

除草剤メソトリオン及びグルホシネート耐性ダイズ (改変 *avhppd, pat,*  
*Glycine max* (L.) Merr.)(SYHT0H2, OECD UI: SYN-000H2-5) 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 1 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	3
1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	3
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	3
① 和名、英名及び学名	3
② 宿主の品種又は系統名	3
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域	3
(2) 使用等の歴史及び現状	4
① 国内及び国外における第一種使用等の歴史	4
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途	4
(3) 生理学的及び生態学的特性	5
イ、基本的特性	5
ロ、生息又は生育可能な環境の条件	5
ハ、捕食性又は寄生性	6
ニ、繁殖又は増殖の様式	6
① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命	6
② 栄養繁殖の様式並びに自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性	6
③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度	6
④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命	7
ホ、病原性	7
ヘ、有害物質の産生性	8
ト、その他の情報	8
2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	8
(1) 供与核酸に関する情報	8
イ、構成及び構成要素の由来	8
ロ、構成要素の機能	10
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	10

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(食品としてのアレルギー性を除く)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
③	宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	12
(2)	ベクターに関する情報	18
イ	名称及び由来	18
ロ	特性	18
①	ベクターの塩基数及び塩基配列	18
②	特定の機能を有する塩基配列がある場合はその機能	18
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	18
(3)	遺伝子組換え生物等の調製方法	18
イ	宿主内に移入された核酸全体の構成	18
ロ	宿主内に移入された核酸の移入方法	19
ハ	遺伝子組換え生物等の育成の経過	19
①	核酸が移入された細胞の選抜の方法	19
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	19
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	19
(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	20
①	移入された核酸の複製物が存在する場所(染色体上、細胞小器官内、原形質内の別)	20
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	21
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	22
④	(6)のイ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	22
⑤	ウイルス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	23
(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	23
(6)	宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	23
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.....	23
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 .....	23
a 形態及び生育の特性 .....	24
b 生育初期における低温又は高温耐性.....	24
c 成体の越冬性.....	24
d 花粉の稔性及びサイズ .....	24
e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率 .....	25
f 交雑率 .....	25
g 有害物質の産生性 .....	25
3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	26
(1) 使用等の内容 .....	26
(2) 使用等の方法 .....	26
(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 .....	27
(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 .....	27
(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.....	27
(6) 国外における使用等に関する情報.....	27
第2 項目ごとの生物多様性影響評価.....	28
1. 競合における優位性.....	28
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	28
(2) 影響の具体的な内容の評価.....	28
(3) 影響の生じやすさの評価.....	28
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	29
2. 有害物質の産生性 .....	29
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	29
(2) 影響の具体的な内容の評価.....	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.....	30
3. 交雑性.....	31
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	31
(2) 影響の具体的な内容の評価.....	31

(3) 影響の生じやすさの評価.....	31
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	32
4. その他.....	33
第3 生物多様性影響の総合的評価 .....	34
引用文献 .....	36
緊急措置計画書.....	41
モニタリング計画書 .....	43
隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書 .....	45

# 第一種使用規程承認申請書

平成 24 年 1 月 20 日

農林水産大臣 鹿野 道彦 殿

環境大臣 細野 豪志 殿

氏名 シンジェンタジャパン株式会社  
申請者 代表取締役社長 ステファン・ティッツェ  
住所 東京都中央区晴海一丁目 8 番 10 号  
オフィスタワー X

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	除草剤メソトリオン及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 <i>avhppd</i> , <i>pat</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (SYHT0H2, OECD UI : SYN-000H2-5)
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：静岡県島田市神座138番地 名称：シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト 隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 26 年 3 月 31 日まで

	<p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(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。</p> <p>(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> <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、花粉の飛散を減少させるための防風網及び鳥害を防ぐための防鳥網を設置している。</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)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

## 第1 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

##### ① 和名、英名及び学名

和名：ダイズ

英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

##### ② 宿主の品種又は系統名

宿主は無限伸育型のダイズ品種 **Jack** である。

##### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

国内及び国外の自然環境におけるダイズの自生は知られていない。

*Glycine* 属 *Soja* 亜属には、栽培種であるダイズの他に、野生種である *G. soja* (和名：ツルマメ)及び *G. gracilis* が含まれる(OECD, 2000)。細胞学的、形態学的及び分子生物学的知見から、ツルマメが栽培種であるダイズの祖先であり、また、*G. gracilis* はダイズとツルマメの中間的ないくつかの表現形質を有しており、ダイズの雑草型あるいは半野生型と考えられている。ツルマメは日本、中国、朝鮮、台湾及びロシアに自生しており、一方、*G. gracilis* は中国東北部で観察されている。

我が国において、ツルマメは北海道、本州、四国及び九州で認められ(農業技術体系, 2008a)、その生育期間は3~10月で開花期は8~9月(新版 日本原色雑草図鑑, 1975)、河川、水田、畑及び灌漑用水路等の周辺に主に自生している(Kuroda *et al.*, 2005)。

## (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

ダイズは中国を原産とする最も古い栽培作物の一つと考えられ、紀元前 2838 年に中国皇帝によって書かれた書物に記録が残されている(OECD, 2000)。歴史的及び地理的な証拠から、ダイズは紀元前 17 世紀から紀元前 11 世紀の間に中国で最初に栽培化されたことが示唆されている。今日の最大のダイズ生産国である米国へ最初に導入されたのは 1765 年のことである。また、我が国へ渡来した時期は 1900~2000 年前と推定され、平安時代にはかなり栽培が普及していたと考えられている(農業技術体系, 2008a)。

### ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

ダイズの栽培地域はアジアとアメリカ大陸に集中しており、2009 年におけるダイズの世界総栽培面積は 9,950 万ヘクタールで、その上位 5 カ国は米国(3,091 万ヘクタール)、ブラジル(2,175 万ヘクタール)、アルゼンチン(1,677 万ヘクタール)、インド(979 万ヘクタール)及び中国(919 万ヘクタール)であった(FAO, 2011)。また、同年の世界総生産量は 2 億 2,318 万トンで、その上位 5 カ国は米国(9,142 万トン)、ブラジル(5,735 万トン)、アルゼンチン(3,099 万トン)、中国(1,498 万トン)及びインド(1,005 万トン)であった。なお、我が国におけるダイズの栽培面積と生産量は、2010 年でそれぞれ 13 万 7,700 ヘクタールと 22 万 2,500 トンであり、その栽培上位 5 都道府県は、北海道(24,400 ヘクタール)、宮城(11,100 ヘクタール)、秋田(8,420 ヘクタール)、福岡(7,900 ヘクタール)及び佐賀(7,620 ヘクタール)であった(農林水産省大臣官房統計部, 2011)。

栽培技術については、世界の各地域により大きな差が見られる(国分, 2010)。作付様式は、我が国では水田転作が主体であるのに対し、他の地域ではトウモロコシ、コムギ、ジャガイモ等の畑作物との輪作が行われる。ダイズは連作障害が出やすく、同じほ場では 3 年目からは明らかに減収するため、イネ、ムギ類、トウモロコシ等との輪作体系を組むことが望ましい(鄭, 2008)。ダイズは夏作物なので、基本的には春に播種し、秋に収穫する(国分, 2004)。播種適期は地域や品種によって異なるが、我が国においては、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・九州・四国では 6 月下旬から 7 月上旬である(鄭, 2008)。栽培密度は南北アメリカ諸国では極めて高いのに対し、我が国では低い、これには品種の耐倒伏性と生育前期の降雨量・日射量等の差が関係している(国分, 2010)。

我が国は 2010 年に 346 万トンのダイズ子実を輸入しており、そのうち 247 万トン(71%)は米国からの輸入である(財務省, 2011)。また、219 万トンのダイズ油かすも輸入しており、輸入量はインドからが 82 万トン(37%)、中国からが 78 万トン(36%)、米国か



らが 43 万トン(20%)である。輸入子実の 247 万トンはダイズ油の搾油に利用されており(農林水産省食料産業局食品製造卸売課, 2011)、また、搾油後及び輸入された油かすは、配合・混合飼料の原料として 2010 年度には 345 万トンが利用されている(配合飼料供給安定機構, 2011)。ダイズは搾油や飼料に利用されている他、豆腐・油揚げ、味噌、納豆、醤油、枝豆等の多岐にわたる食品として利用されている(農林水産省 大豆のホームページ, [http://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/daizu/d\\_tisiki/index.html](http://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/daizu/d_tisiki/index.html))。

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ、基本的特性

ダイズは一年生双子葉植物である(OECD, 2000、農業技術体系, 2008a、新編 農学大事典, 2004)。種子が発芽して最初に現れる子葉は対生し、次に単葉の初生葉が伸びて子葉と直角に対生し、その後、3 枚の小葉(まれに 4 枚以上)からなる本葉が互生する。子葉の色は緑か紫である。茎は主茎と分枝に分けられ、主茎の本葉の葉腋から分枝が生じる。また、茎の伸長性に基づいて、開花後まもなく茎の伸長が止まる有限伸育型、開花後も茎の伸長が長く続く無限伸育型、両者の中間である半無限伸育型に分類される。花は各葉腋に着生する総状花序で、花色は白、青紫あるいは赤紫である。花芽分化には日長と温度が影響し、短日条件下で促進されるが、その感応性はダイズ品種間で多様である。開花はほとんど午前中に行われ、通常、受粉は開花前に終わっている。受粉した花は肥大して莢を形成し、普通は 1 莢あたり 1~3 粒の種子が稔実するが、まれに 5 粒の場合もある。なお、マメ科植物の特徴として、根には空気中の窒素固定能を持つ根粒菌が寄生して根粒が形成されるが、その程度はダイズ品種との親和性、土壌条件、日照等に影響される。

#### ロ、生息又は生育可能な環境の条件

ダイズの発芽適温は 30~35℃で 10℃以下では極めて不良となる(農業技術体系, 2008a)。また、発芽には種子に約 50%の含水率が必要で、最適な土壌湿度は pF3.5 程度である。生長及び開花の適温は 25~30℃の間と考えられており、花芽分化には 15℃以上であることが必要で、25℃前後までであれば促進的に働く。また、生育期における土壌湿度は pF1.7 程度が適切とされる。土壌 pH の最適値は 6.0~6.5 であるが、pH4~7 の範囲では生育及び収量に大きな差はなく、土壌に対する適応性は高い。なお、ダイズは短日植物であるが、日長や温度に対する反応が多様なため、今日、北緯 50 度から赤道直下まで、さらに南緯 40 度までの地域で栽培が行われている。

## 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

ダイズの種子は莢内に稔実し、成熟後には裂莢して脱粒する。裂莢性には品種間差があり、日本の品種に比べれば一般に米国の無限伸育型品種は裂莢しにくい(農業技術体系, 2008a)。ダイズ種子は成熟期より前に発芽能力が最高になり、その後、徐々に低下して回復することはない(農業技術体系, 2008b)。また、栽培種のダイズ種子が休眠性を示すことはほとんどない(OECD, 2000)。種子の寿命は保存条件によって異なり、種子含水率や温度が低いほど長くなる(農業技術体系, 2008a)。種子を20°Cで保存した場合の種子の寿命は、収穫時の一般的な種子含水率18.1%で1年未満、収穫乾燥後の一般的な種子含水率13.9%では2年未満であるが、10°Cで保存した場合の種子の寿命は、収穫時の一般的な種子含水率18.1%で2年程度、収穫乾燥後の一般的な種子含水率13.9%では8年程度と長くなる。以上のことから、湿度や気温の変動する自然条件下では、発芽能力は急速に低下すると考えられる。

### 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植物であり、種子以外に自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官を持たない。

