資料３－２

除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ
(*cp4 epsps, gox, Brassica napus* L.)(RT200, OECD UI : MON-89249-2)
申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書……1
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
イ．和名、英名及び学名……2
ロ．宿主の品種名……2
ハ．国内及び国外の自然環境における自生地域……2
(2) 使用等の歴史及び現状……3
イ．国内及び国外における第一種使用等の歴史……3
ロ．主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途……4
(3) 生理的及び生態学的特性……4
イ．基本的特性……4
ロ．生息又は生育可能な環境の条件……4
ハ．捕食性又は寄生性……4
ニ．繁殖又は増殖の様式……5
①　種子の散布様式、脱粒性、休眠性及び寿命……5
②　栄養繁殖の様式ならびに自然条件において植物体を再生しうる組織または器官……5
③　自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁種との交雑性……5
④　花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命……6
ホ．病原性……7
ヘ．有害物質の産生性……7
ト．その他の情報……7
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
イ．構成及び構成要素の由来……8
ロ．構成要素の機能……8
(2) ベクターに関する情報……13
イ．名称及び由来……13
ロ．特性……13
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法……13
イ．宿主内に移入された核酸全体の構成……13
ロ．宿主内に移入された核酸の移入方法……13
ハ．遺伝子組換え生物等の育成の経過……15

(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
イ．移入された核酸の複製物が存在する場所..... 15
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..... 16
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..... 16
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..... 16
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されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度..... 16
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性... 18
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違..... 18
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報..... 21
(1) 使用等の内容..... 21
(2) 使用等の方法..... 21
(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..... 21
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置..... 22
(5) 実験室等での使用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..... 22
(6) 国外における使用等に関する情報..... 22
第二　項目ごとの生物多様性影響の評価 23
1 競合における優位性..... 23
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定..... 23
(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..... 25
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断..... 25
2 有害物質の産生性..... 25
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定..... 25
(2) 影響の具体的内容の評価..... 26
(3) 影響の生じやすさの評価..... 26
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断..... 26
3 交雑性..... 27
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定..... 27
(2) 影響の具体的内容の評価..... 27
(3) 影響の生じやすさの評価..... 27
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断..... 27
4 その他..... 27
(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..... 27
イ．非組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑性及び形成された雑種が我が国の自然条件に適応して優占化していく可能性..... 28
① 非組換えセイヨウナタネと *B. rapa* との交雑性..... 29
② 非組換えセイヨウナタネと *B. juncea* との交雑性..... 29
③ 非組換えセイヨウナタネと *B. nigra* との交雑性 30
④ 非組換えセイヨウナタネと *R. raphanistrum* との交雑性 30
ロ．本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑率..... 31
① 本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの交雑率... 31
② 本組換えセイヨウナタネとその他の近縁種との交雑率..... 32
(2) 本組換えセイヨウナタネに使用されている植物ウイルス由来の Figwort mosaic virus 35S プロモーターについて 33
第三 生物多様性影響の総合的評価..... 33
引用文献..... 39
緊急措置計画書..... 40

第 一 種 使 用 規 程 承 認 申 請 書

平成 16 年 8 月 9 日

農 林 水 産 大 臣　亀 井 義 之　殿
環 境 大 臣　小 池 百 合 子　殿

氏名　日本モンサント株式会社
申請者　代表取締役社長　山根 精一郎　印
住所　東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

遺伝子組換え生物等の種類の名称	除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ (*cp4 epsps*, *gox*, *Brassica napus* L.) (RT200, OECD UI : MON-89249-2)
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

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

セイヨウナタネはアブラナ科アブラナ属に属する一年生植物であり、その学名は *Brassica napus* L.である。

ロ. 宿主の品種名

宿主はアブラナ科アブラナ属の春播き普通セイヨウナタネ種(*Brassica napus* L.)である Westar である。

ハ. 国内及び国外の自然環境における自生地域

セイヨウナタネ(*Brassica napus*)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、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* との交雑の結果できた複 2 倍体種である(文献 1)。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(文献 2)。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*(カラシナ)及び *B. nigra*(クロガラシと呼ばれる)である(文献 3)。尚、*B. juncea* には、カラシナの他に明治以前に我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(文献 4; 文献 3; 文献 5)。

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(文献 6)、我が国においては、河川の土手等で生育していたり(文献 7; 文献 3)、海外から食用油の原料として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(別添資料 1)。しかし、一般に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(文献 6)。

(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8)。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1)。

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(文献 9)。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。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セイヨウナタネ栽培を始めた(文献1)。

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(文献 9)。従って、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。また搾油粕は動物用飼料として利用されている(文献1)。

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ヤ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思われる。平安時代の「延喜式」(905)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)は少なくなっていった(文献1)。

我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。戦後再び急激に増加し、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年代の我が国の急激な経済発展によって、その栽培面積は急激に減少し、現在我が国でのセイヨウナタネの商業栽培はほとんど行われておらず、主には観光用等として栽培されている(文献2; 文献10)。

尚、2003年のカナダにおけるセイヨウナタネの栽培面積は、約469万haであった(文献 11)。モンサント・カナダ調べによると、現在カナダで商業栽培されているセイヨウ

ナタネの約 92%が除草剤耐性の形質を付与されており、これらの内、77%が遺伝子組換え技術、15%が突然変異育種、7.5%が従来育種法により除草剤耐性の形質が付与されている。また、*B. rapa*(在来ナタネ)の栽培面積は、セイヨウナタネの栽培面積の約 3.75%であり、その栽培地域も主にアルバータ州の北西地域及びブリティッシュコロンビアの北東地域に局在している。尚、現在商業栽培されている *B. rapa*(在来ナタネ)の中には、遺伝子組換え技術により開発された品種は存在しない。

ロ. 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

セイヨウナタネの主な生産地域は、中国(1,132 万 t)、EU(888 万 t)、カナダ(506 万 t)、インド(480 万 t)である。また、オーストラリアの生産量が増加しており、2002 年度で 160 万 t 生産されている(文献 12)。

主な輸出国はカナダ(273 万 t)とオーストラリア(123 万 t)で、全輸出量の 68%を占める(文献 12)。日本には 2002 年度に 208 万 t が輸入され、主な輸入国はカナダ(158 万 t)、次いでオーストラリア(45 万 t)である(文献 13)。また、ナタネ油は 2003 年に 1 万 7 千 t、飼料用の油粕は 4 万 2 千 t 輸入されている(文献 14)。

(3) 生理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 2)。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。また、日本全国で栽培可能である(文献 9)。

ハ. 捕食性又は寄生性

－

ニ. 繁殖又は増殖の様式

① 種子の散布様式、脱粒性、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(文献 9)。

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(文献 2)。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(文献 15)。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(文献 16)。これらの獲得された休眠性は低温条件(2～4℃)(文献 16)や、再度変温条件下におくことで破られることが知られている(文献 15)。

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%の発芽力があったが、室内に放置した場合の 3 年後の発芽率は約 30%であった(文献 17)。

② 栄養繁殖の様式ならびに自然条件において植物体を再生しうる組織または器官

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 5～30%と報告されている(文献 18; 文献 19)。

セイヨウナタネと交雑可能な近縁種としては、我が国に古来から栽培種として利用されている *B. rapa*、明治時代以降に我が国に帰化した *B. nigra*、そして昭和初期に帰化した *Raphanus raphanistrum*(セイヨウノダイコンと呼ばれる)、更には戦後に帰化した *B. juncea* が挙げられる(文献 4; 文献 3; 文献 1)。

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、我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(文献 1)。*B. rapa* のセイヨウナタネとの交雑性に関しては、*B. rapa*(在来ナタネ)の集団が、セイヨウナタネのほ場の境界線より外側のほ場に植えた場合は、雑種が形成される割合は低く 0.4%～1.5%であったが(文献 20)、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た場合の雑種形成率は 13%であったと報告されている(文献 21)。また、セイヨウナタネのほ場内に *B. rapa*(在来ナタネ)1 個体のみを植えた場合の交雑率は 93%であった(文献 21)。

B. nigra は我が国の荒地や路傍で自生化している帰化雑草であるが、我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(文献 4; 文献 3; 文献 5)。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(文献 22)。また人工受粉による交雑も試みられているが、ほとんど失敗に終わり(文献 23; 文献 24)、成功してもその確率は非常に少なかった(文献 25; 文献 26)。

R. raphanistrum は我が国の荒地や路傍で自生化する帰化植物であるが、昭和初期に我が国に帰化したと推測されている(文献 4; 文献 3)。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ところ 0.2%の割合で雑種が形成されたという報告がされている(文献 27)。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、雑種は認められなかった(文献 28)。

