位性を高める可能性

本組換えダイズとツルマメが交雑し、ツルマメ集団にチョウ目害虫抵抗性遺伝子が浸透した場合、その集団の適応度が上がる可能性が考えられた。しかしながら、第一の1の(3)のトの②に記載したように、ツルマメは様々な昆虫に摂食されており(菊地, 2013)、バッタ目及びコウチュウ目による食害が最も多く、
25 チョウ目の食害程度は2 %以下と極めて少ないことが報告されている (Goto *et al.*, 2016)。加えて、ツルマメに異なる条件の摘葉処理(0 %、10 %、25 %、50 %及び100 %)を施したところ、ツルマメは補償作用が働くことにより、莢数及び
30 種子数は、50 %の摘葉条件においても影響が認められないことが報告されている (Goto *et al.*, 2016)。したがって、チョウ目昆虫による摂食はツルマメ集団を維持するための大きな制限要因とはならないと考えられる。

さらに、第一の1の(3)のトの①に記載のとおり、ツルマメは自生地において、
35 環境要因、人為的要因及び雑草との競合等により生育が制限されている(中山ら, 2000 ; 羽鹿ら, 2003)。

また、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合においても、本組換えダイズ由来の改変*cry1F*遺伝子及び改変*cry1Ac*遺伝子がツルマメ集団中に遺伝子浸透していくためには、雑種後代が自然環境中で生存し、ツルマメと交雑を繰り返す必要がある。しかし、第一の1の(3)のニの③に記載のとおり、ダイズ由来
40

の遺伝子を有するツルマメ交雑個体は、通常のツルマメと比べて、自然環境下での適応度に影響を及ぼす種子生産数及び冬季における種子の生存率が劣るため(添付資料1)、雑種後代はツルマメ集団内で優占化する可能性は極めて低いと考えられた。

5 以上のことから、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合においても、本組換えダイズ由来の改変*cry1F*遺伝子及び改変*cry1Ac*遺伝子のみによってツルマメ集団の適応度が上がり、競合における優位性が高まる可能性は極めて低いと考えられた。

10 ②輸入された本組換えダイズとツルマメの交雑個体が発生する可能性

本組換えダイズの申請の範囲は、食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為であり、我が国での栽培は想定されない。また、第一の1の(2)の②に記載したように、国内栽培用ダイズ種子は、主要農作物種子法に基づいて交雑及び異物混入を防止するために厳格に管理されているため(農林水産省, 2000)、我が国へ輸入された本組換えダイズ種子が国内栽培用種子に混入し、誤って国内のほ場で栽培されることは考えにくい。したがって、a) 輸入された本組換えダイズの種子が国内運搬中にこぼれ落ちた場合に生育する可能性、及びb) こぼれ落ちたダイズがツルマメと隣接して生育し交雑する可能性について考察した。

a) 国内運搬中にこぼれ落ちたダイズ種子が生育する可能性

農業環境技術研究所において行われた試験によると、種子を土壌表面に放置したところ、実生まで生育する個体は、夏季で14.5%、秋季で2.2%のみであり(添付資料10)、仮に発芽能力をもつダイズ種子が国内運搬中に土壌がある場所にこぼれ落ちたとしても、生育する可能性は低いと考えられる。さらに、同試験において、ダイズ種子を埋土し越冬性を調査したところ、ほとんどのダイズ種子は死滅したことが確認され(添付資料10)、冬季にこぼれ落ちたダイズ種子が翌春に発芽する可能性は低いと考えられた。また、もしこぼれ落ちたダイズ種子が発芽したとしても雑草との競合に打ち勝つ必要がある。加えて、ダイズの輸送経路になるような幹線道路沿いでは、除草作業により開花前に刈り取られる可能性もある。また一方で、海外から海上輸送によって我が国へ輸入されるダイズ種子の発芽能力について調査したところ、栽培用種子のような高い発芽能力をもたないことが確認され(添付資料11)、本組換えダイズ種子も同様の方法で輸入された場合、発芽能力が低下している可能性がある。

また、農林水産省が2009年から2013年にかけてダイズの輸入実績がある港のダイズ陸揚げ地点から半径約5 kmの範囲で行った遺伝子組換え植物実態調査によると、ダイズ(遺伝子組換えか否か又は産地にかかわらず)の生育が確認された(農林水産省, 2011a, 2011c, 2012b, 2013a, 2014a)。しかし、過去5年間に最も多くのダイズ個体が発見されている博多港周辺であっても、確認された最大

個体数は2013年の10個体であった。同港に輸入された約24.7万トンの豆類(福岡市港湾局, 2014)のうちの大部分がダイズだと考えられるが、仮に輸入された豆類の全てがダイズとし、ダイズ種子百粒重が15 gと仮定すると、1.65兆粒のダイズ種子が輸入されたことになる。したがって、この輸入量を考えると、運搬中にこぼれ落ちて生育したダイズ個体は極めて少ない。また、同年には鹿島港周辺では2個体のダイズが発見されたが、全国各地で調査が行われた残りのダイズ輸入実績港8港周辺ではダイズは確認されなかった。さらに、同調査によると、こぼれ落ちたダイズは舗装道路の隙間及び中央分離帯などで生育が確認され、輸入されたダイズがこぼれ落ちて生育し国内で群生しているという報告はない。また、同調査は、ダイズ陸揚げ地点から約5 kmの範囲で行われてきたが、発見されたダイズ個体の多くはダイズ陸揚げ地点に近接した場所で発見されたため(農林水産省, 2011a, 2011c, 2012b, 2013a, 2014a)、調査範囲外でのダイズ個体数はさらに減少する可能性が示唆された。

