

ステアリドン酸産生ダイズ(改変 *Pj.D6D*, 改変 *Nc.Fad3*, *Glycine max* (L.)
Merr.)(MON87769, OECD UI: MON-87769-7)申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性影響評価書	
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	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	6
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	7
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及びアポミクシスを生じる特性を有する場合はその程度	7
④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命	9
ホ 病原性	9
ヘ 有害物質の産生性	9
ト その他の情報	9
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	9
(1) 供与核酸に関する情報	10
イ 構成及び構成要素の由来	10
ロ 構成要素の機能	11
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	11
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	16

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	17
(2) ベクターに関する情報.....	23
イ 名称及び由来	23
ロ 特性.....	23
① ベクターの塩基数及び塩基配列	23
② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能.....	23
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	23
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	23
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成.....	23
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法.....	24
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過.....	24
① 核酸が移入された細胞の選抜の方法.....	24
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	24
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 育成の経過及び系統樹	24
(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.....	26
① 移入された核酸の複製物が存在する場所.....	26
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.....	26
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	26
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.....	26
⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生 動植物等に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及 び程度	27
(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.....	27
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	27
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	27

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	28
	a 形態及び生育の特性.....	28
	b 生育初期における低温又は高温耐性.....	28
	c 成体の越冬性又は越夏性.....	29
	d 花粉の稔性及びサイズ.....	29
	e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率.....	29
	f 交雑率.....	30
	g 有害物質の産生性.....	30
3	遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	30
(1)	使用等の内容.....	30
(2)	使用等の方法.....	30
(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	31
(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
第二	項目ごとの生物多様性影響の評価.....	33
1	競合における優位性	33
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	33
(2)	影響の具体的内容の評価.....	34
(3)	影響の生じやすさの評価.....	34
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	35
2	有害物質の産生性	35
(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	35
(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.....	36
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	36
3	交雑性	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.....	36
(3)	影響の生じやすさの評価.....	36
(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	38

4	その他の性質	38
第三	生物多様性影響の総合的評価	39
参考文献	42
緊急措置計画書	43
モニタリング計画書	46

第一種使用規程承認申請書

平成 19 年 12 月 25 日

農林水産大臣 若林 正俊 殿
環境大臣 鴨下 一郎 殿

氏名 日本モンサント株式会社
申請者 代表取締役社長 山根 精一郎 印
住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類 の名称</p>	<p>ステアリドン酸産生ダイズ (改変 <i>Pj.D6D</i>, 改変 <i>Nc.Fad3</i>, <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (MON87769, OECD UI: MON-87769-7)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地名 称：日本モンサント株式会社隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 22 年 1 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1) 部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。</p> <p>(2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。</p> <p>(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えダイズの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置していると同時に、当該ダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。</p> <p>(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するための防風網を設置している。また、播種時には防鳥糸などを用いた鳥害防止策を講じる。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本遺伝子組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。</p> <p>(2) 本遺伝子組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、本遺伝子組換えダイズの栽培終了後は、当該ダイズ及び比較対照のダイズを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。</p>

	<ul style="list-style-type: none">(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。(6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。(7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。(8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。
--	---

生物多様性影響評価書

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

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

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

② 宿主の品種名

宿主はマメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属するダイズ (*G. max*) であり、品種名は A3525 である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

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

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

ダイズの起源地域は中国東北部で、紀元前 1100 年頃にこの地域で栽培化されたと推定され、その後、中国南部、東南アジア、朝鮮及び日本へ栽培が広がったと考えられる (文献 8)。わが国へは縄文時代に渡来、栽培が始まったと考えられ、副食として利用されていたと思われる (文献 9)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

国際連合食糧農業機関 (FAO) の統計情報によると、2006 年の全世界におけるダイズの栽培面積は約 9,360 万 ha であり、上位国を挙げると米国が約 2,898 万 ha、ブラジルが約 2,201 万 ha、アルゼンチンが約 1,510 万 ha、中国が約 959 万 ha となっている。なお、同統計情報に基づく 2005 年のわが国における栽培面積は約 14 万 ha であった (文献 10)。

2005 年のわが国におけるダイズの輸入量は約 418 万トンであり、そのうちの約 75%が米国から輸入されている (文献 11)。2005 年におけるダイズの国内生産量は約 23 万トンであり、国内消費仕向量*は約 434 万トンであった。国内消費仕向量の用途別内訳は、製油用が約 308 万トン、食品用が約 87 万トン、味噌・醤油用が約 17 万トン、飼料用が約 13 万トン、その他が約 9 万トンとなっている (文献 12)。

わが国におけるダイズの利用方法は多岐に渡り、味噌、醤油、豆腐、納豆、ゆば、きな粉、煮豆、もやしとして食されるほか、分離蛋白、濃縮蛋白等は食品添加物として、搾油は食用植物油として、脱脂ダイズは家畜用飼料として利用されている (文献 9)。

わが国でのダイズの慣行栽培法は以下のとおりである。播種適期は北海道地方で 5 月中旬～6 月上旬、東北地方、北陸・東山地方で 6 月上旬、関東地方で 6 月中旬、東海地方以西中国地方までは 6 月下旬、九州地方で 7 月上旬から 8 月上旬 (秋ダイズ) 及び 4 月上旬から下旬 (夏ダイズ) となる。播種密度

*国内生産量+輸入量-輸出量-在庫の増加量 (または+在庫の減少量) から算出される。
2005 年は輸出量は 0、在庫は約 7 万トン増であったため、 $23+418-0-7=434$ (万トン) が国内消費仕向量となる。

は、品種や栽培条件によって異なるが、早生品種・寒地・遅播きの場合などでは密植が行われる。生育期間中は除草を早めに行い、初期の雑草を抑えれば、やがてダイズの茎葉が繁茂してくるので、雑草は比較的発生し難くなる。また病害虫の防除は、ダイズの栽培で最も大切な作業の一つであり、生育初期の害虫に対しては早めに薬剤散布を行う。収穫は、抜き取るか地ぎわから刈り取り、これを地干し、又は掛け干しして乾燥し脱粒機で脱粒する方法と、コンバインで刈り取り・脱粒を一緒に行う方法とがある (文献 9)。

(3) 生理学的及び生態学的特性

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じる (文献 1)。茎は主茎と分枝に分けられ、主茎節の複葉の葉腋から分枝が伸長し、また、根は一般に空中窒素固定能を有する根粒菌の寄生によって根粒を着生する (文献 9)。花には 1 本の雌ずいがあり、その基部の子房に 1~5 個の胚珠を内蔵しており、子房は受粉後に肥大して莢を形成する (文献 9)。また、ダイズの花芽分化には日長と温度が大きく影響し、ある時間以上の暗期が花芽分化に必要で、温度は 15℃以上を必要として 25℃前後までは高いほど促進的に働き、短日高温では促進効果が大きい、長日高温では促進効果がないか、かえって遅れることがある (文献 8)。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズ種子の発芽適温は 30~35℃、最低発芽温度及び最低生育温度は 2~4℃であり、10℃以下での発芽は極めて悪い (文献 8)。ダイズの栽培適地は、生育期間中 18~28℃程度、多照で適度の降雨のあることが望ましいとされているが、今日のダイズ品種では日長感応性が細かく分化して各種の気候に対する適応性が高くなっており、赤道直下のインドネシアから北緯 60° のスウェーデンでも栽培可能である (文献 8)。

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

—

ニ 繁殖又は増殖の様式

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

ダイズの種子は裂莢した際に地表に落下する。わが国で栽培されるダイズの裂莢性には品種間差があるが、ダイズが大規模に栽培され、収穫が機械化されている米国などでは、ほとんどの品種が難裂莢性であり脱粒性の程度は低い。また種子休眠性は知られていない。種子の発芽能力に関しては、常温で貯蔵した場合に通常約3年で失われる(文献9)。

