

第一種使用規定承認申請書

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 16
	(6)	宿主又は宿主に属する分類学上の種との相違 16
	3.	遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 20
35	(1)	使用等の内容 20
	(2)	使用等の方法 20

	(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法	20
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置	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	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
	2. 有害物質の産生性	25
15	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	25
	(2) 影響の具体的内容の評価	25
	(3) 影響の生じやすさの評価	25
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	25
	3. 交雑性	26
20	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	26
	(2) 影響の具体的内容の評価	26
	(3) 影響の生じやすさの評価	26
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	26
	4. その他の性質	26
25	第三 生物多様性影響の総合的評価	29
	参考文献	32
	別添資料の内容	36

緊急措置計画書

30	モニタリング報告書【社外秘情報につき非開示】
----	------------------------

第一種使用規程承認申請書

5

令和5年7月3日

農林水産大臣 野村哲郎 殿
環境大臣 西村明宏 殿

10

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
住所 東京都中央区日本橋室町三丁目4番4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。

20

遺伝子組換え生物等の種類の名称	除草剤グルホシネート耐性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-BNØØ3-6)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	—

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日付で第一種使用規程の承認を受け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した。

カラシナは、その主要な栽培国において広く栽培されているセイヨウナタネに比べて高温や乾燥に強い性質を持つ (OGTR, 2017)。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、コンバインによる直接又はほ場内乾燥後の収穫の両方が可能である (CFIA, 2012)。このカラシナが持つ生物学的特性に加えて除草剤耐性を導入することで、栽培農家にとって選択肢が増えることになる。

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

和名：カラシナ

英名：Canola quality mustard

学名：*Brassica juncea* (L.) Czern

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。

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)。

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
5 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てき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)。

カラシナは、我が国在来の野生種ではないこと (星川, 1987)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*)、
10 ハリゲナタネ (*B. tornefortii*)、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 (OECD, 2012; 津田ら, 2016)。このうち*B. rapa*は弥生時代に、*B. napus*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
15 (Nishizawa *et al.*, 2010)。他方、*B. nigra*、*B. tornefortii*、*D. tenuifolia*、*E. vesicaria*、*E. gallicum*、*R. raphanistrum*、*S. alba*及び*S. arvensis*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

20

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
25 分化を遂げた (山岸, 1989)。

カラシナは、形態学的特徴及び品質特性から4つの亜種 (*B. juncea* ssp. *Integrifolia* (和名：タカナ)、*B. juncea* ssp. *Juncea* (和名：カラシナ)、*B. juncea* ssp. *Napiformis* (和名：ネカラシナ)、*B. juncea* ssp. *Tsatsai* (和名：ザーサイ))に分類され、野菜、香辛料及び食用油として使用されている (OECD, 2012)。

30 亜種 *B. juncea* ssp. *juncea*には、油糧用カラシナと香辛料 (マスタード)用カラシナが含まれる。油糧用カラシナとマスタード用カラシナは形態学的には類似しているが、種子の油脂含有量及びグルコシノレート含有量が異なる (OECD, 2012)。

35 我が国において、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、明治以降に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、カナダ及び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、2021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895万ha、インド約747万ha、中国約680万haである (FAO, 2023)。

2021年における*Brassica*属由来の油糧用種子の主な生産国は、中国 (約1,471万t)、カナダ (約1,387万t)、インド (約1,021万t) であった (FAO, 2023)。我が国には、2022年に油脂原料として約210万tのセイヨウナタネの種子が輸入されているのに対し、カラシナの種子は約4,250 tが輸入されている (農林水産省, 2023b)。

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特徴があり、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)。

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莢当たり平均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, 2012)。また、ノハラガラシ (*B. arvensis*)やグンバイナズナ (*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り、休眠状態にならないことが報告されている (CFIA, 2012)。

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、カラシナの他殖率は、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、*B. napus*、*B. nigra*、*B. rapa*、*D. tenuifolia*、*S. alba*、*S. arvensis*及び*R. raphanistrum*が挙げられる (津田ら, 2016; 中井, 2003; 農林水産省, 2023a)。

- 5 カラシナと*B. napus*との自然交雑率はカラシナを種子親とした混植条件で0.13~5.91 %であり、*B. napus*を種子親とした混植条件で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、*B. napus*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。

- 15 カラシナと*B. nigra*の自然交雑率は、*B. nigra*を種子親とした混植条件において、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、*B. nigra*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)。

- 20 カラシナと自家不和合性である*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、*B. rapa*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)。

- 25 カラシナとその他の属 (*D. tenuifolia*、*S. alba*、*S. arvensis*及び*R. raphanistrum*)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。

- 30 ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

- 35 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 μ m)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、カラシナ他殖率は、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)。

5 *Brassica* 属の花粉は、比較的長期間にわたり発芽能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)。

ホ 病原性

10 _____

ヘ 有害物質の産生性

15 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、搾油粕は飼料用として
20 用いられるようになった (OECD, 2011; OGTR, 2008)。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1 g 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
25 品質を有する。

