

生物多様性影響評価検討会での検討の結果

- 1 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 *aad-12*, *pat*, *Glycine max* (L.) Merr.)(DAS68416, OECD UI : DAS-68416-4)
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
申請者：ダウ・ケミカル日本株式会社

(1) 生物多様性影響評価の結果について

本組換えダイズは、アグロバクテリウム及び大腸菌由来のプラスミド pDAB2407 をもとに構築された発現ベクター pDAB4468 をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

本組換えダイズは、*Delftia acidovorans* 由来の改変 AAD-12 蛋白質(アリルオキシアルカノエート・ディオキシゲナーゼ)をコードする改変 *aad-12* 遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes* 由来の PAT 蛋白質(ホスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ)をコードする *pat* 遺伝子及びタバコ由来の核マトリックス結合領域である *RB7 MAR* 等を含む T-DNA 領域が染色体上に 1 コピー組込まれ、複数世代にわたり安定して伝達されていることが遺伝子の分離様式やサザンブロット分析により確認されている。また、これらの遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることが ELISA 法により確認されている。

ア 競合における優位性

宿主が属する生物種であるダイズは、我が国において長期にわたり栽培されているが、自生化しているとの報告はなされていない。

2008 年に米国のほ場において、本組換えダイズの競合における優位性に関わる諸形質について調査が行われた結果、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に相違は見られなかった。

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、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難い自然条件下において、付与された形質により競合における優位性を高めるとは考え難い。

また、本組換えダイズに導入された *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、米国で実施したほ場試験の結果において、本組換えダイズと非組換えダイズとの間に相違は見られなかった。このため、*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とは考え難い。

以上より、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、競合における優位性に起因す

る生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

イ 有害物質の産生性

宿主が属する生物種であるダイズについては、野生動植物等への有害物質を産生するとの報告はなされていない。

本組換えダイズは導入された遺伝子等により、改変 AAD-12 蛋白質及び PAT 蛋白質が発現しているが、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。

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)に変換するが、改変 AAD-12 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た。2,4-DCP 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生産される 2,4-DCP の濃度を最大に見積もっても、散布された 2,4-D 以上に影響を及ぼすことはないと考えられた。

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、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た。また、除草剤グルホシネートが散布された場合に生産される N-アセチル-L-グルホシネートの動物に対する毒性はグルホシネートより低いことが確認されており、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ことはないと考えられた。

また、*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た。

以上より、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

ウ 交雑性

ダイズの近縁種としてはツルマメが知られており、ともに染色体数が $2n=40$ であり交雑可能であることから、影響を受ける可能性のある野生植物としてツルマメを特定し、以下の検討を行った。

ダイズとツルマメの人為的な交雑を行った雑種の生育には特に障害が見られないことから、我が国の自然環境下において本組換えダイズとツルマメが交雑した場合は、その雑種が生育するとともに、当該雑種からツルマメへの戻し交雑を経て、本組換えダイズに移入された遺伝子がツルマメの集団中で拡散していく可能性がある。また、ツルマメは全国に分布し、河原や土手、畑の周辺や果樹園等に自生していることから、本組換えダイズが近接して生育した場合、交雑する可能性がある。

しかしながら、

- ① ダイズとツルマメの雑種形成及び後代への遺伝子浸透について、数年間、日本各地のダイズ畑周辺においてツルマメ集団を追跡調査し、遺伝マーカー等を用いて交雑の有無を分析したところ、雑種後代が継続して存在することを示す結果は得られ

なかったとの報告があること、

- ② ダイズとツルマメは一般的に開花期が重なりにくいことが知られており、開花期が重複するダイズ品種とツルマメとを交互に株間 50cm の隣接栽培を行った場合でも、交雑率は 0.73 % であるとの報告があること、
- ③ 除草剤グリホサート耐性遺伝子組換えダイズとツルマメを、播種時期をずらしてダイズにツルマメが巻きついた状態で生育させた交雑試験では、収穫したツルマメ種子のうち、両種の開花最盛期を最も近くした群(11,860 粒)の中の 1 粒がダイズと交雑していたとの報告があること

