

除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ
(改変 *cp4 epsps, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (DBN9004, OECD UI: DBN-09004-6)
申請書等の概要

5

	第一種使用規程承認申請書	1
	第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	3
	1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	3
10	(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	3
	(2) 使用等の歴史及び現状.....	4
	(3) 生理学的及び生態学的特性.....	5
	2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	14
	(1) 供与核酸に関する情報.....	14
15	(2) ベクターに関する情報.....	21
	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	21
	(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性.....	25
	(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.....	29
	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	29
20	3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	32
	(1) 使用等の内容.....	32
	(2) 使用等の方法.....	32
	(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.....	32
25	(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.....	32
	(5) 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果.....	32
	(6) 国外における使用等に関する情報.....	32
30	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	34
	1 競合における優位性.....	34
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	34
	(2) 影響の具体的内容の評価.....	36
	(3) 影響の生じやすさの評価.....	36
35	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	36
	2 有害物質の産生性.....	36

	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	36
	(2)	影響の具体的内容の評価.....	38
	(3)	影響の生じやすさの評価.....	38
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	38
5	3	交雑性.....	38
	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	38
	(2)	影響の具体的内容の評価.....	38
	(3)	影響の生じやすさの評価.....	39
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	42
10	4	その他の性質.....	42
	第三	生物多様性影響の総合的評価.....	43
		参考文献.....	46
		緊急措置計画書.....	54
		別添資料リスト.....	56

第一種使用規程承認申請書

令和6年11月8日

5 農林水産大臣 小里 泰弘 殿
環境大臣 浅尾 慶一郎 殿

10 氏名 SCC Scientific Consulting Company Japan
株式会社
申請者 代表取締役 後藤 秀俊
住所 東京都港区西新橋一丁目2番9号
日比谷セントラルビル14階

15 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	除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ (改変 <i>cp4 epsps, pat, Glycine max</i> (L.) Merr.) (DBN9004, OECD UI: DBN-09004-6)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、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
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	—

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

5 (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

10 英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

② 宿主の品種名又は系統名

15 遺伝子導入に用いた宿主の品種は Jack 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 (吉村ら, 2016)、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、我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、朝鮮半島、日本、台湾、ロシア及び我が国に分布しており (OECD, 2000)、我が国においては、北海道から九州南部まで分布し、河原の氾濫原や土手、路傍、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)。

35

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

5 ダイズは、紀元前 17～11 世紀に中国東部で最初に栽培化されたと考えられて
10 おり (OECD, 2000)、これまでの推定では我が国には 1900～2000 年前に渡来
15 したとされている (後藤, 2001)。他方、土器表面の圧痕の調査結果等から、縄
20 文時代に、日本国内でのツルマメの栽培行為により栽培型の形態を備えたダ
25 イズが生み出されたとする説もある (小畑, 2009; 小畑, 2010; 中山, 2015)。この
30 考古学から得られた知見は、ダイズとツルマメの単純反復配列 (simple
35 sequence repeat。以下「SSR」という。) マーカー (Kuroda et al., 2009) 及び葉緑
40 体 DNA の SSR における遺伝子型のパターン (Xu et al., 2002) から読みとれる
45 ダイズの起源に関する考察と矛盾のないものである。

50 西洋におけるダイズの導入は比較的新しく、現在の主要生産国である米国
55 には 1765 年に導入されているが (Hymowitz and Harlan, 1983)、北米での栽培が
60 本格的に拡大したのは 20 世紀に入ってからであり、さらに、1960 年代以降、
65 ブラジルなど南米大陸での栽培が増加した (鄭, 2008)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

20

a. 主たる栽培地域

25 我が国において、ダイズは全国的に栽培可能であるが、主に北海道、東北
30 及び九州で栽培されており、2022 年における栽培面積は約 15 万 ha である
35 (FAO, 2024)。また、2022 年における世界総栽培面積は約 1 億 3,379 万 ha であり、
40 世界的にはブラジル (約 4,089 万 ha)、米国 (約 3,494 万 ha)、アルゼンチン
45 (約 1,587 万 ha)、インド (約 1,215 万 ha) 等を中心に、広い範囲で栽培されてい
50 る (FAO, 2024)。

b. 栽培方法

55 我が国のダイズ栽培における播種適期は、地域や品種によって異なり、北
60 海道・東北では 5 月下旬、関東・北陸・近畿では 6 月上旬、中国・四国・九
65 州では 6 月下旬から 7 月上旬である。播種深度は 3～5 cm がよく、播種量は
70 畝間 70 cm、株間 20 cm で点播の場合 1 株 2～3 粒播き、最終的な苗立ち密度
75 を 1 m² 当たり 15 本程度確保できればよい。播種前の耕うんと播種と同時に除

草剤を散布することで大部分の雑草を抑制できるが、中耕作業を 2 回程度行うことは効果的である。中耕は除草のほか、土壌物理性の改善効果もある。また、不定根発生の促進や倒伏防止のために中耕と同時に培土 (土寄せ) することが必要である。害虫や病害を発見した場合は、早めに適切な薬剤を散布し防除することが必要である (鄭, 2008)。収穫に際して、作付けが小面積の場合は、地上部を手で刈り、束ねてほ場に立てて天日乾燥した後に脱穀する。大面積の場合は、機械による収穫が一般的であり、ビーンハーベスタ又は改良したコンバインによって刈取りと脱穀が一斉に行われる (鄭, 2008)。

10 c. 流通実態及び用途

ダイズの 2022 年における世界総生産量は約 3 億 4,886 万トンであり、主な生産国はブラジル (約 1 億 2,070 万トン)、米国 (約 1 億 1,638 万トン)、アルゼンチン (約 4,386 万トン) 及び中国 (約 2,028 万トン) である。一方、我が国における 2022 年の生産量は約 24 万トンである (FAO, 2024)。我が国は 2022 年に約 350 万トンのダイズを輸入しており、その輸入量の 73.5%にあたる 258 万トンが米国からの輸入である (財務省, 2024)。

ダイズは、世界的にみればその 9 割以上が食用油と家畜の飼料として利用されている。しかし、我が国も含めアジアでは古くから食品素材として盛んに利用されている。主な加工利用法は、豆腐、醤油、納豆、味噌、煮豆、炒り豆、きなこ、もやし等である。また、工業分野では、インク (ソイインク) や接着剤として広く利用されている (鄭, 2008)。脱脂ダイズから糖類等の可溶性分子を除いた濃縮ダイズ蛋白は、肉製品の増量剤や代用肉として使われている (山内, 1992)。ダイズのリン脂質のレシチンは、天然乳化剤として用いられる (鎌田, 1992)。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、我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

30

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を生ずる (OECD, 2000)。ダイズの茎は、主茎と分枝とに分けられる。主茎の第 5 複葉が伸長するころ、第 1 複葉の葉腋から分枝の葉が現われ、n 葉と (n-

35

4) 葉節の分枝とが同時に発生する。発芽後 2~3 週間すると、根に根粒が見え始める。これは、根粒菌 (*Bradyrhizobium japonicum*) の寄生による。根粒菌は、播種後 20~30 日には空中窒素の固定を始める (後藤, 2001)。雌ずいは 1 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)。また、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。短日高温では開花を促進する効果が大きい、長日高温では促進効果がないか、かえって遅れることがある (昆野, 1987)。

10 ダイズは、開放花と閉鎖花という 2 つの異なる形態の花を同一個体がつける。開花して結実に至る開放花は、潜在的に他殖と自殖の両方を行うことが可能であるが (宮下ら, 1999)、ダイズでは通常開花前に開葯し同花受粉を行なうことが知られている (阿部・島本, 2001)。他方、閉鎖花は、開花することなく蕾の中で同花受粉による自殖のみ行う (宮下ら, 1999)。花は主茎、分枝の各葉腋に着生する (鄭, 2008)。開放花は、基部ががくに包まれ、1 枚の旗弁、2 枚の翼弁及び 2 枚の竜骨弁からなる。雌ずいと雄ずいは、いずれも竜骨弁に包まれ露出しない (鄭, 2008)。開放花は午前中に開花し、花粉は、開花直前に葯から放たれ自家受粉する。開花・受精の 7 日 (早生品種) ~14 日 (晩生品種) 目頃から莢が伸長し始め、約 10 日間で最大 (長さ 4~6 cm) に達する (鄭, 2008)。

20 その後、子実の肥大が急速に生じ、30~45 日目には子実の乾物重が最大に達する (鄭, 2008)。種子の百粒重は、特殊なものを除き 10~50 g の範囲である (国分, 2002)。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

25 ダイズ種子の発芽適温は 30~35°C であり (後藤, 2001)、土壌温度が 10°C 以上で発芽が可能となり、好適条件では 5~7 日に出芽する (OECD, 2000)。ダイズの生育適温は 25°C 付近であるが、低温条件が続くと生育が抑えられ、子実生産も阻害される (昆野, 2001b)。ダイズ栽培に適する土壌は、pH5.5~6.5、排水及び通気の良い埴土又は壤土である。ダイズでは乾物 1 g を生産するのに必要な水の量は約 600 g であり、特に乾物蓄積が最も多い開花期から約 1 か月後までの間は最も水分を必要とする (鄭, 2008)。また、ダイズは霜に対して耐性がなく、冬季の氷点下になるような条件では生き残ることができない。ダイズの種子が休眠性を示すことはほとんどなく、雑草としての特性はない (OECD, 2000)。

35 なお、ダイズは短日条件でより早く開花するため、栽培品種の適地を決定

5 する際には、光周性及び温度応答が重要である。ダイズの栽培品種は、緯度と日照時間によって決定され、北米には、北部(北緯 45 度)の成熟群(Maturity Group。以下「MG」という。)000 から赤道付近の MG X まで、13 の MG がある(OECD, 2000)。ダイズの栽培適地は、生育期間中やや高温、多照、かつ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)。

なお、我が国において、ダイズが雑草化した事例はこれまで報告されていない。

10 ハ 捕食性又は寄生性

—

ニ 繁殖又は増殖の様式

15

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

20 ダイズは、1 個体で最大 400 の莢を形成し、各節の莢数は 2~20 である。各莢には 1~5 個の種子が入っている(OECD, 2000)。ダイズは、成熟期を過ぎると莢が乾燥して裂開し、種子が地表に落下する。裂莢性には品種間差があり、一般的に米国の無限伸育性品種は裂莢しにくい(大庭, 2001)。ダイズの育成品種では種子休眠性はほとんどみられない(OECD, 2000)。また、種子は、常温で貯蔵した場合に通常約 3 年で発芽力を失う(昆野, 2001a)。

25 ② 栄養繁殖の様式並びに自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性

ダイズは、種子繁殖する一年生の双子葉植物であり、自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性を有さない。

30

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

a. 自殖性、他殖性の程度

35

ダイズは、開放花と閉鎖花という 2 つの異なる形態の花を同一個体にもつ

ことが知られているが (宮下ら, 1999)、一般的に自家受粉率が高い自殖性植物であり、他家受粉率は通常 1%未満である (OECD, 2000)。しかし、十分な花粉媒介昆虫の存在下では 2.5%の事例も報告されている (Ahrent and Caviness, 1994)。また、花色の異なる 2 品種を用いた交雑性試験では、同一畝に 15.2 cm 5 間隔で交互に 2 品種を植えた場合、全 167 株中 56 株 (33.5%) では交雑が確認されず、交雑が確認された 111 株での交雑率は 0.65~6.32%、平均で 1.8%であった (Ray et al., 2003)。

b. 自家不和合性の有無

10

自家不和合性は知られていない。

c. 近縁野生種との交雑性の程度

15 ・近縁野生種について

ダイズの近縁野生種としてはツルマメがある。ツルマメは、中国、朝鮮半島、台湾、ロシア及び我が国に分布する匍匐性又はツル性の一年生植物である (OECD, 2000)。一般に日当たりの良い野原、路傍、荒地、河原等に生息するほか、果樹園や畑地にも広がり (奥田, 1997)、河原の氾濫原や土手、路傍、畑の周辺、荒廃地など適度の攪乱にさらされる場所を主な生息地とし、水田の畔や道路法面等にも個体群が観られる (吉村ら, 2016)。ヨモギ (*Artemisia indica*)、ススキ (*Miscanthus sinensis*)、ヨシ (*Phragmites australis*)、セイタカアワダチソウ (*Solidago altissima*) 等の丈の高い植物に絡み付いて生育する個体や、カナムグラ (*Humulus scandens*)、ヤエムグラ (*Galium spurium* var. *echinospermon*) 等のツル性植物とともに生育する個体のほか、地面を匍匐しながら生育する個体も見られる (吉村ら, 2016)。

