

<p>除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ (改変 <i>cp4 epsps, pat</i>, 改変 <i>dmo, Beta vulgaris L. ssp. vulgaris var. altissima</i>) (KWS20-1, OECD UI: KB-KWS201-6) 申請書等の概要</p>

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	4
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	4
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	4
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	4
① 和名、英名及び学名	4
② 宿主の品種名又は系統名	4
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域	4
(2) 使用等の歴史及び現状	5
① 国内及び国外における第一種使用等の歴史	5
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途	5
(3) 生理学的及び生態学的特性	7
イ 基本的特性	7
ロ 生息又は生育可能な環境の条件	7
ハ 捕食性又は寄生性	8
ニ 繁殖又は増殖の様式	8
① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命	8
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	8
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	9
④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命	9
ホ 病原性	10
ヘ 有害物質の産生性	10
ト その他の情報	10
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	10
(1) 供与核酸に関する情報	11
イ 構成及び構成要素の由来	11
ロ 構成要素の機能	12

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.....	12
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.....	17
③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容.....	19
(2) ベクターに関する情報.....	21
イ 名称及び由来.....	21
ロ 特性.....	21
① ベクターの塩基数及び塩基配列.....	21
② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能.....	21
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.....	21
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	21
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成.....	21
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法.....	22
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過.....	22
① 核酸が移入された細胞の選抜の方法.....	22
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.....	22
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.....	23
(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.....	25
① 移入された核酸の複製物が存在する場所.....	25
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.....	27
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.....	29
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.....	29
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播されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度.....	33

(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.....	33
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	33
① 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容	33
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	33
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	36
(1) 使用等の内容.....	36
(2) 使用等の方法.....	36
(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.....	37
(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.....	37
(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.....	37
(6) 国外における使用等に関する情報.....	37
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	39
1 競合における優位性	39
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	39
(2) 影響の具体的内容の評価.....	40
(3) 影響の生じやすさの評価.....	40
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	40
2 有害物質の産生性	40
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	40
(2) 影響の具体的内容の評価.....	41
(3) 影響の生じやすさの評価.....	41
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	41
3 交雑性	41
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定.....	41
(2) 影響の具体的内容の評価.....	41
(3) 影響の生じやすさの評価.....	41
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断.....	42
4 その他の性質	42
第三 生物多様性影響の総合的評価	43

参考文献	45
緊急措置計画書	51
隔離ほ場試験計画書	53
別添資料リスト	65

本評価書に掲載されている情報を無断で複製・転載することを禁ずる。

第一種使用規程承認申請書

2022年6月29日

5 農林水産大臣 金子 原二郎 殿
環境大臣 山口 壯 殿

10 申請者 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 ハーラルト・プリンツ
住所 東京都千代田区丸の内一丁目6番5号

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

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ (改変 <i>cp4 epsps, pat</i>, 改変 <i>dmo, Beta vulgaris L. ssp. vulgaris var. altissima</i>) (KWS20-1, OECD UI: KB-KWS201-6)</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：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地 名称：バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場 使用期間：承認日から 2027 年 12 月 31 日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1) 部外者の立入を防止するため、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、本遺伝子組換えテンサイ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、当該テンサイの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。</p> <p>(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風網を設置している。また、播種時には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本遺伝子組換えテンサイ及び比較対象のテンサイ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。</p> <p>(2) 本遺伝子組換えテンサイを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該テンサイ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、本遺伝子組換えテンサイの栽培終了後は、当該テンサイ及び比較対象のテンサイを隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化する。</p> <p>(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本組換えテンサイが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。</p> <p>(5) 本組換えテンサイ及び比較対象のテンサイにおける抽苔の有無について冬季を除き二週間ごとに調査を行い、もし抽苔した個体が生じた場合は、花粉の飛散を防止するため、開花前に切除する。</p> <p>(6) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるよう</p>

	<p>に、設備の維持及び管理を行う。</p> <p>(7) (1)から(6)までに掲げる事項について第一種使用等を行う者に遵守させる。</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>
--	--

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

5 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

① 和名、英名及び学名

10

和名：テンサイ

英名：Sugar beet

学名：*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*

15 ② 宿主の品種名又は系統名

遺伝子導入に用いた宿主は KWS SAAT SE & Co. KGaA (ドイツ) によって作成された育成系統【社外秘】である。

20 ③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

テンサイ (*Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*) はヒユ科¹フダンソウ属に属する。フダンソウ属は *Beta* 節、*Corollinae* 節、*Procumbentes* 節及び *Nanae* 節の4つの節に分かれており、テンサイは *Beta* 節に属する *vulgaris* 種に含まれる。

25 フダンソウ属 *vulgaris* 種は複数の栽培種を含む *vulgaris* 亜種から構成されており、*vulgaris* 亜種にはテンサイの他にも、フダンソウ (*B. vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *cicla*)、スイスチャード (*B. vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *flavescens*)、食用根菜ビート (*B. vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *vulgaris*)、飼料用ビート (*B. vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *rapacea*) などの変種が存在する (OECD, 2001)。

30

上述したテンサイを含む全ての栽培ビート類²の祖先種は、ヨーロッパから西アジアの海岸によく見られるハマフダンソウ (*Beta vulgaris* L. ssp. *maritima*) と

¹ OECD (2001) にはアカザ科 (*Chenopodiaceae*) と記載されているが、APG分類体系ではアカザ科はヒユ科 (*Amaranthaceae*) に統合されている (The Angiosperm Phylogeny Group, 2003)。

² フダンソウ、スイスチャード、食用根菜ビート、飼料用ビート、テンサイ等が含まれる。

考えられている。一般的に、古代のハマフダンソウは先史時代に葉を食用とする野菜として栽培され始め、1世紀頃には栽培品種ができ、その後、根が肥大した種が実用化されたと考えられている。また、ハマフダンソウは起源中心地である近東から、地中海沿岸、カナリア諸島、アゾレス諸島に広がり、その後大西洋沿岸からアイルランドとスコットランドの南部に拡大したと考えられている。ハマフダンソウは海岸性の植物であり、高潮線から10~20m内陸の海岸にのみ自生している。自然環境に定着したテンサイもハマフダンソウと同様に海岸から離れた地域では生育していない(OECD, 2001)。

わが国の自然環境下において、テンサイ及びフダンソウ属植物が自生しているという報告はない。

(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

15

ビートは古代ギリシャやローマで定着した野菜であり、葉付きのビートに関する最初の記述は紀元前350年頃のものである。ビートの葉は紀元前6世紀から紀元前4世紀には栽培化され野菜として用いられてきた。16世紀から17世紀にかけて、赤や黄色のビートがサラダ野菜としてさらに一般的になり、根部が肥大した飼料用ビートが実際に栽培化されたのは15世紀であった(OECD, 2001)。その後、1747年にビートにショ糖が含まれていることが発見され、ビートから砂糖を精製する試みが始まった。その後、育種により糖度の高いホワイトシレジア品種が育成され、これが現在の全てのテンサイ栽培種の礎となった。テンサイは18世紀末に初めて栽培化された(OECD, 2001)。

25

わが国では砂糖原料作物として1870年頃に北海道で栽培が始まった。その後、1950年代に東北から九州にかけての地域へテンサイの導入が試みられたこともあるが、暖地では病害の発生が多く、収量が少ない等採算性が取れずに栽培が断念された(田辺, 1981)。現在の栽培は北海道(主に十勝及びオホーツク地方)に限られている(北海道農政事務所, 2021; 農林水産省, 2022)。

30

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

主たる栽培地域

35

現在、テンサイは世界中の温帯から亜寒帯の地域で栽培される主要な砂糖製造用原料作物である。2020年における全世界での生産量は約2億5,300万トンで、ロシア(約3,392万トン)について、米国(約3,050万トン)、ドイツ(約2,862

万トン)、フランス (約 2,620 万トン) 及びトルコ (約 2,303 万トン) が主要生産国になっている (FAOSTAT, 2022)。

わが国においてテンサイは北海道 (主に十勝及びオホーツク地方) でのみ栽培されており、2021 年の作付面積は約 5.8 万 ha、生産量はおよそ 406 万トンであった (北海道農政事務所, 2021; 農林水産省, 2022)。

栽培方法

テンサイは諸外国では直播栽培であるが、わが国における栽培ではペーパーポット育苗による機械移植栽培が主体であり、3 月に播種、4~5 月に移植、10~11 月に収穫する (田中, 2004)。テンサイは二年生作物であり、一年目は栄養成長期間で根部が肥大して砂糖の原料となるショ糖を蓄積し、二年目に冬期間の低温で花芽分化し、夏の長日条件下で抽苔³・開花、結実する (田中, 2004)。したがって、砂糖原料である根部の収穫を目的としたわが国での商業栽培において、テンサイは一年目に収穫されるため、種子生産目的以外では二年目の生殖成長を行うことはなく、開花及び結実する可能性は低い。また、栄養成長期の途中で低温にさらされることにより、生殖成長に転換して抽苔することがあるものの、抽苔したテンサイは収量及び糖度が低下するため (田辺, 1981)、近年の育種により一年目に抽苔しにくい品種が育成されている (OECD, 2001)。日本におけるテンサイの生活環を図 1 (p6) に示した。

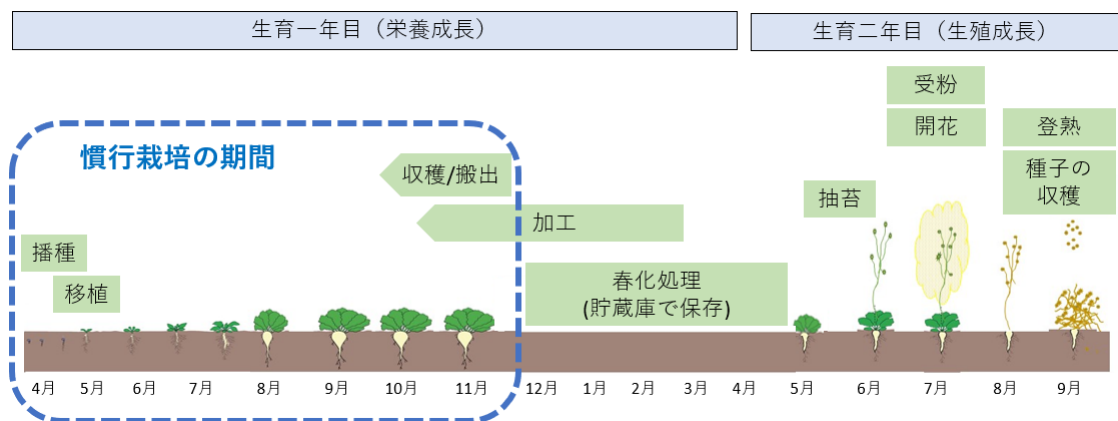


図 1 日本におけるテンサイの生活環⁴

³ 温度や日長などの影響によって栄養成長から生殖成長へ移り花茎が伸びること。

⁴ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

流通実態及び用途

テンサイは地上部(茎葉部)と地下部(根部)に大別され、その全てを利用することができる。テンサイは生鮮食品としてはほとんど使用されず、砂糖、ビートパルプ及び糖蜜に加工される。テンサイを糖に加工する際に副産物として生産されるビートパルプは、食物繊維が豊富に含まれているため、家畜等の飼料として使用される(Cattanach et al., 1991)。もう一つの重要な副産物は糖蜜であり、これは結晶化できない約50%のショ糖を含む粘性のある液体である(OECD, 2002)。糖蜜は、酵母、クエン酸、医薬品、アルコール、混合飼料の製造に使用される(Cattanach et al., 1991; OECD, 2002)。茎葉部はビートトップと呼ばれ家畜等の飼料として利用されているほか、良質の緑肥として畑に鋤き込まれることもある(Cattanach et al., 1991; OECD, 2002)。

わが国では2021年に、テンサイ糖としておよそ21トン(農畜産業振興機構, 2022)、ビートパルプ⁵としておよそ21.6万トンを入力しており、主に米国(17.0万トン)及びエジプト(1.7万トン)から輸入されている(財務省, 2022)。また、2021年にわが国に輸入されたテンサイの種子はおよそ57.3トンであり、主にイタリア(約47.5トン)、フランス(約5.7トン)、米国(約3.6トン)から輸入されている(財務省, 2022)。

