

除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性並びにチョウ目害虫抵抗性ワタ
 (2*mepsps*, 改変*bar*, 改変*cry1Ab*, *cry2Ae*, *Gossypium hirsutum* L.) (GHB614×T304-40
 ×GHB119, OECD UI: BCS-GH002-5×BCS-GH004-7×BCS-GH005-8) (GHB614、
 T304-40及びGHB119それぞれへの導入遺伝子の組合せを有するものであって当該
 ワタから分離した後代系統のもの(既に第一種使用規程の承認を受けたものをく。
 を含む。) 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	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
(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	6
イ 基本的特性	6
ロ 生息又は生育可能な環境の条件	6
ハ 捕食性又は寄生性	6
ニ 繁殖又は増殖の様式	6
ホ 病原性	8
ヘ 有害物質の産生性	8
ト その他の情報	8
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	9
(1) 供与核酸に関する情報	9
イ 構成及び構成要素の由来	9
ロ 構成要素の機能	13
(2) ベクターに関する情報	17
イ 名称及び由来	17
ロ 特性	17
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	18
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	18
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法	20
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	20
(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	22
(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	24
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	24
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	27
(1) 使用等の内容	27
(2) 使用等の方法	27
(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	27
(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	27
(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	27
(6) 国外における使用等に関する情報	27
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	29
1 競合における優位性	29
2 有害物質の産生性	30
3 交雑性	30
第三 生物多様性影響の総合的評価	31
参考文献	32
緊急措置計画書	38
資料一覧	40

第一種使用規程承認申請書

平成 24 年 12 月 19 日

5

農林水産大臣 郡司 彰 殿
環境大臣 長浜 博行 殿

10

氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社
申請者 代表取締役社長 ギャビン マーチャント 印
住所 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 5 号

15

20 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。

5

10

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グルホシネート耐性並びに チョウ目害虫抵抗性ワタ (<i>2mepsps</i> , 改変 <i>bar</i> , 改変 <i>cry1Ab</i> , <i>cry2Ae</i> , <i>Gossypium hirsutum</i> L.) (GHB614× T304-40×GHB119, OECD UI: BCS-GH002-5× BCS-GH004-7×BCS-GH005-8) (GHB614、T304-40 及び GHB119 それぞれへの導入遺伝子の組合せを有 するものであって当該ワタから分離した後代系統の もの (既に第一種使用規程の承認を受けたものを除 く。) を含む。)
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：ワタ（陸地棉）

10 英名：upland cotton

学名：*Gossypium hirsutum* L.

② 宿主の品種名

15 除草剤グリホサート及びグルホシネート耐性並びにチョウ目害虫抵抗性ワタ（*2mepsps*, 改変*bar*, 改変*cry1Ab*, *cry2Ae*, *Gossypium hirsutum* L.）（GHB614×T304-40×GHB119, OECD UI: BCS-GH002-5×BCS-GH004-7×BCS-GH005-8）（以下、「本スタック系統」とする。）は、以下の遺伝子組換えワタを従来の交雑育種法を用いて作出した交雑後代系統である。

20 ー 除草剤グリホサート耐性ワタ（*2mepsps*, *Gossypium hirsutum* L.）（GHB614, OECD UI: BCS-GH002-5）（以下、「GHB614」とする。）

ー 除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ（改変*bar*, 改変*cry1Ab*, *Gossypium hirsutum* L.）（T304-40, OECD UI: BCS-GH004-7）（以下、「T304-40」とする。）

25 ー 除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ（改変*bar*, *cry2Ae*, *Gossypium hirsutum* L.）（GHB119, OECD UI: BCS-GH005-8）（以下、「GHB119」とする。）

30 GHB614及びGHB119の宿主はワタ（*G. hirsutum*）品種Coker312であり、T304-40の宿主はワタ（*G. hirsutum*）品種Coker315である。

③ 国内及び国外の自然環境における自生地域

*G. hirsutum*は四倍体ワタの栽培種であり（Wendel and Cronn, 2003）、わが国の自然環

境下において、本種及び本種と交雑可能な*Gossypium*属（以下、「ワタ属」とする。）の分布は報告されていない。

ワタ属は、熱帯及び亜熱帯の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、その生物学的多様性の中心は、主にアフリカ・アラビア半島、オーストラリア及びメキシコの3地域である（OECD, 2008）。ワタ属には、二倍体種と四倍体種の二つの群がある。そのうち二倍体種はアフリカ、アラビア半島、パキスタン及びおそらくそれ以東に分布するアフリカ・アラビア群（*Gossypium*亜属）の約14種（Vollesen, 1987; Stanton *et al.*, 1994）、オーストラリア群（*Sturtia*亜属）の約17種（Brown and Brubaker, 2000）、そして、メキシコ西部、ガラパゴス諸島及びペルーに分布するアメリカ群（*Houzingenia*亜属）の約14種（Alvarez *et al.*, 2005）である。また、四倍体種はメソアメリカ（メキシコ及び中央アメリカ）、南アメリカ、ガラパゴス諸島及びハワイ諸島に分布するアメリカ・太平洋群（*Karpas*亜属）の5種である（Wendel and Cronn, 2003）。なお、二倍体種の*G. arboreum*及び*G. herbaceum*は旧大陸（アフリカ・アジア）において、一方、四倍体種の*G. hirsutum*及び*G. barbadense*は新大陸（*G. hirsutum*はメソアメリカ、*G. barbadense*は南アメリカ）において、それぞれ栽培化された（OECD, 2008）。

（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

20

ワタの栽培利用の歴史は極めて古い。パキスタンのモヘンジョダロ遺跡から紀元前3000年頃の*G. arboreum*の綿布片が発掘され、一方、新大陸でも紀元前2400年頃の古代ペルー人の住居跡で*G. barbadense*の種子と原始的織機や織物の破片が発見された。これらのことから、古代インド人とペルーのインディオによって綿から織物を作る技術が開発されていたことがうかがわれる。また、メキシコでは紀元前5800年頃の洞窟からワタ（*G. hirsutum*）のさくが発掘されたといわれている（原田, 1981）。

中南米で栽培されたワタ（*G. hirsutum*）は1700年頃メキシコから米国に入り、内陸部で一年生の早生種が栽培されるようになり、その後、米国の主要作物となったが、南北戦争でその供給が絶たれたのを機に、世界の熱帯・亜熱帯の諸国に広がった（原田, 1981）。今日生産されるワタ属栽培種の95%以上は四倍体種であり、ワタ（*G. hirsutum*）が90%以上、長繊維綿、ピマ綿又はエジプト綿と呼ばれる*G. barbadense*が5%程度を占める（OECD, 2008）。

わが国における在来の栽培種は、中国大陸中・北部にて1年生の*G. arboreum*から品種分化したナンキンワタの系統である（巽, 2000）。799年（延暦18年）に三河地方に

漂着したインド人が伝えた種子を栽培したのが最も古い記録とされ、その後、16世紀に入ってから全国的に栽培が広まった（巽, 2000）。しかし、輸入綿におされて次第に衰微し、第二次世界大戦中及び戦後に再び盛んになったものの、現在ではその商業的な栽培はなく、観賞用としてわずかに栽培されているにすぎない（原田, 1981）。

5

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

2010年の世界における綿実の生産量は4,276万tであり、主な生産国は中国（1,194万t）、インド（1,157万t）、米国（553万t）、パキスタン（370万t）である（FAOSTAT, 2012）。

