

<p>除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ (<i>pat</i>, 改変 <i>dmo, ft_1.1, tdo, Glycine max (L.) Merr.</i>) (MON94313, OECD UI: MON-94313-8) 申請書等の概要</p>
--

第一種使用規程承認申請書 .....	1
生物多様性影響評価書の概要 .....	4
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報 .....	4
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報 .....	4
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況 .....	4
① 和名、英名及び学名 .....	4
② 宿主の品種名又は系統名 .....	4
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域 .....	4
(2) 使用等の歴史及び現状 .....	5
① 国内及び国外における第一種使用等の歴史 .....	5
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途 .....	5
(3) 生理学的及び生態学的特性 .....	6
イ 基本的特性 .....	6
ロ 生息又は生育可能な環境の条件 .....	7
ハ 捕食性又は寄生性 .....	7
ニ 繁殖又は増殖の様式 .....	7
① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命 .....	7
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 .....	8
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 .....	8
④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命 .....	11
ホ 病原性 .....	12
ヘ 有害物質の産生性 .....	12
ト その他の情報 .....	12
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 .....	12
(1) 供与核酸に関する情報 .....	13
イ 構成及び構成要素の由来 .....	13
ロ 構成要素の機能 .....	13
① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカーその他	

の供与核酸の構成要素それぞれの機能.....	13
② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨.....	20
③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容.....	25
(2) ベクターに関する情報.....	29
イ 名称及び由来.....	29
ロ 特性.....	30
① ベクターの塩基数及び塩基配列.....	30
② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能.....	30
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.....	30
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	30
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成.....	30
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法.....	30
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過.....	31
① 核酸が移入された細胞の選抜の方法.....	31
② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウムの菌体の残存の有無.....	31
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.....	31
(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.....	33
① 移入された核酸の複製物が存在する場所.....	33
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.....	35
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.....	38
④ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性.....	38
⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動物等に伝播されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度.....	41
(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.....	41
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	41

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 .....	41
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 .....	41
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 .....	42
(1) 使用等の内容 .....	42
(2) 使用等の方法 .....	42
(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 .....	43
(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 .....	43
(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 .....	44
(6) 国外における使用等に関する情報 .....	44
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 .....	45
1 競合における優位性 .....	45
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....	45
(2) 影響の具体的な内容の評価 .....	45
(3) 影響の生じやすさの評価 .....	46
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 .....	46
2 有害物質の産生性 .....	46
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....	46
(2) 影響の具体的な内容の評価 .....	46
(3) 影響の生じやすさの評価 .....	47
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 .....	47
3 交雑性 .....	47
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 .....	47
(2) 影響の具体的な内容の評価 .....	47
(3) 影響の生じやすさの評価 .....	47
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 .....	49
4 その他の性質 .....	49
第三 生物多様性影響の総合的評価 .....	50
参考文献 .....	52
緊急措置計画書 .....	63
隔離ほ場試験計画書 .....	65

モニタリング計画書 .....	77
別添資料リスト .....	82

本評価書に掲載されている情報を無断で複製・転載することを禁ずる。

## 第一種使用規程承認申請書

2022年11月1日

農林水産大臣 野村 哲郎 殿  
環境大臣 西村 明宏 殿

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社  
申請者 代表取締役社長 坂田 耕平  
住所 東京都千代田区丸の内一丁目6番5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。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ (<i>pat</i>, 改変 <i>dmo</i>, <i>ft_t.1</i>, <i>tdo</i>, <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON94313, OECD UI: MON-94313-8)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地  名称：バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場  使用期間：承認日から 2029 年 5 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1) 部外者の立入を防止するため、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を設置している。また、播種時及び成熟期には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。</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象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象の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。</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) までに掲げる事項について第一種使用等を行う者に遵守させる。</p> <p>(7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。</p> <p>(8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。</p>
--	--

## 生物多様性影響評価書の概要

### 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

#### 5 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

##### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

###### ① 和名、英名及び学名

10

和名：ダイズ

英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

15

###### ② 宿主の品種名又は系統名

遺伝子導入に用いた宿主の品種名は A3555 である。

###### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

20

ダイズは、マメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属する夏型一年生の栽培種であり、自生しているという報告はない (OECD, 2000)。

25

*Soja* 亜属には、栽培種であるダイズの他に、野生種として *G. soja* (和名: ツルマメ) や *G. gracilis* も含まれる (OECD, 2000)。細胞学的、形態学的及び分子生物学的知見から、栽培種であるダイズ (*G. max*) は野生種である *G. soja* が祖先と考えられており、一方、*G. gracilis* は、*G. soja* から *G. max* への分化における中間種若しくは *G. soja* と *G. max* の雑種であるという報告があるが (OECD, 2000)、確認はされていない。これらの野生種のうち、わが国に分布しているのはツルマメのみであり、*G. gracilis* の分布は認められていない (吉村ら, 2016)。なお、ツルマメは、中国、韓国、日本、台湾及びロシアに分布しており (OECD, 2000)、わが国においては北海道から九州南部まで分布し、日当たりのよい野原、路傍、河原の氾濫原や土手、畑の周辺や荒廃地など、適度の攪乱にさらされる場所を主な生育地としている (吉村ら, 2016)。また、関東地方の湿潤地においては路傍、野原、河川敷、荒れ地、畑地などで生育を観ることができるが、北海道においては河川敷に限定されている (吉村ら, 2016)。

35



5           なお、1950年代にダイズとツルマメの形態的中間型を示す個体としてオオ  
バツルマメが岡山県で確認されており(阿部・島本, 2001)、その形態がダイズ  
に近かったことから、通常のツルマメと比べて、ダイズと交雑する可能性が  
10           高いことが予想された。しかし、10年以上にわたり、日本各地より800近い  
集団からツルマメの収集を行った中に、オオバツルマメのような形態的中間  
型を示す個体は見つかっていないという報告があることから(阿部・島本,  
2001)、仮にこのような形態的中間型の個体がわが国で自生していたとしても、  
その生育範囲はかなり限られていることが予想される。

## 10           (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

15           ダイズは紀元前17~11世紀頃に中国東部において栽培化されたと推定され  
ている(OECD, 2000)。一方で近年の研究によれば、ダイズの栽培化は  
9,000~5,000年前には日本、中国、韓国などの複数の場所で進んでおり、日本  
における栽培化は縄文時代中期以前に遡ると推定されている(Lee et al., 2011)。  
現在の主要栽培国である米国へは1765年に導入されている(OECD, 2000)。

### ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

20           国際連合食糧農業機関(FAO)の統計情報によると、2020年の全世界におけ  
るダイズの栽培面積は約12,695万haであり、上位国を挙げるとブラジルが約  
25           3,719万ha、米国が約3,331万ha、アルゼンチンが約1,672万ha、インドが約  
1,210万haとなっている。なお、同統計情報に基づく2020年のわが国における  
栽培面積は、約14.2万haであった(FAO, 2022)。

30           わが国でのダイズの慣行栽培法は、以下のとおりである。播種適期は北海  
道地方で5月下旬、東北地方南部、北陸・東山地方で6月上旬、関東地方で6  
月中旬、東海地方以西中国地方までは6月下旬、九州地方で4月上旬から下  
旬(夏ダイズ)及び7月上旬から8月上旬(秋ダイズ)となる。播種密度は、品  
種や栽培条件によって異なるが、早生品種、寒地又は遅播きの場合などでは  
35           密植が行われる。雑草の防除については、生育期間中に除草を早めに行い、  
初期の雑草を抑えれば、やがてダイズの茎葉が繁茂してくるので、雑草は比  
較的発生しにくくなる。また病害虫の防除は、ダイズの栽培で最も大切な作

業の一つであり、生育初期の害虫に対しては早めに薬剤散布を行う。収穫は、抜き取るか地ぎわから刈り取り、これを地干し、又は掛け干しして乾燥し脱粒機で脱粒する方法と、コンバインで刈り取り・脱粒を一緒に行う方法とがある(栗原ら, 2000)。

5

2021年のわが国におけるダイズの輸入量は、約 327.1 万トンであり、上位国を挙げると米国から 248.2 万トン、ブラジルから 49.5 万トン、カナダから 27.2 万トン輸入されている(財務省, 2022)。2021年のわが国におけるダイズの生産量は約 24.7 万トンである(農林水産省, 2022a)。

10      ダイズの国内消費仕向量は、2020年に 349.8 万トンで、内訳は油糧用(加工用のうち製油用のもの) 229.0 万トン、食用(製油用を除く加工用のもの及び純食料) 105.3 万トン、飼料用 8.4 万トン、種子用 0.8 万トンとなっている。国産ダイズはほぼ全量が食用に用いられる(農林水産省, 2022b; 農林水産省, 2022c)。なお、2021年に海外から輸入された播種用のダイズは中国からの 15 トンのみ  
15      である(財務省, 2022)。一般に海外における種子生産の際には異品種の混入を避けるために隔離措置がとられており、わが国に輸入される際には、コンテナにバラ積みされることはなく、袋又は箱詰めされる。

### (3) 生理学的及び生態学的特性

20

#### イ 基本的特性

ダイズは、種子繁殖する一年生の双子葉作物であり、子葉は対生し、次に卵形の初生葉が子葉と直角に対生して、それ以降は 3 片の小葉からなる複葉  
25      を生ずる。茎は主茎と分枝に分けられる。茎の伸長の型に基づいて有限伸育型と無限伸育型に分けられ、両者の中間型を呈するものも知られている。根は主根と側根とに分けられる。発芽後 2~3 週間すると根粒菌の寄生により根に根粒が見え始める。根粒菌は播種後 20~30 日以内には空中窒素の固定を始める。一般にダイズは固定窒素を利用し、固定窒素の利用率は植物体全体に  
30      含まれる窒素の 25~30%程度から 67%に及ぶ。なお、以前にダイズが栽培されたことのない畑にダイズを作付けするときには根粒菌を接種する必要がある。その効果は著しい。花は多く、十数花が集まって花房をなす。雄ずいは 10 本あり、うち一本が離れており、それぞれが葯をもっている。雌ずいは 1  
35      本で、その基部に子房があり 1~5 個の胚珠を内蔵している。莢は子房の心皮に由来し、莢に含まれる子実の数は 1~3 個が普通で、稀に 5 粒のものがある(後藤, 2001)。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

5       ダイズ種子の発芽適温は 30~35 °C、最低発芽温度は 2~4 °C であり、10 °C  
以下での発芽は極めて悪い (昆野, 2001)。ダイズの花芽分化には日長と温度が  
大きく影響する。花芽分化には、ある時間以上の暗期が必要で、温度は  
15 °C 以上を要し 25 °C 前後までは高いほど促進的に働く。短日高温では開花  
10       を促進する効果は大きいですが、長日高温では促進効果がないか、かえって遅れ  
ることがある (昆野, 2001)。生育に適する土壤水分は、飽和水分の 70%とされ  
ている。土壤の最適 pH は 6.0~6.5 であるが、pH4~7 の範囲では生育、収量と  
ともに大差なく、土壤に対する適応性は広い (後藤, 2001)。ダイズの栽培適地は、  
生育期間中やや高温、多照で適湿であることが望ましいとされているが、品  
種改良がすすむにつれて栽培地域は拡大してきている (後藤, 2001)。

15       なお、わが国において、ダイズが雑草化した事例はこれまで報告されてい  
ない。

ハ 捕食性又は寄生性

20       —

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

25       ダイズの莢は完熟すると褐色に変化し、乾燥が進むと莢殻が裂開し種子を  
弾き出す (喜多村・国分, 2004)。裂莢性には品種間差があり、一般に米国の無  
限伸育型品種は難裂莢性であるのに対し、わが国の品種は易裂莢性である  
(大庭, 2001)。

30       栽培種のダイズ種子が休眠性を示すことは滅多にない (OECD, 2000)。種子  
の発芽力は、常温では約 3 年で失われる。種子の発芽力は色々な条件に影響  
されるが、最も影響のあるものは貯蔵中の温度と種子の含水率である。この  
ほか、種子の発芽力は、収穫時の機械的障害や、成熟種子がほ場で多湿や乾  
燥の条件に繰り返しあったとき、未熟種子が霜害を受けたときに早く失われ  
35       る (昆野, 2001)。

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

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

ダイズの雄ずいは受粉のときまでに葯が柱頭の周りに輪を作るような位置に伸びており、花粉が直接柱頭に落ち、高い率で自家受粉する。他殖率は極めて少なく、0.5~1%以下である。一株の開花期間は3~4週間が普通であり、後期に開花したものは胚珠が少なく、花粉の異常なものもあり、莢にならずに落下するものが多く、最終的に生産に寄与する花は比較的初期に開花したものである。受粉は開花前に蕾の中で行われる。早生品種などで、開花時期に達してもまだ温度が低いときなどに、開花せずに閉花受粉することがある(昆野, 2001)。

わが国には、ダイズと交雑可能な近縁野生種として、ツルマメが分布している(吉村ら, 2016)。ダイズと同様、ツルマメは、通常開花前に開葯し受粉が完了する上に、開花期の後半はほとんどの花が開花しない閉花受粉であるため(阿部・島本, 2001)、典型的な自殖性植物であると考えられている。ツルマメにおける他殖率は平均で2.3%(Kiang et al., 1992)と報告されている。

他殖率に影響を与える条件として、開花フェノロジー、花粉媒介者の存在、親個体間の距離が挙げられている(Mizuguti et al., 2009; Kuroda et al., 2010)。ダイズとツルマメの開花期に関し、ツルマメは8月上旬から9月下旬にかけ(吉村ら, 2016)、通常ダイズより遅い時期に開花する(Nakayama and Yamaguchi, 2002)。農業環境技術研究所<sup>1</sup>によるほ場試験では、遺伝子組換えダイズとツルマメの開花最盛期には34日間の差があったことが報告されている(Mizuguti et al., 2010)。ダイズとツルマメにおける開花期のずれは両者の遺伝子交流を妨げる一因と考えられている(阿部・島本, 2001)。

また花粉媒介者の存在に関し、ダイズの開花期にミツバチの巣箱をダイズほ場の中心に設置した場合、ダイズ間の他殖率は平均で2.96~7.26%となり、局所的には19.5%に達したと報告されている(Abrams et al., 1978)。また、ツルマメ間の他殖率に関しても、秋田県雄物川流域で約13%という高い他殖率を

<sup>1</sup> 現在の農業・食品産業技術総合研究機構

示す集団が発見されたとの報告がある (Fujita et al., 1997)。この高い他殖率の原因が、雄物川流域特有の環境条件によるものなのか、若しくは集団内の遺伝的特性によるものなのかは明らかにされていない。ただし、雄物川流域のツルマメの集団は、護岸工事等による環境の攪乱が行われておらず、集団サイズが大きく、訪花昆虫にとっては非常に魅力的な食料供給源であり、このツルマメ集団の周辺では花粉を媒介する昆虫であるミツバチやクマバチ等が頻繁に観察されていた。このことから、このツルマメ集団の周辺の環境には、他家受粉を引き起こす要因が通常よりも多く存在していたと考えられる (Fujita et al., 1997)。

10 これまでに、ダイズとツルマメとの種間交雑試験がわが国で複数実施されており、両者の開花時期の重なりや栽培距離などが異なる様々な条件下での交雑率が調査されている。Nakayama and Yamaguchi (2002) は、ダイズとツルマメの間の交雑率を調査する目的で、丹波黒を用いた交雑試験を行っている。その理由として、奥原早生や鶴の子大豆といった品種ではダイズとツルマメの15 開花期が全く重ならないか、重なるとしても数日であるが、丹波黒はダイズ品種の中で開花期が遅いため、ダイズとツルマメの開花期が 2 週間程度重複したと報告している。こうした条件下で、丹波黒とツルマメを 50 cm 間隔でそれぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調査した。結実したツルマメから採種された 686 個の種子から植物体を生育させた結果、ダイズとツルマメの雑種であると判断された植物体が 5 個体認められたことから、その交雑率は 0.73%と報告されている (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。

また、農業環境技術研究所において、2005 年に除草剤グリホサート耐性の遺伝子組換えダイズとツルマメを 5 cm 離して異なる 3 つの播種日で栽培し、ツルマメ個体の収穫種子を調査したところ、ダイズと自然交雑した交雑種子は、それぞれの播種日で 7,814 粒中 0 粒、12,828 粒中 0 粒及び 11,860 粒中 1 粒 (0.008%) であり、この交雑種子は、ダイズの播種時期をずらして両種の開花最盛期を最も近くした群から見つかったと報告されている (Mizuguti et al., 2009)。

さらに、農業環境技術研究所は、2006 年及び 2007 年に、除草剤グリホサート耐性の遺伝子組換えダイズとツルマメの交雑率に開花期及び距離的要因が及ぼす影響のより詳細な検討を行っている (Mizuguti et al., 2010)。遺伝子組換えダイズとツルマメを近接させて栽培した場合 (距離 0 m)、遺伝子組換えダイズと自然交雑した交雑種子数は、2006 年の試験では 44,348 粒中 0 粒、両者の開花期間の重複が 2006 年の試験より長くなった 2007 年の試験では 25,741 粒中 35 粒 (0.14%) であった (Mizuguti et al., 2010)。また、遺伝子組換えダイズから 2、4、6、8 及び 10 m 離してツルマメを栽培した場合、自然交雑した交

雑種子は、2006年の試験ではいずれの距離でも確認されず(68,121粒中0粒)、2007年の試験では、2、4及び6mの区(7,521、7,485及び14,952粒)でそれぞれ1個体ずつ得られたが、8及び10mの区(14,964及び21,749粒)では確認されなかったと報告されている(Mizuguti et al., 2010)。

5 よって、ダイズとツルマメ集団が隣接して生育し、かつ開花期が重なり合う場合は低頻度で交雑しうるが、そのような特殊な条件の場合でも、ダイズとツルマメが交雑する頻度は極めて低いと考えられた。

10 実際に、1996年以降、遺伝子組換えダイズがわが国に輸入されているが、農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査(2009~2021年)では、複数のダイズ輸入港の陸揚げ地点から半径5km以内において、遺伝子組換えダイズとツルマメの交雑体は認められていない(農林水産省, 2011a; 農林水産省, 2011b; 農林水産省, 2012; 農林水産省, 2013; 農林水産省, 2014; 農林水産省, 2015; 農林水産省, 2017; 農林水産省, 2018b; 農林水産省, 2018a; 農林水産省, 2020; 農林水産省, 2021; 農林水産省, 2022d; 農林水産省, 2022e)。

