

除草剤グリホサート耐性テンサイ

(改変 *cp4 epsps*、*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*)(H7-1, OECD UI: KM-000H71-4)申請書等の概要

第一	生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	2
1	宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	2
	(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	2
	(2) 使用等の歴史及び現状	2
	(3) 生理学的及び生態学的特性	4
2	遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	8
	(1) 供与核酸に関する情報	8
	(2) ベクターに関する情報	12
	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	12
	(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	16
	(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	19
	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	19
3	遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	22
	(1) 使用等の内容	22
	(2) 使用等の方法	22
	(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法	22
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置	22
	(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	22
	(6) 国外における使用等に関する情報	22
第二	項目ごとの生物多様性影響の評価	23
1	競合における優位性	23
2	有害物質の産生性	25
3	交雑性	27
4	その他の性質	27
第三	生物多様性影響の総合的評価	27
	引用文献	29
	緊急措置計画書	30

第一種使用規程承認申請書

平成 18 年 6 月 28 日

農 林 水 産 大 臣 中 川 昭 一 殿
環 境 大 臣 小 池 百 合 子 殿

氏名 日本モンサント株式会社
申請者 代表取締役社長 山根 精一郎 印
住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 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耐性テンサイ (改変 <i>cp4 epsps</i> , <i>Beta vulgaris</i> L. ssp. <i>vulgaris</i> var. <i>altissima</i>) (H7-1, OECD UI: KM-ØØØH71-4)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	-

生物多様性影響評価書

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

イ．和名:テンサイ 英名: Sugar beet 学名: *Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*

ロ．宿主はアカザ科(Chenopodiaceae)の二年生草本であるテンサイ(*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*)に属する民間育成品種[社外秘]である。[社外秘]は2倍体の多胚性品種である。

ハ．テンサイの正式な学名は *Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima* で、フダンソウ(*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *cicla*、*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *flavescens*)、食用根菜ビート(*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *vulgaris*)、飼料用ビート(*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rapacea*)などのビート類と同様に *Beta vulgaris* 種に属する1変種である(文献1)。

テンサイを含む全ての栽培ビート類の起源は東部地中海沿岸といわれている(文献1)。祖先種はヨーロッパから西アジアの海岸によく見られるハマフダンソウ(*Beta vulgaris* ssp. *maritima*)と考えられている。古代のハマフダンソウが有史前より葉を食用とする野菜として栽培化され、根が肥大した形状の物が1世紀ごろより根部を利用するものとして栽培化されたと考えられている。

ハマフダンソウは起源中心地である東部地中海沿岸より、地中海に沿ってカナリア諸島、アゾレス諸島に広がり、その後大西洋沿岸に沿ってアイルランドとスコットランドの南部に拡大したと考えられており、現在ではエジプトからヨーロッパ北部に分布している(文献1; 文献2)。ハマフダンソウは海岸性の植物であり、高潮線から10~20m内陸の海岸にのみ自生している。自然環境に定着したテンサイもハマフダンソウと同様に海岸から離れた地域では生育していない(文献1)。

なお、我が国においてテンサイ及び *Beta* 属植物が自生しているという報告はない(文献3; 文献4; 文献5)。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ．テンサイの中ではフダンソウが野生種に最も近い形態を示しており、栽培の歴史も古く有史以前からのものである。ビートの葉は紀元前 6 世紀から 4 世紀には栽培化され野菜として用いられてきたことから、おそらく野生種から初めに栽培種のフダンソウが分化し、ついで根菜の系統(食用根菜ビートや飼料用ビートなど)が分化し、最後にテンサイ(*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*)が分化したものであろうといわれている。実際に根部が肥大した飼料用ビートが栽培化されたのは 15 世紀であり、テンサイ(*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*)は 18 世紀末に初めて栽培化された(文献 6)。

1747 年に Markgraf はビートにショ糖が含まれている事を発見し、1790 年 Achard が砂糖製造に成功し育種にも手を広げた。後継者によって現栽培種の礎となったホワイトシレジア種が生まれた。1806 年ナポレオン 1 世による大陸封鎖令以降、欧州各国に砂糖の自給と国内産業保護の機運が高まり、次第に隆盛になった(文献 2)。

現在、テンサイは世界中の温帯地域で栽培される主要砂糖製造用原料作物である。2005 年における全世界での生産量は約 2 億 4,262 万トンで、フランス(約 2,930 万トン)について、ドイツ(約 2,543 万トン)、米国(約 2,472 万トン)、ロシア(約 2,152 万トン)及びウクライナ(約 1,562 万トン)が主要生産国になっている(文献 7)。

ロ．テンサイが砂糖原料として日本に導入されたのは西暦 1870 年頃であり、北海道に導入された。1950 年代に東北から九州へのテンサイ導入が試みられた事もあるが、暖地では病害の発生が多く、収量が少ない等採算性がとれずに断念され、現在の栽培は北海道に限られている(文献 2)。2004 年のテンサイの作付面積は約 6.8 万 ha、総収量は約 466 万トンであった(文献 8 より引用)。

テンサイは諸外国では直播栽培であるが、我が国の栽培地帯(北海道)では春の播種期を早めるため主に移植栽培を行っている。播種は定植の約 1 ヶ月前である 3 月下旬に行う。ペーパーポットに土壌を詰めて播種し、ビニールハウスで育苗する。4 月下旬～5 月下旬の本葉 2～4 葉期にほ場に定植する。施肥量は 10a あたり堆肥 2 トン施用を前提として、化学肥料は窒素 12～16kg、リン酸 18～25kg、カリ 14～18kg が北海道の基準となっている。栽培期間中は適宜薬剤散布や機械により除草及び病害虫防除を行う。我が国でのテンサイの収穫時期は 10～11 月であるが、この期間にも糖分の上昇は続き、気候の良い年には収量の増加も起こる。しかし、収穫時期が遅くなると気温の低下による凍結や降雨の恐れがあることや、秋雨によって畑の土壌状態が悪化することによって収穫作業が困難になることから、この時期の収穫が一般的である(文献 9)。したがって、実際の栽培において種子生産目的以外ではテンサイは二年目の生殖生長を行うことはなく、開花及び

結実する可能性は極めて低い。しかし、栄養生長期の途中でも低温にさらされることにより、生殖生長に転換して抽苔することがある(文献 9)。ただし、抽苔したテンサイは収量及び糖度が低下するため、近年の育種により初年度に抽苔しにくい品種が育成されている。

テンサイは地上部(茎葉部)と地下部(根部)に大別され、その全てを利用することができる。テンサイを糖に加工する際に副産物として生産されるビートパルプ(beet pulp)は、可消化養分を豊富に含んでいるため家畜の飼料として利用されている。もう一つの重要な副産物は廃糖蜜(molasses)であり、これは結晶化できない48%のショ糖を含む粘稠な液体である。廃糖蜜は、酵母、化学物質、医薬品の生産やウシ用混合飼料の生産に使用されている(文献 10)。茎葉部はビートトップ(beet top)と呼ばれ、家畜の飼料として利用されている他、良質の緑肥として畑に鋤き込まれることもある(文献 9)。

