

生物多様性影響評価検討会での検討の結果

1. 名称：除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズ (*2mepsps*, 改変 *hppd*, *Glycine max* (L.) Merr.) (FG72, OECD UI: MST-FG072-3)
 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：バイエルクロップサイエンス株式会社

(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、プラスミド pCMS5 をもとに構築されたプラスミド pSF10 を制限酵素で処理した後、パーティクルガン法により導入し作出されている。

本組換えダイズは、*Pseudomonas fluorescens* 由来の改変 HPPD 蛋白質(4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ)をコードする改変 *hppd* 遺伝子及びトウモロコシ由来の 2mEPSPS 蛋白質 (2 変異 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素) をコードする *2mepsps* 遺伝子を含む完全長の発現カセットが染色体上に 2 コピー同方向に連続して組み込まれ、さらにその 5'側で宿主ゲノムとの間に 2 つの 3'histonAt 断片が連続して存在する。また、本組換えダイズゲノム内では宿主のゲノムの一部が転座して、転座領域の 3'側下流の宿主ゲノム内には新規に 158bp の Ph4a748 プロモーター断片が存在する。なお、これら遺伝子が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及びサザンブロット分析により確認されており、複数世代にわたり安定して目的の遺伝子が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。

2009 年に米国において、本組換えダイズの競合における諸形質について調査が行われた結果、成熟期、草高、倒伏抵抗性及び収量において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められた。しかしながら、これらの差異は、僅かであったこと又は従来品種の範囲内であったこと等から、競合における優位性を高めるものではないと考えられた。

本組換えダイズには改変 HPPD 蛋白質の発現により除草剤イソキサフルトール耐性及び 2mEPSPS 蛋白質発現により除草剤グリホサート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定しにくい自然条件下において競合における優位性を高めるとは考え難い。

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。

本組換えダイズにおいて発現する 2mEPSPS 蛋白質及び改変 HPPD 蛋白質が有害物質であるとの報告はなく、既知アレルゲンと類似の配列を有さないことが確認されている。

2mEPSPS 蛋白質は、野生型 EPSPS 蛋白質と同様に、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路を触媒する酵素であるが、本経路における律速酵素ではないと考えられた。また、本組換えダイズにおいては、2mEPSPS 蛋白質の産生により既存の EPSPS 蛋白質に相加的に働いて EPSPS 蛋白質活性が増大することによる影響が考えられたが、EPSPS 蛋白質活性が増大しても本経路の最終産物である芳香族アミノ酸は過剰に生成されないことが報告されている。さらに、EPSPS 蛋白質はホスホエノールピルビン酸 (PEP) 及びシキミ酸-3-リン酸 (S3P) 以外に S3P の類似体であるシキミ酸とも反応することが知られているが、EPSPS 蛋白質とシキミ酸の反応性は低く、高い基質特異性を有していると考えられた。

改変 HPPD 蛋白質は、野生型 HPPD 蛋白質と同様にチロシン異化、トコフェロール合成及びプラストキノン合成を触媒する酵素であるが、これらの経路における律速酵素ではないと考えられた。また、本組換えダイズにおいては、改変 HPPD 蛋白質の産生により既存の HPPD 蛋白質と相加的に働いて HPPD 蛋白質活性が増大することによる影響が考えられたが、HPPD 蛋白質活性が増加してもホモゲンチジン酸 (HGA) より下流に位置するトコフェロール合成やカロチノイド合成への影響は小さいと報告されている。加えて HPPD 蛋白質の基質は *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸 (*p*-HPP) 及びフェニルピルビン酸 (PPA) のみであるが、後者は哺乳類のフェニルアラニン代謝異常時でのみ利用され、植物では利用されるという報告はない。

これらのことから、両蛋白質が触媒する反応は限られており、宿主の代謝系に影響し新たな有害物質を産生する可能性は低いと考えられた。

2009 年に我が国の閉鎖系実験温室において、本組換えダイズの有害物質（根から分泌されて他の植物へ影響を与えるもの、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）の産生性の有無を鋤込み試験及び後作試験により検討した結果、本組換えダイズの試験区と対照の非組換えダイズの試験区との間に差異は認められなかった。

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、2009 年に米国において行われた試験において、本組換えダイズは非組換えダイズと比べて草高、倒伏抵抗性及び収量の形質に統計学的有意差が認められたものの、これらの差異は僅かであったこと、又は従来品種の範囲内であったこと等から、本組換えダイズとツルマメとの交雑性は従来ダイズとツルマメとの交雑率と同等に低いと考えられた。

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 *hppd* 遺伝子及び *2mepsps* 遺伝子により除草剤イソキサフルトール及びグリホサート耐性の形質を有すると考えられる。しかしながら、本形質は除草剤が散布されない自然条件下では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：除草剤グルホシネート耐性ダイズ(*pat*, *Glycine max* (L.) Merr.)(A5547-127, OECD UI: ACS-GM006-4)

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：バイエルクロップサイエンス株式会社

(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、プラスミド pUC19 をもとに構築されたプラスミド pB2/35SAck を制限酵素で処理した後、パーティクルガン法により導入し作出されている。

本組換えダイズは、*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* 遺伝子等を含む発現カセットが染色体上に 1 コピー組み込まれ、その両側に分断された *bla* 遺伝子断片が隣接して挿入されており、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、目的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。

本組換えダイズの宿主に関する情報や移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、本組換えダイズを隔離ほ場試験で使用する場合の生物多様性影響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。

