

除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性カラシナ(改変 <i>bar</i> , <i>barstar</i> , <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.) (RF3, OECD UI:ACS-BN00-3-6)申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書

5

	第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報.....	1
	1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	1
	(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
	(2) 使用等の歴史及び現状.....	2
10	(3) 生理学的及び生態学的特性.....	3
	イ 基本的特性.....	3
	ロ 生息又は生育可能な環境の条件.....	3
	ハ 捕食性又は寄生性.....	4
	ニ 繁殖又は増殖の様式.....	4
15	ホ 病原性.....	6
	ヘ 有害物質の産生性.....	6
	ト その他の情報.....	6
	2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	7
	(1) 供与核酸に関する情報.....	7
20	イ 構成及び構成要素の由来.....	7
	ロ 構成要素の機能.....	7
	(2) ベクターに関する情報.....	11
	イ 名称及び由来.....	11
	ロ 特性.....	12
25	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	12
	イ 宿主内に移入された核酸全体の構成.....	12
	ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法.....	12
	ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過.....	13
30	(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性.....	14
	(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.....	17
	(6) 宿主又は宿主に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.....	18
35	(1) 使用等の内容.....	18
	(2) 使用等の方法.....	18

	(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	20
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	20
	(6)	国外における使用等に関する情報	20
	第二	項目ごとの生物多様性影響の評価	22
	1.	競合における優位性	22
10	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	22
	(2)	影響の具体的内容の評価	22
	(3)	影響の生じやすさの評価	22
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	23
	2.	有害物質の産生性	23
15	(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	23
	(3)	影響の生じやすさの評価	23
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	24
	3.	交雑性	24
20	(1)	影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	24
	(2)	影響の具体的内容の評価	24
	(3)	影響の生じやすさの評価	24
	(4)	生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	24
	4.	その他の性質	25
25	第三	生物多様性影響の総合的評価	28
		参考文献	30
		別添資料の内容	34
		緊急措置計画書	
30		モニタリング計画書	
		試験計画書 社外秘情報につき非開示	

第一種使用規程承認申請書

令和2年5月25日

5 農林水産大臣 江藤 拓 殿
環境大臣 小泉 進次郎 殿

氏 名 BASF ジャパン株式会社
申請者 代表取締役社長 石田博基 印
住所 東京都中央区日本橋室町三丁目4番4号

10

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。

15

<p>遺伝子組換え生物等の種類 の名称</p>	<p>除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性カラシナ (改変 <i>bar</i>, <i>barstar</i>, <i>Brassica juncea</i> (L.) Czern.) (RF3, OECD UI: ACS-BN003-6)</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：茨城県筑西市向上野 1500 番地 41 名称：バイエルクロップサイエンス株式会社 明野事業所 隔離ほ場 使用期間：承認日から令和 5 年 7 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、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、靴等に付着した土、本遺伝子組換えカラシナ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、当該カラシナ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、防風林及び防風網を設置している。また、開花期には試験区を防虫網で覆うことにより花粉の飛散を防止する。</p> <p>(5) 栽培試験期間中の播種期及び収穫期には栽培実験区画を覆うように防鳥網を設置し、野鳥等の食害による種子の拡散を防止する。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本遺伝子組換えカラシナ及び比較対照のカラシナ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) 本遺伝子組換えカラシナを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該カラシナ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する場合を除き、本遺伝子組換えカラシナの栽培終了後は、当該カラシナ及び比較対照のカラシナ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</p>

	<p>せずに本遺伝子組換えカラシナ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う者に遵守させる。</p> <p>(7) 別に定めるモニタリング計画書に基づき、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

除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性カラシナ (改変*bar*, *barstar*, *Brassica juncea* (L.) Czern) (RF3, OECD UI:ACS-BNØØ-3-6) (以下「本組換えカラシナRF3」という。) は、2007年4月24日付で第一種使用の承認がなされている除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性セイヨウナタネ (改変*bar*, *barstar*, *Brassica napus* L.) (RF3, OECD UI: ACS-BNØØ-3-6) (以下「遺伝子組換えセイヨウナタネRF3」という。) に導入されている改変*bar*遺伝子及び*barstar*遺伝子を、戻し交雑育種により*B. juncea*に導入することにより開発された。

10

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

15

① 和名、英名及び学名

和名：カラシナ

英名：Mustard

学名：*Brassica juncea* (L.) Czern

20

② 宿主の品種又は系統名

本組換えカラシナRF3の遺伝的背景として用いたカラシナは維持系統10CJ28-094である。なお、カラシナ (*B. juncea*) 及びセイヨウナタネ (*B. napus*) は共にアブラナ科 (*Brassicaceae*) アブラナ属 (*Brassica*)に属する栽培種である。

25

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

カラシナの起源は明らかではないが、クロガラシ (*B. nigra*)とアブラナ (*B. rapa*)の分布が重なる中東地方で発生した可能性が高いとされている (OGTR, 2017, 山岸、1989)。カラシナの分布は温帯を中心として、熱帯の一部にまで広がる (清水ら、2001)。

30

我が国には古くに野菜として導入され、明治以前から栽培されていたが、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る (中井、2003)。カラシナは、全都道府県に分布し (津田ら、2016)、乾燥している河川敷、土手に自生集団を形成する (Nishizawa *et al.*, 2010)。

35

カラシナは、我が国在来の野生種ではない (星川, 1987) ことから、我が国にはカラシナの近縁野生種は存在しない。しかしながら、我が国に分布する近縁種として、セイヨウナタネ (*B. napus*)、クロガラシ (*B. nigra*)、アブラナ (*B. rapa*)、ハリゲナタネ (*B. tornafortii*)、ロボウガラシ (*Diplotaxis tenuifolia*)、キバナスズシロ (*Eruca vesicaria*)、オハツキガラシ (*Erucastrum gallicum*)、セイヨウノダイコン (*Raphanus raphanistrum*)、シロガラシ (*Sinapis alba*)及びノハラガラシ (*S. arvensis*) 等が挙げられる (津田ら, 2016; OECD, 2012; 環境省, 2002)。このうちアブラナは弥生時代に、セイヨウナタネは明治時代に海外から導入された栽培種に由来すると考えられる (Nishizawa *et al.*, 2010)。他方、クロガラシ、ハリゲナタケ、ロボウガラシ、キバナスズシロ、オハツキガラシ、セイヨウノダイコン、シロガラシ及びノハラガラシは、いずれも明治以降に帰化した外来種である (中井, 2003)。

(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

中東に起源したカラシナは、インドからヨーロッパにかけては油糧作物として発達したのに対して、中国や我が国においては野菜として発達し、大きな品種分化を遂げた (山岸, 1989)。

中国においては、すでに紀元前数世紀にはカラシナが存在していた。このカラシナは全般に小型であり、主として粉末にして香料として利用されていた。中国ではこの小型のカラシナを原始型として、西北部では種子を香辛料や油用とするタイプが発達する一方、南部では7~10世紀頃に葉が大きく発達する葉カラシナ型の品種が発達した。その後、これらをもとに、中国各地で多様な品種分化をとげた (山岸, 1989)。

我が国においてもカラシナは、9~10世紀の書物に「太加菜」や「加良之」等の文字が認められており、すでに1000年以上の歴史をもつ古い野菜の一つである。国内では関西以西の、特に福岡県を中心とする九州地方ではタカナが、また、関東以北でカラシナが発達し、これらはさらに、明治以降の中国等から導入された品種の交雑によって改良が加えられてきた (山岸, 1989)。現在、市場に出荷されている有名なものは北九州と山形県産のタカナで、この他に関東地方では葉芥子菜とカラシ粉用のカラシナが販売用として栽培されている (青葉, 2013)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

カラシナは、マスタード、油糧用、野菜として世界中で栽培されており、カナダとインドがその主要生産国である (OGTR, 2017)。国連食糧農業機関 (FAO) によると、2017年における*Brassica*属由来の油糧用種子の栽培面積の上位国は、カナダ約844万ha、中国約665万ha、インド約600万haである (FAO, 2019)。

より広く栽培されているセイヨウナタネやアブラナに比べてカラシナは高温耐性や乾燥耐性が高い。また、カラシナはセイヨウナタネに比べて脱粒性が低い
ため直接又は乾燥後のコンバイン収穫の両方が可能である (CFIA, 2008)。