20

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

25 テンサイが属するフダンソウ属の植物は種子繁殖する二年生植物で、基本染色体数は $x=9$ であり、二倍体、三倍体、四倍体が存在する(OECD, 2001)。宿主である育成系統【社外秘】は二倍体の倍加半数体⁶系統である。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

30

テンサイの栽培は温帯から亜寒帯に広く分布している。テンサイは一年目にショ糖を蓄積した根を、二年目に花序を発達させる二年生植物である。春に播種され、根部は一年目の秋又は初冬に収穫される。テンサイは播種後70~90日

⁵ バガスその他の砂糖製造の際に生ずるかすを含む。

⁶ 花粉等の配偶子(半数体)の染色体を倍加することで得られた個体。

かけて、葉が畑の土壌表面を完全に覆うまで成長する。播種後 90 日間における最適気温は 16~27℃である。日長が長い地域はテンサイの成長に最も適している。播種後 90 日から収穫までにおける最適気温は、日中 18~27℃、夜間 4~10℃である (Cattanach et al., 1991)。テンサイは寒さに敏感であり、-5℃以下での降霜で枯死する (CFIA, 2012)。

テンサイはさまざまな種類の土壌によく適応する。乾燥地におけるテンサイの生産は、一般に降雨量が 20 インチ (約 50 cm) 以上ある地域の保水力の高い土壌に限定され、降雨量が非常に少ない地域では灌漑施設を用いて生産される (Cattanach et al., 1991)。

テンサイの種子には発芽や初期成長に必要な外胚乳がほとんど含まれていないため、生育初期において、雑草との競合や病気、草食動物から受けるダメージに対して非常に脆弱である (OECD, 2001)。実際に、テンサイはわが国に 1870 年頃に導入され、これまでに西南暖地、東北地方、北海道において栽培されたが、わが国においてテンサイが自生しているという報告はない。

ハ 捕食性又は寄生性

—

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

テンサイの種子は野生種であるハマフダンソウよりも脱粒しにくい、成熟すると脱粒することがある。地面に落下したテンサイの種子は、その種子中に含まれるシュウ酸ナトリウムや硝酸カリウム等の発芽阻害物質の存在 (井上ら, 1974) や、種子と土壌の接触が悪いことから、通常は同じシーズンに発芽することはない (OECD, 2001)。テンサイの種子の寿命は長く、土壌中に 10 年以上生存することが可能である。一般的に、収穫後 6 年目の多胚性種子及び収穫後 4 年目の単胚性種子ではどちらも 70%の発芽率があるとされている。また、実験室の条件では、8 年目の種子で 59%の発芽率が確認されている (OECD, 2001)。

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

テンサイは通常、種子により繁殖する。種子は直径約 1~2mm の円形である。

その一方で、収穫後のほ場に残された根部や冠部から植物体を再生することもある (OECD, 2001)。

- 5 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

テンサイは強い自家不和合性を有する他殖性植物であり、主として風媒によって受粉する。昆虫による花粉の移動も行われる場合があるが、頻度は低く、受粉にはあまり寄与しない (OECD, 2001)。

10

テンサイとフダンソウ、スイスチャード、食用根菜ビート、飼料用ビートなどの *vulgaris* 種に属する変種の栽培作物との交雑において生殖隔離機構は存在せず、容易に交雑可能である。

- 15 また、テンサイが属するフダンソウ属は *Beta* 節、*Corollinae* 節、*Procumbentes* 節及び *Nanae* 節の4つの節に分かれており、テンサイはいずれも野生種であるハマフダンソウ、*B. vulgaris* ssp. *adanensis*、*B. macrocarpa* 及び *B. patula* と共に *Beta* 節に属している。*Beta* 節に属するこれら全ての種は交雑可能であり、形成された雑種は稔性がある上、染色体レベルでの不和合性は見受けられない。しかし、テンサイと *B. macrocarpa* の間の雑種は、開花時期が異なるためにまれである。
- 20 また、*B. macrocarpa* と *B. vulgaris* の雑種では、いくらか花粉不稔や胚の死滅が見られる (OECD, 2001)。

- 25 フダンソウ属 *Corollinae* 節には、困難は伴うもののテンサイと人工雑種作成の可能な種がある。しかし、これらの雑種は不稔性が高く、テンサイとの戻し交配ではほとんど種子を生じない。また、テンサイと *Procumbentes* 節に属する種との間の人工交雑による F_1 は通常芽生え期に死滅するが、テンサイに接ぎ木をすることで生育可能となり、よく生育することができる。これらの雑種はほぼ不稔であり、戻し交配ではほとんど種子を生じない。テンサイと *Nanae* 節の間の雑種は報告されていない (OECD, 2001)。

- 30 結論として、テンサイはフダンソウ属 *Beta* 節に属する野生種とのみ交配が可能である。しかし、わが国にはフダンソウ属植物は自生していないため、わが国においてテンサイが近縁野生種と自然交雑することは考え難い。

- ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

- 35 花粉粒は球形で表面に多数の凹凸がある。1 葯当たりの花粉数は約 17,000 粒である。1 花当たり約 85,000 粒、1 個体当たり約 10 億粒の花粉を産生すると考

えられる。花粉の寿命は環境条件、特に湿度によるが最大 24 時間である (OECD, 2001)。二倍体に生じる花粉のサイズは直径約 21 μm である (Hecker, 1988)。

- 5 風で運ばれる花粉は、水平方向に少なくとも 4,500 m 飛散する可能性があり、高さ 5,000 m で観察されている (OECD, 2001)。実際に、ほ場から最大 5 km の花粉の飛散が観察された事例や、空中の花粉の移動が最大 8 km の距離で発生する可能性があるとする報告がある (OECD, 2001)。
- 10 OECD のテンサイ種子生産計画によれば、種子生産地として承認されるのは *Beta* 属が自生していないことが確認された場所のみである。交配育種や商業種子生産を行う際に設定されている隔離距離は、OECD の種子生産計画では、通常の種子生産では他の *Beta* 属からは 1,000 m を、保証種子の生産では意図する花粉親の染色体数と近隣の花粉源であるテンサイの染色体数によって 300 m から
- 15 から 1,000 m の隔離距離を設定するよう定められている (OECD, 2021)。

ホ 病原性

—

20

へ 有害物質の産生性

他感作用物質等のような野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

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

- バイエルグループ及びKWS SAAT SE & Co. KGaA (ドイツ) は、両社の共同開発により、除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバに対する耐性が付与された除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ
- 35 (改変*cp4 epsps*, *pat*, 改変*dmo*, *Beta vulgaris* L. ssp. *vulgaris* var. *altissima*) (KWS20-1, OECD UI: KB-KWS201-6) (以下、「本組換えテンサイ」とする。) を作出した。

本組換えテンサイには、*Agrobacterium* sp. CP4株由来の*cp4 epsps*遺伝子、*Streptomyces viridochromogenes*由来の*pat*遺伝子及び*Stenotrophomonas maltophilia*由来の*dmo*遺伝子が導入されている。*cp4 epsps*遺伝子から発現する5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) (以下、「CP4 EPSPS蛋白質」とする。)により除草剤グリホサートに対する耐性、*pat*遺伝子から発現するホスフィンオスリシンN-アセチルトランスフェラーゼ (phosphinothricin N-acetyltransferase: 以下、「PAT蛋白質」とする。)により除草剤グルホシネートに対する耐性、及び*dmo*遺伝子から発現するジカンバモノオキシゲナーゼ (dicamba mono-oxygenase: 以下、「DMO蛋白質」とする。)により、除草剤ジカンバに対する耐性が本組換えテンサイに付与されている。

(1) 供与核酸に関する情報

15 イ 構成及び構成要素の由来

本組換えテンサイ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、図2 (p13) 及び表1 (p14~16) に示した。

20 本組換えテンサイに導入された *cp4 epsps* 遺伝子から発現する CP4 EPSPS 蛋白質は、クローニングの過程で制限酵素切断部位を挿入したことにより、*Agrobacterium* sp. CP4 株由来の CP4 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列と比較して、N 末端配列から 2 番目のセリンがロイシンに改変されている。よって、本組換えテンサイに導入された *cp4 epsps* 遺伝子を「改変 *cp4 epsps* 遺伝子」、本組換え
25 テンサイで発現する CP4 EPSPS 蛋白質を「改変 CP4 EPSPS 蛋白質」とする。

本組換えテンサイに導入された *pat* 遺伝子から発現する PAT 蛋白質のアミノ酸配列は、プロセッシングにより N 末端のメチオニンが取り除かれている以外、*Str. viridochromogenes* 由来の野生型 PAT 蛋白質と同一のものである。N 末端の
30 メチオニンの切断は一般的であり、多くの蛋白質で起こるものである (Meinell and Giglione, 2008)。

本組換えテンサイに導入された *dmo* 遺伝子から発現する DMO 蛋白質のアミノ酸配列は、クローニングの過程で制限酵素断片部位を挿入したことにより、
35 *Ste. maltophilia* 由来の野生型 DMO 蛋白質のアミノ酸配列と比較して、N 末端のメチオニンの直後にロイシンが挿入されている。よって、本組換えテンサイに

導入された *dmo* 遺伝子を「改変 *dmo* 遺伝子」とする。また、本組換えテンサイでは、改変 *dmo* 遺伝子発現カセットから発現する前駆蛋白質がプロセッシングを受けることにより、Ribulose 1,5-bisphosphate carboxylase small subunit (*RbcS*) に由来する 27 アミノ酸が切り離されずに N 末端に残った蛋白質が生じる。本組換え
5 テンサイ中で発現する改変 DMO 蛋白質を「改変 KWS20-1 DMO 蛋白質⁷」とする。

本組換えテンサイにおいて発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質の推定アミノ酸配列は別添資料 1 に示した。