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

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及びアポミクシスを生じる特性を有する場合はその程度

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

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わが国で確認されており(文献13; 文献14)、その形態がダイズに近かったことから、通常のツルマメと比べて、ダイズと交雑する可能性が高いことが予想された。しかし、過去10年以上にわたり日本各地より800近い集団からツルマメの収集を行った中にオオバツルマメのような形態的中間型を示す個体は見つかっていないという報告があることから(文献14)、仮に

このような形態的中間型の個体がわが国で自生していたとしても、その生育する範囲はかなり限られていることが予想される。

ダイズとツルマメの自殖性及び他殖性の程度に関して、ダイズとツルマメは、通常開花前に開葯し、受粉が完了する上に、開花期の後半は、ほとんどの花が開花しないままで受粉する閉花受粉を行うため (文献 14)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。これまでに、通常のは場条件でダイズ同士における他家受粉率は最大で 3.62% (文献 15)、ツルマメ同士における他家受粉率は最大で 2.3% (文献 16) と報告されている。

特異的な条件では交雑率が上昇することもある。例えば、ダイズの開花期にミツバチの巣箱をダイズは場の中心に設置した場合、その他家受粉率は平均で 2.96~7.26% となり、局所的には 19.5% に達したと報告されている (文献 17)。またツルマメに関しても、秋田県雄物川流域で約 13% という高い他家受粉率を示す集団が発見されたとの報告がある (文献 18)。この集団から採取されたツルマメの 1 胚珠あたりの花粉数は平均で 600~700 粒で、この数は典型的な自家受粉植物と他家受粉植物の 1 胚珠あたりの平均的な花粉数の中間に位置していた。この高い他家受粉率の原因が、雄物川流域特有の環境条件によるものなのか、あるいは集団内の遺伝的特性によるものなのかは明らかにされていない。しかし、雄物川流域のツルマメの集団は、護岸工事などによる環境の攪乱が行われておらず、集団サイズが大きく、訪花昆虫にとっては非常に魅力的な食料供給源であり、このツルマメの集団の周辺ではミツバチやクマバチなどが頻繁に観察されていた。

ダイズとツルマメの交雑性に関しては、上述したようにいずれも閉花受粉をおこなう自殖性植物であることに加え、一般的にダイズの開花期はツルマメよりも約 1 ヶ月近く早く、それぞれの開花期間は重なりにくいことが知られている (文献 14)。他のダイズ品種と比べて開花期が遅い日本固有の栽培品種である丹波黒とツルマメ (GIs/93-J-01) をそれぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調査した報告では、自然交雑実験終了後に結実したツルマメから取得された 686 個体の後代を調査した結果、ダイズとツルマメの雑種であると判断された後代が 5 個体認められたことから、その交雑率は 0.73% と報告されている (文献 19)。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ダイズの花粉の生産量は極めて少なく、稔性は2～4時間で失われる。花粉の直径は15～25 μm である(文献20)。また、花粉の飛散距離に関しては、農業環境技術研究所が平成13年に行った除草剤耐性の遺伝子組換えダイズを用いた交雑試験では、交雑率は花粉親からの距離が0.7mで0.19%、3.5mで0.025%、10.5mで0%であった。さらに平成14年に同研究所で行われた試験では、花粉親からの距離が0.7mで0.16%、2.8mで0.08%、3.5mで0%の交雑率であった(文献21)。

ホ 病原性

—

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または生息に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

ト その他の情報

これまで、運搬等においてこぼれ落ちたダイズが畑以外で生育したという報告はない。

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

エイコサペンタエン酸 (EPA) やドコサヘキサエン酸 (DHA) などの長鎖オメガ-3 脂肪酸は、心臓発作のリスクを軽減し、心臓の健康増進効果があることが知られている(文献22)。しかし、EPA や DHA は酸化されやすいため、食品への利用方法が制限される。そこでモンサント・カンパニーは、これら長鎖オメガ-3 脂肪酸の代謝前駆体であるステアリドン酸 (SDA) を油成分として含むダイズを開発した。SDA はオメガ-3 脂肪酸のひとつであり、EPA や DHA よりも二重結合が少ないため酸化に対して安定である。SDA ダイズ油は、サラダドレッシングやマーガリン、マヨネーズ、ショートニング、インスタント食品などの製品の原料として商品化される。また、水産養殖や家畜等の餌においてアマニ油や魚油に変わる飼料原料としての利用も考えられている。

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

ステアリドン酸産生ダイズ (改変 *Pj.D6D*, 改変 *Nc.Fad3*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87769, OECD UI: MON-87769-7) (以下「本組換えダイズ」とする) の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は図 1 (p12) 及び表 1 (p13~15) に示した。

なお、本組換えダイズに導入された *Pj.D6D* 遺伝子から発現する $\Delta 6$ デサチュラーゼは野生型と比べて N 末端側が 16 アミノ酸短くなっている。よって、本組換えダイズに導入された *Pj.D6D* 遺伝子は「改変 *Pj.D6D* 遺伝子」とし、発現する蛋白質を「改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ」とする。また、本組換えダイズに導入された *Nc.Fad3* 遺伝子から発現する $\Delta 15$ デサチュラーゼは、翻訳開始に重要なコザックコンセンサス配列を導入するため、N 末端配列から 2 番目のトレオニンがアラニンに改変されている。よって、本組換えダイズに導入された *Nc.Fad3* 遺伝子は「改変 *Nc.Fad3* 遺伝子」とし、発現する蛋白質を「改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼ」とする。

また、本組換えダイズ作出の過程において選抜マーカーとして導入された *cp4 epsps* 遺伝子から発現する CP4 EPSPS 蛋白質は、植物中での発現量を高めるため CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更することの無いように塩基配列に改変を加えたものであり、*Agrobacterium* sp. CP4 株由来のアミノ酸配列と比較して N 末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。したがって、本組換えダイズに導入された *cp4 epsps* 遺伝子は「改変 *cp4 epsps* 遺伝子」とする。ただし、本組換えダイズは R1 世代において遺伝的分離により改変 *cp4 epsps* 遺伝子を持たない個体のみをインベーター分析により選抜している (図 3, p25)。