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

ダイズの場合、受粉は開花前に蕾の中で終わるために自殖性が極めて高く、他殖率は通常1%以下である(OECD, 2000、農業技術体系, 2008a)。なお、我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自生している(農業技術体系, 2008a)。ツルマメはダイズと同じ *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属するつる性の一年生植物である(OECD, 2000)。我が国におけるツルマメの開花期は8~9月で(新版 日本原色雑草図鑑, 1975)、一般にダイズよりも1ヶ月近く遅いので開花期が重複する可能性は低いが、秋ダイズ型品種のように播種時期が遅いと、開花期が重複する可能性が高まる(Mizuguchi *et al.*, 2008)。ツルマメの他殖率については、平均2.2~2.3%と報告されている(Kiang *et al.*, 1992、Kuroda *et al.*, 2008)。その一方、平均13%との報

告もあるが、これは訪花昆虫が多かったこと等によると考察されている(Fujita *et al.*, 1997)。

Nakayama and Yamaguchi (2002)は、ツルマメと開花期が比較的重複する日本品種である丹波黒を花粉親にし、0.5m 間隔の 5×12 列で交互に各 30 個体を配置して自然交雑試験を行った結果、ツルマメから収穫した種子の合計 686 個体中 5 個体がダイズとの雑種であり、交雑率は 0.73%であったと報告している。また、独立行政法人 農業環境技術研究所において 2005～2007 年の 3 年間、除草剤耐性ダイズを花粉親に用いたツルマメとの自然交雑試験が行われた(Mizuguti *et al.*, 2009、Mizuguti *et al.*, 2010)。2005 年と 2006 年の試験結果では、ツルマメがダイズにからみつくほど近づけて栽培した混植区でも、開花期がほぼ重複しない場合はダイズと交雑したツルマメ雑種は認められなかった。一方、開花期ができるだけ重複するように栽培した場合、収穫したツルマメ種子の 11,860 個体中で 1 個体の交雑雑種(交雑率：0.0084%)が検出された(Mizuguti *et al.*, 2009)。さらに、試験を実施した 3 年間で開花期が最も重複していた 2007 年の試験結果では、ツルマメがダイズにからみつくほど近づけて栽培した混植区のツルマメ収穫種子の 25,741 個体中で 35 個体の交雑雑種(交雑率：0.136%)が検出されたが、花粉親から 8m 及び 10m 離れたツルマメ栽培区では交雑雑種は検出されなかった(Mizuguti *et al.*, 2010)。

以上のように、ダイズはツルマメと自然交雑して雑種を生じることがあるが、その可能性は極めて低いことが知られている。

なお、ダイズがアポミクシスを生じる特性を有するとの報告はない。

#### ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ダイズの花形状は球形から扁球形で、平均直径は 21～30 $\mu\text{m}$  である(Carlson and Lersten, 2004)。花粉飛散に関しては、2001～2004 年の 4 年間、除草剤耐性ダイズを花粉親に用いた非組換えダイズとの自然交雑試験が行われたが、2001 年の最も近接させた栽培区(0.7m)での交雑率 0.19%が最大で、10.5m 離れた栽培区では 4 年とも交雑率は 0%であったことが報告されている(Yoshimura *et al.*, 2006)。また、花粉の寿命は短く、8 時間保管した花粉の発芽率は 2%以下であることが報告されている(Abel, 1970)。

#### ホ、病原性

—

へ、有害物質の産生性

ダイズにおいて、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

除草剤メソトリオン及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 *avhppd*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.)(SYHT0H2, OECD UI : SYN-000H2-5)(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を表 1(8~10ページ)に示した。また、供与核酸の塩基配列を別紙 1(社外秘情報により非開示)に示した。

表 1 本組換えダイズの作出に用いた供与核酸の構成要素の由来及び機能

構成要素	由来及び機能
改変 <i>avhppd</i> 遺伝子カセット	
FMV エンハンサー	Figwort mosaic virus(FMV)由来のエンハンサー領域(Maiti <i>et al.</i> , 1997)で、転写活性を高める。
35S エンハンサー	Cauliflower mosaic virus(CaMV)由来のエンハンサー領域(Ow <i>et al.</i> , 1987)で、転写活性を高める。
SMP プロモーター	Synthetic minimal plant promoter (SMP プロモーター; 最小単位の植物の合成プロモーター)の略で、プロモーターとして機能する必要最低限の配列から成り立つ。目的遺伝子の転写を誘導する <i>cestrum yellow leaf curling virus</i> 由来の TATA box の配列(Stavolone <i>et al.</i> , 2003)と、35S プロモーターの 3'領域から TATA box までの配列(Ow <i>et al.</i> , 1987)を組み合わせて合成した。SMP プロモーターの構成成分は恒常的に発現する(全てのタイプの組織で機能する)ことから、SMP プロモーターも恒常的に発現すると考えられる。
TMV エンハンサー	Tobacco mosaic virus(TMV)由来のオメガ配列(5'末端側非翻訳リーダー配列)で(Gallie <i>et al.</i> , 1987)、植物での翻訳活性を高める(Gallie, 2002)。

改変 <i>avhppd</i> 遺伝子	<p>エンバク (<i>Avena sativa</i>)由来の <i>p</i>ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ(HPPD 蛋白質)をコードする遺伝子。コドンサイズにおける発現のために最適化し人工合成した。その後のクローニングの過程でエンバク HPPD 蛋白質における 224 番目のアミノ酸(Ala)を欠失したことから、エンバク HPPD 蛋白質とはアミノ酸配列で 99.8%の相同性を持つ。</p> <p>HPPD 蛋白質は、チロシン異化経路におけるプラストキノンやビタミン E 生成に必要な芳香族前駆体であるホモゲンチジン酸形成を触媒する酵素であり、除草剤メソトリオンはこの酵素活性を阻害することで植物を枯死させる (Matringe <i>et al.</i>, 2005)。サイズの内在性 HPPD 蛋白質が除草剤メソトリオンによって阻害されるのに対し、改変 <i>avhppd</i>遺伝子がコードする改変 AvHPPD 蛋白質は、除草剤メソトリオンの存在下でも酵素活性を示し、その結果、植物に除草剤メソトリオン耐性を付与する。</p>
NOS ターミネーター	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター配列で、ポリアデニル化により mRNA の転写を終結させる (Depicker <i>et al.</i> , 1982)。
<i>pat</i> 遺伝子( <i>pat-03-01</i> )カセット	
35S プロモーター	Cauliflower mosaic virus(CaMV)由来のプロモーター領域(Ow <i>et al.</i> , 1987)。
<i>pat</i> 遺伝子 ( <i>pat-03-01</i> )	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> strain Tü494 由来で、ホスフィノスリシンアセチルトランスフェラーゼ(PAT)をコードする遺伝子。発現を高めるために野生型のコード配列(Wohleben <i>et al.</i> , 1988)のコドン最適化した。PAT 蛋白質はグルホシネートをアセチル化して不活化することで植物にグルホシネート耐性を付与する。
NOS ターミネーター	<i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター配列。ポリアデニル化により mRNA の転写を終結させる (Depicker <i>et al.</i> , 1982)。
<i>pat</i> 遺伝子( <i>pat-03-02</i> )カセット	
CMP プロモーター	Cestrum yellow leaf curling virus 由来のプロモーター及びリーダー配列。
TMV エンハンサー	Tobacco mosaic virus(TMV)由来のオメガ配列(5'末端側非翻訳リーダー配列)で(Gallie <i>et al.</i> , 1987)、植物での翻訳活性を高める (Gallie, 2002)。
<i>pat</i> 遺伝子 ( <i>pat-03-02</i> )	<i>S. viridochromogenes</i> strain Tü494 由来で、ホスフィノスリシンアセチルトランスフェラーゼ(PAT)をコードする遺伝子。発現を高めるために野生型のコード配列(Wohleben <i>et al.</i> , 1988)のコドン最適化するとともに、 <i>pat-03-01</i> と同じ制限酵素認識部位を持たないように塩基配列を改変した。PAT 蛋白質はグルホシネートをアセチル化して不活化することで植物にグルホシネート耐性を付与する。

NOS ターミネーター	<i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター配列。ポリアダニル化により mRNA の転写を終結させる(Depicker <i>et al.</i> , 1982)。
その他の領域	
LB	<i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリン Ti-プラスミドの T-DNA 左側境界領域(Zambryski <i>et al.</i> , 1982)。
<i>spec</i>	大腸菌( <i>Escherichia coli</i> )由来のトランスポゾン Tn7 のアミノグリコシドアデニルトランスフェラーゼ遺伝子( <i>aadA</i> ) (Fling <i>et al.</i> , 1985)。ストレプトマイシン、スペクチノマイシン耐性を付与するため、プラスミドの選抜マーカーとして使用した。
<i>virG</i>	pAD1289 由来の VirGN54D 遺伝子で、 <i>A. tumefaciens</i> による T-DNA 領域の移入に必要な(Hansen <i>et al.</i> , 1994)。
<i>repA</i>	<i>Pseudomonas</i> 属細菌由来の pVS1 複製蛋白質をコードする遺伝子で、植物に寄生するグラム陰性菌中で機能する最小の pVS1 レプリコンの一部(Heeb <i>et al.</i> , 2000)。
VS1 ori	<i>Pseudomonas</i> 属細菌由来のプラスミド pVS1 の複製起点共通配列(Itoh <i>et al.</i> , 1984)で、 <i>A. tumefaciens</i> の複製開始点として機能する。
ColE1 ori	大腸菌由来のプラスミドの複製起点(Itoh and Tomizawa, 1979)。
RB	<i>A. tumefaciens</i> 由来のノパリン Ti-プラスミドの T-DNA 右側境界領域(Wang <i>et al.</i> , 1984)。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

#### ロ、構成要素の機能

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

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(8～10ページ)に示した。

- 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(食品としてのアレルギー性を除く)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

#### 改変AvHPPD蛋白質

除草剤メソトリオンは、植物のチロシン異化経路におけるフマル酸、アセト酢酸、プラストキノン並びにビタミンEの生成に必要な芳香族前駆体であるホモゲンチジン

酸形成を触媒する *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ(HPPD 蛋白質)の酵素活性を阻害することで植物を枯死させる(Matringe *et al.*, 2005)。

シンジェンタ社による試験の結果、単子葉植物由来の HPPD 蛋白質と双子葉植物由来の HPPD 蛋白質ではメソトリオンへの親和性に違いがあることが明らかとなっている。ダイズと同じ双子葉植物のシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)由来の HPPD 蛋白質とメソトリオンは非常に安定した複合体を形成するが、その複合体の半減期は 25°C で約 2 日と推定された(別紙 2、社外秘情報により非開示)。一方、単子葉植物であるエンバクの HPPD 蛋白質由来である改変 AvHPPD 蛋白質とメソトリオンとの結合は比較的弱く、改変 AvHPPD 蛋白質-メソトリオン複合体の半減期は約 15 分であった(別紙 2、社外秘情報により非開示)。また、メソトリオンに対する阻害定数(Ki 値)は、改変 AvHPPD 蛋白質で 11nM、シロイヌナズナ由来の HPPD 蛋白質で 0.015nM と推定された。阻害定数は、酵素と阻害剤が会合した酵素-阻害剤複合体の解離定数で、阻害剤の阻害剤結合部位への親和性を示し、値が小さいほど親和性が強い(生化学辞典, 2007)。このように、メソトリオンに対する改変 AvHPPD 蛋白質の親和性はシロイヌナズナ由来の HPPD 蛋白質に比べて弱いことから、改変 AvHPPD 蛋白質に対するメソトリオンの阻害効果はシロイヌナズナ由来の HPPD 蛋白質に比べて弱いと考えられる。

したがって、双子葉植物であるダイズに改変 AvHPPD 蛋白質をコードする改変 *avhppd* 遺伝子を導入することで、除草剤メソトリオン耐性を付与することが期待され、本組換えダイズが作出された(図 1、12ページ)。