日本は2004年に、テンサイ糖としておよそ1トン(文献 8 より引用)、ビートパルプとしておよそ74万トン(文献 11)を輸入しており、ビートパルプは主に米国(37.2万トン)、中国(28.4万トン)、チリ(5.7万トン)から輸入されている。また、2005年に我が国に輸入されたテンサイの種子はおよそ72.8トンであり、主にドイツ(約29.9トン)、フランス(約29.3トン)、アメリカ(約9.2トン)、ベルギー(約4.2トン)から輸入されている(文献 12 より引用)。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ. 基本的特性

テンサイは種子繁殖する二年生のアカザ科作物で、基本染色体数は $x=9$ であり、2倍体、3倍体、4倍体が存在する。草丈は通常30cm~120cmだが200cmに達する場合もある。葉は有柄で地表部にある冠部からロゼット状に出葉する。葉柄の長さ、葉身の形状、大きさ、色は品種・発生時期によって異なる。葉柄の地表面に対する角度にも変異があり、直立型、開平型、中間型などと区別する。根は生育初年度に著しく肥大する(文献 1; 文献 9)。

テンサイは通常春に播種され、生育初年度は栄養生長を行い根部が充実する。一般に生育相は幼苗期、繁茂期、登熟期の3期に分けられる。幼苗期は気温の上昇とともに出葉し、7月上旬には大型葉を抽出する。繁茂期は7月中旬から9月上旬で、この時期に光合成が盛んに行われ、根部の肥大が進む。登熟期は9月以降で、この時期に根部の肥大はさらに進み、地上部では葉の黄化・凋落が始まり、糖が盛んに蓄積される(文献 13)。

冬季の低温(4~7℃)により春化を受け生殖生長への転換が起こり(文献 14)、翌春から夏の長日条件により花芽が分化してとうが立ち(抽苔)、開花して種子を生産する。開花は 6~7 月ごろで、種子は 8 月ごろに形成される。春化に必要な低温の期間は 90~110 日間であり、品種により異なる。生育初年度にも低温にさらされると生殖生長への転換が起こり、花芽が形成されて抽苔することがある。しかし、生育初年度における抽苔は著しい収量・糖分の低下を引き起こすため、近年は初年度に抽苔が生じにくい品種が育成され、栽培されている。花序は主茎の先端部に形成され、通常大きく、集散花序で分枝する。雌雄同花であり、3 本の雌しべの周囲を 5 本の雄しべ及び 5 枚の細い萼片による花被が囲んでおり、花弁はない。花は主茎の先端部及び花序の側枝に付く(文献 1; 文献 9)。

テンサイは本来は複数の花で構成される種房又は種球を有し、複数の種が集合して多胚の種子を形成する。しかし 1 粒の種子から多数の個体が出芽することは栽培上、間引きに労力を多く要し機械化が困難なため、大規模な採種集団の中から特殊なタイプとして単胚種子を生じる劣性遺伝子(m)ホモ型が選抜された(文献 15)。1948 年のこの発見以来、遺伝子 m はあらゆる品種に導入されるようになった(文献 1; 文献 9)。

現在のテンサイ育種のほとんどが細胞質雄性不稔(CMS)を利用した一代雑種である(文献 1)。テンサイの CMS は、細胞質-核遺伝子型の雄性不稔性であり、細胞質遺伝子(ミトコンドリアゲノム)と核遺伝子との相互作用によって引き起こされる(文献 16; 文献 17)。細胞質因子には雄性不稔を発現する細胞質と発現しない細胞質の 2 型、核遺伝子にも不稔性の遺伝子と稔性を回復する遺伝子の 2 型があり、これら細胞質因子と核遺伝子の組み合わせにより花粉稔性(雄性稔性)が決定する。CMS 系統を種子親(母本)として利用し、これに優良な系統を交配させることにより一代雑種が形成される。

また、1970 年以降から栽培されているテンサイ品種のほとんどが三倍体である(文献 1)。三倍体のテンサイは、四倍体の花粉親系統と二倍体の雄性不稔性を有する種子親系統を交配させることにより作られる。結果、この交配による種子は減数分裂がうまく行われなため不稔となる。

□ . 生息又は生育可能な環境の条件

テンサイの栽培は温帯から亜寒帯に広く分布している。180~200 日の生育期間中に積算温度: 2,400~3,000℃、平均気温: 12.3~16.4℃を要し、降水量: 年間 600mm 程度が理想的といわれる。北海道では春先の残雪と低温、10 月の霜雪が生育期間を短縮させ、かつ秋雨が糖分の低下をもたらして低収・低糖分に悩まされた。土壌は作土が深く有機質に富み、排水良好で、pH は中性ないしアルカリ性が適する

(文献 2)。

八．捕食性又は寄生性

-

二．繁殖又は増殖の様式

テンサイの脱粒性は弱い、成熟後に長期間放置された場合には種子が脱粒する場合がある。通常テンサイの種子といわれるものは植物学上の果実に相当し、正確には球果もしくは種球と称し、この中に 1 から 4 個の真の種子(真正種子)が含まれる。複数の真正種子が含まれる原因は、花茎の葉腋に着生した花房の各花が密着しており、種子が登熟するにつれて合体するからである。真正種子を 1 個含む種球を単胚種子、2 個以上含む種球を多胚種子というが、種子中に多数の胚を含むという意味ではない。テンサイの種子の寿命は長く、土壌中に 10 年以上生存することが可能である。実験室の条件で、採種後 6 年目の種子で 70%、8 年目の種子で 59%の発芽率が確認されている(文献 1)。

テンサイは通常、種子により繁殖する。その一方で、収穫後のほ場に残された根部や冠部から植物体を再生することもある(文献 1)。

テンサイ(*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*)は高度の自家不和合性を有する他殖性の二年生植物である。テンサイは風媒を主体とする。開花期間は約 4 週間であり、通常午前中に開花する(文献 18)。雌蕊は開花後 2 週間以上受精可能である(文献 19)。

テンサイの自家不和合性は少なくとも 4 遺伝子座が関与する配偶体型であり、これらの遺伝子座はそれぞれ複数の対立遺伝子を有する。その他にも複数の修飾遺伝子が関与していると考えられている(文献 20; 文献 21)。この配偶体型自家不和合性は、花粉のもつ S 遺伝子と雌ずいのもつ S 遺伝子の間に共通のものがあるとき花粉管の伸長が阻害され、受精が妨げられるというものである。この遺伝的機構が破壊されると「偽自家受精」や「偽自家受粉」が生じることがある。この現象は異なった遺伝子型間では多少見られ、環境要因、特に温度の影響を受けやすい(文献 22)。また、それとは別に、特殊な自殖遺伝子である S^f 遺伝子を保有する個体は、放任受粉条件下においても 90 ~ 95%の比率で自殖種子をつける(文献 15)。