なお、改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼの推定アミノ酸配列は別添資料 1 に示した。

ロ 構成要素の機能

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

本組換えダイズの作出に用いられた供与核酸の各構成要素の機能は表 1 (p13~15) に示したとおりである。

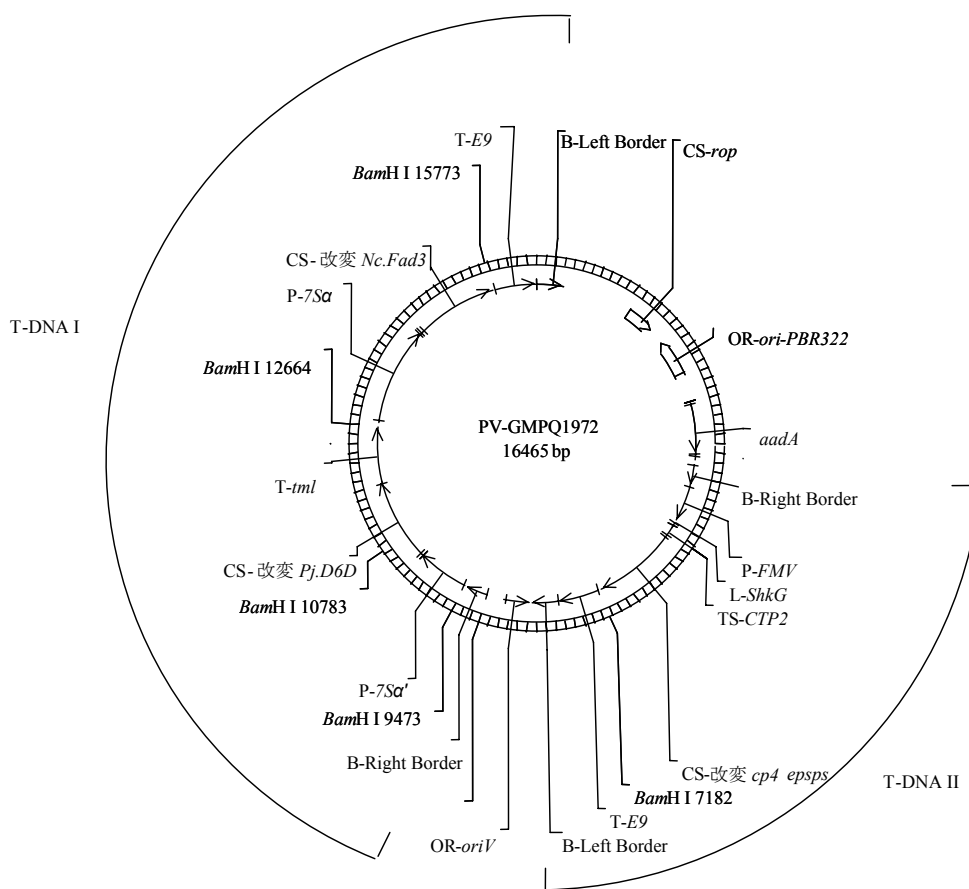


図 1 PV-GMPQ1972 のプラスミドマップ^a

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

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

表 1 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能

構成要素	由来及び機能
T-DNA I	
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
B ^{注1} -Left Border	T-DNAを伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のDNA領域 (文献23)。
外骨格領域(本組換えダイズには存在しない)	
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
CS ^{注2} - <i>rop</i>	ColE1 プラスミドに由来するプライマー蛋白質のリプレッサーのコーディング配列であり、 <i>Escherichia coli</i> 中においてプラスミドのコピー数を維持する (文献24)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
OR ^{注3} - <i>ori-PBR322</i>	pBR322から単離された複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する (文献25)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
<i>aadA</i>	トランスポゾンTn 7由来のアミノグリコシド改変酵素である3'(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼの細菌プロモーター、コーディング配列及び3'非翻訳領域 (文献26)。スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
T-DNA II(本組換えダイズには存在しない)	
B-Right Border	T-DNAを伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来のDNA領域 (文献27)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
P ^{注4} - <i>FMV</i>	Figwort mosaic virus (FMV) 35S RNAのプロモーター (文献28)。植物細胞内での転写を誘導する。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
L ^{注5} - <i>ShkG</i>	EPSPSをコードしている <i>Arabidopsis thaliana</i> の <i>ShkG</i> 遺伝子の5'末端非翻訳領域 (文献29)。遺伝子発現の調整に関与する。

表 1 (つづき) 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能

構成要素	由来及び機能
T-DNA II(つづき)	
TS ^{注6} -CTP2	<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) 蛋白質をコードする <i>ShkG</i> 遺伝子に由来する葉緑体輸送ペプチドをコードする配列 (文献29)。
CS-改変 <i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> CP4株由来の5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) をコードしている <i>aroA</i> 遺伝子のコーディング配列 (文献30; 文献31)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
T ^{注7} -E9	<i>Pisum sativum</i> のリブローズ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子の3'末端非翻訳領域。mRNAのポリアデニル化を誘導する (文献32)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
B-Left Border	T-DNAを伝達する際に利用される左側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来のDNA領域 (文献23)。
外骨格領域(本組換えダイズには存在しない)	
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
OR-ori V	広宿主域プラスミドRK2に由来する複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium</i> においてベクターに自律増殖能を付与する (文献33)
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
T-DNA I	
B-Right Border	T-DNAを伝達する際に利用される右側境界配列を含む <i>A. tumefaciens</i> 由来のDNA領域 (文献27)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
P-7 <i>Sa'</i>	β -コングリシニン貯蔵蛋白質 (α' -bcsp) をコードしている <i>G. max</i> の <i>Sphas1</i> 遺伝子に由来するプロモーター及びリーダー配列 (文献34)。mRNAの転写を胚特異的に誘導する (文献35)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列

表 1 (つづき) 供与核酸の構成並びに構成要素の由来及び機能^b

構成要素	由来及び機能
T-DNA I(つづき)	
CS-改変 <i>Pj.D6D</i>	<i>Primula juliae</i> に由来する脂肪酸 $\Delta 6$ デサチュラーゼのコーディング領域 (文献36)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
T- <i>tml</i>	<i>A. tumefaciens</i> オクトピン型Tiプラスミドに由来する <i>tml</i> 遺伝子の3'末端非翻訳領域 (文献37)。mRNAのポリアデニル化を誘導する。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
P-7 <i>Sa</i>	β -コングリシニンのアルファサブユニットをコードしている <i>G. max</i> の <i>Sphas2</i> 遺伝子に由来するプロモーター及びリーダー配列 (文献38)。mRNAの転写を胚特異的に誘導する (文献35)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
CS-改変 <i>Nc.Fad3</i>	$\Delta 15$ デサチュラーゼをコードしている <i>Neurospora crassa</i> 由来の遺伝子のコーディング配列 (文献39)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列
T- <i>E9</i>	<i>Pisum sativum</i> のリブローズ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS2</i> 遺伝子の3'末端非翻訳領域。mRNAのポリアデニル化を誘導する (文献32)。
Intervening Sequence	DNAクローニングの際に利用された配列

注¹ B – Border (境界配列)

注² CS – Coding Sequence (コーディング配列)

注³ OR – Origin of Replication (複製開始領域)

注⁴ P – Promoter (プロモーター)

注⁵ L – Leader (リーダー配列)

注⁶ TS – Targeting Sequence (ターゲティング配列)

注⁷ T – Transcript Termination Sequence (転写終結配列)

^b 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

- 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

【改変 *Pj.D6D* 遺伝子】

本組換えダイズには *P. juliae* 由来の改変 *Pj.D6D* 遺伝子が導入されている。改変 *Pj.D6D* 遺伝子が単離された *Primula* は、一般的に Primrose (和名: サクラソウ) の呼び名で知られている植物の属である。

この改変 *Pj.D6D* 遺伝子は、フロントエンドデサチュラーゼ (既存の二重結合とカルボキシル末端との間に二重結合を挿入するデサチュラーゼの総称) である改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼをコードしており、改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼは特定の脂肪酸においてカルボキシル末端から 6 番目と 7 番目の炭素間に二重結合を挿入する。SDA を産生することが知られている植物や動物では、SDA は α -リノレン酸 (ALA) の $\Delta 6$ 不飽和化と γ -リノレン酸 (GLA) の ω -3 不飽和化により産生される (図 2, p21)。しかし、ダイズは $\Delta 6$ デサチュラーゼを有していないため、SDA を産生することができない。そこで、本組換えダイズに改変 *Pj.D6D* 遺伝子を導入することにより、本来、ダイズが産生できなかった SDA が産生される (図 2, p21)。なお、改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼを導入したことにより、本組換えダイズにおいてオレイン酸 (18:1) やリノール酸 (LA、18:2) に二重結合が挿入され、少量のイソリノール酸 (ILA、18:2) や GLA (18:3) が産生される (図 2, p21)。

改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼが、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、アレルゲンデータベース 7 (AD7^{**}) を用いて FASTA 型アルゴリズムによって比較したが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列は認められなかった。

【改変 *Nc.Fad3* 遺伝子】

上述の改変 *Pj.D6D* 遺伝子に加え、本組換えダイズには *N. crassa* (和名: アカパンカビ) 由来の改変 *Nc.Fad3* 遺伝子が導入されている。*N. crassa* は、子嚢菌類に分類されるカビの一種であり、非病原性、非アレルギー性であると考えられている (文献 40)。

