

除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 *aad-12, 2mepsps, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (DAS44406, OECD UI : DAS-44406-6) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性影響評価書.....	3
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	3
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	3
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	3
(2) 使用等の歴史及び現状.....	3
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	4
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	7
(1) 供与核酸に関する情報.....	7
(2) ベクターに関する情報.....	11
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	11
(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.....	13
(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.....	14
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	14
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	17
(1) 使用等の内容.....	17
(2) 使用等の方法.....	17
(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.....	18
(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.....	18
(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.....	18
(6) 国外における使用等に関する情報.....	18
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	19
1 競合における優位性.....	19
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	19
(2) 影響の具体的内容の評価.....	19
(3) 影響の生じやすさの評価.....	19
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	19
2 有害物質の産生性.....	20
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	20
(2) 影響の具体的内容の評価.....	20
(3) 影響の生じやすさの評価.....	20
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	20
3 交雑性.....	21
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	21

(2) 影響の具体的内容の評価.....	21
(3) 影響の生じやすさの評価.....	21
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	23
4 その他の性質	23
第三 生物多様性影響の総合的評価.....	24
参 考 文 献	26
緊急措置計画書	30
モニタリング計画書	32

第一種使用規程承認申請書

平成23年2月7日

農林水産大臣 鹿野 道彦 殿

環境大臣 松本 龍 殿

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
申請者 代表取締役 フィリップ・ファイル 印
住所 東京都品川区東品川2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	除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 <i>aad-12</i> , <i>2mepsps</i> , <i>pat</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (DAS44406, OECD UI : DAS-44406-6)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	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
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	所在地：福岡県小郡市山隈 821 名称：ダウ・ケミカル日本株式会社小郡開発センター 隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 25 年 3 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。

	<p>(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。</p> <p>(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するために防風網を設置している。また、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網を設置する。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(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。</p> <p>(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。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、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。</p> <p>(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。</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)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実施計画書に基づき、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 和名、英名及び学名

和名：ダイズ

英名：Soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

10 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。

国内及び国外の自然環境における自生地域

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。

15 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)。

(2) 使用等の歴史及び現状

国内及び国外における第一種使用等の歴史

20 ダイズは中国では約 5,000 年前から栽培されており、野生種であるツルマメが、中国大陸の東北部、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、1,300 年前にはすでに各地で栽培されていたという (作物学概論、2008)。

25 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

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、九州で栽培されている。世界的には米国、ブラジル、アルゼンチン、中国等を中心に、広い範囲で栽培されている。

30 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 3~5cm がよく、播種量は畝間 70cm、株間 20cm 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、不定根発生の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。病害虫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。ピーンハーベスタ、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(作物学概論、2008)。

ダイズの2009年における世界総生産量は2億2,227万トンであり、主な生産国は米国(9,142万トン)、ブラジル(5,696万トン)、アルゼンチン(3,099万トン)、中国(1,450万トン)である。一方、日本における2009年の生産量は23万トンである(FAOSTAT、2010)。我が国は約339万トンのダイズを輸入しており、その輸入量の71.2%にあたる約241万トンが米国からの輸入である(財務省貿易統計、2009)。

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、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。おもな加工利用法は、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(作物学概論、2008)。

(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。ダイズの品種は早晩性により、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()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、アメリカでは播種から成熟までの全生育期間の長短によって00、0、 の12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。花は主茎、分枝の各葉腋に着生し、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。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 ~ 6cm)に達する。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(作物学概論、2008)。

5 □ 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)。ダイズに適する土壌は、pH5.5 ~ 6.5、リン酸、カリウム及びカルシウムが十分含まれ、排水及び通気のよ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 カ月後までの間は最も水分を必要とする(作物学概論、2008)。

八 捕食性又は寄生性

15 ニ 繁殖又は増殖の様式

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、背軸面で裂開して種子が飛散する。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(農学大辞典、1977)。

栄養繁殖の様式並びに自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性

25 ダイズは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。

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

30 ダイズは自家受粉率が高い自殖性植物であり、自然交雑率は通常 1%未満である。自家不和合性は知られていない。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(新版日本原色雑草図鑑、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)。

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をそれぞれ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(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、交雑個体は1個体であった(Mizuguti *et al.*、2009)。2007年に、より開花期の遅い組換えダイズ2品種(AG6702RR及びAG5905RR)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AG6702RRでは25個体(交雑率0.097%)、AG5905RRでは10個体(交雑率0.039%)であった。さらに、組換えダイズから2、4、6、8、10m離してツルマメを栽培した場合は(それぞれ7,521個体中、7,485個体中、14,952個体中、14,964個体中、21,749個体中)、組換えダイズ(AG6702RR)から2、4、6mの距離で交雑個体はそれぞれ1個体であり、8、10mの距離では交雑個体は得られなかった(Mizuguti *et al.*、2010)。

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。

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花あ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0.7mで0.19%であり(2001年)、10.5m離れると交雑率は0%であった。さらに、開花期間中に畝間に飛散した花粉量は、平均0.18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。また、訪花昆虫の種類は、主にアザミウマ類、半翅目の昆虫が観察されたと報告されている(Yoshimura *et al.*、2006)。

ホ 病原性

ヘ 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。

ト その他の情報

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

- 5 除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 *aad-12*, *2mepsps*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.)(DAS44406, OECD UI : DAS-44406-6)(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.7)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

名 前	機 能
<i>RB7 MAR</i>	タバコ (<i>Nicotiana tabaccum</i>) 由来の核マトリックス結合領域 (Allen <i>et al.</i> , 1996)。遺伝子の発現を安定させる。
<i>2mepsps</i> カセット	
<i>histone H4A748 3' UTR</i>	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) 由来のヒストン H4A748 遺伝子の転写終結点とポリアデニル化部位からなる 3' 非翻訳領域 (Chaboute <i>et al.</i> , 1987)。遺伝子の転写を終結する。
<i>2mepsps</i>	トウモロコシ (<i>Zea mays</i>) 由来の 5-エノールピルビルシキミ 酸-3-リン酸合成酵素遺伝子 (<i>epsps</i> 遺伝子) に 2 箇所の点突然変異を起こした遺伝子で、2 変異 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (2mEPSPS 蛋白質) を発現する。アミノ酸配列に関しては、102 番目のトレオニンがイソロイシンに、106 番目のプロリンがセリンにそれぞれ変化している (Lebrun <i>et al.</i> , 1996 ; Lebrun <i>et al.</i> , 2003)。
<i>TPotp C</i>	トウモロコシ及びヒマワリ (<i>Helianthus annuus</i>) のリプロー ス-ビスリン酸カルボキシラーゼ (RuBisCO) 由来の葉緑体輸送ペプチドの翻訳領域を基に作製された。細胞質において合成された 2mEPSPS 蛋白質の葉緑体への輸送のため、 <i>2mepsps</i> 遺伝子に連結されている (Lebrun <i>et al.</i> , 1996 ; Lebrun <i>et al.</i> , 2003)。
<i>histone H4A748 promoter</i>	シロイヌナズナ由来のプロモーター。ヒストン H4A748 遺伝子の 5' 非翻訳領域及びヒストン H3 遺伝子のイントロン部位を含む (Chaboute <i>et al.</i> , 1987)。遺伝子を植物体全体で発現させる。

10 (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)

表 1 供与核酸の構成、構成要素の由来及び機能(続き)

名 前	機 能
改変 <i>aad-12</i> カセット	
<i>AtUbi10 promoter</i>	シロイヌナズナ由来のポリコピキチン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>aad-12</i>	グラム陰性桿菌である <i>Delftia acidovorans</i> 由来のアリルオキシアルカノエート・デオキシゲナ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、改変 AAD-12 蛋白質を発現させる。アミノ酸配列に関しては、クローニングサイト導入のため、2 番目にアラニンが追加されている(Wright <i>et al.</i> 、2007)。
<i>AtuORF23 3' UTR</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> (アグロバクテリウム)のプラスミド pTi5955 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' 非翻訳領域(Barker <i>et al.</i> 、1983)。遺伝子の転写を終結する。
<i>pat</i> カセット	
<i>CsVMV promoter</i>	<i>Cassava vein mosaic virus</i> (キャッサバベインモザイクウィルス)由来のプロモーター。5' 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>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のフォスフィノスリシン・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。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>	<i>A. tumefaciens</i> 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' 非翻訳領域(Barker <i>et al.</i> 、1983)。遺伝子の転写を終結する。

(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)