2017年における*Brassica*属由来の油糧用種子の主な生産国は、カナダ (約2,133万t)、中国 (約1,327万t)、インド (約792万t) であった (FAO, 2019)。我が国には、2018年に油脂原料として約234万tのセイヨウナタネ種子が輸入されているのに対し、カラシナの種子は約4800tが輸入されている (農林水産省, 2019)。

油糧用のカラシナの種子から搾油・精製された油は、食用、食品加工油脂及び工業用原料として利用されている。搾油後の油粕は飼肥料として用いられている (OECD, 2011)。セイヨウナタネに比べて、カラシナの種子は薄い種皮に覆われ黄色く硬い形状をしており、繊維が少なく油脂量が高いため消化に優れた飼料となる。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

カラシナは、種子繁殖する一年生のアブラナ科作物である。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

カラシナの生育環境としては、日当たりのよい温暖地を好み、肥沃地ほど生育がよく、特に壤土 (粒径2 mm以下の土壌の中に粘土が25~37.5%含まれる土壌) が適している (竹松・一前, 1993, 津田ら, 2016)。カラシナは、アブラナ科の中では最も高温に耐性がある (Khatikarn *et al.*, 1991, 津田ら, 2016)。

ハ 捕食性又は寄生性

5 ニ 繁殖又は増殖の様式

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

カラシナは、成熟した1莢あたり平均15~25粒の種子ができ、成熟した種子は乾燥した莢の裂開により放出される。カラシナの脱粒性はセイヨウナタネに比べて低いため、完全に成熟する前段階での乾燥の必要がなく種子の損失が少ない(OGTR, 2017)。

油糧用、野菜、香辛料として栽培されている*Brassica*属はいずれも一次休眠性を持たない(OECD, 2016)。セイヨウナタネの種子は、一次休眠性を持たないが、生育上好ましくない条件下では二次休眠に入ることがある。一方、カラシナの種子における発芽と休眠に関する情報はほとんどない(OGTR, 2017)が、セイヨウナタネの種子に比べて栽培品種のカラシナは、低い脱粒性、小さい種子サイズ、薄い種皮といった雑草性を低下させる要因をもつとされている(CFIA, 2008)。また、ノハラガラシ(*B. arvensis*)やゲンバイナズナ(*Thlaspi arvense*)等の雑草である近縁種と比べるとカラシナを含む栽培種の種子の方が速やかに発芽する傾向があることが報告されている(CFIA, 2008)。

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

カラシナは種子繁殖を行い、自然条件下において他の器官からの繁殖は報告されていない(OGTR, 2017)。

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

カラシナは自家和合性とされており、平均70%が自家受粉、30%が他家受粉により結実するとされる。他家受粉は、昆虫、風又は物理的接触により媒介される(OGTR, 2017)。また、カラシナ他殖率は、花粉源から5 m離れた地点では0.244%であり、35 m離れた地点では交雑は確認されなかった(OGTR, 2017)。

我が国に分布するカラシナと交雑の可能性がある近縁種として、セイヨウナタネ (*B. napus*)、クロガラシ (*B. nigra*)、アブラナ (*B. rapa*)、ロボウガラシ (*D. tenuifolia*)、シロガラシ (*S. alba*)、ノハラガラシ (*S. arvensis*)及びセイヨウノダイコン (*R. raphanistrum*) が挙げられる (津田ら, 2016; 環境省, 2002; 中井, 2003; 農林水産省, 2018)。

カラシナとセイヨウナタネ (*B. napus*)との自然交雑率はカラシナを種子親とした場合は混植条件で0.13~5.91%であり、セイヨウナタネを種子親とする場合は、混植条件で1.1~1.3%となる (津田ら, 2016)。一方、交配における雑種形成数の平均は、セイヨウナタネが花粉親の場合は4.05個 (雑種数/交配花)、種子親の場合は0.07個であると報告されている (津田ら, 2016)。雑種後代に関して、F₁個体では稔性が低くなる。戻し交雑をした場合は稔性が回復するという報告がある (津田ら, 2016)が、自然条件下では種々の生殖的隔離障壁が存在することを考慮すると雑種後代が優占化する可能性は低いと考えられる。

カラシナとクロガラシ (*B. nigra*)の自然交雑率は、クロガラシを種子親としてカラシナと混植した条件において、放任受粉による自然交雑は報告されていない (津田ら, 2016)。また、交配における雑種種子形成の平均は、クロガラシが花粉親の場合は0.06個 (雑種数/交配花)、種子親の場合は0.01個であると報告されている (津田ら, 2016)。

カラシナとアブラナ (*B. rapa*)、の自然交雑に関する報告はない。また、交配における雑種種子形成の平均は、アブラナが花粉親の場合は0.85個 (雑種数/交配花)、種子親の場合は0.00個であると報告されている (津田ら, 2016)。

カラシナとその他の属 (ロボウガラシ、シロガラシ、ノハラガラシ及びセイヨウノダイコン) との自然交雑に関する報告はない。また、交雑親和性も、極めて低いことが示されている (津田ら, 2016)。

また、カラシナにはアポミクスの特性を有するという報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

カラシナは1花当たり約5万粒、セイヨウナタネは1花当たり約7~9万粒の花粉を生じる (Takahata *et al.*, 2008)。Brassica属の花粉は、重く粘性があるが小型 (約30~40 μm)であり、風によって運ばれるほか、ミツバチ等の昆虫によっても媒介

される (OECD, 2012)。セイヨウナタネの他殖率については多数の報告があり、OECD (2012)は従来の知見を総括し、他殖率は最大でも花粉源から50~100 mの地点で0.5%以下、200 mの地点で0.1%以下としている。カラシナにおける花粉の移動様式は、セイヨウナタネと非常に良く似ていると考えられている。実際に、小規模のほ場試験において、カラシナの他殖率は、5m離れた地点では0.244%、35 m離れた地点では交雑は確認されなかったとされている (OGTR, 2017)。

Brassica 属の花粉は、比較的長期間にわたり発芽力を有することが知られている。自然条件下では、花粉の寿命は4~5日間で徐々に減少するとされる (OECD, 2012)。

10

ホ 病原性

15

へ 有害物質の産生性

カラシナの種子中にはヒト及び動物に有害と考えられるエルシン酸とグルコシノレートが含まれている。エルシン酸は、ラットの給餌実験において心筋への脂肪酸蓄積に関与し、心臓病変を引き起こすことが報告されており、グルコシノレートは、甲状腺肥大効果、肝臓及び腎臓障害を引き起こすことが報告されている (OGTR, 2017)。しかし、品種改良により低エルシン酸かつ低グルコシノレートの品種が育成された結果、種子は食用油として、また、搾油粕は飼肥料用として用いられるようになった (OECD, 2011)。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当たり30 μmol 未満の品種は一般にカノーラ品種と呼ばれており、カノーラ品種のカラシナは、カノーラ品種として開発されていたセイヨウナタネ及びアブラナを利用して開発された (OECD, 2011)。10CJ28-094 もカノーラ品質を有する系統である。

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

本組換えカラシナRF3は、2007年4月24日付で第一種使用の承認がなされている遺伝子組換えセイヨウナタネRF3に導入されている改変*bar*遺伝子及び*barstar* 5 遺伝子を、戻し交雑育種により*B. juncea* に導入することにより開発された。よって、遺伝子組み換え生物の調製等に関する情報の (1) 供与核酸に関する情報、(2) ベクターに関する情報に関しては遺伝子組換えセイヨウナタネRF3について記載した。

10 (1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

15 遺伝子組換えセイヨウナタネRF3の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は表1 (p.8)に示した。

ロ 構成要素の機能

20 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

遺伝子組換えセイヨウナタネRF3の作出に用いた供与核酸の構成要素は表1 (p.8)に示した。

表 1 遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 の作出に用いた供与核酸の構成及び各構成要素の由来及び機能