改変 *Nc.Fad3* 遺伝子を導入することにより、本組換えダイズにおいて改変

** 文献 41 に登録されている配列からなるデータベース

$\Delta 15$ デサチュラーゼが発現している。改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼは、特定の脂肪酸のカルボキシル末端から 15 番目と 16 番目の炭素間に二重結合を挿入する。ダイズにはもともと内在性の $\Delta 15$ デサチュラーゼが存在するが、その活性レベルは低いことが知られている。そこで、本組換えダイズにおいて *N. crassa* 由来の改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼを発現させることにより、LA から ALA の経路、及び改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼの働きによって産生された GLA を SDA へ変換する経路がより促進されるようにした (図 2, p21)。

以上のように、ダイズにおいて SDA を産生するためには、 $\Delta 6$ デサチュラーゼをコードしている遺伝子を導入することが必須であるが、本組換えダイズにおいて改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼも同時に発現させることにより、より効率的に本組換えダイズ中での SDA 含量を高めることができると予想される。

改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼが、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、アレルゲンデータベース 7 (AD7) を用いて FASTA 型アルゴリズムによって比較したが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列は認められなかった。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

一般的なダイズ油には約 48~59%の LA と 4.5~11%の ALA が含まれている (表 2, p22)。本来、ダイズは $\Delta 6$ デサチュラーゼを有していないため、SDA を産生することができない。しかし、本組換えダイズは改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼと改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼを発現することにより、本来、ダイズが産生することのできなかつた SDA を産生することができる。本組換えダイズは、栽培環境によっても異なるが、油中に総脂肪酸あたり約 15%~30%の SDA を産生する。また、改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼを導入したことにより、本組換えダイズにおいてオレイン酸 (18:1) や LA (18:2) に二重結合が挿入され、少量の ILA (18:2) や GLA (18:3) が産生される。実際に、本組換えダイズの種子中で SDA (総脂肪酸中 20.5%程度)、ILA (総脂肪酸中 0.2%以下) 及び GLA (総脂肪酸中 6%程度) が産生されていることを確認している (表 2, p22)。

これまで *in vitro* の酵母発現システムにおいて、これらデサチュラーゼの不飽和化の基質特異性について調査が行われている (別添資料 2)。その結果、*P. juliae* 由来の改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼは、その不飽和化は特異的であり、オレイン酸や LA、ALA などの特定の不飽和脂肪酸の $\Delta 6$ 不飽和化のみに働くこ

とが確認されている。なお、ダイズにおいて上記の脂肪酸の他に改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼによって不飽和化される脂肪酸は検出可能なレベルでは存在しない。同様に、*N. crassa* 由来の改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼについても、LA や GLA、ジホモ γ -リノレン酸 (DGLA)、AA などの脂肪酸基質における ω -3 の不飽和化に特異的であることが確認されている。なお、ダイズにおいて上記の脂肪酸の他に改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼによって不飽和化される脂肪酸は検出可能なレベルでは存在しない (別添資料 2)。

よって、本組換えダイズで発現している改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼにより、上述の脂肪酸組成の変化以外の宿主の代謝系を変化させるとは考えがたい。

また、本組換えダイズにおいて新たに産生される脂肪酸である SDA は一般的な魚油に含まれている成分であり、第一の 2 (p9) に記載したとおり EPA や DHA の代謝前駆体である。GLA は母乳や内臓肉、植物種子油に、ILA は魚や魚油、栄養補助食品に含まれており、ヒトが日頃から摂取しているものである。

ダイズ種子中の主要な貯蔵脂質はトリアシルグリセロール (TAG) であり、TAG は発芽時のエネルギー源として利用されることが知られている (文献 42; 文献 43)。TAG がエネルギーとして利用される過程では、リパーゼによる加水分解によって TAG がグリセロールと脂肪酸に異化され、この加水分解と同時に脂肪酸はアシル CoA に変換される。さらにこのアシル CoA は β 酸化により分解される。脂肪酸が酸化される第一段階はアシル CoA 合成酵素により触媒され、脂肪酸と補酵素 A (CoA) との反応によって活性化された脂肪酸、即ち脂肪酸アシル CoA が形成される。この脂肪酸アシル CoA は、反復性のある一連の 4 つの反応 (フラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) による酸化、水和反応、 NAD^+ による酸化、そして CoA によるチオール開裂) を経て分解される。

多価不飽和脂肪酸の場合は炭素間に二重結合を持つことから、その代謝にはさらに異性化酵素及び還元酵素 (2,4-ジエノイル CoA 還元酵素) が必要である (文献 44)。これら 2 つの酵素の働きによりエノイル CoA が形成され、その後、エノイル CoA は上述した水和反応や酸化、チオール開裂の過程を経てさらに代謝される。このように、これら 2 つの酵素によりどのような多価不飽和脂肪酸も酸化される (文献 44)。

また、ヒマワリの突然変異体において、従来のヒマワリ油とは異なる脂肪酸組成であってもエネルギーとして利用するための TAG の分解及び発芽の過程に差異はないことが確認されている (文献 45)。これらの結果から、ヒマワリ種子のリパーゼが TAG の脂肪酸構成にかかわらず機能することが示唆されている。また、ケシやアマニ、ヒマワリ由来のリパーゼが異なる油の TAG を加水分解できることから、これらのリパーゼが基質特異性を持たないことが示唆されている (文献 46)。よって、植物リパーゼは様々な脂肪酸組成を伴う TAG を加水分解できると考えられる。また、不飽和脂肪酸を含む種子では特異的なリパーゼは稀であることが報告されている (文献 47)。

いかなる多価不飽和脂肪酸の β 酸化にも上述の異性化酵素及び還元酵素が必要であり、奇数個の二重結合を持つ脂肪酸の β 酸化には異性化酵素、偶数個の二重結合が含まれる脂肪酸の β 酸化には異性化酵素と還元酵素が関わっている。これらの異性化酵素及び還元酵素は、全ての植物や動物が有している (文献 44)。したがって、ダイズにおいて SDA や GLA、ILA の β 酸化は、LA や ALA の β 酸化と同様に行われると考えられる。

なお、ルリジサ (ムラサキ科ボラゴ属、*Borago officinalis* L.) やクロフサスグリ (ユキノシタ科スグリ属、*Ribes nigrum*)、シャゼンムラサキ (ムラサキ科エキウム属、*Echium plantagineum*) の種子油には SDA や GLA が含まれている (別添資料 3)。ルリジサの種子では発芽の際に総脂質含量の 95% が減少していることが報告されており (文献 48)、総脂肪酸の 20% 程度を占める GLA 及び SDA も発芽時のエネルギーとして利用されていると考えられる。

仮に、SDA や GLA、ILA が一般的なダイズ種子中の代表的な脂肪酸とは異なる生物学的な役割を果たす場合は、発芽率や種子の越冬性において一般的なダイズ種子との違いが観察される可能性が考えられる。しかし、これまでに行われた 6 段階の温度条件における発芽率および秋蒔きにおける越冬性の試験において本組換えダイズと対照の非組換えダイズ A3525 の間に差異は認められなかった (別添資料 4 及び別添資料 5)。

これらの結果から、ダイズにとって新しい脂肪酸である SDA や GLA、ILA はダイズ種子中に存在する他の脂肪酸と同様の生物学的役割を果たしていると考えられる。

なお、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズについて温室で低温耐性試験及び抗酸化性試験を行う予定であり、それぞれの試験計画を別添資料 6 及び別添資料 7 に示した。

