

チョウ目害虫抵抗性ワタ (*cry1Ac, cry2Ab, Gossypium hirsutum* L.)

(15985, OECD UI: MON-15985-7) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書..... 1

生物多様性影響評価書の概要

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.....	2
(2) 使用等の歴史及び現状.....	2
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	3
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.....	5
(2) ベクターに関する情報.....	10
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	10
(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.....	12
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性.....	17
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	17
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	
(1) 使用等の内容.....	20
(2) 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
(3) 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	
1 競合における優位性.....	21
2 有害物質の産生性.....	22
3 交雑性.....	22
第三 生物多様性影響の総合的評価.....	24
緊急措置計画書.....	26

# 第一種使用規程承認申請書

平成 16 年 5 月 20 日

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

申請者 氏名 日本モンサント株式会社  
代表取締役社長 山根 精一郎 印  
住所 東京都中央区銀座 4-10-10  
銀座山王ビル 8F

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	チョウ目害虫抵抗性ワタ ( <i>cry1Ac, cry2Ab, Gossypium hirsutum</i> L.) (15985, OECD UI : MON-15985-7)
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、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	

## 生物多様性影響評価書の概要

### 第一 生物多様性影響の評価にあたり収集した情報

#### 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

##### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

イ．和名：ワタ．英名：Cotton．学名：*Gossypium hirsutum* L.

ロ．宿主は *Gossypium hirsutum* 種に属する組換えワタ品種 DP50B である。DP50B は、*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (B.t.k) 由来の改変 *cry1Ac* 遺伝子が導入され改変 *Cry1Ac* 蛋白質を発現するチョウ目害虫抵抗性ワタ (*cry1Ac*, *Gossypium hirsutum* L.) (531, OECD UI : MON- 00531-6) (以下「531」とする) と、非組換えワタ品種 DP50 との間で交配を繰り返し育成された商業品種である。

ハ．ワタ属の野生種は熱帯及び亜熱帯の乾燥地帯に分布しており、野生の2倍体種をその地理的分布から、オーストラリア群(11種)、アフリカ・アラビア群(8種)及びアメリカ群(12種)の3群に更に分けられている。また、野生2倍体種に加え、新大陸に自生する野生4倍体種には、*G. tomentosum*(ハワイ)、*G. mustelinum*(ブラジル北西部)、*G. darwinii*(ガラパゴス)、*G. lanceolatum*(メキシコ)、*G. barbadense*(アンチル列島、中南米)及び *G. hirsutum*(中米)がある。*G. hirsutum*の自生個体が群生していることは稀で、多くの場合海岸沿いないしは小島に分散して生育している。

尚、わが国において *G. hirsutum* を含め4倍体栽培ワタと交雑が可能な *Gossypium* 属植物の自然分布は報告されていない。

##### (2) 使用等の歴史及び現状

イ．*Gossypium* に属する種、亜種は41種を数え、ワタの野生種は新旧両大陸・アフリカ及びオーストラリアに知られ、原産地はインド・メキシコおよびペルーとされる。ワタの日本への伝来は、799年にインド人によってもたらされたのが最初であるとされているが、このワタはすぐに消滅したようである。その後、文禄年間(1592~1595)にワタの種子が九州に再び伝えられ、ワタ作は関東以南に広がり、明治15~20年頃には10万ha、2万4千トンの生産をみるにいたったが、その後、外綿の輸入に押されてしだいに衰微した。現在では、ワタの日本国内における商業栽培は行われておらず、主に観賞用などの目的で栽培されているのみである。尚、日本で古くから栽培されているのはアジア綿の *G. arboreum* と考えられている。

尚、本組換えワタの組換え母本ワタである531は、1996年に米国で商品化されて以

降、現在までに米国、オーストラリア、中国、インドなどで商業栽培されている。2002年の本組換えワタの栽培面積は、全世界で約 100 万 ha であったと予想されているが、これまでのところ本組換えワタが生物多様性に影響を与えたという報告はされていない。

ロ．ワタ属は 41 種から成るが、このうち栽培種は、旧大陸の「アジア綿」と総称される 2 倍体種(n=13)の *G. herbaceum* と *G. arboreum* 及び、新大陸の「陸地綿」と呼ばれる 4 倍体種(n=26)の *G. hirsutum* と *G. barbadense* である。現在、「アジア綿」は、インド、アフリカ及びアジアの限定された地域で栽培されているのみで、世界で生産されるワタの約 98% は 2 つの「陸地綿」で、その 90% は *G. hirsutum* 種となっている。

摘採した実綿には種子がついており、これを繰綿機にかけて分離した綿毛(lint)を綿花あるいは原綿と呼んでいる。綿花は綿糸・綿織物などの製綿用、あるいは綿火薬や充填用などに用いられる。実綿から綿毛を分離した残りが種子で、その表面につく平均 3 ~ 5mm の短い繊維(短毛又は地毛)を脱リンター機でかき取ったものをリンターと呼ぶ。リンターは搾油工場で副産物として生産され、人造繊維や綿火薬の原料とされ、やや長いものは太糸の原料ともされる。リンターをとった種子は 17 ~ 23% の油分を含み、これを圧搾するか溶媒で抽出するかして綿実油が得られる。種子 1t から約 130kg の綿実油が得られ、食用油のほかマーガリンや石鹼の原料などとして用いられる。搾油後の綿実粕は精製して主に飼料や肥料として用いられる。

米国農務省の統計情報に基づくと、2002 年の全世界におけるワタの栽培面積は 2,943 万 ha であり、上位国を挙げるとインドが 760 万 ha、米国が 503 万 ha、中国が 418 万 ha、パキスタンが 280 万 ha となっている。

2002 年のわが国における種子の輸入量は約 15 万トンであり、その内の約 96% がオーストラリアから輸入されている。輸入された種子の内、約 4 万トンが搾油用として用いられ、残りのほとんどは、牛の飼料用として用いられた。尚、我が国では、大阪府内の製油会社が唯一、種子を海外から輸入して搾油を行っている。また、現在、輸入されている栽培用種子は、そのほとんどが米国から輸入されており、主に観賞用として栽培されている。この栽培用種子はある特定の種苗会社により輸入されており、その種苗会社によると、米国において第三者に委託して輸入する栽培用種子は非組換えワタであることを PCR 法により確認しているとのことである。