改変 AvHPPD 蛋白質が既知アレルゲンと相同性を持たないことを、公的に利用可能なデータベース(FARRP AllergenOnline Database)を用いた相同性検索によって 2010 年に確認した。

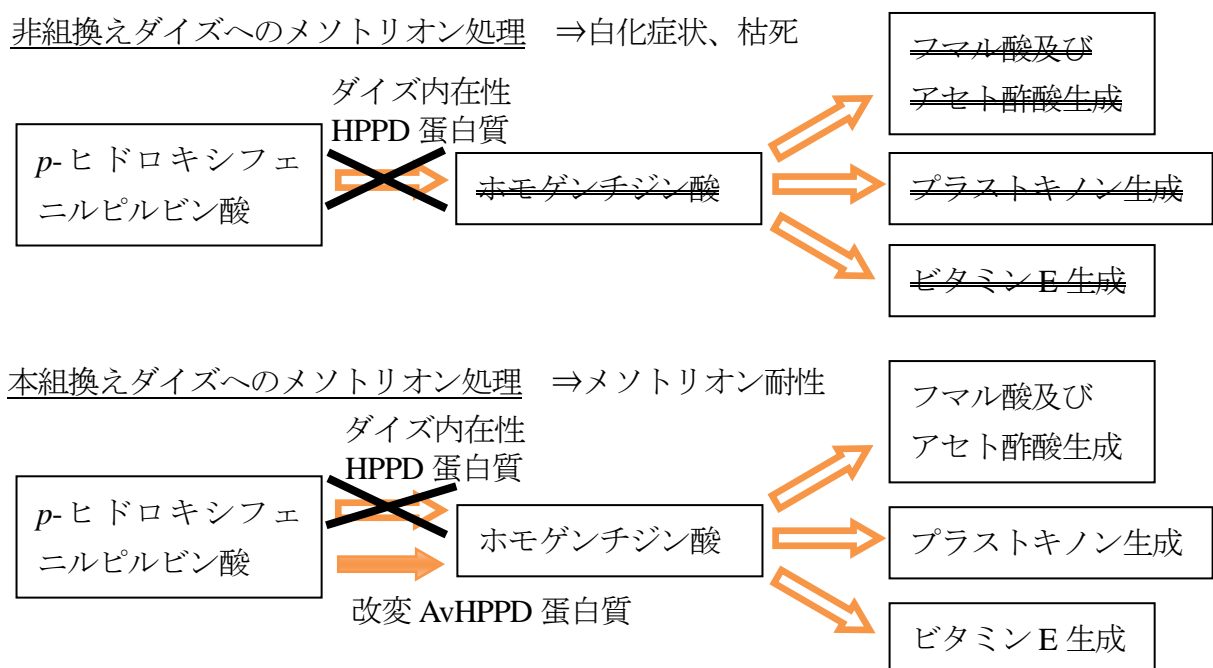


図 1 本組換えダイズにおける除草剤メソトリオン耐性の作用機作

HPPD 蛋白質は  $p$  ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸への反応を触媒するが、ダイズ内在性の HPPD 蛋白質活性はメソトリオンによって阻害されるため、非組換えダイズでは白化症状が現れて植物体は枯死する。一方、改変 AvHPPD 蛋白質を発現する本組換えダイズでは、メソトリオンの存在下でも  $p$  ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸への反応が触媒され、メソトリオン耐性を示す。

(本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

## PAT 蛋白質

除草剤グルホシネートは植物においてグルタミン合成酵素を阻害し、その結果、アンモニアが蓄積して植物を枯死させるが、*pat* 遺伝子によって発現する PAT 蛋白質はグルホシネートをアセチル化して不活化することで植物にグルホシネート耐性を付与する(OECD, 1999)。

PAT 蛋白質が既知アレルゲンと相同性を持たないことを、公的に利用可能なデータベース(FARRP AllergenOnline Database)を用いた相同性検索によって 2010 年に確認した。

### ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

本組換えダイズで発現する蛋白質は、除草剤メソトリオン存在下でも HPPD 蛋白質として機能する改変 AvHPPD 蛋白質と、除草剤グルホシネートをアセチル化して不活化する PAT 蛋白質である。



植物における HPPD 蛋白質の基質は *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸のみであることが報告されている(Purpero and Moran, 2006)。また、図 2(15ページ)に示すように、HPPD 蛋白質はチロシン異化経路において *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸への反応を触媒する酵素であり、産生されるホモゲンチジン酸からフマル酸、アセト酢酸、プラストキノン並びにビタミン E(トコフェロール、トコトリエノール)が生成される(Arias-Barrau *et al.*, 2004, Moran, 2005, DellaPenna and Pogson, 2006, Zbierzak *et al.*, 2010)。なお、フマル酸とアセト酢酸はクエン酸回路で利用される化合物、プラストキノンは光合成の電子伝達系に關与する化合物である。

これまでの研究から、チロシン異化経路において、HPPD 蛋白質を単独で過剰発現させただけでは、下流の最終代謝産物であるトコフェロール量やプラストキノン量が、増加しない又は著しくは増加しないことが報告されている(Tsegaye *et al.*, 2002, Falk *et al.*, 2003, Rippert *et al.*, 2004, Karunanandaa *et al.*, 2005)。一方、トコフェロール量は、HPPD 蛋白質の下流代謝酵素であるホモゲンチジン酸フィチルトランスフェラーゼ(HPT)やトコフェロールサイクラーゼ(TC)の過剰発現によって、著しく増加することが示されている(Collakova and DellaPenna, 2003, Kanwischer *et al.*, 2005, Lee *et al.*, 2007)。加えて、HPPD 蛋白質の基質である *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸は植物においてチロシンから生成されるが、チロシンの生合成はチロシン自身によるフィードバック阻害によって調節されており(Siehl, 1999, Rippert and Matringe, 2002)、*p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸の生成はこの制御下にある。これらのことから、HPPD 蛋白質の過剰発現は宿主の持つ代謝系に影響を及ぼさないか、仮に影響を及ぼすとしてもその影響は小さいと考えられる。

実際に、本組換えダイズにおける改変 AvHPPD 蛋白質の発現が宿主の持つ代謝系に及ぼす影響について、2010 年に米国 8 ヶ所のほ場(アイオワ州リッチランド、ネブラスカ州ヨーク、ミズーリ州フィスク、イリノイ州スチュワードソン、ノースカロライナ州メバネ、ペンシルベニア州ハンブルグ、イリノイ州カーライル及びインディアナ州ロックヴィル)で栽培した本組換えダイズと対照の非組換えダイズを用いて、種子中のビタミン E を分析するとともに、種子と茎葉の主要構成成分を分析して検討した(表 2~4, 16~17ページ)。その結果、ビタミン E として種子で定量できた $\alpha$ -トコフェロール、 $\gamma$ -トコフェロール、 $\delta$ -トコフェロールのうち、 $\gamma$ -トコフェロール及び $\delta$ -トコフェロールにおいて本組換えダイズと非組換えダイズとの間で有意差が認められた(表 2, 16ページ)。しかし、本組換えダイズのこれらの分析値は、非組換えダイズよりも有意に増加していたものの、同一ほ場で栽培した参考品種の範囲内であった。種子と茎葉の主要構成成分の分析では、茎葉の粗脂肪のみ本組換えダイズと非組換えダイズとの間で有意差が認められたものの、それ以外の主要構成成分で有意差は認められなかった(表 3~4, 17ページ)。また、有意差が認められた成分も含めて、本組換

えダイズの分析値はいずれも同一ほ場で栽培した参考品種の範囲内であった。

以上のように、本組換えダイズの分析値はいずれの項目においても従来のダイズの変動の範囲内であったことから、本組換えダイズで発現している改変 AvHPPD 蛋白質が宿主の代謝系に及ぼす影響は小さいと考えられる。

PAT 蛋白質は、グルホシネートをアセチル化することで植物毒性のない *N*-アセチル-L-グルホシネートへと代謝するが、L-ホスフィノスリシン(除草剤グルホシネート)とジメチルホスフィノスリシンに対して非常に高い基質特異性を示し、これら以外に PAT 蛋白質の基質となる他の蛋白質もしくはアミノ酸は報告されていない(OECD, 1999、OECD, 2002)。よって、PAT 蛋白質が宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。

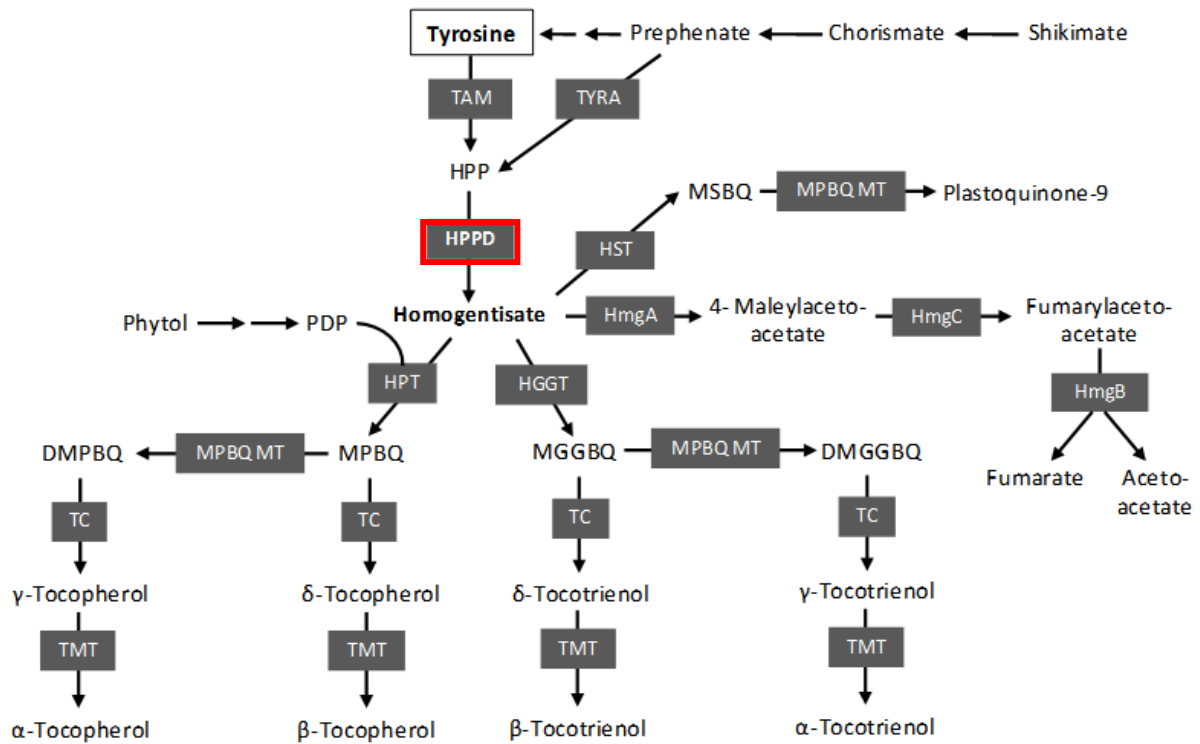


図 2 チロシン異化経路図 (別紙 2、社外秘情報により非開示)

反応生成物略語の名称：

HPP=*p*-hydroxyphenylpyruvate、PDP=phytyldiphosphate、  
 MSBQ=2-methyl-6-solanyl-1,4-benzoquinone、MPBQ=2-methyl-6-phytyl-1,4-benzoquinone、  
 DMPBQ=2,3-dimethyl-5-phytyl-1,4-benzoquinone、  
 MGGBQ=2-methyl-6-geranylgeranyl-1,4-benzoquinone、  
 DMGGBQ=2,3-dimethyl-5-geranylgeranyl-1,4-benzoquinone。