構成要素	ベクター上の位置	由来及び機能
RB	1-25	アグロバクテリウム(<i>Rhizobium radiobacter</i>)由来の T-DNA の反復配列右側領域 (Zambryski, 1988)。
-	26-97	DNA クローニングに利用された配列
3'g7	98-331	<i>R. radiobacter</i> 由来 Ti プラスミドの TL-DNA 遺伝子 7 の 3'非翻訳領域の配列で、転写を終結させ、3'ポリアデニル化を生じさせる (Dhaese <i>et al.</i> , 1983)。
改変 <i>bar</i>	332-883	<i>Streptomyces hygroscopicus</i> に由来するホスフィントリシン・アセチル基転移酵素 (改変 PAT 蛋白質)をコードする遺伝子で、除草剤グルホシネート耐性を付与する (Thompson <i>et al.</i> , 1987)。野生型 <i>bar</i> 遺伝子の N-末端の 2 つのコドンは ATG と GAC にそれぞれ置換されている。
PssuAt	884-2658	<i>Arabidopsis thaliana</i> に由来し、 <i>rubisco</i> 小サブユニット遺伝子のプロモーター。緑色組織において遺伝子を恒常的に発現させる (Krebbers <i>et al.</i> , 1988)。
3'nos	2659-2981	pTiT37 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域で転写を終結させ、3'ポリアデニル化を生じさせる (Depicker <i>et al.</i> , 1982)。
<i>barstar</i>	2982-3254	<i>B. amyloliquefaciens</i> に由来し、リボヌクレアーゼインヒビター (BARSTAR 蛋白質) をコードする。BARSTAR 蛋白質は BARNASE 蛋白質と特異的に結合し、その活性を阻害する (Hartley, 1988)。
Pta29	3255-4808	タバコ (<i>Nicotiana tabacum</i>)由来の薬特異的遺伝子 TA29 のプロモーターで、薬のタペート細胞においてのみ遺伝子発現を誘導する (Seurinck <i>et al.</i> , 1990)。
LB	4809-4833	<i>R. radiobacter</i> 由来の T-DNA の反復配列左側領域 (Zambryski, 1988)。
-	4834-5138	<i>R. radiobacter</i> 由来 Ti プラスミドの反復左側領域の配列 (Zhu <i>et al.</i> , 2000)
<i>aadA</i>	5139-6713	<i>Escherichia coli</i> 由来アミノグリコシド系抗生物質耐性遺伝子 (Fling <i>et al.</i> , 1985)で、ストレプトマイシン及びスペクチノマイシンに耐性を付与する。
<i>barstar</i>	6714-7149	<i>B. amyloliquefaciens</i> に由来し、リボヌクレアーゼインヒビター (BARSTAR 蛋白質) をコードする遺伝子の断片 (Hartley, 1988)。
<i>aadA</i>	7150-7373	<i>E. coli</i> 由来アミノグリコシド系抗生物質耐性遺伝子 (Fling <i>et al.</i> , 1985)の上流配列の断片。
ORI pVS1	7374-11145	<i>Pseudomonas sp.</i> 由来 pVS1 プラスミドの複製開始起点を含む配列で、 <i>R. radiobacter</i> 内での複製の開始に必要な (Hajdukiewicz <i>et al.</i> , 1994)。

ORI ColE1	11146-12302	<i>E. coli</i> 由来 pBR322 プラスミドの複製開始点を含む配列で、 <i>E. coli</i> 内での複製の開始に必要なとなる (Bolivar <i>et al.</i> , 1977)。
-	12303-12508	<i>R. radiobacter</i> 由来 Ti プラスミドの反復右側領域の配列 (Zhu <i>et al.</i> , 2000)

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

- 5 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

【改変 PAT 蛋白質】

10 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てアンモニアが無毒化されず蓄積し、作物は枯死する。

15 導入された改変 *bar* 遺伝子が産生するホスフィノスリシン・アセチル基転移酵素 (改変 PAT 蛋白質)は、グルホシネートをアセチル化して *N*-アセチルグルホシネートとし、グルホシネートのグルタミン合成酵素への阻害作用を不活性化 (OECD, 1999)。これによりアンモニアは蓄積されず、除草剤グルホシネートを散布しても作物は枯死しない。

20 改変 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い。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、生体内において転移反応を生じさせることはない (Thompson *et al.*, 1987)。また、過剰の各種アミノ酸の存在下においても、改変 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 (Wehrmann *et al.*, 1996)。よって、改変 PAT 蛋白質はグルホシネートに対して高い基質特異性を有すると考えられる。

25 なお、改変 *bar* 遺伝子は、我が国において第一種使用規程承認が得られている除草剤グルホシネート耐性及び雄性不稔セイヨウナタネ (MS8, OECD UI:ACS-BN005-8)、除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性セイヨウナタネ (RF3, OECD UI:ACS-BN003-6)、除草剤グルホシネート耐性ワタ (LLCotton25, OECD UI:ACS-GH001-3)、除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ (GHB119, OECD UI:ACS-BCS-GH005-8; T304-40, OECD UI:BCS-GH004-7)に導入されている。

30

【BARSTAR 蛋白質】

BARSTAR 蛋白質はBARNASE蛋白質の阻害物質である (Hartley *et al.*, 1972; Hartley, 1989)。BARSTAR蛋白質はBARNASE蛋白質と1:1で特異的に非共有結合し、BARNASE蛋白質のリボヌクレアーゼ活性を阻害する (Smeaton and Elliott, 5 1967; Hartley and Smeaton, 1973; Hartley, 1989)。BARSTAR蛋白質を有する系統はリボヌクレアーゼであるBARNASE蛋白質を発現する雄性不稔系統と交配することで稔性を回復させるが、基質となるBARNASE蛋白質不在下においては、BARSTAR蛋白質は何も機能しない。

10 なお、*barstar*遺伝子は、我が国において第一種使用規程承認が得られている除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性セイヨウナタネ (RF3, OECD UI:ACS-BN003-6)に導入されている。

15 改変 PAT 蛋白質及び BARSTAR 蛋白質のアミノ酸配列に基づき、2019 年にデータベース (COMPARE, バージョン COMPARE 2019)を用いて既知のアレルゲンとの包括的な相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

【改変PAT蛋白質】

20 改変PAT蛋白質は高い基質特異性を有しており (Thompson *et al.*, 1987)、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、宿主の持つ代謝経路へ影響はないと考えられる。

【BARSTAR蛋白質】

25 BARSTAR蛋白質はBARNASE蛋白質と1:1で特異的に非共有結合し、その複合体の安定性は高い (Makarov *et al.*, 1993; Martinez *et al.*, 1995)。なお、植物中のリボヌクレアーゼに対するBARSTAR蛋白質の阻害作用は報告されておらず、ヒト又は動物のリボヌクレアーゼとは結合しないことも報告されている (Smeaton and Elliott, 1967; Hill *et al.*, 1983; Hartley, 1988, 1989)。よって、BARSTAR蛋白質が 30 宿主の持つ代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

5 組換えセイヨウナタネRF3の作出に用いたベクターは、大腸菌 (*E. coli*)由来の pGSV1を基に構築されたプラスミドpTHW118である (図1)。