□ 構成要素の機能

- 5 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

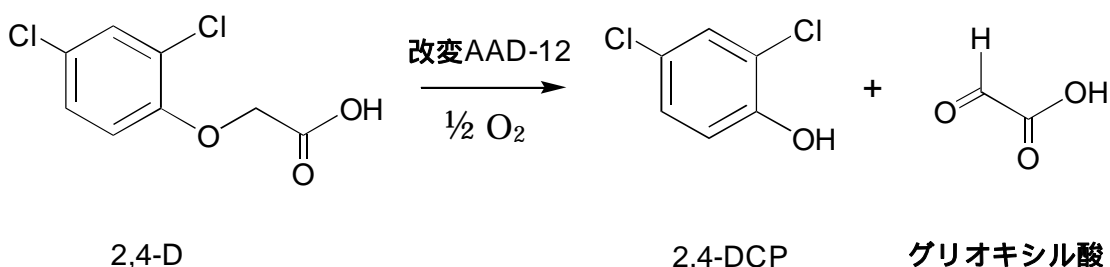
挿入遺伝子の各要素の機能を表 1(p.7)に示した。

- 10 供与核酸には、核マトリックス結合領域である *RB7 MAR* 遺伝子が含まれる。核マトリックス結合領域はゲノム DNA 配列に頻繁に見られる領域で、DNA のループ構造形成のために、核マトリックスに DNA を固定する役割をしていると考えられている。核マトリックス結合領域が導入遺伝子のいずれかの側に隣接していると、導入遺伝子の発現を高めることや、遺伝子の発現を抑制するジーンサイレンシングを減少させることが報告されている(Allen *et al.*、2000 ; Halweg *et al.*、2005)

目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

5 アリルオキシアルカノエート・ディオキシゲナーゼ(AryloxyAlkanoate Dioxygenase。以下「**改変 AAD-12 蛋白質**」という。)は、アリルオキシアルカノエート基をもつ化合物のうち、光学異性体のないもの及び光学異性体である S 体に特異的に酸素を導入する反応を触媒する酵素である。また、本組換えダイズにおいては、**改変 AAD-12 蛋白質**がアリルオキシアルカノエート系除草剤に酸素を導入する反応を触媒することにより、除草活性のない化合物に変換し、除草剤耐性を示す(Wright *et al.*, 2007)。例えば、**改変 AAD-12 蛋白質**は除草剤 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸(2,4-D)に酸素を導入する反応を触媒し、除草活性のない 2,4-ジクロロフェノール(2,4-DCP)とグリオキシル酸に変換する(図 1、p.9)。なお、AAD-12 蛋白質の基質となる除草剤を添付資料 1 に示した。

15 **改変 AAD-12 蛋白質**が既知アレルギーと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルギーデータベース(FARRP Allergen Database version 10)を用いて比較したところ、既知アレルギーと構造的に類似する配列を共有していなかった。



20 図 1 **改変 AAD-12 蛋白質**の作用機作

(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)

25 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase。以下、「**EPSPS 蛋白質**」。)は、植物及び微生物において、芳香族アミノ酸、ビタミン、および多くの二次代謝産物の生合成に関与している。植物において、EPSPS 蛋白質は色素体内に局在しており、ホスホエノールピルビン酸と 3-ホスホシキミ酸を縮合して 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸を生成させる。この反応は芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路における反応の 1 つであり、ホスホエノールピルビン酸に

30 対する EPSPS 蛋白質の可逆的競合阻害剤である除草剤グリホサートにより阻害されることがよく知られている。すなわち、グリホサート散布された植物は芳香族アミノ酸の生合成が阻害され、結果としてタンパク質合成が妨げられるために枯死する。なお、この酵素は、その基質であるホスホエノールピルビン酸及び 3-ホスホシキミ酸に対して高い特異性がある(OECD、1999a)。

35 本組換えダイズには、トウモロコシ(*Zea mays*)の EPSPS 蛋白質をコードする *epsps*

遺伝子に 2 ヶ所の点突然変異を引き起こした *2mepsps* 遺伝子が導入されている。*2mepsps* 遺伝子が産生する 2mEPSPS 蛋白質のアミノ酸配列は、野生型の EPSPS 蛋白質のアミノ酸の 102 番目のトレオニンがイソロイシンに、また 106 番目のプロリンがセリンにそれぞれ変化している。これにより、2mEPSPS 蛋白質はグリホサートに対して非感受性となり、グリホサートによる競合阻害を受けずシキミ酸合成が機能するため、グリホサートの存在下でも生育することができる (Lebrun *et al.*, 2003)。

2mEPSPS 蛋白質が既知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をアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 10) 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共有していなかった。

PAT 蛋白質は、除草剤であるグルホシネートをアセチル化し、無毒のアセチルグルホシネートに変換する。このことにより除草剤耐性を示す。PAT 蛋白質が既知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をアレルゲン・データベース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共有していなかった (OECD, 1999b)。

宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

改変 AAD-12 蛋白質は、アリルオキシアルカノエート基をもつ化合物のうち、光学異性体のないもの及び光学異性体である S 体に特異的に酸素を導入する反応を触媒する酵素である。植物体中にはアリルオキシアルカノエート基をもつ化合物の存在は知られていないことから、改変 AAD-12 蛋白質は、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。

EPSPS 蛋白質はホスホエノールピルビン酸及びシキミ酸-3-リン酸と特異的に反応する酵素で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路における律速酵素ではないと示唆されており (Weiss and Edwards, 1980 ; Herrmann, 1983)、通常の 40 倍の EPSPS 蛋白質を生成する植物培養細胞においても、最終生成物の芳香族アミノ酸が過剰に生成されていないことが報告されている (Smart *et al.*, 1985)。また、これらの基質以外にシキミ酸が EPSPS 蛋白質と反応することが知られているが、その反応性はシキミ酸-3-リン酸との反応性の 200 万分の 1 であり、生体内で基質として反応するとは考えられない (Gruys *et al.*, 1992)。

一方、2mEPSPS 蛋白質と同じ 2 ヶ所の変異を有する *Escherichia coli* (大腸菌) の EPSPS 蛋白質では、野生型の EPSPS 蛋白質と同様にホスホエノールピルビン酸と 3-ホスホシキミ酸に対して高い親和性を示したことが報告されている (Funke *et al.*, 2009)。また、2mEPSPS 蛋白質は、除草剤グリホサートに非感受性である以外は、構造的にも機能的にも EPSPS 蛋白質と類似しており、同一の作用機作を持つ (Herouet-Guicheney *et al.*, 2009)。したがって、2mEPSPS 蛋白質は EPSPS 蛋白質と同様に基質特異性が高く、他の代謝系を変化させることはないと考えられる。

PAT 蛋白質はきわめて特異的にグルホシネートをアセチル化する酵素であり (OECD, 1999b)、植物中において基質となる蛋白質はグルホシネートのみである。したがって、PAT 蛋白質が他の代謝系に関与することはないと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

5 導入した pDAB8264 の基となったベクター pDAB2407 は *A. tumefaciens* と *E. coli* に由来する。

ロ 特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

10 発現ベクター pDAB8264 の塩基数は 16,018bp である。pDAB8264 の塩基配列は添付資料 2 に示した。

特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

15 *specR* 遺伝子の発現によりスペクチノマイシン耐性を付与し、発現ベクター pDAB8264 の選択に用いられるが、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法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 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

20 発現ベクター pDAB8264 の基となったベクターの T-DNA 領域は、表 1(p.7)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

25 イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

発現ベクター pDAB8264 の構成図を図 2(p.12)に示した。また、発現ベクター pDAB8264 の作成過程を添付資料 4 に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

