

除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 *aad-12, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (DAS68416, OECD UI : DAS-68416-4) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書.....	1
生物多様性影響評価書.....	3
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	3
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	3
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	3
(2) 使用等の歴史及び現状.....	3
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	4
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	7
(1) 供与核酸に関する情報.....	7
(2) ベクターに関する情報.....	10
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	11
(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性.....	14
(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.....	15
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	15
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	22
(1) 使用等の内容.....	22
(2) 使用等の方法.....	22
(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.....	22
(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.....	23
(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果.....	23
(6) 国外における使用等に関する情報.....	23
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	24
1 競合における優位性.....	24
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	24
(2) 影響の具体的内容の評価.....	24
(3) 影響の生じやすさの評価.....	24
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	24
2 有害物質の産生性.....	25
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	25
(2) 影響の具体的内容の評価.....	26
(3) 影響の生じやすさの評価.....	26
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	26
3 交雑性.....	27
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	27

(2) 影響の具体的内容の評価	27
(3) 影響の生じやすさの評価	27
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	29
4 その他の性質.....	29
第三 生物多様性影響の総合的評価	30
参 考 文 献.....	31
緊 急 措 置 計 画 書.....	35
モニタリング計画書.....	37
隔離ほ場試験計画書.....	39

第一種使用規程承認申請書

平成23年10月3日

農林水産大臣 鹿野 道彦 殿

環境大臣 細野 豪志 殿

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
申請者 代表取締役 栗田 道郎 印
住所 東京都品川区東品川二丁目2番24号

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

遺伝子組換え生物等の種類の名称	除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 <i>aad-12</i> , <i>pat</i> , <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (DAS68416, OECD UI : DAS-68416-4)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	所在地：福岡県小郡市山隈 821 名称：ダウ・ケミカル日本株式会社小郡開発センター 隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 26 年 3 月 31 日まで 1 隔離ほ場の施設 (1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。 (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。 (3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えダイズの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該ダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。

	<p>(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるために防風網を設置している。また、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網を設置する。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本遺伝子組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。</p> <p>(2) 本遺伝子組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、本遺伝子組換えダイズの栽培終了後は、当該ダイズ及び比較対照のダイズを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。</p> <p>(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。</p> <p>(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。</p> <p>(6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。</p> <p>(7) 別に定めるモニタリング計画書に基づき、モニタリングを実施する。</p> <p>(8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。</p>
--	--

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

5 ① 和名、英名及び学名

和名：ダイズ

英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

10 ② 宿主の品種名又は系統名

宿主には、米国において中生から晩生のダイズ品種である **Maverick** を用いた。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

自然環境において、ダイズが自生している地域は、国内及び国外ともに知られていない。

15 なお、近縁野生種であるツルマメ (*Glycine soja*) は、中国、朝鮮半島、台湾、旧ソ連邦及び我が国において広く分布している (OECD、2000)。

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

20 ダイズは中国では約 5,000 年前から栽培されており、野生種であるツルマメが、中国大陸の東北部、揚子江流域、雲南などでみられるため、中国が起源地としてあげられている。日本には、弥生時代に伝来したといわれ、古事記の記載によると、1,300 年前にはすでに各地で栽培されていたという (作物学概論、2008)。

25 ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

我が国において、ダイズは全国的に栽培可能であるが、主に北海道、東北、九州で栽培されている。世界的には米国、ブラジル、アルゼンチン、中国等を中心に、広い範囲で栽培されている。

30 我が国のダイズ栽培における播種適期は、地域や品種によって異なり、北海道・東北では 5 月下旬、関東・北陸・近畿では 6 月上旬、中国・四国・九州では 6 月下旬から 7 月上旬である。播種深度は 3~5cm がよく、播種量は畝間 70cm、株間 20cm で点播の場合 1 株 2~3 粒播き、最終的な苗立ち密度を 1m² 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
35 を 2 回程度行うことは効果的である。中耕は除草のほか、土壌物理性の改善効果もある。また、不定根発生の促進や倒伏防止のために中耕と同時に培土(土寄せ)することが必要で

ある。病虫害防除のために早めに適切な薬剤を散布する。収穫は小面積の場合は、地上部を手で刈り、束ねてほ場に立てて天日乾燥した後に脱穀する。大面積の場合は、機械による収穫が一般的である。ビーンハーベスタ、あるいは改良したコンバインによって刈取りと脱穀が一斉に行われる(作物学概論、2008)。

5

ダイズの2009年における世界総生産量は約2億2,232万トンであり、主な生産国は米国(約9,142万トン)、ブラジル(約5,735万トン)、アルゼンチン(約3,099万トン)、中国(約1,500万トン)である。一方、日本における2009年の生産量は約23万トンである(FAOSTAT、2011)。我が国は2010年に約346万トンのダイズを輸入しており、その輸入量の71.4%にあたる約247万トンが米国からの輸入である(財務省貿易統計、2011)。

10

ダイズは、世界的にみればその9割以上が食用油と家畜の飼料として利用されている。しかし、アジアでは古くから食品素材として盛んに利用されている。主な加工利用法は、豆腐、醤油、納豆、味噌、煮豆、炒り豆、きなこ、もやしなどである。また、工業分野では、インク(ソイインク)や接着剤として広く利用されている(作物学概論、2008)。

15

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ダイズは、一年生の双子葉植物である。ダイズの品種は早晚性により、極早生、早生、中生、晩生、極晩生などの各品種群に分けられる。我が国では播種から開花までの長短(I~V)と、開花から成熟までの長短(a, b, c)の組合せによって9グループに、アメリカでは播種から成熟までの全生育期間の長短によって00、0、I~Xの12グループに詳しく分けられている。また、茎の成長習性の違いによって有限伸育型と無限伸育型に分けることができる。ダイズの種子は球形からやや扁楕円形で、胚と種皮からなる無胚乳種子であり、胚は幼根と子葉からなる。幼根が伸長して種皮を突き破り発芽する。発芽後下胚軸が伸長し、子葉を地上に押し上げて出芽する。出芽後、子葉の上位節に初生葉とよばれる2枚の単葉が対をなす。初生葉の上位節以降の各節には、ダイズ本来の3小葉からなる複葉が展開する。主茎は、葉数の増加とともに節間を伸長させて成長し、主茎が本葉を4~5枚出した頃、第1本葉の葉腋から分枝が発生し、主茎と同様に葉を増やして伸長する。発芽後、幼根は土中へ深く伸長して主根となり、二次根である側根を発生する。側根は主根と一定の角度をなして伸長し、さらに三次根である二次側根を発生する。根の周辺に根粒菌が存在すると、根粒菌は根毛から侵入して根の皮層細胞に感染し、根粒が形成され、根粒菌が空気中の窒素ガス(N₂)を還元し、植物が利用可能なウレイド態窒素に変換して宿主植物に供給する。花は主茎、分枝の各葉腋に着生し、基部ががくに包まれ、1枚の旗弁、2枚の翼弁及び2枚の竜骨弁からなる。雌ずいと雄ずいはいずれも竜骨弁に包まれ露出しない。午前中に開花し、花粉は開花直前に葯から放たれるため自家受粉する。開花・受精の7日(早生品種)~14日(晩生品種)目頃から莢が伸長し始め、約10日間で最大(長さ4~6cm)に達する。その後、子実の肥大が急速に生じ、30~45日目には子実の乾物重が最大に達する(作物学概論、2008)。

40

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズの種子は土壌温度が 10°C に達すると発芽し、好適条件下では 5~7 日後に出芽する (OECD、2000)。ダイズに適する土壌は、pH5.5~6.5、リン酸、カリウム及びカルシウムが十分含まれ、排水及び通気の良い埴土あるいは壤土である。ダイズでは乾物 1g を生産するのに必要な水の量は約 600g であり、特に乾物蓄積が最も多い開花期から約 1 カ月後までの間は最も水分を必要とする (作物学概論、2008)。

ハ 捕食性又は寄生性

10

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

ダイズは、1 個体で最大 400 の莢を形成し、各節の莢数は 2~20 である。各莢には 1~5 個の種子が入っている。莢は成熟後、乾燥状態におくと、背軸面で裂開して種子が飛散する。ダイズ種子にはほとんど休眠性がなく、まれに越年した種子が翌年に発芽することがあるが、その場合も十分に育つことはない (OECD、2000)。種子の発芽力は、通常の貯蔵条件下では 2 年後にほとんど失われる (農学大事典、1977)。

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。

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

ダイズは自家受粉率が高い自殖性植物であり、自然交雑率は通常 1% 未満である。自家不和合性は知られていない。ダイズの近縁野生種としてはツルマメがあり、中国、朝鮮半島、台湾、旧ソ連邦及び我が国において広く分布している。ツルマメはツル性の一年生植物であり、野原や荒地などに自生しており (新版日本原色雑草図鑑、1978)、ツルマメ集団内における自然交雑率は平均 2.2% であったことが報告されている (Kuroda *et al.*、2008)。一方、秋田県雄物川沿いのツルマメ集団では、自然交雑率が平均 13% と比較的高いものであったことが報告されている。この地域は護岸工事や人為的介入がなされておらず、ツルマメ集団の規模が大きく、訪花昆虫であるミツバチやクマバチが頻繁に観察されていた。このように、このツルマメ集団の周辺環境は、自然交雑が通常よりも起こりやすいものであったと考えられる (Fujita *et al.*、1997)。

ダイズとツルマメは染色体数 ($2n=40$) が同じであり、交雑が可能である (OECD、2000)。一般的にツルマメの開花期はダイズより遅く、それぞれの開花期間が重なりにくい。他のダイズ品種と比べて開花期が遅い我が国固有の栽培品種である丹波黒とツルマメをそれぞれ 30 個体を 30cm 間隔で交互に配置した条件下での平均交雑率は 0.73% (686 個体中 5 個体) であったと報告されている (Nakayama and Yamaguchi、2002)。また、2005 年に、除草剤耐性遺伝子組換えダイズにツルマメが巻きついた状態で、開花期の一部が重複した条件下での交雑率を調べた研究では、検定種子 32,502 個体中、交雑個体は 1 個体で

あった(Mizuguti *et al.*, 2009)。2007年に、より開花期の遅い組換えダイズ2品種(AG6702RR及びAG5905RR)を用い、開花ピークをより近づけ、組換えダイズにツルマメが巻きついた状態で行われた実験では、25,741個体中、交雑個体はAG6702RRでは25個体(交雑率0.097%)、AG5905RRでは10個体(交雑率0.039%)であった。さらに、

5 組換えダイズから2、4、6、8、10m離してツルマメを栽培した場合は(それぞれ7,521個体中、7,485個体中、14,952個体中、14,964個体中、21,749個体中)、組換えダイズ(AG6702RR)から2、4、6mの距離で交雑個体はそれぞれ1個体であり、8、10mの距離では交雑個体は得られなかった(Mizuguti *et al.*, 2010)。

また、ダイズにはアポミクシスを生ずる特性を有するという報告はない。

10

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1花あたりの花粉の生産量は平均3,600粒前後であり(Chiang and Kiang, 1987)、花粉の寿命は数時間である。受精可能な期間は、開花1日前から開花後2日程度で同じ花の中で受粉する(OECD, 2000)。2001年~2004年に独立行政法人農業環境技術

15 研究所で行われた花粉の飛散距離と交雑率に関する研究では、最も高い交雑率は花粉源から0.7mで0.19%であり(2001年)、10.5m離れると交雑率は0%であった。さらに、開花期間中に畝間に飛散した花粉量は、平均0.18粒/cm²/日であり風媒による交雑は少ないものと示唆されている。また、訪花昆虫の種類は、主にアザミウマ類、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)。