そこで、ダイズ陸揚げ地点からの直線距離とダイズ生育群落が発見される確率の関係について、同調査の結果を用いて検討した。なお、これまでの調査において、最も多くのダイズ生育群落が発見された博多港を本解析の対象とした。

以下の手順で本解析に必要なデータの準備を行った。まず、公開されている情報(農林水産省, 2011b, 2011d, 2012c, 2013b, 2014b)をもとに、ダイズ陸揚げ地点(2 地点)及びダイズ生育群落が発見された地点(18 地点)の地理情報を取得し、ArcGISに取り込んだ。続いて、各陸揚げ地点から半径 5 km 以内の水域を除く範囲をラスタライズ(セルサイズ: 200 m x 200 m)し、各セルの重心点をダイズ生育群落が発見されなかった地点とした(重心点から半径 100 m 以内にダイズ生育群落が発見された地点が含まれるものは除外した)。最後に、2 ヶ所のダイズ陸揚げ地点から各地点(18個のダイズ生育群落が発見された地点及び1,671個のダイズ生育群落が発見されなかった地点)までの直線距離を求め、小さい方の値を本解析のデータとして採用した。

本データは、陸揚げ地点からのそれぞれの距離においてダイズ生育群落が発見されたか、されなかったかの 2 種類に分けられる。そこで、ダイズ生育群落が発見された地点のデータの状態を「1」、ダイズ生育群落が発見されなかった地点のデータの状態を「0」とした。データはベルヌーイ分布に従うとし、一般化線形モデルの一種であるロジスティック回帰モデルを用いて解析を行った。

ダイズ陸揚げ地点からの距離を r とし、ダイズ生育群落が発見される確率 p とダイズ生育群落が発見されない確率 $(1-p)$ の対数オッズが線形であるとする、数式[1]が成立する。

$$\log \frac{p}{1-p} = a + br \quad [1]$$

数式[1]を逆関数に変換すると、数式[2]で表わすことができる。

$$p(r) = \frac{e^{a+br}}{1 + e^{a+br}} = 1 - \frac{1}{1 + e^{a+br}} \quad [2]$$

ダイズ陸揚げ地点からそれぞれのダイズ生育群落が発見された地点及びダイズ生育群落が発見されなかった地点までの直線距離のデータを統計ソフト R に取り込み、誤差構造には二項分布を、リンク関数にはロジット変換を用いて、当該データに対して数式[2]で表わされる曲線をあてはめた。その結果、ダイズ生育群落が発見される確率がダイズ陸揚げ地点からの距離に応じて急速に減少し、陸揚げ地点から 2 km 以上離れた場所においてダイズ生育群落が発見される確率がほぼ 0 となる曲線が得られた(図 5、p.34)。なお、当該曲線の近似式を求めたところ、数式[2]における 2 つのパラメータの値は $a=-0.63$ 及び $b=-2.06$ と推定された。

本解析の結果、ダイズ生育群落の発見確率は、ダイズ陸揚げ地点からの距離に伴い著しく減少し、陸揚げ地点から 2 km 以上離れた場所においてはほぼ 0 になることが推測された。したがって、ダイズ陸揚げ地点から半径約 5 km の範囲内に限らず、目的地までの輸送経路の全ての範囲においても、輸送中にこぼれ落ちた種子由来のダイズ生育群落が発見される可能性は極めて低いと考えられた。

したがって、輸入された本組換えダイズの種子が国内運搬中にこぼれ落ちた場合に生育する可能性は極めて低いと考えられた。

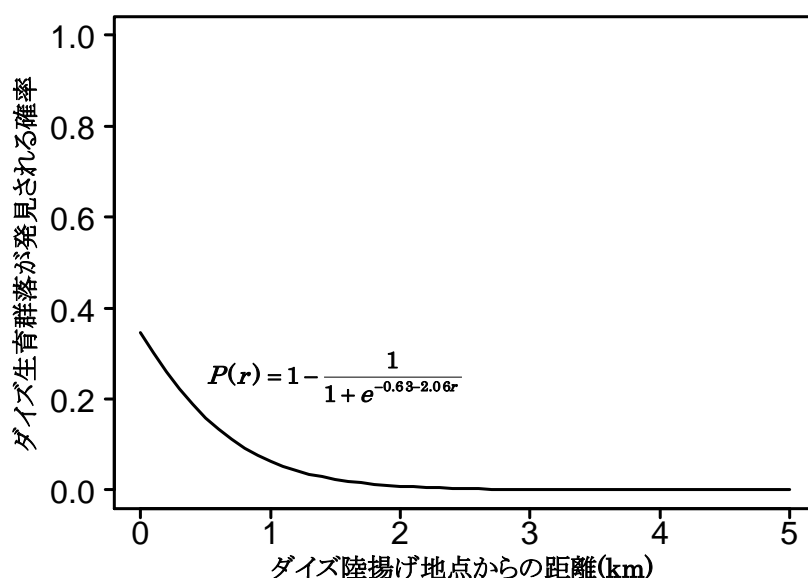


図 5 国内運搬中にこぼれ落ちた種子由来のダイズ生育群落の発見確率におけるダイズ陸揚げ地点からの距離による減衰曲線

なお、日本モンサント株式会社は、チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グリホサート耐性ダイズ(MON87701×MON89788)の輸入承認取得後、同スタック系統ダイズの国内運搬中におけるこぼれ落ちに関するモニタリングを開始した。

