

除草剤グリホサート及び 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタ (*2mepsps*, *hppdPfW336-1Pa*, *Gossypium hirsutum* L.)(GHB811, OECD UI:BCS-GH811-4) 申請書等の概要

5	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	3
	1. 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	3
	(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	3
10	(2) 使用等の歴史及び現状.....	4
	(3) 生理学的及び生態学的特性.....	5
	イ 基本的特性	5
	ロ 生息又は生育可能な環境の条件.....	5
	ハ 捕食性又は寄生性	5
15	ニ 繁殖又は増殖の様式	6
	ホ 病原性	7
	ヘ 有害物質の産生性	7
	ト その他の情報	7
	2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	8
20	(1) 供与核酸に関する情報.....	8
	イ 構成及び構成要素の由来	8
	ロ 構成要素の機能	10
	(2) ベクターに関する情報.....	17
	イ 名称及び由来	17
25	ロ 特性	17
	(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	19
	イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	19
	ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法.....	19
	ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過.....	19
30	(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性	21
	(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	25
	(6) 宿主又は宿主に属する分類学上の種との相違	25
	3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	28
	(1) 使用等の内容.....	28
35	(2) 使用等の方法.....	28

	(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	28
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置	28
5	(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果	28
	(6) 国外における使用等に関する情報	28
	第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	30
10	1. 競合における優位性	30
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	30
	(2) 影響の具体的内容の評価	30
	(3) 影響の生じやすさの評価	30
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	30
15	2. 有害物質の産生性	31
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	31
	(2) 影響の具体的内容の評価	31
	(3) 影響の生じやすさの評価	31
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	32
20	3. 交雑性	32
	(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	32
	(2) 影響の具体的内容の評価	32
	(3) 影響の生じやすさの評価	32
	(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	32
25	4. その他の性質	32
	第三 生物多様性影響の総合的評価	33
	参考文献	35
30	別添資料の内容	40
	緊急措置計画書	41

第一種使用規程承認申請書

平成 30 年 9 月 12 日

農林水産大臣 齋藤 健 殿
環境大臣 中川 雅治 殿

氏名 BASF ジャパン株式会社
申請者 代表取締役社長 石田博基 印
住所 東京都港区六本木六丁目 10 番 1 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	除草剤グリホサート及び 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタ (2mepsps, hppdPfw336-1Pa, <i>Gossypium hirsutum</i> L.)(GHB811, OECD UI:BCS-GH811-4)
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	—

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

5 (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：アオイ科 ワタ属ワタ(陸地棉)

10 英名：upland cotton

学名：*Gossypium hirsutum* L.

② 宿主の品種名

15 宿主はワタ(*Gossypium hirsutum* L.)の品種Coker312である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

アオイ科の *Gossypium* 属 (以下、「ワタ属」という。) は、熱帯及び亜熱帯の
20 乾燥地帯から半乾燥地帯にかけて世界におよそ 50 種が分布している (OECD,
2008)。そのうちのおよそ 45 種は2倍体種であり、その地理的分布からアフリ
カ・アラビア群 (*Gossypium* 亜属)、オーストラリア群 (*Sturtia* 亜属)、アメリ
カ群 (*Houzingenia* 亜属) に分類される。また、5種は4倍体種 (複2倍体) であ
り、中南米およびガラパゴス諸島、ハワイ諸島に分布し、アメリカ・太平洋群
25 (*Karpas* 亜属) に分類される (OECD, 2008)。

G. hirsutum (以下「ワタ」という。) は4倍体種であり、中南米地域で A ゲノ
ムを持つ旧大陸のアジア綿と D ゲノムを持つ新大陸の *G. raimondi* との交雑
で生じたと考えられている (堀田, 1989; 巽, 2000)。自生個体は世界的に広く見
られるが、群生していることは希で、海岸沿いや小島に分散して生育している
30 (Lee, 1984)。

また、ワタ属の栽培種にはワタ (*G. hirsutum*) の他に、海島棉とも呼ばれる4
倍体種のピマ綿 (*G. barbadense*) と、2倍体種のアジア綿 (*G. herbaceum*、*G.*
arboreum) がある。*G. barbadense* は南米の北西部が原産で、南米のペルーやエ
クアドル、ブラジル、またカリブ海沿岸各国、アメリカ南部で自生している。
35 *G. herbaceum* (シロバナワタ) は南アフリカのサバンナ地帯で生じ、野生化した
系統がアフリカに分布しており、また、*G. arboreum* (キダチワタ) はインド原

産でアジア地域に自生している（堀田, 1989; OECD, 2008）。

我が国の自然界において、ワタ及びワタと交雑可能な他のワタ属植物の自然分布は報告されていない。

5 (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

ワタは世界におけるワタ属栽培種4種全体の作付面積のうち 90%以上を占め
10 ている（OECD, 2008）。メキシコおよびグアテマラを中心とする地域で古くから
栽培され、18 世紀にはアメリカに導入、その後世界各地に広まった（巽, 2000）。

我が国では古来、ワタ属はなく、16 世紀から 18 世紀にかけて2倍体品種で
ある *G. arboreum* が全国的に栽培されたが、19 世紀に入り急速に減少し、現在
15 は地域振興や観賞の用途としてわずかに栽培されているのみとなっている（原
田, 1981; 堀田, 1989）。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

ワタは、工芸作物の中では最大の栽培面積を持ち、世界で広く栽培されてい
20 る。2016/17 年における全世界のワタの栽培面積は 2,928 万ha であり、上位国
はインド 1,085 万 ha、米国 385 万 ha、中国 290 万 ha、パキスタン 240 万
ha となっている（USDA, 2018）。我が国では、現在、商業用栽培は行われてい
ない。

ワタの栽培には排水性・保水性が高く有機質を多く含んだ土壌が適している。
25 温度はワタの成長や収量を左右する重要な因子であり、深さ 10cm における地
温が 14℃以上の日が少なくとも3日続く時期に播種を行う（OECD, 2008）。生育
初期における地上部の成長は極めて緩やかである（Robertson *et al.*, 2007）。主要
産地での大規模栽培の畑では機械による収穫が行われるが、葉片などの混入を
防ぐために、収穫に先立って薬剤により落葉させる。また、落葉させることに
30 よりさく果が日光にさらされ、さく果の裂開が促進される（巽, 2000）。

我が国では綿実が搾油用及び飼料用として輸入されており、2017 年の綿実の
輸入量は 99,482t である。主な輸入相手国は米国（51,830t）、オーストラリア
（27,509t）及びブラジル（16,319t）であった（財務省, 2018）。なお、搾油用と
して、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、搾油し
35 ている。

また、2017 年の綿実油の輸入量は 1,978t であり、主な輸入相手国はオース

トラリア (1,111t)、トルコ (617t) 及びブラジル (128t)、同年の綿実油粕の輸入量は 1,914t で輸入相手国はインド (1,072t)、中国 (820t) 及び米国 (22t) であった (財務省, 2018)。

ワタの主な用途は繊維であり、綿花は糸に紡がれる。また、地毛は短いためセルロースや紙の原料とされる。種子は 18~24%の油脂と 16~20%の蛋白質を含み、直接飼料としても用いられる他、抽出した油 (綿実油) は食用油として、また、搾油粕 (綿実油粕) 及び種子は家畜の飼料として重要であり、肥料としての需要も高い (巽, 2000)。

10 (3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ワタは潜在的には多年生で高さ 1.5~2.0m まで成長するが、通常栽培においては一年生作物として栽培され、高さは 1.0~1.5m に抑えられる。主茎から単軸性の発育枝と双軸性の結果枝が生じ、結果枝にはそれぞれ6~8個の花が形成される (堀田, 1989; OECD, 2008)。さく果は内部が3~5室に分かれており、完熟すると裂開する (巽, 2000)。種子は成熟するにつれて種皮細胞の一部を伸長させ、1つの細胞からなる綿毛を形成する。綿毛は、リントと呼ばれる長いものと、リントと呼ばれる粗く短いものの2種類に分けられる (OECD, 2008)。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ワタの生育の最適温度は 30~35°Cであり (OECD, 2008)、生育のためには 15°C以上の年平均気温および 180~200 日以上の無霜期間が必要である (巽, 2000)。通常、年降水量が 1,000~1,500mm のところで栽培されるが、灌漑ができれば降雨は少ない方がよい (原田, 1981)。

ハ 捕食性又は寄生性

30

—

35

二 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

5 種子は綿毛で覆われているため、脱粒性は低い。ワタ属の原種では2～3ヶ月の休眠性をもつが、栽培種は育種によって休眠性は最小限に抑えられている、ないしは完全に失っている (OECD, 2008)。ほ場に散布された種子は、多湿の環境下においては、通常次のシーズンまで生存しない (Jenkins, 2003)。また、国内で実施した遺伝子組換えワタの隔離ほ場試験においては、越冬性試験において非遺伝子組換えワタ、遺伝子組換えワタともに全て枯死することが確認されている。

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

15

ワタは基本的に栄養繁殖せず、種子繁殖する。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があるという報告はない (OGTR, 2008)。

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

20

ワタは、主に自家受粉を行う植物であるが、媒介昆虫により他家受粉し、他家受粉率は5～30%とされている (Kerkhoven & Mutsaers, 2003)。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

25

ワタの花粉の生産量は1花当たり約45,000粒である。ワタの花粉は直径100～140 μm と大きく、重い。また、粘性があるため風により飛散する可能性は低く、自然交雑はマルハナバチ (*Bombus* 属) やミツバチ (*Apis* 属) 等の媒介により起きる (McGregor, 1976; OECD, 2008)。オーストラリアで行われた野外試験では、ワタ畑から1m離れた場合の同ワタとの交雑率は0.4%以下であり、16m離れると0.03%以下まで減少した (Llewellyn & Fitt, 1996)。一方で、ミツバチが多く存在するワタ畑において、花に蛍光粒子を付着させて蛍光粒子の飛散を追跡した結果、約45～60m離れた箇所において約1.6%のワタの花から蛍光粒子が発見され、ミツバチの存在によって花粉が飛散する可能性が示唆された (Johansson, 1959)。花粉の寿命は、オーストラリアでの試験において、32時間