### (3) 生理的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

ワタは種子繁殖する多年生のアオイ科作物で、草丈は 90cm ~ 120cm に伸び、15 ~ 20

節を有し、各節に葉と2芽をつけ、発育枝と結果枝を生じる。尚、ワタには越冬する能力がないので、多年生となるのは基本的に熱帯地方のみで、温帯の日本では冬季に枯死する為、一年生である。

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ワタの生育は平均気温 25 を最適とし、20~28 に適する。降雨量は年 1,000~1,500mm が適しており、生育期には相当の降雨を必要とする。しかし開花期以降の多雨は落花・落さくを増加させる。また少雨では繰綿歩合が低下する。北米のワタ作地帯は北緯 37~39° であり、北半球では一般に北緯 43° が北限で、ヨーロッパでは 42°、中央アジアでは 44.3° まで分布している。日本では奥羽南端(37.5°)までとされる。土壌は排水良好な砂質壤土に適し、アルカリ土壌に強く酸性を嫌う。また相当塩濃度の高い干拓地にも生育する。

#### ハ 繁殖又は増殖の様式

完熟した種子は開じよの際に出てくるが、基本的に綿毛に覆われているために脱粒しにくい。種子の休眠性はきわめて浅い。

ワタは、塊茎や地下茎などによる栄養繁殖を行わず、種子繁殖する。自然条件下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があるという報告はこれまでのところない。

ワタの受粉様式に関しては、他家受粉も可能であることが知られているが、基本的には自家受粉である。尚我が国においてワタと交雑可能な近縁野生種は知られていない。

ワタの花粉重は比較的軽く、粘着性があるため風媒により交雑することは考えにくい。花粉はマルハナバチ(*Bombus sp.*)やミツバチ(*Apis mellifera*)によって媒介されることがある。しかし、虫媒により花粉が飛散する範囲は限られており、花粉に蛍光粒子を付着させて周辺の花への花粉の飛散を追跡した報告によると、意図的にハチの巣箱を回りに配置したワタ畑から約 45m~60m 離れた花畑でワタの花粉が付着していた花は 1.6%程度であった。また、ワタ畑から 1m離れた場合の交雑率は 0.4%以下であり、16m離れると 0.3%以下まで減少していたことが報告されている。更に遺伝子組換えワタのマーカー遺伝子を用いた交雑試験の結果によると、30×136m のワタ畑から 1m離れた場所での交雑率は 5%であったのに対して、7m離れた地点では 1%以下に減少していた。しかし 1%以下の交雑率はワタ畑から最も離れた 25mの地点でも散発的に認められた。

## 二 有害物質の産生性

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

## ホ その他の情報

ワタには、ゴッシポールと呼ばれるテルペノイド物質が含まれており、この生理活性物質は種子を含むあらゆる植物組織の分泌器官に存在する(Abou-Donia, 1976)。ゴッシポールは哺乳動物の内臓器官や肺に炎症を起こし、実験動物においては呼吸困難、麻痺を起こす毒性物質として知られている(生化学辞典、1992、東京化学同人)。しかし、野生の哺乳動物が種子を捕食するという例は報告されていない。

尚、我が国において運搬の際にこぼれ落ちた種子からワタが自生化したという報告はされていない。

## 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

チョウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac*, *cry2Ab*, *Gossypium hirsutum* L.) (15985, OECD UI: MON-15985-7)(以下「本組換えワタ」とする)は、531 と非組換えワタ品種 DP50 との間で交配を繰り返し育成された組換えワタ品種 DP50B に、新たに *B. t. k* 由来の *cry2Ab* 遺伝子を導入することにより作出された。従って、以下では 531 と本組換えワタの調製等に関する情報について個別に述べた。

### (1) 供与核酸に関する情報

#### イ 構成及び構成要素の由来

531 及び本組換えワタの作出に用いられた供与核酸の構成とその由来は表 1(p8)及び表 2(p9)に示した通りである。

#### ロ 構成要素の機能

531 の作出に用いられた供与核酸の機能は表 1(p8)に示した。本組換えワタの作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は表 2(p9)に示した。

#### 【改変 *cry1Ac* 遺伝子】

改変 *cry1Ac* 遺伝子は、植物中での発現量を高めるために、*Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 株の産生する野生型 Cry1Ac 蛋白質のアミノ酸配列を改変しており、アミノ酸配列の相同性は 99.4%である。本組換えワタ中で発現する Cry1Ac

蛋白質は、以下「改変 Cry1Ac 蛋白質」とする。改変型を含む Cry1Ac 蛋白質は米国及びオーストラリアでのワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm (*Heliothis virescens*)、Pink bollworm(*Pectinophora gossypiella*)及び Cotton bollworm 別名 Corn earworm (*Helioverpa zea*)を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。改変 Cry1Ac 蛋白質は、植物での発現を高めるために野生型 Cry1Ac 蛋白質の N 末端のアミノ酸配列のみを改変したものであり、改変 Cry1Ac 蛋白質のチョウ目害虫に対する活性は、野生型 Cry1Ac 蛋白質と同等である。改変 Cry1Ac 蛋白質を含む Cry1Ac 蛋白質は上記のワタの主要害虫以外にもメイガ科の European corn borer(*Ostrinia nubilialis*)などに対しても殺虫活性を持つが、チョウ目昆虫以外の幼虫に対しては殺虫活性を持たないことが知られている。改変 Cry1Ac 蛋白質を含めた *B. t.* 菌の産生する *B. t.* 蛋白質は、標的昆虫の中腸上皮の特異的受容体と結合して陽イオン選択的小孔を形成し、その結果、消化プロセスを阻害して殺虫活性を示す。また、本組換えワタ中に産生される、改変 Cry1Ac 蛋白質の活性部分であるコア蛋白質は、市販されている微生物農薬である Bt 製剤中の Cry1Ac 蛋白質のコア蛋白質と同一であり、Cry1Ac 蛋白質を含む Bt 製剤は、米国、ヨーロッパ及び日本での作物や樹木のチョウ目害虫防除に安全に使用されている。