現在、使用されているテンサイの栽培品種は三倍体であることに由来する不稔品種が大半であるため(文献 1)、これらの品種においては自家不和合性の強弱に関

ならず種子が生じることはほとんどない。

テンサイ (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*) はフダンソウ、食用根菜ビート、飼料用ビートなどの *vulgaris* 種に属する各変種と同種であるため、これらの変種との交雑においては生殖隔離機構は存在せず、容易に交雑可能である。

また、テンサイが属する *Beta* 属は *Beta* 節、*Corollinae* 節、*Procumbentes* 節及び *Nanae* 節の4つの節に分かれており、テンサイは野生種である *B. maritima*¹、*B. macrocarpa*、*B. patula*、*B. vulgaris* ssp. *adanensis* と共に *Beta* 節に属している(文献 1)。これら全ての種は交雑可能であり(文献 18; 文献 23)、形成された雑種は稔性がある上、染色体レベルでの不和合性は見受けられない(文献 24)。しかし、テンサイと *B. macrocarpa* の間の雑種は、開花時期が異なるために稀である(文献 25)。また、*B. macrocarpa* と *B. vulgaris* の雑種では、いくらか花粉不稔や胚の死滅が見られる(文献 26)。

Beta 属 *Corollinae* 節の品種の中には、困難は伴うもののテンサイと人工雑種作成の可能な品種がある。しかし、これらの雑種は不稔性が高く、テンサイとの戻し交配ではほとんど種子を生じない。テンサイと *Procumbentes* 節との間の人工交雑による F1 は通常芽生え期に死滅するが、テンサイに接ぎ木をすることで生育可能となり、よく生育することができる。これらの雑種はほぼ完全に不稔であり、戻し交配ではほとんど種子を生じない。栽培種テンサイと *Nanae* 節の *B. nana* との間の雑種は報告されていない(文献 27)。

結論として、テンサイは *Beta* 属 *Beta* 節に属する野生種とのみ交配が可能である。しかし、我が国には *Beta* 属植物は自生していないため(文献 3; 文献 4; 文献 5)、我が国においてテンサイが近縁野生種と自然交雑する可能性は考えられない。

テンサイは風媒花である。昆虫による花粉の移動も行われる場合があるが、頻度は低く、受粉にはあまり寄与しない(文献 1)。花粉粒は球形で表面に多数の凹凸がある。1 葯あたりの花粉数は約 17,000 粒である。したがって 1 花あたり約 85,000 粒、1 個体あたり約 10 億粒の花粉を産生すると考えられる(文献 28)。花粉の寿命は環境条件、特に湿度によるが最大 24 時間である(文献 1)。2 倍体に生じる 1 倍体花粉のサイズは直径約 20 μ m であり、3 倍体に生じる 2 倍体花粉は約 30 μ m である。

OECD のテンサイ種子生産計画によれば、種子生産地として承認されるのは *Beta* 属が自生していないことが確認された場所のみである。交配育種や商業種子

¹ 本評価書では引用した文献(文献 1)に基づき *B. maritima* と記載したが、*B. maritima* は *Beta vulgaris* ssp. *maritima* を指している。

生産を行う際に設定されている隔離距離は、OECDの種子生産計画では、通常の種子生産では他の *Beta* 属からは 1,000m を、保証種子の生産では意図する花粉親の染色体数と近隣の花粉源であるテンサイの染色体数によって 300m から 1,000m の隔離距離を設定するよう定められている(文献 27)。

ホ．病原性

-

へ．有害物質の産生性

他感作用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の産生性は知られていない。

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耐性テンサイ (改変 *cp4 epsps*, *Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*)(H7-1, OECD UI: KM-000H71-4)(以下、本組換えテンサイとする)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は表 1 (p11)に示した通りである。

なお、本組換えテンサイに導入された *cp4 epsps* 遺伝子は、3'末端の塩基配列に制限部位を付与するための改変が加えられており、その結果、*Agrobacterium* sp. CP4 株由来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。したがって、本組換えテンサイに挿入された *cp4 epsps* 遺伝子は「改変 *cp4 epsps* 遺伝子」とし、発現する CP4 EPSPS 蛋白質を「改変 CP4 EPSPS 蛋白質」とする。改変 CP4 EPSPS 蛋白質の推定アミノ酸配列は別添資料 1 の Figure 3 (p73)に示した。

ロ．構成要素の機能

本組換えテンサイの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 1 (p11)に示した。

目的遺伝子である改変 *cp4 epsps* 遺伝子は除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。グリホサートは、非選択的な除草剤であるラウンドアップの有効成分で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸合成経路中の酵素の一つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS)(E.C.2.5.1.19)と特異的に結合してその活性を阻害する(文献 29; 文献 30)。そのため植物はグリホサートを処理すると EPSPS が阻害されることにより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れてしまう。改変 *cp4 epsps* 遺伝子によって産生される改変 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、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸合成が正常に機能して生育することができる。

なお、EPSPS は植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するため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、植物中では葉緑体または色素体に存在する(文献 31)。シキミ酸経路は植物の固定する炭素の 5 分の 1 に関与すると考えられる重要な代謝経路である(文献 32; 文献 30)。本経路は、その第一段階に関与する 3-デオキシ-D-arabino-ヘプツロソン酸-7-リン酸(DAHP)合成酵素によって調節を受けて制御されるが、DAHP からコリスミ酸が生成されるまでの段階では、中間代謝物質や最終生成物によって阻害されたり抑制される可能性が極めて低いことが明らかにされている(文献 33; 文献 34)。したがって、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いる。実際に、通常の 40 倍の EPSPS 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おり(文献 35)、加えて、モンサント・カンパニーがこれまでに商品化した除草剤グリホサート耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の我が国での食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に対照の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。これらのことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを支持している。また、EPSPS はホスホエノールピルビン酸塩(PEP)とシキミ酸-3-リン酸塩(S3P)から、EPSP と無機リン酸塩(Pi)を生じる可逆反応を触媒する酵素であり(文献 36)、これらの基質と特異的に反応することが知られている(文献 37)。これら以外に唯一 EPSPS 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が、その反応性は S3P との反応性の 200 万分の 1 にすぎず、生体内で基質として反応するとは考えられない。

以上のことから、植物 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である改変 CP4 EPSPS 蛋白質の植物における発現によって、植物の代謝経路に何らかの影響を及ぼす可能性

は極めて低いと判断される。

改変 CP4 EPSPS 蛋白質が、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(AD4, TOXIN5, ALLPEPTIDE)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有していなかった。