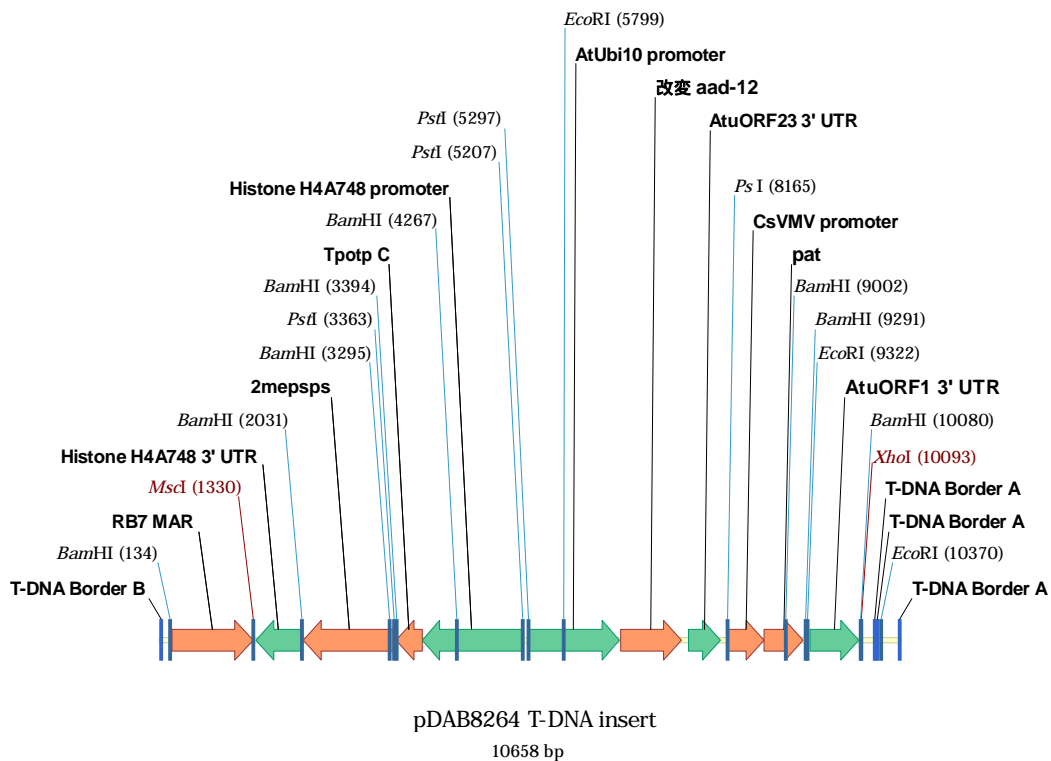
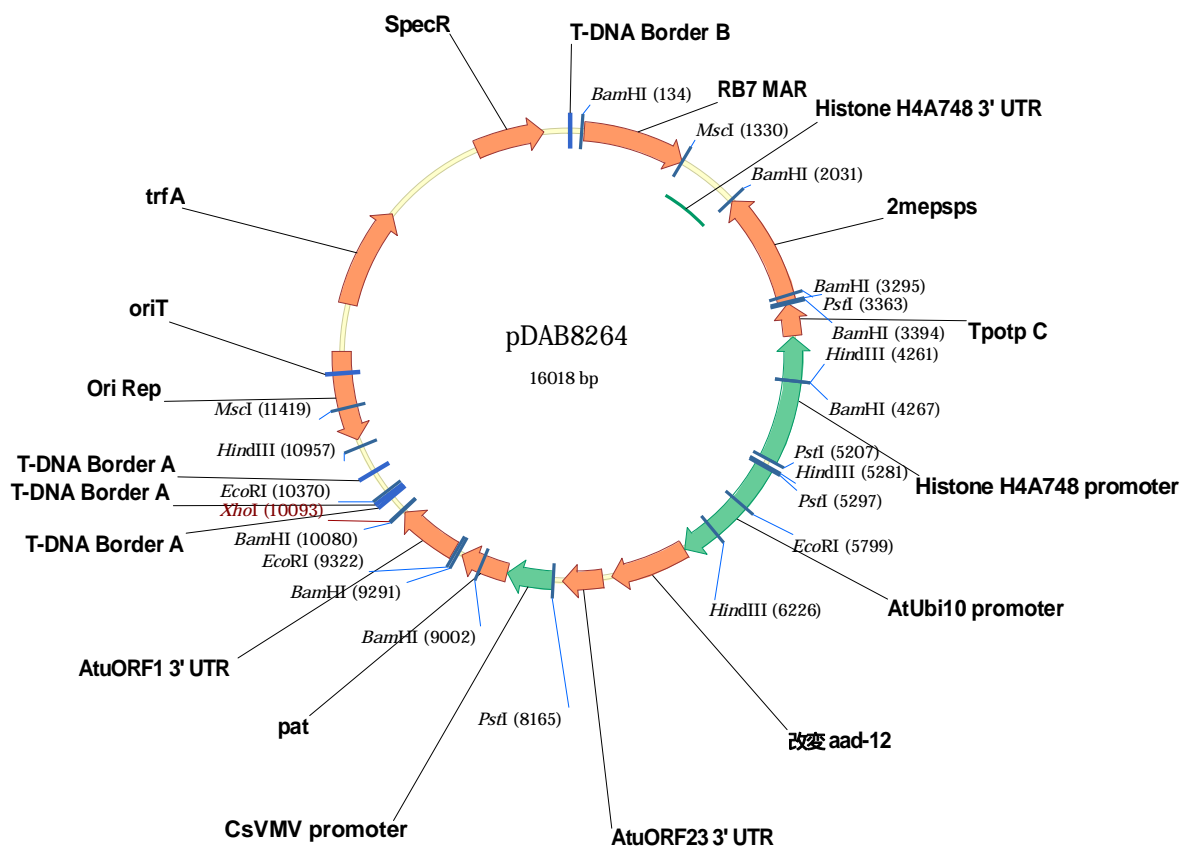
30 核酸の宿主への導入はアグロバクテリウム法により行った。

八 遺伝子組換え生物等の育成の経過

核酸が移入された細胞の選択の方法

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。

35



5 図2 発現ベクターpDAB8264の構成図(制限酵素切断部位)及びT-DNA領域の挿入概要図
(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)

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

抗生物質を添加することにより、アグロバクテリウムを殺菌後、抗生物質を含まない再生培地に移して培養することによりアグロバクテリウム菌体が残存していないことを確認した。

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

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及びサザンプロット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T3以降の後代系統である。

詳細を図3(p.13)に示す。

社外秘情報につき非開示

図3 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

移入した核酸の複製物が存在する場所

移入した核酸は、いったん植物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、戻し交配 F2 世代(BC1F2、図 3、p.13) の集団でどのような分離を示すかを分析した。T2 世代のダイズに非組換えダイズを交配して得られた F1 世代に、非組換えダイズを戻し交配後、自殖により得られた BC1F2 世代(3 集団)における除草剤 2,4-D 及びグリホサート耐性の有無を調べた。その結果、核内遺伝子におけるメンデル遺伝の法則から予想される分離比と試験結果がほぼ一致したことにより、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.13)。

表 2 本組換えダイズの BC1F2 世代の形質分離

社外秘情報につき非開示

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

移入された核酸のコピー数を確認するため T3 世代、T4 世代及び F2 世代におけるサザンプ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 *aad-12* カセット、

2mepsps カセット及び pat カセット及び RB7 MAR 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 3)。

5 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
染色体上に複数コピーは存在しない。

(6)の 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

10 本組換えダイズの T3 世代から T5 世代において、葉における改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現量を ELISA 法により調べた。その結果、複数世代において改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 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、p.14)。

15

表 3 本組換えダイズ T3 世代から T5 世代での葉における改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現量(ng/cm²)¹⁾

社外秘情報につき非開示

20 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
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遺伝子が伝達されることはない。

25 (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

本組換えダイズ内に改変 AAD-12 蛋白質または 2mEPSPS 蛋白質が存在することを、ELISA 法を使用して確認する方法が確立されている(添付資料 5 及び 6)。

また、PAT 蛋白質の検出用キットは、EnviroLogix 社(米国メイン州、ポートランド)によって販売されており(カタログ番号：AP014)、定量限界(LOQ)は 0.6ng/mg である。

30 なお、本組換えダイズを特異的に検出できる識別方法に関しては現在開発中であり、一般申請時に提出する予定である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

35 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 *aad-12* 遺伝子、*2mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が導入されており、それによって改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質が発現す

ることにより、アリルオキシアルカノエート系除草剤、除草剤グリホサート及び除草剤グルホシネートに対する耐性が付与されている。

2010年に米国の4ヵ所のほ場(インディアナ州、アイオワ州、ミズーリ州、ミシシッピ州)にて、本組換えダイズ T4 世代における除草剤 2,4-D、グリホサート及びグルホシネート耐性試験を行った。本組換えダイズに除草剤 2,4-D、グリホサートもしくはグルホシネートを散布し、28日後に傷害度を0(健全)~100(枯死)で目視評価した結果、本組換えダイズはいずれのほ場においても十分な除草剤耐性を示した(表4、p.15)。

10 表4 本組換えダイズの除草剤耐性試験結果

社外秘情報につき非開示

生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度

15 本組換えダイズの宿主は非組換えダイズ Maverick であり、導入遺伝子は改変 *aad-12* 遺伝子、*2mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子である。

宿主である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。しかしながら、2010年に数回に渡り行った隔離ほ場内及び隔離ほ場周辺 50m の範囲(民家の敷地内を除く)におけるツルマメの調査では、ツルマメの生育は確認されなかった。

本組換えダイズに導入された改変 *aad-12* 遺伝子により発現する改変 AAD-12 蛋白質は、アリルオキシアルカノエート基をもつ化合物のうち、光学異性体のないもの及び光学異性体である S 体に特異的に酸素を導入する反応を触媒する酵素である。植物体中にはアリルオキシアルカノエート基をもつ化合物の存在は知られていないことから、改変 AAD-12 蛋白質は、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。なお、改変 AAD-12 蛋白質と同様の作用機作を示す遺伝子組換え作物についてカルタヘナ法に基づき第一種使用規程が承認された系統は現在までにダイズ 2 系統があり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場合、生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断されている。

