

除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ(*gat4621, Brassica napus L.*)  
(73496, OECD UI: DP-Ø73496-4)申請書等の概要

5	第一種使用規程承認申請書 .....	2
	生物多様性影響評価書の概要 .....	3
	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
10	(2) 使用等の歴史及び現状 .....	3
	(3) 生理学的及び生態学的特性 .....	5
	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 .....	45
15	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法 .....	45
	(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 ..	48
	(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	50
	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 .....	51
	3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 .....	61
20	(1) 使用等の内容 .....	61
	(2) 使用等の方法 .....	61
	(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 .....	61
	(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	
25	るための措置 .....	61
	(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 .....	61
	(6) 国外における使用等に関する情報 .....	61
	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 .....	63
30	1 競合における優位性 .....	63
	2 有害物質の産生性 .....	64
	3 交雑性 .....	65
	4 その他の性質 .....	66
	第三 生物多様性影響の総合的評価 .....	68
35	参考文献 .....	70
	緊急措置計画書 .....	77
	添付資料リスト .....	79

第一種使用規程承認申請書

平成 24 年 7 月 10 日

5

農林水産大臣 郡司 彰 殿  
環境大臣 細野 豪志 殿

10

氏名  
デュポン株式会社  
代表取締役社長 天羽 稔

申請者

15

住所  
東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

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耐性セイヨウナタネ ( <i>gat4621</i> , <i>Brassica napus</i> L.) (73496, OECD UI : DP-Ø73496-4)
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

5

#### 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

10

##### ① 和名、英名及び学名

和名：セイヨウナタネ

英名：oilseed rape、rapeseed

学名：*Brassica napus* L.

15

##### ② 宿主の品種名又は系統名

宿主は、春播き性の 1822 系統である。

20

##### ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

25

セイヨウナタネは、ヨーロッパ、南北アメリカ、アジア、アフリカ、オセアニア等の温帯に分布し（清水他, 2008）、農地、野原、庭園、道路沿い及び廃棄物処理場等で自生している（OECD, 1997）。我が国では、北海道から九州にかけて河原や線路沿いで自生し（清水他, 2008；中井, 2003）、港周辺で運搬時のこぼれ落ちが原因と考えられる生育も確認されている（国立環境研究所, 2011；農林水産省, 2010a）。

30

セイヨウナタネの近縁種として、*B. juncea*（カラシナ）、*B. nigra*（クロガラシ）、*B. rapa*（アブラナ、在来ナタネ）、*Hirschfeldia incana*（ダイコンモドキ）、*Raphanus raphanistrum*（セイヨウノダイコン）、*R. sativus* L. var. *raphanistroides* Makino（ハマダイコン）及び *Sinapis arvensis*（ノハラガラシ）が挙げられる（日本生態学会, 2003；清水他, 2008；中井, 2003；石田, 2004）。

35

##### (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

40

セイヨウナタネはヨーロッパで中世に栽培化された（OECD, 1997）。ナタネ油は、大豆油、綿実油と共に重要な植物油脂である。我が国には明治時代初期に欧米から導入され、現在、青森県、北海道、鹿児島県等で地域資源作物として栽培されている（石田, 2004）。

従来のセイヨウナタネには、種子中にヒトや動物に有害と考えられるエルシン酸やグルコシノレートが含まれている (OGTR, 2008)。エルシン酸は脂肪酸のひとつで、心機能障害を起こす可能性あり、グルコシノレートは含硫配糖体で、甲状腺肥大作用がある (石田, 2004)。したがって、両物質の含量が低いセイヨウナタネ品種が各国で育成され、カナダではカノーラという名称で登録されており (OECD, 2001)、カノーラの搾油後の油かすは飼料としても広く用いられている (OGTR, 2008)。

## ② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

栽培地域：

インド等の亜熱帯からカナダ等の亜寒帯地域まで栽培地域が広がっている (石井, 1999)。主たる生産国は、中国、カナダ及びインドである (FAO, 2012)。我が国では、北海道、青森県、鹿児島県等で栽培されている (農林水産省, 2010b)。

栽培方法：

セイヨウナタネには、秋播き性の高い品種と春播き性の高い品種とがある。西部・中部ヨーロッパ、韓国及び我が国等では、秋播き性の高い品種の冬作が行われ、中部スウェーデンやカナダのように寒冷な地域では、春播き性の高い品種の夏作が行われている (角田, 2001)。

我が国では、東北地方のような寒地では 8~9 月に播種し、翌年の 6~7 月に収穫する。また、九州のような暖地では 10~11 月に播種し、翌年の 4~5 月に収穫する。水田の裏作や畑作の輪作体系中の作物として利用される (石井, 1999)。

流通実態：

2010 年における、セイヨウナタネを含めナタネ全体の世界総生産量は 5,907 万トンで、上位 3 カ国は中国 (1,308 万トン)、カナダ (1,187 万トン)、インド (641 万トン) であった (FAO, 2012)。

2011 年における我が国のナタネ総輸入量は 232 万トンで、主要輸入相手国はカナダ (226 万トン) であった (財務省, 2012)。2010 年の我が国におけるナタネ油生産量は、輸入原料由来のものが 99 万トンで国産原料 (なたね、からし) 由来が 0.05 万トン、油かすの生産量は、輸入原料由来が 127 万トンで国産原料 (なたね、からし) 由来が 0.07 万トンであった (農林水産省, 2011)。

我が国の 2007 年におけるナタネ総生産量は 1,058 トンで、北海道 (469 トン)、青森県 (245 トン)、鹿児島県 (53 トン) が上位の地域であった (農林水産省, 2010b)。

用途：

搾油・精製された油は、食用、食品加工油脂及び工業用原料として利用される。搾油後の油かすは飼肥料となる (石田, 2004)。

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

5

葉は濃青緑で白粉で覆われ滑らかだが、縁に毛が散在することもある。葉は茎の一部を抱く。分枝が多く、分枝の程度は品種や環境により異なる。分枝は、茎の最上位葉の葉腋から発生し、末端に花序を生じる。花序は長い総状花序、花は黄色で頂部は房状になるが、頂芽より高くなることはない。花序の基部から上に向かって開花が進み、花は4枚の花弁を十字の形で有する。(OECD, 1997)

10

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

セイヨウナタネは一般に冷涼な気候を好む。12~30℃で生長が良く、最適生育温度は20℃をわずかに超えた程度である(CFIA, 1994)。秋播き性の高い品種の場合、ヨーロッパ北部や北海道等の極寒地方でも、秋期にある程度の大きさまで生長すれば越冬可能である(志賀・奥山, 2001)。幼苗期や越冬直後は湿害を受けやすく、排水不良のほ場では生育不良や枯死することもある(石田, 2004)。

15

20

#### ハ 捕食性又は寄生性

—

#### ニ 繁殖又は増殖の様式

25

##### ① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

種子が成熟するにしたがって莢は乾燥し、下部から裂開して種子を放出する。莢は割れやすい(志賀, 2001)。莢当たり種子数は15~25粒である(OGTR, 2008)。

30

成熟種子は元来休眠性を示さないが、発芽に適さない環境条件下では休眠(2次休眠)することがある。2次休眠は、急激な温度変化、水分欠乏、長期間の暗条件及び酸素欠乏によって誘導され、2~4℃の低温条件や、高温と低温を切り替えることによって打破される。種子は土壤中で、少なくとも5年間は発芽力を維持し、16年目でも1%の発芽率を示したと報告されている。(OGTR, 2008)

35

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

5 自然条件下で、種子以外に植物体を再生することができる組織又は器官は知られていない。

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

10

基本的に自殖であり、5～30%の他殖率を示す (OECD, 1997)。自家不和合性は有さない (志賀, 2001)。

15

セイヨウナタネと自然交雑可能なことが報告されている近縁種 (FitzJohn *et al.*, 2007; OECD, 1997; OGTR, 2008) のうち、我が国に自生する種は、*B. juncea* (明治時代以前渡来)、*B. nigra* (1947年以前渡来)、*B. rapa* (奈良時代以前渡来)、*H. incana* (1954年以前渡来)、*R. raphanistrum* (1929年以前渡来) 及び *S. arvensis* (1928年以前渡来) である (日本生態学会, 2003; 清水他, 2008; 中井, 2003; 石田, 2004)。

20

これら種との自然交雑性は、以下のように報告されている。

i) *B. juncea*

25

セイヨウナタネと *B. juncea* の交雑率は 1.07～4.7% (Bing *et al.*, 1991; Frello *et al.*, 1995; Jørgensen *et al.*, 1996; OGTR, 2008)。

雑種の花粉の発芽力は 0～30% (Choudhary and Joshi, 1999; Frello *et al.*, 1995; Prakash and Chopra, 1988; Sacristán and Gerdemann, 1986)。

ii) *B. nigra*

30

自然交雑可能とされているが (FitzJohn *et al.*, 2007; OECD, 1997; OGTR, 2008)、自然交雑しなかったという報告もある (Bing *et al.*, 1991; Bing *et al.*, 1996)。

雑種の花粉の発芽力は 0～3% (Bing *et al.*, 1991; Kerlan *et al.*, 1992)。

35

iii) *B. rapa*

セイヨウナタネと *B. rapa* の交雑率は 0.99～13% (Bing *et al.*, 1996; Jørgensen and Andersen, 1994)。

雑種の生存率は 2%未満 (Scott and Wilkinson, 1998)。雑種の花粉の発芽力は 17.2～53% (Choudhary and Joshi, 1999; Jørgensen and Andersen, 1994)。

40

iv) *H. incana*

セイヨウナタネと *H. incana* を 625 : 1 の比率で栽培した場合でも交雑率は 1.5% (Lefol *et al.*, 1996a; OGTR, 2008)。

5 雑種はほとんど花粉を生産せず、雑種の株当たり種子数は 0.5 粒 (Lefol *et al.*, 1996a)。

v) *R. raphanistrum*

10 セイヨウナタネと *R. raphanistrum* の交雑率は 0.05% 以下 (Chèvre *et al.*, 2000; OGTR, 2008)。

雑種の花粉の発芽力は 0~30% (Chèvre *et al.*, 2000; Eber *et al.*, 1994; Kerlan *et al.*, 1992; Warwick *et al.*, 2003)。

雑種の個体当たり種子生産量は 0.78 個 (Chèvre *et al.*, 1998)。

15 vi) *S. arvensis*

自然交雑可能とされているが (FitzJohn *et al.*, 2007; OECD, 1997; OGTR, 2008)、自然交雑しなかったという報告もある (Bing *et al.*, 1991; Bing *et al.*, 1996; Lefol *et al.*, 1996b)。

雑種の花粉の発芽力は 0~39.8% (Kerlan *et al.*, 1992)。

20

セイヨウナタネにはアポミクシスの特性を有するとして報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

25 1 花当たり約 7~9 万粒の花粉を生じる (Takahata *et al.*, 2008)。

花粉は長径 37~39 $\mu$ m、短径 20~22 $\mu$ m の楕円形で、縦方向 3 本のくびれを有する (志賀, 2001)。

30 花粉の媒介方法は、隣接して生育する株との接触、虫媒又は風媒である (OECD, 1997)。

35 長距離の花粉媒介は、主にミツバチやマルハナバチ等の昆虫の虫媒による (OECD, 1997)。ハチの隣花への移動距離のほとんど (最大 80%) は 1m 未満で、花粉の飛散距離は 5m 未満である (OGTR, 2008)。ミツバチの巣箱を設置して行ったセイヨウナタネの交雑試験の結果、1m で交雑率 1.5%、47m で 0.00033% であった (OECD, 1997)。

風による花粉飛散量は、ほ場から 360m 離れると、ほ場端の場合の 10~12% となる (Timmons *et al.*, 1996)。

40

花粉の発芽力は 4~5 日かけて徐々に減少する (Rantio-Lehtimäki, 1995)。

ホ 病原性

—

5

へ 有害物質の産生性

10 従来のセイヨウナタネには、種子中にヒトや動物に有害と考えられるエルシン酸やグルコシノレートが含まれている (OGTR, 2008)。両物質の含量が低いセイヨウナタネ品種が各国で育成され、カナダではカノーラという名称で登録されており (OECD, 2001)、カノーラの搾油後の油かすは飼料として広く用いられている (OGTR, 2008)。本組換えセイヨウナタネの宿主として用いた 1822 系統もカノーラである。

15 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

5

#### イ 構成及び構成要素の由来

10 除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ(*gat4621*, *Brassica napus* L.) (73496, OECD UI : DP-Ø73496-4) (以下「本組換えセイヨウナタネ」という。)における供与核酸の構成及び構成要素の由来を表 1 (10ページ) に示した。また、その供与核酸の塩基配列は添付資料 1 の 10 ページ (社外秘情報につき非開示) に示した。

15 構成要素における *gat4621* 遺伝子は、以下に示す方法で作出した。

15

グリホサート *N*-アセチル化活性を有する *N*-アセチルトランスフェラーゼの探索 :

20 バチルス属微生物の中から、グリホサート *N*-アセチル化活性を示した *Bacillus licheniformis* の ST401 株、B6 株及び DS3 株を選抜し、それぞれのゲノム DNA から *N*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子をクローニングした。

*N*-アセチルトランスフェラーゼの活性を高めるための改変 :

25 除草剤グルホシネート耐性を付与する PAT 蛋白質のグルホシネートに対する活性は、野生型 *N*-アセチルトランスフェラーゼの約 5,000 倍を示すことが報告されている (Siehl *et al.*, 2005)。そこで、本改変においても、*B. licheniformis* 株の野生型 *N*-アセチルトランスフェラーゼの約 5,000 倍の活性を改変の目標とした。

30 改変は、クローニングした上記 3 つの *B. licheniformis* 株の野生型 *N*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子を用い、以下の DNA シャッフリング法で行った (Castle *et al.*, 2004; Keenan *et al.*, 2005; Stemmer, 1994)。

- 1) クローニングした遺伝子を DNA 消化酵素で断片化し、プライマーを添加しない PCR により断片同士を結合させた後、基となった遺伝子の両端部分をプライマーとした PCR を行い完全長の遺伝子を得る。
- 35 2) 再構築した遺伝子を大腸菌に導入し、グリホサート *N*-アセチル化活性を示すコロニーを選抜。
- 3) この中から高い *N*-アセチル化活性を示すクローンを複数選抜し、遺伝子をクローニング。

40 部位特異的変異による遺伝子改変も加え、1)~3)の工程を 11 回繰り返した結果、目標の活性を持つ改変型 *N*-アセチルトランスフェラーゼ遺伝子 (*gat4621* 遺伝子) を得た。

*gat4621* 遺伝子が発現する GAT4621 蛋白質は、元の野生型 *N*-アセチルトラ

ンスフェラーゼの 3,700~5,500 倍の活性を示す ( $k_{cat}/K_m$  値<sup>1)</sup>=6,719 min<sup>-1</sup> mM<sup>-1</sup>)。

ロ 構成要素の機能

5

- 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

供与核酸の各構成要素の機能を表 1 (10ページ) に示した。

10

表 1 本組換えセイヨウナタネの作出に用いた供与核酸の構成並びにその構成要素の由来及び機能

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
<i>UBQ10</i> プロモーター	1,308	シロイヌナズナ ( <i>Arabidopsis thaliana</i> ) 由来 <i>UBQ10</i> ポリユビキチン遺伝子の転写を誘導するプロモーター領域で、植物体内での構成的な発現を誘導する (Norris <i>et al.</i> , 1993)。5'非翻訳領域 (66 bp) 及びイントロン (304 bp) を含む。
<i>gat4621</i>	444	<i>B. licheniformis</i> の 3 つの株 (ST401 株、B6 株及び DS3 株) 由来の遺伝子を基に DNA シャッフリング法により得た。除草剤グリホサートを <i>N</i> -アセチル化する <i>N</i> -アセチルトランスフェラーゼをコードする (GenBank Accession No: CS022547)。
<i>pinII</i> ターミネーター	310	バレイショ ( <i>Solanum tuberosum</i> ) 由来プロテアーゼインヒビターII 遺伝子のターミネーター領域で (Keil <i>et al.</i> , 1986; An <i>et al.</i> , 1989)、転写を停止する。

- 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

15

a 目的遺伝子の発現により産生される蛋白質の機能

20

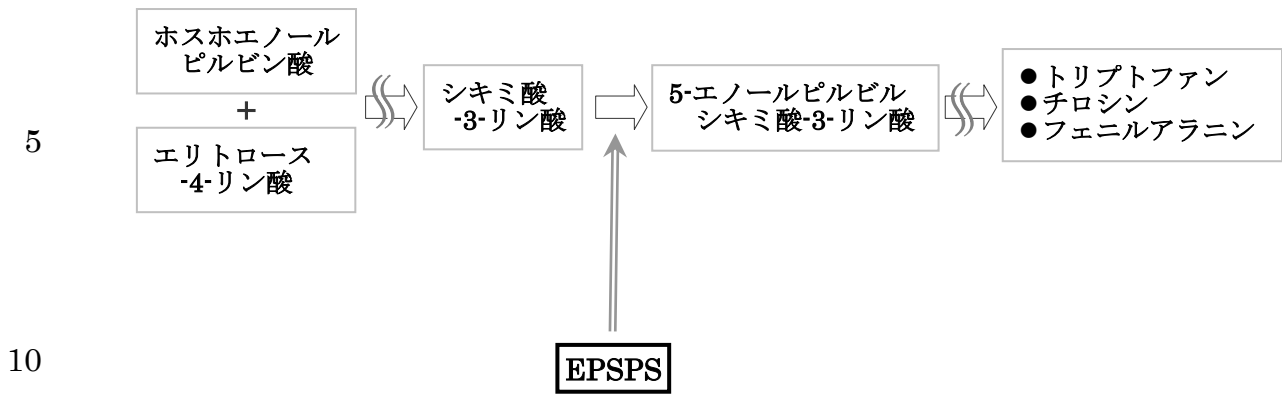
*gat4621* 遺伝子の発現により産生される GAT4621 蛋白質は、除草剤グリホサートを *N*-アセチル化する *N*-アセチルトランスフェラーゼで、147 個のアミノ酸からなり、分子量は約 17kDa である。本蛋白質のアミノ酸配列を添付資料 1 の 5 ページ (社外秘情報につき非開示) に示した。