20

ホ 病原性

へ 有害物質の産生性

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

ト その他の情報

30

35

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

- 5 除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 *aad-12*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.) (DAS68416, OECD UI : DAS-68416-4) (以下「本組換えダイズ」という。)の作出に用いられた供与核酸の構成とその由来は、表1(p.7)のとおりである。

表 1 供与核酸の構成、構成要素の由来及び機能

名 前	サイズ (bp)	機 能
<i>RB7 MAR</i>	1166	タバコ (<i>Nicotiana tabacum</i>) 由来の核マトリックス結合領域 (Allen <i>et al.</i> , 1996)。遺伝子の発現を安定させる。
改変 <i>aad-12</i> カセット		
<i>AtUbi10</i>	1322	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) 由来のポリユビキチン 10 (UBQ10) 遺伝子のプロモーター。5' 末端非翻訳領域及びイントロンを含む (Norris <i>et al.</i> , 1993)。遺伝子を植物体全体で発現させる。
改変 <i>aad-12</i>	882	グラム陰性桿菌である <i>Delftia acidovorans</i> 由来のアリルオキシアルカノエート・ディオキシゲナーゼ遺伝子を植物における発現に適したコドンに改変した遺伝子で、改変 AAD-12 蛋白質を発現させる。アミノ酸配列に関しては、クローニングサイト導入のため、2 番目にアラニンが追加されている (Wright <i>et al.</i> , 2007)。
<i>AtuORF23 3' UTR</i>	457	アグロバクテリウム (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) のプラスミド pTi15955 由来の ORF23 の転写終結点とポリアデニル化部位からなる 3' 末端非翻訳領域 (Barker <i>et al.</i> , 1983)。遺伝子の転写を終結する。
<i>pat</i> カセット		
<i>CsVMV</i>	517	キャッサバベインモザイクウイルス (Cassava vein mosaic virus) 由来のプロモーター。5' 末端非翻訳領域を含む (Verdaguer <i>et al.</i> , 1998)。遺伝子を植物体全体で発現させる。
<i>pat</i>	552	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を植物における発現に適したコドンに改変した遺伝子で、PAT 蛋白質を発現させる。アミノ酸配列に関しては改変されていない (Wohlleben <i>et al.</i> , 1988)。
<i>AtuORF1 3' UTR</i>	704	アグロバクテリウムのプラスミド pTi15955 由来の ORF1 の転写終結点及びポリアデニル化部位からなる 3' 末端非翻訳領域 (Barker <i>et al.</i> , 1983)。遺伝子の転写を終結する。

(本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

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

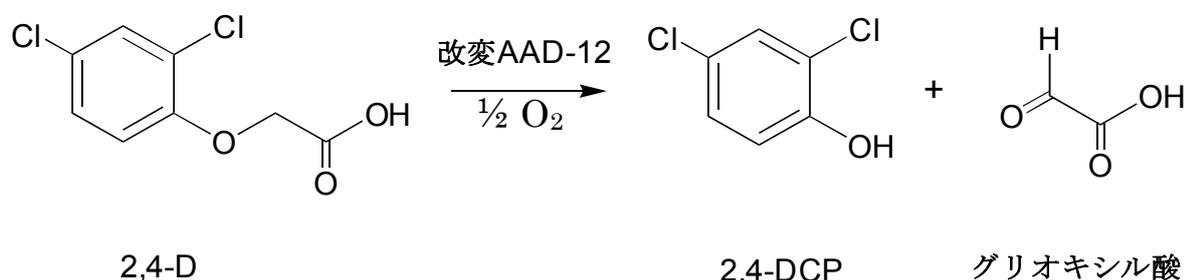
5 挿入遺伝子の各要素の機能を表 1 (p.7)に示した。

供与核酸には、核マトリックス結合領域である *RB7MAR* 遺伝子が含まれる。核マトリックス結合領域はゲノム DNA 配列に頻繁に見られる領域で、DNA のループ構造形成のために、核マトリックスに DNA を固定する役割をしていると考えられている。核マトリックス結合領域が導入遺伝子のいずれかの側に隣接していると、導入遺伝子の発現を高めることや、遺伝子の発現を抑制するジーンサイレンシングを減少させることが報告されている (Allen *et al.*, 2000 ; Halweg *et al.*, 2005)。

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

15 アリルオキシアルカノエート・ディオキシゲナーゼ (AryloxyAlkanoate Dioxygenase。以下「改変 AAD-12 蛋白質」という。)は、アリルオキシアルカノエート基をもつ化合物のうち、光学異性体のないもの及び光学異性体である S 体に特異的に酸素を導入する反応を触媒する酵素である。また、本組換えダイズにおいては、改変 AAD-12 蛋白質がアリルオキシアルカノエート系除草剤に酸素を導入する反応を触媒することにより、除草活性のない化合物に変換し、除草剤耐性を示す (Wright *et al.*, 2007)。例えば、改変 AAD-12 蛋白質は除草剤 2,4-ジクロロフェノキシ酢酸 (2,4-D) に酸素を導入する反応を触媒し、除草活性のない 2,4-ジクロロフェノール (2,4-DCP) とグリオキシル酸に変換する (図 1、p.8)。

25 改変 AAD-12 蛋白質が既知アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 10) を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を共有していなかった (Song, 2010)。



30

図 1 改変 AAD-12 蛋白質の作用機作

(本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

35 ホスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ (Phosphinothricin AcetylTransferase。以下「PAT 蛋白質」という。)は、グルホシネートの L 型異性体を、

植物毒性のない安定した代謝物である N-アセチル-L-グルホシネート (2-アセトアミド-4-メチルホスフィニコ-ブタン酸) に迅速に代謝する。

グルタミン酸の構造類似体であるグルホシネートの L 型異性体は、細菌や植物のグルタミン合成酵素の拮抗阻害剤であり、除草剤としての活性を有する。したがって、除草剤
5 グルホシネートに非耐性の植物では、グルタミン合成酵素阻害のために大量の毒性アンモニアが細胞中に蓄積し、最終的に植物細胞死が起こる。一方、N-アセチル-L-グルホシネートはグルタミン合成酵素を阻害しないため、PAT 蛋白質を発現する遺伝子組換え植物では植物毒素の生理学的影響を受けず、除草剤グルホシネートへの耐性を示す (OECD、2002)。

10 PAT 蛋白質が既知アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 11) を用いて調べたところ、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を共有していなかった (Song, 2011)。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

15 改変 AAD-12 蛋白質は、アリルオキシアルカノエート基をもつ化合物のうち光学異性体のないもの及び光学異性体である S 体に特異的に酸素を導入する反応を触媒する酵素である。

アリルオキシアルカノエート基をもつ化合物と構造的、生理機能的に似通った植物体中に存在する化合物について、コハク酸測定 (enzyme-coupled assay) により改変 AAD-12
20 蛋白質の作用を実験室レベルで検討し、代謝経路への影響を考察した。基質として、植物ホルモンであるインドール-3-酢酸、アブシジン酸、ジベレリン酸 (GA3)、アミノシクロプロパン-1-カルボン酸を、フェニルプロパノイド中間体であるトランス桂皮酸、クマル酸、シナピン酸を検討した。また、20 種類の L-アミノ酸についても検討した (添付資料 2)。

20 種類の L-アミノ酸については、 $1\mu\text{M}$ の改変 AAD-12 蛋白質の濃度においてコハク酸の生成が認められなかったため、改変 AAD-12 蛋白質は 20 種類の L-アミノ酸とは反応し
25 ないと考えられた。一方、 $1\mu\text{M}$ の改変 AAD-12 蛋白質を植物ホルモン及びフェニルプロパノイド中間体に作用させた結果、クマル酸、トランス桂皮酸、アミノシクロプロパン-1-カルボン酸について、わずかにコハク酸の生成が認められた。さらに、 $5\mu\text{M}$ 及び $10\mu\text{M}$ の改変 AAD-12 蛋白質を作用させた結果、インドール-3-酢酸、ジベレリン酸、アブシジン酸、クマル酸、トランス桂皮酸、シナピン酸について、コハク酸の生成が認められた。
30 このように、異なる改変 AAD-12 蛋白質濃度下において、いくつかの基質について、コハク酸の生成が認められた。しかしながら、enzyme-coupled assay による測定では、基質の酸化を経なくともコハク酸生成物を誘発する脱共役反応 (uncoupling) が起こる可能性がある (Hausinger, 2004)。したがって、enzyme-coupled assay において反応が認められた基質が実際に酸化されているかを確認するために、フーリエ変換質量分析 (FT/MS)
35 による一次酸化物の測定を行った。その結果、 $10\mu\text{M}$ の改変 AAD-12 蛋白質を作用させた場合に、インドール-3-酢酸とトランス桂皮酸の酸化物のみが検出された。

そこで、インドール-3-酢酸及びトランス桂皮酸、また、対照として、アリルオキシアルカノエート系化合物で 2,4-D と類似の化学構造を持つ S-ジクロロプロップについて
40 enzyme-coupled assay による改変 AAD-12 蛋白質の反応速度を検討した。その結果、トランス桂皮酸、インドール-3-酢酸及び S-ジクロロプロップについての触媒効率 K_{cat}/K_m は、それぞれ $156.7\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 、 $8.2\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ 及び $30175\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ であった。トランス桂皮酸及びインドール-3-酢酸についての K_{cat}/K_m は、S-ジクロロプロップについての K_{cat}/K_m に対

してそれぞれ 0.52%及び 0.027%であり、トランス桂皮酸及びインドール-3-酢酸の触媒効率が非常に緩慢であることが示された。なお、改変 AAD-12 蛋白質の 2,4-D についての K_{cat}/K_m は $18600\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ であることが報告されており (Wright *et al.*, 2010)、改変 AAD-12 蛋白質の 2,4-D 及び *S*-ジクロロプロップについての触媒効率は同等であることから、トランス桂皮酸及びインドール-3-酢酸の触媒効率は 2,4-D と比較して非常に緩慢であると考
5 えられる。

さらに、シロイヌナズナの桂皮酸-4-ヒドロキシラーゼ (Cinnamate-4-hydroxylase) の *in vitro* におけるトランス桂皮酸についての K_{cat}/K_m は $3.4 \times 10^6\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ であることが報告されている (Chen *et al.*, 2007)。また、イネのインドール-3-酢酸アミドシンセターゼ (IAA amido synthetase) の *in vitro* におけるインドール-3-酢酸についての K_{cat}/K_m は $2.75 \times 10^3\text{M}^{-1}\text{s}^{-1}$ であると報告されている (Chen *et al.*, 2009)。このように桂皮酸-4-ヒドロキシ
10 ラーゼ及びインドール-3-酢酸アミドシンセターゼの触媒効率はいずれも高い値であり、トランス桂皮酸及びインドール-3-酢酸は、植物体内の既存の代謝経路において効率的かつ特異的に利用されているものと考えられる。一方、改変 AAD-12 蛋白質のトランス桂皮酸に
15 対する K_{cat}/K_m 値は桂皮酸-4-ヒドロキシラーゼのトランス桂皮酸に対する K_{cat}/K_m 値の 0.005%である。また、改変 AAD-12 蛋白質のインドール-3-酢酸に対する K_{cat}/K_m 値はインドール-3-酢酸アミドシンセターゼのインドール-3-酢酸に対する K_{cat}/K_m 値の 0.3%であり、改変 AAD-12 蛋白質の K_{cat}/K_m 値はいずれも非常に低い値である。

以上より、改変 AAD-12 蛋白質にはトランス桂皮酸及びインドール-3-酢酸を酸化する
20 可能性があるものの、その触媒効率は非常に低く、認められた酸化反応が植物の代謝経路に影響を与える可能性は低いと考えられる。