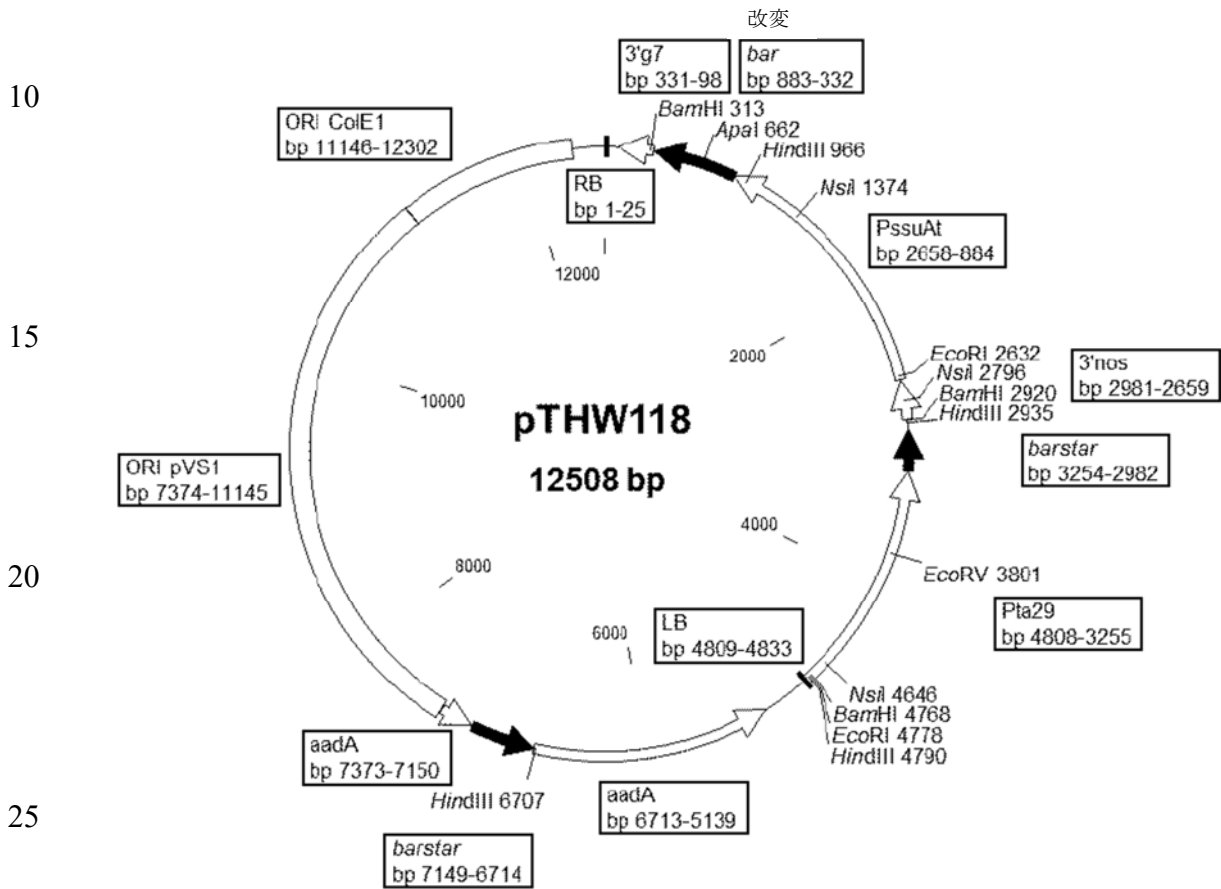


図1 pTHW118のベクター地図

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

30

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

5 遺伝子組換えセイヨウナタネRF3の作出に用いられたプラスミドpTHW118の全塩基数は12,508bpである。本ベクターの構成要素は表1 (p.8)に示した。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

10 プラスミド pTHW118 は、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 *aadA* 遺伝子を有している。この遺伝子は、本プラスミドを構築する際に必要な選抜マーカーとして機能する。なお、この遺伝子を含むプラスミド外骨格領域が、本組換えカラシナ RF3 に導入されていないことはサザンブロット分析により確認されている (別添資料 3)。

15

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

プラスミドpTHW118は伝達性を持たないため、感染性はない。

20

(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

25 遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 の作出に用いられたプラスミド pTHW118 の構成要素は表 1 (p.8)に示した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置及び方向並びに制限酵素による切断部位に関しては、図 1 (p.11)に示した。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

30

本組換えカラシナ RF3 は、遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 に導入されている改変 *bar* 遺伝子及び *barstar* 遺伝子を、戻し交雑育種により *B. juncea* に導入することにより作出された (図 2, p.14)。

35

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜方法

5 戻し交雑育種を用いて作出したため、該当しない。

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 戻し交雑育種を用いて作出したため、該当しない。

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

15

本組換えカラシナ RF3 は、遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 に非組換えカラシナを戻し交雑することで作成した。本申請の申請範囲は維持系統 10CJ28-094 を掛け合わせた F₁ 世代及びその後代である (図 2, p.14)。

20

【社外秘情報につき非開示】

図2 本組換えカラシナRF3の育成図

5

(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

10

本組換えカラシナ RF3 の交配親である遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 において、導入遺伝子が核ゲノム上に存在することが既に確認されている (別添資料 1)。遺伝子組換えの過程を経ず、遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 を交配親として、戻し交雑育種によって育成されたことから、本組換えカラシナ RF3 においても導入遺伝子は核ゲノム上に存在すると判断した。

15

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

本組換えカラシナ RF3 は、遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 のゲノム中に存在する改変 *bar* 遺伝子及び *barstar* 遺伝子を、戻し交雑育種によりカラシナに導入することにより開発された。遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 には 2 コピーの不完全な T-DNA 領域が逆位で挿入されていることが確認されており (p.22, 図 3, p.15, 別添資料 1)、これら遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 に導入された

25

遺伝子は本組換えカラシナ RF3 においても維持されていることが考えられた。本組換えカラシナ RF3 が遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 由来の導入遺伝子を持つかどうか、F₁, BC₁, BC₂, BC₃ 及び BC₃S₂ 世代 (遺伝的背景 10CJ28-094, 図 2)を用いてサザンブロット法により確認した。サザンブロット分析の結果、本組換えカラシナ RF3 は遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 と同一の構成の導入遺伝子を持ち (別添資料 2)、複数世代 (F₁, BC₁, BC₂, BC₃ 及び BC₃S₂ 世代)にわたり安定して後代に遺伝していることが確認された (別添資料 2)。また、F₁ 世代 (遺伝的背景 10CJ28-094, 図 2)を用いたシーケンス解析の結果、本組換えカラシナ RF3 における遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 由来の導入遺伝子配列は、遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 における挿入 DNA 配列とその近傍配列 (5' 側近傍配列 : 1000bp 及び 3' 側近傍配列 : 1000bp)において完全に一致することが確認された (別添資料 3)。

35

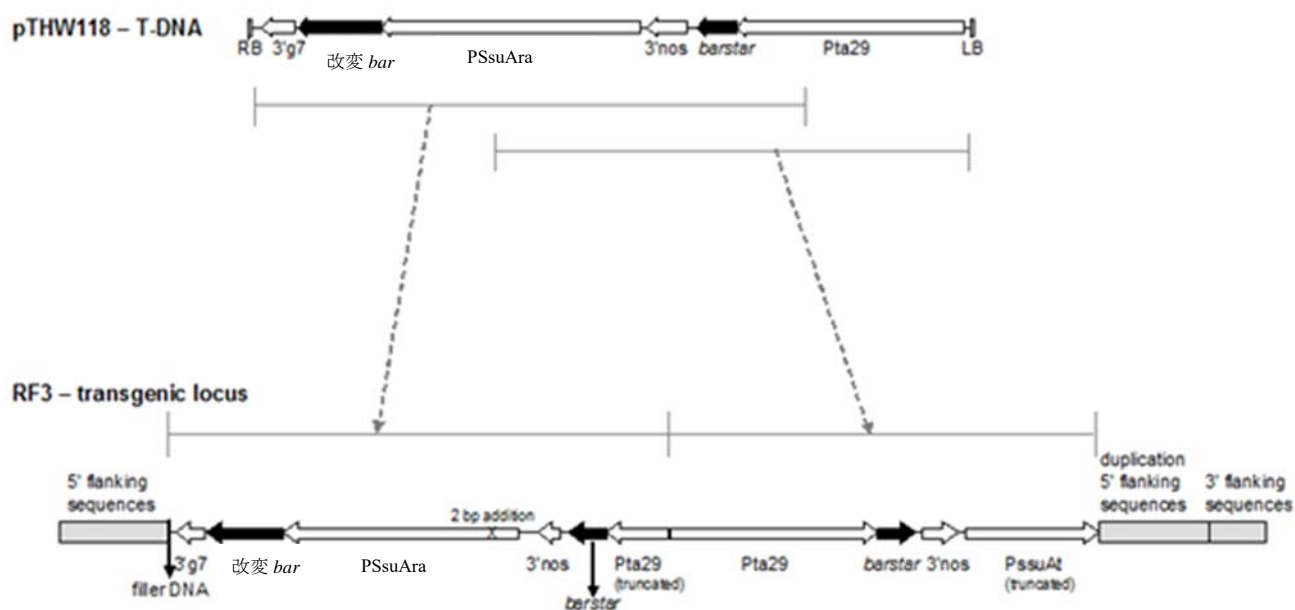


図3 組換えセイヨウナタネ RF3 に移入された T-DNA 領域全体の構成図
 (注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