25

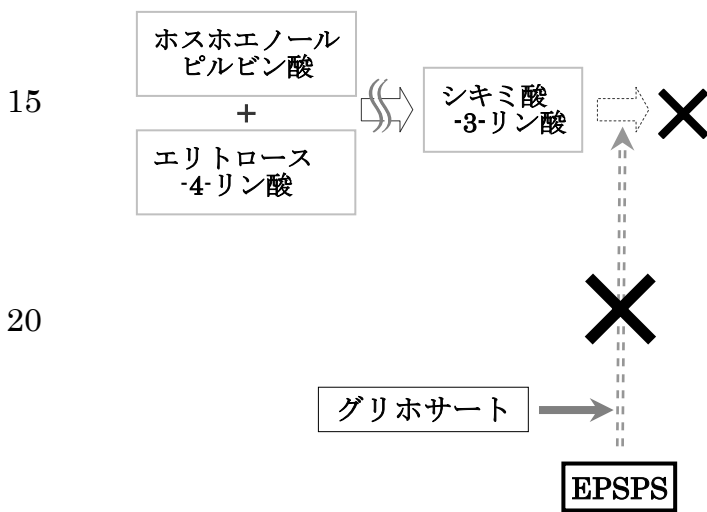
GAT4621 蛋白質は、除草剤グリホサートの NH 基をアセチル化し、5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) 活性を阻害しない *N*-アセチルグリホサートに変えるため、除草剤グリホサートに対する耐性を植物に付与する。(図 1、11ページ)

<sup>1)</sup>  $k_{cat}$  は酵素反応速度定数を、 $K_m$  は基質に対する親和性を、 $k_{cat}/K_m$  値は基質に対する触媒効率を示す。

i) 除草剤非散布時の非組換えセイヨウナタネにおける芳香族アミノ酸合成経路



ii) 除草剤グリホサート散布時の非組換えセイヨウナタネにおける芳香族アミノ酸合成経路



iii) 除草剤グリホサート散布時の本組換えセイヨウナタネにおける芳香族アミノ酸合成経路

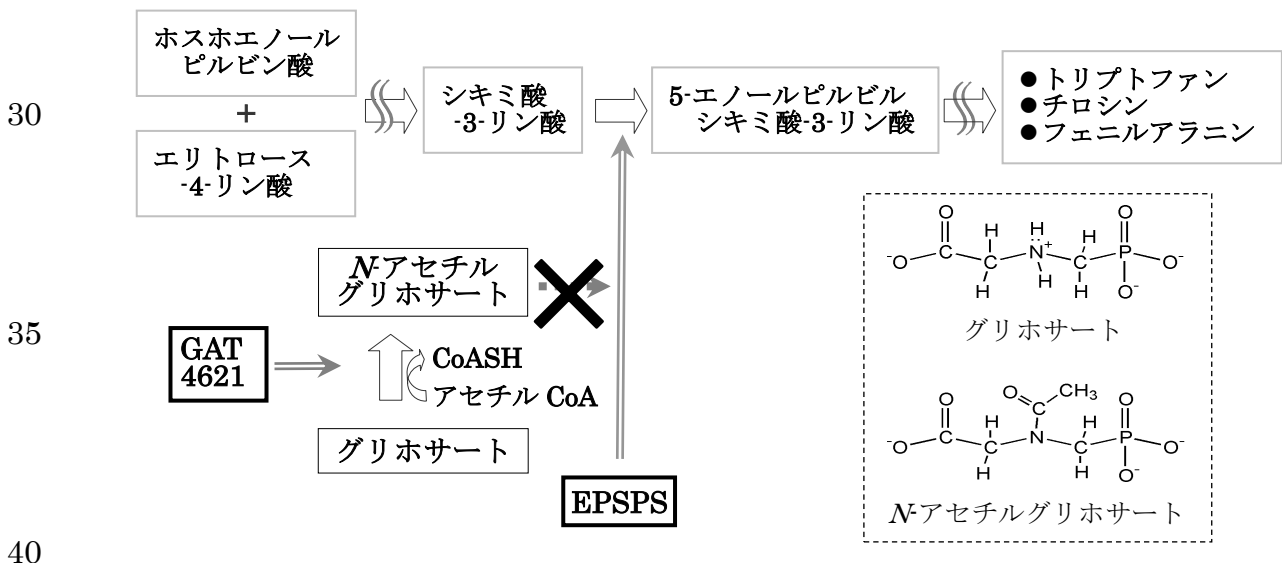


図 1 芳香族アミノ酸合成経路における GAT4621 蛋白質のグリホサートに及ぼす作用機作

b 目的遺伝子の発現により産生される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

5 Food Allergy Research and Resource Program (FARRP) アレルゲンデータベース (Release 12 - February 2012) を用いて、8 アミノ酸残基長以上のペプチドの検索と、FASTA35 アルゴリズム (Pearson and Lipman, 1988) による 80  
10 アミノ酸残基長以上の配列における相同性 35%以上の検索を行った。本データベース中には、1,603 件の既知アレルゲンのアミノ酸配列が含まれる。その結果、GAT4621 蛋白質と相同性を示す既知アレルゲン等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

15 GAT4621 蛋白質が宿主の持つ代謝系を変化させる可能性について検討した。GAT4621 蛋白質の基質となる化合物を確認した結果、5 種のアミノ酸に対して触媒活性が認められたため、本組換えセイヨウナタネにおける *N*-アセチルアミノ酸量を分析し、*N*-アセチルアミノ酸の増加によるアミノ酸及び遊離アミノ酸組成への影響を調べた。

20 GAT4621 蛋白質の基質となる化合物

GAT4621 蛋白質の基質となる可能性が考えられた化合物に対する触媒活性を測定した。本実験では検出力を高めるために、*N*-アセチル化反応における反応産物である Coenzyme A を 30 分間蓄積させた量で判定した。基質には、アミノ酸  
25 (21 種)、農薬 (除草剤、殺虫剤及び殺菌剤 20 種)、抗生物質 (カナマイシンやアンピシリン等、10 種) を用いた。その結果、対照として用いたグリホサート  
の他、アスパラギン酸、グルタミン酸、トレオニン、セリン及びグリシンの 5 種のアミノ酸に対して触媒活性が認められた。

30 そこで、前述の  $k_{cat}/K_m$  値の測定 (本文第一. 2. (1) . イ、9ページ) で用いた反応液に 100mM の KCl を加え、生体内に近いイオン強度条件にした反応液を用い、触媒活性の測定を行った。本試験においては、グリホサートと構造が類似する 4 種類の化合物 (D-2-アミノ-3-ホスホノプロピオネート、L-2-アミノ-3-  
35 ホスホノプロピオネート、DL-2-アミノ-4-ホスホノブチレート、DL-2-アミノ-5-ホスホノペンタノエート) も基質として用いた。その結果、GAT4621 蛋白質のグリホサートに対する  $k_{cat}/K_m$  値が  $1,063 \text{ min}^{-1}\text{mM}^{-1}$  であり、アスパラギン酸及びグルタミン酸に対しては  $12.1 \text{ min}^{-1}\text{mM}^{-1}$  と  $8.32 \text{ min}^{-1}\text{mM}^{-1}$  であった。また、トレオニンとセリンに対しては  $0.605 \text{ min}^{-1}\text{mM}^{-1}$  以下で、グリシン及びグリホサート類似化合物に対しては触媒活性が認められなかった。

40

アミノ酸組成

上述のように、低いながら 5 種のアミノ酸に対して触媒活性が認められたため、

本組換えセイヨウナタネ種子、地上部植物体及び根における *N*-アセチルアミノ酸量を分析した。

5       その結果、種子では非組換えセイヨウナタネと比較して、*N*-アセチルアスパラギン酸、*N*-アセチルグルタミン酸、*N*-アセチルセリン及び *N*-アセチルトレオニンの計 4 種が統計学的に有意に (P 値<0.05) 増加していたが、*N*-アセチルセリン及び *N*-アセチルトレオニンの含有量は、自社商業品種変動の範囲内であった (表 2、16ページ)。また、地上部植物体及び根においては *N*-アセチルアスパラギン酸、*N*-アセチルグルタミン酸、*N*-アセチルグリシン及び *N*-アセチルトレオニンの計 4 種が非組換えセイヨウナタネと比べ統計学的に有意に (P 値<0.05) 増加していた (表 3及び表 4、17及び18ページ)。

また、本組換えセイヨウナタネの種子、地上部植物体及び根におけるアミノ酸及び遊離アミノ酸組成の分析を行った。

15       その結果、種子のアミノ酸及び遊離アミノ酸組成は、非組換えセイヨウナタネと比較して、統計学的有意差 (P 値<0.05) が認められないか、自社商業品種変動の範囲内であった (表 5及び表 6、19及び22ページ)。地上部植物体及び根については、いくつかの分析項目において、本組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差 (P 値<0.05) が認められたが (表 7～表 10、26～36ページ)、種子、地上部植物体及び根の全体として、アミノ酸及び遊離アミノ酸の増減に一定の傾向は認められないこと等を考慮すると、地上部植物体及び根においても、*N*-アセチルアミノ酸の増加は宿主のアミノ酸プールに生物学的に有意な影響を与えるものではないと考えられた。

### 25       昆虫への影響の可能性

25       *N*-アセチルアミノ酸は、本組換えセイヨウナタネ中で新たに産生された成分ではなく、肉類、穀類、野菜、果物等の動植物中にも含まれている (Hession *et al.*, 2008; 添付資料 2)。さらに、文献検索の結果、*N*-アセチルアミノ酸の昆虫への影響に関する報告はなかった。

30       本組換えセイヨウナタネによる昆虫への影響の可能性を調べるため、円形に切り出した本組換えセイヨウナタネ及び非組換えセイヨウナタネの葉上で、モンシロチョウ (*Pieris rapae*) 幼虫を 30 個体ずつ 7 日間飼育し、飼育後の死亡率及び体重を測定した (表 11、40ページ; 添付資料 10; 社外秘情報につき非開示)。  
35       なお、本試験に用いた本組換えセイヨウナタネ葉の *N*-アセチルアスパラギン酸含量は 6,591 (µg/g 凍結乾燥物重)<sup>2)</sup>であり (表 12、40ページ)、本組換えセイヨウナタネ種子中の *N*-アセチルアスパラギン酸含量の 95%信頼区間上限値である 1,640 (µg/g 乾物重)、地上部植物体中の 4,950 (µg/g 凍結乾燥物重) 及び根中の最大値の 5,390 (µg/g 乾物重) より高い値であった (表 2～表 4、16～18

---

<sup>2)</sup> 凍結乾燥物には通常約 1 割の水分が含まれるが、当該サンプルについては水分含量を測定するのに十分な量が残っていないため、正確に乾物重に換算することができなかった。凍結乾燥物重当たりを、乾物重当たりに換算した場合、数値は約 1 割増加する。

ページ)。

試験の結果、本組換えセイヨウナタネを摂食した幼虫の死亡率に、非組換えセイヨウナタネに比べ統計学的に有意な (P 値<0.05) 増加は認められず、体重の有意な (P 値<0.05) 減少も認められなかった。

5 したがって、本組換えセイヨウナタネがモンシロチョウの幼虫の成育に悪影響を及ぼす結果は認められなかった。

10 さらに、下記の延べ 34 ヶ所のほ場試験で食害程度の調査を実施したが、いずれのほ場においても、本組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネの間に相違は認められなかった。

ほ場試験 1 : 2007 年~2010 年、カナダ及び米国ほ場で地上部植物体の昆虫種及び食害程度を調査。

15 ノミハムシ (*Phyllothreta cruciferae* 又は *Phyllothreta striolata*)、モンシロチョウ等の昆虫種が認められた。重度の食害が認められたアルバータ州 2 ヶ所においても、非組換えセイヨウナタネとの間で地上部植物体の食害程度に差はなかった (表 13及び表 14、41及び42ページ)。

20 ほ場試験 2 : 2009 年及び 2010 年、カナダ及び米国ほ場で、地上部植物体の食害程度を調査。

25 地上部植物体の食害程度に非組換えセイヨウナタネの間に統計学的有意差 (P 値<0.05) は認められなかった (表 15及び表 16、43及び44ページ)。特に重度の食害が認められた 2009 年のワシントン州のほ場においても、非組換えセイヨウナタネとの間で差はなかった (表 15、43ページ)。

以上、

30 • *N*-アセチルアミノ酸は様々な植物に含まれ、また *N*-アセチルアミノ酸の昆虫への影響に関する報告はなかったこと、  
• *N*-アセチルアミノ酸含量の増加が、アミノ酸プールに生物学的に有意な影響を与えるものではないと考えられること、  
• *N*-アセチルアスパラギン酸含量が、95%信頼区間の上限値又は最大値より高い葉を用いた摂食試験において、本組換えセイヨウナタネがモンシロチョウ幼虫の成育に悪影響を及ぼさなかったこと、  
35 • 延べ 34 ヶ所のほ場試験で、本組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネの間の食害程度に相違は認められなかったこと、から  
これらを総合的に考察し、本組換えセイヨウナタネにおける *N*-アセチルアミノ酸含有量の増加が昆虫に影響を及ぼす可能性は低いと考えた。

40

なお、*N*-アセチルアミノ酸の毒性に関する知見の蓄積を目的に、細菌を用いた復帰突然変異試験、マウスを用いた小核試験、ラットを用いた急性経口毒性試験、

ラットを用いた飼料混入投与による 28 日間反復経口投与毒性試験を自主的に実施した。また、*N*-アセチルアスパラギン酸については、ラットを用いた飼料混入投与による 90 日間反復経口投与毒性試験、ラットを用いた飼料混入投与による二世代繁殖毒性試験も実施した。以上の各毒性試験の結果から、本組換えセイヨウナタネで有意な増加が認められた *N*-アセチルアミノ酸が動物の健康に悪影響を及ぼすことはないと考えられた。(Delaney *et. al.*, 2008; Delaney, 2010; Harper *et. al.*, 2009; Harper *et. al.*, 2010; Karaman *et. al.*, 2009; Karaman *et. al.*, 2011a; Karaman *et. al.*, 2011b; van de Mortel *et. al.*, 2010a; van de Mortel *et. al.*, 2010b)

#### 除草剤グリホサートの代謝物

本組換えセイヨウナタネにおける除草剤グリホサートの主な代謝物は *N*-アセチルグリホサートであり、その他にアミノメチルホスホン酸 (AMPA) 及び *N*-アセチルアミノメチルホスホン酸 (*N*-アセチル AMPA) がある。

これら代謝物の安全性については、*N*-アセチルグリホサートの場合、その毒性はグリホサートと同等であり、AMPA についても毒物学上の懸念となるものではなく、*N*-アセチル AMPA の毒性は低いとされている (OECD, 1999; US EPA, 2008)。

米国及びカナダで栽培した本組換えセイヨウナタネに、本除草剤を両国の使用基準に定められた最大薬量及び最大回数 (2 又は 3 回)<sup>3)</sup>で散布した後、成熟種子について残留量を測定した結果、グリホサート自身の残留値は、3 回散布の場合でも 2.5 mg/kg (ppm) であり、我が国におけるナタネ中の残留農薬基準値 (10 ppm; 日本食品化学研究振興財団, 2012) 未満であった。また、グリホサートとその代謝物 3 種の残留値の合計は 3.9 mg/kg (グリホサート換算) であった。

---

<sup>3)</sup> 2 回散布 : 発芽前 1,754 g acid equivalent (a.e. ; グリホサート遊離酸等量)/ha、  
6 葉期 620 g a.e./ha。  
3 回散布 : 発芽前 675 g a.e./ha、6 葉期 675 g a.e./ha、収穫の 7 日前 900 g a.e./ha。

表 2 本組換えセイヨウナタネ種子中の *N*-アセチルアミノ酸

( $\mu\text{g/g}$  乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	自社商業品種 変動の範囲
<i>N</i> -アセチル アスパラギン酸	平均値	1.24	1480	0.00861 - 4.43
	最小値 - 最大値	0.377 - 5.39	1200 - 1770	
	信頼区間	0 - 9.38	1340 - 1640	
	P 値	/		
<i>N</i> -アセチル グルタミン酸	平均値	0.628	32.8	0.0968 - 5.37
	最小値 - 最大値	0.428 - 1.46	20.3 - 61.1	
	信頼区間	0.00000752 - 2.50	24.4 - 42.5	
	P 値	/		
<i>N</i> -アセチル グリシン	平均値	0.0751	0.0825	0.0240 - 0.338
	最小値 - 最大値	0.0481 - 0.125	0.0424 - 0.182	
	信頼区間	0.0540 - 0.105	0.0592 - 0.115	
	P 値	/		
<i>N</i> -アセチル セリン	平均値	0.843	1.04	0.0524 - 27.2
	最小値 - 最大値	0.389 - 3.05	0.491 - 3.55	
	信頼区間	0.437 - 1.63	0.542 - 2.01	
	P 値	/		
<i>N</i> -アセチル トレオニン	平均値	0.110	0.546	0.0140 - 1.74
	最小値 - 最大値	0.0531 - 0.212	0.260 - 1.64	
	信頼区間	0.0665 - 0.181	0.331 - 0.902	
	P 値	/		

非組換えセイヨウナタネ：5536×1822 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代 (図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示)。