2013年及び2014年の調査は、ダイズ輸入実績がある港におけるダイズ陸揚げ地点から加工工場までの輸送経路のうち3経路(博多港2経路及び鹿島港1経路)で行われ、各経路(73.4 km、11.7 km、87.2 km)2.5 kmごとに、最低100 mの範囲が調査された結果、同スタック系統ダイズ及びその他のダイズの生育は確認されなかった(日本モンサント株式会社, 2014, 2015)。

b) こぼれ落ちたダイズ種子から生育した個体がツルマメと隣接して交雑する可能性

ツルマメは8月中旬から9月下旬にかけて開花するが(松尾ら, 2014)、ダイズとツルマメが交雑するためには両種の開花期が重複する必要がある。ダイズの栽培時期と生育特性を考えると、国内運搬中にこぼれ落ちたダイズが開花まで生育したとしても、4月以前にこぼれ落ちた個体の開花はツルマメの開花前に終了し、9月以降にこぼれ落ちたダイズの開花はツルマメ開花終了後になると考えられる。したがって、5月から8月以外の時期にこぼれ落ちたダイズは、開花まで生育したとしても、ツルマメの開花期と重ならない可能性が高いと考えられる。さらに、5月から8月にこぼれ落ちた種子であっても、品種及び生育環境により、ツルマメの開花期と重複しないこともあり得る。また、ダイズとツルマメの開花期が重複したとしても、隣接しないかぎり交雑は起こりにくく(Yoshimura *et al.*, 2006 ; Mizuguti *et al.*, 2010)、仮に隣接しても交雑率は極めて低いことが報告されている(Yoshimura *et al.*, 2006 ; Nakayama and Yamaguchi, 2002 ; Mizuguti *et al.*, 2010)。実際に、農林水産省が行った遺伝子組換え植物実態調査によると、過去5年間に、鹿島港(2009年及び2013年)及び千葉港(2009年)周辺ではダイズとツルマメの両種が確認されているが、隣接して生育している例はなく、交雑個体も発見されたことはない(農林水産省, 2011a, 2014a)。

したがって、輸入された本組換えダイズの種子が国内運搬中にこぼれ落ちた場合に生育したとしても、本組換えダイズとツルマメが隣接して交雑する可能性は極めて低いと考えられた。

a) 及びb) より、輸入された本組換えダイズの種子が国内運搬中にこぼれ落ちた場合に生育する可能性は極めて低く、本組換えダイズとツルマメが隣接して交雑する可能性も極めて低いため、本組換えダイズとツルマメの交雑個体が発生する可能性は極めて低いと考えられた。

以上のことより、①本組換えダイズとツルマメが交雑した場合においても、本組換えダイズ由来の改変 *cry1F* 遺伝子及び改変 *cry1Ac* 遺伝子のみによって、ツルマメ集団の競合における優位性が高まる可能性は極めて低く、②本組換えダイズとツルマメの交雑個体が発生する可能性も極めて低いため、本組換えダイズを輸入した際に起因する生物多様性影響が生じることはないと考えられた。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えダイズは、食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれがないと判断された。

5 4 その他の性質

第三 生物多様性影響の総合的評価

競合における優位性：

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、自然環境下において雑草化しているとの報告はされていない。競合における優位性に関わる諸形質(低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量・脱粒性・休眠性及び発芽率)について、隔離ほ場において調査した結果、本組換えダイズの競合における優位性が高まる可能性を示唆する形質は認められなかった。また、本組換えダイズはチョウ目害虫に抵抗性を示すが、本組換えダイズに付与されたチョウ目害虫抵抗性のみにより、我が国の自然環境下において競合における優位性が高められるとは考えられない。さらに、除草剤グルホシネートに対する耐性も付与されているが、自然環境下で除草剤グルホシネートが散布されることは想定され難い。したがって、これらの特性が付与されていても、本組換えダイズにおいて競合における優位性が高まることはないと考えられる。

以上のことから、本組換えダイズは、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

有害物質の産生性：

ダイズには、他感作用物質のような野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。有害物質の産生性について、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った結果、いずれの項目においても、本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間には統計学的有意差は認められなかった。

本組換えダイズに導入された改変 *cry1F* 遺伝子及び改変 *cry1Ac* 遺伝子により発現する改変 **Cry1F** 蛋白質及び改変 **Cry1Ac** 蛋白質は酵素活性を有さないため、植物の代謝系に影響を及ぼすものではないと考えられる。また、*pat* 遺伝子により発現する **PAT** 蛋白質は基質特異性が高く、植物体の他の代謝系を変化させることはないと考えられる。したがって、これら導入遺伝子による影響が宿主のもつ代謝系を変化させ、競合における優位性、有害物質の産生性及び交雑性に関わる諸形質について宿主との相違をもたらすことはないと考えられた。**PAT** 蛋白質については、有害物質としては知られていない。また、これら蛋白質と既知アレルゲンとの間でアミノ酸配列の相同性は認められていない。