10

わが国では、一般に5月上・中旬が播種の適期で、これより播種が遅れると着蕾・開花が遅くなって減収する。ただし夏季に高温・多湿な地域では、これよりやや遅播きしてもよい。ワタは湿害に弱い、とくに播き跡に水がたまると発芽とその後の生育が害されるので、局所的な排水にも注意を要する。また、幼苗期の生育が極めて緩慢で、このころには雑草に圧倒されやすいため、除草などに注意を要する。さらに、病虫害その他の障害により欠株を生じやすいため、間引きは1回に行うより2～3回に分けて行う方が安全である。有効着蕾（ワタの枯れる前にさくが開じょしうるもの）の限界を過ぎて一週間経ったころに摘心すると、落蕾さくを防ぎ、さくの発育をよくし、開じょを促進して収量を多くするのに有効である（原田, 1981）。また、国外の大規模栽培の畑では機械による収穫が行われるが、その際、葉片などの混入を防ぐために収穫前に薬剤で落葉させる（巽, 2000）。

15

20

わが国における2011年の搾油用綿実の輸入量は約11万3千tであり、主な輸入先はオーストラリア（約7万8千t）、米国（約3万t）であった。また、2011年の綿実油の輸入量は4,349 tであり、主な輸入先はオーストラリア（3,750 t）及びトルコ（599 t）であった（農林水産省, 2012）。さらに、2011年の綿実油粕の輸入量は3,515 tであり、輸入先は中国（2,150 t）、インド（919 t）及び米国（446 t）であった（財務省, 2012）。

25

30

ワタは工芸作物の中で最大の栽培面積を持ち、また繊維作物の中で最も重要な位置を占めている。ワタの主な用途は繊維利用であり、綿花の大部分は紡織用（綿糸、綿織物など）あるいは製綿用（ふとん綿、脱脂綿など）に利用される。地毛は短いため繊維として利用されず、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、油脂から綿実油が生産される。また、搾油粕は家畜の飼料として重要であり、肥料としても需要が高い（巽, 2000）。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

5

ワタは多年生植物で低木にもなるが、商業的には一年生作物として栽培される (OECD, 2008)。主茎は直立し、単軸性、無限成長性である (Oosterhuis and Jernstedt, 1999) が、一般的に草高約1~1.5 mで栽培されている (OECD, 2008)。

10 ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ワタの発芽若しくは実生の生育には15°C以上が必要とされ、38°C以上になると生育遅延が起こる (OECD, 2008)。生育の最適温度は、昼温30~35°Cであり、35°C以上になると結実が抑制され、25°C以下では生産量が著しく減少する (Reddy *et al.*, 1992)。
15 また、正常な生育には、180~200日以上は無霜期間並びに栽培期間中に500mm以上の降雨量若しくは灌水が必要である (Duke, 1983)。さらに、ワタは酸性に弱い、アルカリに対する適応性が高い。塩分に対しては作物の中で耐性が高く、塩分の多いアルカリ性土壌で栽培できる (巽, 2000)。

20 ハ 捕食性又は寄生性

ニ 繁殖又は増殖の様式

25

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

さくは3~5室に分かれており、1室に7~8個の種子が含まれる。発育にともない水分が減少し、さく皮が裂けて開じよする。ワタの種子は地毛が絡み合って分離しにくく (原田, 1981)、種子の脱粒性は低い (Kerkhoven and Mutsaers, 2003)。品種によっては収穫後2~3ヶ月の休眠期を持つ (Duke, 1983)。また、水分含有率10%以上の種子は貯蔵中に急速に生存率が低下する (Kerkhoven and Mutsaers, 2003)。
30

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

ワタは種子繁殖であり、自然条件下で植物体を再生しうる組織又は器官から発芽するという報告はなされていない。

5

③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる特性を有する場合はその程度

ワタは基本的に自家受粉植物であるが、媒介昆虫により他家受粉もする。その際
10 他殖率は通常5～30%とされている (Kerkhoven and Mutsaers, 2003)。なお、わが国
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。また、アポミクシスについ
ての報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

15

ワタは一花に50～125程度の葯を形成し、一つの葯で350～900個の花粉粒が生産さ
れる (OECD, 2008)。ワタの花粉粒は直径100～140 μm と大きく、重く、やや粘着性が
あり、風で花粉が運ばれることはほとんどなく、自然交雑の程度は主にマルハナバチ
(*Bombus*属) やミツバチ (*Apis*属) 等の媒介昆虫の活動に依存している (McGregor,
20 1976; OECD, 2008)。米国での調査では、除草剤耐性ワタの商業栽培ほ場から1625 m
(1マイル) 地点で0.04%の交雑が認められたことが報告されている (Van Deynze *et al.*,
2005)。また、米国における同じく除草剤耐性ワタを用いた交雑試験では、ミツバチ
の放飼を行うなど花粉媒介昆虫が活発に活動する条件下では花粉源からの距離が9 m
以上で交雑率は1%以下になり、害虫防除などにより花粉媒介昆虫の活動が活発でな
25 い条件下では花粉源からの距離が1 m以上で交雑率1%以下であった (Van Deynze *et al.*,
2005)。さらに、除草剤耐性ワタを用いた中国における試験では、10 mを超えると耐
性個体の出現程度は0.3%以下となり偶発的なものに限られ、60 m以上では耐性個体の
出現は認められなかった (Zhang *et al.*, 2005)。

花粉採取後25 $^{\circ}\text{C}$ 飽和湿度条件に維持した花粉の発芽率は、8時間後では約90%、16
30 時間後では約31%、32時間後では7.6%と低下し、オオタバコガ (*Helicoverpa armigera*)
の口吻に付着した場合には、8時間後には約19%となり、さらに低下することが確認
されている (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うるゴッシポールやシクロプロペン脂肪酸が含まれている (OECD, 2008)。そのため、飼料としてのワタ種子の給餌量は制限されているが、反芻動物はこれらの物質を第一胃で消化して無毒化するため、影響を受けにくい (Kandylis *et al.*, 1998)。

ゴッシポールは腺組織に存在するテルペノイドで、二つの異性体 (+/-) があり、主に (-) ゴッシポールが活性を示す (Stipanovic *et al.*, 2005)。また、両異性体には遊離型と結合型があり、種子には遊離型ゴッシポールが含まれる。遊離型ゴッシポールは、非反芻動物、鳥類並びに多くの昆虫や微生物に対して毒性を示し、哺乳類においては食欲減退、体重減少や呼吸困難等を引き起こす (Berardi and Goldblatt, 1980)。しかし、搾油粕中のゴッシポールは蛋白質と結合して毒性を失い (OECD, 2008)、粗油中のゴッシポールは脱ガム、脱酸、脱色の各工程で除去される (新谷, 1989)。

シクロプロペン脂肪酸 (マルバリン酸、ステルクリン酸及びジヒドロステルクリン酸) は粗油中に 1%ほど含まれており、不飽和化酵素を阻害し、鶏では卵白の変色やふ化率の低下などを引き起こすが、油の精製工程で除去される (Gunstone, 2007; OECD, 2004)。

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種子の形態により摂食は避けると考えられる。また、野生の哺乳動物が綿実を摂食するという例は報告されていない。

ト その他の情報

30

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

本スタック系統はGHB614、T304-40及びGHB119を従来の交雑育種法を用いて作出した交雑後代系統であり、親系統の特性を有する。よって、以下ではGHB614、T304-40及びGHB119それぞれの調製等に関する情報について概要を記載した。