5 栽培条件：2009 年、カナダのマニトバ州 3 ヶ所、米国のノースダコタ州、ワシントン州、  
計 5 ヶ所。4 プロット / ほ場、n=20。

統計解析：線形混合モデルを用いて分散分析。

1) 統計学的有意差あり (P 値<0.05)。



表 3 本組換えセイヨウナタネ地上部植物体中の *N*-アセチルアミノ酸

( $\mu\text{g/g}$  凍結乾燥物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
<i>N</i> -アセチル アスパラギン酸	平均値	0.705	4560
	最小値 - 最大値	0.404 - 1.23	3730 - 5340
	信頼区間	0.649 - 0.766	4190 - 4950
	P 値		<0.0001 <sup>1)</sup>
<i>N</i> -アセチル グルタミン酸	平均値	2.04	26.0
	最小値 - 最大値	1.45 - 3.27	21.0 - 35.9
	信頼区間	1.87 - 2.22	23.8 - 28.3
	P 値		<0.0001 <sup>1)</sup>
<i>N</i> -アセチル グリシン	平均値	0.152	0.344
	最小値 - 最大値	0.122 - 0.193	0.247 - 0.445
	信頼区間	0.139 - 0.166	0.316 - 0.376
	P 値		<0.0001 <sup>1)</sup>
<i>N</i> -アセチル セリン	平均値	14.0	13.0
	最小値 - 最大値	10.2 - 21.9	9.17 - 22.0
	信頼区間	12.3 - 15.9	11.5 - 14.7
	P 値		0.406
<i>N</i> -アセチル トレオニン	平均値	1.92	7.67
	最小値 - 最大値	1.60 - 2.50	5.43 - 11.8
	信頼区間	1.76 - 2.11	7.00 - 8.39
	P 値		<0.0001 <sup>1)</sup>

非組換えセイヨウナタネ：5536×5676 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*5 世代（図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示）。

栽培条件：温室で栽培、花芽分化期に収穫。n=15。

統計解析：線形混合モデルを用いて分散分析。

1) 統計学的有意差あり（P 値<0.05）。

表 4 本組換えセイヨウナタネ根中の *N*-アセチルアミノ酸

( $\mu\text{g/g}$  乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
<i>N</i> -アセチル アスパラギン酸	平均値	0.472	4980
	最小値 - 最大値	0.338 - 0.867	4770 - 5390
	標準偏差	0.222	254
	P 値	/	
<i>N</i> -アセチル グルタミン酸	平均値	0.914	37.8
	最小値 - 最大値	0.544 - 1.39	28.7 - 45.9
	標準偏差	0.312	7.65
	P 値	/	
<i>N</i> -アセチル グリシン	平均値	0.491	0.796
	最小値 - 最大値	0.392 - 0.612	0.663 - 0.949
	標準偏差	0.0828	0.132
	P 値	/	
<i>N</i> -アセチル セリン	平均値	12.5	13.0
	最小値 - 最大値	7.96 - 21.8	9.23 - 15.8
	標準偏差	5.67	3.25
	P 値	/	
<i>N</i> -アセチル トレオニン	平均値	2.93	8.39
	最小値 - 最大値	2.40 - 3.62	6.92 - 11.1
	標準偏差	0.494	1.60
	P 値	/	

非組換えセイヨウナタネ：5536×5676 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代 (図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示)。

栽培条件：2012 年、米国アイオワ州の温室で栽培、開花期に採取。40 個体を 8 個体ずつにまとめて分析 (非組換えセイヨウナタネ、本組換えセイヨウナタネ各 5 サンプル)。

統計解析：マン・ホイットニーの U 検定。

1) 統計学的有意差あり (P 値<0.05)。

5

10

15

表 5 本組換えセイヨウナタネ種子中のアミノ酸組成 (1/3)  
(%乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	自社商業品種 変動の範囲
アラニン	平均値	1.14	1.12	0.588 - 1.90
	最小値・最大値	1.01 - 1.37	0.970 - 1.32	
	信頼区間	1.02 - 1.28	0.996 - 1.25	
	P 値		0.0446 <sup>1)</sup>	
アルギニン	平均値	1.62	1.57	0.741 - 3.07
	最小値・最大値	1.30 - 1.98	1.32 - 1.92	
	信頼区間	1.42 - 1.85	1.37 - 1.79	
	P 値		0.0502	
アスパラギン酸	平均値	2.00	2.06	0.980 - 3.52
	最小値・最大値	1.26 - 2.54	1.77 - 2.50	
	信頼区間	1.71 - 2.33	1.77 - 2.40	
	P 値		0.152	
シスチン	平均値	0.606	0.618	0.311 - 1.24
	最小値・最大値	0.505 - 0.751	0.523 - 0.722	
	信頼区間	0.516 - 0.712	0.526 - 0.726	
	P 値		0.592	
グリシン	平均値	1.38	1.35	0.688 - 2.52
	最小値・最大値	1.09 - 1.61	1.17 - 1.54	
	信頼区間	1.25 - 1.52	1.22 - 1.49	
	P 値		0.162	
グルタミン酸	平均値	5.05	5.01	1.99 - 11.9
	最小値・最大値	2.48 - 6.68	4.30 - 6.40	
	信頼区間	4.23 - 6.02	4.20 - 5.97	
	P 値		0.783	
ヒスチジン	平均値	0.800	0.801	0.342 - 1.72
	最小値・最大値	0.644 - 0.966	0.667 - 0.939	
	信頼区間	0.712 - 0.899	0.713 - 0.900	
	P 値		0.945	
イソロイシン	平均値	1.08	1.06	0.533 - 1.95
	最小値・最大値	0.869 - 1.30	0.922 - 1.25	
	信頼区間	0.958 - 1.22	0.935 - 1.19	
	P 値		0.113	

脚注については21ページを参照。

表 5 本組換えセイヨウナタネ種子中のアミノ酸組成 (2/3)

(%乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	自社商業品種 変動の範囲
ロイシン	平均値	1.88	1.83	0.910 - 3.42
	最小値 - 最大値	1.52 - 2.26	1.59 - 2.19	
	信頼区間	1.66 - 2.12	1.62 - 2.07	
	P 値		0.0498 <sup>1)</sup>	
リシン	平均値	1.65	1.64	0.729 - 3.16
	最小値 - 最大値	1.25 - 2.02	1.48 - 1.97	
	信頼区間	1.45 - 1.87	1.45 - 1.86	
	P 値		0.669	
メチオニン	平均値	0.464	0.472	0.258 - 0.857
	最小値 - 最大値	0.383 - 0.546	0.402 - 0.546	
	信頼区間	0.408 - 0.529	0.415 - 0.538	
	P 値		0.596	
フェニルアラニン	平均値	1.12	1.10	0.545 - 2.12
	最小値 - 最大値	0.901 - 1.35	0.927 - 1.28	
	信頼区間	1.01 - 1.26	0.985 - 1.23	
	P 値		0.167	
プロリン	平均値	1.63	1.59	0.717 - 3.36
	最小値 - 最大値	1.46 - 1.98	1.38 - 1.95	
	信頼区間	1.43 - 1.87	1.39 - 1.83	
	P 値		0.123	
セリン	平均値	1.12	1.12	0.576 - 2.08
	最小値 - 最大値	0.719 - 1.34	0.985 - 1.31	
	信頼区間	1.01 - 1.25	1.00 - 1.25	
	P 値		0.971	
トレオニン	平均値	1.11	1.11	0.619 - 1.95
	最小値 - 最大値	0.847 - 1.29	0.997 - 1.26	
	信頼区間	1.02 - 1.22	1.01 - 1.21	
	P 値		0.687	
トリプトファン	平均値	0.325	0.312	0.153 - 0.537
	最小値 - 最大値	0.242 - 0.429	0.236 - 0.427	
	信頼区間	0.256 - 0.382	0.239 - 0.371	
	P 値		0.212	

脚注については21ページを参照。

表 5 本組換えセイヨウナタネ種子中のアミノ酸組成 (3/3)

(%乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	自社商業品種 変動の範囲
チロシン	平均値	0.635	0.620	0.337 - 1.20
	最小値 - 最大値	0.552 - 0.757	0.508 - 0.737	
	信頼区間	0.573 - 0.704	0.560 - 0.688	
	P 値		0.205	
バリン	平均値	1.39	1.36	0.682 - 2.49
	最小値 - 最大値	1.04 - 1.66	1.20 - 1.59	
	信頼区間	1.23 - 1.57	1.20 - 1.54	
	P 値		0.159	

5

非組換えセイヨウナタネ：5536×1822 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代 (図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示)。

栽培条件：2009 年、カナダのマニトバ州 3 ヶ所、米国のノースダコタ州、ワシントン州、計 5 ヶ所。4 プロット / ほ場、n=20。

統計解析：線形混合モデルを用いて分散分析。

10

1) 統計学的有意差あり (P 値<0.05)。

表 6 本組換えセイヨウナタネ種子中の遊離アミノ酸組成 (1/4)

(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	自社商業品種 変動の範囲
α-アミノブチル酸	平均値	<0.00606 <sup>2)</sup>	<0.00606 <sup>2)</sup>	0 - 3.00
	最小値・最大値	<0.00606 <sup>2)</sup>	<0.00606 <sup>2)</sup>	
	信頼区間	NA	NA	
	P 値		NA	
γ-アミノブチル酸	平均値	1.19	1.04	0 - 3.00
	最小値・最大値	0.840 - 1.53	0.740 - 1.57	
	信頼区間	1.02 - 1.39	0.893 - 1.22	
	P 値		0.0668	
アラニン	平均値	0.200	0.204	0.00816 - 3.26
	最小値・最大値	0.104 - 0.499	0.0920 - 0.512	
	信頼区間	0.105 - 0.381	0.107 - 0.389	
	P 値		0.860	
アルギニン	平均値	0.166	0.167	0.0164 - 1.62
	最小値・最大値	0.108 - 0.240	0.113 - 0.292	
	信頼区間	0.125 - 0.220	0.126 - 0.222	
	P 値		0.754	
アスパラギン	平均値	0.559	0.436	0.148 - 1.92
	最小値・最大値	0.442 - 0.720	0.318 - 0.580	
	信頼区間	0.462 - 0.677	0.361 - 0.528	
	P 値		<0.0001 <sup>1)</sup>	
アスパラギン酸	平均値	0.250	0.195	0.0396 - 2.16
	最小値・最大値	0.115 - 0.441	0.0513 - 0.463	
	信頼区間	0.124 - 0.506	0.0963 - 0.394	
	P 値		0.0954	
シスチン	平均値	<0.00606 <sup>2)</sup>	0.00879	0 - 0.0158
	最小値・最大値	<0.00606 <sup>2)</sup>	0.00858 - 0.00899	
	信頼区間	NA	NA	
	P 値		NA	
エタノールアミン	平均値	0.0997	0.0970	0.00369 - 0.833
	最小値・最大値	0.0766 - 0.121	0.0768 - 0.121	
	信頼区間	0.0863 - 0.115	0.0840 - 0.112	
	P 値		0.479	

脚注については25ページを参照。

表 6 本組換えセイヨウナタネ種子中の遊離アミノ酸組成 (2/4)

(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	自社商業品種 変動の範囲
グルタミン酸	平均値	0.439	0.326	0 - 6.79
	最小値 - 最大値	0.0504 - 1.03	0.0329 - 0.811	
	信頼区間	0.128 - 1.51	0.0949 - 1.12	
	P 値		0.0376 <sup>1)</sup>	
グルタミン	平均値	0.0648	0.0482	0.00512 - 0.770
	最小値 - 最大値	0.0245 - 0.189	0.0191 - 0.125	
	信頼区間	0.0381 - 0.110	0.0283 - 0.0819	
	P 値		0.0241 <sup>1)</sup>	
グリシン	平均値	0.0407	0.0426	0.00765 - 0.188
	最小値 - 最大値	0.0303 - 0.0640	0.0288 - 0.0762	
	信頼区間	0.0311 - 0.0534	0.0325 - 0.0559	
	P 値		0.513	
ヒスチジン	平均値	0.0411	0.0361	0.0110 - 0.145
	最小値 - 最大値	0.0284 - 0.0564	0.0245 - 0.0599	
	信頼区間	0.0333 - 0.0507	0.0292 - 0.0445	
	P 値		0.00461 <sup>1)</sup>	
ヒドロキシプロリン	平均値	<0.00606 <sup>2)</sup>	<0.00606 <sup>2)</sup>	0 - 0.0194
	最小値 - 最大値	<0.00606 <sup>2)</sup>	<0.00606 <sup>2)</sup>	
	信頼区間	NA	NA	
	P 値		NA	
イソロイシン	平均値	0.0291	0.0235	0.00573 - 0.120
	最小値 - 最大値	0.0181 - 0.0484	0.0136 - 0.0407	
	信頼区間	0.0189 - 0.0446	0.0153 - 0.0360	
	P 値		<0.0001 <sup>1)</sup>	
ロイシン	平均値	0.0283	0.0251	0.00575 - 0.119
	最小値 - 最大値	0.0188 - 0.0428	0.0150 - 0.0431	
	信頼区間	0.0204 - 0.0394	0.0181 - 0.0349	
	P 値		0.0153 <sup>1)</sup>	
リシン	平均値	0.0558	0.0506	0.0103 - 0.254
	最小値 - 最大値	0.0346 - 0.432	0.0341 - 0.0719	
	信頼区間	0.0466 - 0.0669	0.0422 - 0.0606	
	P 値		0.417	

脚注については25ページを参照。

表 6 本組換えセイヨウナタネ種子中の遊離アミノ酸組成 (3/4)

(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	自社商業品種 変動の範囲
メチオニン	平均値	0.0112	0.0115	0 - 0.0264
	最小値 - 最大値	<0.00606 <sup>2)</sup> - 0.0216	<0.00606 <sup>2)</sup> - 0.0224	
	信頼区間	0.00811 - 0.0156	0.00830 - 0.0159	
	P 値		0.764	
オルニチン	平均値	<0.00606 <sup>2)</sup>	<0.00606 <sup>2)</sup>	0.00891 - 0.937
	最小値 - 最大値	<0.00606 <sup>2)</sup>	<0.00606 <sup>2)</sup>	
	信頼区間	NA	NA	
	P 値		NA	
フェニルアラニン	平均値	0.101	0.0887	0.0202 - 0.439
	最小値 - 最大値	0.0592 - 0.166	0.0450 - 0.150	
	信頼区間	0.0690 - 0.146	0.0609 - 0.129	
	P 値		<0.0001 <sup>1)</sup>	
プロリン	平均値	0.0873	0.0618	0.0108 - 0.831
	最小値 - 最大値	0.0443 - 0.253	0.0401 - 0.0935	
	信頼区間	0.0634 - 0.120	0.0449 - 0.0850	
	P 値		0.00227 <sup>1)</sup>	
セリン	平均値	0.0934	0.0787	0.0186-0.520
	最小値 - 最大値	0.0398 - 0.142	0.0386 - 0.109	
	信頼区間	0.0811 - 0.107	0.0684 - 0.0906	
	P 値		0.0149 <sup>1)</sup>	
タウリン	平均値	<0.00606 <sup>2)</sup>	<0.00606 <sup>2)</sup>	NC
	最小値 - 最大値	<0.00606 <sup>2)</sup>	<0.00606 <sup>2)</sup>	
	信頼区間	NA	NA	
	P 値		NA	
トレオニン	平均値	0.0658	0.0662	0.0187 - 0.181
	最小値 - 最大値	0.0550 - 0.0812	0.0513 - 0.0827	
	信頼区間	0.0579 - 0.0747	0.0583 - 0.0753	
	P 値		0.576	
トリプトファン	平均値	0.0536	0.0530	0.0106 - 0.209
	最小値 - 最大値	0.0354 - 0.0968	0.0293 - 0.110	
	信頼区間	0.0350 - 0.0823	0.0345 - 0.0813	
	P 値		0.607	

脚注については25ページを参照。



表 6 本組換えセイヨウナタネ種子中の遊離アミノ酸組成 (4/4)

(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	自社商業品種 変動の範囲
チロシン	平均値	0.0371	0.0344	0.00994 - 0.176
	最小値・最大値	0.0245 - 0.0778	0.0242 - 0.0527	
	信頼区間	0.0301 - 0.0457	0.0279 - 0.0425	
	P 値		0.0488 <sup>1)</sup>	
バリン	平均値	0.0597	0.0545	0.0185 - 0.396
	最小値・最大値	0.0408 - 0.0899	0.0340 - 0.0926	
	信頼区間	0.0417 - 0.0854	0.0381 - 0.0780	
	P 値		0.00738 <sup>1)</sup>	

非組換えセイヨウナタネ：5536×1822 系統。

- 5 本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代（図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示）。  
栽培条件：2009年、カナダのマニトバ州3ヶ所、米国のノースダコタ州、ワシントン州、  
計5ヶ所。4プロット / ほ場、n=20。

統計解析：線形混合モデルを用いて分散分析。

NA：統計処理できないもの。

- 10 NC：算出されず。

1) 統計学的有意差あり (P 値<0.05)。

2) 定量下限値未満。

表 7 本組換えセイヨウナタネ地上部植物体中のアミノ酸組成 (1/3)  
(%乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
アラニン	平均値	1.63	1.61
	最小値 - 最大値	1.55 - 1.73	1.52 - 1.74
	標準偏差	0.0756	0.0912
	P 値		0.690
アルギニン	平均値	2.12	1.66
	最小値 - 最大値	1.93 - 2.39	1.51 - 1.90
	標準偏差	0.176	0.151
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
アスパラギン酸	平均値	2.71	3.01
	最小値 - 最大値	2.57 - 2.85	2.85 - 3.35
	標準偏差	0.119	0.197
	P 値		0.0159 <sup>1)</sup>
シスチン	平均値	0.428	0.382
	最小値 - 最大値	0.384 - 0.478	0.367 - 0.410
	標準偏差	0.0420	0.0195
	P 値		0.0635
グリシン	平均値	1.38	1.39
	最小値 - 最大値	1.31 - 1.48	1.32 - 1.50
	標準偏差	0.0650	0.0699
	P 値		0.889
グルタミン酸	平均値	5.65	5.90
	最小値 - 最大値	5.14 - 6.21	5.23 - 6.72
	標準偏差	0.474	0.579
	P 値		0.548
ヒスチジン	平均値	0.759	0.670
	最小値 - 最大値	0.697 - 0.838	0.634 - 0.744
	標準偏差	0.0519	0.0447
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
イソロイシン	平均値	1.19	1.17
	最小値 - 最大値	1.16 - 1.24	1.11 - 1.27
	標準偏差	0.0313	0.0618
	P 値		0.421