本組換えダイズ中に産生される改変 **Cry1F** 蛋白質及び改変 **Cry1Ac** 蛋白質は、チョウ目昆虫に対して殺虫活性を有するため、本組換えダイズが我が国へ輸入された場合、影響を受ける可能性がある動植物として、チョウ目昆虫が考えられた。よって、絶滅危惧種及び準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫が①本組換えダイズを直接食餌する場合、②本組換えダイズから飛散した花粉を食餌する場合及び③本組換えダイズが交雑によりツルマメと雑種を形成しチョウ目害虫抵抗性を獲得した交雑個体を食餌する場合に受ける影響を考察した。その結果、これらのチョウ目昆虫種が本組換えダイズが輸送中にこぼれ落ち生

育する可能性がある幹線道路沿いに限定的に生息している可能性は極めて低いと考えられた。また、ダイズの花粉産出量は極めて少なく、かつ花粉に粘着性があるため飛散する可能性は低く、チョウ目昆虫が本組換えダイズの花粉を摂食する可能性は極めて低いと考えられた。加えて、本組換えダイズが国内運搬中にこぼれ落ちて、ツルマメと隣接して生育し、交雑する可能性は極めて低いと考えられるため、チョウ目昆虫が交雑個体を摂食する可能性は極めて低いと考えられた。したがって、チョウ目昆虫が本組換えダイズを摂食し、改変Cry1F蛋白質及び改変Cry1Ac蛋白質に暴露される可能性は極めて低く、チョウ目昆虫が個体群レベルで本組換えダイズによる影響を受ける可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本組換えダイズは、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

交雑性：

ダイズとその近縁野生種であるツルマメは、ともに染色体数が $2n=40$ であり交雑可能であることから、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。しかし、隔離ほ場試験で実施した交雑性試験の結果から、本組換えダイズと非組換えダイズの交雑率は、ダイズの通常の交雑率を超えるものではないと考えられた。実際、ダイズとツルマメは主として自殖性植物であり、両種が隣接して生育し、かつ開花期が重複した場合においても、その交雑率は低いことが知られている。

次に、輸送中にこぼれ落ちた本組換えダイズとツルマメが交雑し、ツルマメ集団にチョウ目害虫抵抗性が付与された場合の影響について、①本組換えダイズ由来の改変*cry1F*遺伝子及び改変*cry1Ac*遺伝子がツルマメ集団の競合における優位性を高める可能性、及び②輸入された本組換えダイズとツルマメの交雑個体が発生する可能性に基づき影響の生じやすさの評価を行った。その結果、①本組換えダイズとツルマメが交雑した場合においても、本組換えダイズ由来の改変*cry1F*遺伝子及び改変*cry1Ac*遺伝子のみによって、ツルマメ集団の競合における優位性が高まる可能性は極めて低いと考えられた。また、②輸入された本組換えダイズの種子が国内運搬中にこぼれ落ちた場合に生育する可能性は極めて低く、本組換えダイズとツルマメが隣接して交雑する可能性も極めて低い

ため、本組換えダイズとツルマメの交雑個体が発生する可能性は極めて低いと考えられた。

以上のことから、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

よって、総合評価として、本組換えダイズを第一種使用規程に従って使用した場合、我が国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと結論づけられた。

参 考 文 献

- Barker, R.F.; Idler, K.B.; Thompson, D.V.; Kemp, J.D. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology*. 1983, 2(6), p.335-350.
- 5 Chiang, Y.C.; Kiang, Y.T. Geometric position of genotypes, honeybee foraging patterns and outcrossing in soybean. *Bot. Bull. Academia Sinica*. 1987, 28(1), p.1-11.
- FAO. FAOSTAT. 2014-8-4 (update). <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx> (参照 2014-8-26).
- 10 Fling, M.E.; Kopf, J.; Richards, C. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-O-nucleotidyl transferase. *Nucleic Acids Research*. 1985, 13(19), p. 7095-7106.
- Fujita, R.; Ohara, M.; Okazaki, K.; Shimamoto, Y. The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*). *The Journal of Heredity*. 1997, 15 88(2), p.124-128.
- Goto, H.; Shimada, H.; Horak, M.J.; Ahmad, A.; Baltazar, B.M.; Perez, T. Characterization of natural and simulated herbivory on wild soybean (*Glycine soja* Seib. et Zucc.) for use in ecological risk assessment of insect protected soybean. *PLoS ONE*. 2016, 11(3): e0151237. doi:10.1371/journal.pone.0151237
- 20 pone.0151237
- Kuroda, Y.; Kaga, A.; Tomooka, N.; Vaughan, D. A. Gene flow and genetic structure of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science*. 2008, 48(3), p.1071-1079.
- Kuroda, Y.; Kaga, A.; Tomooka, N.; Vaughan, D. The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. *Molecular Ecology*. 2010, 19(11), p.2346–2360.
- 25 molecular. Ecology. 2010, 19(11), p.2346–2360.
- Lingenfelter, Dwight D.; Hartwig, Nathan L. Introduction to weeds and herbicides. The Pennsylvania State University, 2007, 28p.
- Mizuguti, Aki; Yoshimura, Yasuyuki; Matsuo, Kazuhito. Flowering phenologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed Biology and Management*. 2009, 9(1), p.93–96.
- 30 Weed Biology and Management. 2009, 9(1), p.93–96.