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

GHB614、T304-40及びGHB119の作出に用いられた供与核酸の構成要素をそれぞれ表1～表3 (p.9～12) に示した。

表1 GHB614の作出に用いた供与核酸の構成要素のベクター上の位置、サイズ、由来及び機能

構成要素	ベクター上の位置	サイズ (bp)	由来及び機能
<i>2mepsps</i> 遺伝子発現カセット			
Ph4a748At	0026-1036	1011	シロイヌナズナ (<i>Arabidopsis thaliana</i>) 由来のヒストンH4遺伝子のプロモーター領域を含む配列 (Chaboute <i>et al.</i> , 1987)。植物中で構成的に <i>2mepsps</i> 遺伝子の転写を開始させる。
intron1 h3At	1037-1553	517	シロイヌナズナ (<i>A. thaliana</i>) 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)。
TPotp C	1554-1926	373	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輸送ペプチドのコード領域を基に作製された (Lebrun <i>et al.</i> , 1996)。成熟した2mEPSPS蛋白質を色素体に輸送する。
<i>2mepsps</i>	1927-3264	1338	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) に点突然変異を起こした、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 (Lebrun <i>et al.</i> , 2003) で、除草剤グリホサートに対する耐性を付与する。また、 <i>epsps</i> 遺伝子の色素体膜輸送ペプチドをコードする配列は、取り除かれている。
3'histonAt	3265-4007	743	<i>A. thaliana</i> 由来のヒストンH4遺伝子の3'非翻訳領域 (Chaboute <i>et al.</i> , 1987) を含む配列で、転写を終結させ3'ポリアデニル化を生じさせる。

外側骨格領域			
LB	0001-0025	25	<i>Rhizobium radiobacter</i> (<i>Agrobacterium tumefaciens</i>) の T-DNA 領域由来の左側境界反復配列 (Zambryski, 1988)。
RB	4008-4032	25	<i>R. radiobacter</i> (<i>A. tumefaciens</i>) の T-DNA 領域由来の右側境界反復配列 (Zambryski, 1988)。
—	4033-4224	192	右側境界反復配列におけるプラスミド pTiAch5 の断片 (Zhu <i>et al.</i> , 2000)。
<i>nptII</i> 断片	4225-4935	711	ネオマイシン ホスホトランスフェラーゼをコードするトランスポゾン Tn903 由来の <i>nptII</i> 遺伝子 (Oka <i>et al.</i> , 1981) の断片。なお、本配列は断片であるため機能しない。
ORI ColE1	4936-6108	1173	<i>Escherichia coli</i> のプラスミド pBR322 (Bolivar <i>et al.</i> , 1977) 由来複製起点を含む配列。
ORI pVS1	6109-9879	3771	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> のプラスミドベクター pVS1 (Itoh <i>et al.</i> , 1984) の複製起点 (Hajdukiewicz <i>et al.</i> , 1994) を含む配列。
<i>aadA</i>	9880-11648	1769	<i>E. coli</i> 由来のアミノグリコシド系抗生物質耐性遺伝子 (Fling <i>et al.</i> , 1985) を含む配列。
—	11649-11953	305	左側境界反復配列におけるプラスミド pTiAch5 の断片 (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。)

表2 T304-40の作出に用いた供与核酸の構成要素のベクター上の位置、サイズ、由来及び機能

構成要素	ベクター上の位置	サイズ (bp)	由来及び機能
改変 <i>cryIAb</i> 遺伝子発現カセット			
3'mel	8792-9728	937	<i>Flaveria bidentis</i> (yellowtop : キアレチギク) 由来の NADP リンゴ酸酵素 (NADP-malic enzyme: EC.1.1.1.40) 遺伝子の 3'非翻訳領域 (Marshall <i>et al.</i> , 1996)。転写を終結し、3'ポリアダニル化を行う。
改変 <i>cryIAb</i>	9729-11582	1854	<i>Bacillus thuringiensis berliner</i> 1715 由来のチョウ目害虫抵抗性を付与する Bt 蛋白質遺伝子で、野生型の Cry1Ab 蛋白質をコードする <i>cryIAb5</i> 遺伝子 (Höfte <i>et al.</i> , 1986) 活性領域の N-末端の 2 番目にアラニン (Ala) が付加されている (MetAlaAsp2~Asp616)。なお、植物における発現に適するようにコドンを変化させているが、この改変によりアミノ酸は変化していない。
5'e1	11583-11643	61	<i>Oryza sativa</i> のタペータム特異的 E1 遺伝子 (<i>GE1</i>) のリーダー配列 (Michiels <i>et al.</i> , 1992) を含む領域で、転写効率を高める。

Ps7s7	11644-12685	1042	Subterranean clover stunt virus (SCSV) のセグメント7 (Boevink <i>et al.</i> , 1995) のタンデムプロモーターを含む配列で、構成的に転写を開始させる。
改変 <i>bar</i> 遺伝子発現カセット			
P35S3	12686-13543	858	Cauliflower Mosaic Virus 35S RNAプロモーター領域 (Odell <i>et al.</i> , 1985) で、構成的に転写を開始させる。
改変 <i>bar</i>	13544-14095	552	<i>Streptomyces hygrosopicus</i> に由来するホスフィノトリシン・アセチル基転移酵素 (PAT蛋白質) をコードする遺伝子 (Thompson <i>et al.</i> , 1987) を含む配列で、除草剤グルホシネートに対する耐性を付与する。野生型 <i>bar</i> 遺伝子のN-末端の2つのコドンはATGとGACにそれぞれ置換されている。
3'nos	14096-14393 1-12	309	<i>A. tumefaciens</i> のpTiT37由来のノパリン合成酵素遺伝子の3'非翻訳領域 (Depicker <i>et al.</i> , 1982) を含む配列で、転写を終結させ、3'ポリアダニル化を生じさせる。
外側骨格領域			
LB	13-37	25	<i>A. tumefaciens</i> の T-DNA 由来の左側境界反復配列 (Zambryski, 1988)。
—	38-342	305	左側境界反復配列におけるプラスミドpTiAch5の断片 (Zhu <i>et al.</i> , 2000)。
<i>aadA</i>	343-1965	1623	<i>E. coli</i> 由来のアミノグリコシド系抗生物質耐性遺伝子 (Fling <i>et al.</i> , 1985) を含む配列。
<i>nptI</i> -fragment	1966-3486	1521	トランスポゾンTn903由来のネオマイシン ホスホトランスフェラーゼをコードする <i>nptI</i> 遺伝子 (Oka <i>et al.</i> , 1981) の断片。なお、本配列は断片であるため機能しない。
—	3487-3632	146	<i>aadA</i> (Fling <i>et al.</i> , 1985) の上流配列を含む配列。
ORI pVS1	3633-7403	3771	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> のプラスミドpVS1 (Itoh <i>et al.</i> , 1984) の複製起点 (Hajdukiewicz <i>et al.</i> , 1994) を含む配列。
ORI ColE1	7404-8576	1173	<i>E. coli</i> のプラスミドpBR322由来複製起点 (Bolivar <i>et al.</i> , 1977) を含む配列。
—	8577-8766	190	右側境界反復配列におけるプラスミドpTiAch5の断片 (Zhu <i>et al.</i> , 2000)。
RB	8767-8791	25	<i>A. tumefaciens</i> の T-DNA 由来の右側境界反復配列 (Zambryski, 1988)。

(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。)

