

除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ MON88302(改変 *cp4 epsps, Brassica napus* L.)(MON88302, OECD UI: MON-88302-9)申請書等の概要

5		
	第一種使用規程承認申請書.....	1
	生物多様性影響評価書.....	4
10	第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	4
	1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	4
	(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	4
	① 和名、英名及び学名.....	4
	② 宿主の品種名又は系統名.....	4
15	③ 国内及び国外の自然環境における自生地域.....	4
	(2) 使用等の歴史及び現状.....	5
	① 国内及び国外における第一種使用等の歴史.....	5
	② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途.....	6
	(3) 生理学的及び生態学的特性.....	6
20	イ 基本的特性.....	6
	ロ 生息又は生育可能な環境の条件.....	7
	ハ 捕食性又は寄生性.....	7
	ニ 繁殖又は増殖の様式.....	7
	① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命.....	7
25	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.....	7
	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.....	8
	④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命.....	9
30	ホ 病原性.....	10
	ヘ 有害物質の産生性.....	10
	ト その他の情報.....	10
	2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	10
	(1) 供与核酸に関する情報.....	11
35	イ 構成及び構成要素の由来.....	11
	ロ 構成要素の機能.....	15
	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.....	15
	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
	③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容	15
	(2) ベクターに関する情報.....	16
5	イ 名称及び由来.....	16
	ロ 特性.....	16
	① ベクターの塩基数及び塩基配列	16
	② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能.....	16
10	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	17
	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	17
	イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	17
	ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法	17
	ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	17
15	① 核酸が移入された細胞の選抜の方法	18
	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	18
20	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	18
	(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.....	20
	① 移入された核酸の複製物が存在する場所.....	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製数世代における伝達の安定性.....	21
25	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	21
	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	21
30	⑤ ウイルスの感染その他の経路を経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	23
	(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性.....	23
	(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	23
	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	23
35	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.....	24
	3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	25
	(1) 使用等の内容	25
40	(2) 使用等の方法	25

	(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法.....	26
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置.....	26
5	(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.....	26
	(6) 国外における使用等に関する情報.....	26
	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価.....	27
	1 競合における優位性.....	27
10	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	27
	(2) 影響の具体的内容の評価.....	28
	(3) 影響の生じやすさの評価.....	28
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	28
	2 有害物質の産生性.....	28
15	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	29
	(2) 影響の具体的内容の評価.....	30
	(3) 影響の生じやすさの評価.....	30
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	30
	3 交雑性.....	30
20	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	30
	(2) 影響の具体的内容の評価.....	30
	(3) 影響の生じやすさの評価.....	30
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	30
	4 その他の性質.....	30
25	第三 生物多様性影響の総合的評価.....	33
	参考文献.....	35
	緊急措置計画書.....	43
	モニタリング計画書.....	45
	隔離ほ場試験計画書.....	48

第一種使用規程承認申請書

平成 22 年 10 月 15 日

5 農林水産大臣 鹿野 道彦 殿
環境大臣 松本 龍 殿

10 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

15 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。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ (改変 <i>cp4 epsps</i>, <i>Brassica napus</i> L.) (MON88302, OECD UI: MON-88302-9)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>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</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地 名 称：日本モンサント株式会社隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 26 年 5 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1) 部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。</p> <p>(2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。</p> <p>(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴などに付着した土、本遺伝子組換えセイヨウナタネの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、本遺伝子組換えセイヨウナタネの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。</p> <p>(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するための防風網を設置している。また開花期には試験区を寒冷紗で覆うことにより花粉の飛散を防止する。</p> <p>(5) 播種時及び成熟期には防鳥網などを用いた鳥害防止策を講じる。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本遺伝子組換えセイヨウナタネ及び比較対照のセイヨウナタネ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。</p> <p>(2) 本遺伝子組換えセイヨウナタネを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該セイヨウナタネが漏出しない構造の容器に入れる。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、本遺伝子組換えセイヨウナタネの栽培終了後は、当該セイヨウナタネ及び比較対照のセイヨウナタネを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。</p> <p>(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えセイヨウナタネが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。</p> <p>(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。</p> <p>(6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行</p>

	<p>う者に遵守させる。</p> <p>(7)別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。</p> <p>(8)生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。</p>
--	---

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

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

① 和名、英名及び学名

10

和名：アブラナ科 アブラナ属 セイヨウナタネ

英名：Oilseed Rape

学名：*Brassica napus* L.

15 ② 宿主の品種名又は系統名

遺伝子導入に用いた宿主の品種名は【社外秘につき非開示】である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

20

セイヨウナタネ(*B. napus*)は、アブラナ科アブラナ属の *B. rapa* L. (在来ナタネ、カブ、ハクサイ、コマツナ、ノザワナ、ツケナ、チンゲンサイ、パクチョイ等と呼ばれるもの全体を指す)とキャベツなどが属する *B. oleracea* L.との交雑の結果できた複 2 倍体種である(転作全書, 2001)。セイヨウナタネは、交雑親の *B. rapa* と *B. oleracea* の分布が重なる北ヨーロッパが原産地と考えられており、現在は、世界中にその分布が見られる(作物学Ⅱ, 2000)。アブラナ属のうち日本に自生しているものは、セイヨウナタネ、*B. rapa*(在来ナタネ)、*B. juncea* (L.) Czern (カラシナ)、*B. nigra* (L.) Koch (クロガラシ)である(日本帰化植物写真図鑑, 2001)。なお、*B. juncea* には、カラシナの他に明治以前にわが国に導入され各地で栽培されているセイサイ、ザーツァイ等の野菜類もあるが、現在、荒地、路傍、河川敷などで自生化しているものは、カラシナである(日本の帰化植物, 2003; 日本帰化植物写真図鑑, 2001)。また、アブラナ科の帰化植物種として、上記の植物以外にダイコン属の *Raphanus raphanistrum* L. (セイヨウノダイコン)及び *Raphanu. sativus* L. var. *raphanistroides* Makino (ハマダイコン)、ダイコンモドキ属の *Hirschfeldia incana* (L.) Lagr.-Foss. (ダイコンモドキ)、シロガラシ属の *Sinapis arvensis* L. (ノハラガラシ) が挙げられる¹。

35

セイヨウナタネは路傍や工場跡地のような定期的に人の手が加えられる場所では自生化し得ることが知られており(OECD, 1997)、わが国においては、河川の土手等で生育してい

¹ 近縁種のうち、*B. nigra* と *S. arvensis* については自然条件下でセイヨウナタネを花粉親とした場合の交雑は報告されていない。また、*Raphanu. sativus* L. var. *raphanistroides* Makino については、人為的な交配も含め、セイヨウナタネとの交雑は報告されていない。

たり(河川環境データベース(<http://ecotech.nies.go.jp/database/detail.php?id=36>); 日本帰化植物写真図鑑, 2001)、海外から種子が陸揚げされる港湾の周辺で生育していることがこれまでに報告されている(Nishizawa *et al.*, 2009)。しかし、セイヨウナタネは、人の手がほとんど加えられない自然環境下では、多年生の雑草やシダ植物などとの競合に敗れて自生化することは困難であることが知られている(OECD, 1997)。

(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

セイヨウナタネの使用等の歴史は古く、紀元前 2000～1500 年の古代インドの記述や、紀元前 500～200 年のギリシャ、ローマ及び中国の記述に記されている(Downey and Röbbelen, 1989)。ヨーロッパでのほ場規模での栽培は 13 世紀にベルギーで始まったとされている(転作全書, 2001)。

アジアやヨーロッパでも、古くからセイヨウナタネは種子から油が搾られ、灯火用として広く使用されていた(工芸作物学, 1981)。また、ヨーロッパでは蒸気機関の潤滑油として使用されるようになり、このことがヨーロッパでのセイヨウナタネ栽培の進展を促した。カナダにおいては、第二次世界大戦時に、軍艦の蒸気機関の潤滑油を補給する目的でセイヨウナタネ栽培が始まった(転作全書, 2001)。

本来、セイヨウナタネ種子からとられた油は、エルシン酸やグルコシノレートといった有害物質を含むことが知られている。エルシン酸は、実験動物に多量に給与した場合、心筋や骨格筋などに病的な変化が生ずることが報告されている。また、グルコシノレートは、家畜の甲状腺を肥大させることが知られている(工芸作物学, 1981)。したがって、食用や飼料用には、不向きであると考えられていた。しかし、カナダでの品種改良により低エルシン酸で低グルコシノレートであるカノーラ品種が育成されるに至り、その結果として、現在ではサラダ油、ショートニング、マーガリン等の食用油として広く利用されている。また搾油かすは飼料として利用されている(転作全書, 2001)。

日本において古くから栽培されているのは *B. rapa* である。この種の栽培は地中海東部からシベリアや西域を経て中国に入り、古代に中国・朝鮮から渡来したと考えられている。平安時代の「延喜式」には花芽を食べる野菜として記されている。江戸時代に燈油や食用油の原料として大規模に栽培されるようになった。一方、セイヨウナタネは明治時代から栽培されるようになり、全国に広がっていき、*B. rapa*(在来ナタネ)は少なくなっていく(転作全書, 2001)。

わが国でのセイヨウナタネの栽培面積及び生産量は、昭和 12～13 年に 11 万 ha、12 万～13 万 t に達したが、第二次世界大戦によって激減した。戦後再び増加し、昭和 27～33 年には 20 数万 ha、30 万 t に達した。しかし、その後、イネ栽培の早期化による作期の重なり

や、昭和 30 年代のわが国の経済発展によって、その栽培面積は減少し、現在では国内需要のほとんどを輸入品に頼っており、国産ナタネは主に緑肥や景観作物として栽培されている(作物学Ⅱ, 2000; FAOSTAT, 2008)。

5

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

国連食料農業機関(FAO)の統計情報に基づくと、2008 年における全世界のセイヨウナタネの栽培面積は約 3030 万 ha であり、栽培面積の上位国を挙げると EU が 853 万 ha、中国が 659 万 ha、カナダが 649 万 ha、インドが 575 万 ha、ウクライナが 137 万 ha となっている(FAOSTAT, 2008)。

10

なお、同統計情報によると、現在、わが国で栽培されているセイヨウナタネの栽培面積は 825 ha で収穫量は 1100 t である(FAOSTAT, 2008)。

15

カナダにおいてはセイヨウナタネは春撒きで栽培される。一方、日本におけるセイヨウナタネの栽培方法は、夏から秋に播種して、翌春に収穫するのが一般的である(新編 農学大事典、2004)。

20

日本には 2009 年度に 207 万 t が輸入され、主な輸入国はカナダ(195.7 万 t)、次いでオーストラリア(11 万 t)である(農林水産統計, 2009)。また、ナタネ油は 2009 年に 1 万 4,000 t、飼料用の油かすは 9 万 1,000 t 輸入されている(財務省貿易統計, 2009)。なお、モンサント・カナダの調査によると、2009 年現在、カナダで商業栽培されているセイヨウナタネのうち、89%が遺伝子組換え技術により除草剤耐性を付与された品種、10%が突然変異育種により

25

除草剤耐性を付与された品種、1%が除草剤耐性でない非遺伝子組換え品種である。

現在、セイヨウナタネの用途は、油糧用と飼肥料用に大別される。油糧用として子実から搾油・精製された油の多くは食用植物油として、あるいはマヨネーズ、マーガリン、ショートニングなどの食用加工油脂として利用されている。飼肥料用としては、搾油後の油かすが有機肥料や配合飼料として有効活用されている。またナタネ油及びその廃食油をバイオディーゼル燃料に精製する試みが始まっている(最新農業技術辞典, 2006, 社団法人 農山漁村文化協会)。

30

(3) 生理学的及び生態学的特性

35

イ 基本的特性

セイヨウナタネは種子繁殖する一年生植物である。

40

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

5 セイヨウナタネは、休眠打破、抽苔の開始、花芽の分化に低温を必要とする秋播き品種と、それを必要としない春播き品種とに分けられる(作物学Ⅱ, 2000)。セイヨウナタネの生育適温は15~20℃であり、酸性や湿度には比較的強いが、重粘土や砂質で乾燥している土壌は適さない。発芽時には過湿を嫌うが、生育時には多くの水分が必要である。また、日本全国で栽培可能である(工芸作物学, 1981)。

ハ 捕食性又は寄生性

10

—

ニ 繁殖又は増殖の様式

15 ① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

セイヨウナタネでは1つの莢の中に多数の種子ができ、種子が成熟し乾燥した莢は莢柄の部分より裂開して種子を放出する(工芸作物学, 1981)。

20 乾燥した莢は、わずかな物理的刺激により裂開するため、種子を飛散させやすい(作物学Ⅱ, 2000)。したがって、脱粒性は比較的高いと考えられる。

25 種子の休眠性は秋播き品種、春播き品種に関わらず比較的浅いことが知られているが、気温の大きな変動、水分の欠乏、暗黒条件が長時間続いた場合に休眠性を獲得する事が知られている(Pekrun *et al.*, 1998)。また、遺伝子型によっては20℃以上の高温条件下で休眠性を獲得する品種も報告されている(Gulden *et al.*, 2000)。これらの獲得された休眠性は、種子が光にさらされ、かつ低温条件(2~4℃)(Gulden *et al.*, 2000)や再度変温条件下におかれることで破られることが知られている(Pekrun *et al.*, 1998)。