- Mizuguti, Aki; Ohigashi, Kentaro; Yoshimura, Yasuyuki; Kaga, Akito; Kuroda, Yosuke; Matsuo, Kazuhito. Hybridization between GM soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) and wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) under field conditions in Japan. *Environ. Biosafety Res.* 2010, 9(1), p.13–23.
- 5 Nakayama, Yuichiro; Yamaguchi, Hirofumi. 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.* 2002, 2(1), p.25–30.
- 10 Norris, Susan R.; Meyer, Sandra E.; Callis, Judy. The intron of *Arabidopsis thaliana* polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. *Plant Molecular Biology.* 1993, 21(5), p.895-906.
- 15 OECD. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.11. 1999. <http://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815628.pdf>, (参照 2014-10-29).
- OECD. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (soybean). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.15. 2000. <http://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815668.pdf>, (参照 2014-10-29).
- 20 OECD. Module II : Herbicide Biochemistry, Herbicide Metabolism and the Residues in Glufosinate-Ammonium (Phosphinothricin)-Tolerant Transgenic Plants. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.25. 2002. <http://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815748.pdf>, (参照 2014-10-29).
- 25 OECD. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis* - Derived insect control proteins. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No.42. 2007. <http://www.epa.gov/opp00001/biopesticides/pips/reg-biotech.pdf>, (参照 2014-10-29).
- 30 Sleper, D.A.; Nickell, C.D.; Noel, G.R.; Cary, T.R.; Thomas, D.J.; Clark, K.M.; Rao Arelli, A.P. Registration of 'Maverick' soybean. *Crop Science.* 1998, 38(2), p.549-550.
- Stalker, D.M.; Thomas, Christopher M.; Helinski, Donald R. Nucleotide sequence of the region of the origin of replication of the broad host range plasmid RK2. *Molecular and General Genetics.* 1981, 181, p. 8-12.

- Prieto-Samsónov, DL; Vázquez-Padrón, RI; Ayra-Pardo, C; González-Cabrera, J; de la Riva, GA. *Bacillus thuringiensis*: from biodiversity to biotechnology. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 1997, 19(3), p.202–219.
- Tilman, D. Mechanisms of plant competition. In *Plant Ecology, Second Edition*.
5 M.J. Crawley (ed.). Blackwell Science, Ltd., Oxford, England. 1997, p. 239-261.
- Yoshimura, Y. Wind tunnel and field assessment of pollen dispersal in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *Journal of Plant Research*. 2011, 124(1), p. 109–114.
- Yoshimura, Yasuyuki; Matsuo, Kazuhito; Yasuda, Koji. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan.
10 *Environ. Biosafety Res.* 2006, 5(3), p.169–173.
- Verdaguer, Bertrand; de Kochko, Alexandre; Fux, Charles I.; Beachy, Roger N.; Fauquet, Claude. Functional organization of the cassava vein mosaic virus (CsVMV) promoter. *Plant Molecular Biology*. 1998, 37(6), p.1055–1067.
- Wohlleben, W.; Arnold, W.; Broer, I.; Hillemann, D.; Strauch, E.; Pühler, A.
15 *Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from Streptomyces viridochromogenes Tü494 and its expression in Nicotiana tabacum*. *Gene*. 1988, 70(1), p.25-37.
- 加賀秋人, 友岡憲彦, Phuntsho, Ugen; 黒田洋輔, 小林伸哉, 伊勢村武久, Gilda, Miranda-Jonson; Vaughan, Duncan A. 野生ダイズと栽培ダイズとの自然交雑集団の探索と収集—秋田県及び広島県における予備的調査—. 植物遺伝資源探索導入調査報告書. 通巻第 21 巻, 独立行政法人農業生物資源研究所, 2005, pp.59-71.
20
- 環境省. 第4次レッドリスト 昆虫類. 2012.
<https://www.env.go.jp/press/files/jp/21555.pdf>, (参照 2015-6-30).
- 菊地淳志. 中国・四国地方におけるダイズ原種ツルマメを寄主植物とする昆虫相. 関西病虫害研究会報. 2013, 55(0): 129-133.
25
- 黒田洋輔, 加賀秋人, Apa, Anna; Vaughan, Duncan A; 友岡憲彦, 矢野博, 松岡伸之. 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 茨城県, 愛知県, 広島県, 佐賀県における現地調査から—. 植物遺伝資源探索導入調査報告書. 通巻第 21 巻, 独立行政法人農業生物資源研究所, 2005, pp.73-95.
30

- 黒田洋輔, 加賀秋人, Joe Guaf, Duncan A. Vaughan, 友岡憲彦. 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 茨城県, 高知県, 佐賀県における現地調査から—. 植物遺伝資源探索導入調査報告書. 通巻第 22 巻, 独立行政法人農業生物資源研究所, 2006, pp.1-12.
- 5 黒田洋輔, 加賀秋人, Janet Poafa, Duncan A. Vaughan, 友岡憲彦, 矢野博. 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 兵庫県, 佐賀県における現地調査から—. 植物遺伝資源探索導入調査報告書. 通巻第 23 巻, 独立行政法人農業生物資源研究所, 2007, pp.9-27.
- 財務省. 概況品別国別表. 財務省貿易統計. 2014.
- 10 <http://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm?M=13&P=0>, (参照 2014-7-18).
- 食品安全委員会. 農薬評価書 グルホシネート. 2010.
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20070717010>, (参照 2014-10-29).
- 鄭紹輝. “ダイズ”. 作物学概論. 大門弘幸 編著. 朝倉書店. 2008, p.132-146.
- 15 中山祐一郎, 山口裕文. トランスジェニック作物からの遺伝子の生態系への拡散防止に関する研究: 2. ダイズの祖先野生種ツルマメはどこでどのように生活しているのか 雑草研究. 別号, 講演会講演要旨, 2000, 39, p.182-183.
- 日本モンサント株式会社. モニタリング結果報告書. 2014.
<http://www.monsanto.com/global/jp/newsviews/documents/140701.pdf>, (参照 2015-3-19).
- 20 日本モンサント株式会社. モニタリング結果報告書. 2015.
<http://www.monsanto.com/global/jp/newsviews/documents/150629.pdf>, (参照 2015-9-10).
- 沼田真, 吉沢長人 編集. 新版日本原色雑草図鑑. 全国農村教育協会. 1978, p.107.
- 25 農林水産省. 主要農作物種子法第四条第五項に基づき、農林水産大臣が定める基準 平成十二年一月三十一日 農林水産省告示第百十二号, 2000.
http://www.maff.go.jp/j/kokuji_tuti/kokuji/k0000134.html, (参照 2015-3-30).
- 農林水産省. 「平成 21 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. 2011a.
30 http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/21_kekka.pdf, (参照 2015-9-10).