B. juncea には、カラシナの他に明治以前に我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(文献 4; 文献 3; 文献 5)。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(文献 26; 文献 22; 文献 29; 文献 30; 文献 31)。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もある(文献 26; 文献 21)。また、交雑はどちらが花粉親の場合でも起こるが、*B. juncea*(カラシナ)が花粉親の場合は形成される雑種の数が減少することが知られている(文献 26; 文献 21)。

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 花あたり約 6～7 万粒の花粉を生産する。

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 37～39μm、短径 20～22μm である(文献 1)。また、セイヨウナタネの花粉は重く粘性がある(文献 6)。

花粉の媒介方法は風または昆虫(主にミツバチ)である(文献 6)。

セイヨウナタネの花粉は重くて粘着性があるが、サイズが小さい為、花粉は風によって飛散するという報告がある(文献 32)。文献 33 の報告によると花粉源から 1.5km 離れた地点で、1 ㎡あたり 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。文献 34 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。また、長距離の花粉の移動に関しては、昆虫が重要な役割を果たしていることが報告されている(文献 35; 文献 36)。文献 35 によると、ミツバチの群生は巣から 2km 離れた地点まで蜜を採取しに行くことが知られているため、ミツバチは巣を中心に直線距離にして 4km 程度の距離は移動すると考えられる。従って、理論的にはミツバチによって運ばれる花粉も最長で 4km 程度は移動することが出来ると推察される。

花粉の稔性は 24 時間から 1 週間程度維持され、4 日目を過ぎた段階から次第に失われていく(文献 37)。

ホ. 病原性

ー

ヘ. 有害物質の産生性

非組換え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(文献 9)。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、油粕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(油粕 1g 当たり 30μmol 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 Wester もこの品種の一つである。

本組換えセイヨウナタネにおける構成成分を評価する過程で、これらエルシン酸及びグルコシノレートの分析も行われているが、これらの成分が本組換えセイヨウナタネにおいてカノーラ品種として認められる量を超えず、対照の非組換え品種 Wester の分析値の範囲内かそれに近い値を示すことが確認されている(別添資料 5 の p40 の表 5-6)。

ト. その他の情報

－

2　遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

イ．構成及び構成要素の由来

除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ(*cp4 epsps, gox, Brassica napus* L.) (RT200, OECD UI : MON-89249-2) (以下「本組換えセイヨウナタネ」とする)の作出に用いられた供与核酸の構成とその由来は表 1(p11～12)に示した通りである。尚、本組換えセイヨウナタネの導入に用いた *cp4 epsps* 遺伝子及び *gox* 遺伝子は、植物中での発現量を高めるために塩基配列に改変が加えられた遺伝子である。アミノ酸配列では、本組換えセイヨウナタネで発現する CP4 EPSPS 蛋白質は、野生型の CP4 EPSPS 蛋白質と比較して N 末端 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。一方、本組換えセイヨウナタネで発現する GOX 蛋白質のアミノ酸配列は野生型である。従って、本組換えセイヨウナタネへ導入された遺伝子及びその遺伝子から発現する蛋白質のうち、改変の加えられたものについては、それぞれ「改変型 *cp4 epsps* 遺伝子」「改変型 *gox* 遺伝子」「改変型 CP4 EPSPS 蛋白質」と記す。

本組換えセイヨウナタネと既に我が国で承認されている除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ(*cp4 epsps, gox, Brassica napus* L.) (RT73, OECD UI : MON-ØØØ73-7) (以下「RT73」とする)との違いは、導入ベクターにおけるグリホサート分解酵素遺伝子が RT73 では突然変異誘発により得られた 3 ヶ所のアミノ酸が改変された変異型 *gox* 遺伝子(=*gox v247* 遺伝子)であるのに対し、本組換えセイヨウナタネではアミノ酸配列が野生型と同じであることのみである。

本組換えセイヨウナタネの構成要素の塩基配列は別添資料 2 に示した。

ロ．構成要素の機能

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機能は表 1(p11～12)に示した。

【改変型 *cp4 epsps* 遺伝子】

①　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一つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)(E.C.2.5.1.19)と特異的に結合してその活性を阻害する(文献 38; 文献 39)。そのため植物はグリホサート処理をすると EPSPS 活性が阻

害されることにより蛋白質合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり枯れてしまう。本組換えセイヨウナタネの目的遺伝子である改変型 *cp4 epsps* 遺伝子は、除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。改変型 *cp4 epsps* 遺伝子によって産生される改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸経路が正常に機能して生育することができる。

EPSPS は植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり、植物中では葉緑体または色素体に存在する(文献 40)。シキミ酸経路は植物の固定する炭素の 5 分の 1 に関与すると考えられる重要な代謝経路である(文献 41; 文献 39)。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(3-deoxy-D-arabino-heptulonate-7-phosphate, DAHP)合成酵素によって調節を受けて制御されるが、DAHP から EPSPS が触媒する 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸(EPSP)の生成を経てコリスミ酸が生成されるまでの段階では、中間代謝物質や最終生成物によって阻害されたり抑制される可能性が極めて低いことが明らかにされている(文献 42; 文献 43)。従って、EPSPS 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。実際に、通常の 40 倍の EPSPS を生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されており(文献 44)、加えて、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤ラウンドアップ耐性作物(ダイズ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、シキミ酸経路の最終産物である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 が本経路における律速酵素ではないことを支持している。また、EPSPS はホスホエノールピルビン酸(PEP)とシキミ酸-3-リン酸(S3P)から、EPSP と無機リン酸(Pi)を生ずる可逆反応を触媒する酵素であり(文献 45)、これらの基質と特異的に反応することが知られている(文献 46)。これら以外に唯一 EPSPS と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸であるが、その反応性は S3P との反応性の 200 万分の 1 にすぎず、生体内で基質として反応するとは考えられない。

尚、本組換えセイヨウナタネ中で発現する改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は、野生型の CP4 EPSPS 蛋白質と比較して N 末端配列 2 番目のセリンがロイシンに改変されているが、この改変は N 末端側に *Nde*I の制限酵素切断部位を作ったために生じた。

また、改変型 *cp4 epsps* 遺伝子の 5'末端には、*Arabidopsis thaliana* 由来の葉緑体輸送ペプチド(CTP)遺伝子である *AEPSPS/CTP2* 遺伝子が結合している。この遺伝子は翻訳された蛋白質の葉緑体への輸送を容易にし、植物体中での発現程度を高める働きを持つ(文献 47)。

② 改変型 CP4 EPSPS 蛋白質が、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(GenBank, EMBL, PIR, NRL3D, SwissProt)を用いて比較

したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有していなかった。

【改変型 *gox* 遺伝子】

① 土壌中でグリホサートは微生物によって分解・不活化される。これは微生物中のグリホサート分解酵素(Glyphosate Oxidoreductase; GOX)が、グリホサートを殺草活性がないアミノメチルホスホン酸(AMPA)とグリオキシレートへと分解する為であり、これまでにグリホサートを分解する多数のグラム陰性菌やグラム陽性菌で見いだされている(文献 48; 文献 49)。そこで、グリホサートから AMPA とグリオキシレートへの分解能を持つと推定される微生物の中から、最も高いグリホサート分解能を示した *Ochrobacterium anthropi*(旧分類名: *Achromobactor* sp.)LBAA 株を選抜し、*gox* 遺伝子を単離した (文献 50; 文献 51)。*Ochrobacterium anthropi* LBAA 株は植物根圏中に最も多く存在する微生物の一つとして報告されており(文献 52)、*Ochrobacterium anthropi* LBAA 株は、グリホサートを炭素源やリン源として利用することができることが分かっている(文献 51)。また、GOX 蛋白質に関しては、グリホサートを AMPA とグリオキシレートに分解する反応を触媒する酵素であるが、高い基質特異性を有しており、植物中の代謝経路に作用することはない(文献 53)。

尚、改変型 *gox* 遺伝子の 5'末端には *Arab-SSU1A-transit* 遺伝子が結合しており、これは *A.thaliana* の ribulose bisphosphate carboxylase の小サブユニットに由来する *CTP* 遺伝子である。この遺伝子は翻訳された蛋白質の葉緑体への輸送を容易にし、植物体中での発現程度を高める働きを持つ(文献 47)。

② GOX 蛋白質が、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(GenBank, EMBL, PIR, NRL3D, SwissProt)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を有していなかった。

表 1　プラスミド PV-BNGT03 の構成要素 [1]