また、植物体中にはアリルオキシアルカノエート基をもつ化合物の存在は知られていないことから、改変 AAD-12 蛋白質は、植物体の他の代謝系を変化させることはないと考え
25 られる。

一方、PAT 蛋白質は除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離
アミノ基を極めて特異的にアセチル化する酵素であり、他のアミノ酸や D-グルホシネ
ートをアセチル化することはない。また、PAT 蛋白質は L 型アミノ酸が過剰に存在する場
30 合においても、L-グルホシネートをアセチル化するそれ自身の活性に影響を受けること
はない (OECD, 1999)。したがって、PAT 蛋白質が植物体の他の代謝系を変化させること
はないと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

35 導入した pDAB4468 の基となったベクター pDAB2407 は、アグロバクテリウムと大腸菌 (*Escherichia coli*) に由来する。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

40 発現ベクター pDAB4468 の塩基数は 12,154bp である。pDAB4468 の塩基配列は添付資

料 3 に示した。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

5 *specR* 遺伝子の発現によりスペクチノマイシン耐性を付与し、発現ベクター pDAB4468 の選択に用いられるが、T-DNA 領域の外側に位置するため、本組換えダイズに *specR* 遺伝子は導入されていない。

なお、本組換えダイズ中における *specR* 遺伝子の存在の有無をサザンブロット分析法により確認した結果、*specR* 遺伝子は存在していないことが確認された(添付資料 4)。

10 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

発現ベクター pDAB4468 の基となったベクターの T-DNA 領域は、表 1(p.7)に示した供与核酸に置き換えられており、アグロバクテリウムの感染を可能とする配列は含まれておらず、感染性は知られていない。

15 (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

発現ベクター pDAB4468 の構成図を図 2(p.13)に示した。また、発現ベクター pDAB4468 の作成過程を添付資料 5 に示した。

20 ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

核酸の宿主への導入はアグロバクテリウム法により行った。

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択の方法

25 除草剤グルホシネートを含む培地で培養することにより選抜した。

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

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

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

35 再分化後の植物体にグルホシネートを塗布することにより耐性を有する個体を選抜した。選抜された植物体については、PCR及びサザンブロットによる導入遺伝子の解析を行った。さらに、米国及びカナダの野外ほ場において、後代系統における導入遺伝子の解析、蛋白質発現の確認、除草剤耐性及び農業形質から総合的に判断し、本組換えダイズを選抜した。申請の範囲はT3世代以降の後代系統である。

40 詳細を図3(p.14)に示す。

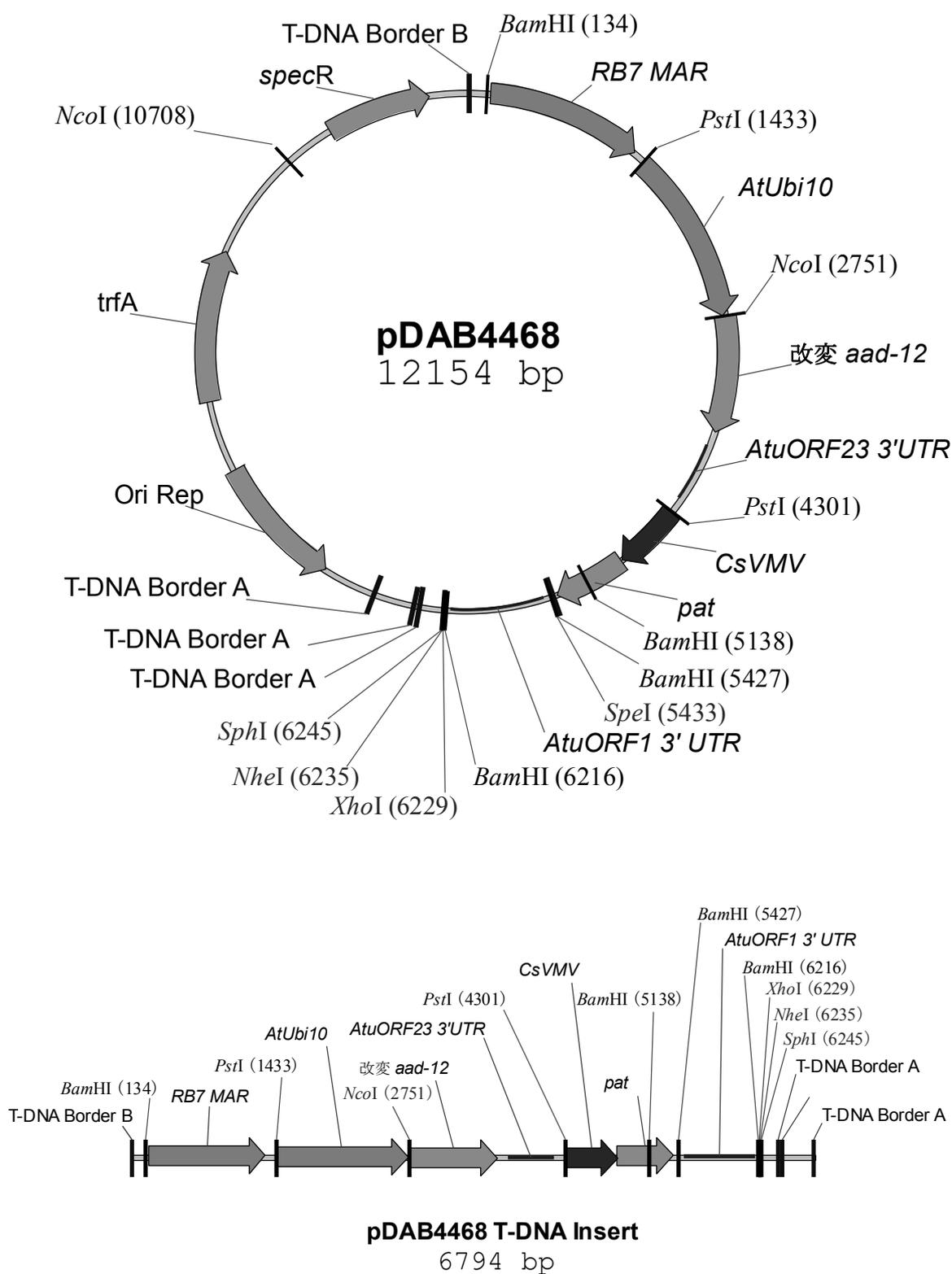
本組換えダイズの我が国における認可、申請の状況は次のとおりである(2011年9月現在)。

- 5 2009年 8月 農林水産省及び環境省より「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」に基づく第一種使用規程(隔離ほ場試験)の承認を得た(使用期間:2009年8月28日から2011年3月31日まで)。
- 10 2011年 10月 隔離ほ場において追加試験を行うために、今回、「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」に基づき再申請を行う。
- 2012年 厚生労働省に「食品衛生法」に基づく食品利用としての安全性確認の申請を行う予定である。
- 2012年 農林水産省に「飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律」に基づく飼料利用としての安全性確認の申請を行う予定である。

15

20

25



5

図2 発現ベクターpDAB4468の構成図(制限酵素切断部位)及びT-DNA領域の挿入概要図
(本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はダウ・ケミカル日本株式会社にある)

10

社外秘情報につき非開示

図 3 本組換えダイズの育成図

5 (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

移入した核酸は、いったん植物染色体に組み込まれると、メンデル遺伝の法則に従う。本組換えダイズに導入された形質が、F2 世代(図 3、p.14)の集団でどのような分離を示すかを分析した。T4 世代の系統に非組換えダイズを交配して得られた F1 世代 1 個体を自家受粉し、その F2 集団における改変 AAD-12 蛋白質の発現の有無をラテラルフローストリップ法により調べた。その結果、核内遺伝子におけるメンデル遺伝の法則から予想される分離比と試験結果がほぼ一致したことにより、移入した核酸が染色体上に存在していることを確認した(表 2、p.14)。

15 表 2 本組換えダイズの F2 世代の分離比検定

世代	合計 個体数	予測 比率	予測値 ¹⁾		観測値 ¹⁾		カイ 二乗値	P-値 ²⁾
			AAD-12 +	AAD-12 -	AAD-12 +	AAD-12 -		
F2	146	3 : 1	110.25	36.75	101	45	2.64	0.10

¹⁾ AAD-12+ : 改変 AAD-12 蛋白質が検出された個体

AAD-12- : 改変 AAD-12 蛋白質が検出されなかった個体

²⁾ 有意差 : $p < 0.05$

20 ② 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

移入された核酸のコピー数を確認するため T3 世代から T5 世代におけるサザンブロット分析を行った結果、本組換えダイズに導入された *RB7 MAR*、改変 *aad-12* カセット及び *pat* カセットは 1 コピーであり、複数世代において安定して伝達されることが確認された(添付資料 4)。

30 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

染色体上に複数コピーは存在しない。

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

本組換えダイズの T4 世代及び T6 世代において、葉における改変 AAD-12 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現量を ELISA 法により調べた。その結果、両世代において改変 AAD-12 蛋白質及び PAT 蛋白質が安定して発現していることを確認した(表 3、p.15 及び表 4、p.15)。

表 3 本組換えダイズの T4 及び T6 世代での葉における改変 AAD-12 蛋白質の発現量¹⁾
(ng/mg 乾燥重量)

世代	平均	標準偏差	サンプル数
T4	51.42	25.22	16
T6	74.99	8.53	28
非組換えダイズ	< LOD ²⁾	—	28

¹⁾ 5 葉期の葉を供試した。

²⁾ 検出限界値 (0.5ng/mg) 未満。

5

表 4 本組換えダイズの T4 及び T6 世代での葉における PAT 蛋白質の発現量¹⁾
(ng/mg 乾燥重量)

世代	平均	標準偏差	サンプル数
T4	9.17	2.99	16
T6	7.13	2.80	28
非組換えダイズ	< LOD ²⁾	—	28

¹⁾ 5 葉期の葉を供試した。

²⁾ 検出限界値 (0.06ng/mg) 未満。

10

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

本組換えダイズには、伝達性を有する配列は含まれておらず、本組換えダイズに導入された核酸が野生動植物等に伝達されることはない。

15

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

本組換えダイズの検出及び識別の方法として、本組換えダイズに特異的な塩基配列をプライマーとして用いた PCR 法が開発されている。非組換えダイズに対する本組換えダイズの混入率について、本 PCR の検出限界値は DNA 量比で 0.04% である。なお、再現性については、米国ダウ・アグロサイエンス社及び米国ユーロフィン・ジーンズキャン社において、施設間互換性 (inter-laboratory transferability) が確保されていることが確認されている (添付資料 6)。

20

(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

本組換えダイズには、改変 *aad-12* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が導入されており、それぞれ改変 AAD-12 蛋白質及び PAT 蛋白質が発現することにより、アリルオキシアルカノエート系除草剤及び除草剤グルホシネートに対する耐性が付与されている。

2008年に米国の5カ所のほ場(ミズーリ州、アイオワ州、ネブラスカ州、インディアナ州、イリノイ州)にて、本組換えダイズ T4 世代における除草剤 2,4-D 耐性試験を行った。本組換えダイズに除草剤 2,4-D を散布し、約 2 週間後に薬害を目視評価した結果、本組換えダイズはいずれのほ場においても十分な除草剤耐性を示した(表 5、p.16)。また、2008

5 年に米国の3カ所のほ場(ミネソタ州、インディアナ州、ミシシッピ州)にて、本組換えダイズ T4 世代における除草剤グルホシネート耐性試験を行った。本組換えダイズに除草剤グルホシネートを散布し、約 2 週間後に薬害を目視評価した結果、本組換えダイズはいずれのほ場においても十分な除草剤耐性を示した(表 6、p.16)。

