

5 チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 *cry1Ac*, *Glycine max* (L.) Merr.)  
(MON87701, OECD UI: MON-87701-2)申請書等の概要

	第一種使用規程承認申請書 .....	4
	生物多様性評価書 .....	7
	第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報 .....	7
10	1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報 .....	7
	(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況 .....	7
	① 和名、英名及び学名 .....	7
	② 宿主の品種名 .....	7
	③ 国内及び国外の自然環境における自生地域 .....	7
15	(2) 使用等の歴史及び現状 .....	7
	① 国内及び国外における第一種使用等の歴史 .....	7
	② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途 .....	8
	(3) 生理学的及び生態学的特性 .....	9
	イ 基本的特性 .....	9
20	ロ 生息又は生育可能な環境の条件 .....	9
	ハ 捕食性又は寄生性 .....	9
	ニ 繁殖又は増殖の様式 .....	10
	① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命 .....	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 .....	10
25	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 .....	10
	④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命 .....	11
	ホ 病原性 .....	12
30	へ 有害物質の産生性 .....	12
	ト その他の情報 .....	12
	2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 .....	12
	(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
35	ロ 構成要素の機能 .....	13
	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 他の供与核酸の構成要素それぞれの機能 .....	13
	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	18
	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	22
5	イ 名称及び由来	22
	ロ 特性	22
	① ベクターの塩基数及び塩基配列	22
	② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能	22
	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	22
10	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	22
	イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	22
	ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法	22
	ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	23
15	① 核酸が移入された細胞の選択の方法	23
	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	23
	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	23
20	(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	25
	① 移入された核酸の複製物が存在する場所	25
25	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
	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	25
	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	25
30	⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生 動植物等に伝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	26
	(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	26
35	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	26
	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	26
	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	26
3	遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	29
	(1) 使用等の内容	29
5	(2) 使用等の方法	29
	(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法	30
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置	30
10	(5) 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果	30
	(6) 国外における使用等に関する情報	30
	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	32
	1 競合における優位性	32
15	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	32
	(2) 影響の具体的内容の評価	33
	(3) 影響の生じやすさの評価	33
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	33
	2 有害物質の産生性	34
20	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	34
	(2) 影響の具体的内容の評価	36
	(3) 影響の生じやすさの評価	36
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	37
	3 交雑性	37
25	(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	40
	4 その他の性質	40
30	第三 生物多様性影響の総合的評価	41
	緊急措置計画書	44
	モニタリング計画書	46

第一種使用規程承認申請書

平成 20 年 12 月 1 日

農林水産大臣 石破 茂 殿

5 環境大臣 齊藤 鉄夫 殿

氏名 日本モンサント株式会社

申請者 代表取締役社長 山根 精一郎 印

10

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

15 申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類 の名称</p>	<p>チョウ目害虫抵抗性ダイズ (改変 <i>cry1Ac</i>, <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI: MON-87701-2)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地名 称：日本モンサント株式会社隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 24 年 1 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。</li> <li>(2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。</li> <li>(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えダイズの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該ダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。</li> <li>(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するための防風網を設置している。また、播種時には防鳥糸などを用いた鳥害防止策を講じる。</li> </ol> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>(1) 本遺伝子組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。</li> <li>(2) 本遺伝子組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。</li> <li>(3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、本遺伝子組換えダイズの栽培終了後は、当該ダイズ及び比較対照のダイズを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。</li> <li>(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、</li> </ol>

	<p>意図せずに本遺伝子組換えダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。</p> <p>(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。</p> <p>(6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。</p> <p>(7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。</p> <p>(8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。</p>
--	---

## 生物多様性評価書

### 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

#### 5 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

##### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

###### ① 和名、英名及び学名

10

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

###### ② 宿主の品種名

15

宿主はマメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属するダイズ (*G. max*) である。実際に遺伝子導入に用いた宿主の品種名は A5547 である。

###### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

20

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

25

30

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 (文献 8 文献 4; 文献 1)。

35

##### (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

ダイズの起源地域は中国東北部で、紀元前 1100 年頃にこの地域で栽培化されたと推定され、その後、中国南部、東南アジア、朝鮮及び日本へ栽培が広がったと考えられる (文献 9)。わが国へは縄文時代に渡来、栽培が始まったと考えられ、副食として利用されていたと思われる (文献 10)。

5

## 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、2007 年の全世界におけるダイズの栽培面積は約 9,490 万 ha であり、上位国を挙げると米国が約 3,056 万 ha、  
10 ブラジルが約 2,064 万 ha、アルゼンチンが約 1,610 万 ha、中国が約 890 万 ha となっている。なお、同統計情報に基づく 2007 年のわが国における栽培面積は約 15 万 ha であった(文献 11)。

2007 年のわが国におけるダイズの輸入量は約 416 万トンであり、そのうちの約 80%が米国から輸入されている (文献 12)。2007 年度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 430 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 12.5 万トン、種子用が約 0.7 万トン、加工用 (ダイズ油・脱脂ダイズ・味噌・醤油用) が約 322.3 万トン、減耗量<sup>2</sup>が約 8.3 万トン、食品用<sup>3</sup>が約 86.6 万トンとなっている(文献 13)。

20

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、もやしとして食されるほか、分離蛋白、濃縮蛋白等は食品添加物として、搾油は食用植物油として、脱脂ダイズは家畜用飼料として利用されている (文献 10)。

25

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 月中旬～6 月上旬、東北地方、北陸・東山地方で 6 月上旬、関東地方で 6 月中旬、東海地方以西中国地方までは 6 月下旬、九州地方で 7 月上旬から 8 月上旬 (秋ダイズ) 及び 4 月上旬から下旬 (夏ダイズ) となる。播種密度は、品種や栽培条件によって異なるが、早生品種・寒地・遅播きの場合などでは密植が行われる。  
30 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ので、雑草は比較的発生し難くなる。また病

---

1 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。2007 年は輸出量は約 1 万トン、在庫は約 8 万トン増であったため、 $23+416-1-8=430$ (万トン)が国内消費仕向量となる。

2 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。

3 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。



害虫の防除は、ダイズの栽培で最も大切な作業の一つであり、生育初期の害虫に対しては早めに薬剤散布を行う。収穫は、抜き取るか地ぎわから刈り取り、これを地干し、又は掛け干しして乾燥し脱粒機で脱粒する方法と、コンバインで刈り取り・脱粒を一緒に行う方法とがある (文献 10)。

5

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

10       ダイズは種子繁殖する一年生の双子葉作物であり、子葉は対生し、次に卵形の初生葉が子葉と直角に対生して、それ以降は 3 片の小葉からなる複葉を生じる (文献 1)。茎は主茎と分枝に分けられ、主茎節の複葉の葉腋から分枝が伸長し、また、根は一般に空中窒素固定能を有する根粒菌の寄生によって根粒を着生する (文献 10)。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

15       ており、子房は受粉後に肥大して莢を形成する (文献 10)。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 (文献 9)。

20

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

      ダイズ種子の発芽適温は 30~35°C、最低発芽温度及び最低生育温度は 2~4°C であり、10°C 以下での発芽は極めて悪い (文献 9)。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応性が細かく分化して各種の気候に対する適応性が高くなっており、赤道直下のインドネシアから北緯 60° のスウェーデンでも栽培可能である (文献 9)。本組換えダイズの宿主である A5547 は米国において、およそ北緯 36 度から 37 度の栽培地域に適した品種 (Maturity Group V) に分類される (文献 13; 文献 14)。この栽培地域において、Maturity Group V に分類される品種は 5 月初旬から播種される。また、6 月下旬が開花期にあたり (文献 15)、このときの日長時間は約 14.5 時間であることが報告されている (文献 16)。

25

30

      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。

35

#### 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

5

ダイズの種子は裂莢した際に地表に落下する。わが国で栽培されるダイズの裂莢性には品種間差があるが、ダイズが大規模に栽培され、収穫が機械化されている米国などでは、ほとんどの品種が難裂莢性であり、今回、遺伝子導入に用いた宿主である A5547 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 (文献 10)。