表3 GHB119の作出に用いた供与核酸の構成要素のベクター上の位置、サイズ、由来及び機能

構成要素	ベクター上の位置	サイズ (bp)	由来及び機能
改変 <i>bar</i> 遺伝子発現カセット			
3'nos	26 - 335	310	<i>A. tumefaciens</i> のpTiT37由来のノパリン合成酵素遺伝子の3'非翻訳領域 (Depicker <i>et al.</i> , 1982) を含む配列で、転写を終結させ、3'ポリアデニル化を生じさせる。
改変 <i>bar</i>	336 - 887	552	<i>S. hygroscopicus</i> に由来するホスフィノトリシン・アセチル基転移酵素 (PAT蛋白質) をコードする遺伝子 (Thompson <i>et al.</i> , 1987) を含む配列で、除草剤グルホシネートに対する耐性を付与する。野生型 <i>bar</i> 遺伝子のN-末端の2つのコドンはATGとGACにそれぞれ置換されている。
Pcsmv XYZ	888 - 1423	536	Cassava Vein Mosaic Virus 35S RNA遺伝子のプロモーター領域 (Verdaguer <i>et al.</i> , 1996)。構成的に転写を開始させる。
<i>cry2Ae</i> 遺伝子発現カセット			
P35S2	1424 - 1920	497	Cauliflower Mosaic Virus 35S RNA遺伝子のプロモーター領域 (Odell <i>et al.</i> , 1985) を含む配列。構成的に転写を開始させる。
5'cab22L	1921 - 1990	70	<i>Petunia hybrida</i> (ペチュニア) 由来のchlorophyll a/b binding protein 遺伝子のリーダー配列を含む配列 (Harpster <i>et al.</i> , 1988)。 <i>cry2Ae</i> 遺伝子の発現レベルを増加させる。
TPssuAt	1991 - 2155	165	<i>A. thaliana</i> 由来のRuBisCo小サブユニットの輸送ペプチド遺伝子 <i>ats1A</i> のコード領域 (De Almeida <i>et al.</i> , 1989)。
<i>cry2Ae</i>	2156 - 4051	1896	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>dakota</i> 由来の害虫抵抗性遺伝子のコード領域で、チョウ目害虫抵抗性を付与する。なお、本遺伝子は、ワタにおける発現に適するように塩基配列が改変されているが、この改変によりアミノ酸配列は変化していない (Arnaut <i>et al.</i> , 2005)。
3'35S	4052 - 4320	269	Cauliflower Mosaic Virusの35S RNA遺伝子の3'非翻訳領域 (Sanfaçon <i>et al.</i> , 1991) を含む領域。転写を終結させる。
外側骨格領域			
RB	4321 - 4345	25	<i>A. tumefaciens</i> の T-DNA 由来の右側境界反復配列 (Zambryski, 1988)。
—	4346 - 4537	192	プラスミドpTiAch5の断片 (Zhu <i>et al.</i> , 2000)。
<i>nptI</i> -fragment	4538 - 5248	711	トランスポゾンTn903由来のネオマイシン ホスホトランスフェラーゼをコードする <i>nptI</i> 遺伝子 (Oka <i>et al.</i> , 1981) の断片。なお、本配列は断片であるため機能しない。
ORI ColE1	5249 - 6421	1173	<i>E. coli</i> のプラスミドpBR322由来複製起点 (Bolivar <i>et al.</i> ,

			1977) を含む配列。
ORI pVS1	6422 - 10192	3771	<i>P. aeruginosa</i> のプラスミドpVS1 (Itoh <i>et al.</i> , 1984) の複製起点 (Hajdukiewicz <i>et al.</i> , 1994) を含む配列。
<i>aadA</i>	10193 - 11961	1769	<i>E. coli</i> 由来のアミノグリコシド系抗生物質耐性遺伝子 (Fling <i>et al.</i> , 1985) を含む配列。
—	11962 - 12266	305	プラスミドpTiAch5の断片 (Zhu <i>et al.</i> , 2000)。
LB	1 - 25	25	<i>A. tumefaciens</i> の T-DNA 由来の左側境界反復配列 (Zambryski, 1988)。

(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

GHB614、T304-40及びGHB119の作出に用いた供与核酸の構成要素それぞれの機能は表1～表3 (p.9～12) 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 (酵素番号：EC 2.5.1.19、以下、「EPSPS蛋白質」とする。) は、植物や微生物に特有の芳香族アミノ酸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 (以下、「PEP」とする。) とシキミ酸-3-リン酸 (以下、「S3P」とする。) から5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸 (EPSP) を生ずる可逆反応を触媒する。EPSPS蛋白質はPEP及びS3Pと結合し3成分からなる酵素-基質複合体中間体を作るが、除草剤グリホサートは可逆的にPEP結合部位に結合して競合的にその活性を阻害する (Boocock and Coggins, 1983)。その結果、植物は蛋白質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。

- 25 GHB614に導入された2mepsps遺伝子は、トウモロコシ (*Z. mays*) からクローニングされたEPSPS蛋白質をコードするepsps遺伝子の2カ所のヌクレオチドが点突然変異により置き換えられた遺伝子である。2mepsps遺伝子が産生する2mEPSPS蛋白質のアミノ酸配列は、野生型のEPSPS蛋白質のアミノ酸の102番目のトレオニンがイソロイシ

ンに、また106番目のプロリンがセリンにそれぞれ変化している。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、グリホサートによる活性阻害を受けずシキミ酸合成経路が機能するため、グリホサートの存在下でも生育することができる。

- 5 また、2mEPSPS蛋白質のアミノ酸配列に基づき、2011年にデータベース (AllergenOnline) に登録されている既知のアレルゲンとの包括的相同性検索を行った結果、相同性は認められなかった。

改変PAT蛋白質

- 10 植物は窒素代謝の過程で、硝酸塩の還元、アミノ酸の分解、光呼吸等によりアンモニアを生成する。生成されたアンモニアの無毒化にはグルタミン合成酵素が中心的役割を果たしているが、除草剤グルホシネートを散布すると、グルタミン合成酵素が阻害されてアンモニアが蓄積し、植物は枯死に至る。

- 15 T304-40及びGHB119に導入された改変 bar 遺伝子は、改変PAT蛋白質 (ホスフィノトリシン・アセチル基転移酵素) を産生する。本蛋白質は、グルホシネートをアセチル化して無毒性の N -アセチルグルホシネートとし、グルホシネートのグルタミン合成酵素への阻害作用を不活性化する (OECD, 1999)。これによりアンモニアは蓄積されず、除草剤グルホシネートを散布しても植物は枯死しない。

- 20 改変PAT蛋白質のアミノ酸配列に関して、2011年にデータベース (AllergenOnline) に登録されている既知のアレルゲンとの相同性検索を行った結果、相同性は認められなかった。

改変Cry1Ab蛋白質

- 25 T304-40に導入された改変 $cry1Ab$ 遺伝子がコードする改変Cry1Ab蛋白質は、アミノ酸残基数617、分子量69 kDaの殺虫活性蛋白質 (Bt 蛋白質) である。

- 30 改変Cry1Ab蛋白質は、ワタ栽培における主要チョウ目害虫であるアメリカタバコガ (cotton bollworm : *Helicoverpa zea*)、ニセアメリカタバコガ (tobacco budworm : *Heliothis virescens*)、オオタバコガ (Old world bollworm : *Helicoverpa armigera*) 及びワタアカミムシ (Pink bollworm : *Pectinophora gossypiella*) 等に殺虫活性を示す (バイエルクロップサイエンス株式会社, 2009d) 。

改変Cry1Ab蛋白質のアミノ酸配列に関して、2011年にデータベース (AllergenOnline) に登録されている既知のアレルゲンとの相同性検索を行った結果、相同性は認められなかった。