10 表 5 本組換えダイズ(T4 世代)及び非組換えダイズの 2,4-D 除草剤耐性試験結果

	薬害 (%) ^{a)}				
	ミズーリ	アイオワ	ネブラスカ	インディアナ	イリノイ
本組換えダイズ ^{b)}	0	0	0	0	0
非組換えダイズ ^{b)}	100	82	80	100	100

a) 2,4-D 除草剤散布から約 2 週間後に形質評価の調査を行った。各試験地の 1 区画(平均 240 個体)を 1 単位としその区画全体について 0(健全)~10(枯死)の 10 段階で薬害を評価し、100%換算した。

b) 4 葉期及び開花始めに 1,120g ae/ha(本組換えダイズにおける適正使用範囲の上限量)の 2,4-D 処理を行った。

15

表 6 本組換えダイズ(T4 世代)及び非組換えダイズのグルホシネート除草剤耐性試験結果

	薬害 (%) ^{a)}		
	ミネソタ	インディアナ	ミシシッピ
本組換えダイズ ^{b)}	0	0	4
非組換えダイズ ^{b)}	98	87	100

a) グルホシネート除草剤散布から約 2 週間後に形質評価の調査を行った。各試験地の 1 区画(平均 240 個体)を 1 単位としその区画全体について 0(健全)~10(枯死)の 10 段階で薬害を評価し、100%換算した。

b) 2~3 葉期に 411g ae/ha(組換えダイズにおける適正使用範囲の上限量)のグルホシネート処理を行った。

20

除草剤 2,4-D の分解産物である 2,4-DCP の水生生物に及ぼす影響については、急性毒性試験における LC₅₀(半数致死濃度)は淡水魚で 1.7mg/L、オオミジンコ(*Daphnia magna*)で 1.4mg/L であり、ウキクサの EC₅₀(半数影響濃度)が 1.5mg/L である。また、慢性毒性試験ではウキクサの NOEC(無影響濃度)が 0.14mg/L、オオミジンコの NOEC が 0.21mg/L である。さらに、陸生生物に及ぼす影響については、ミミズの LC₅₀ が 125mg/kg、オオフォルソムトビムシ(*Folsomia candida*)の EC₁₀(10%影響濃度)が 0.7mg/kg である(OECD Existing Chemicals Database、2006)。一方、2,4-D の水生生物に及ぼす影響については、急性毒性試験における LC₅₀は淡水魚で 0.26mg/L、オオミジンコで 2.2mg/L であり、ウキクサの EC₅₀が 0.2992mg/L である。また、慢性毒性試験ではウキクサの NOEC が 0.0476mg/L、オオミジンコの NOEC が 0.20mg/L である(EPA、2004)。このように、2,4-D の分解産物である 2,4-DCP は、2,4-D と同等もしくは 2,4-D に比べて毒性が低い。また、本組換えダイズに適正使用範囲の上限量の 2,4-D を散布し、種子中の 2,4-DCP の残留濃度を調べた結果、最大残留量は 0.047ppm(μg/g)であった(Culligan、2010)。なお、2,4-DCP のマウスにおける急性毒性試験の LD₅₀(半数致死量)

25

30

は 1,276~1,352mg/kg 体重、ラットにおける慢性毒性(2年間)試験の NOAEL(無毒性量)は、雄で 440mg/kg 体重/日、雌で > 250mg/kg 体重/日であり(OECD Existing Chemicals Database、2006)、本組換えダイズにおける 2,4-DCP の残留量を大きく上回っている。

- 5 また、除草剤グルホシネートの代謝産物である N-アセチル-L-グルホシネートの動物に対する毒性(急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、発がん性、生殖発生毒性)はグルホシネートより低いことが確認されている(食品安全委員会、2010)。

- 10 ② 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

a 形態及び生育の特性

- 15 2008年に米国の6州(ミズーリ、オハイオ、イリノイ、ネブラスカ、インディアナ、アイオワ)のほ場において、農作物としての一般的な栽培特性である苗立ち数、草丈、百粒重、開花期、成熟期、草勢の6項目について調査した(T4世代)。その結果、苗立ち数、草丈、百粒重、開花期、成熟期について、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に差は認められなかった(表7、p.17)。また、草勢について目視により観察した結果、本組換えダイズと非組換えダイズの間には差は見られなかった。

表7 2008年に米国で実施した本組換えダイズの栽培試験結果

特性	本組換えダイズ		非組換えダイズ		試験地数	反復数	サンプル数/反復	P-値 ¹⁾
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差				
苗立ち数	243	80.4	236	76.2	14	2	—	0.75
草丈(cm)	95.2	13.0	92.5	14.4	3	2	1	0.92
百粒重(g)	14.7	1.4	15.0	2.1	3	2	1	0.56
50%開花期(日)	35	—	34	—	12	2	2)	—
成熟期(日)	110	—	108	—	3	2	3)	—

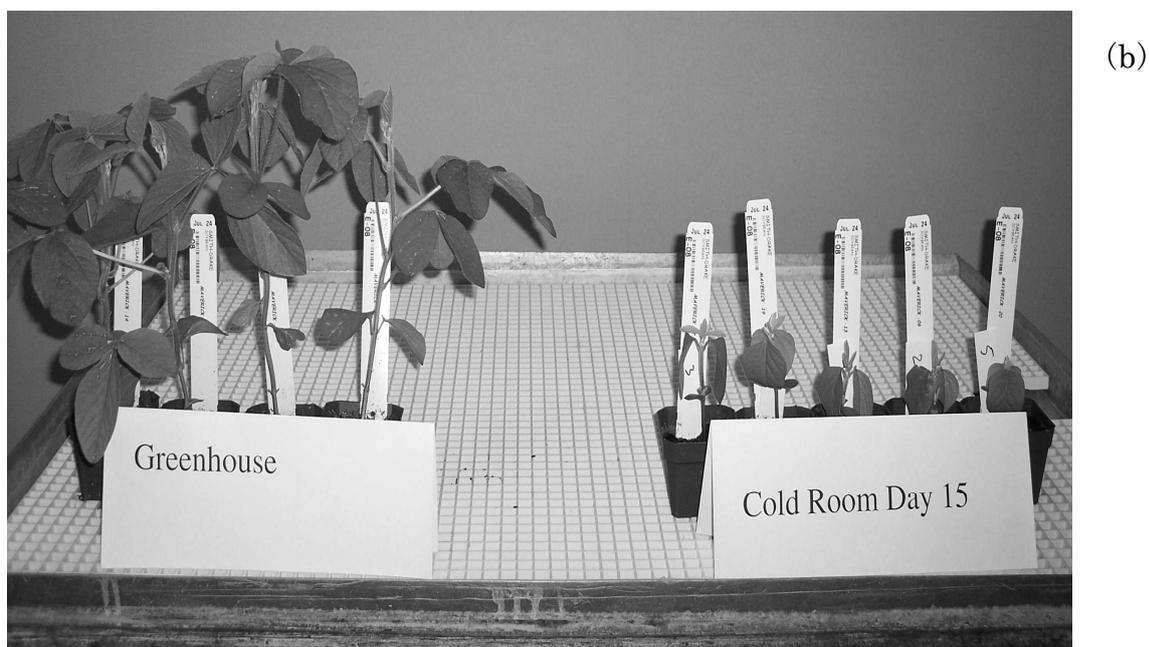
- 20 ¹⁾ Paired t-検定

²⁾ 本組換えダイズ：262、非組換えダイズ：252(12試験地の平均サンプル数)

³⁾ 本組換えダイズ：181、非組換えダイズ：180(3試験地の平均サンプル数)

b 生育初期における低温又は高温耐性

- 25 2008年に米国ダウ・アグロサイエンス社において、播種1週間後の本組換えダイズ(T4世代)と非組換えダイズを昼温12℃、夜温8℃(日長12時間)に設定した人工気象器に入れ、それぞれ5ポット(1植物体/反復、5反復)ずつ生育させた。また、対照区として、昼温30℃、夜温27℃(日長16時間)の温室でそれぞれ4ポット(1植物体/反復、4反復)ずつ生育させた。15日後に各個体の生育を調査した結果、低温条件下の個体は、本組換えダイズ及び非組換えダイズともに、対照区の個体と比べ著しい生育障害の症状を示し、本組換えダイズは非組換えダイズと同等の障害程度であった(図4、p.18)。
- 30



- 5 図 4 温室及び低温で生育させたダイズの比較
 (a) 温室で生育させた本組換えダイズ(左)及び低温処理した本組換えダイズ(右)
 (b) 温室で生育させた非組換えダイズ(左)及び低温処理した非組換えダイズ(右)

c 成体の越冬性又は越夏性

10 隔離ほ場試験にて調査する予定である。

d 花粉の稔性及びサイズ

2008年に米国ダウ・アグロサイエンス社の温室で栽培した本組換えダイズ(T4世代)及び非組換えダイズの花粉を採取し、アセトカーミンで染色後、花粉稔性及びサイズについて顕微鏡下で観察した(4反復)。その結果、本組換えダイズと非組換えダイズの花粉の直径はともに約 $20\mu\text{m}$ で、形状の差は見られなかった。また、顕微鏡観察において、本組

15

換えダイズ及び非組換えダイズの花粉は全て染色されていた(100粒以上/1視野)ことから、花粉の稔性に差はないものと考えられる。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

- 5 種子の生産量に関しては、2008年に米国プエルトリコのは場で本組換えダイズ(T4世代)及び対照の非組換えダイズをそれぞれ12反復(12畝、約40個体/畝)及び3反復(3畝、約40個体/畝)ずつ栽培し、収穫後の種子の乾燥重量を測定した。その結果、本組換えダイズと非組換えダイズとの間で、統計学的有意差(Student's t-検定)は認められなかった(表8、p.19)。また、百粒重においても本組換えダイズと非組換えダイズの間
- 10 統計学的有意差は認められなかったことより(表7、p.17)、種子の生産量に関して、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に差はないものと考えられる。

表8 本組換えダイズ及び非組換えダイズの収量

	本組換えダイズ		非組換えダイズ		P-値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
収量(kg)/エーカー ¹⁾	1403	373	1342	408	0.88

¹⁾ 1エーカー=0.4047ha

15

- 脱粒性に関しては、2008年に米国プエルトリコのは場で本組換えダイズ(10個体/反復、3反復)及び非組換えダイズ(10個体/反復、1反復)の裂莢の調査を行った。成熟期(莢が褐色を呈した時期)、成熟期から7日後及び14日後に裂莢数を調査した結果、本組換えダイズは、30個体中、裂莢数は0であった。一方、非組換えダイズでは、10個体中、裂莢は
- 20 3個体で見られ、それぞれ118莢中1莢、122莢中1莢、134莢中2莢であった。このように、本組換えダイズ及び非組換えダイズともに難裂莢性であり、本組換えダイズと非組換えダイズとの間で、脱粒性に差はないものと考えられる。

- また、2008年に米国6州(ミズーリ、オハイオ、イリノイ、ネブラスカ、インディアナ、アイオワ)14カ所のは場において本組換えダイズ(T4世代)と非組換えダイズの発芽調査
- 25 を行った結果、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に統計学的有意差(Paired t-検定)は認められなかった(表9、p.20)。さらに、は場試験において得られた本組換えダイズ及び非組換えダイズの収穫種子において、収穫後すぐに休眠覚醒処理を行わずに発芽率を調べた。その結果、本組換えダイズ及び非組換えダイズの発芽率は、それぞれ100%及び98%
- 30 であり、ともに極めて高く、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に統計学的有意差(Paired t-検定)は認められなかった(表10、p.20)。