構成要素	由来及び機能
改変型 *gox* 遺伝子発現カセット	
FMV promoter	Figwort mosaic virus の 35S プロモーター (文献 54; 文献 55; 文献 56)。目的遺伝子の全組織での恒常的発現に関与する。尚、FMV が属する *Caulimovirus* 属のウイルスの中で、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)がセイヨウナタネの属する *Brassica* 属植物を宿主とすることが知られている。しかし、FMV と CaMV の 35S プロモーターの相同性は 10%以下と低いことから、組換えによって新たなウイルスが生じる可能性は極めて低いと考えられた(別添資料 6)。
Arab-SSU1A-transit	*Arabidopsis* の ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase の small subunit 1A における葉緑素輸送ペプチド配列の N 末端配列(文献 57)。目的蛋白質を葉緑体へと輸送する。
改変型 *gox*	*Ochrobacterium anthropi* LBAA 株由来のグリホサート分解酵素(glyphosate oxidoreductase; GOX)遺伝子 (文献 51; 文献 58)。植物体中での発現を高めるために塩基配列に改変が加えられている。グリホサートをアミノメチルホスホン酸(AMPA)とグリオキシレートに分解する。
E9 3'	エンドウの *rbcS E9* 遺伝子の 3’非翻訳領域で改変型 *gox* 遺伝子のポリアデニル化を終結させる(文献 59; 文献 60)。
改変型 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット	
FMV promoter	Figwort mosaic virus の 35S プロモーター (文献 54; 文献 55; 文献 56)。目的遺伝子の全組織での恒常的発現に関与する。尚、FMV が属する *Caulimovirus* 属のウイルスの中で、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)がセイヨウナタネの属する *Brassica* 属植物を宿主とすることが知られている。しかし、FMV と CaMV の 35S プロモーターの相同性は 10%以下と低いことから、組換えによって新たなウイルスが生じる可能性は極めて低いと考えられた(別添資料 6)。
AEPSPS/CTP2	*Arabidopsis* の *epsps* 遺伝子における葉緑素輸送ペプチド配列の N 末端配列 (文献 54; 文献 55; 文献 61)。目的蛋白質を葉緑体へと輸送する。
改変型 *cp4 epsps*	*Agrobacterium* sp. strain CP4 由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)遺伝子(文献 53)。植物体中での発現を高めるために塩基配列に改変が加えられている。除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。
E9 3'	エンドウの *rbcS E9* 遺伝子の 3’非翻訳領域で改変型 *cp4 epsps* 遺伝子のポリアデニル化を終結させる(文献 59; 文献 60)。

[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。

表 1　プラスミド PV-BNGT03 の構成要素(続き) [2]

構成要素	由来及び機能
その他の構成要素	
Right Border (RB)	pTiT37 プラスミドに由来する制限フラグメントであり、*Agrobacterum tumefaciens* から植物ゲノムへの T-DNA の導入を開始する (文献 62)。
Left Border (LB)	Octopine Ti プラスミド pTiA6 に由来する制限フラグメントで、25 bp の T-DNA 左境界を含む(文献 63).
ori-V	広域ホストプラスミド RK2 に由来する *Agrobacterium* での複製起点セグメント (文献 64)。
ori-322	pBR322 由来で、*Escherichia coli* 中における PV-BNGT03 の複製開始点 (文献 65).
aad	Tn7 AAD 3' adenyltransferase をコードする細菌遺伝子。細菌細胞においてスペクチノマイシン/ストレプトマイシン耐性が付与される(文献 66).

[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。

(2) ベクターに関する情報

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合成プラスミドベクターPV-BNGT03 は、大腸菌(*Escherichia coli*)由来のプラスミドpBR322などから構築されたプラスミドベクターである。

ロ. 特性

本ベクターの全塩基数は11,479bp であり、改変型 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット及び改変型 *gox* 遺伝子発現カセットを持つ(p14 の図 1)。本ベクターの感染性は知られていない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ. 宿主内に移入された核酸全体の構成

本組換えセイヨウナタネの作出に用いられた合成プラスミドベクターPV-BNGT03 の T-DNA 領域は FMV プロモーターによって制御される改変型 *gox* 遺伝子発現カセット([P-FMV]-[Arab-SSU1A-transit]-[改変型*gox*]-[E9 3’])と同じくFMVプロモーターによって制御される改変型 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット([P-FMV]-[AEPSPS/CTP2] -[改変型 *cp4 epsps*]-[E9 3’])から構成される。供与核酸の構成及び構成要素の由来は表 1(p11～11)に示した通りである。

ロ. 宿主内に移入された核酸の移入方法

プラスミド･ベクターPV-BNGT03 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により非組換えセイヨウナタネ品種 Westar に導入した。

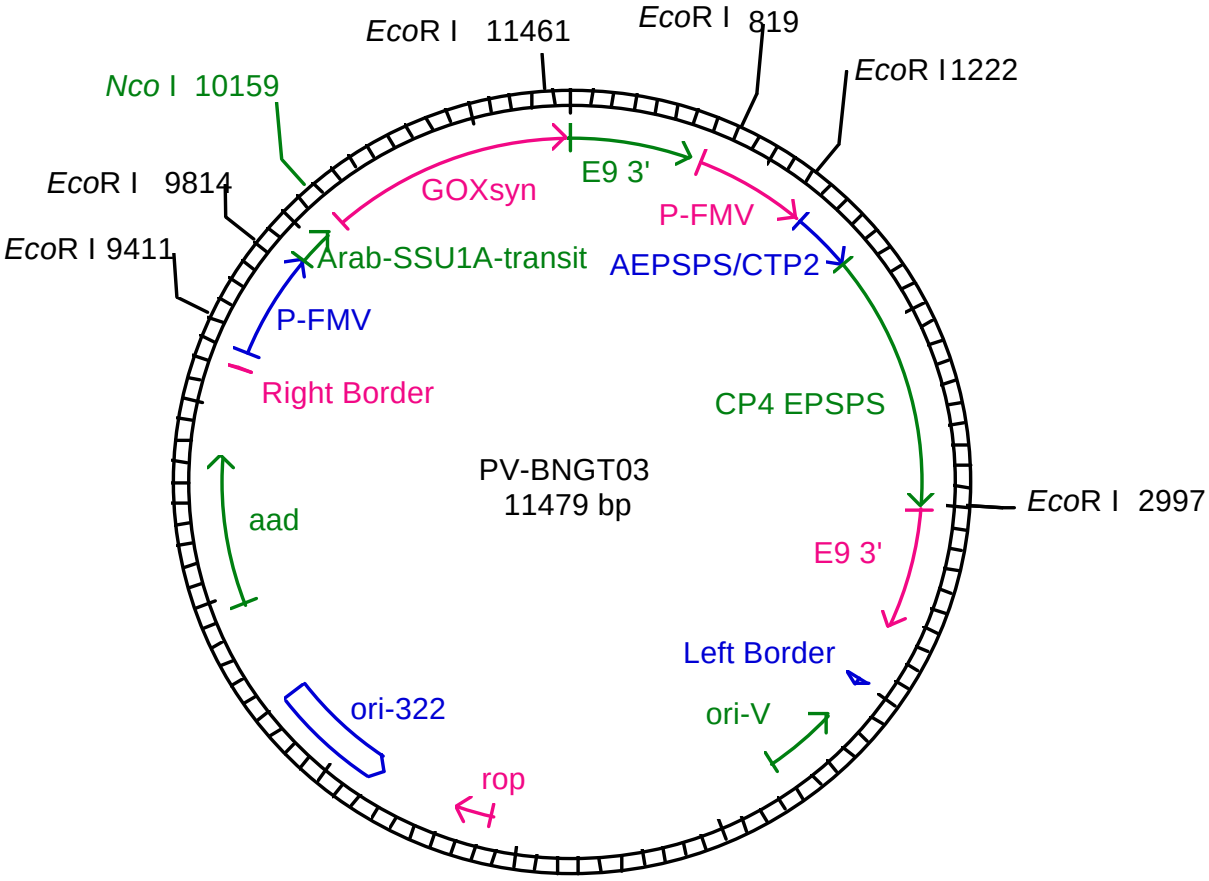

図 1　PV-BNGT03 のプラスミド・マップ [3]

[3] 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。

ハ. 遺伝子組換え生物等の育成の経過

アグロバクテリウム法によりプラスミド・ベクターPV-BNGT03 の T-DNA 領域を Westar の外植片(葉又は蕾)に導入した後、グリホサートを含む培地上で再生個体を得た。尚、これらの再生個体については、カルベニシリンとパロモマイシンを含む培地で培養することによりアグロバクテリウムを除去した。

得られた再生個体について挿入遺伝子や改変型 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量の解析により更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、ほ場での実際のグリホサート耐性及び農業形質などから総合的に判断して本組換えセイヨウナタネが選抜された(p15 の図 2)。

わが国における認可状況は以下の通りである。

2002 年 9 月　農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針 6 の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。

2002 年 9 月　厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。

2003 年 3 月　農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。

2003 年 4 月　農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)及び栽培について、指針への適合性が確認された。

[社外秘情報につき非開示]

