

除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (<i>pat</i> , <i>Brassica napus</i> L.) (T45, OECD UI : ACS-BN008-2)の生物多様性影響評価書の概要

第一種使用規程承認申請書	1
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	2
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	2
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	2
(2) 使用等の歴史及び現状	2
(3) 生理学的及び生態学的特性	4
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	8
(1) 供与核酸に関する情報	8
(2) ベクターに関する情報	11
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	13
(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	15
(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	16
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	17
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	20
(1) 使用等の内容	20
(2) 使用等の方法	20
(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	20
(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	21
(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	21
(6) 国外における使用等に関する情報	21
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	23
1 競合における優位性	23
2 有害物質の産生性	25
3 交雑性	26
4 その他の性質	27
第三 生物多様性影響の総合的評価	30
参考文献	32
別添資料の内容	32
緊急措置計画書の概要	33

第一種使用規程承認申請書

平成16年8月18日

農林水産大臣 亀井 善之 殿
環境大臣 小池 百合子 殿

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社
申請者 代表取締役社長 ローレンス ユー 印
住所 東京都港区高輪4-10-8

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	除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (<i>pat, Brassica napus</i> L.) (T45, OECD UI: ACS-BN008-2)
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

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

イ 和名、英名及び学名

和名： セイヨウナタネ

英名： Oilseed Rape

学名： *Brassica napus* L.

ロ 宿主の品種名

宿主の品種は油生産用の春播きセイヨウナタネ AC Excel である。本品種はエルシン酸及びグルコシノレートの含有量の低いカノーラ品種としてカナダにて品種登録されている（文献 6）。

ハ 国内及び国外の自然状況における自生地域

セイヨウナタネ (*Brassica napus* L.) は、アブラナ科アブラナ属の *B. rapa* (在来ナタネ、カブ、ハクサイ、コマツナ等) とキャベツなどが属する *B. oleracea* との交雑の結果できた複二倍体種である（文献 72）。原産地は交雑親の *B. rapa* と *B. oleracea* の分布が重なる北ヨーロッパと考えられており、現在は、世界中にその分布が見られる（文献 22）。セイヨウナタネは、路傍、崖、河川敷などのように攪乱が定期的にかかる立地条件でなければ、やがて多年生草本や灌木に置き換わることが知られている（文献 41）。

セイヨウナタネは、肥培管理が行われなくても道路沿い、空き地等で生育が可能であることが知られており、我が国でも北海道や本州で河原や線路沿いに群生が確認されている（文献 63）。また、主なナタネの輸入港やその周辺でセイヨウナタネの生育が報告されている。実際に財団法人自然環境研究センター、独立行政法人農業技術研究機構及び独立行政法人食品総合研究所（現 独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構）が平成 14 年 5 月から平成 16 年 3 月にかけて行った調査では、ナタネの輸入港である茨城県鹿島港周辺で運搬の途中でこぼれ落ちたと見られるセイヨウナタネの生育が観察された（文献 37）。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ 国内及び国外における第一種使用等の歴史

セイヨウナタネとその近縁作物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（文献 10）。また、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（文献 72）。

アジア及びヨーロッパにおいては、古くからセイヨウナタネや *B. rapa* 等の種子から油が搾られ、灯火用として広く使用されていた（文献 61）。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といわれている。さらに、第二次世界大戦時に、カナダは軍艦の蒸気機関の潤滑油を補給する目的で栽培を始めた（文献 72）。

元来、セイヨウナタネ種子から採られた油は、心筋の脂肪症や繊維症を引き起こすことが報告されているエルシン酸（文献 64）や家畜の甲状腺肥大効果のある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おり、食用や飼料としては不向きであると考えられていた。しかし、カナダにおける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、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、また搾油粕は家畜飼料として利用されている（文献 22；72）。

我が国においては古くから *B. rapa* が栽培され、江戸時代には燈油や食用油の原料として大規模に栽培されていた。一方、セイヨウナタネは明治時代に米国やヨーロッパから輸入されて栽培されるようになり、*B. rapa* よりも耐病性に優れ、多収で油分も多いことから全国に広まり、*B. rapa* の栽培は少なくなっていた（文献 65）。

しかし、その後の我が国におけるセイヨウナタネ栽培は、イネ栽培の早期化による作期の重なりや、収入の多い工業への農民の就労のため、急速に衰退し、現在は搾油のために商業的に栽培されることはほとんどない（文献 22）。なお、近年、菜の花の景観植物としての利用や、化石燃料の代替としてナタネ油を利用しようとする動きが見られる。

ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

セイヨウナタネは、*B. rapa* に比べて耐寒性は劣るが耐病性及び収量性に優れ

ており、西部・中部ヨーロッパ、日本、韓国のように寒さが極端には厳しくない肥沃な土地で栽培されている（文献 72）。我が国では、以前は水田裏作のために移植栽培が主流であったが、今日では労働生産性の高い直播栽培が一般的である（文献 22）。

2003～2004 年のナタネの世界総生産量は 3876 万 t（概算）であり、主な生産国は、中国（1100 万 t）、EU（951 万 t）、カナダ（677 万 t）、インド（650 万 t）であった（文献 1）。

主な輸出国はカナダ（360 万 t）とオーストラリア（125 万 t）で、全輸出量の約 82%を占める。我が国には 2003 年に 208 万 t が輸入され、主な輸入先はカナダ（166 万 t）、次いでオーストラリア（37 万 t）である（文献 1）。また、2005 年に我が国はナタネ油を 6.3 万 t、油脂原料としてナタネ種子を 230 万 t、さらに、飼料用の油粕を 3.6 万 t 輸入している（文献 38）。

なお、現在世界で栽培されるカノーラ全体のうち 18%が遺伝子組換え技術により除草剤耐性が付与されたセイヨウナタネである（文献 23）。

（3）生理学的及び生態学的特性

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。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

セイヨウナタネは休眠の打破、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（文献 22）。春播き品種の生育適温は 12～30 である（文献 41）。また、セイヨウナタネは他の作物に比べ酸性土に強く、耐湿性も強いが、重粘土や砂質で乾燥のはなはだしい土壌は適さない。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。我が国では、品種を選ぶことによりどこでも栽培可能である（文献 61）。

ハ 捕食性又は寄生性

二 繁殖又は増殖の様式

種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

セイヨウナタネは 1 つの莢の中に多数の種子ができ、種子が成熟して乾燥した莢は莢柄の部分より裂開して種子を放出する(文献 61)。乾燥した莢は、わずかな物理的刺激により裂開し種子を飛散させやすい(文献 22)。したがって、脱粒性は比較的高いと考えられる。

種子の休眠性は、秋播き品種、春播き品種にかかわらず比較的浅いことが知られているが、暗所での水分ストレスや酸素欠乏(文献 48)など発芽に不適な環境下では二次休眠(secondary dormancy)が誘発されることがある。二次休眠とは、発芽しうる状態になった後で発芽に不適な環境にしばらくおかれた場合、新たに誘導される休眠である(文献 34)が、その程度は品種や種子の貯蔵期間・条件などで異なる(文献 47; 49)。また、二次休眠性の高い品種を用いた実験では、5 や 10 の低温に比べ、20 程度の比較的高い温度条件で休眠が誘発されやすいことが確認されている(文献 16)。これらの獲得された休眠性は、2~4 の低温条件(文献 16)、変温条件(文献 49)などによって覚醒されるが、地中深く鋤込まれた種子は休眠状態のまま長期間生存し続けることが知られている。一方、地表の種子では二次休眠は誘発されないことから、二次休眠によるセイヨウナタネの雑草化を防止する耕種方法が明らかにされている(文献 49)。