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

15

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

20

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

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

25

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 (*G. soja* Sieb. et Zuce) がわが国で確認されており (文献 17; 文献 18)、その形態がダイズに近かったことから、通常のツルマメと比べて、ダイズと交雑する可能性が高いことが予想された。しかし、過去 10 年以上にわたり日本各地より 800 近い集団からツルマメの収集を行った中にオオバツルマメのような形態的中間型を示す個体は見つかっていないという報告があることから (文献 18)、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ことが予想される。

30

35

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、受粉が完了する上に、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 (文献 18)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。これまでに、通常のは場条件でダイズ同士における他家受粉率は最大で 3.62% (文献 19)、ツルマメ同士における他家受粉率は最大で 2.3% (文献 20) と報告されている。

しかし、条件によっては交雑率が上昇することもある。例えば、ダイズの開花期にミツバチの巣箱をダイズは場の中心に設置した場合、その他家受粉率は平均で 2.96~7.26% となり、局所的には 19.5% に達したと報告されている (文献 21)。またツルマメに関しても、秋田県雄物川流域で約 13% という高い他家受粉率を示す集団が発見されたとの報告がある (文献 22)。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(文献 23)の間に位置していた。この高い他家受粉率の原因が、雄物川流域特有の環境条件によるものなのか、あるいは集団内の遺伝的特性によるものなのかは明らかにされていない。なお、雄物川流域のツルマメの集団は、護岸工事などによる環境の攪乱が行われておらず、集団サイズが大きく、訪花昆虫にとっては非常に魅力的な食料供給源であり、このツルマメの集団の周辺では花粉を媒介する昆虫であるミツバチやクマバチなどが頻繁に観察されていた。このことから、このツルマメ集団の周りの環境には、他家受粉を引き起こす要因が通常よりも多く存在していたと考えられる(文献 22)。

ダイズとツルマメの交雑性に関しては、上述したようにいずれも閉花受粉を行う自殖性植物である。さらに開花期については地域、品種及び播種時期に影響されるが、一般的にダイズの開花期はツルマメよりも約 1 ヶ月近く早く、それぞれの開花期間は重なりにくいことが知られている (文献 18)。他のダイズ品種と比べて開花期が遅い日本固有の栽培品種である丹波黒とツルマメ (GIs/93-J-01) をそれぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調査した報告では、自然交雑実験終了後に結実したツルマメから取得された 686 個体の後代を調査した結果、ダイズとツルマメの雑種であると判断された後代が 5 個体認められたことから、その交雑率は 0.73% と報告されている (文献 24)。

また、組換えダイズとツルマメを隣接して栽培し、ツルマメがダイズにまきついて生育している状態で採種したツルマメ種子 32,502 粒を調査したところ、ダイズと自然交雑した交雑種子は 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の 11,860 粒の中から見つかったと報告されている(文献 25)。

#### ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ダイズの花粉の生産量は極めて少なく、寿命は2~4時間で失われる。花粉の直径は15~25 $\mu\text{m}$ である(文献26)。また、花粉の飛散距離に関しては、農業環境技術研究所が2001年から2004年の4年間に行った除草剤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7.0mで交雑率0.040%(2001年)、2.8mで0.08%(2002年)、3.5mで0.022%(2004年)であった<sup>4</sup>。

ホ 病原性

10 —

ヘ 有害物質の産生性

15 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生育したという報告はない。

20

## 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

25 イ 構成及び構成要素の由来

チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 *cryIAc*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI: MON-87701-2) (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及び構成要素の由来は図1(p14)及び表1(p15~17)に示した。

30

なお、本組換えダイズに導入された *cryIAc* 遺伝子から発現する Cry1Ac 蛋白質は野生型と比べて7カ所のアミノ酸が置換されている。また、N末端側に CTP1 蛋白質由来の4アミノ酸が結合している(別添資料1)。よって、本組換えダイズに導入された *cryIAc* 遺伝子は「改変 *cryIAc* 遺伝子」とし、発現する蛋白質を「改変 Cry1Ac 蛋白質」とする。

35

また、本組換えダイズ作出の過程において選抜マーカーとして導入された *cp4*

---

<sup>4</sup> 2003年は0.7~10.5mまで調査した結果いずれの距離においても交雑率は0%であった。

*epsps* 遺伝子から発現する CP4 EPSPS 蛋白質は植物中での発現量をもつため、CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更することの無いように塩基配列に改変を加えたもので、*Agrobacterium* sp. CP4 株由来のアミノ酸配列と比較して、N 末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。したがって、本組換えダイズに挿入された *cp4 epsps* 遺伝子は「改変 *cp4 epsps* 遺伝子」とする。ただし、本組換えダイズは、R1 世代において通常の散布量よりも低葉量での除草剤グリホサート散布を行い、除草剤による傷害を受けた個体のみを選抜することによって、遺伝的分離により改変 *cp4 epsps* 遺伝子を持たない個体のみを選抜している(図 2, p24)。

5

10

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

15

本組換えダイズの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 1 (p15~17)に示したとおりである。