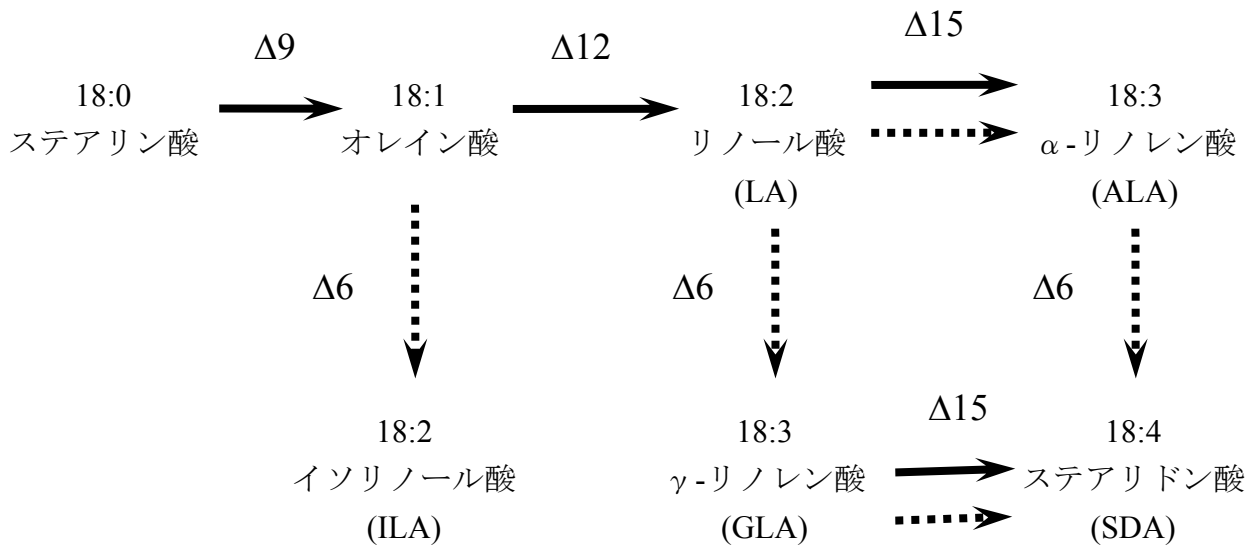




図 2 *P. juliae* 由来の改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び *N. crassa* 由来の改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼを導入したダイズにおける SDA の産生^c

 ダイズ内在性のデサチュラーゼが働く、あるいは働くと考えられる脂肪酸合成経路
 導入した改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼが働く脂肪酸合成経路

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

表 2 一般的なダイズ油、ステアリン酸産生ダイズ油及び非組換えダイズ A3525 油の脂肪酸組成の比較^{1 d}

	一般的なダイズ油の 脂肪酸組成 ² 総脂肪酸中の割合 (%) ³	ステアリン酸産生ダイズ油の 脂肪酸組成 ⁴ 総脂肪酸中の割合 (%)	非組換えダイズ A3525 油の 脂肪酸組成 総脂肪酸中の割合 (%)
C14:0 (ミリスチン酸)	ND-0.2	0.07-0.08	0.07
C16:0 (パルミチン酸)	8.0-13.5	12.4-12.4	11.7
C16:1 (パルミトレイン酸)	ND-0.2	0.11-0.12	0.12
C18:0 (ステアリン酸)	2.0-5.4	4.14-4.28	4.3
C18:1 (オレイン酸)	17-30	14.6-17.8	19.7
C18:2 (リノール酸)	48.0-59.0	18.5-31.3	53.8
C18:3 n6 (γ -リノレン酸)	—	5.1-7.3	ND
C18:3 n3 (α -リノレン酸)	4.5-11	10.4-10.5	8.81
C18:4 n3 (ステアリン酸)	—	14.8-28.7	ND
C20:0 (アラキジン酸)	0.1-0.6	0.37-0.38	0.33
C20:1 (エイコセン酸)	ND-0.5	0.26-0.27	0.15
C22:0 (ベヘン酸)	ND-0.7	0.32-0.34	0.3
C22:1 (エルシン酸)	ND-0.3	ND	ND
C24:0 (リグノセリン酸)	ND-0.5	ND-0.05	0.07
6-シス, 9-シス, 12-シス, 15-トランス-オクタデカテトラエン酸 (トランスステアリン酸) ⁵	—	<0.2%	—
9-シス, 12-シス, 15-トランス-アルファ-リノレン酸 (トランス α -リノレン酸) ⁵	—	<0.2%	—
6, 9-オクタデカジエン酸 (イソリノール酸)	—	<0.2%	—

¹ 一般的に用いられるダイズの加工方法により油サンプルを準備し、AOCS 公定法に基づいたキャピラリーガス液体クロマトグラフィーによってそれらサンプルの脂肪酸構成を分析した (別添資料 8)。

² 文献 49

³ ND - non detectable ($\leq 0.05\%$)

⁴ SDA 含有量が最も高かったサンプル (29%) と最も低かったサンプル (15%) の 2 つのデータから範囲を求めた。

⁵ ステアリン酸産生ダイズ油には少量のトランスステアリン酸とトランス α -リノレン酸が含まれているが、これらは油の精製過程において産生されたものである。

⁶ — - 文献値なし、あるいは分析していない。

^d 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

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

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

本組換えダイズの作出に用いられた PV-GMPQ1972 の全塩基数は 16,465bp である。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

E. coli における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として、スペクチノマイシンやストレプトマイシンに対する耐性を付与するトランスポゾン Tn7 由来の *aadA* 遺伝子が T-DNA 領域外に存在している。

③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

本ベクターの感染性は知られていない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

宿主内に移入された本プラスミド・ベクターの構成要素は表 1 (p13~15) に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては、図 1 (p12) に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミド・ベクターPV-GMPQ1972をアグロバクテリウム法によって、非組換えダイズ品種 A3525 の胚細胞へ導入した。

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

従来ダイズ品種 A3525 の胚から採取した分裂組織とプラスミド・ベクター PV-GMPQ1972 を含む *A. tumefaciens* ABI 株を共置培養した後、グリホサート、カルベニシリン及びクラフォランを添加した組織培養培地で細胞の選抜を行った。この際、グリホサートによって形質転換していない細胞を除去した。

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

カルベニシリン及びクラフォラ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。なお、隔離ほ場試験の前に PCR 法を用いてアグロバクテリウムの残存が無いことを確認する予定である。

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

形質転換された再分化個体 (R0) を自殖し、その後代である R1 世代において T-DNA I 領域 (改変 *Pj.D6D* 遺伝子発現カセット及び改変 *Nc.Fad3* 遺伝子発現カセットを含む領域) をホモで有し、T-DNA II (改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットを含む領域) が分離した個体を選抜した。R2 世代においても、この個体が T-DNA II 領域を持たないことをインベーター分析により確認している。この選抜された個体の後代を導入遺伝子解析及び形態特性調査の対象とした。その結果、最終的に商品化系統として MON87769 系統を選抜した。

本組換えダイズの育成図を図 3 (p25) に示した。なお、本評価書における本組換えダイズ MON87769 系統とは、R1 世代において T-DNA II 領域が分離し、T-DNA I 領域のみを持つ個体及びその後代の全てを指す。

[社外秘に付き非開示]

図 3 本組換えダイズの育成図

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

本組換えダイズの導入遺伝子はメンデルの法則に従って次世代に遺伝していることから、染色体上に存在する (別添資料 9)。

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

サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、本組換えダイズのゲノム中 1ヶ所に 1 コピーの T-DNA I 領域が組み込まれていることが確認された (別添資料 10 の Fig. 5, p19)。また、外側骨格領域及び T-DNA II 領域は導入されておらず (別添資料 10 の Fig. 12, p26 及び Fig. 13, p27)、T-DNA I 領域内の改変 *Pj.D6D* 遺伝子発現カセット及び改変 *Nc.Fad3* 遺伝子発現カセットの全ての構成要素が組み込まれていることが確認された (別添資料 10 の Fig. 6~11, p20~25)。さらに、導入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代 (R4 世代と R6 世代) におけるサザンブロット分析によって示された (別添資料 10 の Fig. 5, p19)。