反応酵素略語(白抜き英文字)の名称：

TYRA=bifunctional chorismate mutase-prephenate dehydrogenase、  
 TAM=L-tyrosine aminotransferase、HPPD=*p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase、  
 HST=homogentisate solanyltransferase、MPBQ MT=MPBQ methyltransferase、  
 HmgA=homogentisate dioxygenase、HmgB=fumarylacetoacetate hydrolase、  
 HmgC=maleylacetoacetate isomerase、HPT=homogentisate phytyltransferase、  
 HGGT=homogentisate geranylgeranyl transferase、  
 TC=tocopherol cyclase、TMT=tocopherol methyltransferase

(本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

表 2 種子におけるビタミンEの分析結果

ビタミン E (mg/g DW)	本組換え ダイズ <sup>a,b</sup>	非組換え ダイズ <sup>a</sup>	P 値 <sup>c</sup>	ダイズ 参考品種 <sup>d</sup>	従来品種の文献値 (ILSI, 2010) <sup>e</sup>
α-トコフェロール	0.0241	0.0258	0.145	0.0115-0.0771	0.0019-0.0617
β-トコフェロール	- <sup>f</sup>	-	-	<LOQ-0.00779	ND <sup>h</sup>
γ-トコフェロール	0.214	0.201	<b>0.004</b> <sup>*g</sup>	0.127-0.236	ND
δ-トコフェロール	0.0760	0.0611	<b>&lt;0.001</b> <sup>*</sup>	0.0320-0.112	ND
α-トコトリエノール	-	-	-	<LOQ	ND
β-トコトリエノール	-	-	-	<LOQ	ND
γ-トコトリエノール	-	-	-	<LOQ	ND
δ-トコトリエノール	-	-	-	<LOQ	ND

a : 8 カ所のほ場における 4 反復(n=32)の平均値。

b : 本葉 3 葉(V3)期～本葉 4 葉(V4)期に除草剤メソトリオンとグルホシネートを散布した。

c : 混合モデルを使った分散分析(ANOVA)により本組換えダイズと非組換えダイズの統計的有意性を検定した。

d : 8 カ所のほ場で同時に栽培された参考品種 6 品種(n=192)における範囲。

e : ILSI Crop Composition Database に登録されたダイズ従来品種の分析値。ビタミン E として報告されており、引用時の分析数は n=234 (ILSI, 2010)。

f : 「-」は各ほ場における分析値のいくつか又は全てが定量限界値 (LOQ)以下だったので計算しなかったことを示す。なお、トコフェロールとトコトリエノールの LOQ はいずれも 0.0053-0.0058 mg/g DW であった。

g : 太字・斜体・アスタリスク(\*)の数値は、有意差が認められたことを示す。

h : ND=No data were available (データなし)。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

表 3 種子における主要構成成分の分析結果

項目	本組換え ダイズ <sup>a,b</sup>	非組換え ダイズ <sup>a</sup>	P 値 <sup>c</sup>	ダイズ 参考品種 <sup>d</sup>	従来品種の文献値 (ILSI, 2010) <sup>e</sup>
水分 (%FW)	8.80	8.70	0.429	6.10-14.30	4.7-34.4
粗蛋白質 (%DW)	38.4	38.2	0.642	30.6-44.4	33.19-45.48
粗脂肪(%DW)	20.6	20.7	0.294	15.8-25.0	8.104-23.562
灰分(%DW)	5.17	5.25	0.200	4.14-6.59	3.885-6.994
炭水化物 (%DW)	35.9	35.7	0.716	25.2-43.8	29.6-50.2
ADF (%DW)	14.6	14.8	0.591	8.20-20.6	7.81-18.61
NDF (%DW)	16.4	16.7	0.451	11.2-21.9	8.53-21.25

a : 8 ヲ所のほ場における 4 反復(n=32)の平均値。ただし、本組換えダイズの灰分のみ n=31 の平均値。

b : 本葉 3 葉(V3)期～本葉 4 葉(V4)期に除草剤メソトリオンとグルホシネートを散布した。

c : 混合モデルを使った分散分析(ANOVA)により本組換えダイズと非組換えダイズの統計的有意性を検定した。

d : 8 ヲ所のほ場で同時に栽培された参考品種 6 品種(n=192)における範囲。

e : ILSI Crop Composition Database に登録されたダイズ従来品種の分析値。引用時の水分、粗蛋白質、粗脂肪、灰分及び炭水化物の分析数は n=323、ADF 及び NDF の分析数は n=149 (ILSI, 2010)。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

表 4 茎葉における主要構成成分の分析結果

項目	本組換え ダイズ <sup>a,b</sup>	非組換え ダイズ <sup>a</sup>	P 値 <sup>c</sup>	ダイズ 参考品種 <sup>d</sup>	従来品種の文献値 (ILSI, 2010) <sup>e</sup>
水分 (%FW)	70.8	69.9	0.105	53.2-76.4	73.5-81.6
粗蛋白質 (%DW)	18.7	18.4	0.418	12.0-25.1	14.38-24.71
粗脂肪(%DW)	5.66	6.15	<b>0.039<sup>*f</sup></b>	2.68-11.40	1.302-5.132
灰分(%DW)	6.74	6.73	0.944	5.06-8.88	6.718-10.782
炭水化物 (%DW)	68.9	68.7	0.671	58.9-75.2	59.8-74.7
ADF (%DW)	26.3	27.3	0.183	18.4-38.3	ND <sup>g</sup>
NDF (%DW)	32.0	32.6	0.432	23.0-44.2	ND

a : 8 ヲ所のほ場における 4 反復(n=32)の平均値。

b : 本葉 3 葉(V3)期～本葉 4 葉(V4)期に除草剤メソトリオンとグルホシネートを散布した。

c : 混合モデルを使った分散分析(ANOVA) により本組換えダイズと非組換えダイズの統計的有意性を検定した。

d : 8 ヲ所のほ場で同時に栽培された参考品種 6 品種(n=192)における範囲。

e : ILSI Crop Composition Database に登録されたダイズ従来品種の分析値。引用時の水分、粗蛋白質、粗脂肪、灰分及び炭水化物の分析数はいずれも n=72 (ILSI, 2010)。

f : 太字・斜体・アスタリスク(\*)の数値は、有意差が認められたことを示す。

g : ND=No data were available (データなし)。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

## (2) ベクターに関する情報

### イ、名称及び由来

本組換えダイズの作出に用いたベクターは pSYN15954 である。このベクターは大腸菌由来の pBluescript SK+等を基に構築された。

### ロ、特性

#### ① ベクターの塩基数及び塩基配列

ベクターの塩基数は10,904bpであり、その塩基配列は明らかにされている(別紙1、社外秘情報により非開示)。

#### ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合はその機能

ベクターには、微生物中でベクターを増殖する際の選抜マーカーとして、ストレプトマイシン、スペクチノマイシン耐性を発現する *spec* 遺伝子が含まれるものの、本組換えダイズ中にこの遺伝子は導入されていない。

#### 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

ベクター中に感染性を示すような配列はない。

## (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

本組換えダイズの作出に用いたベクター pSYN15954 の構成要素、各構成要素の位置及び方向並びに制限酵素による切断部位を図 3 (19ページ)に示した。

図 3 本組換えダイズの作出に用いたベクターpSYN15954 の模式図

ロ、宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主への核酸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

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

ベクターpSYN15954 を含むアグロバクテリウムと共存培養したダイズ未熟種子を、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。

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

核酸の導入後、アグロバクテリウムの除菌のためにセフトキシシン等の抗生物質を添加した。その後、再分化した植物体に PCR を行い、ベクターpSYN15954 のその他の領域に存在する *spec* 遺伝子の欠如を確認した。したがって、再分化した植物体において菌体の残存はないと考えられる。

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

選抜細胞から再分化した植物体について、改変 *avhppd* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び *spec* 遺伝子の存在の有無を PCR により確認した。その中で、改変 *avhppd* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が存在し、*spec* 遺伝子の欠如が確認された植物体を本組換えダイズの T0 世代として選抜した。

生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために供試した世代の育成の経過を、  
図 4(20ページ)に示した。なお、承認申請の対象となるのは、社外秘情報により非公開  
である。

本組換えダイズについては、食品としての安全性審査のための申請を厚生労働省に、  
飼料としての安全性審査のための申請を農林水産省に、順次行う予定である。

社外秘情報により非開示

図 4 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(染色体上、細胞小器官内、原形質内の別)

本組換えダイズの複数世代を用いて改変 *avhppd* 遺伝子及び *pat* 遺伝子の有無を確認する PCR 分析を行い、挿入遺伝子の分離比評価を行った。その結果、改変 *avhppd* 遺伝子及び *pat* 遺伝子のどちらも、各世代における分離比がメンデルの法則に基づく分離期待値と矛盾しないことから、移入された核酸は染色体上に存在することが確認された(表 5、表 6)。



表 5 PCR 分析による改変 *avhppd* 遺伝子の分離比 (別紙 3 追加資料、社外秘情報により非開示)

	F2		BC2F2		BC3F2	
	実測値	期待値	実測値	期待値	実測値	期待値
陽性個体数	115	123	99	104.25	134	131.25
陰性個体数	49	41	40	34.75	41	43.75
合計個体数	164	164	139	139	175	175
カイ二乗値 <sup>a</sup>	2.08		1.06		0.23	

a : カイ二乗検定(Strickberger, 1976)により適合度を検定した。5%水準での棄却値は 3.84 で (Strickberger, 1976)、上記のカイ二乗値はいずれも棄却値以下なので、実測値はメンデルの分離法則と矛盾しない。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

表 6 PCR 分析による *pat* 遺伝子の分離比 (別紙 3 追加資料、社外秘情報により非開示)

	F2		BC2F2		BC3F2	
	実測値	期待値	実測値	期待値	実測値	期待値
陽性個体数	115	123	99	104.25	134	131.25
陰性個体数	49	41	40	34.75	41	43.75
合計個体数	164	164	139	139	175	175
カイ二乗値 <sup>a</sup>	2.08		1.06		0.23	

a : カイ二乗検定(Strickberger, 1976)により適合度を検定した。5%水準での棄却値は 3.84 で (Strickberger, 1976)、上記のカイ二乗値はいずれも棄却値以下なので、実測値はメンデルの分離法則と矛盾しない。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

- 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

挿入遺伝子に関する予備的シーケンス分析の結果から、本組換えダイズの染色体ゲノム上には、①改変 *avhppd* 遺伝子カセットの 35S エンハンサーから始まるほぼ完全長の T-DNA 領域、② *pat* 遺伝子カセットの 35S プロモーターから始まり 2 つの *pat* 遺伝子カセットを含む T-DNA 領域、③改変 *avhppd* 遺伝子由来と考えられる 47bp の配列が存在すると考えられた(図 5、22ページ)。

次に、本組換えダイズにおける挿入遺伝子のコピー数の確認及び複数世代における伝達の安定性を調査のため、本組換えダイズの複数世代から抽出したゲノム DNA を制限酵素処理により切断し、ベクター pSYN15954 の T-DNA 領域及びその他の領域をプローブとして、サザンブロット分析を行った(別紙 4、社外秘情報により非開示)。T-DNA 領域をプローブに用いたサザンブロット分析の結果、複数世代で同一のバンドが検出され、また、そのバンドサイズは予備的シーケンス分析の結果から予想されたバンドサ

イズと一致していた(別紙 4、社外秘情報により非開示)。さらに、ベクターpSYN15954のその他の領域をプローブとして用いたサザンブロット分析の結果、本組換えダイズにT-DNA 以外の領域は挿入されていないことが確認された(別紙 4、社外秘情報により非開示)。

以上の結果から、本組換えダイズにはベクターpSYN15954 の T-DNA 領域由来の配列がゲノムの1ヵ所に挿入されており、後代へ安定して伝達していることが確認された。