脚注については28ページを参照。

表 7 本組換えセイヨウナタネ地上部植物体中のアミノ酸組成 (2/3)  
(%乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
ロイシン	平均値	2.20	2.15
	最小値・最大値	2.11 - 2.30	2.03 - 2.35
	標準偏差	0.0744	0.124
	P 値		0.548
リシン	平均値	1.98	1.92
	最小値・最大値	1.91 - 2.04	1.82 - 2.13
	標準偏差	0.0534	0.124
	P 値		0.222
メチオニン	平均値	0.584	0.500
	最小値・最大値	0.527 - 0.657	0.466 - 0.533
	標準偏差	0.0514	0.0303
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
フェニルアラニン	平均値	1.50	1.45
	最小値・最大値	1.40 - 1.63	1.37 - 1.58
	標準偏差	0.0915	0.0838
	P 値		0.516
プロリン	平均値	1.54	1.18
	最小値・最大値	1.44 - 1.65	1.07 - 1.29
	標準偏差	0.101	0.0966
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
セリン	平均値	1.44	1.29
	最小値・最大値	1.36 - 1.55	1.21 - 1.41
	標準偏差	0.0727	0.0764
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
トレオニン	平均値	1.28	1.24
	最小値・最大値	1.20 - 1.36	1.18 - 1.34
	標準偏差	0.0596	0.0623
	P 値		0.286
トリプトファン	平均値	0.480	0.385
	最小値・最大値	0.424 - 0.565	0.339 - 0.464
	標準偏差	0.0663	0.0479
	P 値		0.0476 <sup>1)</sup>

脚注については28ページを参照。

表 7 本組換えセイヨウナタネ地上部植物体中のアミノ酸組成 (3/3)  
(%乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
チロシン	平均値	0.664	0.561
	最小値 - 最大値	0.576 - 0.706	0.527 - 0.631
	標準偏差	0.0507	0.0403
	P 値		0.0159 <sup>1)</sup>
バリン	平均値	1.54	1.52
	最小値 - 最大値	1.49 - 1.61	1.45 - 1.65
	標準偏差	0.0444	0.0800
	P 値		0.421

非組換えセイヨウナタネ：5536×5676 系統。

5 本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代 (図 3、47 ページ；社外秘情報につき非開示)。  
栽培条件：2012 年、米国アイオワ州の温室で栽培、開花期に採取。40 個  
体を 8 個体ずつにまとめて分析 (非組換えセイヨウナタネ、本  
組換えセイヨウナタネ各 5 サンプル)。

統計解析：マン・ホイットニーの U 検定。

10 自社商業品種変動の範囲はない。

1) 統計学的有意差あり (P 値<0.05)。

表 8 本組換えセイヨウナタネ地上部植物体中の遊離アミノ酸組成 (1/4)  
(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
α-アミノブチル酸	平均値	0.0730	0.0945
	最小値 - 最大値	0.0606 - 0.0896	0.0660 - 0.107
	標準偏差	0.0106	0.0168
	P 値	/	
γ-アミノブチル酸	平均値	3.02	3.03
	最小値 - 最大値	0.871 - 5.08	2.00 - 4.15
	標準偏差	2.02	0.943
	P 値	/	
アラニン	平均値	1.68	1.77
	最小値 - 最大値	1.43 - 1.93	1.50 - 2.06
	標準偏差	0.178	0.259
	P 値	/	
アルギニン	平均値	12.5	4.83
	最小値 - 最大値	10.6 - 14.3	3.81 - 5.81
	標準偏差	1.80	0.774
	P 値	/	
アスパラギン	平均値	3.91	4.56
	最小値 - 最大値	3.32 - 4.39	3.50 - 5.62
	標準偏差	0.445	0.768
	P 値	/	
アスパラギン酸	平均値	0.287	0.315
	最小値 - 最大値	0.227 - 0.331	0.275 - 0.360
	標準偏差	0.0446	0.0380
	P 値	/	
シスチン	平均値	0.0202	0.0269
	最小値 - 最大値	<0.00596 <sup>2)</sup> -0.0359	0.0181 - 0.0350
	標準偏差	0.0117	0.00640
	P 値	/	
エタノールアミン	平均値	0.433	0.528
	最小値 - 最大値	0.395 - 0.467	0.502 - 0.569
	標準偏差	0.0294	0.0261
	P 値	/	

脚注については32ページを参照。

表 8 本組換えセイヨウナタネ地上部植物体中の遊離アミノ酸組成 (2/4)  
(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
グルタミン酸	平均値	1.16	1.06
	最小値 - 最大値	0.964 - 1.35	0.635 - 1.99
	標準偏差	0.150	0.539
	P 値		0.222
グルタミン	平均値	43.4	37.9
	最小値 - 最大値	39.2 - 47.1	30.5 - 43.7
	標準偏差	2.96	5.74
	P 値		0.0952
グリシン	平均値	0.251	0.284
	最小値 - 最大値	0.199 - 0.308	0.256 - 0.311
	標準偏差	0.0388	0.0202
	P 値		0.0794
ヒスチジン	平均値	2.96	1.28
	最小値 - 最大値	2.64 - 3.20	0.919 - 1.58
	標準偏差	0.270	0.255
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
ヒドロキシプロリン	平均値	<0.00586 <sup>2)</sup>	<0.00586 <sup>2)</sup>
	最小値 - 最大値	<0.00586 <sup>2)</sup>	<0.00586 <sup>2)</sup>
	標準偏差	NA	NA
	P 値		NA
イソロイシン	平均値	0.906	0.634
	最小値 - 最大値	0.732 - 1.29	0.529 - 0.809
	標準偏差	0.221	0.109
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
ロイシン	平均値	0.817	0.505
	最小値 - 最大値	0.653 - 1.19	0.360 - 0.686
	標準偏差	0.218	0.118
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
リシン	平均値	0.368	0.267
	最小値 - 最大値	0.299 - 0.427	0.225 - 0.349
	標準偏差	0.0583	0.0505
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>

脚注については32ページを参照。

表 8 本組換えセイヨウナタネ地上部植物体中の遊離アミノ酸組成 (3/4)  
(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
メチオニン	平均値	0.307	0.305
	最小値 - 最大値	0.282 - 0.327	0.263 - 0.339
	標準偏差	0.0224	0.0361
	P 値		0.952
オルニチン	平均値	0.219	0.0831
	最小値 - 最大値	0.164 - 0.254	0.0743 - 0.0976
	標準偏差	0.0344	0.00943
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
フェニルアラニン	平均値	0.760	0.424
	最小値 - 最大値	0.653 - 0.954	0.356 - 0.487
	標準偏差	0.122	0.0508
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
プロリン	平均値	3.68	0.769
	最小値 - 最大値	2.03 - 4.99	0.366 - 1.95
	標準偏差	1.29	0.665
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
セリン	平均値	7.79	5.07
	最小値 - 最大値	7.20 - 8.38	4.09 - 6.06
	標準偏差	0.513	0.798
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
タウリン	平均値	<0.00596 <sup>2)</sup>	<0.00596 <sup>2)</sup>
	最小値 - 最大値	<0.00596 <sup>2)</sup>	<0.00596 <sup>2)</sup>
	標準偏差	NA	NA
	P 値		NA
トレオニン	平均値	1.60	1.06
	最小値 - 最大値	1.37 - 1.86	0.934 - 1.28
	標準偏差	0.175	0.139
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
トリプトファン	平均値	0.433	0.226
	最小値 - 最大値	0.379 - 0.584	0.183 - 0.290
	標準偏差	0.0856	0.0444
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>

脚注については32ページを参照。

表 8 本組換えセイヨウナタネ地上部植物体中の遊離アミノ酸組成 (4/4)

(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
チロシン	平均値	0.661	0.424
	最小値 - 最大値	0.568 - 0.815	0.302 - 0.523
	標準偏差	0.0930	0.0903
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
バリン	平均値	1.05	0.881
	最小値 - 最大値	0.905 - 1.24	0.762 - 1.08
	標準偏差	0.127	0.120
	P 値		0.0556

非組換えセイヨウナタネ：5536×5676 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代 (図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示)。

栽培条件：2012 年、米国アイオワ州の温室で栽培、開花期に採取。40 個体を 8 個体ずつにまとめて分析 (非組換えセイヨウナタネ、本組換えセイヨウナタネ各 5 サンプル)。

統計解析：マン・ホイットニーの U 検定。

NA：統計処理できないもの。

自社商業品種変動の範囲はない。

1) 統計学的有意差あり (P 値<0.05)。

2) 定量下限値未満。

5

10

15



表 9 本組換えセイヨウナタネ根中のアミノ酸組成 (1/3)  
(%乾物重)

分 析 項 目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
アラニン	平均値	0.545	0.626
	最小値 - 最大値	0.517 - 0.603	0.552 - 0.676
	標準偏差	0.0385	0.0454
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
アルギニン	平均値	0.416	0.466
	最小値 - 最大値	0.395 - 0.440	0.394 - 0.505
	標準偏差	0.0220	0.0425
	P 値		0.151
アスパラギン酸	平均値	1.02	1.50
	最小値 - 最大値	0.915 - 1.20	1.36 - 1.59
	標準偏差	0.111	0.0858
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
シスチン	平均値	0.256	0.236
	最小値 - 最大値	0.243 - 0.272	0.214 - 0.255
	標準偏差	0.0124	0.0171
	P 値		0.111
グリシン	平均値	0.511	0.604
	最小値 - 最大値	0.482 - 0.548	0.528 - 0.647
	標準偏差	0.0323	0.0463
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
グルタミン酸	平均値	2.25	2.00
	最小値 - 最大値	1.90 - 2.67	1.87 - 2.15
	標準偏差	0.303	0.118
	P 値		0.198
ヒスチジン	平均値	0.298	0.316
	最小値 - 最大値	0.283 - 0.311	0.282 - 0.334
	標準偏差	0.0121	0.0204
	P 値		0.135
イソロイシン	平均値	0.503	0.551
	最小値 - 最大値	0.477 - 0.547	0.499 - 0.573
	標準偏差	0.0282	0.0311
	P 値		0.0952

脚注については35ページを参照。

表 9 本組換えセイヨウナタネ根中のアミノ酸組成 (2/3)  
(%乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
ロイシン	平均値	0.773	0.897
	最小値 - 最大値	0.732 - 0.846	0.793 - 0.940
	標準偏差	0.0484	0.0608
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
リシン	平均値	0.767	0.935
	最小値 - 最大値	0.710 - 0.894	0.796 - 0.988
	標準偏差	0.0810	0.0789
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
メチオニン	平均値	0.290	0.269
	最小値 - 最大値	0.274 - 0.313	0.240 - 0.289
	標準偏差	0.0183	0.0188
	P 値		0.286
フェニルアラニン	平均値	0.463	0.536
	最小値 - 最大値	0.441 - 0.491	0.462 - 0.571
	標準偏差	0.0231	0.0440
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
プロリン	平均値	0.524	0.475
	最小値 - 最大値	0.466 - 0.603	0.434 - 0.503
	標準偏差	0.0499	0.0264
	P 値		0.0952
セリン	平均値	0.610	0.644
	最小値 - 最大値	0.554 - 0.674	0.569 - 0.681
	標準偏差	0.0460	0.0435
	P 値		0.310
トレオニン	平均値	0.492	0.565
	最小値 - 最大値	0.466 - 0.539	0.507 - 0.589
	標準偏差	0.0302	0.0340
	P 値		0.0159 <sup>1)</sup>
トリプトファン	平均値	0.160	0.154
	最小値 - 最大値	0.154 - 0.166	0.148 - 0.157
	標準偏差	0.00483	0.00344
	P 値		0.0714

脚注については35ページを参照。

表 9 本組換えセイヨウナタネ根中のアミノ酸組成 (3/3)  
(%乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
チロシン	平均値	0.344	0.345
	最小値・最大値	0.339・0.349	0.310・0.367
	標準偏差	0.00397	0.0212
	P 値		0.246
バリン	平均値	0.614	0.691
	最小値・最大値	0.578・0.678	0.619・0.722
	標準偏差	0.0409	0.0420
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>

非組換えセイヨウナタネ：5536×5676 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代 (図 3、47 ページ；社外秘情報につき非開示)。

栽培条件：2012 年、米国アイオワ州の温室で栽培、開花期に採取。40 個体を 8 個体ずつにまとめて分析 (非組換えセイヨウナタネ、本組換えセイヨウナタネ各 5 サンプル)。

統計解析：マン・ホイットニーの U 検定。

自社商業品種変動の範囲はない。

1) 統計学的有意差あり (P 値<0.05)。

5

10

表 10 本組換えセイヨウナタネ根中の遊離アミノ酸組成 (1/4)

(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
α-アミノブチル酸	平均値	0.0962	0.0731
	最小値 - 最大値	0.0359 - 0.214	0.0262 - 0.119
	標準偏差	0.0723	0.0434
	P 値		0.690
γ-アミノブチル酸	平均値	3.66	3.13
	最小値 - 最大値	3.04 - 4.15	2.43 - 3.82
	標準偏差	0.568	0.611
	P 値		0.206
アラニン	平均値	1.20	0.897
	最小値 - 最大値	1.01 - 1.35	0.741 - 1.16
	標準偏差	0.134	0.163
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
アルギニン	平均値	0.668	0.464
	最小値 - 最大値	0.403 - 0.994	0.388 - 0.536
	標準偏差	0.226	0.0699
	P 値		0.0556
アスパラギン	平均値	2.28	1.05
	最小値 - 最大値	1.44 - 3.25	0.709 - 1.53
	標準偏差	0.646	0.303
	P 値		0.0159 <sup>1)</sup>
アスパラギン酸	平均値	0.384	0.317
	最小値 - 最大値	0.270 - 0.585	0.224 - 0.443
	標準偏差	0.126	0.0897
	P 値		0.548
シスチン	平均値	<0.00596 <sup>2)</sup>	0.00497
	最小値 - 最大値	<0.00596 <sup>2)</sup>	<0.00596 <sup>2)</sup> -0.00808
	標準偏差	NA	NA
	P 値		NA
エタノールアミン	平均値	0.589	0.572
	最小値 - 最大値	0.530 - 0.625	0.527 - 0.617
	標準偏差	0.0417	0.0440
	P 値		0.548

脚注については39ページを参照。

表 10 本組換えセイヨウナタネ根中の遊離アミノ酸組成 (2/4)  
(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
グルタミン酸	平均値	0.825	0.564
	最小値 - 最大値	0.465 - 1.39	0.289 - 1.01
	標準偏差	0.360	0.323
	P 値		0.222
グルタミン	平均値	18.0	8.96
	最小値 - 最大値	13.6 - 24.0	6.55 - 11.3
	標準偏差	4.07	1.85
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
グリシン	平均値	0.363	0.283
	最小値 - 最大値	0.222 - 0.464	0.211 - 0.393
	標準偏差	0.108	0.0796
	P 値		0.151
ヒスチジン	平均値	1.22	0.540
	最小値 - 最大値	1.00 - 1.48	0.486 - 0.651
	標準偏差	0.193	0.0660
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
ヒドロキシプロリン	平均値	<0.00586 <sup>2)</sup>	<0.00586 <sup>2)</sup>
	最小値 - 最大値	<0.00586 <sup>2)</sup>	<0.00586 <sup>2)</sup>
	標準偏差	NA	NA
	P 値		NA
イソロイシン	平均値	0.904	0.463
	最小値 - 最大値	0.532 - 1.34	0.329 - 0.815
	標準偏差	0.291	0.200
	P 値		0.0159 <sup>1)</sup>
ロイシン	平均値	0.483	0.308
	最小値 - 最大値	0.243 - 0.733	0.177 - 0.531
	標準偏差	0.176	0.136
	P 値		0.222
リシン	平均値	0.241	0.271
	最小値 - 最大値	0.142 - 0.329	0.188 - 0.324
	標準偏差	0.0700	0.0516
	P 値		0.548

脚注については39ページを参照。

表 10 本組換えセイヨウナタネ根中の遊離アミノ酸組成 (3/4)

(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
メチオニン	平均値	0.158	0.169
	最小値 - 最大値	0.136 - 0.173	0.141 - 0.211
	標準偏差	0.0154	0.0260
	P 値		0.690
オルニチン	平均値	0.257	0.317
	最小値 - 最大値	0.189 - 0.372	0.246 - 0.404
	標準偏差	0.0864	0.0607
	P 値		0.310
フェニルアラニン	平均値	0.376	0.289
	最小値 - 最大値	0.281 - 0.493	0.245 - 0.398
	標準偏差	0.0826	0.0651
	P 値		0.0952
プロリン	平均値	2.18	0.267
	最小値 - 最大値	0.976 - 3.81	0.179 - 0.549
	標準偏差	1.19	0.159
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
セリン	平均値	4.20	2.15
	最小値 - 最大値	3.42 - 5.17	1.69 - 2.56
	標準偏差	0.706	0.416
	P 値		0.00794 <sup>1)</sup>
タウリン	平均値	<0.00596 <sup>2)</sup>	<0.00596 <sup>2)</sup>
	最小値 - 最大値	<0.00596 <sup>2)</sup>	<0.00596 <sup>2)</sup>
	標準偏差	NA	NA
	P 値		NA
トレオニン	平均値	1.01	0.775
	最小値 - 最大値	0.816 - 1.27	0.645 - 0.912
	標準偏差	0.165	0.103
	P 値		0.0317 <sup>1)</sup>
トリプトファン	平均値	0.233	0.223
	最小値 - 最大値	0.126 - 0.407	0.171 - 0.319
	標準偏差	0.109	0.0621
	P 値		1.00

脚注については39ページを参照。

表 10 本組換えセイヨウナタネ根中の遊離アミノ酸組成 (4/4)  
(mg/g 乾物重)

分析項目		非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
チロシン	平均値	0.378	0.344
	最小値 - 最大値	0.279 - 0.506	0.258 - 0.425
	標準偏差	0.0970	0.0743
	P 値		0.548
バリン	平均値	1.18	0.621
	最小値 - 最大値	0.684 - 1.81	0.477 - 0.996
	標準偏差	0.405	0.216
	P 値		0.0159 <sup>1)</sup>

非組換えセイヨウナタネ：5536×5676 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代 (図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示)。

栽培条件：2012 年、米国アイオワ州の温室で栽培、開花期に採取。40 個体を 8 個体ずつにまとめて分析 (非組換えセイヨウナタネ、本組換えセイヨウナタネ各 5 サンプル)。