15

ダイズとツルマメの雑種形成及びその後のダイズからツルマメへの遺伝子浸透に関しては、わが国において経時的な調査が行われている。ダイズからツルマメへの遺伝子流入の有無をDNAレベルで明らかにするために、先行調査によりダイズとツルマメの中間的な特徴をもつ個体が発見された地点を含む、秋田県、茨城県、佐賀県の7地点14ツルマメ個体群の種子1,344サンプルをマイクロサテライトマーカーで解析した結果、ダイズからツルマメへの遺伝子流入は確認されなかった(Kuroda et al., 2008)。さらに、ダイズとツルマメの雑種がどの程度自生地において形成されているかを確認するために、2003年から2006年にかけて、日本各地のダイズ畑周辺のツルマメ個体群においてダイズとツルマメとの中間体の大規模な探索が行われた。その結果、調査した189地点のうち、秋田県の1地点及び佐賀県の5地点のツルマメ個体群から、形態的にダイズとツルマメの中間的な特徴を持つ17個体の中間体が発見され、遺伝子型解析により、これらの中間体は全てダイズとツルマメの自然交雑に由来することが確認された。追跡調査の結果、これら発見された中間体はいずれも1年若しくは2年以内に自生地から消失し、これら中間体からツルマメへの二次的な遺伝子流入は確認されなかった(Kuroda et al., 2010)。このことから、わが国の自然環境でダイズからツルマメへの遺伝子浸透が起こることは稀であり、遺伝子組換えダイズからツルマメへの遺伝子浸透のリスクは非常に低いと論じられている(Kuroda et al., 2010)。

35 このように、ダイズとツルマメの雑種の生存が制限される理由として、雑種自体の競合性の低下が考えられる。ダイズは人為的な栽培環境に適応進化



1 cm<sup>2</sup> 当たりの花粉密度は最大 1.235 粒、ほ場内においては平均 0.386 粒であり、風媒による他殖の可能性はほとんどないと報告されている (Yoshimura, 2011)。また、訪花昆虫の種類は、主にアザミウマ類、カメムシ目の昆虫が観察されたと報告している (Yoshimura et al., 2006)。

5

ホ 病原性

—

10 ヘ 有害物質の産生性

ダイズにおいて、自然条件下で野生動植物等の生育又は生息に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

15 ト その他の情報

農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査では、これまでにダイズ輸入港周辺において遺伝子組換えダイズとツルマメの交雑体は認められていない (農林水産省, 2011a; 農林水産省, 2011b; 農林水産省, 2012; 農林水産省, 2013; 農林水産省, 2014; 農林水産省, 2015; 農林水産省, 2017; 農林水産省, 2018b; 農林水産省, 2018a; 農林水産省, 2020; 農林水産省, 2021; 農林水産省, 2022e; 農林水産省, 2022d)。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

25

バイエルグループは、複数の除草剤に対する耐性が付与された除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ (*pat*, 改変 *dmo*, *ft\_t.1*, *tdo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON94313, OECD UI: MON-94313-8) (以下、「本組換えダイズ」とする。) を作出した。

30 本組換えダイズには、*Streptomyces viridochromogenes* 由来の *pat* 遺伝子、*Stenotrophomonas maltophilia* 由来の改変 *dmo* 遺伝子、*Sphingobium herbicidovorans* 由来の R-2,4-ジクロロフェノキシプロピオン酸ジオキシゲナーゼ (R-2,4-dichlorophenoxypropionate dioxygenase, *rdpA*) 遺伝子を改変した *ft\_t.1* 遺伝子、及びイネ (*Oryza sativa*) 由来の *tdo* 遺伝子が導入されている。これらの遺伝子は、  
35 それぞれホスフィノスリシン N-アセチルトランスフェラーゼ (phosphinothricin N-acetyltransferase) 蛋白質 (以下、「PAT 蛋白質」とする。)、ジカンバモノオキ



シゲナーゼ (dicamba mono-oxygenase) 蛋白質 (以下、「改変 DMO 蛋白質」とする。)、FOPs 及び 2,4-D ジオキシゲナーゼ (fops and 2,4-D dioxygenase) 蛋白質 (以下、「FT\_T.1 蛋白質」とする。)、及びトリケトンジオキシゲナーゼ (triketone dioxygenase) 蛋白質 (以下、「TDO 蛋白質」とする。)を発現する。これらの蛋白質は、それぞれ本組換えダイズに除草剤グルホシネート耐性、除草剤ジカンバ耐性、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性、及びトリケトン系除草剤耐性を付与する。本組換えダイズは、作用機序の異なる複数の除草剤を様々な組み合わせさせた使用を可能し、農業生産者に対し難防除雑草や除草剤抵抗性雑草の効果的な管理のための複数の選択肢を提供する。

10 なお、本組換えダイズは米国、カナダ、ブラジル及びパラグアイで販売される予定であり、アリルオキシアルカノエート系除草剤及びトリケトン系除草剤のうち、販売の際に適用対象とする除草剤は、それぞれ 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) 及びメソトリオンである。グルホシネート、ジカンバ、2,4-D 及びメソトリオンの農薬ラベルには、本組換えダイズに使用することができる旨が記載される予定である。また、本組換えダイズの播種用種子袋のラベルには、  
15 適用対象の除草剤として、グルホシネート、ジカンバ、2,4-D 及びメソトリオンが指定される予定である。生産者は、農薬ラベル及び播種用種子袋のラベルの記載に従うよう法律で義務付けられている。

20 (1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

本組換えダイズの作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は、  
25 図 1 (p14) 及び表 1 (p15~19) に示した。本組換えダイズで発現する PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質の推定アミノ酸配列は別添資料 1 に示した。これらの蛋白質におけるアミノ酸改変の有無及びその詳細は第一の 2-(1)-ロ-② (p20~25) に記載した。

30 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

35 本組換えダイズの作出に用いられた供与核酸の機能は、表 1 (p15~19) に示した。

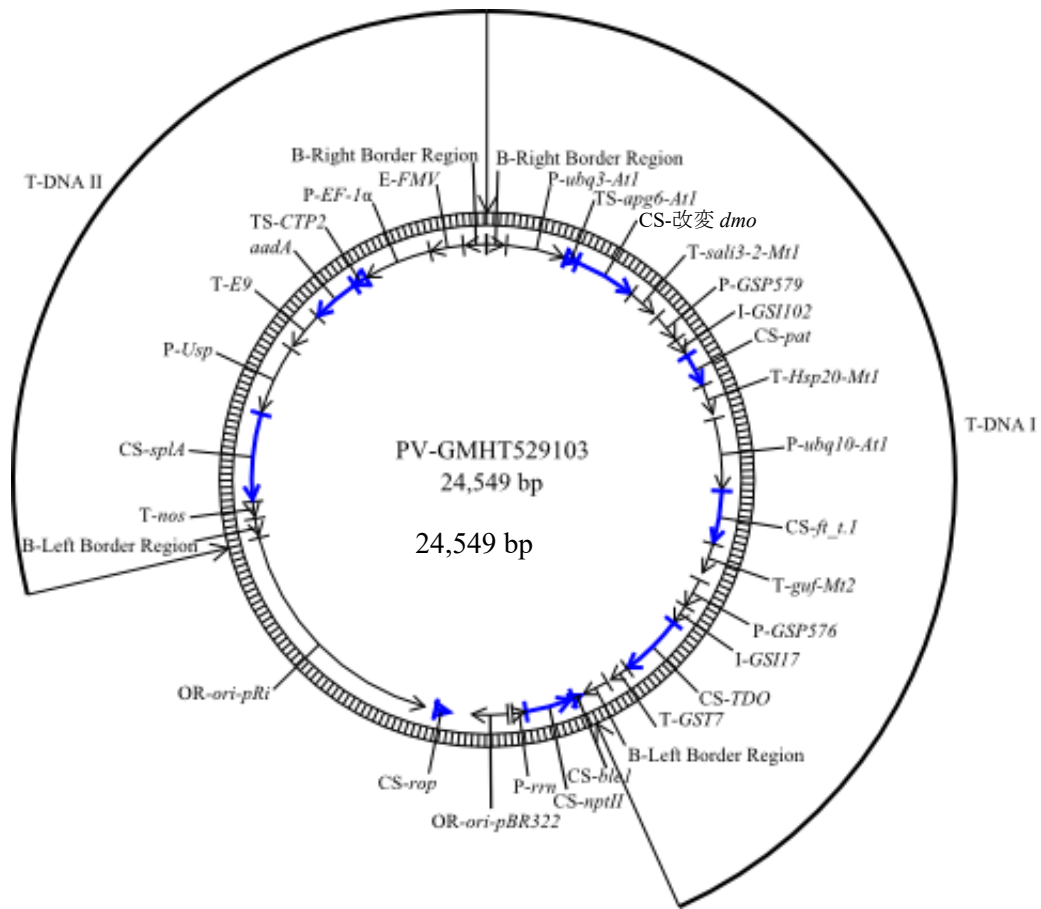


図1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 のプラスミドマップ<sup>2</sup>  
 5 本組換えダイズの育成過程で、上図の T-DNA I 領域はもつが、T-DNA II 領域はもたない個体を選抜した。

<sup>2</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

表1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能<sup>3</sup>

構成要素	プラスミド中の位置	由来及び機能
T-DNA I 領域		
B <sup>1</sup> -Right Border Region	1-285	<i>Rhizobium radiobacter</i> ( <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)。
Intervening Sequence	286-324	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
P <sup>2</sup> - <i>ubq3-At1</i>	325-1,332	シロイヌナズナ ( <i>Arabidopsis thaliana</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子 <i>ubq3</i> のプロモーター、リーダー及びイントロンで (Norris et al., 1993)、植物細胞における転写を誘導する。
TS <sup>3</sup> - <i>apg6-At1</i>	1,333-1,536	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の熱ショック蛋白質 (Hsp101) ホモログをコードしている <i>Albino and pale green 6</i> ( <i>ApG6</i> ) 遺伝子のターゲティング配列。目的蛋白質を葉緑体へと輸送する (Myouga et al., 2006)。
CS <sup>4</sup> -改変 <i>dmo</i>	1,537-2,559	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> 由来のジカンバモノオキシゲナーゼ (DMO) のコード配列 (Wang et al., 1997; Herman et al., 2005)。除草剤ジカンバ耐性を付与する。
Intervening Sequence	2,560-2,578	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
T <sup>5</sup> - <i>sali3-2-Mt1</i>	2,579-3,078	タルウマゴヤシ ( <i>Medicago truncatula</i> ) のアルミニウム誘導性遺伝子 <i>sali3-2</i> の 3'末端非翻訳領域の配列で (GenBank accession: ON111455)、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (Hunt, 1994)。
Intervening Sequence	3,079-3,156	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
P- <i>GSP579</i>	3,157-3,656	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の複数のプロモーター及び 5'末端非翻訳領域の配列を基に作成されたプロモーター及び 5'末端非翻訳領域の配列 (GenBank accession: ON111456) で、植物細胞における転写を誘導する (To et al., 2021)。
I <sup>6</sup> - <i>GSI102</i>	3,657-3,966	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の複数のイントロン配列を基に作成されたイントロン配列 (GenBank accession: ON111457) で、遺伝子発現の調節に関与する (To et al., 2021)。
Intervening Sequence	3,967-3,972	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。

<sup>3</sup> 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

表1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能(つづき)

構成要素	プラスミド中の位置	由来及び機能
CS- <i>pat</i>	3,973-4,524	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> に由来するホスフィノスリシン N-アセチルトランスフェラーゼ (PAT 蛋白質) のコード配列。除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (Wohlleben et al., 1988; Wehrmann et al., 1996)。
Intervening Sequence	4,525-4,532	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
T- <i>Hsp20-Mt1</i>	4,533-5,032	タルウマゴヤシ ( <i>M. truncatula</i> ) の熱ショック蛋白質をコードする推定 <i>Hsp20</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列 (GenBank Accession: OK149196) で、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (Hunt, 1994)。
Intervening Sequence	5,033-5,115	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
P- <i>ubq10-At1</i>	5,116-6,317	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来のポリユビキチン遺伝子 <i>ubq10</i> のプロモーター、リーダー及びイントロンで (Norris et al., 1993)、植物細胞における転写を誘導する。
Intervening Sequence	6,318-6,323	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
CS- <i>ft_t.1</i>	6,324-7,211	<i>Sphingobium herbicidovorans</i> に由来する <i>rdpA</i> 遺伝子の改変型から発現する FOPs 及び 2,4-D ジオキシゲナーゼ (FT_T.1) で、ダイズにおいて除草剤 2,4-D に対する耐性を付与する (Larue et al., 2019)。
Intervening Sequence	7,212-7,219	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
T- <i>guf-Mt2</i>	7,220-7,719	タルウマゴヤシ ( <i>M. truncatula</i> ) の機能未知遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列で (GenBank Accession: MH931406)、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (Hunt, 1994)。
Intervening Sequence	7,720-7,857	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
P- <i>GSP576</i>	7,858-8,357	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の複数のプロモーター及び 5'末端非翻訳領域の配列を基に作成されたプロモーター及び 5'末端非翻訳領域の配列 (GenBank accession: ON111459) で、植物細胞における転写を誘導する (To et al., 2021)。
I- <i>GSII7</i>	8,358-8,657	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の複数のイントロン配列を基に作成されたイントロン配列 (GenBank accession: ON111460) で、遺伝子発現の調節に参与する (To et al., 2021)。
Intervening Sequence	8,658-8,692	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。

表1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能(つづき)

構成要素	プラスミド中の位置	由来及び機能
CS-TDO	8,693-9,748	イネ ( <i>Oryza sativa</i> ) 由来のトリケトンジオキシゲナーゼ (TDO) のコード配列で、除草剤メソトリオンに対する耐性を付与する (Maeda et al., 2019)。
Intervening Sequence	9,749-9,778	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
T-GST7	9,779-10,078	トウモロコシ ( <i>Zea mays</i> ) 由来の複数の 3'末端非翻訳領域の配列を基に作成された 3'末端非翻訳領域の配列 (GenBank accession: ON111462) で、転写の終結及び mRNA のポリアダニル化を誘導する (To et al., 2021)。
Intervening Sequence	10,079-10,178	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
B-Left Border Region	10,179-10,620	<i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (Barker et al., 1983)。
外側骨格領域 (本組換えダイズには存在しない)		
Intervening Sequence	10,621-10,657	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
CS-ble1	10,658-10,809	トランスポゾン Tn5 由来のブレオマイシン耐性遺伝子のコード配列の一部で、ブレオマイシン耐性を付与する (Mazodier et al., 1985)。
Intervening Sequence	10,810-10,829	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
CS-nptII	10,830-11,624	<i>Escherichia coli</i> のトランスポゾン Tn5 に由来し、ネオマイシンフォスフトランスフェラーゼ II (NPT II) をコードする <i>neo</i> 遺伝子のコード配列 (Beck et al., 1982)。ネオマイシン及びカナマイシン耐性を付与する (Fraley et al., 1983)。
P-rrn	11,625-11,849	<i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) のリボソーム RNA オペロンプロモーター (Bautista-Zapanta et al., 2002)。植物細胞内での恒常的な転写を誘導する。
Intervening Sequence	11,850-11,925	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
OR <sup>7</sup> -ori-pBR322	11,926-12,514	pBR322 由来の複製開始領域 (Sutcliffe, 1979)。 <i>E. coli</i> 中においてベクターに自律増殖能を付与する。
Intervening Sequence	12,515-12,941	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
CS-rop	12,942-13,133	ColE1 プラスミドに由来するプライマー蛋白質のリプレッサー (Repressor of primer (rop)) のコード配列であり、 <i>E. coli</i> においてプラスミドのコピー数を維持する (Giza and Huang, 1989)。

表1 本組換えダイズの作出に用いた PV-GMHT529103 の各構成要素の由来及び機能(つづき)

構成要素	プラスミド中の位置	由来及び機能
Intervening Sequence	13,134-13,321	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
OR-ori-p <i>Ri</i>	13,322-17,435	プラスミド p <i>Ri</i> に由来する複製開始領域。 <i>Agrobacterium</i> 中においてベクターに自律増殖能を付与する (Ye et al., 2011)。
Intervening Sequence	17,436-17,442	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
T-DNA II 領域 (本組換えダイズには存在しない)		
B-Left Border Region	17,443-17,761	<i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (Barker et al., 1983)。
Intervening Sequence	17,762-17,793	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
T- <i>nos</i>	17,794-18,046	<i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) pTi 由来の NOS をコードしているノパリン合成酵素遺伝子 ( <i>nos</i> ) の 3'末端非翻訳領域の配列で、転写の終結及び mRNA のポリアダニル化を誘導する (Bevan et al., 1983; Fraley et al., 1983)。
Intervening Sequence	18,047-18,062	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
CS- <i>splA</i>	18,063-19,520	<i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) C58 株に由来し、スクロースをフルクトース及びグルコース-1-リン酸に変換するスクロースフォスホリラーゼをコードする <i>splA</i> 遺伝子のコード配列 (Piper et al., 1999)。
Intervening Sequence	19,521-19,532	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
P- <i>Usp</i>	19,533-20,711	ソラマメ ( <i>Vicia faba</i> ) 由来の種子蛋白質をコードする遺伝子の 5'末端非翻訳領域、プロモーター及びエンハンサー配列 (Baumlein et al., 1991)。植物細胞内での恒常的な転写を誘導する。
Intervening Sequence	20,712-20,762	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
T- <i>E9</i>	20,763-21,405	エンドウ ( <i>Pisum sativum</i> ) のリブロース-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域 (Coruzzi et al., 1984)。転写の終結及び mRNA のポリアダニル化を誘導する。
Intervening Sequence	21,406-21,420	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
<i>aadA</i>	21,421-22,212	トランスポゾン Tn7 由来の 3'(9)- <i>O</i> -ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (アミノグリコシド改変酵素) のコード配列 (Fling et al., 1985)。スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する。

表1 本組換えダイズの作出に用いたPV-GMHT529103の各構成要素の由来及び機能(つづき)

構成要素	プラスミド中の位置	由来及び機能
TS-CTP2	22,213-22,440	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) の葉緑体輸送ペプチド領域をコードしている <i>ShkG</i> 遺伝子のターゲティング配列 (Klee et al., 1987; Herrmann, 1995)。目的蛋白質を葉緑体へと輸送する。
Intervening Sequence	22,441-22,449	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
P- <i>EF-1α</i>	22,450-23,597	シロイヌナズナ ( <i>A. thaliana</i> ) 由来の伸長因子 <i>EF-1 alpha</i> 遺伝子のプロモーター、リーダー及びイントロンで目的遺伝子の植物体内での恒常発現に關与する (Axelos et al., 1989)。
Intervening Sequence	23,598-23,620	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
E <sup>8</sup> - <i>FMV</i>	23,621-24,157	Figwort Mosaic Virus (FMV) 35S RNA のエンハンサー (Richins et al., 1987)。植物細胞内での転写を高める (Rogers, 2000)。
Intervening Sequence	24,158-24,203	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。
B-Right Border Region	24,204-24,534	<i>R. radiobacter</i> ( <i>A. tumefaciens</i> ) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)。
外側骨格領域 (本組換えダイズには存在しない)		
Intervening Sequence	24,535-24,549	DNA クローニングの際に利用された配列で、特別な機能を有さない。