社外秘情報により非開示

図 5 本組換えダイズに挿入された配列の模式図

- 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

本組換えダイズの染色体上には、①改変*avhppd*遺伝子カセットの35Sエンハンサーから始まるほぼ完全長のT-DNA領域、②*pat*遺伝子カセットの35Sプロモーターから始まり2つの*pat*遺伝子カセットを含むT-DNA領域、③改変*avhppd*遺伝子由来と考えられる47bpの配列が存在しているが、サザンブロット分析の結果、それらがゲノム上の1ヵ所に挿入されていることが確認された。

- ④ (6)のイ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

2011年に米国シンジェンタ社の温室において、本組換えダイズの複数世代を栽培し、本葉4葉(V4)期の葉における改変AvHPPD蛋白質及びPAT蛋白質の発現量をELISA法により測定した。その結果、改変AvHPPD蛋白質及びPAT蛋白質それぞれの平均発現量は、T4世代で429 µg/g乾燥重と190 µg/g乾燥重、T5世代で499 µg/g乾燥重と124 µg/g乾燥重、T6世代で452 µg/g乾燥重と76 µg/g乾燥重であった(別紙5、社外秘情報により非開示)。

以上のことから、本組換えダイズでは、改変AvHPPD蛋白質及びPAT蛋白質が、複数個体及び複数世代で発現していることが確認された。

- ⑤ ウイルス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

移入された核酸は伝達を可能とする配列を含まない。よって、野生動植物等に伝達されるおそれはないと推定される。

(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

サザンブロット分析による特異的な検出及び識別が可能であり、約 3 µg のゲノム DNA を用いれば検出可能である(別紙 4、社外秘情報により非開示)。なお、本組換えダイズを一般的な使用のための第一種使用規程の申請をするまでには、PCR 法を用いた系統特異的な識別方法を開発する予定である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

- 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

本組換えダイズに付与された特性は、改変 *avhppd* 遺伝子によって発現する改変 AvHPPD 蛋白質による除草剤メソトリオン耐性と、*pat* 遺伝子によって発現する PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性である。本組換えダイズが除草剤メソトリオン及びグルホシネートに対して耐性を示すことを、米国ほ場での除草剤散布試験によって確認している(別紙 6、社外秘情報により非開示)。

本組換えダイズに散布された除草剤グルホシネートは、PAT 蛋白質によりアセチル化され、*N*-アセチル-L-グルホシネートへと代謝されるものの、*N*-アセチル-L-グルホシネートは植物毒性がない(OECD, 2002)。グルホシネート耐性ダイズにおいて、*N*-アセチル-L-グルホシネートは、残留基準値の対象化合物に含まれており、また、動物試験の結果から毒性影響は親化合物であるグルホシネートより弱いと考えられる(食品安全委員会, 2010)。

- 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

2010 年に米国 8 カ所のほ場(アイオワ州リッチランド、ネブラスカ州ヨーク、ミズーリ州フィスク、イリノイ州シュワードソン、ノースカロライナ州メバネ、ペンシルベ

ニア州ハンブルグ、イリノイ州カーライル及びインディアナ州ロックヴィル)において、本組換えダイズの形態及び生育の特性について、対照の非組換えダイズとの比較を行った(別紙7、社外秘情報により非開示)。また、2011年にシンジェンタジャパン株式会社開発本部(現研究開発本部)中央研究所神座サイト特定網室及びP1P実験室において、本組換えダイズの生育初期における低温耐性、花粉の稔性及びサイズ、有害物質の産生性について、対照の非組換えダイズとの比較を行った(別紙8、社外秘情報により非開示)。

#### a 形態及び生育の特性

米国のは場において発芽苗数、初期生育程度、開花まで日数、花色、草丈、成熟まで日数、倒伏程度、最終株数、裂莢程度、種子検定重量、種子含水率及び収量の調査を行った。その結果、本組換えダイズ(除草剤散布)の最終株数が、対照の非組換えダイズの最終株数よりも有意に減少していたものの、本組換えダイズの最終株数は同一は場内で栽培した参考品種の範囲内であった(別紙7、社外秘情報により非開示)。また、それ以外の項目では、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に有意差又は相違は認められなかった(別紙7、社外秘情報により非開示)。

#### b 生育初期における低温又は高温耐性

本組換えダイズと非組換えダイズを播種し、25°C、日長サイクル 16/8 時間の条件下で本葉 1 葉(V1)期まで栽培後、冬季を想定した設定(昼夜温度: 10/2°C、日長サイクル: 12/12 時間)の人工気象器に移し、生育状況を観察した。その結果、本組換えダイズと非組換えダイズの低温障害程度に相違は認められなかった(別紙8、社外秘情報により非開示)。

#### c 成体の越冬性

ダイズには霜に対する耐性がなく、氷点下になる冬季条件下では生存できない(OECD, 2000)。なお、本組換えダイズの成体の越冬性については、隔離ほ場において調査を行う予定である(隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書)。

#### d 花粉の稔性及びサイズ

本組換えダイズ及び非組換えダイズの花粉をアセトカーミン溶液で染色して顕微鏡下で観察した結果、本組換えダイズと非組換えダイズの花粉の稔性及びサイズに有意差は認められなかった(別紙8、社外秘情報により非開示)。

#### e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

##### 種子の生産量：

米国で実施したほ場試験で収量調査が行われたが、本組換えダイズと非組換えダイズとの間で有意差は認められなかった（別紙7、社外秘情報により非開示）。

##### 脱粒性：

米国で実施したほ場試験で裂莢程度の調査が行われたが、本組換えダイズと非組換えダイズとの間で相違は認められなかった（別紙7、社外秘情報により非開示）。

##### 休眠性及び発芽率：

休眠性試験は行っていない。発芽苗数については本組換えダイズと非組換えダイズとの間で有意差は認められなかった（別紙7、社外秘情報により非開示）。なお、隔離ほ場において収穫する種子の発芽率の調査を行うことで休眠性を確認する予定である（隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書）。

#### f 交雑率

我が国にはダイズの近縁野生種としてツルマメが自生しており（本評価書の第1.1.(1).③、3ページ）、ツルマメはダイズと低率であるが自然交雑することが示されている（第1.1.(3).ニ.③、6ページ）。

本組換えダイズのツルマメとの自然交雑性については、隔離ほ場において本組換えダイズの生殖特性の調査及び非組換えダイズとの自然交雑率の調査を行うことで推測する（隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書）。

#### g 有害物質の産生性

有害物質の産生性については、本組換えダイズと非組換えダイズを収穫期まで栽培し、その栽培土壌及び植物体を用いて以下の試験を実施した。

##### 後作試験：

植物体栽培後の各土壌にハツカダイコンを播種し、播種後11日目に発芽率を、14日目に収穫、乾燥後に乾燥重を測定した。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、ハツカダイコンの発芽率及び乾燥重に有意差は認められなかった（別紙8、社外秘情報により非開示）。

鋤込み試験：

各植物体の茎葉部を収穫、乾燥、粉碎した後に、土壌と混和してハツカダイコンを播種した。播種後9日目に発芽率を、14日目に収穫、乾燥後に乾燥重を測定した。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、ハツカダイコンの発芽率及び乾燥重に有意差は認められなかった（別紙8、社外秘情報により非開示）。

なお、本組換えダイズの有害物質の産生性については、隔離ほ場において、鋤込み試験、後作試験及び土壌微生物相調査を行う予定である（隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書）。

### 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：静岡県島田市神座138番地

名称：シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト  
隔離ほ場

使用期間：承認日から平成26年3月31日まで

隔離ほ場の施設：

- 1) 部外者の立ち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、当該植物の隔離ほ場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、花粉の飛散を減少させるための防風網及び鳥害を防ぐための防鳥網を設置している。

隔離ほ場の作業要領：

- 1) 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。

- 2) 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、本組換え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、当該ダイズを隔離ほ場内に鋤込む等により、確実に不活化する。
- 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。
- 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実施計画書に基づき、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。

(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

添付の「モニタリング計画書」を参照。

(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

添付の「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

—

(6) 国外における使用等に関する情報

本組換えダイズのほ場試験が、2009年以降に米国及びアルゼンチンで実施されている。なお、米国では2012年に米国農務省(USDA)に対する無規制裁培(商業栽培)の許可申請と、米国食品医薬局(FDA)に対する食品及び飼料としての利用申請をそれぞれ行う予定である。

## 第2 項目ごとの生物多様性影響評価

### 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

ダイズは我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、我が国の自然環境下で自生することは報告されていない。

競合における優位性に関わる形質として、形態及び生育の特性(発芽苗数、初期生育程度、開花まで日数、花色、草丈、成熟まで日数、倒伏程度、最終株数、裂莢程度、種子検定重量、種子含水率及び収量)、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、脱粒性及び発芽率の調査を行った(本評価書の第1.2.(6).②、23～25ページ)。その結果、本組換えダイズ(除草剤散布)の最終株数が、対照の非組換えダイズの最終株数よりも有意に減少していたものの、本組換えダイズの最終株数は同一ほ場内で栽培した参考品種の範囲内であった。また、それ以外の項目では、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に有意差又は相違は認められなかった。したがって、本組換えダイズの競合における優位性が高まることはないと考えられる。

本組換えダイズは、導入された改変 *avhppd* 遺伝子と *pat* 遺伝子によって、改変 AvHPPD 蛋白質と PAT 蛋白質を発現し、除草剤メソトリオン及びグルホシネート耐性を示す。しかし、自然条件下においてこれらの除草剤が散布されるとは想定しにくいことから、本組換えダイズに付与された除草剤耐性形質によっ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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えダイズの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関して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。

#### (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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えダイズの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

宿主の属する分類学上の種であるダイズには我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、野生動植物等に対して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は、後作試験及び鋤込み試験を実施した結果、本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で有意差は認められなかった(本評価書の第 1. 2. (6). ②. g、25ページ)。

本組換えダイズで発現する改変 AvHPPD 蛋白質は、チロシン異化経路における *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸への反応を触媒することから、チロシン異化経路の最終代謝産物であるビタミン E 等の生成量に影響を及ぼす可能性がある。本組換えダイズにおける改変 AvHPPD 蛋白質の発現が宿主の持つ代謝系に及ぼす影響について、2010 年に米国 8 カ所のほ場で栽培した本組換えダイズと対照の非組換えダイズを用い、種子中のビタミン E を分析するとともに、種子と茎葉の主要構成成分を分析して検討した。その結果、種子中の $\gamma$ -トコフェロールと $\delta$ -トコフェロール、茎葉の粗脂肪において、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に有意差が認められたものの、本組換えダイズの分析値はいずれの項目においても同一ほ場で栽培した参考品種の範囲内であった(本評価書の第 1. 2. (1). ロ. ③、12~18ページ)。このように、本組換えダイズの分析値はいずれの項目においても従来のダイズの変動の範囲内であったことから、本組換えダイズで発現している改変 AvHPPD 蛋白質が宿主の代謝系に及ぼす影響は小さいと考えられる。さらに、植物における HPPD 蛋白質の基質は *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸のみであることが報告されている。したがって、改変 AvHPPD 蛋白質が宿主の代謝系に影響することで、新たな有害物質を産生する可能性は極めて低いと考えられる。

本組換えダイズで発現する PAT 蛋白質は、L-ホスフィノスリシン(除草剤グルホシネート)及びジメチルホスフィノスリシンに対して非常に高い基質特異性を示し、これら以外に PAT 蛋白質の基質となる他の蛋白質もしくはアミノ酸は報告されていない。よって、PAT 蛋白質が宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。

改変 AvHPPD 蛋白質及び PAT 蛋白質に関して、既知アレルゲンと相同性を持たないことが確認されており、また、有害物質であるとは考えられていない。さらに、改変 AvHPPD 蛋白質は除草剤メソトリオンによって阻害される内在性 HPPD 蛋白質に代わり、チロシン異化経路における *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸への反応を触媒し、フマル酸、アセト酢酸、プラストキノン並びにビタミン E を産生するが、これらの物質が有害物質であるとは考えられていない。