改変 Cry1Ac 蛋白質が、既知の接触アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(SwissProt, GenPept, PIR, GenBank/EMBL)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を共有していなかった。

#### 【*cry2Ab* 遺伝子】

*cry2Ab* 遺伝子がコードする Cry2Ab 蛋白質は、土壤中に一般的に存在するグラム陽性菌である *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* に由来し、Cry2Ab2、CryIIB、CryB2 または CryIIAb とも呼ばれている。Cry2Ab 蛋白質は、Cry1Ac 蛋白質と同様に米国及びオーストラリアのワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm (*Heliothis virescens*)、Pink bollworm(*Pectinophora gossypiella*)及び Cotton bollworm 別名 Corn earworm (*Helioverpa zea*)などに対する殺虫活性を有するが、その他にも Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*)、Beet Armyworm (*Spodoptera exigua*)、Soybean Looper (*Pseudoplusia includens*)などの Cry1Ac 蛋白質に対してはあまり感受性を示さないチョウ目害虫に対しても殺虫活性を有する。

Cry2Ab 蛋白質が、既知の接触アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(SwissProt, GenPept, PIR, GenBank/EMBL)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を共有していなかった。

## 【改変 *cry1Ac* 遺伝子 + *cry2Ab* 遺伝子】

本組換えワタ中では 531 由来の改変 Cry1Ac 蛋白質に加えて、新たに Cry2Ab 蛋白質が発現している為、これまで 531 では防除効果が得られなかったヨトウムシ類 (Fall Armyworm、Beet Armyworm) やアオムシ類 (Soybean Looper) を防除することが可能になる。

更に本組換えワタは殺虫スペクトラムが比較的重複している Cry1Ac 蛋白質と Cry2Ab 蛋白質を発現しているため、両 Bt 蛋白質に対して感受性を示すチョウ目害虫は、それぞれの Bt 蛋白質に対して抵抗性を獲得しなければ抵抗性害虫になれない。このことから本組換えワタは、Cry1Ac 蛋白質のみを単独で発現する 531 と比べて、両 Bt 蛋白質に感受性を示す標的チョウ目害虫が抵抗性を獲得する確率をより一層低く出来ると期待されている。

表 1 531 の作出に用いられたベクターPV-GHBK04 の各構成要素

構成要素	由来及び機能
<i>cry1Ac</i> 遺伝子発現カセット	
E35S	2重エンハンサーを持つ、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)のプロモーター。
改変 <i>cry1Ac</i>	Tobacco budworm ( <i>Heliothis virescens</i> )、Pink bollworm( <i>Pectinophora gossypiella</i> )及び Cotton bollworm 別名 Corn earworm ( <i>Heliothrips zea</i> )などのワタの主要害虫を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す改変 <i>Cry1Ac</i> 蛋白質をコードする遺伝子。 <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> の産生する野生型 <i>Cry1Ac</i> 蛋白質と 99.4%のアミノ酸配列同一性を持つ蛋白質をコードする。
7S 3	ダイズの -conglycinin 遺伝子の 3' 非翻訳領域であり、mRNA のポリアダニル化シグナルを含む。目的遺伝子の転写を終結させる機能を持つ。
<i>nptII</i> 遺伝子発現カセット	
35S	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の 35S プロモーター領域。
<i>nptII</i>	<i>E. coli</i> のトランスポゾン Tn5 に由来する遺伝子。ネオマイシンフォスフトランスフェラーゼ II をコードし、植物にカナマイシン耐性を付与する。遺伝子導入の際、組換え体植物を選抜するためのマーカーとして用いられる。
NOS3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3' 非翻訳領域。転写を終結させポリアダニル化を誘導する。
その他の構成要素	
右境界配列 (RB)	Ti プラスミド pTiT37 に由来する、ノパリン型 T-DNA の右境界配列 (24bp) を含む DNA 断片。右境界配列は、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへの T-DNA の伝達の際、伝達の開始点として利用される。
<i>Aad</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> 由来の 3' (9)-0-アミノグリコシドアダニルルトランスフェラーゼ(AAD)をコードする遺伝子であり、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。
<i>oriV</i>	広宿主域プラスミド RK2 に由来する複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ABI 株においてベクターに自律増殖能を付与する。
<i>Ori322/rop</i>	<i>E. coli</i> プラスミド pBR322 に由来する複製開始領域であり、ベクターに <i>E. coli</i> における自律増殖能を付与する。この領域は複製開始点の他に、複製開始の制御に関わる <i>rop</i> 領域及び <i>E. coli</i> から <i>Agrobacterium tumefaciens</i> への接合伝達に必要な <i>oriT</i> 配列を含む。

表 2 本組換えワタの作出に用いられたベクターPV-GHBK11L の各構成要素

構成要素	機能
<i>uidA</i> 遺伝子発現カセット	
E35S	2重エンハンサーを持つ、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)のプロモーター。
<i>uidA</i>	大腸菌プラスミド pUC19 由来の <i>uidA</i> 遺伝子。GUS( -D-glucuronidase)蛋白質をコードする。
NOS3	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3 非翻訳領域。転写を終結させポリアデニル化を誘導する。
<i>cry2Ab</i> 遺伝子発現カセット	
E35S	2重エンハンサーを持つ、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)のプロモーター。
PetHSP70 leader	ペチュニア( <i>Petunia hybrida</i> )の hsp70(熱ショック蛋白質)5 非翻訳領域。
AEPSPS/CTP2	<i>Arabidopsis thaliana</i> EPSPS 遺伝子由来の N 末端葉緑体輸送ペプチドをコードする配列。
<i>cry2Ab</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> に由来し、ワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm ( <i>Heliothis virescens</i> )、Pink bollworm( <i>Pectinophora gossypiella</i> ) 及び Cotton bollworm 別名 Corn earworm ( <i>Heliocoverpa zea</i> ) などに対して殺虫活性を有する Cry2Ab 蛋白質をコードする遺伝子。尚、その他にも Cry2Ab 蛋白質は、ワタ栽培におけるチョウ目害虫である Fall Armyworm ( <i>Spodoptera frugiperda</i> )、Beet Armyworm ( <i>Spodoptera exigua</i> )、Soybean Looper ( <i>Pseudoplusia includens</i> ) にも殺虫活性を有する。
NOS3	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3 非翻訳領域。転写を終結させポリアデニル化を誘導する。