10

ロ 構成要素の機能

- 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
15 与核酸の構成要素それぞれの機能

15

本組換えテンサイの作出に用いられた供与核酸の機能は、表 1 (p14~16) に示した。

⁷ 別添資料において改変 KWS20-1 DMO 蛋白質は DMO+27.1 protein と記載されている。

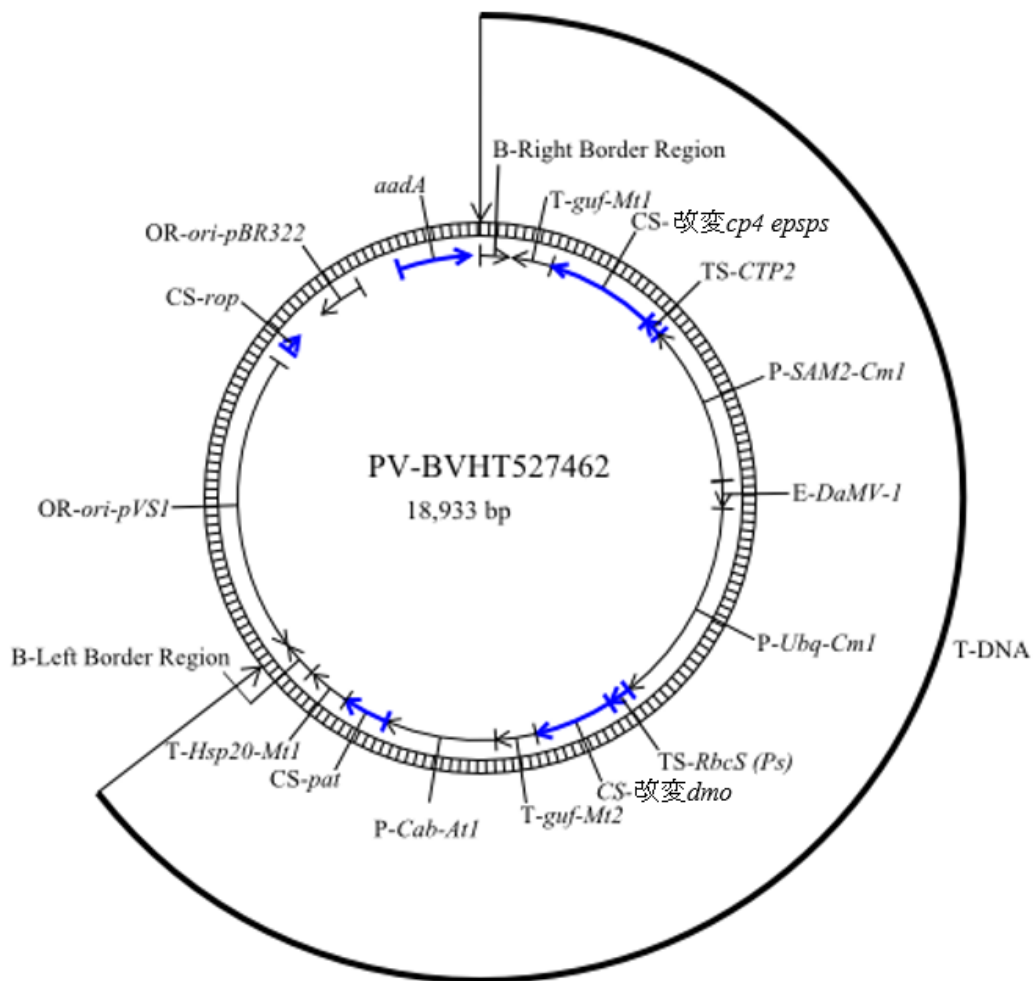


図2 本組換えテンサイの作出に用いた PV-BVHT527462 のプラスミドマップ⁸

⁸ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

表1 本組換えテンサイの作出に用いた PV-BVHT527462 の各構成要素の由来及び機能⁹

構成要素	由来及び機能
B ¹ -Right Border Region	<i>Rhizobium radiobacter</i> (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される右側境界配列を含む (Depicker et al., 1982; Zambryski et al., 1982)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
T ² - <i>guf-Mt1</i>	タルウマゴヤシ (<i>Medicago truncatula</i>) の機能未知遺伝子の 3' 末端非翻訳領域の配列で (GenBank Accession: MH931406)、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (Hunt, 1994)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
CS ³ -改変 <i>cp4 epsps</i>	<i>Agrobacterium</i> sp. CP4 株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (CP4 EPSPS) をコードしている <i>aroA</i> (<i>epsps</i>) 遺伝子のコード配列 (Padgett et al., 1996; Barry et al., 2001)。除草剤グリホサート耐性を付与する。
TS ⁴ - <i>CTP2</i>	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) の葉緑体輸送ペプチド領域をコードしている <i>ShkG</i> 遺伝子のターゲティング配列 (Klee et al., 1987; Herrmann, 1995)。目的蛋白質を葉緑体へと輸送する。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
P ⁵ - <i>SAM2-Cm1</i>	メロン (<i>Cucumis melo</i>) の S-アデノシル-L-メチオニン合成酵素をコードする <i>SAM2</i> 遺伝子のイントロン、5' 末端非翻訳領域及びプロモーター配列 (GenBank Accession: OK149194) で、恒常的に転写を誘導する (Hernandez-Garcia and Finer, 2014)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
E ⁶ - <i>DaMV-1*</i>	ダリアモザイクウイルス (DaMV) のプロモーター領域に由来するエンハンサー配列 (Kuluev and Chemeris, 2007)。植物細胞内での転写を高める。

* 本配列はダリアモザイクウイルス (DaMV) の推定 ORF の一部を含むが、本組換えテンサイにおける改変 KWS20-1 DMO 蛋白質及び改変 CP4 EPSPS 蛋白質が安定して発現していることから、本配列は意図したとおり改変 KWS20-1 DMO 蛋白質を発現させるためのエンハンサーとして機能し、DaMV 由来の蛋白質が生成される可能性はないと考えられる。

⁹ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

表1 本組換えテンサイの作出に用いた PV-BVHT527462 の各構成要素の由来及び機能 (つづき)

構成要素	由来及び機能
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
P- <i>Ubq-Cml</i>	メロン (<i>C. melo</i>) 由来の推定ユビキチン蛋白質の遺伝子のプロモーター、リーダー及びイントロン配列 (GenBank Accession: OK149193) で、恒常的な転写を誘導する (Hernandez-Garcia and Finer, 2014)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
TS- <i>RbcS (Ps)**</i>	エンドウ (<i>Pisum sativum</i>) のリブローズ-1,5-二リン酸カルボキシラーゼ小サブユニットをコードする <i>RbcS</i> 遺伝子ファミリーのターゲティング配列とコード領域の最初の 27 アミノ酸。目的蛋白質を葉緑体へと輸送する (Fluhr et al., 1986)。
CS-改変 <i>dmo</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i> のジカンバモノオキシゲナーゼ (DMO) のコード配列 (Wang et al., 1997; Herman et al., 2005)。除草剤ジカンバ耐性を付与する。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
T- <i>guf-Mt2</i>	タルウマゴヤシ (<i>M. truncatula</i>) の機能未知遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列 (GenBank Accession: OK149195) で、転写の終結及び mRNA のポリアデニル化を誘導する (Hunt, 1994)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
P- <i>Cab-At1</i>	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>) 由来のクロロフィル a/b 結合蛋白質 (CAB) のプロモーター及びリーダー配列 (GenBank Accession: OK149192) で、主に緑色組織での転写を誘導する (Ha and An, 1988)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
CS- <i>pat</i>	<i>Streptomyces viridochromogenes</i> に由来するホスフィノスリシン N-アセチルトランスフェラーゼ (PAT 蛋白質) のコード配列。除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (Wohlleben et al., 1988; Wehrmann et al., 1996)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。

** 改変 *dmo* 遺伝子発現カセットからはターゲティング配列である *RbcS* と改変 *dmo* 遺伝子が融合した前駆蛋白質が発現する。その後、前駆蛋白質はプロセッシングにより *RbcS* に由来するペプチドの大部分が切り離され、残りのペプチド (27 アミノ酸) が N 末端に残存した改変 KWS20-1 DMO 蛋白質が生じる。

5

表1 本組換えテンサイの作出に用いたPV-BVHT527462の各構成要素の由来及び機能(つづき)

構成要素	由来及び機能
T- <i>Hsp20-Mt1</i>	タルウマゴヤシ (<i>M. truncatula</i>) の熱ショック蛋白質をコードする推定 <i>Hsp20</i> 遺伝子の 3'末端非翻訳領域の配列 (GenBank Accession: OK149196) で、転写の終結及び mRNA のポリアダニル化を誘導する (Hunt, 1994)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
B-Left Border Region	<i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) 由来の DNA 領域で、T-DNA を伝達する際に利用される左側境界配列を含む (Barker et al., 1983)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
OR ⁷ - <i>ori-pVS1</i>	プラスミド pVS1 に由来する複製開始領域。 <i>Agrobacterium</i> 中においてベクターに自律増殖能を付与する (Itoh et al., 1984)。
Intervening sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
CS- <i>rop</i>	ColE1 プラスミドに由来するプライマー蛋白質のリプレッサー (Repressor of primer (<i>rop</i>)) のコード配列であり、 <i>Escherichia coli</i> においてプラスミドのコピー数を維持する (Giza and Huang, 1989)。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
OR- <i>ori-pBR322</i>	pBR322 由来の複製開始領域 (Sutcliffe, 1979)。 <i>E. coli</i> 中においてベクターに自律増殖能を付与する。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。
<i>aadA</i>	トランスポゾン Tn7 由来の 3''(9)-O-ヌクレオチジルトランスフェラーゼ (アミノグリコシド改変酵素) の細菌プロモーター、コード配列及び 3'末端非翻訳領域 (Fling et al., 1985)。スペクチノマイシン及びストレプトマイシン耐性を付与する。
Intervening Sequence	DNA クローニングの際に利用された配列。

¹ B-Border (境界配列)

² T-Transcription Termination Sequence (転写終結配列)

5 ³ CS-Coding Sequence (コード配列)

⁴ TS-Targeting Sequence (ターゲティング配列)

⁵ P-Promoter (プロモーター)

⁶ E-Enhancer (エンハンサー)

⁷ OR-Origin of Replication (複製開始領域)

- 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

5

【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】

本組換えテンサイには *Agrobacterium* sp. CP4 株由来の改変 *cp4 epsps* 遺伝子から発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質により、除草剤グリホサート耐性が付与されている。除草剤グリホサートは植物内在性の芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸合成経路中の酵素の 1 つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) を阻害し、細胞死を引き起こす (Franz et al., 1997)。一方で、改変 *cp4 epsps* 遺伝子によって産生される改変 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合成が正常に機能して生育することができる。

なお、これまでに改変 *cp4 epsps* 遺伝子を発現する除草剤グリホサート耐性テンサイ (H7-1、OECD UI: KM-000H71-4) (以下、「H7-1 系統」とする。) がカルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けており (承認日: 2007 年 4 月 24 日)、第一種使用等の内容で使用した場合、わが国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断されている。本組換えテンサイで発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列は、H7-1 系統で発現する改変 CP4 EPSPS 蛋白質のアミノ酸配列と同一である。

【PAT 蛋白質】

25

本組換えテンサイには、*Str. viridochromogenes* 由来の *pat* 遺伝子が導入されており、PAT 蛋白質を発現する。PAT 蛋白質は除草剤グルホシネートへの耐性を付与する (Wohlleben et al., 1988)。

除草剤グルホシネートは、グルタミン合成酵素と結合することにより除草活性を発揮する。グルタミン合成酵素は光呼吸により生成されたアンモニアを植物に同化させる主要酵素である。グルホシネートがグルタミン合成酵素と結合することにより、グルタミン合成酵素が阻害されて、植物体内にアンモニアが蓄積し、枯死する (Wild and Manderscheid, 1984; Manderscheid and Wild, 1986)。

本組換えテンサイから産生される PAT 蛋白質はグルホシネートをアセチル化するアセチルトランスフェラーゼである。グルホシネートは、この酵素の働きでアセチル化されると、除草活性のない N-アセチルグルホシネートとなる。N-

35

アセチルグルホシネートはグルタミン合成酵素と結合できないため、光呼吸を阻害せず、アンモニア蓄積が回避される。本組換えテンサイは、PAT 蛋白質の産生により、除草剤グルホシネートが散布されても枯死しない。

- 5 なお、同じ作用機序を示す PAT 蛋白質を発現する遺伝子組換え作物であり、カルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けている作物は、トウモロコシ、ダイズ、ワタ及びセイヨウナタネ等を含む複数があり、いずれもそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場合、わが国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断されている。

10 【改変 KWS20-1 DMO 蛋白質】

本組換えテンサイは、*Ste. maltophilia*由来の改変 *dmo* 遺伝子が導入されており、改変 KWS20-1 DMO 蛋白質を発現している。改変 KWS20-1 DMO 蛋白質は、本組換えテンサイに除草剤ジカンバ耐性を付与する。

- 15 除草剤ジカンバは合成オーキシンの除草剤であり、広葉雑草に細胞分裂異常を引き起こすことによって、除草活性を示す (Ahrens, 1994)。

本組換えテンサイで産生される改変 KWS20-1 DMO 蛋白質は、ジカンバを脱メチル化する酵素である。ジカンバはこの酵素の働きで脱メチル化されると、除草活性のない 3,6-ジクロロサリチル酸 (DCSA) とホルムアルデヒドとなる

- 20 (Chakraborty et al., 2005)。

なお、*dmo* 遺伝子を発現する遺伝子組換え作物であり、カルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けている系統(ストック系統は除く)は 2022 年 5 月 13 日 (調査時点) までに 5 系統 (ダイズ、ワタ、トウモロコシ 2 系統及びセイヨウナタネ) あり、いずれの系統もそれぞれの第一種使用等の内容で使用した場合、わが国の生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断されている。改変

- 25 KWS20-1 DMO 蛋白質のアミノ酸配列については、2013 年 10 月 31 日にカルタヘナ法に基づき第一種使用規程の承認を受けた除草剤ジカンバ耐性ダイズ (MON87708, OECD UI: MON-87708-9) で発現する改変 MON87708 DMO+27 蛋白質のアミノ酸配列と、N 末端から 2 番目及び 112 番目のアミノ酸以外は同一である。
- 30

<既知のアレルゲンとの相同性検索>

- 35 改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質が既知のアレルゲンと類似のアミノ酸配列を共有するか否かを判断するため、

AD_2021¹⁰に登録されている既知のアレルゲンについて、FASTA 型アルゴリズム及び連続する 8 アミノ酸残基の相同性検索を行った。その結果、既知のアレルゲンと類似の配列は認められなかった。

