資料5

遺伝子組換え生物等の第一種使用規程の承認申請に係る審査報告書

長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ NS-B50027-4 系統

令和3年5月20日

農林水産省消費・安全局農産安全管理課

目　　次

頁

１．第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論・・・・・・・　１

２．審査の概要・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・・　２

〈審査参考資料〉

資料１．第一種使用規程承認申請書・・・・・・・・・・・　９

資料２．審査データの概要・・・・・・・・・・・・・・・・　１２

資料３．緊急措置計画書・・・・・・・・・・・・・・・・・・　６９

Most of the summaries and evaluations contained in this report are based on unpublished proprietary data submitted for registration to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan. A registration authority outside of Japan should not grant a registration on the basis of an evaluation unless it has first received authorization for such use from the owner of the data submitted to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries, Japan or has received the data on which the summaries are based, either from the owner of the data or from a second party that has obtained permission from the owner of the data for this purpose.

1. 第一種使用規程の承認申請に係る審査の結論

国立大学法人筑波大学及びニューファーム株式会社より、令和２年12月４日付けで、隔離ほ場における試験栽培の承認申請のあった「長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ（以下「本組換えセイヨウナタネ」という。）」について、生物多様性影響評価を行った。

本組換えセイヨウナタネは、導入遺伝子から産生される5種類のデサチュラーゼ蛋白質(Lackl-Δ12D、Picpa-ω3D、Micpu-Δ6D、Pavsa-Δ5D及びPavsa-Δ4D)及び2種類のエロンガーゼ蛋白質(Pyrco-Δ6E及びPyrco-Δ5E) により種子内の内在性脂肪酸であるオレイン酸からDHAを最終生成物とする長鎖多価不飽和脂肪酸が産生される。また、*pat*遺伝子から発現するPAT蛋白質により、除草剤グルホシネートへの耐性が付与されている。

審査の概要は、本報告書の２のとおりである。学識経験者からは、本組換えセイヨウナタネを承認申請のあった第一種使用規程に従って使用した場合に、生物多様性影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であるとの意見を得ている。

これらの結果に基づいて、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

（参考）これまでの審査経緯

日　付	事　項	備　考
令和２年１２月　４日	第一種使用規程承認申請受理	
令和２年１２月１７日	生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第１回）	非公開※
令和３年　１月２９日	生物多様性影響評価検討会農作物分科会における審査（第２回）	非公開※
令和３年　２月１９日	生物多様性影響評価検討会総合検討会における審査	公開
令和３年　３月２６日	学識経験者からの意見提出	公開
令和３年　５月２０日	審査報告書とりまとめ	公開

※開発企業の知的財産等が開示され特定の者に不当な利益若しくは不利益をもたらすおそれがあるため。

2. 審査の概要

本組換えセイヨウナタネは、バイナリーベクターpORE03 由来の pJP3416 をもとに構築されたプラスミドの pJP3416_GA7-ModB の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

本組換えセイヨウナタネは、微細藻類 *Micromonas pusilla* 由来のΔ6-デサチュラーゼ蛋白質をコードする *Micpu-Δ6D* 遺伝子、微細藻類 *Pyramimonas cordata* 由来のΔ5-エロンガーゼ蛋白質をコードする *Pyrco-Δ5E* 遺伝子、微細藻類 *Pavlova salina* 由来のΔ5-デサチュラーゼ蛋白質をコードする *Pavsa-Δ5D* 遺伝子、酵母 *Pichia pastoris* 由来のΔ15−/ω3-desaturase 蛋白質をコードする *Picpa-ω3D* 遺伝子、*P. salina* 由来のΔ4-デサチュラーゼ蛋白質をコードする *Pavsa-Δ4D* 遺伝子、酵母 *Lachancea kluyveri* 由来のΔ12-デサチュラーゼ蛋白質をコードする *Lackl-Δ12D* 遺伝子、*P. cordata* 由来のΔ6-エロンガーゼ蛋白質をコードする *Pyrco-Δ6E* 遺伝子及び *Streptomyces viridochromogenes* 由来のホスフィノスリシン N-アセチルトランスフェラーゼ (PAT)蛋白質をコードする *pat* 遺伝子、計 8 遺伝子の発現カセットを含む T-DNA 領域が同一の染色体上に隣接して逆位反復で 2 コピー、さらに一部が欠損し 4 つの完全な導入遺伝子カセットを含む T-DNA 領域が異なる染色体上に 1 コピー組み込まれていることが、シークエンス解析により確認されている。また複数世代にわたり安定して伝達していることがサザンブロット解析及び PCR を用いた方法により確認されている。

さらに目的の遺伝子が発現していることが LC-MRM-MS 分析により、複数世代にわたり安定して発現していることが、ガスクロマトグラフ法により DHA 含量を測定することで確認されている。

以上より、本組換えセイヨウナタネに関し、生物多様性影響を生じさせる可能性のある性質である、(1)競合における優位性、(2)有害物質の産生性、(3)交雑性、(4)その他の性質、の 4 つの項目について評価を行った。

(1) 競合における優位性

セイヨウナタネは、我が国において長期間の使用等の歴史があるが、自然環境下においてセイヨウナタネが雑草化し他の植物種より優占化した例は報告されていない。

デサチュラーゼ蛋白質及びエロンガーゼ蛋白質の発現により脂肪酸組成が改変された本組換えセイヨウナタネの種子において、発芽率の低下がみられたが、発芽率の低下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、本組換えセイヨウナタネは除草剤グルホシネート耐性を有するが、自然環境下において除草剤が選択圧となる状況は想定し難く、こ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。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、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それらに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないと判断された。

(2) 有害物質の産生性

セイヨウナタネの種子中には、ヒト及び動物に有害と考えられるエルシン酸とグルコシノレートが含まれている。しかし、本組換えセイヨウナタネの宿主である AV Jade は品種改良により低エルシン酸かつ低グルコシノレートとなったカノーラ品種である。

本組換えセイヨウナタネでは 5 種のデサチュラーゼ蛋白質、2 種のエロンガーゼ蛋白質及び PAT 蛋白質が発現しているが、これらの蛋白質が有害物質であるとの報告はなく、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を持たないことが確認されている。また、本組換えセイヨウナタネの脂肪酸組成の結果から、デサチュラーゼ蛋白質及びエロンガーゼ蛋白質の発現により影響を受けた脂肪酸以外に、宿主の代謝系に影響して新たな有害物質が産生されることはないと考えられる。

本組換えセイヨウナタネで新たに産生される脂肪酸は、自然環境下に広く存在し、野生動物によって摂取される、または産生されていることから、野生生物に影響を与えるものではないと考えられた。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、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それらに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないと判断された。

(3) 交雑性

我が国の自然環境下には、セイヨウナタネと交雑可能な在来の近縁野生種の自生は報告されていない。このため、セイヨウナタネの交雑生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。

以上より、限定された環境で一定の作業要領を踏まえた隔離ほ場において栽培、保管、運搬、廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内で本組換えセイヨウナタネを使用する限り、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

(4) その他の性質

セイヨウナタネと交雑可能な我が国に自生する近縁外来種として、*Brassica juncea*、*B. rapa*、*B. nigra*、*Hirschfeldia incana*、*Raphanus raphanistrum* 及び *Sinapis arvensis* が挙げられる。

本組換えセイヨウナタネと我が国に分布する外来の近縁種が交雑した場合、①雑種後代が優占化して他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性、及び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交雑した近縁種の個体群が縮小され、これら近縁種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が生じる可能性が考えられる。

しかしながら、

① については、自然条件下で交雑し雑種を形成するためには種々の条件が

揃う必要があること、さらに交雑率は低く、形成される雑種の稔性は低下するか、もしくは不稔となることから、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。

② については、本組換えセイヨウナタネで観察された発芽率の低下が、自然環境下に生息する昆虫等の野生生物の個体群の維持に長期的な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。また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、本組換えセイヨウナタネに導入された *pat* 遺伝子が遺伝的負荷となることは考え難い。したがって、交雑により我が国に生息する外来の近縁種の個体群中に浸透したとしても、交雑した近縁種の個体群が縮小される可能性は低く、こ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が生ずる可能性も低いと考えられた。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネ及び近縁種との交雑性に起因する間接的な生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(5) 結論

宿主が属する生物種であるセイヨウナタネは、路傍や工場跡地のような定期的に人の手が加えられる地域では自生化し得るが、人の手がほとんど加えられない自然環境下では自生化は困難であることが報告されている。

本組換えセイヨウナタネは、除草剤グルホシネートに耐性を示すが、グルホシネート系除草剤を散布することが想定されにくい自然環境下において同耐性が優位性を高めるとは考えにくい。

また、デサチュラーゼ蛋白質及びエロンガーゼ蛋白質の発現により脂肪酸組成が改変された本組換えセイヨウナタネの種子において、発芽率の低下がみられたが、発芽率の低下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。

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

一般的なセイヨウナタネには、動物に対して毒性を示すエルシン酸やグルコシノレートが含まれているが、本組換えセイヨウナタネは、エルシン酸やグルコシノレートの含有量が低減されたカノーラ品種であり、野生動物の生息に影響を及ぼすことはないと考えられた。

本組換えセイヨウナタネが発現する、デサチュラーゼ、エロンガーゼ及び PAT 蛋白質を発現しているが、これら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。また、本組換えセイヨウナタネの脂肪酸組成の結果から、デサチュラーゼ蛋白質及びエロンガーゼ蛋白質の発現により影響を受けた脂肪酸以外に、宿主の代謝系に影響して新たな有害物質が産生されることはないと考えられる。

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

セイヨウナタネと交雑可能な近縁種のうち、我が国に自生する種はいずれも栽培種もしくは外来種であり、影響を受ける可能性のある野生動植物とは特定されない。このため交雑性に起因して生物多様性影響が生じるおそれはないと判断した。

本組換えセイヨウナタネが、自然条件下で交雑し雑種を形成するためには種々の条件が揃う必要があること、さらに交雑率は低く、形成される雑種の稔性は低下するか、もしくは不稔となることから、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こと、本組換えセイヨウナタネで観察された発芽率の低下が、自然環境下に生息する昆虫等の野生生物の個体群の維持に長期的な影響を及ぼす可能性は低いことから、本組換えセイヨウナタネ及び近縁種との交雑性に起因する間接的な生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

以上を総括すると、本組換えセイヨウナタネは、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、廃棄、並びにこれらに付随する行為の範囲内では、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断した。

以上より、その他の性質に起因して生物多様性影響が生じるおそれはないと判断した。

〈審査参考資料〉

長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (*Lackl-Δ12D*, *Picpa-ω3D*, *Micpu-Δ6D*, *Pyrco-Δ6E*, *Pavsa-Δ5D*, *Pyrco-Δ5E*, *Pavsa-Δ4D*, *pat*, *Brassica napus* L.) (NS-B50027-4, OECD UI: NS-B5ØØ27-4) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書 1
第一　生物多様性影響の評価に当たり収集した情報 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
(2)　使用等の歴史及び現状 5
(3)　生理学的及び生態学的特性 6
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 10
(2)　ベクターに関する情報 24
(3)　遺伝子組換え生物等の調製方法 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 30
(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 37
(6)　宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違 37
3　遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 38
(1)　使用等の内容 38
(2)　使用等の方法 38
(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 40
(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耐用性影響を防止するための措置 40
(5)　実験室等での使用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 40
(6)　国外における使用等に関する情報 40
第二　項目ごとの生物多様性影響の評価 42
1　競合における優位性 42
(1)　影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 42
(2)　影響の具体的内容の評価 43
(3)　影響の生じやすさの評価 43

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 43
2 有害物質の産生性 44
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 44
(2) 影響の具体的内容の評価 45
(3) 影響の生じやすさの評価 45
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 45
3 交雑性 45
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 45
(2) 影響の具体的内容の評価 46
(3) 影響の生じやすさの評価 46
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 46
4 その他の性質 46
第三 生物多様性影響の総合的評価 49
参考文献 52
緊急措置計画書 61
モニタリング計画書 64
隔離ほ場試験計画書 67
別添資料リスト 78

資料１. 第一種使用規程承認申請書

第一種使用規程承認申請書

令和２年 12 月４日

農林水産大臣　　野上　浩太郎　殿
環境大臣　　小泉　進次郎　殿

氏名　国立大学法人　筑波大学
学長　永田　恭介
住所　茨城県つくば市天王台一丁目１番１号

申請者

氏名　ニューファム株式会社
代表取締役　陳　順得
住所　東京都千代田区内幸町二丁目 2 番 2 号

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

遺伝子組換え生物等の種類の名称	長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (*Lackl-Δ12D*, *Picpa-ω3D*, *Micpu-Δ6D*, *Pyrco-Δ6E*, *Pavsa-Δ5D*, *Pyrco-Δ5E*, *Pavsa-Δ4D*, *pat*, *Brassica napus* L.,) (NS-B50027-4, OECD UI:NS-B50027-4)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	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
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	所在地：茨城県つくば市天王台 名称：筑波大学　T-PIRC 産官学・共同研究部門 (インダストリアルゾーン)・模擬的環境試験圃場Ⅴ (隔離ほ場) 使用期間：承認日から令和 8 年 3 月 31 日 1.　隔離ほ場の施設 (1)　部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。 (2)　隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。 (3)　(2)により運搬又は保管する場合を除き、本組換えセイヨウナタネ及び比較対照の非組換えセイヨウナタネの栽培終了後、種子を除く植物体は隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。種子はオートクレーブにより不活化する。 (4)　開花期には試験区を寒冷紗などで覆うことにより花粉の飛散を防止する。また、播種時及び成熟期には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。 2. 隔離ほ場での作業要領 (1)　本組換えセイヨウナタネ及び比較対照のセイヨウナタネ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。 (2)　本組換えセイヨウナタネを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、本組換えセイヨウナタネ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、本組換えセイヨウナタネ及び比較対照の非組換えセイヨウナタネの栽培終了後、種子を除く植物体は隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。種子はオートクレーブにより不活化する。 (4)　隔離ほ場で使用した機械、器具及び靴等は、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セイヨウ

	ナタネが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。 (5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持間及び管理を行う。 (6) (1) から (5) に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。 (7) 別に定めるモニタリング計画書に基づき、モニタリングを実施する。 (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には、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対応する。

資料２. 審査データの概要

第一　生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1　宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

① 和名、英名及び学名

和名：セイヨウナタネ
英名：Oilseed Rape
学名：*Brassica napus* L.

② 宿主の品種名又は系統名

遺伝子導入に用いた宿主の品種は AV Jade である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

セイヨウナタネ (*B. napus* L.) は、アブラナ科アブラナ属の *Brassica rapa* L. (在来ナタネ、カブ、ハクサイ等) とキャベツなどが属する *Brassica oleracea* L. との交雑の結果できた複二倍体種である (OGTR, 2008)。セイヨウナタネは、交雑親の *B. rapa* と *B. oleracea* の分布が重なる北ヨーロッパが原産地と考えられており、現在は、世界中にその分布が見られる (OECD, 2012)。

我が国において、河川敷などに自生しているセイヨウナタネは栽培種からの逸出種と考えられている (清水ら, 2001)。また、サラダ油などの原料としてセイヨウナタネの種子が輸入され広く利用されており、こぼれ落ちた種子が輸入港周辺に生育している (Aono et al., 2011; Aono et al., 2006; Nishizawa et al., 2009; Nishizawa et al., 2010; Saji et al., 2005)。しかし、セイヨウナタネは自然環境下では多年生草本と競合し自生化することは困難であることが知られている (OECD, 1997)。

我が国に分布する近縁種として、アブラナ (*B. rapa*)、カラシナ (*B. juncea*)、クロガラシ (*B. nigra*)、ハリゲナタネ (*B. tournefortii*)、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*)、ダイコンモドキ (*Hirschfeldia incana*)、ノハラガラシ (*Sinapis arvensis*)、及びシロガラシ (*Sinapis alba*) が挙げられる (OECD, 2012;

OGTR, 2008; 中井, 2003; 農林水産省, 2018)。このうち、*B. rapa* と *B. juncea* は弥生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ている (Nishizawa et al., 2010)。一方で、戦後各地に広まった *B. juncea* は、雑草としてヨーロッパや北アメリカから入ったものと推測されている (清水ら, 2001; 中井, 2003)。他方、*B. nigra*、*B. tournefortii*、*E. vesicaria*、*E. gallicum*、*R. raphanistrum*、*H. incana*、*S. arvensis* 及び *S. alba* は、いずれも明治以降に帰化した外来種である (村上・鷲谷, 2002; 中井, 2003)。なお、セイヨウナタネと交雑可能な近縁野生種は我が国に存在しない。

(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

セイヨウナタネは 13 世紀にヨーロッパで栽培化されたと考えられている (OECD, 2011a)。我が国においては、明治時代から栽培されるようになり、生産量 (栽培面積) は、昭和 12 年に 13 万 t (11 万 ha) に達したが、第二次世界大戦によって激減した (杉山, 2001)。戦後再び増加し、昭和 31~33 年には 32 万 t (6 万 ha) に達したが、農産物自由化と、畑作生産衰退の傾向により急速に減退し、昭和 49 年の生産は 9,100t (5,280 ha) となった (志賀, 2001)。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

国連食料農業機関 (FAO) の統計情報に基づくと、2018 年における世界のセイヨウナタネの栽培面積は約 3,757 万 ha であり、その上位国はカナダが 912 万 ha、EU が 689 万 ha、中国が 655 万 ha、インドが 670 万 ha、オーストラリアが 317 万 ha となっている (FAO, 2020)。なお、我が国で栽培されているセイヨウナタネの栽培面積は 1,900ha、収穫量は 4,130t である (農林水産省, 2020b)。

セイヨウナタネには、花芽分化、抽苔及び開花に至るための低温要求度が低い春播き品種と低温要求度が高い秋播き品種があり (Brown et al., 2008)、カナダ西部や中国北部では主に春播き品種が栽培され、ヨーロッパ北部や中国中部では主に秋播き品種が栽培されている (OECD, 2012)。

日本には 2019 年に約 236 万 t のナタネ種子が輸入され、主な輸入国はカナダ (約 224 万 t)、次いでオーストラリア (約 12 万 t) である (財務省, 2020)。セイヨウナタネ種子から搾油・精製された油は、食用及び食品加工油脂として

利用されている。搾油後の油かすは飼肥料として用いられる (OGTR, 2008)。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ　基本的特性

セイヨウナタネは種子繁殖する一年生植物である。

ロ　生育又は生育可能な環境の条件

セイヨウナタネは、一般に冷涼な気候で栽培され、最適生育温度は 20°C をわずかに超えた程度である (OECD, 1997; OGTR, 2008)。発芽後の植物は、開花までは比較的低温を好み、開花期の高温は成熟を早め、開花から種子成熟までの期間が短くなる (CFIA, 2017)。

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

自然条件下では、15~25 粒の種子が入っている莢 (長角果) を形成し、乾燥した莢がはじけることで成熟した種子を飛散させる (OGTR, 2017)。乾燥した莢は、わずかな物理的刺激により裂開するため (OECD, 2012)、脱粒性は比較的高いと考えられる。

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。その主要な要因は、暗条件、酸素欠乏及び乾燥によるストレスとされ、二次休眠は、連続光、低温 (2~4°C) あるいは高温と低温の繰り返しなどにより打破される (OGTR, 2017)。