Cry2Ae蛋白質

GHB119に導入された*cry2Ae*遺伝子がコードするCry2Ae蛋白質は、アミノ酸残基数632、分子量71 kDaの殺虫活性蛋白質である。Cry2Ae蛋白質は、土壤中に普遍的に存在するグラム陽性菌の*B. thuringiensis* subsp. *dakota*から単離された野生型Cry2Ae蛋白質の活性領域（コア蛋白質）とN-末端の43アミノ酸を含む。なお、GHB119に導入された*cry2Ae*遺伝子は、ワタにおける発現に適するようにコドンを変化させているが、この変化によりコードされるアミノ酸は変化していない（Arnaut *et al.*, 2005）。

Cry2Ae蛋白質は、チョウ目害虫であるニセアメリカタバコガ（tobacco budworm : *Heliothis virescens*）、アメリカタバコガ（cotton bollworm : *Helicoverpa zea*）、オオタバコガ（Old world bollworm : *Helicoverpa armigera*）、ワタアカミムシ（pink bollworm : *Pectinophora gossypiella*）、ツマジロクサヨトウ（fall armyworm : *Spodoptera frugiperda*）、シロイチモジヨトウ（beet armyworm : *Spodoptera exigua*）等に殺虫活性を示す（Arnaut *et al.*, 2005; バイエルクロップサイエンス株式会社, 2009e）。

Cry2Ae蛋白質のアミノ酸配列に関して、2011年にデータベース（AllergenOnline）に登録されている既知のアレルゲンとの相同性検索を行った結果、相同性は認められなかった。

変異Cry1Ab蛋白質及びCry2Ae蛋白質を含む*Bt*蛋白質は、標的昆虫に摂取されると、中腸において特定のプロテアーゼにより消化されて活性ポリペプチド（コア蛋白質）となり、中腸上皮の刷子縁膜小胞（BBMV）の特定の受容体と結合し、中腸の円柱細胞にイオンチャネルを形成し（Chen *et al.*, 1995）、恒常性が失われ、敗血症を引き起こし、死に至る（Knowles and Dow, 1993; Broderick *et al.*, 2006）。また、Cry1AbとCry2Ae蛋白質は受容体の結合部位を共有しないことが知られている（Gouffon *et al.*, 2011）。

なお、変異Cry1Ab蛋白質及びCry2Ae蛋白質はセイヨウミツバチ（*Apis mellifera*）及びテントウムシの一種（*Coleomegilla maculata*）の成育及び生存に影響を及ぼさないことが確認されている（バイエルクロップサイエンス株式会社, 2009d, e）。また、2007年から2008年に米国で行った試験において、これらの蛋白質は、その他の非標的昆虫であるクサカゲロウの一種（*Chrysoperla rufilabris*）、オオフォルソムトビムシ（*Folsomia candida*）及びオオミジンコ（*Daphnia magna*）に対して影響を及ぼす可能性が低いことが確認されている（表4, p.16）。さらに、ヒトを含む哺乳類においては、*Bt*蛋白質は消化器系に存在するプロテアーゼや酸性の消化液によってコア蛋白質を含めて消化されること、また、消化器官にはコア蛋白質の受容体は存在しないことから、*Bt*蛋白質を摂取しても影響を受ける可能性は極めて低い。

表 4 非標的昆虫に対する改変 Cry1Ab 蛋白質及び Cry2Ae 蛋白質の影響評価

生物種	生育時期	評価項目	結果	
			改変 Cry1Ab	Cry2Ae
クサカゲロウの一種（脈翅目） (Green Lacewing: <i>Chrysoperla rufilabris</i>)	幼虫	致死	NOEC ¹ 29 µg/g ²	NOEC 27 µg/g ²
オオフォルソムトビムシ (トビムシ目) (Springtail: <i>Folsomia candida</i>)	幼虫	致死又は生殖異常	NOEC 4 µg/g ^{2,3}	44 µg/g で致死率に影響なし
オオミジンコ（双殻目） (<i>Daphnia magna</i>)	未成熟	致死、発達異常又は生殖異常	NOEC 48 µg/L	NOEC 330 µg/L

¹: NOEC: 無影響濃度

²: ELISA による給餌飼料中の目的蛋白質量の平均値

³: 給餌飼料中の改変 Cry1Ab 蛋白質量が不均一であったため ELISA の結果に基づき低めに推量されたが、実際の暴露量はこの数値よりも多いと考えられる。

5

(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。)

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

10 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 活性が増大しても、本経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高まることはないと考えられており (Weiss and Edwards, 1980; Herrmann and Somerville, 1983)、

15 実際に、通常の 40 倍の EPSPS 蛋白質を産生する植物培養細胞において、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)。また、2mEPSPS 蛋白質を発現する GHB614 の種子における芳香族アミノ酸 (フェニルアラニン、トリプトファン及びチロシン) の含有量は、宿主品種の種子と比較して統計学的有意差は認められなかった (Bayer CropScience, 2007)。

20 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、約 200 万分の 1 に過ぎない (Gruys *et al.*, 1992)。

25 以上から、2mEPSPS蛋白質は高い基質特異性を示し、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

改変PAT蛋白質

改変PAT蛋白質は、L-アミノ酸に分類されるグルホシネートに高い親和性を示すが、
5 他のアミノ酸にアセチル基を転移することはなく、特に構造が類似しているグルタミン酸にも親和性はほとんどなく、生体内において実質的に転移反応を生じさせることはない (Thompson *et al.*, 1987)。また、過剰の各種アミノ酸の存在下でも、改変PAT蛋白質によるグルホシネートへのアセチル基転移反応は阻害されることはなかった (Wehrmann *et al.*, 1996)。これらのことから、改変PAT蛋白質はグルホシネートに対し
10 て高い基質特異性を有しており、宿主の持つ代謝系への影響はないと考えられる。なお、グルホシネートの代謝産物であるN-アセチルグルホシネートの毒性は、ラット、マウス、イヌ等の哺乳類に対する毒性試験の結果、普通物¹に分類されるグルホシネートよりも低いことが確認されている (バイエルクロップサイエンス株式会社, 2009f)。

15

改変Cry1Ab蛋白質及びCry2Ae蛋白質

Bt蛋白質が酵素活性を示すとする報告はなされておらず、改変Cry1Ab蛋白質及びCry2Ae蛋白質は宿主の代謝系とは独立して機能すると考えられる。したがって、これらの蛋白質が宿主の持つ代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられる。

20

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

25 GHB614、T304-40 及び GHB119 の作出に用いられたベクターは、次のとおりである。

GHB614 : pGSC1700 (Cornelissen and Vandewiele, 1989) に由来するpTEM2

T304-40 : pGSV20に由来するpTDL008

GHB119 : pGSC1700 (Cornelissen and Vandewiele, 1989) に由来するpTEM12

30

ロ 特性

¹ 毒物及び劇物取締法に定める毒物又は劇物に該当しないもの。なお、経口投与におけるLD50値は 300 mg/kg 以上である。

① ベクターの塩基数及び塩基配列

pTEM2 : 11,953 bp

pTDL008 : 14,393 bp

5 pTEM12 : 12,266 bp

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

10 pTEM2、pTDL008及びpTEM12のT-DNA領域外にはいずれも、選抜マーカーとしてアミノグリコシド系抗生物質に耐性を付与する*E. coli*由来の*aadA*遺伝子が構築されている。