統計解析：マン・ホイットニーの U 検定。

NA：統計処理できないもの。

自社商業品種変動の範囲はない。

1) 統計学的有意差あり (P 値<0.05)。

2) 定量下限値未満。

5

10

15

表 11 摂食試験におけるモンシロチョウの死亡率及び体重

調査項目	非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
死亡率 (%) <sup>1)</sup>	10	6.7
P 値 <sup>2)</sup>		0.8234
体重 (mg) <sup>3)</sup>	平均値	75.1
	95%信頼区間	62.5 - 87.8
	最小値 - 最大値	3.7 - 123.1
	P 値 <sup>4)</sup>	0.9823

非組換えセイヨウナタネ：5536×5676 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*4 世代（図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示）。

供試幼虫数：各 30 個体。

1) 死亡幼虫数：非組換えセイヨウナタネ 3、本組換えセイヨウナタネ 2。

2) 統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

3) 生存幼虫の体重。

4) 統計解析：t 検定。

表 12 摂食試験に用いた葉の *N*-アセチルアミノ酸

( $\mu\text{g/g}$  凍結乾燥物重)

分析項目	非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ
<i>N</i> -アセチルアスパラギン酸	0.6125	6591
<i>N</i> -アセチルグルタミン酸	4.662	47.38
<i>N</i> -アセチルグリシン	0.1086	0.2593
<i>N</i> -アセチルセリン	5.721	10.44
<i>N</i> -アセチルトレオニン	3.092	10.12

温室で栽培した 15 個体から採取した葉をまとめ、3 回分析、平均値を算出。



表 13 本組換えセイヨウナタネのカナダほ場試験における生息昆虫及び食害程度

栽培年	地域 (州)	生息昆虫	食害程度	非組換え セイヨウナタネ との差
2008	Morden (マニトバ)	ノミハムシ及びマキバカスミカメ属	軽度	無
	Rosebank (マニトバ)	ノミハムシ及びマキバカスミカメ属	軽度	無
	Crystal City (マニトバ)	ノミハムシ	軽度	無
	Carman (マニトバ)	ノミハムシ	軽度	無
	Georgetown (オンタリオ)	ノミハムシ、オオモンシロチョウ 及びマキバカスミカメ属	軽度	無
2009	Fort Saskatchewan (アルバータ)	バッタ及びクモマウスグロヤガ	軽度 ～ 重度	無
	Gibbons (アルバータ)	バッタ及びクモマウスグロヤガ	軽度 ～ 重度	無
	Riviere Qui Barre (アルバータ)	ノミハムシ、アザミウマ及びクモ マウスグロヤガ	軽度	無
	Minto (マニトバ)	オオモンシロチョウ、ダイコンアブ ラムシ、ノミハムシ及びアザミウマ	軽度	無
	Rosebank (マニトバ)	ノミハムシ	軽度	無
	Portage la Prairie (マニトバ)	ノミハムシ	軽度	無
	Wellwood (マニトバ)	ノミハムシ	軽度	無
	Franklin (マニトバ)	ノミハムシ	軽度	無
Dundurn (サスカチュワン)	アルファルファルーパー	軽度	無	

本組換えセイヨウナタネ：2008年 T3 世代、2009年 F1\*4 世代（図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示）。

非組換えセイヨウナタネ：1822 系統。

5 延べ 14 ほ場。

4 週間に 1 度以上の頻度で、害虫種を観察し食害程度を 3 段階で評価。

軽度：食害 10%未満（被害ほとんどなし）。

中度：食害 10～30%（目立った被害あり）。

重度：食害 30%以上（重大な被害あり）。

10

アザミウマ：*Thrips tabaci*

ダイコンアブラムシ：*Brevicoryne brassicae*

アルファルファルーパー：*Autographa californica*

オオモンシロチョウ：*Pieris brassicae*

クモマウスグロヤガ：*Euxoa ochrogaster*

コナガ：*Plutella xylostella*

ノミハムシ：*Phyllothreta cruciferae*

又は *Phyllothreta striolata*

バッタ：*Melanoplus sanguinipes*

マキバカスミカメ属：*Lygus sp.*

モモアカアブラムシ：*Myzus persicae*

モンシロチョウ：*Pieris rapae*

ヨトウガ：*Mamestra brassicae*

15

表 14 本組換えセイヨウナタネの米国ほ場試験における生息昆虫及び食害程度

栽培年	郡 (州)	生息昆虫	食害程度	非組換え セイヨウナタネ との差
2007	Imperial (カリフォルニア)	ノミハムシ及びモモアカアブラムシ	軽度 ～中度	無
2008	Imperial (カリフォルニア)	ノミハムシ、モモアカアブラムシ及びダイコンアブラムシ	軽度	無
2009	McHenry (ノースダコタ)	ノミハムシ	軽度	無
	Grant (ワシントン)	オオモンシロチョウ	軽度	無
	Imperial (カリフォルニア)	ノミハムシ及びモモアカアブラムシ	軽度	無
2010	Cass (ノースダコタ)	バッタ、ダイコンアブラムシ、コナガ、モンシロチョウ及びヨトウガ	軽度 ～中度	無
	Ward (ノースダコタ)	ノミハムシ	軽度	無
	Grand Forks (ノースダコタ)	ノミハムシ、コナガ及びダイコンアブラムシ	軽度	無
	McHenry (ノースダコタ)	ノミハムシ	軽度	無
	Grant (ワシントン)	モモアカアブラムシ	軽度	無

本組換えセイヨウナタネ：2007年及び2008年 T3 世代、2009年 F1\*4 世代、2010年 F1\*5 世代  
(図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示)。

非組換えセイヨウナタネ：2007年、2008年及び2009年 1822 系統、2010年 5536×1822 系統。  
延べ 10 ほ場。

評価基準は表 13 (41ページ) 脚注参照。

表 15 2009 年北米ほ場試験における食害

平均値(最小値-最大値)

試 験 州	非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	P 値
① サスカチュワン (カナダ) (4 反復)	8 (6 - 9)	9 (8 - 9)	—
② サスカチュワン (カナダ) (3 反復)	8 (7 - 8)	8 (8 - 8)	—
③ ワシントン (米国) (4 反復)	3 (3 - 3)	3 (3 - 3)	—
全ほ場 (延べ 11 反復)	6 (3 - 9)	7 (3 - 9)	0.165

非組換えセイヨウナタネ：1822 系統。

本組換えセイヨウナタネ：T5 世代 (図 3、47 ページ；社外秘情報につき非開示)。

③は播種 2 ヶ月後に殺虫剤散布。

開花終期から成熟期の間に、9 段階で評価。

1：被害甚大、植物体は機能していないか枯死。

2：被害甚大、植物体は正常に機能していない。

3：被害大、植物体に高いストレス。

4：被害大、植物の健全性低下。

5：目につく被害あり、植物にストレスの兆候あり。

6：目につく被害あり、植物体は健全。

7：目につく被害は僅か、植物体は健全。

8：被害僅か、植物体は健全。

9：被害なし、植物体は健全。

統計解析：線形混合モデルを用いて分散分析。

5

10

15

表 16 2010 年北米ほ場試験における食害

平均値(最小値-最大値)

試 験 州	非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	P 値
① マニトバ (カナダ)	9 (9 - 9)	9 (9 - 9)	—
② ノースダコタ (米国)	8 (7 - 8)	8 (8 - 8)	—
③ ノースダコタ (米国)	8 (8 - 8)	8 (8 - 8)	—
④ ノースダコタ (米国)	7 (6 - 8)	8 (7 - 9)	—
⑤ サスカチュワン (カナダ)	9 (9 - 9)	9 (9 - 9)	—
⑥ サスカチュワン (カナダ)	9 (9 - 9)	9 (8 - 9)	—
⑦ ワシントン (米国)	9 (9 - 9)	9 (9 - 9)	—
全ほ場	8 (6 - 9)	9 (7 - 9)	0.502

各ほ場 4 反復、延べ 28 反復。

非組換えセイヨウナタネ：5536×1822 系統。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*5 世代 (図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示)。

①は播種 19 日後、④は播種 2 ヶ月後、⑦は播種 10 日後、それぞれ殺虫剤散布。

評価基準は表 15 (43ページ) 脚注参照。

統計解析：Generalized Cochran-Mantel-Haenszel 検定 (データが正規分布でないため)。

5

10

## (2) ベクターに関する情報

### 5 イ 名称及び由来

10 ベクターは直鎖状 DNA 断片 PHP28181A である。この直鎖状 DNA 断片 PHP28181A は、大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のプラスミド pUC19 から作成したプラスミド PHP28181 を、制限酵素 *Hind* III(1)及び *Not* I(2,113)で切断した断片である (図 2、46ページ)。

### ロ 特性

#### 15 ① ベクターの塩基数及び塩基配列

直鎖状 DNA 断片 PHP28181A の塩基数は 2,112 bp であり、その塩基配列は添付資料 1 の 10 ページ (社外秘情報につき非開示) に示したとおりである。

#### 20 ② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

直鎖状 DNA 断片 PHP28181A には、特定の機能を有する塩基配列はない。

25 なお、プラスミド PHP28181 の外側骨格領域には、抗生物質アンピシリン耐性遺伝子の *bla*(Ap<sup>R</sup>) (Sutcliffe, 1978; Yanisch-Perron, *et al.*, 1985)が含まれる。本遺伝子は、微生物中でベクターを増殖させる際、形質転換プラスミドを含む微生物を選抜するためのマーカーとして機能する。本抗生物質耐性遺伝子は、宿主に導入されていないことを確認した。

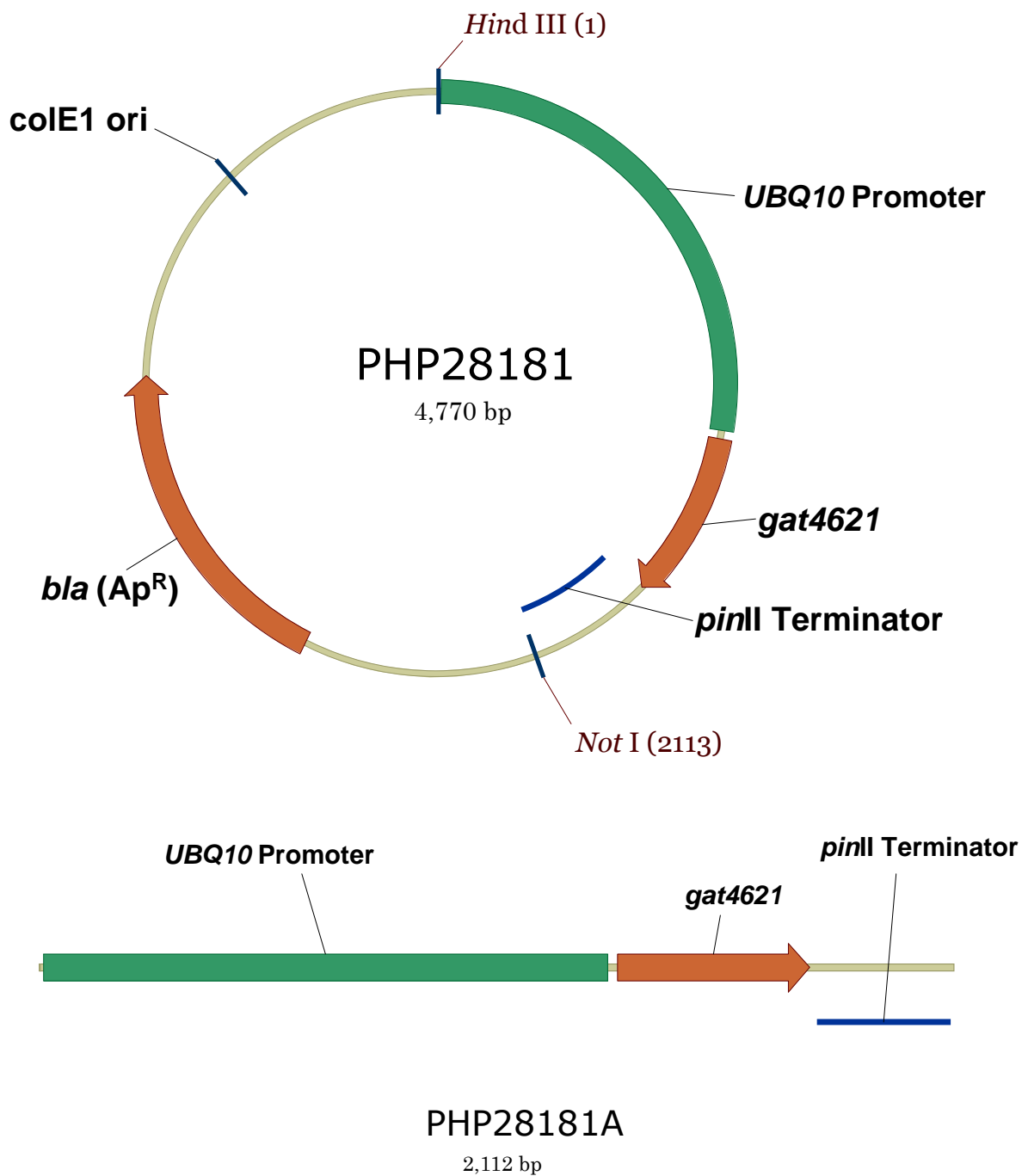
#### 30 ③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

本ベクターに感染性はない。

## 35 (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

40 移入した直鎖状 DNA 断片 PHP28181A の核酸構成を、図 2 (46ページ) に示した。



5

図 2 プラスミド PHP28181 及び直鎖状 DNA 断片 PHP28181A における供与核酸の構成及び制限酵素による切断部位

図の上段：プラスミド PHP28181。

10

図の下段：プラスミド PHP28181 から制限酵素 *Hind III* 及び *Not I* によって切り出される直鎖状 DNA 断片 PHP28181A。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

直鎖状 DNA 断片 PHP28181A をパーティクルガン法により移入した。

5

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方法

10 除草剤グリホサートを添加した培地で胚を 4 週間培養し、生育した除草剤グリホサート耐性の胚を選抜した (T0 世代)。

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

15

—

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

20

各確認に用いた世代は、図 3 (47ページ; 社外秘情報につき非開示) の育成経過図に示したとおりである。なお、本申請における承認対象の範囲 ( ) は、T2 世代以降である。

25

(社外秘情報につき非開示)

図 3 本組換えセイヨウナタネの育成経過

30

(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

5

本組換えセイヨウナタネの T1F2 及び T3F3 世代を用い、除草剤グリホサート耐性を指標として *gat4621* 遺伝子の分離比を検定した（添付資料 3；社外秘情報につき非開示）。その結果、表 17（48ページ）に示すように、除草剤グリホサート耐性の有無の比率は、期待値どおりの 3：1 であった。*gat4621* 遺伝子はメンデルの法則に従い安定して伝達されることが示されたため、移入された核酸の複製物は、セイヨウナタネ染色体ゲノム上に存在すると考えられた。

10

表 17 除草剤グリホサート耐性を指標とした *gat4621* 遺伝子の分離比

世代	合計 個体数	期待値 (3 : 1)		実測値		$\chi^2$ 値
		耐性個体数	感受性個体数	耐性 (生存) 個体数	感受性 (枯死) 個体数	
T1F2	75	56.25	18.75	54	21	0.360
T3F3	99	74.25	24.75	72	27	0.273

15

試験条件：本組換えセイヨウナタネ T1F2 及び T3F3 世代を温室で栽培。播種 14 日後 (T1F2 世代) 又は 10 日後 (T3F3 世代) に除草剤グリホサート 2.7 kg a.e./ha (米国及びカナダにおける農薬登録の最大使用量の 4 倍量) を散布。散布 7 日後に耐性の有無を評価。

統計解析： $\chi^2$  検定。5%水準における帰無仮説棄却限界は 3.84。

20

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

25

T2、T3、T3F2、T3F3 及び F1\*2 世代の葉を用いたサザンブロット分析の結果、いずれの世代においても完全な遺伝子発現カセットが 1 コピー移入され、導入遺伝子が安定して伝達されていることが確認された（添付資料 4；社外秘情報につき非開示）。



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

5 —

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

10 本組換えセイヨウナタネにおける GAT4621 蛋白質の発現安定性を確認するため、除草剤散布試験及び ELISA 法による分析を行った（添付資料 5；社外秘情報につき非開示）。

除草剤散布試験

15 T2 及び T3 世代を用いた除草剤グリホサート散布試験の結果、本組換えセイヨウナタネに付与された除草剤耐性の形質が、複数世代にわたり安定的に遺伝していることが確認された（表 18、49ページ）。

表 18 除草剤散布に対する耐性

本組換え セイヨウナタネ		非組換え セイヨウナタネ <sup>3)</sup>
T2世代 <sup>1)</sup>	7.9 ± 0.4 (7 - 8)	1.0 ± 0
T3世代 <sup>2)</sup>	8.8 ± 0.4 (8 - 9)	

20 平均値±標準偏差（最小値 - 最大値）。

1) n=8。2) n=64。3) 1822 系統、n=8。

試験条件：3～4 葉期に除草剤グリホサート 2.7 kg a.e./ha（米国及びカナダにおける農薬登録の最大使用量の 4 倍量）を散布。散布 14 日後（T2 世代）又は 11 日後（T3 世代）に 1～9 のスケールで耐性を評価。

25 スケール：1=枯死。

2=重度の白化（クロロシス）、壊死斑点重度、生育阻害重度。

3=重度の白化、壊死斑点重度、生育阻害あり。

4=重度の白化、中度の壊死（ネクロシス）、生育阻害あり。

5=中～重度の白化、壊死なし、生育阻害多少あり。

30 6=軽～中度の白化があるが回復、壊死なし、生育阻害わずか。

7=軽度の白化があるが完全回復、壊死及び生育阻害なし。

8=わずかな白化があるが完全回復、壊死及び生育阻害なし。

9=健全。

35

## ELISA 分析

T3 及び T3F1 世代の葉を用いた ELISA 法による蛋白質発現量測定の結果、GAT4621 蛋白質が、複数世代において産生されていることが確認された(表 19、50ページ)。

表 19 葉における GAT4621 蛋白質の発現量

		(ng/mg 乾物重)
本組換え セイヨウナタネ		非組換え セイヨウナタネ <sup>3)</sup>
T3 世代 <sup>1)</sup>	9.1 (7.0 - 11)	検出されず <sup>4)</sup>
T3F1 世代 <sup>2)</sup>	8.8 ± 0.91 (7.4 - 10)	