セイヨウナタネの種子の寿命は、採種条件や保存条件によって異なる。後熟後に乾燥状態で冷蔵保存した場合には、少なくとも 25 年を経過しても発芽する (OECD, 2012)。しかしながら、収穫時に飛散し、地表に落ちた種子の多くは発芽し、霜害や食害を受けるため、初めの 1 年を越えて生存することができない (OECD, 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

セイヨウナタネは種子繁殖を行い、自然条件下において他の器官からの繁殖はこれまでのところ報告がない。

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

セイヨウナタネは主に自殖性であるが、部分的には他殖も行われ、自家不和合性は有さない (OECD, 2012)。セイヨウナタネの同一ほ場内における他殖率は平均で20~40%で、主として開花時の環境条件によって著しく異なる (OECD, 2012)。我が国の試験ほ場において、異なる品種を用いた他殖率を3年間の栽培試験で調査したところ、平均が11.61%であった (Yamamori, 2011)。

セイヨウナタネと交雑可能な近縁野生種は我が国には存在しない。セイヨウナタネと交雑可能な近縁種として、アブラナ (*B. rapa*)、カラシナ (*B. juncea*)、クロガラシ (*B. nigra*)、ダイコンモドキ (*H. incana*)、セイヨウノダイコン (*R. raphanistrum*) 及びノハラガラシ (*S. arvensis*)が知られている (OECD, 2012; OGTR, 2008; 中井, 2003)。

セイヨウナタネと *B. rapa* との交雑性について、セイヨウナタネのほ場の外側に *B. rapa* の一群を植えた場合のセイヨウナタネとの交雑率は0.4~1.5%であり、形成された雑種の生存率は2%未満であった (OGTR, 2008)。しかし、セイヨウナタネと同一ほ場内に *B. rapa* を1：1で植えた場合の交雑率は、セイヨウナタネを種子親とした場合は9%、花粉親とした場合は13%であった (Jørgensen et al., 1996)。また、F_2及びBC世代については、品種・集団間に差異があるものの、全体的に適応度が低下するとの報告がある (Hauser et al., 1998)。東北農業研究センターの試験ほ場において、セイヨウナタネの畝間にポット栽培の *B. rapa* 栽培品種55系統を配置し、種子親とした *B. rapa* から得られた種子の倍数性から後代の雑種形成頻度を調査した結果、*B. rapa* とセイヨウナタネの自然交雑率は2~50%、平均で22.8%であった (Yamamori, 2011)。

セイヨウナタネと *B. juncea* との交雑性について、自然条件下でセイヨウナタネを花粉親とした場合の交雑率は3~4.7%であった (OGTR, 2008)。農業生物資源研究所 (現:農業・食品産業技術総合研究機構) の試験ほ場において、花粉

源となる突然変異由来の除草剤耐性セイヨウナタネを中央に配置し、花粉源内で *B. juncea* を混植、及び花粉源の周囲に *B. juncea* を栽植して、*B. juncea* における自然交雑率を調査した。その結果、交雑率は、花粉源内の混植地点では 1.62%、花粉源との隣接地点では 0.306%、花粉源からの距離が 1.0m、5.0m、10.0m、20.0m、27.5m の地点では、それぞれ 0.0499%、0.0369%、0.0396%、0.0000%、0.0000%であった (Tsuda et al., 2012)。一方、交配による雑種生産性の平均はセイヨウナタネが種子親の場合 0.07 個 (雑種個体数/交配花)、花粉親の場合 4.05 個という報告がある (津田ら, 2016)。また、形成された雑種の花粉稔性は 0~28%であり、セイヨウナタネよりも低い (OGTR, 2008)。雑種後代に関して、F_1 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)。

セイヨウナタネと *B. nigra* との交雑性について、両者を隣接して生育させた後に雑種の形成率を調査した報告があるが、自然交雑試験において雑種形成は確認されなかった (Bing et al., 1996; Scheffler and Dale, 1994)。また、人工交配によって交雑体が得られたという報告はない。なお、*B. nigra* を花粉親とした交配から得られた雑種個体の胚珠培養を行った場合、3.4%の交雑率で交雑体が得られたが、セイヨウナタネを花粉親として胚珠培養を行った場合には交雑体は得られなかったと報告されている (Kerlan et al., 1992)。

セイヨウナタネと *R. raphanistrum* との交雑性について、ほ場での調査においてセイヨウナタネを種子親とした場合の交雑頻度は 4.0×10^{-8}、花粉親とした場合の交雑体は確認されなかった (Rieger et al., 2001)。別の試験において、セイヨウナタネを花粉親とした場合の交雑頻度は 1×10^{-7}~3.1×10^{-5} という報告がある (Chèvre et al., 2000)。また、F_1 個体では幼苗の発芽率や生存率、ロゼット葉の直径、乾燥重などに顕著な低下が認められた (Guéritaine et al., 2003)。実際に、除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネと *R. raphanistrum* をほ場で栽培し、定期的なモニタリングを英国で 5 年間 (Chèvre et al., 2004)、及びカナダで 2 年間 (Warwick et al., 2003) 実施した結果、交雑体は認められなかった。

セイヨウナタネと *H. incana* との交雑性について、人工受粉によりセイヨウナタネを種子親とした場合は 100 花あたり 3.1 粒、花粉親とした場合は 100 花あたり 1.3 粒の F_1 種子が得られたが、その発芽率は 1%未満と低い適応度を示した (OECD, 2012)。

セイヨウナタネと *S. arvensis* との交雑性について、セイヨウナタネを花粉親

とした場合の *S. arvensis* との交雑は自然条件下では認められておらず、胚珠培養を行った場合でのみ交雑体が得られた (OECD, 2012)、なお、*S. arvensis* を花粉親とした場合の雄性不稔セイヨウナタネにおける交雑率は 1.2%であった (Lefol et al., 1996)。

セイヨウナタネにはアポミクシスの特性を有するとした報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

一花当たり約 6~7 万粒の花粉を産生する (Takahata et al., 2008)。*Brassica* 属の花粉は重く粘性があるが小型 (約 30-40 μm)であり、風媒のほか、ミツバチなどの昆虫によっても媒介される (OECD, 2012)。

東北農業研究センターの試験ほ場において、エルシン酸含量が異なる 2 品種を用いてセイヨウナタネの他殖率について調査した結果、花粉源から風下方向に 0.25 m、1 m、5 m、10 m、30 m、60 m 離れた地点の他殖率は、それぞれ 4.09%、1.35%、0.43%、0.15%、0.09%、0.01%と、花粉源から離れるにしたがって急激に減少した (Yamamori, 2011)。また、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。

花粉の寿命は 1 週間以上であるが、発芽率は自然条件下では、4~5 日間で徐々に低下する (Rantio-Lehtimaki, 1995)。

ホ 病原性

―

ヘ 有害物質の産生性

セイヨウナタネ種子には、ヒトを含む哺乳動物に有害であるとされているエルシン酸及びグルコシノレートが含まれている。エルシン酸は、ラットの給餌試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, 2008)。しかし、長年にわたる品種改良の結果、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、種子は食用油として、油かすは飼肥料用として利用されるようになった (OECD, 2012; OGTR, 2008)。なお、このような低エルシン酸 (精製油中で2 %未満) で

低グルコシノレート (油粕1 g当たり30 μmol未満) のセイヨウナタネは、一般にカノーラ品種と呼ばれている (OECD, 2012; OGTR, 2008)。宿主であるAV Jadeもカノーラ品種の一つである。

ト　その他の情報

―

2　遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

Nuseed Pty Ltd.は、種子中においてω-3 長鎖多価不飽和脂肪酸の一種であるドコサヘキサエン酸 (DHA) を産生し、除草剤グルホシネートに対する耐性が付与された長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (NS-B50027-4、OECD UI: NS-B5ØØ27-4 ; 以下、本組換えセイヨウナタネという) を作出した。

本組換えセイヨウナタネには、DHA を最終生成物とする長鎖多価不飽和脂肪酸 (LC-PUFAs) 合成に関わる微細藻類由来又は酵母由来の 5 種のデサチュラーゼ [1]及び 2 種のエロンガーゼ [2]をコードする遺伝子、及び *Streptomyces viridochromogenes* 由来の *pat* 遺伝子が導入されている。

イ　構成及び構成要素の由来

本組換えセイヨウナタネの作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は表 1 (p11~14) に示した。

[1] デサチュラーゼは炭化水素鎖から 2 個の水素原子を抜き出す酵素で、脂肪酸中に二重結合を生成する。カルボニル基から一定の位置に二重結合を導入するΔ-デサチュラーゼ及びメチル基から一定の位置に二重結合を導入するω-デサチュラーゼがある。
[2] エロンガーゼは脂肪酸を 2 炭素ずつ伸長させる酵素である。4 つのステップから成る脂肪酸の伸長反応 (縮合、還元、脱水、還元) のうち、最初の縮合反応を触媒する。

表 1　本組換えセイヨウナタネの作出に用いた供与核酸の各構成要素の由来及び機能 [3]

構成要[注1]	プラスミド中の位置 (bp)	由来及び機能
外側骨格領域 (本組換えセイヨウナタネには存在しない)		
Intervening sequence	1 - 212	DNAクローニングの際に利用された配列。
nptIII	213 – 1,007	*Staphylococcus aureus*由来のネオマイシン-カナマイシンホスホトランスフェラーゼIII (NPTIII) をコードする*neo*遺伝子のコード配列 (Xiang et al., 1999)。ネオマイシン及びカナマイシン耐性を付与する (Trieu-Cuot and Courvalin, 1983)。
Intervening sequence	1,008 – 1,305	DNAクローニングの際に利用された配列。
TrfA	1,306 – 2,454	RK2プラスミド由来の複製開始領域TrfAのコード配列であり (Xiang et al., 1999)、*Escherichia coli*中においてプラスミドのコピー数を維持する
Intervening sequence	2,455 – 2,511	DNAクローニングの際に利用された配列。
Origin_*ColE1*	2,512 – 3,392	Col E1プラスミド由来の複製開始領域。*E. coli*中においてプラスミドのコピー数を維持する (Xiang et al., 1999)。
Intervening sequence	3,393 – 3,397	DNAクローニングの際に利用された配列。
T-DNA領域		
T-DNA right border	3,398 – 3,560	*Agrobacterium tumefaciens*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 (Jefferson et al., 1987)。
Multiple cloning site	3,561 – 3,628	DNAクローニングの際に使用された配列。
TER_*Linus-Cnl2*	3,629 – 4,166	*Linum usitatissimum* の種子貯蔵蛋白質をコードする*conlinin2*遺伝子のターミネーター (Chaudhary et al., 2001)。転写の終結及びmRNAのポリアデニル化を誘導する。
Intervening sequence	4,167 – 4,174	DNAクローニングの際に利用された配列。
Micpu-Δ6D	4,175 – 5,569	微細藻類*Micromonas pusilla*由来のΔ6-デサチュラーゼをコードする遺伝子 (Petrie et al., 2010b)。
Intervening sequence	5,570 – 5,572	DNAクローニングの際に利用された配列。
Tobacco mosaic virus (TMV) 5' UTR leader	5,573 – 5,637	タバコモザイクウイルス由来のエンハンサーで、植物細胞内での翻訳を高める (Gallie et al., 1987)。
Intervening sequence	5,638 – 5,645	DNAクローニングの際に利用された配列。
PRO_*Linus-Cnl2*	5,646 – 7,678	*L. usitatissimum*由来の種子貯蔵蛋白質をコードする*conlinin2*遺伝子のプロモーター (Chaudhary et al., 2001)。mRNAの転写を胚特異的に誘導する。

[3] 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。

表 1　本組換えセイヨウナタネの作出に用いた供与核酸の各構成要素の由来及び機能 (続き)

構成要素	プラスミド中の位置 (bp)	由来及び機能
Intervening sequence	7,679 – 7,684	DNAクローニングの際に利用された配列。
PRO_*Arath-FAE1*	7,685 – 8,618	*Arabidopsis thaliana*由来のエロンガーゼ (FAE1) 遺伝子のプロモーターで、mRNAの転写を胚特異的に誘導する (Rossak et al., 2001)。
Tobacco mosaic virus 5' UTR leader	8,619 – 8,683	タバコモザイクウイルス由来のエンハンサーで、植物細胞内での転写を高める (Gallie et al., 1987)。
Intervening sequence	8,684 – 8,686	DNAクローニングの際に利用された配列。
Pyrco-Δ5E	8,687 – 9,493	微細藻類*Pyramimonas cordata*由来のΔ5-エロンガーゼをコードする遺伝子 (Petrie et al., 2010a)。
Intervening sequence	9,494 – 9,508	DNAクローニングの際に利用された配列。
TER_*Glyma-Lectin*	9,509 – 9,842	ダイズ (*Glycine max*) のレクチンをコードする*Le1*遺伝子のターミネーター (Choi et al., 1995; Vodkin et al., 1983)。転写の終結及びmRNAのポリアデニル化を誘導する。
PRO_*Brana-FP1*	9,843 – 10,200	セイヨウナタネ (*B. napus*) の*napin*遺伝子のプロモーターで、mRNAの転写を胚特異的に誘導する (Stålberg et al., 1993)。
TMV 5' UTR leader	10,201 – 10,265	タバコモザイクウイルス由来のエンハンサーで、植物細胞内での翻訳を高める (Gallie et al., 1987)。
Intervening sequence	10,266 – 10,268	DNAクローニングの際に利用された配列。
Pavsa-Δ5D	10,269 – 11,549	微細藻類*Pavlova salina*由来のΔ5-デサチュラーゼをコードする遺伝子 (Zhou et al., 2007)。
TER_*Agrtu-NOS*	11,550 – 11,804	*A. tumefaciensp* Ti由来のノパリン合成酵素遺伝子 (*nos*) のターミネーターで (Bevan, 1984; Rogers et al., 1985; Sanders et al., 1987)、転写の終結及びmRNAのポリアデニル化を誘導する。
MAR_*Nicta-RB7*	11,805 – 12,972	タバコ (*Nicotiana tabacum*) 由来のRb7マトリックス結合領域で、植物細胞内での転写を高める (Hall et al., 1991; Halweg et al., 2005)。
TER_*Linus-Cnl1*	12,973 – 13,706	*L. usitatissimum*の種子貯蔵蛋白質をコードする*conlinin1*遺伝子のターミネーター (Chaudhary et al., 2001)。転写の終結及びmRNAのポリアデニル化を誘導する。
Picpa-ω3D	13,707 – 14,957	酵母*Pichia pastoris* 由来のΔ15−/ω3-desaturaseをコードする遺伝子 (Zhang et al., 2008)。
Intervening sequence	14,958 – 14,960	DNAクローニングの際に利用された配列。

表 1　本組換えセイヨウナタネの作出に用いた供与核酸の各構成要素の由来及び機能 (続き)

構成要素	プラスミド中の位置 (bp)	由来及び機能
TMV 5' UTR leader	14,961 – 15,025	タバコモザイクウイルス由来のエンハンサーで、植物細胞内での翻訳を高める (Gallie et al., 1987)。
PRO_*Linus-Cnl1*	15,026 – 15,475	*L. usitatissimum*由来の種子貯蔵蛋白質をコードする *conlinin1* 遺伝子のプロモーター (Chaudhary et al., 2001)。mRNAの転写を胚特異的に誘導する。
PRO_*Linus-Cnl2*	15,476 – 17,508	*L. usitatissimum*由来の種子貯蔵蛋白質をコードする *conlinin2* 遺伝子のプロモーター (Chaudhary et al., 2001)。mRNAの転写を胚特異的に誘導する。
TMV 5' UTR leader	17,509 – 17,573	タバコモザイクウイルス由来のエンハンサーで、植物細胞内での翻訳を高める (Gallie et al., 1987)。
Intervening sequence	17,574 – 17,576	DNAクローニングの際に利用された配列。
Pavsa-Δ4D	17,577 – 18,923	微細藻類*P. salina*由来のΔ4-デサチュラーゼをコードする遺伝子 (Zhou et al., 2007)。
TER_*Linus-Cnl2*	18,924 – 19,461	*L. usitatissimum*の種子貯蔵蛋白質をコードする*conlinin2*遺伝子のターミネーター (Chaudhary et al., 2001)。転写の終結及びmRNAのポリアデニル化を誘導する。
PRO_*Linus-Cnl1*	19,462 – 19,911	*L. usitatissimum*由来の種子貯蔵蛋白質をコードする *conlinin2* 遺伝子のプロモーター (Chaudhary et al., 2001)。mRNAの転写を胚特異的に誘導する。
TMV 5' UTR leader	19,912 – 19,976	タバコモザイクウイルス由来のエンハンサーで、植物細胞内での翻訳を高める (Gallie et al., 1987)。
Intervening sequence	19,977 – 19,979	DNAクローニングの際に利用された配列。
Lackl-Δ12D	19,980 – 21,233	酵母*Lachancea kluyveri*由来のΔ12-デサチュラーゼをコードする遺伝子 (Petrie et al., 2012)。
TER_*Linus-Cnl1*	21,234 – 21,967	*L. usitatissimum*の種子貯蔵蛋白質をコードする*conlinin1*遺伝子のターミネーター (Chaudhary et al., 2001)。転写の終結及びmRNAのポリアデニル化を誘導する。
MAR_*Nicta-RB7*	21,968 – 23,135	タバコ (*N. tabacum*) 由来のRb7マトリックス結合領域で、植物細胞内での転写を高める (Hall et al., 1991; Halweg et al., 2005)。
Intervening sequence	23,136 – 23,143	DNAクローニングの際に利用された配列。

表 1　本組換えセイヨウナタネの作出に用いた供与核酸の各構成要素の由来及び機能 (続き)

構成要素	プラスミド中の位置 (bp)	由来及び機能
PRO_*Arath-FAE1*	23,144 – 24,077	*A. thaliana*由来のエロンガーゼ (*FAE1*) 遺伝子のプロモーターで、mRNAの転写を胚特異的に誘導する (Rossak et al., 2001)。
TMV 5' UTR leader	24,078 – 24,142	タバコモザイクウイルス由来のエンハンサーで、植物細胞内での翻訳を高める (Gallie et al., 1987)。
Intervening sequence	24,143 – 24,145	DNAクローニングの際に利用された配列。
Pyrco-Δ6E	24,146 – 25,015	微細藻類*P. cordata*由来のΔ6-エロンガーゼをコードする遺伝子 (Petrie et al., 2010a)。
TER_*Glyma-Lectin*	25,016 – 25,349	ダイズ (*G. max*) のレクチンをコードする*Le1*遺伝子のターミネーター (Vodkin et al., 1983)。転写の終結及びmRNAのポリアデニル化を誘導する。
Intervening sequence	25,350 – 25,371	DNAクローニングの際に利用された配列。
PRO_*35S×2*	25,372 – 25,909	2重のエンハンサー領域を持つカリフラワーモザイクウイルス35S RNAのプロモーター (Coutu et al., 2007; Kay et al., 1987)。
Intervening sequence	25,910 – 25,918	DNAクローニングの際に利用された配列。
pat	25,919 – 26,470	*Streptomyces viridochromogenes* 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 (Dröge et al., 1992)。
Intervening sequence	26,471 – 26,478	DNAクローニングの際に利用された配列。
TER_*Agrtu-NOS*	26,479 – 26,731	*A. tumefaciens*p Ti由来のノパリン合成酵素遺伝子 (*nos*) のターミネーターで (Bevan, 1984; Rogers et al., 1985; Sanders et al., 1987)、転写の終結及びmRNAのポリアデニル化を誘導する。
Intervening sequence	26,732 – 26,748	DNAクローニングの際に利用された配列。
T-DNA left border	26,749 – 26,909	*A. tumefaciens*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 (Jefferson et al., 1987)。
外側骨格配列 (本組換えセイヨウナタネには存在しない)		
Origin_*RiA4*	26,924 – 31,559	プラスミドpRi_15834由来の複製開始領域 (RepA) で、*Agrobacterium*中においてプラスミドのコピー数を維持する (GenBank accession # KX986281)。