## (2) ベクターに関する情報

### イ 名称及び由来

531 及び本組換えワタの作出に用いられたベクターは、pBR322 に由来する。pBR322 は *E.coli* 由来の合成プラスミドである。

### ロ 特性

531 の作出に用いられたベクターPV-GHBK04 及び本組換えワタの作出に用いられたベクターPV-GHBK11 の全塩基数は、それぞれ 11,407bp と 8,718bp である。

ベクターpBR322 は、大腸菌での構築ベクターの選抜マーカーとしてテトラサイクリン、アンピシリン耐性、DNA 複製開始点 ori 配列を持つ 2 本鎖環状 DNA である。

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

植物細胞に遺伝子を導入する際には、PV-GHBK11 を制限酵素 *KpnI* で処理し、*uidA* 遺伝子発現カセット ([P-e35S]-[*uidA*]-[NOS 3 ]) 及び *cry2Ab* 遺伝子発現カセット ([P-e35S] )-[PetHSP70 leader]-[AEPSPS/CTP2]-[*cry2Ab*]-[NOS3 ]) から構成される直鎖状 DNA 断片 PV-GHBK11L を用いた。

### ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

531 の宿主である従来ワタ品種 Coker 312 へのベクターPV-GHBK04 の導入は、アグロバクテリウム法により行われた。

本組換えワタの宿主である組換えワタ品種 DP50B への PV-GHBK11L の導入は、パーティクルガン法により行われた。尚、DP50B とは、531 と非組換えワタ品種 DP50 との間で交配を繰り返し育成された組換え商業ワタ品種のことである。

## 八 遺伝子組換え生物等の育成の経過

### 【531 の育成の経過】

アグロバクテリウム法によりベクターPV-GHBK04 中の T-DNA 領域を Coker 312 の胚軸に導入した後、カナマイシンを含む培地上で再生個体を得た。

形質転換体からアグロバクテリウムを除くため、形質転換体をカルベニシリンとパロモマイシンを含む培地で培養した後、これらの抗生物質を含まない再生培

地に移した後、これらの抗生物質を含まない再生培地に移して培養した。得られた再生個体について挿入遺伝子や改変 Cry1Ac 蛋白質の発現量の解析により更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外圃場での実際の害虫抵抗性及び農業形質などから総合的に判断して本組換えワタが選抜された。

諸外国における認可状況は以下の通りである。

- 1995年6月 米国食品医薬品局(FDA)より食品及び飼料としての安全性認可を受けた。
- 1995年7月 米国農務省(USDA)より無規制裁培の認可を受けた。
- 1995年8月 米国環境省(EPA)は Cry1Ac 蛋白質に対し、残留基準値の設定の免除を認めた。
- 1996年8月 オーストラリア遺伝子技術規制局の暫定機関(1OGTR)から飼料及び環境への安全性認可を受けた。
- 2000年7月 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局(FSANZ)から食品としての安全性認可を受けた。
- 2003年6月 オーストラリア遺伝子技術規制局(OGTR)から飼料及び環境への安全性認可を受けた。

我が国における認可状況は以下の通りである。

- 1997年4月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)について、指針への適合性が確認された。
- 1997年5月 厚生労働省(当時厚生省)より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 1997年6月 農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。
- 2001年3月 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003年3月 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。

#### 【本組換えワタの育成の経過】

組換えワタ品種 DP50B を組換え母本とし、その茎頂細胞に PV-GHBK11L をパーティクルガン法により導入した。再生個体の選抜は、GUS 蛋白質を用いた組織化学的染色法により行った。

得られた再生個体について PV-GHBK11L 由来の挿入遺伝子や Cry2Ab 蛋白質及び

Cry1Ac 蛋白質の発現量の解析により、更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外圃場での実際の害虫抵抗性及び農業形質などから総合的に判断して本組換えワタが選抜された。

諸外国における認可状況は以下の通りである。

- 2001 年 3 月 米国環境省(EPA)はCry2Ab 蛋白質に対する残留基準値の設定の免除を認めた。
- 2002 年 7 月 米国食品医薬品局(FDA)より食品及び飼料としての安全性認可を受けた。
- 2002 年 11 月 米国農務省(USDA)より無規制裁培の認可を受けた。
- 2002 年 9 月 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局(FSANZ)から食品としての安全性認可を受けた。
- 2002 年 10 月 オーストラリア遺伝子技術規制局(OGTR)から飼料及び環境への安全性認可を受けた。

我が国における認可状況は以下の通りである。

- 2001 年 7 月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)について、指針への適合性が確認された。
- 2002 年 10 月 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003 年 3 月 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。

#### (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

##### 【531 に移入した核酸の存在状態及び形質発現の安定性】

サザンブロット分析、コスミドクローニング法、そしてゲノムウォーキング法により挿入遺伝子の解析を行った結果、531 の自殖系統である R5 世代のゲノム DNA 中には、改変 *cry1Ac* 遺伝子発現カセット、*nptII* 遺伝子発現カセットそして *aad* 遺伝子発現カセットより構成される第 1 挿入遺伝子と、第 1 挿入遺伝子の 5' 末端側に逆向きに隣接し、改変 *cry1Ac* 遺伝子の 3' 領域断片と 7S3' ターミネーターにより構成される第 2 挿入遺伝子、そして第 3 挿入遺伝子として 245bp の 7S3' ターミネーター断片が存在していることが明らかとなった(p15 の図 1)。