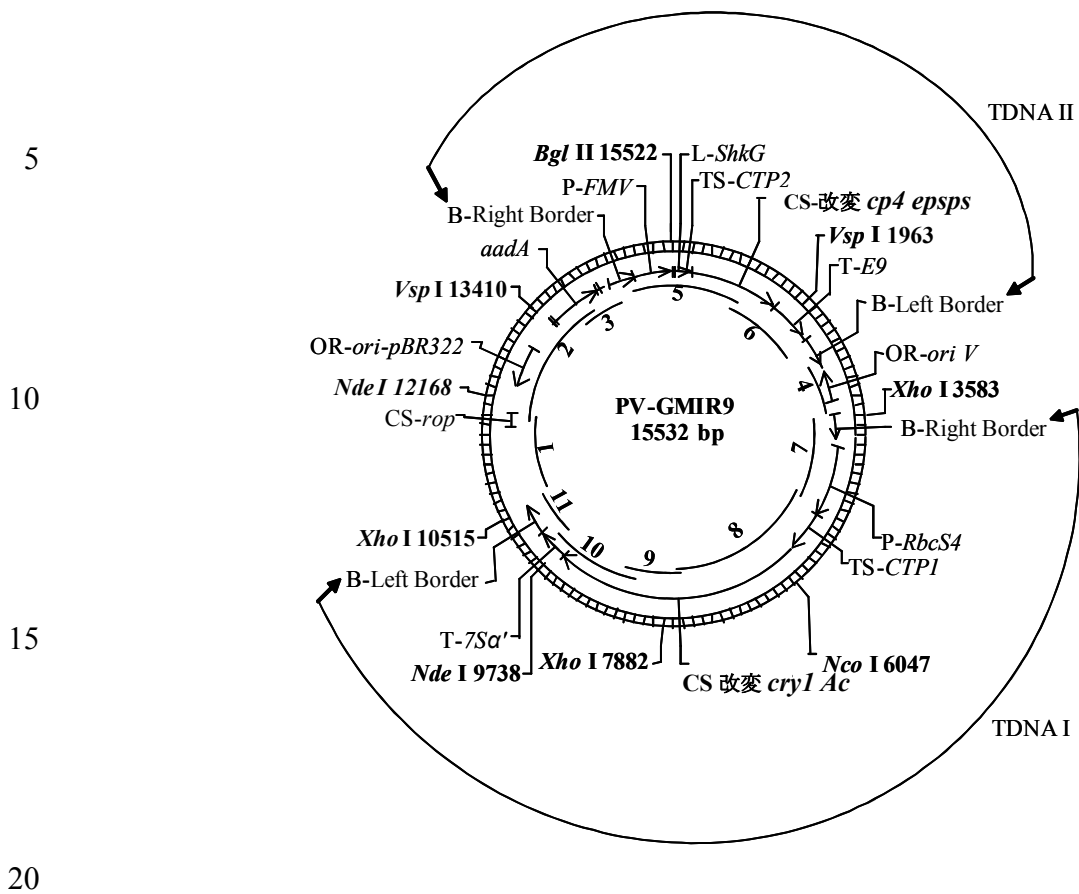


図 1 PV-GMIR9 のプラスミドマップ<sup>5</sup>

本組換えダイズの育成過程では、上図の T-DNA I 領域は持つが、T-DNA II 領域は持たない個体を選抜した。

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

表 1 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能<sup>6</sup>

構成要素	由来及び機能
T-DNA II (本組換えダイズ中には存在しない。)	
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
L <sup>注1</sup> - <i>ShkG</i>	5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) 蛋白質をコードしている <i>Arabidopsis thaliana</i> の <i>ShkG</i> 遺伝子の 5'末端非翻訳領域(文献 27)。遺伝子発現の調整に関与する。
TS <sup>注2</sup> - <i>CTP2</i>	<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(文献 27)。目的蛋白質を細胞質から葉緑体へと輸送する。
CS <sup>注3</sup> -改変 <i>cp4-epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4 株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(CP4 EPSPS)をコードしている <i>aroA</i> 遺伝子のコーディング配列(文献 28; 文献 29)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
T <sup>注4</sup> - <i>E9</i>	<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をコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域。mRNA のポリアダニル化を誘導する(文献 30)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
B <sup>注5</sup> -Left Border	T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来の DNA 領域(文献 31)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
OR <sup>注6</sup> - <i>ori V</i>	広宿主域プラスミド RK2 に由来する複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium</i> においてベクターに自律増殖能を付与する(文献 32)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列

5

<sup>6</sup> 本表に記載された情報に係る権利およ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 (つづき) 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能

構成要素	由来及び機能
T-DNA I	
B-Right Border	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(文献 33)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
P <sup>注7</sup> - <i>RbcS4</i>	<i>A. thaliana</i> のリブロース-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット 1A をコードする <i>RbcS4</i> 遺伝子のプロモーター、リーダー及び 5' 末端非翻訳領域(文献 34)。植物体地上部での発現を誘導する。
TS- <i>CTP1</i>	<i>A. thaliana</i> の <i>RbcS4</i> 遺伝子に由来する輸送ペプチドをコードする配列(文献 34)。改変 Cry1Ac 蛋白質を葉緑体へ輸送する。
CS-改変 <i>cry1Ac</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> に由来する改変 Cry1Ac 蛋白質をコードする配列(文献 35)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
<i>T-7Sα'</i>	<i>Glycine max</i> のダイズ 7Sα'種子貯蔵蛋白質をコードする <i>Sphas1</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域。mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する(文献 36)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
B-Left Border	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(文献 31)。



表 1 (つづき) 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能

構成要素	由来及び機能
外骨格領域 (本組換えダイズ中には存在しない)	
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
CS-rop	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ディング配列であり、 <i>Escherichia coli</i> 中においてプラスミドのコピー数を維持する (文献 37)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
OR-ori-pBR322	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する (文献 38)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
aadA	トランスポゾン Tn 7 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由来の細菌プロモーター、コーディング配列及び 3' 非翻訳領域 (文献 39) (GenBank accession X03043)。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	DNA クローニングの際に利用された配列
B-Right Border	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 (文献 33)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
P-FMV	Figwort mosaic virus (FMV) 35S RNA のプロモーター (文献 40)。植物細胞内での転写を誘導する。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列

注<sup>1</sup> L-Leader (リーダー配列)

注<sup>2</sup> TS-Targeting Sequence (ターゲティング配列)

5 注<sup>3</sup> CS-Coding Sequence (コーディング配列)

注<sup>4</sup> T-Transcription Termination Sequence (転写終結配列)

注<sup>5</sup> B-Border (境界配列)

注<sup>6</sup> OR-Origin of Replication (複製開始領域)

注<sup>7</sup> P-Promoter (プロモーター)

- 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同一性を有する場合はその旨

## 5 【改変 *cry1Ac* 遺伝子】

本組換えダイズは *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73株由来の改変 *cry1Ac* 遺伝子がコードする改変Cry1Ac蛋白質を発現することにより、特定のチョウ目害虫に対する抵抗性が付与されている。

- 10 土壌中に一般的に存在するグラム陽性菌である *B. thuringiensis* の産生する Bt 蛋白質は、標的昆虫の中腸上皮の特異的受容体と結合して陽イオン選択的小孔を形成し、その結果、消化プロセスを阻害して殺虫活性を示すことが知られている(文献 41; 文献 42; 文献 43)。

- 15 本組換えダイズに導入された改変 *cry1Ac* 遺伝子は、植物での発現を高めるために塩基配列に改変を加える過程で *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73株の生産する野生型Cry1Ac蛋白質と比較して7つのアミノ酸に置換が生じているが、これらの置換は既に第一種使用規程の承認(平成16年11月22日)を受けているチョウ目害虫抵抗性ワタ (*cry1Ac*, *Gossypium hirsutum* L.) (531, OECD UI :  
20 MON-00531-6)(以下「531」という。)中で発現している改変Cry1Ac蛋白質と同一である。また、本組換えダイズ中で発現する改変Cry1Ac蛋白質は上述の7つのアミノ酸の置換に加え、N末端側にCTP1に由来する4アミノ酸が付加されている(別添資料1)。結果として本組換えダイズで発現する改変Cry1Ac蛋白質の推定アミノ酸配列と、*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73株から生産されるCry1Ac蛋白質の  
25 推定アミノ酸配列(文献44; Genbank accession M11068)との相同性は99.1%である。

- Cry1A蛋白質はチョウ目昆虫のみに殺虫活性を持つことが知られている(文献 45)。また、Cry1Ac蛋白質に分類される蛋白質は95%の相同性の範囲内で多様性  
30 を持っており(文献45)、*B. thuringiensis*から同定されたCry1Ac蛋白質にいくつかの変異型が存在することも知られている(文献46)。上述したように、本組換えダイズで発現する改変Cry1Ac蛋白質と *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73株が生産するCry1Ac蛋白質との相同性は99.1%であり、Cry1Ac蛋白質がもともと有する95%以上の相同性の範囲内であるため、改変Cry1Ac蛋白質のチョウ目昆虫に対する殺  
35 虫スペクトラムは自然界に存在するCry1Ac蛋白質と同等と考えられる。なお、Cry1Ac蛋白質は変異型や由来に関らずチョウ目昆虫以外の昆虫種に対しては殺虫活性を持たないことを文献調査により確認した(表 2, p20)。また、チョウ目昆虫の中でも種によってCry1Ac蛋白質に対する感受性には大きな差があることが

知られている(表 3, p21)。

5 本組換えダイズは、チョウ目害虫により深刻な被害がもたらされている熱帯  
及び亜熱帯に属する、主に南米のダイズ栽培地域において、現在チョウ目害虫防  
除のために使用されている殺虫剤の使用を軽減するか無くすことを目標として  
育成された。実際に、南米でのダイズ栽培における主要チョウ目害虫であるベル  
ベットビーンキャタピラー (ビロードマメケムシ) (*Anticarsia gemmatalis*), ソイ  
10 ビーンアクシルポーラー (*Epinotia aporema*), サンフラワールーパー  
(*Rachiplusia nu*), ソイビーンルーパー(*Pseudoplusia includes*)に対して優れた殺虫  
活性を示すことが観察されている(別添資料 2)。

15 改変 Cry1Ac 蛋白質が、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有  
するかどうか、アレルゲンデータベース 8 (AD8<sup>7</sup>) を用いて FASTA 型アルゴリズム  
及び ALLERGENSEARCH 型アルゴリズムによって比較したが、既知アレルゲン  
と構造的に類似性のある配列は認められなかった。

---

<sup>7</sup> 文献 47 に 2008 年 1 月の時点で登録されていた配列からなるデータベース。

表 2 目別に見た Cry1Ac 蛋白質の殺虫活性<sup>18</sup>

目	殺虫活性	調査した種の数	感受性を持つ種の数
Lepidoptera (チョウ目)	+	47	46
Diptera (ハエ目)	-	1	0
Coleoptera (コウチュウ目)	-	8	0
Neuroptera (アミメカゲロウ目)	-	1	0
Hymenoptera (ハチ目)	-	6	0
Hemiptera (カメムシ目)	-	6	0
Isoptera (シロアリ目)	-	1	0
Blattaria (ゴキブリ目)	-	1	0
Collembola (トビムシ目)	-	2	0
Acari (ダニ目)	-	2	0
Haplotaxida (ナガミミズ目)	-	1	0