注 1：各構成要素において使用されている接頭辞は以下のとおり。

Origin (複製開始領域)、TER (ターミネーター)、PRO (プロモーター)、MAR (マトリックス付着領域)

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与核酸の構成要素それぞれの機能

本組換えセイヨウナタネの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は、表 1 (p11~14) に示した。

② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産出される蛋白質の機能およ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

本組換えセイヨウナタネでは、導入遺伝子から発現する 5 種類のデサチュラーゼ (Lackl-Δ12D、Picpa-ω3D、Micpu-Δ6D、Pavsa-Δ5D 及び Pavsa-Δ4D) 及び 2 種類のエロンガーゼ (Pyrco-Δ6E 及び Pyrco-Δ5E) により種子内の内在性脂肪酸であるオレイン酸から DHA を最終生成物とする長鎖多価不飽和脂肪酸が産生される (図 1, p17)。また、*pat* 遺伝子から発現する PAT 蛋白質により、除草剤グルホシネートへの耐性が付与されている。

デサチュラーゼ及びエロンガーゼ

Lackl-Δ12D 蛋白質はΔ-12 デサチュラーゼであり、長鎖オメガ三系脂肪酸合成の第一段階であるオレイン酸のカルボキシル末端の 12 番目の位置に二重結合を導入し、リノール酸へ変換する反応 ($18:1^{\Delta 9} \rightarrow 18:2^{\Delta 9,12}$: Δ12-不飽和化酵素反応) を触媒する (図 1, p17 の①)。リノール酸は、ω3/Δ-15 デサチュラーゼである Picpa-ω3D 蛋白質によって、カルボキシル末端から 15 番目の位置に二重結合が導入されることにより、α-リノレン酸へと変換される ($18:2^{\Delta 9,12} \rightarrow 18:3^{\Delta 9,12,15}$: ω3/Δ15-不飽和化酵素反応) (図 1, p17 の②)。さらに、Δ-6 デサチュラーゼである Micpu-Δ6D 蛋白質が、リノレン酸のカルボキシル末端から 6 番目の位置に二重結合を導入することにより、ステアリドン酸が産生される ($18:3^{\Delta 9,12,15} \rightarrow 18:4^{\Delta 6,9,12,15}$: Δ6-不飽和化酵素反応) (図 1, p17 の③)。

次に、Δ-6 エロンガーゼである Pyrco-Δ6E 蛋白質が、ステアリドン酸のカルボキシル末端に炭素原子 2 個を加えることにより、エイコサテトラエン酸が産生される (18:4$^{\Delta6,9,12,15}$ → 20:4$^{\Delta8,11,14,17}$: Δ6-脂肪酸伸長酵素反応) (図 1, p17 の④)。

産生されたエイコサテトラエン酸は、Δ-5 デサチュラーゼである Pavsa-Δ5D 蛋白質によってカルボキシル末端から 5 番目の位置に二重結合を導入されることで、エイコサペンタエン酸 (EPA) へと変換される (20:4$^{\Delta8,11,14,17}$ → 20:5$^{\Delta5,8,11,14,17}$: Δ5-不飽和化酵素反応) (図 1, p17 の⑤)。

続いて、Δ-5 エロンガーゼである Pyrco-Δ5E 蛋白質は、産生されたエイコサペンタエン酸のカルボキシル末端に炭素原子 2 個を加えて、ドコサペンタエン酸 (DPA) を生成する反応を触媒する (20:5$^{\Delta5,8,11,14,17}$ → 22:5$^{\Delta7,10,13,16,19}$: Δ5-脂肪酸伸長酵素反応) (図 1, p17 の⑥)。最後に、Δ-4 デサチュラーゼである Pavsa-Δ4D 蛋白質が、ドコサペンタエン酸のカルボキシル末端から 4 番目の位置に二重結合を導入することで、DHA が産生される (22:5$^{\Delta7,10,13,16,19}$ → 22:6$^{\Delta4,7,10,13,16,19}$: Δ4-不飽和化酵素反応) (図 1, p17 の⑦)。

Petrie et al. (2020) は本組換えセイヨウナタネの種子中における 5 種のデサチュラーゼ及び 2 種のエロンガーゼの働きについて調査を行っている。その結果、本組換えセイヨウナタネでは、セイヨウナタネ内在性の脂肪酸であるオレイン酸を基質とした α-リノレン酸の生合成から始まる脂肪酸の不飽和化及び伸長反応が導入されたデサチュラーゼ及びエロンガーゼにより引き起こされることによって、最終産物として多価長鎖不飽和脂肪酸である DHA が産生されることが確認されている(Petrie et al., 2020)。

なお、本組換えセイヨウナタネに導入されたデサチュラーゼ及びエロンガーゼは、図 1 (p17) に示した以外の脂肪酸の不飽和化又は伸長反応に影響を及ぼすことで意図した以外の脂肪酸組成の変化をもたらす可能性が考えられる。しかしながら、2015 年にオーストラリアの 8 試験地において収穫された本組換えセイヨウナタネの種子における脂肪酸含量を測定した結果、これらの 5 種類のデサチュラーゼ及び 2 種類のエロンガーゼを導入したことにより、意図した以外の脂肪酸組成の変化は認められなかったことが確認されている (別添資料 1)。詳細は第一の 2-(1)-ロ-③に後述する。

この脂肪酸分析の結果からも、導入されたデサチュラーゼ及びエロンガーゼが意図した形で機能し、高い DHA 含量をもたらしていることが示された。

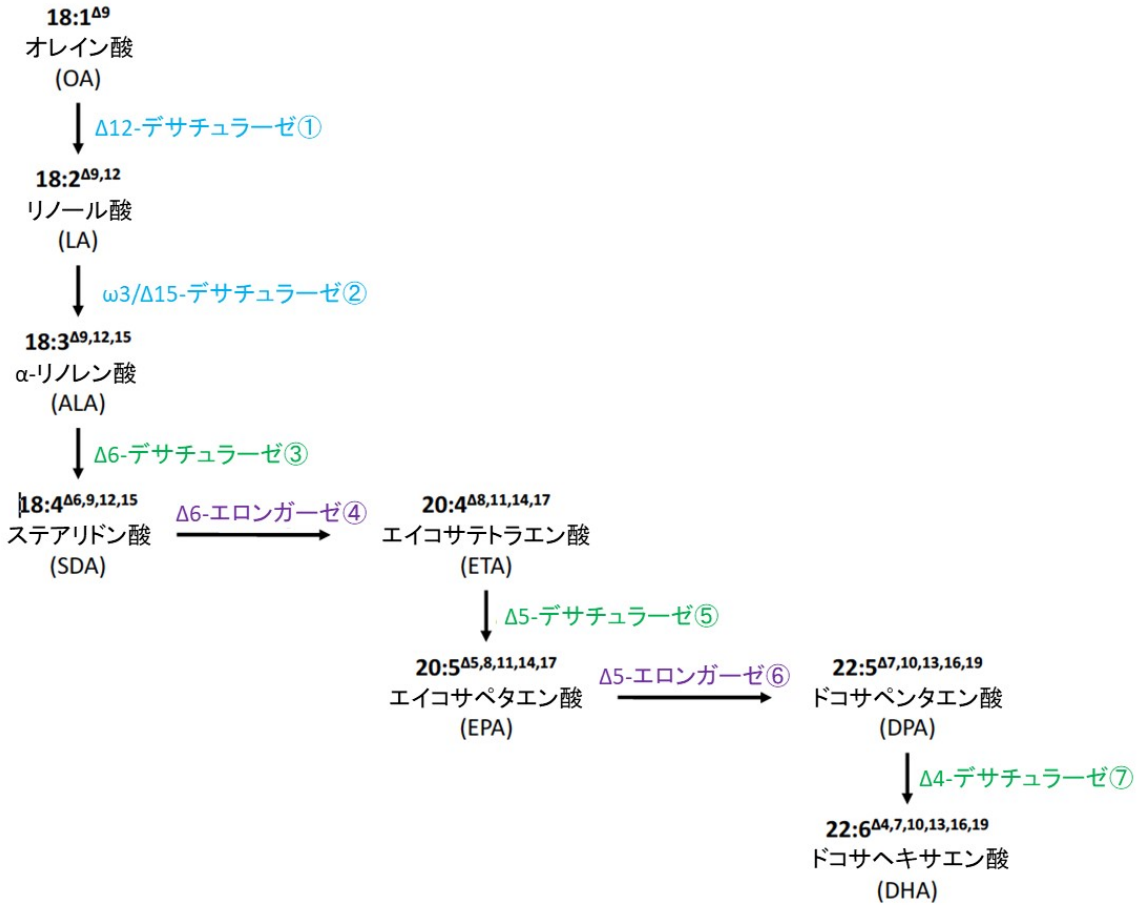


図 1　組換えセイヨウナタネに導入された脂肪酸合成経路[4]

矢印は、本組換えセイヨウナタネにおいて導入遺伝子から発現するデサチュラーゼ及びエロンガーゼが触媒する脂肪酸合成経路を示す。

各脂肪酸の数値表現 (炭素原子数及び二重結合数からなる記載) の上付き文字は二重結合の位置を示している。

[4] 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。

PAT 蛋白質

本組換えセイヨウナタネには、*S. 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 (OECD, 2002)。

除草剤グルホシネートは、その活性成分であるL-グルホシネートがグルタミン合成酵素活性を阻害することにより、植物体内にアンモニアを蓄積させることで植物を枯死させる。本組換えセイヨウナタネから産生されるPAT蛋白質はL-グルホシネートをアセチル化し、除草活性のないN-アセチルグルホシネートに変換することで、植物体にグルホシネートに対する耐性を付与する。

なお、同じ作用機作を示す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系統 (スタック系統は除く) は、これまでに4作物30系統 (セイヨウナタネでは4系統) (2020年9月30日時点) があり、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、我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。

本組換えセイヨウナタネで発現する 5 種類のデサチュラーゼ (Lackl-Δ12D、Picpa-ω3D、Micpu-Δ6D、Pavsa-Δ5D 及び Pavsa-Δ4D)、2 種類のエロンガーゼ (Pyrco-Δ6E 及び Pyrco-Δ5E) 並びに PAT 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、Allergen Online version 18A[5]に登録されている既知のアレルゲンとの構造相同性の有無を確認した。その結果、連続する 80 以上のアミノ酸配列について 35%以上の相同性を有する、又は連続する 8 アミノ酸の一致を有する既知のアレルゲンは認められなかった。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

本組換えセイヨウナタネでは、導入遺伝子から発現する 5 種類のデサチュラーゼ (Lackl-Δ12D、Picpa-ω3D、Micpu-Δ6D、Pavsa-Δ5D 及び Pavsa-Δ4D) 及び 2 種類のエロンガーゼ (Pyrco-Δ6E 及び Pyrco-Δ5E) により、種子内の内在性脂肪酸であるオレイン酸から DHA を最終生成物とする長鎖多価不飽和脂肪酸が

[5] The AllergenOnline version 18A: Food Allergy Research and Resource Program (http://www.allergenonline.org/) により開発・運営されるデータベースで、2,093 のアミノ酸配列が含まれる (2018 年 2 月 1 日更新)。

産生される (図 1, p17)。デサチュラーゼ及びエロンガーゼは脂肪酸合成経路においてのみ働くことが報告されている (Leonard et al., 2004; Shanklin and Cahoon, 1998)。

本組換えセイヨウナタネに導入されたデサチュラーゼ及びエロンガーゼは、図 1 (p17) に示した以外の脂肪酸の不飽和化又は伸長反応に影響を及ぼすことで意図した以外の脂肪酸組成の変化をもたらす可能性が考えられる。しかしながら、本組換えセイヨウナタネ及び本組換えセイヨウナタネと同じ組み合わせの導入遺伝子を持つシロイヌナズナ又は本組換えセイヨウナタネにおける研究において、これらの 5 種類のデサチュラーゼ及び 2 種類のエロンガーゼを導入したことにより、意図しない脂肪酸組成の変化は認められなかったことが確認されている (Petrie et al., 2012; Petrie et al., 2020)。

実際に、2015 年にオーストラリアの 8 試験地において収穫された本組換えセイヨウナタネ (T_3 世代: 図 3, p29)、対照の非組換えセイヨウナタネ及び商業品種の種子における脂肪酸含量を測定した (表 2, p22~23; 別添資料 1, Table 7, p24~26)。なお、供試サンプル数の 33%以上が定量限界以下であった脂肪酸については、統計解析から除外した[6]。

分析の結果、ミリスチン酸 (C14:0)、ステアリン酸 (C18:0)、リグノセリン酸 (C24:0) において、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差は認められなかった。

また、パルミチン酸 (C16:0)、C16:1 総量、マルガリン酸 (C17:0)、マルガロレイン酸 (C17:1)、cis-バクセン酸 (C18:1 n-7)、アラキジン酸 (C20:0)、エイコセン酸 (C20:1 n-9)、エイコサジエン酸 (C20:2 n-6) 及びベヘン酸 (C22:0) において、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間に統計学的有意差が認められたものの、商業品種又は Agriculture and Food Systems

[6]エライジン酸 (C18:1 *trans*)、C18:2 n-9、リノールエライジン酸 (C18:2 *trans*)、γ-リノレン酸 (C18:3 n-6)、ステアリドン酸 (C18:4 n-3)、C18 総量、cis-11,14,17-エイコサトリエン酸 (C20:3 n-3)、C20:3 総量、エイコサテトラエン酸 (C20:4 n-3)、C20:4 総量、EPA (C20:5 n-3)、エルカ酸 (C22:1 n-9)、C22:1 総量、C22:4 n-3、DPA (C22:5 n-3)、オズボンド酸 (C22:5 n-6) 及び C22:5 総量については、供試サンプルの 30%以上が定量下限以下であった。また、C16:1 *trans*、C16:3 n-3、C20:2 n-9、エイコサトリエン酸 (C20:3 n-6)、C20:3 n-9、アラキドン酸 (C20:4 n-6)、ドコサジエン酸 (C22:2 n-6) 及び cis-7,10,13,16-ドコサテトラエン酸 (C22:4 n-6) は全てのサンプルにおいて定量限界以下であった。

Institute (AFSI) データベース (AFSI, 2019)[7] に示される変動範囲内であった。

一方で、対照の非組換えセイヨウナタネと比較してオレイン酸 (C18:1 n-9)、C18:1 総量及び C18:2 総量、リノール酸 (C18:2 n-6) は有意に減少し、α-リノレン酸 (C18:3 n-3)、C18:3 総量及び DHA (C22:6 n-3) は有意に増加した。これらのうち、意図して産生させた DHA (C22:6 n-3) を除いた脂肪酸の平均値は、商業品種又は AFSI データベースの範囲を超えていた。これらの脂肪酸の変化は導入されたデサチュラーゼ及びエロンガーゼが図 1 (p17) に示した脂肪酸合成経路を触媒することによりもたらされたものと推察された。オレイン酸 (C18:1 n-9) 及び C18:1 総量の減少は Δ-12 デサチュラーゼの働き、リノール酸 (C18:2 n-6) 及び C18:2 総量の減少は ω3/Δ-15 デサチュラーゼの働きによるものと考えられる。また、α-リノレン酸 (C18:3 n-3) 及び C18:3 総量の増加は、ω3/Δ-15 デサチュラーゼ及び Δ-12 デサチュラーゼの働きによるものと考えられる。

なお、本組換えセイヨウナタネにおけるこれらの脂肪酸の平均値は、植物由来の食用油 (ナタネ油, トウモロコシ油、エゴマ油等) の範囲内であった (日本油脂検査協会, 2020)。また、DHA (C22:6 n-3) の平均値は多価長鎖不飽和脂肪酸を産生することが知られている魚介類の範囲内であった (文部科学省, 2015)。

なお、従来セイヨウナタネ品種では多価長鎖不飽和脂肪酸は α-リノレン酸 (C18:3 n-3) までしか産生されない (図 1, p17)。しかしながら、本試験において、対照の非組換えセイヨウナタネにおいて DHA (C22:6 n-3) が検出された (表 2, p22~23)。これは、試験地でプロットを乱塊法配置することにより栽培を行ったため、本組換えセイヨウナタネと対照の非組換えセイヨウナタネとの間に一部交雑が生じたことによるものと推察された。DHA (C22:6 n-3) の中間産物であるステアリドン酸 (C18:4 n-3)、エイコサテトラエン酸 (C20:4 n-3)、EPA (C20:5 n-3) 及び DPA (22:5 n-3) の本組換えセイヨウナタネにおける平均値はそれぞれ約 2.5%、1%、0.5%及び 1%であったが、供試サンプル数の 33%以上が定量限界以下であったため統計解析の対象外となった。これらの中間産物の脂肪酸の蓄積量が少なかったのは、導入されたデサチュラーゼ及びエロンガーゼが中間産物を効率よく DHA (C22:6 n-3) へと転換したためと考えられた。

また、本組換えセイヨウナタネにおける総トランス脂肪酸の平均値は、非組換えセイヨウナタネと比べ統計学的に有意に高く、商業品種の範囲を超えていた。本組換えセイヨウナタネにおいては、非組換えセイヨウナタネと比較して

[7] ILSI Research Foundation により作成、公開されている構成成分のデータベースで、非組換え作物から得られたデータからなる。現在 10 作物が登録されており、218 試験から得られた 1,255,816 データポイントが収載されている。なお、本データベースを作成、公開している ILSI Research Foundation は、2020 年 5 月 1 日より Agriculture and Food Systems Institute (AFSI)と改称している (https://foodsystems.org)。

二重結合が多く存在するため、それらがトランス型になる可能性が予想されたが、総脂肪酸に占めるトランス脂肪酸の割合は1%未満であった (表 2, p22~23)。さらに、セイヨウナタネの種子中に含まれ、有害物質として知られるエルシン酸 (C22:1 n-9) の値は、供試サンプルの95%が定量限界値未満であり、カノーラ品種の基準である精油中のエルシン酸含量が 2%未満であること (OECD, 2011b) を満たすものであった。本組換えセイヨウナタネにおける総脂肪酸の値は対照の非組換えセイヨウナタネと比較して有意に減少していたが、商業品種の変動範囲内であった。

以上の結果から、図 1 (p17) に示した意図した脂肪酸以外については、対照の非組換えセイヨウナタネと比較して統計学的有意差が認められない、又は統計学的有意差が認められたものの商業品種又は AFSI データベース (AFSI, 2019) に示される変動範囲内であることが確認されている (表 2, p22~23)。