ト その他の情報

30 本組換えカラシナRF3のようなBARSTAR蛋白質を有する稔性回復系統は、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蛋白質が存在しない本組換えカラシナRF3の植物体内においては、BARSTAR蛋白質は機能しない。

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日付で第一種使用規程が承認された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開発された。よって、

5 遺伝子組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 (p.7)、(2) ベクターに関する情報 (p.11)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の作出に用いた供与核酸の構成及び構成要素の由来を表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を表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
T-DNA 領域		
改変 <i>bar</i> 遺伝子発現カセット		
3'g7	98-331	アグロバクテリウム (<i>Rhizobium 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ノトリシン・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	シロイヌナズナ (<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)。
<i>barstar</i> 遺伝子発現カセット		
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>Bacillus 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 蛋白質はリボヌクレアーゼである 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>) 由来の葯特異的遺伝子 <i>TA29</i> のプロモーターで、葯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)。
その他		
RB	1-25	<i>R. 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
LB	4809-4833	<i>R. radiobacter</i> 由来の T-DNA の反復配列左側領域 (Zambryski, 1988)。
外骨格領域 (遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 には存在しない)		
-	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	大腸菌 (<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となる (Hajdukiewicz <i>et al.</i> , 1994)。
ORIColE1	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)。

*本配列は特別な機能を有する配列を含まない。

(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、その結果として作物は枯死する。

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する (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
25 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。

 なお、改変 $\bar{bar}$ 遺伝子は、我が国において第一種使用規程が承認された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-

GHØØ1-3)、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:BCS-GHØØ5-8; T304-40, OECD UI:BCS-GHØØ4-7)に導入されている。

【BARSTAR 蛋白質】

- 5 BARSTAR蛋白質はBARNASE蛋白質の阻害物質である (Hartley and Barker, 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 (Hartley and Smeaton, 1973; Hartley, 1989; Smeaton and Elliott, 1967)。本組換えカラシナRF3の植物体内には基質となるBARNASE蛋白質が存在しないため、BARSTAR蛋白質
10 は機能しない。

なお、*barstar*遺伝子は、我が国において第一種使用規程が承認された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-BNØØ3-6)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、2021 年にデータベース (COMPARE, バージョン COMPARE 2021; 検索日: 2021 年 5 月 12 日)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。

- 20 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】

- 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
25 持つ代謝経路への影響はないと考えられる。

【BARSTAR蛋白質】

- 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、植物中の他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、
30 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 (Hartley, 1988, 1989; Hill *et al.*, 1983; Smeaton and Elliott, 1967)。よって、BARSTAR蛋白質が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 遺伝子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)。