平均値±標準偏差 (最小値 - 最大値)。

1) n=2。T3 世代の 10 個体を栽培、播種 24 日後に葉を採取、5 個体ごとにまとめて計 2 サンプルとした。

2) n=7。本組換えセイヨウナタネ T3 世代と、非組換えセイヨウナタネ 7 系統 (1822 系統を除く。図 3、47ページ参照；社外秘情報につき非開示) をそれぞれ掛け合わせ、ハイブリッドを 7 系統作出 (T3F1 世代)。各ハイブリッドについて 16 個体を栽培し、播種 24 日後にハイブリッドごとに葉を採取し、16 個体ごとにまとめて計 7 サンプルとした。

3) 1822 系統、4474 系統、4082×3932 系統及び 5536×3932 系統。n=4。

4) 検出限界値：0.29 ng/mg 乾物重。

- 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

移入された核酸は伝達を可能とする配列を含まないため、ウイルスの感染その他の経路を經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

検出及び識別の方法：

以下のプライマー対を用いるリアルタイム定量 PCR 分析 (添付資料 6；社外秘情報につき非開示)。

・本組換えセイヨウナタネ特異的プライマー対：挿入遺伝子及びその 5'側セイヨウナタネゲノムの境界領域を増幅 (図 4、51ページ；添付資料 6 の 24 ページ Table 4；社外秘情報につき非開示)

・内在性遺伝子プライマー対 (対照)：セイヨウナタネ内在性 *FatA* 遺伝子を増幅 (添付資料 6 の 23 ページ Table 2；社外秘情報につき非開示)

特異的プライマー対を用いた場合の増幅産物のサイズは 84 bp、内在性遺伝子プライマー対の場合、151 bp。

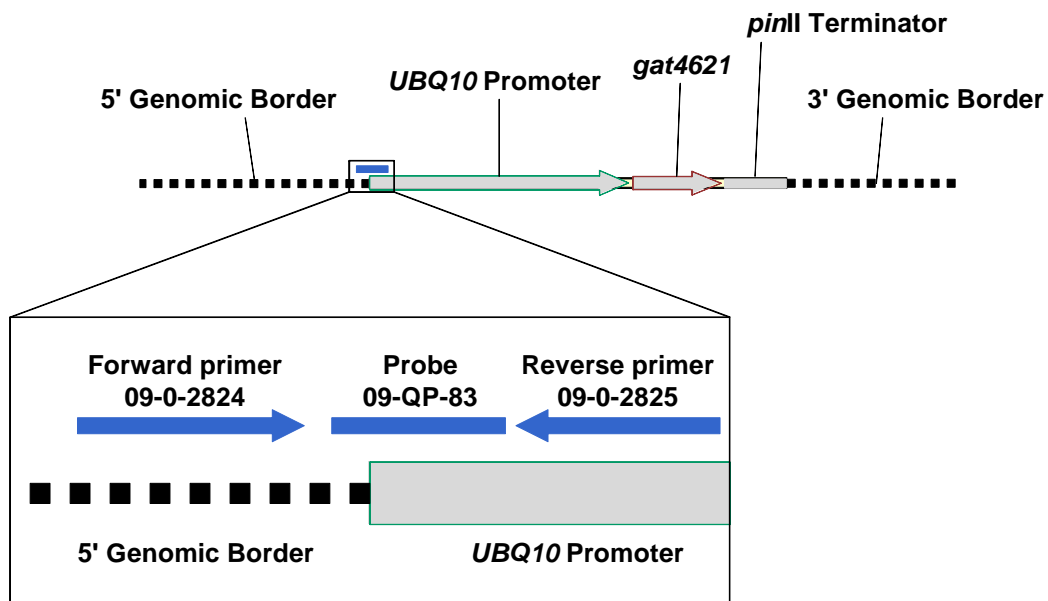
非組換えセイヨウナタネ及び本組換えセイヨウナタネのいずれも、内在性遺伝

子プライマー対により増幅産物が確認される。特異的プライマー対の場合、本組換えセイヨウナタネだけを検出できる。したがって、両プライマー対を用いることにより本組換えセイヨウナタネを識別することができる。

- 5 感度 (本組換えセイヨウナタネゲノム DNA / セイヨウナタネゲノム DNA ×100) :
- ・ 定量限界 : 0.08 %
  - ・ 検出限界 : 0.04 %

信頼性 :

- 10 本組換えセイヨウナタネ T5 世代を用い、2ヶ所で各2反復の分析を行った結果、本法に再現性のあることが確認された。



15 図 4 リアルタイム定量 PCR 分析により増幅される箇所

本組換えセイヨウナタネ特異的プライマー対 (Forward primer 及び Reverse primer) により、挿入遺伝子及びその 5' 側セイヨウナタネゲノムの境界領域を増幅。点線はセイヨウナタネゲノムを示す。

20

(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な内容

25

*gat4621* 遺伝子の発現により付与された特性は、除草剤グリホサート耐性である (表 18、49ページ)。

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

5

2011年、デュポン株式会社 宇都宮事業所において隔離ほ場試験を実施し、次の a～g を指標として本組換えセイヨウナタネと宿主の属する分類学上の種との間の相違を検討した（添付資料 7；社外秘情報につき非開示）。試験には、本組換えセイヨウナタネとして F1\*5 世代、非組換えセイヨウナタネとして 5536×1822 系統を用いた。

10

なお、e.収量及び f.交雑率の調査については、北米でも行った。

#### a 形態及び生育の特性

15

発芽率、発芽揃い日、葉色、開花期、成熟期、草丈、一次分枝数、地上部重、草型、主茎着花数、莢長、粒色、種子の粒大整否について調査した（添付資料 7 の 7～12 ページ；社外秘情報につき非開示）。その結果、発芽率、一次分枝数、地上部重及び莢長は、非組換えセイヨウナタネと比べ統計学的に有意に低かった（表 20、53 ページ）。発芽揃い日は、非組換えセイヨウナタネより 1 日遅かった。

20

その他の調査項目に本組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネの間に相違はなかった。

表 20 形態及び生育特性の調査結果

項目	非組換えセイヨウナタネ		本組換えセイヨウナタネ		P 値
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間	
発芽率(%) <sup>1)</sup>	84.8	—	77.8	—	0.04662 *
発芽揃い日	4月27日	—	4月28日	—	—
葉色	黄緑	—	黄緑	—	—
開花期	6月4日	—	6月4日	—	—
成熟期	8月9日	—	8月9日	—	—
草丈(cm) <sup>2)</sup>	200.4	168.8 - 232.0	212.8	181.1 - 244.5	0.1962
一次分枝数 <sup>2)</sup>	9.7	9.0 - 10.4	8.8	8.0 - 9.5	0.03395 *
地上部重(g) <sup>2)</sup>	644.0	324.0 - 964.0	506.9	184.8 - 829.1	0.01256 *
草型 <sup>2)</sup>	I	—	I	—	—
主茎着花数 <sup>2)</sup>	105.9	95.7 - 114.4	100.5	89.0 - 109.8	0.2774
莢長(cm) <sup>3)</sup>	7.49	7.25 - 7.72	6.87	6.64 - 7.11	0.006905 *
粒色 <sup>4)</sup>	灰褐	—	灰褐	—	—
種子の粒大整否 <sup>4)</sup>	中	—	中	—	—

1) 270粒播種。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

2) 本組換えセイヨウナタネ n=36、非組換えセイヨウナタネ n=35。統計解析：線形混合モデル。

3) n=18。統計解析：線形混合モデル。

4) n=3。

\* 統計学的有意差 (P<0.05)あり。

5

b 生育初期における低温又は高温耐性

生育初期における低温耐性：

- 5 生育初期における低温障害程度を目視判定した（添付資料 7 の 14 ページ；社外秘情報につき非開示）。その結果、いずれの調査日においても、非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差 ( $P < 0.05$ ) は認められなかった（表 21、54 ページ）。

10 表 21 生育初期における低温障害程度

調査日	非組換えセイヨウナタネ (n=23)		本組換えセイヨウナタネ (n=22)		P 値
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間	
14 日後	6.3	5.5 - 7.1	6.4	5.6 - 7.2	0.5696
27 日後	6.1	5.3 - 6.9	6.2	5.3 - 7.0	0.8566

11 月 11 日に播種し、温室で 14 日間育成後露地に移し、その 14 日後（12 月 9 日）及び 27 日後（12 月 22 日）に、萎凋、退色及び壊死を示した葉の面積を目視判定（障害の程度：1=影響なし、2=1~20%、3=21~40%、4=41~60%、5=61~80%、6=81~99%、7=100%）。

- 15 統計解析：線形混合モデル。

生育初期における高温耐性：

- 20 発芽率並びに播種 27 日後の生存率、抽だい率、草丈及び地上部乾物重を調査した（添付資料 7 の 15~16 ページ；社外秘情報につき非開示）。その結果、いずれの項目においても、非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差 ( $P < 0.05$ ) は認められなかった（表 22、54 ページ）。

表 22 生育初期における高温耐性の調査結果

項目	非組換えセイヨウナタネ		本組換えセイヨウナタネ		P 値
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間	
発芽率(%) <sup>1)</sup>	80.0	—	73.0	—	0.06754
生存率(%) <sup>2)</sup>	94.4	—	94.4	—	1.000
抽だい率(%) <sup>2)</sup>	0.0	—	0.0	—	1.000
草丈(cm) <sup>3)</sup>	24.02	21.93 - 26.11	24.72	22.64 - 26.80	0.5707
地上部乾物重(mg) <sup>3)</sup>	4099	2971 - 5228	3914	2787 - 5042	0.7730

- 25 7 月 22 日に露地に播種し、4 週間栽培。

1) 各系統 270 粒播種。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

2) n=90。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

3) 本組換えセイヨウナタネ：n=22、非組換えセイヨウナタネ：n=24。統計解析：線形混合モデル。

c 成体の越冬性又は越夏性

- 5 収穫期に枯死程度を調査した結果、非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (表 23、55ページ; 添付資料 7 の 7~12 ページ; 社外秘情報につき非開示)。

表 23 枯死程度の調査結果

項目	非組換えセイヨウナタネ		本組換えセイヨウナタネ		P 値
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間	
枯死程度	3.4	2.7 - 4.3	3.9	3.1 - 4.9	0.3159

- 10 収穫期の 8 月に、茎 (主茎・側枝の茎・花茎) の褐変・黄変の程度を目視判定 (褐変・黄変の程度: 1=全て緑色(褐変・黄変なし)、2=1~20%、3=21~40%、4=41~60%、5=61~80%、6=81~99%、7=枯死)。

本組換えセイヨウナタネ n=36、非組換えセイヨウナタネ n=35。統計解析: 線形混合モデル。

15

d 花粉の稔性及びサイズ

- 20 花粉のヨード・ヨードカリ液による染色率及び長径を調査した (添付資料 7 の 21 ページ; 社外秘情報につき非開示)。その結果、ヨード・ヨードカリ液処理を行った花粉は全て染色されており、奇形花粉は観察されなかったため、いずれも稔性を有すると考えられた。長径における非組換えセイヨウナタネとの間の統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) も認められなかった (表 24、55ページ)。

表 24 花粉長径調査結果

項目	非組換えセイヨウナタネ		本組換えセイヨウナタネ		P 値
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間	
長径 ( $\mu\text{m}$ )	41.38	39.81 - 42.85	40.94	39.32 - 42.43	0.2266

- 25 n=36。統計解析: 線形混合モデル。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

- 30 種子の生産量:

着莢率、総着莢数、莢当たり種子数、50 粒重を調べた結果、着莢率及び総着莢数は、非組換えセイヨウナタネと比べ統計学的に有意に ( $P<0.05$ ) 低かった (表 25、56ページ; 添付資料 7 の 7~12 ページ; 社外秘情報につき非開示)。

表 25 種子の生産量の調査結果

項目	非組換えセイヨウナタネ		本組換えセイヨウナタネ		P 値 (* : 有意差 P<0.05 あり)
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間	
着莢率(%) <sup>1)</sup>	65.6	58.9 - 71.7	46.9	39.9 - 54.0	<0.0001 *
総着莢数 <sup>2)</sup>	1347	775.6 - 1918	951.6	377.1 - 1526	0.0002109 *
莢当たり種子数 <sup>3)</sup>	30.7	29.7 - 31.6	30.4	29.4 - 31.4	0.5390
50 粒重(mg) <sup>4)</sup>	172.1	165.1 - 179.1	177.7	170.8 - 184.7	0.2053

1) 本組換えセイヨウナタネ n=36、非組換えセイヨウナタネ n=35。統計解析：確率分布を二項分布とし、ロジスティックリンク関数を用いた一般化線形混合モデル。

5) 2) 本組換えセイヨウナタネ n=36、非組換えセイヨウナタネ n=35。統計解析：線形混合モデル。

3) n=18。統計解析：線形混合モデル。

4) n=9。統計解析：線形混合モデル。

10) なお、北米で行ったほ場試験においては、種子の収量に統計学的有意差 (P 値 <0.05) は認められなかった (表 26、56ページ)。

表 26 北米ほ場試験における種子の収量

	(kg/ha)		
	非組換え セイヨウナタネ <sup>1)</sup>	本組換え セイヨウナタネ <sup>1)</sup>	非組換え セイヨウナタネ 従来の実績値 <sup>2)</sup>
平均値	1830	1860	118 - 6630
最小値 - 最大値	575 - 2960	404 - 3190	
信頼区間	1090 - 2560	1130 - 2600	
P 値	0.620		

15) 1) 栽培条件：2010 年、北米 7ヶ所 (カナダのサスカチュワン州 2ヶ所及びマニトバ州 1ヶ所、米国ノースダコタ州 3ヶ所及びワシントン州 1ヶ所) ほ場。各 4 反復。n=28。

本組換えセイヨウナタネ：F1\*5 世代 (図 3、47ページ；社外秘情報につき非開示)。

非組換えセイヨウナタネ：5536×1822 系統。

統計解析：線形混合モデル。

20) 2) 2008 年及び 2009 年栽培。

栽培条件：・2008 年、北米 5ヶ所 (カナダのアルバータ州、マニトバ州及びオンタリオ州、米国ノースダコタ州及びワシントン州) ほ場。各 3 反復。n=15。非組換えセイヨウナタネ 3 系統 (46A65、45H72 及び 45H73)。

・2009 年、北米 5ヶ所 (カナダのマニトバ州 3ヶ所、米国ノースダコタ州及びワシントン州) ほ場。各 4 反復。n=20。非組換えセイヨウナタネ 4 系統 (46H02、46A65、44A89 及び 45H73)。

25)



脱粒性：

裂莢率を調査した結果、非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (表 27、57ページ；添付資料 7 の 7～12 ページ；社外秘情報につき非開示)。

5

表 27 裂莢率の調査結果

項目	非組換えセイヨウナタネ		本組換えセイヨウナタネ		P 値
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間	
裂莢率(%)	3.05	1.64 - 5.60	4.59	2.49 - 8.31	0.3519

本組換えセイヨウナタネ n=36、非組換えセイヨウナタネ n=35。

統計解析：確率分布を二項分布とし、ロジスティックリンク関数を用いた一般化線形混合モデル。

10

休眠性及び発芽率：

収穫当日の種子を播種し、発芽率を調査した結果、非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった (表 28、57ページ；添付資料 7 の 13 ページ；社外秘情報につき非開示)。

15

表 28 収穫直後種子の発芽率

項目	非組換え セイヨウナタネ	本組換え セイヨウナタネ	P 値
発芽率(%)	86.7	89.7	0.312

各系統 300 粒播種。

統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

20

f 交雑率

5 防虫網設置条件下、本組換えセイヨウナタネと隣接して栽培した非組換えセイヨウナタネから種子を収穫し、グリホサート耐性を指標に交雑率を調査した（添付資料 7 の 22 ページ；社外秘情報につき非開示）。その結果、収穫種子 1,269 粒中、交雑種子は 3 粒（0.2%）であった。

10 また、米国カリフォルニア州のほ場において、本組換えセイヨウナタネから隣接した非組換えセイヨウナタネへの交雑率は 0.869 % であり、非組換えセイヨウナタネ間の交雑率（0.824%）と統計学的有意差（ $P < 0.05$ ）は認められなかった（表 29、58 ページ；添付資料 8；社外秘情報につき非開示）。この本組換えセイヨウナタネから非組換えセイヨウナタネへの交雑率は、これまでに報告されているセイヨウナタネの交雑率 0.7~21 % (Staniland *et al.*, 2000; Anderson and de  
15 Vicente, 2010) を上回るものではなかった。

表 29 米国における交雑率

花粉親からの距離 (m)	花粉親に用いたセイヨウナタネ	平均値 (%) *	信頼区間 (%)	P値
0.5 (隣接)	本組換え	0.869	0.000 - 3.060	0.9696
	非組換え	0.824	0.000 - 3.015	
1.0	本組換え	0.072	0.000 - 0.198	0.7312
	非組換え	0.096	0.000 - 0.221	
5.0	本組換え	0.046	0.000 - 0.106	0.2828
	非組換え	0.009	0.000 - 0.068	

栽培条件：2010~2011年、花粉親の周囲に受粉株（非組換えセイヨウナタネ）を栽培。花粉親として、本組換えセイヨウナタネT5世代、又は除草剤アセト乳酸合成酵素阻害  
20 剤耐性を有する非組換えセイヨウナタネを使用。3反復。

交雑確認方法：花粉親から0.5（隣接）、1.0及び5.0 mに生育した受粉株のうち、各距離につき16箇所から種子を採取（添付資料8の19ページ；社外秘情報につき非開示）。1系統当たり計144,000粒の種子を播種し、除草剤耐性の有無により、交雑の有無を判定。

25 統計解析：線形混合モデル。

\* 最小二乗平均。

g 有害物質の産生性

後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験により検討した。

5

後作試験：

本組換えセイヨウナタネ及び非組換えセイヨウナタネを栽培した土壌で検定作物のハツカダイコンを栽培し、発芽率及び乾物重を調査することにより、根から分泌され他の植物に影響を与えるものの産生性について検討した（添付資料7の17～18ページ；社外秘情報につき非開示）。