35

で初期の 95%から 10%に低下したとの報告がある (Richards *et al.*, 2005)。

ホ 病原性

5 —

へ 有害物質の産生性

ワタの種子には、ヒトや動物が大量に摂取した場合に悪影響を及ぼし得るゴ
10 ッシポールやシクロプロペン脂肪酸 (マルバリン酸、ステルクリン酸等) が含
まれている (OECD, 2008)。そのため、ワタ種子の給餌は制限されているものの、
反芻動物はこれらの物質を第一胃で消化して無毒化できるため、影響を受けに
くい (Kandyliis *et al.*, 1998)。ゴッシポールは非反芻動物や鳥類、昆虫、微生物に
15 毒性を示し、ほ乳類においては食欲減退、体重減少、呼吸困難を引き起こす
(OECD, 2008)。

シクロプロペン脂肪酸は、種子の総脂質中のおよそ 0.5~1.0 %を占める。本
物質は鶏において卵黄の変色及びふ化率の低下などの有害な影響を及ぼすと考
えられるものの、搾油工程の脱臭過程において著しく減少することが知られて
いる (OECD, 2004; OECD, 2008)。

20 ワタの種子中に含まれるこれらの有害物質や、種子が大量の繊維に覆われて
いることなどから、鳥類や野生の哺乳動物はワタ種子の摂食を避けると考えら
れる。

ト その他の情報

25

我が国では、食品や飼料としての使用等について承認された遺伝子組換えワ
タが、こぼれ落ちた際に発芽可能な種子の形態で、飼料用や製油用に輸入され
ている。これらの輸入されたワタの種子の流通時のこぼれ落ちに由来すると考
えられる個体の生育については、当該種子を使用する加工施設等の周辺で、2014
30 年に 1 個体、2015 年に 4 個体、2016 年に 1 個体の計 6 個体報告されてい
る (農林水産省, 2017a; 農林水産省, 2017b)。

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 イ 構成及び構成要素の由来

除草剤グリホサート及び4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタ (*2mepsps*, *hppdPjW336-1Pa*, *Gossypium hirsutum* L.)(GHB811, OECD UI: BCS-GH811-4)(以下、「本組換えワタ」とする。)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を表1に示した。

表1 構成要素のサイズ、ベクター上の位置、由来及び機能

構成要素	サイズ (bp)	ベクター上の 位置	由来及び機能
T-DNA 領域			
<i>hppdPjW336-1Pa</i> 遺伝子発現カセット			
ThistonAt	667	83 - 749	シロイヌナズナ(<i>Arabidopsis thaliana</i>)由来のヒストン H4 遺伝子の 3' 非翻訳領域 (Chabouté <i>et al.</i> , 1987)を含む配列で、転写を終結させ、ポリアデニル化サイトを含む。
	16	750 - 765	合成ポリリンカー配列
<i>hppdPjW336-1Pa</i>	1077	766 - 1842	<i>Pseudomonas fluorescens</i> A32 株の 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼをコードする遺伝子を由来とし、336 番目のグリシンをトリプトファンへ置換している。この置換により 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤への耐性を付与する (Boudec <i>et al.</i> , 2001)。なお、ワタにおける発現に適するようにコドン最適化しているが、この改変によりアミノ酸配列は変化していない。
<i>TPotpY-1Pa</i>	372	1843 - 2214	ヒマワリ (<i>Helianthus annuus</i>) 及びトウモロコシ (<i>Zea mays</i>) の RuBisCo 小サブユニット遺伝子由来の色素体ペプチドのコード領域 (アミノ酸配列 55 番目をチロシンへ置換している) を基に合成された (Lebrun <i>et al.</i> , 1996)。HPPD W336 蛋白質を色素体へ輸送する。なお、ワタにおける発現に適するようにコドン最適化しているが、この改変によりアミノ酸配列は変化していない。
	8	2215 - 2222	合成ポリリンカー配列

構成要素	サイズ (bp)	ベクター上の位置	由来及び機能
Pcsmv	513	2223 - 2735	Cassava Vein Mosaic Virus のプロモーター領域の配列を含み、 <i>hppdPFW336-1Pa</i> 遺伝子を構成的に発現させる。
2mepsps 遺伝子発現カセット			
Ph4a748	917	2834 - 3750	シロイヌナズナ(<i>A. thaliana</i>)のヒストン H4 遺伝子のプロモーター領域を含み、2mepsps 遺伝子を構成的に発現させる (Chabouté <i>et al.</i> , 1987)。
	39	3751 - 3789	合成ポリリンカー配列
intron1 h3At	466	3790 - 4255	シロイヌナズナ(<i>A. thaliana</i>)由来のヒストン H3.3 第II 遺伝子の第一イントロンを含む配列 (Chaubet <i>et al.</i> , 1992)。Ph4a748 プロモーターとの組み合わせで、構成的に発現レベルを高くする。
	13	4256 - 4268	合成ポリリンカー配列
TPotpC	372	4269 - 4640	ヒマワリ(<i>H. annuus</i>)及びトウモロコシ(<i>Z. mays</i>)の RuBisCo 小サブユニット遺伝子由来の色素体ペプチドのコード領域(アミノ酸配列 55 番目をチロシンへ置換している)を基に合成された(Lebrun <i>et al.</i> , 1996)。2mEPSPS 蛋白質を色素体へ輸送する。
2mepsps	1338	4641 - 5978	トウモロコシ(<i>Z. mays</i>)由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子(<i>epsps</i> 遺伝子)に点突然変異を導入した、2 変異 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(2mEPSPS 蛋白質)をコードする遺伝子で、除草剤グリホサートに対する耐性を付与する (Lebrun <i>et al.</i> , 1997)。
	20	5979 - 5998	合成ポリリンカー配列
ThistonAt	667	5999 - 6665	シロイヌナズナ(<i>A. thaliana</i>)由来のヒストン H4 遺伝子の 3'非翻訳領域 (Chabouté <i>et al.</i> , 1987)を含む配列で、転写を終結させ、ポリアデニル化サイトを含む。
その他			
RB	25	1 - 25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> の T-DNA 由来の右側境界反復配列 (Zambryski, 1988)
	57	26 - 82	合成ポリリンカー配列
	60	2736 - 2795	合成ポリリンカー配列
lox	34	2796 - 2829	バクテリオファージ P1 の Cre リコンビナーゼに対する 34bp の認識配列 (Hoess and Abremski, 1985)。
	4	2830 - 2833	合成ポリリンカー配列
	4	6666 - 6669	合成ポリリンカー配列

構成要素	サイズ (bp)	ベクター上の位置	由来及び機能
lox	34	6670 - 6703	バクテリオファージ P1 の Cre リコンビナーゼに対する 34bp の認識配列 (Hoess and Abremski, 1985)。
	128	6704 - 6831	合成ポリリンカー配列
LB	25	6832 - 6856	<i>A. tumefaciens</i> の T-DNA 由来の左側境界反復配列 (Zambryski, 1988)。
外骨格領域(本組換えワタには導入されていない)			
	305	6857 - 7161	pTiAch5 の左側境界反復部位の Ti-plasmid 配列(Zhu <i>et al.</i> , 2000)。
<i>aadA</i>	1785	7162 - 8946	大腸菌(<i>Escherichia coli</i>)のアミノグルコシド系抗生物質耐性遺伝子を含む配列(Fling <i>et al.</i> , 1985)。
ORI pVS1	2790	8947 - 11736	<i>A. tumefaciens</i> における複製のために導入した <i>Pseudomonas</i> 由来のプラスミド pVS1 の複製起点を含む配列 (Hajdukiewicz <i>et al.</i> , 1994)。
ORI ColE1	1157	11737 - 12893	<i>E. coli</i> における複製のために導入した <i>E. coli</i> のプラスミド pBR322 由来複製起点を含む配列(Bolivar <i>et al.</i> , 1977)。
	206	12894 - 13099	pTiAch5 の右側境界反復部位の Ti-plasmid 配列(Zhu <i>et al.</i> , 2000)。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

ロ 構成要素の機能

- 5 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

本組換えワタの作出に用いた供与核酸の構成要素の機能は表1(p.8-10)に示した。

10

- ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

15 2mEPSPS蛋白質

5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(以下、「EPSPS蛋白質」とする。)は、植物、菌類及び微生物に特有の芳香族アミノ酸や芳香族化合物の生合

成経路であるシキミ酸経路を触媒する酵素の一つであり、ホスホエノールピルビン酸(PEP)とシキミ酸-3-リン酸(S3P)から5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸(EPSP)を生ずる反応を触媒する。除草剤グリホサートはEPSPS蛋白質を阻害してシキミ酸経路を止め、その結果、植物は蛋白質の合成に必須の芳香族アミノ酸を合成できなくなり、枯死する(Lebrun *et al.*, 1997)。

本組換えワタに導入された2*mepsps*遺伝子の供与体は、トウモロコシである。2*mepsps*遺伝子は、トウモロコシから単離された野生型*epsps*遺伝子の翻訳領域2ヵ所に部位特異的に点突然変異を導入して作製された。この突然変異により、2mEPSPS蛋白質のアミノ酸配列は、野生型*epsps*遺伝子産物であるEPSPS蛋白質の102番目のトレオニン(Thr)がイソロイシン(Ile)に、また、106番目プロリン(Pro)がセリン(Ser)にそれぞれ変化している(Lebrun *et al.*, 1997)。これにより、2mEPSPS蛋白質はグリホサートに対する結合親和性が低くなり、グリホサート存在下でも十分な酵素活性を維持することができシキミ酸合成が正常に機能するため、植物は生育することができる(Lebrun *et al.*, 1997)。