本組換えダイズに散布された除草剤グルホシネートは、PAT 蛋白質によりアセチル化され、*N*-アセチル-L-グルホシネートへと代謝されるものの、*N*-アセチル-L-グルホシネートは植物毒性がない(OECD, 2002)。グルホシネート耐性ダイズにおいて、*N*-アセチル-L-グルホシネートは、残留基準値の対象化合物に含まれており、また、動物試験の結果から毒性影響は親化合物であるグルホシネートより弱いと考えられる(食品安全委員会, 2010)。これらのことから、除草剤グルホシネートの本組換えダイズへの散布によって生じる *N*-アセチル-L-グルホシネートが新たな有害物質になるとは考えにくい。

以上のことから、本組換えダイズの有害物質の産生性に関し、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。

## (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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えダイズの隔離ほ場での栽培、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がないと判断された。

### 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

我が国にはダイズと交雑可能な近縁野生種として、ツルマメが自生している。したがって、交雑性によっ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

ツルマメが本組換えダイズと交雑して除草剤メソトリオン及びグルホシネート耐性の雑種が生じること、さらに、本組換えダイズ由来の改変 *avhppd* 遺伝子及び *pat* 遺伝子がツルマメ集団へと拡散することが考えられた。

#### (3) 影響の生じやすさの評価

ダイズとツルマメはどちらも自殖性植物であり、また、一般に我が国におけるツルマメの開花期はダイズよりも遅いことから(Nakayama and Yamaguchi, 2002)、交雑は起こりにくいと考えられる。しかし、ツルマメは北海道、本州、四国及び九州に分布しており(農業技術体系, 2008a)、河川、水田、畑及び灌漑用水路等の周辺に自生している(Kuroda *et al.*, 2005)ことから、ツルマメの自生している周辺で本組換えダイズが栽培された場合、ツルマメと交雑する可能性を否定できない。

ツルマメのダイズとの自然交雑性に関し、ツルマメと開花期が比較的重複する日本品種である丹波黒を花粉親にし、0.5m 間隔の 5×12 列で交互に各 30 個体を配置して自然交雑試験を行った結果、ツルマメから収穫した種子の合計 686 個体中 5 個体がダイズとの雑種であり、交雑率は 0.73%であったと報告されている(Nakayama and Yamaguchi, 2002)。また、除草剤耐性ダイズを花粉親に用いたツルマメとの自然交雑試験が 2005～2007 年の 3 年間行われ、2005 年と 2006 年の試験結果では、ツルマメがダイズにからみつくほど近づけて栽培した混植区でも、開花期がほぼ重複しない場合はダイズと交雑したツルマメ雑種は認められなかった(Mizuguti *et al.*, 2009、Mizuguti *et al.*, 2010)。一方、開花期ができるだけ重複するように栽培した場合、収穫したツルマメ種子の 11,860 個体中で 1 個体の交雑雑種(交雑率：0.0084%)が検出された(Mizuguti *et al.*, 2009)。さらに、試験を実施した 3 年間で開花期が最も重複していた 2007 年の試験結果では、ツルマメがダイズにからみつくほど近づけて栽培した混植区のツルマメ収穫種子の 25,741 個体中で 35 個体の交雑雑種(交雑率：0.136%)が検出されたが、花粉親から 8m 及び 10m 離れたツルマメ栽培区では交雑雑種は検出されなかった(Mizuguti *et al.*, 2010)。

ダイズとツルマメの雑種形成、ダイズからツルマメへの遺伝子浸透については、我が国

の自然環境下において調査が行われている。2003年～2006年にかけて、ダイズとツルマメの中間的形態を持った中間体を探すための調査が秋田、茨木、愛知、兵庫、広島、高知、佐賀県の計189地点で行われたが、そのうち6地点(秋田県1地点、佐賀県5地点)で計17個体の中間体が発見された(Kuroda *et al.*, 2010)。なお、189地点のそれぞれで数百個体の調査が行われたものの、見つかった中間体の合計はわずか17個体であり、ダイズとツルマメの交雑が生じる頻度は低かった。次に、中間体が発見された6地点において、17個体の中間体、468個体のツルマメ、12個体のダイズの葉を採取し、核のマイクロサテライト及び葉緑体のdCAPSマーカーによる分析を行った結果、これらの中間体は全てツルマメと晩生ダイズとの交雑に由来しており、ダイズからツルマメ方向への遺伝子浸透によるものであることが判明した。しかし、中間体からツルマメへの二次的な遺伝子浸透は確認されなかった。

また上記の調査において、中間体が発見された6地点では継続してモニタリングが行われたが、中間体は自然環境下において速やかに消滅していく傾向が認められた(Kuroda *et al.*, 2010)。佐賀県の1地点の場合、2004年に雑種後代と考えられる7個体の中間体が見つかったが、その後の中間体の数は2005年には2個体、2006年にはゼロへと減少した。個体数が減少した主な理由としては、中間体が自然条件下での淘汰を受けること、中間体の自然環境への適応度(例えば、種子の越冬性、生育期における他の植物との競合性)が野生種であるツルマメほど高くはないこと、中間体の種子には冬季の生存に適した硬実種子が少ないこと、が挙げられている。

以上の知見に基づくと、ツルマメのダイズとの自然交雑率は開花期が重複した場合でも低率であり、ダイズ栽培区から10m程度離れると交雑する可能性はさらに低下する。また、交雑により雑種やその後代が生じた場合でも、それらの個体は自然環境下において消滅する傾向にあり、ツルマメへの二次的な遺伝子浸透も確認されていないことから、ダイズの遺伝子が自然交雑によってツルマメ集団に拡散するのは容易ではないと考えられる。

なお、本組換えダイズを栽培予定の隔離ほ場周辺50mの範囲で、2011年9月にツルマメの自生の有無を調査しているが、ツルマメの生育は観察されていない。さらに、本組換えダイズは一定の作業要領を備えた限定環境である隔離ほ場において、第一種使用規程にしたが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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えダイズの隔離ほ場での栽培、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

上記の他に、本組換えダイズに関して生物多様性影響の評価を行うことが適当であると  
考えられる性質はないと判断された。

### 第3 生物多様性影響の総合的評価

#### 競合における優位性：

宿主の属する分類学上の種であるダイズについては長期の使用経験があるが、我が国の自然環境下で自生したという例は報告されていない。競合における優位性に関わる形質として、形態及び生育の特性(発芽苗数、初期生育程度、開花まで日数、花色、草丈、成熟まで日数、倒伏程度、最終株数、裂莢程度、種子検定重量、種子含水率及び収量)、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、脱粒性及び発芽率の調査を行った。その結果、本組換えダイズ(除草剤散布)の最終株数が、対照の非組換えダイズの最終株数よりも有意に減少していたものの、本組換えダイズの最終株数は同一ほ場内で栽培した参考品種の範囲内であった。それ以外の項目では、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に有意差又は相違は認められなかった。また、本組換えダイズは、導入遺伝子によって改変 AvHPPD 蛋白質と PAT 蛋白質を発現することで、除草剤メソトリオン及びグルホシネート耐性が付与されているが、自然条件下においてこれらの除草剤が散布されるとは想定しにくい。

したがって、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えダイズの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して影響を受ける野生動植物等は特定されず、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

#### 有害物質の産生性：

宿主の属する分類学上の種であるダイズについては長期の使用経験があるが、野生動植物等に対して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は、後作試験及び鋤込み試験を実施した結果、本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で有意差は認められなかった。また、構成成分の分析の結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間でいくつかの成分に有意差が認められたが、本組換えダイズの分析値はいずれの項目においても同一ほ場で栽培した参考品種の範囲内であったことから、本組換えダイズで発現している改変 AvHPPD 蛋白質が宿主の代謝系に及ぼす影響は小さいと考えられた。さらに、植物における HPPD 蛋白質の基質は *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸のみであると報告されていることから、改変 AvHPPD 蛋白質が宿主の代謝系に影響することで、新たな有害物質を産生する可能性は極めて低いと考えられた。PAT 蛋白質については、L-ホスフィノスリシン(除草剤グルホシネート)及びジメチルホスフィノスリシンに対して非常に高い基質特異性を示し、これら以外の基質は知られていないことから、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。その上、改変 AvHPPD 蛋白質及び PAT 蛋白質は、既知アレルゲンと相同性を持たないことが確認されており、また、有害物質であるとは考えられていない。加えて、改変 AvHPPD 蛋白質は除草剤メソトリオンによって阻害される内在性 HPPD 蛋白質に代わり、チロシン異化経路における *p*-ヒ

ドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸への反応を触媒し、フマル酸、アセト酢酸、プラストキノン並びにビタミン E を産生するが、これらの物質が有害物質であるとは考えられていない。また、本組換えダイズに散布された除草剤グルホシネートは、PAT 蛋白質によるアセチル化で *N*-アセチル-L-グルホシネートへと代謝されるものの、*N*-アセチル-L-グルホシネートには植物毒性がなく、残留基準値の対象化合物に含まれており、動物試験の結果から毒性影響は親化合物であるグルホシネートより弱いと考えられることから、*N*-アセチル-L-グルホシネートが新たな有害物質になるとは考えにくい

したがって、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えダイズの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して影響を受ける野生動植物等は特定されず、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

#### 交雑性：

我が国にはダイズの近縁野生種としてツルマメが存在し、ツルマメはダイズと低率であるが自然交雑することが示されていることから、交雑性によっ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、ツルマメのダイズとの自然交雑率は開花期が重複した場合でも低率であり、ダイズ栽培区から 10m 程度離れると交雑する可能性はほぼなくなること、また、交雑により雑種やその後代が生じた場合でも、それらの個体は自然環境下において消滅する傾向にあり、ツルマメへの二次的な遺伝子浸透も確認されていないことから、ダイズの遺伝子が自然交雑によってツルマメ集団に拡散するのは容易ではないと考えられた。なお、本組換えダイズを栽培予定の隔離ほ場周辺 50m の範囲で、2011 年 9 月にツルマメの自生の有無を調査しているが、ツルマメの生育は観察されていない。さらに、本組換えダイズは一定の作業要領を備えた限定環境である隔離ほ場において、第一種使用規程にしたが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と考えられた。

したがって、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えダイズの隔離ほ場での栽培、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。

以上のことから、本組換えダイズを第一種使用規程にしたがい、隔離ほ場で第一種使用等を行うに当たり、我が国において生物多様性影響を生ずるおそれはないと総合的に判断された。

## 引用文献

Abel GH. 1970. Storage of soybean pollen for artificial crossing. *Agronomy Journal* 62: 121-123.

Arias-Barrau E, Olivera ER, Luengo JM, Fernandez C, Galan B, Garcia JL, Diaz E, Minambres B. 2004. The homogentisate pathway: A central catabolic pathway involved in the degradation of L-phenylalanine, L-tyrosine, and 3-hydroxyphenylacetate in *Pseudomonas putida*. *Journal of Bacteriology* 186: 5062-5077.

Carlson JB, Lersten, NR. 2004. Reproductive Morphology. *In Soybeans: Improvement, Production, and Uses*. 3rd ed, Agronomy Monograph no. 16. American Society of Agronomy, Crop Science Society of America, Soil Science Society of America, Madison, WI, USA. pp.59-95.

Collakova E, DellaPenna D. 2003. Homogentisate phytyltransferase activity is limiting for tocopherol biosynthesis in Arabidopsis. *Plant Physiology* 131: 632-642.

DellaPenna D, Pogson B. 2006. Vitamin synthesis in plants: Tocopherols and Carotenoids. *Annual Reviews of Plant Biology* 57:11-38.

Depicker A, Stachel S, Dhaese P, Zambryski P, Goodman HM. 1982. Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. *J Mol Appl Genet* 1: 561-573.