10

その結果、発芽率に両土壌間で統計学的有意差（ $P<0.05$ ）は認められなかった（表30、59ページ）。

15

乾物重においても統計学的有意差は認められなかったが、数値の変動が大きく信頼区間の下限が0未満であったため、追試験を行った。その結果、変動は小さくなり、信頼区間の下限は0より大きく、統計学的有意差（ $P<0.05$ ）も認められなかった（表30、59ページ）。

表30 後作試験におけるハツカダイコンの発芽率及び乾物重

項目	非組換えセイヨウナタネ 栽培後土壌		本組換えセイヨウナタネ 栽培後土壌		P値	
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間		
発芽率(%) <sup>1)</sup>	94.7	—	98.7	—	0.3665	
乾物重 (mg)	初回 <sup>2)</sup>	204.9	—53.62 - 463.5	233.6	—24.94 - 492.1	0.7642
	追試験 <sup>3)</sup>	212.4	185.0 - 239.7	214.1	186.4 - 241.7	0.9213

1) 各系統75粒播種。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

20

2) 本組換えセイヨウナタネ栽培後土壌：n=26、非組換えセイヨウナタネ栽培後土壌：n=27。

統計解析：線形混合モデル。

3) 本組換えセイヨウナタネ栽培後土壌：n=24、非組換えセイヨウナタネ栽培後土壌：n=27。

統計解析：線形混合モデル。

25

鋤込み試験：

5 本組換えセイヨウナタネ及び非組換えセイヨウナタネの茎葉を培土に加えた  
 5 土壌で検定作物のハツカダイコンを栽培し、発芽率及び乾物重を調査すること  
 により、植物体が内部に有し他の植物に影響を与えるものの産生性について検討し  
 た（添付資料 7 の 19 ページ；社外秘情報につき非開示）。その結果、いずれの項  
 目においても、両土壌間に統計学的有意差 ( $P<0.05$ ) は認められなかった（表 31、  
 60 ページ）。

10 表 31 鋤込み試験におけるハツカダイコンの発芽率及び乾物重

項目	非組換えセイヨウナタネ 鋤込み土壌		本組換えセイヨウナタネ 鋤込み土壌		P 値
	平均値	信頼区間	平均値	信頼区間	
発芽率(%) <sup>1)</sup>	90.7	—	89.3	—	1.000
乾物重(mg) <sup>2)</sup>	213.0	163.8 - 262.3	196.3	147.0 - 245.7	0.5518

1) 各系統 75 粒播種。統計解析：フィッシャーの直接確率検定。

2) 本組換えセイヨウナタネ鋤込み土壌：n=24、非組換えセイヨウナタネ鋤込み土壌：n=24。  
 統計解析：線形混合モデル。

15

土壌微生物相試験：

20 セイヨウナタネ栽培後の土壌における微生物数（細菌数、放線菌数及び糸状菌  
 数）を計測することにより、根から分泌され土壌微生物に影響を与えるものの産  
 生性について検討した（添付資料 7 の 20 ページ；添付資料 9；社外秘情報につ  
 き非開示）。その結果、いずれの微生物においても、両土壌間で統計学的有意差  
 ( $P<0.05$ ) は認められなかった（表 32、60 ページ）。

表 32 土壌微生物相試験結果

項目	非組換えセイヨウナタネ 栽培後土壌		本組換えセイヨウナタネ 栽培後土壌		P 値
	平均値	標準偏差	平均値	標準偏差	
細菌数( $\times 10^7$ )	3.8	1.1	4.0	1.3	0.88
放線菌数( $\times 10^6$ )	6.3	1.4	5.6	1.5	0.69
糸状菌数( $\times 10^4$ )	4.4	4.2	6.9	3.5	0.55

3 反復、1 反復は 5 シャーレの平均値。n=3。

25

培養法：希釈平板法。

統計解析：対応のある t 検定。

菌数：コロニー形成数 / 1g 乾土。

30

### 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

5

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

10

—

#### (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

15

—

#### (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

20

緊急措置計画書を参照。

#### (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

25

—

#### (6) 国外における使用等に関する情報

30

本組換えセイヨウナタネの国外及び我が国における申請状況は、表 33及び表 34 (62ページ) のとおりである。

表 33 国外における申請状況

申請国	目的	申請・承認年月	申請先
カナダ	環境安全性、飼料としての利用	2012年5月承認	カナダ食品検査庁 (CFIA)
	食品としての利用	2012年5月承認	カナダ保健省 (HC)
米国	食品・飼料としての利用	2012年5月確認終了	米国食品医薬品庁 (FDA)
	栽培	2013年7月承認	米国農務省 (USDA)
EU	輸入	2012年5月申請	欧州食品安全機関 (EFSA)
メキシコ	輸入	2012年7月承認	メキシコ保健省 (DOH)
中国	輸入	2012年6月申請	中国農業部 (MOA)
オーストラリア・ ニュージーランド	輸入	2013年6月申請	オーストラリア・ニュージーランド <sup>2</sup> 食品 基準機関 (FSANZ)

5

表 34 我が国における申請状況

目的	申請・承認年月	申請先
第一種使用等（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） <sup>1)</sup>	2011年4月承認	農林水産省・環境省
食品としての安全性 <sup>2)</sup>	2013年10月申請	厚生労働省
飼料としての安全性 <sup>3)</sup>	2013年10月申請	農林水産省

1) 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（平成 15 年法律第 97 号）。

2) 食品衛生法（昭和 22 年法律第 233 号）。

3) 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律（昭和 28 年法律第 35 号）。

10

## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 5 宿主であるセイヨウナタネは、我が国において長年にわたる使用実績がある。本生物多様性影響評価においては、生物多様性影響評価実施要領の別表第三に基づき、本組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネとの比較により、影響が生ずる可能性について考察した。

### 10 1 競合における優位性

#### 15 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

15 20 セイヨウナタネは、北海道から九州にかけて、河原や線路沿い、運搬時のこぼれ落ちが原因と考えられる港周辺で自生している（国立環境研究所，2011；清水他，2008；中井，2003；農林水産省，2010a）。しかしながら、セイヨウナタネは、定期的に攪乱が起こる場所（崖、路傍、河川敷等）でなければ、やがて多年生草本や樹木に置き換わる（OECD，1997）。セイヨウナタネ種子は長期にわたり輸入されてきたが、セイヨウナタネが我が国の野生動植物等の個体や個体群の維持に影響を及ぼしたとする報告はない。

20 25 茨城県鹿島港周辺における調査では、除草剤グリホサート耐性のセイヨウナタネは、従来の非組換えセイヨウナタネ生育地にしか生育していなかった（農業環境技術研究所，2007）。また、他の植物群落が広い範囲に存在し競合が起こる条件下では、セイヨウナタネの生育は確認できないか、確認された場合でも極めて短期間に消滅したため、セイヨウナタネは周辺群落に侵入した場合でも、他の植物を駆逐して生育域を拡大することはないとされている（農林水産省，2009）。したがって、仮に遺伝子組換えセイヨウナタネが生育した場合でも、競合により他の植物を駆逐して生育域を拡大することはないと考えられている（農林水産省，2009）。

30 35 本組換えセイヨウナタネの競合における優位性に関わる諸特性（形態及び生育の特性、生育初期における低温又は高温耐性、成体の越冬性又は越夏性、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）について評価を行った（第一.2.(6).②、52ページ）。その結果、発芽揃い日は非組換えセイヨウナタネに比べ1日遅く、発芽率、一次分枝数、地上部重、莢長、着莢率及び総着莢数については、非組換えセイヨウナタネに比べ統計学的に有意に低かった。しかしながら、生育初期における高温耐性の調査における発芽率、収穫直後種子の発芽率、北米ほ場試験における種子の収量等、他の評価項目では相違がなかったため、競合における優位性を高める結果は認められなかった。

40 本組換えセイヨウナタネには、除草剤グリホサートに対する耐性が付与されているが、通常除草剤を散布することがない自然環境下では、除草剤耐性形質が本組換えセイヨウナタネの競合における優位性を高めるとは考え難い。また、本組

換えセイヨウナタネに導入された *gat4621* 遺伝子や除草剤グリホサートに対する耐性が、競合における優位性を低下させるとの報告はない。

5 以上、競合における優位性による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

—

10

## (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

以上、本組換えセイヨウナタネは、競合における優位性による生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

20

## 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

25 従来のセイヨウナタネの種子中には、動物に有害と考えられるエルシン酸やグルコシノレートが含まれる (OGTR, 2008)。本組換えセイヨウナタネの宿主として用いた 1822 系統は、品種改良により両物質の含量を低減した、いわゆるカノーラである。

30 本組換えセイヨウナタネに産生される GAT4621 蛋白質が有害物質であるとの報告はなく、既知アレルゲンとの相同性も認められていない (第一.2.(1).ロ.②.b、12ページ)。また、本組換えセイヨウナタネで産生される GAT4621 蛋白質により、除草剤グリホサートは *N*-アセチルグリホサートに変換されるが、本物質が有害物質であるとの報告はない。

35

40 本組換えセイヨウナタネにおいて *N*-アセチルアミノ酸が増加したが、*N*-アセチルアミノ酸は様々な植物に含まれ、昆虫への影響に関する報告はなかった。地上部植物体及び根については、いくつかの分析項目において、本組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差が認められたが、種子、地上部植物体及び根の全体として、アミノ酸及び遊離アミノ酸の増減に一定の傾向は認められないこと等を考慮すると、地上部植物体及び根においても、*N*-アセチルアミノ酸の増加は宿主のアミノ酸プールに生物学的に有意な影響を与えるものではないと考えられた。さらに、摂食試験において本組換えセイヨウナタネ



はモンシロチョウ幼虫の成育に悪影響を及ぼさず、延べ 34 ヶ所のほ場試験で、本組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネの間の食害程度に相違は認められなかった。これらのことから、本組換えセイヨウナタネにおける *N*-アセチルアミノ酸含有量の増加が昆虫に影響を及ぼす可能性は低いと考えた。なお、各毒性試験の結果から、これら *N*-アセチルアミノ酸が動物の健康に悪影響を及ぼすことはないと考えられた（第一.2.(1).ロ.③、12ページ）。

10 実際、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行ったが、本組換えセイヨウナタネの有害物質の産生性が高まっていることを示す結果は認められなかった（第一.2.(6).②.g、59ページ）。

以上、有害物質の産生性による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。

15 (2) 影響の具体的内容の評価

—

20 (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

25 以上、本組換えセイヨウナタネは、有害物質の産生性による生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

30 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

35 セイヨウナタネと自然交雑可能なことが報告されている近縁種（FitzJohn *et al*, 2007; OECD, 1997; OGTR, 2008）で、我が国在来の種はないため（第一.1.(3).ニ.③、6ページ）、影響を受ける可能性のある我が国在来の野生動植物等は特定されなかった。

40 なお、セイヨウナタネと自然交雑可能なことが報告されている近縁種（FitzJohn *et al*, 2007; OECD, 1997; OGTR, 2008）のうち、我が国に生育する種は、*B. juncea*, *B. nigra*, *B. rapa*, *H. incana*, *R. raphanistrum* 及び *S. arvensis* であるが、これらはいずれも栽培等を通じて日本に帰化した外来種である（日本生態学会, 2003 ; 清水他, 2008 ; 中井, 2003 ; 石田, 2004）。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

5

(3) 影響の生じやすさの評価

—

10 (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上、本組換えセイヨウナタネは、交雑性による生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

15

4 その他の性質

第二.3.(1) (65ページ) に挙げた近縁種が、交雑により本組換えセイヨウナタネと雑種を形成した場合の生物多様性への影響について、次の①、②の可能性が考えられた。

20

- ① 交雑により生じた雑種が競合において優位になり、他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性
- ② 挿入遺伝子が負担となり雑種の個体群が縮小し、その結果、近縁種に依存して生息する昆虫等の野生動植物の個体群の維持に影響を与える可能性

25

はじめに、交雑により生じた雑種が競合において優位になり、他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性について検討した。

30

元来、セイヨウナタネとこれら近縁種との交雑性は低い (第一.1.(3).ニ.③、6ページ)。また、花粉及び交雑率の調査において、本組換えセイヨウナタネの交雑性が従来のセイヨウナタネより高まっている結果は得られていない (第一.2.(6).②.d 及び f、55及び58ページ)。したがって、本組換えセイヨウナタネと上記近縁種との交雑性も、従来のセイヨウナタネの場合と同様に低いと考えられる。

35

従来のセイヨウナタネと上記近縁種が交雑して生じた雑種は、生存率、花粉の発芽力、種子生産量等が低く (第一.1.(3).ニ.③、6ページ)、形成された雑種の競合における優位性は低い。したがって、雑種が自然条件下で優占化する可能性は低い。本組換えセイヨウナタネについても、競合における優位性を高める結果は得られていない (第一.2.(6).②、52ページ)。また、通常除草剤を散布することがない自然環境下では、除草剤グリホサート耐性形質が競合における優位性を高めるとは考え難い。

40

実際、我が国に輸入されている除草剤耐性遺伝子組換えセイヨウナタネと *B.*

5 *rapa* の雑種は河川敷に断続的に 1、2 個体確認されているだけであり、この雑種が分布拡大の傾向を示す結果は得られていない（国立環境研究所, 2011）。また、港湾における調査では、遺伝子組換えセイヨウナタネの生育は 3 年間ほぼ同じ範囲に限られており、*B. juncea* 又は *B. rapa* との交雑個体は見つからず、導入遺伝子が交雑可能な近縁種に拡がる可能性は低いことが示されている（農林水産省, 2010a）。

10 したがって、本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑により形成された雑種が競合において優位になる可能性及び優占種となる可能性は低い。

次に、挿入遺伝子が負担となり雑種の個体群が縮小し、その結果、近縁種に依存して生息する昆虫等の野生動植物の個体群の維持に影響を与える可能性について検討した。

15 従来のセイヨウナタネと近縁種が交雑して雑種が生じたことにより、近縁種に依存して生息する昆虫等の野生動植物の維持に影響があったとの報告はない。また、本組換えセイヨウナタネに挿入された除草剤耐性を付与する遺伝子が負担となり、雑種の競合における優位性に影響を与える可能性も低い。これらのことから、本挿入遺伝子により、雑種の個体群が従来以上に減少する可能性、またその  
20 結果として近縁種の個体群に影響を与える可能性は低いと考えられる。したがって、近縁種に依存して生息する昆虫等の野生動植物の個体群の維持に影響を与えることはないと考えた。

25 以上、本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑による生物多様性影響が生じる可能性は低いと判断された。

### 第三 生物多様性影響の総合的評価

5 5 宿主が属する生物種であるセイヨウナタネは、北海道から九州にかけて、河原や線路沿い、港周辺で自生している。しかしながら、セイヨウナタネは、定期的に攪乱が起こる場所でなければ、やがて多年生草本や樹木に置き換わる。セイヨウナタネ種子は長期にわたり輸入されてきたが、セイヨウナタネが我が国の野生動植物等の個体や個体群の維持に影響を及ぼしたとする報告はない。また、仮に遺伝子組換えセイヨウナタネが生育した場合でも、競合により他の植物を駆逐して生育域を拡大することはないと考えられる。

10 本組換えセイヨウナタネの競合における優位性に関わる諸特性について評価を行った。その結果、非組換えセイヨウナタネと比べ統計学的に有意に低いか相違はなかったため、競合における優位性を高める結果は認められなかった。

15 本組換えセイヨウナタネには、除草剤グリホサートに対する耐性が付与されているが、通常除草剤を散布することがない自然環境下では、除草剤耐性形質が本組換えセイヨウナタネの競合における優位性を高めるとは考え難い。

したがって、本組換えセイヨウナタネは、競合における優位性による生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

20 従来のセイヨウナタネの種子中には、動物に有害と考えられるエルシン酸やグルコシノレートが含まれる。本組換えセイヨウナタネの宿主として用いた系統は、品種改良により両物質の含量を低減した、いわゆるカノーラであり、野生動物に影響を及ぼすことはないと考えられる。

25 本組換えセイヨウナタネに産生される GAT4621 蛋白質については、有害物質であるとの報告はなく、既知アレルゲンとの相同性も認められていない。

30 本組換えセイヨウナタネにおいて *N*-アセチルアミノ酸が増加したが、*N*-アセチルアミノ酸は様々な植物に含まれ、昆虫への影響に関する報告はなかった。地上部植物体及び根については、いくつかの分析項目において、本組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差が認められたが、種子、地上部植物体及び根の全体として、アミノ酸及び遊離アミノ酸の増減に一定の傾向は認められないこと等を考慮すると、地上部植物体及び根においても、*N*-アセチルアミノ酸の増加は宿主のアミノ酸プールに生物学的に有意な影響を与えるものではないと考えられた。また、摂食試験及びほ場試験において、本組換えセイヨウナタネによる昆虫に対する悪影響は認められなかった。これらのことから、本組換えセイヨウナタネにおける *N*-アセチルアミノ酸含有量の増加が昆虫に影響を及ぼす可能性は低いと考えた。なお、各毒性試験の結果から、*N*-アセチルアミノ酸が動物の健康に悪影響を及ぼすことはないと考えられた。

35 後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行ったが、本組換えセイヨウナタネの有害物質の産生性が高まっていることを示す結果は認められなかった。

40 したがって、本組換えセイヨウナタネは、有害物質の産生性による生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

セイヨウナタネと自然交雑可能なことが報告されている近縁種で我が国在来

の種はないため、影響を受ける可能性のある我が国在来の野生動植物等は特定されなかった。

なお、セイヨウナタネと自然交雑可能なことが報告されている近縁種のうち、我が国に生育する種は、*B. juncea*、*B. nigra*、*B. rapa*、*H. incana*、*R. raphanistrum* 及び *S. arvensis* であるが、いずれも外来種であり、影響を受ける可能性のある我が国在来の野生植物としては特定されない。

したがって、本組換えセイヨウナタネは、その交雑性による生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