セイヨウナタネの種子の寿命は比較的長いが、採種条件や保存条件によって異なることが知られている。後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%以上の発芽率を示すが、未熟種子では発芽力の低下が早く、室内に放置すると 3 年目には発芽力がなくなる(文献 44; 62)。また、貯蔵中の種子の寿命には特に相対湿度が影響し、相対湿度 70~80%のときは 100~120 日で発芽力を失うが、20%程度の乾燥状態では 30 の高温でも約 4 年を経過しても 80%以上の発芽率を保っている(文献 62)。

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ない。

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

セイヨウナタネは自家不和合性を持たず、自殖によって種子を作ることが多い。風媒や虫媒による他殖率は 5~30%と報告されている(文献 21; 41; 51)。我が国での試験結果でも、栽植状況や距離で異なるが、平均して 27%程度の他殖率が認められている(文献 67)。

我が国に分布する近縁種のうち、セイヨウナタネと交雑可能な近縁種として、*B. rapa*、*B. juncea*（カラシナ、タカナ、ザーツアイ等）、*B. nigra*（クロカラシ）及び *Raphanus raphanistrum*（セイヨウノダイコン）が挙げられる。*B. rapa* は栽培由来の外来種で、我が国では古くから栽培種として利用されており（文献 28）、雑草性の亜種あるいは変種の形成は報告されていない（文献 66）。現在では、耕作地での周囲などに比較的小さな群落が見られるほか、景観作物としても利用され、河川敷の公園などには大きな群落の形成が見られる（文献 32）。*B. juncea* も外来種であり、我が国では古くから栽培種として利用されてきた（文献 28）。しかし、戦後広まったものはそれとは別に、ヨーロッパや北アメリカから入ったものと推測されている（文献 36）。*B. nigra* は明治時代以降に我が国に帰化した外来種（文献 35）で、北海道から九州に分布し、ハーブとして栽培されているが、ときに野生化している（文献 36；63）。*R. raphanistrum* も近年になって我が国に帰化した外来種で、昭和初期には横浜市で確認され（文献 18）、現在では北海道から九州まで全国に分布している（文献 36）。

セイヨウナタネと *B. rapa* については、自然交雑で種間雑種が形成されるという報告がある（文献 3；62）。英国で行われたモニタリング調査において、商業用セイヨウナタネ栽培ほ場付近に自生する *B. rapa* から採種した結果、芽生えた苗のうち、雑種は 0.4～1.5%（文献 59）又は 0.2%（文献 78）であった。また、除草剤耐性セイヨウナタネの商業栽培ほ場付近で採取した *B. rapa* の集団から 13.6%の雑種が、また、*B. rapa* とセイヨウナタネを混在して栽培した場合、6.5～7.1%の雑種が報告されている（文献 76）。我が国で両者の交互畦栽培を行い同時開花部分に結実した種子を調査したところ、*B. rapa* では 2%、他方、セイヨウナタネでは 10%の雑種を生じたと報告されている（文献 45）。

セイヨウナタネと *B. juncea* は交雑親和性があり、栽培条件下で種間雑種を生ずることが報告されている（文献 3；4；14；26）。栽培条件下での交雑率に関して、*B. juncea* とセイヨウナタネを 1:1 の割合で栽培した場合は 0.3～1.1%（文献 4）、セイヨウナタネのほ場内に 12 個体の *B. juncea* を植えた場合には 3%（文献 25）の雑種形成が報告されている。

セイヨウナタネと *B. nigra* の交雑和合性は極めて低く、自然交雑試験において雑種形成は確認されなかったと報告されている（文献 4）。また、人工交配によってもほとんど雑種は得られないか（文献 3）、又は全く得られなかったことが報告されている（文献 5；27）。

セイヨウナタネと *R. raphanistrum* の交雑和合性に関しては、*R. raphanistrum* とセイヨウナタネを 1:600 の割合で栽培した場合、0.05% (95%信頼限界: 0.006 ~ 0.2%) の雑種形成が報告されている (文献 9)。しかし、実際のほ場における自然交雑は極めて稀 (文献 56 ; 76) であり、また、*R. raphanistrum* がごくありふれた雑草となっているスイスにおける調査でも、セイヨウナタネのほ場近くに自生する *R. raphanistrum* の個体群から、セイヨウナタネとの雑種は確認されなかった (文献 68)。

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花あたり約6~7万粒の花粉を生産する。花粉は黄色で、三つに縦にくびれた楕円形をしている。大きさはおよそ長径39~36 μ m、短径22~20 μ mである (文献15 ; 62)。また、セイヨウナタネの花粉は重く粘性がある (文献41)。

セイヨウナタネの花粉は風又は主にミツバチなどの昆虫により媒介される (文献41 ; 46 ; 69 ; 71 ; 79)。風媒による花粉の移動距離については、花粉トラップを用いた調査において、花粉源となる作物から3m以内で花粉量はおおよそ半減し (文献31)、10m以上では90%減少する (文献33) と報告されている。また、ミツバチは通常巣の周辺の植物間を移動するが (文献55)、巣から2km離れた地点までミツバチの集団が確認されている (文献52) ことや、除草剤耐性セイヨウナタネを用いて行った調査において、1~2km地点で0.2%、2.5~3km地点で0.15%の交雑率が報告されている (文献57) ことから、セイヨウナタネの商業栽培が大規模に行われているような地域においては、虫媒による花粉の拡散は広範囲に及ぶ可能性が示唆される。

セイヨウナタネの花粉は比較的長期間発芽力を有することが知られている。花粉の寿命は相対湿度など貯蔵条件によって変わるが、室内に1週間放置したものでも寒天培地上で70%程度の発芽率を示し、その後急激に減少することが観察されており (文献44 ; 62)、自然条件下では4~5日間で徐々に減少するとされる (文献53)。

ホ 病原性

へ 有害物質の産生性

セイヨウナタネの種子中にはエルシン酸とグルコシノレートが比較的高い濃度で含まれている。エルシン酸は 13 位にシス二重結合を持つ不飽和脂肪酸で実験動物において心筋の脂肪症や繊維症を引き起こすことが知られている（文献 64）。また、グルコシノレートは甲状腺肥大を引き起こすことが知られている（文献 72）。しかし、カナダにおける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品種が育成された結果、食用油として、また搾油粕は飼料用として用いられるようになった（文献 22 ; 72）。なお、精油中のエルシン酸含量が 2% 未満でグルコシノレート含量が油粕 1g あたり 30 μ mol 未満の品種は一般にカノーラ品種と呼ばれており（文献 43）、宿主品種である AC Excel もカノーラ品種の一つである。

ト その他の情報

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (*pat*, *Brassica napus* L., T45, OECD UI: ACS-BN008-2) (以下、「T45」とする。) の作出に用いられた供与核酸の構成要素の由来及び機能を表 1 (p.9) に示した。

