

遺伝子組換え生物等の第一種使用規程の
承認申請に係る審査報告書

除草剤グリホサート及びグルホシネート
耐性ダイズ DBN9004 系統

令和 5 年 5 月 2 9 日
農林水産省消費・安全局農産安全管理課

目 次

	頁
1. 第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論	1
2. 審査の概要	2
〈審査参考資料〉	
資料 1. 第一種使用規程承認申請書	7
資料 2. 審査データの概要	9
資料 3. 緊急措置計画書	4 9

Most of the summaries and evaluations contained in this report are based on unpublished proprietary data submitted for registration to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan. A registration authority outside of Japan should not grant a registration on the basis of an evaluation unless it has first received authorization for such use from the owner of the data submitted to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan or has received the data on which the summaries are based, either from the owner of the data or from a second party that has obtained permission from the owner of the data for this purpose.

1. 第一種使用規程の承認の申請に係る審査の結論

国立大学法人筑波大学及び SCC Scientific Consulting Company Japan 株式会社より、令和4年8月29日付けで承認申請のあった「除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ DBN9004 系統（以下「本組換えダイズ」という。）」について、生物多様性影響評価を行った。

本組換えダイズは、pDBN4003 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。

本組換えダイズには、改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子の発現カセットが、染色体上に1コピー組み込まれている。

これらに導入された遺伝子の発現により産生される改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質によって、それぞれ除草剤グリホサート及びグルホシネートに対する耐性が付与されている。

審査の概要は、本報告書の2のとおりである。学識経験者からは、本組換えダイズを承認申請のあった第一種使用規程に従って使用した場合に、生物多様性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の意見を得ている。

これらの結果に基づいて、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判断した。

(参考) これまでの審査経緯

日 付	事 項	備 考
令和4年 8月29日	第一種使用規程承認申請	
令和4年 9月29日	生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第1回）	非公開※
令和4年12月 6日	生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第2回）	非公開※
令和5年 3月17日	生物多様性影響評価検討会総合検討会における審査	公開
令和5年 5月 8日	学識経験者からの意見提出	公開
令和5年 5月29日	審査報告書とりまとめ	公開

※開発企業の知的財産等が開示され特定の者に不当な利益若しくは不利益をもたらすおそれがあるため。

2. 審査の概要

本組換えダイズは、pDBN4003 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、*Rhizobium radiobacter* CP4 株由来の改変 CP4 EPSPS 蛋白質をコードする改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *Streptomyces viridochromogenes* 由来の PAT 蛋白質をコードする *pat* 遺伝子の発現カセットが、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していることがサザンブロット解析により確認されている。また、目的の蛋白質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。

(1) 競合における優位性

宿主であるダイズは、我が国において長い栽培経験があるものの、これまで、我が国の自然条件下で雑草化した事例は報告されていない。

本組換えダイズには、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現により除草剤グリホサート及びグルホシネートに対する耐性が付与されている。しかし、これらの除草剤が散布されることが想定しにくい自然環境下において、本形質が競合における優位性を高めるとは考え難い。

また、本組換えダイズで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は、触媒する宿主の代謝系において EPSPS 蛋白質が律速酵素でないこと、EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質ともに基質特異性が非常に高いこと等の理由から、除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を付与する以外に、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本組換えダイズが競合における優位性に起因する生物多様性影響を生じ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) 有害物質の産生性

宿主であるダイズは、我が国において長い栽培経験があるものの、有害物質の産生性に関する報告はなされていない。

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

また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質が、シキミ酸経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋白質の活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられていること等から、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えダイズ中に新たな有害物質が産生されるとは考え難い。さらに、PAT 蛋白質は基質特

異性が高く、グルホシネート以外の化合物を基質とすることがないため、同蛋白質が宿主の代謝系へ作用して有害物質を産生するとは考え難い。

以上のことから、本組換えダイズが有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生じ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。

(3) 交雑性

交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定され、具体的な影響として、本組換えダイズがツルマメと交雑して雑種が形成され、改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が野生のツルマメ集団に浸透した後に、当該集団の競合における優位性が高まることが考えられた。

他方、交雑性に起因する影響の生じやすさを評価したところ、ダイズとツルマメが交雑する頻度は低いことが知られている上、ダイズとツルマメの雑種及びその雑種後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ダイズの遺伝子がツルマメに浸透する可能性は極めて低いと考察された。また、本組換えダイズがツルマメと交雑し、除草剤グリホサート及びグルホシネートに対する耐性を有する雑種やその後代が生じたとしても、両除草剤が散布されることが考え難い自然環境下において、本形質が競合における優位性を高めることはないと考えられることから、本組換えダイズの遺伝子がツルマメに浸透する可能性は、ダイズと同様に極めて低いと考察された。

以上のことから、本組換えダイズが交雑性に起因する生物多様性影響を生じ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。

(4) 結論

以上を総括すると、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、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。

〈審查參考資料〉

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

5

	第一種使用規程承認申請書	1
10	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.....	4
	(3) 生理学的及び生態学的特性.....	5
15	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.....	9
	(2) ベクターに関する情報.....	16
	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	16
	(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	19
20	(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	23
	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	23
	3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	24
	(1) 使用等の内容.....	24
	(2) 使用等の方法.....	24
25	(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.....	26
	(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.....	26
	(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.....	26
30	(6) 国外における使用等に関する情報.....	26
	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	28
	1 競合における優位性.....	28
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	28
	(2) 影響の具体的内容の評価.....	29
35	(3) 影響の生じやすさの評価.....	29

	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	29
2		有害物質の産生性	29
	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	29
	(2)	影響の具体的内容の評価	30
5	(3)	影響の生じやすさの評価	31
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	31
3		交雑性	31
	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	31
	(2)	影響の具体的内容の評価	31
10	(3)	影響の生じやすさの評価	31
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	33
4		その他の性質	34
	第三	生物多様性影響の総合的評価	35
	参考文献		38
15		緊急措置計画書	43
		隔離ほ場試験計画書	49
		別添資料リスト	60

資料 1

第一種使用規程承認申請書

令和 4 年 8 月 29 日

5 農林水産大臣 野村 哲郎 殿
環境大臣 西村 明宏 殿

10 氏名 国立大学法人 筑波大学
学長 永田 恭介
住所 茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1
申請者
氏名 SCC Scientific Consulting Company Japan
株式会社
代表取締役 後藤 秀俊
15 住所 東京都港区西新橋一丁目 2 番 9 号
日比谷セントラルビル 14 階

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

遺伝子組換え生物等の種類の名称	除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ (改変 <i>cp4 epsps, pat, Glycine max</i> (L.) Merr.) (DBN9004, OECD UI: DBN-09004-6)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	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：茨城県つくば市天王台1丁目1番1 名称：筑波大学 つくば機能植物イノベーション研究センター(T-PIRC) 産官学・共同研究部門 (インダストリアルゾーン)・模擬的環境試験圃場V (隔離ほ場) 使用期間：承認日から令和10年3月31日 1. 隔離ほ場の施設 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。 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。 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するとともに、本遺伝子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。 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風林を設置している。また、野鳥等の食害により拡散することを防止するため、播種時には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。 2. 隔離ほ場での作業要領 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。 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、本遺伝子組換えダイズが漏出しない構造の容器に入れる。 (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及び比較対照の非組換えダイズの栽培終了後、種子を除く植物体は隔離ほ場内に鋤き込む等により確実に不活化する。種子はオートクレーブで不活化後、廃棄する。 隔離ほ場で使用した機械、器具及び靴等は、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。 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。 (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。 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。 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には、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対応する。

資料 2

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

5 (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

① 和名、英名及び学名

和名：ダイズ

10 英名：soybean

学名： *Glycine max* (L.) Merr.

② 宿主の品種名又は系統名

15 遺伝子導入に用いた宿主の品種は Jack である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

ダイズは、マメ科 *Glycine* 属 *Soja* 亜属に属する。*Soja* 亜属には、栽培種であるダイズの他に、野生種として *G. soja* (和名: ツルマメ) や *G. gracilis* も含まれる(OECD, 2000)。細胞学的、形態学的及び分子生物学的知見から、栽培種であるダイズ (*G. max*) は野生種である *G. soja* が祖先と考えられている。*G. gracilis* は、*G. soja* から *G. max* への分化における中間種若しくは *G. soja* と *G. max* の雑種と考えられるという報告がある (OECD, 2000) が、確認はされていない。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 (沼田ら, 1975; 日本雑草学会, 1991)。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 (OECD, 2000)、わが国においては北海道、本州、四国及び九州に分布し、主に河川敷や前植生が攪乱された工場跡地や畑の周辺、その他、日当たりの良い野原や路傍に自生している (高橋ら, 1996; 沼田ら, 1975; 浅野, 1995; 大橋, 1999)。また、北海道、東北、四国で行われたツルマメの自生地に関する調査では、主に河川流域で自生地が多く確認されている (猿田ら, 2007; 猿田ら, 2009; 河野ら, 2004; 菊池ら, 2005; 山田ら, 2008; 友岡ら, 2009)。

35 なお、ダイズは夏型一年生の栽培種であり、自生しているという報告はない (OECD, 2000)。

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

5 ダイズの起源地域は中国東北部で、紀元前 1,100 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 (昆野, 1987)。わが国へは弥生時代に渡来し、栽培が始
まったと考えられている (山内, 1992)。

 わが国において、カルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けてい
る遺伝子組換えダイズ系統 (スタック系統は除く) は、これまでに 44 系統
10 (2022 年 6 月 21 日時点) があり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内
容で使用した場合、わが国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断
されている。国外における 2018 年の遺伝子組換えダイズ栽培面積の上位国は、
ブラジル 3,486 万 ha、米国 3,409 万 ha、アルゼンチン 1,800 万 ha となってい
る (ISAAA, 2018)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

a. 主たる栽培地域

20

 国際連合食糧農業機関 (FAO) の統計情報によると、2020 年の全世界におけ
るダイズの栽培面積は、約 12,695 万 ha であり、上位国を挙げるとブラジルが
約 3,718 万 ha、米国が約 3,331 万 ha、アルゼンチンが約 1,672 万 ha、インドが
約 1,210 万 ha となっている。なお、同統計情報に基づく 2020 年のわが国にお
ける栽培面積は、約 14.1 万 ha であった (FAOSTAT, 2022)。