5 ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

【改変 CP4 EPSPS 蛋白質】

改変 CP4 EPSPS 蛋白質と機能的に同一である 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であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋白質の活性が増大しても、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、EPSPS 蛋白質は基質であるホスホエノールピルビン酸塩 (PEP) とシキミ酸-3-リン酸塩 (以下、「S3P」という。) と特異的に反応することが知られており (Gruys et al., 1992)、これら以外に唯一 EPSPS 蛋白質と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸である。しかし、EPSPS 蛋白質のシキミ酸及び S3P との反応について、反応の起こりやすさを示す特異性定数 (Specificity constant) k_{cat}/K_m の値で比較すると、EPSPS 蛋白質のシキミ酸との反応特異性は、EPSPS 蛋白質の S3P との反応特異性の約 200 万分の 1 に過ぎず (Gruys et al., 1992)、シキミ酸が EPSPS 蛋白質の基質として反応する可能性は極めて低い。よって、改変 CP4 EPSPS 蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

【PAT 蛋白質】

25 PAT 蛋白質は、アセチル CoA 存在下において、グルホシネートに高い特異性を示す。グルホシネートは L-アミノ酸に分類されるが、PAT 蛋白質が他の L-アミノ酸をアセチル化することはない。また、高濃度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のアセチル化が阻害されないことが競合アッセイにおいて示されている。さらに、グルホシネートの類似体である L-グルタミン酸の存在下においても、PAT 蛋白質によるグルホシネートのアセチル化が阻害されないことが報告されている (Wehrmann et al., 1996)。これら

¹⁰AD_2021: COMPARE (COMprehensive Protein Allergen REsource) データベースに登録されている配列から構成されるデータベースで、2,348件のアミノ酸配列が含まれる (2021年2月1日更新)。

のことから 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しており、PAT 蛋白質がグルホシネート以外の化合物を代謝して宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。

5 【改変 KWS20-1 DMO 蛋白質】

DMO 蛋白質は、ジカンバに高い特異性を示すことが知られている。DMO 蛋白質の触媒部位に関する研究 (D'Ordine et al., 2009; Dumitru et al., 2009) から、構造的にジカンバに類似した化合物 (カルボキシル基 (-COOH)、メトキシ基 (-OCH₃) 及びクロロ基 (-Cl) を含むフェニル環をもつ化合物) は、DMO 蛋白質の基質となる可能性があると考えられたが、テンサイにおいて、クロロ基を含むフェニル環をもつ化合物は報告されていない。また、クロロ基を含むフェニル環をもつ化合物は、植物及び他の真核生物において、その存在は比較的まれであることが知られている (Gribble, 2010)。次に、クロロ基はないが、カルボキシル基及びメトキシ基を含むフェニル環をもつ化合物が検討されたが、その中で植物に存在している化合物中で最も構造的にジカンバに類似している *o*-アニス酸 (2-メトキシ安息香酸) でも DMO 蛋白質によって代謝されないことが確認されている (D'Ordine et al., 2009; Dumitru et al., 2009)。

なお、本組換えテンサイ中で発現している改変 KWS20-1 DMO 蛋白質は、野生型の DMO 蛋白質のアミノ酸配列と比較して、N 末端側から 2 番目にロイシンが挿入されている。この挿入に加え、*RbcS* 由来の 27 アミノ酸が N 末端に付加されている。しかし、N 末端側から 2 番目のアミノ酸の位置及び *RbcS* 由来の 27 アミノ酸は、DMO 蛋白質の触媒部位から立体構造的に離れているため、これらのアミノ酸配列の違いは DMO 蛋白質の基質特異性に影響しないと考えられた。

以上のことから、改変 KWS20-1 DMO 蛋白質が内在性化合物を代謝して、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

30

【改変 CP4 EPSPS 蛋白質+PAT 蛋白質+改変 KWS20-1 DMO 蛋白質】

改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質はいずれも基質特異性が高く、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立している。よって、本組換えテンサイで発現しているこれら蛋白質が植物体において相互に影響するとは考えにくい。

35

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

5

本組換えテンサイの作出に用いられた PV-BVHT527462 は、*Pseudomonas aeruginosa* 由来の pVS1 (Itoh et al., 1984) 及び *Escherichia coli* 由来のプラスミド pBR322 (Sutcliffe, 1979) などをもとに構築された。詳細は、表 1 (p14~16) に記載した。

10

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

15

本組換えテンサイの作出に用いられた PV-BVHT527462 の全塩基数は 18,933 bp である。なお、PV-BVHT527462 の塩基配列は別添資料 2 に記載した。

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

20

E. coli における構築ベクターの選抜マーカー遺伝子として、スペクチノマイシンやストレプトマイシンに対する耐性を付与する *aadA* 遺伝子が T-DNA 領域外に存在している。

③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

25

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

30

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

宿主内に移入された PV-BVHT527462 の構成要素は表 1 (p14~16) に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置は、図 2 (p13) に示した。

35

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

PV-BVHT527462 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により、非組換えテンサイの育成系統【社外秘】のシュート断片に導入した。

5

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

10 非組換えテンサイの育成系統【社外秘】のシュート断片と PV-BVHT527462 を含む *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) AGL1 株を共置培養した後、DL-ホスフィノスリシンを含有する選択培地に移し形質転換されていない植物細胞の増殖を阻害して、形質転換された細胞の選抜を行った。

15 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

チメンチン (滅菌チカルシン二ナトリウム及びクラブラン酸カリウムの混合物) 及びセフォタキシムを添加した組織培養培地により、形質転換に用いたア
20 グロバクテリウム菌体を除去した。本組換えテンサイにアグロバクテリウムの菌体が残存しないことは、アグロバクテリウムの VirD2 蛋白質をコードする *virD2* 遺伝子を標的とする KASP (Kompetitive Allele Specific PCR) 解析¹¹ (Semagn et al., 2014) によって確認した¹²。この結果、供試したサンプル (形質転換当代 (T₀ 世代) 及び T₂ 世代の葉) からは *virD2* 遺伝子配列は検出されなかった (別添資
25 料 3 の Table 6, p11 及び別添資料 4 の Table 7, p13)。また、本組換えテンサイの T₂ 世代の葉から DNA を抽出し、PV-BVHT527462 の外側骨格領域をカバーするように設計した 4 つのプロープによるサザンブロット分析を行った結果、いずれのプロープを用いた場合も外側骨格領域由来のバンドは検出されなかった (別添資料 5 の Figure 16~17, p62~63)。

30 このことから、本組換えテンサイには形質転換に用いたアグロバクテリウム

¹¹ KASP 解析は蛍光共鳴エネルギー移動 (FRET) を利用した二対立遺伝子のジェノタイプング技術である。この解析では、対立遺伝子特異的な 2 種類のフォワードプライマー及び共通の 1 種類のリバースプライマーを使用する。また、各フォワードプライマーに FRET カセットに対応するテールシーケンスをもたせることで、増幅産物が発する蛍光の種類により、どちらのフォワードプライマーに由来する増幅産物であるかを見分けることができる。

¹² T₀ 世代からクローン増殖させた 10 個体及び T-DNA 領域をホモで有する T₂ 世代 30 個体において、各個体の葉から DNA を抽出し、*virD2* 遺伝子の検出に用いた。

菌体は残存しないことが確認された。

- ③ 核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認した系統、隔離ほ場試験に供した系統その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過
- 5

形質転換された1個体の再分化個体(T₀)に袋掛けを行って自殖し、T₁世代の種子を作出した。T₁世代の種子において、T-DNA領域を有し、外側骨格領域をもたない12個体をKASP解析及びサザンブロット分析により選抜した。これら

10 T₁世代の12個体を隔離ほ場において集団内で放任受粉させ、T₂世代の種子を作出した。T₂世代及びその後代において、T-DNA領域をホモで有し、外側骨格領域をもたない個体を選抜し、最終的に商品化系統として本組換えテンサイを選出した。

- 15 本組換えテンサイの育成図を図3(p24)に示した。なお、本申請の対象は、T₂世代及びT₂世代から派生する全ての交雑後代系統である。

5

10

【社外秘につき非開示】

15

20 図3 本組換えテンサイの育成図

【社外秘につき非開示】

25

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5

本組換えテンサイの導入遺伝子が染色体上に存在するか否かを調べるため、本組換えテンサイの BC₀S₁ 世代 (図 3, p24) において、導入遺伝子の分離比をカイ二乗検定で分析した (別添資料 5)。

10 T-DNA 領域をホモで有する T₂ 世代の 1 個体と非組換えテンサイの育成系統【社外秘】を温室において人工授粉させ種子を得た後、KASP 解析により T-DNA 領域をヘミで有する BC₀F₁ 世代の個体を同定し、これを自殖させて BC₀S₁ 世代を作出した。

15 BC₀S₁ 世代において、KASP 解析により T-DNA 領域の有無及び分離様式を確認した。BC₀S₁ 世代において、T-DNA 領域を有する個体と有さない個体との比率は、導入遺伝子が核ゲノム上の 1 ヶ所に 1 コピーで導入されている場合、メンデルの法則に従い 3 : 1 となることが予想され、またホモ陽性 : ヘミ陽性 : 陰性の比率は 1 : 2 : 1 となることが予測された。

20 その結果、T-DNA 領域の有無及び分離様式ともに実測値と期待値の間にカイ二乗検定による統計学的有意差は認められなかったことから、導入遺伝子はメンデルの分離法則に矛盾せず遺伝していることが確認された (表 2 及び表 3, p26)。したがって、本組換えテンサイの導入遺伝子は染色体上に存在していると考えられた。

表2 本組換えテンサイの育成過程における T-DNA 領域の有無¹³

世代	実測値 ¹		期待値		χ^2	p 値 ²
	T-DNA 陽性	T-DNA 陰性	T-DNA 陽性	T-DNA 陰性		
BC ₀ S ₁	154	46	150	50	0.427	0.514

¹ KASP 解析により、T-DNA 領域の有無を確認した。

² BC₀S₁ 世代から得られた分離比をカイ二乗検定で分析した (有意水準 $\alpha=0.05$)。

5

表3 本組換えテンサイの育成過程における T-DNA 領域の分離様式¹⁴

世代	実測値 ¹			期待値			χ^2	p 値 ²
	ホモ 陽性	ヘミ 陽性	陰性	ホモ 陽性	ヘミ 陽性	陰性		
BC ₀ S ₁	50	104	46	50	100	50	0.480	0.787

¹ KASP 解析により、T-DNA 領域の分離様式を確認した。

² BC₀S₁ 世代から得られた分離比をカイ二乗検定で分析した (有意水準 $\alpha=0.05$)。

¹³ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

¹⁴ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

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

- 5 サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、本組換えテンサイのゲノム中1ヵ所に1コピーのT-DNA領域が組み込まれており(別添資料5のFigure 12~15, p58~61)、複数世代(T₂~T₄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5のFigure 18~19, p64~65)。また、外側骨格領域は導入されていないことが確認された(別添資料5のFigure 16~17, p62~63)。

5

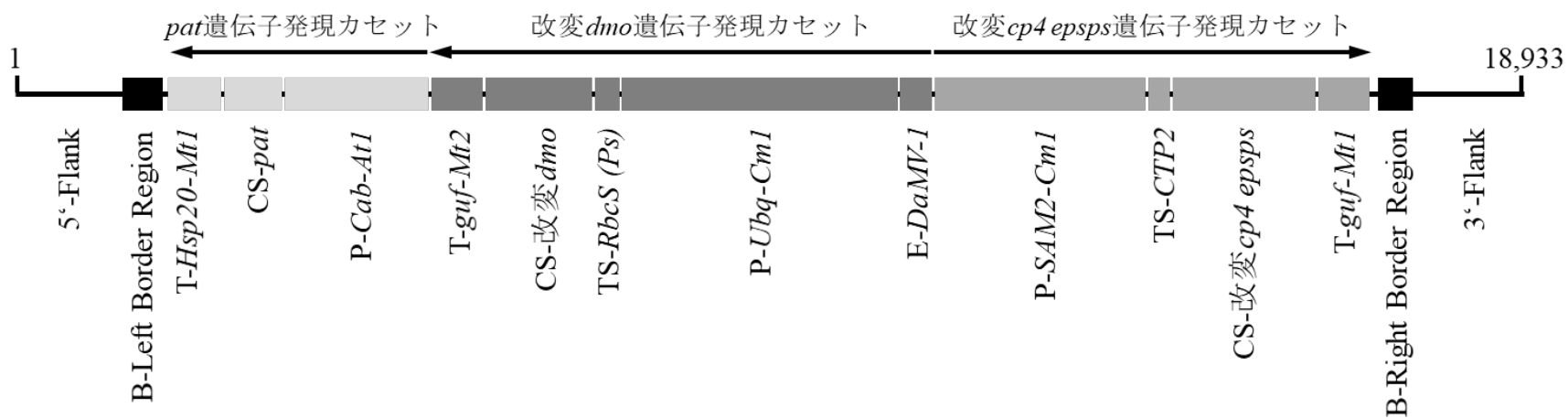


図4 本組換えテンサイにおける導入遺伝子の模式図¹⁵

10 本組換えテンサイの導入遺伝子及び近傍配列の模式図である。図は本組換えテンサイ中の構成要素の大まかな位置と配列の方向を示している。なお、本組換えテンサイにおいて目的の導入遺伝子は PV-BVHT527462 と一致した配列で導入されている。