30 セイヨウナタネの種子の寿命は、採種条件や保存条件によって異なる。登熟後に乾燥状態で貯蔵した場合には6年を経過しても80%の発芽力があつたが、室内に放置した場合の3年後の発芽率は約30%であつたと報告されている(畑作全書 雑穀編, 1981)。

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

セイヨウナタネは種子繁殖を行い、自然条件下において他の器官からの繁殖は観察されていない。

- ③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

5 セイヨウナタネは自家不和合性を持たず、自家受粉によって種子を作ることが多い。風媒や虫媒による他家交雑率は12~55%と報告されている(Beckie *et al.*, 2003)。

10 セイヨウナタネと交雑可能な近縁種としては、わが国で古来から栽培種として利用されている *B. rapa*、明治時代以降にわが国に帰化した *B. nigra*、そして昭和初期に帰化した *R. raphanistrum* 及び *S. arvensis*、さらには戦後に帰化した *B. juncea* 及び *H. incana* が挙げられる(日本の帰化植物, 2003; 日本帰化植物写真図鑑, 2001; 転作全書, 2001)。

15 *B. rapa* には、在来ナタネの他に、その変種であるカブ、ハクサイ、コマツナ、ノザワナ、ツケナ、チンゲンサイ、パクチョイも含まれるが、わが国の荒地や路傍で自生化しているものは、在来ナタネである(転作全書, 2001)。 *B. rapa* のセイヨウナタネとの交雑性に関しては、セイヨウナタネのほ場の境界線より外側のほ場に *B. rapa*(在来ナタネ)の集団を植え、*B. rapa* の種子における交雑体を調べた場合は、その交雑率は低く 0.4%~1.6%であった(OGTR, 2002; Devos *et al.*, 2008)。しかし、セイヨウナタネのほ場内に *B. rapa*(在来ナタネ)を同程度の割合で植え、*B. rapa* の種子における交雑体を調べた場合の交雑率は13%であったと報告されている(Jørgensen *et al.*, 1996)。

20 *B. juncea* には、カラシナの他に明治以前にわが国に導入され各地で栽培されているセイサイ、ザーツァイ等の野菜類もあるが、現在、荒地、路傍、河川敷などで自生化しているものは、戦後にヨーロッパや北アメリカから持ち込まれた帰化植物のカラシナである(日本の帰化植物, 2003; 日本帰化植物写真図鑑, 2001)。セイヨウナタネとの交雑性に関しては、海外のセイヨウナタネほ場周辺で雑種が発生しているのが確認されている(Bing *et al.*, 1991; Bing *et al.*, 1996; Frello *et al.*, 1995; Jørgensen *et al.*, 1998; Bielikova and Rakousky, 2001)。交雑率は、生育するセイヨウナタネと *B. juncea*(カラシナ)の比率に依存するが、最大で全体の約3%の割合で雑種が形成されたとの報告がある(Bing *et al.*, 1991; Jørgensen *et al.*, 1996; Devos *et al.*, 2008)。また、交雑はどちらが花粉親の場合でも起こるが、セイヨウナタネが花粉親の場合の交雑率(0.003%)は、*B. juncea*(カラシナ)が花粉親の場合の交雑率(0.011%)に比べて低いことが報告されている(Bing *et al.*, 1996)。

30 *H. incana* はわが国の荒地や路傍で自生化している帰化植物であり、戦後にわが国に帰化したと推測されている(日本の帰化植物, 2003)。セイヨウナタネとの交雑率に関しては、*H. incana* とセイヨウナタネを1:625の比率で栽培した場合に、*H. incana* の収穫種子の1.5%が交雑体であったと報告されている(Lefol *et al.*, 1996a)。

40 *R. raphanistrum* はわが国の荒地や路傍で自生化する帰化植物であるが、昭和初期にわが国に帰化したと推測されている(日本の帰化植物, 2003; 日本帰化植物写真図鑑, 2001)。セイヨウナタネとの交雑性に関しては、セイヨウナタネを *R. raphanistrum* と混合して育成させ

た場合の交雑頻度が調査されており、フランスでは $1 \times 10^{-5} \sim 1 \times 10^{-7}$ (Chevre *et al.*, 2004)、オーストラリアでは 4×10^{-8} (Rieger, *et al.*, 2001)、そしてカナダでは 3×10^{-5} (Warwick *et al.*, 2003) という報告がされている。しかし、イギリスにおいて除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネのほ場付近で生育させた *R. raphanistrum* を 5 年間定期的にモニタリングした結果、
5 雑種は認められなかった (Sweet and Shepperson, 1996)。

S. arvensis はわが国の荒地や路傍で自生化している帰化植物であり、昭和初期にわが国に帰化したと推測されている (日本の帰化植物, 2003)。自然条件下でのセイヨウナタネとの交雑性に関しては、セイヨウナタネを花粉親とした場合には交雑体は認められず (Lefol *et al.*, 1996b; Downey 1999)、*S. arvensis* を花粉親とした場合の雄性不稔セイヨウナタネにおける交雑率は 0.18% 以下であると報告されている (Lefol *et al.*, 1996b; Chevre *et al.* 1996)。
10

B. nigra はわが国の荒地や路傍で自生化している帰化植物であるが、わが国に帰化した時期は明治時代以降であると考えられている (日本の帰化植物, 2003; 日本帰化植物写真図鑑, 2001)。セイヨウナタネとの交雑性については、両者を隣接して生育させた後に雑種の形成率を調査した報告があるが、雑種の形成は認められなかった (Scheffler and Dale 1994; Bing *et al.*, 1996)。また人工受粉による交雑も試みられているが、胚珠培養を行った場合に限り 0~1.9% の交雑率で交雑体が得られたと報告されている (Kerlan, *et al.*, 1992; Scheffler and Dale 1994; Bing *et al.*, 1996)。
15
20

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

セイヨウナタネは 1 花当たり約 6~7 万粒の花粉を生産する。

花粉の稔性は 24 時間から 1 週間程度維持されるが、4 日目を過ぎた段階から次第に失われていく (Masquida and Renard, 1982)。
25

セイヨウナタネの花粉は黄色で、三つに縦にくびれた楕円形をしている。大きさは長径 37~39 μm 、短径 20~22 μm である (転作全書, 2001)。また、セイヨウナタネの花粉は重く粘性がある (OECD, 1997)。
30

花粉の媒介方法は風又は昆虫(主にミツバチ)である (OECD, 1997)。

セイヨウナタネの花粉は重くて粘着性があるが、サイズが小さいため、花粉は風によって飛散する (Harker *et al.*, 2002)。Timmons (1995) らの報告によると花粉源から 1.5km 離れた地点で、1 m^2 当たり 0~22 粒の花粉が飛散していたとあるが、空中における花粉の密度は花粉源からの距離が増すにつれて急激に減少する。McCartney と Lacey (1991) の調査によると、ほ場から 20m の地点での空中における花粉密度は、ほ場内と比較して約 90% 減少していた。セイヨウナタネ同士の交雑性と遺伝子流動については、世界中で広く研究が行われており、複数の論文の中で論じられてきた (Salisbury 2002; Beckie, *et al.*, 2003; Messeguer
40

2003; Husken and Dietz-Pfeilstetter 2007)。セイヨウナタネの花粉は、風や虫によって運ばれ、虫の場合では特にミツバチによって運ばれる (Husken and Dietz-Pfeilstetter 2007)。セイヨウナタネ間の交雑率は距離が増加するにつれて減少する。セイヨウナタネ間の交雑率は 12% から 55%の幅があると報告されており (Beckie *et al.*, 2003)、ほとんどの交雑は花粉源からの距離が、虫媒では 5m 以内、風媒では 10m 以内で起こっている。極端な例では 4km 以上離れたセイヨウナタネとの交雑の例もあるが非常にまれである (Husken and Dietz-Pfeilstetter 2007)。花粉源からの距離が 100m 以上である場合のセイヨウナタネ同士の交雑率は、ほとんどの調査結果において 0.5%かそれ以下であると報告されている (Salisbury 2002; Beckie *et al.*, 2003; Messeguer 2003; Husken and Dietz-Pfeilstetter 2007)。

10

ホ 病原性

—

15 へ 有害物質の産生性

セイヨウナタネ種子において、ヒトを含む哺乳動物に対する有害物質としてエルシン酸及びグルコシノレートの産生が知られている。エルシン酸は、実験動物に多量に給餌した場合、心筋や骨格筋などに病的な変化が生ずることが報告されている。またグルコシノレートは、家畜の甲状腺を肥大させることが知られている (工芸作物学, 1981)。しかし、セイヨウナタネでは長年にわたり育種改良が続けられ、低エルシン酸で低グルコシノレートの品種が育成された結果、今日、その油がヒトの食用として、油かすが飼料として利用されるようになった。このような低エルシン酸(精製油中で 2%未満)で低グルコシノレート(油かす 1g 当たり 30 μ mol 未満)のセイヨウナタネは一般にカノーラと呼ばれ、本組換えセイヨウナタネの遺伝子導入の母本となった【社外秘につき非開示】もカノーラと認められている(【社外秘につき非開示】)。

20

25

ト その他の情報

30

—

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

モンサント・カンパニーは従来の雑草防除法と比べて効果的な雑草防除法を提供し、ナタネ栽培における低コスト・省力化栽培及び収穫種子の品質向上を目的として除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ MON88302(改変 *cp4 epsps*, *Brassica napus* L.)(MON88302, OECD UI: MON-88302-9)(以下、「本組換えセイヨウナタネ」という。)を開発した。

40

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

5 本組換えセイヨウナタネ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、

10

【社外秘につき非開示】

15

20

25 図 1(p12)及び(表 1、p13~11)に示した。

なお、本組換えセイヨウナタネに導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子がコードする CP4 EPSPS 蛋白質は、クローニングの過程で制限酵素切断部位を挿入したことにより、*Agrobacterium* sp. CP4 株由来の CP4 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列と比較して、N 末端配列
30 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、本組換えセイヨウナタネに導入された *cp4 epsps* 遺伝子は「改変 *cp4 epsps* 遺伝子」とし、発現する蛋白質を「改変 CP4 EPSPS 蛋白質」とする。本組換えセイヨウナタネにおいて発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、これまでにモンサント・カンパニーが開発し、既に第一種使用規程の承認がなされている遺伝子組換えセイヨウナタネ RT73 及びその他の除草剤グリホサート耐性作物中で
35 発現している蛋白質と同一である。なお、本組換えセイヨウナタネにおいて発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質の推定アミノ酸配列は別添資料 1 に示した。

5

10

【社外秘につき非開示】

15

20

25

図1 本組換えセイヨウナタネの作出に用いられた PV-BNHT2672 のプラスミドマップ

表 1 本組換えセイヨウナタネの作出に用いた PV-BNHT2672 の各構成要素の由来及び機能²

構成要素	由来及び機能
T-DNA	
B ^{注1} -Right Border	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む配列 (Depicker <i>et al.</i> , 1982; Zambryski <i>et al.</i> , 1982)
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
P ^{注2} -FMV/EF-1 α ^{注3}	<i>Arabidopsis thaliana</i> (シロイヌナズナ)由来の伸長因子 EF-1 α プロモーター(Axelos <i>et al.</i> , 1989)に Figwort Mosaic Virus(FMV)の 35S プロモーターのエンハンサー配列(Richins <i>et al.</i> , 1987)を結合させたキメラプロモーター。目的遺伝子の恒常的発現に関与する。
L ^{注4} -EF-1 α	<i>A. thaliana</i> 由来の伸長因子 EF-1 α 遺伝子の 5'非翻訳リーダー領域(exon 1)。目的遺伝子の発現を高める。
I ^{注5} -EF-1 α	<i>A. thaliana</i> 由来の伸長因子 EF-1 α 遺伝子 (Axelos <i>et al.</i> , 1989)のイントロン配列。目的遺伝子の発現を高める。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
TS ^{注6} -CTP2	<i>A. thaliana</i> の EPSPS をコードする <i>ShkG</i> 遺伝子に由来する葉緑体輸送ペプチドをコードする配列 (Klee <i>et al.</i> , 1987; Herrman, 1995)。改変 CP4EPSPS 蛋白質を葉緑体へと輸送する。
CS ^{注7} -改変 <i>cp4 epsps</i>	グラム陰性菌である <i>Agrobacterium</i> CP4 株の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) をコードしている <i>aroA</i> 遺伝子のコード配列 (Padgett <i>et al.</i> , 1996; Barry <i>et al.</i> , 1997)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
T ^{注8} -E9	<i>Pisum sativum</i> (エンドウ)のリブローズ-1, 5-二リン酸カルボキシラーゼの小サブユニットをコードする <i>rbcS2</i> 遺伝子に由来する 3'末端非翻訳領域。mRNA のポリアデニル化を誘導する (Coruzzi <i>et al.</i> , 1984)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
B-Left Border	<i>A. tumefaciens</i> 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (Barker <i>et al.</i> , 1983)