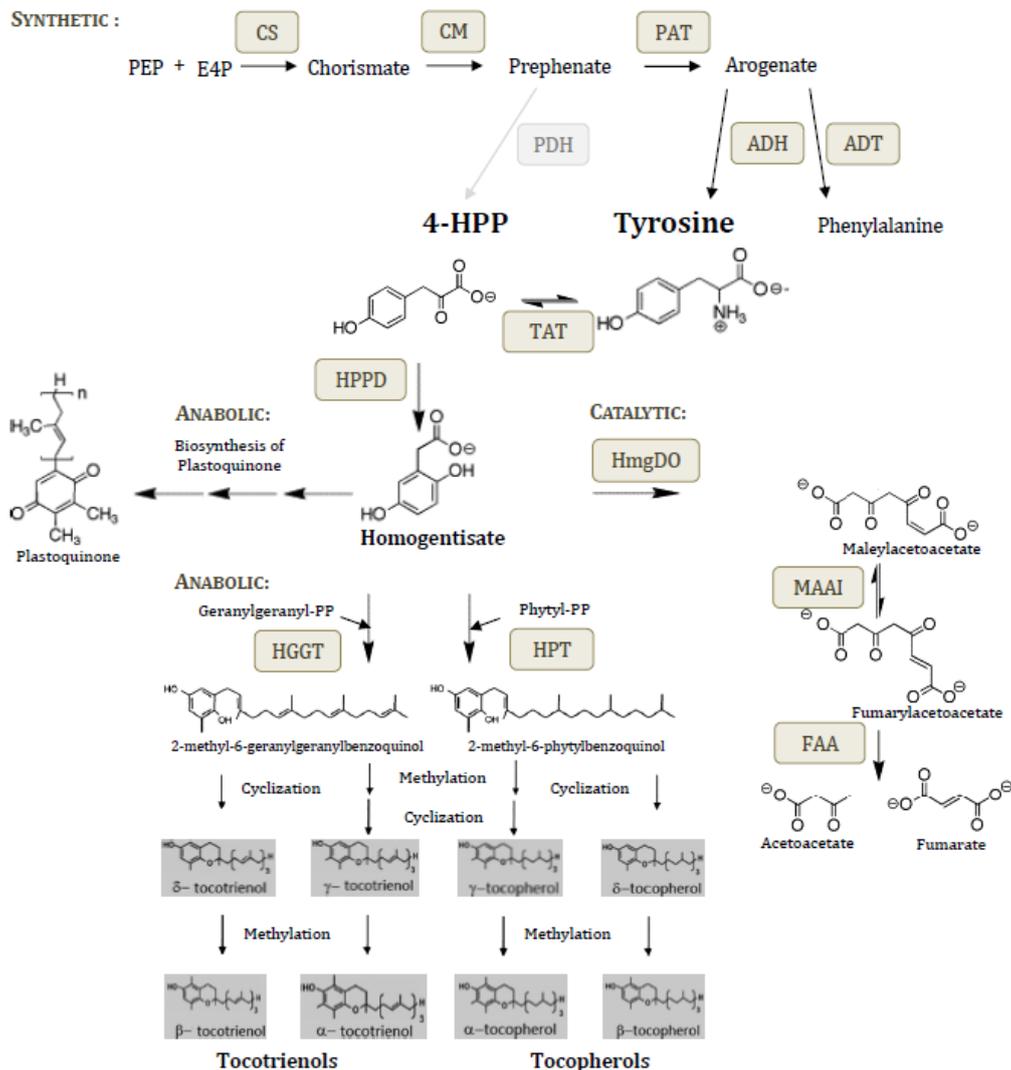
また、2mEPSPS蛋白質のアミノ酸配列に基づき、2017年にCOMPAREデータベース¹(version 1, 検索日: 2017年3月13日)を用いて既知のアレルゲンとの包括的な相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった。

なお、2*mepsps*遺伝子は、我が国において平成22年6月11日に第一種使用規程承認が得られている除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614(OECD UI:BCS-GH002-5)に導入されている。

¹ COMprehensive Protein Allergen REsource (COMPARE; <http://comparedatabase.org/>): 本データベースは、十分な裏付けのあるアレルギー性の蛋白質をデータベース化することを目的とし、International Life Sciences Institute's Health and Environmental Sciences Institute (ILSI-HESI) によって管理され、一般に公開されているアレルゲンデータベースである。初めのバージョンは、2015年5月から2016年5月にNational Center for Biotechnology (NCBI)に登録され、注釈がついている配列を元にデータベースに入れる候補を洗い出し、それらアレルギーの専門家が論文等の蛋白質のアレルギー性試験の結果(IgEによる免疫学的検定)等を元にデータベースに追加する配列を決定した(1970の配列が含まれている)。今後は、NCBIに追加された配列に基づき1年に1回データベースを更新し、また、それとは独立して新たな論文等を元に候補の蛋白質を追加する。なお、2016年のAllergenOnlineデータベースに含まれていた全配列を含んでいる。

HPPD W336蛋白質

4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ(4-hydroxy phenylpyruvate dioxygenase)(以下、「HPPD蛋白質」とする。)は、微生物、菌類、植物及び哺乳
5 類を含む動物に広くみられる酵素であり、HPPD蛋白質が関与する代謝経路は植
物と非光合成生物で異なっている。HPPD蛋白質はチロシン代謝経路において4-
ヒドロキシフェニルピルビン酸(4-HPP)からホモゲンチジン酸(Homogentisate
(HGA))の合成を触媒し(図1, p.13; 図2, p.14)、生成されたHGAは、微生物及び動
物ではフマル酸及びアセト酢酸に代謝される(Brownlee *et al.*, 2004)。植物ではこ
10 の反応に加え、HGAはトコトリエノール(Tocotrienol)、トコフェロール
(Tocopherol)及びプラストキノン(Plastquinone)合成に利用される。これらは光合
成電子伝達系や抗酸化反応に必須な化合物である(Fritze *et al.*, 2004)(図1, p.13)。



5 図1 チロシン代謝経路におけるHPPD蛋白質

図中の略語の正式名称

CS: chorismate synthase

CM: chorismate mutase

E4P: erythrose 4-phosphate

PEP: phosphoenol pyruvate

PAT: prephenate aminotransferase

ADH: arogenate hehydrogenase

ADT: arogenate dehydratase

PDH: prephenate dehydrogenase

4-HPP: 4-hydroxypyruvate

HPPD: hydroxyphenylpyruvate dioxygenase

TAT: tyrosine aminotransferase

HmgDO: homogentisate dioxygenase

HPT: homogentisate phytyltransferase

HGGT: homogentisate geranylgeranyltransferase

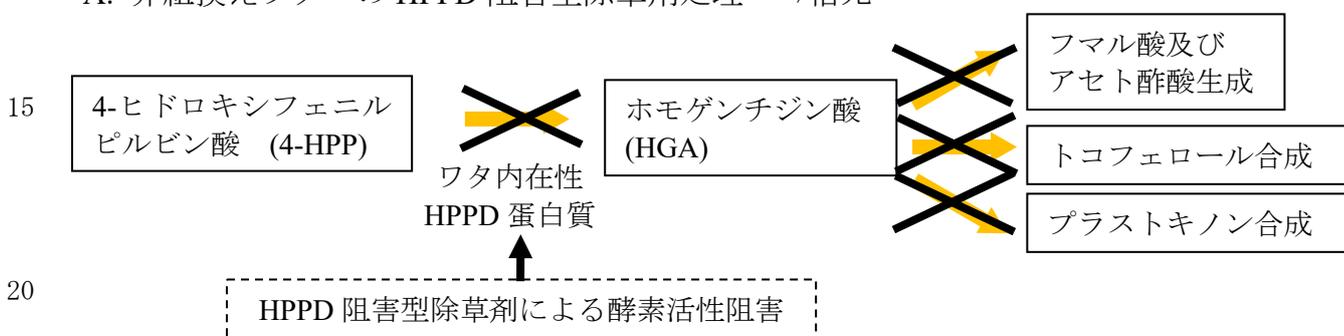
MAAI: maleylacetoacetate isomerase

FAA: fumaryl acetoacetase

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤（以下「HPPD 阻害型除草剤」とする。）の1つであるイソキサフルトールは、植物の根及び葉より吸収されると速やかに2-シアノ-3-シクロプロピル-4-(2-メチルスルホニル-4-トリフルオロメチルフェニル)プロパン-1,3-ジオン(除草剤イソキサフルトール由来のジケトニトリル構造物。以下、「DKN」とする。)へと代謝され、生じたDKNが4-HPPと競合してHPPD蛋白質の活性部位に可逆的に結合することにより、HPPD蛋白質の活性を阻害する(Matringe *et al.*, 2005)。その結果、植物はHGAを合成できなくなり、チロシン分解、プラストキノン及びトコフェロールの合成が阻害され、光合成が不安定となり、葉緑体の分解を伴った白化症状を示し、枯死する(図1, p.13, 図2)。