なお、シロイヌナズナ (*A. thaliana*)、カラシナ (*B. juncea*)、アブラナ (*B. rapa*) 及びセイヨウナタネにおいて、脂肪酸改変に伴う脂質の減少が発芽率の低下に影響を及ぼす可能性が報告されている (Bhattacharya et al., 2015; Knutzon et al., 1992; Miquel and Browse, 1994)。

そこで、2015 年にオーストラリアの温室で収穫された本組換えセイヨウナタネ (T_3 世代: 図 3, p29) 及び対照の非組換えセイヨウナタネから収穫された種子の発芽率を、4 段階の温度において調査した。その結果、16ºC 及び 24 ºC における発芽率は、本組換えセイヨウナタネ及び対照の非組換えセイヨウナタネともに 100%であった。一方で、10 ºC 及び 32 ºC において、本組換えセイヨウナタネの発芽率は、非組換えセイヨウナタネの発芽率と比較して有意に低下していた (表 3, p24)。10 ºC における発芽率は、本組換えセイヨウナタネが 81.3%、対照の非組換えセイヨウナタネが 100%であった。また、32 ºC における発芽率は、本組換えセイヨウナタネが 86.8%、対照の非組換えセイヨウナタネが 98.3%であった (表 3, p24)。

PAT 蛋白質は、除草剤グルホシネートの活性成分である L-グルホシネートをアセチル化する反応を触媒するが、L-グルホシネートの構造類似体である L-グルタミン酸やその他の L-アミノ酸に対してアセチル基を転移することはなく、20 種のそれぞれのアミノ酸存在下においても L-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い (Wehrmann et al., 1996)。このことから、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、グルホシネート以外の化合物を代謝して宿主の代謝系への影響を及ぼすことはないと考えられる。

表 2　本組換えセイヨウナタネの種子中における脂肪酸組成[8]

分析対象	試験材料	平均値 (%)	標準偏差	測定範囲	*p*-値	商業品種の範囲	AFSIデータベースの値 (範囲) (AFSI, 2019)
C14:0 ミリスチン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.075	0.005	0.067 ~ 0.089	0.2289	0.055 ~ 0.096	0.06 (0.04 ~ 0.09)
	本組換えセイヨウナタネ	0.077	0.004	0.070 ~ 0.086			
C16:0 パルミチン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	4.310	0.110	4.093 ~ 4.582	<0.0001*	3.625 ~ 4.818	4.20 (3.55 ~ 5.70)
	本組換えセイヨウナタネ	4.503	0.086	4.368 ~ 4.692			
C16:1 総量	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.267	0.012	0.250 ~ 0.302	<0.0001*	0.214 ~ 0.335	0.25 (0.16 ~ 0.40)
	本組換えセイヨウナタネ	0.294	0.012	0.272 ~ 0.325			
C17:0 マルガリン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.047	0.005	0.042 ~ 0.055	0.0248*	0.040 ~ 0.060	0.06 (0.03 ~ 0.14)
	本組換えセイヨウナタネ	0.048	0.004	0.038 ~ 0.056			
C17:1 マルガロレイン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.059	0.004	0.050 ~ 0.068	<0.0001*	0.052 ~ 0.079	0.08 (0.04 ~ 0.16)
	本組換えセイヨウナタネ	0.044	0.003	0.042 ~ 0.054			
C18:0 ステアリン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	2.212	0.082	2.050 ~ 2.340	0.0868	1.410 ~ 2.260	2.05 (1.50 ~ 2.77)
	本組換えセイヨウナタネ	2.151	0.078	2.020 ~ 2.460			
C18:1 n-7 バクセン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	2.678	0.079	2.503 ~ 2.872	<0.0001*	2.363 ~ 3.100	NR
	本組換えセイヨウナタネ	2.870	0.096	2.701 ~ 3.079			
C18:1 n-9 オレイン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	57.069	1.477	54.591 ~ 59.906	<0.0001*	49.157 ~ 72.679	62.94 (53.19 ~ 69.45)
	本組換えセイヨウナタネ	42.031	2.429	37.231 ~ 47.382			
C18:1 総量	対照の非組換えセイヨウナタネ	59.823	1.441	57.404 ~ 62.601	<0.0001*	51.934 ~ 74.358	NR
	本組換えセイヨウナタネ	45.005	2.379	40.443 ~ 50.278			
C18:2 n-6 リノール酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	19.341	0.827	16.600 ~ 20.580	<0.0001*	11.592 ~ 23.265	19.22 (14.13 ~ 25.68)
	本組換えセイヨウナタネ	8.502	0.237	8.037 ~ 9.075			
C18:2 総量	対照の非組換えセイヨウナタネ	19.441	0.825	16.737 ~ 20.680	<0.0001*	11.706 ~ 23.361	NR
	本組換えセイヨウナタネ	8.762	0.232	8.367 ~ 9.328			
C18:3 n-3 α-リノレン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	11.185	0.743	9.960 ~ 12.620	<0.0001*	3.905 ~ 12.083	8.60 (5.79 ~ 12.09)
	本組換えセイヨウナタネ	21.040	1.081	18.810 ~ 22.870			

[8] 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。

表 2　本組換えセイヨウナタネの種子中における脂肪酸組成 (続き)

分析対象	試験材料	平均値 (%)	標準偏差	測定範囲	*p*-値	商業品種の範囲	AFSIデータベースの値 (範囲) (AFSI, 2019)
C18:3 総量	対照の非組換えセイヨウナタネ	11.278	0.767	10.020 ~ 12.730	<0.0001*	3.930 ~ 12.192	NR
	本組換えセイヨウナタネ	22.207	1.141	19.810 ~ 24.190			
C20:0 アラキジン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.475	0.012	0.455 ~ 0.500	<0.0001*	0.422 ~ 0.730	0.64 (0.49 ~ 0.86)
	本組換えセイヨウナタネ	0.589	0.012	0.568 ~ 0.624			
C20:1 n-9 エイコセン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.951	0.025	0.903 ~ 1.040	<0.0001*	0.878 ~ 1.590	1.28 (1.00 ~ 1.82)
	本組換えセイヨウナタネ	1.185	0.032	1.130 ~ 1.250			
C20:2 n-6 エイコサジエン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.060	0.005	0.049 ~ 0.073	<0.0001*	0.050 ~ 0.190	0.08 (0.04 ~ 0.86)
	本組換えセイヨウナタネ	0.091	0.004	0.084 ~ 0.100			
C22:0 ベヘン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.189	0.007	0.176 ~ 0.204	<0.0001*	0.180 ~ 0.387	0.30 (0.19 ~ 0.46)
	本組換えセイヨウナタネ	0.253	0.007	0.242 ~ 0.273			
C22:6 n-3 ドコサヘキサエン酸 (DHA)	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.153	0.284	0.034 ~ 1.550	<0.0001*	0.030 ~ 1.338	NR
	本組換えセイヨウナタネ	8.376	0.810	6.500 ~ 10.300			
C24:0 リグノセリン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.100	0.006	0.089 ~ 0.111	0.1906	0.105 ~ 0.207	0.18 (0.09 ~ 0.26)
	本組換えセイヨウナタネ	0.094	0.005	0.084 ~ 0.104			
C24:1 n-9 ネルボン酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.096	0.007	0.084 ~ 0.110	<0.0001*	0.102~ 0.166	0.14 (0.08 ~ 0.40)
	本組換えセイヨウナタネ	0.059	0.004	0.050 ~ 0.069			
総脂肪酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	29.906	1.950	26.267 ~ 34.073	<0.0001*	23.937 ~ 35.778	42.2 (24.6-55.2 %DW)
	本組換えセイヨウナタネ	27.265	1.883	22.229 ~ 31.021			
総トランス脂肪酸	対照の非組換えセイヨウナタネ	0.107	0.032	0.077 ~ 0.253	<0.0001*	0.046 ~ 0.232	NR
	本組換えセイヨウナタネ	0.839	0.050	0.727 ~ 0.933			

各脂肪酸の平均値は、総脂肪酸に占める百分率で示した。また、総脂肪酸の平均値については、種子の乾燥重に占める百分率で示した。
オーストラリアの8カ所のほ場から得られたサンプルについて分析を行い、線形混合モデルを用いた分散分析により統計処理を行った (n=5)。
*: 有意差あり (p<0.05) NA：適用なし ND：該当なし。
NA: 商業品種との間では統計処理は行わなかった。

表 3　本組換えセイヨウナタネ及び対照の非組換えセイヨウナタネにおける収穫種子の発芽率 [9]

供試サンプル	発芽温度			
	10 ºC	16 ºC	24 ºC	32 ºC
対照の非組換えセイヨウナタネ	100±0.0[a]	100±0.0[a]	100±0.0[a]	98.3+2.5[a]
本組換えセイヨウナタネ	81.3±6.1[b]	100±0.0[a]	100±0.0[a]	86.8+6.3[b]

Holm-Sidak 法により統計処理を行った (n=3)。
異なる文字間に有意差あり ($p<0.05$)。

(2) ベクターに関する情報

イ　名称及び由来

本組換えセイヨウナタネの作出に用いたプラスミドは、バイナリーベクター pORE03 (Coutu et al., 2007) 由来の pJP3416 を基に構築された pJP3416_GA7-ModB である (図 2, p26)。

ロ　特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

本組換えセイヨウナタネの作出に用いられた pJP3416_GA7-ModB の塩基数は 31,564 bp であり、T-DNA 領域の塩基数は 23,512 bp である。T-DNA 領域の塩基配列は別添資料 2 (Supplemental File 3) 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

pJP3416_GA7-ModB は、*E. coli* 及びアグロバクテリウムにおける構築ベクターの選抜マーカー遺伝子としてカナマイシンに耐性を付与する *nptIII* 遺伝子が T-DNA 領域外に存在している。

[9] 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

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

本ベクターの感染性は知られていない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

宿主内に移入されたpJP3416_GA7-ModBの構成要素は表 1 (p11~14) 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 (p26) に示した。

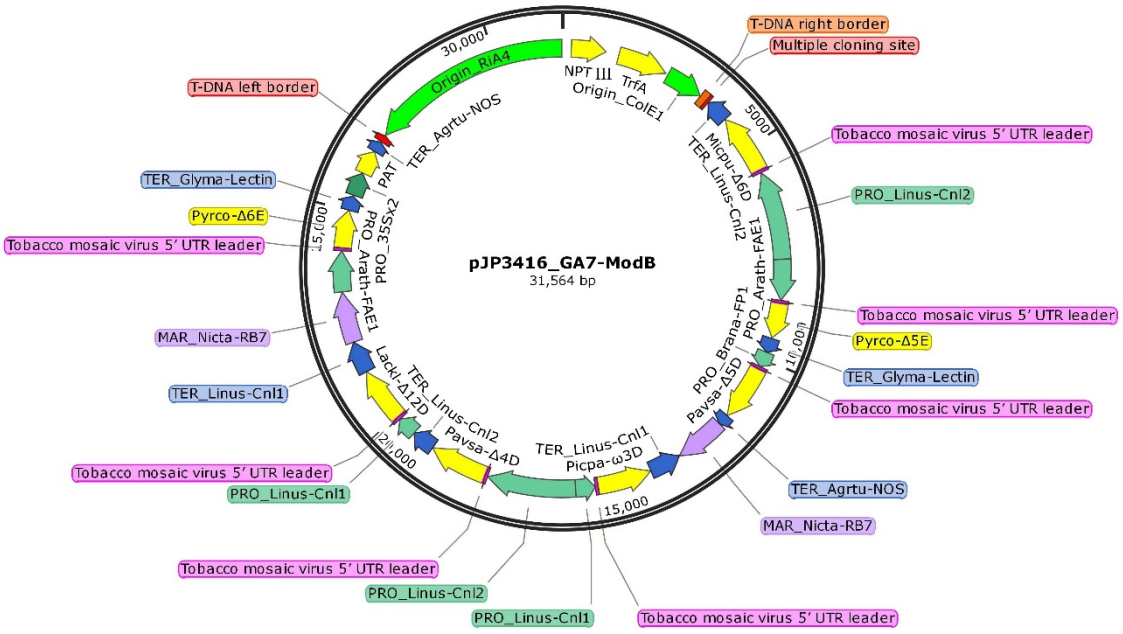


図 2　本組換えセイヨウナタネの作出に用いた pJP3416_GA7-ModB のプラスミドマップ [10]

T-DNA 領域は, *Micpu-Δ6D* 遺伝子、*Pyrco-Δ5E* 遺伝子、*Pavsa-Δ5D* 遺伝子、*Picpa-ω3D* 遺伝子、*Pavsa-Δ4D* 遺伝子、*Lackl-Δ12D* 遺伝子、*Pyrco-Δ6E* 遺伝子及び *pat* 遺伝子発現カセットを含む右側境界配列 (T-DNA right border) から左側境界配列 (T-DNA left border) の間の配列である。

[10] 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。

ロ　宿主内に移入された核酸の移入方法

pJP3416_GA7-ModB 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により、従来セイヨウナタネ品種 AV Jade の胚軸部分へ導入した。

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

従来セイヨウナタネ品種 AV Jade の胚軸を pJP3416_GA7-ModB を含む *Agrobacterium tumefaciens* AGL1 株と共置培養した後、セフォタキシム、チカルシリン・クラブラン酸及びグルホシネートを含む培地により形質転換された細胞の選抜を行った。

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

セフォタキシム、チカルシリン・クラブラン酸及びグルホシネートを添加した培地により、形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体を除去した。さらに、本組換えセイヨウナタネの T_3 世代及び T_4 世代の種子において、外側骨格領域を含む pJP3416_GA7-ModB の配列に対するベクター配列を標的とした PCR 及び次世代シークエンス (NGS) を用いた塩基配列解析の結果、本組換えセイヨウナタネには pJP3416_GA7-ModB の外側骨格領域は存在しなかった (別添資料 2 の Figure 6, p51)。このことから、本組換えセイヨウナタネには形質転換に用いられたアグロバクテリウム菌体は残存しないことが確認された。なお、ベクター配列を標的とした PCR 及び次世代シークエンス (NGS) を用いた塩基配列解析の詳細については、第一の 2-(4)-② (p30) に記載した。

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

形質転換後の胚軸において、除草剤グルホシネートを含む培地で選抜を繰り返し、カルス及び不定芽を誘導した。さらに、除草剤グルホシネート選抜下で不定芽の伸長と発根誘導し、T_0世代の植物体を得た。T_0世代から自殖により得

られたT_1世代において、ddPCR (Droplet Digital PCR) 法により、導入遺伝子をホモ接合体で有する個体を選抜した。その後、自殖を繰り返し、各試験に用いた世代の植物体を得た。

本組換えセイヨウナタネの育成図を図 3 (p29) に示した。なお、本申請の対象はT_5世代及びT_5世代から派生する全ての交雑後代系統である。

【社外秘につき非開示】

図 3　本組換えセイヨウナタネの育成図

(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 移入した核酸の複製物が存在する場所

次項のベクター標的シークエンス解析、部位特異的 PCR 及び塩基配列解析により、本組換えセイヨウナタネにおいて、2 つの異なる染色体のそれぞれ 1 ヵ所に一部欠損を持つ 1 コピーの T-DNA 領域及び逆位反復した 2 つの T-DNA 領域 (図 4, p33 及び図 5, p34)

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

本組換えセイヨウナタネにおける導入遺伝子のコピー数及び配列同一性、ベクター由来の非意図的な配列の有無、並びに導入遺伝子の複数世代における伝達の安定性を調べるために、次世代シークエンス (NGS) を用いたベクター標的シークエンス解析及び導入遺伝子領域の塩基配列解析を実施した (別添資料 2)。

<u>次世代シークエンス (NGS) を用いたベクター標的シークエンス解析</u>

本組換えセイヨウナタネT_3世代から2系統、T_4世代から6系統、合計8系統の種子からDNAを抽出し、ランダムに断片化し、両端に付加したアダプターを利用してPCR増幅した。次に、pJP3416_GA7-ModBを網羅する78種のベクター特異的プライマーを用いて、Nested PCRによりベクター配列を含むDNA断片を増幅した。その後、増幅したPCR産物の塩基配列を次世代シークエンサー (Illumina® MiSeq™) を用いて解析した。

解析したリード配列のうち、97.5~98.9%はpJP3416_GA7-ModBの配列と相同性を有した。一方で、残る1.1~2.5%はpJP3416_GA7-ModBとセイヨウナタネゲノムの両方と相同性を持つ配列であった (別添資料 2、p19)。これらのリード配列のうち、T-DNA領域の右側境界配列又は左側境界配列とセイヨウナタネゲノム配列と相同性を示すものを接合配列とした。以下、特定された4つの接合配列 (接合配列1、2、3及び4とする) について記載する。

接合配列1は142 bpのT-DNA領域の右側境界配列及びセイヨウナタネの内在性ゲノム配列 (1,207 bp) から構成され、接合配列2は140 bpのT-DNA領域の右

側境界配列及びセイヨウナタネの内在性ゲノム配列 (986 bp) から構成されていた。各接合配列で検出されたセイヨウナタネの内在性ゲノム配列をセイヨウナタネのリファレンス配列 (Chalhoub et al., 2014) と比較したところ、接合配列１はA05染色体の17,268,321 – 17,269,789番目の配列と96.5%の相同性を示し、接合配列2は同じくA05染色体の17,269,810 – 17,270,793番目の配列と98.9%の相同性を示した。一方で、接合配列3はT-DNA領域中の左側境界配列が逆位反復した配列であった (別添資料 2、p19~20)。

セイヨウナタネの内在性配列に隣接するT-DNA領域由来の配列が共に右側境界配列由来であったこと、及びT-DNA領域中の左側境界配列が逆位反復した接合配列が検出されたことから、本組換えセイヨウナタネには2コピーのT-DNA領域が、逆位反復した形で導入されていることが示唆された。

また、接合配列4は、T-DNA領域の右側境界配列に由来する144 bpの配列及び1,130 bpのセイヨウナタネの内在性ゲノム配列から構成されていた。

接合配列で検出されたセイヨウナタネの内在性ゲノム配列をセイヨウナタネ (Chalhoub et al., 2014) 及びアブラナ (*B. rapa*) (Wang et al., 2011) のリファレンス配列と比較したところ、セイヨウナタネのA02染色体 (chrUn_random) の118,589,042 – 118,591,171番目と100%の相同性を示し、アブラナ (*B. rapa*) のA02染色体の18,569,331 – 18,570,460番目の配列と99.5%の相同性を示した (別添資料 2、p19~20)。

T-DNA領域中の左側境界配列を含む接合配列が得られなかったことから、本組換えセイヨウナタネのA02染色体には一部が欠失したT-DNA領域が導入されていることが示唆された。

なお、本組換えセイヨウナタネから得られたDNA断片のうち、導入用プラスミドと相同性があるDNA断片を選び、外骨格領域と相同性がある配列の有無を確認した結果、外骨格領域とは相同性が認められず、本組換えセイヨウナタネに外骨格領域は検出されなかった (別添資料 2のFigure 6, p51)。