25 *2mepsps* 遺伝子により発現する 2mEPSPS 蛋白質は、除草剤グリホサートに非感受性である以外は、構造的にも機能的にも EPSPS 蛋白質と類似しており、同一の作用機作を持つ(Herouet-Guicheney *et al.*, 2009)。また、2mEPSPS と同じ 2 ヵ所の変異を有する *E. coli* の EPSPS 蛋白質において、ホスホエノールピルビン酸と 3-ホスホシキミ酸に対して高い親和性を示したことが報告されている(Funke *et al.*, 2009)。したがって、2mEPSPS 蛋白質は EPSPS 蛋白質と同様に基質特異性が高く、他の代謝系を変化させることはないと考えられる。なお、2mEPSPS 蛋白質と同様の作用機作を示す蛋白質(2mEPSPS 蛋白質, mEPSPS 蛋白質, CP4 EPSPS 蛋白質, 改変 CP4 EPSPS 蛋白質)を発現する遺伝子組換え作物についてカルタヘナ法に基づき第一種使用規程が承認された系統(スタック系統

は除く)は現在までに7作物15系統(ダイズでは3系統)があり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場合、生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断されている。

5 *pat* 遺伝子により発現する PAT 蛋白質は、きわめて特異的にグルホシネートをアセチル化する酵素であり(OECD、1999b)、植物中において基質となる蛋白質はグルホシネートのみである。したがって、PAT 蛋白質が他の代謝系を変化させることはないと考えられる。なお、PAT 蛋白質と同様の作用機作を示す蛋白質(PAT 蛋白質、改変 PAT 蛋白質)を発現する遺伝子組換え作物についてカルタヘナ法に基づき第一種使用規程が承認された系統(10 スタック系統は除く)は現在までに4作物20系統(ダイズでは4系統)があり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場合、生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断されている。

また、上記のとおり、本組換えダイズの導入遺伝子である改変 *aad-12* 遺伝子、*2mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子によりそれぞれ発現する改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 15 蛋白質及び PAT 蛋白質はいずれも基質特異性が高く、宿主の他の代謝系を変化させたり、それぞれの発現蛋白質が相互作用を示し、宿主の代謝経路に新たな影響を及ぼすことはないと考えられる。また、これまでの知見からも、これらの導入遺伝子による影響が、意図した形質以外に宿主であるダイズの種の範囲を越えるような生理学的又は生態学的特性に及ぶことはないと考えられる。

20 以上より、本組換えダイズの生理・生態学的特性に関する試験結果を用いなくとも、隔離ほ場における生物多様性影響評価を行うことができると判断された。

25 なお、隔離ほ場において、形態及び生育特性(発芽率、発芽揃い、主茎長、最下着莢節位高、小葉の形、毛じの多少、伸育型、主茎節数、分枝数、裂莢の難易、一株全粒重、一株成熟粒重、稔実莢数、百粒重、子実の形、収穫期の地上部生体重、開花始期及び開花終期、成熟期)、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及び形状、種子の莢裂性及び休眠性、有害物質の産生性(後作試験、鋤込み試験、土壌微生物相試験)、交雑性に関する調査を行う予定である。

30

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

5 (2) 使用等の方法

所在地：福岡県小郡市山隈 821

名称：ダウ・ケミカル日本株式会社 小郡開発センター 隔離ほ場

使用期間：承認日から平成 25 年 3 月 31 日まで

10 隔離ほ場の施設

部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むように、フェンス(2m50cm)を設置している。

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。

15 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本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、本組換え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。

隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するために防風網を設置している。また、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網(2m50cm)を設置する。

20

隔離ほ場での作業要領

本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。

25 本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。

により運搬又は保管する場合を除き、本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。

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。

30 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。

から に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。

別に定めるモニタリング実施計画書に基づき、モニタリングを実施する。

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。

35

(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

「モニタリング計画書」を参照。

5 **(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。

10 **(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**

(6) 国外における使用等に関する情報

15 米国(2009～2010年)の延べ59カ所のほ場において試験を行ってきたが、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、2011年に、米国においては、農務省(USDA)に無規制承認申請(栽培承認)を、連邦食品医薬品局(FDA)に食品及び飼料安全承認申請を行う予定である。また、カナダにおいても、保健省(Health Canada)に食品としての承認申請を、食品検査庁(CFIA)に飼料及び環境安全の承認申請を行う予定である。

20

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

第一の2の(6)に記載したとおり、本組換えダイズの宿主の特性と導入遺伝子の特性を考慮し、本組換えダイズを隔離ほ場試験で使用する場合の生物多様性影響を、生理学的又は生態学的特性のデータを用いずに評価した。

5

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

第一の2の(1)口より、本組換えダイズの導入遺伝子である改変 *aad-12* 遺伝子、*2mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子により発現する改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質はいずれも基質特異性が高く、これら導入遺伝子による影響が宿主の持つ代謝系を変化させ、競合における優位性に関わる生理学的又は生態学的特性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る。

また、本組換えダイズは、アリルオキシアルカノエート系除草剤、除草剤グリホサート及び除草剤グルホシネート耐性を持つが、これらの除草剤を散布されることが想像しにくい自然条件下においてアリルオキシアルカノエート系除草剤、除草剤グリホサート及び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。

したがって、競合における優位性について非組換えダイズとの間に大きな相違はないと考えられ、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いと判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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の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

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。

5 本組換えダイズは、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性を付与する改変AAD-12蛋白質、除草剤グリホサート耐性を付与する2mEPSPS蛋白質及び除草剤グルホシネート耐性を付与するPAT蛋白質を生産する。改変AAD-12蛋白質、2mEPSPS蛋白質及びPAT蛋白質については、いずれも有害物質としては知られておらず、改変AAD-12蛋白質、2mEPSPS蛋白質及びPAT蛋白質が他の代謝系に関与するとは考えられていない。

10 また、第一の2の(1)口より、改変AAD-12蛋白質、2mEPSPS蛋白質及びPAT蛋白質はいずれも基質特異性が高く、これら蛋白質による影響が宿主の持つ代謝系を変化させ、有害物質の産生性に関わる生理学的又は生態学的特性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る。

15 したがって、有害物質の産生性について非組換えダイズとの間に大きな相違はないと考えられ、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、有害物質の産生性に起因する影響を受ける野生動植物等は特定されないと判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

20

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

25 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の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がないと判断された。

30

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。

(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ことから、本組換えダイズとツルマメとの交雑により雑種が形成され、本組換えダイズ由来の改変 *aad-12* 遺伝子、*2mepsps* 遺伝子もしくは *pat* 遺伝子がツルマメ集団中に浸透する可能性も考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

ツルマメは、我が国において北海道、本州、四国、九州に分布し、野原や荒地などに自生している(新版日本原色雑草図鑑、1978)。したがって、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、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自殖性植物であり、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ことが知られているため(Nakayama and Yamaguchi、2002)、ダイズとツルマメの交雑は起こりにくいと考えられる。実際、比較的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の平均交雑率は、0.73%であったと報告されている(Nakayama and Yamaguchi、2002)。また、組換えダイズにツルマメが巻きついた状態で、開花期が重複した条件下では、ツルマメより採取の種子から出芽した32,502個体中、交雑個体は1個体であったと報告されている(Mizuguti *et al.*、2009)。さらに、より開花期の遅い組換えダイズ2品種(AG6702RR及びAG5905RR)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AG6702RRでは25個体(0.097%)、AG5905RRでは10個体(0.039%)であった。また、組換えダイズから2、4、6、8、10m離してツルマメを栽培した場合は(それぞれ7,521個体中、7,485個体中、14,952個体中、14,964個体中、21,749個体中)、組換えダイズ(AG6702RR)から2、4、6mの距離で交雑個体はそれぞれ1個体であり、8、10m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は極めて低いと考えられた。

また、第一の2の(1)口より、本組換えダイズの導入遺伝子である改変 *aad-12* 遺伝子、*2mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子により発現する改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 蛋

白質及び PAT 蛋白質はいずれも基質特異性が高く、これら導入遺伝子による影響が宿主の持つ代謝系を変化させ、交雑性に関わる生理学的又は生態学的特性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る。

5 さらに、2010年に数回に渡り、隔離ほ場内及び隔離ほ場周辺50mの範囲(民家の敷地内を除く)におけるツルマメの生育の有無を調査した結果、ツルマメの生育は確認されなかった。また、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されることから、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ものと考えられた。