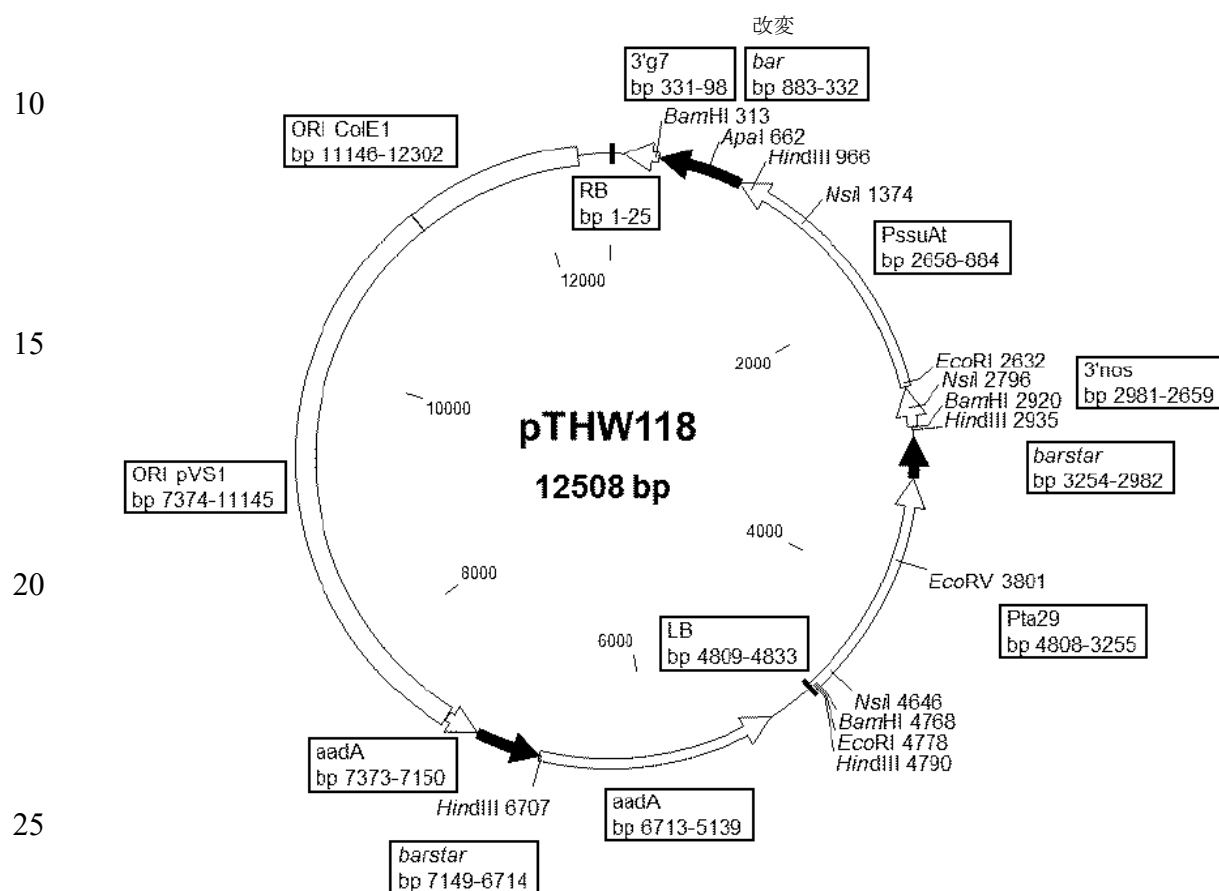


図1 pTHW118のベクター地図

(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。)

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を表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使用した。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をサザンブロット分析により確認した (別添資料 2)。

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の感染性は知られていない。

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 の作出に用いたプラスミド pTHW118 の構成要素を表 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した (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 に複数の非遺伝子組換えカラシナ系統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)。なお、維持系統 10CJ28-094 は我が国の隔離ほ場試験において対照として用いた非組換えカラシナである。

20

表 2 我が国における本組換えカラシナ RF3 の申請及び承認状況 (2024 年 2 月現在)

申請先	内容	申請及び承認状況
農林水産省・環境省	環境 ¹ (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)	2021 年 3 月承認
厚生労働省	食品 ²	2022 年 2 月承認
農林水産省	飼料 ³ (報告)	2020 年 4 月受理

¹ 遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律に基づく。

² 食品衛生法に基づく。

³ 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

25

(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。)

図2 本組換えカラシナRF3の育成図

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

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を既に確認していた (別添資料 1, p.21)。本組換えカラシナ RF3 は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したことから、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。

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 *B. juncea* に導入することにより開発した。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を確認しており (図 3, p.15; 別添資料 1, p.22)、これら遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 に導入された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。

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 と同一構成の導入遺伝子を持ち (別添資料 2, p.28, Fig 8)、さらに、導入遺伝子は F₁, BC₁, BC₂, BC₃ 及び BC₃S₂ 世代 (遺伝的背景 10CJ28-094, ①及び②, 図 2, p.14)の複数世代にわたり安定して後代に遺伝していることを確認した (別添資料 2, p.29, Fig 9)。また、F₁ 世代 (遺伝的背景 10CJ28-094, ③, 図 2, p.14)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 : 1000 bp 及び 3' 側近傍配列 : 1000 bp)において完全に一致することを確認した (別添資料 3, p.31)。

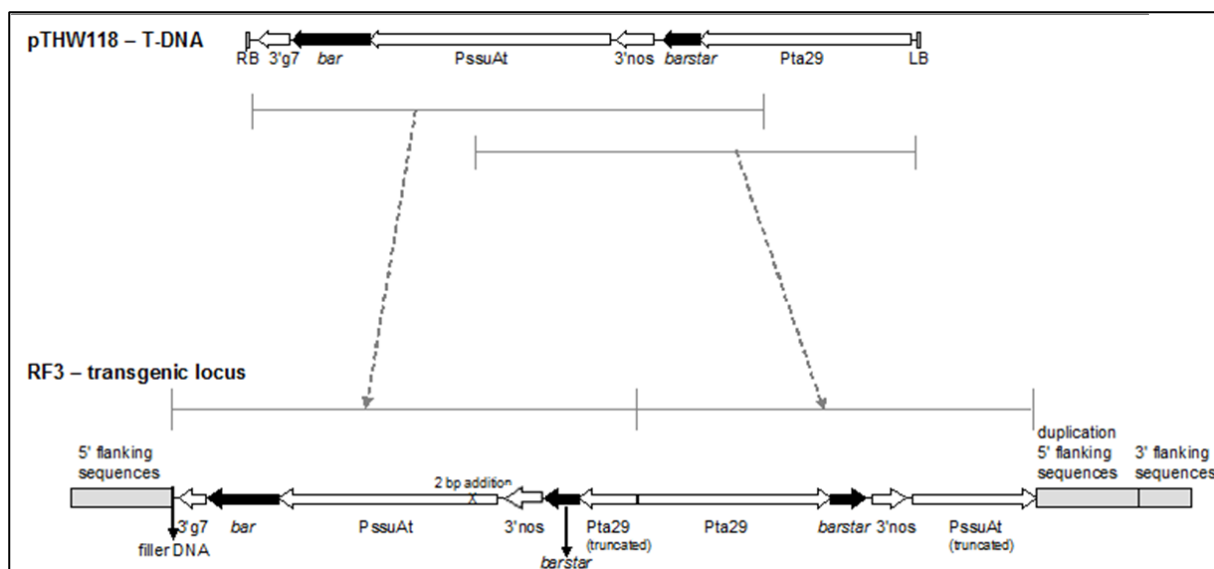


図3 遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 に移入された T-DNA 領域の構成図
(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