図 2　除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ RT200 の育成図

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

イ. 移入された核酸の複製物が存在する場所

染色体上

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

R3 及び R4 世代を用いた挿入遺伝子のサザンブロット分析及び PCR 分析の結果、本組換えセイヨウナタネのゲノム DNA 中には改変型 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセット及び改変型 *gox* 遺伝子発現カセットを含む T-DNA 領域のみが本組換えセイヨウナタネのゲノム DNA の 1 ヶ所に 1 コピーだけ挿入されており、その他の構成要素は挿入されていないことが明らかとなった(p17 の図 3)。尚、本組換えセイヨウナタネ関して行った挿入遺伝子の解析の詳細は別添資料 3 に示した。

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

挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代(用いた世代は R3、R4 世代)における解析結果によって示された(別添資料 5 の p42～60)。また、本組換えセイヨウナタネの世代間における挿入遺伝子の発現の安定性に関しては、各世代での除草剤グリホサートに対する耐性能により確認されている。

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されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度

プラスミド PV-BNGT03 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考えられない。

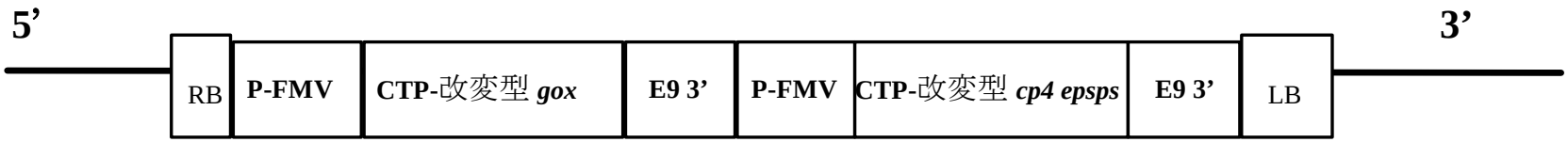

図 3　除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ RT200 の挿入遺伝子地図 [4]

[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。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

本組換えセイヨウナタネを検出及び識別する為の方法としては、挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムの DNA 配列をプライマーとして定性的 PCR 法を開発しており、本法により本組換えセイヨウナタネを特異的に検出可能である(別添資料 2)。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ． 本組換えセイヨウナタネ中において改変型 *cp4 epsps* 遺伝子がコードする改変型 CP4 EPSPS 蛋白質及び改変型 *gox* 遺伝子がコードする GOX 蛋白質が発現していることは ELISA 法により確認されている(別添資料 5 の p37 の表 5-2)。

ロ． [5] 本組換えセイヨウナタネとその宿主である対照の非組換えセイヨウナタネとの相違は、2002 年 5 月から 2003 年 3 月まで独立行政法人　野菜茶業研究所の隔離ほ場内のほ場区画 No.1 で行った。尚、本組換えセイヨウナタネの環境安全性評価試験は、2001 年 7 月 23 日付け(13 農家 669 号)で指針適合を受け(別添資料 4)、日本モンサント河内研究農場の隔離ほ場で R4 世代を用いて栽培試験を試みたが、本組換えセイヨウナタネで発芽能力及び初期成育に著しい低下が認められた。その為にこの年の試験を断念して 2002 年度に新たに試験を行うための採種栽培を行った。その後、採取した本組換えセイヨウナタネ(R5 世代)と対照の非組換えセイヨウナタネの種子を 2002 年度の隔離ほ場試験に供試した。

① 形態及び生育の特性

別添資料 5 の p16 の表 1 に示すように 18 項目(発芽揃い、発芽率、開花期、草丈、開花終わり、草姿または草型、一次分枝数、開花数、収穫期、着莢数、裂莢率、莢の長さ、莢の幅、莢当たりの種子数、子実の色、子実の粒大整否(粒揃い)、臍の形、植物重)につ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間の形態及び生育の特性の差異を各 3 反復、反復当たり 5 個体(草丈、開花終わり、草姿または草型の項目については 7 個体)について調査した。莢に関する調査(莢の長さ、莢の幅、莢当たりの種子数、子実の色、子実の粒大整否、臍の形)については、反復毎に 5 個体の 10 花について人工授粉を行い、それぞれ比較的着粒の良好な 5 莢を選び、試験の対象とした。人工自家受粉は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間でほぼ同じ部位の花について、柱頭に十分量の花粉が付着するように行った後にタグ等で印はつけたが、過湿条件による腐敗或いは落莢が生じるのを避けるために袋掛けは行わなかった。

[5] 本項目中の以下に続く①～⑦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。

その結果、開花期、7 日目の開花数及び百粒重で対照の非組換えセイヨウナタネとの間で統計学的有意差が認められたが、その他の項目について差異は認められなかった(別添資料 5 の p17 の表 2)。尚、差異の認められた開花期については本組換えセイヨウナタネが平均で 41.2 日であったのに対して対照の非組換えセイヨウナタネは 40.0 日であった。また 7 日目の開花数については、本組換えセイヨウナタネが 108.7、対照の非組換えセイヨウナタネが 95.2 であった。百粒重に関しては、本組換えセイヨウナタネが平均で約 409mg であったのに対して、対照の非組換えセイヨウナタネは約 426mg であった。

② 生育初期における高温又は低温耐性

本組換えセイヨウナタネの生育初期における高温及び低温耐性を対照の非組換えセイヨウナタネと比較した。高温耐性試験については、1 葉期に揃えた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苗(各 5 個体×3 反復)を 35℃に設定した人工気象器(3,800lux, 14 時間日長)に 25 日間置き、その後葉齢、草丈、地際部から切り取った地上部生体重及び乾物重を調査した。その結果、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で葉齢、草丈、生体重及び乾物重に統計学的な有意差は認められなかった(別添資料 5 の p23 の表 5)。

低温耐性試験については、1 葉期に揃えた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苗(各 5 個体×3 反復)を 5℃に設定した人工気象器(3,000lux、12 時間日長)に 45 日間置き、その後葉齢、草丈、地際部から切り取った地上部生体重及び乾物重を調査した。その結果、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で葉齢、草丈、生体重及び乾物重に統計学的な有意差は認められなかった(別添資料 5 の p23 の表 4)。

③ 成体の越冬性又は越夏性

本隔離ほ場試験において、春に播種した本組換えセイヨウナタネは対照の非組換えセイヨウナタネと同様に、秋に結実後、枯死が始まっているのを観察した。以上のことから成体の越冬性試験は行わなかった。

④ 花粉の稔性及びサイズ

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3反復の生育特性調査区から、1 反復あたり 3 花から開花期に花粉を採取して、酢酸カーミン染色を行い、花粉稔性及びサイズを調査した。その結果、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネの花粉稔性は、それぞれ 98.0%と 97.8%であり統計学的有意差は認められなかった。またその大きさや形状にも差異は認められなかった(別添資料 5 の

p21 の写真 10)。

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、①の形態及び生育の特性で示したように、着莢数、莢当たりの種子数について本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で差異を調査している。その結果、全ての項目において本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で統計学的有意差は認められなかった(別添資料 5 の p17 の表 2)。

脱粒性については、①の形態及び生育の特性で示したように、裂莢率について本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で差異を調査している。その結果、裂莢率に関して、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で統計学的有意差は認められなかった(別添資料 5 の p17 の表 2)。

休眠性及び発芽率については、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人工自家受粉によって得られた反復ごとの収穫種子をそれぞれシャーレに播種し(各 30 粒/反復×3 反復)、25℃のインキュベーター内に静置して発芽率を調査した。その結果、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネにおける収穫種子の発芽率はそれぞれ 93.0%と 94.1%で、統計学的に有意差は認められなかった(別添資料 5 の p23～24)。

⑥ 交雑率

本組換えセイヨウナタネ区に隣接する対照の非組換えセイヨウナタネを各 3 株、4 箇所から選び(別添資料 5 の p11 の図 1 参照)、収穫時に株ごとの種子を全量採取して日本モンサント河内研究農場に送付した。日本モンサント河内研究農場において閉鎖系温室内で株ごとに種子を播種し、その発芽実生(2-3 葉期)に除草剤グリホサート(製品量: 250ml/10a)を散布して、総実生数当りの生存個体数を調査し、その個体を交雑個体として本組換えセイヨウナタネの自然交雑性を評価した。

その結果、本組換えセイヨウナタネ隣接区における除草剤グリホサート耐性個体の発生率(＝自然交雑率)の範囲は 2.1～3.0%であり、総実生数 2,976 個体当たりの自然交雑率は 2.7%であった(別添資料 5 の p22 の表 3)。非組換えセイヨウナタネで知られている一般ほ場における自然交雑率は 10～20％であり(文献 17)、本試験で認められた本組換えセイヨウナタネの交雑率は、従来の非組換えセイヨウナタネの自然交雑率を大きく上回ることはないと考えられた。