<sup>1</sup> 75 報の文献調査より作成した(文献については別添資料 3 参照)。

5

<sup>8</sup>本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

表 3 Cry1Ac 蛋白質の殺虫スペクトラム<sup>9</sup>

学名	慣用名	LC <sub>50</sub> (µg/ml diet)	95% Confidence Interval
本組換えダイズの標的昆虫			
<i>Anticarsia gemmatalis</i> <sup>1</sup>	ベルベットビーンキャタピラー (ビロードマメケムシ)	0.039	0.012 - 0.094
<i>Pseudoplusia includes</i> <sup>2</sup>	ソイビーンルーパー	0.21-0.48	0.16 - 0.65
<i>Epinotia aporema</i> <sup>3</sup>	ソイビーンアクシルボーラー	0.45	0.32 - 0.58
<i>Rachiplusia nu</i> <sup>3</sup>	サンフラワールルーパー	0.27	-
その他のチョウ目昆虫 <sup>4</sup>			
<i>Manduca sexta</i> (L.)	タバコホーンワーム (タバコスズメガ)	0.036	0.028 - 0.048
<i>Trichoplusia ni</i> (Hübner)	キャベツルーパー (イラクサギンウワバ)	0.09	0.018 - 0.18
<i>Heliothis virescens</i> (Fabricius)	タバコバッドワーム	1	0.55 - 2.35
<i>Helicoverpa zea</i> (Boddie)	コーンイヤールーム	10	6.4 - 24.8
<i>Agrotis ipsilon</i> (Hufnagel)	ブラックカットワーム (タマヤナガ)	18	10.36 - 36.1
<i>Ostrinia nubilalis</i> (Hübner)	ヨーロピアンコーンボーラー (ヨーロッパアワノメイガ)	37	17.8 - 115.9
<i>Spodoptera exigua</i> (Hübner)	ビートアーミーワーム (シロイチモジヨトウ)	44	41.9 - 46.4

<sup>1</sup> 文献 48

<sup>2</sup> 文献 49

<sup>3</sup> 文献 50

5 <sup>4</sup> 文献 51

<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

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

—

5

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

10 本組換えダイズの作出に用いられたベクターPV-GMIR9 は、*E. coli* 由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された。

ロ 特性

15 ① ベクターの塩基数及び塩基配列

本組換えダイズの作出に用いられた PV-GMIR9 の全塩基数は 15,532bp である。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

20

*E. coli* における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として、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トランスポゾン Tn7 由来の *aadA* 遺伝子が T-DNA 領域外に存在している。

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

本ベクターの感染性は知られていない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

30

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

35 宿主内に移入された本プラスミド・ベクターの構成要素は表 1(p15~17) に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては、図 1(p14) に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミド・ベクターPV-GMIR9 をアグロバクテリウム法によって、非組換え

ダイズ品種 A5547 の胚細胞に導入した。

## ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

### 5 ① 核酸が移入された細胞の選択の方法

従来ダイズ品種 A5547 の胚から採取した分裂組織とプラスミド・ベクター PV-GMIR9 を含む *A. tumefaciens* ABI 株を共置培養した後、グリホサート、カルベニシリン及びセフトキシムを添加した組織培養培地で細胞の選抜を行った。この際、グリホサートによって形質転換していない細胞を除去した。

### 10 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

15 カルベニシリン及びセフトキシムを添加した組織培養培地により、形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体を除去した。さらに、形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体が残存していないことをプラスミド・ベクター PV-GMIR9 の外側骨格領域を標的とした PCR 分析を行うことによって確認した（別添資料4）。

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

25 形質転換された再分化個体 (R0) を自殖し、その後代である R1 世代において通常の散布量よりも低薬量での除草剤グリホサート散布を行い改変 *cp4 epsps* 遺伝子の有無に関するスクリーニングを行った。ここでグリホサートによって傷害を受けた個体のみを T-DNA II（改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットを含む領域）を持たない個体として選抜した。ここで選抜した T-DNA II を持たない R1 個体において、さらに TaqMan PCR 法により T-DNA I（改変 *cryIac* 遺伝子発現カセットを含む領域）をホモで有する個体を選抜した。選抜された個体の後代を導入遺伝子解析及び形態特性調査の対象とした。その結果、最終的に商品化系統として MON87701 系統を選抜した。

35 本組換えダイズの育成図を図 2(p24) に示した。なお、本評価書における本組換えダイズ MON87701 系統とは、R1 世代において T-DNA II 領域が分離し、かつ T-DNA I 領域のみを持つ個体及びその後代の全てを指す。

5

【社外秘につき非開示】

10

15

図 2 本組換えダイズの育成図



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

##### ① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5

本組換えダイズの導入遺伝子はメンデルの法則に従って次世代に遺伝していることから、染色体上に存在する (別添資料 5 の Table 1, p6)。

##### 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

サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、本組換えダイズのゲノム中 1 ヲ所に 1 コピーの T-DNA I 領域が組み込まれており (別添資料 6 の Figure 4~6, p27~29)、複数世代(R4~R9 世代)にわたり安定して後代に遺伝していることが確認されている(別添資料 6 の Figure 10, p33)。また、外側骨格領域及び T-DNA II 領域は導入されていないことが確認されている (別添資料 6 の Figure 7~9, p30~32)。

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

20

1 コピーなので該当しない (別添資料 6 の Figure 4~6, p27~29)。

##### 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

25

米国の 5 ヲ所のほ場において、3 反復で育成した本組換えダイズの葉 (Over-season leaf, OSL)、根、地上部、種子での改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量を ELISA 法により分析した (別添資料 7)。なお葉のサンプリングは異なる生育ステージで 4 回行った (OSL-1: V3~V4 期、OSL-2: V6~V8 期、OSL-3: V10~V12 期、OSL-4: V14~V16 期)。また、米国の 1 ヲ所のほ場で 1 反復で育成した本組換えダイズの花粉 (蒴を含む) 中での改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量も測定した。

30

その結果、改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量の平均値及び範囲(括弧内に示す)は OSL-1 で 30 $\mu$ g/g fwt(新鮮重)(12~40 $\mu$ g/g fwt)、OSL-2 で 38 $\mu$ g/g fwt(18~80 $\mu$ g/g fwt)、OSL-3 で 34 $\mu$ g/g fwt(14~77 $\mu$ g/g fwt)、OSL-4 で 53 $\mu$ g/g fwt(15~110 $\mu$ g/g fwt) (別添資料 7 の Table 1, p17)、地上部で 9.0 $\mu$ g/g fwt(2.5~32 $\mu$ g/g fwt)、種子で 4.2 $\mu$ g/g fwt(3.1~5.0 $\mu$ g/g fwt)、花粉で 2.3 $\mu$ g/g fwt(1.8~3.1 $\mu$ g/g fwt)であった(別添資料 7 の Table 2, p18)。なお、根における改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量は検出限界以下

35

(LOD=0.347 $\mu$ g/g fwt)であった。

また、育成の過程において、改変 Cry1Ac 蛋白質の発現を各世代で確認しながら選抜を行った。

- 5           ⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に  
              伝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           プラスミド・ベクターPV-GMIR9 は自律増殖可能な宿主域が *E. coli* や *A. tumefaciens* などのグラム陰性菌に限られているため、移入された核酸が自然条件下において野生動植物等に伝達される可能性はない。

- (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

15           PCR 法による検出が可能である(別添資料 8)。

- (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

- 20           ① 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容

20           本組換えダイズへ導入された改変 *cry1Ac* 遺伝子は改変 Cry1Ac 蛋白質を発現することにより、チョウ目害虫に対する抵抗性を付与する(別添資料 2)。