²本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

表 1 (続き)本組換えセイヨウナタネの作出に用いた PV-BNHT2672 の各構成要素の由来及び機能³

構成要素	由来及び機能
外側骨格領域 (本組換えセイヨウナタネ中には存在しない)	
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
OR ^{注9} -ori V	広宿主域プラスミド RK2 に由来する複製開始領域。 <i>Agrobacterium</i> 中においてベクターに自立増殖能を付与する (Stalker <i>et al.</i> , 1981)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
CS-rop	<i>Escherichia. coli</i> プラスミドに由来するプライマー蛋白質のリプレッサーのコード配列。 <i>E. coli</i> 中においてプラスミドのコピー数を維持する(Giza and Huang, 1989)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
OR-ori-pBR322	pBR322 から単離された複製開始領域。 <i>E. coli</i> 中においてベクターに自律増殖能を付与する (Sutcliffe, 1979)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列
aadA	トランスポゾン Tn7 の 3'(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (アミノグリコシド改変酵素) の細菌プロモーター・コード配列・3'非翻訳領域(Fling <i>et al.</i> , 1985)。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。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列

5 ¹ B-Border(境界配列)

² P-Promoter(プロモーター)

³ *EF-1α*は別添資料4のTable 1(p29-30)に記載されている *Tsf1* と同一である。

⁴ L-Leader(リーダー配列)

⁵ I-Intron(イントロン)

10 ⁶ TS-Targeting Sequence(ターゲティング配列)

⁷ CS-Coding Sequence(コード配列)

⁸ T-Transcription Termination Sequence(転写終結配列)

⁹ OR-Origin of Replication(複製開始領域)

³本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

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

本組換えセイヨウナタネの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 1 (p13~11) に示した。

- 10 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 野生型の *cp4 epsps* 遺伝子は *Agrobacterium sp.* CP4 株より単離された遺伝子であり、5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) 蛋白質をコードしている。CP4 EPSPS 蛋白質は除草剤グリホサートに対して高い耐性を付与する。本組換えセイヨウナタネ中で発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列は別添資料 1 に示すとおりである。

20 除草剤グリホサートは、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経路中の酵素の 1 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 (Haslam, 1993; Steinrücken and Amrhein, 1980)。その結果、植物はグリホサートが散布されると 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死する。一方で、改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する組換え植物はその働きにより、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、シキミ酸経路が正常に機能して生育することができる。

30 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、アレルゲンデータベース (AD_2010)⁴ を用いて FASTA 型アルゴリズムと連続する 8 つのアミノ酸による相同性検索を行ったが、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列は認められなかった。

- 35 ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

EPSPS 蛋白質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、植物中では葉緑体又は色素体に存在する (della-Cioppa *et al.*, 1986)。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

⁴ FARRP (Food Allergy Research and Resource Program) AllergenOnline database (FARRP, 2009) に登録されている配列からなるデータベースで、2009 年 12 月の時点で 1,471 件のアミノ酸配列が含まれる。

られる重要な代謝経路である(Haslam, 1974; Haslam, 1993)。本経路は、その第一段階に関与する 3-デオキシ-D-アラビノ-ヘプツロン酸-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(Weiss and Edwards, 1980; Herrmann, 1983)。このことは EPSPS 蛋白質が本経路における律速酵素ではないことを示唆しており、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(Ridley *et al.*, 2002; Padgett *et al.*, 1996b)。実際に、通常の 40 倍の EPSPS 蛋白質を生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されており(Smart *et al.*, 1985)、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、アルファルファ、テンサイ)の食品及び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元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 蛋白質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。

15
また、EPSPS 蛋白質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(Levin and Sprinson, 1964)、これらの基質と特異的に反応することが知られている(Gruys *et al.*, 1992)。これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸であるが、Gruys ら(1992)の論文を元に計算すると、その反応性は S3P との反応性の 200 万分の 1 にすぎず、基質として反応する可能性は極めて低い。

(2) ベクターに関する情報

25 イ 名称及び由来

本組換えセイヨウナタネの作出に用いられたプラスミド・ベクターPV-BNHT2672 は、*E. coli* 由来のベクターpBR322(Sutcliffe, 1979)などをもとに構築された。

30 ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

35 本組換えセイヨウナタネの作出に用いられたプラスミド・ベクターPV-BNHT2672 の塩基数は 9,664bp である。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

40 *E. coli* 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及び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。

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

5 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

10 宿主内に移入された本プラスミドベクターの構成要素は表 1 (p13~11)に記載した。また、
ベクター内での供与核酸の構成要素の位置と制限酵素による切断部位に関しては、

15

【社外秘につき非開示】

20

25

30

図 1 (p12)に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

35

PV-BNHT2672 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により、従来セイヨウナタネ
品種【社外秘につき非開示】の胚軸に導入した。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

40

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

5 従来セイヨウナタネ品種【社外秘につき非開示】の胚軸をプラスミド・ベクター PV-BNHT2672 を含む *A.tumefaciens* ABI 株と共置培養した後、除草剤グリホサートを含む培地にて選抜を行った。

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

10 カルベニシリン及びチカルシリン・クラブラン酸を添加した培地により、形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体を除去した。さらに、本組換えセイヨウナタネの R3 世代において、形質転換に用いたプラスミド・ベクター PV-BNHT2672 の外側骨格領域を標的とした PCR 分析を行ったところ、本組換えセイヨウナタネにはプラスミド・ベクターの外側骨格領域は存在しなかった(別添資料 2)。このことから、本組換えセイヨウナタネには形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体は残存しないことが確認された。

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 選抜された再分化個体(R0)を土壤に移植した後、自家受粉を行い R1 種子を作出した。R0 個体と R1 個体について除草剤グリホサートへの耐性と改変 *cp4 epsps* 遺伝子カセットが存在し、かつ PV-BNHT2672 の骨格部分(ori V)の配列が存在しないことを確認した。その後、1 コピーの T-DNA 領域をホモで有する R2 個体を除草剤グリホサート散布、PCR 及びザンブロット分析を用いて選抜した。そして、優れた表現型と導入遺伝子の存在状態などを指標に最終的に本組換えセイヨウナタネが選抜された。隔離ほ場試験に供する系統及び、その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するのに用いた系統は図 2 の育成図に記載した(図 2, p19)。

30 なお、第一種使用規定規程に係る承認対象の範囲は、図 2 (p19)に記載するとおり R3 世代及び R3 世代から派生する全ての後代交配種である。

5

【社外秘につき非開示】

10

15

20

図2 本組換えセイヨウナタネの育成図

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入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導入遺伝子が染色体上に存在するかどうかを調査した。改変 *cp4 epsps* 遺伝子をホモで有する本組換えセイヨウナタネ(R3 世代)を、改変 *cp4 epsps* 遺伝子を持たないセイヨウナタネ品種【社外秘につき非開示】と交配して F1 個体を作成した。この F1 の 1 個体を自殖して得られた F2 世代で改変 *cp4 epsps* 遺伝子の有無について TaqMan PCR 法にて調査し、分離比の検定を行った。その結果、改変 *cp4 epsps* 遺伝子の分離比は、メンデルの法則に従うと仮定して予想される 1:2:1 の分離比に一致していた(表 2, p20; 別添資料 3 の Figure 1, p6, Table 1, p7)。したがって、本組換えセイヨウナタネの導入遺伝子は染色体上に存在していると考えられる。

10

表 2 本組換えセイヨウナタネの F2 世代における改変 *cp4 epsps* 遺伝子の分離比⁵

供試世代	供試個体数	実測値			1:2:1 の分離比の期待値			χ^2	P値
		陽性・ホモ個体数	ヘテロ個体数	陰性・ホモ個体数	陽性・ホモ個体数	ヘテロ個体数	陰性・ホモ個体数		
F ₂	220	51	122	47	55	110	55	2.76	0.25

15

⁵本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

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

5 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、本組換えセイヨウナタネのゲノム中の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4のFigure 4-5, p37-38)。またT-DNA領域以外の外側骨格領域は挿入されていないことが確認された(別添資料4のFigure 6-8, p39-41)、さらに導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(R2-R5 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4のFigure 16, p57)。

10

- 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

1 コピーなので該当しない(別添資料4のFigure 4-5, p37-38)。

15

- 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

20 本組換えセイヨウナタネの複数世代(R2, R3, R4, R5)の葉においてウエスタンブロット分析を行い、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が安定して発現していることを確認した(別添資料5のFigure 1, p15)。

25 米国及びカナダの計6ヶ所のほ場において4反復で生育した本組換えセイヨウナタネの地上部、種子、葉、及び根のサンプルを採取し、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量をELISA法により分析した(表3, p22、別添資料6)。ELISA分析の結果、本組換えセイヨウナタネの地上部、種子、葉及び根における改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現が確かめられた(表3, p22、別添資料6 Table 1, p16-17)。

30 以上の結果から、本組換えセイヨウナタネに導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、複数の後代に安定して遺伝しており、また、それら後代で改変 CP4 EPSPS 蛋白質が発現していることが示された。

表 3 米国とカナダのほ場における本組換えセイヨウナタネの各部位の CP4 EPSPS 蛋白質
発現量 (2009 年)⁶

供試部位 ¹	平均値 (標準偏差) 範囲 (µg/g 新鮮重)	平均値 (標準偏差) 範囲 (µg/g 乾燥重)
地上部	18 (4.4) 14-28	170 (22) 120-210
種子	25 (5.2) 21-43	27 (5.6) 22-46
葉(OSL-1)	23 (10) 10-45	180 (40) 110-250
葉(OSL-2)	22 (5.9) 18-37	180 (41) 120-250
葉(OSL-3)	31 (6.3) 20-41	230 (50) 130-300
葉(OSL-4)	36 (14) 20-85	210 (80) 110-500
根(Root-1)	19 (4.1) 11-25	82 (17) 46-100
根(Root-2)	10 (3.3) 7.0-17	38 (14) 24-62

¹ 各部位のサンプルを採取した時期とサンプル数は以下の通りである。

- 5 地上部 (n=20): 主茎伸長開始期、種子 (n=16): 収穫期、葉(OSL-1) (n=16): 第 3-4 葉が展開した時期、葉(OSL-2) (n=9): 第 7-9 葉が展開した時期、葉(OSL-3) (n=20): 主茎伸長開始期、葉(OSL-4) (n=20): 開花始めから 20% 開花期、根 1 (n=19): 主茎伸長開始期、根 2 (n=11): 10 -30%の莢が肥大終期に達した時期

⁶本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

- ⑤ ウイルスの感染その他の経路を経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

5 プラスミド・ベクターPV-BNHT2672は、自律増殖可能な宿主域が *E. coli* と *A. tumefaciens* などのグラム陰性菌に限られており、自然条件下において野生動植物に対する伝達性はないと考えられる。

(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

10 PCR法による検出が可能である(別添資料7)。本法は種子1粒ごとの検定を行うのに十分な感度を有する。検定に用いるDNAの濃度は、PCRの1反応当たり5~10ngであることが推奨されている。本法の再現精度については89粒の本組換えセイヨウナタネ及び180粒の非組換えセイヨウナタネを用いて確認試験を行った(別添資料7)。

15 (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

20 本組換えセイヨウナタネへ導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子は改変 CP4 EPSPS 蛋白質を発現することにより、除草剤グリホサートに対する耐性を付与する。

25 本組換えセイヨウナタネに除草剤グリホサートに対する耐性が付与されていることを確認するために、人工気象室において本組換えセイヨウナタネ及び対照の非組換えセイヨウナタネに1500 g a.e./haの除草剤グリホサートを散布した。その結果、散布後5~6日目において対照の非組換えセイヨウナタネの個体は全てが枯死していたが、本組換えセイヨウナタネは全ての個体が生存していた(表4, p23)。よって、本組換えセイヨウナタネが除草剤グリホサートに耐性を示すことが示された。

30 表4 本組換えセイヨウナタネの除草剤グリホサート耐性の調査結果⁽¹⁾⁽²⁾⁷

	生存個体数	枯死した個体数
本組換えセイヨウナタネ	24	0
対照の非組換えセイヨウナタネ	0	24

⁽¹⁾ 播種後5~7日目(初生葉の時期)の本組換えセイヨウナタネ及び対照の非組換えセイヨウナタネにグリホサート散布後を行い、散布後5~6日目に、その外観から生存/枯死を判定した

⁽²⁾ 本組換えセイヨウナタネ及び対照の非組換えセイヨウナタネのそれぞれについて、24個体を供試した

⁷ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

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

5 本組換えセイヨウナタネの宿主は非組換えセイヨウナタネ品種【社外秘につき非開示】であり、導入遺伝子は改変 *cp4 epsps* 遺伝子である。

宿主であるセイヨウナタネには、雑草性のある交雑可能な帰化植物種である *B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis*、*B. nigra* がわが国に存在するが、交雑可能な在来の近縁野生種は存在しない。