A. 非組換えワタへの HPPD 阻害型除草剤処理 ⇒枯死



B. 本組換えワタへの HPPD 阻害型除草剤処理 ⇒除草剤耐性

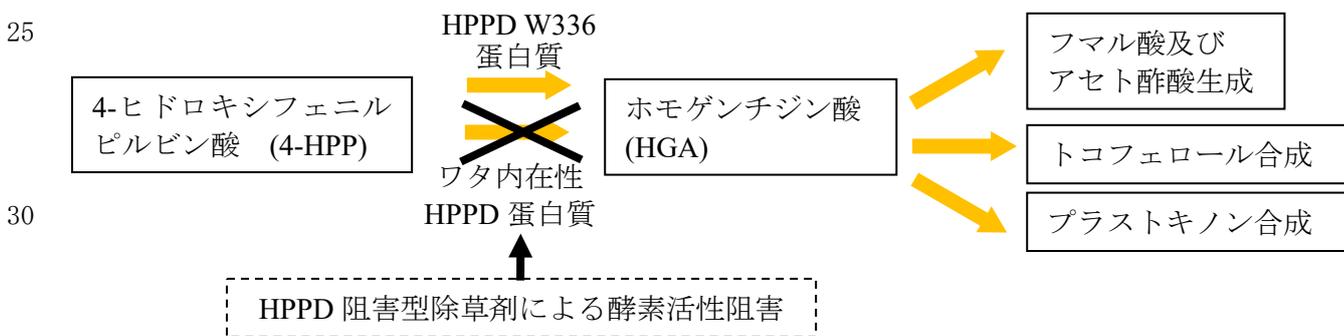


図2 本組換えワタにおける HPPD W336 蛋白質の作用機作

HPPD 蛋白質は 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸(4-HPP)からホモゲンチジン酸(HGA)への反応を触媒する。ワタ内在性の HPPD 蛋白質活性は HPPD 阻害型除草剤によって阻害されるため、非組換えワタは枯死する(A)。一方、HPPD W336 蛋白質を発現する本組換えワタでは、HPPD 阻害型除草剤の存在下でも 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸からホモゲンチジン酸への反応が触媒され、HPPD 阻害型除草剤耐性を示す(B)

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

本組換えワタに導入された*hppdPfW336-1Pa*遺伝子の供与体は、*P. fluorescens* A32株である。*hppdPfW336-1Pa*遺伝子は、*P. fluorescens* A32株から単離された野生型*hppd*遺伝子の翻訳領域の1ヵ所に部位特異的に突然変異を導入して作製された。この突然変異によりHPPD W336蛋白質のアミノ酸配列は野生型HPPD蛋白質の336番目のアミノ酸のグリシン(Gly)がトリプトファン(Trp)に変化し、HPPD 5 阻害型除草剤に対する耐性が付与されている(Boudec *et al.*, 2001)。

DKNが4-HPPの競合阻害剤となることから、DKNに対する結合定数(constant of association)値を*P. fluorescens*由来の野生型HPPD蛋白質とHPPD W336蛋白質で比較したところ、前者の $1.3 \times 10^4 (\text{M}^{-1}\text{S}^{-1})$ に対し後者は $4.4 \times 10^2 (\text{M}^{-1}\text{S}^{-1})$ であり、野生型HPPD蛋白質のDKNに対する結合定数値はHPPD W336蛋白質のそれと比較して29.5倍高かった (Matringe *et al.*, 2005)。その結果、HPPD W336蛋白質はDKNによる活性阻害を受けずHGA合成が機能するため、チロシン分解、トコフェロール合成及びプラストキノンの合成が正常に行われ、生育することができる(図2, p.14)。

また、HPPD W336蛋白質のアミノ酸配列に基づき、2017年にCOMPAREデータベース¹(version 1, 検索日: 2017年3月13日)を用いて既知のアレルゲンとの包括的な相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンとの相同性は認められなかった。

なお、本組換えワタに導入された*hppdPfW336-1Pa*遺伝子は、我が国において平成28年11月に第一種使用規程承認が得られている除草剤グリホサート及びイソキサフルトール耐性ダイズFG72(OECD UI: MST-FGØ72-2)に導入されている*hppdPfW336*遺伝子のDNAコドンワタでの発現に最適化しているが、この改変によりHPPD W336蛋白質のアミノ酸配列は変化していない。

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

2mEPSPS蛋白質

2mEPSPS蛋白質と機能的に同一であるEPSPS蛋白質は芳香族アミノ酸を生合成するためのシキミ酸経路を触媒する酵素であるが、本経路における律速酵素ではなく、EPSPS活性が増加しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられる(Weiss and Edwards, 1980; Herrmann, 1983)。また、通常の40倍のEPSPS蛋白質を生成する植物培養細胞において、最終産物の芳香族アミノ酸は過剰に合成されないことが報告されている(Smart *et al.*, 1985)。

なお、同一の遺伝子を有する除草剤グリホサート耐性ワタGHB614において、

芳香族アミノ酸の値に影響がないことが示されている。

また、EPSPS蛋白質はPEP及びS3P以外にS3Pの類似体であるシキミ酸とも反応
5 することが知られているが、反応の起こり易さを示す特異性定数(Specificity
constant) k_{cat}/K_m の値で比較すると、EPSPS蛋白質のシキミ酸との反応特異性は、
EPSPS蛋白質のS3Pとの反応特異性の約200万分の1に過ぎず (Gruys *et al.*,1992)、
EPSPS蛋白質は高い基質特異性を有している。

以上から、*2mepsps*遺伝子の発現により、宿主の持つ代謝系への影響はないと
考えられる。

10

HPPD W336蛋白質

HPPD W336蛋白質と機能的に同一なHPPD蛋白質は、好氣的代謝でのチロシン
分解において4-HPPを基質としHGAへの反応を触媒することが知られているが、
植物においてはHGAを基にトコフェロール、トコトリエノール及びプラストキ
15 ノンの同化が行われる。既存のHPPD蛋白質に加えてHPPD W336蛋白質が発現す
ることにより、HPPD蛋白質の活性が高まることでトコフェロール及びトコトリ
エノール量の増加が考えられたが、HPPD蛋白質が本経路における律速酵素では
ないことは多くの文献によって報告されている(Mène-Saffrané and Dellapenna,
2010)。実際に、HPPD蛋白質を過剰発現させたナタネ、イネ、タバコ及びシロイ
20 ヌナズナにおいて本経路の最終産物の一つであるトコフェロールの量は変わら
ないかわずかに上昇した程度であった。この理由の一つとして、4-HPPの上流に
あるチロシン量がフィードバック制御を受けているためと考えられている
(Tsegaye *et al.*, 2002; Falk *et al.*, 2003; Raclaru *et al.*, Mène-Saffrané and Dellapenna,
2010; Farré *et al.*, 2012)。なお、本組換えワタのチロシン及び総トコフェロール量
25 において、対照の非組換えワタと同程度であることが分析によって示されてい
る。

HPPD蛋白質の基質特異性に関し、真核生物及び原核生物におけるHPPD蛋白質
の基質となり得る化合物について、文献調査を行った。その結果、HPPD蛋白質
30 の基質として知られる4-HPPのほかに、植物体内に見られ基質となり得る化合
物としてフェニルピルビン酸(PP)、3,4-ジヒドロキシフェニルピルビン酸
(3,4-dHPP)、 α -ケトイソカプロン酸(KIC)、 α -ケト- γ -(メチルチオ)ブチル酸
(KMTB)が挙げられた(別添資料1)。

35

また、*P. fluorescens*の野生型HPPD蛋白質とHPPD W336蛋白質の4-HPPに対す
る反応定数(K_m , K_{cat})を調査したところ、HPPD W336蛋白質の活性速度(K_{cat} ; 野生

型HPPD $4.0 \pm 1.4 \text{ s}^{-1}$, HPPD W336 $1.9 \pm 0.4 \text{ s}^{-1}$)は低下していたが、両蛋白質の4-HPPに対する親和性(K_m ; 野生型HPPD $262 \pm 54 \mu\text{M}$, HPPD W336 $262 \pm 67 \mu\text{M}$)は同等であった(別添資料2, Table 1, p.9)。そこで、基質となり得る4つの化合物それぞれについて両蛋白質との反応を4-HPPと相対的に比較したところ、PP、KIC及びKMTBでは反応がみられなかった。一方、3,4-dHPPのみわずかに反応が見られたがその値は非常に小さく(野生型HPPD 2.4%, HPPD W336 4.8%)、また、人工的に調整した*in vitro*における結果であることから、3,4-dHPPは植物体内において自然条件下では基質としての機能はないと考えられた(別添資料2, Table 2, p.9)。

以上から、HPPD W336蛋白質の発現により、宿主の代謝系に及ぼす影響は低いと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

本組換えワタの作出に用いたベクターは、大腸菌(*Escherichia coli*)由来のpGSC1700等を基に構築されたプラスミドpTSIH09である(図3, p.18)。

ロ 特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

本組換えワタの作出に用いられたプラスミドpTSIH09の全塩基数は13,099bpである(別添資料3)。プラスミドpTSIH09の構成要素は表1(p.8-10)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

プラスミドpTSIH09は、T-DNA領域配列の外側に下記に示す機能を持つ配列を有する。なお、本組換えワタ(T₁及びBC₂F₃世代; 図4の③, p.20)にはこれらの配列が導入されていないことがサザンブロット分析により確認されている(別添資料4)。