25

b. 栽培方法

 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 月下旬、東北地方南部、北陸・東山地方で 6 月上旬、関東地方で 6
30 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 4 月上旬から下
旬 (夏ダイズ) 及び 7 月上旬から 8 月上旬 (秋ダイズ) となる。播種密度は、品
種や栽培条件によって異なるが、早生品種、寒地又は遅播きの場合などでは
密植が行われる。雑草の防除については、生育期間中に除草を早めに行い、
35 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
較的発生しにくくなる。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(栗原ら, 2000)。

5

c. 流通実態及び用途

2020 年のわが国におけるダイズの輸入量は、約 316 万トンであり、そのうちの約 75%が米国から、約 14%がブラジルから輸入されている(財務省, 2022)。一方で、わが国におけるダイズの生産量は約 21 万トンである(農林水産省, 2021)。

ダイズがわが国で使用される際の用途は、1) 搾油用、2) 飼料用及び 3) 食品用(搾油用を除く、以下同じ。)に大別される。2020 年には、ダイズ需要量の 65%に当たる約 229 万トンが搾油用、4%に当たる約 15.5 万トンが飼料用・種子等、30%に当たる約 105.3 万トンが食品用として用いられている(農林水産省, 2021)。

(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ずる(OECD, 2000)。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(後藤, 1995)。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(後藤, 1995)。また、ダイズの花芽分化には日長と温度が大きく影響する。花芽分化には、ある時間以上の暗期が必要で、温度は 15℃ 以上を要し 25℃ 前後までは高いほど促進的に働く。短日高温では開花を促進する効果が大きい、長日高温では促進効果がないか、かえって遅れることがある(昆野, 1987)。

ロ 生育又は生育可能な環境の条件

35

ダイズ種子の発芽適温は 30~35℃ であり(後藤, 2001)、土壌温度が 10℃ 以

上で発芽が可能となり、好適条件では 5～7 日で出芽する (OECD, 2000)。ダイズの生育適温は 25℃ 付近であるが、低温条件が続くと生育が抑えられ、子実生産も阻害される (昆野, 2001)。耐霜性がないため、冬季に凍結するような条件では生育できない (OECD, 2000)。ダイズの生育に適する土壤水分は飽和水分の 70% であり、最適 pH は 6.0～6.5 であるが、土壤に対する適応性は比較的広く、わが国では全国的に栽培可能である (後藤, 2001)。北米では栽培に適正な日長と緯度により、北部の[000]から赤道付近の[X]までの 13 の成熟群 (Maturity group) に品種を分類しており (OECD, 2000)、除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズの宿主品種である Jack は成熟群[II]に分類される早生種である (Nickell *et al.*, 1990)。

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

ダイズは成熟期を過ぎると、莢が乾燥して裂開し、種子が地表に落下する。裂莢性には品種間差があり、一般的に米国の無限伸育性品種は裂莢しにくい (大庭, 2001)。ダイズの育成品種では種子休眠性はほとんどみられない (OECD, 2000)。また、種子の寿命は比較的短く、常温で貯蔵した場合に通常約 3 年で発芽力を失う (昆野, 2001)。

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

ダイズは種子繁殖を行い、自然条件下において植物体を再生しうる組織又は器官を持つ報告はない。

- 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

ダイズは自殖性作物で (OECD, 2000)、通常、花が完全に開く前に雄ずいが
5 伸長し、裂開した葯が柱頭を摩擦するので、受粉は開花前に完了する。また、
開花期に乾燥や低温等の不順な気象条件に曝されると開花することなく蕾の
まま受精してしまう (阿部・島本, 2001)。

ダイズ他殖率は、一般的には 1%以下 (Caviness, 1966; Chiang and Kiang,
1987) とされるが、十分な花粉媒介昆虫の存在下で 2.5%であった事例も報告
10 されている (Ahrent and Caviness, 1994)。また、花色の異なる 2 品種を用いた交
雑性試験では、同一畝に 15.2 cm 間隔で交互に 2 品種を植えた場合の交雑率が
0.65~6.32%で、平均 1.8%であった (Ray *et al.*, 2003)。

わが国には、ダイズと交雑可能な近縁野生種であるツルマメが分布する。
15 ツルマメの受粉様式はダイズとほぼ同じであり、その自殖率もダイズ同様に
高い (阿部・島本, 2001)。他家受粉率については、2.3% (Kiang *et al.*, 1992) と
の報告がある一方、秋田県雄物川の河川敷で収集したツルマメの集団では 9.3
~19%の他家受粉率が報告されている (Fujita *et al.*, 1997)。この調査では、訪花
昆虫 (主にニホンミツバチとクマバチ) が頻繁に観察されており、その結果比
20 較的高い頻度で交雑が起こったものと考察されている。

従来ダイズとツルマメの雑種形成に関して、開花期の重なるダイズ品種
(丹波黒) とツルマメを 50 cm 間隔で交互に配置して栽培した場合、個体別の交
雑率は 0~5.89%、平均で 0.73%であった (Nakayama and Yamaguchi, 2002)。

さらに、農業環境技術研究所において、2005 年に除草剤グリホサート耐性
25 の遺伝子組換えダイズとツルマメを 5 cm 離して異なる 3 つの播種日で栽培し、
ツルマメ個体の収穫種子を調査したところ、ダイズと自然交雑した交雑種子
数は、それぞれの播種日で 7,814 粒中 0 粒、12,828 粒中 0 粒及び 11,860 粒中 1
粒であった (Mizuguti *et al.*, 2009)。

また、2006 年及び 2007 年には、遺伝子組換えダイズから 2、4、6、8 及び
30 10 m 離してツルマメを栽培した試験区を設定し、その自然交雑率を調査して
いる。その結果、自然交雑した交雑種子数は、2006 年の試験では 68,121 粒中
0 粒、2007 年の試験では、66,671 粒中 3 粒であった (吉村, 2008)。さらに、
2006 年及び 2007 年には、遺伝子組換えダイズのプロット (4 条 [10 個体/条])
35 の間にツルマメ 3 個体を網状の壁に沿わせて栽培した場合の自然交雑率が調
査されている (吉村, 2008)。その結果、ダイズと自然交雑した交雑種子数は、

2006 年の試験では 44,348 粒中 0 粒、ダイズとツルマメの開花期間の重複が長くなった 2007 年の試験では 25,741 粒中 35 粒であったと報告されている (吉村, 2008)。

従来ダイズからツルマメへの遺伝子浸透に関しては、わが国において経時的な調査が行われている。2003 年から 2006 年にかけて、ツルマメと従来ダイズの雑種が、どの程度自生地において形成されているかを確認するために、日本各地のダイズ畑周辺で栽培ダイズとツルマメとの中間体が探索されている。その結果、調査した 58 地点 (秋田県 8 地点、茨城県 7 地点、愛知県 4 地点、広島県 6 地点、佐賀県 33 地点) のうち、秋田県の 1 地点及び佐賀県の 5 地点から、形態的にダイズとツルマメの中間的な特徴を持つ 17 個体の中間体が発見され、その後、マイクロサテライトマーカーにより、これらの中間体は全てダイズとツルマメの自然交雑に由来することが明らかになったと報告されている (Kuroda *et al.*, 2010)。

しかし、これら発見された中間体が同じ集団内で生存し続けるかどうかの追跡調査を、中間体の見つかった秋田県 1 地点、佐賀県 5 地点について行ったところ、佐賀県の 1 地点を除き、翌年には雑種後代は確認されなかった。佐賀県の 1 地点では、翌年に 1 個体の雑種後代を確認したものの、翌々年は確認されなかったことが報告されている (Kuroda *et al.*, 2010)。

さらに、ダイズからツルマメへの自然交雑の有無を、DNA レベルで明らかにするために、F₁ 雑種及び雑種後代が発見された地点を含めて、秋田県、茨城県、佐賀県の 14 地点の種子 1,344 サンプルをマイクロサテライトマーカーで解析した結果、従来ダイズに由来する遺伝子のツルマメ集団中への浸透は確認されなかった (Kuroda *et al.*, 2008)。同様に、Stewart *et al.* (2003) も「ダイズから野生種への遺伝子浸透に関する分子学的事実はない」と述べている。

このようにダイズとツルマメが隣接して生育し、かつ開花期が重複する条件下では交雑が起こりうるが、このような特別な条件下においても、ダイズとツルマメが交雑する可能性は極めて低いと考えられる。

なお、ダイズに自家不和合性やアポミクシスについての報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ダイズの花には、1 花当たり 10 本の雄ずいがあり、各雄ずいは 1 つの葯を持つ (後藤, 1995)。1 葯当たりの花粉数は 374~760 粒 (Palmer *et al.*, 1987)、約 230~540 粒 (Koti *et al.*, 2004) との報告がある。花粉の寿命は短く、その発芽能力は湿度が一定でない条件下では約 8 時間で失われることが報告されている (Abel, 1970)。花粉の直径は、15~25 μm である (Palmer, 2000)。また、花粉の飛

散距離に関しては、農業環境技術研究所が 2001 年から 2004 年の 4 年間に行った除草剤グリホサート耐性遺伝子組換えダイズを用いた非組換えダイズとの交雑試験を行うことで検証している。その結果、交雑が観測された最長距離での交雑率は花粉親からの距離が、2001 年は 7.0 m で交雑率 0.040%、2002 5 年は 2.8 m で 0.080%、2003 年は 0.7~10.5 m まで調査したが交雑は認められず、2004 年は 3.5 m で 0.022%であった (Yoshimura *et al.*, 2006)。

ホ 病原性

10 —

ヘ 有害物質の産生性

ダイズが他感物質等のような野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす
15 有害物質を産生するという報告はない。

ト その他の情報

20 —

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

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

30 イ 構成及び構成要素の由来

本組換えダイズの作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は図 1 (p10) 及び表 1 (p11~12) に示した。