10 本組換えセイヨウナタネの導入遺伝子である改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、改変 CP4 EPSPS 蛋白質をコードする遺伝子である。EPSPS 蛋白質は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、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る (Levin and Sprinson, 1964)。EPSPS 蛋白質はこれらの基質と特異的に反応することが報告されている (Gruys *et al.*, 1992)。これらの基質以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られている基質は、S3P の類似体であるシキミ酸であるが、その反応性は低い (第一-2-(1)-ロ-③)。これらのことから、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の基質特異性は非常に高く、植物代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられた。よって、導入遺伝子である改変

15

20 *cp4 epsps* 遺伝子による影響が、目的とした宿主の生理学的又は生態学的特性であるグリホサート耐性以外に及ぶとは予想されない。

さらに、本組換えセイヨウナタネにおいて発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質は、これまでにモンサント・カンパニーが開発し、既に第一種使用規程の承認がなされている遺伝子組換えセイヨウナタネ RT73 及びその他の除草剤グリホサート耐性作物中で発現している蛋白質と同一である。これらの作物において、改変 CP4 EPSPS 蛋白質がグリホサート耐性以外の生理学的又は生態学的特性に影響を与えたという報告はない。このことから、除草剤グリホサートに対する耐性が付与されたことを除いては、本組換えセイヨウナタネの生理学的又は生態学的特性は、セイヨウナタネの範囲を超えるものではないと考えられる。

25

30 したがって、本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場試験を行うに当たっては、生理学的又は生態学的特性についてのデータを用いずに生物多様性影響評価が可能であると判断した。

なお、本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場試験では、生理学的又は生態学的特性に関わる以下の項目を調査する予定である。

35 ① 形態及び生育の特性 (播種日(月日)、発芽始め(月日)、発芽揃い(月日)、発芽率(%)、開花始め(月日)、開花期(月日)、開花終わり(月日)、草型、草丈(cm)、一次分枝数、成熟期(月日)、着莢数、裂莢率(%)、莢当たり種子数、収穫種子の形状(粒色、粒大整否)、百粒重、植物重) ② 生育初期の低温耐性 ③ 成体の越冬性 ④ 花粉の稔性及びサイズ ⑤ 種子の生産量、裂莢性及び発芽率 ⑥ 有害物質の産生性 (土壤微生物相試験、鋤込み試験及び後作試

40

験)

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

5 (1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

10 (2) 使用等の方法

所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地

名称：日本モンサント株式会社隔離ほ場

使用期間：承認日から平成 26 年 5 月 31 日まで

15 1 隔離ほ場の施設

- (1) 部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。
- (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。
- 20 (3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴などに付着した土、本組換えセイヨウナタネの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- (4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するための防風網（高さ 3 m）を設置し
25 ている。また開花期には試験区を寒冷紗で覆うことにより花粉の飛散を防止する。
- (5) 播種時及び成熟期には防鳥網などを用いた鳥害防止策を講じる。

30 2 隔離ほ場での作業要領

- (1) 本組換えセイヨウナタネ及び比較対照のセイヨウナタネ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- (2) 本組換えセイヨウナタネを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該セイヨウナタネが漏出しない構造の容器に入れる。
- (3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、本組換えセイヨウナタネの栽培終了
35 後は、当該セイヨウナタネ及び比較対照のセイヨウナタネを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。
- (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本組換えセイヨウナタネが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- 40 (5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分発揮されるように、設備の維持及び管理を行

う。

- (6) (1)から(5)に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
- (7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。
- (8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。

5

なお、日本モンサント株式会社河内研究農場の隔離ほ場地図を隔離ほ場試験計画書の図3(p57)に示した。

- 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

別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。

- 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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

- 20 (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

これまで2005~2009年の間に米国、カナダにおいて延べ150ヵ所のは場で本組換えセイヨウナタネの試験が行われているが、従来セイヨウナタネと比較して生物多様性影響を生じるおそれがあるような相違は報告されていない。

- 30 なお、本組換えセイヨウナタネの海外における申請予定は以下の通りである(表5, p27)。

35

40

表5 本組換えセイヨウナタネの海外における申請予定

5

【社外秘につき非開示】

10

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

15 第一-2-(6)-②に記載したとおり、本組換えセイヨウナタネの宿主の特性と導入遺伝子の特性を考慮し、本組換えセイヨウナタネを隔離ほ場試験で使用する場合の生物多様性影響を生理学的又は生態学的特性データを用いずに評価した。

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

20

セイヨウナタネは路傍や工場跡地のような定期的に人の手が加えられる地域では自生化し得ることが知られており(OECD, 1997)、わが国においては河川の土手等で生育していたり(河川環境データベース, 2010; 日本帰化植物写真図鑑, 2001)、海外から種子が陸揚げされる港湾の周辺で生育していることが、これまでに報告されている(Anonymous, 2004; Saji *et al.*, 2005; Aono *et al.*, 2006; Nishizawa *et al.*, 2009)。

25

しかし、セイヨウナタネは、人の手がほとんど加えられない地域では、多年生の雑草やシダ植物などとの競合に敗れて自生化することは困難であることが知られており(OECD, 1997)、わが国においてセイヨウナタネは、外来種タンポポ種群(*Taraxacum* spp.)やセイタカアワダチソウ(*Solidago altissima*)などのような日本固有の在来種を駆逐して生物多様性に影響を及ぼす侵略的外来種としては掲載されていない(外来種ハンドブック, 2002)。また、最近の報告によっても、わが国を始めとする諸外国においてセイヨウナタネは生態系に影響を与える有害雑草ではないことが確認されている(Crawley *et al.*, 1993; Crawley and Brown, 1995; Norris and Sweet, 2002; Hall *et al.*, 2005; Aono *et al.*, 2006; Yoshimura *et al.*, 2006; Nishizawa *et al.*, 2009; OGTR, 2002)。

30

35 以上のことからセイヨウナタネは、定期的に人の手が加えられる地域では自生化し得るものの、人の手がほとんど加えられない地域では競合における優位性は低く、侵略的外来種のように優占群落をつくる可能性は低いと判断された。

40 本組換えセイヨウナタネは、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現により、除草剤グリホサートに対する耐性を有する。しかしながら、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ことはないと考えられる。実際に、わが国において 2005 年から 2007 年にかけて成田空港から鹿島までの主要道路 20km の沿道に生育するセイヨウナタネのモニタリング調査を実施した結果、除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネを含めて生育が確認された全てのセイヨウナタネ

5 について、群落の形成は認められていない(Nishizawa *et al.*, 2009)。
さらに、英国では除草剤耐性の形質が付与された遺伝子組換え作物(除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ及びトウモロコシ、除草剤グリホサート耐性テンサイ)を気候条件の異なる 12 ヶ所のほ場で放任栽培し、自然条件下での競合における優位性を 10 年間にわたり調査している。調査の結果、全ての遺伝子組換え作物の個体群のサイズは対照の非組換え作物と同様に、播種の翌年から他の多年生の植物との競合により縮小し、セイヨウナタネに関しては 4 年後には消失していた(Crawley *et al.*, 2001)。

15 これらのことから、本組換えセイヨウナタネは除草剤グリホサートに対する耐性を有するが、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ことはないと判断された。また、仮に路傍等で除草剤グリホサートを使用して除草を行い、本組換えセイヨウナタネのみが残存した場合にも、上述したようにそれらが路傍等からさらに広がって、人の手がほとんど加えられない自然条件下において優占化していく可能性は極めて低いと考えられる。

20 以上のこと及び本組換えセイヨウナタネを限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用することから、競合における優位性に起因す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

25 —

(3) 影響の生じやすさの評価

30 —

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

35 以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

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

従来セイヨウナタネ種子において、ヒトを含む哺乳動物に対する有害物質としてエルシン酸及びグルコシノレートの産生が知られている。エルシン酸は、実験動物に多量に給与した
5 場合、心筋や骨格筋などに病的な変化が生ずることが報告されている。またグルコシノレートは、家畜の甲状腺を肥大させることが知られている(工芸作物学, 1981)。しかし、セイヨウナタネでは長年にわたり育種改良が続けられ、低エルシン酸で低グルコシノレートの品種が育成された結果、今日、その油がヒトの食用として、油かすが飼料として利用されるようになった。このような低エルシン酸(精製油中で2%未満)で低グルコシノレート
10 (油かす 1g 当たり 30 μ mol 未満)のセイヨウナタネは一般にカノーラと呼ばれ、本組換えセイヨウナタネの母本となった【社外秘につき非開示】もカノーラと認められている(【社外秘につき非開示】)。

本組換えセイヨウナタネの中では遺伝子組換えにより改変 CP4 EPSPS 蛋白質が発現しているが、本蛋白質は既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有さないことが確認されている(第一-2-(1)-ロ-②)。また、第一-2-(1)-ロ-③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ことが確認されている。これまでにモンサント・カン
20 パニーが開発した除草剤グリホサート耐性作物(トウモロコシ、ダイズ、ナタネ、ワタ、アルファルファ、テンサイ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、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。

さらに、第一-2-(1)-ロ-③に示したように、EPSPS 蛋白質は、その基質であるホスホエノールピルビン酸塩(PEP)及びシキミ酸-3-リン酸塩(S3P)と特異的に反応することが報告されている(Gruys *et al.*, 1992)。これらの基質以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られている基質は、S3P の類似体であるシキミ酸であるが、Gruys ら(1992)の論文を元に計算すると、その反応性は S3P との反応性は低く、基質として反応する可能性は極めて低い(第一-2-(1)-ロ-③)。これらのことから、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の基質特異性は非常に高く、植物代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられた。以上のことから、植物 EPSPS 蛋白質
30 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た。

したがって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、本組換えセイヨウナタネ中に有害物質が産生されるとは考えにくい。同様に、エルシン酸やグルコシノレートの含量にも変化を及
35 ぼすことも考えにくい。

したがって改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現による意図しない有害物質の産生性は無いと判断される。

以上のこと及び本組換えセイヨウナタネを限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を受ける可能
40

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

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

15 以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

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

20

セイヨウナタネと交雑可能な近縁野生種はわが国に存在しないため、影響を受ける可能性のあるわが国在来の野生動植物は特定されない。

(2) 影響の具体的内容の評価

25 —

(3) 影響の生じやすさの評価

30 —

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

35 以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、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。

4 その他の性質

(1) 本組換えセイヨウナタネとその近縁種が交雑することにより生じる間接的な影響

40

セイヨウナタネと交雑可能な近縁種としては、わが国に古来から栽培種として利用されている *B. rapa*、明治時代以降にわが国に帰化した *B. nigra*、そして昭和初期に帰化した *R. raphanistrum* 及び *S. arvensis*、さらには戦後に帰化した *B. juncea* 及び *H. incana* が挙げられる(日本の帰化植物, 2003; 日本帰化植物写真図鑑, 2001; 転作全書, 2001)。

5

従来セイヨウナタネが近縁種と交雑し得る(第一-1-(3)-ニ-3)のと同じく、本組換えセイヨウナタネはその近縁種と交雑し得ると考えられる。本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場試験を予定している隔離ほ場から半径約 100m 周辺を調査したところ *B. juncea* の生育が確認された(隔離ほ場試験計画書の p59, 図 5)。

10

仮に本組換えセイヨウナタネと上記近縁種との交雑により形成された雑種がわが国の自然条件下で優占化した場合等には、その雑種がその他の野生生物の個体群に影響を与える可能性が考えられる。その影響の具体的内容としては、

- 15
- ①交雑により生じた雑種がその他の野生植物種を駆逐する。
 - ②本組換えセイヨウナタネ由来の挿入遺伝子が負担となり、交雑した近縁種が駆逐されることで、これら近縁種に依存して生息する昆虫などの野生生物の個体群に影響が生じる。

20

の 2 つに分けられる。このような影響が生ずるためには、本組換えセイヨウナタネがこれらの近縁種と優先的に交雑するか、形成された雑種が優占化していく必要があると考えられる。これらのことを考慮して、本組換えセイヨウナタネが近縁種と交雑することによる影響の生じやすさを評価した。

25

従来セイヨウナタネと上記近縁種である *B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis*、*B. nigra* とは第一-1-(3)-ニ-3 に示したように、自然条件下で交雑し得るが、交雑率は低く、雑種が形成されたとしても稔性が低かったり、不稔であったりするためにわが国の自然条件に適応して優先化する可能性はきわめて低いと考えられる。この雑種における花粉や種子の稔性の低下は雑種崩壊として知られている一般的なメカニズムであり、雑種形成を妨げるものである。実際に、従来セイヨウナタネの雑種がその他の野生植物種

30

を駆逐したり、駆逐された近縁種に依存して生息する野生生物の個体群に影響が生じたりする事例は報告されていない。

35

また、第二の 1-(1)(p27~p25)に示したように、本組換えセイヨウナタネは改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現により除草剤グリホサートに対する耐性を有するが、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にくい。

40

したがって、本組換えセイヨウナタネはわが国の自然条件下において近縁種と交雑する可能性はあるが、その交雑率は非組換えセイヨウナタネの場合と同程度に低く、形成された雑種の稔性も低下すると考えられる。よって、これらの雑種がわが国の自然条件に適応