- 25           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<sup>10</sup>

a 形態及び生育の特性

30           形態及び生育に関する特性を比較するため、米国の3カ所のほ場 (インディペンデンス郡(アーカンソー州)、ジャクソン郡(イリノイ州)、ポージー郡(インディアナ州)) において9項目 (苗立ち株数、初期の草勢、50%開花期までの日数、花色、倒伏性、主茎長、裂莢性、収穫種子の水分含量、収量) について本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズ品種A5547の間の形態特性及び生育の差異を  
35           調査した。なお、参考品種として従来商業品種4品種を供試し、試験は3反復で行った (別添資料9)。

---

<sup>10</sup> 本項目中の以下に続く a~g 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。

その結果、初期の草勢、50%開花期までの日数、倒伏性及び収量において統計学的有意差が認められたが、それ以外の項目では差異は認められなかった(別添資料9)。

5

初期の草勢に関しては、ポージー郡のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは5.0、対照の非組換えダイズでは5.7であった。収量に関しては、ポージー郡のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは2.0t/ha、対照の非組換えダイズでは2.3t/haであった。しかし、初期の草勢、収量についてはポージー郡のほ場で参考として供試された従来商業品種4品種の平均値の範囲内(初期の草勢:4.0~6.0、収量: 1.8~2.2t/ha)であった(別添資料9のTable 2, p6)。

10

50%開花期までの日数に関しては、ジャクソン郡とポージー郡のほ場で統計学的有意差が認められた。ジャクソン郡においては、本組換えダイズでは217.3日に対し対照の非組換えダイズでは218.7日であった。ポージー郡においては、本組換えダイズでは213.7日に対し対照の非組換えダイズでは217.3日であった。これらの値はジャクソン郡及びポージー郡のほ場でそれぞれ参考として供試された従来商業品種の平均値の範囲(ジャクソン郡: 217.7~219.7日、ポージー郡: 214.3~217.3日)を外れていた(別添資料9のTable 2, p6)。倒伏性についてはジャクソン郡のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは0.0に対し対照の非組換えダイズでは1.0であり、ジャクソン郡での従来商業品種の平均値の範囲(0.3~0.7)を外れていた(別添資料9のTable 2, p6)。

15

20

#### 25 b 生育初期における低温又は高温耐性

生育初期における低温耐性試験は、播種後19日目の本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ A5547 及び従来商業品種6品種の幼苗を日中15°C/夜間8°Cに設定した人工気象室で20日間栽培したのち、草勢、主茎長、生育ステージ、生体重及び乾燥重について比較した。その結果、いずれの項目についても本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間で統計学的有意差は認められなかった(別添資料10のTable 4, p21)。

30

#### 35 c 成体の越冬性又は越夏性

ダイズは夏型一年生植物である。栽培終期において成熟した後には枯死し、再成長して栄養繁殖したり、種子を生産することはない。また、米国でのほ場試験の収穫期に、本組換えダイズと対照の非組換えダイズが枯死していること

が確認されている。なお、隔離ほ場試験の試験終了時に本組換えダイズの冬季における生育を観察する予定である。

5 d 花粉の稔性及びサイズ

米国のほ場で栽培された本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ A5547 及び従来商業品種 4 品種から花粉を採取し、その稔性とサイズを調査した結果、統計学的有意差は認められなかった (別添資料 11 の Table 2, p16、Figure 1, p17)。

10

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

第一の2-(6)-②-a (p26) に上述したとおり、収量に関しては、ポージー郡のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは2.0t/ha、対照の非組換えダイズでは2.3t/haであったが、ポージー郡で参考として供試された従来商業品種の変動の範囲内 (収量: 1.8~2.2t/ha) であった。裂莢性について本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間で差異は認められなかった。

15

20°C16 時間と 30°C8 時間の条件下における種子の発芽率について、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ A5547 及び従来商業品種 4 品種より収穫した種子を 4 反復各約 100 粒ずつ温室にて播種し、休眠性と発芽率の調査を行った。発芽種子については正常発芽率と異常発芽率に分けて測定し、非発芽種子については硬実種子率、枯死種子率及び吸水膨潤状態 (viable firm-swollen) の種子率に分けて測定した (別添資料 12)。その結果、すべての項目において統計学的有意差は認められなかった (別添資料 12 の Table 1, p5)。

20

25

f 交雑率

わが国にはダイズと交雑可能な近縁野生種としてツルマメが生育している。本組換えダイズとツルマメとの交雑率の試験は行っていない。ダイズとツルマメとの交雑率を管理されたほ場内で調査するためには、遺伝的背景が均一なツルマメ系統を多数用意する必要がある。さらに、交雑試験では、雑草であるツルマメの発芽及び生育の均一性の確保や、ツルマメの開花期をダイズに合わせるための日長処理など、技術的に困難な作業が必要になる。よって、隔離ほ場試験においては本組換えダイズと従来ダイズの生殖特性及び交雑率を比較することにより、本組換えダイズのツルマメとの交雑性が従来ダイズのツルマメとの交雑性に比べて高まっていないかを考察する予定である。

30

35

## g 有害物質の産生性

本組換えダイズから他の植物に影響を与える物質が産生されていないことを確認するために、温室において本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ A5547 及び従来商業品種 6 品種を供試して鋤込み試験及び後作試験を行った。その結果、いずれの試験においても検定植物であるレタスの発芽株数、生育ステージ、草丈、生体重及び乾燥重に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 13 の Table 2, p20)。なお、隔離ほ場試験においても鋤込み試験、後作試験及び土壌微生物相試験を行う予定である。

### 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### (1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

#### (2) 使用等の方法

所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地

名称：日本モンサント株式会社隔離ほ場

使用期間：承認日から平成 24 年 1 月 31 日まで

##### 1. 隔離ほ場の施設

(1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。

(2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。

(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えダイズの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該ダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。

(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するための防風網を設置している。また、播種時には防鳥糸などを用いた鳥害防止策を講じる。

##### 2. 隔離ほ場での作業要領

(1) 本遺伝子組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。

(2) 本遺伝子組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当

該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。

(3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、本遺伝子組換えダイズの栽培終了後は、当該ダイズ及び比較対照のダイズを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。

5 (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。

(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。

10 (6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。

(7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。

(8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。

15 なお、日本モンサント株式会社河内研究農場の隔離ほ場地図を別添資料 14 の図 2(p3)に示した。

(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

20 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。

(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

25 申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

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

30 —

(6) 国外における使用等に関する情報

35 これまで本組換えダイズについて 2002~2008 年の間に米国、アルゼンチン及びブラジルにおいて延べ 162 ヶ所のほ場試験が行われているが、非組換えダイズと比較して生物多様性影響を生ずるおそれがあるような相違は報告されていない。

なお、本組換えダイズに関しては、（以下社外秘）

## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価<sup>11</sup>

### 1 競合における優位性

5

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズがこれまで北米において栽培ほ場の外で発見されたという報告はない  
(文献1)。わが国においても、ダイズは縄文時代には既に栽培されており、イネ・  
10 ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでダイズがわが国の自然条件下  
で雑草化した例は報告されていない。

米国の3カ所のほ場（インディペンデンス郡、ジャクソン郡、ポージー郡）に  
15 おいて、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの競合における優位性に関わ  
る諸形質（形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、花粉の稔性及びサ  
イズ、種子の生産量、裂莢性、休眠性及び発芽率（第一の2-(6)-②-a~e、p26~28）  
を比較調査した結果、初期の草勢、50%開花期までの日数、倒伏性及び収量以外  
の項目では本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に差異あるいは統計  
学的有意差は認められなかった。

20

初期の草勢に関しては、3カ所中1カ所（ポージー郡）のほ場で統計学的有意  
差が認められ、本組換えダイズでは5.0、対照の非組換えダイズでは5.7であり、  
本組換えダイズは対照の非組換えダイズより草勢がわずかに上回っていた。

25 収量に関しては、ポージー郡のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダ  
イズでは2.0t/ha、対照の非組換えダイズでは2.3t/haであった。