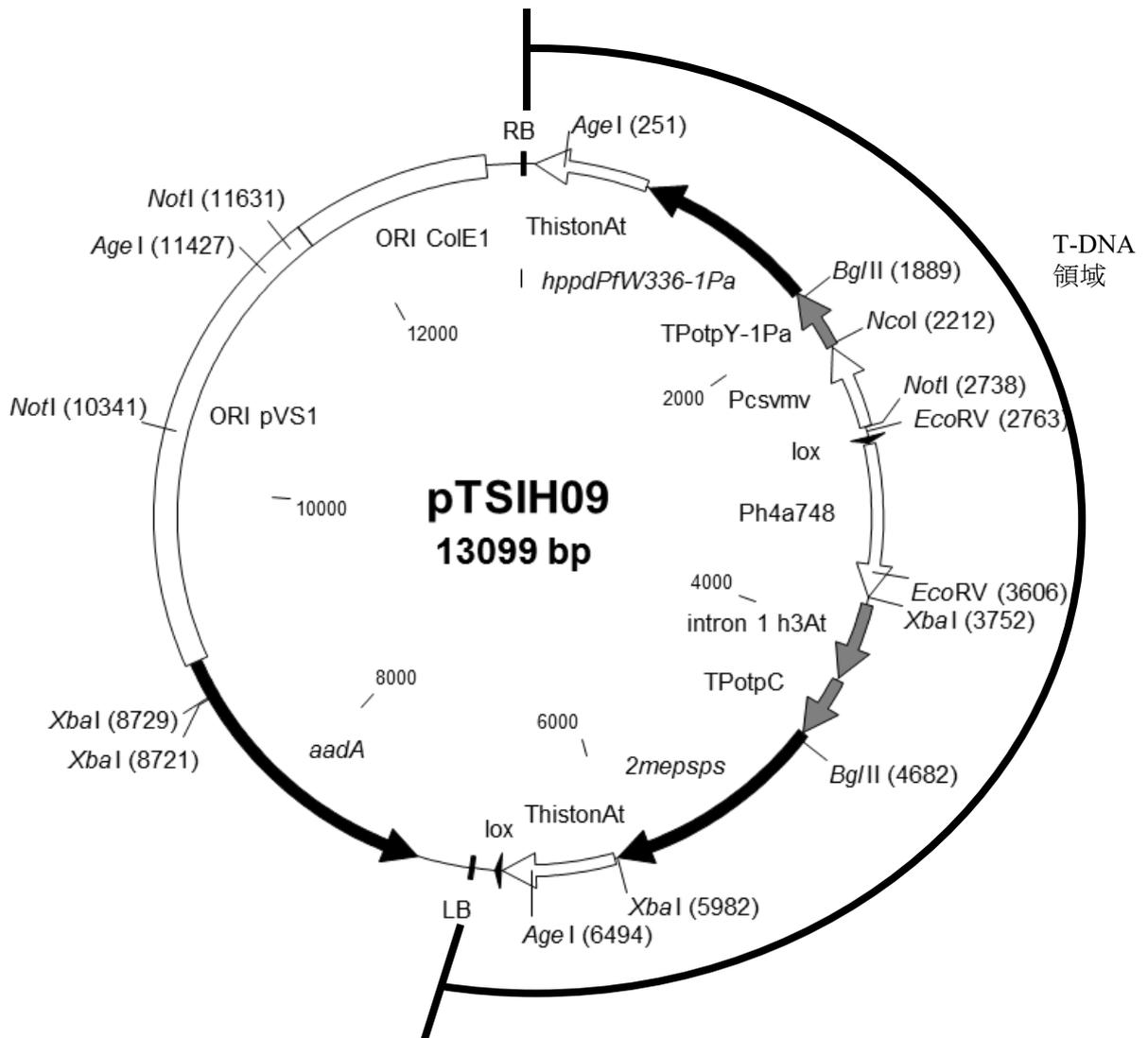
- *E. coli*のプラスミドpBR322由来複製起点(ORI ColE1; Bolivar *et al.*, 1977)及び*P. aeruginosa*のプラスミドベクターpVS1の複製起点(ORI pVS1; Hajdukiewicz *et al.*, 1994)。それぞれ、*E. coli*及び*Agrobacterium tumefaciens*において自律的複製を行わせる機能を有する。

- *E. coli*由来のアミノグリコシド系抗生物質耐性遺伝子(*aadA*; Fling *et al.*, 1985)を含む配列。*E. coli*及び*A. tumefaciens*において選抜マーカーとして利用した。

5 ③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

プラスミドpTSIH09の感染性は知られていない。

10



15

図3 プラスミドpTSIH09の構成地図及び制限酵素切断部位

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

(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

5 宿主内にはプラスミド pTSIH09 上の *2mepsps* 遺伝子発現カセット [Ph4a748]-[intron1 h3At]-[TpotpC]-[*2mepsps*]-[ThistonAt] 及び *hppdPjW336-1Pa* 遺伝子発現カセット [Pcsmv]-[Tpotp Y-1Pa]-[*hppdPjW336-1Pa*]-[ThistonAt] を含む T-DNA 領域が移入された。T-DNA 領域の構成は図3(p.18)に示した。

10 ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

既存のワタ品種 Coker 312 の種子を MS 培地上で発芽させ、プラスミド pTSIH09 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により既存のワタ品種 Coker312 の胚軸断片に導入した。

15

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

20 形質転換を行った細胞は、除草剤グリホサートを含む培地で選抜した。

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

25 抗生物質チカルシリン(Ticarcillin)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は除去されている。さらに、本組換えワタの3世代(図4の⑦, p.20)のバルク種子において、無作為に抽出した10粒の種子を1サンプルとして3サンプル用意し、それぞれのサンプルからDNAを抽出した。T-DNAとプラスミド pTSIH09 外骨格領域にまたがる位置を標的としてPCR分析を行ったところ、調査した全てのサンプルにおいて標的とする増幅産物は得られなかった。このこと
30 から、本組換えワタには形質転換に用いたアグロバクテリウム菌体は存在しないことが確認された。

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

5 形質転換後のT₀世代の植物体において、HPPD阻害型除草剤により *hppdPfw336-1Pa* 遺伝子の発現を確認した。その後、T₁世代からT₇世代までグリホサート散布により *2mepsps* 遺伝子の発現を確認するとともに、本組換えワタを選抜した。

10 本組換えワタの我が国における承認の状況を表2に示す。

表2 我が国における申請及び承認状況 (2019年9月現在)

申請先	目的	申請及び承認状況
農林水産省・環境省	環境 ¹ (隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為)	2017年5月承認
厚生労働省	食品 ²	2018年7月承認
農林水産省	飼料 ³	2018年12月承認

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

² 食品衛生法に基づく。

15 ³ 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

20

【社外秘情報につき非開示】

図4 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

② 移入された核酸の複製物が存在する場所

5 本組換えワタのヘテロ接合体を自殖することで得られた3つの世代集団(F₂、
BC₁F₂及びBC₂F₂; 図4の⑤, p.20)における*2mepsps*遺伝子及び*hppdPfw336-1Pa*遺
伝子各々の遺伝子型について、それぞれの遺伝子に特異的に設計したプライマ
ーを用いて、リアルタイムPCRにより個体ごとに接合性の判定を行った。その結
10 果について分離比の検定を行ったところ、いずれの遺伝子においても供試した
すべての世代において、両遺伝子をホモで有する個体(ホモ接合体)、ヘテロで有
する個体(ヘミ接合体)及び遺伝子を有さない個体(null分離体)の分離比が1:2:1を
示した(表3、別添資料5, Table 1~2, p.13)。この結果は、挿入遺伝子座に関して一
遺伝子座支配と仮定した場合に想定される分離比に適合することから、挿入遺
伝子は染色体上の1カ所に存在すると考えられる。

15

表3 F₂、BC₁F₂及びBC₂F₂世代におけるリアルタイムPCRによる*2mepsps*遺伝子
及び*hppdPfw336-1Pa*遺伝子各々の遺伝子型の検定

	F ₂		BC ₁ F ₂		BC ₂ F ₂	
	観測値	期待値	観測値	期待値	観測値	期待値
ホモ接合体	19	21.25	24	23	45	57.25
ヘミ接合体	49	42.50	50	46	116	114.5
null分離体	17	21.25	18	23	68	57.25
χ^2 値*	2.08		1.48		4.66	
<i>p</i> 値	0.353		0.478		0.097	

*一遺伝子座と仮定し、 χ^2 検定を実施。自由度2、有意水準5%において χ^2 値5.99以上で帰無仮説が棄却される。

20 本遺伝子型の検定では*2mepsps*遺伝子を特異的に増幅するプライマー及び*hppdPfw336-1Pa*遺
伝子を特異的に増幅するプライマーを設計した。遺伝子型の検定では量的リアルタイムPCR法を
用い、各個体の*2mepsps*遺伝子及び*hppdPfw336-1Pa*遺伝子それぞれの遺伝子型を、遺伝子コピ
25 ー数が1の場合と比較することで決定した。また、図5(p.23)に示すように、本組換え体にお
ける*2mepsps*遺伝子と*hppdPfw336-1Pa*遺伝子は同一染色体上に近接して挿入されているため、
それぞれの遺伝子型の検定結果がすべての個体で一致したことから同一の表としてまとめた。

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

30

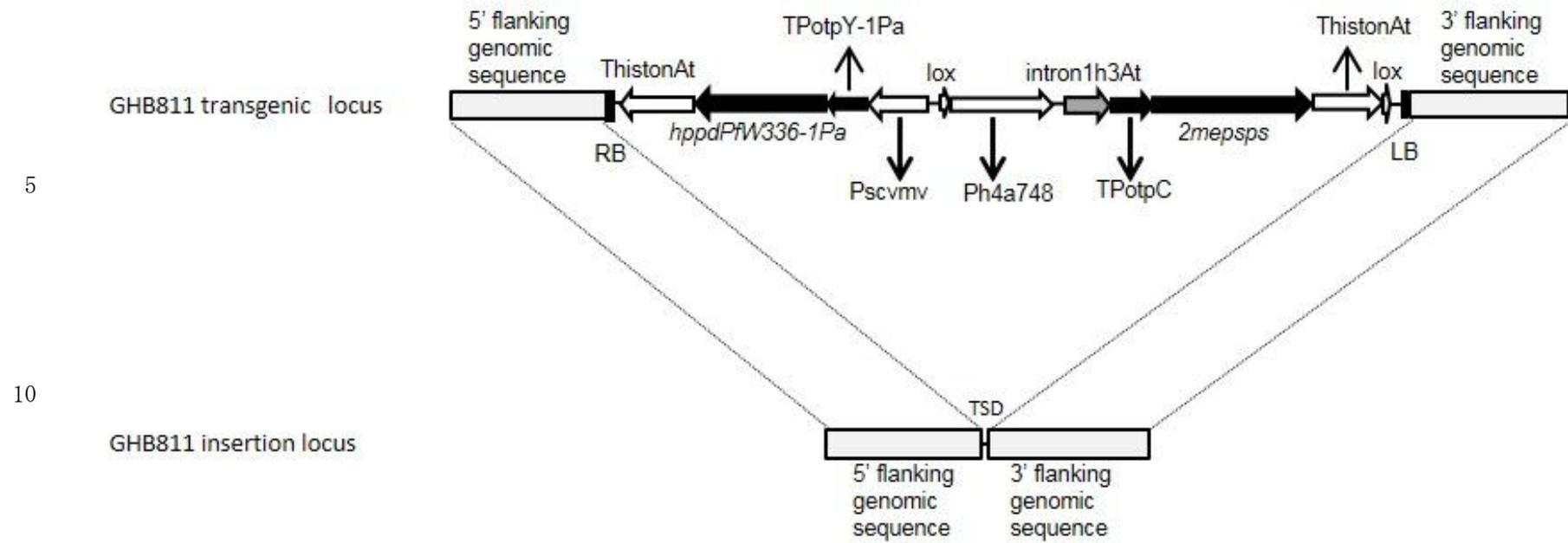
② 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