して優占化していく可能性は極めて低いと考えられる。

5 また、交雑可能な植物種として、上述した近縁種の他に、同種の植物である非組換えセイヨウナタネが挙げられる。しかしながら、第二の 1-(1)(p27~p25)に示したように、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にくい。したがって、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生じた雑種が、わが国の自然条件に適応して優占化していく可能性は極めて低いと考えられる。

10 さらに、本隔離ほ場試験においては、本組換えセイヨウナタネの開花期間中は試験プロットを寒冷紗で覆うことにより風・虫媒による交雑の可能性を低減させる予定である。

15 以上のことから、本組換えセイヨウナタネと交雑可能な近縁種は存在するが、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用する範囲内では交雑する可能性は低く、仮に本組換えセイヨウナタネが上記の近縁種と交雑することにより雑種が形成されたとしても、雑種崩壊として知られる稔度の低下が起るため、①その雑種がその他の野生生物を駆逐する可能性及び、②本組換えセイヨウナタネ由来の挿入遺伝子が負担となり、交雑した近縁種が駆逐されることで、これらの近縁種に依存して生息する昆虫などの野生生物の個体群に影響が生じる可能性はきわめて低いと判断される。

20

第三 生物多様性影響の総合的評価

- 5 第一-2-(6)-②に記載したとおり、本組換えセイヨウナタネの宿主の特性と導入遺伝子の特性を考慮し、本組換えセイヨウナタネを隔離ほ場試験で使用する場合の生物多様性影響を生理学的又は生態学的特性データを用いずに評価した。

競合における優位性；

- 10 宿主であるセイヨウナタネは路傍や工場跡地のような定期的に人の手が加えられる地域では自生化し得るが、人の手がほとんど加えられない自然環境下では自生化は困難であることが報告されている。本組換えセイヨウナタネには、改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現による除草剤グリホサート耐性が付与されているが、除草剤グリホサートの散布が想定され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優位性を高めるとは考えにくい。
- 15 したがって、本組換えセイヨウナタネを限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生ずる恐れはないと判断された。

有害物質の産生性；

- 20 宿主であるセイヨウナタネ種子において、ヒトを含む哺乳動物に対する有害物質としてエルシン酸及びグルコシノレートの産生が知られている。エルシン酸は、実験動物に多量に給餌した場合、心筋や骨格筋などに病的な変化が生ずることが、またグルコシノレートは、家畜の甲状腺を肥大させることが知られている(工芸作物学, 1981)。しかし、育種改良が続けられ、低エルシン酸(精製油中で 2%未満)で低グルコシノレート(油かす 1g 当たり
- 25 30 μ mol 未満)の一般的にカノーラと呼ばれるセイヨウナタネが育成された。本組換えセイヨウナタネの母本となった【社外秘につき非開示】もカノーラ品種である。

- 本組換えセイヨウナタネの中では遺伝子組換えにより改変 CP4 EPSPS 蛋白質が発現しているが、本蛋白質は既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有さないことが確認されている。また、改変 CP4 EPSPS 蛋白質はシキミ酸経路における律速酵素ではなく、EPSPS
- 30 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ことが確認されている。これまでにモンサント・カンパニーが開発した除草剤グリホサート耐性作物(トウモロコシ、ダイズ、ナタネ、ワタ、アルファルファ、テンサイ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、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。

- 35 したがって改変 CP4 EPSPS 蛋白質発現による意図しない有害物質の産生性は無いと判断される。

したがって、本組換えセイヨウナタネを限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

交雑性；

セイヨウナタネと交雑可能な近縁野生種はわが国に存在しないため、影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されない。

5 その他；

本組換えセイヨウナタネと交雑可能な帰化植物種である *B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis*、*B. nigra* の交配によって形成された雑種がわが国の自然条件下で優占化した場合等には、その雑種がその他の野生動植物種の個体群に影響を与えるという可能性も否定できない。

10 非組換えセイヨウナタネと近縁種との交配によってできた雑種は不稔であるか、稔性が低下している。本組換えセイヨウナタネと近縁種との雑種についても、同様に不稔であるか、稔性が低下することが考えられる。そのような自然条件のもと、雑種が優占化するとは考えにくい。

15 また、本組換えセイヨウナタネは改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現により除草剤グリホサートに対する耐性を有するが、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にくい。

20 これらのことから、本組換えセイヨウナタネはわが国の自然条件下において近縁種と交雑する可能性があるが、その交雑率は従来のセイヨウナタネの場合と同程度に低く、形成された雑種の稔性も低下すると考えられる。よって、これらの雑種がわが国の自然条件に適応して優占化していく可能性は極めて低いと考えられる。

25 また、交雑可能な植物種として、上述した近縁種他に、同種の植物である非組換えセイヨウナタネが挙げられる。しかしながら、本組換えセイヨウナタネは除草剤グリホサートに対する耐性を有するが、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にくい。したがって、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生じた雑種が、わが国の自然条件に適応して優占化していく可能性は極めて低いと考えられる。

30 よって、総合的評価として、本組換えセイヨウナタネは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、わが国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと結論された。

参考文献

- 5 Anonymous. 2004. Actual investigation of the fall-off of the imported rapeseeds. in Seed Safety Group: Bureau of Agriculture, Forestry and Fishery Technology Conference. Seed Safety Group: Bureau of Agriculture, Forestry and Fishery Technology. Pages 1-11.
- 10 Aono, M., S. Wakiyama, M. Nagatsu, N. Nakajima, M. Tamoki, A. Kubo, and H. Saji. 2006. Detection of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan. Environ. Biosafety Res. 5:77-87.
- 15 Axelos, M., C. Bardet, T. Liboz, A. Thai, C. Curie, and B. Lescure. 1989. The gene family encoding the Arabidopsis thaliana translation elongation factor EF 1 α : Molecular cloning, characterization and expression. Molecular and General Genetics 219:106-112.
- 20 Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson, and J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T DNA region from the Agrobacterium tumefaciens octopine Ti plasmid pTi15955. Plant Molecular Biology 2:335-350.
- 25 Barry, G.F., G.M. Kishore, S.R. Padgett, and W.C. Stallings. 1997. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. United States Patent 5,633,435.
- 30 Beckie, H.J., S.I. Warwick, H. Nair, and G. Seguin-Swartz. 2003. Gene flow in commercial fields of herbicide-resistant canola (*Brassica napus*). Ecological Applications 13:1276-1294.
- 35 Bielikova, L. and S. Rakousky. 2001. Survey on oilseed rape cultivation and weed relatives in the Czech republic. European Science Foundation Meeting of a Working Group on: Interspecific gene flow from oilseed rape to weedy species, June 2001, Rennes, France, p.9.
- 40 Bing, D.J., R.K. Downey and G.F.W. Rakow. 1991. Potential of gene transfer among oilseed *Brassica* and their weedy relatives. Proceedings of GCIRC 8th International Rapeseed Congress, Saskatchewan, Canada, pp.1022-1027.
- Bing, D.J., R.K. Downey and G.F.W. Rakow. 1996. Hybridisations 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.

【社外秘につき非開示】

- Chevre A.M, Eber F, Kerlan MC, Barret P, Festoc G, Vallee P, Renard M. 1996. Interspecific gene flow as a component of risk assessment for transgenic Brassicas. *Acta Horticulturae* 407: 169-179
- 5 Chevre, A.-M., H. Ammitzboll, B. Breckling, A. Dietz-Pfeilstetter, F. Eber, A. Fargue, C. Gomez-Campo, E. Jenczewski, R.B. Jorgensen, C. Lavigne, U. Meier, H.C.M. Den Nijs, K. Pascher, G. Seguin Swartz, J. Sweet, C.N. Stewart Jr, and S. Warwick. 2004. A review on interspecific gene flow oilseed rape to wild relatives. Pages 235-252 in *Introgression from genetically modified plants into wild relatives*, H.C.M. Den Nijs, B. D. and J. Sweet, (eds.)
10 CABI Publishing, Cambridge, Massachusetts.
- Coruzzi, G., R. Broglie, C. Edwards, and N.-H. Chua. 1984. Tissue-specific and light-regulated expression of a pea nuclear gene encoding the small subunit of ribulose 1, 5 biphosphate carboxylase. *EMBO Journal* 3:1671 1679.
15
- Crawley, M. J. and S. L. Brown .1995. "Seed limitation and the dynamics of feral oilseed rape on the M25 motorway." *Proc. R. Soc. Lond. B* 259: 49-54.
- Crawley, M.J., R.S. Halls, M. Rees, D. Kohn, and J. Buxton. 1993. Ecology of transgenic oilseed
20 rape in natural habitats. *Nature* 363:620-623.
- Crawley, M.J., S.L. Brown, R.S. Hails, D.D. Kohn and M. Rees. 2001. Transgenic crops in natural habitats. *Nature* 409: 682-683.
- 25 della-Cioppa, G., S.C. Bauer, B.K. Klein, D.M. Shah, R.T. Fraley and G. Kishore. 1986. Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants *in vitro*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 83: 6873 – 6877.
- Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski, and H.M. Goodman. 1982. Nopaline synthase:
30 transcript mapping and DNA sequence. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1:561 573.
- Devos, Y., A. De Schrijver, and D. Reheul. 2008. Quantifying the introgressive hybridisation propensity between transgenic oilseed rape and its wild/weedy relatives. *Environ Monit Assess.*
- 35 Downey R.K. Risk assessment of outcrossing of transgenic brassica, with focus on *B.rapa* and *B. napus*. 1999. Canberra, Australia, The Regional Institute Ltd. "New Horizons for an old crop" Proceedings of the 10th International Rapeseed Congress.
- Downey, R.K. and G. Röbbelen. 1989. *Brassica* species. *In: Oil Crops of the World*. G. Röbbelen, R.K. Downey and A. Ashri, eds. McGraw-Hill, New York, pp.339-362.
40

FAOSTAT 2008, Food and Agriculture Organization of the United Nations

<http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>

- 5 Fling, M.E., J. Kopf, and C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside modifying enzyme, 3"(9) O nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13:7095-7106.
- Frello, S., K.R. Hansen, J. Jensen and J.F. Jørgensen. 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.
- 10 Giza, P.E., and R.C.C. Huang. 1989. A self inducing runaway replication plasmid expression system utilizing the Rop protein. *Gene* 78:73-84.
- 15 Gruys, K.J., M.C. Walker and J.A. Sikorski. 1992. Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *E. coli*. *Biochem.* 31: 5534 - 5544.
- Gulden RH, S.J. Shirtliffe and A.G. Thomas. 2000. Secondary dormancy in volunteer canola (*Brassica napus* L.). Maurice, D. and D. Cloutier, p62-67. 2000. Sainte-Anne-de-Bellevue, Quebec. Expert Committee on Weeds-Processings of the 2000 Natural Meeting. 26-11-2000.
- 20 Hall, L.M., M.H. Rahman, R.H. Gulden, A.G. Thomas, and J.B. Gressel. 2005. Volunteer Oilseed Rape - Will Herbicide-Resistance Traits Assist Fertility? Pages 59-73 in *Crop Fertility and Volunteerism*. Vol 1, J. Gressel, (ed.) Taylor and Francis, Boca Raton, FL 33487-2742.
- 25 Harker, K.N., G.W. Clayton and R.K. Downey. 2002. GMO canola – Track record in Canada. oilseeds update 2002, Agribusiness Crop Updates, Feb 20-21, Perth, pp.1-4.
- 30 Haslam, E. 1974. *The Shikimate Pathway*, John Wiley and Sons, New York.
- Haslam, E. 1993. *Shikimic Acid : Metabolism and Metabolites*, John Wiley and Sons, Chichester, England.
- 35 Herrmann, K.M. 1983. *Amino Acids : Biosynthesis and Genetic Regulation* (Herrmann, K.M. and Somerville, R. L., Eds.) Addison-Wesley, Reading, MA. pp.301 - 322.
- Herrmann, K.M. 1995. The Shikimate Pathway: Early Steps in the Biosynthesis of Aromatic Compounds. *The Plant Cell* 7: 907-919.
- 40