10 仮に、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 *aad-12* 遺伝子、*2mepsps* 遺伝子もしくは *pat* 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。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については、我が国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交雑後
15 代によくみられる形態的「中間体」を広島県 8 地点、秋田県 15 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 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。しかし、2003 年に行われた調査で中間体が発見され
20 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、茨城県、高知県および佐賀県における計 39 地点における調査では、あら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 11 個体の中間体のうち、後代の生存が確認できた
25 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ことから、種子は生産されても、自生地で速やかに淘汰される可能性が推測された(黒田ら、2006)。2006 年には、2005 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、
30 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、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
35 468 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浸透により生じたことが明らかになった。しかしながら、中間体からツルマメ集団への二次的な遺伝子浸透は確認されなかった。このように、ダイズからツルマメへの遺伝子浸透が起こる可能性はあるが、我が国の自然環境中においてさら
40 なる遺伝子浸透が起こる可能性は極めて低いと考えられた(Kuroda *et al.*, 2010)。

- 以上の知見より、ダイズとツルマメの自然交雑率が低いこと、開花期が重なりにくいこと、ダイズとツルマメの雑種後代系統はツルマメ自生地で長期間生存できないと推察されることより、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こと、
- 5 さらには、第二の1の(1)において本組換えダイズの競合における優位性は高められていないと考えられることより、本組換えダイズがツルマメと交雑し、導入遺伝子がツルマメの集団中に浸透してゆく可能性は極めて低いと考えられた。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

- 10 以上のことから、本組換えダイズは、第一種使用規程に従っ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、交雑性に関して生物多様性影響を生ずるおそれがないと判断された。

4 その他の性質

15

第三 生物多様性影響の総合的評価

第一の2の(6)に記載したとおり、本組換えダイズの宿主の特性と導入遺伝子の特性を考慮し、本組換えダイズを隔離ほ場試験で使用する場合の生物多様性影響を、生理学的又は生態学的特性のデータを用いずに評価した。

5

本組換えダイズに導入された改変 *aad-12* 遺伝子、*2mepsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子により発現する改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は、いずれも基質特異性が高く、これら導入遺伝子による影響が宿主の持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とはないと考えられた。

10

また、本組換えダイズはアリルオキシアルカノエート系除草剤、除草剤グリホサート及び除草剤グルホシネート耐性を持つが、これらの除草剤を散布されることが想定しにくい自然条件下において、これらの除草剤耐性を持つことが競合における優位性を高めるとは考えられない。

15

以上のことから、非組換えダイズとの間に大きな相違はないと考えられ、第一種使用規程に従って、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生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

20

一方、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。また、改変 AAD-12 蛋白質、2mEPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は有害物質としては知られていない。

以上のことから、第一種使用規程に従って、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、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。

25

また、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。

30

しかしながら、ダイズとツルマメの自然交雑率が低いこと、開花期が重なりにくいこと、ダイズとツルマメの雑種後代系統はツルマメ自生地で長期間生存できないと推察されることより、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こと、さらには、上述のとおり本組換えダイズの競合における優位性は高められていないと考えられることより、本組換えダイズがツルマメと交雑し、導入遺伝子がツルマメの集団中に浸透してゆく可能性は極めて低いと考えられた。

35

以上のことから、第一種使用規程に従って、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、交雑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、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、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された。

参 考 文 献

1. Allen GC, Hall G Jr, Michalowski S, Newman W, Spiker S, Weissinger AK, Thompson WF (1996) High-level transgene expression in plant cells: Effects of a strong scaffold attachment region from tobacco. *Plant Cell* **8**, 889-913.
5
2. Allen GC, Spiker S, Thompson WF (2000) Use of matrix attachment regions (MARs) to minimize transgene silencing. *Plant Mol. Biol.* **43**, 361-376.
3. Barker FR, Idler BK, Thompson VD, Kemp DJ (1983) Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955".
10 *Plant Molecular Biology* **2**, 335-350.
4. Chaboute M-E, Chaubet N, Philipps G, Ehling M, Gigot C (1987) Genomic organization and nucleotide sequences of two histone H3 and two histone H4 genes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* **8**, 179-191.
5. Chiang YC, Kiang YT (1987) Geometric position of genotypes, honeybee foraging
15 patterns and outcrossing in soybean. *Bot. Bull. Academia Sinica.* **28**, 1-11
6. FAOSTAT (2010) <http://faostat.fao.org>
7. Frans R, Crowley H (1986) Experimental design and techniques for measuring and analyzing plant responses to weed control practices. *Research Methods in Weed Science (Southern Weed Science Society)*, Third Edition.
8. Fujita R, Ohara M, Shimamoto Y (1997) The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*). *Journal of Heredity*, **88**, 124-128.
20
9. Funke T, Yang Y, Han H, Healy-Fried M, Olesen S, Becker A, Scho"nbrunn E (2009) Structural basis of glyphosate resistance resulting from the double mutation Thr97 Ile and Pro101 Ser in 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase from *Escherichia coli*. *J Biol Chem* **284**(15), 9854-9860
25
10. Gruys KJ, Walker MC, Sikorski JA (1992) Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. *Biochemistry* **31**, 5534-5544.
11. Halweg C, Thompson WF Spiker, S (2005) The Rb7 matrix attachment region
30 increases the likelihood and magnitude of transgene expression in tobacco cells: A flow cytometric study. *The Plant Cell* **17**, 418-429.

12. Herouet-Guichenev C, Rouquié D, Freyssinet M, Currier T, Martone A, Zhou J, Bates E, Ferullo J-M, Hendrickx K, Rouan D (2009) Safety evaluation of the double mutant 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase (2mEPSPS) from maize that confers tolerance to glyphosate herbicide in transgenic plants. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* **54**, 143–153.
13. Herrmann KM (1983) The common aromatic biosynthetic pathway. *Amino Acids: Biosynthesis and Genetic Regulation*. (Eds. Herrman KM, Somerville RL.). 301-302. Addison-Wesley Publishing Co., Reading, Massachusetts.
14. Kuroda Y, Kaga A, Tomooka N, Vaughan D (2010) The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. *Molecular Ecology*. **19**, 2346–2360.
15. Lebrun M, Leroux B, Sailland A (1996) Chimeric gene for the transformation of plants. **US5501471** (United States Patent).
16. Lebrun M, Sailland A, Freyssinet G, Degryse E (2003) Mutated 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein and transformed plants containing said gene. **US6566587 B1** (United States Patent).
17. Mizuguti A, Yoshimura Y, Matsuo K (2009) Flowering phenologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed Biology and Management* **9**, 93-96.
18. Mizuguti A, Ohigashi K, Yoshimura Y, Kaga Akito, Kuroda Y, Matsuo K (2010) Hybridization between GM soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) and wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) under field conditions in Japan. *Environmental Biosafety Research* **9**(1), 13-23.
19. Nakayama Y, Yamaguchi H (2002) Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. *Weed Biology and Management* **2**, 25-30.
20. Norris SR, Mayer SE, Callis J (1993) The intron of *Arabidopsis thaliana* polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. *Plant Molecular Biology* **21**, 895-906.
21. OECD (1999a) Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 10, Consensus Document on General Information Concerning Thegenes and Their Enzymes that Confer Tolerance to Glyphosateherbicide.

- 22.OECD (1999b) Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.11, Consensus Document on General Information Concerning the Genes and Their Enzymes that Confer Tolerance to Phosphinothricin Herbicide.
- 5 23.OECD (2000) Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.15, Consensus Document on the Biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean).
- 24.Smart CC, Johanning D, Muller G, Amrhein N (1985) Selective overproduction of 5-enol-pyruvylshikimate acid 3-phosphate synthase in plant cell culture which tolerates high doses of the herbicide glyphosate. *J.Biol.Chem.* **260**, 16338-16346.
- 10 25.Yoshimura Y, Matsuo K, Yasuda K (2006) Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environ Biosafety Res.* **5**, 169-173.
- 26.Verdaguer B, de Kochko A, Fux CI, Beachy RN, Fauquet C (1998) Functional organization of the cassava vein mosaic virus (CsVMV) promoter. *Plant Molecular Biology* **37**, 1055-1067.
- 15 27.Weiss U, Edwards JM (1980) Regulation of the shikimate pathway. *The Biosynthesis of Aromatic Compounds*. 287-301. John Wiley and Sons. New York.
- 28.Wohlleben W, Arnold W, Broer I, Hillemann D, Strauch E, Punier A (1988) Nucleotide sequence of the phosphinothricin *N*-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* **70**(1), 25-37.
- 20 29.Wright T, Lira JM, Walsh T, Merlo DJ, Jayakumar P, Lin G (2007) Novel herbicide resistance genes. **WO 2007/053482 A2** (World Intellectual Property Organization).
- 30.加賀秋人, 友岡憲彦, Phuntsho U, 黒田洋輔, 小林伸哉, 伊勢村武久, Gilda M-J, Vaughan DA (2005) 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 秋田県および広島県における予備的調査 . 植探報 **21**, 59-71.
- 25 31.黒田洋輔, 加賀秋人, Apa A, Vaughan DA, 友岡憲彦, 矢野博, 松岡伸之 (2005) 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 . 植探報 **21**, 73-95.
- 30 32.黒田洋輔, 加賀秋人, Guaf J, Vaughan DA, 友岡憲彦 (2006) 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 . 植探訪 **22**, 1-12.