表 1 供与核酸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>pat</i> 遺伝子発現カセット		
P-35S	533	カリフラワーモザイクウイルス由来 35SRNA プロモーター。植物中で <i>pat</i> 遺伝子を構成的に発現させる (文献 40)。
<i>pat</i>	552	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> 由来で、ホスフィノトリシン・アセチル基転移酵素 (PAT) をコードし、グルホシネート耐性を付与する (文献 12)。なお、本遺伝子は野生型 <i>pat</i> 遺伝子を植物で使用頻度の高いコドンに適合するように改変したものである。なお、この改変により産生される蛋白質のアミノ酸配列は変化していない。
T-35S	220	カリフラワーモザイクウイルス由来 35S RNA ターミネーター。転写を終結させ、転写産物のポリアデニル化を行わせる (文献 50)。
その他		
RB	25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来で、ノパリン型 Ti プラスミドの右縁末端領域配列。
LB	25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来で、オクトピン型 Ti プラスミドの左縁末端領域配列。

(注：本表に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

T45に導入された*pat*遺伝子は、*Streptomyces viridochromogenes*から得た野生型の*pat*遺伝子の配列を植物で使用頻度の高いコドンに適合するように改変したものである。なお、この改変により産生される酵素のアミノ酸配列は変化していない (文献12 ; 42 ; 74)。野生型の*pat*遺伝子と改変後の*pat*遺伝子の塩基配列を図1に示した。

社外秘情報につき非開示

図 1 T45 に導入された *pat* 遺伝子と野生型の *pat* 遺伝子の比較

□ 構成要素の機能

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

T45 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 1 (p.9) に示した。

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同一性を有する場合はその旨

作物は窒素代謝の過程で硝酸塩の還元、アミノ酸の分解、光呼吸等によりアンモニアを生成する。生成されたアンモニアの無毒化にはグルタミン合成酵素が中心的役割を果たしているが、除草剤グルホシネートを散布すると、グルタミン合成酵素が阻害され、アンモニアが蓄積し、植物は枯死に至る。

一方、*pat* 遺伝子を導入された植物体では、ホスフィトリシン・アセチル基転移酵素 (PAT 蛋白質) が産生され、この働きでグルホシネートはアセチル化されて N-アセチルグルホシネートに変化する。これにより、グルホシネートのグルタミン合成酵素への阻害作用は回避され、植物体中にアンモニアは蓄積されず、グルホシネートを散布しても作物が枯死しない。

PAT 蛋白質のヒトや動物に対する毒性は報告されておらず、GENBANK データベースに登録されている全ての蛋白質のアミノ酸配列との同一性検索において、種々の種由来の PAT 蛋白質以外に同一性は示していない (文献 42)。また、PAT 蛋白質の物理化学的、生化学的特性を既知のアレルゲンと比較した結果、本蛋白質がアレルギー誘発性を有する可能性は認められなかった (文献 75)。さらに、本蛋白質の塩基配列及びアミノ酸配列に基づき、包括的な同一性検索 (EMBL 及び Swiss-Prot) を行なった結果、いずれにおいても種々の種由来の PAT 蛋白質以外に同一性は示さず、既知の毒素又はアレルゲンとの同一性は認められなかった。

宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

PAT 蛋白質は L-アミノ酸に分類されるグルホシネートに高い親和性を示すが、各種アミノ酸にアセチル基を転移することはなく、特に構造が類似しているグルタミン酸にも親和性はほとんどなく、生体内において実質的に転移反応を生じさせることはない (文献 70)。また、過剰の各種アミノ酸の存在下においても PAT 蛋白質によるグルホシネートへのアセチル基転移反応は阻害されることはなかった (文献 42 ; 77)。これらのことから、PAT 蛋白質は高い基質特異性を有しており、宿主の持つ代謝経路への影響はないと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

T45 の作出に用いられたベクターは、*E. coli* 由来のプラスミド pUC18 を基本として構築された pH0E4Ac () である (文献 30)。

ロ 特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

pH0E4Ac() の塩基数は 6,652bp である。本ベクターの全塩基配列を別添資料 1 に、プラスミド地図及び制限酵素の切断部位を図 2 (p.12) に示した。

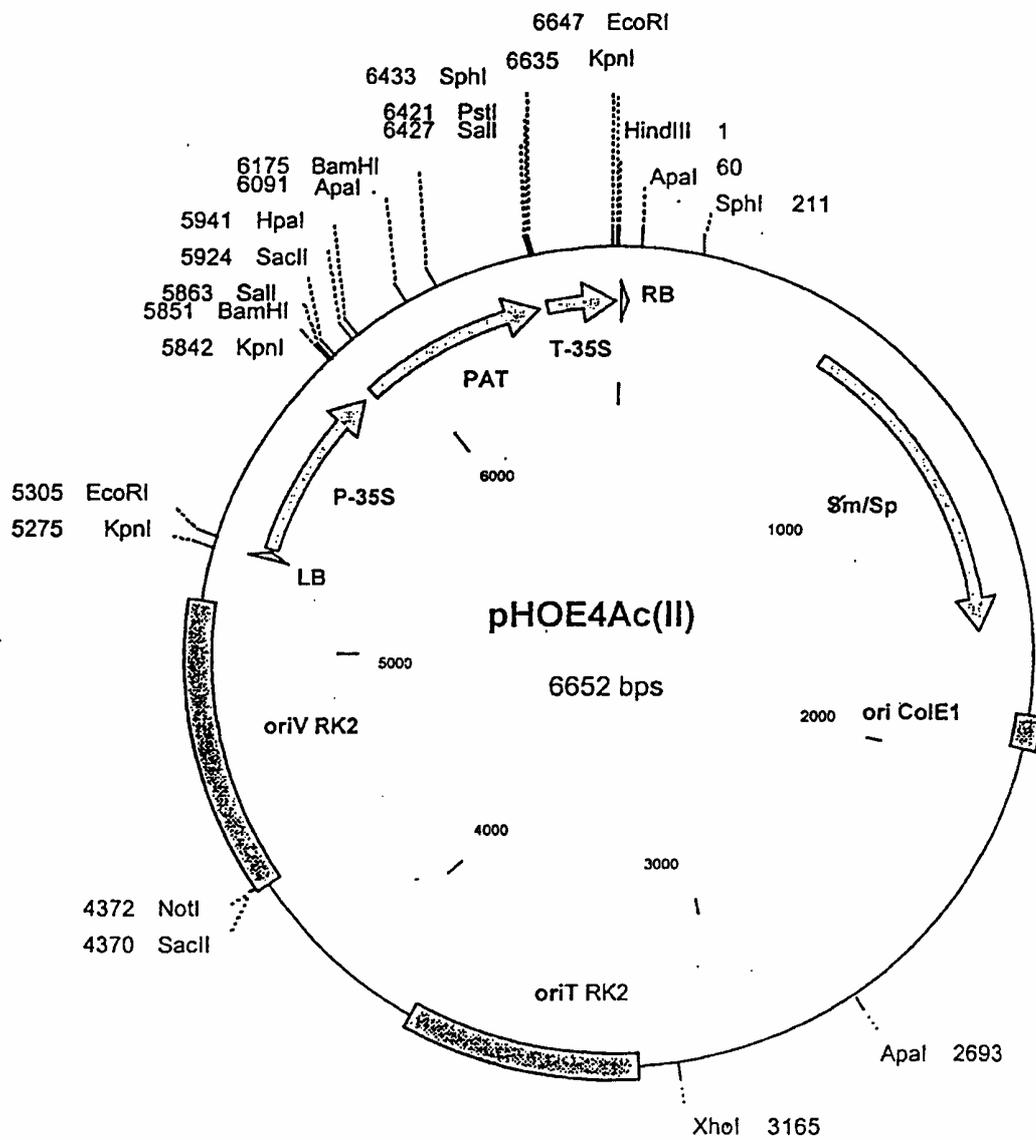


図2 pHOE4Ac()のプラスミド地図及び制限酵素切断部位
 (注：本図に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

pHOE4Ac()は大腸菌のプラスミド R538-1(文献 19)に由来するストレプトマイシン/スペクチノマイシン耐性遺伝子(*Sm/Sp*)、大腸菌プラスミド piAN7 由来の複製起点 ori ColE1(文献 20)、大腸菌プラスミド RK2 由来の oriV 及び oriT(文献 13)を持つ。*Sm/Sp* 遺伝子は大腸菌におけるベクターの選抜マーカーとして使用された。ori ColE1 は大腸菌において、また、oriV 及び oriT はアグロバクテリウムにおいて自律的複製を行わせる機能を有するが、いずれも植物中では機能しない。また、これらの配列はいずれも T-DNA 領域の外側に位置しており、セイヨウナタネゲノム中には導入されていないことが確認されている(別添資料 2, p.19, Figure 4)。