- Husken, A. and A. Dietz-Pfeilstetter 2007. "Pollen-mediated intraspecific gene flow from herbicide resistant oilseed rape (*Brassica napus* L.)." *Transgenic research* **16**(5): 557-569.
- Jørgensen, R.B., B. Andersen, T.P. Hauser, L. Landbo, T.R. Mikkelsen. 1996. Spontaneous
5 hybridization between oilseed rape (*Brassica napus*) and weedy relatives. *Acta Horticulturae*
407: 193-200.
- Jørgensen, R.B., B. Andersen, T.P. Hauser, L. Landbo, T.R. Mikkelsen and H.Østergård. 1998.
10 Introgression of crop genes from oilseed rape (*Brassica napus*) to related wild species – an
avenue for the escape of engineered genes. *Acta Horticulturae* 459: 211-217.
- Kerlan, M.C., A.M. Chevre, R. Eber, A. Baranger and M. Renard. 1992. Risk assessment of
15 outcrossing of transgenic rapeseed to related species : I. Interspecific hybrid production under
potimal conditions with emphasis on pollination and fertilization. *Euphytica* 62: 145-143.
- Klee, H.J., Y.M. Muskopf, and C.S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding
20 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: sequence analysis and manipulation to obtain
glyphosate-tolerant plants. *Molecular and General Genetics* 210:437-442.
- Lefol, E., Fleury, A., Darmency, H 1996a. Gene dispersal from transgenic crops. II. Hybridisation
between oilseed rape and wild Hoary mustard. *Sexual plant reproduction* 9: 189-196
- Lefol E, Danielou V, Darmency H. 1996b. Predicting hybridization between transgenic oilseed rape
25 and wild mustard. *Field Crops Research* 45: 153-161
- Levin, J.G. and D.B. Sprinson. 1964. The enzymatic formation and isolation of 3-
enolpyruvylshikimate 5-phosphate. *J. Biol. Chem.* 239: 1142 - 1150.
- 30 Masquida, J. and M. Renard. 1982. Study of the pollen dispersal by wind and of the importance of
wind pollination in rapeseed (*Brassica napus* var. *oleifera* Metzger). *Apidologie* 4: 353-366.
- McCartney, H.A. and Lacey M.E. 1991. Wind dispersal of pollen from crops of oilseed rape
35 (*Brassica napus* L.). *Journal of Agricultural Science*. 107: 299-305.
- Messeguer, J. 2003 Gene flow assessment in transgenic plants. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*
73(3): 201-212.
- 40

- Nishizawa, T., Nakajima, N., Aono, N., Tamaoki, M., Kubo, A., and Saji A 2009 Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environ Biosafety Res.* 2009 Jan-Mar;8(1):33-4
- 5 Norris, C. and J. Sweet 2002. Monitoring large scale releases of genetically modified crops (EPG 1/5/84) incorporating report on project EPG 1/5/30: Monitoring releases of genetically modified crop plants, DEFRA report. EPG 1/5/84
- OECD 1997. CONSENSUS DOCUMENT ON THE BIOLOGY OF *BRASSICA NAPUS*
10 L.(OILSEED RAPE). Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No.7, OECD/GD(97)63.
- Office of the Gene Technology Regulator (OGTR). 2002. The biology and ecology of *Brassica napus*. [<http://www.ogtr.gov.au/pdf/ir/brassica.pdf>] (accessed July, 2005).
- 15 OGTR (2002). The biology and ecology of canola (*Brassica napus*). O. o. t. G. T. Regulator. Australia, www.ogtr.gov.au/pdf/ir/brassica.pdf.
- Padgett, S.R. *et al.* 1993. Purification, cloning and characterization of a highly glyphosate-tolerant
20 EPSP synthase from *Agrobacterium* sp. strain CP4. MSL-12738 (Monsanto Company Confidential Report).
- Padgett, S.R., D.B. Re, G.F. Barry, D.E. Eichholtz, X. Delannay, R.L. Fuchs, G.M. Kishore, and
25 R.T. Fraley. 1996. New weed control opportunities: development of soybeans with a Roundup Ready™ gene. Pages 53-84 in *Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Economic, Environmental, Regulatory, and Technological Aspects*, S.O. Duke, (ed.) CRC Press, Boca Raton, FL.
- Padgett, S., N. Taylor, D. Nida, M. Bailey, J. MacDonald, L. Holden, R. Fuchs. 1996b. The
30 Composition of Glyphosate-Tolerant Soybean Seeds is Equivalent to That of Conventional Soybeans. *J. of Nutrition*. 126(3): 702-716
- Pekrun, C., T.C. Potter and P.J.W. Lutman. 1998. Genotypic variation in the development of
secondary dormancy in oilseed rape and its impact on the persistence of volunteer rape. The
35 1997 Brighton Crop Protection Conference-Weeds, 243-248.
- Richins, R.D., H.B. Scholthof, and R.J. Shepherd. 1987. Sequence of figwort mosaic virus DNA (caulimovirus group). *Nucleic Acids Research* 15:8451-8466.

- Ridley, W.P., R.S. Sidhu, P.D. Pyla, M.A. Nemeth, M.L. Breeze, and J.D. Astwood. 2002. Comparison of the Nutritional Profile of Glyphosate-Tolerant Corn Event NK603 with That of Conventional Corn (*Zea mays* L.) J. Agric. Food Chem., 50 (25) 7235-7243
- 5 Rieger, M.A., T.D. Potter, C. Preston, and S.B. Powles. 2001. Hybridisation between *Brassica napus* L. and *Raphanus raphanistrum* L. under agronomic field conditions. Theoretical and Applied Genetics 103:555-560.
- Saji, H., N. Nakajima, M. Aono, M. Tamaoki, A. Kubo, S. Wakiyama, Y. Hatase, and M. Nagatsu. 10 2005. Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. Environmental Biosafety Research 4:217-222.
- Salisbury, P. A. 2002. Pollen movement in canola (*Brassica napus*) and outcrossing between *B. napus* crops. PAS0202, Institute of Land and Food Resources: University of Melbourne. 15
- Scheffler, J.A., and P.J. Dale. 1994. Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (*Brassica napus*) to related species. Transgenic research 3:263-278.
- 20 Smart, C.C., D. Johanning, G. Muller and N. Amrhein. 1985. Selective overproduction of 5-enol-pyruvylshikimate acid 3-phosphate synthase in a plant cell culture which tolerates high doses of the herbicide glyphosate. J. Biol. Chem. 260: 16338-16346.
- Stalker, D.M., C.M. Thomas, and D.R. Helinski. 1981. Nucleotide sequence of the region of the 25 origin of replication of the broad host range plasmid RK2. Molecular and General Genetics 181:8 12.
- Sutcliffe, J.G. 1979. Complete nucleotide sequence of the Escherichia coli plasmid pBR322. Pages 77-90 in Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology, Cold Spring Harbor, NY, Cold 30 Spring Harbor Laboratory Press.
- Sweet, J.B. and R. Shepperson. 1996. Monitoring commercial releases of genetically modified oilseed rape. Proceedings of 10th International Weed Biology Conference, Dijon, France, 35 pp.217-222.
- Timmons, A.M., E.T. O'Brien, Y.M. Charters, S.J. Dubbels and M.J. Wilkinson. 1995. Assessing the risks of wind pollination from fields of genetically modified *Brassica napus* ssp. *oleifera*. 40 Euphytica 85: 417-423.

- Warwick, S.I., M.J. Simard, A. Legere, H.J. Beckie, L. Braun, B. Zhu, P. Mason, G. Seguin-Swartz, and C.N. Stewart. 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.
- 5
- Weiss, U. and J.M. Edwards. 1980. *The biosynthesis of aromatic compounds*. John Wiley and Sons, New York. pp.287 - 301.
- Yoshimura, Y., H.J. Beckie, and M. Kazuhito. 2006. Transgenic oilseed rape along transportation routes and port of Vancouver in western Canada. *Environmental Biosafety Research* 5:67-75.
- 10
- Zambryski, P., A. Depicker, K. Kruger, and H.M. Goodman. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: analysis of the boundaries of T DNA. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1:361-370.
- 15
- 外来種ハンドブック 2002. 日本生態学会 編 地人書館
- 河川環境データベース(河川水域の国勢調査) 国土交通省
<http://www3.river.go.jp/>
20 [accessed on June 18th 2010]
- 工芸作物学 1981. 栗原 浩編 農文社
- 最新農業技術大辞典 2006 農業・生物系特定産業技術研究機構(編) 社団法人農山漁村文化協会
25
- 財務省貿易統計 2009、財務省
<http://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm?M=&P=>
- 30 作物学Ⅱ 2000. 工芸・飼料作物編 文永堂出版
- 新編 農学大事典 2004, 山崎 耕宇ら 養賢堂
- 転作全書 第3巻 雑穀 2001. 農文協
- 35
- 日本の帰化植物 2003. 清水 建美 編 平凡社
- 日本帰化植物写真図鑑 2001. 清水 矩宏、森田 弘彦、廣田 伸七 編・著 全国農村教育協会
- 40

平成 20 年 農林水産省統計表, 2009, 農林統計協会

<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/Xlsdl.do?sinfid=000007506455>

畑作全書 雑穀編 1981. 農文協 445-619

5

緊急措置計画書

平成 22 年 10 月 15 日

5

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 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

10

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ(改変 *cp4 epsps, Brassica napus(L.)*) (MON 88302, OECD UI: MON-88302-9) (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おそれがあると、科学的根拠に基づき立証された場合、以下の措置を執ることとする。

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は以下に示すとおりである。

20

平成 22 年 10 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目 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 部長
	日本モンサント株式会社 河内研究農場 農場長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 油糧作物担当課長
	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

5 第一種使用等の状況は、日本モンサント河内研究農場実験従事者から得られた情報により把握する。

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

10 実験従事者に直接口頭で伝える。

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

15 具体的措置として、本組換え体を隔離ほ場内で鋤き込むか焼却するなどして隔離ほ場外への本組換え体の放出が行われないようにすること、隔離ほ場周辺をモニタリングすることにより本組換え体が隔離ほ場外へ放出されていないことを確認すること等、必要な措置を実行する。

20 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

弊社は信憑性のある証拠及びデータにより生物多様性影響が生ずるおそれが示唆された場合、そのことを直ちに農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。

25

モニタリング計画書

平成 22 年 10 月 15 日

5 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 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

10 1. 実施体制及び責任者

現時点での実施体制及び責任者は以下に示すとおりである。

平成 22 年 7 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目 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 部長
	日本モンサント株式会社 河内研究農場 農場長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部 油糧作物担当課長
	日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部

15 * : 管理責任者

2. モニタリングの対象となる野生動植物等の種類の名称

20 我が国に *Brassica napus* L.(セイヨウナタネ)と交雑可能な野生種は存在しない。ただし雑草性のある交雑可能な植物種は存在する。よって、モニタリングの対象を以下に列挙した植物種とする。

Brassica napus L.(セイヨウナタネ)

B. rapa L. (在来ナタネ)

- B. juncea* (L.) Czern (カラシナ)
B. nigra (L.) Koch (クロガラシ)
R. raphanistrum L. (セイヨウノダイコン)
H. incana (L.) Lagr.-Foss. (ダイコンモドキ)
5 *S. arvensis* L. (ノハラガラシ)

3. モニタリングを実施する場所及びその場所における対象となる野生動植物等の生息又は生育状況

- 10 セイヨウナタネは風媒や虫媒によって花粉が運ばれるが、周囲を寒冷紗で覆うことで風媒や虫媒による花粉飛散を低減できる。
本組換えセイヨウナタネの開花期間中はビニールハウス外面に寒冷紗を被せ虫媒や風媒による花粉の飛散低減措置をとることとする。飛散抑止確認のために隔離ほ場周辺100mの範囲内においてモニタリングを実施する。なお、私有地内で生育する植物種について、できる限り確認する。

4. モニタリングの期間

本組換えセイヨウナタネの栽培期間中とする。

20

5. 実施時期、頻度その他のモニタリングの方法

- 25 セイヨウナタネはセイヨウナタネ以外にも近縁種である *B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis* そして *B. nigra* と交雑する可能性があることが知られている。しかし、開花期にはビニールハウス外面に寒冷紗を被せることで虫媒や風媒を低減することが出来る。隔離ほ場試験では、寒冷紗による花粉飛散の低減を考慮した上でモニタリングを行う範囲を設定した。

- 30 1) 本組換えセイヨウナタネの開花期間中に、隔離ほ場周辺 100m 以内に開花しているセイヨウナタネ、*B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis* 及び *B. nigra* が生育しているかどうかを確認する。確認された場合は、位置情報及び個体数を記録する。隔離ほ場の位置を示す地図を別紙 1 として、また隔離ほ場周辺の利用状況を示す地図を別紙 2 として添付した。なお、私有地内で開花する植物種については、できる限りモニタリングを実施する。

35

- 2) 位置情報を記録したセイヨウナタネ、*B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis* 及び *B. nigra* が種子をつけていた場合は、各集団 1 つ当たり最低 100 粒の種子をサンプリングする。種子のサンプリング数は最大 1000 粒とする。

- 40 3) 収集されたセイヨウナタネ、*B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis*

及び *B. nigra* の種子に改変 *cp4 epsps* 遺伝子が移行しているかどうかを 1 粒ごとに検定する。検定方法は収集されたサンプルの量等を考慮して適宜決定する。

6. モニタリングの結果の解析の方法

5

交雑検定の結果を基に、遺伝子組換えセイヨウナタネからセイヨウナタネ、*B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis* 及び *B. nigra* への距離に依存した自然交雑の有無・頻度を解析する。

10 7. 農林水産大臣及び環境大臣への結果の報告の方法

本組換えセイヨウナタネの第一種使用規程(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)の申請時の最終試験報告書中にモニタリング結果を記載し、報告する。