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 10 の Fig. 5, p19)。

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

改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼの発現の安定性に関しては、育成の過程において本組換えダイズの種子における SDA 含有量を計測することにより確認している。また、米国の 3 箇所のほ場 (ネブラスカ州、アーカンソー州、ウィスコンシン州) において、乱塊法に従って 3 反復で育成した本組換えダイズの葉、未熟種子及び完熟種子中での改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼの発現量もウエスタンブロット法により分析した (別添資料 11)。

その結果、改変 Δ6 デサチュラーゼの発現量は、未熟種子において平均 20μg/g fwt、発現量の範囲は 15~25μg/g fwt であり、完熟種子においては平均 0.99μg/g fwt、発現量の範囲は 0.43~1.9μg/g fwt であった (別添資料 11 の Table 1, p17)。なお、葉における改変 Δ6 デサチュラーゼの発現量は、定量限界 (LOQ=0.625μg/g) 以下であった。

改変 Δ15 デサチュラーゼの発現量は、未熟種子において平均 48μg/g fwt、発現量の範囲は 26~62μg/g fwt であり、完熟種子においては平均 21μg/g fwt、発現量の範囲は 5.3~52μg/g fwt であった (別添資料 11 の Table 1, p17)。なお、葉における改変 Δ15 デサチュラーゼの発現量は、定量限界 (LOQ=0.625μg/g) 以下であった。

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

プラスミド・ベクターPV-GMPQ1972 は、自律増殖可能な宿主域が *E. coli* や *A. tumefaciens* などのグラム陰性菌に限られているため、移入された核酸が自然条件下において野生動植物等に伝達される可能性はない。

- (5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

サザンブロット分析による特異的な検出・識別が可能であり、その検出感度については、約 10μg のゲノミック DNA を用いれば検出可能である。なお、PCR による検出・同定方法に関しては、現在開発中である。

- (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

本組換えダイズにおいて、改変 *Pj.D6D* 遺伝子及び改変 *Nc.Fad3* 遺伝子の導入によりそれぞれ改変 Δ6 デサチュラーゼと改変 Δ15 デサチュラーゼが発現し、結果として SDA が産生される。改変 *Pj.D6D* 遺伝子及び改変 *Nc.Fad3* 遺伝子は、胚特異的プロモーターである *7Sa'*プロモーター及び *7Sa* プロモーターによって制御されているため、改変 Δ6 デサチュラーゼ及び改変 Δ15 デサ

チュラーゼは種子においてのみ発現が認められている。また、その発現も未熟種子のほうが高く、種子が完熟するにつれて発現量は減少することがわかっている (別添資料 11 の Table 1, p17)。

- 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^e

a 形態及び生育の特性

形態及び生育に関する特性を比較するため、米国の3箇所のほ場 (Jefferson County (アイオワ州), Warren County (イリノイ州), York County (ネブラスカ州)) において9項目 (苗立ち株数、初期の草勢、50%開花期までの日数、花色、倒伏性、主茎長、脱粒性、収穫種子の水分含量、収量) について本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズ品種の間の形態特性及び生育の差異を調査した。なお、参考品種として従来商業品種4品種を供試し、試験は3反復で行った (別添資料12)。

その結果、苗立ち株数及び主茎長を除く全ての項目で差異は認められなかった (別添資料12)。苗立ち株数に関しては、York Countyのほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは360株のうち平均226.2個体、対照の非組換えダイズでは216.0個体であった。また、主茎長に関しては、Jefferson Countyのほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは90.4cm、対照の非組換えダイズでは94.7cmであった (別添資料12のTable 2, p5)。しかし、いずれの項目も参考として供試された従来商業品種の変動の範囲内 (苗立ち株数: 215.3~227.5個体、主茎長: 87.6~98.6cm) であった。

b 生育初期における低温又は高温耐性

生育初期における低温耐性試験は、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ A3525 及び従来商業品種 4 品種を日中 15°C/夜間 8°Cで設定された人工気象室で 20 日間栽培し、その後、草勢、主茎長、生育ステージ、生体重及び乾燥重について比較した。その結果、いずれの項目についても本組換えダイズと

^e本項目中の以下に続く a~g に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社 に帰属する

対照の非組換えダイズの間で統計学的有意差は認められなかった (別添資料 13 の Table 3, p6)。

c 成体の越冬性又は越夏性

ダイズは夏型一年生植物であり、成熟期には自然に枯死する。再成長して栄養繁殖したり、種子を生産することはない。実際に、海外でのほ場試験において本組換えダイズは成熟期に枯死していることが確認されている (別添資料 14)。なお、隔離ほ場試験において本組換えダイズの冬季の生育を観察する予定である。

d 花粉の稔性及びサイズ

米国のほ場で栽培された本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ A3525 及び従来商業品種 4 品種から花粉を採取し、その稔性とサイズを調査した。その結果、本組換えダイズの花粉稔性は 98.2% であり、対照の非組換えダイズの 98.7% と比較して統計学的有意差は認められなかった。また、本組換えダイズと対照の非組換えダイズの花粉サイズはそれぞれ 23.4 μm と 24.3 μm であり、統計学的有意差は認められなかった (別添資料 15 の Table 1, p4)。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

第一の 2-(6)-②-a (p28) に上述したとおり、種子の生産量及び脱粒性について本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間で統計学的有意差は認められなかった。

20°C16 時間と 30°C8 時間の条件下における種子の発芽率について、本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ A3525 及び従来商業品種 9 品種より収穫した種子を 4 反復各 100 粒ずつ温室にて播種し、休眠性と発芽率の調査を行った。発芽種子については正常発芽率と異常発芽率に分けて測定し、非発芽種子については硬実種子率、枯死種子率及び吸水膨潤状態 (viable firm-swollen) の種子率に分けて測定した (別添資料 16)。その結果、正常発芽率について本組換えダイズ (89.1%) と対照の非組換えダイズ (92.1%) の間で統計学的有意差は認められなかった (別添資料 16 の Table 1, p4)。また、異常発芽率、硬実種子率、枯死種子率及び吸水膨潤状態 (viable firm-swollen) の種子率についても統計学的有意差は認められなかった (別添資料 16 の Table 1, p4)。

f 交雑率

わが国にはダイズと交雑可能な近縁野生種としてツルマメが生育している。本組換えダイズとツルマメとの間の交雑率の試験は行っていない。なお、本組換えダイズとツルマメとの交雑率に関しては、隔離ほ場試験において本組換えダイズと従来ダイズとの交雑率を調査することにより、評価する予定である。

g 有害物質の産生性

本組換えダイズから他の植物に影響を与える物質が産生されていないことを確認するために、温室において本組換えダイズ、対照の非組換えダイズ A3525 及び従来商業品種 6 品種を供試して鋤込み試験及び後作試験を行った。その結果、いずれの試験においても検定植物であるレタスの発芽株数、生育ステージ、草丈、生体重及び乾燥重に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 17 の Table 1, p4)。なお、隔離ほ場試験においても鋤込み試験、後作試験及び土壌微生物相試験を行う予定である。

なお、本組換えダイズ及び対照の非組換えダイズについて温室で低温耐性試験及び抗酸化性試験を行う予定であり、それぞれの試験計画を別添資料 6 及び別添資料 7 に示した。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

(2) 使用等の方法

所在地: 茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地

名称: 日本モンサント株式会社隔離ほ場

使用期間: 承認日から平成 22 年 1 月 31 日まで

1. 隔離ほ場の施設

(1) 部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを

設置している。

- (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。
- (3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等などに付着した土、本遺伝子組換えダイズの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該ダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- (4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するための防風網を設置している。また、播種時には防鳥糸などを用いた鳥害防止策を講じる。

2. 隔離ほ場の作業要領

- (1) 本遺伝子組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- (2) 本遺伝子組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。
- (3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、本遺伝子組換えダイズの栽培終了後は、当該ダイズ及び比較対照のダイズを隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。
- (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- (5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
- (6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
- (7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、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に基づき、速やかに対処する。