以上のように、本組換えダイズ及び非組換えダイズの発芽率がともに高いことから、休眠性はいずれも浅いと考えられた。

35

表 9 本組換えダイズ (T4 世代) 及び非組換えダイズの発芽試験

	本組換えダイズ		非組換えダイズ		P-値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
平均発芽率(%)*	75	18.3	72	17.4	0.20

* 28 試験(6 州 14 カ所、2 反復)の平均値。統計処理は、角変換後、Paired t-検定を行った。

表 10 本組換えダイズ (T5 世代) 及び非組換えダイズの発芽試験

	本組換えダイズ		非組換えダイズ		P-値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
平均発芽率(%)*	100	0.0	98	2.0	0.13

5 * 25 粒/反復、4 反復の平均値。統計処理は、角変換後、Paired t-検定を行った。

f 交雑率

我が国にはダイズの近縁野生種としてはツルマメが生育しており、ダイズとツルマメは交雑が可能である。本組換えダイズとツルマメの交雑率に関する試験は行っていない。ダイズとツルマメの交雑率を調査するためには、遺伝的背景が均一なツルマメ系統の種子を多数準備する必要がある。また、雑草であるツルマメの発芽及び生育の均一性の確保やツルマメとダイズの開花期を同調させるための日長処理など、技術的に困難な作業が必要である。したがって、隔離ほ場試験においては、本組換えダイズと従来ダイズの生殖特性及び交雑率を比較することにより、本組換えダイズとツルマメとの交雑性が、従来ダイズとツルマメとの交雑性に比べて高まっていないことを推測する予定である(調査方法は「隔離ほ場試験計画書」参照)。

g 有害物質の産生性

20 2008 年に米国ダウ・アグロサイエンス社の温室において本組換えダイズ(T4 世代)及び非組換えダイズを栽培し(播種 21 日後)、後作試験及び鋤込み試験を行った。

<後作試験>

25 本組換えダイズ及び非組換えダイズを栽培した後の土壤にハツカダイコンを播種し、7 日後に発芽率(16 種子/区、5 反復)を、14 日後に乾燥重量(5 個体合計/区、5 反復)を調査した。その結果、本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で統計学的有意差は認められなかった(表 11、p.20)。

表 11 後作試験におけるハツカダイコンの発芽率及び乾燥重量

	本組換えダイズ		非組換えダイズ		P-値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
発芽率(%)	81.3	18.2	93.8	7.6	0.11 ¹⁾
乾燥重量(g)	1.7	0.45	1.8	0.61	0.90 ²⁾

¹⁾ 角変換後、F-検定を行った。

30 ²⁾ Dunnett 検定

5 < 鋤込み試験 >

本組換えダイズ及び非組換えダイズを収穫後、乾燥、粉末化し、土壌と混和して(本組換えダイズ：乾燥粉末 64.07g+土壌 10.60kg、非組換えダイズ：乾燥粉末 64.67g+土壌 11.06kg)、ハツカダイコンを播種し、7日後に発芽率(16種子/区、5反復)を、14日後に乾燥重量(5個体合計/区、5反復)を調査した。その結果、本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で統計学的有意差は認められなかった(表 12、p.21)。

表 12 鋤込み試験におけるハツカダイコンの発芽率及び乾燥重量

	本組換えダイズ		非組換えダイズ		P-値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
発芽率(%)	81.3	17.7	68.8	34.2	0.59 ¹⁾
乾燥重量(g)	1.3	0.29	1.2	0.41	0.94 ²⁾

1) 角変換後、F-検定を行った。

10 2) Dunnett 検定

なお、隔離ほ場試験において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を実施する予定である。

15

20

25

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為

5 (2) 使用等の方法

所在地：福岡県小郡市山隈 821

名称：ダウ・ケミカル日本株式会社 小郡開発センター 隔離ほ場

使用期間：承認日から平成 26 年 3 月 31 日まで

10 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(2m50cm)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。
- 15 ③ 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本組換えダイズの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、本組換えダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- ④ 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるために防風網を設置している。また、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網を設置する。

20

隔離ほ場での作業要領

- ① 本組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- ② 本組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。
- 25 ③ ②により運搬又は保管する場合を除き、本組換えダイズの栽培終了後は、当該ダイズ及び比較対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、意図せずに本組換えダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- 30 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書に基づき、モニタリングを実施する。
- ⑧ 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。

35

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

「モニタリング計画書」を参照。

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

「緊急措置計画書」を参照。

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

(6) 国外における使用等に関する情報

10 米国(2007~2008年)では延べ44カ所、またカナダ(2008年)では2カ所のほ場において試験を行ってきたが、非組換えダイズと比較して生物多様性影響を生じるおそれがあるような相違は報告されていない。

なお、米国においては、2009年12月8日に農務省(USDA)に無規制承認申請(栽培承認)を、2009年12月22日に連邦食品医薬品局(FDA)に食品及び飼料安全承認申請を行った。

15 また、カナダにおいても、2010年2月22日に保健省(Health Canada)に食品としての承認申請を、食品検査庁(CFIA)に飼料及び環境安全の承認申請を行った。(以下、社外秘情報につき非開示)

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

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

5 第一の2の(6)に示したとおり、2008年に米国で実施した試験の結果、形態及び生育の特性、種子の生産量・脱粒性・休眠性及び発芽率について本組換えダイズと非組換えダイズとの相違は見られなかった。

10 本組換えダイズには、改変*aad-12*遺伝子及び*pat*遺伝子が導入されており、それぞれ改変AAD-12蛋白質及びPAT蛋白質が発現することにより、アリルオキシアルカノエート系除草剤及び除草剤グルホシネートに対する耐性が付与されているが、これらの除草剤を散布されることが想像しにくい自然条件下においてアリルオキシアルカノエート系除草剤及び除草剤グルホシネート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

15 また、本組換えダイズの供与核酸中には、タバコ由来の核マトリックス結合領域である*RB7 MAR*が含まれる。*RB7 MAR*は、導入遺伝子の発現を高めることや、遺伝子の発現を抑制するジーンサイレンシングを減少させることが報告されているが(Allen *et al.*, 2000 ; Halweg *et al.*, 2005)、米国で実施した試験の結果において、上述のとおり形態等の特性について本組換えダイズと非組換えダイズの相違は見られなかった。したがって、*RB7 MAR*が供与核酸近傍の遺伝子の発現に影響を及ぼし、植物体の他の代謝系を変化させ、競合における優位性に関わる生理学的または生態学的特性について宿主との相違をもたらすことはないと考えられる。

20 したがって、競合における優位性について、本組換えダイズは非組換えダイズとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されないと判断された。

25

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

30

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

35 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

ダイズには、他感作用物質のような野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

5 本組換えダイズは、アリルオキシアルカノエート系除草剤耐性を付与する改変 AAD-12 蛋白質及び除草剤グルホシネート耐性を付与する PAT 蛋白質を産生する。改変 AAD-12 蛋白質及び PAT 蛋白質については、ともに有害物質としては知られていない。

10 第一の 2 の (1) ロ③に示したとおり、改変 AAD-12 蛋白質にはトランス桂皮酸及びインドール-3-酢酸を酸化する可能性があるものの、その触媒効率は非常に低く、これらが植物の代謝経路に影響を与える可能性は低いと考えられた。また、植物体中にはアリルオキシアルカノエート基をもつ化合物の存在は知られていないことから、改変 AAD-12 蛋白質は、植物体の他の代謝系を変化させることはないと考えられる。一方、PAT 蛋白質は除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートの遊離アミノ基を極めて特異的にアセチル化する酵素であり、他のアミノ酸や D-グルホシネートをアセチル化することはないため (OECD、1999)、PAT 蛋白質が植物体の他の代謝系を変化させることはないと考えられる。さらに、本組換えダイズの供与核酸中には、タバコ由来の核マトリックス結合領域である *RB7 MAR* が含まれる。*RB7 MAR* は、導入遺伝子の発現を高めることや、遺伝子の発現を抑制するジーンサイレンシングを減少させることが報告されているが (Allen *et al.*、2000 ; Halweg *et al.*、2005)、第一の 2 の (6) に示したとおり、米国で実施した試験の結果、形態等の特性について本組換えダイズと非組換えダイズの相違は見られなかった。したがって、*RB7 MAR* が供与核酸近傍の遺伝子の発現に影響を及ぼし、植物体の他の代謝系を変化させることはないと考えられる。

25 また、改変 AAD-12 蛋白質が既知アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 10) を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を共有していなかった (Song、2010)。また、PAT 蛋白質についても、既知アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうかをアレルゲン・データベース (FARRP Allergen Database version 11) を用いて比較した結果、既知アレルゲンと構造的に類似する配列を共有していなかったことが報告されている (Song、2011)。

30 なお、米国において後作試験及び鋤込み試験を実施した結果、本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で相違は見られなかった。

一方、除草剤 2,4-D の分解産物である 2,4-DCP の水生生物に及ぼす影響については、急性毒性試験における LC₅₀ (半数致死濃度) は淡水魚で 1.7mg/L、オオミジンコ (*Daphnia magna*) で 1.4mg/L であり、ウキクサの EC₅₀ (半数影響濃度) が 1.5mg/L である。また、慢性毒性試験ではウキクサの NOEC (無影響濃度) が 0.14mg/L、オオミジンコの NOEC が 0.21mg/L である。さらに、陸生生物に及ぼす影響については、ミミズの LC₅₀ が 125mg/kg、オオフォルソムトビムシ (*Folsomia candida*) の EC₁₀ (10% 影響濃度) が 0.7mg/kg である (OECD Existing Chemicals Database、2006)。2,4-D の水生生物に及ぼす影響については、急性毒性試験における LC₅₀ は淡水魚で 0.26mg/L、オオミジンコで

2.2mg/Lであり、ウキクサの EC_{50} が 0.2992mg/Lである。また、慢性毒性試験ではウキクサの NOEC が 0.0476mg/L、オオミジンコの NOEC が 0.20mg/Lである (EPA、2004)。

このように、2,4-Dの分解産物である2,4-DCPは、2,4-Dと同等もしくは2,4-Dに比べて毒性が低く、2,4-Dが散布された場合における2,4-DCPの濃度を最大に見積もっても、
5 散布された2,4-D以上に影響を及ぼす濃度にはならないと考えられる。

なお、本組換えダイズに適正使用範囲の上限量の2,4-Dを散布し、種子中の2,4-DCPの残留濃度を調べた結果、最大残留量は0.047ppm ($\mu\text{g/g}$)であった (Culligan、2010)。なお、2,4-DCPのマウスにおける急性毒性試験の LD_{50} (半数致死量)は1,276~1,352mg/kg
10 体重、ラットにおける慢性毒性(2年間)試験の NOAEL(無毒性量)は、雄で440mg/kg 体重/日、雌で>250mg/kg 体重/日であり (OECD Existing Chemicals Database、2006)、本組換えダイズにおける2,4-DCPの残留量を大きく上回っていることから、本組換えダイズの輸入種子が野生動物に影響を及ぼすことはないと考えられる。

また、除草剤グルホシネートの代謝産物であるN-アセチル-L-グルホシネートの動物に対する毒性(急性毒性、亜急性毒性、慢性毒性、発がん性、生殖発生毒性)はグルホシネートより低いことが確認されており (食品安全委員会、2010)、グルホシネートが散布された場合におけるN-アセチル-L-グルホシネートの濃度を最大に見積もっても、散布されたグルホシネート以上に影響を及ぼす濃度にはならないと考えられる。なお、N-アセチル-L-グルホシネートは、ダイズの残留基準値の対象化合物に含まれている。