15

8. その他必要な事項

モニタリングの期間中に採取されたセイヨウナタネ、*B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis* 若しくは *B. nigra* から改変 *cp4 epsps* 遺伝子が検出される等、当該
20 遺伝子のセイヨウナタネ、*B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis* 及び
B. nigra への移行が認められ、若しくはその疑いがある場合にあっては、農林水産省及び環境
省とモニタリングの期間等について協議を行うものとする。

#別添 1、別添 2 については個人情報等を含む為、社外秘

25

除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ MON88302 の隔離ほ場試験計画書

第一部 隔離ほ場試験における受容環境

I. 隔離ほ場の所在地等

1. 名称

日本モンサント株式会社河内研究農場の隔離ほ場

2. 住所

茨城県稲敷郡河内町生板 4717 番地

3. 電話番号

0297-60-4011

4. 地図

図 1 (p55)参照

II. 責任者等

1. 隔離ほ場試験の責任者

【個人情報につき非開示】(日本モンサント株式会社 バイオ規制・環境部)

2. 隔離ほ場管理責任者

【個人情報につき非開示】(日本モンサント株式会社 代表取締役社長)

III. 試験期間

承認日から平成 26 年 5 月 31 日まで

IV. 施設概要

部外者の立ち入りを禁止するためのフェンス(高さ 1.6 m)、立入禁止であること及び管理責任者を明示するための標識、洗い場、焼却炉を設置している(図 2,p56)。

V. 使用面積等

1. 隔離ほ場全体の面積

約 6,292 m²

2. 試験に使用する面積

約 1,000 m²

3. 試験区の配置図

図 3 (p57) 参照

VI. 隔離ほ場の周辺環境

1. 地形

茨城県の最南端、常総平野に位置する(図 4, p58)。

2. 周辺の土地利用状況

隔離ほ場の周辺は、水田・畑・民家・道路・用水路(隔離ほ場のフェンスから約 2.5 m の距離)として利用されている。

3. 周辺の環境保護区の名称と隔離ほ場からの距離

隔離ほ場境界より半径 1 km 圏内に環境省の定める自然保護地域(国立公園、国定公園、原生自然環境保全地域、自然環境保全地域等)はない。なお、上記の自然保護地域のうち、隔離ほ場に最も近いのは水郷筑波国定公園であり、隔離ほ場からの距離は約 15 km である。

4. 気象条件

隔離ほ場の最寄の気象情報観測地点である茨城県龍ヶ崎アメダス観測所（龍ヶ崎市大徳町）における気象データの平年値を表 1(p50) に示した(気象庁ホームページ気象統計情報ページよりダウンロード、アクセス 2010 年 6 月 7 日：

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_amd_ym.php?prec_no=40&prec_ch=%88%EF%8F%E9%8C%A7&block_no=1014&block_ch=%97%B4%83P%8D%E8&year=&month=&day=&elm=normal&view=

表 1 茨城県龍ヶ崎アメダス観測所(龍ヶ崎市大徳町)における気象データの平年値¹

要素	降水量	平均気温	最高気温	最低気温	平均風速	日照時間
	(mm)	(°C)	(°C)	(°C)	(m/s)	(時間)
統計期間	1979～2000	1979～2000	1979～2000	1979～2000	1979～2000	1988～2000
資料年数	22	22	22	22	22	13
1 月	47.5	2.9	8.8	-2.3	2	179
2 月	55.6	3.7	9.3	-1.4	2.5	171.6
3 月	114.6	7.1	12.2	2.1	2.7	159.7
4 月	113.5	12.6	17.8	7.4	3.1	165.2
5 月	121.5	17.3	22.1	13.1	3.1	164.4
6 月	151	20.4	24.4	17.1	2.8	115
7 月	123	23.7	27.9	20.5	2.6	147.6
8 月	114.5	25.4	30	22.1	2.5	179.5
9 月	179	22.1	26.1	18.7	2.5	116.7
10 月	158.1	16.3	21	12.1	2.1	130.4
11 月	91	10.4	16	5.4	1.9	150
12 月	33.6	5.2	11.4	-0.2	1.9	174.5
年	1309.1	13.9	18.9	9.6	2.5	///

注) 表中の” /// ” は、欠測または観測されなかったことを示す

5. 台風の襲来暦

① 平年値

気象庁ホームページ気象統計情報によると、隔離ほ場のある関東甲信越地方への台風接近数^{注2}の平年値は、2.8 回である（気象庁ホームページ気象統計情報

¹本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

ページ、アクセス 2010 年 6 月 7 日：

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

② 過去 10 年の隔離ほ場周辺への台風の接近回数

関東甲信地方に台風が接近し^{注2}、かつ隔離ほ場最寄の観測地点(茨城県龍ヶ崎アメダス観測所)において日ごとの最大風速が 15m/s を超えた回数^{注3}を隔離ほ場周辺への台風の接近回数とした。過去 10 年の隔離ほ場周辺への台風の接近回数は、合計 6 回(2001 年 9 月、2004 年 5 月、2004 年 8 月、2004 年 10 月、2007 年 9 月、2009 年 10 月)であった。

6. 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

過去にはほ場が冠水したことはない。

7. 過去 10 年における強風の経験とその程度・頻度

強風によって栽培中の作物が倒伏したことはない。

8. 市町村が策定するハザードマップ上の位置付け

隔離ほ場は、河内町の洪水ハザードマップによると、100 年～200 年に 1 回程度起こる大雨により洪水が生じた場合に、水深 1.0~2.0 m となると想定されている。

9. 周辺地域における鳥獣害の発生状況

鳥獣害の被害報告はない。

VII. 隔離ほ場周辺の生物相

^{注2}台風の中心が茨城県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県、東京都（島しょ部を除く）、神奈川県、山梨県、長野県のいずれかの気象官署から 300km 以内に入った場合を「関東甲信地方に接近した台風」としている。

(台風の統計資料(気象庁): <http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accesion/index.html>)

^{注3} 台風の強風域の定義が平均風速 15m/s であることによる。

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

1. 遺伝子組換え農作物を隔離ほ場で栽培等を行うことによって、影響を受ける可能性のある野生動植物等及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

なし

2. 交雑可能な近縁野生種及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

わが国には交雑可能な野生種は存在しない。

ただし、雑草性のある交雑可能な帰化植物種は存在する。一覧は以下のとおりである。

Brassica napus L.(セイヨウナタネ)

B. rapa L. (在来ナタネ)

B. juncea (L.) Czern (カラシナ)

B.nigra (L.) Koch (クロガラシ)

Raphanus. raphanistrum L. (セイヨウノダイコン)

H. incana (L.) Lagr.-Foss. (ダイコンモドキ)

S. arvensis L. (ノハラガラシ)

なお、隔離ほ場周囲半径 100m 圏内に存在が確認できた植物種は *B. juncea* (カラシナ)のみであった。平成 22 年 5-6 月のモニタリングの結果を図 5 (p59)として添付する。

VIII. 栽培管理等

1. 栽培履歴

隔離ほ場における栽培履歴は図 6 (p60-p61) に示したとおりである。

2. 気象災害時の対応

気象災害が起こった場合、まず試験区域における被害状況を確認し、必要と判断した場合には緊急措置計画書に従って速やかに対策を講ずる。

3. 栽培終了後の利用計画 (ボランティア植物の監視を含む)

ボランティア植物の発生を確認した場合、ただちに隔離ほ場内に鋤込む等の適切な手段で処分する。なお、本組換えセイヨウナタネの栽培終了後も本隔離ほ場では遺伝子組換え作物の隔離ほ場試験等を実施する予定である。

4. 隔離ほ場試験における生物多様性影響の安全対策に関する措置

隔離ほ場は下記(1)~(5)の設備を備えている。また、隔離ほ場試験中において、雑草性のある交雑可能な帰化植物種(VII-2, p52)を対象に、モニタリング調査を行う予定である。

- (1) 部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。
- (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。
- (3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴などに付着した土、本組換えセイヨウナタネの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- (4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を防止するための防風網（高さ3m）を設置している。また開花期には寒冷紗で覆うことにより花粉の飛散を防止する。
- (5) 播種時及び成熟期には防鳥網などを用いた鳥害防止策を講じる。

5. 作業要領

- (1) 試験実施中の組換え作物及び比較対照の作物以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- (2) 組換え作物を隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該作物が漏出しない構造の容器に入れる。
- (3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、組換え作物の栽培終了後は、当該作物及び比較対照の作物を隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。
- (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに組換え作物が隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- (5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
- (6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
- (7) 別に定めるモニタリング計画に基づき、モニタリングを実施する。

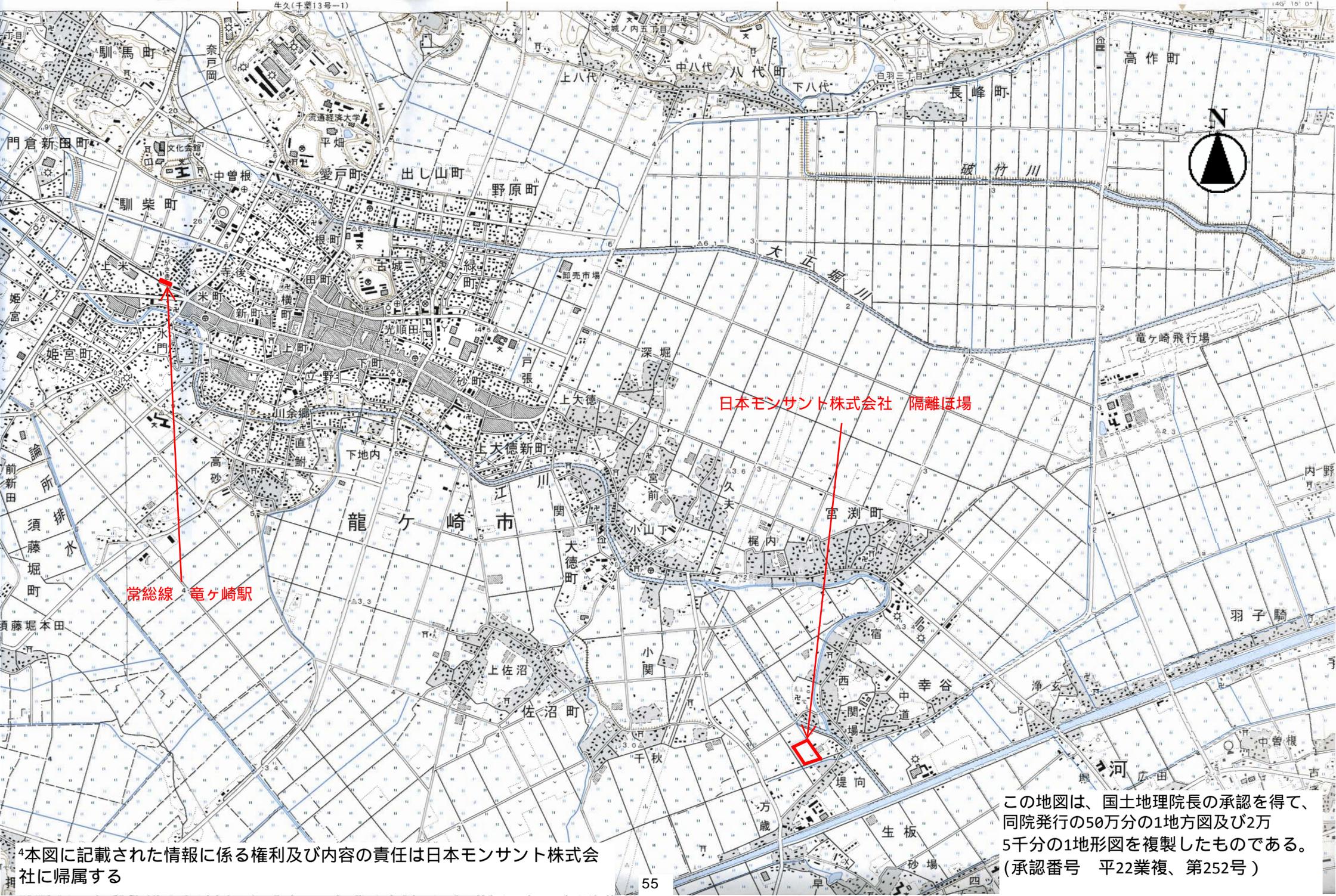
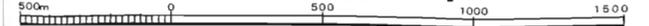
- (8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。

以上

図1 日本モンサント株式会社隔離ほ場の位置（赤線で示した箇所）

1:25,000

龍ヶ崎



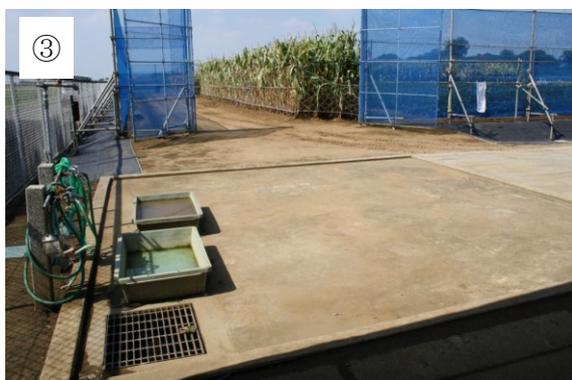
常総線 竜ヶ崎駅

日本モンサント株式会社 隔離ほ場

この地図は、国土地理院長の承認を得て、
同院発行の50万分の1地方図及び2万
5千分の1地形図を複製したものである。
(承認番号 平22業複、第252号)

