

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, <i>Glycine max</i> (L.) Merr.) (FG72, OECD UI: BCS-FG072-3)申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書	3
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	6
1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	6
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	6
(2) 使用等の歴史及び現状	6
(3) 生理学的及び生態学的特性	7
イ 基本的特性	7
ロ 生息又は生育可能な環境の条件	8
ハ 捕食性又は寄生性	8
ニ 繁殖又は増殖の様式	8
ホ 病原性	10
ヘ 有害物質の産生性	10
ト その他の情報	10
2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	11
(1) 供与核酸に関する情報	11
イ 構成及び構成要素の由来	11
ロ 構成要素の機能	12
(2) ベクターに関する情報	19
イ 名称及び由来	19
ロ 特性	19
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	20
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	20
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法	21
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	21
(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	22
(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	26
(6) 宿主又は宿主に属する分類学上の種との相違	26
3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	30
(1) 使用等の内容	30
(2) 使用等の方法	30

(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法	31
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置	31
(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	32
(6) 国外における使用等に関する情報	32
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	33
1. 競合における優位性	33
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	34
(2) 影響の具体的内容の評価	34
(3) 影響の生じやすさの評価	34
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	34
2. 有害物質の産生性	35
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	35
(2) 影響の具体的内容の評価	36
(3) 影響の生じやすさの評価	36
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	36
3. 交雑性	37
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	37
(2) 影響の具体的内容の評価	37
(3) 影響の生じやすさの評価	37
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	38
4. その他の性質	39
第三 生物多様性影響の総合的評価	40
参考文献	42
別添資料の内容	49
緊急措置計画書	50
モニタリング計画書	52
隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書	54

第一種使用規程承認申請書

平成 24 年 1 月 19 日

農林水産大臣 鹿野 道彦 殿
環境大臣 細野 豪志 殿

申請者 氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社
代表取締役社長 ギャビン マーチャント 印
住所 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 5 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, <i>Glycine max</i> (L.) Merr.)(FG72, OECD UI: MST-FG072-3)
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	<p>所在地：茨城県筑西市向上野 1500 番地 41 名称：バイエルクロップサイエンス株式会社 明野事業所 隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 28 年 3 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。</p> <p>(2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。</p> <p>(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えダイズの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、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> <p>(4) 隔離ほ場周辺には、防風林及び防風網を設置している。また、栽培試験期間中の播種期及び収穫期には栽培実験区画を覆うように防鳥網を設置し、野鳥等の食害による遺伝子組換え種子の拡散を防止する。</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</p>

	<p>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>
--	--

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

① 和名、英名及び学名

和名：ダイズ

英名：soybean

学名：*Glycine max* (L.) Merr.

② 宿主の品種名

宿主はダイズ(*Glycine max* (L.) Merr.)の米国栽培品種Jackである。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

*Glycine*属*Soja*亜属の栽培種ダイズは、中国北部及び中部の原産で、現在では世界各地に広く栽培されるが、野生の状態では確認されていない(OECD, 2000)。一方、*Soja*亜属の野生種ツルマメ(*G. soja*)はダイズの祖先種と考えられており、中国、ロシアの隣接地域、朝鮮、日本、台湾に分布している(OECD, 2000)。我が国においては北海道南部から九州まで分布し、河川の氾濫原や土手、路傍、畑の周辺や荒廃地等、適度の攪乱に曝される場所を主な生育地としている(阿部・島本, 2001)。

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

ダイズは、紀元前17～11世紀に中国東部で最初に栽培化されたと考えられている(OECD, 2000)。我が国への渡来は、これまでの推定では、1900～2000年前とされる(後藤, 2001)。西洋への導入は比較的新しく、現在の主要生産国である米国には1765年に導入された(Hymowitz and Harlan, 1983)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

世界の主要ダイズ生産国とその収穫面積は、2010年に米国3,101万ha、ブ

ラジル2,329万ha、アルゼンチン1,813万haであった(FAO, 2011)。他方、我が国の主な栽培地域とその作付面積は、2010年度に東北3.52万ha、北海道2.64万ha、九州2.20万haであった(農林水産省, 2011a)。

我が国のダイズ栽培の播種適期は、地域や品種により異なり、北海道(夏ダイズ型品種)では5月上中旬、東北・北陸地方(中間型品種の早・中生)では5月中下旬、関東から中国地方にまたがる地帯(中間型品種の晩生)では6月上～下旬、九州・四国地方では4月中下旬(夏ダイズ型品種)及び6月下旬～7月中下旬(秋ダイズ型品種)とされていたが、実際の農業経営では前作の収穫、気象条件等により適期播種が困難なことが多く、水田転換畑を主体に中間型品種作付地帯では晩播、秋ダイズ型品種作付地帯では早播傾向にある(大庭, 2001)。

我が国のダイズ輸入量は2010年に345.6万tで、主な輸入先は米国(246.7万t)、ブラジル(56.8万t)、カナダ(37.1万t)であった(農林水産省, 2011b)。国内消費仕向量は2010年概算値で363.8万t、その内訳は加工用263.9万t、飼料用11.3万t、種子用0.7万t等であった(農林水産省, 2011c)。

ダイズの用途は、青刈り・緑肥用、枝豆用、子実用等に大別され、子実用はさらに製油用、味噌、醤油、納豆、豆腐等の加工食品用に細分される(橋本, 2001b)。また、ダイズ濃縮蛋白は肉製品の増量剤や代用肉となり、粗油から分離されるリン脂質のレシチンは、天然乳化剤や潤滑剤等として用いられる(鎌田, 1999)。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ダイズは種子で繁殖する一年生植物である(OECD, 2000)。日長や温度に対する反応が多様なため、各地に適応した生態型の品種分化がみられる(橋本, 2001a)。発芽後2～3週間すると、根粒菌の寄生により根粒が形成され始め、空中窒素を固定して栄養源とする(後藤, 2001)。種子の百粒重は、特殊なものを除き10～50gの範囲である(国分, 2002)。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ダイズ種子の発芽適温は30～35℃であり(後藤, 2001)、土壌温度が10℃以上で発芽可能、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壌水分は飽和水分の70%であり、最適pHは6.0-6.5であるが、土壌に対する適応性は比較的広く、我が国では全国的に栽培可能である(後藤, 2001)。

宿主品種であるJackは、米国において、およそ北緯40～45度の栽培地域に適した成熟期グループ*(Maturity group II)(以下、「MG II」とする。)に分類される早生種である。

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休眠性を示すことはほとんどない(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

ダイズは種子繁殖であり、自然条件において他の器官からの繁殖は観察されていない。

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

ダイズは通常、花が完全に開く前に雄ずいが伸長し、裂開した蒴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閉花受精が行われる(阿部・島本, 2001)。このため、ダ

*米国では栽培に適正な日長と緯度より、品種を 13 (000～X) の成熟期グループに分類している (OECD, 2000)。

イズは自殖種と考えられる(OECD, 2000)。

ダイズの他殖率は、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%の事例も報告されている(Ahrent and Caviness, 1994)。また、花色の異なる2品種を用いた最近の交雑性試験では、同一畦に15.2cm間隔で交互に2品種を植えた場合の交雑率が0.65～6.32%、平均1.8%であった(Ray *et al.*, 2003)。

我が国において、ダイズと交雑可能な近縁野生種はツルマメである。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)。他殖率については、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%の他殖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、その結果比較的高い頻度で交雑が起こったものと考察されている。また、秋田県、茨城県、佐賀県で継続調査されたツルマメ集団では、他殖率の平均は2.2%、範囲は0～6.3%であった(Kuroda *et al.*, 2008)。このうち、秋田県の1地点及び佐賀県の5地点において採取された468個体のツルマメ、17個体の中間体、12個体のダイズについて、分子マーカーによる解析が行われた結果、これらの中間体はダイズからツルマメへの遺伝子流動によるものと判断された。他方、中間体からツルマメへの二次的な遺伝子流動は認められなかったことから、ダイズとツルマメの雑種形成の可能性はあるが、我が国の自然環境において更なる浸透交雑が起こる可能性は極めて低いと考えられた(Kuroda *et al.*, 2010)。なお、Kitamoto *et al.*(2012)は、ダイズ品種フクユタカと広島県下で採取したツルマメのF₂集団を用いたQTL解析から、個体当たりの種子数に関係する2つのQTLと越冬種子の生存率に関係する3つのQTLを見出し、これらのQTLがダイズとツルマメの雑種後代の適応度に関与することを明らかにした。

ダイズとツルマメの開花期のずれは両者の遺伝子交流を妨げる一因と考えられているが(阿部・島本, 2001)、晩生の秋ダイズ型品種作付地帯等では、両者の開花期が重なる可能性がある。開花期の重なるダイズ品種とツルマメを50cm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)。

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

ダイズは1花当たり3,600粒前後の花粉を生産し(Chiang and Kiang, 1987) 花粉の直径は30 μ m前後であるが、粘性のため互にくっつき塊状になる傾向にある(Yoshimura, 2011)。また、花粉の寿命は数時間であり、主として他殖が行われる場合にはミツバチなどの訪花昆虫によって花粉が媒介される。前述の花色の異なる2品種を用いた交雑性試験では、花粉源から0.9mで0.41%、5.4mで0.03%の交雑率が報告されている(Ray *et al.*, 2003)。なお、風による花粉の飛散状況を花粉捕集器を用いて実際に調査した結果、1日1cm²当たりの平均花粉捕捉数は、ダイズ畑の中で0.386粒、畑から2.5mの地点で0.694粒、5mで0.309粒、10mで0.077粒に過ぎず、風媒による他殖の可能性はほとんどないと判断された(Yoshimura, 2011)。

ホ 病原性

—

へ 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有害物質を産生するという報告はない。

ト その他の情報

—

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

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-FGØ72-3)(以下、「FG72」とする。)の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来を表1に示した。

表1 構成要素のベクター上の位置、サイズ、由来及び機能

構成要素	ベクター上の位置	サイズ	由来及び機能
改変 <i>hppd</i> 遺伝子発現カセット			
3'nos	3262-3553	292	<i>Rhizobium radiobacter</i> (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>)のプラスミドpTiT37のT-DNA由来ノパリン合成遺伝子の3'非翻訳領域を含む配列(Depicker <i>et al.</i> , 1982)。転写を終結し、3'ポリアデニル化を行う。
改変 <i>hppd</i>	3554-4630	1077	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 菌系A32の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遺伝子を由来とする。アミノ酸配列336番目のグリシンをトリプトファンへ置換することで除草剤イソキサフルトールへの親和性を低減し、耐性を付与する (Boudec <i>et al.</i> , 2001)。
TPotp Y	4631-5002	372	ヒマワリ (<i>Helianthus annuus</i>)及びトウモロコシ (<i>Zea mays</i>)のRuBisCo小サブユニット遺伝子由来の色素体輸送ペプチドのコード領域(アミノ酸配列55番目をチロシンへ置換している)を基に合成された (Lebrun <i>et al.</i> , 1996)。改変HPPD蛋白質を色素体に輸送する。
5'tev	5003-5143	141	タバコ etchウイルスの非翻訳配列を含み(Carrington and Freed, 1990)、改変 <i>hppd</i> 遺伝子発現カセットにおいてエンハンサーとして機能する。
Ph4a748 ABBC	5144-6433	1290	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>)のヒストンH4遺伝子のプロモーター領域を含む配列で、一部の内部配列を重複させることで植物細胞内でのプロモーター活性を高める(Chaboute <i>et al.</i> , 1987)。
2 <i>mepsps</i> 遺伝子発現カセット			
Ph4a748	6434-7448	1015	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>)のヒストンH4遺伝子のプロモーター領域を含む配列(Chaboute <i>et al.</i> , 1987)。植物中で構成的に2 <i>mepsps</i> 遺伝子の転写を開始させ