表 1 本組換えテンサイの作出に用いたプラスミド PV-BVGT08 の構成要素の由来及び機能²

構成要素	サイズ (kbp)	由来及び機能
T-DNA 領域		
右境界配列 (Right Border)	0.36	Ti プラスミド pTiT37 に由来するノパリン型 T-DNA の右境界配列の DNA 断片。右境界配列は、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへの T-DNA の伝達の際、伝達の開始点として利用される(文献 38)。
P-FMV	0.67	Figwort mosaic virus (以下、FMV)の 35S プロモーター(文献 39; 文献 40; 文献 41; 文献 42)。植物体の全組織で恒常的に目的遺伝子を発現させる。なお、FMV プロモーターの下流には、シロイヌナズナ中で EPSPS 蛋白質をコードする <i>epsps</i> 遺伝子由来の 67bp の非翻訳領域が存在する。
<i>ctp2</i>	0.23	<i>Arabidopsis thaliana</i> の <i>epsps</i> 遺伝子の葉緑体輸送ペプチド配列の N 末端(文献 43)。目的蛋白質を葉緑体へ輸送する。
改変 <i>cp4 epsps</i>	1.37	<i>Agrobacterium</i> sp. CP4 株の <i>epsps</i> 遺伝子(文献 44)。機能の詳細については p8~9 に記載した。
E9 3'	0.64	エンドウの ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9 遺伝子の 3 非翻訳領域。mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する(文献 45; 文献 46)。
左境界配列 (Left Border)	0.44	Ti プラスミド pTiA6 に由来する左境界配列の DNA 断片。左境界配列は、T-DNA が <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへ伝達される際の終結点である(文献 47)。
T-DNA 領域外		
<i>ori-V</i>	0.40	広宿主域プラスミド RK2 に由来する複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> においてベクターに自律増殖能を付与する(文献 48)。
<i>rop</i>	0.19	pBR322 由来に由来する複製開始制御領域であり、 <i>E. coli</i> のような宿主内でのプラスミド数の維持のために RNA プライマーの形成を抑制する(文献 49; 文献 50)。
<i>ori-322</i>	0.59	<i>E. coli</i> プラスミド pBR322 に由来する複製開始領域であり、ベクターに <i>E. coli</i> における自律増殖能を付与する(文献 51)。
<i>aadA</i>	0.89	トランスポゾン Tn7 由来のアミノグリコシド改変酵素である 3'(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼの細菌プロモーター、コード領域及びターミネーター。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(文献 52)。(GenBank accession X03043)

² 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はモンサント・カンパニー及び KWS SAAT AG 社に帰属する。

(2) ベクターに関する情報

イ．名称及び由来

本組換えテンサイの作出に用いられたプラスミド・ベクターは、大腸菌 (*Escherichia coli*)由来のプラスミド pBR322 などをもとに構築された。

ロ．特性

本組換えテンサイの作出に用いられた PV-BVGT08 の塩基数は[社外秘]である。大腸菌における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として、スペクチノマイシンやストレプトマイシンに対する耐性を付与する *E. coli* のトランスポゾン Tn7 に由来する *aadA* 遺伝子が T-DNA 領域外に存在している。本プラスミド・ベクターの全塩基配列は、別添資料 3 に示した。

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

イ．宿主内に移入された核酸全体の構成

本組換えテンサイの作出には、上記の *aadA* 遺伝子を有する pBR322 由来のベクターを元にして、改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット([P-FMV]-[*ctp2*]-[改変 *cp4 epsps*]-[E9 3'])を連結したプラスミド PV-BVGT08 を構築し、このプラスミドをベクターとして用いた(表 1, p11 及び図 1, p13 参照)。

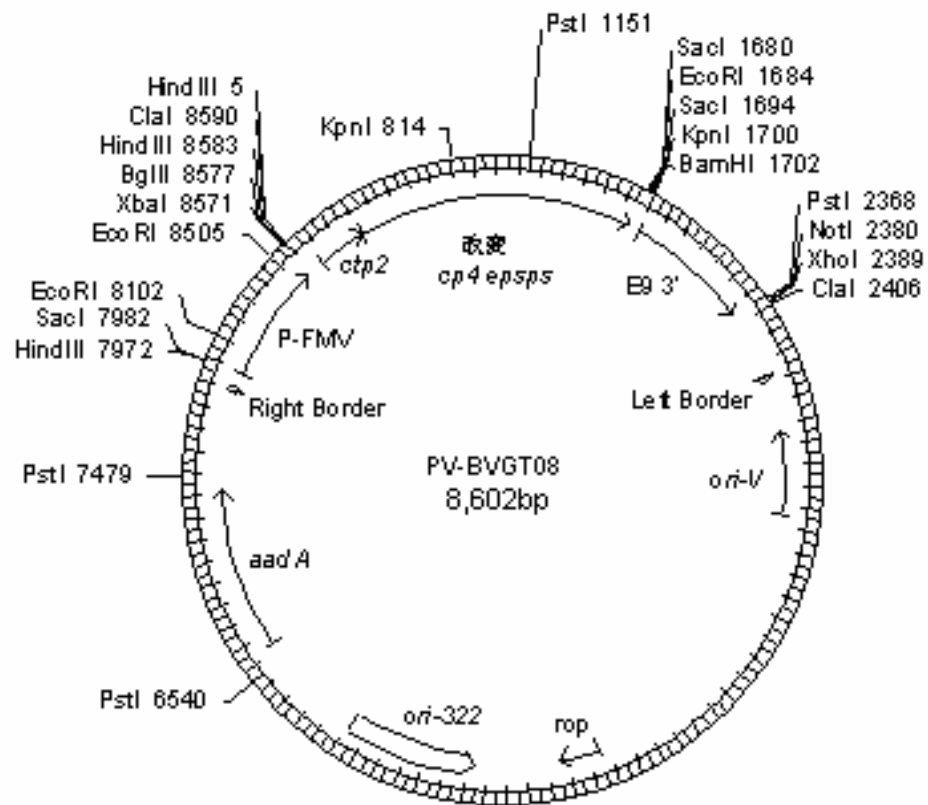


図 1 PV-BVGT08 のプラスミドマップ³

本組換えテンサイの形質転換に利用されたプラスミド・ベクターPV-BVGT08における意図する発現領域は、上図の Right Border から時計回りに Left Border までの領域である。

³ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はモンサント・カンパニー及び KWS SAAT AG 社に帰属する。

ロ． 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミド・ベクターPV-BVGT08 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法によりテンサイの育成品種である[社外秘]の幼植物の子葉組織に導入した。導入母本として利用された[社外秘]は二倍体自殖系統の 3 世代目であり、自家不和合性は有していない。