5 本組換えワタ(T₁世代; 図4の①及び②, p.20)の葉から抽出したゲノムDNAについてサザンブロット分析及びシーケンス解析を行った。

その結果、本組換えワタには2*mepsps*遺伝子発現カセット及び*hppdPfw336-1Pa*遺伝子発現カセットを含むT-DNA領域が1コピー挿入されていることが確認された(図5 p. 23; 別添資料4)。

10 また、シーケンス解析の結果、挿入DNAの5'側(1217bp)及び3'側(1296pb)の近傍配列は、宿主品種の挿入位置に隣接する配列と一致したが、挿入位置において13bpの欠失が確認された(図5, p. 23; 別添資料6)。

15 また、挿入遺伝子の安定性を調べるため、本組換えワタの T₁、T₃、T₄、BC₁F₂ 及び BC₂F₃ 世代(図4の④, p. 20)の葉から抽出したゲノムDNAについてT-DNA領域をプローブとしてサザンブロット分析を行った。その結果、各世代において同じサイズのバンドが検出され、挿入DNAが複数世代に安定して伝達されていることが確認された(別添資料7, Figure 3~7, p. 22~26)。



5

10

15

図5 本組換えワタにおける挿入DNA領域の概略図

図中のInsertion locusはワタ宿主品種の染色体におけるDNA挿入前の概略図を、transgenic locusはDNA挿入後の概略図をそれぞれ示す。また、TSD(Target Site Deletion)は、遺伝子挿入により欠失した部位を示す。

20 (注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

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

5 本組換えワタには1コピーのT-DNA領域が移入されたため、本項目は該当しない。

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

10 2015年に米国の温室内で栽培された、本組換えワタ2世代(T₄及びT₅世代、各4個体; 図4の⑥, p.20)を用い、4~6葉期の葉及び成熟期の有毛種子における2mEPSPS蛋白質及びHPPD W336蛋白質の発現量をELISA法により分析した。その結果、いずれの世代及び組織においても両蛋白質が検出され、2mEPSPS蛋白質及びHPPD W336蛋白質は個体間及び世代間で安定して発現していることが確認された(添付資料8, Table1~2, p.16~17)。

15

表4 本組換えワタの2世代(T₄及びT₅世代)における葉及び有毛種子での2mEPSPS蛋白質及びHPPD W336蛋白質の発現量

組織	供試世代	2mEPSPS ($\mu\text{g/g}$ 乾燥重量)		HPPD W336 ($\mu\text{g/g}$ 乾燥重量)	
		平均値 \pm 標準偏差	<i>p</i> 値	平均値 \pm 標準偏差	<i>p</i> 値
葉	T ₄	1078.03 \pm 66.03	0.310	442.73 \pm 38.21	0.505
	T ₅	1115.46 \pm 14.17		421.06 \pm 47.68	
有毛種子	T ₄	163.07 \pm 5.78	0.755	42.83 \pm 8.34	0.954
	T ₅	160.49 \pm 14.68		42.45 \pm 9.69	

分析には4個体を用いて、1個体につき3回の測定を行った値の平均値 \pm 標準偏差(n=4)。各組織のT₄及びT₅世代において*t*-検定(有意水準5%)を行った。葉及び有毛種子における定量限界下限値(LLOQ)は2mEPSPS蛋白質でそれぞれ2 $\mu\text{g/g}$ 及び8 $\mu\text{g/g}$ 、HPPD W336蛋白質それぞれ16 $\mu\text{g/g}$ 及び0.5 $\mu\text{g/g}$ である。なお、非組換え体における2mEPSPS蛋白質及びHPPD W336蛋白質の発現量は共に定量限界下限値以下であった。

20

25 (注: 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

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

5 本組換えワタは伝達性のあるDNA配列を有しておらず、自然環境下において移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれはない。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

10 本組換えワタは、本組換えワタに特異的に結合可能なプライマーとTaqmanプローブを用いた real-time PCR法による検出及び識別が可能である(別添資料9)。

本方法の検出限界値は、ゲノムDNA量比で0.05%である。

本法の信頼性については、社内2施設において施設間互換性があることを確認している。

15 (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な内容

20 本組換えワタでは、*2mepsps*遺伝子の発現により2mEPSPS蛋白質が産生され、除草剤グリホサート耐性を示すと共に、*hppdPjW336-1Pa*遺伝子の発現によりHPPD W336蛋白質が産生され、HPPD阻害型除草剤耐性を示す。

25 ② 以下に掲げる生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度

30 2017年にバイエルクロップサイエンス株式会社 明野事業所隔離ほ場（以下、「隔離ほ場」とする）において本組換えワタの隔離ほ場試験を行った。試験に供試した本組換えワタの世代はT₆世代であった(図4の⑧, p.20)。対照の非組換えワタとしては、本組換えワタの遺伝的背景品種Coker312を用いた(以下、「非組換えワタ」とする。)

a 形態及び生育の特性

35 形態及び生育の特性については、農林水産省による農林水産植物種類別審査基準・けぶかわた種(農林水産省, 2011)を参考に、8項目(発芽揃い、開花期、開じょ期、草姿、主茎長、節数、一時分枝数、地上部重)について、本組換えワタ

と非組換えワタを比較した。主茎長、節数、一次分枝数、地上部重、一株収穫
さく数、さく当たりの種子数、百粒重に関しては統計処理を行い、発芽揃い、
開花期、開じょ期、草姿に関しては観察結果を比較した。その結果、いずれの
項目についても、本組換えワタと非組換えワタとの間で統計学的有意差あるい
5 は相違は認められなかった(別添資料10, 表2-3, p.4-5,)。

b 生育初期における低温耐性

5℃・10時間明条件下における本組換えワタ及び非組換えワタの幼植物体の低
温障害(萎縮程度)を経時的に調査した。その結果、全ての調査時において系
10 統間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料10, 表4, p.6,)。

c 成体の越冬性

2017年5月に播種した本組換えワタ及び非組換えワタを収穫期後も栽培を続
けたところ、冬期の低温及び降霜により翌年2月にはいずれの株も枯死している
15 ことが確認された(別添資料10, p.7)。

d 花粉のサイズ及び充実度

本組換えワタ及び非組換えワタから花粉を採取し、花粉長径及び花粉の充実
度を比較した。その結果、本組換えワタ及び非組換えワタの花粉長径及び花粉
20 の充実度に統計学的有意差は認められなかった(別添資料10, 表6, p.8)。

e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産量に関する項目として、農林水産省による農林水産植物種類別審
査基準・けぶかわた種(農林水産省, 2011)を参考に、3項目(一株収穫さく数、さ
く当たりの種子数、百重粒)を調査した。これらの項目について統計処理を行っ
25 た結果、本組換えワタと非組換えワタの間に統計学的有意差は認められなかつ
た(別添資料10, 表8, p.9,)。

種子の脱粒性に関する項目として、本組換えワタ及び非組換えワタの脱粒性
30 の難易を観察した。その結果、本組換えワタ及び非組換えワタのいずれも難脱
粒性であり、脱粒性に違いは認められなかった(別添資料10, p.9)。

休眠性及び発芽率に関する項目として、隔離ほ場において収穫した本組換え
ワタ及び非組換えワタの収穫直後の種子を3ヶ月間室温条件下で保管し、収穫直
35 後及び3ヶ月後それぞれにおいて発芽率を調査した。その結果、いずれの条件
下においても系統間の発芽率に統計学的有意差は認められず、また、3ヶ月間保管

した種子においては両系統共に高い発芽率を示し、休眠性に差はなかった（別添資料10, 表9, p.10）。

f 有害物質の産生性

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

後作試験

- 10 隔離ほ場において収穫期まで約6ヶ月間栽培した本組換えワタ及び非組換えワタの収穫後の根域土壌をそれぞれ採取し、その土壌において検定作物としてダイコンを栽培し、発芽率、草丈及び乾物重について比較した。その結果、いずれの項目についても本組換えワタ及び非組換えワタの試験区間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料10, 表10, p.11)。

15 鋤込み試験

- 隔離ほ場において収穫期まで約6ヶ月間栽培した本組換えワタ及び非組換えワタの植物体地上部を収穫し、乾燥・粉砕して試料とした。これを重量約1%の割合で混和した土壌において、検定作物としてダイコンを栽培し、発芽率、草丈及び乾物重を比較した。その結果、いずれの項目についても本組換えワタ及び非組換えワタの試験区間に統計学的有意差は認められなかった(別添資料10, 表11, p.12)。

土壌微生物相試験

- 25 隔離ほ場において収穫期まで約6ヶ月間栽培した本組換えワタ及び非組換えワタの試験区の土壌を採取し、希釈平板法により、糸状菌、放線菌及び細菌を計測した。その結果、いずれの項目についても本組換えワタ及び非組換えワタの試験区に統計学的有意差は認められなかった(別添資料10, 表12, p.13)。

3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

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

(2) 使用等の方法

10 —

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

15 —

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

20 緊急措置計画書を参照。

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

25 —

(6) 国外における使用等に関する情報

30 国外における本組換えワタの承認に関する情報を表 5(p.29)に示した。

表 5 本組換えワタの海外における申請・承認状況(2019年11月現在)