- 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

本組換えカラシナ RF3 には 2 コピーの T-DNA 領域が隣接して存在している。2 コピーの T-DNA 領域のうち一つは 5' 末端側に改変 *bar* 遺伝子発現カセット及び truncated Pta29 に *barstar* 遺伝子をつなげた遺伝子発現カセットであり、もう一つは 3' 末端側に *barstar* 遺伝子発現カセット及び truncated PssuAt が逆位で配置されていた。

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

20 2017 年に米国及びカナダの 3 試験地において栽培した本組換えカラシナ RF3 の BC₃S₃ 世代 (遺伝的背景 10CJ28-094, ④, 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 蛋白質を ELISA 法により分析した。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 µg/g DW、根では生育時期により 1.90~2.94 µg/g DW、花序では 62.58 µg/g DW、種子では 2.00 µg/g DW であった (別添資料 4, p.17, Table1)。一方、BARSTAR 蛋白質は、開花期の植物体及び

花序において検出され、発現量の平均値は、開花期の植物体では 0.19 µg/g DW、花序では 0.66 µg/g DW であった (別添資料 4, p.17, Table2)。

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, ⑤, 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 蛋白質及び BARSTAR 蛋白質を ELISA 法により分析した (別添資料 5, p.15~16, Table1~2)。その結果、改変 PAT 蛋白質は全ての組織、世代で検出され、BARSTAR 蛋白質は根及び花序において検出された。

2022 年に我が国で実施した隔離ほ場試験において、本組換えカラシナ RF3 は供試世代及び収穫世代の 2 世代において除草剤グルホシネート耐性を示した (別添資料 7, p.15)。

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を確認した。

- 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物等々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

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々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

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 PCR 法による検出及び識別が可能である。検定に用いる DNA の濃度は、PCR の 1 反応 (10 µl) 当たり 0.1 ng から 50 ng が推奨されている (別添資料 6)。

- (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

本組換えカラシナ RF3 へ導入した改変 *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、薬特異的プロモーターにより薬のタペート細胞においてのみ発現し、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。本組換えカラシナ RF3 においては、BARNASE 蛋白質が存在しないため

5 BARSTAR 蛋白質は機能しない。

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

10

2022 年に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 (以下「隔離ほ場」とする。)において本組換えカラシナ RF3 の隔離ほ場試験を行った (以下「本隔離ほ場試験」とする。)。試験には、本組換えカラシナ RF3 の BC₃S₃ 世代を供試した (遺伝的背景 10CJ28-094, ⑥, 図 2, p.14)。対照の非遺伝子組換えカラシナとして、本組換えカラシナ RF3 の遺伝的背景系統である 10CJ28-094 を

15 用いた (以下「非組換えカラシナ」とする。)。なお、交雑率を評価するための試験 (項目 f, p.18)は米国のほ場で実施した。

a) 形態及び生育の特性

20

本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナについて、農林水産省の農林水産植物種類別審査基準 (なたね種)を参考に、発芽揃い、開花期、開花揃い、成熟期、草丈、一次分枝数、主茎着花数、主茎着莢数、子実の色、地上部重 (乾燥重)の計 10 項目について比較した。草丈、一次分枝数、主茎着花数、主茎着莢数、地上部重 (乾燥重)に関しては統計処理を行い、発芽揃い、開花期、開花揃い、成熟期、子実の色に関しては観察結果を比較した。その結果、全ての項目において

25 両系統間に統計学的有意差又は相違は認められなかった (別添資料 7, 表 2~3, p.4~5)。

b) 生育初期における高温耐性

30

35 °C・13 時間明条件下、30 °C・11 時間の暗条件における高温が本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの幼植物体に与える影響を経時的に調査した。その結果、いずれの調査時においても両系統の幼植物体に高温の影響は確認されなかった (別添資料 7, 表 4, p.6)。

35

c) 成体の越夏性

本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナを収穫期後も栽培を続けたところ、2022 年 7 月 26 日に全ての株の枯死が認められた (別添資料 7, p.7)。

5 d) 花粉の稔性及びサイズ

本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナから花粉を採取し、花粉の直径及び稔性を比較した。その結果、本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの花粉の直径及び稔性に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 7, 表 6, p.8)。