- 33.黒田 洋輔, 加賀 秋人, Poafa J, Vaughan DA, 友岡憲彦, 矢野博 (2007) 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 - . 植探報 **23**, 9 ~ 27.
- 34.財務省貿易統計 (2009) <http://www.customs.go.jp>
- 5 35.作物学概論 (2008) 大門弘幸 編著、朝倉書店
- 36.新版 日本原色雑草図鑑 (1978) 沼田真・吉沢長人 編集、全国農林教育協会
- 37.農学大辞典 (1977) 野口弥吉 監修、養賢堂

緊急措置計画書

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 フィリップ・ファイル
住所 東京都品川区東品川2丁目2番24号

第一種使用規程の承認を申請している「除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート及びグリホシネート耐性ダイズ(改変aad-12, 2mepsps, pat, *Glycine max* (L.) Merr.)(DAS44406, OECD UI : DAS-44406-6) (以下「本組換えダイズ」という。)」の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合に当該影響を効果的に防止するため、以下の措置を講ずる。

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

栽培実験責任者(表1 参照)が、本組換えダイズが生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断した場合に、生物多様性影響管理委員会(表2 参照)に報告し、同委員会は、緊急措置対応のための社内体制(広報部、業務部、登録部)及び連絡窓口を通じて栽培実験責任者とともに緊急措置を講ずる。

2. 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

栽培実験責任者が、本組換えダイズが生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断した場合は、生物多様性影響管理委員会に報告し、同委員会は、農業者団体、小都市役所及び福岡県に対して、本組換えダイズが生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断されたこと、さらに緊急措置を講ずる必要のあることを連絡する。また、ダウ・ケミカル日本株式会社のホームページにおいても、予見される影響について告知し、一般からの問い合わせに対応する専用窓口を設置する。

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

栽培実験責任者が、本組換えダイズが生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断した場合は、直ちに栽培試験を中止し、前述の管理委員会の承認のもとに本組換えダイズを鋤き込み、抜き取り、焼却等の不活化処分をする。

4. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響管理委員会が、本組換えダイズが我が国において生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断した場合は、遅滞なく農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に通知するとともに、併せて緊急措置対応のための社内組織体制及び連絡窓口等について報告する。

表 1 隔離ほ場管理者名簿（個人名・職名は個人情報のため非開示）

氏 名	所属機関・職名
(栽培実験責任者)	ダウ・ケミカル日本株式会社 小郡開発センター
	ダウ・ケミカル日本株式会社 研究開発本部
	ダウ・ケミカル日本株式会社 登録部
	ダウ・ケミカル日本株式会社 登録部

表 2 生物多様性影響管理委員会委員名簿（個人名・職名・電話番号は個人情報のため非開示）

氏 名	所 属	電話番号
(管理責任者)	ダウ・ケミカル日本株式会社	
(主任)	ダウ・ケミカル日本株式会社 研究開発本部	
	ダウ・ケミカル日本株式会社 小郡開発センター	
	ダウ・ケミカル日本株式会社 登録部	
	ダウ・ケミカル日本株式会社 登録部	

モニタリング計画書

平成 23 年 2 月 7 日

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 フィリップ・ファイル
住所 東京都品川区東品川 2 丁目 2 番 24 号

イ．実施体制及び責任者

実施体制及び責任者は表 1 のとおりである。

表 1 モリタリング実施体制（平成 23 年 2 月現在）

氏名	所属機関・職名
*	ダウ・ケミカル日本株式会社 小郡開発センター
	ダウ・ケミカル日本株式会社 研究開発本部
	ダウ・ケミカル日本株式会社 登録部
	ダウ・ケミカル日本株式会社 登録部

* 管理責任者

（個人名・職名は個人情報のため非開示）

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

名称 ツルマメ (*Glycine soja*)

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

隔離ほ場周辺 10m^注の範囲内においてモニタリングを実施する。

注) 農林水産省 第一種使用規程承認組換え作物栽培実験指針（改正後）を参照。

ニ．モニタリングの期間

「除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 *aad-12, 2mepsps, pat, Glycine max* (L.) Merr.)(DAS44406, OECD UI : DAS-44406-6) (以下「本組換えダイズ」という。)」の栽培期間中に実施する。

ホ．実施機関、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 以内でのツルマメの生育の有無を調べる。
- 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、ツルマメ 1 集団あたり最低 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は、さらに隔離ほ場から 50m 内の調査可能な範囲において 2)と同様の作業を行う。
- 4) 採取した種子を播種し、発芽後約 3 週間後に除草剤 2,4-D を散布することにより、導入遺伝子がツルマメに移行しているかについて解析する。

へ．モニタリング結果の解析方法

交雑検定結果をもとに、本組換えダイズとツルマメとの距離による自然交雑率を調べる。

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、「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」における第一種使用規程の最終申請時に、農林水産大臣及び環境大臣への報告書として添付する。

チ．その他必要な事項

モニタリング期間中に採取されたツルマメ中に本組換えダイズとの交雑によって、当該遺伝子の移行あるいは移行したと疑われる結果が得られた場合には、農林水産省及び環境省と協議を行うものとする。

除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート
及びグリホシネート耐性ダイズ

(改変 *aad-12*, *2mepsps*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.)

(DAS44406, OECD UI : DAS-44406-6)

生物多様性影響評価書

添 付 資 料

- 添付資料 1 AAD-12 蛋白質が活性を示す除草剤
- 添付資料 2 pDAB8264 の塩基配列
- 添付資料 3 細胞内に移入した核酸の存在状態の確認試験
- 添付資料 4 発現ベクターpDAB8264 の作成過程
- 添付資料 5 改変 AAD-12 蛋白質検出法(ELISA 法)
- 添付資料 6 2mEPSPS 蛋白質検出法(ELISA 法)

社外秘情報につき非開示

ダウ・ケミカル日本株式会社

除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグリホサート及び

グルホシネート耐性ダイズ

(改変 *aad-12, 2mepsps, pat, Glycine max* (L.) Merr.)

(DAS44406, OECD UI : DAS-44406-6)

隔離ほ場試験計画書

目 次

1. 「受容環境」に関する情報	1
2. 試験評価項目（社外秘情報につき非開示）	12
3. 委員会名簿（社外秘情報につき非開示）	14
4. 委員会での検討事項（社外秘情報につき非開示）	15
5. 管理責任者（社外秘情報につき非開示）	15
別紙 1 隔離ほ場の所在地に関する地図	6
別紙 2 試験区の配置図	7
別紙 3 隔離ほ場周辺における平年値	8
別紙 4 隔離ほ場周辺における過去 3 年分の気象データ	9
別紙 5 過去 10 年の隔離ほ場周辺への台風の接近数	11
別紙 6 隔離ほ場内の作付け図（社外秘情報につき非開示）	16

ダウ・ケミカル日本株式会社

1. 「受容環境」に関する情報

. 隔離ほ場の所在地

1. 名称

ダウ・ケミカル日本株式会社小郡開発センター隔離ほ場

2. 住所

福岡県小郡市山隈 821

3. 電話番号

0942-73-4950

4. 地図

別紙 1 参照

. 責任者等

1. 隔離ほ場試験の責任者

(個人名・職名は個人情報のため非開示)

ダウ・ケミカル日本株式会社 小郡開発センター

2. 隔離ほ場管理責任者

(個人名・職名は個人情報のため非開示)

ダウ・ケミカル日本株式会社

. 試験期間

承認日から平成 25 年 3 月 31 日まで

. 施設概要

部外者の立ち入りを禁止するためのフェンス(2m50cm)、立入禁止であること及び管理責任者を明示するための標識、洗い場を設置している。

. 面積

1. 隔離ほ場全体の面積

650 m²

2. 試験に使用する面積

132.8 m²

3. 試験区の配置図

別紙 2 参照

・ 隔離ほ場の周辺環境

1. 隔離ほ場周辺の地形

隔離ほ場の所在する小郡市は、福岡県の南部、筑紫平野の北、佐賀県との県境に位置する。隔離ほ場のある山隈地区は東北台地に位置し、標高は約 25m である。また、隔離ほ場北側約 47 m の位置に農業用水路（高さ 2m、幅 2m）がある。この水路は東北東約 13km にある江川ダムから水の供給を受け、周辺の水田を灌漑する目的を持っており、普段の水位は低く、これまでに氾濫した実績はない。