			る。
Intron1 h3At	7449-7929	481	シロイヌナズナ(<i>A. thaliana</i>)由来のヒストンH3.3第II遺伝子の第一イントロンを含む配列(Chaubet <i>et al.</i> , 1992)
TPotp C	7930-8301	372	ヒマワリ(<i>H. annuus</i>)及びトウモロコシ(<i>Z. mays</i>)のRuBisCo小サブユニット遺伝子由来の色素体輸送ペプチドのコード領域を基に合成された(Lebrun <i>et al.</i> , 1996)。2mEPSPS蛋白質を色素体に輸送する。
2mepsps	8302-9639	1338	トウモロコシ(<i>Z. mays</i>)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(<i>epsps</i> 遺伝子)に点突然変異を起こした、2変異5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(2mEPSPS蛋白質)をコードする遺伝子で、除草剤グリホサートに対する耐性を付与する(Lebrun <i>et al.</i> , 2003)。
3'histonAt	9640-10326	687	<i>A. thaliana</i> 由来のヒストンH4遺伝子の3'非翻訳領域(Chaboute <i>et al.</i> , 1987)を含む配列で、転写を終結させ、3'ポリアデニル化を生じさせる。
その他			
-	10327-10398 1-232	304	プラスミドベクターpMCS5の塩基配列(Hoheisel, 1994)。
-	233-457	225	プラスミドベクター pUC19 の塩基配列(Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)。
ORI ColE1	458-1244	787	<i>Escherichia coli</i> のプラスミド pBR322(Bolivar <i>et al.</i> , 1977)由来複製起点(ORI ColE1)を含む配列。
-	1245-1403	159	プラスミドベクター pUC19 の塩基配列(Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)。
<i>bla</i>	1404-2264	861	<i>E. coli</i> のプラスミドpBR322 (Bolivar <i>et al.</i> , 1977)由来β-ラクタマーゼ遺伝子を含む。
-	2265-2394	130	プラスミドベクター pUC19 の塩基配列(Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)。
ORI fl	2395-2840	446	繊維状ファーージfl(Dotto <i>et al.</i> , 1982)の複製起点(ORI fl)を含む配列。
-	2841-3261	421	プラスミドベクター pUC19 の塩基配列(Yanisch-Perron <i>et al.</i> , 1985)。

(注：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。)

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
 供与核酸の構成要素それぞれの機能は表1(p.11~12)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

2mepsps遺伝子

5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EC 2.5.1.19)(以下、「EPSPS蛋白質」とする。)は、植物や微生物に特有の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の一つであり、ホスホエノールピルビン酸(PEP)とシキミ酸-3-リン酸(S3P)から5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸(EPSP)を生ずる可逆反応を触媒する。EPSPS蛋白質はPEP及びS3Pと結合し3成分からなる酵素基質複合体中間体を作るが、除草剤グリホサートは可逆的にPEP結合部位に結合して競合的にその活性を阻害する(Boocock and Coggins,1983)。その結果、植物は蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり、枯死する。

FG72に導入された2mepsps遺伝子は、トウモロコシ(*Z. mays*)からクローニングされたEPSPS蛋白質をコードするepsps遺伝子の2ヶ所のヌクレオチドが点突然変異により置き換えられた遺伝子である。2mepsps遺伝子が産生する2変異5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(以下、「2mEPSPS蛋白質」とする。)のアミノ酸配列は、野生型のEPSPS蛋白質のアミノ酸の102番目のトレオニンがイソロイシンに、また106番目のプロリンがセリンにそれぞれ変化している。これにより、2mEPSPS蛋白質はグリホサートに対する結合親和性が低くなり、グリホサートによる活性阻害を受けずにシキミ酸合成が機能するため、グリホサートの存在下でも生育することができる。

また、2mEPSPS蛋白質のアミノ酸配列に基づき、2011年にアレルゲンデータベース(AllelgenOnline)に登録されているアレルゲンとの相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった。

なお、2mepsps遺伝子は、我が国において平成22年6月に一般使用の第一種使用規程承認が得られている除草剤グリホサート耐性ワタ

GHB614(OECD UI:BCS-GH002-5)に導入されている。

改変hppd遺伝子

4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ {4-hydroxy phenylpyruvate dioxygenase(EC 1.13.11.27)} (以下、「HPPD蛋白質」とする。)は、数種のグラム陽性菌及び全ての好気性生物に存在し、40k-50kDaのサブユニットから構成され、細菌では4量体、真核生物では2量体の酸素添加酵素である。植物の細胞内では、HPPD蛋白質はチロシンの代謝経路において

-ヒドロキシフェニルピルビン酸(*p*-HPP)及び1分子の酸素とともに酵素基質複合体を形成し、ホモゲンチジン酸(HGA)の合成を触媒する。その後HGAはチロシン異化経路に入る他、プラストキノン合成及びトコフェロール合成に利用される。プラストキノンは光合成電子伝達系の補因子として利用されるだけでなく、ビタミンAの合成に必要なカロチノイド合成系における補因子としても機能する。なお、トコフェロールは植物の成長及びストレス反応に必要とされるビタミンEに含まれる(DellaPenna and Pogson, 2006)。

除草剤イソキサフルトールは、植物の根及び葉より吸収されると速やかに2-シクロプロピル-3-(2-メシル-4-トリフルオロメチルフェニル)-3-オキソ-プロパンニトリル(除草剤イソキサフルトール由来のジケトニトリル構造物。以下、「DKN」とする。)へと分解され、生じたDKNが

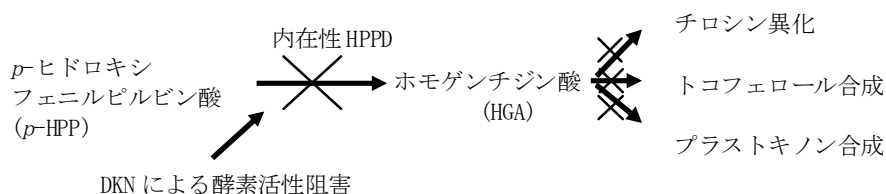
-HPPと競合してHPPD蛋白質の活性部位に可逆的に結合することにより、HPPD蛋白質の活性を阻害する。その結果、植物はHGAを合成できなくなり、それに伴ってチロシン異化、プラストキノン及びトコフェロールの合成が阻害される結果、葉緑体の分解を伴った白化症状を示し、その後、枯死する(図1, p.15)。

FG72に導入された改変hppd遺伝子は、*Pseudomonas fluorescens*よりクローニングされたHPPD蛋白質をコードする野生型hppd遺伝子の1箇所のヌクレオチドを点突然変異により置き換えた遺伝子であり、HPPD蛋白質のアミノ酸配列336番目のグリシンがトリプトファンに変化したHPPD蛋白質 (以下、「改変HPPD蛋白質」とする。)を産生する。改変前の野生型HPPD蛋白質におけるDKNへの親和性は $K_m=29.8\mu\text{M}$ であるが

(K_m : ミカエリス定数)、この改変により、改変HPPD蛋白質は活性中心付近の構造が変化することによりDKNに対する結合親和性が $K_m=138\mu\text{M}$ へと低下する(Matringe *et al.*, 2005)。その結果、DKNによる活性阻害を受けずHGA合成が機能するため、チロシン異化、トコフェロール合成及びプラストキノンの合成が正常に行われ、生育することができる(図1)。

また、改変HPPD蛋白質のアミノ酸配列に基づき、2010年にアレルゲンデータベース(AllelgenOnline)に登録されているアレルゲンとの相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった。

i) 非組換えダイズの除草剤イソキサフルトール散布時



ii) FG72 の除草剤イソキサフルトール散布時

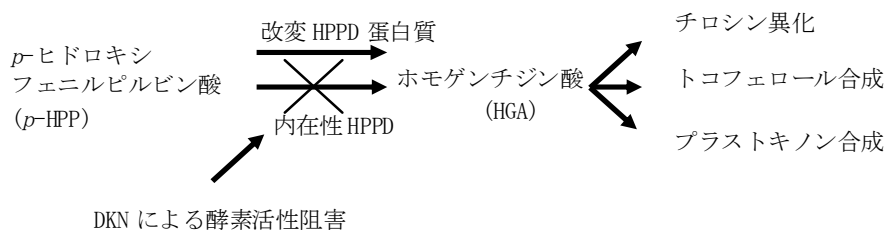


図1 改変 HPPD 蛋白質の作用機構

HPPD は *p*-ヒドロキシフェニルピルビン酸(*p*-HPP)からホモゲンチジン酸(HGA)への反応を触媒する。通常、イソキサフルトールの細胞内分解産物である DKN によってこの酵素活性が阻害され、チロシン異化、トコフェロール合成及びプラストキノロン合成ができなくなり、枯死するのに対して、改変 HPPD 蛋白質は影響を受けず、正常な代謝ができることで除草剤イソキサフルトールに対して耐性を示す。

(注：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。)

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

2mEPSPS蛋白質

2mEPSPS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蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS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おり(Weiss and Edwards, 1980; Herrmann, 1983)、実際に通常の40倍のEPSPS蛋白質を産生する植物培養細胞において、芳香族アミノ酸は過剰に合成されないことが報告されている(Smart *et al.*, 1985)。

なお、2008年米国10試験地において栽培されたFG72の収穫種子(T8世代：図4②, p.22)における芳香族アミノ酸(フェニルアラニン、トリプトファン及びチロシン)の含有量には、FG72の宿主品種Jack(以下、「宿主品種」とする。)の種子と比較して統計学的有意差は認められなかった(表2, p.18)。

また、EPSPS蛋白質はPEP及び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(Gruys *et al.*, 1992)、高い基質特異性を有している。

以上から、2mepsps遺伝子の発現により、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

改変HPPD蛋白質

改変HPPD蛋白質と機能的に同一なHPPD蛋白質は、数種のグラム陽性菌及び全ての好気性生物に存在し、*p*-HPPを基質としHGAへの反応を触媒することが知られている(Gunsior *et al.*, 2004; Moran, 2005)。哺乳類においてはフェニルアラニンの異常代謝の際、HPPD蛋白質が例外的にフェニルピルビン酸(PPA)を基質とするとの報告があるが、大腸菌や放線菌の一種である*Streptomyces avermitilis*といった微生物においてPPAは基質として利用されず(Olivera *et al.*, 1998; Johnson-Winters *et al.*, 2003)、また、植物においてもシロイヌナズナ由来のHPPD蛋白質においてPPAは基質として利用されないと報告されている(Purpero and Moran, 2006)。

上述のように、HPPD蛋白質の作用により産生されるHGAは3つの反応経路に関与する。チロシン異化においてはフマル酸とアセト酢酸に分解さ

れ、その後クエン酸回路に入り、またHGAはプラストキノンに合成され、補酵素としてカロチノイドの合成に関与する。さらに、HGAはビタミンEに含まれる各種トコフェロールの合成にも関与する。そのため、FG72において改変HPPD蛋白質の産生により既存のHPPD蛋白質に相加的に働いてHPPD蛋白質活性が増大することによる影響が考えられた。しかしながら、HPPD蛋白質活性が増加しても、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おり(Tsegaya *et al.*, 2002; Rippert *et al.*, 2004; Dufourmantel *et al.*, 2007)、さらにHPPD蛋白質はこれらの反応経路における律速酵素ではないと考えられている(Shewmaker *et al.*, 1999; Collakova and DellaPenna, 2003)。

実際に、2008年に米国10試験地において栽培したFG72(T8世代：図4 ②, p.22)及び宿主品種の収穫種子におけるアミノ酸組成を調査したところ、いずれのアミノ酸含量においても宿主品種との間に統計学的有意差は認められなかった(表2, p.18)。また、ビタミンについては、ダイズの基本的栄養素として重要な各種ビタミンについて調査を行ったところ、ビタミンB1、 α -トコフェロール、 γ -トコフェロール及び総トコフェロールにおいて系統間に統計学的有意差が認められたが、いずれも文献値の範囲内であった(表3, p.18)。また、ビタミンA及びビタミンKについては一部の測定値で検出限界以下となったため、統計解析は行わなかったが、いずれもFG72における平均値は宿主品種とほぼ同じであった。

FG72の種子におけるアミノ酸組成及び各種ビタミン含量は宿主品種と同程度であることから、FG72において改変HPPD蛋白質の発現によるHPPD蛋白質活性への影響は低いと考えられる。

以上から、改変*hppd*遺伝子の発現により、宿主の代謝系に及ぼす影響は低いと考えられる。

表2 FG72及び宿主品種の種子におけるアミノ酸構成及び統計解析

アミノ酸 (%乾燥重量)	FG72	宿主品種	p値 ¹⁾	文献値 ²⁾
アラニン	1.68±0.04	1.68±0.04	0.901	1.51-2.10
アルギニン	2.91±0.10	2.94±0.10	0.344	2.17-4.30
アスパラギン酸 ³⁾	4.38±0.12	4.40±0.12	0.555	3.81-5.12
システイン	0.58±0.02	0.58±0.03	0.476	0.37-0.81
グルタミン酸 ³⁾	6.77±0.23	6.75±0.21	0.812	5.84-8.20
グリシン	1.68±0.04	1.68±0.04	0.960	1.46-2.27
ヒスチジン	1.05±0.03	1.05±0.03	0.963	0.84-1.22
イソロイシン	1.80±0.05	1.81±0.05	0.379	1.54-2.32
ロイシン	2.99±0.08	2.99±0.08	0.671	2.20-4.00
リジン	2.48±0.06	2.48±0.05	0.943	1.55-2.84
メチオニン	0.54±0.02	0.54±0.02	0.916	0.43-0.76
フェニルアラニン	1.98±0.06	1.97±0.05	0.264	1.60-2.39
プロリン	1.82±0.07	1.82±0.07	0.753	1.69-2.33
セリン	1.99±0.08	1.97±0.07	0.546	1.11-2.48
スレオニン	1.54±0.04	1.55±0.04	0.254	1.14-1.89
トリプトファン	0.44±0.03	0.45±0.03	0.119	0.36-0.67
チロシン	1.40±0.04	1.40±0.04	0.582	0.10-1.61
バリン	1.88±0.05	1.89±0.06	0.609	1.50-2.44