10

e) 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量に関する項目として、農林水産省の農林水産植物種類別審査基準 (なたね種)を参考に、一株子実収量及び千粒重を調査した。統計処理を行った結果、千粒重では本組換えカラシナ RF3 と非組換えカラシナとの間に統計学的有意差は認められなかったが、一株子実収量において本組換えカラシナ RF3 の値が統計学的に有意に少なかった (別添資料 7, 表 8, p.9)。

15

種子の脱粒性に関する項目として、本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの裂莢率を調査した。その結果、両系統において裂莢はなく、本組換えカラシナ RF3 の種子の脱粒性は非組換えカラシナと同等であると考えられた (別添資料 7, 表 8, p.9)。

20

休眠性及び発芽率に関する項目として、隔離ほ場において収穫した本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの収穫種子を風乾したもの及びその後 3 か月保管した種子の発芽率を調査した。その結果、両時期において、系統間の発芽率は 100 %で、休眠性に差はなかった (別添資料 7, 表 9, p.11)。

25

f) 交雑率

交雑率の評価試験は、2020 年に米国 (ノースダコタ州)のほ場において実施した。本試験においては、花粉親として本組換えカラシナ RF3、種子親として非組換えカラシナを栽培し、花粉親から 1 m, 2 m, 4 m, 6 m 離れた種子親の収穫種子から交雑を調査した (別添資料 8)。

30

交雑体の判定は、本組換えカラシナ RF3 を花粉親とする収穫種子を供試して Real-time PCR により分子生物学的に解析し、各距離における交雑率を算出した。その結果、花粉親からの距離が 1 m, 2 m, 4 m, 6 m における交雑率は、それぞれ 1.44 %, 0.11 %, 0.00 %, 0.06 %と低くなった。この交雑率は、これまでに報告されているカラシナ他殖率 (花粉源から 5 m 離れた地点で最大 0.24 %) (OGTR, 2017)と同等であり大きく異なるものではなかった。

35

g) 有害物質の産生性

有害物質の産生性を調査するため、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った。

5 後作試験：

隔離ほ場において収穫期まで約7か月間栽培した本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの収穫後の根域土壌をそれぞれ採取し、その土壌を使用した。検定作物としてダイコンを栽培し、発芽率、草丈及び乾物重について比較した。その結果、いずれの項目についても本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナ
10 ナの試験区間に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 7, 表 10, p.12)。

鋤込み試験：

隔離ほ場において収穫期まで約7か月間栽培した本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの植物体の葉を収穫し、乾燥・粉砕して試料としてこれを重量
15 約1%の割合で混和した土壌を使用した。検定作物としてダイコンを栽培し、発芽率、草丈及び乾物重を比較した。その結果、いずれの項目についても本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの試験区間に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 7, 表 11, p.13)。

20 土壌微生物相試験：

隔離ほ場において収穫期まで約7か月間栽培した本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの試験区の土壌を採取し、希釈平板法により、糸状菌、放線菌及び細菌を計測した。その結果、いずれの項目についても本組換えカラシナ RF3 及び非組換えカラシナの試験区に統計学的有意差は認められなかった (別添資
25 料 7, 表 12, p.14)。

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

(2) 使用等の方法

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

20

「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

25

(6) 国外における使用等に関する情報

30

米国：

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。そのため、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。

また、上記と同じ理由から、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。

5 カナダ：

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。そのため、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。

10 また、上記と同じ理由から、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：

15 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。そのため、本組換えカラシナRF3は、オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ)へ新たな申請を必要としない。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1. 競合における優位性

5 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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自生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及び攪乱地域を除き、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、グルホシネートが散布されることが想定しにくい自然条件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、植物中の他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、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 競合における優位性に関わる形質として、形態及び生育の特性、生育初期における高温耐性、成体の越夏性、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び収穫種子の発芽率を本隔離ほ場試験にて調査した。その結果、種子の生産量のうち一株子実収量を除く全ての調査項目において、本組換えカラシナ RF3 と非組換えカラシナ間での相違又は統計学的な有意差は認められなかった (第一, 2, (6), ②, a~f, p.17~18)。一株子実収量の平均値は、本組換えカラシナ RF3 の 130.1 g に対して非組換えカラシナが 207.0 g であり、本組換えカラシナ RF3 が統計学的に有意に少ない値となった。しかしながら、同じ種子の生産量の項目である千粒重には統計学的有意差が認められず、一粒の重さに差は生じていなかった。加えて、我が国で 1999 年に実施した遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 の隔離ほ場試験では、一株子実収量において対照の非遺伝子組換えセイヨウナタネ (Drakkar) との間

35 に統計学的有意差が認められず (別添資料 1)、また、2017 年に米国及びカナダの 12 か所のほ場において GLP 条件下で実施された本組換えカラシナ RF3 と非

組換えカラシナのは場試験においても両系統間の面積当たりの子実収量及び千粒重に統計学的有意差は認められなかった (別添資料 9)。さらに、これら種子生産に関わる項目の値は、同は場試験で栽培した 7 つのカラシナ栽培品種の許容区間¹内であった。よって、本組換えカラシナ RF3 に導入された遺伝子が、遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 と同様に一株子実収量に影響を与えないことが示された。