しかし、ポージー郡のほ場における本組換えダイズにおける初期の草勢及び収  
量については同じポージー郡のほ場で参考として供試された従来商業品種4品種  
の平均値の範囲内（初期の草勢:4.0~6.0、収量: 1.8~2.2t/ha）に収まっていたこと  
から、ポージー郡のほ場で観察された初期の草勢と収量の値は従来品種の変動の  
30 範囲内であると判断された(別添資料9のTable 2, p6)。

50%開花期までの日数に関しては、ジャクソン郡とポージー郡のほ場で統計学  
的有意差が認められた。ジャクソン郡では本組換えダイズでは217.3日に対し対  
照の非組換えダイズでは218.7日と本組換えダイズが約1日早く開花した。ポー  
35 ジー郡では本組換えダイズは213.7日に対し対照の非組換えダイズでは217.3日  
と本組換えダイズが約4日早く開花した。これらの値はジャクソン郡及びポー  
ジー郡のほ場でそれぞれ参考として供試された従来商業品種4品種の平均値の範囲

<sup>11</sup> 本項目中で、第一の2-(6)-②-a~gに記載された試験結果に係る権利及び内容の責任は日  
本モンサント株式会社に帰属する



(ジャクソン郡：217.7~219.7日、ポージー郡：214.3~217.3日)を外れていた(別添資料9のTable 2, p6)。しかし、その差は従来商業品種4品種のうち、最も早く開花したものと比較しても1日未満であり、この程度の開花期の差異によって本組換えダイズの競合における優位性が高まるとは考えにくい。

- 5 倒伏性についてはジャクソン郡のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは0.0に対し対照の非組換えダイズでは1.0であった。この値はジャクソン郡での従来商業品種4品種の平均値の範囲(0.3~0.7)を外れていた。しかし、統計学的有意差が認められたのは、3カ所のほ場のうち1カ所であり、その他の2カ所のほ場では統計学的有意差は認められなかった(別添資料9のTable 2, p6)。
- 10 また、この倒伏性の若干の差異により競合における優位性が高まるとは考えにくい。

- 本組換えダイズには改変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。しかし、植物がほ場の外で生育し、他の野生植物と競合しそれらの生育に支障を及ぼすためにはいくつかの特性(例; 休眠性、倒伏性、裂莢性、飛散性など)を合わせ持つことが必要であることが知られている(文献52; 文献53)。そのため、これまで栽培作物として品種改良されてきたダイズが、チョウ目害虫に対する抵抗性を付与されたことによる要因のみで、わが国の自然環境下で自生できるほどの競合における優位性を獲得するとは考えにくい。さらに、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、本組換えダイズがわが国の自然条件下で自生する可能性は極めて低いと結論された。
- 15
- 20

- 以上のことから、本組換えダイズを限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、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かった。
- 25

## (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

—

35

## (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上の結果から、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範

圏内では、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

5

### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズは縄文時代には既にわが国で栽培されており、イネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでにダイズにおいて有害物質の産生性は報告されて  
10

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、有害物質の産生性の有無を鋤込み試験及び後作試験（第一の2-(6)-②-g, p29）により比較検討したが、統計学的有意差は認められなかった。

15

本組換えダイズ中ではチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す改変 Cry1Ac 蛋白質が発現しているが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことが確認されている（第一の2-(1)-ロ-②, p13）。また、改変 Cry1Ac 蛋白質は、酵素活性を持たず、宿主の代謝系から独立して機能しているため、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することは無いと考えられた。  
20

本組換えダイズ中で発現する改変型を含む Cry1Ac 蛋白質はチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示すが、それ以外の昆虫種に対しては殺虫活性を持たないことが確認されている(表 2, p20)。このことから、何らかの影響を受ける可能性のある野生動植物として、わが国に生息するチョウ目昆虫が考えられた。  
25

本組換えダイズをわが国で栽培した場合、わが国に生息するチョウ目昆虫が本組換えダイズに曝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、そして③本組換えダイズから改変 *cry1Ac* 遺伝子が交雑によりツルマメへ遺伝子浸透し、チョウ目害虫抵抗性を獲得したツルマメ雑種後代を食餌する場合が考えられた。これらの経路からチョウ目昆虫が改変 Cry1Ac 蛋白質に曝露され、何らかの影響を受ける可能性は否定できないことから、文献 54 を用いて、影響を受ける可能性が否定できない絶滅危惧及び準絶滅危惧種に区分されているチョウ目昆虫の特定を行った。1) 生息域、及び 2) 幼虫の食餌植物、の 2 点から絞込みを行った結果、ツルマメが生育している場所に生息しており、マメ科の植物を食餌植物とする絶滅危惧及び準絶滅危惧種のチョウ目昆虫として、ツマグロキチョウ(*Eurema laeta betheseba*)、ヒメシロチョウ(*Leptidea amurensis*)及びミヤマシジミ(*Lycaeides*  
30  
35

*argyrognomon praeterinsularis*)の3種を特定した。また、生息域あるいは食餌植物に関する情報が不足しているため、絶滅危惧及び準絶滅危惧種のチョウ目昆虫のうち以下に挙げた19種(9亜種を含む)については影響を受ける可能性があるか否か判断ができなかった。

5 したがって、既に特定したチョウ目昆虫3種に、判断のできなかった19種(9亜種を含む)を加えた合計の22種(9亜種を含む)のチョウ目昆虫を特定した。

絶滅危惧Ⅰ類:

10

チャマダラセセリ(2亜種)	<i>Pyrgus maculatus maculates</i> <i>Pyrgus maculatus shikokuensis</i>
台湾ツバメシジミ(2亜種)	<i>Everes lacturnus kawaii</i> <i>Everes lacturnus rileyi</i>

15

クロシジミ	<i>Niphanda fusca</i>
オオルリシジミ(2亜種)	<i>Shijimiaeoides divinus barine</i> <i>Shijimiaeoides divinus asonis</i>

シルビアシジミ(亜種)	<i>Zizina otis emelina</i>
-------------	----------------------------

ウスイロヒョウモンモドキ	<i>Melitaea protomedia</i>
--------------	----------------------------

20

ヒョウモンモドキ	<i>Melitaea scotosia</i>
----------	--------------------------

カバシタムクゲエダシャク	<i>Sebastosema bubonaria</i>
--------------	------------------------------

ミツモンケンモン	<i>Cymatophoropsis trimaculata</i>
----------	------------------------------------

ノシメコヤガ	<i>Sinocharis korbae</i>
--------	--------------------------

25

絶滅危惧Ⅱ類:

ホシチャバネセセリ	<i>Aeromachus inachus inachus</i>
-----------	-----------------------------------

アカセセリ	<i>Hesperia florinda</i>
-------	--------------------------

30

準絶滅危惧類:

ベニモンマダラ(2亜種)	<i>Zygaena nippona hakodatensis</i> <i>Zygaena nippona nippona</i>
--------------	---

キマダラルリツバメ	<i>Spindasis takanonis</i>
-----------	----------------------------

35

ハマヤマトシジミ	<i>Zizeeria karsandra</i>
----------	---------------------------

## (2) 影響の具体的内容の評価

5 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発揮するが、  
LC<sub>50</sub> (半数致死濃度) から明らかなようにその活性は種によって異なることが  
分かれている(表 2, p20、表 3, p21)。また、これまでに南米のダイズ栽培におけ  
る主要チョウ目害虫 4 種、ベルベットビーンキャタピラー (ビロードマメケムシ)  
10 (*Anticarsia gemmatalis*), ソイビーンアクシルボーラー (*Epinotia aporema*), サンフ  
ラワールーパー (*Rachiplusia nu*), ソイビーンルーパー(*Pseudoplusia includes*)に  
対する本組換えダイズの抵抗性が既に確認されているが (別添資料 2)、上記の  
特定された 22 種(9 亜種を含む)の絶滅危惧及び準絶滅危惧種のチョウ目昆虫に対  
して改変 Cry1Ac 蛋白質が殺虫活性を示すかは調査されていない。

## (3) 影響の生じやすさの評価

15 (1)で特定された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  
により影響を受けるのは、そのチョウ目昆虫の幼虫が、隔離ほ場内に局所的に生  
息している場合に限られる。しかしながら、そのような可能性は極めて低く、(1)  
で特定された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 20 个体群で影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