2. 土地利用状況

隔離ほ場の周辺は、水田・畑・民家・道路・用水路等として利用されている。

3. 周辺の環境保護区

隔離ほ場から最も距離の近い自然保護地域は、耶馬日田英彦山国定公園であり、その距離は約 30km である。

4. 気象条件

平年値

隔離ほ場の最寄の地上気象観測所である福岡管区気象台（福岡県福岡市中央区）における過去 30 年間の月平均気温、平均最高気温、平均最低気温、平均降雨量、平均風速・風向を別紙 3 表 1 に示した（気象庁ホームページ気象統計情報、2010 年 12 月 1 日現在）。

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_sfc_ym.php?prec_no=82&prec_ch=%95%9F%89%AA%8C%A7&block_no=47807&block_ch=%95%9F%89%AA&year=&month=&day=&elm=normal&view=

過去 3 年分の気象データ

隔離ほ場の最寄の地域気象観測所である朝倉アメダス観測所（福岡県朝倉市三奈木町）における過去 3 年分の気象データを別紙 4、表 1～3 に示した（気象庁ホームページ気象統計情報、2010 年 12 月 1 日現在）。

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/annually_a.php?prec_no=82&prec_ch=%95%9F%89%AA%8C%A7&block_no=0788&block_ch=%92%A9%91q&year=2007&month=&day=&elm=annually&view=

5. 台風の襲来歴

平年値

気象庁ホームページ気象統計情報によると、隔離ほ場のある九州北部地方（山口県を含む）への台風接近数の平年値は、3.2 回である（気象庁ホームページ気象統計情報、2010 年 12 月 1 日現在）。

<http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/average/average.html>

過去 10 年の隔離ほ場周辺への台風の接近数

気象庁ホームページ気象統計情報より、隔離ほ場のある九州北部地域（山口県を含む）に、2000 年～2009 年に台風が接近した回数を別紙 5 表 1 に示した（気象庁ホームページ気象統計情報、2010 年 12 月 1 日現在）。

http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/northern_kyushu.html

なお、台風の接近が記録された月に、隔離ほ場の最寄の地域気象観測所である朝倉アメダス観測所において、日ごとの最大風速が 17m/s を超えた日はなく（気象庁ホームページ気象統計情報、2012 年 12 月 1 日現在）、過去 10 年における隔離ほ場への台風の接近はなかったと推測された。

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php?prec_no=82&prec_ch=%95%9F%89%AA%8C%A7&block_no=0788&block_ch=%92%A9%91q&year=2009&month=&day=&elm=&view=

6. 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

隔離ほ場が開設された 2008 年以降、ほ場における冠水の経験はない。

7. 過去 10 年における強風の経験とその程度・頻度

隔離ほ場が開設された 2008 年以降、ほ場内において、強風による作物の倒伏や飛散などの経験はない。

8. 管轄市町村が公開するハザードマップにおける隔離ほ場の位置づけ

隔離ほ場の近隣に位置する一級河川には宝満川及び太刀洗川がある。福岡県によりこの 2 本の河川流域の浸水想定区域図¹⁾がそれぞれ公表されており、隔離ほ場の所在地はこれらの河川の浸水想定区域外である。

¹⁾ 浸水想定区域図は、概ね 100 年に 1 回程度起こる大雨が降ったことにより宝満川が氾濫した場合、及び概ね 50 年に 1 回程度起こる大雨が降ったことにより太刀洗川が氾濫した場合に想定される浸水の状況をシミュレーションにより求めたものである（福岡県県土整備部河川課）。

9. 周辺における鳥獣害の発生状況

鳥類ではカラス類、キジバト、スズメによる農作物への被害が見られる。そのため近隣の農家では早期米においては成熟期から爆音機及び防護ネットによる被害回避、またダイズ播種時に忌避剤の種子粉衣などが試みられている。また、ほ場周辺では農作物を加害する獣類は観察されない。

・ 隔離ほ場周辺の生物相

1. 遺伝子組換え農作物を隔離ほ場で栽培等を行うことによって、影響を受ける可能性のある野生動植物等及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

なし。

2. 交雑可能な近縁野生種及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

ツルマメ。なお、2010年に数回に渡り、隔離ほ場内及び隔離ほ場周辺50mの範囲(民家の敷地内を除く)におけるツルマメの調査を行ったが、ツルマメの生育は確認されなかった。

・ 栽培管理等

1. 栽培履歴

隔離ほ場における栽培履歴は以下の通りである。

2008	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
遺伝子組換えダイズ							←→						
非遺伝子組換えダイズ							←→						
遺伝子組換えトウモロコシ							←→						
非遺伝子組換えトウモロコシ							←→						
非遺伝子組換えワタ							←→						
2009	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
除草剤耐性ダイズ								←→					
対照の非遺伝子組換えダイズ								←→					
2010	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
除草剤耐性ダイズ	←→						←→						
対照の非遺伝子組換えダイズ	←→						←→						
2011	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
除草剤耐性ダイズ	←→												
対照の非遺伝子組換えダイズ	←→												

←→ : 白抜きの矢印は予定

2. 気象災害時の対応

気象災害が起こった場合、まず試験区域における被害状況を確認し、必要と判断した場合には緊急措置計画書に従って速やかに対策を講ずる。

3. 栽培終了後の利用計画（ボランティア植物の監視を含む）

栽培終了後は休閑の予定である。また、ボランティア植物の発生を確認した場合、ただちに隔離ほ場内に鋤込む等の適切な手段で処分する。

4. 隔離ほ場試験における生物多様性影響の安全対策に関する措置

(1) 隔離ほ場の施設

部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むように、フェンス(2m50cm)を設置している。

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。

隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本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、本組換え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。

隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するために防風網を設置している。また、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網(2m50cm)を設置する。