一般的に、作物の収量は、複雑な遺伝子相互作用によって支配されていることが知られており (Shi *et al.*, 2009)、加えて、環境に対する植物の反応に依存することが報告されている (Ellis *et al.*, 1990)。例えば、気温は作物の収穫時期と収量に大きな影響を及ぼし (Pearson *et al.*, 1994)、日照時間は作物の成長において主要な決定要因となる。本隔離は場試験に供試した種子は、異なる時期に温室内で栽培された植物体から収穫されたため (本組換えカラシナ RF3 は 2017 年 6 月、非組換えカラシナは 2017 年 10 月に収穫)、両植物体間で種子生産時における生育条件が異なっていた。この種子生産時の生育条件の違いも、本組換えカラシナ RF3 の一株子実収量が少なくなった要因の一つとなった可能性が考えられる。さらに、本隔離は場試験のようにビニールハウス内で栽培した場合、野外で栽培する海外のは場試験とは栽培条件が大きく異なり、一株子実収量に大きな差が生じる可能性がある。

加えて、本隔離は場試験は、試験設計に関して前述の海外におけるは場試験と栽植密度が異なり、試験区画における株間は 0.6 m、畝間は 2.4 m であった (1 平方メートル当たり 1 株未満の株密度に相当)。一方、米国及びカナダでの慣行農法において最適とされるセイヨウナタネの畝間は 0.23~0.3 m (Kutcher *et al.*, 2013)、株密度は 1 平方メートル当たり 50~80 株 (Canola Council of Canada) であり、本隔離は場試験は主要栽培国の慣行農法に比べて非常に低い株密度で栽培した。一般的に、ナタネの潜在的な収量は、株密度が 1 平方メートル当たり 30~40 株を下回ると低下するとされていることから (Canola Council of Canada)、本隔離は場試験における 1 平方メートル当たり 1 株未満という低い株密度が、主要栽培国での慣行農法では観察しえない一株子実収量をもたらした結果、本組換えカラシナ RF3 と非組換えカラシナとの間に統計学的有意差が生じた可能性がある。

以上の考察より、我が国における隔離は場試験において本組換えカラシナ RF3 の一株子実収量は非組換えカラシナに比べて有意に減少したものの、導入

¹ 99%許容区間 (95%の信頼水準で、特定の母集団の 99%を含む範囲)を示す。

遺伝子の影響とは考え難く、生物多様性影響における競合における優位性を高めるものではないと考えられた。

- 5 以上のことから、本組換えカラシナ RF3 について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。

(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

- 15 (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、本組換えカラシナ RF3 において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。

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

5 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。

10 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。改変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。

15 本隔離ほ場試験において、後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った結果、いずれの試験においても、本組換えカラシナRF3と非組換えカラシナの試験区間に統計学的有意差は認められなかった (第一, 2, (6), ②, g, p.19)。

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

(2) 影響の具体的内容の評価

25

(3) 影響の生じやすさの評価

30

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えカラシナRF3において有害物質の産生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。

35

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

5 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
物等は特定されなかった。

10 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、
B. napus、*B. nigra*、*B. rapa*、*D. tenuifolia*、*S. alba*、*S. arvensis*及び*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; 中井,
2003; 農林水産省, 2023a）。したがって、これらは交雑に起因する影響を受ける可
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。

(2) 影響の具体的内容の評価

15

(3) 影響の生じやすさの評価

20

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

25 以上のことから、本組換えカラシナRF3において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

30 3, (1) 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。

35

- 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生物の個体群の維持に影響を及ぼす。

5

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。これらのことを考慮して、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。

10

- 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*B. napus*、*B. nigra*、*B. rapa*、*D. tenuifolia*、*S. alba*、*S. arvensis*及び*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、*B. napus*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が我が国の自然条件下でこれら近縁種と交雑しても、その交雑率は低く、形成された雑種の稔性も低下すると考えられる。よって、これらの雑種が我が国の自然条件に適応して優占化していく可能性は極めて低いと考えられる。

また、交雑可能な植物種として、上記に示した近縁種の他に、同種の植物である自生しているカラシナが挙げられる。第一, 2, (6), ②, f(p.18)に示したように、本組換えカラシナRF3を花粉親とした交雑試験の結果は、これまでに報告されているカラシナの他殖率と同等であり大きく異なるものではなかった。さらに、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難い。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、植物中の他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、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、本組換えカラシナRF3と自生しているカラシナとの間に生じた雑種が、我が

国の自然条件に適応して優占化していく可能性は極めて低いと考えられる。

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は、従来のカラシナと同様に低いと考えられる。

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可能性

1及び2 (p.22~25)に示したように、本組換えカラシナRF3の競合における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、植物中の他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

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自生集団を維持することはできないと考えられている (OGTR, 2017)。