しかし、R5、R6 世代及び 2 つの商業品種(共に BC2F3)を用いたサザンブロット分析の

結果、後代に安定して遺伝しているのは第1並びに第2挿入遺伝子で、第3挿入遺伝子は商業品種中には含まれていないことが明らかとなった。この理由としては、隣接して挿入されている第1並びに第2挿入遺伝子に対して、第3挿入遺伝子は染色体上で離れた位置に挿入されている為、自殖系統であるR5及びR6世代ではそのまま残ったが、商業品種では戻し交配を行う過程で分離したことが考えられた。尚、第3挿入遺伝子は転写を終結させる因子である7S3配列の断片であるために、本組換えワタにおけるチョウ目害虫抵抗性には寄与していない。従って、第3挿入遺伝子は戻し交配による育種が行われている間の選抜の対象にはなっていない。

尚、本組換えワタにおけるCry1Ac蛋白質の発現の安定性は、育種過程における選抜の際にELISA分析により確認している。

#### 【本組換えワタに移入した核酸の存在状態及び形質発現の安定性】

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、挿入遺伝子は本組換えワタの染色体ゲノム中1ヶ所に1コピー組み込まれていることが確認された。続いて*cry2Ab* 遺伝子発現カセット及び*uidA* 遺伝子発現カセットの完全性をそれぞれの構成要素をプローブとして用いて確認した結果、*cry2Ab* 遺伝子発現カセットは完全な状態で挿入されているが、*uidA* 遺伝子発現カセットは一部が欠損して挿入されていることが示唆された。この*uidA* 遺伝子発現カセットの欠損した部位については、挿入遺伝子の近傍配列をゲノムウォーキングで解析した結果、P-e35Sの5'末端側の約279bpと、約24bpのマルチクロニングサイト由来のポリリンカーであることが確認された。尚、挿入遺伝子地図はp16の図2に示した。

また、ウエスタンブロット分析の結果、本組換えワタのR1、R3、R4及びBC2F3世代において、Cry2Ab蛋白質が安定して発現していることが示された。尚、レーン6のR1のバンドが薄いのは、R1が分離集団であるため優性ホモ個体と劣性ホモ個体が混在しているためと考えられた。

尚、挿入遺伝子の塩基配列を解析した結果、*uidA* 遺伝子の5'末端から1,490番目の塩基が、*E. coli*に導入されている植物発現用プラスミド中の*uidA* 遺伝子配列と比較してグアニン(G)からアデニン(A)に変化しており、その結果アミノ酸配列のN末端から377番目のアミノ酸残基がグルタミン酸(E)からリシン(K)に変化していることが明らかとなった(この蛋白質を以下「GUSE377K」とする)。

このGUSE377Kに関しては、アミノ酸の変化が認められたアミノ酸配列N末端から377番目は、植物、微生物そして哺乳動物中で発現している全てのGUS蛋白質ファミリー

一中で共通して保存されている活性部位に含まれるアミノ酸ではない。このアミノ酸の変異はGUS蛋白質の活性部位及び三次元構造に影響を及ぼさない。蛋白質データベース(SwissProt ver.30, PIR ver.41)を用いてGUSE377Kが既知アレルゲンとアミノ酸配列を共有するかどうか調べた結果、GUSE377Kは既知アレルゲンとの間に配列の相同性を持たないことが示されたことから、通常のGUS蛋白質とGUSE377Kの構造と機能は同等であると考えられた。

更に今回の挿入遺伝子の解析を行った世代は米国での環境安全性評価を行ったR3世代とR1世代から派生した複数のBC2F3世代であり、解析した全ての世代において*uidA*遺伝子の5'末端から1,490番目の塩基がアデニン(A)であることが明らかとなった。よって*uidA*遺伝子の5'末端から1,490番目のグアニン(G)からアデニン(A)への変化は、*E. coli*中での植物発現用プラスミドの増殖あるいは、パーティクルガン法による遺伝子導入の際に起こったものであり、後代へ遺伝する間に起こったものではないと結論された。このことから日本において環境安全性試験を行った世代(R1及びR4世代)でもGUSE377Kが発現していることが示唆された。

本組換えワタの遺伝的安定性は複数の世代(15985系統の自殖後代R1、R2、R3、R4及び2つの従来ワタ品種との交配後代世代BC2F3)においてサザンブロット分析によって証明された。