ツルマメは、ダイズと同様に開放花と閉鎖花をつけ (宮下ら, 1999)、また、開放花においても、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せず自家受粉する (阿部・島本, 2001)。北海道鶴川流域及び秋田県雄物川流域で採集したツルマメ種子を栽培した結果、花の総数に占める開放花の割合は、前者が約 3%、後者が 1%以下と低かったと報告されている (宮下ら, 1999)。開花・受粉形態から、ツルマメは、典型的な自殖性植物であると考えられている。ツルマメ集団内における自然交雑率は、平均 2.2%であったことが報告されている (Kuroda et al., 2008)。一方、秋田県雄物川沿いのツルマメ集団では、自然交雑率が平均 13%と比較的高いものであった 35 ことが報告されている。この雄物川沿いの地域は護岸工事や人為的介入がほ

とんどなされておらず、ツルマメ集団の規模が大きく、訪花昆虫であるミツバチやクマバチが頻繁に観察されていた (Fujita et al., 1997)。このように、ツルマメ集団の規模が大きく、多数の開放花が同時期に開花する場合は、多くの訪花昆虫を誘引し、その結果、開放花における自然交雑の頻度が高くなる可能性

・ダイズとツルマメとの交雑について

ダイズとツルマメは、染色体数 ($2n=40$) が同じであり、交雑が可能である (OECD, 2000)。一般的にツルマメの開花期はダイズより遅く、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が (阿部・島本, 2001)、晩生の秋ダイズ型品種の作付地帯等では、両者の開花期が重なる可能性がある。開花期の重なるダイズ品種とツルマメを 50 cm 間隔で交互に配置して栽培した場合、個体別の交雑率は 0~5.89%、平均で 0.73%であった (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。また、除草剤耐性が付与された晩生の遺伝子組換えダイズ (以下「組換えダイズ」という。) を、開花ピークを近づけ、ツルマメが巻きついた状態で栽培した結果、交雑率は 0.136% (調査 25,741 個体中雑種 35 個体) であった一方、組換えダイズとツルマメの距離を離して栽培した場合、2、4、6 m の距離での交雑率はそれぞれ 0.013% (調査 7,521 個体、7,485 個体、7,508 個体中それぞれ雑種 1 個体) であり、8、10 m の距離では交雑種子は認められなかった (Mizuguti et al., 2010)。このようにダイズとツルマメが隣接して生育し、かつ開花期が重複する条件下では交雑が起こりうるが、このような特別な条件下においても、ダイズとツルマメが交雑する可能性は極めて低いと考えられる。

また、ダイズとツルマメの雑種形成については、我が国の自然環境下において調査が行われている。

2003 年に行われた調査では、ダイズとツルマメの雑種後代によくみられる形態的「中間体」を広島県 8 地点、秋田県 9 地点のツルマメ自生地において探索し、秋田県の 1 地点で 1 個体の中間体が発見された (加賀ら, 2005)。

2004 年には、秋田県、茨城県、愛知県、広島県及び佐賀県の合計 57 地点のツルマメ自生地 (ダイズ栽培ほ場の周辺) で調査が行われ、佐賀県 (調査地点数 33) の 3 地点から、11 個体の中間体が発見された一方、2003 年の調査で中間体が発見された地点からは、中間体は発見されなかった。この結果から、自生地における中間体の頻度は栽培実験の値よりも明らかに少ないとされている (黒田ら, 2005)。

2005 年に行われた秋田県、茨城県、高知県及び佐賀県の合計 39 地点のツル

マメ自生地における調査では、2004年にダイズが栽培されていたほ場と隣接する14地点を含め全地点で新たなダイズ中間体は発見されなかったことから、ダイズとツルマメの自然交雑率は非常に低いことが示唆されたとされている(黒田ら, 2006)。

5 2006年には、秋田県、兵庫県及び佐賀県の40地点で調査が行われた結果、佐賀県の2地点でそれぞれ1個体ずつ中間体が発見されたのみであった(黒田ら, 2007)。これらの結果から、ダイズとツルマメの雑種形成はツルマメの自生地で起きているものの、その頻度は低いと考えられた。

10 さらに、我が国では、1996年以降、約30年間組換えダイズが輸入されているが、農林水産省による遺伝子組換え植物実態調査(2009年～2021年)のダイズ輸入実績港での調査の結果では、ダイズ陸揚げ地点から半径5 km以内において組換えダイズとツルマメの交雑体は認められなかった(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, 2018a; 農林水産省, 2018b; 農林水産省, 2020; 農林水産省, 2021; 農林水産省, 2022a; 農林水産省, 2022b; 農林水産省, 2023)。また、我が国と同様に、ツルマメの自生地域であり、かつ除草剤グリホサート耐性ダイズを輸入している韓国において、2000年に広範囲の地域から採取された243系統のツルマメに除草剤グリホサートを散布したところ、全ての系統が枯死し、交雑により除草剤グリホサート耐性を獲得した組換えダイズとツルマメの交雑体は確認されなかったと報告されている(Kim et al., 2003)。

・ダイズからツルマメへの遺伝子浸透について

25 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。

2004年に、2003年にダイズとツルマメの形態的中間体が発見された秋田県のツルマメ自生地1地点で調査が行われたところ、中間体の後代は発見されなかった(黒田ら, 2005)。

30 2005年には、2003年に中間体が発見された秋田県1地点及び2004年に中間体が発見された佐賀県3地点の計4地点で調査が行われたところ、中間体の後代の生存が確認されたのは佐賀県1地点の1個体のみであった(黒田ら, 2006)。

35 2006年にも、2005年と同じ4地点で調査が行われたところ、2004年及び2005年に中間体及びその後代が発見された佐賀県の地点では、3年連続して中間体を発見することはできず、発見された中間体は、佐賀県の上記と異な

る 1 地点の 1 個体のみであった (黒田ら, 2007)。このことから、黒田ら (2007) は、中間体がツルマメ自生地で生存する確率は非常に低いことが示唆されたとしている。

また、2003～2006 年の調査で発見された 17 個体の中間体の後代が速やかに自然環境から消失していた理由として、より透水性の高い種皮を有することに伴い冬期に種子が腐敗した、冬期に発芽し枯死した、春期に発芽したものの他の個体との競合に勝てず成熟期まで生存できなかったなど、中間体の後代の適応度がツルマメより低かったことに伴う自然淘汰を受けた可能性が高いとされている (Kuroda et al., 2010)。

実際に、ダイズとツルマメを人工交配して得た F₃ 雑種について、親系統のツルマメとともに播種した後の定着状況を 3 年間追跡調査した結果、雑種系統の定着率は、親のツルマメと比較して明らかに劣っていたことが示されている (Oka, 1983)。加えて、ダイズとツルマメの雑種や両者の中間の表現形を示す個体において、休眠性、倒伏性、裂莢性はツルマメに比べ低下していたことが報告されている (Chen and Nelson, 2004; Oka, 1983)。

また、国内産ツルマメをダイズ品種「フクユタカ」又は「リュウホウ」と人工交配して得た F₁ 雑種を国内で管理栽培し、その種子生産数及び種子の越冬率 (冬期を通じて土中に埋めた種子の発芽率及び休眠種子の割合) を親のツルマメと比較した結果、F₁ 雑種の種子生産数はツルマメと同等又はそれよりも少なく、種子の越冬率はツルマメより低かったことが報告されている (Kuroda et al., 2013)。その中で、栽培化に関連した形質である種子生産数や種子の越冬率に関する QTL がダイズとツルマメの雑種後代の自然環境への適応度に関連していることが報告されており、雑種後代はダイズからこれらの遺伝子を受け取ったことにより適応度が下がったとされている (Kuroda et al., 2013)。

広島県産ツルマメとフクユタカとの F₁ 雑種から得られた F₂ 雑種において、個体当たりの種子生産数及び種子の越冬率に関し、それぞれ 2 つ及び 3 つの QTL の情報が得られるとともに、それらの QTL が及ぼす遺伝の相加及び優性成分の総和として、種子の生産数と越冬率に対して負の影響を及ぼすことが明らかになった。よって、ダイズとツルマメの雑種及び後代は、上記の 2 形質において雑種弱勢の状態にあり、組換えダイズの導入遺伝子が、交雑によってツルマメ集団内に拡がることはないかと予測された。本予測は、後代における完全自殖又は 10%の他殖率を仮定したシミュレーションによっても支持されている (Kitamoto et al., 2012)。

また、2003 年から 2006 年に秋田県の 1 地点及び佐賀県の 5 地点において採取された 468 個体のツルマメ、17 個体の中間体及び 12 個体のダイズについ

て、分子マーカーによる解析が行われた結果、これらの中間体はダイズからツルマメへの遺伝子流動により生じたものと判断された一方、中間体からツルマメへの二次的な遺伝子流動は認められなかったことから、ダイズとツルマメの雑種形成の可能性はあるが、我が国の自然環境下において更なる遺伝子浸透が起こることはほとんどないと考察されている (Kuroda et al., 2010)。

d. アポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

ダイズがアポミクシスを生ずる特性を有するという報告は確認されていない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

雄ずいは10本あり、うち1本が離れており、それぞれが葯をもっている (後藤, 2001)。1葯当たりの花粉数は374~760粒 (Palmer et al., 1978)、約230~540粒 (Koti et al., 2004) との報告がある。ダイズの花粉には粘着性があり (Yoshimura, 2011)、花粉の寿命は短く、その発芽能力は湿度によらず8時間でほぼ失われることが報告されている (Abel, 1970)。花粉の直径は、21~30 μm である (Carlson and Lersten, 2004)。また、花粉の飛散距離に関しては、花粉採集器を用いた開花期19日間の観測の結果、1日1 cm^2 当たりの花粉密度の最大値は、ほ場から1.0 m及び2.5 m離れた地点で1.235粒であり、5 mの地点で0.617粒、10 m及び20 mの地点ではいずれも0.309粒であったことから、ほ場内および周囲への花粉の飛散はほとんどないと報告されている (Yoshimura, 2011)。また、訪花する昆虫の種類は、アザミウマ類が最も頻度が高く、次いでそれらを捕食するカメムシ目の昆虫が観察されたと報告されている (Yoshimura et al., 2006)。

ホ 病原性

—

へ 有害物質の産生性

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

ト その他の情報

① ダイズと交雑可能な近縁野生種であるツルマメの生育を制限する要因

5 一般的に、自然条件下で自生する植物体の群落は、他の植物との競合、非生物的環境との相互作用、昆虫や動物による食害及び人間活動の影響といったいくつかの要因によってその生育が制限されている (Tilman, 1997)。ツルマメについては、道路沿い等の人為的な攪乱がある環境下や運搬中にこぼれ落ちた組換えダイズの生育が想定される環境下における集団の生育実態について、国内での調査が行われている。

10 和歌山県、京都府及び兵庫県内の空き地、道路沿い、河川敷等 6 地点 9 集団で行われたツルマメの生活史と生育環境の調査によると、出芽した個体は、生育初期には暑さと乾燥により、その後は除草行為や河川の増水により多数枯死し、集団毎の生存率が 0~47%であったこと、また、2 回以上の草刈り等により強度に攪乱された集団では、出芽時期に関わらずほぼ全てが繁殖することなく枯死したことが報告されている (中山・山口, 2000)。

15 また、Oka (1983)は、ツルマメの生育は、周辺に生育する雑草種の影響を受けていると述べている。また、羽鹿ら (2003) は、ツルマメの自生場所は河原や工事現場など常に攪乱されているところで、生息環境が元々不安定な上、都市近郊などでは自生地が開発で破壊されたりするケースもあり、消滅する個体群も少なくない、と報告している。さらに、遷移の進んだ自生地ではイネ科植物などの雑草との競合で、消えつつある個体群も見られ、攪乱が生じたあとツルマメが増殖を繰り返すことが可能な期間はかなり短い印象を受けた、と報告している (羽鹿ら, 2003)。