<sup>1</sup> B-Border (境界配列)

<sup>2</sup> P-Promoter (プロモーター)

<sup>3</sup> TS-Targeting Sequence (ターゲティング配列)

<sup>4</sup> CS-Coding Sequence (コード配列)

5 <sup>5</sup> T-Transcription Termination Sequence (転写終結配列)

<sup>6</sup> I-Intron (イントロン)

<sup>7</sup> OR-Origin of Replication (複製開始領域)

<sup>8</sup> E-Enhancer (エンハンサー)

- ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

## 5 【PAT 蛋白質】

本組換えダイズには、*S. viridochromogenes* 由来の *pat* 遺伝子が導入されており、PAT 蛋白質が発現する。本組換えダイズで発現する PAT 蛋白質のアミノ酸配列は、プロセシングにより N 末端のメチオニンが取り除かれている以外、*S. viridochromogenes* 由来の野生型 PAT 蛋白質のアミノ酸配列と同一である。N 末端のメチオニンの切断は一般的であり、自然界においても多くの蛋白質で起こっている (Meinzel and Giglione, 2008)。

PAT 蛋白質は除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (Wohlleben et al., 1988)。除草剤グルホシネートは、グルタミン合成酵素と結合することにより除草活性を発揮する。グルタミン合成酵素は光呼吸により生成されたアンモニアを植物に同化させる主要酵素である。グルホシネートがグルタミン合成酵素と結合することにより、グルタミン合成酵素が阻害されて、植物体内にアンモニアが蓄積し、枯死する (Wild and Manderscheid, 1984; Manderscheid and Wild, 1986)。本組換えダイズから産生される PAT 蛋白質はグルホシネートをアセチル化するアセチルトランスフェラーゼである。グルホシネートは、この酵素の働きでアセチル化されると、除草活性のない *N*-アセチルグルホシネートとなる。*N*-アセチルグルホシネートはグルタミン合成酵素と結合できないため、光呼吸を阻害せず、アンモニア蓄積が回避される。本組換えダイズは、PAT 蛋白質の産生により、除草剤グルホシネートが散布されても枯死しない。

なお、同じ作用機序を示す PAT 蛋白質を発現する遺伝子組換え作物は、これまでにダイズ、トウモロコシ、ワタ及びセイヨウナタネを含む複数の系統においてカルタヘナ法に基づく第一種使用規程の承認を受けており (農林水産省, 2022f)、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、わが国の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。

## 【改変 DMO 蛋白質】

35

本組換えダイズには、*S. maltophilia* 由来の改変 *dmo* 遺伝子が導入されてお



り、改変 DMO 蛋白質が発現する。本組換えダイズで発現する改変 DMO 蛋白質のアミノ酸配列は、N 末端のメチオニンの直後にロイシンが挿入されている以外、*Stenotrophomonas maltophilia* 由来の野生型 DMO 蛋白質のアミノ酸配列と同一である。

5 加えて、本組換えダイズで発現する改変 DMO 蛋白質のアミノ酸配列は、既にカルタヘナ法に基づく第一種使用規程の承認を受けている除草剤グリホサート誘発性雄性不稔並びに除草剤ジカンバ、グルホシネート、アシルオキシアルカノエート系及びグリホサート耐性トウモロコシ (改変 *dmo*, *pat*, *ft\_t*, 改変 *cp4 epsps*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (MON87429, OECD UI: MON-  
10 87429-9) (2021 年 9 月 3 日承認、以下「MON87429」とする) で発現する二つの改変 DMO 蛋白質のうち一つのアミノ酸配列と同一である。

DMO 蛋白質は、除草剤ジカンバを脱メチル化し、除草活性のない DCSA (3,6-dichlorosalicylic acid; 3,6-ジクロロサリチル酸) 及びホルムアルデヒド (HCHO) へと変換することで、植物に除草剤ジカンバ耐性を付与する (Chakraborty et al., 2005)。除草剤ジカンバは合成オーキシンの除草剤であり、  
15 広葉雑草に細胞分裂異常を引き起こすことによって、除草活性を示す (Ahrens, 1994)。なお、本組換えダイズにおいては、ターゲティング配列である葉緑体輸送ペプチド APG6 と改変 DMO 蛋白質が融合した前駆蛋白質が発現する (別添資料 1 の図 2, p1)。前駆蛋白質は、葉緑体輸送ペプチド APG6 によって葉緑体へ輸送され、脱メチル化反応への電子の供給に必要な内在性の還元酵素及びフェレドキシンとの共局在が促進される。輸送後のプロセッシングにより、本組換えダイズで発現する改変 DMO 蛋白質において、この葉緑体輸送ペプチドは最終的に完全に切り離されている。

25 26 27 28 29 30 31 32 33 34 35 36 37 38 39 40 41 42 43 44 45 46 47 48 49 50 51 52 53 54 55 56 57 58 59 60 61 62 63 64 65 66 67 68 69 70 71 72 73 74 75 76 77 78 79 80 81 82 83 84 85 86 87 88 89 90 91 92 93 94 95 96 97 98 99 100  
なお、改変 DMO 蛋白質を発現する遺伝子組換え作物は、これまでにダイズ、トウモロコシ、ワタ、及びセイヨウナタネを含む複数の系統においてカルタヘナ法に基づく第一種使用規程の承認を受けており (農林水産省, 2022f)、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、わが国の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。

#### 【FT\_T.1 蛋白質】

本組換えダイズには、土壌細菌 *S. herbicidovorans* 由来の *rdpA* 遺伝子を改変した *ft\_t.1* 遺伝子が導入されており、FT\_T.1 蛋白質が発現する。FT\_T.1 蛋白質のアミノ酸配列は、既にカルタヘナ法に基づく第一種使用規程の承認を

受けている MON87429 で発現する FT\_T 蛋白質をさらに改変したものである。FT\_T 蛋白質は、*rdpA* 遺伝子から発現する RdpA 蛋白質のアミノ酸配列に対し、酵素活性及び栽培地域における夏季の高温に対する安定性を向上させる目的で 30 カ所のアミノ酸置換<sup>4</sup>が導入されたものであり、この特性は FT\_T.1 蛋白質でも維持されている (Larue et al., 2019)<sup>5</sup>。FT\_T.1 蛋白質には、これらの改変に加え、除草剤 2,4-D に対する活性をさらに向上させる目的で、3 カ所のアミノ酸置換 (105 番目のフェニルアラニンからチロシンへ、112 番目のトレオニンからアラニンへ、246 番目のグルタミンからリシンへの置換) が導入されている。FT\_T.1 蛋白質のアミノ酸配列は、RdpA 蛋白質及び FT\_T 蛋白質のアミノ酸配列と、それぞれ 89%以上及び 98%以上同一である。

FT\_T.1 蛋白質は、遺伝子組換えトウモロコシ MON87429 で発現する FT\_T 蛋白質と同様に、アリルオキシアルカノエート基をもつ除草剤 (アリルオキシアルカノエート系除草剤)、すなわち 2 つの除草剤グループ、アリルオキシフェノキシプロピオン酸 (FOP) 系除草剤及びフェノキシカルボン酸系除草剤への活性を有する (HRAC, 2022)。FOP 系除草剤は、イネ科植物においてアセチル CoA カルボキシラーゼの機能を阻害することで除草作用をもたらす。フェノキシカルボン酸系除草剤は、合成オーキシシン系除草剤の一種で、植物ホルモンの調節経路を攪乱することで除草作用をもたらす。FOP 系除草剤及びフェノキシカルボン酸系除草剤に対する感受性は作物ごとに異なる。例えば、トウモロコシは FOP 系除草剤に対し感受性を示すが、フェノキシカルボン酸系除草剤の一種である除草剤 2,4-D に対しては部分的な耐性を有している。一方で、ダイズは FOP 系除草剤に対する完全な耐性を有するが、除草剤 2,4-D に対しては感受性を示す (Larue et al., 2019)。このことから、本組換えダイズは、FT\_T.1 蛋白質が発現することにより除草剤 2,4-D に対する耐性を新たに獲得している。なお、本組換えダイズが適用対象とするアリルオキシアルカノエート系除草剤は、2,4-D のみである。

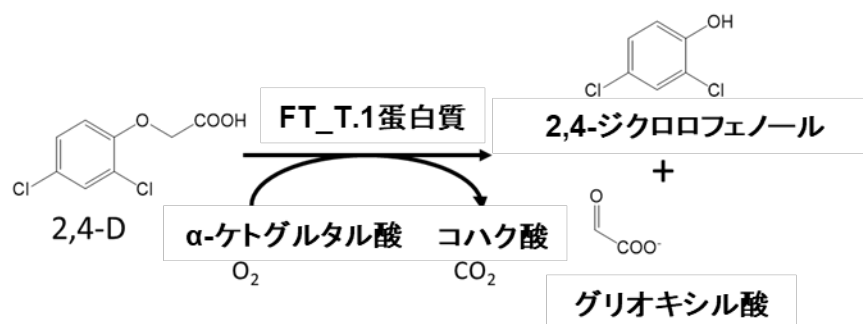
RdpA 蛋白質は二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼの一種であり (Müller et al., 2006)、構造的類似性の高い FT\_T.1 蛋白質及び FT\_T 蛋白質のいずれも二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼとして働く。二

<sup>4</sup> 30カ所のアミノ酸置換は、開始メチオニンを1番目として、6番目、9番目、10番目、11番目、12番目、13番目、14番目、16番目、82番目、103番目、105番目、130番目、134番目、145番目、169番目、178番目、180番目、209番目、210番目、213番目、214番目、217番目、224番目、226番目、235番目、246番目、289番目、291番目、292番目、294番目のアミノ酸に導入されている。

<sup>5</sup> 論文内で FT\_T.1 蛋白質は FT\_Tv7 蛋白質と呼ばれている。

価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼは、ヒトや家畜等によって安全に利用されてきた細菌、菌類、植物、脊椎動物など幅広い生物種において同定されている (Hausinger, 2004; Kundu, 2012)。

- 5 二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼは、1 原子の鉄に配位する 2 つのヒスチジン残基及び 1 つのアスパラギン酸又はグルタミン酸残基を含む、古典的なジオキシゲナーゼの活性中心を有しており、鉄と  $\alpha$ -ケトグルタル酸を補因子として 2,4-D などの基質を酸化し、コハク酸と酸化物を生成する (de Carolis and de Luca, 1994; Bugg, 2003; Hausinger, 2004)。FT\_T.1 蛋白質も同様に、 $\alpha$ -ケトグルタル酸及び酸素の存在下で 2,4-D を除草活性の無い 2,4-ジクロロフェノール及びグリオキシル酸へ分解し、コハク酸及び二酸化炭素を生成する (図 2, p23) (Larue et al., 2019)。



15 図 2 FT\_T.1 蛋白質の生化学的作用機序<sup>6</sup>

### 【TDO 蛋白質】

- 20 本組換えダイズには、イネ (*O. sativa*) 由来の *tdo* 遺伝子が導入されており、TDO 蛋白質を発現する。本組換えダイズで発現する TDO 蛋白質のアミノ酸配列は、プロセッシングにより N 末端のメチオニンが取り除かれている以外、イネ由来の *tdo* 遺伝子<sup>7</sup>から発現する TDO 蛋白質のアミノ酸配列と同一である。N 末端のメチオニンの切断は一般的であり、自然界においても多くの蛋白質で起こっている (Meinzel and Giglione, 2008)。

<sup>6</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

<sup>7</sup> Maedaら (2019) により *HPPD INHIBITOR SENSITIVE 1 (HIS1)* 遺伝子として同定されている。

TDO 蛋白質は本組換えダイズにトリケトン系除草剤への耐性を付与する。トリケトン系除草剤は、4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ (4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, HPPD) 阻害型除草剤を構成する化学グループの一種である。HPPD は植物のクロシン代謝経路に関与する酵素であり、HPPD の阻害によって下流の代謝産物であるプラストキノンやトコフェロール類などの欠乏が引き起こされる (Mitchell et al., 2001)。プラストキノンは光化学系 II の機能及びカロテノイド生合成に必須であり、カロテノイド及びトコフェロール類は光合成機構の抗酸化に重要な役割を果たしている。感受性植物に対して HPPD 阻害型除草剤を処理することにより、植物においてこれらの防御分子が欠乏し、白化症状を呈し枯死する。

ジャポニカ型イネの特定の栽培種は、トリケトン系除草剤に対する自然耐性を有している。この原因蛋白質として二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼの一種である TDO 蛋白質が同定され、トリケトン系除草剤を酸化することが示されている (Maeda et al., 2019)。TDO 蛋白質は、他の二価鉄/ $\alpha$ -ケトグルタル酸依存性ジオキシゲナーゼと同様に、鉄と  $\alpha$ -ケトグルタル酸を補因子として基質を酸化し、コハク酸と酸化物を生成する。大腸菌で発現させ精製した TDO 蛋白質を利用した生化学的試験により、トリケトン系除草剤の一種であるメソトリオンは、まず 5 位の炭素が酸化されヒドロキシメソトリオンへ、続いて同じ炭素で第二の酸化が起こり、オキシメソトリオンへと変換されることが明らかにされている (図 3, p25) (別添資料 3)。その後、オキシメソトリオンは非酵素的反応によって速やかに環化し、ヒドロキシサントンへと変換される。なおヒドロキシメソトリオンの HPPD 阻害活性はメソトリオンより低く、オキシメソトリオンでは HPPD 阻害活性はほぼ認められない。したがって、TDO 蛋白質はメソトリオンを代謝することで、メソトリオンによるダイズ内在性 HPPD の阻害を防ぐことを可能にしている。

実際、TDO 蛋白質を発現させた遺伝子組換えダイズは、メソトリオン処理に対して耐性を示すことが確認されている (Dai et al., 2022)。この遺伝子組換えダイズの葉を用いた代謝産物解析によって、メソトリオンはヒドロキシメソトリオン、ヒドロキシサントン、その下流のグルコシル及びマロニル抱合体へ、速やかに代謝されることが明らかにされている (Dai et al. (2022) の Figure 5(b), p9 および Figure S6)。なお、オキシメソトリオンは、恐らく非酵素的反応によって速やかにヒドロキシサントンへと環化されるために、TDO 発現組換えダイズでは検出されていない。加えて、TDO 発現組換えダイズにおいてメソトリオンは処理された組織から移行しないため、新しく発生する頂端組織や根端組織において HPPD が阻害されることはない。一方で、メソトリオン処理された従来ダイズでは新しく発生する頂端組織や根端組織へ移

行するため、これらの組織においてメソトリオンが蓄積し、結果として HPPD が阻害されトリケトン系除草剤感受性植物に典型的な白化症状がもたらされる (Dai et al., 2022)。以上より、本組換えダイズで発現する TDO 蛋白質は、メソトリオンを連続的に 2 段階酸化することによって、本組換えダイズにメソトリオン耐性を付与している。

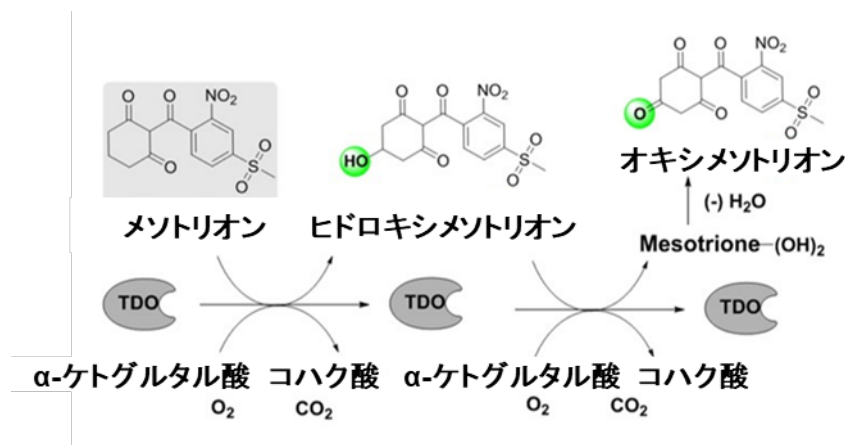


図3 TDO 蛋白質の生化学的作用機序<sup>8</sup>

10

なお、PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質が既知のアレルゲンと類似のアミノ酸配列を共有するか否かを判断するため、AD\_2021<sup>9</sup>に登録されている既知のアレルゲンについて、FASTA 型アルゴリズム及び連続する 8 アミノ酸残基の相同性検索を行った。その結果、既知のアレルゲンと類似の配列は認められなかった。

15

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

#### 【PAT 蛋白質】

20

PAT 蛋白質は、グルホシネートに高い特異性を有することが知られている。

<sup>8</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

<sup>9</sup> AD\_2021: COMPARE (COMprehensive Protein Allergen REsource) データベースに登録されている配列から構成されるデータベースで、2,348件のアミノ酸配列が含まれる (2021年2月1日更新)。

グルホシネートの除草剤活性は L 体のアミノ酸である L-ホスフィノスリシンによるものであるが、その他の L 体アミノ酸は、PAT 蛋白質によりアセチル化されることはない。グルホシネート及び高濃度のその他 L 体アミノ酸を基質として供試した競合アッセイでは、PAT 蛋白質によるグルホシネートのアセチル化の阻害は認められなかった (Wehrmann et al., 1996)。なお、近年の代謝プロファイリングにおいて、ダイズを含む複数の植物で2つのアミノ酸(アミノアジピン酸及びトリプトファン)の PAT 蛋白質を介した非特異的なアセチル化が報告されている (Christ et al., 2017)。しかしながら、これら2つのアミノ酸に対する PAT 蛋白質の活性は、L-ホスフィノスリシンに対する活性と比べて非常に低いものであり、PAT 蛋白質の L-ホスフィノスリシンに対する高い基質特異性が示唆される。また、これまでに PAT 蛋白質を発現する複数の除草剤グルホシネート耐性ダイズにおいて、PAT 蛋白質はダイズの代謝系に影響を及ぼすことはないと判断されている。

以上のことから、PAT 蛋白質が内在性化合物を代謝して、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