機関	安全性審査の種類	申請時期
米国農務省(USDA)	環境	2018年7月承認
米国食品医薬品庁(FDA)	食品・飼料	2018年11月承認
韓国食品医薬品安全処(MFDS)	食品	2019年11月承認
韓国農村振興庁(RDA)	環境・飼料	2019年9月承認
カナダ保健省(HC)	食品	2018年10月承認
カナダ食品検査庁(CFIA)	環境・飼料	2018年10月承認
オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関(FSANZ)	食品	2018年5月承認

(注：本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1. 競合における優位性

5 (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

宿主の属するワタは我が国において長期にわたる使用等の経験があるが、我が国の自然環境下において自生化しているとの報告はなされていない。

10 我が国の隔離ほ場において本組換えワタと対照の非組換えワタを栽培し、競合における優位性に関わる形質として、形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、成体の越冬性、花粉のサイズ及び充実度、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び収穫種子の発芽率を調査した結果、全ての項目において両系統間に相違又は統計学的有意差は認められなかった(第一. 2. (6). ②. a~e, p.25~27)。

15 また、本組換えワタは導入された *2mepsps* 遺伝子及び *hppdPfW336-1Pa* 遺伝子によって *2mEPSPS* 蛋白質及び *HPPD W336* 蛋白質をそれぞれ発現し、除草剤グリホシネート及び *HPPD* 阻害型除草剤に耐性を示すが、除草剤グリホサート及び *HPPD* 阻害型除草剤の散布が想定されにくい自然環境下において、両除草剤
20 に耐性であることが、競合における優位性を高めることは考え難い。

以上のことから、本組換えワタについて競合における優位性に関して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

25 (2) 影響の具体的内容の評価

—

30 (3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

35 以上のことから、本組換えワタの競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

2. 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

- 5 本組換えワタの種子には、既存のワタの種子と同様に非反芻動物等に対して毒性を示すゴッシポール及び飽和脂肪酸の脱飽和を阻害し、鶏卵の変色や孵化率の低下を引き起こすシクロプロペン脂肪酸が含まれている。ワタは種子中にこれらの有害物質を含むが、綿実は大量の繊維に覆われているため鳥類のような種子を摂食する動物は好まず、哺乳類もゴッシポールが含まれていることや
- 10 種子の形態により摂食は避けると考えられる。さらに、野生の哺乳動物がワタの種子を摂食するという例は報告されていない。また、ワタが他感物質等のような野生動植物等に影響を及ぼす有害物質を産生することは知られていない

- 本組換えワタと対照の非組換えワタの有害物質の産生性を比較するため、隔離ほ場試験において後作試験、鋤込み試験及び土壌微生物相試験を行った結果、
- 15 いずれの試験においても、本組換えワタと非組換えワタの試験区間に統計学的有意差は認められなかった(第一. 2. (6). ②. f、p.27)。

- 本組換えワタは除草剤グリホサート耐性を付与する2mEPSPS蛋白質及び除草
- 20 剤HPPD阻害型耐性を付与するHPPD W336蛋白質を産生するが、2mEPSPS蛋白質及びHPPD W336蛋白質についてはいずれも有害物質としては知られておらず、さらに両蛋白質はいずれも高い基質特異性を有しており、宿主の代謝系に影響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。また、両蛋白質のアミノ酸配列に基づき包括的な相同性検索を行った結果、既知のアレルゲンとの
- 25 相同性は認められなかった(第一. 2. (1). ロ. ②、p.11及び15)。

以上のことから、本組換えワタが新たに有害物質の産生性に関し、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

- 30 (2) 影響の具体的内容の評価

—

- 35 (3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無の判断

以上のことから、本組換えワタの有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

5

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

10 我が国において、本組換えワタの宿主が属する種であるワタ (*G. hirsutum*) と交雑可能な近縁種野生種は自生していないため、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

15

—

(3) 影響の生じやすさの評価

20

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

25 以上から、交雑性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

4. その他の性質

30 上記の他に、本組換えワタに関して生物多様性影響の評価を行うことが適当であると考えられる性質はないと判断された。

第三 生物多様性影響の総合的評価

競合における優位性：

5 宿主の属するワタは我が国において長期にわたる使用等の経験があるが、我が国の自然環境下において自生しているとの報告はなされていない。

競合における優位性に関わる形質として、形態及び生育の特性、成体の越冬性、花粉の充実度及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性を隔離ほ場試験において比較検討した結果、いずれの項目においても本組換えワタと非組み換えワタの間に統計的な有意差あるいは相違は認められなかった。よって、本組
10 換えワタの競合における優位性が非組換えワタに比べて高まる可能性を示すような相違はないと考えられた。

また、本組換えワタには除草剤グリホサート及びHPPD阻害型除草剤耐性が付与されているが、除草剤グリホサート及びHPPD阻害型除草剤が散布されることが想定されにくい自然環境下において、付与された除草剤耐性形質によって競
15 合における優位性が高まることはないと考えられた。

以上のことから、本組換えワタの競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

有害物質の産生性：

20 本組換えワタの種子には、既存のワタの種子と同様にゴッシポールやシクロプロペン脂肪酸といった有害物質が含まれているが、綿実は大量の繊維に覆われている形状から、野生動物がワタの種子を好んで摂食することは考え難い。また、ワタが他感物質等のような野生動植物等に影響を及ぼす有害物質を産生することは知られていない。

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

本組換えワタ中では、除草剤グリホサート及びHPPD阻害型耐性を付与する2mEPSPS蛋白質及びHPPD W336蛋白質はいずれも高い基質特異性を有しており、
30 宿主の代謝系に影響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。

以上のことから、本組換えワタの有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

交雑性：

35 我が国には、ワタ(*G. hirsutum*)と交雑する可能性のある野生植物は自生していないことから、本組換えワタの交雑性に起因して生物多様性影響が生ずるおそ

れはないと判断した。

よって、総合的評価として、本組換えワタを第一種使用規程に従って使用した場合に、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した。

5

参考文献

- 5 Bolivar, F.; Rodriguez, R. L.; Greene, P. J.; Betlach, M. C.; Heyneker, H. L.; Boyer, H. W. (1977) Construction and characterization of new cloning vehicles. II. A multipurpose cloning system. *Gene* 2: 95-113.
- 10 Boudec, P.; Rodgers, M.; Dumas, F.; Sailland, A.; Bourdon, H. (2001) Mutated hydroxyphenylpyruvate dioxygenase, DNA sequence and isolation of plants which contain such a gene and which are tolerant to herbicides. US Patent US 6245968B1 (12-JUN-2001) AVENTIS CROPS SCIENCE S.A. (FR).
- 15 Brownlee, J. M.; Johnson-Winters, K.; Harrison, D. H.; Moran, G. R. (2004) Structure of ferrous form of (4-hydroxyphenyl)pyruvate dioxygenase from *Streptomyces avermitilis* in complex with the therapeutic herbicide, NTBC. *Biochemistry* 43: 6370-6377.
- 20 Chabouté, M.; Chaubet, N.; Philipps, G.; Ehling, M.; Gigot, C. (1987) Genomic organization and nucleotide sequences of two histone H3 and two histone H4 genes of *Arabidopsis thaliana*. *Plant Molecular Biology* 8: 179-191.
- Chaubet, N.; Clement, B.; Gigot, C. (1992) Genes encoding a histone H3.3-like variant in *Arabidopsis* contain intervening sequences. *Journal of Molecular Biology* 225: 569-574.
- 25 Falk, J.; Andersen, G.; Kernebeck, B.; Krupinska, K. (2003) Constitutive overexpression of barley 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase in tobacco results in elevation of the vitamin E content in seeds but not in leaves. *FEBS Letters* 540: 35-40.
- 30 Farré, G.; Sudhakar D.; Naqvi S.; Sandmann, G.; Christou, P.; Capell, T.; Zhu, C. (2012) Transgenic rice grains expressing a heterologous *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase shift tocopherol synthesis from the γ to the α isoform without increasing absolute tocopherol levels. *Transgenic Res.* 21: 1093-1097.
- 35 Fling, M. E.; Kopf, J.; Richards, C. (1985) Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3''(9)-*O*-nucleotidyltransferase. *Nucleic Acids Research* 13: 7095-7106.

Fritze, I. M.; Linden, L.; Freigang, J.; Auerbach, G.; Huber, R.; Steinbacher, S. (2004) The crystal structures of *Zea mays* and *Arabidopsis* 4-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase. *Plant Physiology* 134: 1388-1400.

5

Gruys, K. J.; Walker, M. C.; Sikorsli, J. A. (1992) Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. *Biochemistry* 31: 5534-5544.

10 Hajdukiewicz, P.; Svab, Z.; Maliga, P. (1994) The small, versatile *pPZP* family of *Agrobacterium* binary vectors for plant transformation. *Plant Molecular Biology* 25: 989-994.

Herrmann K. M. (1983) The common aromatic biosynthetic pathway. *In: amino acids: Biosynthesis and genetic regulation.*, Herrmann K. M. and R. L. Somerville, (eds) Addison-Wesley Publishing Co., Advanced Book Program Reading, MA. pp.301-322.

15 Hoess, R. H.; Abremski, K. (1985) Mechanism of strand cleavage and exchange in the Cre-lox site-specific recombination system. *J. Mol. Biol.* 181: 351-362.

20

Jamal A., Ko K., Kim H-S., Choo Y-K., Joung H., Ko, K. (2009) Role of genetic factors and environmental conditions in recombinant protein production for molecular farming *Biotechnology Advances* 27; 914-923.

25 Jenkins J. N. (2003) Cotton. *In Traditional crop breeding practice: an historical review to serve as a baseline for assessing the role of modern biotechnology.* OECD, 61-70

Johansson, T. S. (1959) Tracking honey bees in cotton fields with fluorescent pigments. *Journal of Economic Entomology*, 52, 572-577.

30

Kandyliis, K., Nikokyris P. N., and Deligiannis, K. (1998) Performance of growing-fattening lambs fed whole cotton seed. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 78, 281-289.