25

② ダイズと交雑可能なツルマメを摂食する昆虫

2011 年及び 2012 年に中国・四国地方 4 県で行われたツルマメを寄主植物とする昆虫相に関する調査では、合計 5 目 40 科 99 種が同定されており、バッタ目に属するオンブバッタ (*Atractomorpha lata*) とツチイナゴ (*Patanga japonica*) がツルマメを摂食する主要種と考えられることのほか、広く確認された種として、カメムシ目ではメダカナガカメムシ (*Chauliops fallax*)、コウチュウ目ではフタスジヒメハムシ (*Medythia nigrobilineata*) 及びマルキバネサルハムシ (*Pagria ussuriensis*)、ハエ目ではダイズクロハモグリバエ (*Japanagromyza tristella*) 並びにチョウ目ではウコンノメイガ (*Pleuroptya ruralis*) をはじめウスアトキハマキ (*Archips semistructa*)、ダイズギンモンハモ

グリ (*Microthasma glycinella*)、チャバネキボシアツバ (*Paragabara ochreipennis*) が報告されている (菊池, 2013)。

2011年から2013年にかけて茨城県及び佐賀県内のツルマメ集団において行われた調査によれば、全ての調査年及び個体群において、草食動物による食害を受けた葉の割合は総葉量の30%以下であった。また、バッタ目、コウチュウ目及びチョウ目を合わせた食害で見た場合、その割合は7.75%以下であり、その中でもチョウ目の食害が占める割合は極めて低かった。また、ツルマメの摘葉処理試験を行った結果、開花始～開花期 (R1～R2期) に50%の葉を取り除いた場合でも、莢数及び種子数において無処理区との間に統計学的有意差は認められておらず (Goto et al., 2016)、これら昆虫目の食害は、ツルマメの種子生産に大きな影響を及ぼさないと考えられる。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

15 (1) 供与核酸に関する情報

Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.は、除草剤グリホサート及びグルホシネートに対する耐性が付与された除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ (DBN9004、OECD UI: DBN-09004-6 ; 以下「本組換えダイズ」とする。) を作出した。

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た供与核酸の構成及び構成要素の由来を図 1 (p15) 及び表 1 (p16～17) に示した。

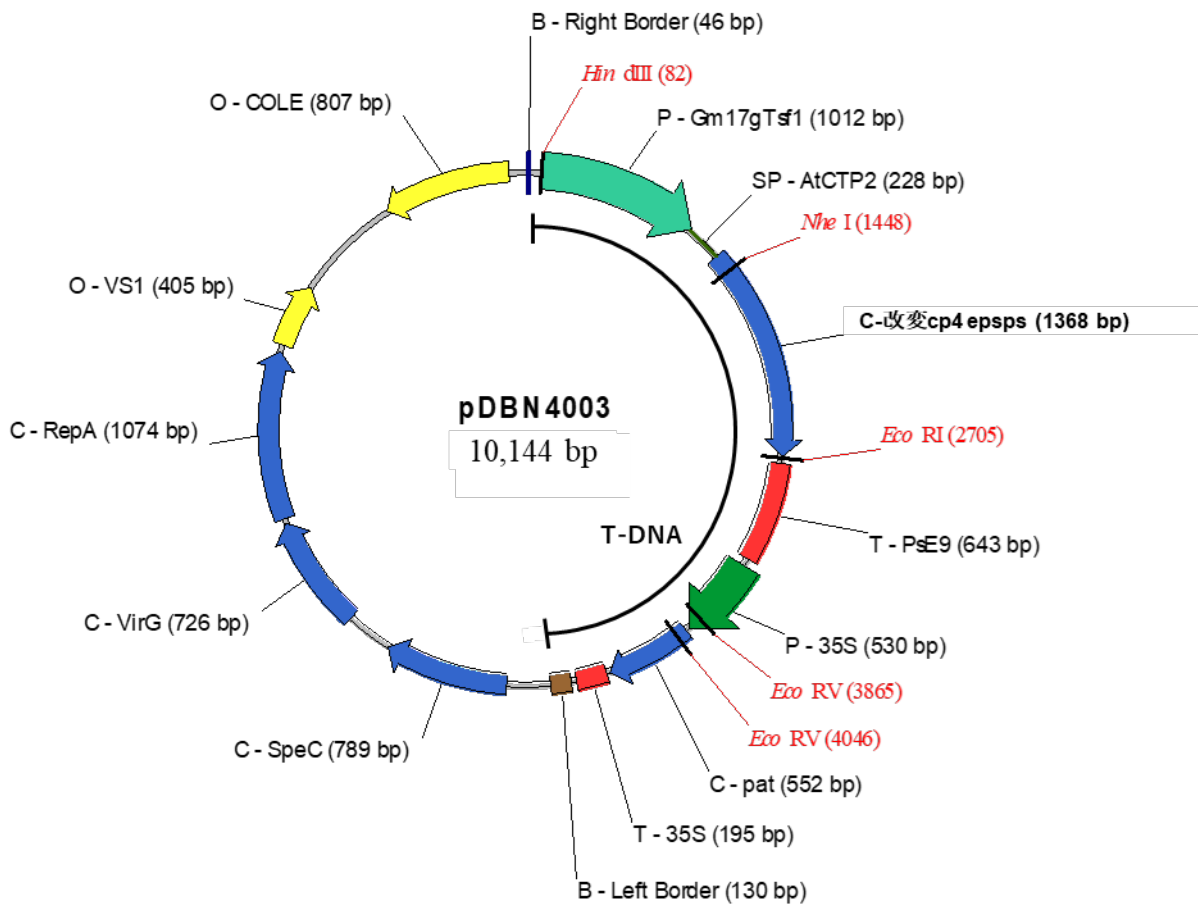


図 1 本組換えダイズの作出に用いた pDBN4003 のプラスミドマップ¹

5 pDBN4003 は右側境界配列 (T-DNA right border) から左側境界配列 (T-DNA left border) までの T-DNA 領域を含む。

B - 境界配列; T - 転写終結配列; C - コード配列; P - プロモーター; SP - シグナルペプチド; O - 複製開始領域

¹ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

表1 本組換えダイズの作出に用いた供与核酸の各構成要素、プラスミド中の位置、由来及び機能²

構成要素 ¹	プラスミド中の位置 (bp)	由来及び機能
T-DNA 領域		
B-Right Border region	1-46	<i>Rhizobium radiobacter</i> ² 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配列 (Yadav et al., 1982)。
Intervening sequence	47-86	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
P-Gm17gTsf1	87-1,098	ダイズ (<i>G. max</i>) <i>tefSI</i> 遺伝子由来の eEF-1 α ポリペプチドプロモーターで目的遺伝子の植物体内での恒常発現を誘導する (Aguilar et al., 1991)。
SP-AtCTP2	1,099-1,326	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) の葉緑体輸送ペプチドをコードする <i>ShkG</i> 遺伝子の配列で、目的蛋白質を葉緑体へ輸送する (Klee et al., 1987)。
C-改変 cp4 epsps	1,327-2,694	<i>R. radiobacter</i> strain CP4 株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子のコドンを変更したコード配列 (Barry et al., 1997) で除草剤グリホサート耐性を付与する。
Intervening sequence	2,695-2,736	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
T-PsE9	2,737-3,379	エンドウ (<i>Pisum sativum</i>) リブローソム-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット RbcS2 をコードする <i>E9</i> 遺伝子の 3' 末端非翻訳領域 (Coruzzi et al., 1984)。
Intervening sequence	3,380-3,427	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
P-35S	3,428-3,957	Cauliflower mosaic virus (CaMV) 由来のプロモーター配列 (Odell et al., 1985) で目的遺伝子の植物体内での恒常発現を誘導する。
Intervening sequence	3,958-3,976	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
C-pat	3,977-4,528	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィンオスリシン・アセチルトランスフェラーゼ (<i>pat</i>) 遺伝子を植物での発現を高めるためにコドンを最適化した遺伝子で、除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (Wohlleben et al., 1988)。
Intervening sequence	4,529-4,549	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
T-35S	4,550-4,744	CaMV 由来のターミネーター配列。mRNA のポリアダニル化を誘導する (Franck et al., 1980; Pietrzak et al., 1986)。
Intervening sequence	4,745-4,778	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。

² 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

B-Left Border region	4,779-4,908	<i>R. radiobacter</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配列 (Yadav et al., 1982)。
外側骨格配列 (本組換えダイズには存在しない)		
Intervening sequence	4,909-5,187	DNA クローニングの際に利用された配列 ⁴ 。
C-SpeC	5,188-5,976	大腸菌 <i>Escherichia coli</i> 由来のアミノグリコシド 3'-アデニルトランスフェラーゼをコードする <i>aadA</i> 遺伝子のコード配列 (Fling et al., 1985)。プラスミドが導入された菌体の選抜マーカーとして機能する。
Intervening sequence	5,977-6,275	DNA クローニングの際に利用された配列 ⁴ 。
C-VirG	6,276-7,001	<i>R. radiobacter</i> 由来の二成分制御系 <i>vir</i> レギュロンの一部で (Pazour et al., 1992)、アグロバクテリウムから植物への T-DNA 領域の導入を制御する。
Intervening sequence	7,002-7,030	DNA クローニングの際に利用された配列 ⁴ 。
C-RepA	7,031-8,104	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 由来の複製蛋白質 RepA をコードする複製開始領域。細菌中でプラスミドの複製を促進する (Itoh et al., 1984)。
Intervening sequence	8,105-8,146	DNA クローニングの際に利用された配列 ⁴ 。
O-VSI	8,147-8,551	<i>P. aeruginosa</i> 由来のプラスミド pVSI に由来する複製開始のコンセンサス配列と分配領域で (Itoh et al., 1984)、アグロバクテリウムにおいてベクターに自律増殖能を付与する。
Intervening sequence	8,552-9,228	DNA クローニングの際に利用された配列 ⁴ 。
O-COLE	9,229-10,035	<i>E. coli</i> 由来の複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> 中でプラスミドの複製を開始させる (Itoh and Tomizawa, 1979; Yanisch-Perron et al., 1985)。
Intervening sequence	10,036-10,144	DNA クローニングの際に利用された配列 ⁴ 。

¹ B – Border (境界配列); T – Terminator (ターミネーター); C – Coding sequence (コード配列); P – Promoter (プロモーター); SP – Signalling Peptide (シグナルペプチド); O – Origin of replication (複製開始領域)。

² 再分類前の学名は *Agrobacterium tumefaciens* である。

5 ³ 特別な機能を有さないことが確認されている。

⁴ バイナリーベクター12000 由来の配列。

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

5

本組換えダイズの作出に用いた供与核酸の構成要素の機能を図 1 (p15) 及び表 1 (p16~17) 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出される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

10

【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】

本組換えダイズには、*R. radiobacter* CP4株由来の改変 $cp4\ epsps$ 遺伝子が導入されており、改変CP4 EPSPS蛋白質を発現する。改変CP4 EPSPS蛋白質は除草剤グリホサートへの耐性を付与する。本組換えダイズに導入された改変 $cp4\ epsps$ 遺伝子から発現する改変CP4 EPSPS 蛋白質は、クローニングの過程で $R. radiobacter$ CP4 株由来の野生型 $cp4\ epsps$ 遺伝子に制限酵素切断部位を挿入したことにより、CP4 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列と比較して、N末端配列から2番目のセリンがロイシンに改変されている。なお、本組換えダイズにおいて発現する改変CP4 EPSPS蛋白質のアミノ酸配列は、2008年1月31日にカルタヘナ法に基づき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耐性ダイズ (改変 $cp4\ epsps$ 、*Glycine max* (L.) Merr.) (MON89788, OECD UI: MON-89788-1) において発現する改変CP4 EPSPS蛋白質と上述の改変部位も含めて同一であり、CP4 EPSPS蛋白質としての機能に変化がないことが確認されている。

15

20

25

除草剤グリホサートは、植物において、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素の1つである5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS蛋白質) と特異的に結合し、その活性を阻害することで細胞死を引き起こす (Franz et al., 1997)。本組換えダイズで産生される改変CP4 EPSPS蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、本組換えダイズではシキミ酸経路が正常に機能し除草剤グリホサートへの耐性を示す。

30

35

なお、同じ作用機作を示すCP4 EPSPS蛋白質を発現する遺伝子組換え農作物であり、カルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けている系統 (スタック系統は除く) は、これまでに7作物18系統うちダイズは3系統 (2024年5月

1日時点) があり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場合、我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。

【PAT 蛋白質】

5

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蛋白質を発現する。PAT蛋白質は除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (OECD, 2002)。