分析値は、2008年米国10箇所の試験地(Marcus, Iowa Falls, Glidden, Perry, Adel, Winterset, Osborn, Fithian, Sharpsville, Mediapolis)毎に3反復区それぞれから採種した種子における平均値±標準偏差(n=30)。

1): 有意水準5%において分散分析による有意差検定を行った。

2): OECD(2001)、ILSI(2007)より引用。

3): 加水分解後に測定しているため、アスパラギン酸及びグルタミン酸の数値は、それぞれアスパラギン、グルタミンを含む値。

(注：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。)

表3 FG72及び宿主品種の種子における各種ビタミンの構成及び統計解析

ビタミン (mg/kg 乾燥重量)	FG72	宿主品種	p値 ¹⁾	文献値 ²⁾
ビタミンB1	3.44±0.95	3.59±0.76	0.009	1.01-16.02
ビタミンB2	4.52±0.89	4.42±0.88	0.253	1.9-14.5
葉酸	3.068±0.300	2.976±0.353	0.117	2.4-4.7
ビタミンA	0.261±0.112	0.217±0.047	NA ³⁾	0.26-4.37
ビタミンK	0.203±0.078	0.191±0.069	NA ³⁾	0.38-0.51
α-トコフェロール	19.0±5.1	17.4±3.9	<0.001	2-70
γ-トコフェロール	200±14	195±16	0.038	18-461
δ-トコフェロール	75.2±8.3	74.1±7.4	0.408	31-186
総トコフェロール	294±14	286±16	0.017	120-674

分析値は、2008年米国10箇所の試験地(Marcus, Iowa Falls, Glidden, Perry, Adel, Winterset, Osborn, Fithian, Sharpsville, Mediapolis)毎に3反復区それぞれから採種した種子における平均値±標準偏差(n=30)。

1): 有意水準5%において分散分析による有意差検定を行った。

2): OECD(2001)、ILSI(2007)より引用。

3): NA; 一部の測定値が検出限界値以下のため統計解析を行わなかった。

(注：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。)

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

FG72の作出に用いたベクターは、pCMS5に由来するプラスミドpSF10である(図2, p.20)。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

FG72の作出に用いられたプラスミドpSF10の全塩基数は10,398bpである。本ベクターの構成要素は表1に示した(p.11~12)。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

プラスミドpSF10はアンピシリン耐性を付与する*bla*遺伝子を有する。*bla*遺伝子は、本プラスミドを構築する際の選抜マーカーとして利用されたが、植物のプロモーターを持たないためダイズ細胞中では機能しない。また、プラスミドpSF10は形質転換前に*Sal I* で切断され、遺伝子導入に用いられているため、宿主への*bla*遺伝子の導入はなされていない。なお、*bla*遺伝子を含むベクター外骨格がFG72に導入されていないことはサザンブロット分析により確認されている(別添資料1, p.27~32, Table 7, 8 及び Figure 17~19)。

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

プラスミドpSF10は伝達性を持たないため、感染性はない。

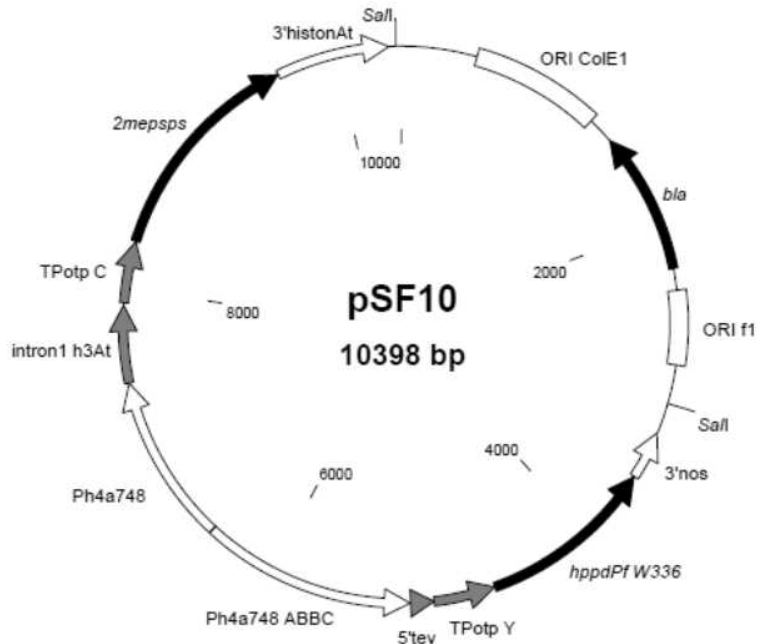


図2 pSF10のベクター地図及び制限酵素切断部位

(図中の*hppdPfW336*は改変*hppd*遺伝子を示す。)

(注：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。)

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

宿主内には、pSF10上の*Sal I* 制限酵素サイトに挟まれた改変*hppd*遺伝子発現カセット ([Ph4a748ABBC]-[5'tev]-[TPotp Y]-[改変*hppd*]-[3'nos])及び2*mepsps* 遺伝子発現カセット ([Ph4a748]-[intron1 h3At]-[TPotp C]-[2*mepsps*]-[3'histonAt])が移入された。*Sal I* 断片領域の構成を図3(p. 21)に示した。

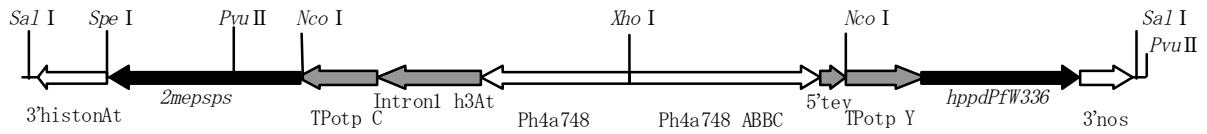


図3 *Sal*I 制限酵素断片の構成及び制限酵素による切断部位
(図中の *hppdPfW336* は改変 *hppd* 遺伝子を示す。)

(注：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。)

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミドpSF10を制限酵素*Sal*Iにて処理し、目的とする改変*hppd*遺伝子発現カセット及び*2mepsps*遺伝子発現カセットを含む7.3kbの断片を直接遺伝子導入法(ボンバードメント法)により宿主品種の培養細胞へ導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

直接遺伝子導入法による処理後の培養細胞は、DKNを含む培地で選抜した。選抜されたカルスは植物ホルモンを含まない培地上で不定胚の形成を経て植物体再生を行った。再生個体は温室にて順化、鉢上げを行った。

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

—

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

生育した苗条をポットに移植して温室内で栽培し、組換え当代(T0世代)を得た。除草剤グリホサート耐性形質により優良系統を選抜した。なお、本申請の対象は、組換え当代(T0世代)において除草剤グリホサート耐性を示した株を2度自殖することにより得た後代(T2世代)の内、*2mepsps*遺伝子及び改変*hppd*遺伝子において遺伝子型及び安定性を確認した以降の世代である。

FG72の育成の経過を図4(p.22)に示した。

社外秘情報につき非開示

図4 FG72の育成の経過

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

T1世代における導入遺伝子の遺伝子型を1個体1列法により調査した。T1世代の各個体より得られたT2世代の種子(図4 ①)を由来親毎にそれぞれ1つの畦に播種し、除草剤グリホサート処理を行った結果、全てグリホサート耐性株で構成された系統が1系統、また一部に感受性株を有する系統4系統が得られた。この内、一部に感受性株を有する系統、すなわち導入遺伝子に関してヘテロ接合性であるT1各個体より得られたT2世代4系統の172個体について除草剤グリホサート耐性個体及び感受性個体の分離比を調査した。その結果、一遺伝子座支配と仮定した場合に想定される分離比を示した(表4)。

表4 FG72における除草剤グリホサート耐性・感受性の分離

社外秘情報につき非開示

また、PCR法によりFG72のF2世代(図4 ①)における挿入DNAの遺伝型の検定を行ったところ、挿入DNAを有さない個体、導入遺伝子をヘテロで有する個体及び挿入DNAをホモで有する個体の分離比が1:2:1となり、一遺伝子座支配と仮定した場合に想定される分離比を示した(表5)。

表5 F2世代におけるPCRによる遺伝型の検定

社外秘情報につき非開示

以上より、FG72に移入された核酸の複製物はダイズゲノム中に1ヵ所存在すると考えられる。

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

FG72(T7世代：図4 ③, p.22)の葉から抽出したゲノムDNAについてサザンブロット分析、またF2世代(図4 ④, p.22)の葉から抽出したゲノムDNAについてシーケンス解析を行った。その結果、FG72ゲノムには、pSF10上の*Sal*I 処理断片(2*mepsps*遺伝子発現カセット及び改変*hppd*遺伝子発現カセット)が完全長で2コピー同方向に連続して配置されていた。上記の連続する挿入DNAの5'側では、宿主のゲノムとの間に2つの3'*histonAt*断片が連続して存在し、植物ゲノム側の断片ではpSF10とは逆方向に導入されていた。一方、挿入DNAの3'側では宿主ゲノムとの間にフィラーDNA(一本鎖やゲノム欠失部分等を充填する短いDNA)が存在した。また、FG72ゲノム内では宿主のゲノムの一部が転座しており、転座領域の3'側下流の宿主ゲノム内には新規に158bpのPh4a748プロモーター断片の存在が認められた(図5, p.24, 別添資料1, p.6~19, Table 2,3及びFigure 2~11;別添資料2, p.13~51, Figure 4~9)。

また、FG72の複数世代(T2, T7, T9及びF4世代：図4 ⑦, p.22)のゲノムDNAについて、挿入DNA領域及び3'側に挿入されたPh4a748プロモーター断片をプローブとしてサザンブロット分析を行い、これらの配列が安定して伝達していることを確認した(別添資料1, p.20~26, Table 4~6及びFigure 12~16)。

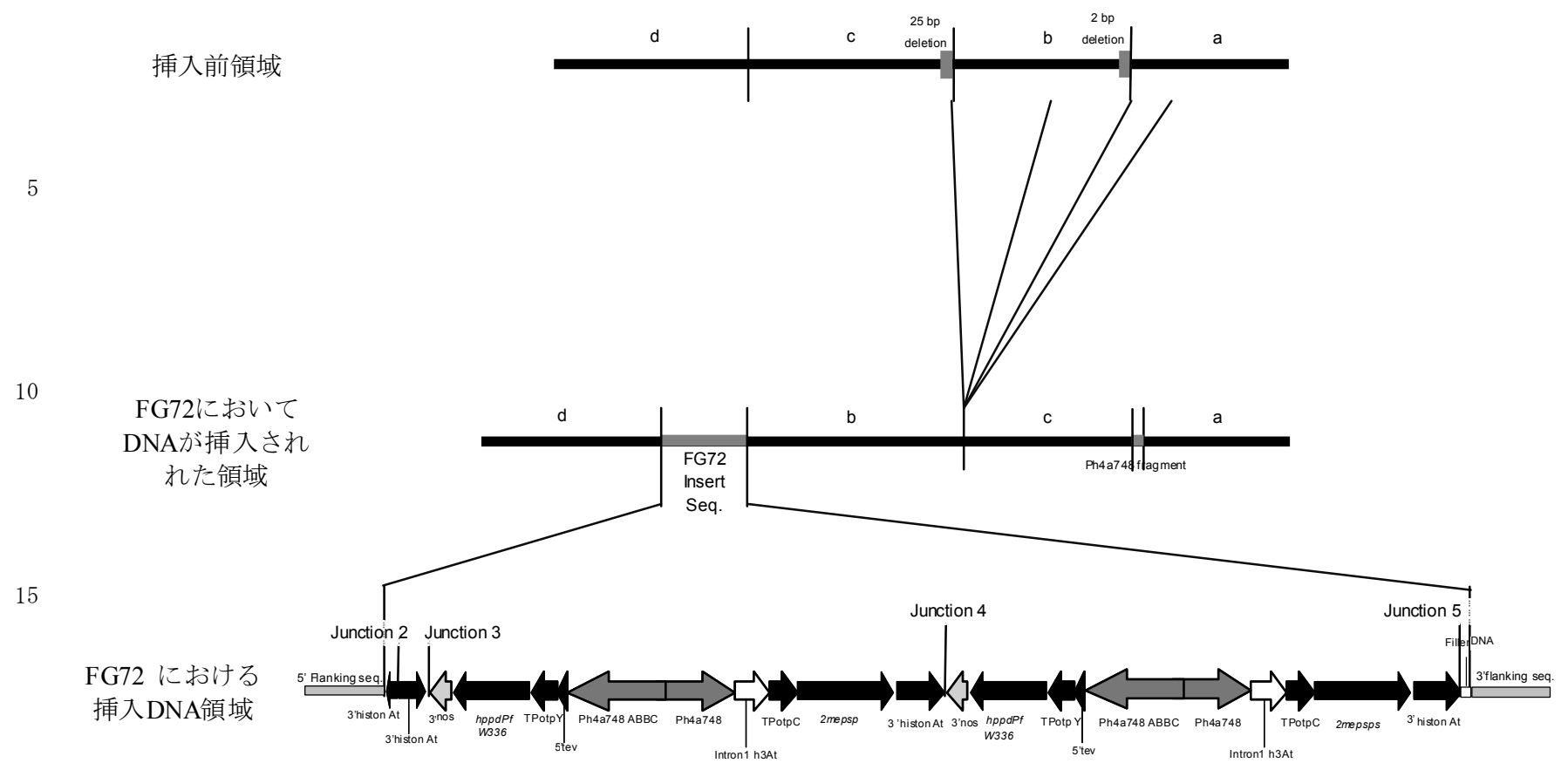


図5 FG72 における挿入 DNA 領域の概略図
 (図中の *hppdPfW336* は改変 *hppd* 遺伝子を示す。)
 (注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