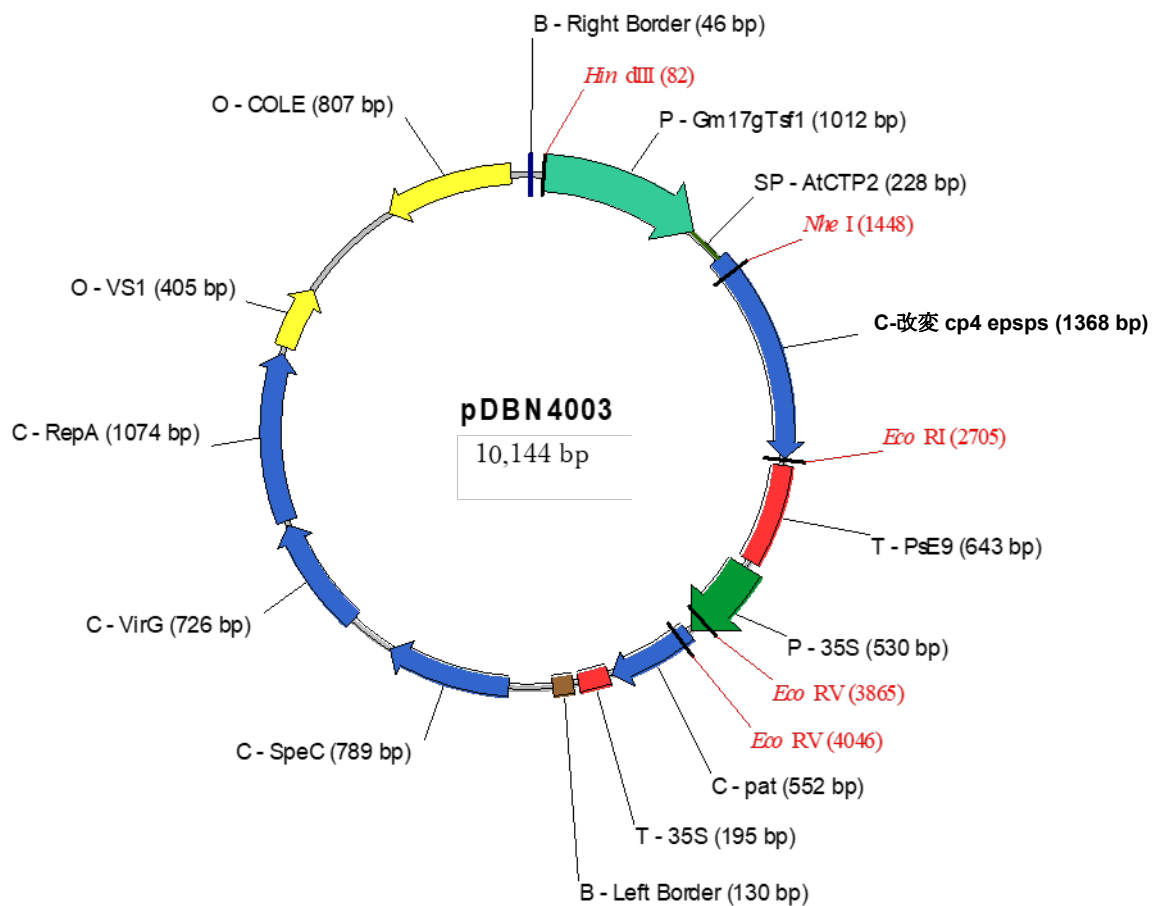


図 1 本組換えダイズの作出に用いられた pDBN4003 のプラスミドマップ¹

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

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

¹ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は開発者である Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.に帰属する。

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

構成要素 ¹	プラスミド中の位置 (bp)	由来及び機能
T-DNA 領域		
B-Right Border region	1-46	<i>Rhizobium radiobacter</i> ² 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む配列 (Yadav <i>et al.</i> , 1982)。
Intervening sequence	47-86	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
P-Gm17gTsf1	87-1,098	ダイズ (<i>Glycine max</i>) <i>tefS1</i> 遺伝子由来の eEF-1α ポリペプチドプロモーター (Aguilar <i>et al.</i> , 1991)。
SP-AtCTP2	1,099-1,326	<i>Arabidopsis thaliana</i> の葉緑体輸送ペプチドをコードする <i>ShkG</i> 遺伝子の配列で、改変 CP4 EPSPS 蛋白質を葉緑体へ輸送する (Klee <i>et al.</i> , 1987)。
C-改変 cp4 epsps	1,327-2,694	<i>R. radiobacter</i> strain CP4 株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子のコドンを変更したコード配列 (Barry <i>et al.</i> , 1997) で除草剤グリホサート耐性を付与する。
Intervening sequence	2,695-2,736	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
T-PsE9	2,737-3,379	エンドウ (<i>Pisum sativum</i>) リブローズ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニット RbcS2 をコードする <i>E9</i> 遺伝子の 3' 末端非翻訳領域 (Coruzzi <i>et al.</i> , 1984)。
Intervening sequence	3,380-3,427	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
P-35S	3,428-3,957	Cauliflower mosaic virus (CaMV) 由来のプロモーター配列 (Odell <i>et al.</i> , 1985) で植物において <i>pat</i> 遺伝子を発現させる。
Intervening sequence	3,958-3,976	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
C-pat	3,977-4,528	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来のホスフィノスリシン・アセチルトランスフェラーゼ (<i>pat</i>) 遺伝子を植物での発現を高めるためにコドン最適化した遺伝子で、除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (Wohlleben <i>et al.</i> , 1988)。
Intervening sequence	4,529-4,549	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
T-35S	4,550-4,744	Cauliflower mosaic virus (CaMV) 由来のターミネーター配列。mRNA のポリアダニル化を誘導する (Franck <i>et al.</i> , 1980; Pietrzak <i>et al.</i> ,

² 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は開発者である Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.に帰属する。

		1986)。
Intervening sequence	4,745-4,778	DNA クローニングの際に利用された配列 ³ 。
B-Left Border region	4,779-4,908	<i>R. radiobacter</i> 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む配列 (Yadav <i>et al.</i> , 1982)。
外側骨格配列 (本組換えダイズには存在しない)		
Intervening sequence	4,909-5,187	DNA クローニングの際に利用された配列。
C-SpeC	5,188-5,976	<i>Escherichia coli</i> 由来のアミノグリコシド 3'-アデニルトランスフェラーゼをコードする <i>aadA</i> 遺伝子のコード配列 (Fling <i>et al.</i> , 1985)。プラスミドが導入された菌体の選抜マーカーとして機能する。
Intervening sequence	5,977-6,275	DNA クローニングの際に利用された配列 ⁴
C-VirG	6,276-7,001	<i>R. radiobacter</i> 由来の二成分制御系 <i>vir</i> レギュロンの一部で (Pazour <i>et al.</i> , 1992)、アグロバクテリウムから植物への T-DNA 領域の導入を制御する。
Intervening sequence	7,002-7,030	DNA クローニングの際に利用された配列。
C-RepA	7,031-8,104	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 由来の複製蛋白質 RepA をコードする複製開始領域。細菌中でプラスミドの複製を促進する (Itoh <i>et al.</i> , 1984)。
Intervening sequence	8,105-8,146	DNA クローニングの際に利用された配列。
O-VSI	8,147-8,551	<i>P. aeruginosa</i> 由来のプラスミド pVSI に由来する複製開始のコンセンサス配列と分配領域で (Itoh <i>et al.</i> , 1984)、アグロバクテリウム中においてベクターに自律増殖能を付与する。
Intervening sequence	8,552-9,228	DNA クローニングの際に利用された配列 ⁴ 。
O-COLE	9,229-10,035	大腸菌 <i>E. coli</i> 由来の複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> 中でプラスミドの複製を開始させる (Itoh and Tomizawa, 1979; Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)。
Intervening sequence	10,036-10,144	DNA クローニングの際に利用された配列。

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

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

5 ³ 当該配列は特別な機能を有する配列を含まない。

⁴ 【社外秘により非開示】由来の配列。

ロ 構成要素の機能

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

5

本組換えダイズの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は、図 1
(p10) 及び表 1 (p11~12) に示した。

- ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産出される蛋白質の機能及
び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質
と相同性を有する場合はその旨

10

【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】

- 本組換えダイズには、*R. radiobacter* CP4株由来の改変 $cp4\ epsps$ 遺伝子が導
入されており、改変CP4 EPSPS蛋白質を発現する。改変CP4 EPSPS蛋白質は除
草剤グリホサートへの耐性を付与する。本組換えダイズに導入された改変 $cp4\ epsps$
遺伝子から発現する改変CP4 EPSPS蛋白質は、クローニングの過程で制
限酵素切断部位を挿入したことにより、*R. radiobacter* strain CP4 株由来のCP4
EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列と比較して、N末端配列から2番目のセリンがロ
イシンに改変されている。

20

除草剤グリホサートは、植物において芳香族アミノ酸の生合成経路である
シキミ酸経路の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)
と特異的に結合しその活性を阻害することで細胞死を引き起こす (Franz *et al.*,
1997)。本組換えダイズで産生される改変CP4 EPSPS蛋白質はグリホサート存
在下でも活性阻害を受けないため、本組換えダイズはシキミ酸経路が正常に
機能し除草剤グリホサートへの耐性を示す。

25

なお、同じ作用機作を示すCP4 EPSPS蛋白質を発現する遺伝子組換え作物
であり、カルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けている系統 (スタ
ック系統は除く) は、これまでに4作物31系統 (ダイズでは4系統) (2022年6月21
日時点) があり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場
合、わが国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断されている。

30

【PAT 蛋白質】

35

本組換えダイズには、*S. viridochromogenes*由来の pat 遺伝子が導入されてお

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

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

なお、同じ作用機作を示すPAT蛋白質を発現する遺伝子組換え作物であり、カルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けている系統 (スタック系統は除く) は、これまでに4作物31系統 (ダイズでは4系統) (2022年6月21日時点) があり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場合、わが国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断されている。

本組換えダイズで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質並びに PAT 蛋白質が、既知のアレルゲンと類似のアミノ酸配列を共有するか否かを判断するため、Allergen Online database version 21³に登録されている既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認した。その結果、改変 CP4 EPSPS 蛋白質について連続する 8 アミノ酸の一致を有する既知のアレルゲンは認められなかった、一方、連続する 80 以上のアミノ酸配列について、タイセイヨウサケ (*Salmo salar*) のコラーゲン α1 (I) 鎖と 35.02%の相同性を示した。しかしながら、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の由来である *R. radiobacter* がアレルギー性を持つとの報告はなく、これまで改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する遺伝子組換え作物が長年にわたり安全に使用されてきたことから改変 CP4 EPSPS 蛋白質がアレルギー性を有することはないと考えられた。また、PAT 蛋白質について連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を有する、又は連続する 8 アミノ酸の一致を有する既知のアレルゲンは認められなかった。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが本経路にお