10 除草剤グルホシネートは、その活性成分であるL-グルホシネートがグルタミン合成酵素活性を阻害することにより、植物体内にアンモニアを蓄積させることで植物を枯死させる。本組換えダイズで産生されるPAT蛋白質はL-グルホシネートをアセチル化し、除草活性のないN-アセチル-L-グルホシネートに変換することで、植物体にグルホシネートに対する耐性を付与する。

15 なお、同じ作用機作を示すPAT蛋白質を発現する遺伝子組換え作物であり、カルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けている系統 (スタック系統は除く) は、これまでに5作物37系統うちダイズは9系統 (2024年5月1日時点) があり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場合、我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。

20 本組換えダイズで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質並びに PAT 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、Allergen Online database version 22³に登録されている既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認した。その結果、改変 CP4 EPSPS 蛋白質について連続する 8 アミノ酸の一致を有する既知のアレルゲンは認められなかった、一方、
25 連続する 80 以上のアミノ酸配列について、タイセイヨウサケ (*Salmo salar*) のコラーゲン α1 (I) 鎖と 35.02%の相同性を示した。相同性検索に用いた改変 CP4 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列のうち、タイセイヨウサケ (*S. salar*) のコラーゲン α1 (I) 鎖と相同性が認められた領域のアミノ酸配列は野生型の CP4 EPSPS 蛋白質と同一であった。改変 CP4 EPSPS 蛋白質の由来であり、野生型
30 CP4 EPSPS を発現する *R. radiobacter* がアレルギー性をもつとの報告はなく、これまで本組換えダイズと同一のアミノ酸配列をもつ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する MON89788 等の遺伝子組換え作物が長年にわたり安全に使用されてきたことから、改変 CP4 EPSPS 蛋白質がアレルギー性を有することはない

³ The Allergen Online database version 22: Food Allergy Research and Resource Program (<http://www.allergenonline.org/>) により開発・運営されるデータベースで、2,290 のアミノ酸配列が含まれる (2023 年 5 月 25 日更新)。

と考えられた。また、PAT 蛋白質について連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を有する、又は連続する 8 アミノ酸の一致を有する既知のアレルゲンは認められなかった。

5 ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

10 改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は、芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが、同経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋白質の活性が増大しても、同経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (Padgett et al., 1996; Ridley et al., 2002)。実際に、通常の 40 倍の EPSPS 蛋白質を生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されている (Smart et al., 1985)。また、EPSPS 蛋白質は基質であるホスホエノールピルビン酸塩 (以下「PEP」とする。) 及びシキミ酸-3-リン酸塩 (以下「S3P」とする。) と特異的に反応することが知られており (Gruys et al., 1992)、
15 これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸である。しかし、EPSPS 蛋白質のシキミ酸及び S3P との反応について、反応の起こりやすさを示す特異定数 (Specificity constant) k_{cat}/K_m の値で比較すると、EPSPS 蛋白質のシキミ酸との反応特異性は、
20 EPSPS 蛋白質の S3P との反応特異性の約 200 万分の 1 に過ぎず (Gruys et al., 1992)、シキミ酸が EPSPS 蛋白質の基質として反応する可能性は極めて低い。よって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

25 PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートをアセチル化する反応を触媒するが、L-グルホシネートの構造類似体である L-グルタミン酸やその他の L-アミノ酸に対してアセチル基を転移することはなく、20 種の各アミノ酸存在下においても、PAT 蛋白質による L-グルホシネートへのアセチル基転移反応は阻害されることはない (Wehrmann et al., 1996)。
30 このことから、PAT 蛋白質はグルホシネートに対して高い基質特異性を有しており、グルホシネート以外の内在性化合物を代謝して、宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

35 また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は、それぞれが触媒する酵素反応は異なり、かつ、いずれも基質特異性が高い上に各基質の構造も全く異なる。よって、本組換えダイズで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質と PAT

蛋白質が植物体内において相互に影響するとは考えにくい。

(2) ベクターに関する情報

5 イ 名称及び由来

本組換えダイズの作出に用いたプラスミドは、【社外秘情報につき非開示】由来のバイナリーベクター12000 を基に構築された pDBN4003 である (図 1, p15)。

10

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

15 本組換えダイズの作出に用いた pDBN4003 の塩基数は 10,144 bp である。なお、pDBN4003 の塩基配列を別添資料 1 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

20 pDBN4003 は、*E. coli* 及びアグロバクテリウムにおける構築ベクターの選抜マーカーとして、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 *E. coli* 由来のアミノグリコシド 3'-アデニルトランスフェラーゼ (AAD) をコードしている *SpeC* 遺伝子が T-DNA 領域外に存在している。

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

本ベクターの感染性は知られていない。

30 (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

ハ 宿主内に移入された核酸全体の構成

35 宿主内に移入された pDBN4003 の構成要素は、表 1 (p16~17) に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては、図 3 (p26) に示した。

ニ 宿主内に移入された核酸の移入方法

5 pDBN4003 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により、宿主である非
遺伝子組換えダイズ (以下「非組換えダイズ」とする。) 品種 Jack の子葉節へ
導入した。

ホ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

10 ① 核酸が移入された細胞の選抜方法

宿主であるダイズ品種 Jack の子葉節を、pDBN4003 を含む *R. radiobacter*
EHA101 株と共置培養した後、グリホサートを含む培地により形質転換され
た細胞の選抜を行った。

15

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

20 セファロスポリンを添加した培地により、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 T₃ 世代の種子において、形
質転換に用いた pDBN4003 の外側骨格領域を標的とした PCR 分析を行ったと
ころ、本組換えダイズには pDBN4003 の外側骨格領域は存在しなかった (別添
資料 2 の Figure 4-1, p16)。このことから、本組換えダイズには形質転換に用い
られ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。

25

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

30 除草剤グリホサートを含む培地上で形質転換後の子葉節を再分化させて T₀
世代の植物体を得た。T₀ 世代から自殖により得られた T₁ 世代において、
ddPCR (Droplet Digital PCR) 法⁴により、導入遺伝子をホモ接合体で有する個体

⁴ ddPCR (Droplet Digital PCR) 法は定量 PCR の一種で、Real-Time PCR と比較し高精度・高感度
で定量を行うことが可能である。ddPCR は、DNA の混合物を含むサンプルについて、ドロップ
レット (液滴) を作成し、多数のウェルに分配する。あるドロップレットはターゲット DNA を
含む一方、他のドロップレットにはターゲット DNA を含まないように調整し、各ウェルで

を選抜した。その後、自殖を繰り返し、各試験に用いた世代の植物体を得た(図 2, p24)。

なお、本申請の対象はT₅世代及びT₅世代から派生する全ての交雑後代系統である。

PCR を実施する。ターゲット DNA を含むウェルと含まないウェルをカウントし、専用のソフトウェアを用いてサンプル中の DNA 濃度を算出することが出来る。

【社外秘情報につき非開示】

5

図2 本組換えダイズの育成図
各試験に供試した世代は下表に記載した。

10

【社外秘情報につき非開示】

(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 移入し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存在する場所を調べるため、T₆世代の8個体の葉からDNAを抽出し、T-DNA領域及び近傍配列をカバーするプライマーを使用してPCR増幅をした。増幅したPCR産物の塩基配列を、サンガー法を用いて解析し(別添資料3)、得られた5'末端及び3'末端近傍配列とレファレンスとして用いたダイズゲノム(品種Williams 82)の塩基配列を比較した結果、1コピーのT-DNA領域が第13番染色体上に存在していることを確認した(別添資料4のp10~p15)。

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

15 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、本組換えダイズの核ゲノム中1か所に1コピーのT-DNA領域が組み込まれており、複数世代(T₃、T₅及びT₇世代)にわたり安定して後代に遺伝していることを確認した(別添資料5のFigure 3-1~3-6)。また、外側骨格領域は導入されていないことを確認している(別添資料5のFigure 3-7~3-11)。なお、本組換えダイズにおける導入遺伝子の模式図を図3(p26)に示した。

③ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別

25 1コピーであり、該当しない(別添資料5のp33)。

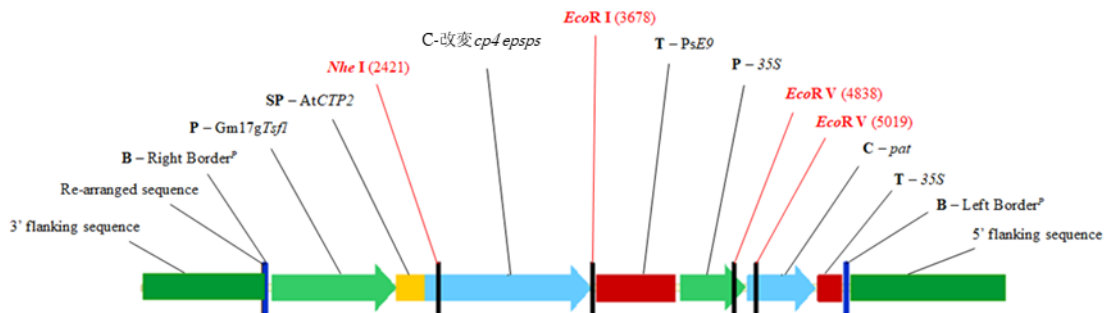


図3 本組換えダイズの導入遺伝子⁵

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

ELISA 法による分析の結果、本組換えダイズの複数世代 (T₄、T₅ 及び T₆ 世代) にわたり、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質が安定して発現していることが確認された (別添資料 6 の Table 8 及び Table10)。

2020年に中国の5か所のは場(吉林省、内モンゴル自治区、北京市、河北省及び山東省)において、それぞれ5反復で栽培したT₇世代の本組換えダイズの葉、根、地上部及び種子での改変CP4 EPSPS蛋白質及びPAT蛋白質の発現量をELISA法により分析した(別添資料7)。なお、葉のサンプリングは異なる生育ステージで3回行った(5葉期、莢伸長初期及び子実肥大期)。その結果、本組換えダイズの葉、根、地上部及び種子で改変CP4 EPSPS蛋白質及びPAT蛋白質の発現が確認された(表2, p27; 表3, p28; 別添資料7のTable3及びTable5)。

⁵ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

表2 本組換えダイズの組織中における改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量⁶

組織	生育ステージ	処理 ¹	N ²	平均値±SD ³ (µg/g dwt ⁴)	範囲 (µg/g dwt)	平均値±SD (µg/g fwt ⁵)	範囲 (µg/g fwt)
葉	5葉期	1	5	696.44±133.18	464.72-1109.38	125.36±23.97	83.65-199.69
		2	5	668.61±126.65	437.98-1115.88	120.35±22.80	78.83-200.86
	莢伸長初期	1	5	605.07±141.80	396.53-932.45	127.07±29.78	83.27-195.81
		2	5	594.07±139.32	382.23-1035.31	124.76±29.25	80.26-217.42
	子実肥大期	1	5	690.65±91.29	494.65-855.00	227.92±30.13	163.24-282.15
		2	5	699.29±94.58	488.66-947.94	230.76±31.21	161.26-312.83
根	子実肥大期	1	5	238.85±34.16	172.27-320.05	62.10±8.89	44.79-83.21
		2	5	241.64±30.57	169.07-317.97	62.83±7.95	43.95-82.67
地上部	子実肥大期	1	5	492.02±80.91	348.85-702.06	142.69±23.47	101.17-203.60
		2	5	489.86±77.14	358.97-661.37	142.06±22.37	104.10-191.80
種子	成熟期	1	5	192.39±40.95	108.20-266.19	172.32±21.06	91.66-241.40
		2	5	191.85±40.53	96.15-277.07	171.81±24.49	87.20-246.24

¹処理1: 除草剤散布なし、処理2: 3葉期に除草剤グルホシネート (400 g ai/ha) を散布し、その7日後に除草剤グリホサート (1350 g ai/ha) を散布。