などに加え、本組換えダイズにおいては、導入遺伝子による影響が宿主の持つ代謝系を変化させ、交雑性に関わる生理学的又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ことから、本組換えダイズとツルマメの交雑率は、従来のダイズとツルマメの交雑率と同等に低いと考えられた。

また、本組換えダイズとツルマメが交雑した場合、その雑種は改変 *aad-12* 遺伝子及び *pat* 遺伝子により、アリルオキシアルカノエート系除草剤及び除草剤グリホシネート耐性の形質を有すると考えられるが、本形質が競合における優位性を高めるとは考え難く、これらの形質を有する雑種が生じたとしても、その雑種がツルマメの集団において優占化する可能性は低いと考えられた。

以上より、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 生物多様性影響評価を踏まえた結論

以上より、本組換えダイズは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

2 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ワタ(改変 *aad-12*, *pat*, *Gossypium hirsutum* L.)(DAS1910, OECD UI: DAS-81910-7)

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

申請者：ダウ・ケミカル日本株式会社

(1) 生物多様性影響評価の結果について

本組換えワタは、アグロバクテリウム及び大腸菌由来のプラスミド pDAB2407 をもとに構築された発現ベクター pDAB4468 をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

本組換えワタは、*Delftia acidovorans* 由来の改変 AAD-12 蛋白質(アリルオキシアルカノエート・デオキシゲナーゼ)をコードする改変 *aad-12* 遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes* 由来の PAT 蛋白質(ホスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ)をコードする *pat* 遺伝子及びタバコ由来の核マトリックス結合領域である *RB7 MAR* 等を含む T-DNA 領域が染色体上に 1 コピー組込まれ、複数世代にわたり安定して伝達されていることが遺伝子の分離様式やサザンブロット分析により確認されている。また、これらの遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることが ELISA 法により確認されている。

本組換えワタの宿主に関する情報や導入された遺伝子の情報を検討したところ、生理学的又は生態学的特性に関する試験結果を用いずとも、本組換えワタを隔離ほ場試験で使用する場合の生物多様性影響評価を行うことは可能であると判断された。

ア 競合における優位性

宿主が属する生物種であるワタは、我が国において長期にわたり使用等の実績があるが、自生化しているとの報告はなされていない。

本組換えワタには改変 *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、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難い自然条件下において、付与された形質により競合における優位性を高めるとは考え難い。

また、本組換えワタに導入された *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、米国の延べ 123 ヶ所のほ場試験では非組換えワタ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の報告はなされていない。このため、*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とは考え難い。

以上より、本組換えワタは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

イ 有害物質の産生性

宿主が属する生物種であるワタについては、非反芻動物に対して毒性を示すゴッシ

ポール及び飽和脂肪酸の不飽和化を阻害することにより鶏卵の脱色やふ化率低下を引き起こすシクロプロペン脂肪酸が含まれている。しかし、野生動物がワタの種子を摂食するという報告はなされていない。また、ワタには、他感作用物質のような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知られていない。

本組換えワタは導入された遺伝子等により、改変 AAD-12 蛋白質及び PAT 蛋白質が発現しているが、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。

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)に変換するが、改変 AAD-12 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た。2,4-DCP 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生産される 2,4-DCP の濃度を最大に見積もっても、散布された 2,4-D 以上に影響を及ぼすことはないと考えられた。

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、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た。また、除草剤グルホシネートが散布された場合に生産される N-アセチル-L-グルホシネートの動物に対する毒性はグルホシネートより低いことが確認されており、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ことはないと考えられた。

また、*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た。

以上より、本組換えワタは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

ウ 交雑性

我が国の自然環境中にはワタと交雑可能な野生植物は生育していないことから、影響を受ける可能性のある野生植物は特定されず、本組換えワタは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 生物多様性影響評価を踏まえた結論

以上より、本組換えワタは、限定された環境で一定の作業要領を踏ま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、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