ハ． 遺伝子組換え生物等の育成の経過

プラスミド PV-BVGT08 を導入した *Agrobacterium tumefaciens* を滅菌したテンサイ幼植物の子葉に接種した後インキュベートし、2~4 日間アグロバクテリウムと共存培養した。その後、500mg/L のカルベニシリンを含む除菌培地でアグロバクテリウムを除いた。そして、グリホサートを含む選抜培地で培養を行ってカルス選抜を行った後、得られたカルスを再分化させてポットに移植し、再分化個体におけるグリホサートに対する耐性を評価した。再分化世代(R0)において導入遺伝子の解析を行うとともに、実際に F1 雑種品種を作成して 1995 年より圃場試験を行い、最終的に商品化系統として H7-1 系統を選抜した。その後、選抜された H7-1 再分化世代(R0:[社外秘])に春化处理を行い、得られた種子(R1:[社外秘])をその後の H7-1 系統の育成に利用した。なお、本評価書における本組換えテンサイ H7-1 系統とは、遺伝子導入して得られた再分化個体(=R0 世代)及びその後代の全てを指している。

なお、本組換えテンサイはモンサント・カンパニーとドイツの KWS SAAT AG 社との共同開発によるものである。

我が国における認可状況は以下の通りである。

- | | |
|------------|---|
| 2003 年 6 月 | 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。 |
| 2005 年 9 月 | 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。 |

なお、本組換えテンサイの育成図を図 2(p15)に記載した。

[社外秘情報につき非開示]

図 2 本組換えテンサイ H7-1 系統の育成図

(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

イ．移入された核酸の複製物が存在する場所

挿入遺伝子によって獲得された形質が後代においてメンデルの遺伝の法則で予想される通りの分離比で現れることから染色体上に存在していると結論した(別添資料 1 の Table5, p54)。

ロ．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

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、本組換えテンサイのゲノム中 1ヶ所に 1 コピーの T-DNA 領域が組み込まれていることが確認された(別添資料 1 の Figure 6, p76;図 3, p18)。また、T-DNA 領域以外の外側骨格領域は挿入されておらず(別添資料 1 の Figure 11, p81)、T-DNA 領域内の改変 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットも完全な状態で挿入されていた(別添資料 1 の Figure 7~9, p77~79)。更に挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された(別添資料 1 の Figure 15, p84)。しかし、プラスミド・ベクターでの意図する発現領域(右境界配列から左境界配列まで)と実際に本組換えテンサイへ導入された配列の比較を行ったところ、挿入遺伝子における 5'末端の右境界配列の手前 18 塩基までがゲノム DNA に組み込まれており、右境界配列は挿入遺伝子に含まれていないことが確認された(別添資料 1 の Figure 13, p82;図 3, p18)。

ハ．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

1 コピーなので該当しない(別添資料 1 の Figure 6, p76)。

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

本組換えテンサイ中での改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量を ELISA 法により分析した。本試験には、商業栽培において食品及び飼料として利用される収穫時の葉及びブライ(根組織を加工処理したもの)をサンプルとして供試した。その結果、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量は、収穫時の葉において平均値 161 μ g/g 生重で、その発現量の範囲は 112~201 μ g/g 生重であり、一方、根部(ブライ)においては平均値 181 μ g/g 生重で、発現量の範囲は 145~202 μ g/g 生重であった(別添資料 1 の Table 6, p56)。なお、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現の安定性に関しては、各世代での除草剤グリホサートに対する耐性により評価しており、複数世代にわたり安定して改変 CP4 EPSPS 蛋白質が発現していることを確認している(図 2, p15; 別添

資料 1 の Figure 15, p84)。

ホ . 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

本組換えテンサイの作出にはアグロバクテリウム法を用いているが、アグロバクテリウムが残存していない事を確認しているため、移入された DNA 断片が野生植物等に伝達されるおそれは無い。

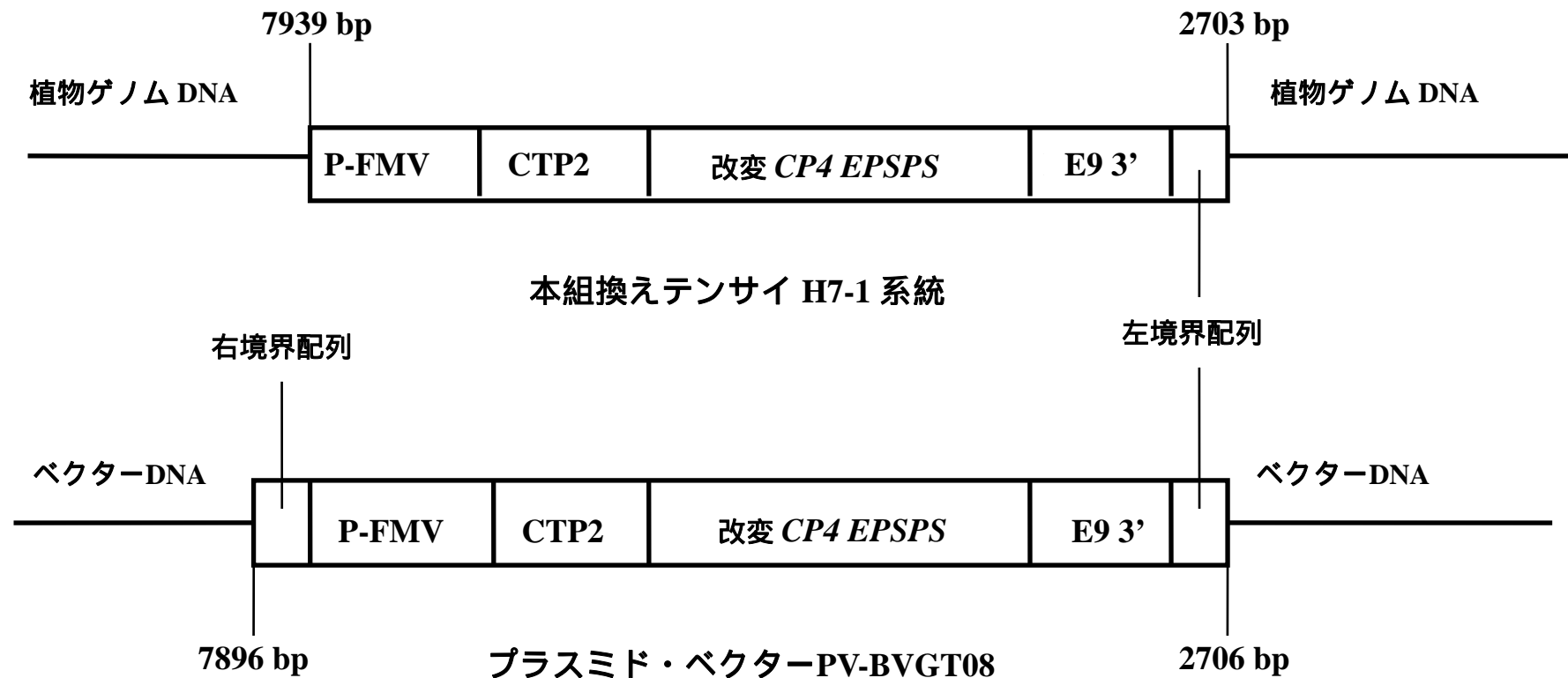


図 3 本組換えテンサイ H7-1 の挿入遺伝子地図⁴

本組換えテンサイにはプラスミド・ベクターPV-BVGT08における T-DNA 領域である右境界配列は挿入されていない。

⁴ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はモンサント・カンパニー及び KWS SAAT AG 社に帰属する。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