Falk J, Andersen G, Kernebeck B, Krupinska K. 2003. Constitutive overexpression of barley 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase in tobacco results in elevation of the vitamin E content in seeds but not in leaves. *FEBS Lett* 540: 35-40

FAO. 2011. FAOSTAT, Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/291/default.aspx> (accessed Nov 20, 2011)

Fling ME, Kopf J, and Richards C. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3'(9)-O-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.

Fujita R, Ohara M, Okazaki K, Shimamoto Y. 1997. The Extent of Natural Cross-Population in Wild Soybean (*Glycine soja*). *J Hered* 88: 124-128.

Gallie DR, Sleat DE, Watts JW, Turner PC, Wilson TMA. 1987. The 5'-leader sequence of tobacco mosaic virus RNA enhances the expression of foreign gene transcription *in vitro* and *in vivo*. *Nucleic Acids Res* 15: 3257-3273.

Gallie DR. 2002. The 5'-leader of tobacco mosaic virus promotes translation through enhanced recruitment of eIF4F. *Nucleic Acids Res* 30: 3401-3411.

配合飼料供給安定機構. 2011. 配合・混合飼料用原料使用量. 社団法人 配合飼料供給安定機構ホームページ. <http://mf-kikou.lin.gr.jp/seisan/seisan.htm#2>



(accessed Nov 20, 2011)

Hansen G, Das A, Chilton MD. 1994. Constitutive expression of the virulence genes improves the efficiency of plant transformation by *Agrobacterium*. *Proc Natl Acad Sci USA* 91: 7603-7607.

Heeb S, Itoh Y, Nishijyo T, Schnider U, Keel C, Wade J, Walsh U, O'gara F, Haas D. 2000. Small, stable shuttle vectors based on the minimal pVS1 replicon for use in Gram-negative, plant-associated bacteria. *Mol Plant Microbe Interact* 13: 232-237.

ILSI. 2010. International Life Sciences Institute Crop Composition Database, v. 4.2. [http://www.cropcomposition.org/query/workflow.wiz?\\_flowExecutionKey=c9659A004-88A0-AB8B-EC84-F3512F31DCA7\\_k4E18EABC-875E-0B9E-6C37-74B14BB85053](http://www.cropcomposition.org/query/workflow.wiz?_flowExecutionKey=c9659A004-88A0-AB8B-EC84-F3512F31DCA7_k4E18EABC-875E-0B9E-6C37-74B14BB85053) (accessed July 14, 2011)

Itoh T, Tomizawa J. 1979. Initiation of replication of plasmid ColE1 DNA by RNA polymerase, ribonuclease H and DNA polymerase I. *Cold Spring Harbor Symposium on Quantative Biology* 43: 409-417.

Itoh Y, Watson J, Haas D, Leisinger T. 1984. Genetic and molecular characterization of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. *Plasmid* 11: 206-220.

Kanwischer M, Porfirova S, Bergmuller E, Dormann P. 2005. Alterations in tocopherol cyclase activity in transgenic and mutant plants of *Arabidopsis* affect tocopherol content, tocopherol composition and oxidative stress. *Plant Physiology* 137: 713-723.

Karunanandaa B, Qi Q, Hao M, Baszis SR, Jensen PK, Wong YH, Jiang J, Venkatramesh M, Gruys KJ, Moshiri F, Post-Beittenmiller D, Weiss JD, Valentin HE. 2005. Metabolically engineered oilseed crops with enhanced seed tocopherol. *Metabolic Engineering* 7: 384-400.

Kiang YT, Chiang YC, Kaizuma N. 1992. Genetic Diversity in Natural Populations of Wild Soybean in Iwate Prefecture, Japan. *J Hered* 83: 325-329.

国分牧衛. 2004. 第5章 豆類-豆類の種類と特徴-サイズ. 堀江武編著. 新版 作物栽培の基礎. 社団法人 農山漁村文化協会. pp.162-171.

国分牧衛. 2010. 第3章 世界のサイズ生産技術の現状と展望. 喜多村啓介編集委員長. 大豆のすべて. 株式会社サイエンスフォーラム. pp.75-92.

Kuroda Y, Kaga A, Apa A, Vaughan DA, Tomooka N, Yano H, Matsuoka N. 2005. Exploration, collection and monitoring of wild soybean and hybrid derivatives between wild soybean and cultivated soybean: Based on field surveys at Akita, Ibaraki, Aichi, Hiroshima and Saga prefectures. *Ann Rep Explor Intro Plant Genet Resourc* 21: 73-95.

Kuroda Y, Kaga A, Tomooka N, Vaughan DA. 2008. Gene Flow and Genetic Structure of Wild Soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science* 48: 1071-1079.

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.

Lee K, Lee SM, Park S, Jung J, Moon J, Cheong J, Kim M. 2007. Overexpression of *Arabidopsis* homogentisate phytyltransferase or tocopherol cyclase elevates vitamin E content by increasing  $\gamma$ -tocopherol level in lettuce (*Lactuca sativa* L.). *Mol. Cells* 24: 301-306.

Maiti I, Gowda S, Kiernan J, Ghosh SK, Shepherd R. 1997. Promoter/leader deletion analysis and plant expression vectors with the figwort mosaic virus (FMV) full length transcript (FLt) promoter containing single or double enhancer domains. *Transgenic Res* 6: 143-156.

Matringe M, Sailland A, Pelissier B, Rolland A, Zink O. 2005. *p*-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitor-resistant plants. *Pest Manag Sci* 61: 269-276.

Mizuguchi A, Yoshimura Y, Ohigashi K, Matsuo K. 2008. Analysis of flowering phenology overlapping between *Glycine soja* and *G. max* in Japan. *J Weed Sci Tech* 53 (Sup.): 148.

Mizuguti A, Yoshimura Y, Matsuo K. 2009. Flowering phonologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed Biology and Management* 9: 93-96.

Mizuguti A, Ohigashi K, Yoshimura Y, Kaga A, 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. *Environ Biosafety Res.* 9: 13-23

Moran G. 2005. 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 433: 117-128.

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.

農業技術体系. 2008a. 作物編第6巻 ダイズ・アズキ・ラッカセイ. 2008年追録第30号. 社団法人 農山漁村文化協会. 基礎編 pp.17-99.

農業技術体系. 2008b. 作物編第6巻 ダイズ・アズキ・ラッカセイ. 2008年追録第30号. 社団法人 農山漁村文化協会. 基本技術編 pp.85-87.

農林水産省大臣官房統計部. 2011. 農林水産統計. 平成22年産大豆の収穫量 (第2報) 平成23年4月20日公表.

[http://www.maff.go.jp/j/tokei/pdf/syukaku\\_daizu2\\_10.pdf](http://www.maff.go.jp/j/tokei/pdf/syukaku_daizu2_10.pdf) (accessed Nov 20, 2011)

農林水産省 大豆のホームページ. 大豆のまめ知識.

[http://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/daizu/d\\_tisiki/index.html](http://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/daizu/d_tisiki/index.html) (accessed Nov 29, 2011)

農林水産省食料産業局食品製造卸売課. 2011. 油糧生産実績調査 平成 22 年 (1~12 月) 月別油糧生産実績表. 農林水産省総合食料局食品産業振興課.

<http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/oil/index.html> (accessed Nov 20, 2011)

OECD. 1999. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11. Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. ENV/JM/MONO(99)13.

OECD. 2000. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 15. Consensus Document on the Biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean). ENV/JM/MONO(2000)9.

OECD. 2002. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 25. Module II: Phosphinothricin. ENV/JM/MONO(2002)14.

Ow DW, Jacobs JD, Howell SH. 1987. Functional regions of the cauliflower mosaic virus 35S RNA promoter determined by use of the firefly luciferase gene as a reporter of promoter activity. *Proc Natl Acad Sci USA* 84: 4870-4874.

Purpero VM, Moran GR. 2006. Catalytic, noncatalytic, and inhibitory phenomena: kinetic analysis of (4-hydroxyphenyl)-pyruvate dioxygenase from *Arabidopsis thaliana*. *Biochemistry* 45: 6044-6055.

Rippert P, Matringe M. 2002. Purification and kinetic analysis of the two recombinant arogenate dehydrogenase isoforms of *Arabidopsis thaliana*. *European Journal of Biochemistry* 269: 4753-4761.

Rippert P, Scimemi C, Dubald M, Matringe M. 2004 Engineering plant shikimate pathway for production of tocotrienol and improving herbicide resistance. *Plant Physiol* 134: 92-100.

生化学辞典. 2007. 第 4 版. 今堀和友, 山川民夫監修. 株式会社 東京化学同人. p.781.

食品安全委員会. 2010. 農薬評価書 グルホシネート. 食品健康影響評価の結果の通知について (平成 22 年 2 月 25 日付け府食第 139 号)

新版 日本原色雑草図鑑. 1975. 沼田真, 吉沢長人編. 株式会社 全国農村教育協会. p.107.

新編 農学大事典. 2004. 山崎耕宇, 久保祐雄, 西尾敏彦, 石原邦監修. 株式会社 養賢堂. pp.466-470.

Siehl DL. 1999. The biosynthesis of tryptophan, tyrosine, and phenylalanine from chorismate. *In*: Singh BK (Ed.), Plant amino acids: biochemistry and biotechnology. Marcel Dekker Inc, New York, pp.171-204.

Stavolone L, Ragozzino A, Hohn T. 2003. Characterization of Cestrum yellow leaf curling virus: a new member of the family Caulimoviridae. *J Gen Virol* 84: 3459-3464.

Strickberger MW. 1976. Probability and statistical testing. *In: Genetics*, 2nd ed., New York: Macmillan Publishing Company, pp.140-163.

鄭紹輝. 2008. 11 ダイズ. 大門弘幸編著. 作物学概論. 朝倉書店. pp.132-146.

Tsegaye Y, Shintani DK, DellaPenna D. 2002. Overexpression of the enzyme *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase in *Arabidopsis* and its relation to tocopherol biosynthesis. *Plant Physiology and Biochemistry* 40: 913-920.

Wang K, Herrera-Estrella L, Van Montagu M, Zambryski P. 1984. Right 25 bp terminus sequence of the nopaline T-DNA is essential for and determines direction of DNA transfer from *Agrobacterium* to the plant genome. *Cell* 38: 455-462.

Wohlleben W, Arnold W, Broer I, Hillemann D, Strauch E, Pühler A. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin *N*-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* 70: 25-37.

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.

財務省. 2011. 貿易統計. <http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>  
(accessed Nov 20, 2011)

Zambryski P, Depicker A, Kruger K, Goodman HM. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: analysis of the boundaries of T-DNA. *J Mol Appl Genet* 1: 361-370.

Zbierzak AM, Kanwischer M, Wille C, Vidi PA, Giavalisco P, Lohmann A, Briesen I, Porfirova S, Brehelin C, Kessler F, Dormann P. 2010. Intersection of the tocopherol and plastoquinol metabolic pathways at the plastoglobule. *Biochemical Journal* 425: 389-399.