したがって、有害物質の産生性について、本組換えダイズは非組換えダイズとの間に大きな相違はないと考えられ、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生性に起因する影響を受ける野生動植物等は特定されないと判断された。

25 (2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

30

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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がないと判断された。

35

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

ダイズと交雑可能な近縁野生種として、我が国にはツルマメが自生している(OECD、2000)。したがって、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

(2) 影響の具体的内容の評価

ダイズとツルマメは染色体数がともに $2n=40$ であり交雑可能であることから、本組換えダイズとツルマメとの交雑により雑種が形成され、本組換えダイズ由来の改変 $aad-12$ 遺伝子もしくは pat 遺伝子がツルマメ集団中に検出される可能性も考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

ツルマメは、我が国において北海道、本州、四国、九州に分布し、野原や荒地などに自生している(新版日本原色雑草図鑑、1978)。したがって、本組換えダイズが我が国で第一種使用規程に従って使用された場合、本組換えダイズとツルマメが交雑する機会があることは否定できない。

しかし、ダイズとツルマメは自殖性植物であり、一般的にツルマメの開花期はダイズより遅く、それぞれの開花期間が重なりにくいことが知られているため(Nakayama and Yamaguchi, 2002)、ダイズとツルマメの交雑は起こりにくいと考えられる。実際、比較的開花期が遅い我が国固有の栽培品種である丹波黒とツルマメの平均交雑率は、0.73%であったと報告されている(Nakayama and Yamaguchi, 2002)。また、組換えダイズにツルマメが巻きついた状態で、開花期が重複した条件下では、ツルマメより採取の種子から出芽した32,502個体中、交雑個体は1個体であったと報告されている(Mizuguti *et al.*, 2009)。さらに、より開花期の遅い組換えダイズ2品種(AG6702RR及びAG5905RR)を用い、開花ピークをより近づけ、組換えダイズにツルマメが巻きついた状態で行われた実験では、25,741個体中、交雑個体はAG6702RRでは25個体(0.097%)、AG5905RRでは10個体(0.039%)であった。また、組換えダイズから2、4、6、8、10m離してツルマメを栽培した場合は(それぞれ7,521個体中、7,485個体中、14,952個体中、14,964個体中、21,749個体中)、組換えダイズ(AG6702RR)から2、4、6mの距離で交雑個体はそれぞれ1個体あり、8、10mの距離では交雑個体は得られなかったと報告されている(Mizuguti *et al.*, 2010)。このように、ダイズとツルマメが隣接して生育し、かつ開花期が重複する条件下では交雑が起こり得るが、このような特別な条件下においても、ダイズとツルマメが交雑する可能性は極めて低いと考えられた。

本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間では、生殖に関わる形質(花粉形態、花粉稔性及び種子の生産性)について有意な差は認められず、本組換えダイズの交雑性は従来のダイズと同様に極めて低いと推察された。また、2010年及び2011年にそれぞれ数回にわたり、隔離ほ場内及び隔離ほ場周辺50mの範囲(民家の敷地内を除く)におけるツルマ

メの生育の有無を調査した結果、ツルマメは生育していなかった。さらに、本組換えダイズは一定の作業要領を備えた隔離ほ場において、第一種使用規程に従って使用されることから、本組換えダイズとツルマメが交雑する可能性は通常よりも更に低くなるものと考えられた。

5

仮に、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合においても、本組換えダイズ由来の改変 *aad-12* 遺伝子もしくは *pat* 遺伝子がツルマメ集団中に遺伝子浸透していくためには、雑種後代が自然環境中で生存し、ツルマメと交雑を繰り返す必要がある。ダイズとツルマメの雑種形成及びダイズからツルマメへの遺伝子浸透については、我が国において調査が行われている。2003 年に行われた調査では、ダイズとツルマメの交雑後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 地点のツルマメの自生地において探索し、秋田県の 1 地点で 1 個体の中間体が発見された(加賀ら、2005)。さらに 2004 年には、秋田県 8 地点、茨城県 6 地点、愛知県 4 地点、広島県 6 地点、佐賀県 33 地点の合計 57 地点のツルマメ集団(ダイズの栽培畑と隣接)を調査し、佐賀県の 3 地点から、11 個体の中間体が発見された。しかし、2003 年に行われた調査で中間体が発見された地点からは、中間体は発見されなかった(黒田ら、2005)。この結果より、ダイズとツルマメの雑種形成はツルマメの自生地で起きているもののその頻度は低いと考えられた。さらに、2005 年に行った秋田県、茨城県、高知県および佐賀県における計 39 地点における調査では、新たなダイズ中間体は発見されなかった。また、2004 年までに秋田県の 1 地点と佐賀県の 3 地点で発見された 12 個体の中間体のうち、後代の生存が確認できたのは佐賀県 1 地点の 1 個体のみであった。2004 年は中間体が多数の種子を生産していたが、2005 年には中間体がほとんど発見されなかったことから、種子は生産されても、自生地で速やかに淘汰される可能性が推測された(黒田ら、2006)。2006 年には、2005 年までに中間体が発見された秋田県 1 地点と佐賀県 3 地点における後代の自生モニタリング調査及び秋田県、兵庫

10

15

20

25

30

35

県、佐賀県の新たな 40 地点における中間体の調査が行われた。その結果、後代モニタリングでは佐賀県の 1 地点で 1 個体が見つかったのみであった。新たな 40 地点で行われた調査では、佐賀県の 2 地点でそれぞれ 1 個体ずつ中間体が発見されたのみであった(黒田ら、2007)。

40

以上の知見より、ダイズとツルマメの自然交雑率が低いこと、開花期が重なりにくいこと、ダイズとツルマメの雑種後代系統はツルマメ自生地で長期間生存できないと推察され

ることより、ダイズからツルマメへの遺伝子浸透が起きている可能性は極めて低いこと、さらには、第二の1の(1)において本組換えダイズの競合における優位性は高められていないと考えられることより、本組換えダイズがツルマメと交雑し、導入遺伝子がツルマメの集団中に優先的に浸透してゆく可能性は極めて低いと考えられた。

5

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えダイズは、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がないと判断された。

10

4 その他の性質

第三 生物多様性影響の総合的評価

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)について、本組換えダイズと非組換えダイズの相違は認められなかった。また、本組換えダイズはアリルオキシシアルカノエート系除草剤及び除草剤グルホシネート耐性を持つが、これらの除草剤を散布されることが想定しにくい自然条件下において、これらの除草剤耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

以上のことから、第一種使用規程に従って、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、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。

ダイズには、他感作用物質のような野生動植物の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。また、改変 AAD-12 蛋白質及び PAT 蛋白質は有害物質としては知られていない。有害物質の産生性について、後作試験及び鋤込み試験を行った結果、本組換えダイズと非組換えダイズの試験区の間で相違は認められなかった。

以上のことから、第一種使用規程に従って、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

ダイズとその近縁野生種であるツルマメは、ともに染色体数が $2n=40$ であり交雑可能であることから、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

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

以上のことから、第一種使用規程に従って、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、交雑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、総合評価として、本組換えダイズを第一種使用規程に従って、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、我が国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと結論された。

参 考 文 献

1. Allen GC, Hall G Jr, Michalowski S, Newman W, Spiker S, Weissinger AK, Thompson WF (1996) High-level transgene expression in plant cells: Effects of a strong scaffold attachment region from tobacco. *The Plant Cell* **8**, 899-913.
2. Allen GC, Spiker S and Thompson, WF (2000) Use of matrix attachment regions (MARs) to minimize transgene silencing. *Plant Molecular Biology* **43**, 361-376.
3. Barker FR, Idler BK, Thompson VD, Kemp DJ (1983) Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955". *Plant Molecular Biology* **2**, 335-350.
4. Chen H, Jiang H, Morgan, J A (2007) Non-natural cinnamic acid derivatives as substrates of cinnamate 4-hydroxylase. *Phytochemistry* **68**, 306–311.
5. Chen Q, Zhang B, Hicks L M, Wang S, Jez J M (2009) A liquid chromatography–tandem mass spectrometry-based assay for indole-3-acetic acid–amido synthetase. *Analytical Biochemistry* **390**, 149-154.
6. Chiang YC, Kiang YT (1987) Geometric position of genotypes, honeybee foraging patterns and outcrossing in soybean. *Bot. Bull. Academia Sinica*. **28**, 1-11
7. Culligan (2010) Magnitude of the Residue of 2,4-D in/on Herbicide Tolerant Soybeans Containing the Aryloxyalkanoate Dioxygenase-12 (AAD-12) Gene. (社内報告書)
8. EPA (2004) Environmental Fate and Effects Division's Risk Assessment for the Reregistration Eligibility Document for 2,4-Dichlorophenoxyacetic Acid (2,4-D) <http://www.regulations.gov/#!documentDetail;D=EPA-HQ-OPP-2004-0167-0003> (参照 2011 年 6 月 1 日)
9. FAOSTAT (2011) <http://faostat.fao.org> (参照 2011 年 8 月 31 日)
10. Fujita R, Ohara M, Okazaki K, Shimamoto Y (1997) The Extent of Natural Cross-Pollination in Wild Soybean (*Glycine soja*). *Journal of Heredity* **88**, 124-128.
11. Halweg C, Thompson WF and Spiker, S (2005) The Rb7 matrix attachment region increases the likelihood and magnitude of transgene expression in tobacco cells: A flow cytometric study. *The Plant Cell* **17**, 418-429.
12. Hausinger RP (2004) Fe(II)/ α -Ketoglutarate-Dependent Hydroxylases and Related Enzymes. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology* **39**, 21-68.

13. Kuroda Y, Kaga A, Tomooka N, Vaughan DA (2008) Gene Flow and Genetic Structure of Wild Soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science* **48**, 1071–1079.
14. Kuroda Y, Kaga A, Tomooka N, Vaughan D (2010) The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. *Molecular Ecology* **19**, 2346–2360.
15. Mizuguti A, Yoshimura Y, Matsuo K (2009) Flowering phenologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed Biology and Management* **9**, 93–96.
16. Mizuguti A, Ohigashi K, Yoshimura Y, Kaga A, Kuroda Y, Matsuo K (2010) Hybridization between GM soybean (*Glycine max* (L.) Merr.) and wild soybean (*Glycine soja* Sieb. et Zucc.) under field conditions in Japan. *Environmental Biosafety Research* **9**, 13–23.
17. Nakayama Y, Yamaguchi H (2002) Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. *Weed Biology and Management* **2**, 25–30.
18. Norris SR, Meyer SE, Callis J (1993) The intron of *Arabidopsis thaliana* polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. *Plant Molecular Biology* **21**, 895–906.
19. OECD (1999) Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 11, Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide.
20. OECD (2000) Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 15, Consensus document on the biology of *Glycine max* (L.) Merr. (Soybean).
21. OECD (2002) Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 25, Module II : Phosphinothricin.
22. OECD Existing Chemicals Database (2006)
http://webnet.oecd.org/hpv/UI/SIDS_Details.aspx?Key=9e09889c-1e71-4824-8162-fd865edbcf3c&idx=0 (参照 2011 年 6 月 1 日)
23. Song P (2010) Potential Allergenicity Assessment of AAD-12 Protein Expressed in Soybean Event DAS-68416-4 by Bioinformatics Analysis. (社内報告書)
24. Song P (2011) Sequence Similarity Assessment of PAT Protein to Known Allergens by Bioinformatics Analysis. (社内報告書)