次に(1)で特定されたチョウ目昆虫の幼虫が、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評価した。ダイズの花粉の産出量は極めて少なく、  
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  
にわが国でダイズほ場中心部における畦間のダイズ花粉飛散量を測定したところ、  
25 花粉の堆積量は最大で 1 日当たり 0.368 粒/cm<sup>2</sup>、平均値は 0.18 粒/cm<sup>2</sup>であつ  
た (文献 55)。また、一般的にダイズは自然交雑率は 1%以下であり、主に 1m 以  
内の花粉源によって起こる(文献 56; 文献 57; 文献 1; 文献 58)。よって、(1)で特  
定されたチョウ目昆虫の幼虫が本組換えダイズから飛散した花粉を食餌する可  
能性は、隔離ほ場内に限定されると考えられ、个体群で影響を受ける可能性は極  
30 めて低いと判断された。

最後に本組換えダイズから改変 *cry1Ac* 遺伝子が交雑によりツルマメへ遺伝子  
浸透し、チョウ目害虫抵抗性を獲得したツルマメ雑種後代を(1)で特定されたチョ  
ウ目昆虫の幼虫が食餌する場合について評価を行った。3 の交雑性の項目(p31)に  
35 記載したとおり、ダイズとツルマメはいずれも閉花受粉を行う自殖性植物である  
こと、一般的にダイズとツルマメの開花期は重なりにくいこと、実際にこれまで  
行われてきた交雑性試験によりダイズとツルマメは条件によっては交雑し得る  
が、その交雑率は極めて低いことが確認されている。さらに、本組換えダイズは

5 限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場での使用であるため、交雑する可能性はさらに低くなると考えられる。仮に交雑したとしてもダイズとツルマメの雑種は自然環境において競合における優位性がツルマメよりも劣っていることなどから、その雑種がわが国の自然条件に適応してツルマメ集団内で優占化する可能性は極めて低く(文献 59)、本組換えダイズ中の改変 *cryIAc* 遺伝子が、ツルマメ集団中へ浸透していく可能性も極めて低いと判断された。

10 したがって、本組換えダイズから改変 *cryIAc* 遺伝子が交雑によりツルマメへ遺伝子浸透し、チョウ目害虫抵抗性を獲得したツルマメ雑種後代をチョウ目昆虫の幼虫が食餌することにより、(1)で特定されたチョウ目昆虫が個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

15 以上のことから、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、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。

### 20 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

25 第一の 1-(3)-ニ-③ (p4~5) に記載したように、ダイズと交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのはツルマメのみである(文献 2; 文献 3; 文献 1)。したがって、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

30 ダイズとその近縁野生種であるツルマメとの間では低い確率で交雑が生じ、雑種が形成される(文献 1)。したがって、本組換えダイズに関しても、ツルマメと交雑した場合は雑種が形成されることが考えられる。また、当該雑種からツルマメへの戻し交配を経て、本組換えダイズ由来の改変 *cryIAc* 遺伝子がツルマメの集団中に検出される可能性も否定できない。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

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

しかし、ダイズとツルマメは、通常開花前に開葎して受粉が完了する上に、開花期の後半にはほとんどの花が開花することなく蕾のまま受精する閉花受精を行うため (文献 18)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。さらに、開花期については地域、品種及び播種時期に影響されるが、一般的にダイズの開花期はツルマメよりも約 1 ヶ月近く早く、それぞれの開花期間は重なりにくいことが知られている (文献 18) ため、ダイズとツルマメの間の交雑は起こりにくいと考えられる。実際、日本固有の栽培品種でありツルマメと開花期が重複する丹波黒とツルマメをそれぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調べた結果、得られた 686 個体のツルマメの後代の中にダイズとツルマメの雑種であると判断された後代が 5 個体確認されており、その交雑率は 0.73% と報告されている (文献 24)。また、組換えダイズとツルマメを隣接して栽培し、ツルマメがダイズにまきついて生育している状態で採種したツルマメ種子 32,502 粒を調査したところ、ダイズと自然交雑した交雑種子は 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の 11,860 粒の中から見つかったと報告されている (文献 25)。よって、一般的に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可能性は極めて低いと考えられた。

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で生殖に関わる形質を比較した場合、花粉形態及び花粉稔性 (別添資料 11 の Table 2, p16、Figure 1, p17) に有意な差異は認められず、また、種子の生産性 (収量) に関しては、第二の 1-(1) (p25) に上述したとおり、本組換えダイズの値は従来品種の変動の範囲内であると判断されたことから、本組換えダイズとツルマメの交雑率は従来ダイズと同様に極めて低いと推測された。さらに、2008 年 8 月の時点で隔離ほ場の敷地内および隔離ほ場周辺 75m の範囲 (民家の敷地内を除く) でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。さらに、本組換えダイズは一定の作業要領を備えた隔離ほ場において第一種使用規程に従って使用することから、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性は通常よりもさらに低くなると考えられた。

仮に、本組換えダイズとツルマメが自然交雑した場合でも、本組換えダイズ由来の改変 *cry1Ac* 遺伝子がツルマメ集団中に遺伝子浸透していくには、F1 雑種や

その雑種後代が自然環境中で生存し、ツルマメと戻し交雑を繰り返す必要がある。

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2005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、佐賀県33地点)のうち秋田県の1地点及び佐賀県の3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11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(文献60; 文献61; 文献62)。そのうち、佐賀県の1地点で見つかった7個体の中間体は、F1雑種が自殖した雑種後代であると推察された(文献62)。

しかし、これら発見されたF1雑種及び雑種後代が同じ集団内で生存し続けるかどうか追跡調査を行ったところ、7個体の雑種後代が見つかった佐賀県の1地点で、翌年に1個体の雑種後代を発見したものの、翌々年は確認されなかった(文献63; 文献64)。

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、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(文献65)。同様に文献66も「ダイズにおいて、作物から野生種への遺伝子浸透に関する分子学的事実はない」と述べている。

このようにダイズとツルマメの雑種の生存が制限される理由として、雑種自体の競合性の低下が考えられる。ダイズは人為的な栽培環境に適応進化しており、自然環境に適応したツルマメとは遺伝的、形態的、生理学的及び生態的特性に大きな違いがある。したがって、雑種及び雑種後代が栽培作物であるダイズの遺伝子のある割合で有することにより、自然環境に適応するのに不利になっている可能性がある。実際、文献67は、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と報告している。さらに、従来ダイズとツルマメの雑種においては、競合における優位性に関わる休眠性、倒伏性、裂莢性はツルマメに比べ低下していることが知られている(文献67; 文献68)。

これらのことから、ツルマメの生育する自然環境下では、従来ダイズとツルマメのF1雑種及びその雑種後代は、上述した生物学的な障壁などにより長期間生存できず、従来ダイズからツルマメへの遺伝子浸透が起きている可能性は極めて

低いと考えられた。

5 以上のことに加えて、わが国に生息するチョウ目昆虫の中で、ツルマメを優先して食害する種の存在は知られておらず、これまでにツルマメ集団が特定のチョウ目昆虫の食害によって抑制されたということを示すような報告はない。このことから、仮に本組換えダイズとツルマメの雑種が形成され、改変 Cry1Ac 蛋白質によってチョウ目昆虫に対する抵抗性を付与されたとしても、この形質の付与のみで雑種の競合性がツルマメより高まるとは考えにくく、本組換えダイズ由来の改変 *cry1Ac* 遺伝子が、ツルマメ集団中に遺伝子浸透していく可能性は、従来ダイズと同様に低いと考えられた。

10

15 以上をまとめると、本組換えダイズとツルマメは、それぞれの集団が隣接して生育し、かつ開花期が重なり合うような特殊な条件であっても交雑率は極めて低い。また、本組換えダイズは限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場での使用であるため、交雑する可能性はさらに低くなると考えられる。仮に交雑したとしてもその雑種がわが国の自然条件に適応していく可能性は極めて低く、本組換えダイズ由来の改変 *cry1Ac* 遺伝子が、ツルマメ集団中へ浸透していく可能性も極めて低いと判断された。したがって、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。