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

pHOE4Ac()は自律増殖可能な宿主域が大腸菌と数種のグラム陰性菌に限られており、植物体では感染性を持たないと考えられる。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

宿主に移入されたのは pHOE4Ac()上の LB と RB で挟まれた T-DNA 領域である(図 2, p.12)。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主内への核酸の移入はアグロバクテリウム法を用いた。ヘルパープラスミド pRK2013 を保持する大腸菌の共存下において、大腸菌 DH1 に導入した pHOE4Ac()を *Agrobacterium tumefaciens* C58C1 Rif^R(EHA101)に導入した後、宿主品種のプロトプラストとの共存培養により形質転換を行った。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

核酸が移入された細胞の選抜の方法

形質転換後プロトプラストを 5~6 週間培養し、形成されたマイクロコロニーをグルホシネートを含む選択プレート上で培養した。さらに、生存コロニーを再生培地に移して植物を再分化させた。

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

形質転換後、Carbenicillin (200ml/l) 及び Cefotaxime (200ml/l) を培地に加え、アグロバクテリウム菌体を除去した。

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及び系統樹

再分化させた苗を土壌に移植し、その後代植物について自殖及び戻し交配を繰り返す過程で除草剤グルホシネート散布による選抜を施し、さらに、除草剤グルホシネート耐性とグルコシノレート及びエルシン酸の含有量などから優良系統を選抜育種し、T45を得た。なお、T45の商業系統は、T3又はBC1F1以降の世代を選抜育種して作出された。また、本申請の対象は、T1世代において選抜された除草剤グルホシネート耐性を有する個体及びその後代である。

系統樹を図3(p.15)に示した。なお、我が国における承認状況は以下のとおりである。

【食品安全】

1997年5月に厚生省(現厚生労働省)より組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針に基づき、食品利用としての安全性の指針への適合性が確認された。また、法制化に伴い、組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続きを経て、2001年3月に厚生労働省より食品利用としての安全性が確認された。

【飼料安全】

1997年6月に農林水産省より組換え体利用飼料の安全性評価指針に基づき、指針への適合性が確認された。また、法制化に伴い、組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する手続きを経て、2003年3月に農林水産省より飼料利用としての安全性が確認された。

【環境安全】

1995年に農林水産省より農林水産分野等における組換え体利用のための指針に基づき、隔離ほ場試験の承認が得られた。また、1997年4月に農林水産省より同指針に基づき、我が国への輸入(加工用及び飼料用としての利用)について指針への適合性が確認された。

図3 T45の系統樹

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

イ 移入された核酸の複製物が存在する場所

T45の遺伝子導入当代(T0)を自殖して得たT1世代の個体のうち、挿入遺伝子座に関してホモ接合体と考えられる個体に、宿主品種AC Excelを交配して得られるF1の場合、これを自殖して得られるF2世代の除草剤グルホシネートに対する耐性：感受性の分離比は、1遺伝子支配であれば理論上3：1に、他方、F1にさらにAC Excelを戻し交配して得られるBC1F1世代では1：1になると想定される。実際に、T45のF2及びBC1F1世代における除草剤グルホシネート耐性：感受性の分離比を調べた結果、いずれも理論上の分離比に適合する分離が確認された〔別添資料3, p.1490, Table 1(文献29)〕。よって、T45に移入された核酸の複製物はセイヨウナタネゲノムの1箇所が存在すると考えられる。

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

T45のF5世代から抽出したゲノムDNAについてサザンブロット分析した結果、1コピーのT-DNA領域が挿入されていることが確認された(別添資料4, p.15~17, Figure2~4)。また、T45に挿入されたT-DNA領域についてシーケンス解析を行なった結果、プラスミド上のT-DNA領域と一致することが確認された(別添資料5, p.10~12)。移入された核酸全体の構成を図4に示した。

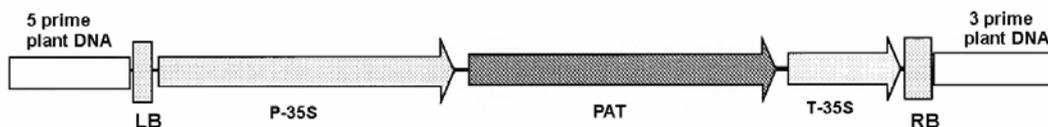


図4 挿入遺伝子の構成図

(注：本図に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

また、T45のT2、F5及びF7世代のゲノムDNAについてサザンブロット分析を

行った結果、いずれの世代においても同一のバンドパターンが認められ、T45 に挿入された核酸の複製物は複数世代にわたり安定して伝達していることが確認された（別添資料 6, p.11, Figure2）。

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

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

T45 の F5 世代の葉、茎、根及び種子から抽出した RNA についてノーザンブロット分析を行った結果、葉、茎、根において *pat* 遺伝子の転写産物が検出されたが、種子においては検出されなかった（検出限界 12.5pg/5µg 全 RNA）（別添資料 7, p.12, Figure 1）。

また、T45 の 2 世代について、葉及び種子の PAT 蛋白質含量を ELISA 法により測定した結果、いずれの世代でも PAT 蛋白質が検出され、*pat* 遺伝子が安定して発現していることが確認された（別添資料 8, p.6~7, Table2,3）。

さらに、2006 年に行なわれた特定網室試験において、T45 及びそれを系統内放任交配して得られた次世代種子を播種し、発芽した幼苗に除草剤グルホシネートを散布した結果、いずれの世代においても全ての個体が耐性を示したことから、本形質は世代間で安定して発現していることが確認された（別添資料 10, p.19, 表 21）。

ホ 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するおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度

T45 は伝達性のある DNA 配列を有しておらず、自然条件下において移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれ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

T45 に挿入された DNA の周辺配列を利用したプライマーを用いた PCR 法によって、本イベントを特異的に識別することができる。なお、本 PCR 法は T45 の栽培管理に有効に利用されている（別添資料 13）。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 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

T45 は *pat* 遺伝子の発現により除草剤グルホシネートに耐性を示す。

ロ 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

1996 年度に農林水産省北海道農業試験場において隔離ほ場試験を行い、T45 と宿主品種である AC Excel (以下、「非組換えセイヨウナタネ」とする。) を比較した (別添資料 9)。また、2006 年に我が国の特定網室内において、T45 と非組換えセイヨウナタネを比較した (別添資料 10)。なお、参考として 1995 年にカナダの 2 地域で行われた T45 と非組換えセイヨウナタネとの比較の結果も踏まえて相違を検討した (別添資料 11)。