25. Yoshimura Y, Matsuo K, Yasuda K (2006) Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environmental Biosafety Research* **5**, 169-173.
- 5 26. Verdaguer B, de Kochko A, Fux CI, Beachy RN, Fauquet C (1998) Functional organization of the cassava vein mosaic virus (CsVMV) promoter. *Plant Molecular Biology* **37**, 1055-1067.
27. Wohlleben W, Arnold W, Broer I, Hillemann D, Strauch E, Pühler A (1988) Nucleotide sequence of the phosphinothricin *N*-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene* **70**(1), 25-37.
- 10 28. Wright TR, Lira JM, Walsh TA, Merlo DJ, Jayakumar PS, Lin G (2007) Novel herbicide resistance genes. **WO 2007/053482 A2** (World Intellectual Property Organization).
29. Wright TR, Shan G, Walsh TA, Lira JM, Cui C, Song P, Zhuang M, Arnold NL, Lin G, Yau K, Russell SM, Cicchillo RM, Peterson MA, Simpson DM, Zhou N, Ponsamuel J, Zhang Z (2010) Robust crop resistance to broadleaf and grass herbicides provided by aryloxyalkanoate dioxygenase transgenes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **107**(47), 20240-20245.
- 15 30. 加賀秋人, 友岡憲彦, Phuntsho U, 黒田洋輔, 小林伸哉, 伊勢村武久, Gilda M-J, Vaughan DA (2005) 野生ダイズと栽培ダイズとの自然交雑集団の探索と収集—秋田県及び広島県における予備的調査—. 植探報 **21**, 59-71.
- 20 31. 黒田洋輔, 加賀秋人, Apa A, Vaughan DA, 友岡憲彦, 矢野博, 松岡伸之 (2005) 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 茨城県, 愛知県, 広島県, 佐賀県における現地調査から—. 植探報 **21**, 73-95.
32. 黒田洋輔, 加賀秋人, Guaf J, Vaughan DA, 友岡憲彦 (2006) 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 茨城県, 高知県, 25 佐賀県における現地調査から—. 植探訪 **22**, 1-12.
33. 黒田洋輔, 加賀秋人, Poafa J, Vaughan DA, 友岡憲彦, 矢野博 (2007) 野生ダイズ, 栽培ダイズおよび両種の自然交雑集団の探索, 収集とモニタリング—秋田県, 兵庫県, 佐賀県における現地調査から—. 植探報 **23**, 9-27.
34. 財務省貿易統計 (2011) <http://www.customs.go.jp> (参照 2011年 8月 31日)
- 30 35. 作物学概論 (2008) 大門弘幸 編著、朝倉書店、「11. ダイズ」 p132-146
36. 食品安全委員会 (2010) 農薬評価書 グルホシネート
<http://www.fsc.go.jp/fsciis/evaluationDocument/show/kya20070717010> (参照 2011年 11月 18日)

- 37.新版 日本原色雑草図鑑 (1978) 沼田真・吉沢長人 編集、全国農村教育協会、「I 雑草の生態と分類」 p107
- 38.農学大事典 1977 訂正追補版 (1977) 野口弥吉 監修、養賢堂、「14. 食用作物」 p502

緊急措置計画書

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 栗田 道郎
住所 東京都品川区東品川二丁目2番24号

第一種使用規程の承認を申請している「除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ(改変*aad-12, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (DAS68416, OECD UI : DAS-68416-4) (以下「本組換えダイズ」という。)」の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合に当該影響を効果的に防止するため、以下の措置を講ずる。

1. 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者

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

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

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

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

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

4. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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

表 1 隔離ほ場管理者名簿(個人名・職名は個人情報のため非表示)

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

表 2 生物多様性影響管理委員会委員名簿(個人名・職名は個人情報のため非表示)

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

モニタリング計画書

平成 23 年 10 月 3 日

氏名 ダウ・ケミカル日本株式会社
代表取締役 栗田 道郎
住所 東京都品川区東品川二丁目 2 番 24 号

イ. 実施体制及び責任者

実施体制及び責任者は表 1 のとおりである。

表 1 モリタリング実施体制(2011 年 10 月現在)

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

* 管理責任者

(個人名・職名は個人情報のため非表示)

ロ. モニタリングの対象となる野生動植物等の種類の名称

名称 ツルマメ (*Glycine soja*)

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

隔離ほ場周辺 10m の範囲内においてモニタリングを実施する。

ニ. モニタリングの期間

「除草剤アリルオキシアルカノエート系及びグルホシネート耐性ダイズ(改変 *aad-12, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (DAS68416, OECD UI : DAS-68416-4) (以下「本組換えダイズ」という。)」の栽培期間中に実施する。

ホ. 実施機関、頻度その他のモニタリングの方法

- 1) 本組換えダイズの栽培期間中に、隔離ほ場周辺 10m 以内でのツルマメの生育の有無を調べる。
- 2) 隔離ほ場周辺 10m 以内にツルマメが生育しており、秋に種子をつけていた場合には位置情報を記録するとともに、ツルマメ 1 集団あたり最低 50 粒の種子をサンプリングする。
- 3) 1)により、ツルマメの生育が認められない場合は、さらに隔離ほ場から 50m 内の調査可

能な範囲において 2)と同様の作業を行う。

- 4) 採取した種子を播種し、発芽後約 3 週間後に除草剤 2,4-D を散布することにより、導入遺伝子がツルマメに移行しているかについて解析する。

へ. モニタリング結果の解析方法

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

ト. 農林水産大臣及び環境大臣への結果の報告方法

モニタリング及びその解析結果は、「食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為」における第一種使用規程の最終申請時に、農林水産大臣及び環境大臣への報告書として添付する。

チ. その他必要な事項

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

隔離ほ場試験計画書

1. 「受容環境」に関する情報

I. 隔離ほ場の所在地

1. 名称
ダウ・ケミカル日本株式会社小郡開発センター隔離ほ場
2. 住所
福岡県小郡市山隈 821
3. 電話番号
0942-73-4950
4. 地図
別紙 1 参照

II. 責任者等

1. 隔離ほ場試験の責任者
(個人名・職名は個人情報のため非開示)
ダウ・ケミカル日本株式会社 小郡開発センター
2. 隔離ほ場管理責任者
(個人名・職名は個人情報のため非開示)
ダウ・ケミカル日本株式会社

III. 試験期間

承認日から平成 26 年 3 月 31 日まで

IV. 施設概要

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

V. 面積

1. 隔離ほ場全体の面積
650 m²
2. 試験に使用する面積
132.8 m²
3. 試験区の配置図
別紙 2 参照

VI. 隔離ほ場の周辺環境

1. 隔離ほ場周辺の地形

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

2. 土地利用状況

隔離ほ場の周辺は、水田・畑・民家・道路・用水路等として利用されている。

3. 周辺の環境保護区

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

4. 気象条件

① 平年値

隔離ほ場の最寄の地上気象観測所である福岡管区気象台（福岡県福岡市中央区）における過去 30 年間の月平均気温、平均最高気温、平均最低気温、平均降水量、平均風速、最多風向（21 年分）を別紙 3 表 1 に示した（気象庁ホームページ気象統計情報、参照 2011 年 8 月 31 日）。

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

② 過去 3 年分の気象データ

隔離ほ場の最寄の地域気象観測所である朝倉アメダス観測所（福岡県朝倉市三奈木町）における過去 3 年分の気象データを別紙 4、表 1～3 に示した（気象庁ホームページ気象統計情報、参照 2011 年 8 月 31 日）。

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

5. 台風の襲来歴

① 平年値

気象庁ホームページ気象統計情報によると、隔離ほ場のある九州北部地方（山口県を含む）への台風接近数の平年値は、3.2 回である（気象庁ホームページ気象統計情報、参照 2011 年 8 月 31 日）。

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

② 過去 10 年の隔離ほ場周辺への台風の接近数

気象庁ホームページ気象統計情報より、隔離ほ場のある九州北部地域（山口県を含む）に、2001 年～2010 年に台風が接近した回数を別紙 5 表 1 に示した（気象庁ホームページ気象統計情報、参照 2011 年 8 月 31 日）。

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

なお、台風の接近が記録された月に、隔離ほ場の最寄の地域気象観測所である朝倉アメダス観測所において、日ごとの最大風速が 15m/s を超えた日はなく（気象庁ホームページ気象統計情報、参照 2011 年 8 月 31 日）、過去 10 年における隔離ほ場への台風の接近はなかったと推測された。

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

6. 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

隔離ほ場が開設された 2008 年以降、ほ場における冠水の経験はない。

7. 過去 10 年における強風の経験とその程度・頻度

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

8. 管轄市町村が公開するハザードマップにおける隔離ほ場の位置づけ

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

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

9. 周辺における鳥獣害の発生状況

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

VII. 隔離ほ場周辺の生物相

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

2. 交雑可能な近縁野生種及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

ツルマメ。なお、2010年及び2011年にそれぞれ数回に渡り、隔離ほ場内及び隔離ほ場周辺50mの範囲(民家の敷地内を除く)におけるツルマメの調査を行ったが、ツルマメの生育は確認されなかった。

VIII. 栽培管理等

1. 栽培履歴

隔離ほ場における栽培履歴は以下の通りである。

2008	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
遺伝子組換えダイズ							←→						
非遺伝子組換えダイズ							←→						
遺伝子組換えトウモロコシ							←→						
非遺伝子組換えトウモロコシ							←→						
非遺伝子組換えワタ							←→						
2009	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
除草剤耐性ダイズ									←→				
対照の非遺伝子組換えダイズ									←→				
2010	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
除草剤耐性ダイズ	←→						←→						
対照の非遺伝子組換えダイズ	←→						←→						
2011	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
除草剤耐性ダイズ	←→								←→				
対照の非遺伝子組換えダイズ	←→								←→				
2012	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
除草剤耐性ダイズ	←→												
対照の非遺伝子組換えダイズ	←→												