また、花粉の媒介方法として昆虫(主にミツバチ)が重要な役割を果たしていることから(文献 6)、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開花期間中

にあたる 7 月 3 日及び 7 月 19 日の 2 日間で、それぞれ午前と午後の 2 回に分けて各反復ごとに訪花昆虫の調査を行った。その結果、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区でトラップされた訪花昆虫はニホンミツバチ及びセイヨウミツバチの 2 種で、その数に大きな差異は認められなかった(別添資料 5 の p27 の表 9)。

⑦ 有害物質の産生性

本組換えセイヨウナタネから他の植物或いは土壌微生物に影響を与える物質が産生されていないことを確認するために土壌微生物相試験、後作試験及び鋤き込み試験を行った。その結果、後作試験における地上部生体重を除く全ての項目で本組換えセイヨウナタネと対照の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 5 の p24～26 の表 6～8)。

また、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネの栽培区に発生した植物相について、その被覆率を目視観察により評価を行った結果、両者間で相違は観察されなかった(別添資料 5 の p29 の表 11)。

3　遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

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

(2) 使用等の方法

―

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

―

(4) 生物多様性影響が生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。

(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

本組換えセイヨウナタネは、既にカナダで商業栽培が行われている RT73 系統(GT73 或いは RRC73 と記されることもある)と同様に、カナダを中心に 1992 年から 1993 年にかけておよそ 100 箇所に及ぶほ場試験を行い、本系統の導入遺伝子の発現及び形態・生育特性等の調査が実施されている。これらのほ場試験を通じて、RT200 が除草剤グリホサートに耐性を示す以外は、その形態・生育特性、雑草性及び病害虫感受性に、対照の非組換えセイヨウナタネとの間で差異がないことが確認されている(別添資料 5 の p37～40)。この評価結果をもとに、カナダ食品検査局は 1996 年 3 月に本組換えセイヨウナタネの商業栽培への利用を承認しており、1997 年 9 月にはカナダ厚生省により食品としての利用の承認及び 1997 年 10 月にはカナダ食品検査局による飼料としての利用も承認されている。しかし、カナダでは商業栽培には至らなかった。

諸外国における認可状況は以下の通りである。

1996 年 3 月	カナダ食品検査局(CFIA)より無規制栽培の認可を得た。
1997 年 9 月	カナダ厚生省(Health Canada)より食品としての安全性認可を得た。
1997 年 10 月	カナダ食品検査局(CFIA)より飼料としての安全性確認を得た。
2002 年 9 月	米国食品医薬局(FDA)より食品及び飼料としての安全性認可を得た。
2003 年 1 月	米国農務省(USDA)より無規制栽培の認可を得た。

尚、わが国における認可状況は以下の通りである。

2002 年 9 月	農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針 6 の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。
2002 年 9 月	厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
2003 年 3 月	農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性

確認を受けた。

2003 年 4 月　農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)及び栽培について、指針への適合性が確認された。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 [6]

1　競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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(文献 6)、我が国においては河川の土手等で生育していたり(文献 7; 文献 3)、海外から食用油の原料として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(別添資料 1)。

しかし、オーストラリアでは、国内の 5 つの州を対象に述べ 4,000km にわたり路傍に生育するセイヨウナタネについてモニタリング調査が行われているが、ほとんどの場合、道端から 5m 以内の地域で生育しており、その生育は疎らでサイズも小さく、群落を形成していなかった。このことから、路傍で観察されたセイヨウナタネは、その年に収穫された種子が運搬中にこぼれ落ちた後に発芽したものであると考えられた(文献 67)。更に英国においては、路傍にこぼれ落ちた後に発芽したセイヨウナタネをモニタリングした結果、その個体数は冬に近づくにつれて減少して行き、春には確認されなかったと報告されている(文献 68)。

また、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おり(文献 6)、我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(invasive alien species)としては掲載されていない(文献 5)。更に、セイヨウナタネは米国、カナダ、オーストラリアにおいても生態系に影響を与える有害雑草として見なされていない(文献 69; 文献 70; 文献 71)。

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自然環境下では競合における優位性は低く、

[6] 本項目中で、第一の 2-(6)の①～⑦に記載された試験結果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。また、本項目の 2.(2)の第二パラグラフ及び第三パラグラフに記載された生物検定の結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

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。これらのことを踏まえて、本組換えセイヨウナタネの競合における優位性に関する生物多様性影響評価を、対照の非組換えセイヨウナタネとの比較に基づいて行った。

競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温及び高温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)(p18～20 の第一、2-(6)、ロ、①～⑤)を比較検討した。その結果、開花期、7 日目の開花数及び百粒重を除く、全ての項目で対照の非組換えセイヨウナタネとの間に差異或いは統計学的有意差は認められなかった。

なお、統計学的有意差の認められた開花期については本組換えセイヨウナタネが平均で 41.2 日であったのに対して対照の非組換えセイヨウナタネは 40.0 日であり、その差は 1 日であった。また開花数については、対照の非組換えセイヨウナタネの開花数が平均で 95.2 であったのに対し、本組換えセイヨウナタネの 7 日目平均開花数は平均で 108.7 であったが、対照の非組換えセイヨウナタネ調査個体の開花数 59～139 の範囲内にあった。また、開花後 7 日目では有意差が認められていたものの開花がより盛んになる 10 日目では有意差は認められなかったことから、開花後 7 日目での開花数の差異が花粉の生産性や種子の生産性などに与える影響は極めて低いと考えられる。百粒重に関しては、本組換えセイヨウナタネが平均で約 409mg であったのに対して、対照の非組換えセイヨウナタネは約 426mg であった。しかし、着莢数や莢当り種子数などに差異は認められなかったことから、百粒重で認められた差異が種子の生産性に大きな影響を及ぼすとは考えられない。以上のことから、統計学的有意差の認められた 3 項目により本組換えセイヨウナタネの競合における優位性が高まるとは考えにくい。

また、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 箇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(文献 72)。更に、カナダでは本組換えセイヨウナタネを用いて、競合における優位性に関わる形質を調査しているが、除草剤グリホサート耐性の形質はセイヨウナタネ本来の競合における優位性を高めないことが確認されている(文献 73)。

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、雑草の防除を目的として除草剤グリホサートの使用が予想される路傍等に本組換えセイヨウナタネが生育していた場合でも、グリホサート以外の除草剤の散布、もし

くは刈り取りなどの物理的な方法によって、本組換えセイヨウナタネは除草することが可能である(文献 74; 文献 75; 文献 76)。また、仮に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、上記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。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、非組換えセイヨウナタネと同様に、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、侵略的外来種のように生物多様性に影響を与えるほどの競合における優位性を有する可能性は極めて低いと判断された。よって、競合における優位性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

―

(3) 影響の生じやすさの評価

―

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

以上から、本組換えセイヨウナタネ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の特定

非組換え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(文献 9)。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、油粕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(油粕 1g 当たり 30μmol 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 Wester もこの品種の一つである。

本組換えセイヨウナタネにおける構成成分を評価する過程で、これらエルシン酸及び

グルコシノレートの分析も行われているが、これらの成分が本組換えセイヨウナタネにおいてカノーラ品種として規定される量を超えず、対照の非組換え品種 Wester の分析値の範囲内かそれに近い値を示すことが確認されている(別添資料 5 の p40 の表 5-6)。

本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で、有害物質の産生性の違いを土壌微生物相試験、後作試験、鋤き込み試験及び発生雑草試験(p21 の第一、2-(6)、ロ、⑦)により比較検討したが、後作試験における地上部生体重以外の項目では差異は認められなかった。なお、後作試験における地上部生体重で有意差が認められたが、それ以外の項目では有意差は認められず、特に地上部乾燥重では有意差は認められなかったことから、本組換えセイヨウナタネ或いは対照の非組換えセイヨウナタネの栽培土壌に起因して生じた差異とは考え難い。

本組換えセイヨウナタネは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質及び GOX 蛋白質を産生する性質を有しているが、これらの蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、第一の 2-(1)-ロ-①に述べたように、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 活性が増大しても本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられている。また GOX 蛋白質に関しては、グリホサートを AMPA とグリオキシレートに分解する反応を触媒する酵素であるが高い基質特異性を有しており、植物中のその他の代謝経路に作用することはない(文献 53)。実際に、本組換えセイヨウナタネの食品/飼料安全性の評価の過程で、アミノ酸組成及びその他の構成成分を分析した結果、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。従って、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質及び GOX 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と判断された。

以上のことから有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(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、本組換えセイヨウナタネ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がないと判断された。

3　交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

セイヨウナタネと交雑可能な近縁種としては、我が国に古来から栽培種として利用されている *B. rapa*、明治時代以降に我が国に帰化した *B. nigra*、そして昭和初期に帰化した *R. raphanistrum*、更には戦後に帰化した *B. juncea* が挙げられる(文献 4; 文献 3; 文献 1)。