²N: 反復数

5 ³SD: 標準偏差

⁴dwt: 乾燥重

⁵fwt: 新鮮重

⁶ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

表3 本組換えダイズの組織中における PAT 蛋白質の発現量⁷

組織	生育ステージ	処理 ¹	N ²	平均値±SD ³ (µg/g dwt ⁴)	範囲 (µg/g dwt)	平均値±SD (µg/g fwt ⁵)	範囲 (µg/g fwt)
葉	5葉期	1	5	97.91±27.59	48.70-162.78	17.63±4.97	8.77-29.30
		2	5	94.42±23.83	58.95-161.76	17.00±4.29	10.61-29.11
	莢伸長初期	1	5	100.13±33.20	49.67-197.08	21.02±6.97	10.43-41.39
		2	5	98.58±33.69	46.95-210.83	20.70±7.07	9.86-44.27
	子実肥大期	1	5	53.69±14.62	17.30-83.41	17.72±4.83	5.72-27.53
		2	5	50.69±15.05	21.14-86.70	16.72±4.97	6.97-28.61
根	子実肥大期	1	5	2.34±1.09	0.94-5.45	0.61±0.29	0.24-1.41
		2	5	2.31±0.98	0.95-4.89	0.60±0.25	0.24-1.27
地上部	子実肥大期	1	5	19.50±7.46	10.74-41.46	5.65±2.17	3.11-12.02
		2	5	18.60±5.39	10.06-36.05	5.39±1.56	2.91-10.46
種子	成熟期	1	5	1.14±0.27	0.59-1.71	1.03±0.09	0.50-1.57
		2	5	1.17±0.34	0.45-2.04	1.05±0.16	0.38-1.73

¹処理1：除草剤散布なし、処理2：3葉期に除草剤グルホシネート (400 g ai/ha) を散布し、その7日後に除草剤グリホサート (1350 g ai/ha) を散布。

²N: 反復数

5 ³SD: 標準偏差

⁴dwt: 乾燥重

⁵fwt: 新鮮重

⁷ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

- ⑤ ウイルス感染その他経路を経由して移入された核酸が野生動植物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

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なプライマーを用いて、Real-Time TaqMan PCR 法による検出及び識別が可能である (別添資料 8)。

本 PCR 法の検出限界値は、ゲノム DNA 量比で 0.025%である (別添資料 8 Annex B の p23)。

15 本法の信頼性はDaBeiNong社及びEurofins社において、施設間互換性が確保されていることを確認している (別添資料 8 Annex Bのp33～p35)。

- (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内容

20 本組換えダイズへ導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子は改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質を発現することにより、除草剤グリホサート及びグルホシネートへの耐性を付与する。

- 25 ② 以下に掲げる生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度

30 令和 5 年から令和 6 年にかけて、生物多様性影響評価を行うため、筑波大学 T-PIRC 産官学・共同研究部門 (インダストリアルゾーン)・模擬的環境試験圃場 V (以下「本隔離ほ場」とする。)において隔離ほ場試験 (以下「本隔離ほ場試験」とする。)を実施した。試験には本組換えダイズの T₁₂ 世代を供試した。対照の非組換えダイズとして、本組換えダイズの宿主である非組換えダイズ品種 Jack (以下「対照の非組換えダイズ」とする。)を用いた。

35

a) 形態及び生育の特性

形態及び生育特性に関わる項目として、発芽始め、開花始め、開花終わり、
5 成熟期、小葉の形、主茎長、主茎節数、分枝数、最下着莢節位高及び地上部
重を調査した。

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、発芽始め、開花始め、
開花終わり及び成熟期に違いは認められず、また、最下着莢節位高及び地上
10 部重において統計学的有意差は認められなかった。一方、主茎長、主茎節数
及び分枝数において統計学的有意差が認められ、本組換えダイズ及び対照の
非組換えダイズの主茎長はそれぞれ 73.5 ± 19.33 cm 及び 78.81 ± 17.24 cm、主茎
節数は 19.07 ± 2.18 本及び 19.48 ± 1.47 本、分枝数は 4.33 ± 0.94 本及び 4.00 ± 1.14
本であった (別添資料 9, p10~11)。

また、草型及び小葉の形に違いは認められなかった (別添資料 9, p10~12)。

15 b) 生育初期における低温耐性

本組換えダイズと対照の非組換えダイズを、日中 25°C/夜間 15°Cのグロー
スチャンバー内にて播種後 36 日目まで栽培した後、冬期の本隔離ほ場へ移植
した。移植後 10 日目の本組換えダイズの幼苗及び対照の非組換えダイズの幼
20 苗はいずれも全個体が枯死し、生育状況に違いは認められなかった (別添資料
9, p12)。

c) 成体の越冬性

25 本隔離ほ場で栽培した本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズを、成熟
期以降も引き続き栽培し、我が国の冬期における生育状況を観察した。その
結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズはいずれも全個体が枯死し、
成体の越冬性の程度に違いは認められなかった (別添資料 9, p13)。

30 d) 花粉の稔性及びサイズ

本隔離ほ場で栽培した本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズから採取
した花の雄蕊より花粉を採取し、酢酸カーミン溶液で染色した後、生物顕微
鏡で花粉の稔性及びサイズを観察した。その結果、花粉の稔性において、本
35 組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差は認められず
(別添資料 9, p13)、また、花粉のサイズにおいても、対照の非組換えダイズと

の違いは認められなかった (別添資料 9, p14)。

e) 種子の生産量、脱粒性、発芽率及び休眠性

5 本隔離ほ場で栽培した本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズについて、収穫した子実の百粒重、着莢数、脱粒性、発芽率 (収穫直後)、種皮の色及び種子の粒大整否について調査を行った。

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、種皮の色及び種子の粒大整否及び脱粒性に違いは認められず、また、発芽率 (収穫直後) において統計学的有意差は認められなかった (別添資料 9, p14~15)。一方、着莢数において統計学的有意差が認められ、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズの着莢数はそれぞれ 134.94 ± 36.15 個及び 108.33 ± 25.06 個であった (別添資料 9, p14~15)。

15 f) 交雑性

本隔離ほ場において本組換えダイズと隣接する配置で栽培した対照の非組換えダイズから収穫した種子 500 粒を播種し、ハウス内で栽培した。その後、第 3 葉が展開した時点で、バスタ (除草剤, 有効成分グルホシネート, BASF ジャパン株式会社) を散布した。その結果、処理した 500 個体中 2 個体の生存が確認され、本組換えダイズとの交雑率は、0.4%と推定した (別添資料 9, p15~16)。

g) 有害物質の産生性

25 本組換えダイズにおける有害物質の産生性の有無を確認するため、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った。その結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、土壌微生物相試験における放線菌数を除く全ての調査項目において統計学的有意差は認められなかった (別添資料 9, p16~17)。一方、土壌微生物相試験における放線菌数において統計学的有意差が認められ、本組換えダイズ区及び対照の非組換えダイズ区の放線菌数は、それぞれ $7.55 \times 10^7 \pm 1.75 \times 10^7$ CFU/g 及び $6.59 \times 10^7 \pm 6.92 \times 10^6$ CFU/g であった (別添資料 9, p17)。

35

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

5 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。

(2) 使用等の方法

10 —

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

15 —

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

20 緊急措置計画書を参照

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

25 —

(6) 国外における使用等に関する情報

本組換えダイズの国外における申請状況は、表 4 (p33) のとおりである。

30

表 4 本組換えダイズの海外における申請状況 (2025 年 1 月現在)⁸

機関	安全性審査の種類	申請・承認時期
ブラジル国家バイオセーフティ技術委員会 (CTNBio)	栽培	2023年11月承認
欧州食品安全機関 (EFSA)	食品・飼料	審査中
アルゼンチン農牧漁業省 (MAGyP)	栽培	2019年2月承認
中華人民共和国農業農村部 (MARA)	栽培	2020年6月承認
中華人民共和国農業農村部 (MARA)	食品・飼料	2020年12月承認

なお、本組換えダイズの我が国における申請状況は以下のとおりである (表 5, p33)。

5

表 5 本組換えダイズの我が国における申請状況 (2025 年 1 月現在)⁹

機関	内容	申請・承認時期
消費者庁	食品 ¹	2025年申請予定
農林水産省	飼料 ²	審査中
農林水産省・環境省	環境 (第一種使用規程: 隔離ほ場) ³	2023年7月承認
農林水産省・環境省	環境 (第一種使用規程: 一般使用) ³	2024年11月申請

¹ 食品衛生法に基づく。

² 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

³ 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律に基づく。

10

⁸ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

⁹ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性

5 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国においてダイズは、弥生時代から栽培されていると考えられ、イネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまで我が国の自然環境下において雑草化した事例は報告されていない。

10 ダイズを含む、自生能力をもたない栽培作物を宿主とした遺伝子組換え作物が競合における優位性を獲得するには、まず自生能力を獲得することが必要であり、それには種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要であると考えられている(後藤ら, 2018)。本組換えダイズには改変 CP4 EPSPS 蛋白質による除草剤グリホサート耐性及び PAT 蛋白質による除草剤グリホシネート耐性が付与
15 されているが、いずれも上記特性に関与することは考え難いため、本組換えダイズが我が国の自然環境下で自生するようになることはないと考えられた。

また、第一の 2-(1)-ロ-② (p18~20) 及び③ (p20~21) に記載したように、本組換えダイズで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、除草剤グリホサート存在下においても、シキミ酸経路を触媒する酵素として機能するが、EPSPS 蛋白質は同経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋白質の活性が増大しても、
20 同経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (Padgett et al., 1996; Ridley et al., 2002) 上、基質である PEP 及び S3P と特異的に反応することが知られており (Gruys et al., 1992)、これら以外の植物内在性物質を基質として反応する可能性は極めて低いことから、改変 CP4
25 EPSPS 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。また、同じく酵素である PAT 蛋白質についても、その基質特異性は非常に高く、L-グルホシネートと構造的に類似する植物内在性物質を基質とすることがないことから、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられた。

さらに、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は、それぞれが触媒する酵素反応は異なり、それぞれの基質の構造も全く異なることから、植物体内に
30 おいて相互に影響するとは考えにくい。

加えて、本組換えダイズは除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を有するものの、自然環境下においてこれらの除草剤が散布されることは考え
35 難しく、これらの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。

競合における優位性に関わる形質として、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率について、本隔離ほ場試験において比較した。

5 その結果、それら形質の評価項目のうち主茎長、主茎節数、分枝数及び着莢数において統計学的有意差が認められた。

 主茎長は、本組換えダイズが 73.5 ± 19.33 cm、対照の非組換えダイズが 78.81 ± 17.24 cm であり、本組換えダイズの方が低かった (第一の 2-(6)-②-a, p30)。昆野 (2001b) は、国内 5 カ所の農業試験場における栽植密度試験に供された非組換えダイズ延べ 8 品種の非組換えダイズの主茎長が、44~121 cm の範囲にあったと報告している。また、Matsushita et al. (2020) は、既に第一種使用規程の承認を受けている 11 種類の遺伝子組換えダイズが供された国内隔離ほ場試験データをまとめた結果から、各試験で対照として使用された非組換えダイズ品種の主茎長が、55.2~108.7 cm の範囲にあったと報告している。本組換えダイズの平均値 73.5 cm は、これら文献値の範囲に収まっていたことから、本組換えダイズにおいて認められた主茎長の値は、非組換えダイズの種内品種間変動の範囲内であると考えられた。

 主茎節数は、本組換えダイズが 19.07 ± 2.18 本、対照の非組換えダイズが 19.48 ± 1.47 本であった (第一の 2-(6)-②-a, p30)。昆野 (2001b) は、上述の非組換えダイズ品種の主茎節数が、11.0~22.1 本の範囲にあったと報告している。また、Matsushita et al. (2020) は、上述の国内隔離ほ場試験に対照として供された非組換えダイズ品種の主茎節数が、13.5~23 本の範囲にあったと報告している。本組換えダイズの平均値 19.07 本は、これら文献値の範囲に収まっていたことから、本組換えダイズにおいて認められた主茎節数の値は、非組換えダイズの種内品種間変動の範囲内であると考えられた。

 分枝数は、本組換えダイズが 4.33 ± 0.94 本、対照の非組換えダイズが 4.00 ± 1.14 本であった (第一の 2-(6)-②-a, p30)。昆野 (2001b) は、上述の非組換えダイズ品種の分枝数が、0.4~7.8 本の範囲にあったと報告している。また、Matsushita et al. (2020) は、上述の国内隔離ほ場試験に対照として供された非組換えダイズ品種の分枝数が、2.3~8.2 本の範囲にあったと報告している。本組換えダイズの平均値 4.33 本は、これら文献値の範囲に収まっていたことから、本組換えダイズにおいて認められた分枝数の値は、非組換えダイズの種内品種間変動の範囲内であると考えられた。