←→ : 白抜き矢印は予定

2. 気象災害時の対応

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

3. 栽培終了後の利用計画（ボランティア植物の監視を含む）

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

4. 隔離ほ場試験における生物多様性影響の安全対策に関する措置

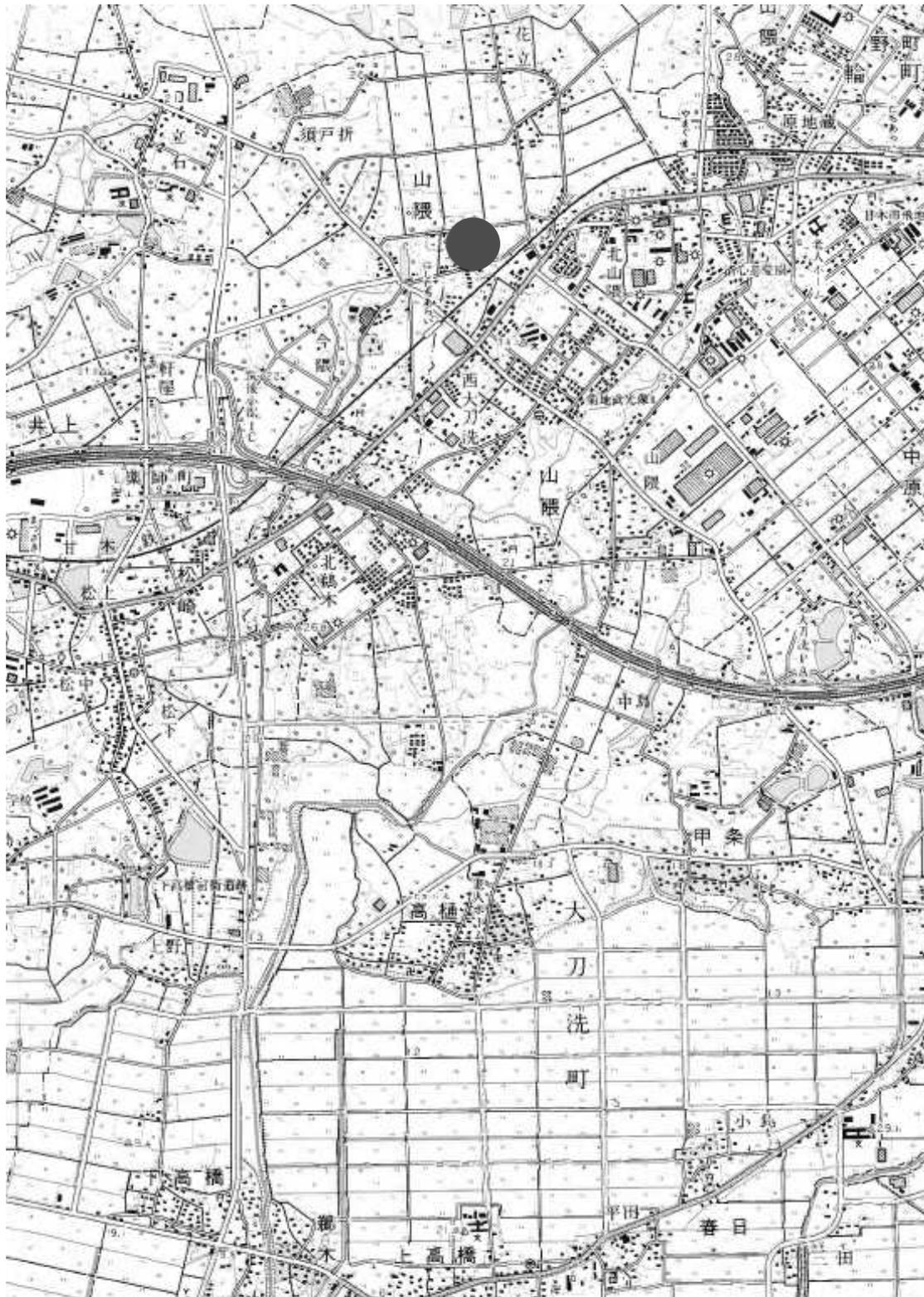
(1) 隔離ほ場の施設

- 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(2m50cm)を設置している。
- ② 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を、見やすい所に掲げている。
- ③ 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本組換えダイズの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、本組換えダイズの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- ④ 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるために防風網を設置している。また、播種時及び成熟期から収穫期には防鳥網を設置する。

(2) 隔離ほ場での作業要領

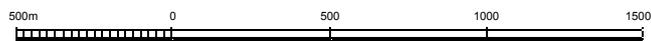
- ① 本組換えダイズ及び比較対照のダイズ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- ② 本組換えダイズを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該ダイズが漏出しない構造の容器に入れる。
- ③ ②により運搬又は保管する場合を除き、本組換えダイズの栽培終了後は、当該ダイズ及び比較対照のダイズを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。
- ④ 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本組換えダイズが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- ⑤ 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
- 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書に基づき、モニタリングを実施する。
- ⑧ 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。

別紙 1 隔離ほ場の所在地に関する地図



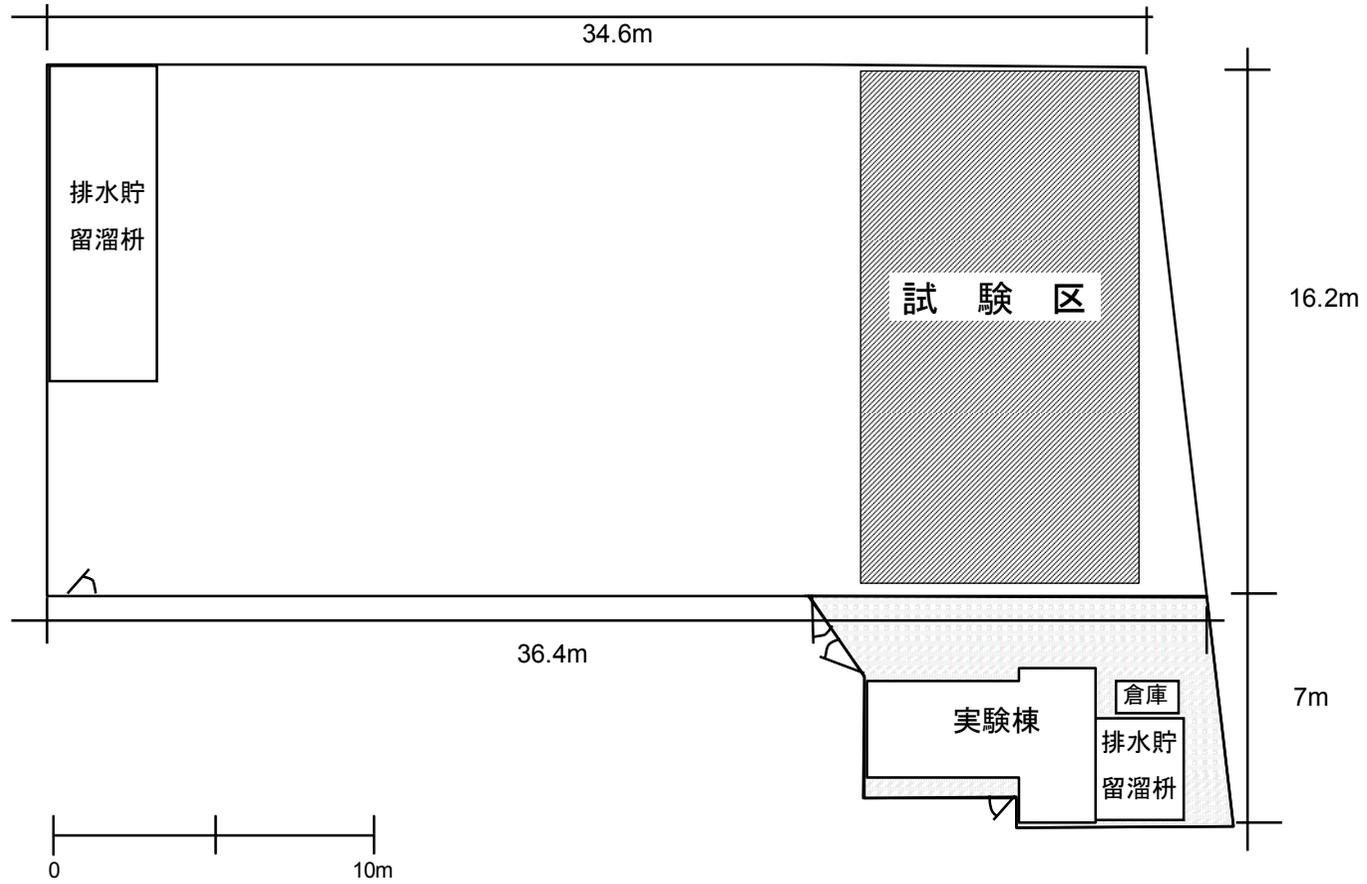
4
+

● 隔離ほ場所在地



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

別紙 2 試験区の配置図



別紙 3 隔離ほ場周辺における平年値

表 1 福岡気象管区における平年値

要素	気温			降水量	風向・風速	
	(°C)			(mm)	(m/s)	
	平均	最高	最低	合計	平均	最多風向
統計期間	1981~2010	1981~2010	1981~2010	1981~2010	1981~2010	1990~2010
1月	6.6	9.9	3.5	68.0	2.9	南東
2月	7.4	11.1	4.1	71.5	3.0	南東
3月	10.4	14.4	6.7	112.5	3.1	北
4月	15.1	19.5	11.2	116.6	3.0	北
5月	19.4	23.7	15.6	142.5	2.8	北
6月	23.0	26.9	19.9	254.8	2.7	北
7月	27.2	30.9	24.3	277.9	2.8	北
8月	28.1	32.1	25.0	172.0	2.9	北
9月	24.4	28.3	21.3	178.4	2.9	北
10月	19.2	23.4	15.4	73.7	2.7	北
11月	13.8	17.8	10.2	84.8	2.6	南東
12月	8.9	12.6	5.6	59.8	2.8	南東

別紙 4 隔離ほ場周辺における過去 3 年分の気象データ

表 1 2008 年の朝倉アメダス観測所における気象データ

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

表 2 2009 年の朝倉アメダス観測所における気象データ

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

表 3 2010 年の朝倉アメダス観測所における気象データ

月	降水量(mm)			気温(℃)					風向・風速(m/s)			日照
	合計	最大		平均			最高	最低	平均	最大		時間 (h)
		日	1時間	日平均	日最高	日最低			風速	風速	風向	
1	59.0	26.0	14.5	4.3	9.5	-0.4	18.5	-4.2	1.1	5.7	西北西	127.6
2	83.5	23.5	7.0 ²⁾	7.8	13.1	3.3	23.3	-3.2	1.2	6.5	西北西	120.0
3	151.5 ²⁾	33.5 ²⁾	7.5 ²⁾	9.7 ²⁾	14.6 ²⁾	4.7 ²⁾	25.5 ²⁾	-2.9 ²⁾	1.5 ²⁾	8.0 ²⁾	南南西	116.9 ²⁾
4	215.0	57.5	18.5	13.0	19.0	7.5	25.4	1.5	1.4	6.7	南南西	144.3
5	170.0	94.0	13.0	18.3	24.8	12.3	30.7	5.2	1.1	6.1	西北西	197.1
6	283.5	90.5	19.5	22.8	28.4	18.7	32.0	12.8	1.0	5.2	西北西	113.8
7	572.0	157.5	62.0	26.7	31.6	23.1	36.3	20.0	1.1	5.6	南西	150.3
8	90.5	38.0	31.5	28.7	35.0	24.5	37.3	21.5	1.1	6.1	南南西	218.3
9	151.0	37.0	20.5	24.6	30.2	20.2	36.6	14.4	1.0	5.5	南	170.0
10	63.5	24.0	12.0	18.2	23.8	13.7	28.7	6.9	0.9	5.3	西北西	130.9
11	34.0	12.5	6.5	10.7	17.1	5.1	21.8	-1.2	0.9	5.7	北西	176.1
12	130.0	38.5	6.0	6.4	11.3	2.0	20.7	-2.7	1.1	7.0	北西	116.8

- 1) 観測場所の移転、観測方法の変更、測器の変更など、いずれかの理由により、観測データがこの前後で均質でない可能性がある値。
- 2) 品質に軽微な問題があるか、または統計値を求める対象となる資料の一部が許容する範囲内で欠けている値。

別紙 5 過去 10 年の隔離ほ場周辺への台風の接近数

表 1 過去 10 年の九州北部地方（山口県を含む）への台風接近数¹⁾

年	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	年間
2010								1	1				2
2009										1			1
2008									1	1			2
2007							1	1	1				3
2006							1	1	1				3
2005									1				1
2004						2	1	4	2	1			9
2003				1	1	1		1	1				5
2002						1	3	1	1				5
2001													0

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

2. 試験評価項目（社外秘情報につき非開示）

3. 委員会名簿（社外秘情報につき非開示）

4. 委員会での検討事項（社外秘情報につき非開示）

5. 管理責任者（社外秘情報につき非開示）

添付資料リスト

- 添付資料 1 改変 AAD-12 蛋白質が活性を示す除草剤
- 添付資料 2 Substrate Specificity of Aryloxyalkanoate Dioxygenase-12 (AAD-12)
- 添付資料 3 pDAB4468 の塩基配列
- 添付資料 4 導入遺伝子のコピー数並びに世代間及び同一世代における安定性
- 添付資料 5 pDAB4468 の作成過程
- 添付資料 6 本組換えダイズの検出法

社外秘情報につき非開示