¹⁵ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

③ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別

5 1 コピーなので該当しない (別添資料 5 の Figure 12~15, p58~61)。

④ (6)の①において具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

10 本組換えテンサイの複数世代 (T₂、T₃ 及び T₄ 世代) の葉において、改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質が安定して発現していることが、ウエスタンブロット分析により確認された (別添資料 6 の Figure 2~4, p18~20)。

15 また、2020年に米国の5ヵ所(ミシガン州、ミネソタ州、アイダホ州(2ヵ所)及びノースダコタ州)で行ったほ場試験において本組換えテンサイの地上部及び根のサンプルを採取し、改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質の発現量を ELISA 法により分析した (別添資料 7)。その結果、本組換えテンサイの地上部及び根における改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT
20 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質の発現が確認された (表 4~表 6, p30~32)。

表 4 本組換えテンサイの組織中における改変 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量 (2020 年、米国)¹⁶

組織 ¹	生育段階 ²	平均値 (SE) 範囲 ($\mu\text{g/g FW}$) ³	平均値 (SE) 範囲 ($\mu\text{g/g DW}$) ⁴	LOQ/LOD ($\mu\text{g/g DW}$) ⁵
葉 (OSL1)	BBCH 17-18	60 (3.3) 33 - 87	590 (33) 320 - 850	1.250/0.776
根 (OSR1)	BBCH 17-18	52 (3.4) 32 - 81	430 (28) 270 - 680	1.250/0.460
葉 (OSL2)	BBCH 32-39	56 (3.0) 40 - 87	510 (27) 370 - 790	1.250/0.776
根 (OSR2)	BBCH 32-39	46 (3.1) 24 - 71	270 (19) 140 - 420	1.250/0.460
地上部	BBCH 49	49 (1.9) 37 - 63	310 (12) 230 - 400	1.250/0.776
根 (OSR3)	BBCH 49	24 (1.3) 16 - 35	100 (5.9) 68 - 150	1.250/0.460

¹OSL=over season leaf (葉)、OSR=over season root (根)、地上部: 葉及び露肩部分。

5 ²各組織の採取時における生育段階。BBCH 17-18 = 7-8 葉期、BBCH 32-39 = ロゼット葉が地表の 20-90%を覆う生育時期、BBCH 49 = 収穫可能な根が発達した生育時期。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準であり、バイエル、BASF、チバガイギー及びヘキストが開発した (BBCH, 2001)。

10 ³蛋白質の発現量は組織の生重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表されている。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値-最大値) は全てのほ場で採取された各組織の値を基に計算されている (各組織 20 反復)。SE=標準誤差、FW=新鮮重。

⁴蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表されている。DW=乾燥重。

⁵LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

¹⁶ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

表 5 本組換えテンサイの組織中における PAT 蛋白質の発現量 (2020 年、米
国)¹⁷

組織 ¹	生育段階 ²	平均値 (SE) 範囲 ($\mu\text{g/g FW}$) ³	平均値 (SE) 範囲 ($\mu\text{g/g DW}$) ⁴	LOQ/LOD ($\mu\text{g/g DW}$) ⁵
葉 (OSL1)	BBCH 17-18	2.6 (0.13) 1.7 - 3.7	25 (1.2) 16 - 36	0.313/0.113
根 (OSR1)	BBCH 17-18	0.029 (0.0033) 0.016 - 0.049	0.25 (0.028) 0.13 - 0.41	0.125/0.004
葉 (OSL2)	BBCH 32-39	2.2 (0.20) 1.0 - 3.6	20 (1.8) 9.4 - 33	0.313/0.113
根 (OSR2)	BBCH 32-39	0.026 (0.0010) 0.025 - 0.027	0.16 (0.0033) 0.016 - 0.049	0.125/0.004
地上部	BBCH 49	0.80 (0.071) 0.41 - 1.3	5.1 (0.45) 2.6 - 8.3	0.313/0.113
根 (OSR3)	BBCH 49	<LOQ (NA) ⁶ NA - NA	<LOQ (NA) NA - NA	0.125/0.004

¹OSL=over season leaf (葉)、OSR=over season root (根)、地上部: 葉及び露肩部分。

²各組織の採取時における生育段階。BBCH 17-18 = 7-8 葉期、BBCH 32-39 = ロゼット葉が
5 地表の 20-90%を覆う生育時期、BBCH 49 = 収穫可能な根部分が発達した生育時期。BBCH ス
ケールは植物の成長段階を示す基準であり、バイエル、BASF、チバガイギー及びヘキス
トが開発した (BBCH, 2001)。

³蛋白質の発現量は組織の生重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表されてい
る。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値-最大値) は全てのほ場で採取された各組
10 織の値を基に計算されている (各組織 20 反復)。SE=標準誤差、FW=新鮮重。

⁴蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表されて
いる。DW=乾燥重。

⁵LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

⁶NA=not applicable

15

¹⁷ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会
社に帰属する。

表 6 本組換えテンサイの組織中における改変 KWS20-1 DMO 蛋白質の発現量 (2020 年、米国)¹⁸

組織 ¹	生育段階 ²	平均値 (SE) 範囲 ($\mu\text{g/g FW}$) ³	平均値 (SE) 範囲 ($\mu\text{g/g DW}$) ⁴	LOQ/LOD ($\mu\text{g/g DW}$) ⁵
葉 (OSL1)	BBCH 17-18	14 (0.66) 9.6 - 20	140 (6.5) 95 - 200	0.100/0.028
根 (OSR1)	BBCH 17-18	3.4 (0.096) 2.7 - 4.0	28 (0.80) 22 - 34	0.100/0.012
葉 (OSL2)	BBCH 32-39	13 (0.52) 9.1 - 18	120 (4.7) 83 - 160	0.100/0.028
根 (OSR2)	BBCH 32-39	3.7 (0.23) 1.9 - 5.7	22 (1.4) 11 - 34	0.100/0.012
地上部	BBCH 49	9.3 (0.56) 4.1 - 14	59 (3.5) 26 - 88	0.100/0.028
根 (OSR3)	BBCH 49	2.7 (0.12) 1.7 - 3.8	12 (0.53) 7.6 - 17	0.100/0.012

¹OSL=over season leaf (葉)、OSR=over season root (根)、地上部: 葉及び露肩部分。

²各組織の採取時における生育段階。BBCH 17-18 = 7-8 葉期、BBCH 32-39 = ロゼット葉が地表の 20-90%を覆う生育時期、BBCH 49 = 収穫可能な根部が発達した生育時期。BBCH スケールは植物の成長段階を示す基準であり、バイエル、BASF、チバガイギー及びヘキストが開発した (BBCH, 2001)。

³蛋白質の発現量は組織の生重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表されている。各組織の平均値、標準誤差及び範囲 (最小値-最大値) は全てのほ場で採取された各組織の値を基に計算されている (各組織 20 反復)。SE=標準誤差、FW=新鮮重。

⁴蛋白質の発現量は組織の乾燥重 1 g 当たり重量 (μg) の平均値及び標準誤差として表されている。DW=乾燥重。

⁵LOQ=limit of quantitation (定量限界)、LOD=limit of detection (検出限界)。

15

¹⁸ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

⑤ ウイルスの感染その他の経路を経由して移入された核酸が野生動植物等に伝播されるおそれがある場合は、当該伝達性の有無及び程度

5 移入された核酸の配列には伝達を可能とする機能はないため、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

10

本組換えテンサイは、本組換えテンサイに特異的に結合可能なプライマーセットを利用して、リアルタイム PCR 法による検出及び識別が可能である (別添資料 8)。検定に用いる DNA 量は、PCR の 1 反応当たり 10 ng であることが推奨されている。

15 本法の再現精度は、80 サンプルの本組換えテンサイ及び 80 サンプルの非組換えテンサイを用いて確認されている (別添資料 8 の Table 7, p8)。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

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

本組換えテンサイに導入された改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び改変 *dmo* 遺伝子は、それぞれ改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変
25 KWS20-1 DMO 蛋白質を発現することにより、除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバに対する耐性を付与する。

30 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

本組換えテンサイの宿主は非組換えテンサイの育成系統【社外秘】であり、改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び改変 *dmo* 遺伝子が導入されている。

35 宿主であるテンサイについて、わが国に交雑可能な近縁野生種は存在しない (第一の 1-(3)-ニ-③, p9)。

本組換えテンサイに導入した改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、改変 CP4 EPSPS 蛋白質をコードする遺伝子である。第一の 2-(1)-ロ-③ (p19) に記載したように、改変 CP4 EPSPS 蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS 蛋白質の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。さらに、本組換えテンサイに導入した *pat* 遺伝子及び改変 *dmo* 遺伝子は、それぞれ PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質をコードする遺伝子である。これらの蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する植物内在性物質を基質とすることがないため、宿主の代謝系に影響を及ぼすことは無いと考えられた。

また、第一の 2-(1)-ロ-③ (p19~20) に記載したように、いずれの蛋白質も基質特異性が高く、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立していることから、本組換えテンサイで発現している改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質が植物体において相互に影響するとは考えにくい。

よって、導入遺伝子である改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び改変 *dmo* 遺伝子による影響が、目的とした宿主の生理学的特性である除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバ耐性以外に及ぶとは予想されない。

以上のことから、本組換えテンサイの隔離ほ場試験を行うに当たっては、生理学的又は生態学的特性についてのデータを用いずに生物多様性影響評価が可能であると考えられる。

本組換えテンサイの隔離ほ場試験では、以下の①~⑤の項目を日本及び米国の隔離ほ場で調査する予定である。

①形態及び生育の特性、②成体の越冬性、③花粉の稔性及びサイズ、④種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率、⑤有害物質の産生性

なお、日本での隔離ほ場試験の期間は、既に第一種使用規程の承認を受けた H7-1 系統と同様に、以下の 1) 及び 2) の理由から、わが国における慣行栽培を想定した生育一年目のみとし、生育一年目に調査が可能である生理学的又は生態学的特性に関わる項目①形態及び生育の特性、②成体の越冬性¹⁹、及び⑤有

¹⁹ 生育一年目の翌3月頃に再生個体数を調査する。

害物質の産生性²⁰の調査を予定している。生殖特性に関わる項目(③花粉の稔性及びサイズ、④種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率)については米国で調査を行う予定である。

- 5 1) わが国には本組換えテンサイと交雑可能な近縁野生種は生育していないため、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。
- 10 2) わが国に輸入されるのは主にビートパルプ、テンサイ糖、糖蜜などの加工品であり、収穫されたテンサイが未加工で輸入されることはない。生体として輸入されるのは栽培用種子であるが、その約 93% は EU からの輸入である(財務省, 2022)。EU における種子増殖は適切な管理のもとで行われること、また本組換えテンサイが EU で商品化される予定はないため、本組換えテンサイが EU からの輸入種子に混入する可能性は低い。輸入種子の約 6%は米国からの輸入であるが(財務省, 2022)、米国において本組換えテンサイの種子は適切な管理のもとで増殖されるため、非組換えの栽培種子に混入する可能性は低い。

20 仮に栽培種子に混入したとしても、わが国における根部の収穫を目的とした慣行栽培では、生育一年目に収穫するため開花・結実に至る可能性は低い。

25 また本組換えテンサイの種子が輸送中にこぼれ落ちたとしても、第一の 1-(3)-ロ (p7~8) に記載したとおり、テンサイ種子には発芽や初期成長に必要な外胚乳がほとんど含まれていないため、生育初期において、雑草との競合や病気、草食動物から受けるダメージに対して非常に脆弱であることから、わが国において自生化するとは考えにくい。実際に、テンサイはわが国に 1870 年頃に導入され、これまでに西南暖地、東北地方、北海道において栽培されたが、わが国に

30 においてテンサイが自生しているという報告はない。

 なお、本組換えテンサイのわが国における商業栽培は予定されていない。

²⁰ 土壌微生物相試験及び後作試験には、生育一年目に行う収穫時にサンプリングした土壌を用いる。鋤込み試験に用いる植物体についても同様に収穫期にサンプリングを行う。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