本組換えダイズは、除草剤グルホシネート耐性を持つが、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競合における優位性を高めるとは考え難い。本組換えダイズは、*pat* 遺伝子により PAT 蛋白質を発現する。しかしながら、PAT 蛋白質の基質特異性は非常に高く、植物代謝系に影響を及ぼすことは考え難い。このため、グルホシネート耐性以外の生理学的又は生態学的特性にその影響が及ぶ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、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。

本組換えダイズにおいて発現する PAT 蛋白質が有害物質であるとする報告はなく、既知アレルゲンと類似の配列を有さないことが確認されている。

PAT 蛋白質は L-ホスフィノスリシン(除草剤グルホシネート)及びジメチルホスフィノスリシンに対して非常に高い基質特異性を示し、これら以外に PAT 蛋白質の基質となるアミノ酸は報告されていない。このため、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-1-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-1-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。

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。

本組換えダイズとツルマメとが交雑した場合、その雑種は *pat* 遺伝子により、除草剤グルホシネート耐性の形質を有すると考えられる。しかしながら、本形質は除草剤が散布されない自然条件下では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。

3. 名称：除草剤ジカンバ耐性ダイズ（改変 *dmo*, *Glycine max* (L.) Merr.) (MON87708, OECD UI: MON87708-9)

第一種使用等の内容：食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為

申請者：日本モンサント株式会社

(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、*Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築されたプラスミド PV-GMHT4355 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。

本組換えダイズは、*Stenotrophomonas maltophilia* 由来の改変 DMO 蛋白質(ジカンバモノオキシゲナーゼ)をコードする改変 *dmo* 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及びサザンブロット分析により確認されている。また、目的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ウエスタンブロット分析及び ELISA 分析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 年に米国のほ場及び 2010 年に我が国の隔離ほ場において、本組換えダイズの競合における諸形質について調査が行われた結果、我が国の隔離ほ場試験における発芽率、一株当たりの粗粒重及び百粒重において、本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に統計学的有意差が認められた。また、我が国の隔離ほ場試験における統計処理を行わなかった項目では、発芽揃いにおいて本組換えダイズと対照の非組換えダイズとの間に違いが認められた。

発芽率については、本組換えダイズでは 99.2%、対照の非組換えダイズでは 100%であった。しかしながら、いずれも高い発芽率を示しており、本試験で認められた発芽率の差が競合における優位性を高めることはないと考えられた。

発芽揃いについては、本組換えダイズが 6 月 22 日、対照の非組換えダイズが 6 月 23 日であり、本組換えダイズが 1 日早かった。しかしながら、その差はわずかであり、また発芽始めに違いは認められなかった。このため、この差異により競合における優位性が高まることはないと考えられた。

一株当たりの粗粒重の平均値は、本組換えダイズでは 54.7g、対照の非組換えダイズでは 51.0g であり、本組換えダイズの方が高かった。しかしながら、本組換えダイズの一株当たりの粗粒重の平均値は、本隔離ほ場で 2006 年から 2009 年までに行われた栽培試験における従来ダイズの粗粒重の範囲に収まっていた。百粒重の平均値は、本組換えダイズでは 20.6g、対照の非組換えダイズでは 19.6g であり、本組換えダイズのほうが高かった。しかしながら、本組換えダイズの百粒重の平均値は、本隔離ほ場で 2006 年から 2009 年までに行われた栽培試験における従来ダイズの百粒重の範囲に収まっていたことに加え、これまでに報告されている従来ダイズの百粒重の範囲内であった。これらのことから、本試験において認められた一株当たりの粗粒重及び百粒重の差異により競合における優位性が

高まることはないと考えられた。

本組換えダイズには改変 DMO 蛋白質の発現により除草剤ジカンバ耐性が付与されているが、ジカンバを散布されることが想定しにくい自然条件下においてジカンバ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難い。

以上より、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。

本組換えダイズにおいて発現する改変 DMO 蛋白質は有害物質であるとする報告はなく、既知アレルゲンと類似の配列を有さないことが確認されている。さらに、改変 DMO 蛋白質はジカンバに対し基質特異性を有し、ジカンバと構造的に類似するダイズ内在性物質を基質とすることがないため、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生することはないと考えられた。

我が国の隔離ほ場において、本組換えダイズの有害物質（根から分泌されて他の植物及び土壌微生物へ影響を与えるもの、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、本組換えダイズの試験区と対照の非組換えダイズの試験区との間に差異は認められなかった。

以上より、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、2010年に我が国の隔離ほ場において本組換えダイズと対照の非組換えダイズとを隣接した試験区で栽培し、非組換えダイズへの自然交雑を調査したところ、交雑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との生殖に関わる諸形質を調査した結果、一株当たりの粗粒重及び百粒重で統計学的有意差が認められた。しかしながら、統計学的有意差が認められた粗粒重及び百粒重の平均値は、これまでに本隔離ほ場で試験栽培された従来ダイズの範囲内であった。このことから、本組換えダイズの生殖特性は従来ダイズの変動の範囲内であり、本組換えダイズの生殖特性にはツルマメとの交雑性に影響を与えるような違いはないと考えられた。このため、本組換えダイズとツルマメとの交雑性は従来ダイズとツルマメとの交雑率と同様に極めて低いと考えられた。

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 *dmo* 遺伝子により、ジカンバ耐性の形質を有すると考えられる。しかしながら、本形質は除草剤が散布されない自然条件下では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、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、本組換えダイズ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。