形態及び生育の特性

隔離ほ場試験において、草丈、一次分枝数、茎葉重 (乾燥)、草型、葉色、抽だい期、開花期、成熟所要日数、着莢率、莢長、莢あたりの種子数、裂莢性及び種皮色について調査した。その結果、草丈、一次分枝数、葉型、葉色、抽だい期、成熟所要日数、着莢率、裂莢性及び種皮色について、T45 と非組換えセイヨウナタネはほぼ同等であった。他方、T45 の開花期は非組換えセイヨウナタネと比べて 4 日遅く、茎葉重は 17g 軽く、莢長は 5mm 短く、莢あたりの種子数は 5 粒多かった (別添資料 9, p.4, 表 1,2)。

また、特定網室試験において、発芽揃い、抽だい期、開花始め、開花期、成熟期、草丈、一次分枝数、草型、葉色、着莢数、不稔莢数、着莢率、莢長、莢あたりの種子数、種皮色、種子の粒大整否及び地上部乾燥重 (茎葉重) について調査した。その結果、発芽揃い、抽だい期、開花始め、成熟期、草型、葉色及び種皮色について、T45 と非組換えセイヨウナタネはほぼ同等であった。T45 の開花期は非組換えセイヨウナタネに比べて 1 週間早かった。草丈、一次分枝数、着莢数、不稔莢数、着莢率、莢長、莢あたりの種子数、種子の粒大整否及び地上部乾燥重については、T45 と非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 10, p.6,7, 表 2,3)。

以上、開花期については、隔離ほ場試験では 4 日遅かったが、特定網室試験においては逆に 1 週間早く、一定の傾向は示さなかった。また、茎葉重、莢長及び莢あたりの種子数について隔離ほ場試験で差が認められたが、特定網室試

験ではいずれの項目も T45 と非組換えセイヨウナタネの間に統計学的有意差は認められなかった。

生育初期における低温又は高温耐性

生育初期の高温耐性を調べるため、T45 及び非組換えセイヨウナタネの発芽 1 週間後の幼植物体を 35 °C・12 時間明暗条件下で栽培し、1 ヶ月後に生存率を調査した結果、いずれも調査時には全ての個体の枯死が確認された(別添資料 10, p.18, 表 20)。よって、T45 は非組換えセイヨウナタネと同様に生育初期における高温耐性は示さないと考えられる。

なお、一般に我が国の秋期に播種されたセイヨウナタネは、生育速度は異なるものの、暖地及び寒地いずれの冬期においても生育することが知られている(文献 62)。

成体の越冬性又は越夏性

隔離ほ場試験における越夏性の観察結果から、春播きした T45 と非組換えセイヨウナタネとの間に相違は認められなかった。また、9 月の収穫時にはいずれの系統も同様に黄化し枯死の様相を示していることが確認された(別添資料 9, p.3)。

花粉の稔性及びサイズ

特定網室において、T45 及び非組換えセイヨウナタネから採取した花粉を酢酸カーミン溶液で染色して観察した結果、いずれの系統についても 100% の花粉の染色が確認され、花粉の稔性は同等であった(別添資料 10, p.9)。また、花粉のサイズを比較した結果、系統間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料 10, p.10, 表 5)。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量については、隔離ほ場試験において子実収量及び千粒重を調査した結果、子実収量は T45 が 19.2g、非組換えセイヨウナタネが 16.3g で T45 の方が約 3g 重く、千粒重は T45 が 2.00g、非組換えセイヨウナタネが 1.86g で、T45 の方が 0.14g 高い値を示した(別添資料 9, p.4, 表 2)。

また、特定網室試験においても子実収量及び千粒重について調査した結果、T45 と非組換えセイヨウナタネの間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料 10, p.7, 表 3)。

このように、隔離ほ場試験では、T45 と非組換えセイヨウナタネの間で、子実収量及び千粒重に差が見られたものの、その差はセイヨウナタネの品種特性(文

献 39 ; 73) から判断して僅少であり、さらに、特定網室試験ではいずれも統計学的有意差は認められなかった。これらのことから、T45 の種子の生産量は非組換えセイヨウナタネと相違はないと考えられる。

なお、1995 年にカナダの 2 地域で行われた調査において、子実収量 (g/m²) について T45 と非組換えセイヨウナタネを比較した結果、一方の地域では T45 の方が高い値を示したが (別添資料 11, p.2, Table 1) 他方の地域ではほぼ同等であった (別添資料 11, p.3, Table 2)。また、千粒重はいずれの地域においてもほとんど相違は認められなかった (別添資料 11, p.2~3, Table 1,2)。

裂莢性について T45 と非組換えセイヨウナタネを 5 段階評価 (難 1 - 5 易) で比較した結果、いずれもやや易 (4) で相違は認められなかった (別添資料 9, p.4, 表 2)。

特定網室内で栽培、収穫した T45 と非組換えセイヨウナタネの種子をそれぞれ 50 粒播種した結果、播種 1 週間後にはいずれも 98% (49/50 粒) の発芽率が認められたことから、新たに休眠性は獲得していないと考えられる (別添資料 10, p.19, 表 21)。

交雑率

交雑率について調査は行なっていない。しかし、T45 と非組換えセイヨウナタネの花粉の稔性は同等であり (別添資料 10, p.9) サイズについて統計学的有意差は認められなかった (別添資料 10, p.10, 表 4)。また、(種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率) で述べたように、T45 の種子の生産量は非組換えセイヨウナタネと相違はないと考えられることから、花粉の受け手としての交雑率についても、両者の間に相違はないものと考えられる。よって、T45 と非組換えセイヨウナタネは相違ないものと推察される。

有害物質の産生性

特定網室試験において、根から分泌され他の植物に影響を及ぼすものについては後作試験、植物体内部に有し、枯死した後に他の植物に影響を及ぼすものについては鋤込み試験、根から分泌され土壤微生物に影響を及ぼすものについては土壤微生物相試験を行なった。

後作試験： T45 と非組換えセイヨウナタネをワグネルポットに移植後約 5 ヶ月間栽培した土壤に検定植物としてダイコンを栽培し、ダイコンの発芽率、草丈、根長、生重及び乾物重について比較した結果、いずれの項目においても系統間

に統計学的有意差は認められなかった（別添資料 10, p.12~13, 表 7,9,11）。よって、T45 は根から分泌され他の植物に影響を及ぼす物質の産生性を新たに獲得していないと考えられる。

鋤込み試験： T45 及び非組換えセイヨウナタネの植物体乾燥粉末をそれぞれ 1%混和した土壌でダイコンを栽培し、ダイコンの発芽率、草丈、根長、生重及び乾物重について比較した結果、いずれの項目においても系統間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料 10, p.14~15, 表 13,15,17）。よって、T45 は枯死した後に他の植物に影響を及ぼす物質の産生性を新たに獲得していないと考えられる。

土壌微生物相試験： T45 及び非組換えセイヨウナタネをワグネルポットに移植後約 5 ヶ月間栽培した土壌を採取し、滅菌したリン酸緩衝液で適宜希釈後、細菌及び放線菌については PTYG 培地、糸状菌についてはローズベンガル培地を用いて培養し、それぞれの菌数を比較した。その結果、いずれにおいても系統間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料 10, p.17, 表 19）。よって、T45 は根から分泌され土壌微生物相に影響を及ぼす物質の産生性を新たに獲得していないと考えられる。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