上記したように *B. rapa* を除くその他の近縁種は、すべて明治以降に人為的影響により我が国に侵入したと考えられる外来種であり、また *B. rapa* についても我が国への導入時期は古いが栽培由来の外来種であり、影響を受ける可能性のある野生動植物としては特定されない。

(2) 影響の具体的内容の評価

―

(3) 影響の生じやすさの評価

―

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上から、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

(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

本組換えセイヨウナタネと上記外来種間での交雑により形成された雑種が我が国の自然条件下で優占化した場合等には、その他の野生植物種の個体群に影響を与える可能性も否定できない。従って、本組換えセイヨウナタネが、*B. rapa*、*B. juncea*、*B. nigra*、*R. raphanistrum* と交雑することによる間接的な影響の生じやすさについて検討した。

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生ずる影響の具体的内容としては、主に以下の 2 項目が考えられた。

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。

このような影響が生ずる為には、まず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、形成された雑種が我が国の自然条件に適応して優占化していく必要があると考えられた。これらのことを考慮して、本組換えセイヨウナタネが *B. rapa*、*B. juncea*、*B. nigra*、そして *R. raphanistrum* と交雑することによる影響の生じやすさを以下のように評価した。

イ. 非組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑性及び形成された雑種が我が国の自然条件に適応して優占化していく可能性

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するにあたり、まず非組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑性及び形成された雑種が我が国の自然条件に適応して優占化していく可能性を文献調査等により考察した。

① 非組換えセイヨウナタネと *B. rapa* との交雑性

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、我が国の荒地や路傍で自生化しているのは在来ナタネである(文献 1)。セイヨウナタネとの交雑性に関しては、*B. rapa*(在来ナタネ)の集団がセイヨウナタネのほ場の境界線より外側のほ場で生育している場合は、雑種が形成される割合は低く 0.4%～1.5%であったが(文献 20)、セイヨウナタネのほ場内に *B. rapa*(在来ナタネ)を同程度の割合で生育させた場合の雑種形成率は 13%であったと報告されている(文献 21)。また、セイヨウナタネのほ場内に *B. rapa*(在来ナタネ)1 個体のみを生育させた場合の交雑率は 93%であった(文献 21)。

また、セイヨウナタネと *B. rapa*(在来ナタネ)の F1 雑種の繁殖性は両親と比べて著しく低下し、種子も形成されにくい(一つの鞘につき平均で 2～5 粒)ことが知られている(文献 22; 文献 77)。更に、F1 雑種に形成された種子の発芽率も種子全体の 2%以下であり(文献 20)、F2 後代及び *B. rapa*(在来ナタネ)戻し交配体(F1 雑種×*B.rapa*)の生殖特性も引き続き両親と比べて全体的に低下したままであると報告されている(文献 78)。ただし、F1 雑種の中から花粉稔性が 95%を維持している個体を意図的に選抜し、*B. rapa*(在来ナタネ)と更に 3 回戻し交雑を行った場合は稔性を回復することが報告されている(文献 79)。しかし、稔性を回復した個体であっても、その生存率や生殖に関する特性は、交配親である *B. rapa*(在来ナタネ)を超えるものではなかったと報告されている(文献 79)。尚、セイヨウナタネと *B. rapa*(在来ナタネ)の F2 後代及び戻し交配体に関しては、両親の染色体の本数が異なっていることから、交配を繰り返す度に染色体の構成が不安定な異数体になっていく為、生殖特性が両親と比較して低下すると考えられている(文献 78)。

これらのことから、セイヨウナタネと *B. rapa* の間で形成された種間雑種が、その後、自然条件下で連続的に *B. rapa* と戻し交雑を行って、*B. rapa* の個体群中に浸透していく可能性は極めて低いと考えられている(文献 80; 文献 81)。

② 非組換えセイヨウナタネと *B. juncea* との交雑性

B. juncea には、カラシナのほかに明治以前に我が国に導入され各地で栽培されているタカナ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(文献 4; 文献 3; 文献 5)。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(文献 26; 文献 22; 文献 29; 文献 30; 文献 31)。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もある(文献 26; 文献 21)。また、交雑はどちらが花粉親の場合でも起こるが、*B. juncea*(カラシナ)が花粉親の場合は形成される雑種の数が減少することが知られている(文献 26; 文献 21)。

尚、セイヨウナタネと *B. juncea*(カラシナ)の種間雑種の花粉稔性は両親と比べて 0〜28%まで低下し、種子も形成されにくいことが知られているが(文献 26; 文献 22; 文献 29)、形成された種子は、ほ場内で生育し、少量の種子を形成することができる(文献 22)。なお、セイヨウナタネと *B. juncea* の F2 後代及び戻し交配体に関しては、両親の染色体の本数が異なっていることから、交配を繰り返す度に染色体の構成が不安定な異数体になっていく為、生殖特性が両親と比較して低下すると考えられる(文献 82)。

以上のことから、セイヨウナタネと *B. juncea* の間で形成された種間雑種が、その後、自然条件下で連続的に *B. juncea* と戻し交雑を行って、*B. juncea* の個体群中に浸透していく可能性は極めて低いと考えられている(文献 29; 文献 83)。

③ 非組換えセイヨウナタネと *B. nigra* との交雑性

B. nigra は我が国の荒地や路傍で自生化している帰化雑草であるが、我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(文献 4; 文献 3; 文献 5)。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(文献 22)。また人工受粉による交雑も試みられているが、ほとんど失敗に終わり(文献 23; 文献 24)、成功してもその確率は非常に少なかったことから(文献 25; 文献 26)、自然条件下でセイヨウナタネと *B. nigra* が交雑する可能性は極めて低いと考えられている(文献 26; 文献 22)。

④ 非組換えセイヨウナタネと *R. raphanistrum* との交雑性

R. raphanistrum は我が国の荒地や路傍で自生化する帰化植物であるが、昭和初期に我が国に帰化したと推測されている(文献 4; 文献 3)。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ところ 0.2%の割合で雑種が形成されたという報告がされている(文献 27)。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、雑種は認められなかった(文献 28)。また、人為的に形成された雑種はほとんどが不稔性であったことから、形成された種間雑種が、その後、自然条件下で連続的に *R. raphanistrum* と戻し交雑を行って、*R. raphanistrum* の個体群中に浸透していく可能性は極めて低いと考えられている(文献 84)。

以上のことから、非組換えセイヨウナタネは *B. nigra* 以外の近縁種と自然条件下で交雑し得ると考えられたが、形成された雑種が我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、実際に我が国を含めこのような事例は報告されていない(文献 85)。

ロ. 本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑率

次に、本組換えセイヨウナタネと自然条件下で生育しているセイヨウナタネを含む近縁種との交雑性が、非組換えセイヨウナタネと比較して有意に高まっていないかを本隔離ほ場試験及び非閉鎖系温室試験の結果(第一、2-(6)、ロ、⑥)などをもとに考察した。

① 本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの交雑率

本組換えセイヨウナタネと特定された近縁野生種との交雑性が、従来セイヨウナタネと比較して異なるかを隔離ほ場試験で行った本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの交雑試験の結果(第一、2-(6)、ロ、⑥)をもとに考察した。

本隔離ほ場試験における交雑試験の結果、本組換えセイヨウナタネと隣接した対照の非組換えセイヨウナタネとの自然交雑率は約 2.7%であった(別添資料 5 の p22 の表 3)。一般に非組換えセイヨウナタネで知られている自然交雑率は 10～20％であり(文献 17)、本試験で認められた本組換えセイヨウナタネの交雑率は、従来の非組換えセイヨウナタネの自然交雑率を大きく上回ることはないと考えられた。更に、花粉の稔性、大きさ及び形状などの生殖に関わる特性に本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で差異のないことが、本隔離ほ場試験において確認されている(別添資料 5 の p21)。

また、花粉の媒介方法として昆虫(主にミツバチ)が重要な役割を果たしていることから(文献 6)、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開花期間中にあたる 7 月 3 日及び 7 月 19 日の 2 日間で、それぞれ午前と午後の 2 回に分けて各反復ごとに訪花昆虫の調査を行った。その結果、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区でトラップされた訪花昆虫はニホンミツバチ及びセイヨウミツバチの 2 種で、その数に大きな差異は認められなかった(別添資料 5 の p27 の表 9)。