<u>導入遺伝子領域の塩基配列解析</u>

A02染色体に導入された遺伝子のみを有する戻し交配系統 (BC_1F_3世代) 及びA05染色体に導入された遺伝子のみを有する戻し交配系統 (BC_1F_2及びBC_1F_3世代) (図 3, p29) からDNAを抽出し、次世代シークエンサー (Illumina® HiSeq 3000™ 及びMiSeq®) により全ゲノム解析を行った (別添資料 2, p20~22)。なお、

本解析において、シークエンス深度は平均で30であった。

塩基配列解析の結果、本組換えセイヨウナタネのA02染色体には、*Micpu-Δ6D*遺伝子、*Pyrco-Δ5E*遺伝子、*Pavsa-Δ5D*遺伝子及び*Picpa-ω3D*遺伝子の完全な形の遺伝子発現カセット及び*Micpu-Δ6D*遺伝子発現カセットのターミネーターである*Linus-Cnl2*の一部 (152 bp) が導入されていることが確認された (図 4, p33; 別添資料 2のTable 3)。

また、A05染色体には、2コピーの完全な形のT-DNA領域が逆位反復の形で導入されていることが確認された (図 5, p34; 別添資料 2のTable 4)。

さらに、導入遺伝子及びセイヨウナタネ内在性の近傍配列をカバーする 20 種のプライマーを用いた部位特異的 PCR 産物の塩基配列解析からも、次世代シークエンサーを用いたものと同様の結果が確認されている (別添資料 2, p20~22)。

さらに、本組換えセイヨウナタネの導入遺伝子の複数世代 (T_3、T_4、T_5、T_6 及び T_7 世代) における安定性をゲノム DNA との導入遺伝子の境界領域を増幅する4つのPCR増幅系 (EAD02DJ517、EA05DJ380、EA02UJ284及びEA05UJ200) 及びサザンブロット分析により確認したところ、各世代において、本組換えセイヨウナタネの導入遺伝子が、安定して後代に遺伝していることが確認された (別添資料 2; Figure 9, p58 及び別添資料 3; Figure 3, p12)。

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

上述したように、本組換えセイヨウナタネの2番染色体には一部が欠失した1コピーのT-DNA領域が挿入されていることが確認された。本組換えセイヨウナタネには、*Micpu-Δ6D*遺伝子、*Pyrco-Δ5E*遺伝子、*Pavsa-Δ5D*遺伝子及び*Picpa-ω3D*遺伝子の完全な形の遺伝子発現カセット及び*Pavsa-Δ4D*遺伝子発現カセットのプロモーターである*Linus-Cnl2*の一部 (152 bp) が導入されていることが確認されている (図 4, p33)。

また、5番染色体には、T-DNA領域が逆位反復で2コピー導入されていることが確認されている (図 5, p34)。

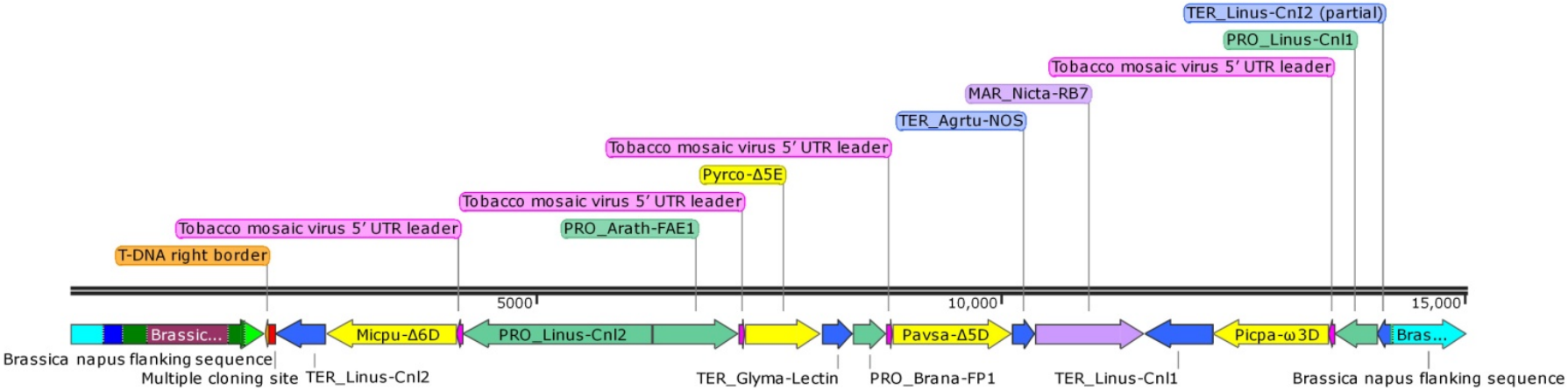
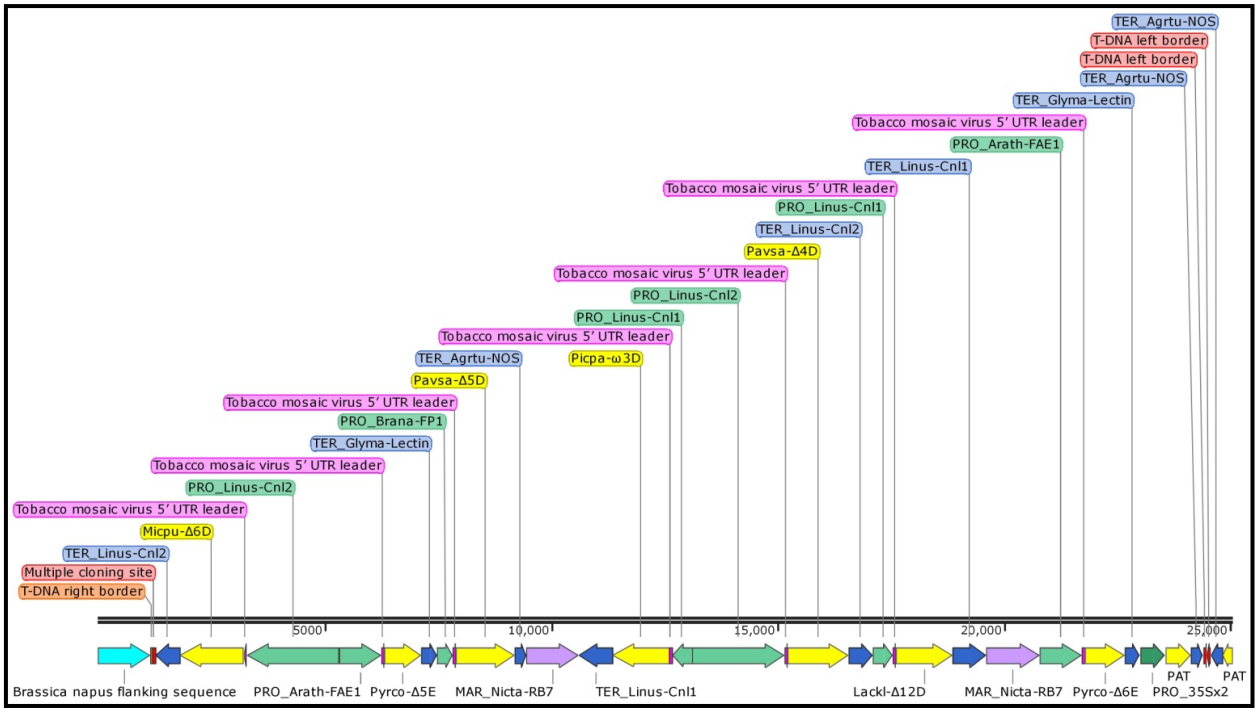


図 4　本組換えセイヨウナタネの A02 染色体に導入された導入遺伝子とその近傍配列の模式図 [11]

5

図は本組換えセイヨウナタネ中の構成要素の大まかな位置と配列を示している。
本組換えセイヨウナタネの A02 番染色体には T-DNA 領域のうち、*Micpu-Δ6D* 遺伝子、*Pyrco-Δ5E* 遺伝子、*Pavsa-Δ5D* 遺伝子及び *Picpa-ω3D* 遺伝子の完全な形の遺伝子発現カセット及び *Pavsa-Δ4D* 遺伝子発現カセットのプロモーターである *Linus-Cnl2* の一部 (152 bp) が導入されている。

[11] 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。



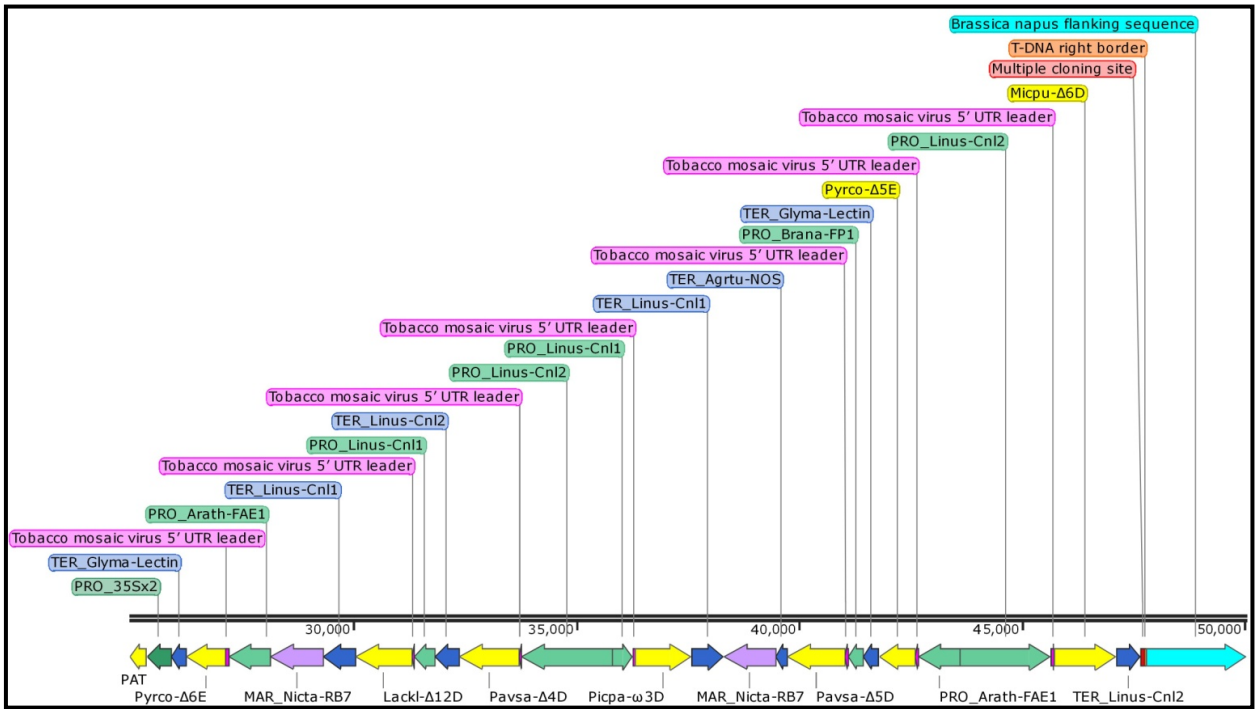


図 5　本組換えセイヨウナタネの A05 染色体に導入された導入遺伝子とその近傍配列の模式図 [12]

図の上段は 5'末端側、下段は 3'末端側を示す。図は本組換えセイヨウナタネ中の構成要素の大まかな位置と配列を示している。

本組換えセイヨウナタネの A05 染色体には、T-DNA 領域が逆位反復で 2 コピー導入されている。

[12] 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。

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

2016 年にオーストラリアの 3 試験地において栽培した本組換えセイヨウナタネ (T_5 世代) の異なる生育段階及び組織における導入遺伝子から発現する各蛋白質の発現の有無を Liquid Chromatography-Multiple Reaction Monitoring-Mass Spectrometry (LC-MRM-MS)[13] により確認した (Colgrave et al., 2019)。その結果、種子特異的プロモーターを使用した 7 種類のデサチュラーゼ及びエロンガーゼの発現は、成熟種子及び未熟種子おいて検出された (表 4, p36)。

Pyrco-Δ6E 蛋白質の発現量は、本組換えセイヨウナタネにおいて新たに発現する 7 つのデサチュラーゼ及びエロンガーゼの中で最も低く、成熟種子では定量限界以下であった。一方、未熟種子では発現が確認された (230 ~ 480 ng/mg 総蛋白質)。Pavsa-Δ4D 蛋白質は、7 つのデサチュラーゼ及びエロンガーゼの中で最も発現量が高く、成熟種子において 1,340 ~ 1,550ng/mg 総蛋白質、未熟種子において 3,200 ~ 5,600ng/mg 総蛋白質であった。

一方で、導入遺伝子から発現するデサチュラーゼ及びエロンガーゼは胚特異的プロモーターで制御されていることから、分析を行った種子以外の組織・生育段階 (5 葉期の植物体、第 3 節伸長期の植物体、50%開花期の花、根及び植物体) では、種子で最も発現量が高かった Pavsa-Δ4D 蛋白質においても検出限界以下であった (Colgrave et al., 2019)。

また、PAT 蛋白質の発現量は、未熟種子及び成熟種子を含むいずれの組織、生育段階においても発現が確認された (表 4, p36 及び表 5, p36; Colgrave et al. (2019))。

さらに、2013 年から 2016 年にかけてオーストラリアの温室で栽培された本組換えセイヨウナタネ (T_3 ~ T_7 世代) の種子を用いて、ガスクロマトグラフ法により DHA 含量を測定した。その結果、本組換えセイヨウナタネの各世代おいて DHA が複数世代にわたり安定的に産生されていることが確認された (別添資料 4 の Table 11, p15)。

[13] 質量分析による蛋白質定量法の 1 つで、選択的にペプチドを定量することができる。本組換えセイヨウナタネ中で産生されるデサチュラーゼ及びエロンガーゼは膜蛋白質であり、ELISA 法等で用いられる特異的抗体の作製が困難であることから、本手法を用いた。なお、本手法の精度については Colgrave et al. (2019) よって確認されている。

表 4　オーストラリアの 3 地点で栽培した本組換えセイヨウナタネにおける導入した各蛋白質の発現量 (Colgrave et al. 2019 より抜粋)[14]

発現蛋白質	成熟種子 (ng/mg 総蛋白質 [a])			未熟種子 (ng/mg 総蛋白質 [a])		
	栽培地 1	栽培地 2	栽培地 3	栽培地 1	栽培地 2	栽培地 3
Lackl-Δ12D	412 ± 95	476 ± 60	406 ± 81	670 ± 610	1,050 ± 170	850 ± 120
Picpa-ω3D	483 ± 94	430 ± 30	351 ± 92	650 ± 530	1,057 ± 28	635.1 ± 9.1
Micpu-Δ6D	190 ± 91	220 ± 140	210 ± 180	470 ± 370	870 ± 300	794 ± 95
Pyrco-Δ6E	＜LOD	＜LOD	＜LOD	230 ± 120	430 ± 220	480 ± 50
Pavsa-Δ5D	742 ± 92	930 ± 290	760 ± 480	940 ± 750	2,030 ± 270	1,900 ± 200
Pyrco-Δ5E	409 ± 78	500 ± 270	440 ± 320	670 ± 490	1,310 ± 390	1,290 ± 150
Pavsa-Δ4D	1,550 ± 130	1,430 ± 300	1,340 ± 520	3,200 ± 2,700	5,600 ± 1,300	5,560 ± 920
PAT	23.1 ± 4.5	33 ± 11	29.2 ± 5.5	330 ± 140	390 ± 210	605 ± 76

[a]：蛋白質の発現量は総蛋白質1mg当たりのngで表されている。平均値、標準偏差は採取されたそれぞれのサンプルから計算されている (栽培地3の未熟種子はn=2、それ以外はn=3)
＜LOD: 定量限界以下

表 5　本組換えセイヨウナタネにおける PAT 蛋白質の発現量 (Colgrave et al. 2019 より改変)[15]

生育段階	5 葉期	第 3 節伸長期		50%開花期	
組織	全植物体	全植物体	根	花	その他の植物組織
本組換えセイヨウナタネ	46 ± 15	107 ± 66	173 ± 33	310 ± 180	130 ± 92
対照の非組換えセイヨウナタネ	＜LOD	＜LOD	＜LOD	＜LOD	＜LOD

*蛋白質の発現量は総蛋白質1mg当たりのngで表されている。平均値、標準偏差は採取されたそれぞれのサンプルから計算されている (n=3)
＜LOD: 定量限界以下

[14] 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。
[15] 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 ウイルス感染その他経路を経由して移入された核酸が野生動植物に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無および程度

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

本組換えセイヨウナタネは、2 カ所の異なる遺伝子座に導入されたそれぞれの導入遺伝子に特異的なプライマーセットと TaqMan®プローブを用いた real-time PCR 法により検出及び識別が可能である (別添資料 5 別添資料 4)。

本法による導入遺伝子の検出限界は、ゲノム量比で0.01%である。また、本法の信頼性はNuseed社及びeBDI社において、施設間互換性が確保されていることが確認されている (別添資料 5のSection VII. Page 36~58)。

(6) 宿主又は宿主の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

本組換えセイヨウナタネは、導入した 5 種類のデサチュラーゼ及び 2 種類のエロンガーゼの発現により種子内の内在性脂肪酸であるオレイン酸から DHA を最終生成物とする長鎖多価不飽和脂肪酸を産生する。また、*pat* 遺伝子から発現する PAT 蛋白質により、除草剤グルホシネートへの耐性が付与されている。

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

本組換えセイヨウナタネの宿主は非組換えセイヨウナタネ品種 AV Jade であり、導入遺伝子は *Lackl-Δ12D* 遺伝子、*Picpa-ω3D* 遺伝子、*Micpu-Δ6D* 遺伝子、*Pyrco-Δ6E* 遺伝子、*Pavsa-Δ5D* 遺伝子、*Pyrco-Δ5E* 遺伝子、*Pavsa-Δ4D* 遺伝子及び *pat* 遺伝子である。

宿主であるセイヨウナタネには、交雑可能な近縁種である *B. rapa*、*B. juncea*、*B. nigra*、*R. raphanistrum*、*H. incana* 及び *S. arvensis* が我が国に存在するが、交雑可能な在来の近縁野生種は存在しない。

第一の 2-(1)-ロ-③ (p18~24) に記載したように、本組換えセイヨウナタネは、上述した 5 種のデサチュラーゼ及び 2 種のエロンガーゼにより、種子内で DHA を産生する。デサチュラーゼ及びエロンガーゼは脂肪酸合成経路にのみに働くことから、これらの蛋白質が脂肪酸合成経路を除く宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられた。また、PAT 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ないと考えられた。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネの生理学的又は生態学的特性に関するデータを用いずに隔離ほ場で生物多様性影響評価を行うことは可能であると判断した。なお、本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場試験では、以下の項目を調査する予定である。

①形態及び生育の特性、②成体の越夏性 (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

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

隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

(2)　　使用等の方法

所在地：茨城県つくば市天王台 1 丁目 1 番 1 号
名称：筑波大学　T-PIRC 産官学・共同研究部門 (インダストリアルゾーン)・模擬的環境試験圃場Ⅴ (隔離ほ場)

使用期間：承認日から 2026 年 3 月 31 日まで

1　隔離ほ場の施設

(1) 部外者の立入り防止のため、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。

(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具及び靴等に付着した土、本組換えセイヨウナタネの残渣等を洗浄によって除去するための洗浄設備を設置しているとともに、本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場の外への流出を防止するために、排水系統には沈殿槽及び網等を設置している。