農林水産省. 「平成 21 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について」参考資料 2. ダイズ採取地点. 2011b.

http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/21daizu.pdf, (参照 2015-11-18).

- 5 農林水産省. 「平成 22 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. 2011c. http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/22_natane.pdf, (参照 2014-12-1).

農林水産省. 「平成 22 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について」参考資料 2. ダイズ採取地点. 2011d.

- 10 http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/22_daizu.pdf, (参照 2015-11-18).

農林水産省. “大豆審査基準”. 農林水産植物種類別審査基準. 2012a. <http://www.hinsyu.maff.go.jp/info/sinsakijun/kijun/1307.pdf>, (参照 2014-7-24).

- 15 農林水産省. 「平成 23 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. 2012b. http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/23_kekka.pdf, (参照 2014-12-1).

農林水産省. 「平成 23 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について」参考資料 2. ダイズ採取地点. 2012c.

- 20 http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/h23_daizu.pdf, (参照 2015-11-18).

農林水産省. 「平成 24 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. 2013a. <http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/pdf/130924-01.pdf>, (参照 2014-12-1).

- 25 農林水産省. 「平成 24 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について」参考資料 2. ダイズ採取地点. 2013b. http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/h24_daizu.pdf, (参照 2015-11-18).

- 30 農林水産省. 「平成 25 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について. 2014a. http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/h25_kekka.pdf, (参照 2014-12-1).

農林水産省. 「平成 25 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について」参考資料 2. ダイズ採取地点. 2014b.

http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/h25_daizu_all.pdf, (参照 2015-11-18).

羽鹿 牧太、高橋浩司、平賀勸. 房総半島におけるツルマメの探索・収集 植探報, 2003, 19, p.7-15.

福岡市港湾局. 博多港統計年報平成25年. 2014. http://www.city.fukuoka.lg.jp/data/open/cnt/3/45186/1/H25_nenpou.pdf, (参照

5 2014-11-28).

古谷義人. ダイズ. 農学大事典 -1977 訂正追補版-. 野口弥吉 監修. 養賢堂. 1977, p.501-508.

10 松尾和人、吉村泰幸、加賀秋人. 「遺伝子組換えダイズの生物多様性影響評価に必要なツルマメに関するバイオリポートドキュメントの作成」新農業展開ゲノムプロジェクト: GMO 評価・管理領域(プロジェクト研究成果シリーズ 517)、2014. p. 478-486.

宮下京子, 松田晴光, 大原雅, 三澤為一, 島本義他. ツルマメおよびダイズにおける開放花と閉鎖花の着花・結実動態. 北海道大学農学部農場研究報告, 1999 : 41-48.

15

緊急措置計画書

平成 27年 6月 4日

5

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
 代表取締役 栗田 道郎
 住所 東京都品川区東品川二丁目2番24号

10

第一種使用規程の承認を申請している「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性ダイズ(改変 *cry1F*, 改変 *cry1Ac*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.) (DAS81419, OECD UI : DAS-81419-2) (以下、「本組換えダイズ」という。)」の第一種使用等において、1に記載した緊急措置を講ずるための実施体制の責任者は、2に示す方法に基づき第一種使用等の状況の把握を行った結果、(1)本組換えダイズとツルマメの交雑個体を確認された場合、もしくは(2)トラックの横転等により、通常の運搬により生じうると想定されるこぼれ落ちの範囲を超える本組換えダイズの環境中への散逸が確認された場合において、3に示す方法により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し、4に示す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を講ずる。

20

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者

平成 27年 6月現在

(個人名・所属・電話番号は個人情報のため非開示)

社内委員	
	ダウ・ケミカル日本株式会社 代表取締役 東京都品川区東品川二丁目2番24号 (電話番号)
*	ダウ・ケミカル日本株式会社
	ダウ・ケミカル日本株式会社
	ダウ・ケミカル日本株式会社

* : 管理責任者

25

2 第一種使用等の状況の把握の方法

(1) 本組換えダイズとツルマメの交雑個体

5 第一種使用規程において定めるモニタリング計画書に基づき、輸入ダイズが運搬される道路沿いにおいて調査を行い、本組換えダイズとツルマメの交雑個体の有無を確認する。

(2) トラックの横転等により、通常の運搬により生じうると想定されるこぼれ落ちの範囲を超える本組換えダイズの環境中への散逸

新聞報道等による情報収集及び業者等からの情報提供により、事故状況を把握する。

10 (1)又は(2)の事案の発生を把握した場合には、直ちにその旨を農林水産省消費・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(以下、「農林水産省及び環境省」という。)に報告する。