③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

15 pTEM2、pTDL008及びpTEM12の感染性はいずれも知られていない。

(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

20

GHB614、T304-40及びGHB119における移入核酸の構成図をそれぞれ図1～図3 (p. 18～p.19) に示した。

25



図1 GHB614に移入されたDNAの構成図

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

30

pTDL008 – T-DNA

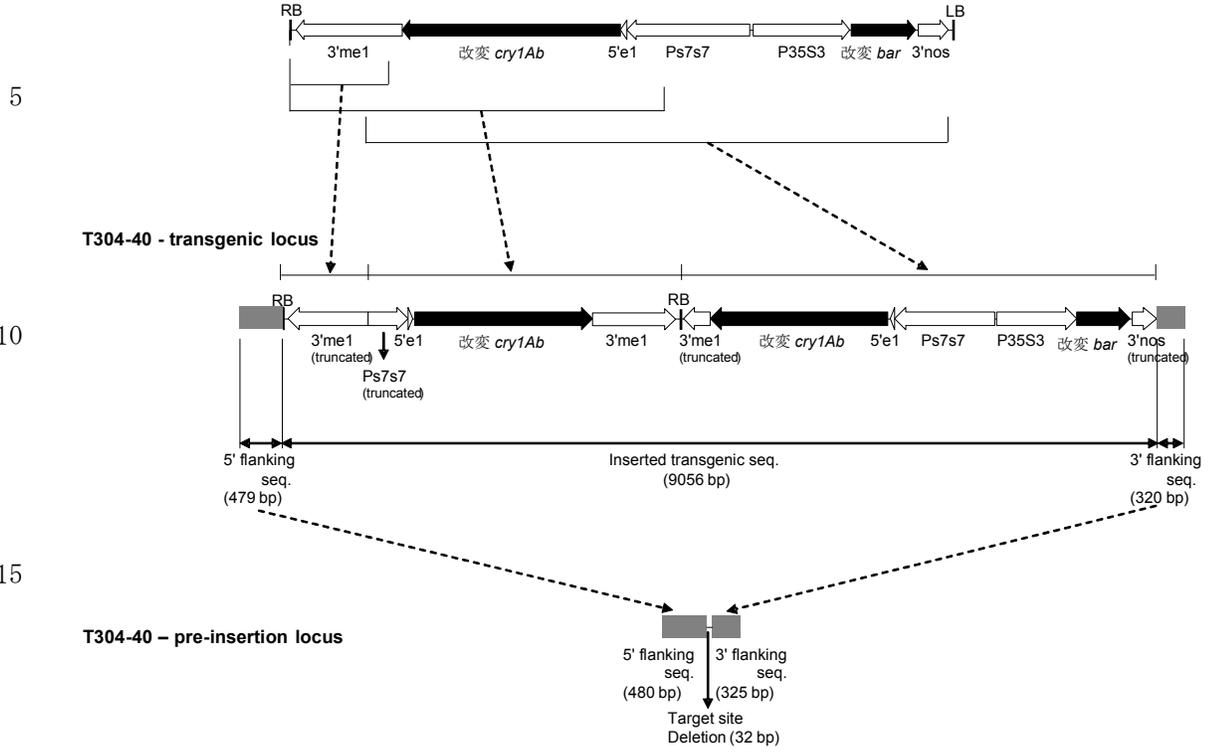


図2 T304-40に移入されたDNAの構成図

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

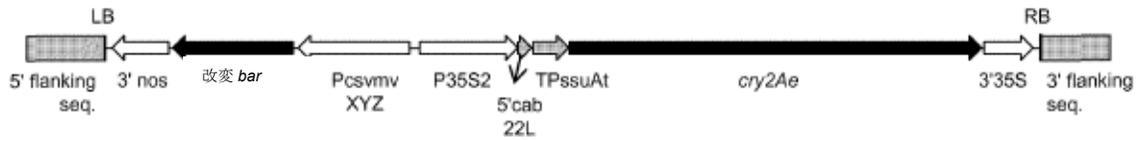


図3 GHB119に移入されたDNAの構成図

(注：本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は申請者に帰属する。)

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主への移入は、いずれもアグロバクテリウム法を用いた。

5 ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

10 GHB614は、claforanを含む培地で培養した後、グリホサートを用いて耐性個体を選抜した。

T304-40は、グルホシネート及びclaforanを含む再生培地において培養して植物体を再生させ、耐性個体を選抜した。

GHB119は、claforanを含む培地で培養した後、グルホシネートを用いて耐性個体を選抜した。

15

② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウム菌体の残存の有無

20 GHB614、T304-40及びGHB119のいずれも、claforanを含む培地で培養し、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、claforanを含まない培地で培養し、菌が増殖しないことの確認により、アグロバクテリウム菌体の残存がないことを確認した。

25 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

30 GHB614、T304-40及びGHB119のいずれも、再生個体をポットに移植して温室内で栽培し、GHB614についてはグリホサート、T304-40及びGHB119についてはグルホシネートによる選抜を行い、組換え当代（T0）を得た。さらに、目的形質及び農業形質等により優良系統を選抜した。

本スタック系統は、交雑育種法によりGHB614、T304-40及びGHB119を掛け合わせて作出した。本スタック系統の育成例を図4（p.21）に示した。

また、わが国における各親系統及び本スタック系統の申請・承認状況を表5に示した。

表5 わが国における親系統及び本スタック系統の申請・承認状況

(2012年12月現在)

5

	環境 ¹	食品 ²	飼料 ³
GHB614	2010年6月 第一種使用規程承認	2010年1月 安全性確認	2010年6月 安全性確認
T304-40	2012年12月 パブコメ終了	2011年2月 申請 審議中	2012年8月 パブコメ終了
GHB119	2012年12月 パブコメ終了	2012年7月 安全性確認	2012年9月 安全性確認
本スタック系統	2012年12月 申請	2013年 申請予定	2013年 届出予定

¹ 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に基づく。

² 食品衛生法に基づく。

³ 飼料の安全性の確保及び品質の改善に関する法律に基づく。

(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。)

10

15

【社外秘情報につき非開示】

図4 本スタック系統の育成図

注) 上記の図は育成の一例である。

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

① 移入された核酸の複製物が存在する場所

5 GHB614、T304-40及びGHB119に移入された核酸はいずれもワタの染色体上に存在することが確認されている。

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

10

【GHB614】

GHB614には1コピーのT-DNA領域が移入されたことがサザンブロット分析及びシーケンス解析により確認されている (図1, p.18)。また、挿入遺伝子の伝達の安定性については、複数世代におけるサザンブロット分析により確認されている (バイエル
15 クロップサイエンス株式会社, 2007; Bayer BioScience N.V., 2007)。

【T304-40】

T304-40には、1コピーのT-DNA領域の他に、1コピーの改変*cryIAb*遺伝子発現カセット及び3'me1断片が移入されていることが確認された (バイエルクロップサイエンス株式会社, 2009b)。また、シーケンス解析の結果、5'側から、3'me1断片 (937 bp
20 中、5'末端の73 bpが消失) に、Ps7s7断片 (1042 bp中、5'末端の623 bpが消失)、改変*cryIAb*遺伝子、3'me1、RB断片 (25 bp中3 bp) までの配列が逆位で配置し、さらにT-DNA領域の両端にある3'me1 (937 bp中、3'末端の617 bpが消失) 及び3'nos (310 bp中、3'末端の48 bpが消失) が短くなった1コピーのT-DNA領域が順位で移入されていることが示された (図2, p.19)。また、T304-40に移入されたDNA配列において、5'末端側に配置されている3'me1断片における670番目のヌクレオチドは、ベクターpTDL008上のシトシンからアデニンに置換されていることが明らかとなったが、それ以外の挿入DNA配列は、pTDL008上のT-DNA領域に構築された各構成要素の塩基配列と一致することが確認されている (Bayer BioScience N.V., 2008a)。また、挿入遺伝子の伝達の安定性は、複数世代におけるサザンブロット分析により確認されている (バイエルクロップサイエンス株式会社, 2009b)。
25
30