(2) 隔離ほ場での作業要領

本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。

本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。

により運搬又は保管する場合を除き、本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。

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。

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。

からに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。

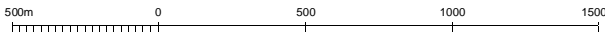
別に定めるモニタリング実施計画書に基づき、モニタリングを実施する。

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。

別紙 1 隔離ほ場の所在地に関する地図

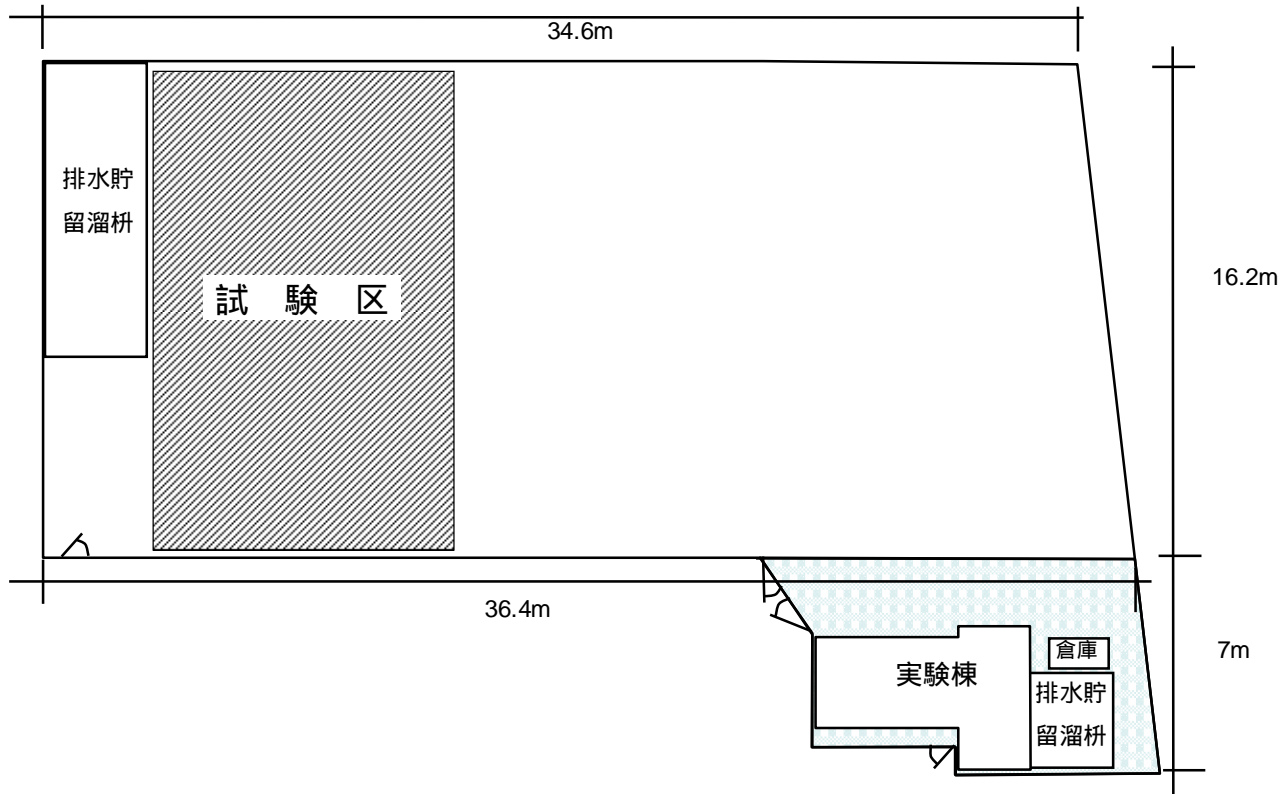


隔離ほ場所在地



「この地図は、国土地理院長の承認を得て、同院発行の2万5千分の1地形図を複製したものである。(承認番号 平22業複、第739号)」

別紙 2 試験区の配置図



別紙3 隔離ほ場周辺における平年値

表 1 福岡気象管区における平年値

要素	気温			降水量	風向・風速	
	()			(mm)	(m/s)	
	平均	最高	最低	合計	平均	最多風向
統計期間	1971～2000	1971～2000	1971～2000	1971～2000	1971～2000	1971～2000
1月	6.4	9.8	3.2	72.1	3.1	南東
2月	6.9	10.5	3.5	71.2	3.2	南東
3月	9.9	14.0	6.1	108.7	3.1	北
4月	14.8	19.2	10.7	125.2	3.0	北
5月	19.1	23.5	15.0	138.9	2.8	北
6月	22.6	26.5	19.4	272.1	2.7	北
7月	26.9	30.7	24.0	266.4	2.8	南東
8月	27.6	31.6	24.5	187.6	2.9	南東
9月	23.9	27.8	20.6	175.0	2.8	北
10月	18.7	23.0	14.7	80.9	2.7	北
11月	13.4	17.6	9.6	80.5	2.7	南東
12月	8.7	12.5	5.2	53.8	2.9	南東

別紙 4 隔離ほ場周辺における過去 3 年分の気象データ

表 1 2007 年の朝倉アメダス観測所における気象データ

月	降水量(mm)			気温()					風向・風速(m/s)			日照
	合計	最大		平均			最高	最低	平均	最大		時間 (h)
		日	1 時間	日平均	日最高	日最低			風速	風速	風向	
1	47	16	4	5.5	11.0	0.8	14.7	-3.1	0.8	6	西北西	110.4
2	70	35	11	8.1	14.5	2.4	19.1	-6.4	1.0	7	南南西	155.2
3	85	29	12	10.0	16.1	4.0	26.1	-1.2	1.3	7	南	192.8
4	101	33	32	13.5	20.4	7.6	26.6	0	1.2	6	北西	180.9
5	101	32	10	19.3	25.8	13.3	30.8	7.7	1.2	5	西北西	204.9
6	111	22	21	23.3	28.3	19.1	33.6	13.1	1.1	5	北西	85.9
7	590	194	49	25.8	29.9	22.2	35.3	19.1	1.1	6	北西	88.3
8	167	48	19	28.2	34.4	23.8	37.8	21.2	1.1	8	北北東	213.5
9	51	20	17	26.2	32.5	21.8	36.4	17.3	0.9	4	北西	188.7
10	109	68	25	19.4	25.9	14.2	31.4	5.0	0.8	5	北西	202.5
11	18	12	3	11.7	17.9	6.1	23.6	-1.2	0.8	5	西北西	176.9
12	101	41	7	7.6	12.6	3.2	18.4	-2.1	1.0	6	北西	105.6

表 2 2008 年の朝倉アメダス観測所における気象データ

月	降水量(mm)			気温()					風向・風速(m/s)			日照
	合計	最大		平均			最高	最低	平均	最大		時間 (h)
		日	1 時間	日平均	日最高	日最低			風速	風速	風向	
1	78	33	4	5.7	10.5	1.5	17.8	-2.2	0.9	6	西北西	116.5 ¹⁾
2	55 ²⁾	29 ²⁾	8 ²⁾	4.2 ²⁾	9.6 ²⁾	-0.7 ²⁾	15.0 ²⁾	-5.1 ²⁾	1.3 ²⁾	7 ²⁾	北西	155.6 ^{1) 2)}
3	146.0	40	10	9.4	15.6 ²⁾	3.6 ²⁾	21.6 ²⁾	-2.6 ²⁾	1.2	6.4	西北西	184.0
4	123.5	34.0	8.5	14.2	20.5	8.3	28.1	2.9	1.3	6.6	西北西	178.9
5	198.5	91.0	37.5 ²⁾	19.0	25.8	12.6	33.6	7.1	1.1	5.0	西北西	217.5
6	478.0	111.0	28.5	22.1	26.8	18.3	31.8	9.5	1.0	5.2	南	85.4
7	29.5	8.0	7.0	28.3	34.2	23.9	36.8	16.9	1.1	4.9	西北西	233.3
8	268.0	96.5	62.5	26.6	32.4	22.6	37.2	18.1	0.9	4.5	北北西	168.7
9	187.5	47.5	28.0	24.2	29.3	20.4	33.8	13.5	0.8	6.1	西北西	128.9
10	26.0	12.0	4.5	18.5	24.8	13.4	29.3	9.2	0.7	5.0	西北西	169.7
11	60.5	18.0	5.5	11.3	16.6	6.7	22.6	-1.0	0.7	6.1	西北西	103.5
12	100.5	38.0	8.0	6.5	12.4	1.3	19.1	-3.9	0.9	7.0	西北西	141.3

表3 2009年の朝倉アメダス観測所における気象データ

月	降水量(mm)			気温()					風向・風速(m/s)			日照
	合計	最大		平均			最高	最低	平均 風速	最大		時間 (h)
		日	1時間	日平均	日最高	日最低				風速	風向	
1	46.0	11.5	6.0	4.4	9.4	0.2	15.7	-4.3	0.9 ²⁾	6.1 ²⁾	西北西	97.8
2	111.0	37.0	9.0	8.2	13.7	2.9	20.3	-1.2	1.0	6.4	南西	112.5
3	90.5	38.5	8.0	10.0	15.9	4.3	23.7	-1.3	1.2	6.2	西北西	163.6
4	92.5	41.0	13.0	14.4	21.7	7.8	28.3	1.5	1.2	6.2	西北西	217.3
5	74.5	37.0	16.0	18.8	25.5	12.6	31.3	6.9	1.3	5.4	西北西	206.7
6	314.0	98.0	20.0	22.9	28.5	18.3	34.4	9.6	1.2	5.3	南西	152.7
7	681.0	155.0	54.5	25.8	30.2	22.5	33.7	18.4	1.4	7.9	西北西	95.8
8	154.0	113.5	74.5	27.1	33.0	22.7	37.5	15.1	1.0	5.3	西北西	203.6
9	53.5	36.5	12.0	23.4	29.9	18.3	34.8	13.5	0.8	5	西北西	194.1
10	131.0	118.0	21.5	17.5	24.1	11.9	28.7	6.7	0.9	5.6	西北西	175.1
11	122.5	40.0	9.5	11.9	17.0	7.3	25.9	1.3	0.9	7.2	西北西	114.6
12	48.0	20.0	4.0	6.5	11.5	2.1	18.2	-3.5	1.0	7.0	西北西	108.9

1) 観測場所の移転、観測方法の変更、測器の変更など、いずれかの理由により、観測データがこの前後で均質でない可能性がある値。

2) 品質に軽微な問題があるか、または統計値を求める対象となる資料の一部が許容する範囲内で欠けている値。

別紙 5 過去 10 年の隔離ほ場周辺への台風の接近数

表 1 過去 10 年の九州北部地方（山口県を含む）への台風接近数¹⁾

年	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	年間
2009										1			1
2008									1	1			2
2007							1	1	1				3
2006							1	1	1				3
2005									1				1
2004						2	1	4	2	1			9
2003				1	1	1		1	1				5
2002						1	3	1	1				5
2001													0
2000							1		1				2

- 1) 台風の中心が山口県、福岡県、佐賀県、長崎県、大分県、熊本県のいずれかの気象官署から 300km 以内に入った場合(接近は 2 か月にまたがる場合があり、各月の接近数の合計と年間の接近数とが必ずしも一致しない年もある)。
- 5