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 緊急措置の発生状況に応じ、農林水産省及び環境省と協議した上で、周知する者、内容及び手法を決定する。

4 遺伝子組換え生物等を不活化するための具体的な措置の内容

20 農林水産省及び環境省と協議した上で、以下に記載する措置を講じるものとする。

(1) 2の(1)の事案が確認された場合には、直ちに確認された交雑個体及び周辺に自生するツルマメを伐採し不活化する。

25 (2) 2の(2)の事案が確認された場合には、現場に落下・放置された貨物は通常、回収、保管される。すなわち、トラックの横転等により通常の運搬により生じうると想定されるこぼれ落ちの範囲を超える本組換えダイズの環境中への散逸があった場合でも、その多くはすでに回収されているものと考えられるが、当該種子が適切に回収されているか、直ちに
30 現地において確認を行う。仮に回収漏れ又は回収が行われていない場合は、回収を行う。

(3) (1)又は(2)の応急措置を講じた後、一定期間、発生地周辺におけるダ

イズ、本組換えダイズ及び本組換えダイズとツルマメの交雑個体の有無に関する調査を実施する。当該調査の手法、期間、規模等の内容は農林水産省及び環境省と協議の上、決定する。当該結果は毎年取りまとめ、農林水産省及び環境省に報告するものとし、当該内容に基づき、両省と協議の上、翌年の調査内容を決定する。

5

なお、調査結果については、開示されることにより特定の者に不当な利益又は不利益をもたらすおそれがあるものと判断される情報を除き、公開するものとする。

10 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

緊急措置を執るべき状況が生じた場合には、上述のとおり、農林水産省及び環境省へ報告するとともに緊密な連絡体制を構築する必要がある。

このため、1で規定する管理責任者は、この命に当たらせる専任の連絡員を任命し、連絡員が常に最新の情報を把握した上で、農林水産省及び環境省からの問い合わせに対応可能となるよう、社内体制を構築するものとする。

15

モニタリング計画書

平成 27 年 6 月 4 日

5

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
 代表取締役 栗田 道郎
 住所 東京都品川区東品川二丁目 2 番 24 号

イ. 実施体制及び責任者

10

実施体制及び責任者は以下のとおりである。

平成 27 年 6 月現在

(個人名・所属・電話番号は個人情報のため非開示)

社内委員	
	ダウ・ケミカル日本株式会社 代表取締役 東京都品川区東品川二丁目 2 番 24 号 (電話番号)
*	ダウ・ケミカル日本株式会社
	ダウ・ケミカル日本株式会社
	ダウ・ケミカル日本株式会社

* : 管理責任者

15

ロ. モニタリングの対象となる野生動植物等の種類の名称及び項目

1) 名称 *Glycine max* (L.) Merr.) 及びツルマメ (*Glycine soja*)

20

2) 項目 チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性ダイズ(改変 *cry1F*, 改変 *cry1Ac*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.) (DAS81419, OECD UI : DAS-81419-2) (以下「本組換えダイズ」という。)及び本組換えダイズとツルマメの交雑個体

25

ハ. モニタリングを実施する場所及びその場所における対象となる野生動植物等の生息又は生育状況

1) モニタリングを実施する場所

30

輸入ダイズが運搬される港湾から加工工場への主要道路のうち少なくとも 3 ルートを自動車及び徒歩等によって回り、調査を行う。ただし、前年の調査において、ダイズの生育が確認された場所及び大規模なツルマメ群落が確認された場所については、優先的に調査を行うものとする。

2) 対象となる野生動植物の生育又は生育状況

- ① ダイズの生育状況を調査する。また、必要に応じ、ツルマメの大規模な群落について調査を行う。
- ② ダイズの生育が認められた場合、別紙に記載する方法により、発見された個体が本組換えダイズであるか否かを確認する。
- ③ 本組換えダイズの生育が確認された場合には、確認場所から半径 10 m 以内[†]のツルマメの生息又は生育状況を調査する。
- ④ ツルマメの生育が確認された場合には、別紙に記載する方法により本組換えダイズとツルマメの交雑個体であるか否かを確認する。ただし、モニタリング開始初年度から継続して調査を実施している調査場所で、初めて本組換えダイズの生育が確認された場合には、本組換えダイズとの交雑個体であるか否かの確認は行わない。そして翌年、同じ調査場所を調査し、ツルマメの生育が確認された場合には、ダイズの生育の有無に関わらず、別紙に記載する方法により発見されたツルマメが本組換えダイズとの交雑個体であるか否かを確認する[‡]。

ニ. モニタリングの期間

本組換えダイズが我が国に輸入される期間及び輸入停止後の一定期間にモニタリングを実施する。

ホ. 実施期間、頻度その他のモニタリングの方法

- 1) ツルマメ及びダイズの開花時期に、年 1 回の調査を行う。
- 2) その他
年 1 回、穀物卸業者、食品製造業等の関連団体からヒアリングを行い、以下に掲げる、ダイズの輸入・流通に関する情報を収集するものとする。
- ① 輸入港毎のダイズ種子の輸入数量に関する情報
- ② 輸入ダイズ種子が、港湾からトラックで輸送され、使用される可能性のある加工場の名称、場所、及び各加工場でのダイズ種子の使用数量
- ③ 上記②の輸送に関し、輸入ダイズ種子をトラックに積みこむ港湾の場所
- ④ 上記②の輸送に関し、その輸送形態