本組換えテンサイを検出及び識別するための方法としては、定量 PCR による検出法が確立されており、本法により本組換えテンサイを特異的に検出可能である。検出限界及び定量限界は、それぞれ 10 コピーと $\leq 0.045\%$ である。なお、検出限界は、本組換えテンサイのゲノム DNA を 1 反応あたり 0.313 ゲノムコピーから 20 ゲノムコピーの 7 段階の濃度に希釈したサンプルを 6 反復で解析し、その結果、6 反復すべての解析において陽性反応が得られた 10 ゲノムコピーとした。また、定量限界 $\leq 0.045\%$ は非遺伝子組換えテンサイのゲノム DNA 量に対する本組換えテンサイのゲノム DNA 量の割合を表している。検出法の開発時に 2.0% から 0.045% の 6 段階の割合で本組換えテンサイのゲノム DNA を非組換えテンサイのゲノム DNA に混合したサンプルを使用した。全てのサンプルで本組換えテンサイの検出が可能であったため、定量限界は 0.045% 以下とした。検出方法の詳細については、EU の Community Reference Laboratory ホームページより入手できる (文献 53)。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ. 本組換えテンサイへ導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子は除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質をコードしており、植物体内でこの蛋白質が発現することにより、除草剤グリホサートの影響を受けずに生育することができる(別添資料 4 の図 3, p8)。

ロ.⁵ 2005 年に日本モンサント株式会社河内研究農場の隔離ほ場において、本組換えテンサイの特性検定試験を行った。試験には本組換えテンサイの 5 世代目にあたる[社外秘]系統、対照系統として[社外秘]系統と遺伝的背景の近い非組換えテンサイである[社外秘]系統を供試した。この[社外秘]系統は、O 型個体(雄性不稔を発現しない細胞質と不稔性の遺伝子を持ち合わせる)に雄性不稔性個体を掛け合わせることによって作出された。また、参考品種として、北海道で商業栽培されている従来テンサイ品種のキタサヤカ及びノゾミも合わせて供試した。

形態及び生育の特性

17 項目(発芽揃い、発芽率、葉姿、葉長、葉数、葉色、葉形、葉柄長、収穫期における全重、根長、根周、露肩、トップ重、根重、T/R 比、糖度、抽苔耐性)について本組換えテンサイ及び対照の非組換えテンサイ、参考の従来テンサイ品種の間の形態特性及び生育の差異を調査した(別添資料 4 の表 2~4, p11~13)。

⁵ 本項目中の以下に続く ~ に記載された情報に係る権利及び内容の責任はモンサント・カンパニー及び KWS SAAT AG 社に所属する。

この結果、本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイとの間で葉長及び葉柄長において統計学的有意差が認められたが、その他の項目では差異は認められなかった(別添資料4の表3~4, p12~13)。葉長では、本組換えテンサイが71.8cmであったのに対し、対照の非組換えテンサイの葉長は65.6cmであった。また、本組換えテンサイの葉柄長が35.8cmであったのに対し、対照の非組換えテンサイの葉柄長は30.6cmであった。

生育初期における低温又は高温耐性

本組換えテンサイ、対照の非組換えテンサイ及び参考品種を最高温度を25℃に設定した閉鎖系温室で生育させ、本葉2.5葉期になった時点で低温条件(昼温8℃/夜温5℃、12時間日長)、高温条件(昼温35℃/夜温30℃、14時間日長)に設定した人工気象器内で30日間生育させ、各供試品種の地上部重と地下部重を比較調査した(別添資料4の表5, p21)。

この結果、いずれの条件においても、本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイの間で統計学的有意差は認められなかった。

成体の越冬性又は越夏性

第一の1-(3)-イ(p4~5)に述べたとおり、テンサイは二年生であり、生育初年度の冬季の低温条件(4~7℃)は生殖生長に転換して種子を生産するために必要である。しかし、テンサイは-5℃以下では霜により枯死するような寒さに敏感な作物であることが知られている(文献14)。実際に、本隔離ほ場試験終了時における本組換えテンサイの茎葉部の萎凋の程度は非組換えテンサイと同程度であった。

花粉の稔性及びサイズ

本組換えテンサイは以下に示す理由により我が国において開花あるいは結実するまで生育するとは考えにくく、また、我が国にはテンサイと交雑可能な近縁野生種は自生していないため、本隔離ほ場試験において花粉の稔性及びサイズの調査は行わなかった。

テンサイが我が国において開花あるいは結実するまで生育する可能性が低い理由として、雑草との競合性の低いことが挙げられる。第一の1-(3)-イ(p4~5)に述べたとおり、テンサイは二年生の作物であり、初年度の冬に春化を受けることで、生殖成長に転換して二年目に開花及び結実する。しかし、テンサイは初期生育期間に雑草との競合や病気による被害などを非常に受けやすく(文献1)、その後の生育期間中においても雑草との競合性の低いことが知られている(文献54; 文献55; 文献56)。イギリスにおいて除草剤グリホサート耐性テンサイと非組換えテンサイを自然環境で生育させ、個体群の変動についてモニタリングが行われているが、播種された種子のうち一年目に成体になった個体はどちらも全

体の5%弱程度であり、これら生存個体についてもモニタリング開始から2年のうちに全て消失していたと報告されている(文献57)。実際に、テンサイ栽培地においてテンサイが栽培ほ場の外で発見されることがあるが、そのような植物が野生化しているという報告はない(文献58)。我が国においても、1950年代に東北から九州にかけて導入された歴史があるが、これらの地方においても、その後自生化の報告はない。

また、上述のとおり、テンサイは *Beta* 属 *Beta* 節に属する野生種とのみ交配が可能であるが、我が国には *Beta* 属植物は自生していない(文献3; 文献4; 文献5)。

なお、万が一、上記で想定された以外の原因により本組換えテンサイが開花及び結実した場合を考慮して、本組換えテンサイの生殖特性をドイツでの調査結果に基づき評価した。この試験では、本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイ並びに従来テンサイ品種を供試して生殖特性(葯の重量、1花における葯数、1花における雄しべ数、花粉の直径、1葯における花粉数、花粉の発芽率、1種子における胚の数、胚の長さ、胚の幅、胚の長さ/幅の比)を調査している。その結果、本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイとの間で大きな差異は認められず、また、従来テンサイ品種の範囲内またはそれに近い値であった(別添資料2, p3)。