以上の結果から、本組換えセイヨウナタネと従来のセイヨウナタネとの自然交雑率は、従来のセイヨウナタネ間の自然交雑率の範囲内にあると判断された。

② 本組換えセイヨウナタネとその他の近縁種との交雑率

本組換えセイヨウナタネと交雑可能な近縁種(アブラナ(*B. rapa*)、カラシナ(*B. juncea*)、クロガラシ(*B. nigra*)及びセイヨウノダイコン(*R. raphanistrum*))との交雑性に関する試験は行っていないが、上述した従来セイヨウナタネとの交雑試験の結果(別添資料 5 の p22)に加え、花粉の稔性、大きさ、形状、及びミツバチの訪花行動などの生殖に関わる特性に非組換えセイヨウナタネと比べて差異は認められなかったことから(別添資料 5 の p21～22、p26)、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受粉に係わる形質に差異はないと考えられる。よって、本組換えセイヨウナタネとその他の近縁種との自然交雑率は、従来セイヨウナタネとその他の近縁種との自然交雑率の交雑率と同程度に低く、従来セイヨウナタネの交雑率を大きく超えるものではないと推察された。

従って、本組換えセイヨウナタネは我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。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。従って、これらの雑種が我が国の自然条件に適応して優占化していく可能性は非組換えセイヨウナタネと近縁種との雑種と同様に極めて低いと判断された。

また、第二、1 の競合における優位性で述べたように、本組換えセイヨウナタネに挿入されている改変型 *cp4 epsps* 遺伝子及び改変型 *gox* 遺伝子は、除草剤グリホサートが散布されることが想定されにくい自然条件下においては、競合における優位性を高めることはないことが示されている(文献 72; 文献 73)。このことから、本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑種の競合における優位性は、除草剤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は、非組換えセイヨウナタネとの交雑種と同程度であり、交雑種が他の野生植物種を駆逐するような性質を有するとは考えにくい。

更に、除草剤耐性遺伝子が近縁種のゲノムに移入したとしても負担にならないという報告があることから(文献 86; 文献 87; 文献 79)、本組換えセイヨウナタネ由来の挿入遺伝子が原因で交雑した近縁野生種が駆逐されていく可能性についても極めて低いと判断された。また、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネの間に競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温及び高温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)(p18～20 の第一、2-(6)、ロ、①～⑤)について、開花期、7 日目の開花数及び百粒重で対照の非組換えセイヨウナタネとの間で統計学的有意差が認められたが、これらの差異のみで、交雑種が生育特性に何らかの影響を受けることは考えにくい。よって、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る可能性は極めて低いと考えられる。

尚、自然環境下で生育しているセイヨウナタネについては、交雑により挿入遺伝子が広がっていく可能性がある。しかし、第二、1 で本組換えセイヨウナタネが競合において優位になることは考えにくいことが示されていることから、本組換えセイヨウナタネと自然環境下で交雑した雑種が周囲の生物多様性に影響を及ぼす可能性は極めて低いと判断された。

以上のことから、①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形成された雑種が、その他の野生植物種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極めて低いと判断された。

(2) 本組換えセイヨウナタネに使用されている植物ウイルス由来の Figwort mosaic virus 35S プロモーターについて

本組換えセイヨウナタネには *Caulimovirus* 属に属する Figwort mosaic virus(FMV)の 35S プロモーターが使用されている。我が国には FMV は分布しないが、*Caulimovirus* 属に属するウイルスとして Carnation etched ring virus(CERV)、Cauliflower mosaic virus(CaMV)、Dahlia mosaic virus(DMV)、Strawberry vein banding virus(SVBV)が分布しており、このうち CaMV は、*Brassica* 属を宿主とすることが知られている。従って、相同組換えにより CaMV に FMV の 35S プロモーターが取り込まれ、組換えウイルスが発生する可能性が考えられた。しかし、本組換えセイヨウナタネに使用されている FMV 35S プロモーターと CaMV 35S プロモーターの塩基配列の相同性は低く、ほぼ全長にあたる 553bp の塩基配列を比較した場合、その内の連続する 56bp の領域が 68%の相同性を示すものの全体の相同性は 10%以下である為、本組換えセイヨウナタネに感染した CaMV 35S プロモーターと本組換えセイヨウナタネ中の FMV 35S プロモーターが相同組換えを起こす可能性は極めて低いと考えられた。従って、相同組換えによる新ウィルスが発生する可能性も極めて低いと結論された(別添資料 6)。

第三 生物多様性影響の総合的評価

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(文献 6)、我が国においては河川の土手等で生育していたり(文献 7; 文献 3)、海外から食用油の原料として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(別添資料 1)。しかし、オーストラリアでは国内の 5 つの州を対象に、述べ 4,000km にわたり路傍に生育するセイヨウナタネについてモニタリング調査が行われているが、ほとんどの場合、道端から 5m 以内の地域で生育しており、その生育は疎らでサイズも小さく、個体群を形成していなかった。こ

のことから、路傍で観察されたセイヨウナタネは、その年に収穫された種子が運搬中にこぼれ落ちた後に発芽したものであると考えられた(文献 67)。更に、英国において、路傍にこぼれ落ちた後に発芽したセイヨウナタネをモニタリングした結果、その個体数は冬に近づくにつれて減少して行き、春には確認されなかったと報告されている(文献 68)。

また、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おり(文献 6)、我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(invasive alien species)としては登録されていない(文献 5)。更に、セイヨウナタネは米国、カナダ、オーストラリアにおいても生態系に影響を与える有害雑草として見なされていない(文献 69; 文献 70; 文献 71)。

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自然環境下では競合における優位性は低く、優占群落をつくる可能性は低いと判断された。これらのことを踏まえて、本組換えセイヨウナタネの競合における優位性に関する生物多様性影響評価を対照の非組換えセイヨウナタネとの比較に基づいて行った。

競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温及び高温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)(p18～20 の第一、2-(6)、ロ、①～⑤)を比較検討した。その結果、開花期、7 日目の開花数及び百粒重を除く、全ての項目で対照の非組換えセイヨウナタネとの間に差異或いは統計学的有意差は認められなかった。

なお、統計学的有意差の認められた開花期については本組換えセイヨウナタネが平均で 41.2 日であったのに対して対照の非組換えセイヨウナタネは 40.0 日であり、その差は 1 日であった。開花数については、対照の非組換えセイヨウナタネの開花数が平均で 95.2 であったのに対し、本組換えセイヨウナタネの 7 日目平均開花数は平均で 108.7 であったが、対照の非組換えセイヨウナタネ調査個体の開花数 59～139 の範囲内にあった。また、開花後 7 日目では有意差が認められていたものの開花がより盛んになる 10 日目では有意差は認められなかったことから、開花後 7 日目での開花数の差異が花粉の生産性や種子の生産性などに与える影響は極めて低いと考えられる。百粒重に関しては、本組換えセイヨウナタネが平均で約 409mg であったのに対して、対照の非組換えセイヨウナタネは約 426mg であった。しかし、着莢数や莢当り種子数などに差異は認められなかったことから、百粒重で認められた差異が種子の生産性に大きな影響を及ぼすとは考えられない。以上のことから、統計学的有意差の認められた 3 項目により本組換えセイヨウナタネの競合における優位性が高まるとは考えにくい。

また、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 箇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(文献 72)。更に、カナダでは本組換えセイヨウナタネを用いて、競合における優位性に関わる形質を調査しているが、除草剤グリホサート耐性の形質はセイヨウナタネ本来の競合における優位性を高めないことが確認された(文献 88)。

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、雑草の防除を目的として除草剤グリホサートの使用が予想される路傍等に本組換えセイヨウナタネが生育していた場合でも、グリホサート以外の除草剤の散布、もしくは刈り取りなどの物理的な方法によって、本組換えセイヨウナタネは除草することが可能である (文献 74; 文献 75; 文献 76)。また、仮に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、上記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で優占化していく可能性は極めて低いと考えられる。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、非組換えセイヨウナタネと同様に、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、侵略的外来種のように生物多様性に影響を与えるほどの競合における優位性を有する可能性は極めて低いと判断された。よって、競合における優位性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

非組換え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(文献 9)。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、油粕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(油粕 1g 当たり 30μmol 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 Wester もこの品種の一つである。

本組換えセイヨウナタネにおける構成成分を評価する過程で、これらエルシン酸及びグルコシノレートの分析も行われているが、これらの成分が本組換えセイヨウナタネにおいてカノーラ品種として規程される量を超えず、対照の非組換え品種 Wester の分析

値の範囲内かそれに近い値を示すことが確認されている(別添資料 5 の p40 の表 5-6)。

本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間で、有害物質の産生性の違いを土壌微生物相試験、後作試験、鋤き込み試験による検定(p21 の第一、2-(6)、ロ、⑦)により比較検討したが、後作試験における地上部生体重以外の項目では差異は認められなかった。なお、後作試験における地上部生体重で有意差が認められたが、それ以外の項目では有意差は認められず、特に地上部乾燥重では有意差は認められなかったことから、本組換えセイヨウナタネ或いは対照の非組換えセイヨウナタネの栽培土壌に起因して生じた差異とは考え難い。