なお、日本モンサント株式会社河内研究農場の隔離ほ場地図を別添資料 18 の図 2 (p3) に示した。

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

別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。

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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

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

—

- (6) 国外における使用等に関する情報

これまで本組換えダイズについて 2004~2007 年間に米国やアルゼンチンにおいて延べ 79 ヶ所のは場試験が行われているが、非組換えダイズと比較して生物多様性影響を生ずるおそれがあるような相違は報告されていない。

なお、本組換えダイズに関しては（以下社外秘）。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価^f

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズがこれまで北米において栽培ほ場の外で発見されたという報告はない(文献1)。わが国においても、ダイズは縄文時代には既に栽培されており、イネ・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。

競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率(第一の2-(6)-②-a~e、p28~29))を比較調査した結果、苗立ち株数及び主茎長を除く、全ての項目で本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に差異あるいは統計学的有意差は認められなかった。

なお、統計学的有意差の認められた苗立ち株数に関しては、York County のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは360株のうち平均226.2個体、対照の非組換えダイズでは216.0個体であった。また、主茎長に関しては、Jefferson County のほ場で統計学的有意差が認められ、本組換えダイズでは90.4cm、対照の非組換えダイズでは94.7cmであった(第一の2-(6)-②-a、p28)。しかし、いずれの項目も統計学的有意差が認められたのは、3箇所のは場のうち1箇所であり、その他の2箇所のは場では統計学的有意差は認められなかった(別添資料12のTable 2, p5)。さらに、参考として供試された従来商業品種4品種の範囲内にはおさまっていたことから、York County 及びJefferson County のほ場で観察された苗立ち株数と主茎長の値は、従来品種の変動の範囲内であると判断された(別添資料12のTable 2, p5)。

改変 *Pj.D6D* 遺伝子及び改変 *Nc.Fad3* 遺伝子を胚特異的プロモーターを用いて発現させることにより、本組換えダイズの種子中ではSDAやGLA、微量のILA(総脂肪酸中0.2%以下)など本来ダイズが産生することができない新しい

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

脂肪酸が産生されており、種子中に蓄積している。一般的にダイズ種子中の油分は、ダイズ種子におけるエネルギー源として貯蔵され、主に発芽などにおいて利用されることが知られている (文献 42; 文献 43)。SDA や GLA、ILA について、これまで競合における優位性を高めるような生物学的意味のある機能を持つという報告はない。

第一の 2-(1)-ロ-③ (p17~19) に記載したとおり、TAG の分解に関わるリパーゼの特異性は低いと考えられ、脂肪酸組成の違いが TAG の分解や発芽の過程に影響を及ぼさないことが他の植物での研究で確認されている。また、SDA や GLA を種子油として含むルリジサやクロフサスグリ、シャゼンムラサキは発芽の際に SDA や GLA をエネルギーとして利用していると考えられる。さらに、多価不飽和脂肪酸の β 酸化に関わる酵素は、全ての植物及び動物に存在することから、ダイズにおいて SDA や GLA、ILA は、LA や ALA と同様に β 酸化されると考えられる。以上のことから、ダイズにとって新しい脂肪酸である SDA や GLA、ILA はダイズ種子中に存在する他の脂肪酸と同様の生物学的役割を果たしていると考えられる。

また仮に、SDA や GLA、ILA が一般的なダイズ種子中の代表的な脂肪酸とは異なる生物学的な役割を果たす場合は、発芽率や種子の越冬性において一般的なダイズ種子との違いが観察される可能性が考えられる。しかし、これまでに行われた 6 段階の温度条件における発芽率および秋蒔きにおける越冬性の試験において本組換えダイズと対照の非組換えダイズ A3525 の間に差異は認められなかった (別添資料 4 及び別添資料 5)。

以上のことから、本組換えダイズを限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、競合における優位性に起因する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

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、有害物質の産生性の有無を鋤込み試験及び後作試験（第一の 2-(6)-②-g, p30）により比較検討したが、統計学的有意差は認められなかった。

本組換えダイズにおいて改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼが発現しているが、当該蛋白質が有害物質であるとする報告はなく、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことが確認されている（第一の 2-(1)-ロ-②, p16~17）。また、改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼは基質特異性が高いため（第一の 2-(1)-ロ-③, p17~19）、これらのデサチュラーゼが宿主の代謝系に影響を及ぼし、新たな有害物質を産生する可能性は極めて低いと考えられる。さらに、これまでダイズにとって新しい脂肪酸である SDA や GLA、ILA が有害物質であるとする報告はない。

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

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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

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 (p7~8) に記載したように、ダイズと交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのはツルマメのみである (文献 2; 文献 3; 文献 1)。したがって、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

(2) 影響の具体的内容の評価

ダイズとその近縁野生種であるツルマメとの間で交雑が生じると、その雑種は生育や生殖に障害が見られず、正常に生育することが知られている (文献 14)。したがって、本組換えダイズに関しても、ツルマメと交雑した場合は雑種が形成されると考えられる。また、当該雑種からツルマメへの戻し交配を経て、本組換えダイズ由来の改変 *Pj.D6D* 遺伝子及び改変 *Nc.Fad3* 遺伝子がツルマメの集団中に浸透していく可能性も否定できない。

(3) 影響の生じやすさの評価

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

しかし、ダイズとツルマメは、通常開花前に開葯し、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ままで受粉する閉花受粉を行うため (文献 14)、どちらも典型的な自殖性植物であると考えられている。さらに、ダイズとツルマメ間の交雑においては、一般的にダイズの開花期はツルマメよりも約 1 ヶ月近く早く、それぞれの開花期間は重なりにくいことが知られている (文献 14)。実際、他のダイズ品種と比べて開花期が遅い日本固有の栽培品種である丹波黒とツルマメをそれぞれ 30 個体ずつ交互に植えて、その自然交雑率を調べた結果、得られた 686 個体のツルマメの後代の中にダイズとツルマメの雑種であると判断された後代が 5 個体確認されており、その交雑率は 0.73%と報告されている (文献 19)。よって、一般的に自然条件下では、ダイズとツルマメが交雑する可能性は低いと考えられた。

本組換えダイズの交雑性に関する試験は行っていない。しかし米国において、種子の生産量、花粉の稔性及びサイズなど生殖に関わる形質を調査しているが、本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間統計学的有意差は認められなかった (別添資料 12 の Table 2, p5 及び別添資料 15 の Table 1, p4)。よって、本組換えダイズの交雑性は従来のダイズを超えるものではなく、本組換えダイズの交雑性が高まっただけではないと判断された。

さらに、第一の 2-(1)-ロ-③ (p17~19) に示したように、ダイズにとって新しい脂肪酸である SDA や GLA、ILA は、一般的なダイズの種子中に存在する他の脂肪酸と同様の生物学的役割を果たしていると考えられた。よって、本組換えダイズとツルマメとの雑種においても SDA や GLA、ILA は同様の生物学的役割を果たしていると考えられる。

仮に、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合、その雑種ではある程度の SDA や GLA、ILA が産生される可能性がある。しかしながら、ツルマメの近縁種であるダイズの発芽特性が SDA や GLA、ILA の産生により変化しなかったという実験結果に基づくと、これらの脂肪酸が発芽の過程に影響し、雑種の競合における優位性を高める可能性は低いと推察される。さらに、ヒマワリなどの植物において、脂肪酸組成の変化は発芽の過程を変化させなかったことが報告されている (文献 45)。また、ルリジサ、クロフサスグリやシャゼンムラサキなどの種子油には SDA や GLA が含まれているが、これらの脂肪酸は発芽の過程でエネルギーとして利用されていると考えられる。ダイズ以外の植物において脂肪酸組成の変化が発芽の過程に影響を与えていないこと、SDA や GLA、ILA を産生する植物においてこれらの脂肪酸がエネルギー