#### 【改変 DMO 蛋白質】

DMO 蛋白質は、ジカンバに高い特異性を示すことが知られている。ジカンバは、DMO 蛋白質の触媒部位のアミノ酸と、ジカンバのカルボキシ基及び塩素原子を介して相互作用することが知られており、このクロロ基がジカンバの代謝に必須である (D'Ordine et al., 2009; Dumitru et al., 2009)。植物及び他の真核生物において、塩素化合物の存在は限定的であることが知られていることから (Gribble, 2010)、改変 DMO 蛋白質が植物の内在性化合物を代謝することは考え難い。実際、植物に存在している化合物中で最も構造的にジカンバに類似している *o*-アニス酸 (2-メトキシ安息香酸) でも DMO 蛋白質によって代謝されないことが、除草剤ジカンバ耐性ダイズ (改変 *dmo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87708, OECD UI : MON-87708-9) (2013 年 10 月 31 日承認) の生物多様性影響評価において確認されている。

さらに、本組換えダイズで発現する改変 DMO 蛋白質は、これまでに第一種使用規程の承認を受けている遺伝子組換え作物で発現する DMO 蛋白質と高いレベルのアミノ酸配列同一性を有しており、これらの遺伝子組換え作物で発現する DMO 蛋白質はいずれも宿主の代謝経路に影響を及ぼすことはないと判断されている。本組換えダイズで発現する改変 DMO 蛋白質、野生型の DMO 蛋白質、及び他の遺伝子組換え作物で発現する DMO 蛋白質のアミノ酸配列の違いは、N 末端部位並びに N 末端側から 2 番目及び 112 番目のア

ミノ酸に限定されている。加えて、野生型 DMO 蛋白質の結晶構造に基づけば、これらの差異は DMO 蛋白質の触媒部位から立体構造的に離れているため (D'Ordine et al., 2009; Dumitru et al., 2009)、DMO 蛋白質の基質特異性に影響を及ぼすことは考え難い (Wang et al., 2016)。

- 5 以上のことから、改変 DMO 蛋白質が内在性化合物を代謝して、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

### 【FT\_T.1 蛋白質】

- 10 前項に記載したように、本組換えダイズで発現する FT\_T.1 蛋白質は、遺伝子組換えトウモロコシ MON87429 で発現する FT\_T 蛋白質に対して、除草剤 2,4-D に対する活性をさらに向上させる目的で 3 ヶ所のアミノ酸置換が導入されている。そのため FT\_T 蛋白質よりも除草剤 2,4-D に対する高い活性 (最大反応速度  $V_{max}$  において約 2.5 倍の活性) を有するが、これらのアミノ酸置換は FT\_T 蛋白質と比較した際の FT\_T.1 蛋白質の基質特異性には影響して  
15 おらず、両者は同じ除草剤に対し活性を示す<sup>10</sup> (Larue et al. (2019) の Table 1, p7)。

- FT\_T 蛋白質を発現する遺伝子組換えトウモロコシ MON87429 の生物多様性影響評価において、FT\_T 蛋白質の植物内在性化合物に対する特異性は精査されている。その中で、既知の基質 (合成オーキシシン系除草剤ジクロロプロップ) との構造的類似性及び FT\_T 蛋白質の活性部位への適合性に基づいた *in silico* スクリーニングにより、潜在的な基質となりうる植物内在性化合物が植物代謝産物データベースから選定されている。そのうち入手可能な候補化合物を酵素活性試験に供試した結果、FT\_T 蛋白質はいずれの候補化合物に  
20 対しても活性がないことが示され、FT\_T 蛋白質が内在性化合物を代謝して宿主の代謝系に影響を及ぼすことはない判断されている。

FT\_T 蛋白質と FT\_T.1 蛋白質のアミノ酸配列がほぼ同一であること、及び両者での除草剤に対する特異性の一致を鑑みれば、FT\_T 蛋白質と同様、

---

<sup>10</sup> Larue et al. (2019) の Table 1 において、FT\_T.1 蛋白質の活性は、FT\_T 蛋白質と比較して除草剤 2,4-D 及び MCPA に対して向上している。本反応の基質における切断部は、2,4-D 及び MCPA においては炭素数 2 の側鎖である一方、ジクロロプロップ及びメコプロップにおいては FOP 系除草剤と同じく炭素数 3 の側鎖である。FT\_T.1 蛋白質は切断部の側鎖に基づいて基質選択性が改変されていることから (Larue et al., 2019)、その活性が 2,4-D 及び MCPA の両方に対して向上していることは予想外ではない。なお、現時点で本組換えダイズにおいて除草剤 MCPA を適用対象として登録する予定は無い。

FT\_T.1 蛋白質が内在性化合物を代謝して、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

#### 【TDO 蛋白質】

5

TDO 蛋白質の潜在的な基質となりうる植物内在性化合物を探索する目的で、FT\_T 蛋白質に対して用いたもの (p27) と同様の *in silico* スクリーニングを行った。本スクリーニングにおいては、TDO 蛋白質の既知の基質であるメソトリオンとの構造的類似性及び TDO 蛋白質の活性部位へのメソトリオンの予想立体配座をスクリーニングの基準に利用した。なお、本スクリーニングの概要及び詳細はそれぞれ図 4 (p29) 及び別添資料 4 に記載した。スクリーニングの結果得られた化合物のうち入手可能な 32 化合物、メソトリオン、及び他の HPPD 阻害型除草剤に対する TDO 蛋白質の特異性を、生化学的解析により評価した。その結果、TDO 蛋白質は潜在的な基質として選定された  
10  
15  
いずれの植物内在性化合物に対しても活性を示さず、HPPD 阻害型除草剤のうちトリケトン系除草剤 (メソトリオン、テンボトリオン、スルコトリオン) に対して特異的な活性を示した (別添資料 4)。

したがって、TDO 蛋白質がトリケトン系除草剤耐性を付与する作用機序及びその特異性は明らかであり、TDO 蛋白質が内在性化合物を代謝して宿主  
20  
の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。



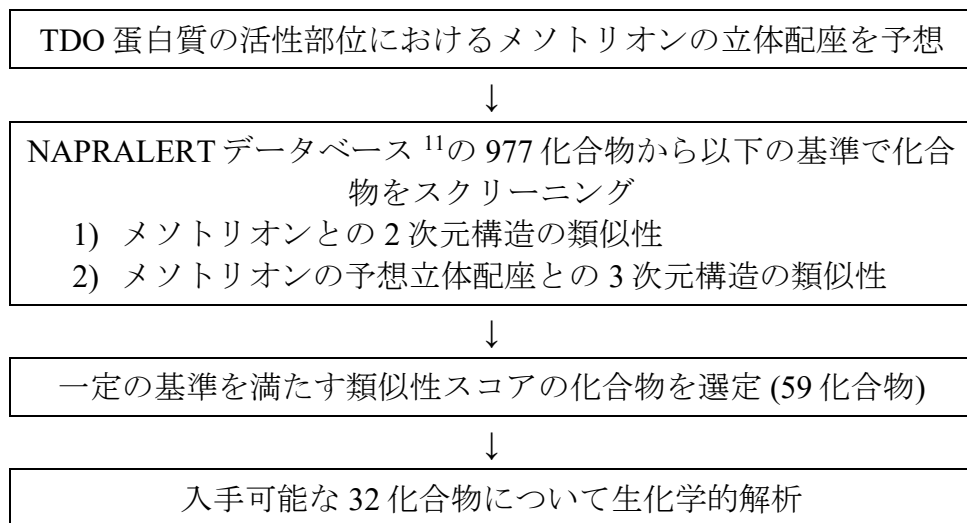


図4 TDO蛋白質の潜在的な植物内在性基質の探索方法概要<sup>12</sup>

#### 【PAT、改変DMO、FT\_T.1及びTDO蛋白質間の相互作用】

5

PAT、改変DMO、FT\_T.1及びTDO蛋白質はいずれも基質特異性が高く、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立している。よって、本組換えダイズで発現しているこれら蛋白質が植物体において相互に影響するとは考えにくい。

10

#### (2) ベクターに関する情報

##### イ 名称及び由来

15

本組換えダイズの作出に用いられた PV-GMHT529103 は、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 (Sutcliffe, 1979) などをもとに構築された。詳細は、表1 (p15~19) に記載した。

<sup>11</sup> NAPRALERT (<https://pharmacognosy.pharmacy.uic.edu/napralert/>) は、トウモロコシ、ナタネ、ワタ、コムギ、ダイズを含む様々な生物学的資源に由来する天然物のデータベースである。

<sup>12</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

5 本組換えダイズの作出に用いられた PV-GMHT529103 の全塩基数は 24,549 bp である。なお、PV-GMHT529103 の塩基配列は別添資料 2 に記載した。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

10 *E. coli* における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として、ネオマイシン及びカナマイシン耐性を付与する *nptII* 遺伝子が T-DNA I 領域外に存在している。また、形質転換後の選抜マーカー遺伝子として、スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *aadA* 遺伝子並びにスクロースフォスホリラーゼを発現させる *splA* 遺伝子が T-DNA I 領域外に存在している。

15

③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

本ベクターの感染性は知られていない。

20

(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

25 宿主内に移入された PV-GMHT529103 の構成要素は表 1 (p15~19) に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置は、図 1 (p14) に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

30 PV-GMHT529103 中の T-DNA I 領域をアグロバクテリウム法により、非組換えダイズ品種 A3555 の分裂組織に導入した。

## ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

### ① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

5 非組換えダイズ品種 A3555 の分裂組織と PV-GMHT529103 を含む *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) AB30 株を共置培養した後、スペクチノマイシンを含有する培地により形質転換された細胞の選抜を行った。

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

カルベニシリン、セフトキシム及びチメンチンを添加した組織培養培地により、形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体を除去した。さらに、本組換えダイズの R<sub>3</sub> 世代の種子<sup>13</sup>において、形質転換に用いた PV-GMHT529103 の外側骨格領域を標的とした PCR を行ったところ、本組換えダイズには PV-GMHT529103 の外側骨格領域は存在しなかった (別添資料 5 の Table 1, p12)。このことから、本組換えダイズには形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体は残存しないことが確認された。

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

25 形質転換された再分化個体 (R<sub>0</sub>) を自殖し、R<sub>1</sub> 世代を作出した。R<sub>1</sub> 世代において、T-DNA II 領域をもたず T-DNA I 領域をホモで有する個体を、*splA* 遺伝子の表現型解析<sup>14</sup>及び *aadA* 遺伝子の PCR、並びに定量的エンドポイント TaqMan PCR により選抜した。こうして得られた R<sub>1</sub> 個体の後代から、優れた表現型と導入遺伝子の存在状態などを指標に最終的に本組換えダイズを選抜した。

30 本組換えダイズの育成図を図 5 (p32) に示した。なお、本申請の対象は、R<sub>3</sub> 世代及び R<sub>3</sub> 世代から派生する全ての交雑後代系統である。

<sup>13</sup>バルクにした収穫種子の中からランダムに約300粒取り、DNAを抽出しPCRに用いた。

<sup>14</sup> *splA* 遺伝子の発現によって種子が委縮しているものを除外した。

5

【社外秘につき非開示】

10

15

図 5 本組換えダイズの育成図

20

【社外秘につき非開示】

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5 本組換えダイズの導入遺伝子が染色体上に存在するか否かを調べるため、本組換えダイズの F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 及び F<sub>4</sub> 世代 (図 5, p32) において、導入遺伝子の分離比をカイ二乗検定で分析した (別添資料 6)。

10 試験に供試する F<sub>2</sub>、F<sub>3</sub> 及び F<sub>4</sub> 世代を作出するために、まず形質転換された再分化個体 (R<sub>0</sub>) を自殖し、その後代である R<sub>1</sub> 世代において定量的エンドポイント TaqMan PCR により、T-DNA I 領域をホモで有する個体を選抜した。その後、2 回の自殖により R<sub>3</sub> 世代を作出した。そして T-DNA I 領域をホモで有する R<sub>3</sub> 世代を MON89788 と交配し、T-DNA I 領域をヘミで有する F<sub>1</sub> 世代を作出した。

15 T-DNA I 領域をヘミで有する F<sub>1</sub> 世代を自殖し F<sub>2</sub> 世代を作出した。F<sub>2</sub> 世代において、定量的エンドポイント TaqMan PCR により T-DNA I 領域の分離比を調べた。

T-DNA I 領域をヘミで有する F<sub>2</sub> 世代を自殖し F<sub>3</sub> 世代を作出した。F<sub>3</sub> 世代において、定量的エンドポイント TaqMan PCR により T-DNA I 領域の分離比を調べた。

20 T-DNA I 領域をヘミで有する F<sub>3</sub> 世代を自殖し F<sub>4</sub> 世代を作出した。F<sub>4</sub> 世代において、定量的エンドポイント TaqMan PCR により T-DNA I 領域の分離比を調べた。

25 その結果、実測値と期待値の間にカイ二乗検定による統計学的有意差は認められなかったことから、導入遺伝子はメンデルの分離法則に矛盾せず遺伝していることが確認された (表 2, p34)。したがって、本組換えダイズの導入遺伝子は染色体上に存在していると考えられた。

表2 本組換えダイズの育成過程における導入遺伝子の分離様式<sup>15</sup>

世代	供試 個体数	実測値 ホモ陽性 個体数	実測値 ヘミ陽性 個体数	実測値 陰性個体数	1:2:1 分離			$\chi^2$	P 値 <sup>1</sup>
					期待値 ホモ陽性 個体数	期待値 ヘミ陽性 個体数	期待値 陰性個体数		
F <sub>2</sub>	262	68	131	63	65.50	131.00	65.50	0.19	0.909
F <sub>3</sub>	527	134	251	142	131.75	263.50	131.75	1.43	0.489
F <sub>4</sub>	291	76	144	71	72.75	145.50	72.75	0.20	0.904

<sup>1</sup> 各世代から得られた分離比をカイ二乗検定で分析した (有意水準  $\alpha = 0.05$ )。

<sup>15</sup> 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス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

5 本組換えダイズにおける導入遺伝子の挿入箇所数及びコピー数、ベクター由来の非意図的な配列の有無、導入遺伝子の塩基配列、並びに複数世代における伝達の安定性を確認するために、次世代シーケンス (NGS, Next Generation Sequencing) 解析<sup>16</sup> 並びに導入遺伝子領域の PCR 及び塩基配列解析を実施した (別添資料 7)。

10 NGS 解析では、フラグメント化した植物ゲノム配列の両端から約 150 bp ずつの塩基配列を、全ゲノムの解析に十分な量 (冗長度<sup>17</sup> 75 以上) で解析している。本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズから抽出したゲノムを NGS 解析に供試した結果、本組換えダイズ (R<sub>3</sub> 世代) で 160.8 Gb (冗長度平均値 136)、対照の非組換えダイズで 180.3 Gb (冗長度平均値 126) の塩基配列が解析された (別添資料 7 の Appendix Table 3, p46)。

15 解析した塩基配列全てを PV-GMHT529103 の塩基配列と照合<sup>18</sup>した結果、本組換えダイズでは 2 つの接合領域が特定された (別添資料 7 の p28)。これらはそれぞれ導入遺伝子の 5' 及び 3' 末端を含む配列であった (別添資料 7 の Appendix Figure 30, p100~101, 末尾の confidential attachment に収録)。対照の非組換えダイズでは、接合領域は特定されなかった (別添資料 7 の p28)。またこの解析からは、本組換えダイズには、PV-GMHT529103 に由来する非意図的な配列が挿入されていないことも確認された (別添資料 7 の Appendix Figure 4, p51)。

25 以上の解析から、本組換えダイズの核ゲノム中 1 ヲ所に 1 コピーの導入遺伝子が組み込まれており、ベクター由来の非意図的な配列は挿入されていないことが確認された。

---

<sup>16</sup>NGS解析は、塩基配列解析とバイオインフォマティクスにより、サザンブロット法と同等の分子特性解析を可能とする技術である。NGS解析においては、フラグメント化した大量のサンプルゲノムDNAの配列を解析することで、全ゲノム解析を行う。次に、これらのフラグメントの塩基配列情報を用い、T-DNA領域と宿主の内在性配列との接合領域を特定することで、T-DNA領域の導入箇所数及び配列並びに非意図的断片の有無を決定する (Kovalic et al., 2012)。

<sup>17</sup>冗長度: ある特定の塩基に対して独立してシーケンスされた回数。冗長度が 75 以上であればすべての導入遺伝子を検出することが可能であることが報告されており、本試験では 1 コピーで存在する既知の内在性遺伝子の冗長度を指標として、推定平均冗長度が 75 以上になる条件で解析を行っている。

<sup>18</sup>Bowtie 2 v2.3.4.1 (Langmead and Salzberg, 2012) を使用して、解析した塩基配列をアライメントした。Bowtie2でフラグメントの片側の配列に対するアライメントを行う場合、30bp以上の相同性を検出基準としている。

また、本組換えダイズにおいて検出された導入遺伝子、接合領域及び近傍配列に対し、部位特異的 PCR 及び塩基配列解析を行った結果、目的の遺伝子が導入されていることが確認された (別添資料 7 の Appendix Figure 6, p53~57, 末尾の confidential attachment に収録)。なお、本組換えダイズにおける導入遺伝子の模式図を図 6 (p37) に示した。

さらに複数世代 (R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> 世代) の本組換えダイズを対象にした NGS 解析において、導入遺伝子が安定して後代に遺伝していることが確認された (別添資料 7 の p32)。