(4) 本組換えセイヨウナタネの開花期には試験区を寒冷紗などで覆うことにより花粉の飛散を防止する。また、播種時及び成熟期には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。

2　隔離ほ場での作業要領

(1) 本組換えセイヨウナタネ及び比較対象のセイヨウナタネ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
(2) 本組換えセイヨウナタネを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、本組換えセイヨウナタネ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、本組換えセイヨウナタネ及び比較対照の非組換えセイヨウナタネの栽培終了後、種子を除く植物体は隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。種子はオートクレーブにより不活化する。
(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具及び靴等は、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セイヨウナタネが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持間及び管理を行う。
(6) (1) から (5) に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
(7) 別に定めるモニタリング計画書に基づき、モニタリングを実施する。
(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には、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対応する。

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

別に定めるモニタリング計画書に基づきモニタリングを実施する。

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

緊急措置計画書を参照

(5) 実験室等での使用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

―

(6) 国外における使用等に関する情報

本組換えセイヨウナタネの国外おける申請状況は、表 6 (p40)のとおりである。

表 6　本組換えセイヨウナタネの海外における申請状況 (2021 年 1 月現在)[16]

機関	安全性審査の種類	申請・承認時期
オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関 (FSANZ)	食品	2017年12月承認
オーストラリア遺伝子技術規制局 (OGTR)	飼料・環境	2018年2月承認
米国農務省 (USDA)	環境	2018年8月承認
米国食品医薬品庁 (FDA)	食品・飼料	審査中
カナダ保健省 (Health Canada)	食品	2020年7月承認
カナダ食品検査庁 (CFIA)	環境・飼料	2020年7月承認

[16] 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。

なお、本組換えセイヨウナタネの我が国における申請状況は以下のとおりである (表 7, p41)。

表 7　本組換えセイヨウナタネの我が国における申請状況 (2021 年 1 月現在)[17]

機関	内容	申請・承認時期
厚生労働省	食品[18]	【申請予定】
農林水産省	飼料[19]	2020年2月申請
農林水産省・環境省	環境 (第一種使用規程: 隔離ほ場)[20]	2020年12月申請

[17] 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。
[18] 食品衛生法に基づく。
[19] 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。
[20] 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。

第二　項目ごとの生物多様性影響の評価

第一の 2-(6)-② (p37~38) に記載したとおり、本組換えセイヨウナタネの宿主の特性と導入した遺伝子の特性を考慮し、本組換えセイヨウナタネ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。

1　競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

セイヨウナタネは、路傍や線路端のような定期的に人の手が加えられる地域では生育し得ることが知られているものの、自然の未撹乱の土地に侵入して生態系に影響を与えるような植物ではなく (OECD, 1997)、自然条件下では多年生草本と競合し自生化することは困難であるとされている (OECD, 1997)。

我が国においては、セイヨウナタネの北海道や本州の河原及び線路沿いでの群生 (清水ら, 2001) や、主なセイヨウナタネの輸入港及びその周辺での生育が報告されている (Aono et al., 2011; Aono et al., 2006; Nishizawa et al., 2009; Nishizawa et al., 2010; Saji et al., 2005)。また、我が国のセイヨウナタネの輸入港周辺において、2006 年度から農林水産省により遺伝子組換えセイヨウナタネの生育実態調査が行われており、遺伝子組換えセイヨウナタネの生育は、陸揚げ地点から一定範囲の道路沿いに限られ、年度を超えての連続性もないことから、主に輸送中にこぼれ落ちた種子に由来し、その生育範囲は拡大していないことが報告されている (農林水産省, 2020a)。

また、英国の高速道路沿い 3,658 ヵ所において 2 年間にわたりセイヨウナタネのモニタリング調査を行った結果から、運搬途中のこぼれ落ちによる種子の供給がなければ道端に生息するセイヨウナタネ集団の維持が困難であることが示され、人為的撹乱のない自然条件下に生息するセイヨウナタネは 2~4 年で消失することが示唆されている (Crawley and Brown, 1995)。

以上のことから、セイヨウナタネは定期的に人の手が加えられる地域では生育し得るものの、人の手がほとんど加えられない地域では競合における優位性は低く、侵略的外来種のように優占群落を作る可能性は低いと判断された。

第一の 2-(1)-ロ-③ (p18~24) に記載したように、本組換えセイヨウナタネでは、デサチュラーゼ及びエロンガーゼの発現により DHA が産生され、種子中における脂肪酸組成が変化している。しかしながら、デサチュラーゼ及びエロ

ンガーゼは脂肪酸合成経路においてのみ働くことが報告されていることから(Leonard et al., 2004; Shanklin and Cahoon, 1998)、脂肪酸組成の変化以外に、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられた。さらに、PAT 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ないと考えられた。

なお、シロイヌナズナ *(A. thaliana)*、カラシナ (*B. juncea*)、アブラナ (*B. rapa*) 及びセイヨウナタネにおいて、脂肪酸量の増減が発芽率の低下に影響するとの報告がある (Bhattacharya et al., 2015; Knutzon et al., 1992; Miquel and Browse, 1994)。低温 (10℃) 及び高温 (32℃) 条件において、本組換えセイヨウナタネの収穫種子の発芽率の低下が認められたものの、発芽率の低下が競合における優位性を高めることは考えにくい。

よって、導入遺伝子である *Lackl-Δ12D* 遺伝子、*Picpa-ω3D* 遺伝子、*Micpu-Δ6D* 遺伝子、*Pyrco-Δ6E* 遺伝子、*Pavsa-Δ5D* 遺伝子、*Pyrco-Δ5E* 遺伝子、*Pavsa-Δ4D* 遺伝子及び *pat* 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長鎖多価不飽和脂肪酸含有及び除草剤グルホシネート耐性以外に影響を及ぼす可能性は考えにくい。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネの競合における優位性は非組換えセイヨウナタネと相違はないと考えられ、本組換えセイヨウナタネが限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場で使用されることから、競合における優位性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

―

(3) 影響の生じやすさの評価

―

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、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、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ず

るおそれはないと判断された。

2　有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

セイヨウナタネの種子中には、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 (OGTR, 2008)。しかし、本組換えセイヨウナタネの宿主である AV Jade は品種改良により低エルシン酸かつ低グルコシノレートとなったカノーラ品種である。

本組換えセイヨウナタネ中では 5 種のデサチュラーゼ、2 種のエロンガーゼ及び PAT 蛋白質が発現しているが、これらの蛋白質が有害物質であるとの報告はなく、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を持たないことが確認されている (第一の 2- (1)-ロ-②, p18)。

また、第一の 2- (1)-ロ-③ (p18~24) に示したように、デサチュラーゼ及びエロンガーゼは脂肪酸合成経路においてのみ働くことが知られていることから (Leonard et al., 2004; Shanklin and Cahoon, 1998)、脂肪酸合成経路以外の宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。さらに、PAT 蛋白質は高い基質特異性を有し、基質であるグルホシネート以外の化合物にアセチル基を転移することは考えられないことから、植物体内の代謝系に影響を及ぼして新たに有害物質を産生することはないと考えられる。

そこで、本組換えセイヨウナタネにおいて新たに産生した脂肪酸及び影響を受けた既存の脂肪酸に起因する影響について以下に検討を行った。

EPA 及び DHA を含むオメガ 3 系脂肪酸は、多くの動物種において構造上、機能上重要な目的を果たしており、視覚、神経系機能、細胞シグナル伝達プロセスなどの一連の生理学的プロセスに関与していることが報告されている (Calder, 2014; Swanson et al., 2012; Twining et al., 2016b)。陸生生物は EPA や DHA を餌として直接摂取するか、前駆体であるα-リノレン酸として摂取したのちに EPA や DHA へと変換することで利用しており、体内にはα-リノレン酸が含まれることが知られている (Twining et al., 2016a; Twining et al., 2016b)。

セイヨウナタネを食害することが知られているコウチュウ目、カメムシ目、バッタ目及びチョウ目昆虫は多くの脂肪酸を摂取又は変換して利用することが報告されており、鳥類やげっ歯目はこれらの昆虫種から脂肪酸を摂取することが知られている (Fontaneto et al., 2011; Stanley-Samuelson et al., 1988; Turunen, 1974; Tzompa-Sosa et al., 2014)。例えば、リノール酸 (C18:2n6)、α-リノレン酸

(C18:3 (n3)、γ-リノレン酸 (C18:3n6)、ジホモ-γ-リノレン酸 (C20:3n6)、 アラキドン酸 (C20:4n6) 及び EPA (C20:5n3) は、コオロギ (バッタ目)、コハチノスズリガ (チョウ目)、ゴミムシダマシ科 (コウチュウ目)、ゴキブリ (ゴキブリ目) 及びカ (カ科) において存在することが確認され、その生理学的役割が評価されている (Stanley-Samuelson and Dadd, 1983; Stanley-Samuelson et al., 1988)。よって、本組換えセイヨウナタネにおいて産生される DHA を含む長鎖多価不飽和脂肪酸は自然環境下に広く存在し、野生動物によって摂取される、又は産生されている。

したがって、本組換えセイヨウナタネが新たに有害物質の産生性を獲得したとは考え難く、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、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は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

―

(3) 影響の生じやすさの評価

―

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、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、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された。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

セイヨウナタネと交雑可能な近縁野生種は我が国に存在しないため、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我が国在来の野生動植物等は特定されない。

なお、我が国に分布するセイヨウナタネと交雑可能な外来の近縁種として、*B. juncea*、*B. rapa*、*B. nigra*、*H. incana*、*R. raphanistrum* 及び *S. arvensis* が知られている (OECD, 2012; OGTR, 2008; 中井, 2003)。

(2) 影響の具体的内容の評価

―

(3) 影響の生じやすさの評価

―

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、一定の作業要領を備えた限定環境で実施される本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲では、交雑に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

4 その他の性質

第二の3- (1) (p45) に示したとおり、セイヨウナタネと交雑可能な近縁野生種は我が国に存在しないため、交雑に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある我が国在来の野生動植物等は特定されなかった。一方で、第一の1-(3)-ニ-③ (p7~9) に示したように、セイヨウナタネは我が国に分布する外来の近縁種である*B. rapa*、*B. juncea*、*B. nigra*、*R. raphanistrum*、*H. incana*及び*S. arvensis*と交雑し得るため、本組換えセイヨウナタネと我が国に分布する外来の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、①雑種後代が優占化して他の野生植物種の個体群を駆逐する、②交雑により浸透した導入遺伝子がもたらす遺伝的負荷によって、交雑した近縁種の個体群が縮小され、これら近縁種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が生じる、の2点について考察した。

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

セイヨウナタネは我が国に分布する外来の近縁種である*B. rapa*、*B. juncea*、*B. nigra*、*R. raphanistrum*、*H. incana*及び*S. arvensis*と交雑し得るが、これらのうち、自然条件下で交雑する可能性があるのは*B. rapa*及び*B. juncea*である (OECD, 2012; OGTR, 2008; 農林水産省, 2018)。しかし、自然条件下で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、親植物の繁殖様式、花序組織の特性、花粉の交雑親和性並びに他の植物の花粉との競合性等の条件が合致することが必要である (OECD, 2012; OGTR, 2008)。実際に、従来セイヨウナタネと近縁種との交雑率は低く、雑種が形成されたとしても稔性が低下するか、もしくは不稔となることが知られている (OECD, 2012; OGTR, 2008)。よって、本組換えセイヨウナタネが外来の近縁種と交雑するとしても、その交雑率は低く、形成される雑種の稔性も低下することから、雑種後代が我が国の自然環境下で優占化する可能性は低いと考えられる。

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、交雑した近縁種の個体群が縮小され、これら近縁種に依存して生息する昆虫等の野生生物の個体群の維持に影響を及ぼす可能性

第二の1 及び2 (p42~45) に示したように、本組換えセイヨウナタネの競合における優位性及び有害物質の産生性は、従来セイヨウナタネと相違ないと考えられる。

本組換えセイヨウナタネでは、発芽率の低下が確認された (第一の2-(1)-ロ-③ (p21)。しかし、上述したようにセイヨウナタネと近縁種の雑種後代が優占化することは考えにくいため、導入遺伝子が我が国に自生するセイヨウナタネ及び近縁種の個体群中に浸透していく可能性は低い。よって、交雑した近縁種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、本組換えセイヨウナタネで認められた発芽率の低下が長期的な影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

また、本組換えセイヨウナタネは、除草剤グルホシネートに対する耐性を付与する*pat*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負荷にならないことが報告されていることから (Crawley et al., 1993; Snow et al., 1999)、除草剤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、*pat*遺伝子がもたらす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。

したがって、本組換えセイヨウナタネが我が国に生息する外来の近縁種と交雑し、その雑種後代が自然条件に適応して野生植物種の個体群を駆逐する

可能性は、従来のセイヨウナタネと同様に低いと考えられる。また、本組換えセイヨウナタネの導入遺伝子が遺伝的負荷となるとは考えにくいため、交雑により我が国に生息する外来の近縁種の個体群中に浸透したとしても、交雑した近縁種の個体群が縮小される可能性は低く、これら近縁種に依存して生息する昆虫等の野生生物の個体群の維持への影響が生ずる可能性も低いと考えられる。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネと我が国に生息する外来の近縁種及び非組換えセイヨウナタネの交雑により、間接的に生物多様性に影響が生ずるおそれはないと判断された。

第三　生物多様性影響の総合的評価

第一の 2- (6)-② (p37~38) に記載したとおり、本組換えセイヨウナタネの宿主の特性と導入遺伝子の特性を考慮し、本組換えセイヨウナタネを隔離ほ場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。

競合における優位性

セイヨウナタネは、我が国において長期間の使用等の歴史があるが、自然環境下においてセイヨウナタネが雑草化し他の植物種より優占化した例は報告されていない。

デサチュラーゼ及びエロンガーゼの発現により脂肪酸組成が改変された本組換えセイヨウナタネの種子において、発芽率の低下がみられたが、発芽率の低下が競合における優位性を高めることは考え難い。また、本組換えセイヨウナタネは除草剤グルホシネート耐性を有するが、自然環境下において除草剤が選択圧となる状況は想定し難く、こ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。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、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それらに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないと判断された。

有害物質の産生性

セイヨウナタネの種子中には、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 (OGTR, 2008)。しかし、本組換えセイヨウナタネの宿主である AV Jade は品種改良により低エルシン酸かつ低グルコシノレートとなったカノーラ品種である。

本組換えセイヨウナタネでは 5 種のデサチュラーゼ、2 種のエロンガーゼ及び PAT 蛋白質が発現しているが、これらの蛋白質が有害物質であるとの報告はなく、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を持たないことが確認されている。また、本組換えセイヨウナタネの脂肪酸組成の結果から、デサチュラーゼ及びエロンガーゼの発現により影響を受けた脂肪酸以外に、宿主の代謝系に影響して新たな有害物質が産生されることはないと考えられる。

本組換えセイヨウナタネで新たに産生される脂肪酸は、自然環境下に広く存在し、野生動物によって摂取される、又は産生されていることから、野生生物に影響を与えるものではないと考えられた。

以上のことから、本組換えセイヨウナタネは、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それらに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生に起因する生物多様性影響が生じるおそれはないと判断された。

交雑性

セイヨウナタネと交雑可能な近縁野生種は我が国に存在しないため、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されない。したがって、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。

その他

セイヨウナタネと交雑可能な外来の近縁種として、*B. juncea*、*B. rapa*、*B. nigra*、*H. incana*、*R. raphanistrum* 及び *S. arvensis* が挙げられる。

本組換えセイヨウナタネと我が国に分布する外来の近縁種が交雑した場合、①雑種後代が優占化して他の野生植物種の個体群を駆逐する可能性、及び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交雑した近縁種の個体群が縮小され、これら近縁種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が生じる可能性が考えられるため、既知の知見に基づき考察を行った。

第二の 4-① (p46~48) で示したように、①については、自然条件下で交雑し雑種を形成するためには種々の条件が揃う必要があること、さらに交雑率は低く、形成される雑種の稔性は低下するか、もしくは不稔となることから、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、②については、本組換えセイヨウナタネで観察された発芽率の低下が、自然環境下に生息する昆虫等の野生生物の個体群の維持に長期的な影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

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、本組換えセイヨウナタネに導

入された *pat* 遺伝子が遺伝的負荷となることは考え難い。したがって、交雑により我が国に生息する外来の近縁種の個体群中に浸透したとしても、交雑した近縁種の個体群が縮小される可能性は低く、こ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が生ずる可能性も低いと考えられた。

以上を総合的に評価し、本組換えセイヨウナタネを一定の作業要領を備えた限定環境で実施される隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為の範囲内で使用した場合に、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

参考文献

AFSI. 2019. Crop Composition Database, Version 7.0. Agriculture & Food Systems Institute.

Aono, M., S. Wakiyama, M. Nagatsu, Y. Kaneko, T. Nishizawa, N. Nakajima, M. Tamaoki, A. Kubo & H. Saji. 2011. Seeds of a possible natural hybrid between herbicide-resistant Brassica napus and Brassica rapa detected on a riverbank in Japan. *GM Crops,* 2**,** 201-210.

Aono, M., S. Wakiyama, M. Nagatsu, N. Nakajima, M. Tamaoki, A. Kubo & H. Saji. 2006. Detection of feral transgenic oilseed rape with multiple-herbicide resistance in Japan. *Environmental Biosafety Research,* 5**,** 77-87.

Bevan, M. 1984. Binary Agrobacterium vectors for plant transformation. *Nucleic acids research,* 12**,** 8711-8721.

Bhattacharya, S., S. Sinha, N. Das & M. K. Maiti. 2015. Increasing the stearate content in seed oil of Brassica juncea by heterologous expression of MlFatB affects lipid content and germination frequency of transgenic seeds. *Plant Physiology and Biochemistry,* 96**,** 345-355.

Bing, D. J., R. K. Downey & G. F. W. Rakow. 1996. Hybridizations among Brassica napus, B. rapa and B. juncea and their two weedy relatives B. nigra and Sinapis arvensis under open pollination conditions in the field. *Plant Breeding,* 115**,** 470-473.

Brown, J., J. B. Davis, M. Lauver & D. Wysocki. 2008. U.S. Canola Association canola grower's manual. Boise, Idaho.

Calder, P. C. 2014. Very long chain omega-3 (n-3) fatty acids and human health. *European Journal of Lipid Science and Technology,* 116**,** 1280-1300.

CFIA. 2017. The biology of Brassica napus, L. (canola/rapeseed).