なお、本組換えテンサイの商品化系統は、細胞質雄性不稔性品種と掛け合わせることで、その一代雑種も細胞質雄性不稔性である。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

本隔離ほ場試験においては種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率の調査は行わなかった。

その理由として、上記のように、テンサイは競合性が低いことが知られており、我が国でも1950年代に東北から九州にかけてテンサイが導入された歴史があるが、これまで我が国の自然環境下においてテンサイが自生化したという報告がないため、本組換えテンサイが我が国において結実するまで生育するとは考えにくいことが挙げられる。

なお、KWS社の育種家によると、本組換えテンサイ H7-1 系統の開発開始(1993年)から現在まで本組換えテンサイの系統維持・選抜過程において、本組換えテンサイの種子生産量は、従来テンサイ品種の種子生産量と違いはなかったと報告されている。ドイツにおいて種子生産に関わる生殖器官の形態特性(葯の重さ、1花あたりの葯の数、1花あたりの雄蕊の数、花粉の直径、1葯あたりの花粉数、花粉の発芽率、子房あたりの胚珠数、胚珠の長さ、胚珠の幅、胚珠の縦横比)について比較調査を行ったところ、本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイとの間で大きな差異は認められず、また、従来テンサイ品種の範囲内またはそれに近い値であった(別添資料2, p3)。また、本組

換えテンサイと対照の非組換えテンサイの間に種子の休眠性及び発芽率に統計学的有意差は認められなかった(別添資料 1 の Table 17, p69)。

交雑率

交雑率の試験は行わなかったが、その理由としては、第一の 1-(3)-二- (p6)に記述したとおり、我が国では本組換えテンサイと交雑可能な *Beta* 属に属する近縁野生種は生育していないためである(文献 3; 文献 4; 文献 5)。

有害物質の産生性

本組換えテンサイから他の植物或いは土壤微生物に影響を与える物質が産生されていないことを確認するために土壤微生物相試験、後作試験及び鋤込み試験を行った。その結果、調査を行った全ての項目で本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイとの間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料 4 の表 6~8, p24~25)。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

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。

(2) 使用等の方法

-

(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

-

(4) 生物多様性影響が生じ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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

(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

-

(6) 国外における使用等に関する情報

これまで 1995～2004 年の間に 13 ヶ国において延べ 431 ヶ所のほ場試験が行われているが(別添資料 1 の Table 1, p50～51)、非組換えテンサイと比較して生物多様性影響が懸念されるような相違は報告されていない。

諸外国における認可状況は以下の通りである。

- 2004 年 8 月 米国食品医薬品局(FDA)より食品及び飼料としての安全性認可を受けた。
- 2005 年 3 月 米国農務省(USDA)より無規制裁培の認可を得た。
- 2005 年 8 月 カナダ厚生省(Health Canada)より食品としての安全性認可を得た。
- 2005 年 9 月 カナダ農務省(CFIA)より飼料としての安全性認可及び無規制裁培の認可を得た。

なお、我が国における認可状況は以下の通りである。

- 2003 年 6 月 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2005 年 9 月 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価⁶

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

我が国において、テンサイは西暦 1870 年頃に導入されこれまでに西南暖地、東北地方、北海道において栽培されたが、我が国においてテンサイが自生しているという報告はない。この理由としては、1) テンサイは雑草との競合性が低いこと(文献 1; 文献 56; 文献 59; 文献 60)、2) ほ場で栽培される場合は初年度に充実した根部を収穫するため、一般に翌年の開花・結実まで至らないこと、3) 寒さに敏感なテンサイは冬季の気温により土壤凍結する地域では枯死するため、二年目の生殖生長へ至らないことなどが挙げられる。また、テンサイの属する *Beta* 属の植物に関しても、日本で自生しているという報告はない。

⁶ 本項目中で、第一の 2-(6)の ~ に記載された試験結果に係る権利及び内容の責任はモンサント・カンパニー及び KWS SAAT AG 社に帰属する。また、本項目の 2.(1)に記載された生物検定の結果に係る権利及び内容の責任はモンサント・カンパニー及び KWS SAAT AG 社に帰属する。

本組換えテンサイは非選択性除草剤グリホサートに高い耐性を持つが、グリホサートを散布されることが想定しにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。実際にイギリスにおいて除草剤グリホサート耐性テンサイを用いた 10 年間のモニタリングが行われているが、非組換えテンサイと比較して競合性は高まっておらず、2 年目のモニタリングの時点で全ての個体群が消失していたと報告されている(文献 57)。

競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温及び高温耐性、成体の越冬性)(第一の 2-(6)-ロ-、及び、p19~20)を比較調査した結果、葉長及び葉柄長を除く、全ての項目で対照の非組換えテンサイとの間に差異或いは統計学的有意差は認められなかった。なお、統計学的有意差の認められた葉長及び葉柄長については、本組換えテンサイと比較品種であるキタサヤカとの間には統計学的有意差が認められなかったことから、本組換えテンサイの葉長及び葉柄長はいずれもテンサイの変動範囲にあると考えられた。

その他の評価項目(花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)については、本隔離ほ場試験では調査を行わなかった。その理由としては、第一の 2 の(6)-ロ-、(p20~21)に記載したように、テンサイはもともと雑草との競合性が低いため本組換えテンサイが我が国において開花あるいは結実することは考えにくい上、我が国にはテンサイと交雑可能な近縁野生種は生育していないことが挙げられる。なお、ドイツの温室において上記の項目を調査しているが、本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイとの間で大きな差異は認められず、また、従来テンサイ品種の範囲内またはそれに近い値であった(別添資料 2, p3)。

以上のことから、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。

(2) 影響の具体的内容の評価

-

(3) 影響の生じやすさの評価

-

(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、本組換えテンサイは競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれがないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

これまでテンサイが生物多様性に影響を生じさせるような有害物質を産生するといった報告はされていない。

本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイとの間で、有害物質の産生性の違いを土壌微生物相試験、後作試験及び鋤込み試験(第一の 2-(6)-ロ- , p22)により比較検討したが、何れの項目においても統計学的有意差は認められなかった。

本組換えテンサイは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変 CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ- (p8~9)に示したように、改変 CP4 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いる。実際に、本組換えテンサイの食品安全性の評価の過程で、本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイの間で芳香族アミノ酸組成に相違は無いことが確認されている(表 2, p26 及び表 3, p26)。さらに、モンサント・カンパニーがこれまでに商品化した除草剤グリホサート耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の我が国での食品及び飼料安全性の評価の過程においても、芳香族アミノ酸含量に対照の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質は高い基質特異性を有するために、他の代謝経路に影響を及ぼして有害物質が産生されることも考えにくい。

したがって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えテンサイ中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