5

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

10

所在地：茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地

名称：バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場

使用期間：承認日から 2027 年 12 月 31 日まで

1. 隔離ほ場の施設

15

(1) 部外者の立入を防止するため、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を明示した標識を見やすい所に掲げている。

20

(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本組換えテンサイ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、当該テンサイの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。

(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風網を設置している。また、播種時には防鳥網等を用いた鳥害対策を講じる。

25

2. 隔離ほ場での作業要領

(1) 本組換えテンサイ及び比較対象のテンサイ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。

30

(2) 本組換えテンサイを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該テンサイ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、本組換えテンサイの栽培終了後は、当該テンサイ及び比較対象のテンサイを隔離ほ場内に鋤込む等により、確実に不活化する。

35

(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本組換えテンサイが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。

(5) 本組換えテンサイ及び比較対象のテンサイにおける抽苔の有無について冬季を除き二週間ごとに調査を行い、もし抽苔した個体が生じた場合は、花粉の飛散を防止するため、開花前に切除する。

5 (6) 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。

(7) (1)から(6)までに掲げる事項について第一種使用等を行う者に遵守させる。

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

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

—

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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

20 (5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

—

25 (6) 国外における使用等に関する情報

これまで本組換えテンサイについて2017~2021年の間に米国において延べ79カ所のは場試験が行われているが(表7, p38)、対照の非組換えテンサイと比較して生物多様性に影響を与えるような相違は報告されていない。

30

なお、本組換えテンサイの海外における申請予定は表8(p38)のとおりである。

表 7 国外において本組換えテンサイのほ場試験を行ったほ場の数及び国²¹

年	ほ場の数	国
2017	2	米国
2018	6	米国
2019	10	米国
2020	53	米国
2021	8	米国

5 表 8 本組換えテンサイの海外における申請予定²²

2022年9月現在

機関	安全性審査の種類	申請時期
カナダ保健省 (Health Canada)	食品	2022年5月
カナダ食品検査庁 (CFIA)	環境・飼料	2022年5月
米国農務省 (USDA)	環境	2022年8月
米国食品医薬品庁 (FDA)	食品・飼料	【申請予定】
オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)	食品	【申請予定】

²¹ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

²² 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

5 第一の 2-(6)-② (p33~35) に記載したとおり、本組換えテンサイの宿主の特性と導入した遺伝子の特性を考慮し、本組換えテンサイを隔離ほ場試験で使用する場合の生物多様性影響を生理学的又は生態学的特性データを用いずに評価した。

10 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

15 テンサイはわが国に1870年頃に導入され、これまでに西南暖地、東北地方、北海道において栽培されたが、わが国においてテンサイが自生しているという報告はない。この理由として、1) テンサイの種子には発芽や初期成長に必要な外胚乳がほとんど含まれていないため、生育初期において、雑草との競合や病気、草食動物から受けるダメージに対して非常に脆弱であること (OECD, 2001)、2) テンサイは春に播種し、同年の秋に収穫されるため (CFIA, 2012)、一般に翌年の開花・結実まで至らないこと、3) 仮に播種と同年の秋に収穫が行われなかったとしても、テンサイは寒さに敏感であり-5°C以下の降霜により枯死すること (CFIA, 2012) などが挙げられる。

25 本組換えテンサイは除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバに対する耐性をもつが、これらの除草剤の散布が想定されにくい自然条件下において、除草剤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られない。実際に、イギリスにおいて除草剤グリホサート耐性テンサイと非組換えテンサイを自然環境で生育させ、個体群の変動についてモニタリングが行われたが、除草剤グリホサート耐性テンサイの競合性は非組換えテンサイと比較して高まっておらず、2年目のモニタリングの時点で全ての個体群が消失していたと報告されている (Crawley et al., 2001)。

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

(2) 影響の具体的内容の評価

—

5 (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

10

以上のことから、本組換えテンサイは、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。

15 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

20 これまでテンサイが生物多様性に影響を生じさせるような有害物質を産生するといった報告はされていない。

本組換えテンサイでは除草剤グリホサート耐性を付与する改変CP4 EPSPS蛋白質、除草剤グルホシネート耐性を付与するPAT蛋白質、及び除草剤ジカンバ耐性を付与する改変KWS20-1 DMO蛋白質が発現しているが、これらの蛋白質は有害物質としては知られていない。また、これらの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（第一の2-(1)-ロ-②, p17~19）。

30 第一の2-(1)-ロ-③ (p19~20) に示したように、改変CP4 EPSPS蛋白質は、芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素蛋白質であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS蛋白質の活性が増大しても、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。したがって、改変CP4 EPSPS蛋白質が原因で、本組換えテンサイ中に有害物質が産生されることは考えにくい。また、PAT蛋白質及び改変DMO蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する植物内在性物質を基質とすることがないため、PAT蛋白質及び改変KWS20-1 DMO蛋白質が宿主の代謝系に作用して有

害物質を産生するとは考えにくい。

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

5

(2) 影響の具体的内容の評価

—

10 (3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

15

以上のことから、本組換えテンサイは、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

20 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

25 わが国では本組換えテンサイと交雑可能な近縁野生種は生育していないことから、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

30

—

(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

以上のことから、本組換えテンサイは、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。

5

4 その他の性質

—

10

第三 生物多様性影響の総合的評価

第一の 2-(6)-② (p33~35) に記載したとおり、本組換えテンサイの宿主の特性と導入した遺伝子の特性を考慮し、本組換えテンサイを隔離ほ場試験で使用する
5 場合の生物多様性影響を生理学的又は生態学的特性データを用いずに評価した。

競合における優位性：

10 テンサイはわが国に1870年頃に導入され、これまでに西南暖地、東北地方、北海道において栽培されたが、わが国においてテンサイが自生しているという報告はない。

本組換えテンサイは、改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質の発現により、除草剤グリホサート、グルホシネート及びジカンバに対する耐性が付与されている。しかし、これらの除草剤の散布が
15 想定されにくい自然条件下において、除草剤耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えにくい。

したがって、本組換えテンサイは、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。
20

有害物質の産生性：

これまでテンサイが生物多様性に影響を生じさせるような有害物質を産生する
25 といった報告はされていない。

本組換えテンサイでは除草剤グリホサート耐性を付与する改変CP4 EPSPS蛋白質、除草剤グルホシネート耐性を付与するPAT蛋白質、及び除草剤ジカンバ耐性を付与する改変KWS20-1 DMO蛋白質が発現しているが、これらの蛋白質は有害物質としては知られていない。また、これらの蛋白質は既知アレルゲン
30 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た。

改変CP4 EPSPS蛋白質は、芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS蛋白質の活性が増大しても、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。したがって、改変CP4 EPSPS蛋白質が原因で、本
35 組換えテンサイ中に有害物質が産生されるとは考えにくい。また、PAT蛋白質及び改変KWS20-1 DMO蛋白質の基質特異性は非常に高く、構造的に類似する

植物内在性物質を基質とすることがないため、PAT蛋白質及び改変KWS20-1 DMO蛋白質が宿主の代謝系に作用して有害物質を産生するとは考えにくい。

- 5 したがって、本組換えテンサイは、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

交雑性：

- 10 わが国では本組換えテンサイと交雑可能な近縁野生種は生育していないことから、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。

- 15 したがって、本組換えテンサイは、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。

- 20 以上のことから、本組換えテンサイは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内では、わが国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと総合的に判断された。

参考文献

Ahrens, W.H. 1994. Dicamba. 3,6-dichloro-2-methoxybenzoic acid. Pages 91-94 in Herbicide Handbook. Seventh Edition. Weed Science Society of America, Champaign, Illinois.

Barker, R.F., K.B. Idler, D.V. Thompson and J.D. Kemp. 1983. Nucleotide sequence of the T-DNA region from the *Agrobacterium tumefaciens* octopine Ti plasmid pTi15955. *Plant Molecular Biology* 2: 335-350.

Barry, G.F., G.M. Kishore, S.R. Padgett and W.C. Stallings. 2001. Glyphosate-tolerant 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthases. Patent 6,248,876, U.S. Patent Office, Washington, D.C.

BBCH. 2001. Growth stages of mono- and dicotyledonous plants. Federal Biological Research Centre for Agriculture and Forestry, Grossbeeren, Germany.

Cattanach, A.W., A.G. Dexter and E.S. Oplinger. 1991. Sugarbeets. Alternative field crops manual. University of Wisconsin, University of Minnesota. <https://hort.purdue.edu/newcrop/afcm/sugarbeet.html> [Accessed September 9, 2021].

CFIA. 2012. The biology of *Beta vulgaris* L. (Sugar beet). Canadian Food Inspection Agency, Ottawa, Ontario. <http://www.inspection.gc.ca/english/plaveg/bio/dir/bio0201e.shtml> [Accessed July 22, 2021].

Chakraborty, S., M. Behrens, P.L. Herman, A.F. Arendsen, W.R. Hagen, D.L. Carlson, X.-Z. Wang and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba *O*-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Purification and characterization. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 437: 20-28.

Crawley, M.J., S.L. Brown, R.S. Hails, D.D. Koh and M. Rees. 2001. Transgenic crops in natural habitats. *Nature* 409: 682-683.

D'Ordine, R.L., T.J. Rydel, M.J. Storek, E.J. Sturman, F. Moshiri, R.K. Bartlett, G.R.

Brown, R.J. Eilers, C. Dart, Y. Qi, S. Flasinski and S.J. Franklin. 2009. Dicamba monooxygenase: Structural insights into a dynamic Rieske oxygenase that catalyzes an exocyclic monooxygenation. *Journal of Molecular Biology* 392: 481-497.

Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski and H.M. Goodman. 1982. Nopaline synthase: Transcript mapping and DNA sequence. *Journal of Molecular and Applied Genetics* 1: 561-573.

Dumitru, R., W.Z. Jiang, D.P. Weeks and M.A. Wilson. 2009. Crystal structure of dicamba monooxygenase: A Rieske nonheme oxygenase that catalyzes oxidative demethylation. *Journal of Molecular Biology* 392: 498-510.

FAOSTAT. 2022. Food and Agricultural Organization statistical database. Food and Agricultural Organization of the United Nations, Rome, Italy. <http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC> [Accessed May 16, 2022].

Fling, M.E., J. Kopf and C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.

Fluhr, R., C. Kuhlemeier, F. Nagy and N.-H. Chua. 1986. Organ-specific and light-induced expression of plant genes. *Science* 232: 1106-1112.

Franz, J.E., M.K. Mao and J.A. Sikorski. 1997. Glyphosate's molecular mode of action. Pages 521-535 in *Glyphosate: A Unique Global Herbicide*. American Chemical Society, Washington, D.C.

Giza, P.E. and R.C.C. Huang. 1989. A self-inducing runaway-replication plasmid expression system utilizing the Rop protein. *Gene* 78: 73-84.

Gribble, G.W. 2010. Occurrence. Pages 9-348 in *Naturally Occurring Organohalogen Compounds - A Comprehensive Update*. Volume 91. Springer-Verlag, New York, New York.

Gruys, K.J., M.C. Walker and J.A. Sikorski. 1992. Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. *Biochemistry*

31: 5534-5544.

Ha, S.-B. and G. An. 1988. Identification of upstream regulatory elements involved in the developmental expression of the *Arabidopsis thaliana cab1* gene. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 85: 8017-8021.

Hecker, R.J. 1988. Pollen characteristics of diploid and tetraploid sugarbeet. Journal of Sugar Beet Research 25: 55-62.

Herman, P.L., M. Behrens, S. Chakraborty, B.M. Chrastil, J. Barycki and D.P. Weeks. 2005. A three-component dicamba *O*-demethylase from *Pseudomonas maltophilia*, strain DI-6: Gene isolation, characterization, and heterologous expression. The Journal of Biological Chemistry 280: 24759-24767.

Hernandez-Garcia, C.M. and J.J. Finer. 2014. Identification and validation of promoters and *cis*-acting regulatory elements. Plant Science 217-218: 109-119.

Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. Plant Cell 7: 907-919.

Hunt, A.G. 1994. Messenger RNA 3' end formation in plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 45: 47-60.

Itoh, Y., J.M. Watson, D. Haas and T. Leisinger. 1984. Genetic and molecular characterization of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. Plasmid 11: 206-220.