Chalhoub, B., F. Denoeud, S. Liu, I. A. P. Parkin, H. Tang, X. Wang, J. Chiquet, H. Belcram, C. Tong, B. Samans, M. Corréa, C. Da Silva, J. Just, C. Falentin, C. S. Koh, I. Le Clainche, M. Bernard, P. Bento, B. Noel, K. Labadie, A. Alberti, M. Charles, D. Arnaud, H. Guo, C. Daviaud, S. Alamery, K. Jabbari, M. Zhao, P. P. Edger, H. Chelaifa, D. Tack, G. Lassalle, I. Mestiri, N. Schnel, M.-C. Le Paslier, G. Fan, V. Renault, P. E. Bayer, A. A. Golicz, S. Manoli, T.-H. Lee, V. H. D. Thi, S. Chalabi, Q. Hu, C. Fan, R. Tollenaere, Y. Lu, C. Battail, J. Shen, C. H. D. Sidebottom, X. Wang, A. Canaguier, A. Chauveau, A. Bérard, G. Deniot, M. Guan, Z. Liu, F. Sun, Y. P. Lim, E. Lyons, C. D. Town, I. Bancroft, X. Wang, J. Meng, J. Ma, J. C. Pires, G. J. King, D. Brunel, R. Delourme, M. Renard, J.-M.

Aury, K. L. Adams, J. Batley, R. J. Snowdon, J. Tost, D. Edwards, Y. Zhou, W. Hua, A. G. Sharpe, A. H. Paterson, C. Guan & P. Wincker. 2014. Early allopolyploid evolution in the post-Neolithic Brassica napus oilseed genome. *Science,* 345**,** 950.

Chaudhary, S., G. Van Rooijen, M. Moloney & S. S. 2001. Flax seed specific promoters. WO 2001/16340.

Chèvre, A.-M., H. Ammitzbøll, B. Breckling, A. Dietz-Pfeilstetter, F. Eber, A. Fargue, C. Gomez-Campo, E. Jenczewski, R. Jørgensen, C. Lavigne, M. S. Meier, H. C. M. den Nijs, K. Pasher, Seguin-Swartz, J. Sweet, C. N. Stewart & S. Warwick. 2004. A review on interspecific gene flow from oilseed rape to wild relatives. In *Introgression from Genetically Modified Plants into Wild Relatives,* eds. C. M. den Nijs, D. Bartsch & J. Sweet, 235-251. Wallingford, United Kingdom: CABI Publishing.

Chèvre, A. M., F. Eber, H. Darmency, A. Fleury, H. Picault, J. C. Letanneur & M. Renard. 2000. Assessment of interspecific hybridization between transgenic oilseed rape and wild radish under normal agronomic conditions. *Theoretical and Applied Genetics,* 100**,** 1233-1239.

Choi, Y., J. H. Ahn, Y. D. Choi & J. S. Lee. 1995. Tissue-specific and developmental regulation of a gene encoding a low molecular weight sulfur-rich protein in soybean seeds. *Molecular and General Genetics MGG,* 246**,** 266-268.

Colgrave, M. L., K. Byrne, S. V. Pillai, B. Dong, A. Leonforte, J. Caine, L. Kowalczyk, J. A. Scoble, J. R. Petrie, S. Singh & X.-R. Zhou. 2019. Quantitation of seven transmembrane proteins from the DHA biosynthesis pathway in genetically engineered canola by targeted mass spectrometry. *Food and Chemical Toxicology,* 126**,** 313-321.

Coutu, C., J. Brandle, D. Brown, K. Brown, B. Miki, J. Simmonds & D. D. Hegedus. 2007. pORE: a modular binary vector series suited for both monocot and dicot plant transformation. *Transgenic Research,* 16**,** 771-781.

Crawley, M. J. & S. L. Brown. 1995. Seed limitation and the dynamics of feral oilseed rape on the M25 motorway. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences,* 259**,** 49-54.

Crawley, M. J., R. S. Hails, M. Rees, D. Kohn & J. Buxton. 1993. Ecology of transgenic oilseed rape in natural habitats. *Nature,* 363**,** 620-623.

Dröge, W., I. Broer & A. Pühler. 1992. Transgenic plants containing the phosphinothricin-N-acetyltransferase gene metabolize the herbicide l-

phosphinothricin (glufosinate) differently from untransformed plants. *Planta,* 187**,** 142-151.

FAO. 2020. FAOSTAT.

Fontaneto, D., M. Tommaseo-Ponzetta, C. Galli, P. Risé, R. H. Glew & M. G. Paoletti. 2011. Differences in Fatty Acid Composition between Aquatic and Terrestrial Insects Used as Food in Human Nutrition. *Ecology of Food and Nutrition,* 50**,** 351-367.

Gallie, D. R., D. E. Sleat, J. W. Watts, P. C. Turner & T. M. Wilson. 1987. A comparison of eukaryotic viral 5'-leader sequences as enhancers of mRNA expression in vivo. *Nucleic acids research,* 15**,** 8693-8711.

Guéritaine, G., S. Bazot & H. Darmency. 2003. Emergence and growth of hybrids between Brassica napus and Raphanus raphanistrum. *New Phytologist,* 158**,** 561-567.

Hall, G., Jr., G. C. Allen, D. S. Loer, W. F. Thompson & S. Spiker. 1991. Nuclear scaffolds and scaffold-attachment regions in higher plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 88**,** 9320-9324.

Halweg, C., W. F. Thompson & S. Spiker. 2005. The rb7 matrix attachment region increases the likelihood and magnitude of transgene expression in tobacco cells: a flow cytometric study. *The Plant cell,* 17**,** 418-429.

Hauser, T. P., R. B. Jørgensen & H. østergård. 1998. Fitness of backcross and F2 hybrids between weedy Brassica rapa and oilseed rape (B. napus). *Heredity,* 81**,** 436-443.

Jefferson, R. A., T. A. Kavanagh & M. W. Bevan. 1987. GUS fusions: beta-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. *The EMBO journal,* 6**,** 3901-3907.

Jørgensen, R. B., B. Andersen, L. Landbo & T. R. Mikkelsen. 1996. SPONTANEOUS HYBRIDIZATION BETWEEN OILSEED RAPE (BRASSICA NAPUS) AND WEEDY RELATIVES. 193-200. International Society for Horticultural Science (ISHS), Leuven, Belgium.

Kay, R., A. M. Y. Chan, M. Daly & J. McPherson. 1987. Duplication of CaMV 35S Promoter Sequences Creates a Strong Enhancer for Plant Genes. *Science,* 236**,** 1299.

Kerlan, M. C., A. M. Chèvre, F. Eber, A. Baranger & M. Renard. 1992. Risk assessment of outcrossing of transgenic rapessed to related species. *Euphytica,* 62**,** 145-153.

Knutzon, D. S., G. A. Thompson, S. E. Radke, W. B. Johnson, V. C. Knauf & J. C. Kridl. 1992. Modification of Brassica seed oil by antisense expression of a stearoyl-acyl carrier protein desaturase gene. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,* 89**,** 2624-2628.

Lefol, E., V. Danielou & H. Darmency. 1996. Predicting hybridization between transgenic oilseed rape and wild mustard. *Field Crops Research,* 45**,** 153-161.

Leonard, A. E., S. L. Pereira, H. Sprecher & Y.-S. Huang. 2004. Elongation of long-chain fatty acids. *Progress in Lipid Research,* 43**,** 36-54.

Miquel, M. F. & J. A. Browse. 1994. High-Oleate Oilseeds Fail to Develop at Low Temperature. *Plant physiology,* 106**,** 421-427.

Nishizawa, T., N. Nakajima, M. Aono, M. Tamaoki, A. Kubo & H. Saji. 2009. Monitoring the occurrence of genetically modified oilseed rape growing along a Japanese roadside: 3-year observations. *Environmental Biosafety Research,* 8**,** 33-44.

Nishizawa, T., M. Tamaoki, M. Aono, A. Kubo, H. Saji & N. Nakajima. 2010. Rapeseed species and environmental concerns related to loss of seeds of genetically modified oilseed rape in Japan. *GM crops,* 1**,** 1-14.

OECD. 1997. Consensus document on the biology of Brassica napus L. (oilseed rape). Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.

OECD. 2002. Module II: Herbicide Biochemistry, Herbicide Metabolism and the Residues in Glufosinate-Ammonium (Phosphinothricin)-Tolerant Transgenic Plants Environment Directorate Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.

OECD. 2011a. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of low erucic acid rapeseed (canola): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and toxicants. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.

OECD. 2011b. Revised consensus document on compositional considerations for new varieties of low erucic acid rapeseed (canola): Key food and feed nutrients, anti-nutrients and toxicants. Paris, France: Organisation for Economic Co-operation and Development.

OECD. 2012. Consensus document on the biology of the Brassica crops (Brassica spp.). OECD Environment, Health and Safety Publications.

OGTR. 2008. The biology of Brassica napus L. (canola). eds. H. Department of & O. o. t. G. T. R. Ageing. Canberra, ACT, Australia: Australian Government.

OGTR. 2017. The Biology of Brassica napus L. (canola) and Brassica juncea (L.) Czern. & Coss. (Indian mustard). ed. O. o. t. G. T. R. Department of Health. Australian Government.

Petrie, J. R., Q. Liu, A. M. Mackenzie, P. Shrestha, M. P. Mansour, S. S. Robert, D. F. Frampton, S. I. Blackburn, P. D. Nichols & S. P. Singh. 2010a. Isolation and Characterisation of a High-Efficiency Desaturase and Elongases from Microalgae for Transgenic LC-PUFA Production. *Marine Biotechnology,* 12**,** 430-438.

Petrie, J. R., P. Shrestha, M. P. Mansour, P. D. Nichols, Q. Liu & S. P. Singh. 2010b. Metabolic engineering of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in plants using an acyl-CoA Δ6-desaturase with ω3-preference from the marine microalga Micromonas pusilla. *Metabolic Engineering,* 12**,** 233-240.

Petrie, J. R., P. Shrestha, X.-R. Zhou, M. P. Mansour, Q. Liu, S. Belide, P. D. Nichols & S. P. Singh. 2012. Metabolic Engineering Plant Seeds with Fish Oil-Like Levels of DHA. *PLOS ONE,* 7**,** e49165.

Petrie, J. R., X.-R. Zhou, A. Leonforte, J. McAllister, P. Shrestha, Y. Kennedy, S. Belide, G. Buzza, N. Gororo, W. Gao, G. Lester, M. P. Mansour, R. J. Mulder, Q. Liu, L. Tian, C. Silva, N. O. I. Cogan, P. D. Nichols, A. G. Green, R. de Feyter, M. D. Devine & S. P. Singh. 2020. Development of a Brassica napus (Canola) Crop Containing Fish Oil-Like Levels of DHA in the Seed Oil. *Frontiers in Plant Science,* 11.

Rantio-Lehtimaki, A. 1995. Aerobiology of pollen and pollen antigens. In *Bioaerosols Handbook,* eds. C. S. Cox & C. M. Wathes, 387-407. Lewis Publishers.

Rieger, M. A., T. D. Potter, C. Preston & S. B. Powles. 2001. Hybridisation between Brassica napus L. and Raphanus raphanistrum L. under agronomic field conditions. *Theoretical and Applied Genetics,* 103**,** 555-560.

Rogers, S. G., K. O'Connell, R. B. Horsch & R. T. Fraley. 1985. Investigation of factors involved in foreign protein expression in transformed plants. In *Biotechnology in Plant Science,* eds. M. Zaitlin, P. Day, A. Hollaender & C. A. Wilson, 219-226. New York: Academic Press.

Rossak, M., M. Smith & L. Kunst. 2001. Expression of the FAE1 gene and FAE1 promoter activity in developing seeds of Arabidopsis thaliana. *Plant Molecular Biology,* 46**,** 717-725.

Saji, H., N. Nakajima, M. Aono, M. Tamaoki, A. Kubo, S. Wakiyama, Y. Hatase & M. Nagatsu. 2005. Monitoring the escape of transgenic oilseed rape around Japanese ports and roadsides. *Environmental Biosafety Research,* 4**,** 217-222.

Sanders, P. R., J. A. Winter, A. R. Barnason, S. G. Rogers & R. T. Fraley. 1987. Comparison of cauliflower mosaic virus 35S and nopaline synthase promoters in transgenic plants. *Nucleic acids research,* 15**,** 1543-1558.

Scheffler, J. A. & P. J. Dale. 1994. Opportunities for gene transfer from transgenic oilseed rape (Brassica napus) to related species. *Transgenic Research,* 3**,** 263-278.

Shanklin, J. & E. B. Cahoon. 1998. DESATURATION AND RELATED MODIFICATIONS OF FATTY ACIDS. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology,* 49**,** 611-641.

Snow, A. A., B. Andersen & R. B. Jørgensen. 1999. Costs of transgenic herbicide resistance introgressed from Brassica napus into weedy B. rapa. *Molecular Ecology,* 8**,** 605-615.

Stålberg, K., M. Ellerström, L.-G. Josefsson & L. Rask. 1993. Deletion analysis of a 2S seed storage protein promoter of Brassica napus in transgenic tobacco. *Plant Molecular Biology,* 23**,** 671-683.

Stanley-Samuelson, D. W. & R. H. Dadd. 1983. Long-chain polyunsaturated fatty acids: Patterns of occurrence in insects. *Insect Biochemistry,* 13**,** 549-558.

Stanley-Samuelson, D. W., R. A. Jurenka, C. Cripps, G. J. Blomquist & M. de Renobales. 1988. Fatty acids in insects: Composition, metabolism, and biological significance. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology,* 9**,** 1-33.

Swanson, D., R. Block & S. A. Mousa. 2012. Omega-3 Fatty Acids EPA and DHA: Health Benefits Throughout Life. *Advances in Nutrition,* 3**,** 1-7.

Takahata, Y., N. Konno & K. Hinata. 2008. Genotypic variation for floral characters in Brassica and allied genera with special reference to breeding system. *Breeding Science,* 58**,** 385-392.

Trieu-Cuot, P. & P. Courvalin. 1983. Nucleotide sequence of the Streptococcus faecalis plasmid gene encoding the 3'5"-aminoglycoside phosphotransferase type III. *Gene,* 23**,** 331-341.

Tsuda, M., A. Okuzaki, Y. Kaneko & Y. Tabei. 2012. Relationship between hybridization frequency of Brassica juncea X B. napus and distance from pollen source B. napus to recipient B. juncea under field conditions in Japan. *Breeding Science,* 62**,** 274-281.

Turunen, S. 1974. Lipid utilization in adult Pieris brassicae with special reference to the rôle of linolenic acid. *Journal of Insect Physiology,* 20**,** 1257-1269.

Twining, C. W., J. T. Brenna, N. G. Hairston Jr & A. S. Flecker. 2016a. Highly unsaturated fatty acids in nature: what we know and what we need to learn. *Oikos,* 125**,** 749-760.

Twining, C. W., J. T. Brenna, P. Lawrence, J. R. Shipley, T. N. Tollefson & D. W. Winkler. 2016b. Omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids support aerial insectivore performance more than food quantity. *Proceedings of the National Academy of Sciences,* 113**,** 10920.

Tzompa-Sosa, D. A., L. Yi, H. J. F. van Valenberg, M. A. J. S. van Boekel & C. M. M. Lakemond. 2014. Insect lipid profile: aqueous versus organic solvent-based extraction methods. *Food Research International,* 62**,** 1087-1094.

Vodkin, L. O., P. R. Rhodes & R. B. Goldberg. 1983. Ca lectin gene insertion has the structural features of a transposable element. *Cell,* 34**,** 1023-1031.

Wang, X., H. Wang, J. Wang, R. Sun, J. Wu, S. Liu, Y. Bai, J.-H. Mun, I. Bancroft, F. Cheng, S. Huang, X. Li, W. Hua, J. Wang, X. Wang, M. Freeling, J. C. Pires, A. H. Paterson, B. Chalhoub, B. Wang, A. Hayward, A. G. Sharpe, B.-S. Park, B. Weisshaar, B. Liu, B. Li, B. Liu, C. Tong, C. Song, C. Duran, C. Peng, C. Geng, C. Koh, C. Lin, D. Edwards, D. Mu, D. Shen, E. Soumpourou, F. Li, F. Fraser, G. Conant, G. Lassalle, G. J. King, G. Bonnema, H. Tang, H. Wang, H. Belcram, H. Zhou, H. Hirakawa, H. Abe, H. Guo, H. Wang, H. Jin, I. A. P. Parkin, J. Batley, J.-S. Kim, J. Just, J. Li, J. Xu, J. Deng, J. A. Kim, J. Li, J. Yu, J. Meng, J. Wang, J. Min, J. Poulain, K. Hatakeyama, K. Wu, L. Wang, L. Fang, M. Trick, M. G. Links, M. Zhao, M. Jin, N. Ramchiary, N. Drou, P. J. Berkman, Q. Cai, Q. Huang, R. Li, S. Tabata, S. Cheng, S. Zhang, S. Zhang, S. Huang, S. Sato, S. Sun, S.-J. Kwon, S.-R. Choi, T.-H. Lee, W. Fan, X. Zhao, X. Tan, X. Xu, Y. Wang, Y. Qiu, Y. Yin, Y. Li, Y. Du, et al. 2011. The genome of the mesopolyploid crop species Brassica rapa. *Nature Genetics,* 43**,** 1035-1039.

Warwick, S. I., M. J. Simard, A. Légère, H. J. Beckie, L. Braun, B. Zhu, P. Mason, G. Séguin-Swartz & C. N. Stewart. 2003. Hybridization between transgenic Brassica napus L. and its wild relatives: Brassica rapa L., Raphanus raphanistrum L., Sinapis arvensis L., and Erucastrum gallicum (Willd.) O.E. Schulz. *Theoretical and Applied Genetics,* 107**,** 528-539.

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

Xiang, C., P. Han, I. Lutziger, K. Wang & D. J. Oliver. 1999. A mini binary vector series for plant transformation. *Plant Molecular Biology,* 40**,** 711-717.

Yamamori, M. 2011. Outcrossability of Brassica napus L. and B. rapa L. in an experimental field. *Japan Agricultural Research Quarterly,* 45**,** 173-179.

Zhang, X., M. Li, D. Wei & L. Xing. 2008. Identification and characterization of a novel yeast ω3-fatty acid desaturase acting on long-chain n-6 fatty acid substrates from Pichia pastoris. *Yeast,* 25**,** 21-27.

Zhou, X.-R., S. S. Robert, J. R. Petrie, D. M. F. Frampton, M. P. Mansour, S. I. Blackburn, P. D. Nichols, A. G. Green & S. P. Singh. 2007. Isolation and characterization of genes from the marine microalga Pavlova salina encoding three front-end desaturases involved in docosahexaenoic acid biosynthesis. *Phytochemistry,* 68**,** 785-796.

財務省. 2020. 財務省貿易統計. http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm. [Accessed Jul 31, 2020]

志賀敏夫. 2001. ナタネ. 第三巻　雑穀　転作全書.農山漁村文化協会. pp. 335-348

杉山信太郎. 2001. 日本人とナタネ. 第三巻　雑穀　転作全書.農山漁村文化協会. pp. 271-280

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.

村上興正・鷲谷いずみ. 2002. 外来種ハンドブック. 地人書館.