として代謝されていること、ダイズにおいても発芽特性の変化が見られなかったことなどから、このような脂肪酸組成の変化がダイズの近縁種であるツルマメの発芽の過程に影響する可能性は低いと推察される。また仮に SDA や GLA、ILA が発芽において利用されない場合は、発芽に悪影響を生じ、生育が悪くなる可能性があると考えられる。しかしながら、こうした影響は競合における優位性を低下させることはあっても、高めるものではないと結論された。

以上のことから、本組換えダイズに導入された形質が本組換えダイズとツルマメの雑種の競合における優位性に影響を与える可能性は低く、仮に影響があった場合についても、競合における優位性を高めるものではないと結論された。

よって、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場合は低い割合で交雑し得るが、そのような特殊な条件以外の自然条件下での交雑率は極めて低く、仮に交雑したとしてもその雑種がわが国の自然条件に適応して、野生植物を駆逐していく可能性は極めて低いと判断された。同様に、本組換えダイズへ導入された形質が雑種に対して競合における優位性を付与することはないと考えられることから、本組換えダイズ由来の改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼがツルマメの集団中に優占的に浸透していく可能性も極めて低いと判断された。

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

4 その他の性質

—

第三 生物多様性影響の総合的評価

ダイズは縄文時代には既にわが国で栽培されており、イネ・ムギとともに最も長い使用経験がある。

競合における優位性に関わる諸形質（形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）を比較検討した。その結果、苗立ち株数及び主茎長について対照の非組換えダイズとの間に差異が認められたが、その他の項目では差異あるいは統計学的有意差は認められなかった。統計学的有意差が認められた苗立ち株数及び主茎長のいずれの項目も統計学的有意差が認められたのは3箇所のほ場のうち1箇所であり、参考として供試された従来商業品種の変動の範囲内であった。

本組換えダイズでは導入された改変 *Pj.D6D* 遺伝子及び改変 *Nc.Fad3* 遺伝子から発現する $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び $\Delta 15$ デサチュラーゼによって SDA や GLA、ILA が産生されるが、これらの脂肪酸に競合における優位性を高めるような生物学的意味のある機能を持つという報告は無く、内在性の脂肪酸と同様の生物学的役割を持つと考えられる。米国におけるほ場試験の結果から、本組換えダイズの競合における優位性に関する各特性は、従来ダイズの変動の範囲内であることが示されている。よって、本組換えダイズ中でダイズにとって新しい脂肪酸である SDA や GLA、ILA が産生されることにより、本組換えダイズの競合における優位性が高まっていないと考えられる。

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、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。

ダイズに関して、これまでに有害物質の産生性は報告されていない。本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間で、有害物質の産生性の有無を鋤込み試験及び後作試験により比較検討したが、統計学的有意差は認められなかった。

本組換えダイズにおいて改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼが発現しているが、当該蛋白質が有害物質であるとする報告はなく、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有しないことが確認されている。また、

改変 $\Delta 6$ デサチュラーゼ及び改変 $\Delta 15$ デサチュラーゼは基質特異性が高いため、これらデサチュラーゼが宿主の代謝系に影響を及ぼし、新たな有害物質を産生する可能性は極めて低いと考えられる。さらに、これまでダイズにとって新しい脂肪酸である SDA や GLA、ILA が有害物質であるとする報告はない。

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

ダイズと交雑可能な近縁野生種としてわが国に分布しているのはツルマメのみである。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。

従来知見よりダイズとツルマメの開花期は重なりにくく、その交雑率も低いことが知られている。また、米国において種子の生産量、花粉の稔性及びサイズなど生殖に関わる形質を調査しているが、本組換えダイズと対照の非組換えダイズの間には統計学的有意差は認められなかったため、本組換えダイズの交雑性が高まるとはないと判断された。

仮に、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合であっても、SDA を産生する形質の導入が本組換えダイズの競合における優位性に関わる諸形質を変化させないことが確認されていることから、ダイズとツルマメの雑種においても競合における優位性を高める可能性は低いと考えられた。また、ダイズ以外の植物において脂肪酸組成の変化あるいは SDA や GLA、ILA の存在が発芽の過程に影響を与えていないこと、また、本組換えダイズにおいても発芽特性の変化が見られなかったことから、このような脂肪酸組成の変化がダイズの近縁種であるツルマメの発芽の過程に影響する可能性は低いと推察される。もし、発芽において SDA や GLA、ILA が利用されない場合は、発芽に悪影響が生じ、生育が悪くなる可能性があると考えられるが、こうした影響は競合における優位性を低下させることはあっても、競合における優位性を高めるものではないと結論された。

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

された。

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

参考文献

[社外秘に付き非開示]

緊急措置計画書

平成 19 年 12 月 25 日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根 精一郎
住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

第一種使用規程の承認を申請しているステアリドン酸産生ダイズ (改変 *Pj.D6D*, 改変 *Nc.Fad3*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87769, OECD UI: MON-87769-7) (以下、本組換え体という) の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。

1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者は以下に示す通りである。

平成 19 年 12 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 河内研究農場 農場長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

* : 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、日本モンサント河内研究農場実験従事者から得られた情報により把握する。

3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内

容を周知するための方法

実験従事者に直接口頭で伝える。

4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続する

ための具体的な措置の内容

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

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省及び環境省に報告する。

モニタリング計画書

平成 19 年 12 月 25 日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根 精一郎
住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

1. 実施体制及び責任者

現時点での実施体制及び責任者は以下に示す通りである。

平成 19 年 12 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 河内研究農場 農場長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 部長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

* : 管理責任者

2. モニタリングの対象となる野生動植物等の種類の名称

ツルマメ(*Glycine soja*)

3. モニタリングを実施する場所及びその場所における対象となる野生動植物等の生息又は生育状況

隔離ほ場周辺 10m^{注)}の範囲内においてモニタリングを実施する。

なお、2007年8月の時点で隔離ほ場周辺 75m の範囲（民家の敷地内を除く）でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。

^{注)} 農林水産省 第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針(平成16年2月24日)

4. モニタリングの期間

本組換えダイズの栽培期間中とする。

5. 実施時期、頻度その他のモニタリングの方法

- 1) 本組換えダイズの栽培期間中に、隔離ほ場周辺 10m 以内にツルマメが生育しているかどうかを確認する。
- 2) 隔離ほ場周辺 10m 以内にツルマメが生育しており秋に種子をつけていた場合には、位置情報を記録するとともに、秋にツルマメ 1 集団あたり最低 50 粒の種子をサンプリングする。
- 3) 1)により、ツルマメの生育が認められない場合には、隔離ほ場から 75m の範囲内で調査可能な範囲において最もほ場に近いツルマメの集団について、2)と同様の作業を行う。なお、隔離ほ場 75m 以内の土地は水田・畑・道路・用水路・民家等として利用されている。隔離ほ場周辺の地図を別添 1*として添付した。2007年8月の時点で隔離ほ場周辺 75m の範囲（民家の敷地内を除く）でツルマメの生育の有無を調査したが、ツルマメは生育していなかった。

収集されたツルマメ種子に改変 *Pj.D6D* 遺伝子及び改変 *Nc.Fad3* 遺伝子が移行しているかどうかを 1 粒ごとに検定する。検定方法は収集されたサンプルの量等を考慮して適宜決定する。

6. モニタリングの結果の解析の方法

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

7. 農林水産大臣及び環境大臣への結果の報告の方法

本組換えダイズの第一種使用規程（食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為）の申請時の最終試験報告書中にモニタリング結果を記載し、報告する。なお、（以下社外秘）。

8. その他必要な事項

モニタリングの期間中に採取されたツルマメから改変 *Pj.D6D* 遺伝子及び改変 *Nc.Fad3* 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、又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。

*別添 1 については個人情報等を含む為、社外秘