³ The Allergen Online database version 21: Food Allergy Research and Resource Program (<http://www.allergenonline.org/>) により開発・運営されるデータベースで、2,233 のアミノ酸配列が含まれる (2021 年 2 月 14 日更新)。

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

PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートをアセチル化する反応を触媒するが、L-グルホシネートの構造類似体である L-グルタミン酸やその他の L-アミノ酸に対してアセチル基を転移することではなく、20 種のそれぞれのアミノ酸存在下においても L-グルホシネートへのアセチル基転移反応は阻害されることはない (Wehrmann *et al.*, 1996)。このことから、PAT 蛋白質はグルホシネートに対して高い基質特異性を有しており、グルホシネート以外の化合物を代謝して宿主の代謝系への影響を及ぼすことはないと考えられる。

また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質と PAT 蛋白質の酵素反応は異なり、それぞれの基質の構造も全く異なる。よって、本組換えダイズで発現している改変 CP4 EPSPS 蛋白質と PAT 蛋白質が植物体において相互に影響するとは考えにくい。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

- 5 本組換えダイズの作出に用いたプラスミドは、【社外秘につき非開示】を基に構築された pDBN4003 である (図 1, p10)。

ロ 特性

- 10 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 pDBN4003 の塩基数は 10,144bp である。なお、pDBN4003 の塩基配列は別添資料 1 に記載した。

- 15 ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

pDBN4003 は、*E. coli* 及びアグロバクテリウムにおける構築ベクターの選抜マーカーとしてスペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する *E. coli* 由来のアミノグリコシド 3'-アデニルトランスフェラーゼ (AAD) をコードしている *SpeC* 遺伝子のコード配列が 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

25 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

ハ 宿主内に移入された核酸全体の構成

30

宿主内に移入された pDBN4003 の構成要素は表 1 (p11~12) に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては図 3 (p20) に示した。

35

ニ 宿主内に移入された核酸の移入方法

pDBN4003 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により、宿主であるダイズ品種 Jack の子葉節へ導入した。

5

ホ 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方法

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

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

セファロスポリンを添加した培地により、形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体を除去した。さらに、本組換えダイズ T₃ 世代の種子において形質転換に用いた pDBN4003 の外側骨格領域を標的とした PCR 分析を行ったところ、本組換えダイズには pDBN4003 の外側骨格領域は存在しなかった (別添資料 2)。このことから、本組換えダイズには形質転換に用いられたアグロバクテリウム菌体は残存しないことが確認された。

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

30 形質転換後の子葉節を除草剤グリホサートを含む培地上で再分化させて T₀ 世代の植物体を得た。T₀ 世代から自殖により得られた T₁ 世代において、ddPCR (Droplet Digital PCR) 法により、導入遺伝子をホモ接合体で有する個体を選抜した。その後、自殖を繰り返し、各試験に用いた世代の植物体を得た (図 2, p18)。

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

35

5

10

【社外秘につき非開示】

15

20 図 2 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 移入した核酸の複製物が存在する場所

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

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

15 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、本組換えダイズのゲノム中1ヵ所に1コピーのT-DNA領域が組み込まれており、複数世代(T₃、T₅及びT₇世代)にわたり安定して後代に遺伝していることを確認した(別添資料4のFigure 3-1～3-6)。また外側骨格領域は導入されていないことが確認されて
20 いる(別添資料4のFigure 3-7～3-11)。なお、本組換えダイズにおける導入遺伝子の模式図を図3(p20)に示した。

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

25 1コピーであり、該当しない(別添資料4)。

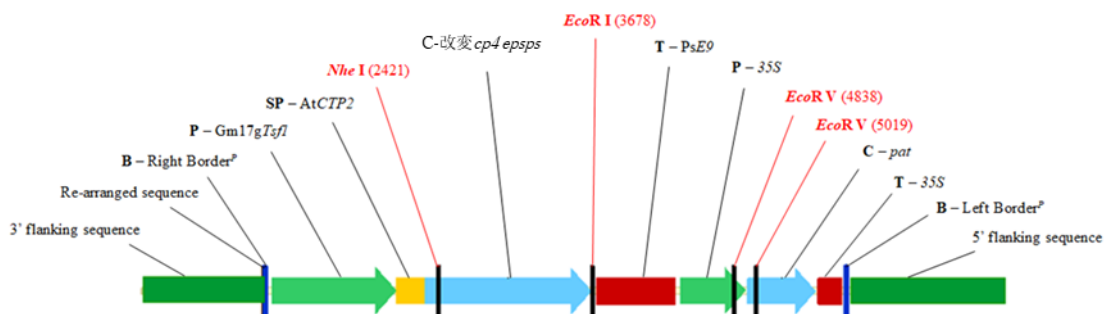


図3 本組換えダイズの導入遺伝子⁴

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

ELISA 法による分析の結果、本組換えダイズの複数世代 (T₄, T₅ 及び T₆ 世代) にわたり、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質が安定して発現していることが確認された (別添資料 5)。

2020 年に中国の 5 カ所の圃場 (吉林省、内モンゴル自治区、北京市、河北省及び山東省) において、それぞれ 5 反復で生育した本組換えダイズの葉、根、地上部及び種子での改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現量を ELISA 法により分析した (別添資料 6)。なお、葉のサンプリングは異なる生育ステージで 3 回行った (5 葉期、莢伸長初期及び子実肥大期)。その結果、本組換えダイズの葉、根、地上部及び種子で改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質の発現が確認された (表 2, p21; 表 3, p22; 別添資料 6)。

⁴ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は開発者である Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.に帰属する。

表 2 本組換えダイズの組織中における改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量⁵

組織	生育段階	処理 ¹	N ²	平均値±SD ³ (μg/g dwt ⁴)	範囲 (μg/g dwt)	平均値±SD (μg/g fwt ⁵)	範囲 (μg/g fwt)
葉	5 葉期	1	5	696.44±133.18	464.72-1109.38	125.36±23.97	83.65-199.69
		2	5	668.61±126.65	437.98-1115.88	120.35±22.8	78.83-200.86
	莢伸長初期	1	5	605.07±141.8	396.53-932.45	127.07±29.78	83.27-195.81
		2	5	594.07±139.32	382.23-1035.31	124.76±29.25	80.26-217.42
	子実肥大期	1	5	690.65±91.29	494.65-855	227.92±30.13	163.24-282.15
		2	5	699.29±94.58	488.66-947.94	230.76±31.21	161.26-312.83
根	子実肥大期	1	5	238.85±34.16	172.27-320.05	62.1±8.89	44.79-83.21
		2	5	241.64±30.57	169.07-317.97	62.83±7.95	43.95-82.67
地上部	子実肥大期	1	5	492.02±80.91	348.85-702.06	142.69±23.47	101.17-203.6
		2	5	489.86±77.14	358.97-661.37	142.06±22.37	104.1-191.8
種子	成熟期	1	5	192.39±40.95	108.2-266.19	172.32±21.06	91.66-241.4
		2	5	191.85±40.53	96.15-277.07	171.81±24.49	87.2-246.24

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

²N: 反復数

5 ³SD: 標準偏差

⁴dwt: 乾燥重

⁵fwt: 新鮮重

⁵ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は開発者である Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd. に帰属する。

表 3 本組換えダイズの組織中における PAT 蛋白質の発現量⁶

組織	生育段階	処理 ¹	N ²	平均値±SD ³ (μg/g dwt ⁴)	範囲 (μg/g dwt)	平均値±SD (μg/g fwt ⁵)	範囲 (μg/g fwt)
葉	5 葉期	1	5	97.91±27.59	48.7-162.78	17.63±4.97	8.77-29.3
		2	5	94.42±23.83	58.95-161.76	17±4.29	10.61-29.11
	莢伸長初期	1	5	100.13±33.2	49.67-197.08	21.02±6.97	10.43-41.39
		2	5	98.58±33.69	46.95-210.83	20.7±7.07	9.86-44.27
	子実肥大期	1	5	53.69±14.62	17.3-83.41	17.72±4.83	5.72-27.53
		2	5	50.69±15.05	21.14-86.7	16.72±4.97	6.97-28.61
根	子実肥大期	1	5	2.34±1.09	0.94-5.45	0.61±0.29	0.24-1.41
		2	5	2.31±0.98	0.95-4.89	0.6±0.25	0.24-1.27
地上部	子実肥大期	1	5	19.5±7.46	10.74-41.46	5.65±2.17	3.11-12.02
		2	5	18.6±5.39	10.06-36.05	5.39±1.56	2.91-10.46
種子	成熟期	1	5	1.14±0.27	0.59-1.71	1.03±0.09	0.5-1.57
		2	5	1.17±0.34	0.45-2.04	1.05±0.16	0.38-1.73

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

²N: 反復数

5 ³SD: 標準偏差

⁴dwt: 乾燥重

⁵fwt: 新鮮重

⁶ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は開発者である Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd. に帰属する。

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

5 移入された核酸の配列には伝達を可能とする機能はないため、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

10 本組換えダイズは、本組換えダイズに特異的なプライマーを用いて、Real-Time TaqMan PCR 法による検出及び識別が可能である (別添資料 7)。

本 PCR 法の検出限界値は、ゲノム DNA 量比で 0.045%以下である (別添資料 7)。

本法の信頼性はDaBeiNong社及びEurofins社において、施設間互換性が確保されていることが確認されている (別添資料 7)。

15

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

20

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

25

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

30 ダイズはわが国において長期にわたる栽培等の経験があるが、自然環境下において雑草化した事例は報告されていない。

本組換えダイズの宿主は非組換えダイズ品種 Jack であり、改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が導入されており、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質を発現する。

35 第一の 2-(1)-ロ-③ (p14~15) に記載したように改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋

白質の活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (Padgett *et al.*, 1996; Ridley *et al.*, 2002)。また、EPSPS 蛋白質は基質である PEP と S3P と特異的に反応することが知られており (Gruys *et al.*, 1992)、これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸である。しかし、EPSPS 蛋白質のシキミ酸及び S3P との反応について、反応の起こりやすさを示す特異定数 (Specificity constant) k_{cat}/K_m の値で比較すると、EPSPS 蛋白質のシキミ酸との反応特異性は、EPSPS 蛋白質の S3P との反応特異性の約 200 万分の 1 に過ぎず (Gruys *et al.*, 1992)、シキミ酸が EPSPS 蛋白質の基質として反応する可能性は極めて低い。よって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。また、PAT 蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する植物内在性物質を基質とすることがないため、宿主の代謝系に影響をおよぼすことはないと考えられた。

また、第一の 2-(1)-ロ-② (p13~14) に記載したように改変 CP4 EPSPS 蛋白質と PAT 蛋白質の酵素反応は異なり、それぞれの基質の構造も全く異なる。よって、本組換えダイズで発現している改変 CP4 EPSPS 蛋白質と PAT 蛋白質が植物体において相互に影響するとは考えにくい。

以上のことから、本組換えダイズの生理学的又は生態学的特性に関するデータを用いずに隔離ほ場で生物多様性影響評価を行うことは可能であると判断した。なお、本組換えダイズの隔離ほ場試験では、以下の項目を調査する予定である。

- ①形態及び生育の特性、②生育初期における低温耐性、③成体の越冬性、④花粉の稔性及びサイズ、⑤種子の生産量、裂莢性及び発芽率、⑥交雑率、⑦有害物質の産生性

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：茨城県つくば市天王台 1 丁目 1 番 1

名称：筑波大学 つくば機能植物イノベーション研究センター(T-PIRC) 産

官学・共同研究部門 (インダストリアルゾーン)・模擬的環境試験圃場V
(隔離ほ場)

使用期間：承認日から令和 10 年 3 月 31 日まで

5

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するとともに、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の防風林を設置している。また、野鳥等の食害により拡散することを防止するため、播種時には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。

2 隔離ほ場での作業要領

- (1) 本組換えダイズ及び比較対象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、本遺伝子組換え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、本組換えダイズ及び比較対照の非組換えダイズの栽培終了後、種子を除く植物体は隔離ほ場内に鋤き込む等により確実に不活化する。種子はオートクレーブにより不活化する。
- (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具及び靴等は、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には、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対応する。

- (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書に基づきモニタリングを実施する。

5

- (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

10

- (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

—

15

- (6) 国外における使用等に関する情報

本組換えダイズの国外における申請状況は、表 4 (p27) のとおりである。

表 4 本組換えダイズの海外における申請状況 (2022 年 11 月現在)⁷

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

なお、本組換えダイズのわが国における申請状況は以下のとおりである (表 5, p27)。

5

表 5 本組換えダイズのわが国における申請状況 (2022 年 11 月現在)⁸

機関	内容	申請・承認時期
厚生労働省	食品 ¹	2023年後半申請予定
農林水産省	飼料 ²	2023年後半申請予定
農林水産省・環境省	環境 (第一種使用規程: 隔離ほ場) ³	2022年8月申請

¹ 食品衛生法に基づく。

² 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

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

10

⁷ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は開発者である Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.に帰属する。

⁸ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は開発者である Beijing DaBeiNong Biotechnology Co., Ltd.に帰属する。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

第一の 2- (6)-② (p23~24) に記載したとおり、本組換えダイズの宿主の特性と導入した遺伝子の特性を考慮し、本組換えダイズを隔離ほ場試験で使用する
5 場合の生物多様性影響を生理学的又は生態学的特性データを用いずに評価した。

1 競合における優位性

10 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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

15

第一の 2- (1)-ロ-③ (p14~15) に記載したように、本組換えダイズで発現する
20 改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋白質の活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (Padgett
25 *et al.*, 1996; Ridley *et al.*, 2002)。また、EPSPS 蛋白質は基質である PEP と S3P と特異的に反応することが知られており (Gruys *et al.*, 1992)、これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸である。しかし、EPSPS 蛋白質のシキミ酸及び S3P との反応について、
30 反応の起こりやすさを示す特異定数 (Specificity constant) k_{cat}/K_m の値で比較すると、EPSPS 蛋白質のシキミ酸との反応特異性は、EPSPS 蛋白質の S3P との反応特異性の約 200 万分の 1 に過ぎず (Gruys *et al.*, 1992)、シキミ酸が EPSPS 蛋白質の基質として反応する可能性は極めて低い。よって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。また、
35 PAT 蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する植物内在性物質を基質とすることがないため、宿主の代謝系に影響をおよぼすことはないと考えられた。

また本組換えダイズが有する除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性は、除草剤グリホサート及び／又は除草剤グルホシネートが散布される環境
下においてのみ競合において優位に作用するが、自然環境下ではこれらの除

草剤が散布される環境は考え難く、本形質により競合における優位性が高まることはないと考えられる。

5 以上のことから、本組換えダイズの競合における優位性は非組換えダイズと相違はないと考えられる。また、本組換えダイズが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されることから、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。

10 (2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

15

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

20 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が生ずるおそれはないと判断した。

25 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

30 ダイズは弥生時代から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、これまでダイズにおいて有害物質の産生性は報告されていない。

第一の 2- (1)-ロ-③ (p14~15) に記載したように、本組換えダイズで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋白質の活性が増大しても、本経路の最終産物

である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている (Padgett *et al.*, 1996; Ridley *et al.*, 2002)。また、EPSPS 蛋白質は基質である PEP と S3P と特異的に反応することが知られており (Gruys *et al.*, 1992)、これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸である。しかし、EPSPS 蛋白質のシキミ酸及び S3P との反応について、反応の起こりやすさを示す特異定数 (Specificity constant) k_{cat}/K_m の値で比較すると、EPSPS 蛋白質のシキミ酸との反応特異性は、EPSPS 蛋白質の S3P との反応特異性の約 200 万分の 1 に過ぎず (Gruys *et al.*, 1992)、シキミ酸が EPSPS 蛋白質の基質として反応する可能性は極めて低い。よって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えダイズ中に新たな有害物質を産生されるとは考えにくい。また、PAT 蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する植物内在性物質を基質とすることがないため、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ことはないと考えられる。

第一の 2-(1)-ロ-② (p13~14) に記載したように本組換えダイズで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質について連続する 8 アミノ酸の一致を有する既知のアレルゲンは認められなかった、一方、連続する 80 以上のアミノ酸配列についてタイセイヨウサケ (*S. salar*) のコラーゲン $\alpha 1$ (I) 鎖と 35.02%の相同性を示した。しかしながら、EPSPS 蛋白質の由来である *Rhizobium radiobacter* がアレルギー性を持つとの報告はなく、これまで EPSPS 蛋白質を発現する遺伝子組換え作物が長年にわたり安全に使用されてきたことから、EPSPS 蛋白質がアレルギー性を有することはないと考えられた。また PAT 蛋白質について連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を有する、又は連続する 8 アミノ酸の一致を有する既知のアレルゲンは認められなかった。

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

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

—

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、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判断した。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

15

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 (沼田ら, 1975; 日本雑草学会, 1991)。したがって、交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。

20

(2) 影響の具体的内容の評価

ダイズとその近縁野生種であるツルマメとの間では、低い確率で交雑が生じ、雑種が形成される (OECD, 2000)。したがって、交雑性に関する具体的な影響としては、本組換えダイズ由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子及び *pat* 遺伝子が当該雑種からツルマメの集団中に浸透した後に、その集団の競合における優位性が高まることが考えられた。

25

(3) 影響の生じやすさの評価

30

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可能性があることは否定できない。

しかしながら、第一の 1-(3)-ニ-③ (p7~8) に記載したように、ダイズとツルマメはともに、自殖性植物であり、それぞれの集団が隣接して生育し、かつ開花期が重複した場合でもその交雑率は低いことが報告されている (Mizuguti *et al.*, 2009; Nakayama and Yamaguchi, 2002; 吉村, 2008)。

35

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

5 従来ダイズとツルマメの雑種形成及びその後のダイズからツルマメへの遺伝子浸透に関しては、経時的な調査も含め、研究が行われている。2003 年から 2006 年にかけてツルマメと従来ダイズの雑種が、どの程度自生地において形成されているかを確認するために、日本各地のダイズ畑周辺で栽培ダイズとツルマメとの中間型が探索されている。その結果、調査した 58 地点 (秋
10 田県 8 地点、茨城県 7 地点、愛知県 4 地点、広島県 6 地点、佐賀県 33 地点)のうち秋田県の 1 地点及び佐賀県の 5 地点から形態的にダイズとツルマメの中間的な特徴を持つ 17 個体の中間体が発見され、その後、マイクロサテライトマーカーにより、これらの中間体は全てダイズとツルマメの自然交雑に由来することが明らかとなった (Kuroda *et al.*, 2010)。

15 しかし、これら発見された中間体が同じ集団内で生存し続けるかどうかの追跡調査を中間体の見つかった秋田県 1 地点、佐賀県 5 地点について行ったら、佐賀県の 1 地点を除いて翌年には中間体は確認されなかった。佐賀県の 1 地点では、翌年に 1 個体の雑種後代を確認したものの、翌々年は確認されなかった (Kuroda *et al.*, 2010)。

20 さらに、ダイズからツルマメへの自然交雑の有無を DNA レベルで明らかにするために、F₁ 雑種及び雑種後代が発見された地点を含めて、秋田県、茨城県、佐賀県の 14 地点の種子 1,344 サンプルをマイクロサテライトマーカーで解析した結果、従来ダイズ由来の遺伝子のツルマメ集団中への浸透は確認されなかった (Kuroda *et al.*, 2008)。同様に Stewart *et al.* (2003) も「ダイズにおいて作物から野生種への遺伝子浸透に関する分子学的事実はない」と述べて
25 いる。

このようにダイズとツルマメの雑種の生存が制限される理由として、雑種自体の競合性の低下が考えられる。ダイズは人為的な栽培環境に適応進化しており、自然環境に適応したツルマメとは遺伝的、形態的、生理学的及び生態的特性に大きな違いがある。したがって、雑種及び雑種後代が栽培作物であるダイズの遺伝子がある割合で有することにより、自然環境に適応するのに不利になっている可能性がある。