5

- 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

10 本組換えカラシナ RF3 には 2 コピーの不完全な T-DNA 領域が隣接して存在している。

- 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

15 2017 年に米国及びカナダの 3 試験地において栽培された本組換えカラシナ RF3 の BC₃S₃ 世代 (遺伝的背景 10CJ28-094, 図 2, p.14)の植物体 (第 3~5 葉期、茎伸長期及び開花初期)、根 (茎伸長期及び開花初期)、花序 (開花初期)及び種子 (成熟期)における改変 PAT 蛋白質及び BARSTAR 蛋白質量を ELISA 法より分析した。その結果、改変 PAT 蛋白質は全ての組織において検出され、発現量の平均値は、植物体では生育時期により 58.89~117.06 $\mu\text{g/g DW}$ 、根では生育時期により 1.90~2.94 $\mu\text{g/g DW}$ 、花序では 62.58 $\mu\text{g/g DW}$ 、種子では 2.00 $\mu\text{g/g DW}$ であった (別添資料 4)。一方、BARSTAR 蛋白質は、開花期の植物体及び花序において検

20

出され、発現量の平均値は、開花期の植物体では 0.19 $\mu\text{g/g DW}$ 花序では 0.66 $\mu\text{g/g DW}$ であった (別添資料 4)。

5 また、本組換えカラシナ RF3 の複数世代における改変 PAT 蛋白質及び BARSTAR 蛋白質の発現の安定性を確認するために、F₁, BC₃S₂ 及び BC₃S₃ 世代 (遺伝的背景 10CJ28-094, 図 2, p.14) のそれぞれ 4 株の植物体、根、花序及び種子における改変 PAT 蛋白質量及び BARSTAR 蛋白質を ELISA 法により分析した (別添資料 5)。その結果、改変 PAT 蛋白質は全ての組織、世代で発現が検出され、BARSTAR 蛋白質は根及び花序において検出された。

10 以上のことから、改変 PAT 蛋白質及び BARSTAR 蛋白質は個体間及び世代間において安定して発現していることが確認された。

- 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 本組換えカラシナ RF3 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野生動物等に伝達されるおそれはない。

- (5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

10 本組換えカラシナ RF3 は、本組換えカラシナ RF3 に特異的なプライマーと Taqman プローブを用いた real-time PCR 法による検出及び識別が可能である(別添資料 6)。検定に用いる DNA の濃度は、PCR の 1 反応当たり 0.1ng から 50ng が推奨されている。

15 (6) 宿主又は宿主に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内容

20 本組換えカラシナ RF3 へ導入された改変 *bar* 遺伝子は改変 PAT 蛋白質を発現することにより、除草剤グルホシネートに対する耐性を付与する。また *barstar* 遺伝子がコードする BARSTAR 蛋白質は、リボヌクレアーゼである BARNASE 蛋白質を発現する雄性不稔系統と交配することで稔性を回復させる。

25 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

30 本組換えカラシナ RF3 は、改変 *bar* 遺伝子がコードする改変 PAT 蛋白質の発現により除草剤グルホシネートに耐性を示す。改変 PAT 蛋白質は高い基質特異性を有しており、植物体内において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ないと報告されている (Thompson *et al.*, 1987; Wehrmann *et al.*, 1996)。

35 また、*barstar* 遺伝子は、薬特異的プロモーター Pta29 の支配下にあり、タペート細胞で特異的に発現する。*barstar* 遺伝子がコードする BARSTAR 蛋白質は、リボヌクレアーゼである BARNASE 蛋白質の働きを阻害するが、植物中のリボ

ヌクレアーゼに対する BARSTAR タンパク質の阻害作用は報告されていない。以上より、本組換えカラシナ RF3 の生理学的又は生態学的特性に関するデータを用いずに、隔離ほ場における生物多様性影響評価を行うことは可能であると判断した。

5 なお、本組換えカラシナ RF3 の隔離ほ場試験では、以下の項目を調査する予定である。

- a) 形態及び生育の特性
- b) 生育初期における低温又は高温耐性
- 10 c) 成体の越夏性又は越冬性
- d) 花粉の稔性及びサイズ
- e) 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率
- f) 有害物質の産生性

15

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

20 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

(2) 使用等の方法

所在地：茨城県筑西市向上野1500番地41

25 名称： バイエルクロップサイエンス株式会社 明野事業所 隔離ほ場

使用期間：承認日から令和5年7月31日まで

1. 隔離ほ場の施設

30 1) 部外者の立入りを防止するため、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。

35

3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えカラシナ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、当該カラシナ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。

5

4) 隔離ほ場周辺には、防風林及び防風網を設置している。また、開花期には試験区を防虫網で覆うことにより花粉の飛散を防止する。

5) 栽培試験期間中の播種期及び収穫期には栽培実験区画を覆うように防鳥網を設置し、野鳥等の食害による種子の拡散を防止する。

10

2. 隔離ほ場での作業要領

1) 本遺伝子組換えカラシナ及び比較対照のカラシナ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。

15

2) 本遺伝子組換えカラシナを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該カラシナ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する場合を除き、本遺伝子組換えカラシナの栽培終了後は、当該カラシナ及び比較対照のカラシナを隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。

20

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カラシナが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。

25

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。

30

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書に基づき、モニタリングを実施する。

35

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。

(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

5 別に定めるモニタリング計画書に基づき、モニタリングを実施する。

(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

10 「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

15 _____

(6) 国外における使用等に関する情報

米国：

20 遺伝子組換え作物の形質を異なる種に導入しても従来の交配育種法を用いる限り、規制の対象とはならないため、米国食品医薬品局 (FDA)により、食品及び飼料で承認されている遺伝子組換えセイヨウナタネRF3の承認の範囲に、本組換えカラシナRF3が含まれるとの決定がされている。

25 また、上記と同じ理由により、米国農務省 (USDA)により、環境で承認されている遺伝子組換えセイヨウナタネRF3の承認の範囲に、本組換えカラシナRF3が含まれるとの決定がされている。

カナダ：

30 遺伝子組換え作物の形質を異なる種に導入しても従来の交配育種法を用いる限り、規制の対象とはならないため、カナダ保健省 (HC)により、食品及び飼料で承認されている遺伝子組換えセイヨウナタネRF3の承認の範囲に、本組換えカラシナRF3が含まれるとの決定がされている。

35 また、上記と同じ理由により、カナダ食品検査庁 (CFIA)により、環境で承認されている遺伝子組換えセイヨウナタネRF3の承認の範囲に、本組換えカラシナRF3が含まれるとの決定がされている。

オーストラリア：

遺伝子組換え作物の形質を異なる種に導入しても従来の交配育種法を用いる限り、規制の対象とはならないため、オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ)により本組換えカラシナRF3は新たに申請を必要としない。

5

また、我が国において、食品安全承認申請を厚生労働省へ提出する予定である。飼料安全に関する報告を農林水産省へ行い、令和2年4月に受理された。

10

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

第一、2(6)② (p.17)に記載したとおり、カラシナの特性と導入遺伝子の特性を考慮し、本組換えカラシナ RF3 を隔離ほ場試験で使用する場合の生物多様性評価を、生理学的又は生態学的特性の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

10

カラシナは我が国において、全都道府県に分布が確認されており、乾燥している河川敷、土手に自生集団を形成する (Nishizawa *et al.*, 2010; 津田ら, 2016)。カラシナは、畑地、樹園地、牧草地、路傍、荒地など攪乱された土地を生育地としており (津田ら, 2016)、攪乱されない土地においては他の植物や雑草と競合することはなく集団を維持することはできないと考えられている (OGTR 2017)。実際に、カラシナの栽培国であるオーストラリアでの雑草性リスクの調査において、栽培後の自生植物は一部の耕作地および攪乱地域を除き、あらゆる土地利用で集団を確立する能力が低いと報告されている (OGTR 2017)。

15

本組換えカラシナ RF3 は、改変 PAT 蛋白質の発現により除草剤グルホシネートに耐性を示すが、自然環境下においてこの除草剤が選択圧となることは考え難く、この性質により競合における優位性が高まることはないと考えられる。また、本組換えカラシナ RF3 が発現する BARSTAR 蛋白質は、リボヌクレアーゼである BARNASE 蛋白質の働きを阻害するが、植物中のリボヌクレアーゼに対する BARSTAR タンパク質の阻害作用は報告されておらず、本形質は競合において優位に作用する形質ではないと考えられる。