3 名称：コウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシ (*ecry3. 1Ab*, *Zea mays* subsp. *mays* (L.) Iltis) (Event 5307, OECD UI: SYN-05307-1)

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、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為

申請者：シンジェンタジャパン株式会社

(1) 生物多様性影響評価の結果について

本組換えトウモロコシは、大腸菌由来のプラスミドpUC19などをもとに構築されたプラスミドpSYN12274のT-DNA領域をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

本組換えトウモロコシは、*Bacillus thuringiensis*由来のeCry3. 1Ab蛋白質をコードする*ecry3. 1Ab*遺伝子及び*Escherichia coli* K-12株由来のPMI蛋白質(マンノースリン酸イソメラーゼ)をコードする*pmi*遺伝子を含むT-DNA領域が染色体上に1コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達されていることが遺伝子の分離様式やサザンブロット分析により確認されている。また、これら遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることがELISA法により確認されている。

ア 競合における優位性

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシは、我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、我が国の自然環境下で自生した例は報告されていない。

2010年に我が国の隔離ほ場において、本組換えトウモロコシの競合における優位性に関わる諸形質について調査が行われた。その結果、本組換えトウモロコシと非組換えトウモロコシとの間に有意差等は認められなかった。

本組換えトウモロコシは、eCry3. 1Ab蛋白質の発現によりコウチュウ目害虫抵抗性が付与されているが、コウチュウ目害虫による食害はトウモロコシが我が国の自然環境下において自生することを困難にさせる主な要因ではない。このことから、当該形質の付与が競合における優位性を高めるとは考え難い。また、本組換えトウモロコシは、PMI蛋白質の発現によりマンノースを炭素源として利用可能とする形質が付与されているが、我が国の自然環境下において本組換えトウモロコシがマンノースを主な炭素源にすることは考えられず、この形質を有することにより競合における優位性が高まるとは考え難い。

以上より、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

イ 有害物質の産生性

宿主の属する分類学上の種であるトウモロコシは、我が国において長期にわたる使用等の実績があるが、有害物質の産生性は報告されていない。

本組換えトウモロコシにおいて発現するeCry3. 1Ab蛋白質及びPMI蛋白質は、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有さないことが確認されている。eCry3. 1Ab蛋白質は、従来Cry蛋白質と同様の構造と機能を持つことから、従来Cry蛋白質と同様に酵素活性を有するとは考え難い。また、PMI蛋白質による反応はマンノース6-リン酸とフルクトース6-リン酸に対して特異的であり、他の天然基質は知られていない。したがって、これらの蛋白質が宿主の代謝経路に影響を及ぼし、有害物質を産生するとは考え難い。

我が国の隔離ほ場において、本組換えトウモロコシの有害物質（根から分泌され他の植物及び土壌微生物に影響を与えるもの、植物体が内部に有し枯死した後に他の植物に影響を与えるもの）の産生性の有無を土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験により検討した結果、本組換えトウモロコシと対照の非組換えトウモロコシとの試験区の間には統計学的有意差は認められなかった。

本組換えトウモロコシにおいて発現する eCry3.1Ab 蛋白質は、コウチュウ目昆虫に対して殺虫活性を示すことから、影響を受ける可能性のある野生動植物としてコウチュウ目昆虫が特定された。コウチュウ目昆虫が影響を受ける状況として本組換えトウモロコシを直接食餌すること、又は本組換えトウモロコシから飛散した花粉を食餌植物とともに摂取することが考えられた。しかしながら、コウチュウ目昆虫が本組換えトウモロコシの栽培ほ場周辺に局所的に生息しているとは考え難いことから、個体群レベルで影響を受ける可能性は極めて低いと考えられた。

以上より、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

ウ 交雑性

我が国において、トウモロコシが野生化した事例はなく、また交雑可能な近縁野生種であるテオシントの自生も報告されていない。

以上より、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 生物多様性影響評価を踏まえた結論

以上を踏まえ、本組換えトウモロコシを第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。