35 Kerkhoven, G. J., & Mutsaers, H. J. W. (2003) *Gossypium L.* In Brink, M., & Escobin, R.P. (Eds.) *Plant resources of South-East Asia No.17 Fiber plants.* (pp. 139-150).

Leiden: Backhuys Publishers.

Kramer, C., Brune, P., McDonald J., Nesbitt M., Sauve A., Stock-Weyhtermueller S. (2016). Evolution of risk assessment strategies for food and feed uses of stacked GM events. *Plant Biotechnology Journal* 14; 1-15.

Lebrun, M.; Leroux, B.; Sailland, A. (1996) Chimeric gene for the transformation of plants. US Patent US5510471 (23-APRIL-1996). RHONE POULENC AGROCHIMIE (FR).

Lebrun, M.; Sailland, A.; Freyssinet, G. (1997) Mutated 5-enol pyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein and transformed plants containing said gene. PCT Patent Application (WO9704103-A1). PHONE POULENC AGROCHIMIE (FR).

Lee, J. A. (1984) Cotton as a world crop. In R. J. Kohel & C. L. Lewis (eds.), *Cotton, Agronomy Monograph, 24*, (pp. 1-25) Madison, WI: Crop Science Society of America.

Llewellyn, D., & Fitt, G. (1996) Pollen dispersal from two field trials of transgenic cotton in the Naomi Valley, Australia. *Molecular Breeding*, 2, 157-166.

Matringe, M.; Sailland, A.; Pelissier, B.; Rolland, A.; Zink, O. (2005) *p*-Hydroxyphenylpyruvate dioxigenase inhibitor-resistant plants. *Pest Management Science* 61: 269-276.

McGregor, S. E. (1976) Cotton. In *Insect pollination of cultivated crop plants. Agriculture Handbook No. 496*, U.S. Department of Agriculture

Mène-Saffrané L.; DellaPenna, D. (2010) Biosynthesis, regulation and functions of tocochromanols in plants. *Plant Physiology and Biochemistry* 48:301-309.

Nguyen, H. T., and Jehle, J. A. (2007) Quantitative analysis of the seasonal and tissue-specific expression of Cry1Ab in transgenic maize Mon810. *Journal of Plant Diseases and Protection* 114: 82-87.

Nguyen, H. T. and Jehle, J. A. (2009) Expression of Cry3Bb1 in transgenic corn

MON88017. J. Agric. Food Chem. 57: 9990-9996.

OECD (2004) Consensus document on compositional considerations for new varieties of cotton (*Gossypium hirsutum* and *Gossypium barbadense*): key food and feed nutrients and anti-nutrients. Series on the safety of novel foods and feeds, No. 11. ENV/JM/MONO(2004)16.

OECD (2008) Consensus document on the biology of cotton (*Gossypium* spp.). Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology, No. 45. ENV/JM/MONO(2008)33.

OGTR (Office of the Gene Technology Regulator, Department of Health, Australian Government) (2008) The biology of *Gossypium hirsutum* L. and *Gossypium barbadense* L. (cotton)

Raclaru, M.; Gruber, J.; Kumar, R.; Sadre, R.; Lühs, W.; Zarhloul, M. K.; Friedt, W.; Frentzen, M.; Weier, D. (2006) Increase of the tocopherol content in transgenic *Brassica napus* seeds by overexpression of key enzymes involved in prenylquinone biosynthesis. Mol. Breeding 18: 93-107.

Richards, J. S., Stanley, J. N., and Gregg, P. C. (2005) Viability of cotton and canola pollen on the proboscis of *Helicoverpa armigera*: Implications for spread of transgenes and pollination ecology. *Ecological Entomology*, 30, 327-333.

Robertson, B., Bednars, C., and Burmester, C. (2007) Growth and development – first 60 days

Smart, C. C.; Johanning, D.; Muller, G.; Amrhein, N. (1985) Selective overproduction of 5-enol-pyruvylshikimic acid 3-phosphate synthase in a plant cell culture which tolerates high doses of the herbicide glyphosate. J. Biol. Chem. 260: 16338-16346.

Tsegaye, Y.; Shintani, D. K.; DellaPenna, D.; (2002) Overexpression of the enzyme *p*-hydroxyphenylpyruvate dioxygenase in *Arabidopsis* and its relation to tocopherol biosynthesis. Plant Physiol. Biochem. 40: 913-920.

USDA (2018). Production, Supply and Distribution Online.

(<https://apps.fas.usda.gov/psdonline/app/index.html#/app/home>) [Accessed February 14, 2018]

5 Weiss, U.; Edwards, J. M. (1980) Regulation of the shikimate pathway. *In: the biosynthesis of aromatic compounds*. John Wiley and Sons, New York. pp.287-301.

Zambryski, P. (1988) Basic processes underlying *Agrobacterium*-mediated DNA transfer to plant cells. *Annu. Rev. Genet.* 22:1-30.

10 Zhu, J.; Oger, P. M.; Schrammeijer, B.; Hooykaas, P. J. J.; Farrand, S. K.; Winans, S. C. (2000) The bases of crown gall tumorigenesis. *Journal of Bacteriology* 182: 3885-3895.

財務省 (2018) 財務省貿易統計 (<http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm>)
(閲覧日2018年2月14日)

15

巽 二郎 (2000) ワタ. “作物学(II) 工芸・飼料作物編”石井龍一 (執筆代表), 文永堂出版, 東京. 8-15.

20 農林水産省 (2017a) 「平成 26 年度及び平成 27 年度ワタの生育実態等調査」の結果について 平成 29 年 2 月 14 日 公表
(<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/170214.html>)
(閲覧日2018年2月14日)

25 農林水産省 (2017b) 「平成 28 年度ワタの生育実態等調査」の結果について ……
平成 29 年 11 月 29 日 公表
(<http://www.maff.go.jp/j/press/syouan/nouan/171129.html>)
(閲覧日2018年2月14日)

30 農林水産省 (2011) 農林水産植物種類別審査基準・けぶかわた種
http://www.hinsyu.maff.go.jp/info/sinsakijun/botanical_taxon.html#G
(閲覧日 2018年2月8日)

原田 重雄 (1981) II 繊維料 ワタ. 工芸作物学 栗原 浩編 農文協. 26-42.

35 堀田 満 (1989) 世界有用植物事典 (pp.494-498) 東京: 平凡社

別添資料の内容

- 別添資料1 : HPPD蛋白質の基質になり得る化合物の文献調査(Literature survey on potential alternative substrates for HPPD) M-412397-03-1
社外秘情報につき非開示
- 別添資料2 : *Pseudomonas fluorescens*由来の野生型HPPD蛋白質及びHPPD W336蛋白質の基質特異性(Substrate specificity of the wild type HPPD and HPPD W336 proteins from *Pseudomonas fluorescens*) M-424989-04-3
社外秘情報につき非開示
- 別添資料3 : プラスミド pTSH09 の塩基配列(Sequence determination of plasmid pTSH09) M-521125-02-1
社外秘情報につき非開示
- 別添資料4 : GHB811における挿入DNA領域の詳細決定及びベクター外骨格領域配列不在の確認 (Detailed insert characterization and confirmation of the absence of vector backbone sequence in cotton GHB811) M-572036-02-1
社外秘情報につき非開示
- 別添資料5 : GHB811ワタ-3世代における挿入遺伝子の遺伝的特徴(GHB811 Cotton -inheritance of the insert over three generations) M-547925-02-1
社外秘情報につき非開示
- 別添資料6 : GHB811 の挿入部位及び挿入 DNA の塩基配列(DNA sequence determination of the transgenic and insertion loci of cotton GHB811) M-533573-02-1
社外秘情報につき非開示
- 別添資料7 : GHB811 の挿入配列の安定性(Structural stability analysis of cotton GHB811) M-548778-01-1
社外秘情報につき非開示
- 別添資料8 : 3世代のGHB811の葉及び有毛種子におけるHPPD W336及び2mEPSPS蛋白質含量(Protein expression analysis of HPPD W336 and 2mEPSPS proteins in leaf and fuzzy seed matrices over three generations of GHB811 (BCS-GH811-4) Cotton) M-547928-01-1
社外秘情報につき非開示
- 別添資料9: イベント識別法(End-point taqman method) M-566195-01-1
社外秘情報につき非開示
- 別添資料10 : 除草剤グリホサート及び4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタGHB811の隔離ほ場試験報告書
社外秘情報につき非開示

緊急措置計画書

平成 30 年 9 月 12 日

- 5 氏名 BASF ジャパン株式会社
代表取締役社長 石田 博基
住所 東京都六本木六丁目 10 番 1 号

10 第一種使用規程の承認を申請している除草剤グリホサート及び 4-ヒドロキシフェニルピルビン酸ジオキシゲナーゼ阻害型除草剤耐性ワタ (*2mepsps, hppdPfw336-1Pa, Gossypium hirsutum* L.)(GHB811, OECD UI: BCS-GH811-4)(以下、「本組換えワタ」とする。)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると科学的に認められた場合は、以下の措置を執ることとする。

- 15 1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者

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

20 表 1 危機対策本部名簿(平成 30 年 9 月現在)

(危機対策本部長)	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部 執行役員 事業部長
*	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部
	BASF ジャパン株式会社 コーポレート・アフェアーズ本部
	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部
	BASF ジャパン株式会社 アグロソリューション事業部

*管理責任者
(個人名は個人情報のため非開示)

- 2 第一種使用等の状況の把握の方法

25 弊社は、BASF Agricultural Solutions Seed US LLC と連絡を取り、種子、ワタの生産、収穫物の状況に関し、ワタ種子の生産、供給、販売及び取扱いなど使用の可能性がある関係各社から可能な限り情報収集を行う。

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

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

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

10

当該影響を生ずるおそれに基づき、弊社は BASF Agricultural Solutions Seed US LLC の協力のもと、本組換えワタを不活化する措置、本組換えワタの環境への放出を防止するための措置、又はすでに環境に放出された本組換えワタの拡散を防止する措置を講ずる。

- 15 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

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

20