ヘ. モニタリング結果の解析方法

ハの 2) に記載した調査項目の結果を、年次別に比較し、傾向を分析する。

ト. 農林水産大臣及び環境大臣への結果の報告方法

モニタリング及びその解析結果は、調査を実施した翌年の 1 月末までに、別表の様式に従い、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

[†]第 1 種使用規程承認組換え作物栽培実験指針(平成 16 年 2 月 24 日付け 15 農会第 1421 号)における、ダイズの同種栽培作物等との隔離すべき距離にもとづき設定した。

[‡]ダイズとツルマメが交雑した場合、結実した種子が発芽するのは交雑が発生した年の翌年となるため、本組換えダイズの生育が初めて確認された年に交雑体が発生することはない。

局野生生物課(以下「農林水産省及び環境省」という。)への報告を行う。

チ. その他必要な事項

1) モニタリング実施要領の作成

5 調査場所及び時期等に関しては、農林水産省及び環境省と協議を行い、具体的な手順をまとめたモニタリング実施要領を作成する。

2) モニタリング計画書の見直し

10 調査結果を踏まえ、農林水産省及び環境省と協議の上、必要に応じて本計画書を見直すものとする。

3) モニタリング結果の公表

15 特定の者に不当な利益又は不利益をもたらす可能性があると考えられる情報を除き、モニタリングの結果を公開する。

試料の採取方法

5 1. 試料の検査方法

調査場所ごとに、ダイズ及びツルマメの個体数を記録する。発見された全てのダイズ個体を採取し、本組換えダイズの生育が確認された場合は、ダイズ生育地点から半径 10 m 以内に生育しているツルマメを上限 10 個体として採取する。

10

2. 試料の検査方法

採取したダイズ及びツルマメ個体は、形態的特徴により種の同定を行う。本組換えダイズ又は本組換えダイズとツルマメとの交雑個体か否かについては、ラテラルフローストリップ法を用いて改変 Cry1F 蛋白質、改変 Cry1Ac 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現の有無を調査し、判定を行う。

15

モニタリング結果報告書

5

年 月 日

農林水産省消費・安全局農産安全管理課長
環境省自然環境局野生生物課長

10

氏名(名称)
住所

- 15 「チョウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性ダイズ(改変 *cry1F*, 改変 *cry1Ac*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.) (DAS81419, OECD UI : DAS-81419-2) (以下「本組換えダイズ」という。)」の第一種使用規定にもとづくモニタリング結果を以下に報告します。

項目	内容
1. 実施体制	
2. 調査時期	
3. 実施場所	
4. 調査方法	
5. 調査結果	
1) ダイズの生育個体数及び生育場所	
2) 本組換えダイズの生育個体数及び生育場所	
3) ツルマメの生育場所及び生育規模	
4) 本組換えダイズとの交雑個体の個体数及び生育場所	
5) モニタリング結果の解析結果	
6. その他	

20

添付資料リスト

- 添付資料 1 : Kuroda, Y.; Kaga, A.; Tomooka, N.; Yano, H.; Takada, Y.; Kato, S.;
Vaughan, D. QTL affecting fitness of hybrids between wild and
5 cultivated soybeans in experimental fields. *Ecology and
Evolution*. 2013, 3(7), p. 2150-2168.
- 添付資料 2 : 安田耕司、加賀秋人、榊原充隆、菊池彰夫、菊地淳志、高田吉丈、
水谷信夫、松村正哉、大木信彦. 「遺伝子組換え Bt ダイズの生物
多様性影響評価手法の開発」新農業展開ゲノムプロジェクト: GMO
10 評価・管理領域(プロジェクト研究成果シリーズ 517)、2014. p.
471-478.
- 添付資料 3 : Biological Activity of *Bacillus thuringiensis* Cry Proteins Against
Lepidopteran Insect Pests of Soybean in Latin America (社外秘
情報につき非開示)
- 15 添付資料 4 : Insecticidal Efficacy of Event DAS-81419-2 Soybean (社外秘情報
につき非開示)
- 添付資料 5 : pDAB9582 の塩基配列(社外秘情報につき非開示)
- 添付資料 6 : 導入遺伝子のコピー数並びに世代間及び同一世代における安定性
(社外秘情報につき非開示)
- 20 添付資料 7 : Cloning and Characterization of the DNA Sequence for the
Insert and Its Flanking Border Regions of DAS-81419-2
Soybean (社外秘情報につき非開示)
- 添付資料 8 : Development and Validation of an Event-Specific Real-Time PCR
System for the Quantitative Detection of DAS-81419-2
25 Soybean (社外秘情報につき非開示)
- 添付資料 9 : 環境省第4次レッドリスト昆虫類掲載の滅危惧種及び準絶滅危惧種
に区分されているチョウ目昆虫のうち、チョウ目害虫抵抗性遺伝子
組換えダイズにより影響を受ける可能性が否定できない種の特定

添付資料 1 0 : 吉村泰幸、大東健太郎. 「環境ストレス耐性遺伝子組換え作物の生物多様性影響評価手法の開発」新農業展開ゲノムプロジェクト: GMO 評価・管理領域(プロジェクト研究成果シリーズ 517)、2014. p. 463-467.

5 添付資料 1 1 : 南米産ダイズ発芽試験結果(社外秘情報につき非開示)