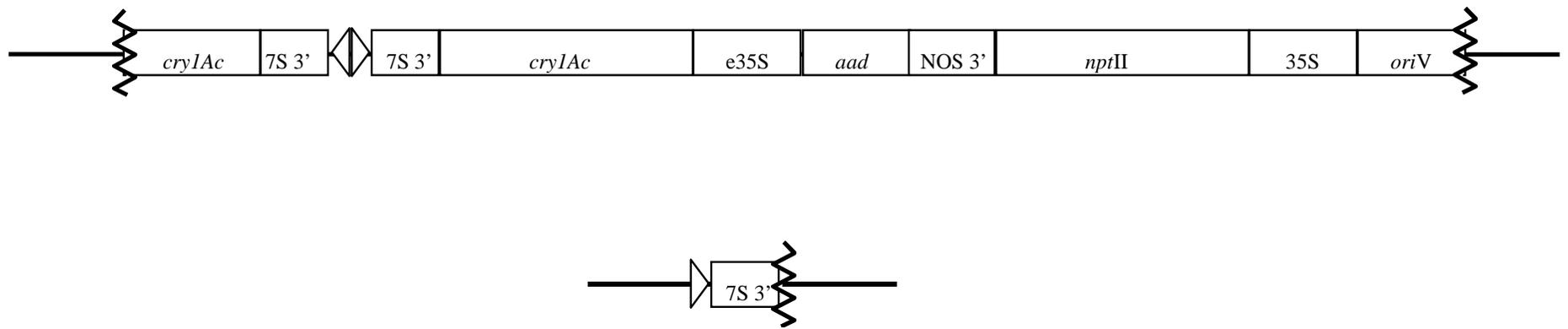


図1 チョウ目害虫抵抗性ワタ 531 の挿入遺伝子地図

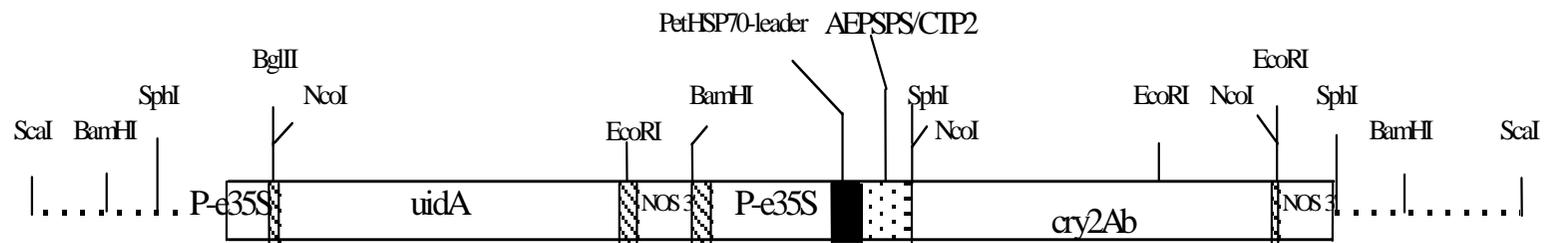


図2 チョウ目害虫抵抗性ワタ 15985 の挿入遺伝子地図

(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

本組換えワタを検出及び識別する為の方法としては、挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムの DNA 配列をプライマーとした定性的 PCR 法を開発しており、本法により本組換えワタを特異的に検出可能である。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ. 本組換えワタ中には改変 *cry 1Ac* 遺伝子がコードする改変 Cry1Ac 蛋白質と *cry2Ab* 遺伝子がコードする Cry2Ab 蛋白質が発現しているが、Cry2Ab 蛋白質については、本組換えワタの若葉、葉、種子、植物体中で発現していることが示されている。一方、改変 Cry1Ac 蛋白質については本組換えワタとその組換え母本である DP50B 中での発現量が若葉、葉、種子、植物体、花粉を用いて調査されているが、本組換えワタと DP50B のそれぞれの器官における Cry1Ac 蛋白質の発現量に差異は認められないことから、改変 Cry1Ac 蛋白質と Cry2Ab 蛋白質は本組換えワタ中で互いに相互作用を示さないことが証明された。尚、NPTII 蛋白質についても同様に本組換えワタと DP50B 中での発現量が葉と種子を用いて調査されているが、その発現量に明らかな相違は認められなかった。

ロ. 本組換えワタの隔離ほ場試験は、九州農業試験場と日本モンサント社の河内研究農場の隔離ほ場で、それぞれ R4 世代と R1 世代の種子を用いて平成 12 年 5 月から平成 13 年 3 月まで行われた。尚、当初は R4 世代を用いて九州農業試験場でのみ隔離ほ場試験を行う予定であったが、本組換えワタと他品種との戻し交配プログラムが R2 世代から始まっており、R4 世代の種子を用いた場合は R4 世代及びそれ以降の世代についてのみでしか安全性評価は行えないとの指摘を平成 12 年の 4 月に受けた。そこで、急遽九州農業試験場とは別に日本モンサント社の河内研究農場でも R1 世代の種子を用いて隔離ほ場試験を行った。

また、本隔離ほ場試験は、本組換えワタと対照の組換え母本ワタである DP50B 及び非組換えワタ DP50 を用いて行った。尚、DP50B とは、531 と非組換えワタ品種 DP50 との間で交配を繰り返し育成された組換え商業ワタ品種のことである。

形態及び生育の特性

20 項目(発芽揃い、発芽率、草型、稈長、開花期、花色、葉形、有効花蕾数、結果枝数、開じょ期、繊維の色(綿毛の色)、さく(ワタの果実)の形状、1 株当りのさく数、未収穫のさく数、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、収穫期、1 さくの乾燥重量、収穫期の地上部・地下部の重量)について本組換えワタ及び対照の非組換えワタ間の形態特性及び生育の差異を調査した。その中で、草型、稈長、有効花蕾数、結果枝数、繊維の色(綿毛の色)、さく(ワタの果実)の形状、1 株当りのさく数、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、1 さくの乾燥重量、及び収穫期の地上部・地下部の重量については、各プロットの中央列から 3 個体以上を選び、合計 10 個体以上についてそれぞれ調査した。ただし、さくに関する調査は 1 個体当たり 2 さくについて行った。また、発芽揃い、発芽率、開花期、開じょ期、収穫期については、全個体を調査の対象とした。

その結果、R1 世代を用いた河内研究農場での試験においては、全ての項目に本組換えワタと

対照の組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の間で差異は認められなかった。

一方、九州農業試験場において R4 世代を用いて行われた試験では、葉形(葉長)、地下部重量において有意差が認められたが、その他の項目について差異は認められなかった。葉長における差異は組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の両方に対して認められ、本組換えワタの葉長の平均値は 16.5cm、組換え母本ワタ DP50B の平均値は 17.8cm そして非組換えワタ DP50 の平均値は 17.9cm であった。地下部重における差異は非組換えワタ DP50 に対してのみ認められ、組換え母本ワタ DP50B との間で差異は認められなかった。尚、本組換えワタの地下部重の平均値は 163.3g、組換え母本ワタ DP50B の平均値は 156.7g そして非組換えワタ DP50 の平均値は 133.3g であった。

#### 生育初期における低温又は高温耐性

隔離ほ場試験において、生育初期における低温耐性試験は行っていないが、米国の 22 箇所のほ場において翌春発生する自生個体の観察が行われている。尚、これら米国のほ場試験は米国南部の代表的なワタの栽培地帯で行われており、我が国の平均的な気候条件と比較して冬季の冷え込みも比較的少ないことから、我が国よりもワタが生育し易い気候条件であると判断された。

観察の結果、収穫の際にほ場内にこぼれ落ちた種子が秋に発芽しているのが僅かながら確認されたが、翌春には全て枯死していたということであった。以上のことから本組換えワタの生育初期における低温耐性は、対照の非組換えワタと同様に低いと判断された。

#### 成体の越冬性又は越夏性

ワタは基本的に多年生植物であるが、これは熱帯地方で生育した場合のみであり、日本及び世界のワタの栽培地帯では、結実後、冬季には通常自然に枯死する。実際に本組換えワタの隔離ほ場試験終了時には、部分的に枯死が始まっていることを確認している。以上のことから、成体の越冬性試験は行わなかった。