Klee, H.J., Y.M. Muskopf and C.S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: Sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. Molecular and General Genetics 210: 437-442.

Kuluev, B.R. and A.V. Chemeris. 2007. Amplification and cloning of dahlia mosaic virus and carnation etched ring virus promoters. Russian Journal of Genetics 43: 1413-1414.

Manderscheid, R. and A. Wild. 1986. Studies on the mechanism of inhibition by phosphinothricin of glutamine synthetase isolated from *Triticum aestivum* L. Journal of

Plant Physiology 123: 135-142.

Meinzel, T. and C. Giglione. 2008. Tools for analyzing and predicting N-terminal protein modifications. *Proteomics* 8: 626-649.

OECD. 2001. Consensus document on the biology of *Beta vulgaris* L. (Sugar beet). ENV/JM/MONO(2001)11. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

OECD. 2002. Consensus document on compositional considerations for new varieties of sugar beet: Key food and feed nutrients and antinutrients. ENV/JM/MONO(2002)4. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France. <https://www.oecd.org/env/ehs/biotrack/46815157.pdf> [Accessed September 9, 2021].

OECD. 2021. OECD Seed Schemes: Rules and Regulations 2021. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

Padgett, S.R., D.B. Re, G.F. Barry, D.E. Eichholtz, X. Delannay, R.L. Fuchs, G.M. Kishore and R.T. Fraley. 1996. New weed control opportunities: Development of soybeans with a Roundup Ready™ gene. Pages 53-84 in *Herbicide-Resistant Crops: Agricultural, Environmental, Economic, Regulatory and Technical Aspects*. S.O. Duke (ed.). CRC Press, Inc., Boca Raton, Florida.

Semagn, K., R. Babu, S. Hearne and M. Olsen. 2014. Single nucleotide polymorphism genotyping using Kompetitive Allele Specific PCR (KASP): Overview of the technology and its application in crop improvement. *Molecular Breeding* 33: 1-14.

Sutcliffe, J.G. 1979. Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid pBR322. Pages 77-90 in *Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology*, Cold Spring Harbor, New York.

The Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.

Wang, X.-Z., B. Li, P.L. Herman and D.P. Weeks. 1997. A three-component enzyme

system catalyzes the O demethylation of the herbicide dicamba in *Pseudomonas maltophilia* DI-6. Applied and Environmental Microbiology 63: 1623-1626.

Wehrmann, A., A.V. Vliet, C. Opsomer, J. Botterman and A. Schulz. 1996. The similarities of *bar* and *pat* gene products make them equally applicable for plant engineers. Nature Biotechnology 14: 1274-1278.

Wild, A. and R. Manderscheid. 1984. The effect of phosphinothricin on the assimilation of ammonia in plants. Zeitschrift für Naturforschung C 39: 500-504.

Wohlleben, W., W. Arnold, I. Broer, D. Hillemann, E. Strauch and A. Pühler. 1988. Nucleotide sequence of the phosphinothricin *N*-acetyltransferase gene from *Streptomyces viridochromogenes* Tü494 and its expression in *Nicotiana tabacum*. Gene 70: 25-37.

Zambryski, P., A. Depicker, K. Kruger and H.M. Goodman. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: Analysis of the boundaries of T-DNA. Journal of Molecular and Applied Genetics 1: 361-370.

財務省. 2022. 財務省貿易統計 <http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm> [Accessed May 19, 2022].

農畜産業振興機構. 2022. <https://sugar.alic.go.jp/japan/data/jd1-6satou-a.pdf> [Accessed May 13, 2022].

北海道農政事務所. 2021. 令和2年産 てんさいの市町村別作付面積及び収穫量 (北海道). <https://www.maff.go.jp/hokkaido/toukei/kikaku/sokuho/attach/xls/index-5.xlsx> [Accessed June 21, 2022].

井上和雄・山本良三 1974 テンサイ種球中の発芽阻害物質について 日本作物学会東海支部研究発表梗概 日本作物学会東海支部 日本 69: 27-30

田中征勝 2004 17. 特用作物 糖料作物 テンサイ (甜菜) 新編 農学大辞典 養賢堂 東京 pp. 619-620

田辺秀男 1981 VII 糖料 B. テンサイ 工芸作物学 農山漁村文化協会 東京 pp. 208-232

農林水産省 2022 令和 3 年産てんさいの作付面積及び収穫量（北海道） 農林水
産 省 作 物 統 計
https://www.maff.go.jp/j/tokei/kekka_gaiyou/sakumotu/sakkyou_kome/kougei/r3/tensai/index.html [Accessed May 13, 2022]

緊急措置計画書

2022年9月12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 坂田 耕平
住所 東京都千代田区丸の内一丁目6番5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、グルホシネート及びジカンバ耐性テンサイ (改変 *cp4 epsps, pat*, 改変 *dmo, Beta vulgaris L. ssp. vulgaris var. altissima*) (KWS20-1, OECD UI: KB-KWS201-6) (以下、「本組換えテンサイ」という。)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると、科学的に判断された場合、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は以下に示すとおりである。

2022年9月現在

社内委員	
【個人情報につき非開示】*	バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーサイエンス本部長 東京都千代田区丸の内一丁目6番5号 (電話番号 03-6266-7384)
【個人情報につき非開示】	バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーサイエンス本部 種子規制部 部長
【個人情報につき非開示】	バイエルホールディング株式会社 広報本部 企業広報部長 クロップサイエンス ビジネスパートナー
【個人情報につき非開示】	バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーサイエンス本部 種子規制部
【個人情報につき非開示】	バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラトリーサイエンス本部 種子規制部 河内試験圃場 圃場長

*: 責任者

2 第一種使用等の状況の把握の方法

5 第一種使用等の状況は、バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場実験
従事者から得られた情報により把握する。

3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容 10 内容を周知するための方法

実験従事者に直接口頭で伝える。

4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続する 15 ための具体的な措置の内容

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

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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

隔離ほ場試験計画書

5 第一部 隔離ほ場試験における受容環境

I. 隔離ほ場の所在地等

1. 名称

10

バイエルクロップサイエンス株式会社河内試験圃場

2. 住所

15

茨城県稲敷郡河内町生板字小川 4717 番地

3. 電話番号

20

0297-60-4011

4. 地図

図 5 (p60) 参照

25 II. 責任者等

1. 隔離ほ場試験の責任者

30

【個人情報につき非開示】 (バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラ
トリーサイエンス本部 種子規制部)

2. 隔離ほ場管理責任者

35

【個人情報につき非開示】 (バイエルクロップサイエンス株式会社 レギュラ
トリーサイエンス本部 種子規制部 河内試験圃場 圃場長)

III. 試験期間

承認日から 2027 年 12 月 31 日まで

5

IV. 施設概要

部外者の立入を防止するためのフェンス (高さ 1.6 m)、立入禁止であることを明示するための標識、洗い場を設置している (図 6, p61)。

10

V. 使用面積等

1. 隔離ほ場全体の面積

15 約 6,292 m²

2. 試験に使用する面積

20 約 1,000 m²

3. 試験区の配置図

4. 図 7 (p61) 参照

25

VI. 隔離ほ場の周辺環境

1. 地形

30 茨城県の最南端、常総平野に位置する (図 8, p62)。

2. 周辺の土地利用状況

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

5

3. 周辺の環境保護区の名称と隔離ほ場からの距離

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

10

4. 気象条件

隔離ほ場の最寄の気象情報観測地点である茨城県龍ヶ崎アメダス観測所 (龍ヶ崎市大徳町) における気象データの平年値を表 9 (p55) に示した (気象庁ホームページ気象統計情報ページよりダウンロード、アクセス 2022 年 5 月 24 日 :

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_amd_ym.php?prec_no=40&block_no=1014&year=&month=&day=&view)。

20

表 9 茨城県龍ヶ崎アメダス観測所 (龍ヶ崎市大徳町) における気象データの平年値

要素	降水量	平均気温	日最高気温	日最低気温	平均風速	日照時間
	(mm)	(°C)	(°C)	(°C)	(m/s)	(時間)
統計期間	1991~2020	1991~2020	1991~2020	1991~2020	1991~2020	1991~2020
資料年数	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
1 月	55.4	3.3	9.4	-2.3	2.4	190.8
2 月	52.9	4.3	10.2	-1.2	2.7	172.3
3 月	103.3	7.8	13.5	2.3	3.0	174.3
4 月	109.0	13.0	18.6	7.5	3.4	178.4
5 月	122.6	17.8	22.9	13.5	3.2	179.9
6 月	135.1	21.0	25.4	17.5	2.8	125.7
7 月	128.1	24.6	29.4	21.2	2.7	155.7
8 月	99.4	25.8	30.9	22.2	2.6	183.5
9 月	182.8	22.5	27.2	18.8	2.7	133.9
10 月	212.8	16.9	21.8	12.6	2.4	134.0
11 月	87.5	10.9	16.7	5.6	2.0	148.4
12 月	53.4	5.5	11.7	0.0	2.1	169.1
年	1352.8	14.5	19.8	9.8	2.7	1927.9

5. 台風の襲来暦

① 平年値

5

気象庁ホームページ気象統計情報によると、隔離ほ場のある関東甲信地方への台風接近数²³の平年値(1992年~2021年の30年平均)は、3.2個である(気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アクセス2022年5月24日：

http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accesion/kanto_koshin.html)。

10

② 過去10年の隔離ほ場周辺への台風の接近個数

15

関東甲信地方に台風が接近し²³、かつ隔離ほ場最寄の観測地点(茨城県龍ヶ崎アメダス観測所)において日ごとの最大風速が15 m/sを超えた個数²⁴を隔離ほ場周辺への台風の接近個数とした。過去10年の隔離ほ場周辺への台風の接近個数は、合計7個(2012年6月、2013年10月、2016年8月、2017年10月、2018年10月、2019年9月、2019年10月)²⁵であった(気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アクセス2022年5月24日)。

20

台風の襲来が予想された場合には、以下の強風対策を行う。

・強風時には、必要に応じて補助支柱を入れる。

・補助支柱などの資材は常に準備しておき、気象情報により取り付ける。

25

また、施設の周囲は、風による物の飛来を防止するため、周囲の片付け・清掃を常に行い、隔離ほ場施設内の資材等が風により飛散することのないよう留意する。

²³ 台風の中心が茨城県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県、東京都(島しょ部を除く)、神奈川県、山梨県、長野県のいずれかの気象官署等から300 km以内に入った場合を「関東甲信地方に接近した台風」としている。

http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accesion/kanto_koshin.html

²⁴ 台風の強風域の定義が平均風速15 m/sであることによる。

(気圧配置 台風に関する用語(気象庁): http://www.jma.go.jp/jma/kishou/known/yougo_hp/haichi2.html)

²⁵ 過去の気象データ検索(気象庁: <http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>) から、地点として龍ヶ崎を選択し、さらに関東甲信越地方に台風が接近した年月を選択。該当年月における日ごとの最大風速が15 m/sを超えた日の有無を確認した。該当年月において、日ごとの最大風速が15 m/sを超える日が認められた場合、隔離ほ場周辺に台風が接近したと判断した。

6. 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

過去にほ場が冠水したことはない。

5 7. 過去 10 年における強風の経験とその程度・頻度

強風によって栽培中の作物が倒伏したことはない。

8. 市町村が策定するハザードマップ上の位置付け (策定されている場合)

10

隔離ほ場は、河内町の洪水ハザードマップによると、想定最大規模降雨によって河道(利根川・小貝川・霞ヶ浦)が氾濫した場合、水深 0.5~3.0 m となると想定されている(茨城県河内町ホームページ洪水ハザードマップ、アクセス 2022 年 5 月 24 日：<http://www.town.ibaraki-kawachi.lg.jp/page/page000262.html>)。

15

9. 周辺地域における鳥獣害の発生状況

鳥獣害の被害報告はない。

20 VII. 隔離ほ場周辺の生物相

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

25 なし。

2. 交雑可能な近縁野生種及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

わが国には交雑可能な近縁野生種は存在しない。

30

VIII. 栽培管理等

1. 栽培履歴

35 隔離ほ場における栽培履歴は図 9 (p63) に示したとおりである。

2. 気象災害時の対応

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

5

3. 栽培終了後の利用計画 (ボランティア植物の監視を含む)

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

10

4. 隔離ほ場試験における生物多様性影響の安全対策に関する措置

隔離ほ場は下記(1)~(4)の設備を備えている。

15

(1) 部外者の立入を防止するため、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を明示した標識を見やすい所に掲げている。