【GHB119】

GHB119には1コピーのT-DNA領域が移入されたことがサザンブロット分析及びシ

ークエンス解析により確認されている (図3, p.19)。また、挿入遺伝子の伝達の安定性については、複数世代におけるサザンブロット分析により確認されている (バイエルクロップサイエンス株式会社, 2009c; Bayer BioScience N.V., 2008b)。

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

GHB119及びGHB614に移入された核酸はいずれも1コピーであるため、本項目は該当しない。

- 10 T304-40には前述のとおり、5'末端側から、3'mel断片、Ps7s7断片、改変*cry1Ab*遺伝子、3'mel、RB断片までの配列が逆位で配置し、さらに、T-DNA領域の両端にある3'mel及び3'nosが短くなった1コピーのT-DNA領域が順位で移入されている。これらが隣接して移入されていることは、シーケンス解析により確認されている。

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

親系統の発現の安定性については、以下のように親系統の評価で確認されている。

- 20 GHB614 : 2mEPSPS蛋白質に関するELISA法 (Bayer BioScience N.V., 2006a; Bayer CropScience, 2006) 及び除草剤グリホサート散布試験 (バイエルクロップサイエンス株式会社, 2009a)

- T304-40 : ELISA法による改変PAT蛋白質及び改変Cry1Ab蛋白質の発現確認 (Bayer CropScience, 2009)、並びに、除草剤グルホシネート散布試験による改変PAT蛋白質及び免疫クロマトグラフ法による改変Cry1Ab蛋白質の発現確認 (バイエルクロップサイエンス株式会社, 2012a)

- 25 GHB119 : ELISA法による改変PAT蛋白質及びCry2Ae蛋白質の発現確認 (Bayer CropScience, 2009, 2010)、並びに、除草剤グルホシネート散布試験による改変PAT蛋白質及び免疫クロマトグラフ法によるCry2Ae蛋白質の発現確認 (バイエルクロップサイエンス株式会社, 2012b)

- 30 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

GHB614、T304-40及びGHB119はいずれも、伝達性に係わるDNA配列を有しておらず、自然条件下において野生動植物等に伝達されるおそれはないと考えられる。

(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

5

GHB614、T304-40及びGHB119は、それぞれ移入されたDNAの周辺配列を利用したプライマーを用いたPCR法によってイベント特異的に識別することができる (Bayer BioScience N.V., 2006b, 2010a, b)。

本スタック系統を検出及び識別するためには、種子1粒ごと又は植物体1個体ごとについてそれぞれの方法で分析する必要がある。

10

(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

15

本スタック系統に付与された特性は、GHB614由来の2mepsps遺伝子が付与する除草剤グリホサート耐性、T304-40及びGHB119由来の改変bar遺伝子が付与する除草剤グルホシネート耐性、T304-40由来の改変cry1Ab遺伝子及びGHB119由来のcry2Ae遺伝子が付与するチョウ目害虫抵抗性である。

20

これらの遺伝子により産生される蛋白質の機能的な相互作用の可能性について、除草剤耐性蛋白質及び害虫抵抗性蛋白質間の各観点から検討した。

25 除草剤耐性蛋白質間での機能的な相互作用について

2mEPSPS蛋白質及び改変PAT蛋白質はいずれも酵素活性を示す。2mEPSPS蛋白質はPEP及びS3P、改変PAT蛋白質はグルホシネートを基質とし、いずれも高い基質特異性を有することが知られている。また、各蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立している。よって、これらの蛋白質が相互作用を示すことは考え難い。

30

害虫抵抗性蛋白質間での機能的な相互作用について

改変Cry1Ab蛋白質とCry2Ae蛋白質はいずれもチョウ目害虫抵抗性を有する。Bt蛋白質は標的昆虫において特定の受容体に特異的な結合をして殺虫効果を示す。その結合の特異性には蛋白質の構造が関与しているが、本スタック系統において、両Bt蛋白質

の特異性に関与する領域の構造に変化が生ずる可能性は低く、各*Bt*蛋白質の殺虫効果に影響を及ぼす可能性は考え難い。

除草剤耐性蛋白質及び害虫抵抗性蛋白質間での機能的な相互作用について

5 本スタック系統に導入された除草剤耐性蛋白質（2mEPSPS蛋白質、改変PAT蛋白質）と害虫抵抗性蛋白質（改変Cry1Ab蛋白質及びCry2Ae蛋白質）は、前者は酵素活性を有するもののいずれも高い基質特異性を有しており、一方後者は酵素活性を有さないため宿主の代謝系に影響を及ぼすことはない。したがって、これらの蛋白質が相互に影響を及ぼすことは考え難い。

10

よって、本スタック系統において、これらの発現蛋白質が機能的な相互作用を示し、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられる。

したがって、本スタック系統と宿主の属する分類学上の種であるワタとの生理学的又は生態学的特性の相違については、親系統であるGHB614、T304-40及びGHB119を個別に調査した結果に基づき評価することとする。

15

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

20

各親系統の生物多様性影響評価は終了しており、以下の生理学的又は生態学的特性について、各親系統とそれぞれの対照の非組換えワタとの間に相違がないことが確認されている。なお、生理学的又は生態学的特性に関する情報は日本版バイオセーフティクリアリングハウスホームページ²から参照できる。

25

- a. 形態及び生育の特性
- b. 生育初期における低温耐性
- c. 成体の越冬性
- d. 花粉の稔性及びサイズ
- e. 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

30

² [GHB614]

1) https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=1495&ref_no=1
[T304-40、GHB119]

1) http://www.bch.biodic.go.jp/bch_3_1.html で「農林水産省分野一平成 24 年度」を選択。

2) 第 56 回の該当系統の「申請書等の概要－PDF」を選択。

- f. 交雑率
- g. 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

5 食用及び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 GHB614、T304-40及びGHB119の諸外国における申請・承認状況を表6 (p.28) に示した。

また、わが国におけるGHB614、T304-40及びGHB119並びに本スタック系統の申請・承認状況は、表5 (p.21) に示した。

表6 GHB614、T304-40及びGHB119に係る諸外国における申請・承認状況

(2012年12月現在)

国	規制機関	承認年月			
		GHB614	T304-40	GHB119	T304-40 × GHB119*
米国	米国農務省(USDA)	2009年5月	申請せず	申請せず	2011年10月
	米国食品医薬品庁(FDA)	2008年4月	申請せず	申請せず	2011年8月
	米国環境保護庁(EPA)	対象外 ^a	2012年1月	2012年1月	2012年1月
カナダ	カナダ保健省(HC)	2008年4月	申請せず	申請せず	2012年1月
	カナダ食品検査庁(CFIA)	2008年4月	申請せず	申請せず	2012年1月
オーストラリア、 ニュージーランド	オーストラリア・ニュー ジーランド食品基準機関 (FSANZ)	2009年9月	2010年5月	2011年1月	対象外 ^b

*: T304-40及びGHB119は単独での商品化はされず、スタック系統の交配親として使用する予定である。よって、米国 (USDA、FDA) 及びカナダにおいて、T304-40及びGHB119としての承認申請は行わず、スタック系統としての承認を得た。

5

a: GHB614は害虫抵抗性蛋白質を産生しないため、EPAが規制する生物農薬としての承認については対象外である。

b: FSANZでは、スタック系統の交配親として認可された系統を使用した場合、結果生ずるスタック系統由来食品については別個の認可は必要ないとしている。

10

(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

本スタック系統は、GHB614、T304-40及びGHB119を用いて、交雑育種法により作出した。

5

本スタック系統で発現する2mEPSPS蛋白質及び改変PAT蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立している。また、2mEPSPS蛋白質及び改変PAT蛋白質はいずれも高い基質特異性を有することから宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられ、除草剤耐性蛋白質が相互に作用して予期しない代謝物が生じることは考え難い。