#### 花粉の稔性及びサイズ

我が国においては、本組換えワタの種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培自体も行われていない。従って本組換えワタが我が国の生物多様性に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは自生化して他の植物を駆逐した場合が想定された。そこで、本組換えワタの隔離ほ場試験では、輸送中にこぼれ落ちた種子がその場で発芽し、生育或いは自生化する可能性の有無を中心に調査した。その一方で花粉に関しては、こぼれ落ちた種子が発芽した後に成体になるまで発生しないことと、これまでに、輸送中にこぼれ落ちた種子が、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていないことから、花粉の稔性及びサイズの調査は行わなかった。

#### 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量については、 の形態及び生育の特性で示したように、1 株当りのさく数、さくの室数、さくあたりの種子数について本組換えワタと組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワ

タ DP50 との間で差異を調査している。その結果、R1 及び R4 世代とも全ての項目において統計的有意差は認められなかった。

脱粒性については、本組換えワタとその対照の非組換えワタは共に、収穫時種子は綿毛とリントに覆われており、自然条件での脱粒性は観察されなかった。

休眠性については、1999 年に米国のテキサス州(TX)、サウスカロライナ州(SC)及びルイジアナ州(GA)の 3 ヶ所の圃場試験において収穫された本組換えワタ、組換え母本ワタである DP50B、非組換えワタ DP50、そして参考として加えた 11 の従来品種の種子を用い、5~40 の異なる温度条件下での種子発芽率を調査することによって評価した。

その結果、いくつかの温度条件下では、本組換えワタと対照の組換え母本ワタである DP50B との間で統計的有意差( $p \leq 0.05$ )が認められたが、それらは参考として加えられた 11 の従来品種の値の範囲内であった。一方、それぞれの温度条件下で、本組換えワタ、組換え母本ワタ DP50B 及び参考として加えた 11 の従来品種の種子は、いずれも発芽(germinated)、吸水膨潤(Viable Firm Swollen)あるいは死滅状態(degenerated)であり、休眠状態(Viable Hard)の種子は認められなかった。

発芽率については、の形態及び生育の特性で示したように、R1 及び R4 世代とも対照の組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 との間で差異は認められなかった。

#### 交雑率

わが国では本組換えワタが属する 4 倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は存在しない。従って交雑率については評価を行わなかった。

#### 有害物質の産生性

本組換えワタと組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 との間で、鋤き込み試験、後作試験、土壌微生物相試験を行った。

#### 【鋤き込み試験】

R1 世代の植物体を用いた鋤き込み試験において、検定植物であるレタスの発芽率、初期生育に本組換えワタ、組換え母本ワタ DP50B、非組換えワタ DP50 間で統計的な有意差は認められなかった。

また R4 世代の植物体を用いた鋤き込み試験においても、本組換えワタと組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 との間には全ての項目において有意差は認められなかった。

以上のことから、本組換えワタの土壌中への鋤き込みが植物の生育に及ぼす影響は、対照の組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 と同等であると判断された。

#### 【後作試験】

R1 世代の栽培土壌を用いたレタスの後作試験において、その発芽率、初期生育に本組換えワタ、組換え母本ワタ DP50B、非組換えワタ DP50 間で統計的有意差が認められなかった。

また、R4 世代の植物体を用いた後作試験においても、本組換えワタと組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 との間には、全ての項目において有意差は認められなかった。

以上のことから、本組換えワタの栽培土壌が後作に及ぼす影響は、対照の組換え母本ワタ DP50B ならびに非組換えワタ DP50 と同等であると判断された。

#### 【土壌微生物相試験】

R1 世代の栽培された移植前の土壌中の各微生物数はほぼ同じであった。また、収穫時の土壌微生物数において、非組換えワタ DP50 栽培区、組換え母本ワタ DP50B 栽培区及び本組換えワタ栽培区のそれぞれの間で統計的な有意差は認められなかった。

R4 世代の栽培された播種前の土壌中の各微生物数はほぼ同じであった。また、収穫時の土壌微生物数及び側根微生物相において、非組換えワタ DP50 栽培区、組換え母本ワタ DP50B 栽培区及び本組換えワタ栽培区のそれぞれの間で統計的な有意差は認められなかった。

### 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### (1) 使用等の内容

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

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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照

#### (3) 国外における使用等に関する情報

本組換えワタは、1997 年から 1999 年までの 3 年間、米国の 88 箇所のほ場において導入遺伝子の発現及び生育特性を評価した結果、対照の組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 との間で新たに本組換えワタに挿入された *cry2Ab* 遺伝子及び *uidA* 遺伝子が発現していること以外は、差異は認められなかった。また、病害虫感受性や越冬性に関しても相違は観察されなかった。

## 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

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)の 形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、種子の生産性、休眠性及び発芽率に記載したように比較検討した。その結果、R1 世代を用いた日本モンサント河内試験農場での試験においては、全ての項目において差異は認められなかったが、九州農業試験場において R4 世代を用いて行われた試験では、葉形(葉長)及び地下部重量において有意差が認められた。しかし、その他の全ての項目では差異は認められなかった。

R4 世代の葉形(葉長)において認められた差異に関しては、本組換えワタの平均値が 16.5cm であったのに対して、組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の平均値がそれぞれ 17.8cm と 17.9cm であった。一方、R1 世代を用いた試験では統計的有意差は認められなかった。また R4 世代の地下部重量において認められた差異に関しては、本組換えワタの平均値が 163.3g であったのに対して、組換え母本ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の平均値がそれぞれ 156.7g と 133.3g であった。一方、R1 世代を用いた試験では統計的有意差は認められなかった。しかし、葉長及び地下部重以外の競合における優位性に関わる諸形質では本組換えワタと対照の非組換えワタとの間で差異は認められなかったことから、これらの差異のみで競合における優位性が高まるとは考えにくい。