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

(4)の①において示したように、FG72には2コピーの2mepsps遺伝子発現カセット及び改変hppd遺伝子発現カセットが隣接して存在している。

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

2008年にベルギーの温室において栽培されたFG72のT7世代(図4 ⑤, p.22)10株のFG72の葉、茎及び根の各組織における2mEPSPS蛋白質量及び改変HPPD蛋白質量をELISA法により分析した(表6)。また、同じく2008年に米国の10試験地で栽培されたFG72のT8世代(図4 ⑥, p.22)の種子における両蛋白質量をELISA法により分析した(表7, p.26)。その結果、いずれの世代でも両蛋白質が検出された。

以上から、FG72の個体間及び世代間において、2mEPSPS蛋白質及び改変HPPD蛋白質は安定して発現していることが確認された。

表6 FG72(T7世代)の各組織における2mEPSPS蛋白質及び改変HPPD蛋白質の発現量

組織	生育ステージ ¹⁾	2mEPSPS 蛋白質		改変 HPPD 蛋白質	
		µg/g 生鮮重量	µg/g 乾燥重量	µg/g 生鮮重量	µg/g 乾燥重量
葉	V4	90.4 ± 26.1	569 ± 164	6.10 ± 2.78	38.4 ± 17.5
	V6	79.1 ± 29.6	437 ± 163	6.48 ± 4.08	35.8 ± 22.5
	V8	115 ± 38.2	668 ± 222	4.69 ± 1.87	27.2 ± 10.9
茎	V4	18.8 ± 6.16	211 ± 68.9	1.48 ± 0.42	16.6 ± 4.65
	V8	13.4 ± 2.62	117 ± 22.9	0.69 ± 0.35	6.04 ± 3.10
根	V4	4.89 ± 1.99	32.5 ± 13.2	0.87 ± 0.35	5.81 ± 2.30
	V8	5.75 ± 2.31	43.7 ± 17.6	0.84 ± 0.50	6.42 ± 3.82

分析値は10個体より各個体3回の測定を行った値の平均値±標準偏差(n=30)。

1) V4: 第4複葉期、V6: 第6複葉期、V8: 第8複葉期。

(注: 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。)

表7 FG72(T8世代)種子における2mEPSPS蛋白質及び改変HPPD蛋白質の発現量¹⁾

蛋白質	乾燥重量	生鮮重量	全蛋白質量に対する割合
2mEPSPS蛋白質	130±22(μg/g)	150±25(μg/g)	3.9×10 ⁻² (%)
改変HPPD蛋白質	846±183(ng/g)	936±203(ng/g)	2.4×10 ⁻⁴ (%)

¹⁾分析値は、10箇所の試験地(Marcus, Iowa Falls, Glidden, Perry, Adel, Winterset, Osborn, Fithian, Sharpsville, Mediapolis)毎に3反復で採種した試料の平均値±標準偏差(n=30)。

(注：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。)

5

⑤ ウイルスの感染その他の経路を經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
FG72は伝達性のあるDNA配列を有しておらず、自然環境下において
野生動植物等に伝達されるおそれはないと考えられる。

10

(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

FG72は、移入されたDNAの周辺配列を利用したプライマーを用いたPCR法
によって識別することができる。本検出法における定量限界は0.08%であり、
社内及び社外の2機関において検証され、信頼性が確認されている(別添資料3)。

15

(6) 宿主又は宿主に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

FG72は2mepsps遺伝子の発現により除草剤グリホサート耐性を示すと共に、改変hppd遺伝子の発現により、除草剤イソキサフルトール耐性を示す。なお、2003年に米国の2州(アイオワ州及びイリノイ州)3試験地それぞれにおいて、除草剤グリホサート及びイソキサフルトールの散布試験を3反復行い、FG72(T5世代：図4 ⑩, p.22)及び宿主品種の両除草剤に対する耐性を収量により比較した(表8, p.27)。その結果、除草剤グリホサート又はイソキサフルトールを散布した試験区では、FG72の収量は宿主品種に比べて顕著に多く、FG72がこれらの除草剤に対して耐性を示すことが確認された。

30

表8 除草剤グリホサート及びイソキサフルトール処理におけるFG72(T5世代)及び宿主品種の収量(ブッシェル/エーカー¹⁾)比較

系統	慣行栽培区 ²⁾	GLY ³⁾	IFT ³⁾	GLY+IFT ³⁾	IFT Pre ⁴⁾
宿主品種	47.6	0.5	18.5	0.5	3.2
FG72	43.1	34.1	38.0	30.7	37.5

分析値は、2003年米国3箇所(Campaign, Seymour, Adel)の試験地における各3反復の値。標準誤差=3.4。

1): ダイズにおける1ブッシェルは約27.2kgに相当する。また1エーカーは4046.86m²に相当する。

2): 慣行栽培区においては、各試験地の標準的な除草を講じた。

3): GLY: 除草剤グリホサート(有効活性成分2800 g /ha)。IFT: 除草剤イソキサフルトール(有効活性成分210 g /ha)。GLY+IFT: 除草剤グリホサート及び除草剤イソキサフルトールの混合剤。全て第3複葉期-第4複葉期に散布。

4): IFT Pre: 除草剤イソキサフルトール(有効活性成分 315 g /ha)の出芽前処理(除草剤イソキサフルトールの散布適期は出芽前後であるため)。

(注：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。)

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

2009年に米国において野外試験を行い、FG72(T9世代：図4 ⑫, p.22)の形態及び生育の特性や収量等について、宿主品種と比較した。また、2009年にバイエルクロップサイエンス株式会社結城中央研究所P1P実験温室において生育初期における低温耐性についてFG72(T9世代：図4 ⑧, p.22)と比較・検討した(別添資料4)。さらに、2008年に米国において収穫された種子FG72(T8世代：図4 ②, p.22)を用い、休眠性及び発芽率についての調査を行った。

a 形態及び生育の特性

2009年に米国の4州(アイオワ州、イリノイ州、インディアナ州及びテキサス州)6試験地にて行われた試験において、伸育型、毛茸の色、小葉の形、花色、臍の色、生育初期の草勢、開花期、成熟期、草高及び倒伏抵抗性について、FG72(T9世代：図4 ⑫,p.22)及び宿主品種を比較・検討した。その結果、成熟期、草高、倒伏抵抗性において統計学的有意差が認められたが、その他の項目に差異又は統計学的有意差は認められなかった(表9, p.28)。

表9 FG72(T9世代)及び宿主品種における形態及び生育の特性

社外秘情報につき非開示

b 生育初期における低温又は高温耐性

2009年に我が国においてFG72(T9世代：図4 ⑧,p.22)及び宿主品種の幼
5 植物体における5°C・10時間明条件下での萎縮程度について4週間にわた
り達観調査によるスコア化を行い、統計学的評価を行った。その結果、
全ての調査時において系統間に統計学的有意差は認められなかった(別添
資料4, p.6, 表3)。

10 c 生体の越冬性又は越夏性

隔離ほ場試験にて調査を行う予定である。

d 花粉の稔性及びサイズ

2009年に米国の温室において開花期まで栽培したFG72(T8世代：図4
15 ⑩,p.22)及び宿主品種の花より花粉を採取し、*p*-フェニレンジアミン溶液
による花粉の稔性を調査したところ、両系統の花粉稔性に統計学的有意
差は認められなかった(別添資料5, p.13, Table 1)。また、液体培地中で発芽
させた花粉を酢酸カーミン染色して観察する花粉の発芽調査を行ったと
20 ころ、両系統の花粉発芽率に統計学的有意差は認められなかった。FG72
及び宿主品種の花粉について、稔性及び発芽率のいずれに関しても系統
間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料5, p.14, Table 2)。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

2009年に米国の4州6試験地にて行われた栽培試験において、FG72(T8
25 世代：図4 ⑫,p.22)及び宿主品種の種子の生産量、裂莢性に関する形質に
ついて調査・比較した。

表10に示したように、種子の生産量については、収量を比較した結果、
両系統間に統計学的有意差が認められた。一方、脱粒性について、両系
30 統の裂莢性を比較した結果、FG72及び宿主品種の裂莢性には統計学的有
意差は認められなかった(表10, p.29)。

表10 FG72(T9世代)及び宿主品種における種子の生産量及び脱粒性

社外秘情報につき非開示

5 発芽率については、2008年に米国の4州(アイオワ州、イリノイ州、イン
ディアナ州及びミズーリ州)10試験地にて行われた栽培試験において、
FG72(T8世代：図4 ②,p.22)試験において収穫されたFG72及び宿主品種の
10 種子で休眠性及び発芽率について調査した。収穫後1~2ヶ月常温にて保存
したものを供試し、発芽試験(25℃恒温、相対湿度90%条件)を実施した(表
11)。播種6日目の発芽率及び未発芽種子の割合については、両系統間に統
計学的有意差は認められなかった。未発芽の種子についてさらに1週間調
査を継続したところ、種子は全て発芽し、正常発芽、異常発芽、不発芽
種子の割合の比較では、全ての項目において統計学的有意差は認められ
なかった。なお、ダイズ種子の休眠性については、隔離ほ場試験におい
ても調査を行う予定である。

表 11 FG72(T8 世代)及び宿主品種の収穫種子における発芽試験結果

社外秘情報につき非開示

15 f 交雑率

我が国にはダイズと交雑可能な近縁野生種としてツルマメが自生して
いる。本隔離ほ場試験では、FG72の生殖特性及び対照のダイズへの交雑
率を調査することにより、従来のダイズと比較してFG72の交雑性を推測
する(「隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書」参照)。

20

g 有害物質の産生性

2009年に行われた我が国のPIP実験室において、根から分泌され他の植
物に影響を与えるものについては後作試験、植物体内に有し、枯死した後に他
の植物に影響を与えるものについては鋤込み試験を行った。

25

後作試験

FG72(T9世代：図4 ⑧,p.22)及び宿主品種を移植後約2ヶ月にわたり栽培
した土壌を用いて、検定作物としてダイコンを栽培し、発芽率、草丈、
生重及び乾物重について比較した。その結果、いずれの項目についても
30 試験区間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料4, p.4, 表1)。

鋤込み試験

播種後約2ヶ月半にわたり栽培したFG72(T9世代：図4 ⑧,p.22)及び宿主品種の植物体乾燥試料を1%になるように混和した土壌においてダイコンを栽培し、発芽率、草丈、生重及び乾物重を比較した。その結果、い
5 ずれの項目についても試験区間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料4, p.5, 表2)。

なお、根から分泌され土壌微生物に影響を及ぼすものについては、隔離ほ場において土壌微生物相試験を行う予定である。

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

15 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： 茨城県筑西市向上野1500番地41

20 名称： バイエルクロップサイエンス株式会社 明野事業所 隔離ほ場

使用期間：承認日から平成28年3月31日まで

1. 隔離ほ場の施設

25 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。

30 3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、FG72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。

35 4) 隔離ほ場周辺には、防風林及び防風網を設置している。また、栽培試

験期間中の播種期及び収穫期には栽培実験区画を覆うように防鳥網を設置し、野鳥等の食害による遺伝子組換え種子の拡散を防止する。

2. 隔離ほ場での作業要領

5

1) FG72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。

10

2) FG72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。

15

3) 2)により運搬又は保管する場合を除き、FG72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。

20

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FG72が隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。