25

したがって、本組換えカラシナ RF3 の競合における優位性は、非組換えカラシナと相違はないと考えられ、第一種使用規程に従って、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、競合における優位性に起因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。

30

(2) 影響の具体的内容の評価

(3) 影響の生じやすさの評価

35

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

5 以上のことから、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えカラシナRF3の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が生ずるおそれはないと判断した。

10 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

15 カラシナの種子には、有害物質であるエルシン酸及びグルコシノレートを含むことが知られている (OGTR, 2017)。しかし、本組換えカラシナRF3の遺伝的背景は、エルシン酸及びグルコシノレート含有量の低いカノーラ品質を有する系統である。

本組換えカラシナRF3に導入された遺伝子から発現する改変PAT蛋白質及び改変BARSTAR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しないことが確認されている。

20 PAT蛋白質は高い基質特異性を有しており、基質であるグルコシノレ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 (Wehrmann *et al.*, 1996)。また、BARSTAR蛋白質はBARNASE蛋白質と特異的に非共有結合するため、宿主の代謝系に影響することはないと考えられる。

したがって、本組換えカラシナRF3が新たに有害物質の産生性を獲得したとは考え難く、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えカラシナRF3の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。

30 (2) 影響の具体的内容の評価

35 (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

5 以上のことから、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えカラシナRF3の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、有害物質の生産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。

10 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

15 我が国において、カラシナと交雑可能な我が国在来の近縁野生種は自生していないため、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は特定されなかった。

20 なお、我が国に分布する近縁種のうち、カラシナと交雑可能な近縁種として、セイヨウナタネ (*B.napus*)、クロガラシ (*B. nigra*)、アブラナ (*B. rapa*)、ロボウガラシ (*D. tenuifolia*)、シロガラシ (*S. alba*)、ノハラガラシ (*S. arvensis*)及びセイヨウダイコン (*R. raphanistrum*)が挙げられるが、いずれも日本に帰化した外来種である (津田ら, 2016; 環境省, 2002; 中井, 2003; 農林水産省, 2018)。したがって、これらは交雑に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある我が国在来の野生種としては特定されなかった。

25 (2) 影響の具体的内容の評価

(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、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えカラシナRF3の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、交雑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。

4. その他の性質

5

第二、3、(1) (p.24)に挙げた我が国に自生するカラシナ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我が国在来の野生動植物等としては特定されなかった。しかし、本組換えカラシナRF3と我が国に自生する外来近縁種が交雑した場合に生ずる可能性のある間接的な影響として、以下の2点が考えられた。

10

①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。

②交雑により浸透した導入遺伝子がもたらす遺伝的負荷によって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。

15

このような影響が生ずるためには、本組換えカラシナRF3が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。これらの方を考慮して、本組換えカラシナRF3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。

20

① 雑種後代が優占化して他の野生植物の個体群を駆逐する可能性

第一、1、(3)、ニ、③ (p.4)に示したように、本組換えカラシナRF3は我が国に分布するカラシナ及び外来近縁種であるセイヨウナタネ (*B.napus*)、クロガラシ (*B.nigra*)、アブラナ (*B.rapa*)、ロボウガラシ (*D.tenuifolia*)、シロガラシ (*S.alba*)、ノハラガラシ (*S.arvensis*)及びセイヨウノダイコン (*R.raphanistrum*)と交雑可能である。雑種後代に関して、F₁個体では稔性が低くなるが、戻し交雑をした場合は稔性が回復するという報告がある (津田ら, 2016)。これらの内、セイヨウナタネは、自然条件下で交雑する可能性がある (津田ら, 2016)が、交雑し雑種を形成するためには、親植物同士の物理的距離、花粉の飛散距離及び寿命、開花期の同調性、親植物の栽培方法、花序組織の特性、花粉の交雑和合性及び他の植物の花粉との競合性等の種々の生殖的隔離障壁が存在すること (OECD, 2012)から、自然条件下で雑種後代が優占化する可能性は低く、雑種後代が他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性は極めて低いと考えられる。仮に、本組換えカラシナRF3が我が国の自然環境下でこれら近縁種と交雑しても、その交雑率は低く、形

35

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、同種の植物である自生しているカラシナが挙げられる。しかしながら、第二の1(1)(p.22)に示したように、グルホシネ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
10 5 難しい。また、本組換えカラシナRF3が発現するBARSTAR蛋白質は、リボヌクレアーゼであるBARNASE蛋白質の働きを阻害するが、植物中のリボヌクレアーゼに対するBARSTARタンパク質の阻害作用は報告されておらず、本形質は競合において優位に作用する形質ではないと考えられる。したがって、本組換えカラシ
10 ナRF3と自生しているカラシナ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。

さらに、本隔離ほ場試験においては、本組換えカラシナRF3の開花期間中は試験プロットを防虫網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
15 予定である。

15

以上から、本組換えカラシナRF3が自生しているカラシナや外来近縁種と交雑し、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、従来のカラシナと同様に低いと考えられる。

20 ② 交雑により浸透した導入遺伝子がもたらす遺伝的負荷によって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

第二、1及び2(p.22~24)に示したように、本組換えカラシナRF3の競合における
25 優位性及び有害物質の産生性は、非組換えカラシナと相違ないと考えられる。本組換えカラシナRF3は改変*bar*遺伝子を有するが、除草剤耐性遺伝子が交雑により近縁種のゲノム中に移入したとしても遺伝的負荷にならないという報告
(Crawley *et al.*, 1993; Snow *et al.*, 1999)があることから、グルホシネートが散布されることが想定されない自然条件下において、改変*bar*遺伝子がもたらす遺伝的
30 負荷が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。

また、本組換えカラシナRF3が発現するBARSTAR蛋白質は、リボヌクレアーゼであるBARNASE蛋白質の働きを阻害するが、植物中のリボヌクレアーゼに対するBARSTARタンパク質の阻害作用は報告されていないことから、*barstar*遺伝子がもたらす遺伝的負荷が種間雑種の個体群の維持に影響を及ぼす可能性は低
35 いと考えられる。

これらのことから、導入遺伝子はいずれも我が国に自生するカラシナ及び近縁種の個体群中に浸透し、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、本組換えカラシナRF3と我が国に自生するカラシナ及び近縁種の交雑により間接的に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

第一、2、(6) (p.17)に記載したとおり、カラシナの特性と導入遺伝子の特性を考慮し、本組換えカラシナRF3を隔離ほ場で使用する場合の生物多様性影響評価を、生理学的又は生態学的特性のデータを用いずに評価した。

競合における優位性

カラシナは我が国において、全都道府県に分布が確認されているが、攪乱された土地を生育地としており、攪乱されない土地においては他の植物や雑草と競合することはなく集団を維持することはできないと考えられている (OGTR 2017)。

本組換えカラシナRF3は除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性形質を有するが、自然環境下において除草剤が選択圧となる状況は想定し難く、これらの形質が競合における優位性を高めることはないと考えられた。また、本組換えカラシナRF3が発現するBARSTAR蛋白質は、リボヌクレアーゼであるBARNASE蛋白質の働きを阻害するが、植物中のリボヌクレアーゼに対するBARSTARタンパク質の阻害作用は報告されておらず、本形質は競合において優位に作用する形質ではないと考えられる。

以上のことから、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えカラシナRF3の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して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

有害物質の産生性

カラシナの種子中にはヒト及び動物に有害と考えられるエルシン酸とグルコシノレートが含まれている。しかし、本組換えカラシナ RF3 の遺伝的背景種は、品種改良により両物質の含有量が低いカノーラ品質を有する系統である。

これまでにカラシナが他感物質等のような野生動植物等に影響を及ぼす有害物質を産生するという報告はない。また、本組換えカラシナRF3が遺伝子導入により新たに発現する改変PAT蛋白質及びBARSTAR蛋白質が有害物質であるとの報告はなく、既知のアレルゲンとの相同性も認められなかった。さらに、宿主の代謝経路に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