4本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会
社に帰属する

図2 隔離ほ場の設備⁵

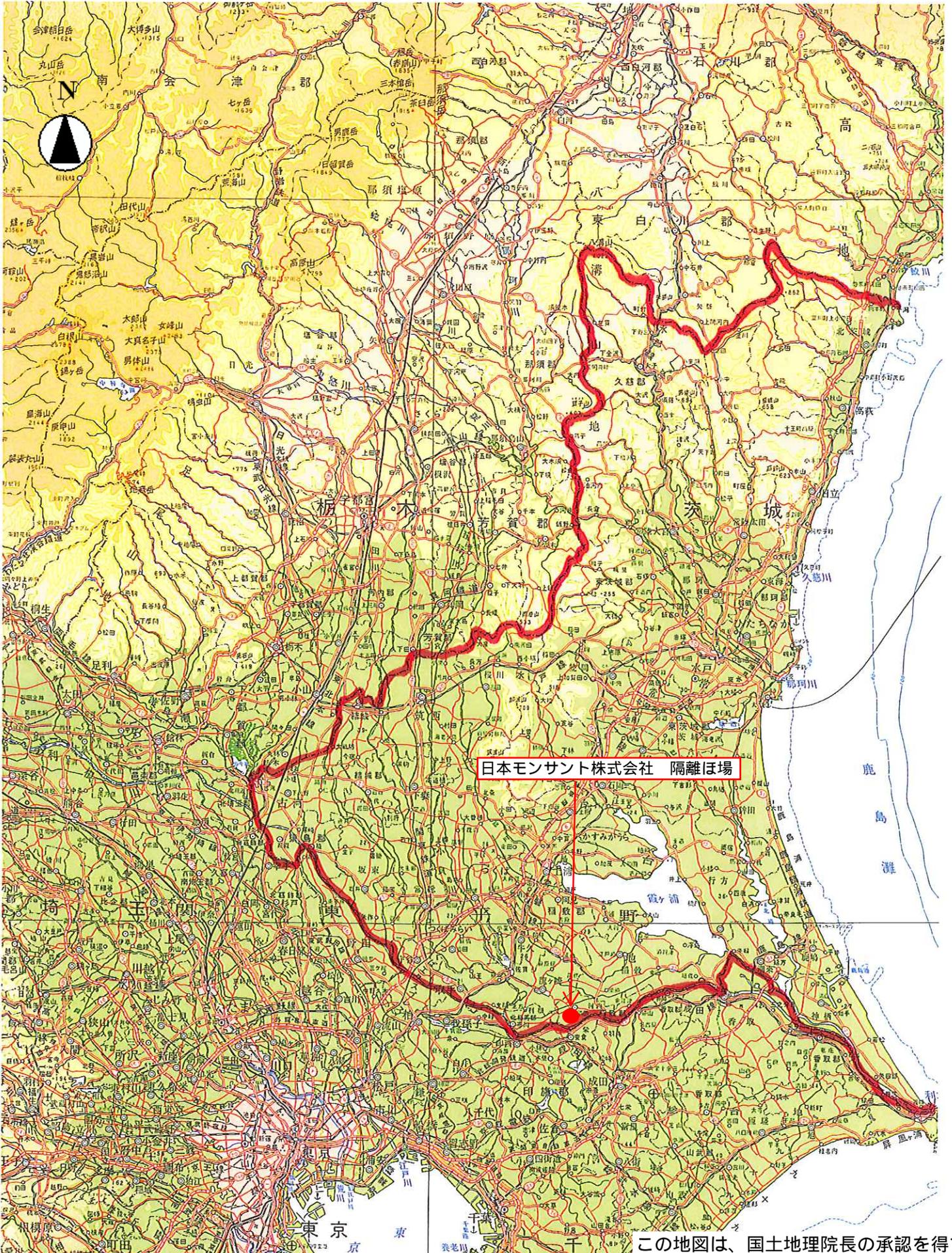


- ① 立入禁止であること及び管理責任者を明示するための標識
- ② 焼却炉
- ③ 洗い場

⁵本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

図4 日本モンサント株式会社 隔離ほ場の位置 ⁷

12km 0 10 20 30 40 50

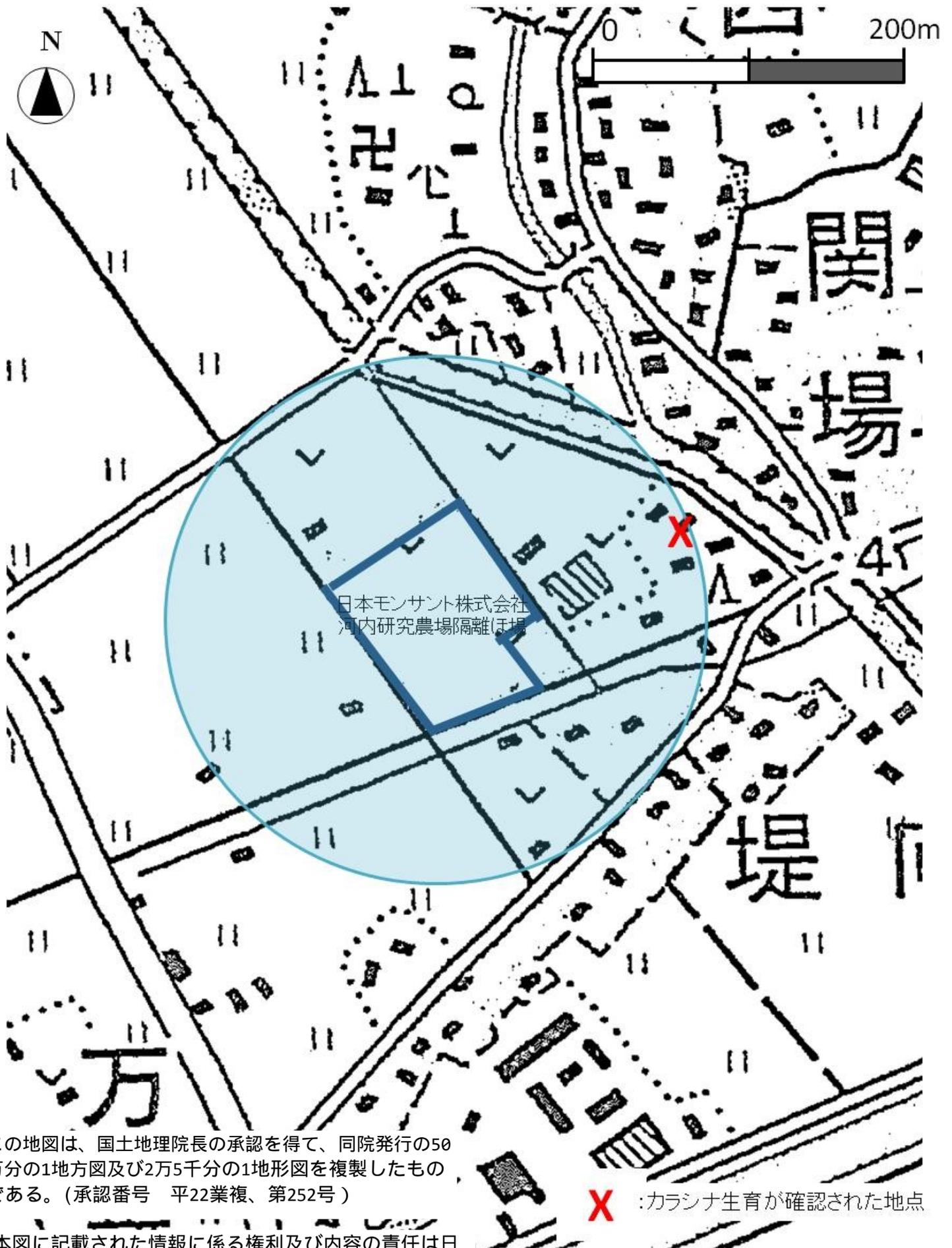


日本モンサント株式会社 隔離ほ場

⁷本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

この地図は、国土地理院長の承認を得て、同院発行の50万分の1地方図及び2万5千分の1地形図を複製したものである。(承認番号 平22業複、第252号)

図5 隔離ほ場周辺のモニタリング結果⁸



⁸本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

図6 隔離ほ場における栽培履歴⁹

ほ場 No.	作物	栽培期間 (2008年)												
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	
No.1	非遺伝子組換え オオムギ	→												
	遺伝子組換え ダイズ						←	←	←					
	非遺伝子組換え ダイズ						←	←	←					
	遺伝子組換え トウモロコシ						←	←	←					
	非遺伝子組換え トウモロコシ						←	←	←					
No.2	非遺伝子組換え オオムギ	→												
	非遺伝子組換え ソルガム					←	←							
	非遺伝子組換え ヒマワリ						←	←	←					
	遺伝子組換え ダイズ						←	←	←					
	非遺伝子組換え ダイズ						←	←	←					
No.3	非遺伝子組換え オオムギ	→												
	非遺伝子組換え ソルガム					←	←							
	非遺伝子組換え ヒマワリ						←	←	←					
	遺伝子組換え ダイズ						←	←	←					
	非遺伝子組換え ダイズ						←	←	←					
No.4	非遺伝子組換え オオムギ	→												
	非遺伝子組換え ソルガム					←	←							
	非遺伝子組換え ヒマワリ						←	←	←					
	遺伝子組換え ダイズ						←	←	←					
	非遺伝子組換え ダイズ						←	←	←					
No.5	非遺伝子組換え オオムギ	→												
	非遺伝子組換え ソルガム					←	←							
	非遺伝子組換え ヒマワリ						←	←	←					
	遺伝子組換え テンサイ						←	←	←					
	非遺伝子組換え テンサイ						←	←	←					
	遺伝子組換え ダイズ							←	←	←				
	非遺伝子組換え ダイズ							←	←	←				

⁹本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

図 6 隔離ほ場における栽培履歴(つづき)¹⁰

ほ場 No.	作物	栽培期間 (2009年)											
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
No.1	非遺伝子組換え カラシナ				↔								
	遺伝子組換え テンサイ					↔	↔						
	非遺伝子組換え テンサイ					↔	↔						
	遺伝子組換え ダイズ						↔	↔	↔				
	非遺伝子組換え ダイズ						↔	↔	↔				
	遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔				
	非遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔				
	非遺伝子組換え エンバク						↔	↔	↔				
	非遺伝子組換え ライムギ												↔
No.2	非遺伝子組換え ライムギ	↔	↔										
	非遺伝子組換え カラシナ			↔									
	非遺伝子組換え エンバク						↔	↔					
	非遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔					
No.3	遺伝子組換え ダイズ	↔											
	非遺伝子組換え ダイズ	↔											
	非遺伝子組換え ライムギ	↔	↔										
	非遺伝子組換え カラシナ				↔								
	非遺伝子組換え エンバク						↔	↔					
	非遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔					
No.4	遺伝子組換え ダイズ	↔						↔	↔	↔			
	非遺伝子組換え ダイズ	↔						↔	↔	↔			
	非遺伝子組換え ライムギ	↔	↔									↔	
	非遺伝子組換え カラシナ				↔								
	非遺伝子組換え エンバク						↔	↔					
No.5	非遺伝子組換え ライムギ	↔	↔									↔	
	非遺伝子組換え カラシナ				↔								
	遺伝子組換え ダイズ							↔	↔	↔			
	非遺伝子組換え ダイズ							↔	↔	↔			

ほ場 No.	作物	栽培期間 (2010年)											
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
No.1	非遺伝子組換え ライムギ	↔	↔	↔									
	非遺伝子組換え ソルガム						↔	↔					
	遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔				
	非遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔				
No.2	遺伝子組換え ダイズ						↔	↔	↔	↔			
	非遺伝子組換え ダイズ						↔	↔	↔	↔			
No.3	非遺伝子組換え ソルガム						↔	↔					
	遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔	↔			
	非遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔	↔			
No.4	遺伝子組換え ダイズ	↔						↔	↔	↔			
	非遺伝子組換え ダイズ	↔						↔	↔	↔			
	非遺伝子組換え ライムギ	↔	↔	↔									
	非遺伝子組換え ソルガム						↔	↔					
	遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔				
	非遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔				
No.5	遺伝子組換え ダイズ	↔											
	非遺伝子組換え ダイズ	↔											
	非遺伝子組換え ライムギ	↔	↔	↔									
	非遺伝子組換え ソルガム						↔	↔					
	遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔				
	非遺伝子組換え トウモロコシ						↔	↔	↔				

¹⁰本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する

第二部 隔離ほ場での試験計画

【社外秘につき非開示】

除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ(改変 *cp4 epsps*, *Brassica napus* L.)
(MON88302, OECD UI: MON-88302-9)の別添資料リスト

【社外秘につき非開示】

5