25

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。

30

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

「モニタリング計画書」を参照。

35

(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

—

10 (6) 国外における使用等に関する情報

米国において、無規制承認(栽培承認)を受けるため、2009年11月に米国農務省(USDA)へ無規制承認(栽培承認)申請した。また、2009年12月に米国食品医薬品庁(FDA)へ食品及び飼料安全承認を申請した。

15 カナダにおいて、2009年12月に、飼料及び環境安全承認を受けるためカナダ食品検査庁(CFIA)に、また、食品安全承認を受けるためカナダ保健省(Health Canada)にそれぞれ申請した。

オーストラリアにおいて、2010年6月に、輸入承認を受けるためオーストラリア・ニュージーランド食品基準機関(FSANZ)に申請し、2012年2月に承認を得た。

20 韓国において、2010年3月に、環境・飼料承認を受けるため韓国農村振興庁(RDA)に、また2010年5月に、食品安全性確認を受けるため韓国食品医薬品安全庁(KFDA)にそれぞれ申請した。

なお、我が国において、2012年に食品安全承認申請を厚生労働省へ、また、飼料安全承認申請を農林水産省へ、それぞれ提出する予定である。

25

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

10 5 宿主が属する分類学上の種であるダイズ(*Glycine max* (L.) Merr.)は、我が国において長期にわたる使用等の実績があることから、生物多様性影響評価実施要領の別表第三に基づき宿主と相違が見られた点について考慮することとする。

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

10

ダイズは我が国において長期にわたる栽培等の経験があるが、自然条件下において雑草化した例は報告されていない。

15

20

25

30

35

競合における優位性に関わる形質として、2009年に米国4州(アイオワ州、イリノイ州、インディアナ州及びテキサス州)6試験地において、伸育型、毛茸の色、小葉の形、花色、臍の色、生育初期の草勢、開花期、成熟期、草高、倒伏抵抗性、収量、裂莢性、収穫種子の発芽率等について、FG72(T9世代：図4 ⑫,p.22)及び宿主品種を比較・検討した(表9, p.28, 表10, p.29及び表11, p.29)。その結果、成熟期、草高、倒伏抵抗性及び収量を除く全ての項目において両系統間に差異又は統計学的有意差は認められなかった。成熟期において両系統間に統計学的有意差が認められたものの、平均値の差は0.6日と1日未満であることから、本形質が競合における優位性を示すものとは考えにくい。また、草高に認められた統計学的有意差は宿主品種と比較してFG72の草高が低くなっており、それに伴い、倒伏抵抗性における統計学的有意差が認められたと考えられる。なお、FG72の草高は同じ成熟期グループ(MG II)に分類される米国品種の範囲内(USDA, 2005)であることから本形質に関しても競合における優位性を示すものとは考えにくい。また倒伏指数はFG72が5.9、宿主品種が5.2であり、その差は0.7と小さく、両者とも中程度の倒伏抵抗性を示すことから、本形質に関しても競合における優位性を示すものとは考えにくい。一方、FG72及び宿主品種の収量に統計学的有意差が認められたが、宿主品種と比較してFG72の収量が低いこと、また、同じMG II内の米国品種の範囲内であることから、本形質における差が競合における優位性を示すものとは考えにくい。なお、有意差の認められた項目については、隔離ほ場試験にて再度調査を行う。

FG72及び非組換え体(T8世代：図4 ⑩,p.22)の花粉の稔性について、*p*-フェニレンジアミン染色による花粉活性及び発芽花粉を酢酸カーミンにて染色し

発芽率調査を行ったところ、いずれの項目においても両系統間に統計学的有意差は認められなかった。よって両系統の花粉の稔性は同等であると考えられる(別添資料5, p.14, Table 2)。また、2008年の米国10試験地において採種されたFG72(T8世代：図4 ②,p.22)及び非組換え体の収穫種子において硬実率に

5 差は認められず、さらに正常発芽、異常発芽及び死滅種子の割合を比較したところ、全ての項目において統計学的有意差は認められなかった(表11, p.29)。

さらに、幼植物体の低温耐性について、2009年に我が国のPIP実験温室において調査した結果、FG72(T9世代：図4 ⑧,p.22)と宿主品種の間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料4, p.6, 表3)。

10

また、FG72は除草剤グリホサート及びイソキサフルトールに耐性を有するが、自然環境下において除草剤グリホサート及びイソキサフルトールが散布されるような状況は考え難いことから、本形質により競合における優位性が

15 高まることはないと考えられる。

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FG72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内では、競合における優位性に関して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。

20

(2) 影響の具体的内容の評価

—

25

(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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施されるFG72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された。

35

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

5 ダイズが他感物質等のような野生動植物等に影響を及ぼす有害物質を産生する
という報告はない。

 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る(Weiss and Edwards, 1980; Herrmann, 1983)。また、
10 FG72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(Smart *et al.*,1985)。実際に、FG72と宿主品種の種子における芳香族アミノ酸(フェニルアラニン、トリプトファン及びチロシン)の含有量に統計学的有意差は認められなかった(表2, p.18)。さらに、EPSPS蛋白質はPEP及び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(Gruys *et al.*, 1992)、高い基質特異性を有している。

20 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ている(Shewmaker *et al.*, 1999; Collakova and DellaPenna, 2003)。また、FG72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(Tsegaya *et al.*, 2002; Rippert *et al.*, 2004; Dufourmantel *et al.*, 2007)。実際に、FG72と宿主品種におけるアミノ酸組成並びに各種ビタミンについて比較した結果、測定したアミノ酸すべてについてはFG72と宿主品種との間に
25 統計学的有意差は認められなかった(表2, p.18)。一方、ビタミンについてはビタミンB1、 α -トコフェロール、 γ -トコフェロール及び総トコフェロールにおいて系統間に統計学的有意差が認められたものの、いずれも文献値の範囲内であり、また、ビタミンA及びビタミンKについては、両系統の平均値が共にほぼ同じであった(表3, p.18)。加えてHPPD蛋白質の基質は*p*-HPP及びフェニルピルビン酸のみであるが、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、植物及び微生物では利用されない(Olivera *et al.* 1998;
30
35

Johnson-Winters *et al.*, 2003; Purpero and Moran, 2006)。

これらのことから、2mEPSPS蛋白質及び改変HPPD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る。

5

さらに、後作試験及び鋤込み試験を行った結果、いずれの項目についてもFG72(T9世代：図4 ⑧, p.22)と対照の宿主品種の試験区間に統計学的有意差は認められず、新たに有害物質の産生性を獲得していないと考えられた(別添資料4 p.4表1及びp.4 表2)。したがって、FG72においても、意図しない有害物質

10

の産生性を獲得する可能性は低いと考えられる。

また、FG72において発現している2mEPSPS蛋白質及び改変HPPD蛋白質に関して、当該蛋白質が有害物質であるとする報告はなく、既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった。

15

以上のことから、FG72が新たに有害物質の産生性を獲得したとは考え難く、一定の作業要領を備えた限定環境で実施されるFG72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等は特定されなかった。

20

(2) 影響の具体的内容の評価

—

25

(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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施されるFG72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内では、有害物質の生産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

5 ダイズと交雑可能な近縁野生種としてツルマメ(*G. soja*)が挙げられる。ツルマメは、北海道、本州、四国、九州に広く分布し、河川の氾濫原や土手、路傍、畑の周辺や荒廃地など適度の攪乱に曝される場所を主な生育地としている(阿部・島本, 2001)。したがって、交雑性に関して影響を受ける可能性のある野生動植物として、ツルマメが特定された。

10

(2) 影響の具体的内容の評価

15 FG72とツルマメが交雑して雑種を形成し、さらにツルマメによる戻し交配により、ツルマメの集団中に2*mepsps*遺伝子及び改変*hppd*遺伝子が浸透する可能性、また、雑種の個体群が優占化することにより、ツルマメの個体群の維持に影響を及ぼす可能性が考えられる。

(3) 影響の生じやすさの評価

20 ツルマメは、我が国において北海道南部から九州まで自生している(阿部・島本, 2001)。したがって、FG72を隔離ほ場において栽培した場合、FG72とツルマメが交雑する機会があることは否定できない。

25 ダイズとツルマメの自然交雑性に関し、両種は自殖性植物であり、我が国において両種の開花期が重なることは稀である(阿部・島本, 2001)が、晩生の秋ダイズが栽培されている温暖な地域(九州や四国)では、ダイズの開花期とツルマメの開花期が重なる可能性がある。開花期の重なるダイズとツルマメを50cm隔て交互に植えて栽培した場合、結実したツルマメから採取された種子686個体中、雑種は5個体あり、交雑率は0.73%であった(Nakayama and Yamaguchi, 2002)。また、除草剤耐性が付与された晩生の遺伝子組換えダイズを供試して、開花ピークを近づけ、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、交雑率が最大で0.097%(調査25,741個体中、雑種25個体)であり、組換えダイズとツルマメの距離を離して栽培した場合は、2、4、6mの距離で交雑率は0.013%(調査7,521個体、7,485個体、7508個体中それぞれ雑種1個体)であり、8、10mの距離では交雑種子は認められなかった(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、且つ開花期が

35

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る。

仮に、FG72とツルマメが交雑した場合においても、FG72由来の2mepsps遺
5 伝子もしくは改変hppd遺伝子がツルマメ集団中に浸透交雑していくためには、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。ダイズからツルマメへの遺伝子流動については、日本各地のダイズ畑周辺におけるツルマメ集団について調査が行われ、ダイズとツルマメとの中間体が秋田県や佐賀県で発見された(加賀ら, 2005; 黒田ら, 2005)。これらの中間体の
10 後代の多くはその後のモニタリング調査では発見されず(黒田ら, 2006)、中間体が自生地で生存する確率は非常に低いことが示唆された(黒田ら, 2007)。また、秋田県の1地点及び佐賀県の5地点において採取された468個体のツルマメ、17個体の中間体及び12個体のダイズについて、分子マーカーによる解析が行われた結果、これらの中間体はダイズからツルマメへの遺伝子流動によるもの
15 と判断された。他方、中間体からツルマメへの二次的な遺伝子流動は認められなかったことから、ダイズとツルマメの雑種形成の可能性はあるが、我が国の自然環境において更なる浸透交雑が起こる可能性は極めて低いと考えられた(Kuroda *et al.*, 2010)。なお、FG72は宿主品種と比べて草高、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、いずれも既存
20 品種の範囲内にある、またはその差が小さいことから、たとえFG72とツルマメが交雑して雑種が形成されても、雑種後代が我が国の自然環境下で自生し、ツルマメと交雑を繰り返すことは考えにくい。

以上から、FG72がツルマメと交雑し、導入遺伝子がツルマメの集団内に浸
25 透してゆく可能性は極めて低いと考えられた。

なお、FG72の栽培を予定している隔離ほ場及びその周辺50mの範囲(私有地を除く)で、2011年8月にツルマメの自生の有無を調査したが、ツルマメの生育は確認されていない。さらにFG72は一定の作業要領を備えた限定環境である
30 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されることから、FG72とツルマメが交雑する可能性は通常よりもさらに低くなると考えられる。

(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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施されるFG72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内では、交雑性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

5 4. その他の性質

上記の他に生物多様性影響の評価を行うことが適切であると考えられるFG72の性質はないと考えられる。

第三 生物多様性影響の総合的評価

ダイズは、我が国において長期にわたる栽培等の経験があるが、自然条件下において雑草化した例は報告されていない。

5

競合における優位性に関わる形質について、2008年の米国におけるほ場試験並びに2009年の我が国のPIP温室試験において調査した結果、FG72が競合における優位性を高める可能性を示唆する形質は認められなかった。

また、FG72は除草剤グリホサート及びイソキサフルトールに耐性を有するが、
10 自然環境下においてこれらの除草剤が選択圧となる状況は想定し難く、これらの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た。

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FG72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内では、競合における優位性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと
15 判断された。

有害物質の産生性に関して、これまでにダイズが他感物質等のような野生動物植物等に影響を及ぼす有害物質を産生するという報告はない。また、FG72が遺伝子組換えにより新たに発現する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、既知のアレルゲンとの相同性も認められなかった。
20 さらに、宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。実際に、後作試験、鋤込み試験による生物検定を行った結果、FG72が他の植物の生育を阻害することを示唆する形質は認められなかった。

以上のことから、FG72が新たに有害物質の産生性を獲得したとは考え難く、
25 一定の作業要領を備えた限定環境で実施されるFG72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。

交雑性に関して、我が国に広く分布するツルマメはダイズと交雑して雑種を形成することが知られていることから、FG72とツルマメが交雑して雑種を形成し、さらにツルマメによる戻し交配により、ツルマメの集団中に2mepsps遺伝子及び改変hppd遺伝子が浸透する可能性、また、雑種の個体群が優占化することにより、ツルマメの個体群の維持に影響を及ぼす可能性が考えられた。