(2) 使用等の方法

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

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

緊急措置計画書を参照。

(5) 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

(6) 国外における使用等に関する情報

T45 はカナダにおいて 1998 年から 2004 年まで、また米国において 1999 年から 2003 年まで栽培されたが、2005 年以降はいずれの地域においても商業栽培は行なわれておらず、今後も商業栽培を行なう予定はない。カナダにおける T45 の作付面積の推移（推計）を表 2 に示した。

また、国外及び我が国における承認状況をそれぞれ表 3 及び表 4 (p.22) に示した。

表 2 カナダにおける作付面積の推移（推計）(1998～2004 年)

社外秘情報につき非開示

表 3 国外における承認状況

国名	承認機関	承認時期	承認内容
カナダ	食品検査庁 (CFIA)	1996 年 5 月	規制外確認
	食品検査庁 (CFIA)	1996 年 6 月	飼料安全
	厚生省 (Health Canada)	1997 年 2 月	食品安全
米国	農務省 (USDA)	1998 年 1 月	規制外確認
	連邦食品医薬品局 (FDA)	1997 年 8 月	食品・飼料安全
オーストラリア ニュージーランド	オーストラリア・ニュージーランド 食品スタンダードズ (ANZFA)	2002 年 5 月	食品安全
	オーストラリア遺伝子テクノロジー 規制機関 (OGTR)	2003 年 7 月	環境安全 (オーストラリアのみ)
EU	ヨーロッパ委員会 保健消費者保護総局	2005 年 4 月	食品添加物利用 飼料利用

(注：本表に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

表 4 我が国における承認状況

承認機関	承認時期	承認内容
農林水産省	1995年	隔離ほ場試験
農林水産省	1997年4月(旧指針)	環境安全(輸入)
農林水産省	1997年6月(旧指針) 2003年3月(法制化)	飼料安全
厚生省	1997年5月(旧指針)	食品安全
厚生労働省	2001年3月(法制化)	

(注：本表に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

宿主が属する分類学上の種であるセイヨウナタネは、我が国では明治時代から栽培されていたが、昭和 30 年代をピークに栽培が急激に減少し、それに伴い輸入量が増え続け、今日では年間約 230 万 t が輸入されている（文献 38）。このように、我が国では長期にわたるセイヨウナタネの使用等の実績があることから、生物多様性影響評価実施要領の別表第三に基づき、宿主と比較して影響が高まっているか否かを考慮することとする。

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国では北海道や本州で河原や線路沿いでのセイヨウナタネの群生（文献 63）や、主なナタネの輸入港やその周辺でセイヨウナタネの生育が報告されている。しかし、我が国では長期にわたるセイヨウナタネ種子の輸入経験があり、これまでも運搬の途中で種子のこぼれ落ちは起こっていたと考えられるが、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、セイヨウナタネは、路傍、崖、河川敷などのように攪乱が定期的に起こる立地条件でなければ、やがて多年生草本や灌木に置き換わることが知られている（文献 41）。実際に、大規模にセイヨウナタネの商業栽培を行っている英国で行われた調査において、人為的攪乱のない自然条件下では、野生化したセイヨウナタネは 2~4 年で消滅すると報告されている（文献 8）。また、同じく英国で行われた 3 年間にわたるモニタリング調査において、ほ場から逸出して群生したと考えられるセイヨウナタネの個体群は 3 年目にはほぼ消滅したことが報告されている（文献 60）。

T45 の競合における優位性に関する形質として、我が国での隔離ほ場試験において、形態及び生育の特性{草丈、一次分枝数、茎葉重、草型、葉色、抽だい期、開花期、成熟所要日数、着莢率、莢長、莢あたりの種子数、裂莢性、種皮色}、成体の越夏性及び越冬性、種子の生産量（子実収量及び千粒重）及び脱粒性について、非組換えセイヨウナタネと比較した（別添資料 9, p.3~4）。また、我が国の特定網室試験において、形態及び生育の特性{発芽揃い、抽だい期、開花始め、開花期、成熟期、草丈、一次分枝数、草型、葉色、着莢数、不稔莢数、着莢率、莢長、莢当りの種子数、種皮色、種子の粒大整否、地上部乾燥重（茎葉重）}（別添資料 10, p.6~7, 表 2,3）生育初期の高温耐性（別添資料 10, p.18,

表 20) 種子の生産量(子実収量及び千粒重)(別添資料 10, p.7, 表 3)及び休眠性(別添資料 10, p.19, 表 21)について、非組換えセイヨウナタネと比較した。

その結果、隔離ほ場試験では、開花期、茎葉重、莢長、莢あたりの種子数、子実収量及び千粒重について、T45 と非組換えセイヨウナタネの間に差がみられた。また、特定網室試験では、開花期に 1 週間の差が認められた。しかし、開花期については、隔離ほ場試験では T45 の方が非組換えセイヨウナタネに比べて 4 日遅かったのに対し、特定網室試験では逆に 1 週間早く開花しており、一定の傾向を示していないことから、これらの差が遺伝子組換えによる影響であるとは考え難い。また、茎葉重については、隔離ほ場試験では T45 の方が非組換えセイヨウナタネに比べて低かったことから、T45 の生育程度が非組換えセイヨウナタネに比べて高まっていたとは考え難い。莢長及び莢あたりの種子数については、隔離ほ場試験では差がみられたものの、両系統のいずれの形質についても、セイヨウナタネの品種特性(文献 73)の範囲内であった。子実収量及び千粒重について隔離ほ場試験でみられた差は、セイヨウナタネの品種特性(文献 39; 73)から判断して僅少であると考えられる。さらに、特定網室試験では、茎葉重、莢長、莢あたりの種子数、子実収量及び千粒重のいずれの形質についても、両系統間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料 10, p.7, 表 3)。

なお、カナダの 2 地域で行われた調査において、子実収量(g/m^2)について T45 と非組換えセイヨウナタネを比較した結果、一方の地域では T45 の方が高い値を示したが(別添資料 11, p.2, Table 1) 他方の地域ではほぼ同等であり(別添資料 11, p.3, Table 2) 千粒重はいずれの地域においてもほとんど相違は認められなかった(別添資料 11, p.2~3, Table 1,2)。

以上から、形態及び生育の特性に関して、T45 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。

また、T45 は除草剤グルホシネート耐性を示す。しかし、本形質は除草剤グルホシネートの存在下においてのみ生存に優位に作用するが、自然環境下において除草剤グルホシネートが散布されることは想定し難いため、本形質を有していても競合における優位性を高めることはないと考えられる。

以上のことから、競合における優位性に関して、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

以上から、競合における優位性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

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

T45 は PAT 蛋白質を新たに産生するが、PAT 蛋白質は高い基質特異性を有しており、基質であるグルホシネート以外の化合物にアセチル基を転移することは考え難い。よって、PAT 蛋白質が宿主の代謝経路に影響して新たに有害物質を産生することはないと考えられる。また、相同性検索の結果、PAT 蛋白質と既知の毒素又はアレルゲンとの相同性は認められなかった。

また、我が国の特定網室試験において、T45 の根から分泌され他の植物に影響を及ぼすものについては後作試験、植物体内部に有し、枯死した後に他の植物に影響を及ぼすものについては鋤込み試験、根から分泌され土壤微生物相に影響を及ぼすものについては土壤微生物相試験を行なった。その結果、いずれの調査項目においても、T45 と非組換えセイヨウナタネの間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料 10, p.12~17, 表 7,9,11,13,15,17,19）。