5

10



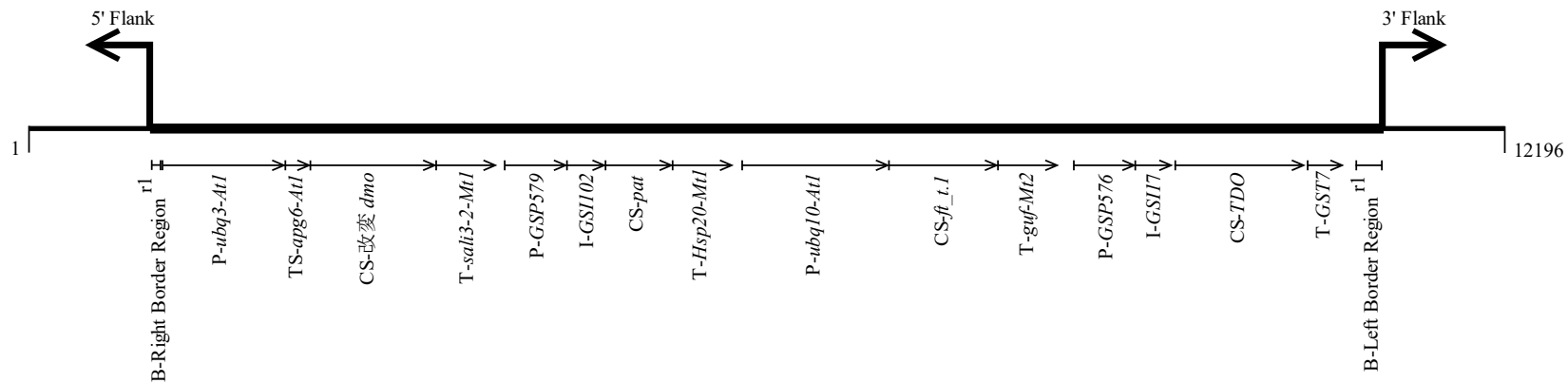


図6 本組換えダイズにおける導入遺伝子の模式図<sup>19</sup>

- 5 本組換えダイズにおける導入遺伝子中の構成要素の大まかな位置と配列の方向を示す。図上部の直角に曲がった矢印は、導入遺伝子と近傍配列の境界を示している。なお、本組換えダイズにおいて目的の導入遺伝子は PV-GMHT529103 と一致した配列で導入されている。図中の「r1」の表記は、本組換えダイズに導入された B-Right Border Region 及び B-Left Border Region が PV-GMHT529103 と比較して短くなっていることを意味する。

<sup>19</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

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

1 コピーなので該当しない (別添資料 7 の p28)。

5

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

10 本組換えダイズの複数世代 (R<sub>3</sub>、R<sub>4</sub>、R<sub>5</sub>、R<sub>6</sub> 及び R<sub>7</sub> 世代) の種子において PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質が安定して発現していることが、ウエスタンブロット分析により確認された (別添資料 8 の Figure 2~5, p16~19)。

15 また、2020 年に米国の 5 ヶ所 (アイオワ州、ミズーリ州、ネブラスカ州、イリノイ州、ウィスコンシン州) で行ったほ場試験において本組換えダイズの地上部、種子、葉及び根のサンプルを採取し、PAT、改変 DMO 及び FT\_T.1 蛋白質の発現量をマルチプレックスイムノアッセイにより、TDO 蛋白質の発現量を ELISA 法により分析した (別添資料 9)。その結果、本組換えダイズの地上部、種子、葉及び根における PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質の発現が確認された (表 3~表 6, p39~40)。

20

表 3 本組換えダイズの各組織における PAT 蛋白質の発現量 (2020 年、米国)<sup>20</sup>

組織	生育段階 <sup>1</sup>	平均値 (SE) 範囲 (μg/g DW) <sup>2</sup>	LOQ/LOD (μg/g DW) <sup>3</sup>
地上部	BBCH 77	12 (0.74) 6.7-18	0.007/0.003
種子	BBCH 99	3.8 (0.14) 2.6-4.6	0.007/0.003
葉	BBCH 14-15	19 (1.1) 12-29	0.014/0.007
根	BBCH 77	3.7 (0.25) 1.7-5.4	0.007/0.003

<sup>1</sup> 各組織の採取時における生育段階。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準 (Meier, 2001)。BBCH 14-15 = 3-4 葉期、BBCH 77 = 子実肥大期、BBCH 99 = 生産物 (子実) の収穫。

<sup>2</sup> 蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表されている。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値-最大値) は全てのは場で採取された各組織の値を基に計算されている (各組織 20 反復)。SE=標準誤差、DW=乾燥重。

<sup>3</sup> LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

5

10 表 4 本組換えダイズの各組織における改変 DMO 蛋白質の発現量 (2020 年、米国)<sup>21</sup>

組織	生育段階 <sup>1</sup>	平均値 (SE) 範囲 (μg/g DW) <sup>2</sup>	LOQ/LOD (μg/g DW) <sup>3</sup>
地上部	BBCH 77	150 (7.4) 100-230	0.007/0.004
種子	BBCH 99	40 (1.2) 32-49	0.007/0.004
葉	BBCH 14-15	68 (3.7) 45-100	0.007/0.004
根	BBCH 77	20 (1.1) 10-27	0.007/0.004

<sup>1</sup> 各組織の採取時における生育段階。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準 (Meier, 2001)。BBCH 14-15 = 3-4 葉期、BBCH 77 = 子実肥大期、BBCH 99 = 生産物 (子実) の収穫。

<sup>2</sup> 蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表されている。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値-最大値) は全てのは場で採取された各組織の値を基に計算されている (各組織 20 反復)。SE=標準誤差、DW=乾燥重。

<sup>3</sup> LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

15

<sup>20</sup> 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

<sup>21</sup> 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

表 5 本組換えダイズの各組織における FT\_T.1 蛋白質の発現量 (2020 年、米  
国)<sup>22</sup>

組織	生育段階 <sup>1</sup>	平均値 (SE) 範囲 (µg/g DW) <sup>2</sup>	LOQ/LOD (µg/g DW) <sup>3</sup>
地上部	BBCH 77	11 (0.48) 7.5-15	0.046/0.028
種子	BBCH 99	6.1 (0.16) 4.7-7.2	0.023/0.014
葉	BBCH 14-15	20 (0.60) 14-25	0.023/0.014
根	BBCH 77	4.1 (0.25) 2.3-6.0	0.023/0.014

<sup>1</sup> 各組織の採取時における生育段階。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準 (Meier, 2001)。BBCH 14-15 = 3-4 葉期、BBCH 77 = 子実肥大期、BBCH 99 = 生産物 (子実) の収穫。

5 <sup>2</sup> 蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (µg) の平均値及び標準誤差として表されている。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値-最大値) は全てのは場で採取された各組織の値を基に計算されている (各組織 20 反復)。SE=標準誤差、DW=乾燥重。

<sup>3</sup> LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

10

表 6 本組換えダイズの各組織における TDO 蛋白質の発現量 (2020 年、米  
国)<sup>23</sup>

組織	生育段階 <sup>1</sup>	平均値 (SE) 範囲 (µg/g DW) <sup>2</sup>	LOQ/LOD (µg/g DW) <sup>3</sup>
地上部	BBCH 77	12 (0.58) 8.8-17	1.0/0.421
種子	BBCH 99	5.0 (0.36) 2.8-8.1	0.50/0.312
葉	BBCH 14-15	41 (1.9) 25-53	1.0/0.413
根	BBCH 77	<LOQ	0.50/0.341

<sup>1</sup> 各組織の採取時における生育段階。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準 (Meier, 2001)。BBCH 14-15 = 3-4 葉期、BBCH 77 = 子実肥大期、BBCH 99 = 生産物 (子実) の収穫。

15 <sup>2</sup> 蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (µg) の平均値及び標準誤差として表されている。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値-最大値) は全てのは場で採取された各組織の値を基に計算されている (根を除いて各組織 20 反復。根においては 14 反復が定量限界以下であり、6 反復は発現が認められその平均値及び標準誤差は 0.91 (0.088) µg/g DW であった)。SE=標準誤差、DW=乾燥重。

20 <sup>3</sup> LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

<sup>22</sup> 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

<sup>23</sup> 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

- ⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝播されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度

5 移入された核酸の配列には伝達を可能とする機能はないため、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

- (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

10 本組換えダイズは、本組換えダイズに特異的に結合可能なプライマーセットを利用して、EndPoint TaqMan PCR による検出及び識別が可能である (別添資料 10)。検定に用いる葉の DNA 量は、PCR の 1 反応当たり 5~20 ng であることが推奨されている。

15 本法の再現精度は、40 サンプルの本組換えダイズ及び 80 サンプルのネガティブコントロールとして供試したダイズを用いて確認されている (別添資料 10 の p9)。

- (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

25 本組換えダイズへ導入された *pat*、改変 *dmo*、*ft\_t.1* 及び *tdo* 遺伝子は、それぞれ PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質を発現することにより、除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性を付与する。

30 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

35 本組換えダイズの宿主は非組換えダイズ品種 A3555 であり、*pat*、改変 *dmo*、*ft\_t.1* 及び *tdo* 遺伝子が導入されている。これらの導入遺伝子はそれぞれ PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質を発現することにより、本組換えダイズに除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性を付与する。

第一の 2-(1)-ロ-③ (p25~29) で論じたとおり、PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質が、内在性化合物を代謝して宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低い。加えて、いずれの蛋白質も基質特異性が高く、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立していることから、これら蛋白質が植物体において相互に影響するとは考えにくい。

よって、導入遺伝子である *pat*、改変 *dmo*、*ft\_t.1* 及び *tdo* 遺伝子による影響が、目的とした宿主の生理学的特性である除草剤グルホシネート、ジカンバ、アシルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性以外に及ぶとは予想されない。

以上のことから、本組換えダイズの隔離ほ場試験を行うに当たっては、生理学的又は生態学的特性についてのデータを用いずに生物多様性影響評価が可能であると考えられる。

なお、本組換えダイズの隔離ほ場試験では、生理学的又は生態学的特性に関わる以下の項目を調査する予定である。

①形態及び生育の特性、②成体の越冬性、③花粉の稔性及びサイズ、④種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率、⑤交雑性、⑥有害物質の産生性

### 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### (1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

#### (2) 使用等の方法

所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地

名称：バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場

使用期間：承認日から 2029 年 5 月 31 日まで

#### 1. 隔離ほ場の施設

(1) 部外者の立入を防止するため、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、当該ダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。

(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風網を設置している。また、播種時及び成熟期には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。

## 2. 隔離ほ場での作業要領

(1) 本組換えダイズ及び比較対象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、当該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。

(3) (2) により運搬又は保管する場合を除き、本組換えダイズの栽培終了後は、当該ダイズ及び比較対象の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) までに掲げる事項について第一種使用等を行う者に遵守させる。

(7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。

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

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

別に定めるモニタリング計画書に基づき、モニタリングを実施する。

(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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

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

—

5

- (6) 国外における使用等に関する情報

10 これまで本組換えダイズについて 2020~2022 年の間に米国及びアルゼンチンにおいて延べ 32 ヲ所のほ場試験が行われているが (表 7, p44)、対照の非組換えダイズと比較して生物多様性に影響を与えるような相違は報告されていない。

15 なお、本組換えダイズの海外における申請予定は表 8 (p44) のとおりである。

表 7 国外において本組換えダイズのほ場試験を行ったほ場の数及び国<sup>24</sup>

年	ほ場の数	国
2020	14	米国
2021	12	米国
2021/2022	6	アルゼンチン

20 表 8 本組換えダイズの海外における申請予定<sup>25</sup>

2023 年 1 月現在

機関	安全性審査の種類	申請時期
カナダ保健省 (Health Canada)	食品	2022年4月
カナダ食品検査庁 (CFIA)	環境・飼料	2022年4月
米国農務省 (USDA)	環境	2022年7月
米国食品医薬品庁 (FDA)	食品・飼料	2022年9月
オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)	食品	【申請予定】

<sup>24</sup> 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

<sup>25</sup> 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。



## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 第一の 2-(6)-② (p41~42) に記載したとおり、本組換えダイズの宿主の特性と導入した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データを用いずに評価した。

### 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

10

ダイズは雑草性を有しておらず、ダイズがこれまで北米において栽培ほ場の外で発見されたという報告はない (OECD, 2000)。わが国においても、ダイズはイネ、ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでダイズがわが国の自然条件下で雑草化した例は報告されていない。

15

本組換えダイズには、PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質の発現により除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性形質が付与されているが、これらの除草剤が散布されることが想定しにくい自然条件下において、本形質が競合における優位性を高めるとは考えにくい。

20

実際に、除草剤耐性形質を有する遺伝子組換えダイズが 1996 年以降輸入されているわが国において、2009 年から 2021 年まで農林水産省によって遺伝子組換え植物実態調査が実施されているが、遺伝子組換えダイズが交雑と世代交代を繰り返すことにより生育範囲が経年的に拡大するような状況はこれまでの調査で認められていない (農林水産省, 2011a; 農林水産省, 2011b; 農林水産省, 2012; 農林水産省, 2013; 農林水産省, 2014; 農林水産省, 2015; 農林水産省, 2017; 農林水産省, 2018b; 農林水産省, 2018a; 農林水産省, 2020; 農林水産省, 2021; 農林水産省, 2022d; 農林水産省, 2022e)。

30

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

#### (2) 影響の具体的内容の評価

35

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

5

(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、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。

10

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

15

ダイズにおいて、自然条件下で野生動植物等の生育又は生息に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

20

本組換えダイズ中では除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性形質をそれぞれ付与する PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質が発現しているが、これらの蛋白質は有害物質としては知られておらず、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことが確認された (第一の 2-(1)-ロ-②, p20~25)。

25

第一の 2-(1)-ロ-③ (p25~29) に記載したように、PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する植物内在性化合物を基質とすることがないため、これらの蛋白質が宿主の代謝系に作用して有害物質を産生するとは考えにくい。

30

以上のことから、有害物質の産生性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

35

(3) 影響の生じやすさの評価

—

5 (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、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。

10 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

15 第一の 1-(3)-ニ-③ (p8~11) に記載したように、わが国に分布しているダイズと交雑可能な近縁野生種は、ツルマメのみである (吉村ら, 2016)。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

20

ダイズとその近縁野生種であるツルマメの間では、低い確率で交雑が生じ、雑種が形成される (OECD, 2000)。本組換えダイズがわが国で第一種使用規程に従って使用された場合、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性があることは否定できない。したがって、交雑性に起因する具体的な影響としては、本組換えダイズ由来の *pat*、改変 *dmo*、*ft\_t.1* 及び *tdo* 遺伝子が当該雑種からツルマメの集団中に浸透した後に、その集団の競合における優位性が高まることが考えられた。

25

(3) 影響の生じやすさの評価

30

交雑性に起因する影響の生じやすさを評価するにあたり、1) 本組換えダイズがツルマメと交雑する可能性、2) 本組換えダイズ由来の *pat*、改変 *dmo*、*ft\_t.1* 及び *tdo* 遺伝子がツルマメの遺伝的背景の中で競合における優位性を高める可能性の 2 点を検討した。

35

## 1) 本組換えダイズがツルマメと交雑する可能性

5 第一の 1-(3)-ニ-③ (p8~11) に記載したように、ダイズとツルマメはともに自  
殖性植物であることから、ダイズとツルマメの自然交雑の頻度は非常に低い  
とみなされている (Mizuguti et al., 2009)。両者の自然交雑の頻度に影響を与え  
る条件として、開花フェノロジー、花粉媒介者の存在、親個体間の距離が挙げ  
10 られている (Mizuguti et al., 2009; Kuroda et al., 2010)。ツルマメは通常ダイズ  
より遅い時期に開花し (Nakayama and Yamaguchi, 2002)、この開花期のずれは  
両者の遺伝子交流を妨げる一因と考えられている (阿部・島本, 2001)。さらに、  
わが国での調査によれば、野外環境におけるダイズとツルマメの交雑は、開  
15 花期の重なり合いが認められる条件下で両者を近くで栽培した場合に発生し、  
その交雑率は 0.73% (Nakayama and Yamaguchi, 2002)、0.008% (Mizuguti et al.,  
2009)、0.14% (Mizuguti et al., 2010) と報告されている (吉村ら, 2016)。よって、  
ダイズとツルマメは、それぞれの集団が隣接して生育し、かつ開花期が重なり  
15 合う場合は低頻度で交雑しうるが、そのような特殊な条件の場合でも、両  
者が交雑する頻度は極めて低いと考えられる。

20 本組換えダイズには、*pat*、改変 *dmo*、*ft\_t.1* 及び *tdo* 遺伝子により、それぞ  
れ除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びト  
リケトン系耐性形質が付与されている。これら除草剤耐性形質は、花粉の形  
態及び稔性、種子の生産性など生殖に関わる特性を変化させる形質ではない  
ことから、本組換えダイズの交雑性が従来ダイズと比較して高まっているこ  
20 とは考え難い。

25 上記のことから、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性は極めて低  
いと考えられた。

## 2) 本組換えダイズ由来の *pat*、改変 *dmo*、*ft\_t.1* 及び *tdo* 遺伝子がツルマメの遺 30 伝的背景の中で競合における優位性を高める可能性

30 本組換えダイズ由来の導入遺伝子がツルマメ集団中に遺伝子浸透していく  
ためには、雑種後代が自然環境中で生存し、ツルマメと交雑を繰り返す必要  
がある。しかしながら、第一の 1-(3)-ニ-③ (p8~11) に記載したように、ダイズ  
とツルマメの雑種及びその後代は、ダイズの遺伝子がある割合で有すること  
35 により、自然環境への適応にツルマメと比べ不利となり、淘汰されることが  
報告されている (Oka, 1983; Chen and Nelson, 2004; Kuroda et al., 2010; Kitamoto et

al., 2012; Kuroda et al., 2013)。

5 また、第二の1 (p45~46) で論じたように、本組換えダイズには、PAT、改変  
DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質の発現により除草剤グルホシネート、ジカン  
10 バ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性形質が付与されて  
いるが、これらの除草剤が散布されることが想定しにくい自然条件下におい  
て、本形質が競合における優位性を高めるとは考えにくい。実際に、除草剤  
15 グリホサート耐性遺伝子組換えダイズとツルマメの雑種における形態特性、  
開花特性及び繁殖特性は、親系統のダイズやツルマメと同等かそれらの中間  
的性質であったことから、除草剤グリホサートが散布されることが無い場合、  
導入遺伝子は適応度に影響しないと報告されている (Kubo et al., 2013)。

15 上記のことから、本組換えダイズとツルマメが交雑したとしてもその雑種  
がわが国の自然条件に適応していく可能性は極めて低く、除草剤耐性形質に  
より雑種の競合性がツルマメより高まることはないと考えられた。

したがって、本組換えダイズの交雑性に起因する生物多様性影響の生じや  
すさは極めて低いと考えられた。

#### 20 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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

#### 25 4 その他の性質

—

### 第三 生物多様性影響の総合的評価

第一の 2-(6)-② (p41~42) に記載したとおり、本組換えダイズの宿主の特性と導入した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データを用いずに評価した。

競合における優位性：

ダイズは雑草性を有しておらず、わが国においてもダイズはイネ、ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでダイズがわが国の自然条件下で雑草化した例は報告されていない。

本組換えダイズには、PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質の発現により除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性形質が付与されているが、これらの除草剤が散布されることが想定しにくい自然条件下において、本形質が競合における優位性を高めるとは考えにくい。

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

有害物質の産生性：

本組換えダイズ中では除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性形質をそれぞれ付与する PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質が発現しているが、これらの蛋白質は有害物質としては知られておらず、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことが確認された。

PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する植物内在性化合物を基質とすることがないため、これらの蛋白質が宿主の代謝系に作用して有害物質を産生するとは考えにくい。