ダイズ及びツルマメはいずれも自殖性植物であり、開花期が重複する条件下でも交雑する可能性は低いことが知られている。さらに、ダイズとツルマメの

種間雑種は、自然環境下に放任された場合、速やかに淘汰されることが報告されている。また、FG72の収量、花粉稔性など生殖に関する形質の調査からFG72の交雑性は従来のダイズと同程度に低いと推測された。よって、FG72とツルマメとの交雑により、*2mepsps*遺伝子及び改変*hppd*遺伝子がツルマメの集団中に浸透し、また、雑種が優占化することによりツルマメの個体群の維持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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施されるFG72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。

以上を総合的に評価し、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された。

参考文献

- Ahrent D. K. and Caviness C.E. (1994) Natural cross-pollination of twelve soybean cultivars in Arkansas. *Crop Sci.* 34: 376-378.
- 5 Bolivar F., Rodriguez R.L., Greene P. J., Betlach M. C., Heyneker H. L. and Boyer H. W. (1977) Construction and characterization of new cloning vehicles. II . A multipurpose cloning system. *Gene* 2: 95-113.
- 10 Boocock M. R. and Coggins J. R. (1983) Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate syntase inhibition by glyphosate. *FEBS LETTERS* 154: 127-133.
- Boudec P., Rodgers M., Dumas F., Sailland A. and Bourdon H. (2001) Mutated
15 hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, DNA sequence and isolation of plants which contain such a gene and which are tolerant to herbicide. US Patent US 6245968B1 (12-JUN-2001) AVENTIS CROPSCIENCE S.A. (FR).
- Caviness C.E. (1966) Estimates of natural cross-pollination in Jackson soybean in
20 Arkansas. *Crop Sci.* 6: 211-212.
- Carrington J. C. and Freed D. (1990) Cap-independent enhancement of the translation by a plant potyvirus 5' non translated region. *Journal of Virology* 64: 1590-1597.
- 25 Chaboute M., Chaubet N., Philipps G., Ehling M. and Gigot C. (1987) Genomic organization and nucleotide sequence of two histone H3 and two histone H4 genes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* 8: 179-191.
- Chaubet N., Clement B. and Gigot C. (1992) Genes encoding a histone H3.3-like
30 variant in *Arabidopsis* contain intervening sequences. *Journal of Molecular Biology* 225: 569-574.
- Chiang Y.C. and Kiang Y. T. (1987) Geometric position of genotypes, honeybee foraging patterns and outcrossing in soybean. *Bot. Bull. Acad. Sinica* 28: 1-11.
- 35 Collakova E. and DellaPenna D. (2003) Homogentisate phytyltransferase activity is

limiting for Tocopherol biosynthesis in Arabidopsis. Plant Physiology 131: 632-642.

- 5 DellaPenna D. and Pogson B. J. (2006) Vitamin synthesis in plant: tocopherols and carotenoids. Annu. Rev. Plant Biol. 57: 11-38.
- Depicker A., Stachel S., Dhaese P., Zambryski P. and Goodman H. M. (1982) Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. J. Mol. Appl. Gen. 1: 561-573.
- 10 Dotto G. P., Horiuchi K and Zinder N. D. (1982) Initiation and termination of phage fl plus-strand synthesis. Biochemistry 79: 7122-7126.
- Dufourmantel N., Dubald M., Matringe M., Canard H., Garcon F., Job C., Kay E., Wisnieski J., Ferullo J., Pelissier B., Sailland A. and Tissot G. (2007) Generation and characterization of soybean and marker-free tobacco plastid transformants over-expressing a bacterial 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase which provides strong herbicide tolerance. Plant Biotechnology Journal 5: 118-133.
- 15
- FAO (2011) FAOSTAT Prod STAT : Crops. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567> (アクセス日 2012年1月11日)
- 20
- Fujita R., Ohara M., Okazaki K. and Shimamoto Y. (1997) The extent of natural cross pollination in wild soybean (*Glycine soja*). Journal of Heredity 88: 124-128.
- 25
- Gruys K. J., Walker M. C. and Sikorsli J. A. (1992) Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. Biochemistry 31: 5534-5544.
- 30
- Gunsior M., Ravel J., Challis G. L. and Townsend C. A. (2004) Engineering *p*-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase to a *p*-hydroxymandelate synthase and evidence for the proposed benzene oxide intermediate in homogentisate formation. Biochemistry 43: 663-674.
- 35
- Herrmann K. M. (1983) The common aromatic biosynthetic pathway. In amino acids: Biosynthesis and genetic regulation., Herrmann K., M. and R. L. Somerville, (eds)

Addison-Wesley, Reading, MA. pp.301-322.

Hoheisel J. F. (1994) Creation of a rate cutter multiple cloning site. *Bio Techniques*, 17: 456-459.

5

Hymowitz T. and Harlan, J. R. (1983) Introduction of soybeans to north America by Samuel Bowen in 1765. *Econ. Bot.* 37: 371-379.

ILSI (2007) International Life Science Institute- Crop composition database- serch results version 3.0; Average, minimum and maximum nutrient and anti-nutrient content in soybean seeds. ILSI Crop Composition database.

10

http://www.cropcomposition.org/cgi-perl/search_ora.cgi

Johnson-Winters, K., Purpero, V. M, Kavana, M. and Moran, G. R. (2003) Accumulation of multiple intermediates in the catalytic cycle of (4-hydroxyphenyl) pyruvate dioxygenase from *Streptomyces avermitilis*. *Biochemistry* 44: 7189-7199.

15

Kiang Y. T., Chiang Y. C. and Kaizuma N. (1992) Genetic diversity in natural populations of wild soybean in Iwate Prefecture, Japan. *Journal of Heredity* 83: 325-329.

20

Kitamoto N., Kaga A., Kuroda Y., Ohsawa R. (2012) A model to predict the frequency of integration fitness-related QTLs from cultivated to wild soybean. *Transgenic Res.* 21: 131-138.

25

Kuroda Y., Kaga A., Tomooka N. and Vaughan, D. A. (2008) Gene flow and genetic structure of wild soybean (*Glycine soja*) in Japan. *Crop Science* 48: 1071-1079.

Kuroda Y., Kaga A., Tomooka N. and 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.

30

Lebrun M., Leroux B. and Sailland A. (1996) Chimeric gene for the transformation of plants. US Patent US5510471 (23-APRIL-1996). RHONE POULENC AGROCHIMIE (FR).

35

Lebrun M., Sailland A., Freyssinet G. and Degryse E. (2003) Mutated

5-enol-pyruvylshikimate -3-phosphate synthase, gene coding for said protein and transformed plants containing said gene. US patent US6566587B1 (20-MAY-2003). Bayer CropScience SA (FR).

5 Matringe M., Sailland A., Pelissier B., Rolland A. and Zink. O. (2005)
p-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase inhibitor-resistant plants. Pest Management
Science 61 : 269-275.

10 Mizuguti A., Ohigashi K., Yochimura Y., Kaga A., Kuroda Y. and 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.

15 Moran G. R. (2005) 4-Hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. Archives of Biochemistry
and Biophysics. 443: 117-128.

20 Nakayama Y. and 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.

25 OECD (2000) Consensus Document on the Biology of Glycine Max (L.) Merr.
(Soybean).

30 OECD (2001) Consensus Document on Compositional Considerations for New
Varieties of Soybean: Key Food and Feed Nutrients and Anti-nutrients.
ENV/JM/MONO 15.

35 Olivera E. R., Minambres B., Gracia B., Muniz C., Moreno M. A., Ferrandez A., Diaz
E., Gracia J. L. and Luengo J. M. (1998) Molecular characterization of the
phenylacetic acid catabolic pathway in *Pseudomonas putida* U: The
phenylacetyl-CoA catabolon. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 95: 6419-6424.

40 Purpero V. M. and Moran G. R. (2006) Catalytic, noncatalytic, and inhibitory
phenomena: Kinetic analysis of (4-hydroxyphenyl)pyruvate dioxygenase from
Arabidopsis thaliana. Biochemistry 45: 6044-6055.

- Ray J. D., Kilen T. C., Abel C. A., and Paris R. L. (2003) Soybean natural cross-pollination rates under field conditions. *Environ. Biosafety Res.* 2: 133-138.
- Rippert P., Scimemi C., Dubald M. and Matringe M. (2004) Engineering plant shikimate pathway for production of tocotrienol and improving herbicide resistance. *Plant Physiology* 134: 92-100.
- Shewmaker C. K., Sheehy J., A., Daley M., Colburn S. and Ke D. Y. (1999) Seed-specific overexpression of phytoene synthase: increase in carotenoids and other metabolic effects. *The Plant Journal* 20: 401-412.
- Smart C. C., Johanning D., Muller G. and Amrhein N. (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: 16338-16346.
- Tsegaya Y, Shimtani D. K., and DellaPenna D. (2002) Overexpression of the enzyme p-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase in *Arabidopsis* and its relation to tocopherol biosynthesis. *Plant Physiol Biochem.* 40: 913-920.
- USDA, United States Department of Agriculture (2005) Evaluation of the USDA soybean germplasm collection: Maturity group 000-IV (PI 507670-PI 574486).
- Weiss U. and Edwards J. M. (1980) Regulation of the shikimate pathway. : In the biosynthesis of aromatic compounds. John Wiley and Sons, New York. pp.287-301.
- Yanisch-Perron C., Vieira J. and Messing J. (1985) Improved M13 phage cloning vectors and host strains: nucleotide sequences of the M13mp18 and pUC19 vectors. *Gene* 33: 103-119.
- Yoshimura Y. (2011) Wind tunnel and field assessment of pollen dispersal in Soybean [*Glycine max* (L.) Merr.]. *J. Plant Res.* 124: 109-114.
- 阿部 純・島本 義也(2001)ダイズの進化 栽培植物の自然史 山口 裕文、島本 義也 編著 北海道大学図書刊行会 p.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、 転作全

書 第二巻 ダイズ・アズキ、農文協 p.102-105.

5 加賀 秋人・友岡 憲彦・Ugen P.・黒田 洋輔・小林 伸哉・伊勢村 武久・
Miranda-Jonson G.・Vaughan D. A. (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－. 植物遺伝
資源探索導入調査報告書 21: 59-71.

10 黒田 洋輔・加賀 秋人・Anna Apa・Vaughan D.A.・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－. 植物遺伝資源探索導入調査報告書 21: 73-95.

15 黒田 洋輔・加賀 秋人・Gaufu J.・Vaughan D. A.・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、佐賀県における現地調査から－. 植物遺伝資源探
索導入調査報告書 22: 1-12.

20 黒田 洋輔・加賀 秋人・Poafa J.・Vaughan D. A.・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－. 植物遺伝資源探
索導入調査報告書 23: 9-27.

25 鎌田 慶朗(1999) 3.大豆の科学、大豆の科学 山内文男・大久保一良 編 朝
倉書店、p.27-47.

国分 牧衛(2002) ダイズ. 作物学辞典 日本作物学会編 朝倉書店、
p.370-377.

30 後藤 寛治(2001) ダイズの起源と特性、転作全書 第二巻 ダイズ・アズキ、
農文協 p.31-41.

昆野 昭晨(2001) 生育のステージと生理、生態 転作全書 第二巻 ダイズ・
アズキ、農文協 p.43-88.

35 橋本 鋼二(2001a)ダイズの品種生態と選択、I 品種の生態型と選択、転作
全書 第二巻 ダイズ・アズキ、農文協 p.91-96.

橋本 鋼二(2001b)ダイズの品種生態と選択、Ⅱ 品質・用途と品種選択、 転作
全書 第二巻 ダイズ・アズキ、 農文協 p.110-112.