以上のことから、本組換えカラシナRF3が新たに有害物質の産生性を獲得するとは考え難く、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される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した。

交雑性

我が国において、カラシナと交雑可能な我が国在来の近縁野生種は自生して
いないため、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
5 物は特定されなかった。

その他の性質

我が国に自生するカラシナの交雑可能な外来近縁種として、セイヨウナタネ
(*B.napus*)、クロガラシ (*B.nigra*)、アブラナ (*B.rapa*)、ロボウガラシ (*D.tenuifolia*)、
10 シロガラシ (*S.alba*)、ノハラガラシ (*S.arvensis*)及びセイヨウノダイコン (*R.raphanistrum*)が挙げられる。本組換えカラシナRF3と我が国に自生するカラシナ
及び外来近縁種が交雑した場合、①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、②交雑により浸透した導入遺伝子をもたらす遺伝的負
荷によって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
15 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ため、既知の知見に基
づき検討を行った。

カラシナと外来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、① (p.25)に示したように、種々の生殖的隔離障壁が存在することから、
自然条件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
20 は極めて低いと考えられた。

また、導入遺伝子をもたらす遺伝的負荷が我が国に自生するカラシナ及び外
来近縁種の個体群の維持に影響を及ぼす可能性については、除草剤耐性遺伝子
が交雑により近縁種のゲノム中に移入したとしても遺伝的負荷にならないとい
う報告があることから、本組換えカラシナRF3で発現する改変 bar 遺伝子も同様
25 であると考えられた。また、 $barstar$ 遺伝子がコードするBARSTAR蛋白質は、リ
ボヌクレアーゼであるBARNASE蛋白質の働きを阻害するが、植物中のリボヌク
レアーゼに対するBARSTARタンパク質の阻害作用は報告されていない。したが
って、除草剤を散布することを想定しない自然環境下では、改変 bar 遺伝子及び
 $barstar$ 遺伝子をもたらす遺伝的負荷が交雑した近縁種の個体群の維持に影響を
30 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、本組換えカラシナRF3を一定の作業要領を備えた限定
環境で実施される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使用した場合に、生物多様性影響が生ずるおそれはない
35 と判断した。

参考文献

- Bolivar, F., Rodriguez, R.L., Greene, P.J., Betlach, M.C., Heyneker, H.L., Boyer, H.W., Crosa, J.H., Falkow, S., (1977) Construction and characterization of new cloning vehicle. II. A multipurpose cloning system. *Gene* 2, 95-113.
- CFIA. 2008. Biology Document BIO2007-01: The Biology of Brassica juncea (Canola/Mustard).
(<https://www.inspection.gc.ca/plants/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/biology-documents/brassica-juncea/eng/1330727837568/1330727899677>) (accessed on 2019-10-07)
- Crawley, M.J., Hails, R.S., Rees, M., Hohn, D., Buxton, J., (1993) Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature* 363, p.620-623
- Depicker, A., Stachel, S., Dhaese, P., Zambryski, P., Goodman, H.M., (1982) Nopaline synthase: transcript mapping and DNA sequence. *J Mol Appl Genet* 1, 561-573.
- Dhaese, P., De Greve, H., Gielen, J., Seurinck, L., Van Montagu, M., Schell, J., (1983) Identification of sequences involved in the polyadenylation of higher plant nuclear transcripts using *Agrobacterium* T-DNA genes as models. *The EMBO Journal* 2, 419-426.
- FAO, (2019) FAOSTAT. (<http://faostat3.fao.org/home/E>) (accessed on 2019-09-30).
- Fling, M.E., Kopf, J., Richards, C., (1985) Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-O-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13, 7095-7106.
- Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P., (1994) The small, versatile pPZP family of *Agrobacterium* binary vectors for plant transformation. *Plant Mol Biol* 25, 989-994.
- Hartley, R.W., Barker, E.A., (1972) Amino-acid sequence of extracellular ribonuclease (barnase) of *Bacillus amyloliquefaciens*. *Nature new biology* 235, 15-16.
- Hartley, R.W., Smeaton, J.R., (1973) On the Reaction between the Extracellular Ribonuclease of *Bacillus amyloliquefaciens* (Barnase) and Its Intracellular Inhibitor (Barstar). *Journal of Biological Chemistry* 248, 5624-5626.
- Hartley, R.W., (1988) Barnase and barstar: Expression of its cloned inhibitor permits expression of a cloned ribonuclease. *Journal of Molecular Biology* 202, 913-915.
- Hartley, R.W., (1989) Barnase and barstar: two small proteins to fold and fit together. *Trends in Biochemical Sciences* 14, 450-454.
- Hill, C., Dodson, G., Heinemann, U., Seanger, W., Mitsui, Y., Nakamura, K., Borisov, S., Tischenko, G., Polyakov, K., Pavlovsky, S. (1983) The structural and sequence homology of a family of microbial ribonucleases. *Trends in Biochemical Sciences*. 8:

364-369.

- 5 Khatikarn, B., Y. Shinohara, H. Namai and Y. Suzuki (1991), Interspecific variations in flowering habits in mustard (*Brassica juncea* (L.) Czern. et Coss.). Japanese Journal of Tropical Agriculture, 35, p.71-78
- 10 Krebbers, E., Seurinck, J., Herdies, L., Cashmore, A., Timko, M., (1988) Four genes in two diverged subfamilies encode the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit polypeptides of *Arabidopsis thaliana*. Plant Mol Biol 11, 745-759.
- 15 Levy, R., (1995) Wild flower of Japan, A field guide., 講談社インターナショナル, p.92-93
- 20 Makarov, A.A., Protasevich, II, Kuznetsova, N.V., Fedorov, B.B., Korolev, S.V., Struminskaya, N.K., Bazhulina, N.P., Leshchinskaya, I.B., Hartley, R.W., Kirpichnikov, M.P., *et al.*, (1993) Comparative study of thermostability and structure of close homologues-barnase and binase. Journal of biomolecular structure & dynamics 10, 1047-1065.
- 25 Martinez, J.C., Filimonov, V.V., Mateo, P.L., Schreiber, G., Fersht, A.R., (1995) A calorimetric study of the thermal stability of Barstar and its interaction with Barnase. Biochemistry, 34, 5224-5233.
- 30 Nishizawa, T., Tamaoki, M., Aono, M., Kubo, A., Saji, H., Nakajima, N., (2010) Rapeseed species and environmental concerns related to loss of seeds of genetically modified oilseed rape in Japan. GM Crops 1, p.143-156.
- 35 OECD, (1999) Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No.11. OECD Environmental Health and Safety publications.
- 40 OECD., (2011) Revised consensus document on compositional considerations for new varieties low erucic acid rapeseed (canola): key food and feed nutrients, anti-nutrients and toxicants. Series on the safety of novel foods and feeds No.24. OECD Environment, Health and Safety Publications.
- 45 OECD., (2012) Consensus document on the biology of the *Brassica* crops (*Brassica* spp.). Series on harmonisation of regulatory oversight in biotechnology No.54. OECD Environment, Health and Safety Publications.
- 50 OECD., (2016). Safety assessment of transgenic organisms in the environment. Vol 5, Chapter 3, Brassica crops (*Brassica* ssp.). p.151-291.
- 55 OGTR., (2017) The Biology of *Brassica napus* L. (canola) and *Brassica juncea* (L.) Czern. & Coss. (Indian mustard).