実際に、人為的に交配して得た従来ダイズとツルマメの雑種を親系統とともに播種した後で、それらの定着の様子を 3 年間追跡調査した結果、雑種系統の定着率は親系統であるツルマメと比較して明らかに劣っていたことが示されている (Oka, 1983)。さらに、従来ダイズとツルマメの雑種においては、
35

休眠性、倒伏性、裂莢性はツルマメに比べ低下していることが報告されている (Chen and Nelson, 2004; Oka, 1983)。

Kuroda は 2003 年から 2006 年に行った中間体の調査の結果、雑種後代は速やかに自然環境から消失していたと報告している。さらに、従来ダイズ由来の遺伝子のツルマメ集団中への浸透が確認されなかった理由として、1) 硬実種子の割合が少ないため冬季に吸水した結果、種子が腐るあるいは発芽しても寒さにより枯死すること、2) 種子が越冬しても発芽後に他の植物との競合に勝てず、淘汰されたこと、の 2 つを挙げている (Kuroda *et al.*, 2010)。

以上の文献報告より、仮に交雑が起こって雑種ができたとしてもその雑種及びその雑種後代は、ダイズの遺伝子がある割合で有することにより、自然環境への適応においてツルマメと比べ不利となり、淘汰されることが考えられる。したがって、雑種及びその雑種後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ツルマメにダイズの遺伝子が浸透する可能性は極めて低いと考察された。

また本組換えダイズが有する除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性は、除草剤グリホサート及び／又は除草剤グルホシネートが散布される環境下においてのみ競合において優位に作用するが、自然環境下ではこれらの除草剤が散布される環境は考え難い。仮に本組換えダイズがツルマメと交雑し除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を有する雑種や後代が生じたとしても、除草剤グリホサート及び／又はグルホシネートが散布されない自然環境下においてツルマメと比べ有利となる点はないと考えられる。よって、雑種及びその雑種後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ツルマメに本組換えダイズの遺伝子が浸透する可能性は、従来ダイズと同様に極めて低いと考察された。

以上をまとめると、本組換えダイズとツルマメは、それぞれの集団が隣接して生育し、かつ開花期が重なり合うような特殊な条件であっても交雑率は極めて低いと推定される。さらに、仮に交雑したとしてもその雑種やその後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ツルマメに本組換えダイズの遺伝子が浸透する可能性は極めて低い、と考察される。したがって、交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断した。

(4) 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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えダイズの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判断した。

4 その他の性質

5

—

第三 生物多様性影響の総合的評価

第一の 2-(6)-② (p23~24) に記載したとおり、本組換えダイズの宿主の特性と導入遺伝子の特性を考慮し、本組換えダイズを隔離ほ場で使用する場合の
5 生物多様性影響を生理学的又は生態学的特性データを用いずに評価した。

競合における優位性

ダイズは弥生時代からわが国で栽培されていると考えられており、イネ・ムギとともに最も長い使用経験があるが、これまでわが国の自然環境下において雑草化した事例は報告されていない。
10

本組換えダイズは改変CP4 EPSPS蛋白質及びPAT蛋白質の発現により除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性が付与されている。本組換えダイズが有する除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性は、除草剤グリホサート及び／又は除草剤グルホシネートが散布される環境下においてのみ競合において優位に作用するが、自然環境下ではこれらの除草剤が散布される環境は考え難く、本形質により競合における優位性が高まることはないと考えられる。
15

また本組換えダイズで発現する改変CP4 EPSPS蛋白質及びPAT蛋白質は除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を付与する以外に、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。
20

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そ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が生じるおそれはないと判断した。
25

有害物質の産生性

ダイズは弥生時代から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、これまでダイズにおいて有害物質の産生性は報告されていない。
30

本組換えダイズでは除草剤グリホサート耐性を付与する改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び除草剤グルホシネート耐性を付与する PAT 蛋白質が発現しているが、改変 CP4 EPSPS 蛋白質及び PAT 蛋白質は有害物質としては知られていない。またこれらの蛋白質がアレルギー性を有することはないと考えられた。
35

改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ

酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋白質の活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。したがって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で新たな有害物質が産生されるとは考えにくい。また PAT 蛋白質は基質特異性が高く、グルホシネート以外の化合物を基質とすることがないため、PAT 蛋白質が宿主の代謝系へ作用して有害物質を産生するとは考えにくい。

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それらに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないと判断した。

交雑性

交雑性に起因して影響を受ける可能性のある野生動植物等としてツルマメが特定された。従来の知見より、ダイズとツルマメの集団が隣接して生育し、かつ開花期が重複した場合でもその交雑率は低いことが知られている。

仮にダイズとツルマメが交雑した場合でも、交雑により生じた雑種及びその雑種後代は、ダイズの遺伝子がある割合で有することにより、自然環境への適応においてツルマメと比べ不利となり、淘汰されることが考えられる。したがって、雑種及びその雑種後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ツルマメにダイズの遺伝子が浸透する可能性は極めて低いと考察された。

また本組換えダイズが有する除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性は、除草剤グリホサート及び／又は除草剤グルホシネートが散布される環境下においてのみ競合において優位に作用するが、自然環境下ではこれらの除草剤が散布される環境は考え難い。本組換えダイズがツルマメと交雑し除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性を有する雑種や後代が生じたとしても除草剤グリホサート及び／又はグルホシネートが散布されない自然環境下においてツルマメと比べ有利となる点はないと考えられる。よって、雑種及びその雑種後代がツルマメとの交雑を繰り返すことにより、ツルマメに本組換えダイズの遺伝子が浸透する可能性は、従来ダイズと同様に極めて低いと考察された。

以上のことから、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そ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じるおそれはない

と判断した。

以上を総合的に評価し、本組換えダイズを一定の作業要領を備えた限定環境で実施される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使用した場合に、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

5

参考文献

- Abel, G. H. 1970. Storage of Soybean Pollen for Artificial Crossing. *Agronomy journal*, v. 62, pp. 121-123.
- 5 Aguilar, F., P. E. Montandon & E. Stutz. 1991. Two genes encoding the soybean translation elongation factor eEF-1 alpha are transcribed in seedling leaves. *Plant Mol Biol*, 17, 351-60.
- Ahrent, D. K. & C. E. Caviness. 1994. Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. *CROP SCIENCE*, 34, 376-378.
- 10 Barry, G. F., G. M. Kishore, S. R. Padgett & W. C. Stallings. 1997. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. U.S. Patent, 5633435.
- Caviness, C. E. 1966. Estimates of Natural Crosspollination in Jackson Soybeans in Arkansas1. *Crop Science*, 6, cropscl1966.0011183X000600020034x.
- Chen, Y. & R. L. Nelson. 2004. Genetic Variation and Relationships among Cultivated,
15 Wild, and Semiwild Soybean. *Crop Science*, 44, 316-325.
- Chiang, Y. C. & Y. T. Kiang. 1987. Chiang, Y.C.; Kiang, Y.T. Geometric position of genotypes, honeybee foraging patterns and outcrossing in soybean. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 28, 1-11.
- Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards & N. H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-
20 regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase. *The EMBO journal*, 3, 1671-1679.
- FAOSTAT. 2022. Area harvested (Soybeans) <https://www.fao.org/faostat/en/#data> (Accessed Feb 3, 2022).
- Fling, M. E., J. Kopf & C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7
25 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3"(9)-O-nucleotidyltransferase. *Nucleic acids research*, 13, 7095-7106.
- Franck, A., H. Guilley, G. Jonard, K. Richards & L. Hirth. 1980. Nucleotide sequence of cauliflower mosaic virus DNA. *Cell*, 21, 285-94.
- Franz, J. E., M. K. Mao & J. A. Sikorski. 1997. *Glyphosate, a Unique Global Herbicide*.
- 30 Fujita, R., M. Ohara, K. Okazaki & Y. Shimamoto. 1997. The Extent of Natural Cross-Pollination in Wild Soybean (*Glycine soja*). *Journal of Heredity*, 88, 124-128.
- Gruys, K. J., M. C. Walker & J. A. Sikorski. 1992. Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. *Biochemistry*, 31, 5534-44.
- 35 ISAAA. 2018. Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2018.

- Itoh, T. & J. Tomizawa. 1979. Initiation of replication of plasmid ColE1 DNA by RNA polymerase, ribonuclease H, and DNA polymerase I. *Cold Spring Harb Symp Quant Biol*, 43 Pt 1, 409-17.
- 5 Itoh, Y., J. M. Watson, D. Haas & T. Leisinger. 1984. Genetic and molecular characterization of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. *Plasmid*, 11, 206-20.
- Kiang, Y. T., Y. C. Chiang & N. Kaizuma. 1992. Genetic Diversity in Natural Populations of Wild Soybean in Iwate Prefecture, Japan. *Journal of Heredity*, 83, 325-329.
- 10 Klee, H. J., C. S. Muskopf Ym Fau - Gasser & C. S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants.
- 15 Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka & D. Vaughan. 2010. The origin and fate of morphological intermediates between wild and cultivated soybeans in their natural habitats in Japan. *Molecular Ecology*, 19, 2346-2360.
- Kuroda, Y., A. Kaga, N. Tomooka & D. A. Vaughan. 2008. Gene Flow and Genetic Structure of Wild Soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science*, 48, 1071-1079.
- Mizuguti, A. K. I., Y. Yoshimura & K. Matsuo. 2009. Flowering phenologies and natural hybridization of genetically modified and wild soybeans under field conditions. *Weed Biology and Management*, 9, 93-96.
- 20 Nakayama, Y. & H. Yamaguchi. 2002. Natural hybridization in wild soybean (*Glycine max* ssp. *soja*) by pollen flow from cultivated soybean (*Glycine max* ssp. *max*) in a designed population. *Weed Biology and Management*, 2, 25-30.
- Nickell, C. D., G. R. Noel, D. J. Thomas & R. Waller. 1990. Registration of 'Jack' soybean. v. 30.
- 25 Odell, J. T., F. Nagy & N. H. Chua. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature*, 313, 810-2.
- OECD. 2000. CONSENSUS DOCUMENT ON THE BIOLOGY OF GLYCINE MAX (L.) MERR. (SOYBEAN). Paris: OECD Environmental Health and Safety Publications.
- 30 OECD. 2002. Module II: Herbicide Biochemistry, Herbicide Metabolism and the Residues in Glufosinate-Ammonium (Phosphinothricin)-Tolerant Transgenic Plants Environment Directorate Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.