競合における優位性に関わる形質として、形態及び生育の特性、生育初期における高温耐性、成体の越夏性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び収穫種子の発芽率を本隔離ほ場試験において比較検討した結果、種子の生産量のうち一株子実収量を除く全ての調査項目において、本組換えカラシナ RF3 と非組換えカラシナ間での相違又は統計学的有意差は認められなかった。他方、本組換えカラシナ RF3 の一株子実収量において、統計学的に有意な減少が認められた。しかしながら、本隔離ほ場試験での千粒重において統計学的有意差は認められず、一粒の重さに差は生じていなかった。

また、我が国で 1999 年に実施した本組換えカラシナの交配親である遺伝子組換えセイヨウナタネ RF3 の隔離ほ場試験では、一株子実収量において対照の非遺伝子組換えセイヨウナタネ (Drakkar) との間に統計学的有意差は認められなかった。さらに、海外の 12 か所で実施された GLP 条件下でのほ場試験においても、両系統間で面積当たりの子実収量及び千粒重に統計学的有意差は認められず、加えて、これら種子生産に関わる項目の値は、同ほ場試験で栽培した 7 つのカラシナ栽培品種の許容区間内であった。

一般的に、作物の収量は、複雑な遺伝子相互作用や気温及び日照時間などの環境により決定されることが知られている。本隔離ほ場試験に供試した種子は、異なる時期に温室内で栽培・収穫されたため、この種子生産時の生育条件の違いも本組換えカラシナ RF3 の収量が少なくなった要因の一つとなった可能性が考えられた。さらに、本隔離ほ場試験のようなビニールハウス内での栽培の場合、野外で栽培する海外のほ場試験とは栽培条件が大きく異なり、一株子実収量に大きな差が生じた可能性がある。

また、本隔離ほ場試験は、試験設計に関して前述の海外におけるほ場試験と比較して非常に低い栽植密度で栽培された。一般的に、ナタネの潜在的な収量は、株密度が 1 平方メートル当たり 30~40 株を下回ると低下するため、本隔離ほ場試験における 1 平方メートル当たり 1 株未満という低い株密度が、栽培国での慣行農法では観察しえない一株子実収量をもたらした結果、本組換えカラシナ RF3 と非組換えカラシナとの間に統計学的有意差が生じた可能性がある。

以上の結果から、本隔離ほ場試験においては本組換えカラシナRF3の一株子実収量は統計学的に有意に減少したが、競合における優位性を高めるものではないと考えられた。

- 5 本組換えカラシナRF3は除草剤グルホシネート耐性を有するが、自然条件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、植物中の他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、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。

10 以上のことから、本組換えカラシナRF3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

- 15 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及び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。

- 有害物質の産生性について、本隔離ほ場試験において後作試験、鋤込試験及び土壌微生物相試験を実施した結果、いずれの試験においても本組換えカラシナRF3と非組換えカラシナの試験区の間で統計学的有意差は認められなかった。

25 以上のことから、本組換えカラシナRF3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

- 30 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。

したがって、本組換えカラシナRF3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した。

35

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、*B.napus*、*B. nigra*、*B. rapa*、*D. tenuifolia*、*S. alba*、*S. arvensis*及び*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、

5 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

10 二,4, ① (p.27)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は極めて低いと考えられた。

また、導入遺伝子が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*遺伝子も同様であると考えられた。したがって、除草剤を散布することを想定しない自然条件下では、改変*bar*遺伝子が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及ぼす可能性は低いと考えられた。また、*barstar*遺伝子がコードする

20 **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、植物中の他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いない。

以上を総合的に評価し、本組換えカラシナRF3を第一種使用規程に従って使用

25 した場合に、我が国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと判断した。

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 vehicles. II. A multipurpose cloning system. *Gene* 2, p.95-113.

Canola Council of Canada. <https://www.canolacouncil.org/canola-encyclopedia/plant-establishment/seeding-rate/> and <https://www.canolacouncil.org/canola-encyclopedia/plant-establishment/plant-populations/>

(accessed on 2023-11-20)

CFIA, (2012) 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 2023-11-20)

Crawley, M.J., Hails, R.S., Rees, M., Kohn, 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, p.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, p.419-426.

Ellis, R.H., P. Hadley, E.H. Roberts and T. Summerfield, (1990) Quantitative Relations Between Temperature and Crop Development and Growth. In: *Climatic Change and Plant Genetic Resources*, Parry, M.L. (Ed.). *Climatic Change and Plant Genetic Resources*.

FAO, (2023) FAOSTAT. (<https://www.fao.org/faostat/en/#home>) (accessed on 2023-11-21).

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, p.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, p.989-994.

Hartley, R.W., Barker, E.A., (1972) Amino-acid sequence of extracellular ribonuclease (barnase) of *Bacillus amyloliquefaciens*. *Nature new biology* 235, p.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, p.5624-5626.