以上のことから、有害物質の産生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。

表 2 本組換えテンサイの茎葉中の芳香族アミノ酸の分析結果 (ヨーロッパ、1999 年)⁷

成分(単位)	対照 平均値 (範囲)	H7-1 平均値 (範囲)	統計処理結果 (有意差) (p<0.05)	商業品種 平均値 (範囲)
フェニルアラニン (% total AA)	5.12 (4.76 – 5.46)	5.06 (4.75 – 5.37)	無し	4.99 (4.47 – 5.40)
トリプトファン (% total AA)	1.60 (1.30 – 1.86)	1.61 (1.12 – 2.20)	無し	1.81 (1.37 – 2.45)
チロシン (% total AA)	3.65 (3.28 – 3.87)	3.54 (3.27 – 3.85)	無し	3.63 (3.21 – 4.70)

Total A.A. = 総アミノ酸量

表 3 本組換えテンサイの根部中の芳香族アミノ酸の分析結果 (ヨーロッパ、1999 年)⁸

成分(単位)	対照 平均値 (範囲)	H7-1 平均値 (範囲)	統計処理結果 (有意差) (p<0.05)	商業品種 平均値 (範囲)
フェニルアラニン (% total AA)	3.36 (2.98 – 3.69)	3.30 (2.52 – 4.02)	無し	3.26 (2.75 – 3.75)
トリプトファン (% total AA)	2.30 (1.11 – 4.26)	2.44 (1.33 – 5.63)	無し	1.93 (1.02 – 5.40)
チロシン (% total AA)	3.53 3.27 – 3.86	3.41 (2.78 – 3.98)	無し	3.34 (2.51 – 4.23)

Total A.A. = 総アミノ酸量

(2) 影響の具体的内容の評価

-

(3) 影響の生じやすさの評価

-

(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、本組換えテンサイは有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生

⁷ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はモンサント・カンパニー及び KWS SAAT AG 社に帰属する。

⁸ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はモンサント・カンパニー及び KWS SAAT AG 社に帰属する。

ずるおそれがないと判断された。

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

第一の(3)-二- (p6~7)に記述したように、我が国では本組換えテンサイと交雑可能な *Beta* 属に属する近縁野生種は生育していない(文献 3; 文献 4; 文献 5)。よって、交雑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。

(2) 影響の具体的内容の評価

-

(3) 影響の生じやすさの評価

-

(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、本組換えテンサイは交雑性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれがないと判断された。

4 その他の性質

本組換えテンサイには、*Caulimovirus* 属に属する *Figwort mosaic virus*(FMV)の 35S プロモーターが使用されており、組換えによる新ウイルスの発生が懸念された。しかし、VIDE データベース Plant Viruses Online で調べたところ *Beta vulgaris* は *Caulimovirus* 属のウイルスにとって非感受性宿主であることから、このような可能性は極めて低いと結論した(文献 61)。

第三 生物多様性影響の総合的評価

テンサイは競合性の低いことが知られており、これまでテンサイが我が国の自然環境下で野生化したという報告はない。

競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温及び高温耐性、成体の越冬性)(第一の 2-(6)-ロ- 、 及び , p19~20)を比較検討した。その結果、葉長及び葉柄長を除く、全ての項目で対照の非組換えテンサイとの間に差異或いは統計学

的有意差は認められなかった。なお、統計学的有意差の認められた葉長及び葉柄長については、本組換えテンサイと比較品種であるキタサヤカとの間には統計学的有意差が認められなかったことから、本組換えテンサイの葉長及び葉柄長はいずれもテンサイの変動範囲にあると考えられた。

その他の評価項目(花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)については、第一の2の(6)-ロ-、(p20~21)に記載したように、テンサイはもともと雑草との競合性が低いため本組換えテンサイが我が国において開花あるいは結実することは考えにくい上、我が国にはテンサイと交雑可能な近縁野生種は生育していないことから調査を行わなかった。

また、本組換えテンサイは除草剤グリホサートに耐性を持つが、グリホサートを散布されるのが想定しにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。以上のことから、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

テンサイに関して、これまでに有害物質の産生性は報告されておらず、これまでの海外でのほ場試験においても有害物質の産生性に関わる相違は報告されていない。

本組換えテンサイと対照の非組換えテンサイとの間で、有害物質の産生性の違いを土壌微生物相試験、後作試験及び鋤込み試験(第一の2-(6)-ロ-、p22)により比較検討したが、何れの項目においても統計学的有意差は認められなかった。また、本組換えテンサイの食品安全性の審査の過程において、主要構成成分並びにアミノ酸組成に相違は無いことが確認されている。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質は高い基質特異性を有するために、他の代謝経路に影響を及ぼして有害物質が産生されることも考えにくい。以上のことから、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。

本組換えテンサイと交雑可能な *Beta* 属に属する植物は我が国に生育していない。以上のことから、本組換えテンサイ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。

本組換えテンサイには、*Caulimovirus* 属に属する *Figwort mosaic virus*(FMV)の 35S プロモーターが使用されており、組換えによる新ウイルスの発生が懸念された。しかし、VIDE データベース Plant Viruses Online で調べたところ *Beta vulgaris* は *Caulimovirus* 属のウイルスにとって非感受性宿主であることから、このような可能性は極めて低いと結論した(文献 61)。

よって、総合的評価として、本組換えテンサイを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結論された

[引用文献]

[社外秘情報につき非開示]

緊急措置計画書（食用・飼料用に供する場合）

平成18年6月28日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎

住所 東京都中央区銀座4丁目10番10号

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耐性テンサイ(改変 *cp4 epsps*、*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*)(H7-1, OECD UI: KM-000H71-4) (以下、本組換え体という)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。

- 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は以下に示す通りである。

平成 18 年 6 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 住所 東京都中央区銀座4丁目10番10号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント株式会社 農薬規制・環境部
	日本モンサント株式会社 河内研究農場
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

* : 管理責任者

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、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

弊社は生物多様性影響に関して必要に応じて生産国の生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。

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の内容

弊社は具体的措置として、特定された問題に応じ、輸入された本組換え体の環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換え体があった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること、必要に応じて本組換え体が日本に輸入されないようにすること等、必要な措置を実行する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。

緊急措置計画書 (栽培目的の場合)

平成18年6月28日

氏名 日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎

住所 東京都中央区銀座4丁目10番10号

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耐性テンサイ(改変*cp4 epsps*、*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*)(H7-1, OECD UI: KM-000H71-4) (以下、本組換え体という)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。

- 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は以下に示す通りである。

平成 18 年 6 月現在

社内委員	
*	日本モンサント(株) 住所 東京都中央区銀座4丁目10番10号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント(株)農薬規制・環境部
	日本モンサント(株)河内研究農場
	日本モンサント(株)バイオ規制・環境部
	日本モンサント(株)バイオ規制・環境部
	日本モンサント(株)バイオ規制・環境部

* : 管理責任者

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、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

弊社は生物多様性影響に関して必要に応じて生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。

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の内容

弊社は具体的措置として、特定された問題に応じ、本組換え体の環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換え体があった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること等、必要な措置を実行する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。