- Seurinck, J., Truettner, J., Goldberg, R.B., (1990) The nucleotide sequence of an anther-specific gene. *Nucleic Acids Research* 18, 3403.
- 5 Smeaton, J.R., Elliott, W.H., (1967) Isolation and properties of a specific bacterial ribonuclease inhibitor. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Nucleic Acids and Protein Synthesis* 145, 547-560.
- 10 Snow, A.A., Andersen, B., Jørgensen, R.B., (1999) Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from *Brassica napus* into weedy *B. rapa*. *Molecular Ecology* 8, p.605-615
- Takahata, Y., Konno, N., Hinata, K., (2008) Genotypic variation for floral characters in *Brassica* and allied genera with special reference to breeding system. *Breeding Science* 58, 385-392.
- 15 Thompson, C.J., Movva, N.R., Tizard, R., Cramer, R., Davies, J.E., Lauwereys, M., Botterman, J., (1987) Characterization of the herbicide-resistance gene *bar* from *Streptomyces hygroscopicus*. *The EMBO journal* 6, p.2519-2523.
- 20 Wehrmann, A., Van Vliet, A., Opsomer, C., Botterman, J., Schulz, A., (1996) The similarities of *bar* and *pat* gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nat Biotech* 14, p.1274-1278.
- Zambryski, P., (1988) Basic processes underlying *Agrobacterium*-mediated DNA transfer to plant cells. *Annual review of genetics* 22, 1-30.
- 25 Zhu, J.; Oger, P. M.; Schrammeijer, B.; Hooykaas, P. J. J.; Farrand, S. K.; Winans, S. C. (2000) The bases of crown gall tumorigenesis. *Journal of Bacteriology* 182: 3885-3895.
- 30 環境省, (2002) 我が国の移入種 (外来種)リスト.
(<http://www.env.go.jp/nature/report/h14-01/mat01a.pdf>) (accessed on 2016-06-07).
- 清水矩宏, 森田弘彦, 廣田伸七, (2001) 日本帰化植物写真図鑑, 全国農村教育協会, p.90-91
- 35 竹松哲夫・一前宣正, (1993), *Brassica juncea* Czern. セイヨウカラシナ, 世界の雑草 II 離弁花類., p.400-401 全国農村教育協会
- 40 津田麻衣, 田部井豊, 大澤良, 下野綾子, 吉田康子, 吉村泰幸, (2016) 遺伝子組換えセイヨウアブラナの生物多様性影響評価に必要なカラシナ (*Brassica juncea*)、アブラナ (*B. rapa*)、セイヨウアブラナ (*B. napus*) の生物情報集. 農業表環境技術研究所報告, 36, p.1-46.
- 中井秀樹, (2003) アブラナ科, 日本の帰化植物, 清水健美 (編). 平凡社, p.80-96.

農林水産省, (2018) 「平成 29 年度遺伝子組換え植物実態調査」の結果について (<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/181220.html>) (accessed on 2019-10-07)

5

農林水産省, (2019) 農林水産物輸出入概況 2018 年 (平成 30 年) 確定値. (http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kokusai/attach/pdf/houkoku_gaikyou-15.pdf) (accessed on 2019-10-07).

10

星川清親, (1987), カラシナ, 栽培植物の起源と伝播, 二宮書店, p.92-93

山岸博, (1989), カラシナ, 7. 菜類. 松尾孝嶺 (監修), 植物遺伝資源集成, 講談社サイエンティフィク, p.894-898

別添資料の内容

- 5 別添資料 1: 除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 の生物多様性影響評価書
社外秘情報につき非開示
- 10 別添資料 2: 遺伝子組換えカラシナ RF3 の分子生物学的特性
社外秘情報につき非開示
- 10 別添資料 3: 遺伝子組換えカラシナ RF3 の挿入配列の DNA シーケンスの決定
社外秘情報につき非開示
- 15 別添資料 4: 2017年にカナダ及び米国で栽培された遺伝子組換えカラシナ RF3 を用いた改変 PAT 蛋白質及び BARSTAR 蛋白質の蛋白質発現解析
社外秘情報につき非開示
- 20 別添資料 5: 遺伝子組換えカラシナ RF3 の植物体、根、花序及び種子組織の 3 世代における改変 PAT 蛋白質及び BARSTAR 蛋白質の蛋白質発現解析
社外秘情報につき非開示
- 別添資料 6: イベント識別方法
社外秘情報につき非開示

緊急措置計画書

令和2年5月25日

氏名 BASF ジャパン株式会社
代表取締役社長 石田 博基
住所 東京都中央区日本橋室町三丁目4番4号

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及び稔性回復性カラシナ(改変*bar, barstar, Brassica juncea* (L.) Czern.)(RF3, OECD UI: ACS-BN003-6)(以下、「本組換えカラシナRF3」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おそれがあると科学的に認められた場合は、以下の措置を執ることとする。

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

本組換えカラシナRF3が生物多様性影響を生ずるおそれがあると判断された場合は、緊急措置に適切に対応するために危機対策本部(表1)を速やかに設置する。

表1 危機対策本部*名簿(令和2年5月現在)

	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部 執行役員 事業部長
**	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部
	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部
	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部

*本危機対策本部は、社内 Country Incident Management Team の指揮管理のもと、第一種使用等に係る緊急措置の実働対応を行う。

**管理責任者

(個人名は個人情報のため非開示)

2 第一種使用等の状況の把握の方法

栽培試験担当者及び管理責任者は、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

本組換えカラシナRF3の使用に伴い、生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合は、栽培試験担当者及び管理責任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。

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

当該影響を生ずるおそれに基づき、本組換えカラシナRF3を不活化する措置、本組換えカラシナRF3の環境への放出を防止するための措置、又はすでに環境に放出された本組換えカラシナRF3の拡散を防止する措置を講ずる。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

本組換えカラシナRF3が我が国の生物多様性に影響を及ぼすおそれがあると認められた場合には、速やかに、農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に連絡するとともに、緊急措置に対応するための社内における組織体制及び連絡窓口を報告する。

モニタリング計画書

令和2年5月25日

氏名 BASF ジャパン株式会社

代表取締役社長 石田 博基

住所 東京都中央区日本橋室町三丁目4番4号

イ. 実施体制及び責任者

除草剤グルホシネート耐性及び雄性回復性カラシナ (改変 *bar*, *barstar*, *Brassica juncea* (L.) Czern.) (RF3, OECD UI: ACS-BN00-3-6) (以下「本組換えカラシナ RF3」とする)のモニタリングについて、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。

表1 モニタリング実施体制 (令和2年5月現在)

氏名	所属機関・職名
*	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部
	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部
	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部

*管理責任者

(個人名は個人情報のため非開示)

ロ. モニタリングの対象となる野生動植物等の種類の名称

我が国にカラシナ (*Brassica juncea*)と交雑可能な野生種は存在しない。モニタリングの対象は雑草性があり、交雑の可能性が考えられる近縁種である以下の植物種とする。

モニタリング対象植物種

カラシナ (*Brassica juncea*)

セイヨウナタネ (*Brassica napus*)

クロガラシ (*Brassica nigra*)

アブラナ (*Brassica rapa*)
ロボウガラシ (*Diplotaxis tenuifolia*)
シロガラシ (*Sinapis alba*)
ノハラガラシ (*Sinapis arvensis*)
セイヨウノダイコン (*Raphanus raphanistrum*)

ハ. 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育又は生育状況

カラシナは風媒や虫媒によって花粉が運ばれるが、周囲を防虫網で覆うことで風媒や虫媒による花粉飛散を低減できる。

本組換えカラシナRF3の開花期間中はビニールハウス外面に防虫網を被せ虫媒や風媒による花粉の飛散低減措置を執ることとする。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。

ニ. モニタリングの期間

本組換えカラシナ RF3 の隔離ほ場における栽培期間中に実施する。

ホ. 実施期間、頻度その他のモニタリングの方法

カラシナはカラシナ以外にも近縁種である*B. napus*、*B. nigra*、*B. rapa*、*D. tenuifolia*、*S. alba*、*S. arvensis*及び*R. raphanistrum*と交雑する可能性が考えられる。しかし、開花期にはビニールハウス外面に防虫網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、防虫網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。

1) 本組換えカラシナRF3の開花期間中に、隔離ほ場周辺100m以内に開花しているモニタリング対象植物種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。

2) 位置情報をモニタリング対象植物種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。

3) 収集されたモニタリング対象植物種の種子に改変 bar 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。

へ. モニタリング結果の解析方法

上述の交雑検定の結果をもとに、本組換えカラシナ RF3 からモニタリング対象植物種への距離に依存した自然交雑の有無・頻度を解析する。

ト. 農林水産大臣及び環境大臣への報告方法

モニタリング及びその解析結果は、「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」における第一種使用規程の申請時に、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。

チ. その他の必要な事項

モニタリングの期間中に採取されたモニタリング対象植物種から本組換えカラシナ RF3 との交雑によって、当該遺伝子の移行あるいは移行したと疑われる結果が得られた場合には、農林水産省及び環境省と協議を行うものとする。