中井秀樹. 2003. アブラナ科 Cruciferae. 清水建美 (編) 日本の帰化植物.平凡社. pp. 80-96

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. 1-45

日本油脂検査協会. 2020. 食用植物油脂の脂肪酸組成. http://www.oil-kensa.or.jp/statistics/statistics.html. [Accessed Aug 6, 2020]

農林水産省. 2018. 遺伝子組換え植物実態調査結果 (平成 29 年実施分) 対象植物：ナタネ類、ダイズ・ツルマメ. 消費・安全局農産安全管理課. https://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/attach/pdf/181220-1.pdf. [Accessed Aug 11, 2020]

農林水産省. 2020a. 遺伝子組換え植物実態調査結果 (平成 30 年実施分) 対象植物：ナタネ類、ダイズ・ツルマメ. 消費・安全局農産安全管理課. https://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/torikumi/attach/pdf/index-226.pdf. [Accessed Nov 16, 2020]

農林水産省. 2020b. 令和元年産なたね (子実用) の作付面積及び収穫量. http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/sakumotu/sakkyou_kome/index.html#y17. [Accessed Aug 11, 2020]

文部科学省. 2015. 日本食品標準成分表　2015 年版 (七訂). 文部科学省　科学技術・学術審議会　資源調査分科会　報告. https://www.mext.go.jp/a_menu/syokuhinseibun/1365297.htm.

資料３. 緊急措置計画書

緊急措置計画書

令和 2 年 12 月 4 日

氏名　国立大学法人　筑波大学
学長　　永田　恭介
住所　茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1 号

氏名　ニューファム株式会社
代表取締役　陳　順得
住所　東京都千代田区内幸町二丁目 2 番 2 号

第一種使用規程の承認を申請している長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (NS-B50027-4、OECD UI: NS-B5ØØ27-4；以下、本組換えセイヨウナタネという) 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、科学的に認められた場合に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

(令和2年7月現在)

ニューファム株式会社	
【個人情報につき非開示】	
筑波大学	
◎ 【個人情報につき非開示】	助教
【個人情報につき非開示】	教授
筑波大学遺伝子組換え実験安全委員会　委員	
○ 【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	教授 遺伝子組換え実験安全委員会委員長
【個人情報につき非開示】	助教
【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	准教授

【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	准教授 遺伝子組換え実験安全委員会副委員長
【個人情報につき非開示】	助教
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	准教授
【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	講師
【個人情報につき非開示】	領域・ユニット長

◎栽培試験責任者　　○管理責任者　　*本部長

2. 第一種使用等の状況の把握の方法

管理責任者及び栽培試験責任者は、第一種使用等の状況に関し実験従事者等から常に可能な限り情報収集を行う。また、筑波大学遺伝子組換え実験安全委員会は委員による査察を行う。

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

生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合は、栽培試験責任者及び管理責任者は、直ちに実験従事者に口頭又は文書で伝えるとともに、当該影響を防止するために適切な措置を講ずるものとする。

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

本組換えセイヨウナタネが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に確認された場合には、直ちに栽培実験を中止し、本組換えセイヨウナタネを隔離ほ場内において鋤き込む等、不活化又は拡散防止のための必要な処置を執る。また隔離ほ場周辺をモニタリングすることにより本組換えセイヨウナタネ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、必要な措置を速やかに実行する。

5. 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

本組換えセイヨウナタネが我が国の生物多様性に影響を与えるおそれがあると科学的に確認された場合には、弊学並びに弊社は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。

モニタリング計画書

令和 2 年 12 月 4 日

氏名　国立大学法人　筑波大学
学長　　永田　恭介
住所　茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1 号

氏名　ニューファム株式会社
代表取締役　陳　順得
住所　東京都千代田区内幸町二丁目 2 番 2 号

イ. 実施体制及び責任者

長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (*Lackl-Δ12D*, *Picpa-ω3D*, *Micpu-Δ6D*, *Pyrco-Δ6E*, *Pavsa-Δ5D*, *Pyrco-Δ5E*, *Pavsa-Δ4D*, *pat*, *Brassica napus* L.) (NS-B50027-4, OECD UI: NS-B5ØØ27-4) のモニタリングについて、現時点での実施体制及び責任者は以下に示すとおりである。

(令和2年12月現在)

筑波大学	
◎　【個人情報につき非開示】	助教
○　【個人情報につき非開示】	教授
【個人情報につき非開示】	教授

◎栽培試験責任者　　○管理責任者　　*本部長

ロ. 実施体制及び責任者

我が国にセイヨウナタネ (*Brassica napus* L.) と交雑可能な野生種は存在しない。モニタリングの対象は雑草性のある交雑可能な近縁種である以下の植物種とする。

セイヨウナタネ (*Brassica napus*)
アブラナ (*Brassica. rapa*)

カラシナ (*Brassica. juncea*)
クロガラシ (*Brassica. nigra*)
セイヨウノダイコン (*Raphanus raphanistrum*)
ダイコンモドキ (*Hirschfeldia incana*)
ノハラガラシ (*Sinapis arvensis*)

ハ. モニタリングを実施する場所及びその場所における対象となる野生動植物等の生育又は生育状況

セイヨウナタネは風媒や虫媒によって花粉が運ばれるが、周囲を寒冷紗で覆うことで風媒や虫媒による花粉飛散を低減できる。

本組換えセイヨウナタネの開花期間中はビニールハウス外面に寒冷紗を被せ虫媒や風媒による花粉の飛散低減措置をとることとする。飛散抑止確認のために隔離ほ場周辺100mの範囲内においてモニタリングを実施する。

ニ. モニタリングの期間

本組換えセイヨウナタネの隔離ほ場における栽培期間中に実施する。

ホ. 実施期間、頻度その他のモニタリングの方法

セイヨウナタネはセイヨウナタネ以外にも近縁種である*B. rapa*、*B. juncea*、*H. incana*、*R. raphanistrum*、*S. arvensis*及び*B. nigra*と交雑する可能性があることが知られている。しかし、開花期にはビニールハウス外面に寒冷紗を被せることで虫媒や風媒を低減することが出来る。隔離ほ場試験では、寒冷紗による花粉飛散の低減を考慮した上でモニタリングを行う範囲を設定した。

1) 本組換えセイヨウナタネの開花期間中に、隔離ほ場周辺100 m以内に開花しているモニタリング対象植物種が生育しているかどうかを確認する。確認された場合は、位置情報及び個体数を記録する。

2) 位置情報をモニタリング対象植物種が種子をつけていた場合は、各集団1

つ当たり最低100粒の種子をサンプリングする。種子のサンプリング数は最大1,000粒とする。

3) 収集されたモニタリング対象植物種の種子に*pat*遺伝子が移行しているかどうかを1粒ごとに検定する。検定方法は収集されたサンプルの量等を考慮して適宜決定する。

ヘ. モニタリング結果の解析方法

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

ト. 農林水産大臣及び環境大臣への報告方法

モニタリング及びその解析結果は、「食用又は飼料用に供するための使用、栽培、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為」における第一種使用規程の申請時に、最終試験報告書中にモニタリング結果を記載し報告する。

チ. その他の必要な事項

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

隔離ほ場試験計画書

第一部 受容環境

1. 隔離ほ場の所在地等

(1) 名称：筑波大学　T-PIRC 産官学・共同研究部門（インダストリアルゾーン）・模擬的環境試験圃場Ⅴ (隔離ほ場)
(2) 住所：茨城県つくば市天王台一丁目 1 番 1 号
(3) 電話番号：029-853-6006
(4) 地図：図 6 (p73) 参照

2. 責任者等

(1) 隔離ほ場試験の責任者：津田　麻衣　筑波大学　つくば機能植物イノベーション研究センター (T-PIRC)
(2) 隔離ほ場管理責任者：江面　浩　筑波大学 T-PIRC　センター長

3. 試験期間

承認日から令和8年3月31日まで

4. 施設概要

部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むように、高さ250 cmのフェンス (有刺鉄線、メッシュフェンス、コンクリート基部) を設置している。隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を、見やすい所に掲げている。土、遺伝子組換え体の残渣等が付着した機械、器具及び靴等を洗浄するための洗い場を設置しているとともに、遺伝子組換え体の隔離ほ場の外への流出を防止するために、排水設備を設置している (図 7, p74)。

5. 面積

(1) 隔離ほ場全体の面積：400 m2

(2) 試験に使用する面積：約 300 m2
(3) 試験区の配置図：図 8 (p75) 参照

6. 隔離ほ場の周辺環境

(1) 隔離ほ場周辺の地形

隔離ほ場が位置するつくば市は、茨城県の南西部に位置し、市域の大部分は筑波・稲敷台地と呼ばれる標高20~30メートルの関東ローム層に覆われた平坦な地形である。北東に約2.5km離れた場所には桜川があり、また西に小貝川、南に谷田川、西谷田川などの河川がある。

(2) 土地利用状況

隔離ほ場は大学構内に位置する。また、大学の周辺は、畑、民家が散在している。

(3) 周辺の環境保護区

隔離ほ場は、環境省の定める自然保護地域 (国立公園、国定公園、自然環境保全地等) ではない。また、最も近い自然保護地域は、水郷筑波国定公園の筑波地区および水郷地区 (霞ヶ浦) であり、茨城県土浦市の霞ケ浦まで約7 kmである。

(4) 気象条件の平年値

隔離ほ場の最寄りの気象情報観測地点つくばアメダス観測所 (茨城県つくば市) における気象データの平年値を表 8 (p76) に示した。

(5) 台風の襲来履歴

①平年値

隔離ほ場がある関東甲信地方への台風接近数[21]の平年値 (1981年~2010年の30年平均) は、3.1個である (気象庁ホームページ気象統計情報ページ、アク

[21] 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/accession/kanto_koshin.html

セス2020年9月1日)
https://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/average/average.html

②過去10年の隔離ほ場周辺への台風の接近個数

関東甲信地方に台風が接近し[22]、かつ隔離ほ場最寄の観測地点 (茨城県つくばアメダス観測所) において日ごとの最大風速が15m/sを超えた回数[23]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3個 (2011年9月、2018年10月及び2019年10月) 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2020年9月1日)。

(6) 過去 10 年間における隔離ほ場冠水の状況

大学構内の使用予定隔離ほ場および周辺の隔離ほ場において、過去10年間にわたって冠水した記録はない。

(7) 強風による被害の状況

使用予定の隔離ほ場が位置する大学構内における強風被害記録は把握している。当該ほ場が建築された2019年3月20日以降、強風による設備破損の記録は無い。

(8) 市町村が策定するハザードマップ上の位置づけ

つくば市の洪水ハザードマップでは浸水が想定される区域とはなっていない (つくば市ホームページ、アクセス2020年9月2日)
https://www.city.tsukuba.lg.jp/_res/projects/default_project/_page_/001/000/602/p5-6.pdf

つくば市の地震防災マップでは、茨城県南部を震源とするマグニチュード7.3の地震又はつくば市の直下を震源とするマグニチュード6.9の地震が起きた場合の震度は最大で震度6強が予想されている (つくば市ホームページ、アクセス2020年9月2日)

22 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。
http://www.jma.go.jp/jma/kishou/know/yougo_hp/haichi2.html
23 関東甲信越地方に台風が接近した年月における、アメダスのつくば観測所で記録された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。

https://www.city.tsukuba.lg.jp/_res/projects/default_project/_page_/001/000/602/p39-40.pdf

(9) 隔離ほ場における鳥獣害の被害

鳥獣害の報告はない。

7. 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物等及びその中に希少種が含まれる場合はその名称等

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野生種は存在しない。ただし、雑草性のある交雑可能な帰化植物種は存在する。一覧は以下のとおりである。

セイヨウナタネ(*Brassica napus*)
アブラナ (*Brassica. rapa*)
カラシナ (*Brassica. juncea*)
クロガラシ (*Brassica. nigra*)
セイヨウノダイコン (*Raphanus raphanistrum*)
ダイコンモドキ (*Hirschfeldia incana*)
ノハラガラシ (*Sinapis arvensis*)

8. 栽培管理

(1) 栽培履歴

エンバク（2019年4月～6月）を土壌品質改良用に栽培した。
種子結実前に耕起しすき込んだ。

(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。

(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、ただちに除草剤の散布又は隔離ほ場に浅くすき込む等の適切な手段で対処する。なお、本組換えセイヨウナタネ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。

(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。

1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。
2) 隔離ほ場であること、部外者は立ち入り禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすいところに掲げている
3) 隔離ほ場で使用した、機械、器具及び靴等を洗浄するための洗い場を設置しているとともに、遺伝子組換え体の隔離ほ場の外への流出を防止するため、排水設備を設置している。
4) 開花期には試験区を寒冷紗などで覆うことにより花粉の飛散を防止する。また、播種時及び成熟期には防鳥網等を用いた鳥害防止策を講じる。

(5) 隔離ほ場での作業要領

1) 本組換えセイヨウナタネ及び比較対象のセイヨウナタネ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。
2) 組換え作物を隔離ほ場の外に運搬、又は保管する場合は、当該作物が漏出しない構造の容器に入れる。
3) 上記2) により運搬、又は保管する場合を除き、本組換えセイヨウナタネ及び比較対照の非組換えセイヨウナタネの栽培終了後、種子を除く植物体は隔離ほ場内にすき込む等により確実に不活化する。種子はオートクレーブにより不活化する。
4) 隔離ほ場で使用した、機械、器具及び靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せず本組換えセイヨウナタネが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように設備の維持及び管

理を行う。

6) 1) から5) までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。

7) 別に定めるモニタリング計画書に基づき、モニタリングを実施する。

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には、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。



図 6　隔離ほ場所在地に関する地図 (国土地理院ウェブサービス [24]より)[25]

[24] https://maps.gsi.go.jp/

[25] 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。



図 7　隔離ほ場施設写真 [26]
ア：隔離ほ場名の標記、イ：圃場を囲うフェンス、ウ：立ち入り禁止表示、エ：施設内に設置された洗い場、オ：入口の施錠

[26] 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。

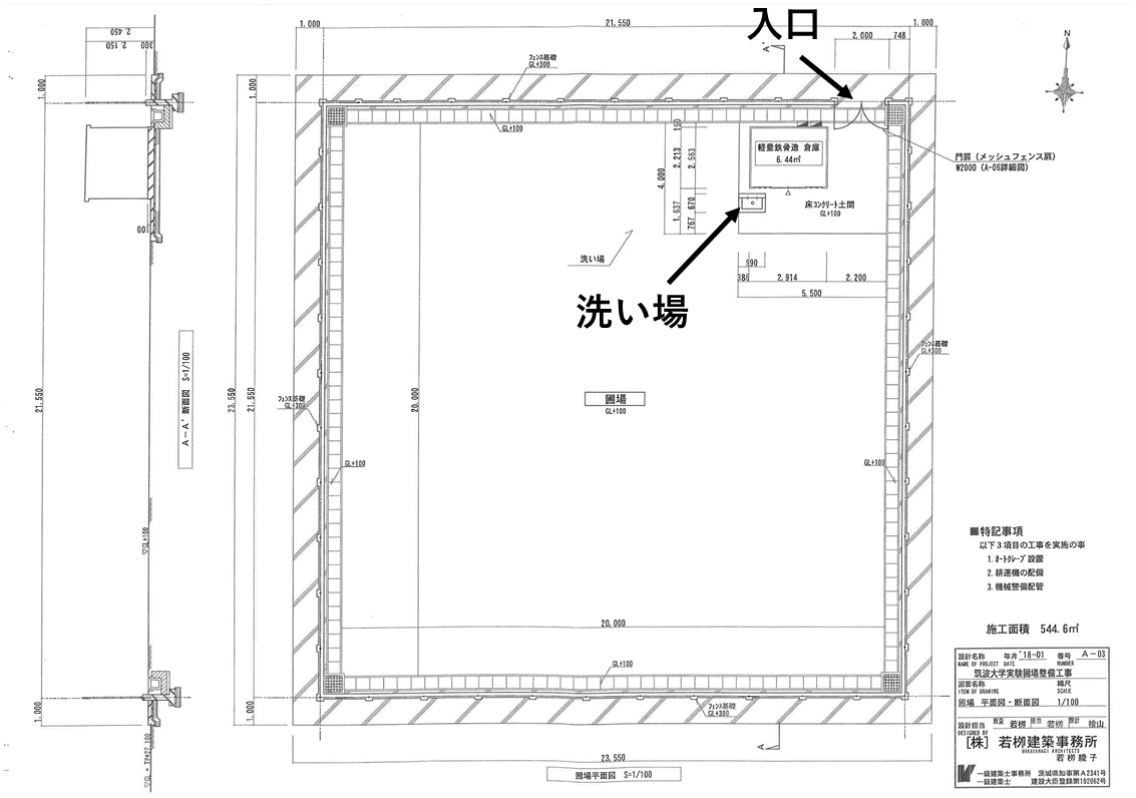


図 8　試験区の配置図 [27]
ほ場のうち約 300 m^2 を使用する予定である。

[27] 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。

表 8　隔離ほ場周辺における気象データの平年値[28]

(つくばアメダス観測所 (茨城県つくば市) における気象データの平年値)

要素	降水量	平均気温	最高気温	最低気温	平均風速	日照時間
	(mm)	(℃)	(℃)	(℃)	(m/s)	(時間)
統計期間	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010	1981～2010
資料年数	30	30	30	30	30	30
1 月	43.8	2.7	9.0	-3.2	2.3	194.1
2 月	51.6	3.7	9.7	-2.2	2.5	174.2
3 月	99.5	7.1	12.8	1.2	2.6	171.0
4 月	105.6	12.5	18.3	6.6	2.8	173.3
5 月	120.3	16.9	22.0	11.8	2.6	172.7
6 月	133.1	20.2	24.6	16.3	2.4	121.2
7 月	127.1	23.9	28.3	20.4	2.4	139.5
8 月	130.6	25.5	30.2	21.8	2.4	178.6
9 月	183.2	21.9	26.2	18.1	2.3	123.9
10 月	165.9	16.0	20.9	11.3	2.0	136.5
11 月	78.8	10.0	15.9	4.6	1.9	146.5
12 月	43.6	5.0	11.4	-0.9	2.1	181.3

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2020年9月1日)

http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_sfc_ym.php?prec_no=40&block_no=47646&year=&month=&day=&view=

[28] 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。

第二部 隔離ほ場での試験計画

【社外秘情報につき非開示】

5

長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (*Lackl-Δ12D*, *Picpa-ω3D*, *Micpu-Δ6D*, *Pyrco-Δ6E*, *Pavsa-Δ5D*, *Pyrco-Δ5E*, *Pavsa-Δ4D*, *pat*, *Brassica napus* L.) (NS-B50027-4, OECD UI:NS-B5ØØ27-4) の別添資料リスト

別添資料 1	Nutrient Composition of Harvested Canola expressing Long-Chain Omega-3 Field-grown in Australia during 2015, Revised 2 (BNDHA-2016-021 Rev.2) (社外秘)
別添資料 2	Molecular Characterization of Genetically Modified Canola NS-B50027-4 Producing High Percentage of Long-Chain Omega-3 (LC-ω3) Fatty Acids in Seed (BNDHA-2016-002 Rev.2) (社外秘)
別添資料 3	Genetic Stability and Copy Number of T-DNA Insertion in DHA Canola (OECD ID NS-B5ØØ27-4) using Southern Blot method (BNDHA-2018-016) (社外秘)
別添資料 4	Inheritance of the Omega 3 Trait – DHA Canola (OECD ID NS-B5ØØ27-4) (BNDHA-2016-019) (社外秘)
別添資料 5	Event-specific Method for the Quantification of Oilseed Rape NS-B5 ØØ27-4 Using Real-time PCR System; European dossier (BNDHA-2019-005) (社外秘)