20

#### (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

25 以上のことと、本組換えダイズは限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内で使用されることから、本組換えダイズは交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

#### 4 その他の性質

—



### 第三 生物多様性影響の総合的評価

5 競合における優位性：ダイズは縄文時代には既にわが国で栽培されており、イ  
ネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでダイズがわが国の自然条  
件下で雑草化した例は報告されていない。本組換えダイズと対照の非組換えダイ  
ズとの間で競合における優位性に関わる諸形質（形態及び生育の特性、花粉の稔  
10 性及びサイズ、種子の発芽率、休眠性）を比較検討した結果、初期の草勢、50%  
開花期までの日数、倒伏性及び収量について統計学的有意差が認められた。その  
他の項目では有意な差異は認められなかった。結果、初期の草勢および収量につ  
いては、3カ所中1カ所のほ場で統計学的有意差が認められたものの、このほ場  
15 で参考として供試された従来商業品種4品種の平均値の範囲内に収まっていた。  
また、50%開花期までの日数については、3カ所中2カ所のほ場で統計学的有意  
差が認められ、それぞれのほ場で参考として供試された従来商業品種4品種の平  
均値を外れていた。しかし、その差は従来商業品種4品種のうち、最も早く開花  
20 したものと比較しても1日未満であった。倒伏性については、3カ所中1カ所の  
ほ場で統計学的有意差が認められ、さらにこのほ場で参考として供試された従来  
商業品種4品種の平均値の範囲内を外れていた。しかし、差異はわずかであり、  
その他の2カ所のほ場では統計学的有意差が認められなかった。よってこれらの  
統計学的有意差が競合における優位性を高めるものではないと判断された。

本組換えダイズには、改変Cry1Ac蛋白質の発現によるチョウ目害虫抵抗性の  
形質が付与されているが、チョウ目害虫による食害は、ダイズがわが国の自然条  
件下において生育することを困難にさせる主な要因ではないことから、この形質  
25 の付与が栽培作物であるダイズを自然条件下で自生させ、さらに競合における優  
位性を高めるとは考えにくい。

したがって、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔  
離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内  
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  
30 断された。

有害物質の産生性：ダイズに関して、これまでに有害物質の産生性は報告され  
ていない。米国の温室で行われた鋤込み試験及び後作試験から、本組換えダイズ  
から有害物質が産生されていないと判断された。

35 本組換えダイズ中ではチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す改変Cry1Ac蛋白質  
が発現しているが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないこ  
とが確認されている。また、改変Cry1Ac蛋白質は、酵素活性を持たず、宿主の  
代謝系から独立して機能しているため、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生

することはないと考えられた。

さらに、わが国に生息する絶滅危惧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、そして③本組換えダイズから改変 *cry1Ac* 遺伝子が交雑によりツルマメへ遺伝子浸透し、チョウ目害虫抵抗性を獲得したツルマメ雑種後代を食餌する場合、に受ける影響を考察した。その結果、絶滅危惧及び準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫が隔離ほ場内に局所的に生息している可能性は極めて低いこと、ダイズの花粉の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いこと、そしてダイズとツルマメの交雑率は開花期や開花特性の違いから極めて低く、仮に交雑したとしてもダイズとツルマメの雑種は自然環境において競合における優位性がツルマメよりも劣っていることなどから、その雑種がわが国の自然条件に適応してツルマメ集団内で優占化する可能性は極めて低く、本組換えダイズ中の改変 *cry1Ac* 遺伝子がツルマメ集団中へ浸透していく可能性は極めて低いと判断された。よって、特定された絶滅危惧及び準絶滅危惧種に指定されているチョウ目昆虫やその他のわが国に生息するチョウ目昆虫が個体群で影響を受ける可能性は極めて低いと判断された。

したがって、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、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。

交雑性：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。従来の知見より、ダイズとツルマメの開花期は重なりにくく、その交雑率も低い。また、本組換えダイズの種子の生産量(収量)、花粉形態及び花粉稔性など生殖に関わる形質の調査結果から、本組換えダイズの交雑性は従来ダイズと同様に極めて低いと推測された。さらに、仮に本組換えダイズとツルマメが交雑した場合であっても、本組換えダイズとツルマメの雑種がわが国の自然条件に適応していく可能性は極めて低く、本組換えダイズ由来の改変 *cry1Ac* 遺伝子が、ツルマメ集団中へ浸透していく可能性も極めて低いと判断された。

以上のことから、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為により、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

よって、総合的評価として、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、わが国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと結論された。

## 参考文献

### 5 【社外秘につき非開示】

## 緊急措置計画書

平成 20 年 12 月 1 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チョウ目害虫抵抗性ダイズ(改変 *cryIAc*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87701, OECD UI: MON-87701-2) (以下「本組換え体」という。)の法的に認められた範囲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は以下に示すとおりである。

平成 20 年 12 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 河内研究農場 農場長
	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
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

20 \* : 管理責任者

## 2 第一種使用等の状況の把握の方法

5 第一種使用等の状況は、日本モンサント河内研究農場実験従事者から得られた情報により把握する。

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  
10 容を周知するための方法

実験従事者に直接口頭で伝える。

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

20 具体的措置として、本組換え体を隔離ほ場内で鋤き込むか焼却するなどして隔離ほ場外への本組換え体の放出が行われないようにすること、隔離ほ場周辺をモニタリングすることにより本組換え体が隔離ほ場外へ放出されていないことを確認すること等、必要な措置を実行する。

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

25 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及び環境省に報告する。

モニタリング計画書

平成 20 年 12 月 1 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

1. 実施体制及び責任者

現時点での実施体制及び責任者は以下に示すとおりである。

平成 20 年 12 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 河内研究農場 農場長
	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
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

15

\* : 管理責任者

2. モニタリングの対象となる野生動植物等の種類の名称

名称 ツルマメ(*Glycine soja*)

20

3. 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

隔離ほ場周辺 10m<sup>注)</sup>の範囲内においてモニタリングを実施する。

なお、2008年8月の時点で隔離ほ場周辺75mの範囲（民家の敷地内を除く）でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。

注)農林水産省 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、平成20年7月31日改正)

#### 4. モニタリングの期間

本組換えダイズの栽培期間中とする。

#### 5. 実施時期、頻度その他のモニタリングの方法

1) 本組換えダイズの栽培期間中に、隔離ほ場周辺10m以内にツルマメが生育しているかどうかを確認する。

2) 隔離ほ場周辺10m以内にツルマメが生育しており秋に種子をつけていた場合には、位置情報を記録するとともに、秋にツルマメ1集団当たり最低50粒の種子をサンプリングする。

3) 1)により、ツルマメの生育が認められない場合には、隔離ほ場から75mの範囲内で調査可能な範囲において最もほ場に近いツルマメの集団について、2)と同様の作業を行う。なお、隔離ほ場75m以内の土地は水田・畑・道路・用水路・民家等として利用されている。隔離ほ場周辺の地図を別添1として添付した。2008年8月の時点で隔離ほ場周辺75mの範囲（民家の敷地内を除く）でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。

収集されたツルマメ種子に改変 *cry1Ac* 遺伝子が移行しているかどうかを1粒ごとに検定する。検定方法は収集されたサンプルの量等を考慮して適宜決定する。

#### 6. モニタリングの結果の解析の方法

交雑検定の結果を基に、ダイズからツルマメへの距離に依存した自然交雑の有無・頻度を解析する。

#### 7. 農林水産大臣及び環境大臣への結果の報告の方法

本組換えダイズの第一種使用規程(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)の申請時の最終試験報告書中にモニタリング結果を記載し、報告する。なお、申請（以下社外秘）。

8. その他必要な事項

5

モニタリングの期間中に採取されたツルマメから改変 *cry1Ac* 遺伝子が検出される等、当該遺伝子のツルマメへの移行が認められ、若しくはその疑いがある場合にあっては、農林水産省及び環境省とモニタリングの期間等について協議を行うものとする。

10 \*別添 1 については個人情報等を含む為、社外秘