5 Hartley, R.W., (1988) Barnase and barstar. Expression of its cloned inhibitor permits expression of a cloned ribonuclease. Journal of Molecular Biology 202, p.913-915.

Hartley, R.W., (1989) Barnase and barstar: two small proteins to fold and fit together. Trends in Biochemical Sciences 14, p.450-454.

10 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: p.364-369.

15 Krebbers, E., Seurinck, J., Herdies, L., Cashmore, A., Timko, M.P., (1988) Four genes in two diverged subfamilies encode the ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase small subunit polypeptides of *Arabidopsis thaliana*. Plant Molecular Biology 11, p.745-759.

20 Kutcher, R., Turkington, T. K., Clayton, G. W., and Harker, K. N., (2013) Response of herbicide-tolerant canola (*Brassica napus* L.) cultivars to four row spacings and three seeding rates in a no-till production system. Canadian Journal of Plant Science, p.1299-1236.

25 Makarov, A.A., Protasevich, I.I., Kuznetsova, N.V., Fedorov, B.B., Korolev, S.V., Struminskaya, N.K., Bazhulina, N.P., Leshchinskaya, I.B., Hartley, R.W., Kirpichnikov, M.P., Yakovlev, G.I., Esipova, N.G., (1993) Comparative study of thermostability and structure of close homologues-barnase and binase. Journal of biomolecular structure & dynamics 10, p.1047-1065.

30 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, p.5224-5233.

35 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.

40 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.

45 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.

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.

- 5 OECD, (2016). Safety assessment of transgenic organisms in the environment. Vol 5, Chapter 3, *Brassica* crops (*Brassica* spp.). p.151-291.

OGTR, (2008) The biology of *Brassica napus* L. (canola). Version 2: February 2008.

- 10 OGTR, (2017) The Biology of *Brassica napus* L. (canola) and *Brassica juncea* (L.) Czern. & Coss. (Indian mustard).

Pearson, S., Hadley, P., Wheldon, A.E., (1994) A model of the effects of temperature on the growth and development of cauliflower (*Brassica oleracea* L. *botrytis*). *Scientia Horticulturae* 59, p. 91-106.

- 15 Seurinck, J., Truettner, J., Goldberg, R.B., (1990) The nucleotide sequence of an anther-specific gene. *Nucleic Acids Research* 18, p.3403.

- 20 Shi, J., Li, R., Qiu, D., Jiang, C., Long, Y., Morgan, C., Bancroft, I., Zhao, J., Meng, J., (2009) Unraveling the Complex Trait of Crop Yield With Quantitative Trait Loci Mapping in *Brassica napus*. *Genetics* 182, (3), p. 851-861.

- 25 Smeaton, J.R., Elliott, W.H., (1967) Isolation and properties of a specific bacterial ribonuclease inhibitor. *Biochimica et Biophysica Acta - Nucleic Acids and Protein Synthesis* 145, p.547-560.

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.

- 30 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, p.385-392.

- 35 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.

- 40 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. *Nature Biotechnology* 14, p.1274-1278.

Zambryski, P., (1988) Basic processes underlying *Agrobacterium*-mediated DNA transfer to plant cells. *Annual review of genetics* 22, p.1-30.

- 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, p.3885-3895.
- 5 青葉高, (2013) 野菜の日本史 青葉高著作選 II, 八坂書房, p.181-186.
- 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.
- 10 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. 全国農村教育協会, p.400-401.
- 15 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.
- 20 農林水産省, (2023a) 遺伝子組換え植物実態調査結果 (令和 4 年実施分) 対象植物 : ナタネ類、ダイズ・ソルマメ (<https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-39.pdf>) (accessed on 2023-11-22)
- 25 農林水産省, (2023b) 農林水産物輸出入概況 2022 年 (令和 4 年). (<https://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kokusai/attach/pdf/index-38.pdf>) (accessed on 2023-11-22).
- 30 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【社外秘情報につきすべて非開示】

- 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
- 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
- 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
- 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
- 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
- 別添資料 6: イベント識別方法
- 別添資料 7: 除草剤グルホシネート耐性及び稔性回復性カラシナ RF3 の隔離ほ場試験報告書
- 別添資料 8: RF3 *Brassica juncea* –交雑性試験
- 別添資料 9: 2017 年に米国及びカナダで栽培されたカラシナ RF3 の農業形質に関する評価

緊急措置計画書

令和5年7月3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5年7月現在)

(危機対策本部長)	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

弊社は、BASF Agricultural Solutions Seed US LLCと連絡を取り、種子、カラシナの生産、収穫物の状況に関し、カラシナ種子の生産、供給、販売及び取扱いなど使用の可能性がある関係各社から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

弊社は、BASF Agricultural Solutions Seed US LLC と連絡を取り、生産農家やカラシナ種子の取扱業者など取引ルートへ本組換えカラシナ RF3 の適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

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、弊社は BASF Agricultural Solutions Seed US LLC の協力のもと、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、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。