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

30

交雑性：

交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定され、具体的な影響として、本組換えダイズ由来の *pat*、改変 *dmo*、*ft\_t.1* 及び *tdo* 遺伝子が当該雑種からツルマメの集団中に浸透した後に、その集団の競合における優位性が高まることが考えられた。

交雑性に起因する影響の生じやすさを検討したところ、ダイズとツルマメが

交雑する頻度は極めて低いと考えられること、付与された除草剤耐性形質は、花粉の形態及び稔性、種子の生産性など生殖に関わる特性を変化させる形質ではなく、本組換えダイズの交雑性が従来ダイズと比較して高まっていることは考え難いことから、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性は極めて低い

5

と考えられた。また、本組換えダイズとツルマメが交雑したとしてもその雑種がわが国の自然条件に適応していく可能性は極めて低く、除草剤耐性形質により雑種の競合性がツルマメより高まることはないと考えられた。

したがって、本組換えダイズは交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

10

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

15

## 参考文献

- Abel, G.H. 1970. Storage of soybean pollen for artificial crossing. *Agronomy Journal* 62: 121-123.
- 5
- Abrams, R.I., C.R. Edwards and T. Harris. 1978. Yields and cross-pollination of soybeans as affected by honey bees and alfalfa leafcutting bees. *American Bee Journal* 118: 555-558.
- 10
- Ahrens, W.H. 1994. Dicamba. 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid. Pages 91-94 in *Herbicide Handbook*. Seventh Edition. Weed Science Society of America, Champaign, Illinois.
- Axelos, M., C. Bardet, T. Liboz, A. Le Van Thai, C. Curie and B. Lescure. 1989. The gene family encoding the *Arabidopsis thaliana* translation elongation factor EF-1 $\alpha$  molecular cloning characterization and expression. *Molecular and General Genetics* 219: 106-112.
- 15
- Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson and J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology* 2: 335-350.
- 20
- Baumlein, H., W. Boerjan, I. Nagy, R. Bassuner, M. Van Montagu, D. Inze and U. Wobus. 1991. A novel seed protein gene from *Vicia faba* is developmentally regulated in transgenic tobacco and *Arabidopsis* plants. *Mol Gen Genet* 225: 459-467.
- 25
- Bautista-Zapanta, J.-n., K. Suzuki and K. Yoshida. 2002. Characterization of four ribosomal RNA operons in the genome of *Agrobacterium tumefaciens* MAFF301001. *Nucleic Acids Research Supplement* (2): 91-92.
- 30
- Beck, E., G. Ludwig, E.A. Auerswald, B. Reiss and H. Schaller. 1982. Nucleotide sequence and exact localization of the neomycin phosphotransferase gene from transposon Tn5. *Gene* 19: 327-336.
- 35
- Bevan, M., W.M. Barnes and M.-D. Chilton. 1983. Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T-DNA. *Nucleic Acids Research* 11: 369-385.



- Bugg, T.D.H. 2003. Dioxygenase enzymes: catalytic mechanisms and chemical models. *Tetrahedron* 59: 7075-7101.
- 5 Carlson, J.B. and N.R. Lersten. 2004. Reproductive Morphology. Pages 59-95 in *Soybeans: Improvement, Production, and Uses*.
- Chakraborty, S., M. Behrens, P.L. Herman, A.F. Arendsen, W.R. Hagen, D.L. Carlson, X.-Z. Wang and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba *O*-demethylase from  
10 *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Purification and characterization. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 437: 20-28.
- Chen, Y. and R.L. Nelson. 2004. Genetic variation and relationships among cultivated, wild, and semiwild soybean. *Crop Science* 44: 316-325.
- 15 Christ, B., R. Hochstrasser, L. Guyer, R. Francisco, S. Aubry, S. Hörtensteiner and J.-K. Weng. 2017. Non-specific activities of the major herbicide-resistance gene *BAR*. *Nature Plants* 3: 937-945.
- 20 Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards and N.-H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *The EMBO Journal* 3: 1671-1679.
- D'Ordine, R.L., T.J. Rydel, M.J. Storek, E.J. Sturman, F. Moshiri, R.K. Bartlett, G.R. Brown, R.J. Eilers, C. Dart, Y. Qi, S. Flasiniski and S.J. Franklin. 2009. Dicamba monooxygenase: Structural insights into a dynamic Rieske oxygenase that catalyzes an exocyclic monooxygenation. *Journal of Molecular Biology* 392: 481-497.
- 25 Dai, S., N. Georgelis, M. Bedair, Y.-J. Hong, Q. Qi, C.T. Larue, B. Sitoula, W. Huang, B. Krebel, M. Shepard, W. Su, K. Kretzmer, J. Dong, T. Slewinski, S. Berger, C. Ellis, A. Jerga and M. Varagona. 2022. Ectopic expression of a rice triketone dioxygenase gene confers mesotrione tolerance in soybean. *Pest Management Science*.
- 30 de Carolis, E. and V. de Luca. 1994. 2-Oxoglutarate-dependent dioxygenase and related enzymes: Biochemical characterization. *Phytochemistry* 36: 1093-1107.
- 35

- Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski and H.M. Goodman. 1982. Nopaline synthase: Transcript mapping and DNA sequence. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 561-573.
- 5 Dumitru, R., W.Z. Jiang, D.P. Weeks and M.A. Wilson. 2009. Crystal structure of dicamba monooxygenase: A Rieske nonheme oxygenase that catalyzes oxidative demethylation. *Journal of Molecular Biology* 392: 498-510.
- FAO. 2022. FAOSTAT. <https://www.fao.org/faostat/en/#home> [Accessed May 13, 2022].
- 10 Fling, M.E., J. Kopf and C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.
- 15 Fraley, R.T., S.G. Rogers, R.B. Horsch, P.R. Sanders, J.S. Flick, S.P. Adams, M.L. Bittner, L.A. Brand, C.L. Fink, J.S. Fry, G.R. Galluppi, S.B. Goldberg, N.L. Hoffmann and S.C. Woo. 1983. Expression of bacterial genes in plant cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 80: 4803-4807.
- 20 Fujita, R., M. Ohara, K. Okazaki and Y. Shimamoto. 1997. The extent of natural cross-pollination in wild soybean (*Glycine soja*). *Journal of Heredity* 88: 124-128.
- Giza, P.E. and R.C.C. Huang. 1989. A self-inducing runaway-replication plasmid expression system utilizing the Rop protein. *Gene* 78: 73-84.
- 25 Gribble, G.W. 2010. Occurrence. Pages 9-348 in *Naturally Occurring Organohalogen Compounds - A Comprehensive Update*. Volume 91. Springer-Verlag, New York, New York.
- 30 Hausinger, R.P. 2004. Fe(II)/ $\alpha$ -Ketoglutarate-Dependent Hydroxylases and Related Enzymes. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* 39: 21-68.
- Herman, P.L., M. Behrens, S. Chakraborty, B.M. Chrastil, J. Barycki and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba *O*-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain
- 35 DI-6: Gene isolation, characterization, and heterologous expression. *Journal of Biological Chemistry* 280: 24759-24767.

- Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. *Plant Cell* 7: 907-919.
- 5 HRAC. 2022. HRAC Mode of Action Classification 2022. [https://hracglobal.com/files/HRAC\\_MOA\\_Poster\\_January\\_6\\_2022.pdf](https://hracglobal.com/files/HRAC_MOA_Poster_January_6_2022.pdf) [Accessed July 28, 2022].
- Hunt, A.G. 1994. Messenger RNA 3' end formation in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 45: 47-60.
- 10 Kiang, Y.T., Y.C. Chiang and N. Kaizuma. 1992. Genetic diversity in natural populations of wild soybean in Iwate Prefecture, Japan. *Journal of Heredity* 83: 325-329.
- 15 Kitamoto, N., A. Kaga, Y. Kuroda and R. Ohsawa. 2012. A model to predict the frequency of integration of fitness-related QTLs from cultivated to wild soybean. *Transgenic Research* 21: 131-138.
- Klee, H.J., Y.M. Muskopf and C.S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: Sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. *Molecular and General Genetics* 210: 437-442.
- 20 Kovalic, D., C. Garnaat, L. Guo, Y. Yan, J. Groat, A. Silvanovich, L. Ralston, M. Huang, Q. Tian, A. Christian, N. Cheikh, J. Hjelle, S. Padgett and G. Bannon. 2012. The use of next generation sequencing and junction sequence analysis bioinformatics to achieve molecular characterization of crops improved through modern biotechnology. *The Plant Genome* 5: 149-163.
- 25 Kubo, A., M. Aono, N. Nakajima, T. Nishizawa, M. Tamaoki and H. Saji. 2013. Characterization of hybrids between wild and genetically modified glyphosate-tolerant soybeans. *Plant Biotechnology* 30: 335-345.
- 30 Kundu, S. 2012. Distribution and prediction of catalytic domains in 2-oxoglutarate dependent dioxygenases. *BMC Research Notes* 5: 410.
- 35

- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D. Vaughan. 2010. The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. *Molecular Ecology* 19: 2346-2360.
- 5 Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka and D.A. Vaughan. 2008. Gene flow and genetic structure of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science* 48: 1071-1079.
- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka, H. Yano, T. Yoshitake, S. Kato and D. Vaughan. 2013. QTL affecting fitness of hybrids between wild and cultivated soybeans in experimental  
10 fields. *Ecology and Evolution* 3: 2150-2168.
- Langmead, B. and S.L. Salzberg. 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. *Nature Methods* 9: 357-359.
- 15 Larue, C.T., M. Goley, L. Shi, A.G. Evdokimov, O.C. Sparks, C. Ellis, A.M. Wollacott, T.J. Rydel, C.E. Halls, B. Van Scoyoc, X. Fu, J.R. Nageotte, A.M. Adio, M. Zheng, E.J. Sturman, G.S. Garvey and M.J. Varagona. 2019. Development of enzymes for robust aryloxyphenoxypropionate and synthetic auxin herbicide tolerance traits in maize and soybean crops. *Pest Management Science* 75: 2086-2094.
- 20 Maeda, H., K. Murata, N. Sakuma, S. Takei, A. Yamazaki, M.R. Karim, M. Kawata, S. Hirose, M. Kawagishi-Kobayashi, Y. Taniguchi, S. Suzuki, K. Sekino, M. Ohshima, H. Kato, H. Yoshida and Y. Tozawa. 2019. A rice gene that confers broad-spectrum resistance to  $\text{3-O-allyl}$ -triketone herbicides. *Science* 365: 393-396.
- 25 Manderscheid, R. and A. Wild. 1986. Studies on the mechanism of inhibition by phosphinothricin of glutamine synthetase isolated from *Triticum aestivum* L. *Journal of Plant Physiology* 123: 135-142.
- 30 Mazodier, P., P. Cossart, E. Giraud and F. Gasser. 1985. Completion of the nucleotide sequence of the central region of Tn 5 confirms the presence of three resistance genes. *Nucleic Acids Research* 13: 195-205.
- 35 Meier, U. 2001. Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. BBCH Monograph. Second Edition. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Grossbeeren, Germany.

- Meinzel, T. and C. Giglione. 2008. Tools for analyzing and predicting N-terminal protein modifications. *Proteomics* 8: 626-649.
- 5 Mitchell, G., D.W. Bartlett, T.E.M. Fraser, T.R. Hawkes, D.C. Holt, J.K. Townson and R.A. Wichert. 2001. Mesotrione: a new selective herbicide for use in maize. *Pest Management Science* 57: 120-128.
- Mizuguti, A., K. Ohigashi, Y. Yoshimura, A. Kaga, Y. Kuroda and K. Matsuo. 2010.  
10 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.
- Mizuguti, A., Y. Yoshimura and K. Matsuo. 2009. Flowering phenologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed*  
15 *Biology and Management* 9: 93-96.
- Müller, T.A., T. Fleischmann, J.R. van der Meer and H.-P.E. Kohler. 2006. Purification and characterization of two enantioselective  $\alpha$ -ketoglutarate-dependent dioxygenases, RdpA and SdpA, from *Sphingomonas herbicidovorans* MH. *Applied and Environmental*  
20 *Microbiology* 72: 4853-4861.
- Myouga, F., R. Motohashi, T. Kuromori, N. Nagata and K. Shinozaki. 2006. An *Arabidopsis* chloroplast-targeted Hsp101 homologue, APG6, has an essential role in chloroplast development as well as heat-stress response. *The Plant Journal* 48: 249-260.  
25
- Nakayama, Y. and H. Yamaguchi. 2002. Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. *Weed Biology and Management* 2: 25-30.
- 30 Norris, S.R., S.E. Meyer and J. Callis. 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.
- OECD. 2000. Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean).  
35 ENV/JM/MONO(2000)9. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No.15. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris,

France.

- Oka, H.-I. 1983. Genetic control of regenerating success in semi-natural conditions observed among lines derived from a cultivated x wild soybean hybrid. *Journal of Applied Ecology* 20: 937-949.
- Palmer, R.G., M.C. Albertsen and H. Heer. 1978. Pollen production in soybeans with respect to genotype, environment, and stamen position. *Euphytica* 27: 427-433.
- Piper, K.R., S. Beck Von Bodman, I. Hwang and S.K. Farrand. 1999. Hierarchical gene regulatory systems arising from fortuitous gene associations: controlling quorum sensing by the opine regulon in *Agrobacterium*. *Mol Microbiol* 32: 1077-1089.
- Richins, R.D., H.B. Scholthof and R.J. Shepherd. 1987. Sequence of figwort mosaic virus DNA (caulimovirus group). *Nucleic Acids Research* 15: 8451-8466.
- Rogers, S.G. 2000. Promoter for transgenic plants. Patent 6,018,100, U.S. Patent Office, Washington, D.C.
- Sutcliffe, J.G. 1979. Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid pBR322. Pages 77-90 in *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, Cold Spring Harbor, New York.
- To, J.P.C., I.W. Davis, M.S. Marengo, A. Shariff, C. Baublite, K. Decker, R.M. Galvão, Z. Gao, O. Haragutchi, J.W. Jung, H. Li, B. O'Brien, A. Sant and T.D. Elich. 2021. Expression Elements Derived From Plant Sequences Provide Effective Gene Expression Regulation and New Opportunities for Plant Biotechnology Traits. *Frontiers in Plant Science* 12.
- Wang, C., K.C. Glenn, C. Kessenich, E. Bell, L.A. Burzio, M.S. Koch, B. Li and A. Silvanovich. 2016. Safety assessment of dicamba mono-oxygenases that confer dicamba tolerance to various crops. *Regulatory Toxicology and Pharmacology* 81: 171-182.
- Wang, X.-Z., B. Li, P.L. Herman and D.P. Weeks. 1997. A three-component enzyme system catalyzes the O demethylation of the herbicide dicamba in *Pseudomonas maltophilia* DI-6. *Applied and Environmental Microbiology* 63: 1623-1626.

- Wehrmann, A., A.V. Vliet, C. Opsomer, J. Botterman and A. Schulz. 1996. The similarities of *bar* and *pat* gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology* 14: 1274-1278.
- 5
- Wild, A. and R. Manderscheid. 1984. The effect of phosphinothricin on the assimilation of ammonia in plants. *Zeitschrift für Naturforschung C* 39: 500-504.
- Wohlleben, W., W. Arnold, I. Broer, D. Hillemann, E. Strauch and A. Pühler. 1988.
- 10 Nucleotide sequence of the phosphinothricin *N*-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* 70: 25-37.
- Ye, X., E.J. Williams, J. Shen, S. Johnson, B. Lowe, S. Radke, S. Strickland, J.A. Esser, M.W. Petersen and L.A. Gilbertson. 2011. Enhanced production of single copy backbone-free transgenic plants in multiple crop species using binary vectors with a pRi replication origin in *Agrobacterium tumefaciens*. *Transgenic Res* 20: 773-786.
- 15
- Yoshimura, Y. 2011. Wind tunnel and field assessment of pollen dispersal in soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *J Plant Res* 124: 109-114.
- 20
- Yoshimura, Y., K. Matsuo and K. Yasuda. 2006. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environmental Biosafety Research* 5: 169-173.
- Zambryski, P., A. Depicker, K. Kruger and H.M. Goodman. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: Analysis of the boundaries of T-DNA. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 361-370.
- 25
- Lee, G.A., G.W. Crawford, L. Liu, Y. Sasaki and X. Chen. 2011. Archaeological soybean (*Glycine max*) in East Asia: does size matter? *PLoS One* 6: e26720.
- 30
- 阿部純・島本義也 2001 第6章 ダイズの進化： ツルマメの果たしてきた役割 栽培植物の自然史－野生植物と人類の共進化－ 島本義也 山口裕文 北海道大学図書刊行会 北海道 77-95
- 35
- 大庭寅雄 2001 ダイズの品種生態と選択 5. 栽培条件と品種の反応 転作全書

第二巻 ダイズ・アズキ 農山漁村文化協会 東京 102-105

喜多村啓介・国分牧衛 2004 14. 食用作物 ダイズ 新編 農学大辞典 養賢堂  
東京 466-471

5

栗原浩・蓬原雄三・津野幸人・山田盾 2000 第6章 豆類 2.ダイズ 作物栽培の  
基礎 農山漁村文化協会 東京 233-246

10 後藤寛治 2001 ダイズの起源と特性 転作全書 第二巻 ダイズ・アズキ 農山  
漁村文化協会 東京 31-41

昆野昭晨 2001 生育のステージと生理、生態 転作全書 第二巻 ダイズ・アズ  
キ 農山漁村文化協会 東京 43-88

15 財務省 2022 財務省統計 <https://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm> [Accessed  
May 16, 2022]

20 農林水産省 2011a 「平成 21 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
[https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/21\\_kekka.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/21_kekka.pdf) [Accessed  
April 12, 2022]

25 農林水産省 2011b 「平成 22 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
[https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/22\\_natane.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/22_natane.pdf) [Accessed  
April 12, 2022]

農林水産省 2012 「平成 23 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
[https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/23\\_kekka.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/23_kekka.pdf) [Accessed  
April 12, 2022]

30 農林水産省 2013 「平成 24 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
[https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/24\\_kekka.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/24_kekka.pdf) [Accessed  
April 12, 2022]

35 農林水産省 2014 「平成 25 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
[http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h25\\_kekka.pdf](http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h25_kekka.pdf) [Accessed  
April 12, 2022]