10 上記近縁種が、交雑により本組換えセイヨウナタネと雑種を形成した場合の生物多様性への影響について、① 交雑により生じた雑種が競合において優位になり、他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性、② 挿入遺伝子が負担となり雑種の個体群が縮小し、その結果、近縁種に依存して生息する昆虫等の野生動植物の個体群の維持に影響を与える可能性、の2つが考えられた。

15 元来、セイヨウナタネとこれら近縁種との交雑性は低い。また、本組換えセイヨウナタネの交雑性が従来のセイヨウナタネより高まっている結果は得られていない。したがって、本組換えセイヨウナタネと上記近縁種との交雑性も、従来のセイヨウナタネの場合と同様に低いと考えられる。従来のセイヨウナタネと近縁種が交雑して生じた雑種は、生存率、花粉の発芽力、種子生産量等が低い。また、通常除草剤を散布することがない自然環境下では、除草剤グリホサート耐性形質が競合における優位性を高めるとは考え難い。したがって、本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑により形成された雑種が競合において優位になる可能性及び優占種となる可能性は低い。

20 本挿入遺伝子により、雑種の個体群が従来以上に減少する可能性、またその結果として近縁種の個体群に影響を与える可能性は低いと考えられる。したがって、近縁種に依存して生息する昆虫等の野生動植物の個体群の維持に影響を与えることはないと考えた。

25 したがって、本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑による生物多様性影響が生じる可能性は低いと判断された。

30 以上のことから、総合的評価として、本組換えセイヨウナタネを第一種使用規程に従って使用した場合に、我が国における生物多様性に影響を生ずるおそれはないと結論された。

35

## 参考文献

- 5 An, G., Mitra, A., Choi, H.K., Costa, M.A., An, K., Thornburg, R.W. and Ryan, C.A. (1989). Functional analysis of the 3' control region of the potato wound-inducible proteinase inhibitor II gene. *Plant Cell*. 1: 115-122.
- 10 Anderson, M.S., de Vicente, M.C. (2010). Canola, Oilseed Rape. Gene flow between crops and their wild relatives. Johns Hopkins University Press. p. 73-123.
- 15 Benjamini, Y. and Hochberg, Y. (1995). Controlling the False discovery rate: a practical and powerful approach to multiple testing. *Journal of the Royal Statistical Society: Series B*. 57: 289-300.
- 20 Bing, D.J., Downey, R.K. and Rakow, G.F.W. (1991). Potential of gene transfer among oilseed Brassica and their weedy relatives. GCIRC 1991 Congress. p.1022-1027.
- 25 Bing, D.J., Downey, R.K., Rakow, F.W. (1996). Hybridizations among *Brassica napus*, *B. rapa* and *B. juncea* and their two weedy relatives *B. nigra* and *Sinapis arvensis* under open pollination conditions in the field. *Plant Breeding*. 115: 470-473.
- 30 Castle, L.A., Siehl, D.L., Gorton, R., Patten, P.A., Chen, Y.H., Bertain, S., Cho, H-J., Duck, N., Wong, J. Liu, D. and Lassner, M.W. (2004). Discovery and directed evolution of a glyphosate tolerance gene. *Science*. 304: 1151-1154.
- 35 CFIA. (1994). The biology of *Brassica napus* L. (Canola/Rapeseed). Biology Document. Canadian Food Inspection Agency (CFIA). BIO1994-09. (<http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dir/dir9409e.pdf>)
- 40 Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A., Hureau, G., Barret, P., Picault, H. and Renard, M. (1998). Characterization of backcross generations obtained under field conditions from oilseed rape-wild radish F<sub>1</sub> interspecific hybrids: an assessment of transgene dispersal. *Theoretical and Applied Genetics*. 97: 90-98.
- 45 Chèvre, A.M., Eber, F., Darmency, H., Fleury, A., Picault, H., Letanneur, J.C. and Renard, M. (2000). Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. *Theoretical and Applied Genetics*. 100: 1233-1239.

- Choudhary, B.R. and Joshi, P. (1999). Interspecific Hybridization In Brassica. The Regional Institute Ltd. Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress. (<http://www.regional.org.au/au/gcirc/4/516.htm>)
- 5 Delaney, B., Shen, Z.A., Powley, C.R., Gannon, S., Munley, S.A., Maxwell, C. and Barnett, J.F. Jr. (2008). Acute and repeated dose oral toxicity of *N-acetyl-L*-aspartic acid in Sprague-Dawley rats. Food and Chemical Toxicology. 46: 2023-2034.
- 10 Delaney, B. (2010). Acute oral toxicity of *N-acetyl-L*-aspartic acid (NAA) in rats. Food and Chemical Toxicology. 48: 1761.
- Eber, F., Chèvre, A.M., Baranger, A., Vallée, P., Tanguy, X. and Renard, M. (1994). Spontaneous hybridization between a male-sterile oilseed rape and two weeds. Theoretical and Applied Genetics. 88: 362-368.
- 15
- FAO. (2012). FAOSTAT. (<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx>). Accessed on March 21, 2012.
- 20 FitzJohn, R. G., Armstrong, T. T., Newstrom-Lloyd, L. E., Wilton A. D. and Cochrane M. (2007). Hybridisation within *Brassica* and allied genera: evaluation of potential for transgene escape. Euphytica. 158:209–230.
- Frello, S., Hansen, K.R., Jensen, J., Jørgensen, R.B. (1995). Inheritance of rapeseed (*Brassica napus*)-specific RAPD markers and a transgene in the cross *B. juncea* x (*B. juncea* x *B. napus*). Theoretical and Applied Genetics. 91: 236-241.
- 25
- Harper, M.S., Shen, Z.A., Barnett, J.F. Jr., Krsmanovic, L., Myhre, A. and Delaney, B. (2009). N-acetyl-glutamic acid: Evaluation of acute and 28-day repeated dose oral toxicity and genotoxicity. Food and Chemical Toxicology. 47: 2723-2729.
- 30
- Harper, M.S., Shen, Z.A., Barnett, J. F. Jr., Krsmanovic, L., Dakoulas, E.W. and Delaney, B. (2010). Toxicology studies with N-acetylglycine. Food and Chemical Toxicology. 48:1321-1327.
- 35
- Hession, A.O., Esrey, E.G., Croes, R.A. and Maxwell, C.A. (2008). N-acetylglutamate and N-acetylaspartate in soybeans (*Glycine max* L.), maize (*Zea maize* L.) and other foodstuffs. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 56: 9121-9126.
- 40

- 石田正彦. (2004). “ナタネ”. 新編 農学大事典. 第1版. 山崎耕宇, 久保祐雄, 西尾敏彦, 石原邦監修. 養賢堂. p.614-615.
- 石井龍一. (1999). “ナタネ”. 作物学各論. 初版. 朝倉書店. p.111-113.
- 5 Jørgensen, R.B. and Andersen, B. (1994). Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy *B. campestris* (Brassicaceae): a risk of growing genetically modified oilseed rape. *American Journal of Botany*. 81: 1620-1626.
- 10 Jørgensen, R.B., Andersen, B., Landbo, L. and Mikkelsen, T.R. (1996). Spontaneous hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy relatives. *Acta Horticulturae*. 407: 193-200.
- 15 Karaman, S., Myhre, A., Donner, E.M., Munley, S.M. and Delaney, B. (2009). Mutagenicity studies with N-acetyl-L-aspartic acid. *Food and Chemical Toxicology*. 47: 1936-1940.
- 20 Karaman, S., Barnett, J.Jr., Sykes, G.P., Delaney, B. (2011a). Subchronic oral toxicity assessment of N-acetyl-L-aspartic acid in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 155-165.
- 25 Karaman, S., Barnett, J.Jr., Sykes, G.P., Hong, B. and Delaney, B. (2011b). Two-generation reproductive and developmental toxicity assessment of dietary N-acetyl-L-aspartic acid in rats. *Food and Chemical Toxicology*. 49: 3192-3205.
- 30 国立環境研究所. (2011). 平成22年度遺伝子組換え生物による影響監視調査報告書. (<http://www.bch.biodic.go.jp/download/natane/H22natanetyousa.pdf>)
- Keenan, R.J., Siehl, D.L., Gorton, R. and Castle, L.A. (2005). DNA shuffling as a tool for protein crystallization. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 102: 8887-8892.
- 35 Keil, M., Sanchez-Serrano, J., Schell, J. and Willmitzer, L. (1986). Primary structure of a proteinase inhibitor II gene from potato. *Nucleic Acids Research*. 14: 5641-5650.
- 40 Kerlan, M.C., Chèvre, A.M., Eber, F., Baranger, A. and Renard, M. (1992). Risk assessment of outcrossing of transgenic rapeseed to related species. *Euphytica*. 62: 145-153.



- Lefol, E., Fleury, A. and Darmency, H. (1996a). Gene dispersal from transgenic crops. II. Hybridization between oilseed rape and the wild hoary mustard. *Sexual Plant Reproduction*. 9: 189-196.
- 5 Lefol, E., Danielou, V. and Darmency, H. (1996b). Predicting hybridization between transgenic oilseed rape and wild mustard. *Field Crops Research*. 45: 153-161.
- 中井秀樹. (2003). “アブラナ科”. 日本の帰化植物. 清水建美編. 平凡社. p.80-96.
- 10 日本生態学会. (2003). “外来種リスト (維管束植物)”. 外来種ハンドブック. 初版. 地人書館. p.320-353.
- 日本食品化学研究振興財団. (2012). 農薬等の基準値. 品目名: グリホサート. (http://www.ffcr.or.jp/zaidan/FFCRHOME.nsf/pages/MRLs-n). Accessed on May 30, 2012.
- 15 Norris, S.R., Meyer, S.E. and Callis, J. (1993). The intron of *Arabidopsis thaliana* polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. *Plant Molecular Biology*. 21: 895-906.
- 20 農業環境技術研究所. (2007). 輸入港周辺の遺伝子組換えナタネは、従来のナタネ生育地にしか生育していない. 農業環境技術研究所 研究成果情報 第 23 集. p.24-25. (http://www.niaes.affrc.go.jp/sinfo/result/result23/result23\_24.pdf)
- 25 農林水産省. (2009). 輸入港周辺におけるセイヨウナタネ個体群の調査結果 (続報). (http://www.s.affrc.go.jp/docs/press/pdf/090304\_1-01.pdf)
- 30 農林水産省. (2010a). 遺伝子組換え植物実態調査結果 (平成 18 年～平成 20 年実施分の取りまとめ) 対象植物: ナタネ類. (http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/c\_data/pdf/keka18-20.pdf)
- 農林水産省. (2010b). 平成 19 年産特産農作物生産実績. (http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/tokusan\_nousaku/)
- 35 農林水産省. (2011). 平成 22 年 (1～12 月) 月別油糧生産実績表. (http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/oil/)
- 40 OECD. (1997). Consensus document on the biology of *Brassica napus* L. (oilseed rape). Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 7. (http://www.oecd.org/dataoecd/28/22/27531440.pdf)

- OECD. (1999). Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to glyphosate herbicide. Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 10. (<http://www.oecd.org/dataoecd/17/11/46815618.pdf>)
- 5
- OECD. (2001). Consensus document on key nutrients and key toxicants in low erucic acid rapeseed (canola). Series on the safety of novel foods and feeds No. 1. (<http://www.oecd.org/dataoecd/15/59/46815125.pdf>)
- 10
- OGTR. (2008). The biology of *Brassica napus* L. (Canola). Version 2. Office of the Gene Technology Regulator (OGTR). Department of Health and Ageing, Australian Government. (<http://www.ogtr.gov.au/internet/ogtr/publishing.nsf/Content/riskassessments-1>)
- 15
- Pearson, W.R. and Lipman, D.J. (1988). Improved tools for biological sequence comparison. Proceedings of the National Academy of Sciences. 85: 2444-2448.
- 20
- Prakash, S. and Chopra, V.L. (1988). Introgression of Resistance to Shattering in *Brassica napus* from *Brassica juncea* through Non-Homologous Recombination. Plant Breeding. 101: 167-168.
- Rantio-Lehtimäki, A. (1995). Aerobiology of pollen and pollen antigens. Bioaerosols handbook. Lewis Publishers. p.387-406.
- 25
- Sacristán, M.D. and Gerdemann, M. (1986). Different behavior of *Brassica juncea* and *B. carinata* as sources of phoma lingam resistance in experiments of interspecific transfer to *B. napus*. Plant Breeding. 97: 304-314.
- 30
- Scott, S.E. and Wilkinson, M.J. (1998). Transgene risk is low. Nature. 393: 320.
- 志賀敏夫. (2001). “生育のステージと生理, 生態”. 転作全書 第三巻 雑穀. 農文協. p.293-332.
- 35
- 志賀敏夫、奥山善直. (2001). “ナタネの品種生態”. 転作全書 第三巻 雑穀. 農文協. p.333-351.
- 40
- 清水矩宏、森田弘彦、廣田伸七. (2008). 日本帰化植物写真図鑑. 全国農村教育協会.

- Siehl, D.L., Castle, L.A., Gorton, R., Chen, Y.H., Bertain, S., Cho, H-J., Keenan, R., Liu, D. and Lassner, M.W. (2005). Evolution of a microbial acetyltransferase for modification of glyphosate: a novel tolerance strategy. *Pest Management Science*. 61: 235-240.
- 5
- Staniland, B.K., McVetty, P.B.E., Friesen, L.F., Yarrow, S., Freyssinet, G. and Freyssinet, M. (2000). Effectiveness of border areas in confining the spread of transgenic *Brassica napus* pollen. *Canadian Journal of Plant Science*. 80:521-526.
- 10
- Stemmer, W.P.C. (1994). DNA shuffling by random fragmentation and reassembly: In vitro recombination for molecular evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 91: 10747-10751.
- 15
- Sutcliffe, J.G. (1978). Nucleotide sequence of the ampicillin resistance gene of *Escherichia coli* plasmid pBR322. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 75(8): 3737-3741.
- 20
- Takahata, Y., Konno, N. and Hinata, K. (2008). Genotypic variation for floral characters in *Brassica* and allied genera with special reference to breeding system. *Breeding Science*. 58: 385-392.
- 25
- Timmons, A.M., Charters, Y.M., Crawford, J.W., Burn, D., Scott, S.E., Dubbels, S.J., Wilson, N.J., Robertson, A., O'Brien, E.T., Squire, G.R. and Wilkinson, M.J. (1996). Risks from transgenic crops. *Nature*. 380: 487.
- 角田重三郎. (2001). “ナタネの起源と特性”. 転作全書 第三巻 雑穀. 農文協. p.281-292.
- 30
- US EPA. 2008. MEMORANDUM. Subject: Glyphosate-Isopropylammonium and Pyriithiobac Sodium. Human-Health Risk Assessment for Application to Glyphosate-Tolerant Soybean. DP Number: 345923.
- 35
- van de Mortel, E.L.M., Shen, Z.A., Barnett, J.F. Jr., Krsmanovic, L., Myhre, A. and Delaney, B.F. (2010a). Safety Assessment of N-acetyl-L-threonine. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 1919-1925.
- 40
- van de Mortel, E.L.M., Shen, Z.A., Barnett, J.F. Jr., Krsmanovic, L., Myhre, A. and Delaney, B.F. (2010b). Toxicology studies with N-acetyl-L-serine. *Food and Chemical Toxicology*. 48: 2193-2199.

5 Warwick, S.I., Simard, M.-J., Légère, A., Beckie, H.J., Braun, L., Zhu, B., Mason, P., Séguin-Swartz, G. and Stewart, C.N. (2003). Hybridization between transgenic *Brassica napus* L. and its wild relatives: *Brassica rapa* L., *Raphanus raphanistrum* L., *Sinapis arvensis* L., and *Erucastrum gallicum* (Willd.) O.E. Schulz. *Theoretical and Applied Genetics*. 107: 528-539.

10 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.

財務省. (2012). 財務省貿易統計. (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>). Accessed on March 21, 2012.

## 緊急措置計画書

平成 24 年 7 月 10 日

5

氏名 デュポン株式会社  
代表取締役社長 天羽 稔  
住所 東京都千代田区永田町二丁目 11 番 1 号

10

除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ(*gat4621, Brassica napus L.*) (73496, OECD UI : DP-Ø73496-4) (以下「本組換えセイヨウナタネ」という。)について、今後、科学的根拠に基づき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には、当該影響を効果的に防止するため、第一種使用規程に従った使用が承認された後であっても、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

20

弊社内に緊急措置に適切に対応するための危機対策本部を速やかに設置する。危機対策本部は、社長を本部長、副社長を副本部長とし、各部門の部門長等から構成される(下表)。危機対策本部が、本組換えセイヨウナタネの開発者である米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社との円滑な連絡を確保する。

25

デュポン株式会社危機対策本部 名簿 (平成 24 年 3 月現在)

(個人名・所属は個人情報につき非開示)

30

### 2 第一種使用等の状況の把握の方法

35

弊社は、本組換えセイヨウナタネの開発者である米国パイオニア・ハイブレッッド・インターナショナル社と連絡をとり、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

5 米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社は、米国における本組換えセイヨウナタネ種子の購入者及び穀物取扱い業者、セイヨウナタネの栽培者が加入する団体に対して、広く情報を提供するための連絡体制を保有している。したがって、今後、科学的根拠に基づき、本組換えセイヨウナタネが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると認められた場合には、米国パイオニア・ハイブレッ  
10 ド・インターナショナル社は、これらの連絡体制を使い、関係各者と連絡を取る。

また必要に応じて、弊社のホームページ等、日本国内の適切な媒体を通して、本件について通知する。

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とり、その使用等を継続するための具体的な措置の内容

科学的根拠に基づき、本組換えセイヨウナタネが我が国の生物多様性に影響を与  
20 えるおそれがあると認められた場合には、弊社は、米国パイオニア・ハイブレッド・インターナショナル社とともに、日本向けに輸出している穀物取扱い業者及び種子取扱い業者に対して本件を通知する。また、我が国の栽培者等に対して本件を通知する。

25

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

科学的根拠に基づき、本組換えセイヨウナタネが我が国の生物多様性に影響を与  
30 えるおそれがあると認められた場合には、弊社は、速やかに農林水産省消費・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連絡するとともに、緊急措置対応のための体制及び連絡窓口を報告する。

添付資料リスト

(社外秘情報につき非開示)