- 5 農林水産省 (2011a)作物統計、農林水産統計、農林水産省大臣官房統計部
http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/menseki/pdf/sakutuke_daizu_11b.pdf
(アクセス日 2012年1月11日)

- 農林水産省 (2011b)農林水産物輸出入概況、農林水産大臣官房国際部
10 http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kokusai/pdf/yusyutu_gaikyo_10.pdf(アクセス
日 2011年10月14日)

- 農林水産省 (2011c)食糧需給表(平成22年度)概算値 農林水産大臣官房食糧安
全保障課 <http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/fbs/pdf/fbs-fy22p.pdf>(アクセス日2011
15 年10月14日)

別添資料の内容

別添資料1 挿入遺伝子の分子特性

(Summary report : molecular characterization of FG72)

5

社外秘情報につき非開示

別添資料2 FG72に移入された核酸の塩基配列

(Full DNA sequence of event insert and integration site of *Glycine max* transformation event FG72)

10

社外秘情報につき非開示

別添資料3 イベント識別

15

社外秘情報につき非開示

別添資料4 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FG72における環境安全性評価試験

20

社外秘情報につき非開示

別添資料5 FG72及び非組換え体の花粉稔性試験

(Pollen Morphology and viability of double herbicide tolerant event FG72 Soybean and the non-transgenic counterpart, USA, 2009)

25

社外秘情報につき非開示

緊急措置計画書

平成 24 年 1 月 19 日

5 氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社
 代表取締役社長 ギャビン マーチャント
 住所 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 5 号

10 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-FGØ72-3) (以下、「FG72」とする。)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リスク評価において確認された場合は、弊社は適切に当該影響を防止するため、以下の措置をとることとする。

15 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

FG72が生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断された場合は、生物多様性影響管理委員会（表1参照）に報告し、緊急措置に適切に対応するために危機対策本部（表2参照）を速やかに設置する。

20

表 1 生物多様性影響管理委員会名簿（平成 24 年 1 月現在）

*	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部バイオサイエンスグループ グループリーダー
	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部バイオサイエンスグループ
	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部バイオサイエンスグループ
	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部バイオサイエンスグループ
	宮崎技術士事務所

* : 管理責任者兼栽培試験責任者
 （個人名は個人情報により非開示）

表2 危機対策本部名簿（平成24年1月現在）

(危機対策本部長)	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部長
	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部バイオサイエンスグループ グループリーダー
	バイエルクロップサイエンス株式会社 社長室長
	Bayer CropScience, BioScience Global regulatory affairs manager, Soybean

（個人名は個人情報により非開示）

2 第一種使用等の状況の把握の方法

5 栽培試験担当者及び管理責任者は、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

10

FG72の使用に伴い、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、栽培試験担当者及び管理責任者に当該影響を防止するために適切な措置を講ずることを通知する。

15 4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するための具体的な措置の内容

20

当該影響を生ずるおそれに基づき、FG72を不活性化する措置またはFG72の環境への放出を防止するための措置、並びに既に環境に放出されたFG72の拡散を防止する措置を講ずる。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

25 FG72が我が国の生物多様性に影響を及ぼすおそれがあると認められた場合には、速やかに、農林水産省農産安全管理課及び環境省野生生物課に連絡するとともに、緊急措置対応のための社内における組織体制及び連絡窓口を報告する。

モニタリング計画書

平成 24 年 1 月 19 日

5

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社
代表取締役社長 ギャビン マーチャント
住所 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 5 号

イ. 実施体制及び責任者

10

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。

氏名	所属機関・職名
*	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部
	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部
	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部
	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部

*管理責任者

(個人名は個人情報により非開示)

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

15

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。

20

ニ. モニタリングの期間

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 FG72 (以下、「FG72」とする) の栽培期間中に実施する。

25

ホ. 実施期間、頻度その他のモニタリングの方法

1) FG72 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その位置を記録するとともに、1 個体で生育しているツルマメの場合は可能な限り結実している全ての種子を、また、集団で生育し

30

ている場合は、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。

- 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 以内の調査可能な範囲において 2) と同様の作業を行う。

5

収穫されたツルマメの種子に *2mepsps* 遺伝子、改変 *hppd* 遺伝子のいずれか、もしくはその両方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。

10 へ. 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、当該遺伝子の移行が確認された場合は、FG72 とツルマメの種子が収穫された位置と距離から交雑率との関係を解析する。

ト. 農林水産大臣及び環境大臣への報告方法

- 15 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、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. その他の必要な事項

- 20 モニタリングの期間中に採取されたツルマメから FG72 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。

隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書

第1 受容環境

5 1. 隔離ほ場の所在地等

(1) 名称

バイエルクロップサイエンス株式会社 明野事業所 隔離ほ場

(2) 住所

10 茨城県筑西市向上野 1500 番地 41

(3) 電話番号

0296-54-5120

15 (4) 地図

図 1(p.58)参照

2. 責任者等

(1) 隔離ほ場試験の責任者

20 **【個人情報により非開示】**

バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部

(2) 隔離ほ場管理責任者

【個人情報により非開示】

25 バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部

3. 試験期間

承認日から平成 28 年 3 月 31 日まで

30 4. 施設概要

部外者の立ち入りを禁止するための施設(フェンスや標識)及び組換え体がほ場外に流出することを防ぐための各種設備(洗い場、防鳥網、防風網、排水溝、オートクレーブ等)を設置している(図 2, p.59)。

35 5. 面積

(1) 隔離ほ場全体の面積

約 5200m²

- (2) 試験に使用する面積

約 160m²

5

- (3) 試験区の配置図

図 3(p.59)参照

6. 隔離ほ場の周辺環境

- 10 (1) 隔離ほ場周辺の地形

隔離ほ場が位置する茨城県筑西市は、茨城県の西部、筑波山の西側に位置する。市域はほぼ平坦で、利根川の支川、鬼怒川・小貝川が南北に貫流している(茨城県筑西市ホームページ、<http://www.city.chikusei.lg.jp/>)。

15

隔離ほ場には用水路が、また約 1.5km 離れた場所には桜川があるものの、隔離ほ場は筑西市が作成した洪水ハザードマップによると浸水想定区域に指定されておらず、また浸水実績区域にも含まれない。

- (2) 土地利用状況

20

隔離ほ場の周辺は工業団地として利用されている。また、工業団地の周辺は水田・畑・民家・道路・用水路として利用されている。

- (3) 周辺の環境保護区

25

隔離ほ場より半径 1km 圏内に環境省の定める自然保護地域(国立公園、国定公園、原生自然環境保全地域、自然環境保全地域等)はない。また、最も近い自然保護地域は、水郷筑波国定公園(筑波地区)であり、隔離ほ場からの距離はほぼ 2.5km である。

- (4) 気象条件の平年値

30

① 隔離ほ場の最寄の気象情報観測地点である下妻アメダス観測所(茨城県下妻市)における気象データの平年値を表 1(p.60)に示した。

② 隔離ほ場の最寄の気象情報観測地点である下妻アメダス観測所(茨城県下妻市)における過去 3 年分の気象データを表 2(p.61)に示した。

- (5) 台風の襲来歴

35

隔離ほ場のある関東地方への過去 10 年間の台風の接近数を表 3(p.62)に示した。

- (6) 過去 10 年間の隔離ほ場冠水の状況

隔離ほ場が位置する工業団地内において、過去 10 年にわたって冠水していない。

(7) 強風による被害の状況

防風網を設置していることから、強風による被害は受けにくく、過去に隔離ほ場で栽培した作物が強風により大きな被害を受けたことはない。

(8) ハザードマップ

筑西市が作成した洪水ハザードマップ(筑西市ホームページ、http://www.city.chikusei.lg.jp/cms/data/doc/1264495785_doc_2.pdf)において、隔離ほ場周辺は浸水想定区域に指定されていない。また浸水実績区域内に位置していない。

(9) 隔離ほ場における鳥獣害の被害

鳥獣による農作物への被害が考えられるが、隔離ほ場にはフェンス及び防鳥網を設置する。

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*)

8. 栽培管理

(1) 栽培履歴

隔離ほ場は 2012 年に建設されたため、栽培履歴はない。

(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)

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すき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

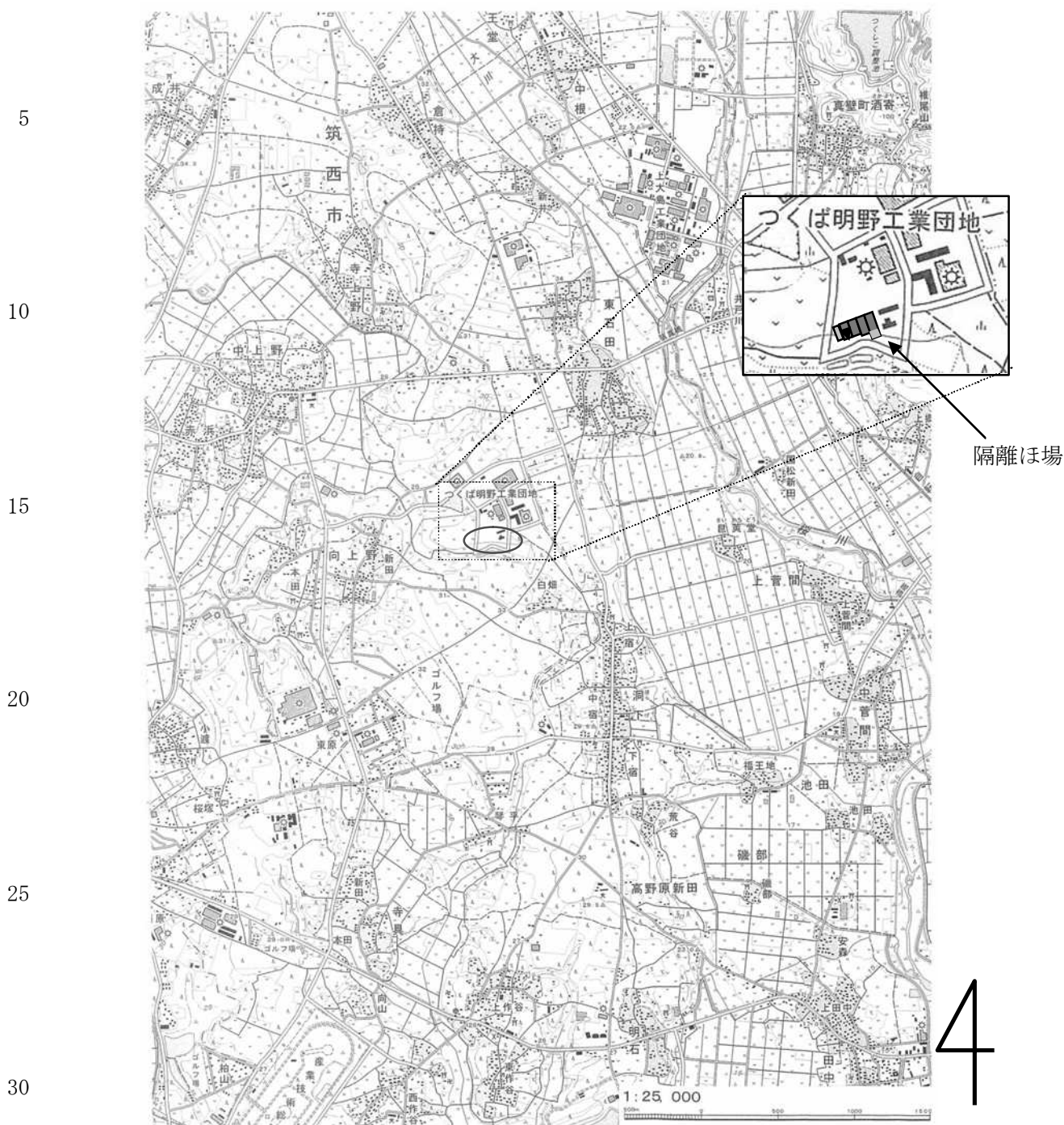
- 1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。
- 5 2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。
- 3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、組換え作物の種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該作物の隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- 10 4) 隔離ほ場周辺には、防風林及び防風網を設置している。また、栽培試験期間中の播種期及び収穫期には栽培実験区画を覆うように防鳥網を設置し、野鳥等の食害による遺伝子組換え種子の拡散を防止する。

15

② 隔離ほ場での作業要領

- 1) 組換え作物及び比較対照の作物以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- 20 2) 組換え作物を隔離ほ場の外に運搬し、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) 2)により運搬又は保管をする場合を除き、組換え作物の栽培終了後は、当該作物及び比較対照の作物を隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。
- 25 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、意図せずに組換え作物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。
- 30 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。
- 35 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。