- 農林水産省 2015 「平成 26 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
[https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h26\\_houkoku.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h26_houkoku.pdf) [Accessed  
September 16, 2022]
- 5
- 農林水産省 2017 「平成 27 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-42.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]
- 10
- 農林水産省 2018a 遺伝子組換え植物実態調査結果（平成 28 年実施分）  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-134.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]
- 農林水産省 2018b 遺伝子組換え植物実態調査結果（平成 29 年実施分）
- 15 <https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-172.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]
- 農林水産省 2020 遺伝子組換え植物実態調査結果（平成 30 年実施分）
- 20 <https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-226.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]
- 農林水産省 2021 遺伝子組換え植物実態調査結果（令和元年実施分）
- 25 <https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-272.pdf>  
[Accessed April 12, 2022]
- 農林水産省 2022a 作物統計 令和 3 年産大豆（乾燥子実）の収穫量 令和 4 年  
4 月 8 日 公表  
[https://www.maff.go.jp/j/tokei/kekka\\_gaiyou/sakumotu/sakkyou\\_kome/mame/r3/mame/  
index.html](https://www.maff.go.jp/j/tokei/kekka_gaiyou/sakumotu/sakkyou_kome/mame/r3/mame/index.html) [Accessed September 16, 2022]
- 30
- 農林水産省 2022b 令和 2 年度食料需給表 令和 4 年 3 月 18 日公表  
<https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/zyukyu/> [Accessed May 16, 2022]
- 農林水産省 2022c 大豆をめぐる事情 令和 4 年 9 月版
- 35 <https://www.maff.go.jp/j/seisan/ryutu/daizu/attach/pdf/index-6.pdf> [Accessed September  
16, 2022]

- 農林水産省 2022d 遺伝子組換え植物実態調査結果（令和 2 年実施分）  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-17.pdf>  
[Accessed July 28, 2022]
- 5
- 農林水産省 2022e 遺伝子組換え植物実態調査結果（令和 3 年実施分）  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-21.pdf>  
[Accessed July 28, 2022]
- 10
- 農林水産省 2022f カルタヘナ法に基づき第一種使用規程を承認した遺伝子組換え農作物一覧（作物別、特性等別）（2022 年 5 月 27 日現在）  
<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-22.pdf>  
[Accessed September 16, 2022]
- 15
- 吉村泰幸・加賀秋人・松尾和人 2016 遺伝子組換えダイズの生物多様性影響評価に必要なツルマメの生物情報集 農業環境技術研究所報告 第 36 号: 47-69

## 緊急措置計画書

2022年11月1日

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社  
代表取締役社長 坂田 耕平  
住所 東京都千代田区丸の内一丁目6番5号

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ (*pat*, 改変 *dmo, ft\_t1, tdo, Glycine max* (L.) Merr.) (MON94313, OECD UI: MON-94313-8) (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、科学的に判断された場合、以下の措置を執ることとする。

- 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は以下に示すとおりである。

2022年11月現在

社内委員	
【個人情報につき非開示】*	バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーサイエンス本部長 東京都千代田区丸の内一丁目6番5号 (電話番号 03-6266-7384)
【個人情報につき非開示】	バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーサイエンス本部 種子規制部 部長
【個人情報につき非開示】	バイエルホールディング株式会社 広報本部 企業広報部長 クロップサイエンス ビジネスパートナー
【個人情報につき非開示】	バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーサイエンス本部 種子規制部
【個人情報につき非開示】	バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーサイエンス本部 種子規制部 河内試験圃場 圃場長

\*: 管理責任者

## 2 第一種使用等の状況の把握の方法

第一種使用等の状況は、バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場実験従事者から得られた情報により把握する。

5

## 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

実験従事者に直接口頭で伝える。

10

## 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

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

15

## 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

20

弊社は信頼性のある証拠及びデータにより生物多様性影響が生ずるおそれが見込まれた場合、そのことを直ちに農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。

除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及び  
トリケトン系耐性ダイズ MON94313 の  
隔離ほ場試験計画書

5 第一部 隔離ほ場試験における受容環境

I. 隔離ほ場の所在地等

1. 名称

10

バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場

2. 住所

15

茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地

3. 電話番号

0297-60-4011

20

4. 地図

図 7 (p72) 参照

25 II. 責任者等

1. 隔離ほ場試験の責任者

30

【個人情報につき非開示】(バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラト  
リーサイエンス本部 種子規制部)

2. 隔離ほ場管理責任者

35

【個人情報につき非開示】(バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラト  
リーサイエンス本部 種子規制部 河内試験圃場 圃場長)

### III. 試験期間

承認日から 2029 年 5 月 31 日まで

#### 5 IV. 施設概要

部外者の立入を防止するためのフェンス (高さ 1.6 m)、立入禁止であることを明示するための標識、洗い場を設置している (図 8, p73)。

#### 10 V. 使用面積等

##### 1. 隔離ほ場全体の面積

約 6,292 m<sup>2</sup>

15

##### 2. 試験に使用する面積

約 1,000 m<sup>2</sup>

#### 20 3. 試験区の配置図

図 9 (p73) 参照

### VI. 隔離ほ場の周辺環境

25

#### 1. 地形

茨城県の最南端、常総平野に位置する (図 10, p74)。

#### 30 2. 周辺の土地利用状況

隔離ほ場の周辺は、水田・畑・民家・道路・用水路 (隔離ほ場のフェンスから約 2.5 m の距離) として利用されている。

### 3. 周辺の環境保護区の名称と隔離ほ場からの距離

5 隔離ほ場境界より半径 1 km 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。なお、上記の自然保護地域のうち、隔離ほ場に最も近いのは水郷筑波国定公園であり、隔離ほ場からの距離は約 15 km である。

### 4. 気象条件

10 隔離ほ場の最寄の気象情報観測地点である茨城県龍ヶ崎アメダス観測所 (龍ヶ崎市大徳町) における気象データの平年値を表 9 (p67) に示した (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 2022 年 7 月 1 日 :

[http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml\\_amd\\_ym.php?prec\\_no=40&block\\_no=1014&year=&month=&day=&view](http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_amd_ym.php?prec_no=40&block_no=1014&year=&month=&day=&view))。

15

表 9 茨城県龍ヶ崎アメダス観測所 (龍ヶ崎市大徳町) における気象データの平年値

要素	降水量	平均気温	最高気温	最低気温	平均風速	日照時間
	(mm)	(°C)	(°C)	(°C)	(m/s)	(時間)
統計期間	1991~2020	1991~2020	1991~2020	1991~2020	1991~2020	1991~2020
資料年数	30	30	30	30	30	30
1 月	55.4	3.3	9.4	-2.3	2.4	190.8
2 月	52.9	4.3	10.2	-1.2	2.7	172.3
3 月	103.3	7.8	13.5	2.3	3	174.3
4 月	109	13	18.6	7.5	3.4	178.4
5 月	122.6	17.8	22.9	13.5	3.2	179.9
6 月	135.1	21	25.4	17.5	2.8	125.7
7 月	128.1	24.6	29.4	21.2	2.7	155.7
8 月	99.4	25.8	30.9	22.2	2.6	183.5
9 月	182.8	22.5	27.2	18.8	2.7	133.9
10 月	212.8	16.9	21.8	12.6	2.4	134.0
11 月	87.5	10.9	16.7	5.6	2	148.4
12 月	53.4	5.5	11.7	0	2.1	169.1
年	1352.8	14.5	19.8	9.8	2.7	1927.9

## 5. 台風の襲来暦

### ① 平年値

5 気象庁ホームページ気象統計情報によると、隔離ほ場のある関東甲信地方への台風接近数<sup>26</sup>の平年値(1991年~2020年の30年平均)は、3.3個である(気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アクセス2022年7月1日：<http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/average/average.html>)。

### ② 過去10年の隔離ほ場周辺への台風の接近個数

10 関東甲信地方に台風が接近し26、かつ隔離ほ場最寄の観測地点(茨城県龍ヶ崎アメダス観測所)において日ごとの最大風速が15 m/sを超えた個数<sup>27</sup>を隔離ほ場周辺への台風の接近個数とした。過去10年の隔離ほ場周辺への台風の接近個数は、合計6個(2013年10月、2016年8月、2017年10月、2018年10月、2019年9月、2019年10月)<sup>28</sup>であった(気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アクセス2022年7月1日)。

台風の襲来が予想された場合には、以下の強風対策を行う。

- 20
- ・ 強風時には、必要に応じて補助支柱を入れる。
  - ・ 補助支柱などの資材は常に準備しておき、気象情報により取り付ける。

また、施設の周囲は、風による物の飛来を防止するため、周囲の片付け・清掃を常に行い、隔離ほ場施設内の資材等が風により飛散することのないよう留意する。

25

---

<sup>26</sup>台風の中心が茨城県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県、東京都(島しょ部を除く)、神奈川県、山梨県、長野県のいずれかの気象官署等から300 km以内に入った場合を「関東甲信地方に接近した台風」としている。[http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto\\_koshin.html](http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto_koshin.html)

<sup>27</sup>台風の強風域の定義が平均風速15 m/sであることによる。

(気圧配置 台風に関する用語(気象庁): [http://www.jma.go.jp/jma/kishou/known/yougo\\_hp/haichi2.html](http://www.jma.go.jp/jma/kishou/known/yougo_hp/haichi2.html))

<sup>28</sup>過去の気象データ検索(気象庁: <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>)から、地点として龍ヶ崎を選択し、さらに関東甲信越地方に台風が接近した年月を選択。該当年月における日ごとの最大風速が15 m/sを超えた日の有無を確認した。該当年月において、日ごとの最大風速が15 m/sを超える日が認められた場合、隔離ほ場周辺に台風が接近したと判断した。



6. 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

過去にはほ場が冠水したことはない。

5 7. 過去 10 年における強風の経験とその程度・頻度

強風によって栽培中の作物が倒伏したことはない。

8. 市町村が策定するハザードマップ上の位置付け (策定されている場合)

10

隔離ほ場は、河内町の洪水ハザードマップによると、想定最大規模降雨によって河道 (利根川・小貝川・霞ヶ浦) が氾濫した場合に、水深 0.5~3.0 m となると想定されている (茨城県河内町ホームページ洪水ハザードマップ、アクセス 2022 年 7 月 1 日 : <http://www.town.ibaraki-kawachi.lg.jp/page/page000262.html>)。

15

9. 周辺地域における鳥獣害の発生状況

鳥獣害の被害報告はない。

20 VII. 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

25 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

*Glycine soja* (ツルマメ)

30

なお、2022 年 7 月に隔離ほ場内試験区周辺 10 m の範囲 (民家の敷地内を除く) (図 9, p73) でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。

## VIII. 栽培管理等

### 1. 栽培履歴

5 隔離ほ場における栽培履歴は図 11 (p75) に示したとおりである。

### 2. 気象災害時の対応

10 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)

15 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。なお、本組換えダイズの栽培終了後も本隔離ほ場では遺伝子組換え作物の隔離ほ場試験等を実施する予定である。

### 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

20 隔離ほ場は下記 (1)~(4) の設備を備えている。

(1) 部外者の立入を防止するため、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を明示した標識を見やすい所に掲げている。

25 (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。

30 (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を設置している。また、播種時及び成熟期には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。

### 5. 作業要領

35 (1) 本組換えダイズ及び比較対象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、当該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。

- 5
- (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、当該ダイズ及び比較対象の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。
- 10 (6) (1)から(5)までに掲げる事項について第一種使用等を行う者に遵守させる。
- (7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。
- (8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。
- 15