本組換えワタに付与されたチョウ目害虫抵抗性は、同種間での競合における優位性をある程度高めることが予想される。しかし、人の手助けがないと繁殖できない栽培植物であるワタが、本形質が付与されたことによって、自然条件下で自己繁殖し、優占化する野生植物になるほど競合における有意性が高まるとは考えられない。

以上のことから、本組換えワタは葉形(葉長)及び地下部重量において有意差が認められ、チョウ目害虫抵抗性を有するが、上記のようにこれらは競合における優位性を大きく高めるほどの変化ではなく、またそれぞれの形質は互いに影響し合うとは考えにくい。従ってこれらの形質を全て併せ持ったとしても、競合における優位性が高まることはない判断された。

従って、本組換えワタにおいて、競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

#### (2) 影響の具体的内容の評価

-

#### (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、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

#### (1) 影響を受ける可能性のある動植物等の特定

有害物質の産生性に関して、鋤き込み試験、後作試験、土壤微生物相試験を行ったが、本組換えワタに他の作物の生育を阻害する有害物質が含まれているとは考えにくいと判断された。

また、本組換えワタ中にはCry2Ab及び改変Cry1Ac蛋白質が発現している為、本組換えワタの花粉による非標的チョウ目昆虫への影響が懸念されるが、ワタの花粉重は比較的軽く、粘着性があるため飛散する可能性は少ない。従ってワタを直接摂食しない非標的チョウ目昆虫が本組換えワタの花粉に暴露される可能性は低いと考えられる。

更に我が国では、ワタの商業栽培は行われておらず、本組換えワタの種子を販売する予定もない為、本組換えワタが有害物質を産生して野生動植物に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中にこぼれ落ちた後に、生育或いは自生化した場合が想定された。しかし、現在までにワタの種子が輸送中にこぼれ落ちて、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていない。

以上のことから有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されないと判断された。

#### (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

以上の結果から、本組換えワタは有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生じるおそれがないと判断された。

### 3 交雑性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国では本組換えワタが属する四倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は自生していない。よって、交雑性に起因する生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

-

(3) 影響の生じやすさの評価

-

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上から、交雑性に関して、生物多様性影響を生じ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

我が国においては、本組換えワタの種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培自体も行われていない。更に、我が国には本組換えワタと交雑可能な *Gossypium* 属植物の自然分布は報告されていないことから、本組換えワタが我が国の生物多様性に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは自生化して他の植物を駆逐した場合が想定された。そこで、本組換えワタの隔離ほ場試験では、輸送中に人の管理が及ばない場所にこぼれ落ちた種子がその場で発芽し、自生化する可能性の有無を中心に調査した。

競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)の 形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、種子の生産性、休眠性及び発芽率に記載したように比較検討した。その結果、R1 世代を用いた日本モンサント河内試験農場での試験においては、全ての項目において差異は認められなかったが、九州農業試験場において R4 世代を用いて行われた試験では、葉形(葉長)及び地下部重量において有意差が認められた。しかし、その他の全ての項目では差異は認められなかった。葉形(葉長)及び地下部重量において認められた有意差に関しては、この差異のみで競合における優位性が高まるとは考えにくいと判断された。

また、本組換えワタに付与されたチョウ目害虫抵抗性は、同種間での競合における優位性をある程度高めることが予想される。しかし、人の手助けがないと繁殖できない栽培植物であるワタが、本形質が付与されたことによるのみで、自然条件下で自生化し、自己繁殖できる野生植物になるほど競合における有意性が高まるとは考えられない。

以上のことから、本組換えワタは葉形(葉長)及び地下部重量において有意差が認められ、チョウ目害虫抵抗性を有するが、上記のようにこれらは競合における優位性を大きく高めるほどの変化ではなく、またそれぞれの形質は互いに影響しあうとは考えにくい。従ってこれらの形質を全て併せ持ったとしても、競合における優位性が高まることはないと考えられた。

このことから、競合における優位性に起因する生物多様性を生じる恐れがないと判断された。

有害物質の産生性に関して、鋤き込み試験、後作試験、土壤微生物相試験を行ったが、本組換えワタに他の作物の生育を阻害する有害物質が含まれているとは考えにくいと判断された。また、本組換えワタ中には Cry2Ab 及び改変 Cry1Ac 蛋白質が発現している為、本組換えワタの花粉による非標的チョウ目昆虫への影響が懸念されるが、ワタの花粉重は比較的軽く、粘着性があるため飛散する可能性は少ない。従ってワタを直接摂食しない非標的チョウ目昆虫が本組換えワタの花粉に暴露される可能性は低いと判断された。

また、ワタの花粉重は比較的軽く、粘着性があるため飛散する可能性は少なく、その為、ワタを直接摂食しない非標的チョウ目昆虫が Cry2Ab 及び改変 Cry1Ac 蛋白質を発現する花粉に暴露される可能性は低いと考えられる。以上から、有害物質産生性に起因する生物多様性を生じる恐れはないと判断された。

我が国では本組換えワタが属する四倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は自生していないことから、本組換えワタが交雑性に起因する生物多様性影響を生じるおそれはないと判断された。

よって、総合評価として、本組換えワタを申請書に示した第一種使用等の内容に従って使用した場合に生物多様性が生ずるおそれはないと判断した。

## 緊急措置計画書 (食用・飼料用に供する場合)

平成16年5月20日

氏名 日本モンサント株式会社  
代表取締役社長 山根精一郎  
住所 東京都中央区銀座4-10-10  
銀座山王ビル8F

第一種使用規程の承認を申請しているチョウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac*, *cry2Ab*, *Gossypium hirsutum* L.)(15985, OECD UI: MON-15985-7)(以下、本組換えワタという)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本組換えワタに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

- 1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者は以下に示す通りである。  
個人名・所属は個人情報につき非開示
- 2 第一種使用等の状況の把握の方法  
弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。
- 3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法  
生物多様性影響に関して必要に応じて生産国の生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。
- 4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するための具体的な措置の内容  
具体的措置として、特定された問題に応じ、輸入された本組換えワタの環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本組換えワタがあった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること、必要に応じて本組換えワタが日本に輸入されないようにすること等、必要な措置を実行する。
- 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制  
生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。