さらに、国外での調査において、T45 の種子中のエルシン酸及びグルコシノレート含量は、カノーラ品種として規定される範囲内であることが確認されている（別添資料 12, p.10~14, Table 1~5）。

以上から、有害物質の産生性に関して、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

以上から、有害物質の産生性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国に自生するセイヨウナタネとその近縁種のうち交雑可能なものとして、セイヨウナタネ、*B. rapa*、*B. juncea*、*B. nigra* 及び *R. raphanistrum* が挙げられる。セイヨウナタネは明治時代に米国やヨーロッパから輸入された栽培種である。また、*B. rapa* 及び *B. juncea* は我が国において栽培種として古くから利用されているが、栽培由来の外来種である（文献 28）。なお、現在全国的に分布している *B. juncea* は第二次世界大戦後に帰化したものが広がったものと考えられている（文献 36）。さらに、*B. nigra* 及び *R. raphanistrum* は明治以降に人為的影響により我が国に侵入した外来種である。このように、いずれも栽培等に由来する帰化植物と考えられ、交雑性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

以上から、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

4 その他の性質

第二、3（交雑性）に挙げた我が国に自生するセイヨウナタネ及びその近縁種はいずれも外来種であり、交雑性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等としては特定されない。しかし、T45 と近縁種が交雑した場合、雑種後代が優占化して他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性、導入遺伝子が負担となり近縁種の個体群が縮小し、それらに依存して生息する昆虫等の野生生物の個体群の維持に影響を及ぼす可能性が考えられる。

T45 の交雑試験は行なっていないが、花粉の稔性は非組換えセイヨウナタネと同等であり（別添資料 10, p.9）、サイズについて統計学的有意差は認められなかった（別添資料 10, p.10, 表 4）。また、T45 の種子生産量は非組換えセイヨウナタネと相違はないと考えられることから、花粉の受け手としての交雑率に相違はないと考えられる。これらのことから、T45 の交雑性は非組換えセイヨウナタネと相違はないと推察される。したがって、T45 と近縁種が交雑した場合に雑種後代が優占化する可能性について、既往の知見に基づき評価した。

1) セイヨウナタネの他殖性

セイヨウナタネの他殖率は 5～30%と報告されている（文献 21；41；51）。

2) *B. rapa* との交雑性

セイヨウナタネと *B. rapa* の交雑率については、0.4～1.5%（文献 59）、0.2%（文献 78）、6.5～7.1%（文献 76）等の報告がある。また、F1 の生存率は平均で 2%以下であり（文献 59）、*B. rapa* とセイヨウナタネの雑種の花粉の稔性が平均で 41～53%に減少することが確認されている（文献 24）。さらに、F2 及び BC 世代での適応度についても、品種・集団間に差異があるものの、全体的に低くなると報告されている（文献 17）。

3) *B. juncea* との交雑性

セイヨウナタネと *B. juncea* の交雑性については、*B. juncea* とセイヨウナタネを 1:1 の割合で栽培した場合には 0.3～1.1%（文献 4）、セイヨウナタネのほ場内に 12 個体の *B. juncea* を植えた場合には 3%（文献 25）の雑種形成率が

報告されている。

また、セイヨウナタネと *B. juncea* の雑種の花粉稔性は 0~28% であり、種子の生産量も少ないと報告されている (文献 14)。また、セイヨウナタネを雌株として得られた雑種は弱く、生育遅延が認められ、生育段階で死に至ると報告されている (文献 7)。さらに、BC 世代でも同様に初期生育遅延や個体数の減少が報告されている (文献 54)。他方、*B. juncea* を雄株として得られた雑種の栄養生長は旺盛であるが、着莢率、結実粒数、千粒重や子実収量などは劣り、減数分裂に異常がみられ、花粉稔性も 20% 程度に低下することが報告されている (文献 7)。

4) *B. nigra* との交雑性

セイヨウナタネと *B. nigra* の交雑和合性は極めて低く、自然交雑試験において雑種形成は確認されなかった (文献 4)。さらに人工交配によってもほとんど雑種は得られないか (文献 3) 又は全く得られなかったことが報告されている (文献 5; 27)。また、雑種が形成されたとしても花粉の稔性は高くても 3.1% であり、完全に不稔になるものも報告されている。さらに、F1 をセイヨウナタネによって戻し交配した場合の結実率 (結実数/受粉した花) は 0.9% であり、*B. nigra* によって戻し交配した場合の結実率は 0.06% であった。また、これらの種子は萎縮しており、温室内においても発芽しなかった (文献 3)。このように、得られた雑種の稔性は低く、F2 や BC 世代を得ることは難しいと考えられる (文献 58)。

5) *R. raphanistrum* との交雑性

セイヨウナタネと *R. raphanistrum* の交雑和合性に関しては、セイヨウナタネと *R. raphanistrum* を 600:1 の割合で栽培した場合、0.05% の雑種形成が報告されている (文献 9)。しかし、実際のほ場における自然交雑は極めて稀 (文献 56; 76) であり、また、*R. raphanistrum* がごくありふれた雑草となっているスイスにおける調査でも、セイヨウナタネのほ場近くに自生する *R. raphanistrum* の個体群からセイヨウナタネとの雑種は確認されなかった (文献 68)。他方、人工交配や胚培養 (文献 27) あるいは細胞質雄性不稔系統 (文献 2; 11) を用いてセイヨウナタネと *R. raphanistrum* の雑種を作出することができる。しかし、得られた雑種の花粉の稔性は著しく低かったことが報告されている (文献 2)。

以上から、T45 と近縁種が交雑し、自然環境下で雑種後代が優占化して他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性は、宿主品種の属する種であるセイヨウナ

タネと同様に低いと考えられる。

他方、導入遺伝子が負担となり近縁種の個体群の維持に影響を及ぼす可能性に関しては、除草剤グルホシネートが存在しない自然条件下では、*pat* 遺伝子を有する T45 の競合における優位性、有害物質の産生性及び交雑性は宿主の属する種であるセイヨウナタネと相違はないと判断された。したがって、本遺伝子が負担となり、短期的に種間雑種の個体群の維持に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

以上から、T45 とセイヨウナタネを含む近縁種が交雑した場合、雑種後代が優占化して他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性、導入遺伝子の影響により近縁種の個体群が縮小し、それらに依存して生息する昆虫等の野生生物の個体群の維持に影響を及ぼす可能性はいずれも極めて低く、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

第三 生物多様性影響の総合的評価

我が国では、セイヨウナタネは河原や線路沿いでの群生が報告されている。また、我が国では長期にわたるセイヨウナタネ種子の輸入経験があり、種子のこぼれ落ちはこれまでも起こっていたと考えられるが、こぼれ落ちた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されていない。さらに、人為的攪乱のない自然条件下では、ほ場から逸出して野生化したと考えられるセイヨウナタネの個体群は短期間で消滅することが報告されている。

なお、T45 はカナダ及び米国にてそれぞれ 2004 年及び 2003 年まで栽培されていたが、その後栽培を中止しており、それ以降はいずれの地域においても商業栽培されることはなく、今後大量に我が国に輸入される可能性はないと考えられる。

競合における優位性に関する形質として、我が国の隔離ほ場試験及び特定網室試験において、T45 の形態及び生育の特性、生育初期の高温耐性、成体の越冬性及び越夏性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性及び休眠性について、非組換えセイヨウナタネと比較した結果、競合における優位性を高めることを示唆する形質は認められなかった。