以上のことから有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

セイヨウナタネと交雑可能な近縁種としては、我が国に古来から栽培種として利用されている *B. rapa*、明治時代以降に我が国に帰化した *B. nigra*、そして昭和初期に帰化した *R. raphanistrum*、更には戦後に帰化した *B. juncea* が挙げられる(文献 4; 文献 3; 文献 1)。

上記したように *B. rapa* を除くその他の近縁種は、すべて明治以降に人為的影響により我が国に侵入したと考えられる外来種であり、また *B. rapa* についても我が国への導入時期は古いが栽培由来の外来種であり、影響を受ける可能性のある野生動植物としては特定されない。従って、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が生ずるおそれはないと判断された。

しかしながら、本組換えセイヨウナタネと上記外来種間での交雑により形成された雑種が我が国の自然条件下で優占化した場合等には、その他の野生動植物種の個体群に影響を与える可能性も否定できない。従って、本組換えセイヨウナタネが *B. rapa*、*B. juncea*、*B. nigra*、*R. raphanistrum* と交雑することによる影響の生じやすさについて検討した。

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生ずる影響の具体的内容としては、主に以下の 2 項目が考えられた。

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。

このような影響が生ずる為には、まず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、或いは形成された雑種が我が国の自然条件に適応して優占化していく必要があると考えられた。これらのことを考慮して、本組換えセイヨウナタネが *B. rapa*、

B. juncea、*B. nigra*、そして *R. raphanistrum* と交雑することによる影響の生じやすさを以下のように評価した。

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するにあたり、まず非組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑性及び、形成された雑種が自然条件下で連続してこれらの近縁種戻し交雑を行い、近縁種の個体群中に浸透していく可能性を文献調査等により考察した。

その結果、非組換えセイヨウナタネは *B. nigra* 以外の近縁種と自然条件下で交雑し得ると考えられたが、形成された雑種が我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判断された。

次に、本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑性が、非組換えセイヨウナタネと比較して有意に高まっていないかを、本隔離ほ場試験及び非閉鎖系温室試験の結果(p20～21 の第一、2-(6)、ロ、⑥)などをもとに考察した。

その結果、本組換えセイヨウナタネと従来のセイヨウナタネとの自然交雑率は、従来のセイヨウナタネ間の自然交雑率の範囲内にあると判断された。なお、本組換えセイヨウナタネと交雑可能な近縁種(アブラナ(*B. rapa*)、カラシナ(*B. juncea*)、クロガラシ(*B. nigra*)及びセイヨウノダイコン(*R. raphanistrum*))との交雑性に関する試験は行っていないが、上述した従来セイヨウナタネとの交雑試験の結果(別添資料 5 の p22)に加え、花粉の稔性、大きさ、形状、及びミツバチの訪花行動などの生殖に関わる特性に非組換えセイヨウナタネと比べて差異は認められなかったことから(別添資料 5 の p21、p26)、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受粉に係わる形質に差異はないと考えられる。よって、本組換えセイヨウナタネとその他の近縁種との自然交雑率は、従来セイヨウナタネとその他の近縁種との交雑率と同程度に低く、従来セイヨウナタネの交雑率を大きく超えるものではないと推察された。

従って、本組換えセイヨウナタネは我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ことなどから、これらの雑種が我が国の自然条件に適応して優占化していく可能性は非組換えセイヨウナタネと近縁種との雑種と同様に極めて低いと判断された。

また、第二、1 の競合における優位性で述べたように、本組換えセイヨウナタネに挿入されている改変型 *cp4 epsps* 遺伝子及び改変型 *gox* 遺伝子は、除草剤グリホサートが散布されることが想定されにくい自然条件下においては、競合における優位性を高めることはないことが示されている(文献 72; 文献 73)。このことから、本組換えセイヨウナタネと近縁種との交雑種の競合における優位性は除草剤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は、非組換えセイヨウナタネとの交雑種

と同程度であり、交雑種が他の野生植物種を駆逐するような性質を有するとは考えにくい。

更に、除草剤耐性遺伝子が近縁種のゲノムに移入したとしても負担にならないという報告があることから(文献 86; 文献 87; 文献 79)、本組換えセイヨウナタネ由来の挿入遺伝子が原因で交雑した近縁野生種が駆逐されていく可能性についても極めて低いと判断された。また、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネの間に競合における優位性に関わる諸形質(形態及び生育の特性、生育初期における低温及び高温耐性、成体の越冬性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)(p18～20 の第一、2-(6)、ロ、①～⑤)について、開花期、7 日目の開花数及び百粒重で対照の非組換えセイヨウナタネとの間で統計学的有意差が認められたが、これらの差異により交雑種が生育特性に何らかの影響を受けることは考えにくい。よって、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る可能性は極めて低いと考えられる。

尚、自然環境下で生育しているセイヨウナタネについては交雑により挿入遺伝子が広がっていく可能性があるが、本組換えセイヨウナタネが競合において優位になることは考えにくいことが示されていることから、周囲の生物多様性に影響を生じる可能性は極めて低いと判断された。

以上のことから、①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形成された雑種が、その他の野生植物種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極めて低いと判断された。

本組換えセイヨウナタネには、*Caulimovirus* 属に属する Figwort mosaic virus (FMV)の 35S プロモーターが使用されている。我が国には FMV は分布しないが、*Caulimovirys* 属に属するウイルスとして Carnation etched ring virus (CERV)、Cauliflower mosaic virus (CaMV)、Dahlia mosaic virus (DMV)、Strawberry vein banding virus (SVBV)が分布しており、このうち CaMV は *Brassica* 属を宿主とすることが知られている。従って、相同組換えにより CaMV に FMV の 35S プロモーターが取り込まれ、組換えウイルスが発生する可能性が考えられた。しかし、本組換えセイヨウナタネに使用されている FMV 35S プロモーターと CaMV 35S プロモーターの塩基配列の相同性は低くく、ほぼ全長にあたる 553bp の塩基配列を比較した場合、その内の連続する 56bp の領域が 68%の相同性を示すものの全体の相同性は 10%以下である為、本組換えセイヨウナタネに感染した CaMV 35S プロモーターと本組換えセイヨウナタネ中の FMV 35S プロモーターが相同組換えを起こす可能性は極めて低くいと考えられた。従って、相同組換えによる新ウィルスが発生する可能性も極めて低いと結論された(別添資料 6)。

よって、総合的評価として、本組換えセイヨウナタネを第一種使用規程に従って使用

した場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

【引用文献】

[社外秘につき非開示]

緊　急　措　置　計　画　書　(食用・飼料用に供する場合)

平成 16 年 8 月 9 日

氏名　　日本モンサント株式会社
　　代表取締役社長 山根精一郎
住所　　東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ (*cp4 epsps, gox, Brassica napus* L.) (RT200, OECD UI : MON-89249-2)の生物多様性影響評価(以下「本組換えセイヨウナタネ」とする)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本組換えセイヨウナタネに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

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は以下に示す通りである。

平成 16 年 8 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 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
	日本モンサント株式会社　河内研究農場
	日本モンサント株式会社　バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社　バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社　バイオ規制・環境部

*：　　管理責任者

2　第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

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

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

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

５　農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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

緊 急 措 置 計 画 書 (栽培目的の場合)

平成 16 年 8 月 9 日

氏名　日本モンサント株式会社
代表取締役社長 山根精一郎
住所　東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号

第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ (*cp4 epsps, gox, Brassica napus* L.) (RT200, OECD UI : MON-89249-2) (以下「本組換えセイヨウナタネ」とする)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本組換えセイヨウナタネに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

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は以下に示す通りである。

平成 16 年 8 月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社 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
	日本モンサント株式会社　河内研究農場
	日本モンサント株式会社　バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社　バイオ規制・環境部
	日本モンサント株式会社　バイオ規制・環境部

*:　　管理責任者

２　第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

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

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

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

５　農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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

除草剤グリホサート耐性セイヨウナタネ
(*cp4 epsps, gox, Brassica napus* L.)(RT200, OECD UI : MON-89249-2)
別添資料一覧

別添資料1　原材料用輸入セイヨウナタネのこぼれ落ち実態調査について
（参照アドレス）http://www.s.affrc.go.jp/docs/press/2004/0629.htm

別添資料 2　Sequence of the Genetic Elements in PV-BNGT03
[社外秘情報につき非開示]

別添資料 3　Molecular Analysis of Roundup Ready Canola Event RT200
[社外秘情報につき非開示]

別添資料 4　除草剤グリホサートの影響を受けない組換えナタネ RT200 系統の組換え植物利用計画(模擬的環境利用)
[社外秘情報につき非開示]

別添資料 5　除草剤グリホサートの影響を受けない組換えナタネ RT200 系統の組換え植物利用計画(開放系利用)
[社外秘情報につき非開示]