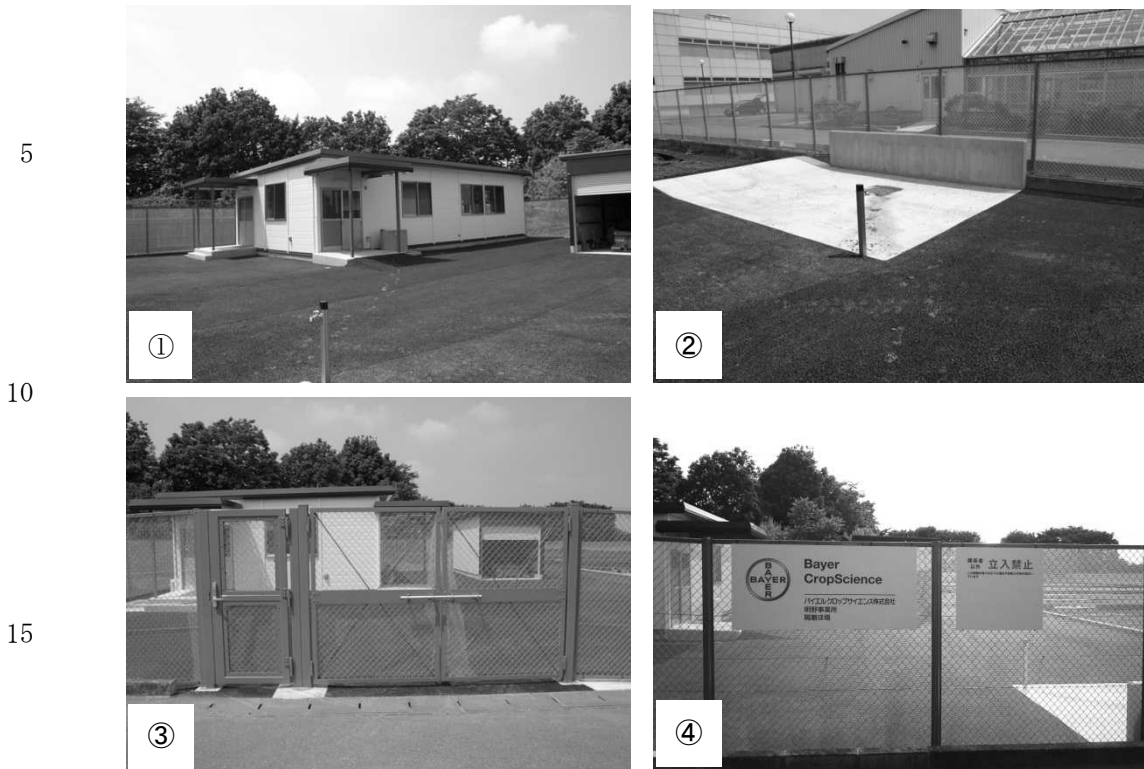
図1 隔離ほ場所在地に関する地図



○:隔離ほ場の所在地

「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23情複、第273号)」

図2 隔離ほ場の設備



① 事務所兼実験棟

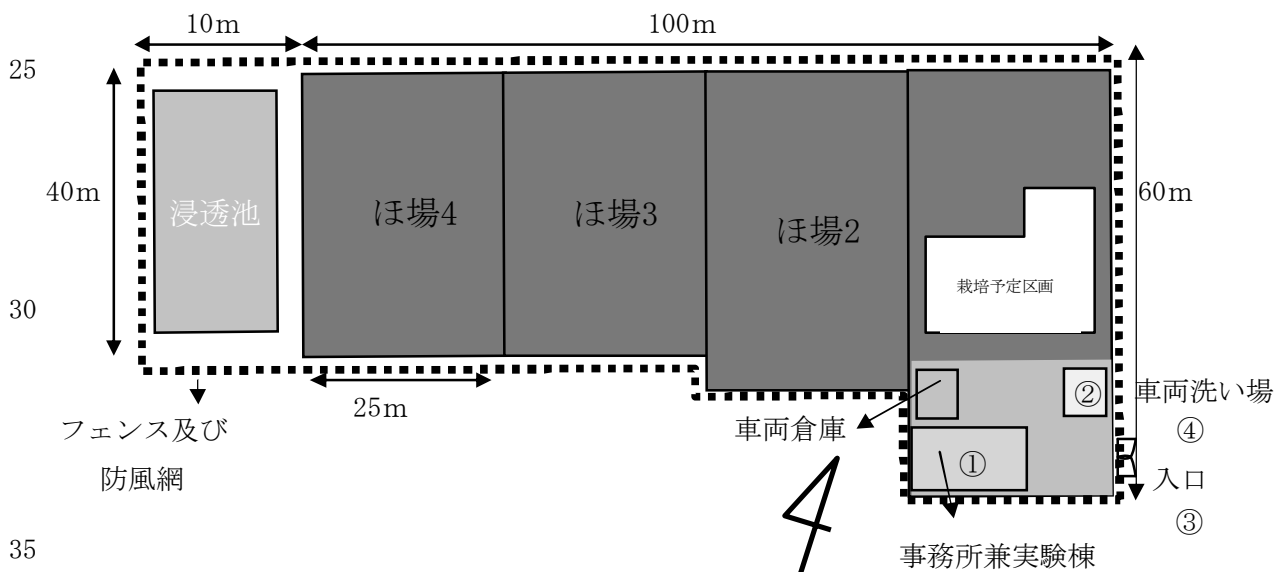
② 洗い場

③ 入口

④ 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示す標識

(注：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。)

図3 試験区の配置図



(注：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1 隔離ほ場周辺における平年値

(下妻アメダス観測所(茨城県下妻市)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	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1987～2010
資料年数	30	30	30	30	30	24
1月	35.5	2.7	8.8	-2.7	2.0	190.0
2月	44.9	3.6	9.5	-1.8	2.2	180.3
3月	85.0	7.0	12.8	1.6	2.3	180.3
4月	101.1	12.6	18.6	7.0	2.5	175.7
5月	121.8	17.3	22.5	12.8	2.3	162.9
6月	131.1	20.6	25.0	16.9	2.0	113.7
7月	140.4	24.1	28.7	20.7	1.8	128.7
8月	141.8	25.5	30.5	22.0	1.9	168.5
9月	176.0	22.0	26.8	18.3	1.8	123.8
10月	155.8	16.1	21.4	11.8	1.5	138.4
11月	68.2	10.1	16.0	5.0	1.5	153.6
12月	39.2	4.9	11.3	-0.5	1.7	182.1
年	1242.8	13.9	19.3	9.3	2.0	1901.6

* 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 2012 年 1 月 5 日、
http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_amd_ym.php?prec_no=40&prec_ch=%88%EF%8F%E9%8C%A7&block_no=0322&block_ch=%89%BA%8D%C8&year=&month=&day=&elm=normal&view

5

表2 隔離ほ場周辺における過去3年分の気象データ

(下妻アメダス観測所(茨城県下妻市)における気象データ)

月	降水量(mm)				気温(°C)						風向・風速(m/s)				日照時間(h)
	合計	日最大	最大		平均			最高	最低	平均風速	最大		最大瞬間		
			1時間	10分間	日平均	日最高	日最低				風速	風向	風速	風向	
2011年															
1	1.5	1.0	1.0	0.5	2.3	8.6	-3.8	12.6	-8.3	2.7	10.9	西北西	16.8	西北西	263.8
2	82.5	26.5	7.0	2.5	4.8	10.7	-0.6	21.6	-7.0	2.3	12.5	西北西	19.0	西北西	163.0
3	67.0	20.0	6.0	1.5	6.0	12.0	0.4	21.3	-5.2	2.7	11.8	西北西	17.7	西北西	232.9
4	63.0	27.0	7.5	3.0	12.5	19.0	5.8	26.9	-3.2	3.0	15.6	南	21.6	南南東	195.0
5	210.0	55.0	43.5	13.0	17.2	21.8	13.3	27.5	8.7	2.7	15.4	南南西	22.0	南南西	147.9
6	82.5	20.0	12.0	7.0	21.8	25.9	18.5	33.9	11.2	2.2	7.6	南南西	11.5	南南西	121.2
7	120.0	23.0	10.0	4.0	25.7	30.2	22.2	34.3	16.0	2.4	9.0	南	14.2	南	185.1
8	128.5	49.5	15.0	7.0	25.7	30.3	22.3	36.5	18.3	1.8	6.6	南南東	10.9	北東	170.3
9	153.5	107.0	18.0	6.5	23.5	28.4	19.5	33.5	12.5	2.7	20.3	南南東	31.6	南南東	173.2
10	105.5	61.0	8.5	2.0	17.2	22.0	13.0	27.5	5.1	1.9	10.9	南	16.7	西北西	141.4
11	57.0	23.5	4.5	1.5	11.7	17.2	6.7	22.5	-1.6	1.6	7.5	西北西	12.3	西北西	163.5
12	32.0	20.0	5.0	1.5	4.3	9.9	-1.1	15.0	-5.6	2.3	11.5	西北西	18.5	西北西	197.5
2010年															
1	5.5	5.0	1.5	0.5	3.6	10.2	-2.5	15.8	-6.3	2.2	13.0	西	19.9	西北西	230.1
2	85.5	27.0	5.0	1.5	4.4	9.4	-0.4	20.3	-5.5	2.1	13.2	西北西	20.7	西北西	118.8
3	87.0	17.5	6.5	2.0	7.3	12.2	2.5	21.5	-1.9	2.7	15.5	南南西	27.2	南西	133.9
4	184.5	51.5	16.0	5.0	10.8	16.3	6.1	25.4	0.5	2.8	13.8	南	21.4	南南西	132.3
5	126.0	31.0	6.0	3.5	17.5	22.5	13.0	30.0	6.9	2.7	13.1	南	18.3	南南東	202.8
6	161.0	70.0	27.0	5.5	22.2	26.8	18.4	31.5	10.5	2.2	7.3	南	11.2	東	159.4
7	76.5	18.0	13.5	9.5	26.2	30.9	22.8	35.5	18.9	2.3	10.0	南	16.8	南南東	179.8
8	3.5	2.0	1.0	0.5	27.8	33.0	24.1	35.4	21.2	2.4	10.0	南南西	15.2	南南西	212.7
9	262.5	76.5	17.0	5.5	23.4	28.5	19.6	36.8	9.1	2.1	7.8	南	15.5	北	158.4
10	163.0	48.0	11.0	3.5	17.1	21.2	13.8	27.7	6.1	1.8	5.9	北北西	11.5	北	95.2
11	80.0	36.5	9.0	2.5	10.6	16.5	5.4	21.3	0.9	1.8	11.3	西北西	18.1	西	164.9
12	89.0	42.5	24.0	12.0	6.8	12.6	1.2	21.6	-4.5	2.3	12.4	西	19.0	西北西	212.3
2009年															
1	119.0	44.5	9.0	2.0	4.0	9.5	-0.9	15.1	-5.9	2.1	11.7	西北西	19.3	西北西	182.2
2	36.0	12.5	3.0	1.0	5.1	10.4	0.1	23.4	-3.7	2.1	12.2	西北西	19.2	西北西	149.4
3	83.0	50.0	10.0	2.5	7.9	13.2	2.9	22.5	-1.0	2.8	14.2	南	21.8	南	185.7
4	103.0	43.5	7.5	2.5	13.7	19.8	7.9	26.6	0.2	2.4	11.3	西北西	20.2	西北西	228.3
5	87.5	27.0	7.5	3.5	18.8	23.4	14.8	29.4	7.8	2.5	11.1	南	16.5	西北西	154.9
6	110.0	44.0	10.0	5.5	21.1	25.2	18.0	32.1	12.8	2.1	7.2	南	11.7	南南東	94.8
7	36.5	6.0	4.5	1.5	24.8	28.7	21.7	33.6	18.8	2.2	8.0	南	12.2	南南西	86.0
8	177.5	49.5	42.5	21.5	24.5	28.9	21.2	32.3	16.8	1.8	8.1	西北西	14.4	西北西	144.8
9	11.5	8.5	2.5	1.5	21.2	26.3	17.2	29.4	12.8	1.8	6.7	西北西	9.7	西	139.8
10	190.0	84.0	39.0	15.0	16.5	21.8	12.2	25.5	6.8	1.8	15.9	南	24.0	南	153.3
11	107.5	52.0	9.0	3.0	11.0	16.0	6.1	25.5	0.7	1.6	7.3	北北西	15.1	北	120.1
12	62.0	26.0	7.0	2.0	6.1	11.5	1.3	16.9	-5.5	1.9	11.9	西北西	19.1	西北西	180.7

* 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 2012年1月5日

2011年:

5 http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_a1.php?prec_no=40&prec_ch=%88%EF%8F%E9%8C%A7&block_no=0322&block_ch=%89%BA%8D%C8&year=2011&month=&day=&elm=monthly&view=

2010年:

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_a1.php?prec_no=40&prec_ch=%88%EF%8F%E9%8C%A7&block_no=0322&block_ch=%89%BA%8D%C8&year=2010&month=&day=&elm=monthly&view=

10

2009年:

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/monthly_a1.php?prec_no=40&prec_ch=%88%EF%8F%E9%8C%A7&block_no=0322&block_ch=%89%BA%8D%C8&year=2009&month=&day=&view=p1

表3 過去10年の隔離ほ場周辺への台風の接近数
(関東地方への過去10年間の台風の接近数)

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	1			3
2009								2	1	2			4
2008								1	1				2
2007							1		1	1			3
2006								1					1
2005							1	1	1				3
2004					1	1		2	1	2			7
2003								1	1				2
2002							2	1		1			4
2001								1	2	1			4

* 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2012年1月5日、
http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto_koshin.html

5

第2 隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画

【社外秘情報につき非開示】