また、T45 は除草剤グルホシネートに耐性を示す。しかし、本形質は除草剤グルホシネートの存在下においてのみ生存に優位に作用するが、自然環境下において除草剤グルホシネートが散布されることは想定し難いため、本形質を有していても競合における優位性を高めることはないと考えられた。

以上から、競合における優位性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

T45 は PAT 蛋白質を新たに産生するが、本蛋白質は高い基質特異性を有しており、基質であるグルホシネート以外の化合物にアセチル基を転移することは考え難い。よって、PAT 蛋白質が宿主の代謝経路に影響して新たに有害物質を産生することはないと考えられる。また、相同性検索の結果、PAT 蛋白質と既知の毒素又はアレルゲンとの相同性は認められなかった。

また、T45 の有害物質の産生性について、我が国の特定網室において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行なった結果、いずれの調査項目においても、非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差は認められなかった。

さらに、国外での調査において、T45 の種子中のエルシン酸及びグルコシノレ

ート含量は、カノーラ品種として規定される範囲内であることが確認された。

以上から、有害物質の産生性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

我が国に自生するセイヨウナタネとその近縁種のうち交雑可能なものとして、セイヨウナタネ、*B. rapa*、*B. juncea*、*B. nigra* 及び *R. raphanistrum* が挙げられた。しかし、いずれも外来種であり、交雑性に関して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されない。よって、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

しかし、T45 と近縁種が交雑した場合、雑種後代が優占化して他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性、導入遺伝子が負担となり近縁種の個体群が縮小し、それらに依存して生息する昆虫等の野生生物の個体群の維持に影響を及ぼす可能性について検討した。

T45 の交雑性試験は行なっていないが、我が国の特定網室試験において、花粉の稔性及びサイズについて非組換えセイヨウナタネと相違は認められなかった。また、T45 の種子の生産量は非組換えセイヨウナタネと相違はないと考えられることから、花粉の受け手としての交雑性についても、両者の間に相違はないと考えられた。これらのことから、T45 の交雑性は非組換えセイヨウナタネと相違はないと推察された。また、セイヨウナタネと近縁種の交雑性及び雑種が優占化する可能性については、第二、4 に詳述したように、種々の生殖的隔離障壁が存在することから、T45 と近縁種の雑種後代が優占化して他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性は低いと考えられた。

他方、導入遺伝子が負担となり近縁種の個体群の維持に影響を及ぼす可能性に関しては、除草剤グルホシネートが存在しない自然条件下では、*pat* 遺伝子を有する T45 の競合における優位性、有害物質の産生性及び交雑性は、宿主の属する種であるセイヨウナタネと相違はないと判断された。したがって、本遺伝子が負担となり、短期的に種間雑種の個体群の維持に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

以上を総合的に評価し、T45 を第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

参考文献

社外秘情報につき非開示

別添資料の内容

- 別添資料 1 ベクター-pHOE4Ac()の塩基配列
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 2 T45 における T-DNA 領域外のベクター配列の存在の確認
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 3 Genetic characterization of glufosinate-ammonium tolerant summer rape lines (Kumar *et al.*, 1998)
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 4 T45 における挿入遺伝子の特性
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 5 T45 におけるシーケンス解析による挿入遺伝子の決定
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 6 挿入遺伝子の世代間における安定性の確認
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 7 挿入遺伝子発現の分析
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 8 PAT 蛋白質の検出
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 9 1996 年隔離ほ場試験報告書
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 10 2006 年特定網室試験報告書
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 11 カナダにおける栽培試験結果
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 12 脂肪酸プロファイル及びグルコシノレート含量
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 13 イベント識別法
社外秘情報につき非開示

緊急措置計画書(栽培目的の場合)

平成 16年8月18日

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社
代表取締役社長 ローレンス ユー

住所 東京都港区高輪4-10-8

第一種使用規定の承認を申請している除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ(*pat, Brassica napus* L.)(T45, OECD UI: ACS-BN008-2)(以下、「T45」とする。)の第一種使用において、生物多様性影響が生ずるおそれがあるとリスク評価において確認されたならば、弊社は適切に当該影響を防止するため、以下の措置をとることとする。

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

弊社は社内に緊急措置に適切に対応するために危機対策本部を速やかに設置する。危機対策本部は研究開発本部長を本部長とし、バイオサイエンスグループリーダーを事務局として、広報担当者を含む各部門から構成される。

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は我が国へのT45種子の輸出者、T45種子を配給した我が国の種苗会社、その種子を買った我が国の農家や栽培者、配給した種子の量及び時期を可能な限り特定する。

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

確認された明らかな生物多様性影響が生ずるおそれに基づいて適切に、弊社は上記2で明らかにした我が国へのT45種子の輸出者、我が国の種苗会社、農家や栽培者に生物多様性影響に関して情報提供を行い、当該影響を防止するために適切な措置を講ずることを通知する。さらに、弊社は可能な限りにおいてT45種子を我が国に配給している、またはその可能性のある国の種苗会社及び農業者団体に生物多様性影響が生ずるおそれがあると確認されたこと及び当該影響を防止する措置に関して通知する。

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

確認された明らかな生物多様性影響が生ずるおそれに基づき適切に、弊社は上記2及び3で明らかにした個人や団体に、T45を不活性化する措置か、さもなくばT45の環境への放出を防止するための措置、及びすでに環境に放出されたT45の拡散を防止する措置について連絡、指導する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

T45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、速やかに農林水産省農産安全管理課及び環境省野生生物課に連絡するとともに、緊急措置対応のための社内における組織体制及び連絡窓口を報告する。

緊急措置計画書(食用、飼料用に供する場合)

平成 16年8月18日

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社
代表取締役社長 ローレンス ユー

住所 東京都港区高輪4-10-8

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ(*pat, Brassica napus* L.)(T45, OECD UI: ACS-BN008-2)(以下、「T45」とする。)の第一種使用において、生物多様性影響が生ずるおそれがあるとリスク評価において確認されたならば、弊社は適切に当該影響を防止するため、以下の措置をとることとする。

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

弊社は社内に、緊急措置に適切に対応するために危機対策本部を速やかに設置する。危機対策本部は研究開発本部長を本部長とし、バイオサイエンスグループリーダーを事務局として、広報担当者を含む各部門から構成される。

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社はT45穀粒の我が国への輸入業者、我が国においてT45穀粒を配給した業者、輸入したT45穀粒の量及び時期を可能な限り特定する。

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

確認された明らかな生物多様性影響が生ずるおそれに基づいて適切に、弊社は上記2で明らかにしたT45穀粒の我が国への輸入業者及び我が国における配給業者に当該影響を防止するために適切な措置を講ずることを通知する。さらに、弊社は可能な限りにおいてT45穀粒を我が国に配給している、又はその可能性のある国の配給業者及び農業者団体に生物多様性影響が生ずるおそれが確認されたこと及び当該影響を防止する措置に関して通知する。

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

確認された明らかな生物多様性影響が生ずるおそれに基づいて適切に、弊社は上記2及び3で明らかにした個人や団体に、T45を不活化する措置か、さもなければT45の環境への放出を防止するための措置、及び既に環境に放出されたT45の拡散を防止する措置について連絡、指導する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

T45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、速やかに農林水産省農産安全管理課及び環境省野生生物課に連絡するとともに、緊急措置対応のための社内における組織体制及び連絡窓口を報告する。