- Oka, H.-I. 1983. Genetic Control of Regenerating Success in Semi-Natural Conditions Observed Among Lines Derived from a Cultivated x Wild Soybean Hybrid. *Journal of Applied Ecology*, 20, 937-949.
- Padgett, S. R., D. L. Taylor Nb Fau - Nida, M. R. Nida Dl Fau - Bailey, J. Bailey Mr Fau - MacDonald, L. R. MacDonald J Fau - Holden, R. L. Holden Lr Fau - Fuchs & R. L. Fuchs. 1996. The composition of glyphosate-tolerant soybean seeds is equivalent to that of conventional soybeans. *The journal of nutrition*, 126, 702-716.
- Palmer, R. G. 2000. Genetics of Four Male-Sterile, Female-Fertile Soybean Mutants. *Crop Science*, 40, 78-83.
- Palmer, R. G., M. C. Albertsen & H. E. Heer. 1987. Pollen production in soybeans with respect to genotype, environment, and stamen position. *Euphytica*, 27, 427-433.
- Ray, J. D., T. C. Kilen, C. A. Abel & R. L. Paris. 2003. Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. *Environ Biosafety Res*, 2, 133-8.
- Ridley, W. P., R. S. Sidhu, P. D. Ryla, M. A. Nemeth, M. L. Breeze & J. D. Astwood. 2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 7235-7243.
- Smart, C. C., D. Johanning, G. Muller & N. Amrhein. 1985. Selective overproduction of 5-enol-pyruvylshikimic acid 3-phosphate synthase in a plant cell culture which tolerates high doses of the herbicide glyphosate. *J Biol Chem*, 260, 16338-46.
- Stewart, C. N., Jr., M. D. Halfhill & S. I. Warwick. 2003. Transgene introgression from genetically modified crops to their wild relatives. *Nat Rev Genet*, 4, 806-17.
- Wehrmann, A., A. V. Vliet, C. Opsomer, J. Botterman & A. Schulz. 1996. The similarities of bar and pat gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nature Biotechnology*, 14, 1274-1278.
- Wohlleben, W., W. Arnold, I. Broer, D. Hillemann, E. Strauch & A. Punier. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin N-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. *Gene*, 70, 25-37.
- Yanisch-Perron, C., J. Vieira & J. Messing. 1985. Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene*, 33, 103-119.
- Yoshimura, Y., K. Matsuo & K. Yasuda. 2006. Gene flow from GM glyphosate-tolerant to conventional soybeans under field conditions in Japan. *Environ Biosafety Res*, 5, 169-73.

- Pazour, G. J., C. N. Ta & A. Das. 1992. Constitutive mutations of *Agrobacterium tumefaciens* transcriptional activator *virG*. *J Bacteriol*, 174, 4169-74.
- Pietrzak, M., R. D. Shillito, T. Hohn & I. Potrykus. 1986. Expression in plants of two bacterial antibiotic resistance genes after protoplast transformation with a new
5 plant expression vector. *Nucleic Acids Res*, 14, 5857-68.
- Yadav, N. S., J. Vanderleyden, D. R. Bennett, W. M. Barnes & M. D. Chilton. 1982. Short direct repeats flank the T-DNA on a nopaline Ti plasmid. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 79, 6322-6.
- 浅野貞夫. 1995. 原色図鑑 芽ばえとたね. 全国農村教育協会. 62
- 10 阿部純・島本義也. 2001. 第 6 章 ダイズの進化：ツルマメの果たしてきた役割. 山口裕文・島本義也 (編) 栽培植物の自然史－野生植物と人類の共進化－. 北海道大学図書刊行会. 77-95
- 大庭寅雄. 2001. ダイズの品種生態と選択 I 品種の生態型と選択. 農業技術大系作物編第 6 巻. 農山漁村文化協会. 102-105
- 15 大橋広好. 1999. 新装版 日本の野生植物 草本 II 離弁花類. 佐竹義輔・大井次三郎・北村四郎・亘理俊次・富成忠夫 (編) 平凡社. 211
- 菊池彰夫・猿田正恭・岡部昭典. 2005. 吉野川流域における野生大豆（ツルマメ）の収集. 植探報. 21 1-7
- 栗原浩・蓬原雄三・津野幸人・山田盾. 2000. 第 6 章 豆類 2. ダイズ. 作物栽培の
20 基礎. 農山漁村文化協会. 233-246
- 河野 雄飛・高田 吉丈・湯本 節三. 2004. 東北地域における野生大豆（ツルマメ）の収集－岩手県内北上川および北部河川流域－. 植探報. 20 11-17
- 後藤寛治. 1995. ダイズの起源と特性 III 植物としての特性. 農業技術大系作物編第 6 巻. 農山漁村文化協会. 基 19-25
- 25 後藤寛治. 2001. ダイズの起源と特性, I 栽培の起源と分布. 転作全書 2：ダイズ・アズキ. 農山漁村文化協会. 33-41
- 昆野昭晨. 1987. 13. 食用作物 ダイズ. 農学大事典編集委員会 (編) 農学大事典第 2 次増訂改版. 養賢堂. 511-557
- 昆野昭晨. 2001. 生育のステージと生理、生態 II 栄養生長の生理. 転作全書 2：ダイズ・アズキ. 農山漁村文化協会. 50-67
30
- 財務省. 2022. 財務省貿易統計 品別国別表. [2022/2/4]
- 猿田正恭・菊池彰夫・岡部昭典. 2007. 四万十川流域における野生大豆（ツルマメ）の収集. 植探報. 23 1-7
- 猿田 正恭・高田 吉丈・岡部 昭典. 2009. 愛媛県における野生大豆（ツルマメ）
35 の探索・収集. 植探報. 25 13-19

- 高橋将一・羽鹿牧太・異儀田和典. 1996. 九州中部で収集したツルマメの生育特性. 九州農業研究. 58 51
- 友岡 憲彦・Muthaiyan Pandiyan ・田口 哲彦・根本 英男・加賀 秋人・伊勢村 武久・Duncan A. Vaughan. 2009. 北海道におけるマメ科植物遺伝資源の探索
5 収集, 2008 年. 植探報. 25 1-11
- 日本雑草学会. 1991. 第Ⅱ編 雑草名. 改定・雑草学用語集. 日本雑草学会. 67
- 沼田真・浅野貞夫・奥田重俊・吉沢長人・桑原義晴・岩瀬徹. 1975. 新版・日本
原色雑草図鑑. 沼田真・吉沢長人 (編) 全国農村教育協会. 107
- 農林水産省. 2021. 国産大豆の生産・需要をめぐる動向.
- 10 山内文男. 1992. 大豆食品の歴史. 山内文男・大久保一良 (編) 大豆の科学. 朝倉書店. 1-13
- 山田 哲也・羽鹿 牧太・松永 亮一・高橋 浩司. 2008. 静岡県伊豆半島におけるツルマメの探索・収集. 植探報. 24 1-7
- 吉村泰幸. 2008. 遺伝子組換え植物と野生種との交雑率評価－圃場条件下における
15 遺伝子組換えダイズとツルマメとの自然交雑－. 第 23 回日本雑草学会
シンポジウム講演要旨 遺伝子組換え植物の生態系影響と管理－LMO の
適正な利用のために－. 30-33

資料 3

緊急措置計画書

令和 4 年 8 月 29 日

5

氏名 国立大学法人 筑波大学
学長 永田 恭介
住所 茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1

10

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

15

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

20

1. 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者
(令和4年11月現在)

SCC Scientific Consulting Company Japan 株式会社	
【個人情報につき非開示】	
【個人情報につき非開示】	
筑波大学	
◎ 【個人情報につき非開示】	助教
【個人情報につき非開示】	教授
○ 【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	助教
【個人情報につき非開示】	技術専門職員
筑波大学遺伝子組換え実験安全委員会 委員	
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	助教
【個人情報につき非開示】	准教授 遺伝子組換え実験安全委員会副委員長
【個人情報につき非開示】	教授

【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	准教授 遺伝子組換え実験安全委員会副委員長
【個人情報につき非開示】	教授 遺伝子組換え実験安全委員会委員長
【個人情報につき非開示】	講師
【個人情報につき非開示】	上級研究員

◎栽培試験責任者 ○管理責任者

2. 第一種使用等の状況の把握の方法

5

管理責任者及び栽培試験責任者は、第一種使用等の状況に関し実験従事者等から常に可能な限り情報収集を行う。また、筑波大学遺伝子組換え実験安全委員会は委員による査察を行う。

10 3. 第一種使用等をしている者に緊急措置に従って対処す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

15 生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合は、栽培試験責任者及び管理責任者は、直ちに実験従事者に口頭又は文書で伝えるとともに、当該影響を防止するために適切な措置を講ずるものとする。

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等

20 本組換えダイズが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に確認された場合には、直ちに栽培実験を中止し、本組換えダイズを隔離ほ場内において鋤き込む等、不活化又は拡散防止のための必要な処置を執る。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ダイズ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、必要な措置を速やかに実行する。

25

5. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

- 5 本組換えダイズが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に確認された場合には、弊学並びに弊社はそのことを直ちに農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。

モニタリング計画書

令和4年8月29日

5

氏名 国立大学法人 筑波大学
学長 永田 恭介
住所 茨城県つくば市天王台一丁目1番1

10

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

15 1. 実施体制及び責任者

除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性ダイズ (改変 *cp4 epsps, pat, Glycine max* (L.) Merr.) (DBN9004, OECD UI: DBN-09004-6)のモニタリングについて、現時点での実施体制及び責任者は以下に示すとおりである。

20

(令和4年11月現在)

筑波大学	
◎ 【個人情報につき非開示】	助教
○ 【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	助教

◎栽培試験責任者 ○管理責任者

2. モニタリングの対象となる野生動植物種等の種類の名称

名称 ツルマメ (*Glycine soja*)

25

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育又は生育状況

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。

- 5 なお、令和4年6月の時点で隔離ほ場の敷地内及び隔離ほ場周辺50mの範囲でツルマメの生育の有無を調査したが、生育は確認されなかった。

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. 実施期間、頻度その他のモニタリングの方法

- 10 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。

- 15 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集団当たり最低50粒の種子をサンプリングする。

- 20 3) 1)により、ツルマメの生育が認められない場合には、さらに隔離ほ場から50m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。