20

(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本組換えテンサイ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、当該テンサイの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。

(4) 隔離ほ場周辺には、花粉の飛散を減少させるための防風網を設置している。また、播種時には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。

25

5. 作業要領

(1) 本組換えテンサイ及び比較対象のテンサイ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。

30

(2) 本組換えテンサイを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該テンサイ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、本組換えテンサイの栽培終了後は、当該テンサイ及び比較対象のテンサイを隔離ほ場内に鋤込む等により、確実に不活化する。

- 5
- (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本組換えテンサイが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
- (5) 本組換えテンサイ及び比較対象のテンサイにおける抽苔の有無について二週間ごとに調査を行い、もし抽苔した個体が生じた場合は、花粉の飛散を防止するため、開花前に切除する。
- (6) 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。
- 10
- (7) (1) から (6) までの掲げる事項について第一種使用等を行う者に遵守させる。
- (8) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。

以上



図5 バイエルクロップサイエンス株式会社 隔離ほ場の位置

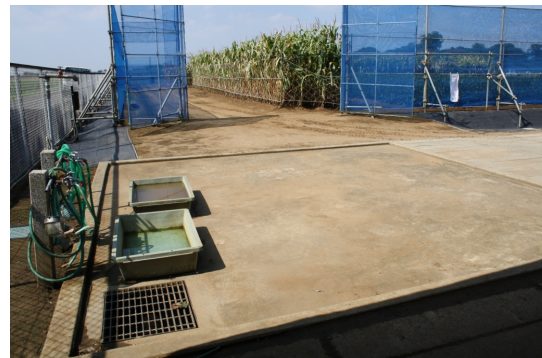


図 6 隔離ほ場の設備²⁶ (左) 立入禁止であることを明示するための標識、(右) 洗い場

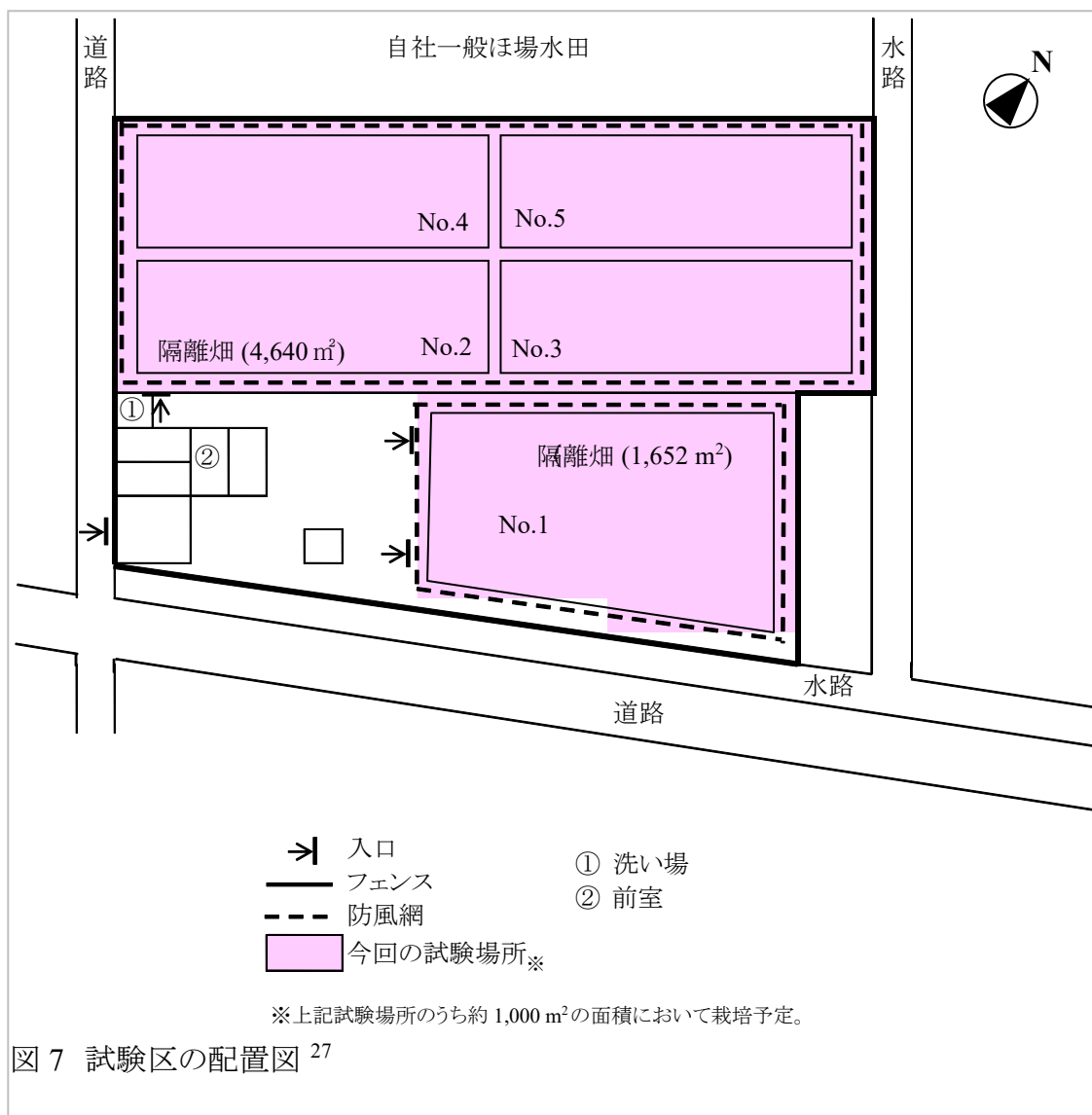


図 7 試験区の配置図²⁷

²⁶ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

²⁷ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

地理院地図
GSI Maps

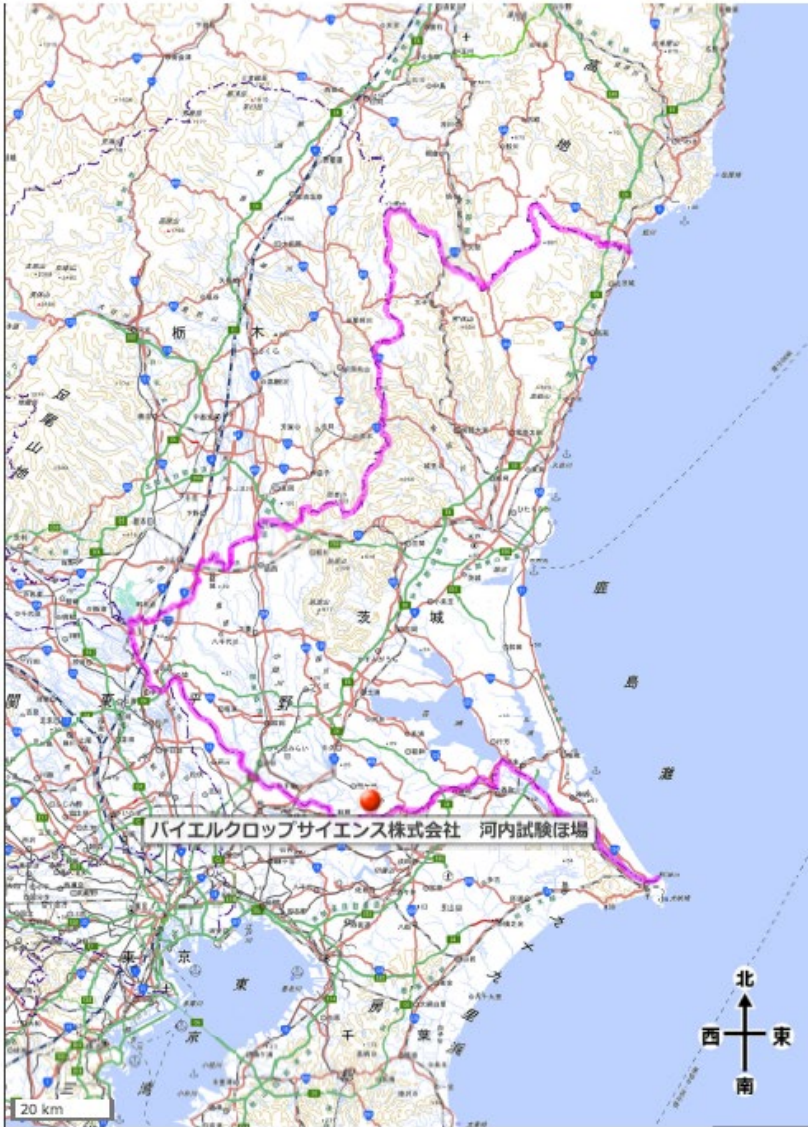


図 8 隔離ほ場の位置 (広域図)

ほ場 No.	作物	栽培期間(2019年)											
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
No.1	非遺伝子組換え ライムギ												
	非遺伝子組換え スイートコーン												
	遺伝子組換え スイートコーン												
	非遺伝子組換え トウモロコシ												
	遺伝子組換え トウモロコシ												
	非遺伝子組換え ダイズ												
	遺伝子組換え ダイズ												
	No.2	非遺伝子組換え ライムギ											
No.3	非遺伝子組換え ライムギ												
No.4	非遺伝子組換え ライムギ												
	非遺伝子組換え トウモロコシ												
	遺伝子組換え トウモロコシ												
No.5	非遺伝子組換え ライムギ												

ほ場 No.	作物	栽培期間(2020年)											
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
No.1	非遺伝子組換え ライムギ												
	非遺伝子組換え スイートコーン												
	遺伝子組換え スイートコーン												
	非遺伝子組換え トウモロコシ												
	遺伝子組換え トウモロコシ												
	非遺伝子組換え ダイズ												
	遺伝子組換え ダイズ												
	No.2	非遺伝子組換え ライムギ											
No.3	非遺伝子組換え ナタネ												
	遺伝子組換え ナタネ												
No.4	非遺伝子組換え トウモロコシ												
	遺伝子組換え トウモロコシ												
	非遺伝子組換え テンサイ												
No.5	非遺伝子組換え ライムギ												

ほ場 No.	作物	栽培期間(2021年)											
		1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月
No.1	非遺伝子組換え ライムギ												
No.2	非遺伝子組換え ナタネ												
	遺伝子組換え ナタネ												
No.3	非遺伝子組換え ライムギ												
	非遺伝子組換え ナタネ												
	遺伝子組換え ナタネ												
	非遺伝子組換え テンサイ												
No.4	非遺伝子組換え テンサイ												
	非遺伝子組換え ライムギ												
No.5	非遺伝子組換え ライムギ												

図9 隔離ほ場における栽培履歴²⁸

²⁸ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任はバイエルクロップサイエンス株式会社に帰属する。

第二部 隔離ほ場での試験計画

5

10

【社外秘につき非開示】

15

別添資料リスト

- 別添資料 1 本組換えテンサイの作出に用いられた改変 *cp4 epsps* 遺伝子、*pat* 遺伝子及び改変 *dmo* 遺伝子から推定した改変 CP4 EPSPS 蛋白質、PAT 蛋白質及び改変 KWS20-1 DMO 蛋白質のアミノ酸配列 (社外秘)
- 別添資料 2 Sequence of Genetic Elements in PV-BVHT527462 (社外秘)
- 別添資料 3 Determination of absence of *Agrobacterium tumefaciens* AGL1 in herbicide-tolerant KWS20-1 sugar beet (KWS20002) (社外秘)
- 別添資料 4 Amended report: Determination of Presence or Absence of *Agrobacterium tumefaciens* in T2 Generation of Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 (KWS21006_V2) (社外秘)
- 別添資料 5 Summary of Molecular Characterization of T-DNA Insertion in Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 by Southern Blot Analysis (KWS22003) (社外秘)
- 別添資料 6 Amended Report for TRR0001005: Demonstration of the Presence of CP4 EPSPS, DMO+27.1 and PAT Proteins Across 3 Generations of Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 (TRR0001055) (社外秘)
- 別添資料 7 Assessment of CP4 EPSPS, DMO, and PAT Protein Levels in Tissues Collected from Treated Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 Produced in United States Field Trials During 2020 (TRR0001067) (社外秘)
- 別添資料 8 Validation of a Qualitative Real-Time PCR Method to Detect Herbicide-Tolerant Sugar Beet KWS20-1 (2112 Version 01) (社外秘)