 着莢数は、本組換えダイズが 134.94 ± 36.15 個、対照の非組換えダイズが 108.33 ± 25.06 個であり、本組換えダイズの方が多かった (第一の 2-(6)-②-e, p31)。Matsushita et al. (2020) は、上述の国内隔離ほ場試験で対照として供され

た非組換えダイズ品種の着莢数は、57.1～289.2 個の範囲にあったと報告している。本組換えダイズの着莢数の平均値 134.94 個は、本文献値の範囲に収まっていたことから、本組換えダイズにおいて認められた着莢数の値は、非組換えダイズの種内品種間変動の範囲内であると考えられた。

5 また、着莢数の増加による種子生産性の向上が、本組換えダイズの競合における優位性を高める可能性が考えられるが、上述したように、ダイズのような自生能力をもたない栽培作物を宿主とした遺伝子組換え作物が競合における優位性を獲得するには、種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要であると
10 考えられている(後藤ら, 2018)。しかしながら、本隔離ほ場試験において脱粒性及び収穫種子の発芽率を調査した結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に差異は認められなかった(第一の 2-(6)-②-e, p31)。よって、本隔離ほ場試験で認められた着莢数の増加が、本組換えダイズの競合における優位性を高めることはないと考えられた。

15 以上のことから、本組換えダイズの競合における優位性は非組換えダイズと相違はないと考えられ、競合における優位性に起因する生物多様性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

20

—

(3) 影響の生じやすさの評価

25

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

30 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した。

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

35

ダイズは弥生時代から我が国で栽培されており、イネ・ムギとともに最も

長い使用経験があるが、これまでダイズにおいて野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

第一の 2- (1)-ロ-③ (p20～21) 及び第二の 1 (1) (p34～36)に記載したように、本組換えダイズで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は、植物体内におけるシキミ酸経路の律速酵素ではなく、基質である PEP 及び S3P と特異的に反応し、それら以外の植物内在性物質と反応する可能性は極めて低いこと (Gruys et al., 1992)、また、PAT 蛋白質は、基質特異性が非常に高く、L-グルホシネートと構造的に類似する植物内在性物質を基質とすることがないことから、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質が宿主の代謝系に影響を及ぼし、本組換えダイズ中に新たな有害物質が産生されるようになることは考えにくい。

また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は、それぞれが触媒する酵素反応は異なり、それぞれの基質の構造も全く異なることから、植物体内において相互に影響して予期しない有害物質が生ずることも考えにくい (第一の 2- (1)-ロ-③, p20～21)。

加えて、第一の 2-(1)-ロ-② (p18～20) に記載したように、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質について、連続する 8 アミノ酸の一致を有する既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった。また、連続する 80 以上のアミノ酸配列において、PAT 蛋白質は、35%以上の相同性を有する既知のアレルゲンは認められず、改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、タイセイヨウサケ (*S. salar*) のコラーゲン $\alpha 1$ (I) 鎖と 35.02%の相同性を示したものの、EPSPS 蛋白質の由来である *R. radiobacter* がアレルギー性をもつとの報告はなく、これまで改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する遺伝子組換え作物が長年にわたり安全に使用されてきたことから、改変 CP4 EPSPS 蛋白質がアレルギー性を有することはないと考えられた。

さらに、本組換えダイズの有害物質の産生性について、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験において対照の非組換えダイズと比較した結果、土壌微生物相試験における放線菌数を除く全ての調査項目において統計学的有意差は認められなかった (第一の 2-(6)-②-g, p31)。統計学的有意差が認められた土壌微生物相試験における放線菌数について、本組換えダイズ区及び対照の非組換えダイズ区の土壌中放線菌数は、それぞれ $7.55 \times 10^7 \pm 1.75 \times 10^7$ CFU/g 及び $6.59 \times 10^7 \pm 6.92 \times 10^6$ CFU/g であり、本組換えダイズ区の土壌の方が多かった (第一の 2-(6)-②-g, p31)。一方、本組換えダイズ区の放線菌数の平均値 7.55×10^7 CFU/g は、過去に行われた組換えダイズの国内隔離ほ場試験に

における非組換えダイズ品種栽培土壌中の放線菌数の範囲 (15×10^4 CFU/g \sim 12×10^7 CFU/g) に収まっていた (Matsushita et al., 2020)。

よって、本隔離ほ場試験で認められた土壌微生物相試験における放線菌数の増加は、本組換えダイズが有害物質の産生性を獲得した結果によるものではないと考えられた。

したがって、本組換えダイズが新たに有害物質の産生性を獲得したとは考え難く、有害物質の産生性に関して影響を受ける可能性のある野生動植物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、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した。

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

第一の 1-(3)-ニ-③ (p7 \sim 12) に記載したように、ダイズと交雑可能な近縁野生種として我が国にはツルマメが自生している (沼田ら, 1975; 日本雑草学会, 1991)。したがって、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

(2) 影響の具体的内容の評価

ダイズとその近縁野生種であるツルマメとの間では、低い確率で交雑が生じ、雑種が形成される (OECD, 2000)。したがって、交雑性に関する具体的な

影響としては、本組換えダイズ由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 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。

5 (3) 影響の生じやすさの評価

交雑性に起因する影響の生じやすさを評価するに当たり、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改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子がツルマメの競合における優位性を高め、ツルマメの集団中に浸透する可能性の2点を検討した。

1) 本組換えダイズがツルマメと交雑する可能性

本組換えダイズが、我が国で第一種使用規程に従って使用された場合、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性があることは否定できない。

しかしながら、第一の 1-(3)-ニ-③ (p7~12) に記載したように、ダイズとツルマメはともに、開放花と閉鎖花という2つの異なる形態の花を同一個体にもつことが知られているが(宮下ら, 1999)、ともに自家受粉率が高い自殖性植物であり(OECD, 2000; 阿部・島本, 2001)、それぞれの集団が隣接して生育し、かつ開花期が重複した場合でもその交雑率は低いことが報告されている(Mizuguti et al., 2009; Nakayama and Yamaguchi, 2002)。

また、ダイズとツルマメの雑種形成については、我が国の自然環境下において調査が行われており、2003年から2006年にかけて、国内各地のダイズ畑周辺において、栽培ダイズとツルマメとの雑種後代によくみられる形態的「中間体」を経時的に調査した結果から、ダイズとツルマメの自然交雑率は非常に低いことが示唆されており(黒田ら, 2005; 黒田ら, 2006; 黒田ら, 2007)、我が国の自然条件下において、ダイズとツルマメの雑種形成はツルマメの自生地では起きているものの、その頻度は低いと考えられた。

本組換えダイズには、改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子により除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性が付与されているが、この形質は花粉の形態及び稔性、種子生産性などの生殖に関わる特性を変化させることは考え難く、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とは考えにくい。

実際に、本隔離ほ場試験において、本組換えダイズと隣接する配置で栽培した対照の非組換えダイズ由来の収穫種子における交雑体の発生頻度を調査

した結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの交雑率は、0.4%と推定され (第一の 2-(6)-②-f, p31)、これまでに報告されているダイズ品種間の自然交雑率 (0.03~6.32%) (Abud et al., 2003; Ahrent and Caviness, 1994; Beard and Knowles, 1971; Caviness, 1966; Cutler, 1934; Garber and Odland, 1926; Ray et al., 2003; Weber and Hanson, 1961; Woodworth, 1922) を超えるものではなかった。加えて、本隔離ほ場試験において、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で生殖に関わる形質を比較した結果、花粉の稔性及びサイズ (第一の 2-(6)-②-d, p30~31) において差異は認められず、種子の生産性に係る項目 (第一の 2-(6)-②-e, p31) においても、着莢数を除く全ての項目で統計学的有意差は認められなかった。統計学的な有意差が認められた着莢数についても、本組換えダイズの平均値は、過去の遺伝子組換えダイズの国内隔離ほ場試験に供された非組換えダイズにおける着莢数の種内品種間変動の範囲内であった (Matsushita et al., 2020)。

したがって、本組換えダイズの交雑性は、従来の非組換えダイズと比較して高まっていないと考えられたことから、本組換えダイズとツルマメの交雑性は従来ダイズとツルマメと同様に極めて低いと考えられた。

2) 本組換えダイズ由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子がツルマメの競合における優位性を高め、ツルマメの集団中に浸透する可能性

仮に本組換えダイズとツルマメが交雑した場合でも、本組換えダイズ由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子や *pat* 遺伝子がツルマメ集団中に遺伝子浸透していくためには、F₁ 雑種やその雑種後代が自然環境中で生存し、ツルマメと交雑を繰り返す必要がある。

第一の 1-(3)ニ-③ (p7~12) に記載したとおり、ダイズからツルマメへの遺伝子浸透に関しては、我が国の自然環境下において調査が行われている。

2003年から2006年にかけてダイズと国内各地のダイズ畑周辺でダイズとツルマメとの中間体とその後代を経時的に調査した結果、中間体の後代が翌年の調査でほとんど確認されなかったことから (黒田ら, 2005; 黒田ら, 2006; 黒田ら, 2007)、中間体がツルマメ自生地で生存する確率は非常に低いことが示唆されている (黒田ら, 2007)。また、2003~2006年の調査で発見された中間体の後代が速やかに自然環境から消失していた理由として、中間体の後代の適応度がツルマメより低かったことに伴う自然淘汰を受けた可能性が高いとされている (Kuroda et al., 2010)。

実際に、人為的に交配して得たダイズとツルマメの雑種を親系統とともに播種した後で、それらの定着の様子を 3 年間追跡調査した結果、雑種系統の定着率は親系統であるツルマメと比較して明らかに劣っていたことが示されている (Oka, 1983)。さらに、ダイズとツルマメの雑種においては、休眠性、倒伏性、裂莢性はツルマメに比べ低下していることが報告されている (Chen and Nelson, 2004; Oka, 1983)。

また、広島県産ツルマメとフクユタカとの F₂ 雑種における、個体当たりの種子生産数及び種子の越冬率に関する QTL 解析の結果、ダイズとツルマメの雑種及び後代は、上記の 2 形質において雑種弱勢の状態にあり、組換えダイズの導入遺伝子が、交雑によってツルマメ集団内に拡がることはないと予測されている (Kitamoto et al., 2012)。さらに、分子マーカーによる解析の結果、ダイズとツルマメの雑種形成の可能性はあるが、我が国の自然環境下において更なる遺伝子浸透が起こることはほとんどないと考察されている (Kuroda et al., 2010)。

以上の文献報告より、仮にダイズとツルマメとの交雑が生じ、雑種形成が起きたとしても、当該雑種及びその雑種後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ツルマメにダイズの遺伝子が浸透する可能性は極めて低いと考察された。

加えて、本組換えダイズが有する除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性は、除草剤グリホサート又はグルホシネートが散布される環境下のみ競合において優位に作用するが、これらの除草剤が散布されることが考え難い自然条件下において、仮に本組換えダイズがツルマメと交雑し、除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を有する雑種及び後代が生じたとしても、ツルマメと比べ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。

よって、本組換えダイズとツルマメの雑種及びその後代において、除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性の付与のみによって、その競合性がツルマメより高まり、ツルマメとの交雑を繰り返し、ツルマメの集団に本組換えダイズに導入された遺伝子が浸透する可能性は、従来ダイズと同様に極めて低いと考察された。

以上をまとめると、本組換えダイズとツルマメは、それぞれの集団が隣接して生育し、かつ開花期が重なり合うような特殊な条件であっても交雑率は極めて低いと推定される。また、仮に交雑したとしても、本組換えダイズとツルマメの雑種及びその後代が、我が国の自然条件に適応していく可能性は極めて低く、除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性の形質のみで競合

の優位性がツルマメより高くなることも考え難いことから、本組換えダイズ由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子や *pat* 遺伝子が、ツルマメ集団中へ浸透する可能性は極めて低いと考察された。

- 5 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が生ずるおそれはないと判断した。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