収集されたツルマメ種子に改変*cp4 epsps*遺伝子又は*pat*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。

- 25 6. モニタリング結果の解析方法

上述の交雑検定の結果をもとに、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報告方法

- 30 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

一種使用規程の申請時に、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。

8. その他の必要な事項

- 5 モニタリングの期間中に採取されたツルマメから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

第一部 受容環境

5 1. 隔離ほ場の所在地等

(1) 名称：筑波大学 つくば機能植物イノベーション研究センター(T-PIRC)
産官学・共同研究部門（インダストリアルゾーン）・模擬的環境試験圃
場V (隔離ほ場)

10 (2) 住所：茨城県つくば市天王台一丁目1番1

(3) 電話番号：029-853-6006

(4) 地図：図4 (p55) 参照

2. 責任者等

15

(1) 隔離ほ場試験の責任者：津田 麻衣 筑波大学 つくば機能植物イノベ
ーション研究センター (T-PIRC)

(2) 隔離ほ場管理責任者：松倉 千昭 筑波大学 つくば機能植物イノベ
ーション研究センター(T-PIRC) 産官学・共同研究部門 (インダストリアル
20 ゾーン) 長

3. 試験期間

承認日から令和10年3月31日まで

25

4. 施設概要

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、高さ 250
cm のフェンス (有刺鉄線、メッシュフェンス、コンクリート基部) を設置し
30 ている。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。土、遺伝子組換え体の
残渣等が付着した機械、器具及び靴等を洗浄するための洗い場を設置してい
るとともに、遺伝子組換え体の隔離ほ場の外への流出を防止するために、排
水設備を設置している (図5, p56)。

35

5. 面積

- (1) 隔離ほ場全体の面積：400 m²
- (2) 試験に使用する面積：約 300 m²
- 5 (3) 試験区の配置図：図 6 (p57) 参照

6. 隔離ほ場の周辺環境

(1) 隔離ほ場周辺の地形

- 10 隔離ほ場のあるつくば市は茨城県の南西部の関東平野に位置する。隔離ほ場のある筑波大学は、筑波・稲敷台地と呼ばれる標高 20～30 m の関東ローム層に覆われた平坦な地形に位置する。約 2.5 km 離れた場所には桜川があり、また南北に小貝川、谷田川、西谷田川などの河川がある。

(2) 土地利用状況

15

隔離ほ場は大学構内に位置する。また、大学の周辺は、畑、民家が散在している。

(3) 周辺の環境保護区

20

隔離ほ場は、環境省の定める自然保護地域 (国立公園、国定公園、自然環境保全地等) ではない。また、最も近い自然保護地域は、水郷筑波国定公園の筑波地区及び水郷地区 (霞ヶ浦) であり、茨城県土浦市の霞ヶ浦まで約 7

25

(4) 気象条件の平年値

隔離ほ場の最寄りの気象情報観測地点つくばアメダス観測所 (茨城県つく

30

ば市) における気象データの平年値を表 6 (p58) に示した。

(5) 台風の襲来履歴

① 平年値

隔離ほ場がある関東甲信地方への台風接近数⁹の平年値(1991年~2020年の30年平均)は、3.3個である(気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アクセス2022年6月21日)

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

5

② 過去10年の隔離ほ場周辺への台風の接近回数

関東甲信地方に台風が接近し、かつ隔離ほ場最寄の観測地点(茨城県つくばアメダス観測所)において日ごとの最大風速が15m/sを超えた¹⁰回数を隔離ほ場周辺への台風の接近回数とした¹¹。過去10年(2012~2021年)の隔離ほ場周辺への台風の接近回数は、合計2回(2018年10月及び2019年10月)であった(気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アクセス2022年6月21日)。

10

(6) 過去10年間に於ける隔離ほ場冠水の状況

15

大学構内の使用予定隔離ほ場および周辺の隔離ほ場において、過去10年間にわたって冠水した記録はない。

(7) 強風による被害の状況

20

使用予定の隔離ほ場が位置する大学構内における強風被害記録は把握している。当該ほ場が建築された2019年3月20日以降、強風による設備破損の記録はない。

25

(8) 市町村が策定するハザードマップ上の位置づけ

つくば市の洪水ハザードマップでは浸水が想定される区域とはなっていない(つくば市ホームページ、アクセス2022年6月21日)

https://www.city.tsukuba.lg.jp/_res/projects/default_project/_page/001/000/602/p5-6.pdf

30

⁹ 台風の中心が茨城県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県、東京都(島しょ部を除く)、神奈川県、山梨県、長野県のいずれかの気象官署等から300km以内に入った場合を「関東甲信地方に接近した台風」としている。

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

¹⁰ 台風の強風域の定義が平均風速15m/sであることによる。

http://www.jma.go.jp/jma/kishou/known/yougo_hp/haichi2.html

¹¹ 関東甲信越地方に台風が接近した年月における、アメダスのつくば観測所で記録された日ごとの最大風速が15m/sを超えた日の有無を確認した。該当年月において、日ごとの最大風速が15m/sを超える日が認められた場合、隔離ほ場周辺に台風が接近したと判断した。

つくば市の地震防災マップでは、茨城県南部を震源とするマグニチュード 7.3 の地震又はつくば市の直下を震源とするマグニチュード 6.9 の地震が起きた場合の震度は最大で震度 6 強が予想されている (つくば市ホームページ、アクセス 2022 年 6 月 21 日)

https://www.city.tsukuba.lg.jp/_res/projects/default_project/_page_/001/000/602/p39-40.pdf

(9) 隔離ほ場における鳥獣害の被害

鳥獣害の報告はない。

7. 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 (*Glycine soja*)

なお、2022 年 6 月の時点で隔離ほ場の敷地内及び隔離ほ場周辺 50m の範囲でツルマメの生育の有無を調査したが、生育は確認されなかった。

8. 栽培管理

(1) 栽培履歴

エンバク (2019 年 4 月～6 月) を土壌品質改良用に栽培し、種子結実前に耕起し鋤き込んだ。

遺伝子組換えセイヨウナタネ及び対照の非組換えセイヨウナタネ (2021 年 11 月～) を栽培中である。

(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。

5 (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)

10 ボランティア植物の発生を確認した場合、ただちに除草剤の散布又は隔離ほ場に浅く鋤き込む等の適切な手段で対処する。なお、本組換えダイズの栽培終了後も本隔離ほ場では遺伝子組換え作物の隔離ほ場試験等を実施する予定である。

(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

隔離ほ場は下記 1)~4)の設備を備えている。

15

- 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。
- 20 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するとともに、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。
- 25 4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風林を設置している。また、野鳥等の食害により拡散することを防止するため、播種時には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。

(5) 隔離ほ場での作業要領

- 30 1) 本組換えダイズ及び比較対象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) 組換え作物を隔離ほ場の外に運搬、又は保管する場合は、当該作物が漏出し
ない構造の容器に入れる。
- 3) 上記 2) により運搬、又は保管する場合を除き、本組換えダイズ及び比較
35 対照の非組換えダイズの栽培終了後、種子を除く植物体は隔離ほ場内に鋤
き込む等により確実に不活化する。種子はオートクレーブにより不活化後、

破棄する。

- 4) 隔離ほ場で使用した、機械、器具及び靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗淨すること等により、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 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) までの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には、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。
- 10



図 4 隔離ほ場所在地に関する地図 (国土地理院ウェブサービス¹²より)

¹² <https://maps.gsi.go.jp/>



図5 隔離ほ場施設写真¹³

ア：隔離ほ場名の標記、イ：圃場を囲うフェンス、ウ：立ち入り禁止表示、エ：施設内に設置された洗い場、オ：入口の施錠

¹³ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

表 6 隔離ほ場周辺における気象データの平年値¹⁵

(つくばアメダス観測所 (茨城県つくば市) における気象データの平年値)

要素	降水量 (mm)	平均気温 (°C)	最高気温 (°C)	最低気温 (°C)	平均風速 (m/s)	日照時間 (時間)
統計期間	1991 ～ 2020	1991 ～ 2020	1991 ～ 2020	1991 ～ 2020	1991 ～ 2020	1991 ～ 2020
資料年数	30	30	30	30	30	30
1 月	50.6	3.1	9.3	-2.8	2.3	206.8
2 月	47.1	4.2	10.2	-1.8	2.5	181.8
3 月	95.5	7.7	13.6	1.7	2.6	182.6
4 月	109.8	12.8	18.7	6.9	2.8	181.4
5 月	129.8	17.4	22.7	12.3	2.6	182.8
6 月	131.8	20.8	25.2	16.9	2.3	129.3
7 月	134.6	24.6	29.1	21.0	2.4	152.8
8 月	118.2	25.9	30.6	22.1	2.4	182.8
9 月	187.6	22.3	26.8	18.5	2.3	136.4
10 月	193.5	16.6	21.3	12.1	2.1	138.4
11 月	79.1	10.5	16.3	5.2	1.9	153.6
12 月	48.5	5.3	11.5	-0.5	2.1	185.7

気象庁ホームページ気象統計情報ページよりダウンロード (アクセス 2022 年 6 月 21 日)

- 5 https://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_sfc_ym.php?prec_no=40&block_no=47646&year=&month=&day=&view=

¹⁵ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

第二部 隔離ほ場での試験計画

【社外秘につき非開示】

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

別添資料リスト

5	別添資料 1	Sequence of Genetic Element in pDBN4003 (社外秘)
	別添資料 2	Specific PCR for Determination of Absence of Plasmid Vector pDBN4003 Backbone Sequences in DBN9004 Soybean (DBNBC-RS-2021-113) (社外秘)
10	別添資料 3	Chromosome location analysis of T-DNA insertion in DBN9004 soybean (DBNBC-BIO-2019017) (社外秘)
	別添資料 4	Southern Blot Analyses to Determine Copy Number of the Insert in DBN9004 (DBNBC-RS-2018106) (社外秘)
15	別添資料 5	The expressional stability of EPSPS and PAT in DBN9004 (DBNBC-RS-2018208) (社外秘)
	別添資料 6	Expression Levels of EPSPS and PAT Proteins in DBN9004 – China 2020 (DBNBC-RS-2020211) (社外秘)
	別添資料 7	Event specific quantitation of DBN-09004-6 Soybean (社外秘)