## 緊急措置計画書

平成 24 年 1 月 20 日

氏名 シンジェンタジャパン株式会社  
 代表取締役社長 ステファン・ティッツェ  
 住所 東京都中央区晴海一丁目 8 番 10 号  
 オフィスタワー X

第一種使用規程の承認を申請している除草剤メソトリオン及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 *avhppd, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (SYHT0H2, OECD UI:SYN-000H2-5) (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可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定のために関係機関への協力等を必要に応じて行う。更に、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、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は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。

## 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

## 生物多様性影響管理委員会委員名簿 (平成 24 年 1 月現在)

氏名	所属	電話番号
(管理責任者)	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部	
	シンジェンタジャパン株式会社 コーポレートアフェアーズ	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト	

(個人名・職名・電話番号は個人情報により非開示)

## 2 第一種使用等の状況の把握の方法

試験栽培の担当者から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

## 3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法

本組換えダイズの使用に伴い生物多様性影響を生ずるおそれがあると認めた場合には、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使用等をしている者に連絡するとともに、弊社のホームページにおいて情報提供を行い、問い合わせ専用窓口を設置する。

## 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るための具体的な措置の内容

具体的な措置として、特定された問題に応じ、本組換えダイズの環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換えダイズがあった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること等、必要な措置を実施する。

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

本組換えダイズが我が国において生物多様性影響を及ぼすおそれがあると認められた場合は、速やかに、農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。

## モニタリング計画書

平成 24 年 1 月 20 日

氏名 シンジェンタジャパン株式会社  
 代表取締役社長 ステファン・ティツェ  
 住所 東京都中央区晴海一丁目 8 番 10 号  
 オフィスタワー X

## 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表 7 のとおりである。

表 7 モニタリング実施体制（平成 24 年 1 月現在）

氏名	所属	電話番号
*	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部	
	シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部	

\*管理責任者

(個人名・職名・電話番号は個人情報により非開示)

## 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

ツルマメ(*Glycine soja*)

- 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の範囲内においてモニタリングを実施する。

- 4 モニタリングの期間

本組換えダイズの栽培期間中に実施する。

- 5 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 集団当たり最低50粒の種子をサンプリングする。
- 3) 2)によりツルマメの生育が認められない場合には、さらに隔離ほ場から50mの範囲内で調査可能な範囲において、2)と同様の作業を行う。
- 4) 採取したツルマメ種子に、改変*avhppd*遺伝子もしくは*pat*遺伝子が移行しているかどうかを検定する。検定方法は収集されたサンプルの量等を考慮の上で適宜決定する。

- 6 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。

- 7 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、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)の申請時に添付する。

- 8 その他必要な事項

モニタリングの期間中に採取されたツルマメから改変*avhppd*遺伝子もしくは*pat*遺伝子が検出される等、当該遺伝子のツルマメへの移行あるいは移行が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。



隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書

第 1 受容環境

1. 隔離ほ場の所在地等

(1) 名称

シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト 隔離ほ場

(2) 住所

静岡県島田市神座 138 番地

(3) 電話番号

0547-32-1000

(4) 地図

図 6 (46ページ)参照

2. 責任者等

(1) 隔離ほ場試験の責任者

(シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 バイオテクノロジーレギュラトリー部)  
(個人名・職名は個人情報により非開示)

(2) 隔離ほ場管理責任者

(シンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト) (個人名・職名  
は個人情報により非開示)

3. 試験期間

承認日から平成 26 年 3 月 31 日まで



図 6 隔離ほ場周辺図

地図は国土地理院、1:25,000 地形図、「八高山」及び「向谷」をつなぎ合わせて編集した。  
中心部に示したのがシンジェンタジャパン株式会社 研究開発本部 中央研究所 神座サイト。  
(本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

#### 4. 施設概要

部外者の立入りを禁止するための施設(フェンスや標識)及び組換え体がほ場外に流出することを防ぐための各種設備(洗い場、防鳥網、防風網、排水溝、オートクレーブ等)を設置している。

#### 5. 面積

##### (1) 隔離ほ場全体の面積

約 920m<sup>2</sup>

##### (2) 試験に使用する面積

約 120 m<sup>2</sup>

##### (3) 試験区の配置図

図 7 (47ページ)及び図 8 (48ページ)に隔離ほ場配置図を示した。

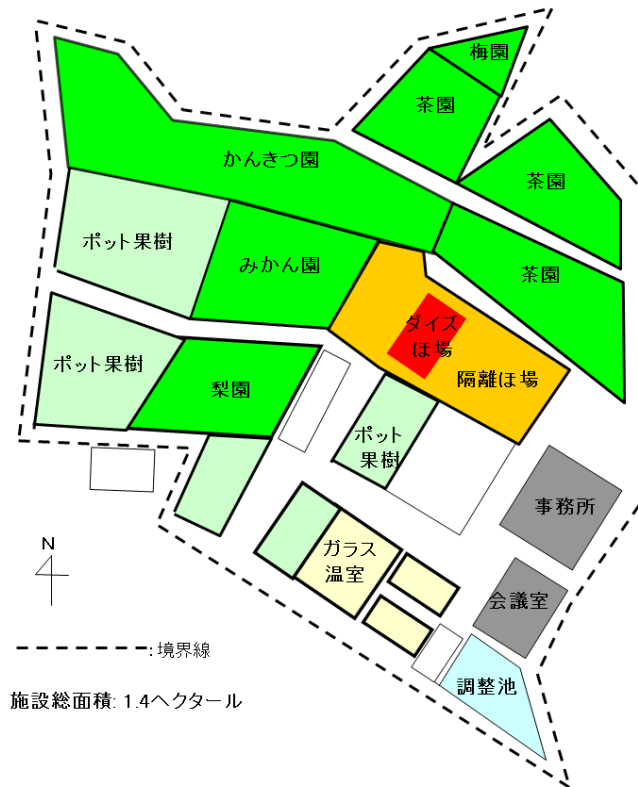


図 7 隔離ほ場配置図-1: 研究所敷地内における隔離ほ場の配置

(本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する)

社外秘情報により非開示

図 8 隔離ほ場配置図-2：隔離ほ場及びその周辺の配置

## 6. 隔離ほ場の周辺環境

### (1) 隔離ほ場周辺の地形

島田市は、静岡県のほぼ中央に位置する。北には南アルプスへ続く山々が連なり、南西には牧之原台地が広がる。また、南アルプスに源を発し、駿河湾にそそぐ大井川が市内を流れている（静岡県島田市ホームページ、<http://www.city.shimada.shizuoka.jp/hisyokouhou/syoukai/map/place.jsp>）。

研究所周辺には用水路が、隔離ほ場から約 500m 離れた場所には大井川があるものの、隔離ほ場は研究所内の高台に建設されていることから、浸水する可能性は極めて低い。なお、2011年1月20日時点の調査では、大井川の水面から、隔離ほ場内の除草剤メソトリオン及びグルホシネート耐性ダイズSYHT0H2栽培予定地までの高さは約13mであった。

### (2) 土地利用状況

隔離ほ場の周辺は、水田・畑・民家・道路・用水路として利用されている。

### (3) 周辺の環境保護区

隔離ほ場より半径 1km 圏内に環境省の定める自然保護地域(国立公園、国定公園、原生



自然環境保全地域、自然環境保全地域等)はない。また、最も近い自然保護地域は、大井川源流部の原生自然環境保全地域(静岡県榛原郡本川根町)であり、隔離ほ場からの距離はほぼ 45km である。

#### (4) 気象条件の平年値

隔離ほ場の最寄りの気象情報観測地点である菊川牧之原アメダス観測所(静岡県菊川市)における気象データの平年値を表 8 (49ページ)に示した。

表 8 菊川牧之原アメダス観測所(静岡県菊川市)における気象データの平年値

(気象庁ホームページ気象統計情報ページよりダウンロード、アクセス 2011 年 11 月 15 日、  
[http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml\\_amd\\_ym.php?prec\\_no=50&prec\\_ch=%90%C3%89%AA%8C%A7&block\\_no=1335&block\\_ch=%8Be%90%EC%96q%94V%8C%B4&year=&month=&day=&elm=normal&view](http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_amd_ym.php?prec_no=50&prec_ch=%90%C3%89%AA%8C%A7&block_no=1335&block_ch=%8Be%90%EC%96q%94V%8C%B4&year=&month=&day=&elm=normal&view))

要素	降水量(mm)	平均気温(°C)	最高気温(°C)	最低気温(°C)	平均風速(m/s)	日照時間(時間)
統計期間	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1988～2010
資料年数	30	30	30	30	30	23
<a href="#">1月</a>	69.7	4.5	9.6	0.3	2.0	194.1
<a href="#">2月</a>	93.6	5.2	10.5	0.7	2.1	178.0
<a href="#">3月</a>	191.5	8.3	13.5	3.8	2.3	185.0
<a href="#">4月</a>	206.2	13.3	18.5	8.9	2.3	193.0
<a href="#">5月</a>	207.4	17.4	22.2	13.3	2.2	185.5
<a href="#">6月</a>	284.9	20.6	24.9	17.4	2.0	132.7
<a href="#">7月</a>	243.0	24.2	28.5	21.3	1.8	158.6
<a href="#">8月</a>	217.0	25.4	29.7	22.4	2.0	206.8
<a href="#">9月</a>	287.5	22.4	26.5	19.4	2.3	156.6
<a href="#">10月</a>	192.7	17.3	21.7	13.9	2.4	159.7
<a href="#">11月</a>	124.7	12.2	16.9	8.2	2.1	168.8
<a href="#">12月</a>	59.9	7.0	12.1	2.7	1.9	198.5
年	2157.1	14.8	19.5	11.0	2.1	2121.6

#### (5) 台風の襲来歴

隔離ほ場のある東海地方への過去 10 年間の台風の接近数を表 9 (50ページ)に示した。

表 9 東海地方への過去 10 年間の台風の接近数

(気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アクセス 2012 年 2 月 20 日、  
<http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accesion/tokai.html>)

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
2011					1		1		2				4
2010								1	1	1			3
2009								2		2			4
2008								1	1				2
2007							1		1	1			3
2006								1					1
2005							1	1	1				3
2004					1	2	1	2	2	2			10
2003								1	1				2
2002							2	1		1			4

(6) 過去 10 年の隔離ほ場冠水の状況

隔離ほ場は 2005 年に建設されたが、現在までに冠水したことはない。また、研究所内の他のほ場においても、過去 50 年にわたって冠水していない。

(7) 強風による被害の状況

防風網を設置していることから、強風による被害は受けにくく、過去に隔離ほ場内で栽培した作物が強風により大きな被害を受けたことはない。

(8) ハザードマップ

島田市が作成した洪水ハザードマップ(島田市ホームページ、  
[http://www.city.shimada.shizuoka.jp/mpsdata/web/5799/hm\\_01\\_1.pdf](http://www.city.shimada.shizuoka.jp/mpsdata/web/5799/hm_01_1.pdf))において、隔離ほ場周辺は土石流危険区域に該当するが、過去 10 年において被害を受けたことはない。

(9) 周辺における鳥獣害の被害

隔離ほ場の周辺地域では、イノシシをはじめ、鳥獣による農作物への被害が知られてい

る。ただし、隔離ほ場にはフェンス及び防鳥網が設置されていることから、過去に鳥害獣の被害は受けていない。

## 7. 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(*Glycine soja*)

## 8. 栽培管理

- (1) 栽培履歴

隔離ほ場における過去3年間の栽培履歴は、以下の通りである。

### 2011年

- ・ 遺伝子組換えトウモロコシ及び対照のトウモロコシ：5月～9月
- ・ 遺伝子組換えダイズ及び対照のダイズ：9月～12月
- ・ 緑肥作物：3月～7月、9月～12月

### 2010年

- ・ 遺伝子組換えトウモロコシ及び対照のトウモロコシ：5月～12月
- ・ 緑肥作物：1月～12月

### 2009年

- ・ 遺伝子組換えトウモロコシ及び対照のトウモロコシ：5月～10月
- ・ 緑肥作物：1月～6月及び9月～12月

- (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したが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）

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

- 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、組換え作物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、当該作物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、花粉の飛散を減少させるための防風網及び鳥害を防ぐための防鳥網を設置している。

② 隔離ほ場での作業要領

- 1) 組換え作物及び比較対照の作物以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- 2) 組換え作物を隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該作物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する場合を除き、組換え作物の栽培終了後は、当該作物及び比較対照の作物を隔離ほ場内に鋤込む等により、確実に不活化する。
- 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、意図せずに組換え作物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。
- 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実施計画書に基づき、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。



## 第2 隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画

社外秘情報により非開示