- 10 以上のことから、本組換えダイズは、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した。

4 その他の性質

15

—

第三 生物多様性影響の総合的評価

競合における優位性

- 5 ダイズは弥生時代から我が国で栽培されていると考えられており、イネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまで我が国の自然環境下において雑草化した事例は報告されていない。
- 10 本組換えダイズは改変CP4 EPSPS蛋白質及びPAT蛋白質の発現により除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性が付与されているものの、自然環境下ではこれらの除草剤が散布されることは考え難く、これらの形質により競合における優位性が高まることはないと考えられる。
- 15 また、本組換えダイズで発現する改変CP4 EPSPS蛋白質及びPAT蛋白質は除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を付与する以外に、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。
- 20 競合における優位性にかかわる形質として、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率について、本隔離ほ場試験において比較した結果、主茎長、主茎節数、分枝数及び着莢数において統計学的有意差が認められたものの、いずれも従来品種の種内品種間変動の範囲内に収まっていた。
- 25 また、着莢数の増加による種子生産性の向上が、本組換えダイズの競合における優位性を高める可能性が考えられたが、ダイズのような自生能力をもたない栽培作物を宿主とした遺伝子組換え作物が競合における優位性を獲得するには、種子の脱粒性及び休眠性の変化が必要と考えられている上、本隔離ほ場試験の結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で脱粒性及び収穫種子の発芽率に差異は認められなかったことから、観察された着莢数の増加が、本組換えダイズの競合における優位性を高めることはないと考えられた。
- 30 したがって、本隔離ほ場試験で確認された主茎長、主茎節数、分枝数及び着莢数における差が、本組換えダイズの競合における優位性を高めるものではないと考えられた。
- 35 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した。

有害物質の産生性

ダイズにおいて、これまでに野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

5 本組換えダイズでは、除草剤グリホサート耐性を付与する改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び除草剤グルホシネート耐性を付与する PAT 蛋白質が発現しているが、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は有害物質としては知られておらず、また、既知アレルゲンとの相同性検索の結果から、これらの蛋白質がアレルギー性を有することはないと考えられた。

10 また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は、シキミ酸経路の律速酵素ではなく、基質である PEP 及び S3P 以外の植物内在性物質と反応する可能性は極めて低いこと、PAT 蛋白質も基質特異性が非常に高く、L-グルホシネートと構造的に類似する植物内在性物質を基質とすることがないこと及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質と PAT 蛋白質は、各々が触媒する酵素
15 反応及び基質の構造も異なることから、両蛋白質が宿主の代謝系へ作用して新たな有害物質を産生するとは考えにくい。

さらに、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行い、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で有害物質の産生性を比較検討した結果、
20 土壌微生物相試験における放線菌数でのみ統計学的有意差が認められた。本組換えダイズ栽培土壌中の放線菌数は、対照の非組換えダイズ栽培土壌に比べて多かったものの、過去の国内隔離ほ場試験における非組換えダイズ品種栽培土壌中の放線菌数の範囲に収まっていた。よって、本隔離ほ場試験で認められた土壌微生物相試験における放線菌数の増加は、本組換えダイズが有害物質の産生性を獲得した結果によるものではないと考えられた。
25

以上のことから、本組換えダイズは、有害物質の産生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した。

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た。

国内で行われた研究において、ダイズとツルマメの集団が隣接して生育し、
35 かつ開花期が重複した場合でもその交雑率は低いことが報告されている。また、本隔離ほ場試験の結果、本組換えダイズと対照の非組換えダイズ間の交

雑率は、従来ダイズの交雑率と同程度であり、本組換えダイズの種子の生産量、花粉形態及び花粉稔性など生殖に関わる形質は従来品種の種内品種間変動範囲内にあったことから、本組換えダイズの交雑性は従来ダイズと同様に低いと推測された。

5

仮にダイズとツルマメが交雑した場合でも、交雑により生じた雑種及びその雑種後代は、個体当たりの種子生産数及び種子の越冬率といった形質において雑種弱勢の状態にあり、遺伝子組換えダイズの導入遺伝子が、交雑によってツルマメ集団内に拡がることはないと予測されている。したがって、雑種及びその雑種後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ツルマメにダイズの遺伝子が浸透する可能性は極めて低いと考察された。

10

また、本組換えダイズには除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性が付与されているが、自然環境下ではこれらの除草剤が散布されることは考え難く、本組換えダイズがツルマメと交雑し除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を有する雑種や後代が生じたとしても、自然環境下においてツルマメと比べ競合における優位性が高まることはないと考えられる。

15

よって、雑種及びその雑種後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ツルマメに本組換えダイズの導入遺伝子が浸透する可能性は、従来ダイズと同様に極めて低いと考察された。

20

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した。

以上を総合的に評価し、本組換えダイズを第一種使用規定に従って使用した場合に、生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断した。

25

参考文献

- Abel, G. H. 1970. Storage of Soybean Pollen for Artificial Crossing. *Agronomy journal*, 62, 121-123.
- 5 Abud, S., P. I. M. de Souza, C. T. Moreira, S. R. M. Andrade, A. V. Ulbrich, G. R. Vianna, E. L. Rech & F. J. Lima Aragão. 2003. Gene flow in transgenic soybean in the Cerrado region, Brazil. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 38, 1229-1235.
- Aguilar, F., P. E. Montandon & E. Stutz. 1991. Two genes encoding the soybean translation elongation factor eEF-1 alpha are transcribed in seedling leaves.
- 10 *Plant Mol Biol*, 17, 351-60.
- Ahrent, D. K. & C. E. Caviness. 1994. Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. *Crop Science*, 34, 376-378.
- Barry, G. F., G. M. Kishore, S. R. Padgett & W. C. Stallings. 1997. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. U.S. Patent, 5633435.
- 15 Beard, B. H. & P. F. Knowles. 1971. Frequency of cross-pollination of soybeans after seed irradiation. *Crop Science*, 11, 489-492.
- Carlson, J. B. & N. R. Lersten. 2004. Reproductive Morphology. *Soybeans: Improvement, Production, and Uses*, 59-95.
- Caviness, C. E. 1966. Estimates of Natural Crosspollination in Jackson Soybeans in
- 20 Arkansas. *Crop Science*, 6, 211-212.
- Chen, Y. & R. L. Nelson. 2004. Genetic Variation and Relationships among Cultivated, Wild, and Semiwild Soybean. *Crop Science*, 44, 316-325.
- Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards & N. H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of
- 25 ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *The EMBO journal*, 3, 1671-1679.
- Cutler, G. H. 1934. A simple method for making soybean hybrids. *Journal of the American Society of Agronomy*, 26, 252-254.
- FAO, (Food and Agriculture Organization of the United Nations) 2024. FAOSTAT <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (Accessed Jan. 24, 2024).
- 30 Fling, M. E., J. Kopf & 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.
- Franck, A., H. Guilley, G. Jonard, K. Richards & L. Hirth. 1980. Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. *Cell*, 21, 285-94.
- 35 Franz, J. E., M. K. Mao & J. A. Sikorski. 1997. *Glyphosate, a Unique Global Herbicide*.

- Fujita, R., M. Ohara, K. Okazaki & Y. Shimamoto. 1997. The Extent of Natural Cross-Pollination in Wild Soybean (*Glycine soja*). *Journal of Heredity*, 88, 124-128.
- Garber, R. J. & T. E. Odland. 1926. Natural crossing in soybeans. *Journal of the American Society of Agronomy*, 18, 967-970.
- 5 Goto, H., H. Shimada, M. J. Horak, A. Ahmad, B. M. Baltazar & T. Perez. 2016. Characterization of natural and simulated herbivory on wild soybean (*Glycine soja* Seib. et Zucc.) for use in ecological risk assessment of insect protected soybean. *PLoS ONE*, 11 (3) e0151237.
- Gruys, K. J., M. C. Walker & J. A. Sikorski. 1992. Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*.
10 *Biochemistry*, 31, 5534-44.
- Hymowitz, T. & J. R. Harlan. 1983. Introduction of soybean to north America by Samuel Bowen in 1765. *Economic Botany*, 37, 371-379.
- Itoh, T. & J. Tomizawa. 1979. Initiation of replication of plasmid ColE1 DNA by RNA
15 polymerase, ribonuclease H, and DNA polymerase I. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 43 Pt 1, 409-17.
- Itoh, Y., J. M. Watson, D. Haas & T. Leisinger. 1984. Genetic and molecular characterization of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. *Plasmid*, 11, 206-20.
- Kim, K.-U., T.-D. Kang, J.-H. Lee, I.-J. Lee, D.-H. Shin, Y.-H. Hwang, S.-U. Kim &
20 H.-M. Kim. 2003. Physio-ecological characteristics of wild soybeans (*Glycine soja*) collected throughout Korea and their response to glyphosate. *Korean Journal of Weed Science*, 23, 153-159.
- Kitamoto, N., A. Kaga, Y. Kuroda & R. Ohsawa. 2012. A model to predict the frequency of integration of fitness-related QTLs from cultivated to wild
25 soybean. *Transgenic Research*, 21, 131-138.
- Klee, H. J., Y. M. Muskopf & 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. *Mol Gen Genet*, 210, 437-442.
- 30 Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka & 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.
- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka & D. A. Vaughan. 2008. Gene Flow and Genetic Structure of Wild Soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science*, 48, 1071-
35 1079.

- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka, H. Yano, Y. Takada, S. Kato & D. Vaughan. 2013. QTL affecting fitness of hybrids between wild and cultivated soybeans in experimental fields. *Ecology and Evolution*, 3 (7), 2150-2168.
- Kuroda, Y., N. Tomooka, A. Kaga, S. M. S. W. Wanigadeva & D. A. Vaughan. 2009. Genetic diversity of wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) and Japanese cultivated soybeans [*G. max* (L.) Merr.] based on microsatellite (SSR) analysis and the selection of a core collection. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 56, 1045-1055.
- Matsushita, A., H. Goto, Y. Takahashi, M. Tsuda & R. Ohsawa. 2020. Consideration of familiarity accumulated in the confined field trials for environmental risk assessment of genetically modified soybean (*Glycine max*) in Japan. *Transgenic Res*, 29, 229-242.
- Mizuguti, A., K. Ohigashi, Y. Yoshimura, A. Kaga, Y. Kuroda & K. Matsuo. 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.
- Mizuguti, A. K. I., Y. Yoshimura & K. Matsuo. 2009. Flowering phenologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed Biology and Management*, 9, 93-96.
- Nakayama, Y. & 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.
- Odell, J. T., F. Nagy & N. H. Chua. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature*, 313, 810-2.
- OECD. 2000. CONSENSUS DOCUMENT ON THE BIOLOGY OF GLYCINE MAX (L.) MERR. (SOYBEAN). Paris: OECD Environmental Health and Safety Publications.
- OECD. 2002. Module II: Herbicide Biochemistry, Herbicide Metabolism and the Residues in Glufosinate-Ammonium (Phosphinothricin)-Tolerant Transgenic Plants Environment Directorate Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.
- 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.
- Padgett, S. R., D. L. Taylor Nb Fau - Nida, M. R. Nida Dl Fau - Bailey, J. Bailey Mr Fau - MacDonald, L. R. MacDonald J Fau - Holden, R. L. Holden Lr Fau -

- Fuchs & R. L. Fuchs. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *The journal of nutrition*, 126, 702-716.
- Palmer, R. G., M. C. Albertsen & H. E. Heer. 1978. Pollen production in soybeans with
5 respect to genotype, environment, and stamen position. *Euphytica*, 27, 427-433.
- Pazour, G. J., C. N. Ta & A. Das. 1992. Constitutive mutations of *Agrobacterium tumefaciens* transcriptional activator *virG*. *J Bacteriol*, 174, 4169-74.
- Pietrzak, M., R. D. Shillito, T. Hohn & I. Potrykus. 1986. Expression in plants of two
bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new
10 plant expression vector. *Nucleic Acids Res*, 14, 5857-68.
- Ray, J. D., T. C. Kilen, C. A. Abel & R. L. Paris. 2003. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. *Environ Biosafety Res*, 2, 133-138.
- Ridley, W. P., R. S. Sidhu, P. D. Ryla, M. A. Nemeth, M. L. Breeze & J. D. Astwood.
2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event
15 NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7235-7243.
- Smart, C. C., D. Johanning, G. Muller & N. Amrhein. 1985. Selective overproduction of 5-enol-pyruvylshikimic acid 3-phosphate synthase in a plant cell culture which tolerates high doses of the herbicide glyphosate. *J Biol Chem*, 260, 16338-46.
- 20 Tilman, D. 1997. Mechanisms of plant competition. *Plant Ecology. Second Edition*, 239-261. M. J. Crawley (ed.). Blackwell Science, Ltd., Oxford, England.
- Weber, C. R. & W. D. Hanson. 1961. Natural hybridization with and without ionizing radiation in soybeans. *Crop Science*, 1, 389-392.
- Wehrmann, A., A. V. Vliet, C. Opsomer, J. Botterman & A. Schulz. 1996. The
25 similarities of bar and pat gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology*, 14, 1274-1278.
- Wohlleben, W., W. Arnold, I. Broer, D. Hillemann, E. Strauch & A. Puhler. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tu494 and its expression in *Nicotiana tabacum*.
30 *Gene*, 70, 25-37.
- Woodworth, C. M. 1922. The Extent of Natural Cross - Pollination in Soybeans1. *Agronomy Journal*, 14, 278-283.
- Xu, H., J. Abe, Y. Gai & Y. Shimamoto. 2002. Diversity of chloroplast DNA SSRs in wild and cultivated soybeans: evidence for multiple origins of cultivated
35 soybean. *Theor Appl Genet*, 105, 645-653.