以上

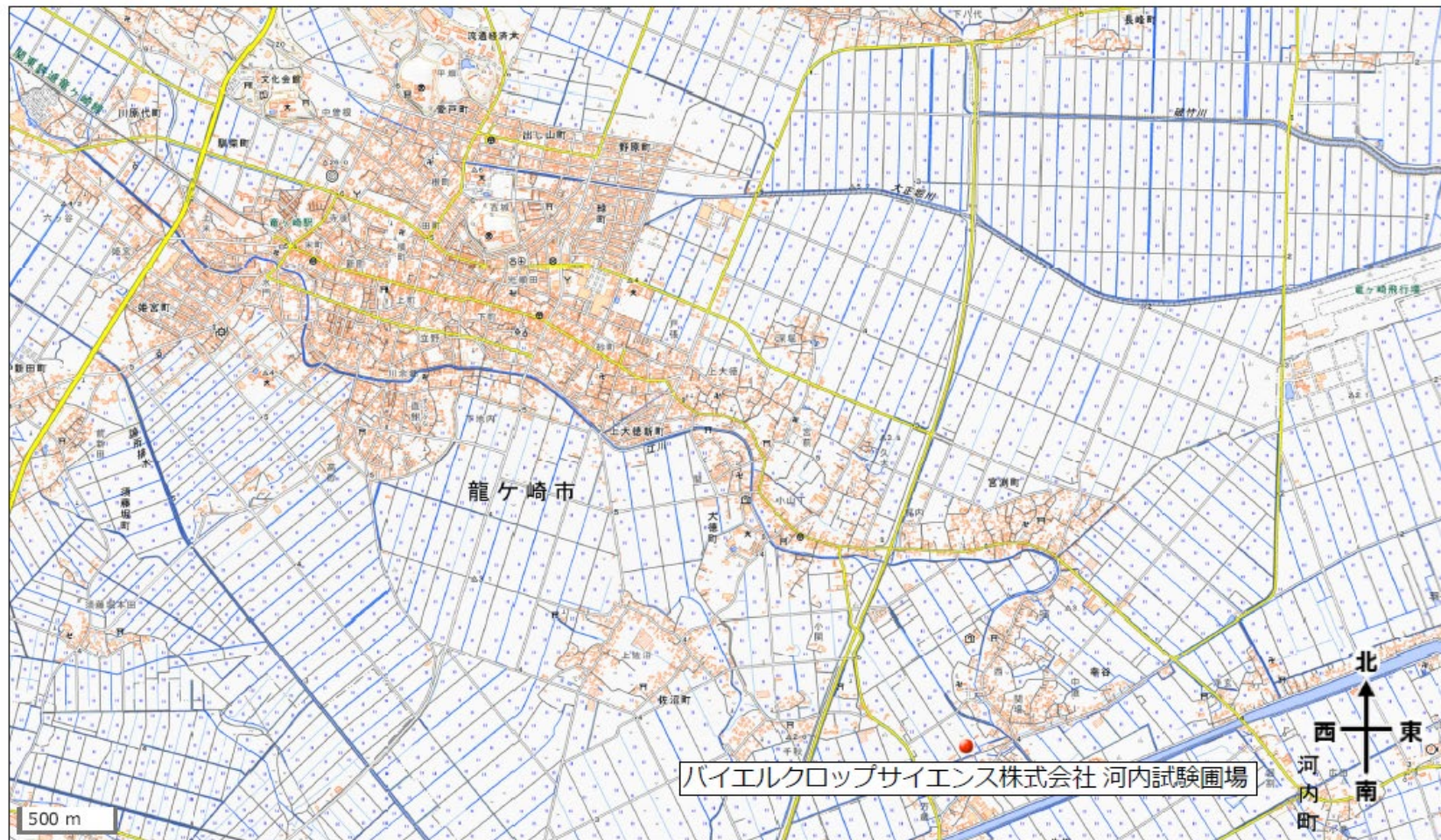


図7 バイエルクロップサイエンス株式会社隔離ほ場の位置





図 8 隔離ほ場の設備<sup>29</sup>

(左) 立入禁止であることを明示するための標識、(右) 洗い場

5

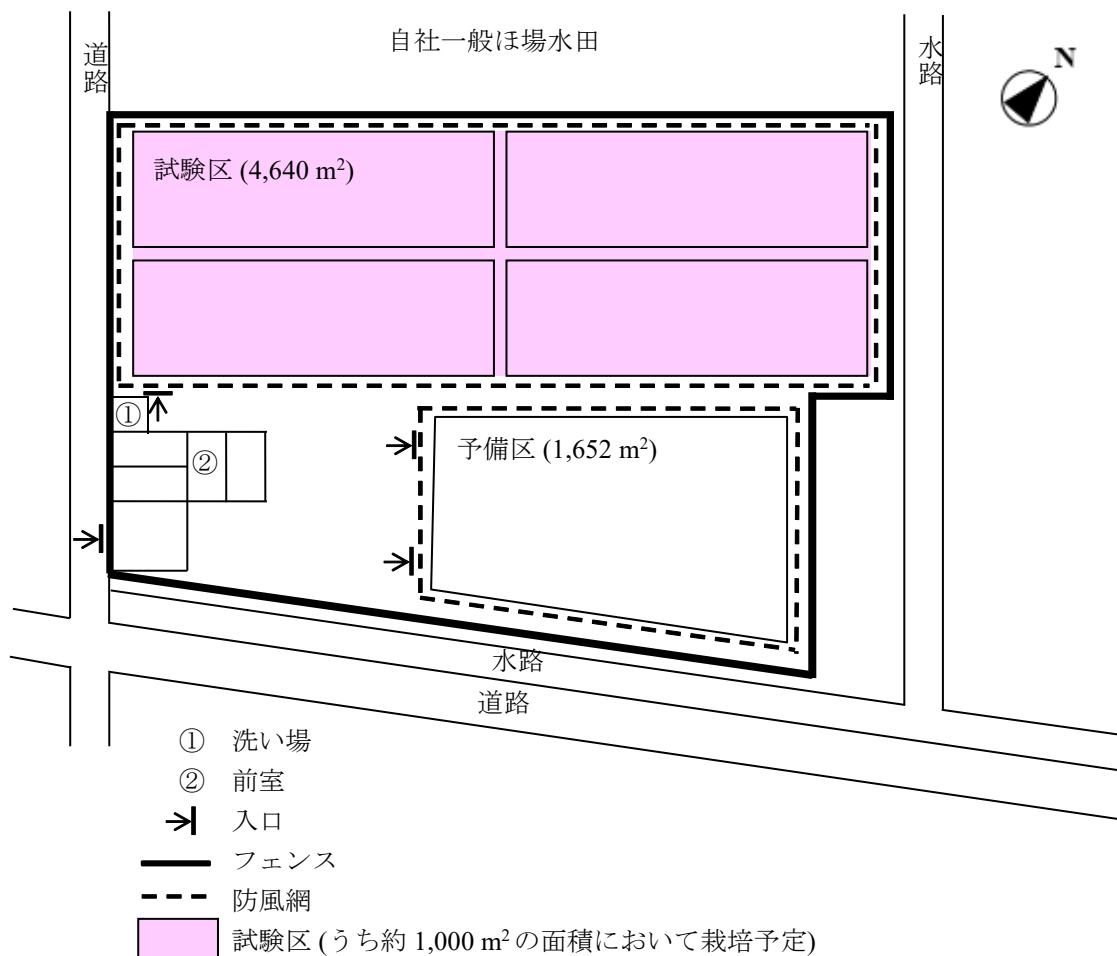


図 9 試験区の配置図<sup>30</sup>

<sup>29</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

<sup>30</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

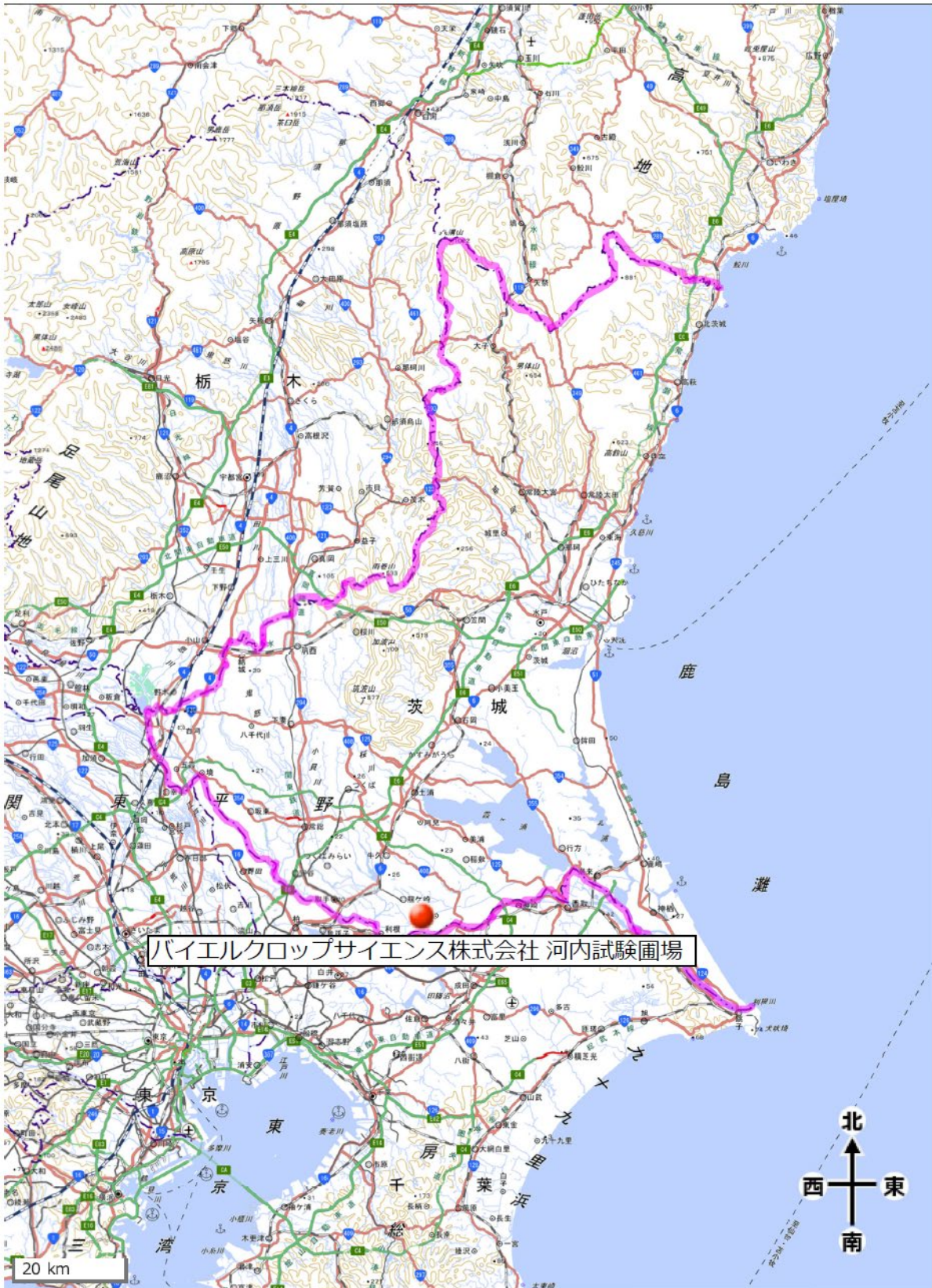


図 10 隔離ほ場の位置 (広域図)

ほ場 No.	作物	栽培期間 (2019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	
No.1	非遺伝子組換え ライムギ	→												
	非遺伝子組換え スイートコーン					←	←	←	←	←	←	←	←	←
	遺伝子組換え スイートコーン					←	←	←	←	←	←	←	←	←
	非遺伝子組換え トウモロコシ						←	←	←	←	←	←	←	←
	遺伝子組換え トウモロコシ						←	←	←	←	←	←	←	←
	非遺伝子組換え ダイズ						←	←	←	←	←	←	←	←
	遺伝子組換え ダイズ						←	←	←	←	←	←	←	←
No.2	非遺伝子組換え ライムギ	→												
No.3	非遺伝子組換え ライムギ	→												
No.4	非遺伝子組換え ライムギ	→												
	非遺伝子組換え トウモロコシ					←	←	←	←	←	←	←	←	
No.5	非遺伝子組換え ライムギ	→												

ほ場 No.	作物	栽培期間 (2020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	
No.1	非遺伝子組換え ライムギ	→												
	非遺伝子組換え スイートコーン					←	←	←	←	←	←	←	←	←
	遺伝子組換え スイートコーン					←	←	←	←	←	←	←	←	←
	非遺伝子組換え トウモロコシ						←	←	←	←	←	←	←	←
	遺伝子組換え トウモロコシ						←	←	←	←	←	←	←	←
	非遺伝子組換え ダイズ						←	←	←	←	←	←	←	←
	遺伝子組換え ダイズ						←	←	←	←	←	←	←	←
No.2	非遺伝子組換え ライムギ	→												
	非遺伝子組換え ナタネ													
	遺伝子組換え ナタネ													
No.3	非遺伝子組換え ライムギ	→												
	非遺伝子組換え ナタネ													
	遺伝子組換え ナタネ													
No.4	非遺伝子組換え トウモロコシ	→												
	遺伝子組換え トウモロコシ	→												
	非遺伝子組換え テンサイ						←	←	←	←	←	←	←	
	非遺伝子組換え ライムギ													
No.5	非遺伝子組換え ライムギ	→												

ほ場 No.	作物	栽培期間 (2021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
No.1	非遺伝子組換え ライムギ	→											
No.2	非遺伝子組換え ナタネ						←	←	←	←	←	←	←
	遺伝子組換え ナタネ						←	←	←	←	←	←	←
No.3	非遺伝子組換え ライムギ	→											
	非遺伝子組換え ナタネ												
	遺伝子組換え ナタネ												
	非遺伝子組換え テンサイ						←	←	←	←	←	←	←
No.4	非遺伝子組換え テンサイ												
	非遺伝子組換え ライムギ												
No.5	非遺伝子組換え ライムギ	→											

図 11 隔離ほ場における栽培履歴<sup>31</sup>

<sup>31</sup> 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

## 第二部 隔離ほ場での試験計画

【社外秘につき非開示】





## 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

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

本組換えダイズの隔離ほ場試験は、バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場内にある隔離ほ場で行う。隔離ほ場内において本組換えダイズの栽培を予定している試験区周辺 10 m の範囲においてモニタリングを実施する。

なお、2022 年 7 月の時点で試験区周辺 10 m の範囲 (民家の敷地内を除く) でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。

## 4. モニタリングの期間

本組換えダイズの栽培期間中とする。

## 5. 実施時期、頻度その他のモニタリングの方法

- 1) 本組換えダイズの栽培期間中に、試験区周辺 10 m 以内にツルマメが生育しているかどうかを確認する。
- 2) 試験区周辺 10 m 以内にツルマメが生育しており秋に種子をつけていた場合には、位置情報を記録するとともに、秋にツルマメ 1 集団当たり最低 50 粒の種子をサンプリングする。
- 3) 1) により、ツルマメの生育が認められない場合には、試験区周辺 75 m 以内で調査可能な範囲において最もほ場に近しいツルマメの集団について、2) と同様の作業を行う。なお、試験区周辺 75 m 以内の土地は水田・畑・道路・用水路・民家等として利用されている。隔離ほ場周辺の地図を図 12 (p80) とし、また隔離ほ場の位置を示す地図を図 13 (p81) とし示す。

収集されたツルマメ種子に本組換えダイズの導入遺伝子が移行しているかどうかを 1 粒ごとに検定する。検定方法は収集されたサンプルの量等を考慮して適宜決定する。

## 6. モニタリングの結果の解析の方法

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

## 7. 農林水産大臣及び環境大臣への結果の報告の方法

本組換えダイズの第一種使用規程(食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為)の申請時にモニタリング結果報告書を提出する。

## 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本組換えダイズの導入遺伝子が検出される等、当該遺伝子のツルマメへの移行が認められ、若しくはその疑いがある場合にあつては、農林水産省及び環境省とモニタリングの期間等について協議を行うものとする。

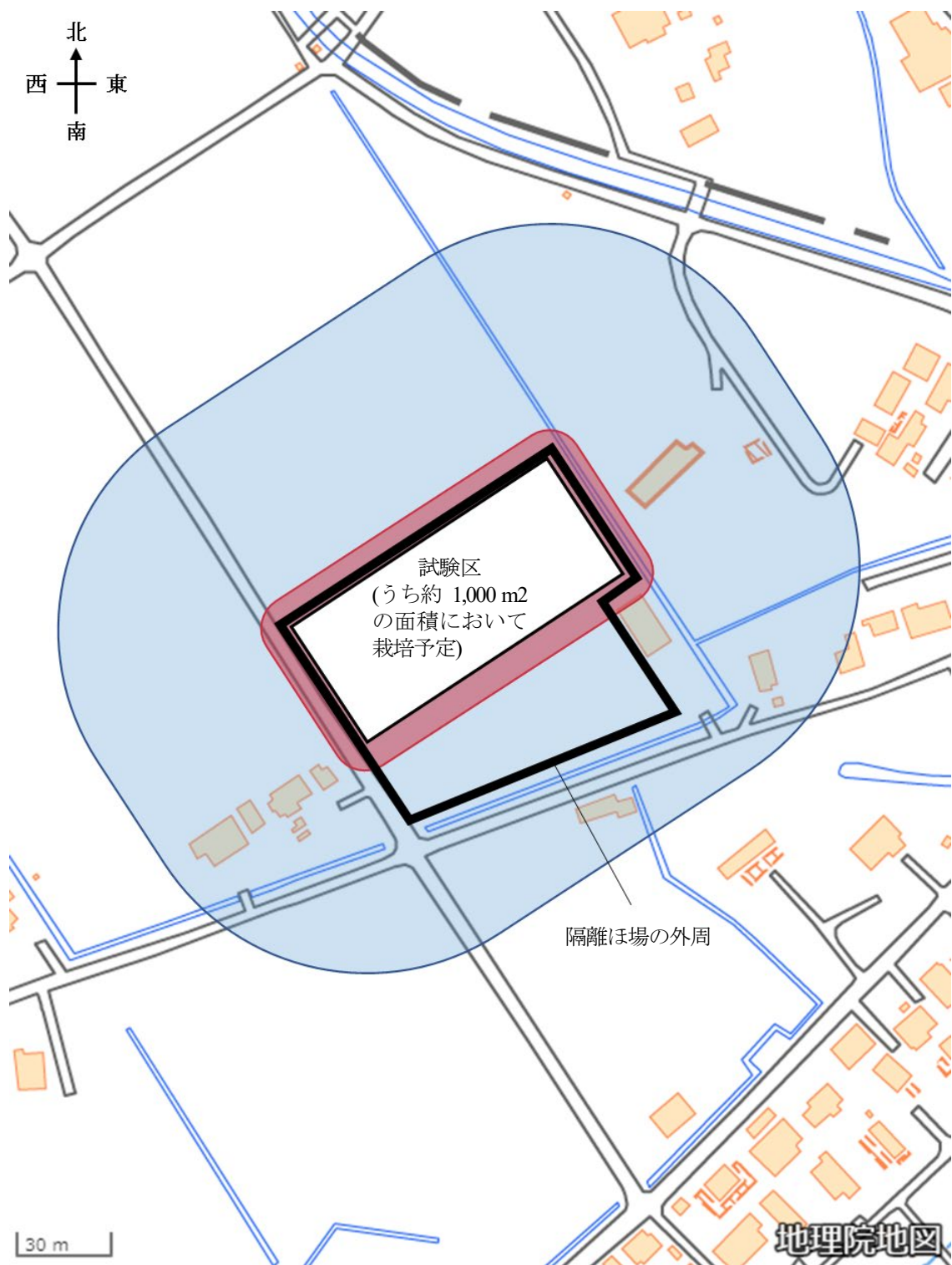


図 12 隔離ほ場周辺の地図

本組換えダイズを栽培予定の試験区周辺 10m の範囲を赤で、75m の範囲を青で示した。



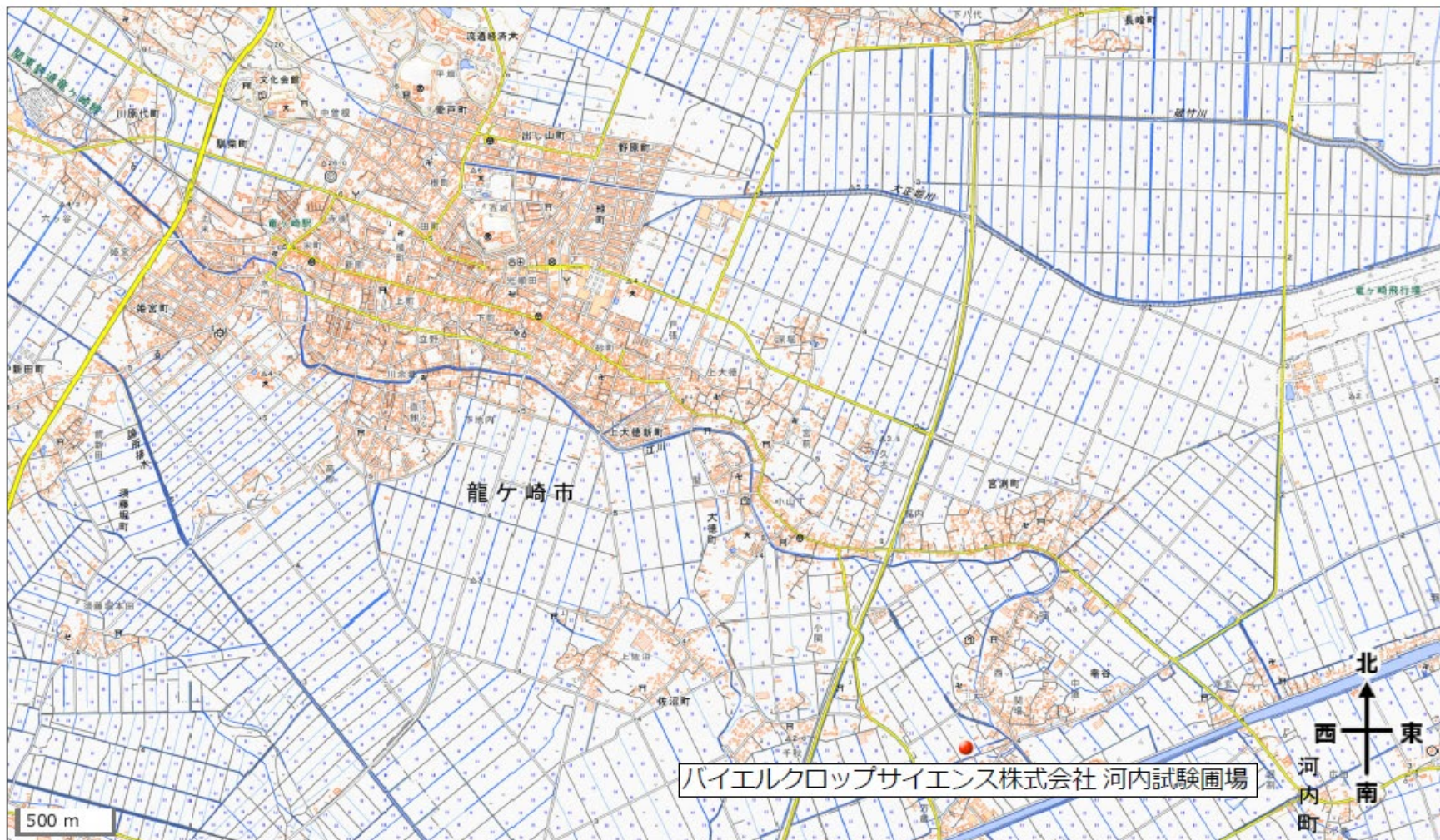


図 13 隔離ほ場の位置

除草剤グルホシネート、ジカンバ、アリルオキシアルカノエート系及びトリケトン系耐性ダイズ (*pat*, 改変 *dmo, ft\_t.1, tdo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON94313, OECD UI: MON-94313-8) の  
別添資料リスト

- 5
- 別添資料 1 本組換えダイズで発現する PAT、改変 DMO、FT\_T.1 及び TDO 蛋白質の推定アミノ酸配列 (社外秘)
- 別添資料 2 Sequence of Genetic Elements in PV-GMHT529103 (社外秘)
- 10 別添資料 3 Mechanism of Triketone Dioxygenase (TDO) from *Oryza sativa* (M-817168-01-1) (社外秘)
- 別添資料 4 Substrate Screen of Triketone Dioxygenase (TDO) from *Oryza sativa* (M-817739-01-1) (社外秘)
- 別添資料 5 PCR Analysis to Confirm the Absence of *Agrobacterium tumefaciens* Used to Produce MON 94313 (TRR0001508) (社外秘)
- 15 別添資料 6 Segregation Analysis of the T-DNA Insert in Herbicide Tolerant Soybean MON 94313 Across Three Generations (TRR0001184) (社外秘)
- 別添資料 7 Amended from TRR0001418: Molecular Characterization of Herbicide Tolerant Soybean MON 94313 (M-815764-02-1) (社外秘)
- 20 別添資料 8 Demonstration of the Presence of DMO, FT\_T.1, PAT, and TDO Proteins in Soybean Seed Samples Across Multiple Generations of MON 94313 (TRR0001514) (社外秘)
- 25 別添資料 9 Assessment of DMO, PAT, FT\_T.1, and TDO Protein Levels in Herbicide Treated Soybean Forage, Grain, Leaf, and Root Tissues Collected from MON 94313 Produced in United States Field Trials During 2020 (TRR0001494) (社外秘)
- 別添資料 10 Summary of Method for Detecting the Presence of Soybean MON 94313 Event in Genomic DNA Extracted from Leaf Tissue (TRR0001598) (社外秘)