- Yadav, N. S., J. Vanderleyden, D. R. Bennett, W. M. Barnes & M. D. Chilton. 1982. Short direct repeats flank the T-DNA on a nopaline Ti plasmid. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79, 6322-6.
- Yanisch-Perron, C., J. Vieira & J. Messing. 1985. Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene*, 33, 103-119.
- Yoshimura, Y. 2011. Wind tunnel and field assessment of pollen dispersal in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *J Plant Res*, 124, 109-114.
- Yoshimura, Y., K. Matsuo & K. Yasuda. 2006. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environ Biosafety Res*, 5, 169-73.
- Koti, S., K. R. Reddy, V. G. Kakani, D. Zhao & V. R. Reddy. 2004. Soybean (*Glycine max*) pollen germination characteristics, flower and pollen morphology in response to enhanced ultraviolet-B radiation. *Ann Bot*, 94, 855-64.
- 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. 山口裕文・島本義也 (編) 栽培植物の自然史—野生植物と人類の共進化—. 北海道大学図書刊行会. 77-95
- 大庭寅雄. 2001. ダイズの品種生態と選択 I 品種の生態型と選択. 農業技術大系作物編第6巻. 農山漁村文化協会. 102-105
- 奥田重俊. 1997. ツルマメ. 日本野生植物館 (奥田重俊 編著). 東京: 小学館. 88
- 小畑 弘己. 2009. 「日本先史時代のマメ類と栽培化」 木村栄美(編), さまざまな栽培植物と農耕文化：ユーラシア農耕史4. 京都: 臨川書店. p.252-261
- 小畑 弘己. 2010. 「縄文時代におけるアズキ・ダイズ栽培について」 龍田考古会 (編), 先史学・考古学論究V 上巻. 熊本: 龍田考古会. p.239-272
- 加賀 秋人・友岡 憲彦・Phuntsho, U.・黒田 洋輔・小林 伸哉・伊勢村 武久・Gilda, M-J.・Vaughan, D. A. 2005. 「野生ダイズと栽培ダイズとの自然交雑集団の探索と収集—秋田県及び広島県における予備的調査—」 植物遺伝資源探索導入調査報告書. 通巻第21巻 p. 59-71
- 鎌田 慶朗. 1992. 「3.大豆の化学」 山内文男・大久保一良 (編) 大豆の科学. 東京: 朝倉書店. p. 27-47
- 菊地 淳志. 2013. 中国・四国地方におけるダイズ原種ツルマメを寄主植物とする昆虫相」 関西病虫害研究会報 55. pp. 129-133
- 黒田 洋輔・加賀 秋人・Apa, A.・Vaughan, D. A.・友岡憲彦・矢野博・松岡伸之. 2005. 「野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 茨城県, 愛知県, 広島県, 佐賀県における現地調査から—」 植物遺伝資源探索導入調査報告書. 通巻第21巻 p.73-95

- 黒田 洋輔・加賀 秋人・Janet, P.・Vaughan, D. A.・友岡 憲彦・矢野 博. 2007. 「野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 兵庫県, 佐賀県における現地調査から—」 植物遺伝資源探索導入調査報告書. 通巻第 23 巻. pp.9-27
- 5 黒田 洋輔・加賀 秋人・Joe, G.・Vaughan, D. A.・友岡 憲彦. 2006. 「野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 茨城県, 高知県, 佐賀県における現地調査から—」 植物遺伝資源探索導入調査報告書. 通巻第 22 巻 p.1-12
- 国分 牧衛. 2002. 「ダイズ」 日本作物学会(編) 作物学事典. 東京: 朝倉書店. p.
- 10 370-377
- 後藤寛治. 2001. ダイズの起源と特性, I 栽培の起源と分布. 転作全書 2: ダイズ・アズキ. 農山漁村文化協会. 33-41
- 後藤秀俊・黒川俊二・笠井美恵子・福田美雪・高橋靖幸・井上公一・中井秀一・山根精一郎・津田麻衣・大澤良. 2018. 遺伝子組換え作物の生物多様性影響の競合における優位性に関する考察. 育種学研究. 20: 105-114
- 15 昆野昭晨. 2001a. 「生育のステージと生理・生態 I 種子と発芽」 転作全書 第二巻 ダイズ・アズキ. 東京: 農山漁村文化協会. p. 45-49
- 昆野昭晨. 2001b. 「生育のステージと生理・生態 II 栄養成長の生理、生態」 転作全書 第二巻 ダイズ・アズキ. 東京: 農山漁村文化協会. p. 50-67
- 20 昆野昭晨. 1987. 13. 食用作物 ダイズ. 農学大事典編集委員会 (編) 農学大事典 第 2 次増訂改版. 養賢堂. 511-557
- 財務省. 2024. 概況品別国別表 財務省貿易統計.
<http://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm?M=13&P=0>. [Accessed Jan. 24, 2024]
- 25 鄭 紹輝. 2008. 「ダイズ」 大門弘幸 (編) 作物学概論. 東京: 朝倉書店. p.132-146
- 中山誠二. 2015. 「縄文時代のダイズの栽培化と種子の形態分化」. 植生史研究. 第 23 巻 第 2 号 p.33-42
- 中山 祐一郎・山口 裕文. 2000. 「トランスジェニック作物からの遺伝子の生態系への拡散防止に関する研究:2 ダイズの祖先野生種ツルマメはどこでどのように生活しているのか」 雑草研究 別号 講演会講演要旨 39. pp.182-183
- 30 日本雑草学会. 1991. 第 II 編 雑草名. 改定・雑草学用語集. 日本雑草学会. 67
- 沼田真・浅野貞夫・奥田重俊・吉沢長人・桑原義晴・岩瀬徹. 1975. 新版・日本原色雑草図鑑. 沼田真・吉沢長人 (編) 全国農村教育協会. 107
- 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
- 35 平成 23 年 1 月 7 日公表

- (http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/21_kekka.pdf).
[Accessed Jan. 24, 2024]
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
平成 23 年 10 月 14 日公表
- 5 (http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/22_natane.pdf).
[Accessed Jan. 24, 2024]
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
平成 24 年 9 月 12 日公表
- 10 (<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/pdf/120912-02.pdf>). [Accessed
Jan. 24, 2024]
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
平成 25 年 9 月 24 日公表
- 15 (http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c_data/pdf/24_kekka.pdf).
[Accessed Jan. 24, 2024]
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
平成 26 年 11 月 21 日公表
- 20 (http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/pdf/h25_kekka.pdf).
[Accessed Jan. 24, 2024]
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
平成 27 年 10 月 29 日公表
- 25 (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-42.pdf>).
[Accessed Jan. 24, 2024]
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
平成 29 年 1 月 10 日公表
- 30 (<http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-134.pdf>).
[Accessed Jan. 24, 2024]
農林水産省. 2018a. 「平成 28 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について
平成 30 年 2 月 6 日公表
- 35 ([https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-
172.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-172.pdf)). [Accessed Jan. 24, 2024]
農林水産省. 2018b. 「平成 29 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について
平成 30 年 12 月 20 日公表
- 40 ([https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-
172.pdf](https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-172.pdf)). [Accessed Jan. 24, 2024]
農林水産省. 2020. 「平成 30 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について
令和 2 年 9 月 7 日公表

- (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-226.pdf>). [Accessed Jan. 24, 2024]
- 農林水産省. 2021. 「令和元年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について令和3年1月8日公表
- 5 (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-272.pdf>). [Accessed Jan. 24, 2024]
- 農林水産省. 2022a. 「令和2年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について令和4年7月26日公表
- (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-17.pdf>).
10 [Accessed Jan. 24, 2024]
- 農林水産省. 2022b. 「令和3年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について令和4年7月26日公表
- (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-21.pdf>).
[Accessed Jan. 24, 2024]
- 15 農林水産省. 2023. 「令和4年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について令和5年6月30日公表
- (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-39.pdf>).
[Accessed Jan. 24, 2024]
- 羽鹿 牧太・高橋 浩司・平賀 勸. 2003. 「房総半島におけるツルマメの探索・収集」 植物資源探索導入調査報告書. 19 pp. 7-15
- 20 宮下 京子・松田 晴光・大原 雅・三澤 為一・島本 義他. 1999. 「ツルマメおよびダイズにおける開放花と閉鎖花の着花・結実動態」 北海道大学農学部農場研究報告. p. 41-48
- 山内 文男. 1992. 「3.大豆の化学」 山内 文男・大久保 一良 (編) 大豆の科学. 東京: 朝倉書店. p. 1-13
- 25 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用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. 36 47-69

30

緊急措置計画書

令和6年11月8日

5 氏名 SCC Scientific Consulting Company Japan 株式会社
代表取締役 後藤 秀俊
住所 東京都港区西新橋一丁目2番9号
日比谷セントラルビル14階

10 第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ (改変 *cp4 epsps, pat, Glycine max (L.) Merr.*) (DBN9004, OECD UI: DBN-09004-6; 以下、本組換えダイズという) の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると、科学的に判断された場合、以下の措置を執ることとする。

15 1. 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者
(令和6年11月現在)

SCC Scientific Consulting Company Japan 株式会社	
○【個人情報により非開示】	SCC Scientific Consulting Company Japan 株式会社 代表取締役
【個人情報により非開示】	SCC Scientific Consulting Company Japan 株式会社 登録スペシャリスト

○：管理責任者

20 2. 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.と連絡をとり、種子、穀物生産、収穫物の状況に関し、種子製造、種子供給、販売、穀物取扱業者など使用の可能性のある関係各者から可能な限り情報収集を行う。

25 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

30 弊社は、Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.と連絡をとり、生産農家や穀物取扱業者などの取引ルートへ本組換えダイズの適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

4. 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を取り、その使用等を継

続するための具体的な措置の内容

5 生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合、弊社は、Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.の協力のもと、本組換えダイズが環境中に放出されないように必要かつ適切な措置をとるとともに、環境中に放出された本組換えダイズに対し、科学的根拠に基づきリスクの程度に応じて、速やかに機動的な対応を行う。

5. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

10

弊社は、信憑性のある証拠及びデータにより生物多様性影響が生ずるおそれが示唆された場合、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。

15

除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ (改変 *cp4 epsps, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (DBN9004, OECD UI: DBN-09004-6)の
別添資料リスト

5

別添資料 1 Sequence of Genetic Element in pDBN4003 (社外秘)

10 別添資料 2 Specific PCR for Determination of Absence of Plasmid Vector pDBN4003 Backbone Sequences in DBN9004 Soybean (DBNBC-RS-2021-113) (社外秘)

別添資料 3 Amplification of T-DNA sequence inserted in the DBN9004 soybean (DBNBC-MB-2020004-V3) (社外秘)

別添資料 4 Chromosome location analysis of T-DNA insertion in DBN9004 soybean (DBNBC-BIO-2019017) (社外秘)

15 別添資料 5 Southern Blot Analyses to Determine Copy Number of the Insert in DBN9004 (DBNBC-RS-2018106) (社外秘)

別添資料 6 The expressional stability of EPSPS and PAT in DBN9004 (DBNBC-RS-2018208) (社外秘)

20 別添資料 7 Expression Levels of EPSPS and PAT Proteins in DBN9004 – China 2020 (DBNBC-RS-2020211) (社外秘)

別添資料 8 Event specific quantitation of DBN-09004-6 Soybean (社外秘)

25 別添資料 9 除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ (改変 *cp4 epsps, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (DBN9004, OECD UI: DBN-09004-6) の隔離ほ場における試験報告書 (社外秘)