10

また、本スタック系統で発現する改変Cry1Ab蛋白質及びCry2Ae蛋白質は標的昆虫において特定の受容体に結合して殺虫効果を示す。その特異性は蛋白質の構造が関与しており、本スタック系統において、両*Bt*蛋白質の特異性に関与する領域の構造に変化が生じる可能性は低く、各蛋白質の殺虫効果に対する影響を及ぼすことはないと考えられ、害虫抵抗性蛋白質間で相互作用が生ずることは考え難い。また、*Bt*蛋白質は酵素活性を示さないため、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられた。

15

さらに、除草剤耐性蛋白質と害虫抵抗性蛋白質では、それぞれの有する機能が異なるため、相互に影響を及ぼすことは考え難い。

このように、各親系統由来の発現蛋白質が本スタック系統の植物体において相互に影響を受ける可能性は低く、親系統が有する形質を併せ持つ以外に評価すべき形質の変化はないと考えられる。

20

したがって、本スタック系統の生物多様性影響の評価は、各親系統の諸形質を個別に調査した結果に基づいて実施した。以下の「1 競合における優位性」、「2 有害物質の産生性」、「3 交雑性」の各項目について、資料 1~3 のとおり、各親系統において生物多様性影響が生ずるおそれはないと結論されている。このため、本スタック系統は、競合における優位性、有害物質の産生性及び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された。

25

30 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
- (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

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
- (2) 影響の具体的内容の評価
- 5 (3) 影響の生じやすさの評価
- (4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

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 (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

15

第三 生物多様性影響の総合的評価

本スタック系統は、GHB614、T304-40及びGHB119を用いて、交雑育種法により作出した。

5

本スタック系統で発現する2mEPSPS蛋白質及び改変PAT蛋白質の基質は異なり、関与する代謝経路も互いに独立している。また、2mEPSPS蛋白質及び改変PAT蛋白質はいずれも高い基質特異性を有することから宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられ、除草剤耐性蛋白質が相互に作用して予期しない代謝物が生じることは考え難い。

10

また、本スタック系統で発現する改変Cry1Ab蛋白質及びCry2Ae蛋白質は標的昆虫において特定の受容体に結合して殺虫効果を示す。その特異性は蛋白質の構造が関与しており、本スタック系統において両*Bt*蛋白質の特異性に関与する領域の構造に変化が生じる可能性は低く、各蛋白質の殺虫効果に対する影響を及ぼすことはないと考えられ、害虫抵抗性蛋白質間で相互作用が生ずることは考え難い。また、*Bt*蛋白質は酵素活性を示さないため、宿主の代謝系に影響を及ぼすことはないと考えられた。

15

さらに、除草剤耐性蛋白質と害虫抵抗性蛋白質では、それぞれの有する機能が異なるため、相互に影響を及ぼすことは考え難い。

20

このように、各親系統由来の発現蛋白質が本スタック系統の植物体内において相互に影響する可能性は低く、各親系統が有する形質を併せ持つ以外に評価すべき形質の変化はないと考えられた。

25

各親系統において、競合における優位性、有害物質の産生性、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評価されていることから、総合的評価として、本スタック系統、並びに本スタック系統から分離した後代系統を第一種使用規程に従って使用した場合に、わが国の生物多様性に影響を生ずるおそれはないと判断された。

参考文献

1. Alvarez, I., Cronn, R., Wendel, J.F. (2005) Phylogeny of the New World diploid cottons (*Gossypium* L., Malvaceae) based on sequences of three low-copy nuclear genes. *Plant Syst. Evol.* 252: 199-214.
2. Arnaut, G., Boets, A., Vanneste, S., Van Rie, J., Van Houdt, S. (2005) Novel *Bacillus thuringiensis* insecticidal proteins. US Patent US 2005/0216971 A1.
3. Bayer BioScience N.V. (2006a) 2mEPSPS protein contents in leaf, stem, root, square, apex and pollen tissues during the life cycle of the glyphosate tolerant cotton event GHB614. (社内報告書：社外秘)
4. Bayer BioScience N.V. (2006b) *Gossypium hirsutum* elite event GHB614 Discriminating PCR protocol. (社内報告書：社外秘)
5. Bayer BioScience N.V. (2007) Full DNA sequence of event insert and integration site of *Gossypium hirsutum* transformation event GHB614. (社内報告書：社外秘)
6. Bayer BioScience N.V. (2008a) Full DNA sequence of event insert and integration site of *Gossypium hirsutum* transformation event T304-40. (社内報告書：社外秘)
7. Bayer BioScience N.V. (2008b) Full DNA sequence of event insert and integration site of *Gossypium hirsutum* transformation event GHB119. (社内報告書：社外秘)
8. Bayer BioScience N.V. (2010a) Information on Real-Time PCR method for quantitation of cotton GM event T304-40. (社内報告書：社外秘)
9. Bayer BioScience N.V. (2010b) Information on Real-Time PCR method for quantitation of cotton GM event GHB119. (社内報告書：社外秘)
10. Bayer CropScience (2006) Analyses of Raw Agricultural Commodity (Fuzzy Seed) of Cotton GHB614 for 2mEPSPS Protein, USA, 2005 (社内報告書：社外秘)
11. Bayer CropScience (2007) Statistical analysis of compositional data of fuzzy seed from first year field trials of Glytol Cotton, event GHB614, USA 2005 (社内報告書：社外秘)
12. Bayer CropScience (2009) Protein expression analysis of cotton event T304-40, expressing Cry1Ab and PAT/*bar* proteins, USA, 2007. (社内報告書：社外秘)
13. Bayer CropScience (2010) Protein expression analysis of cotton event GHB119, expression Cry2Ae and PAT/*bar* proteins, USA, 2007. (社内報告書：社外秘)
14. Berardi, L.C., Goldblatt, L.A. (1980) *Gossypol*. In: Liener, I.E. (ed.) Toxic Constituents of Plant Foodstuffs, 2nd edn. Academic Press, New York. 184-237.
15. Boevink, P., Chu, P.W.G., Keese, P. (1995) Sequence of subterranean clover stunt virus DNA: Affinities with the geminiviruses. *Virology* 207: 354-361.
16. Bolivar, F., Rodriguez, R.L., Greene, P.J., Betlach, M.C., Heyneker, H.L., Boyer, H.W., Crosa, J.H., Falkow, S. (1977) Construction and characterization of new cloning vehicles.

II. A multipurpose cloning system. *Gene* 2: 95-113.

17. Boocock M.R., Coggins, J.R. (1983) Kinetics of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase inhibition by glyphosate. *FEBS Letters* 154: 127-133.
18. Broderick, N.A., Raffa, K.F., Handelsman, J. (2006). Midgut bacteria required for *Bacillus thuringiensis* insecticidal activity. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 103: 15196-15199.
19. Brown, A.H.D., Brubaker, C.L. (2000) Genetics and the conservation and use of Australian wild relatives of crops. *Aust. J. Bot.* 48: 297-303.
20. Chaboute, M.E., 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.
21. Chaubet, N., Clement, B., Gigot, C. (1992) Genes encoding a histone H3.3-like variant in *Arabidopsis* contain intervening sequences. *J. Mol. Biol.* 225: 569-574.
22. Chen, X.J., Curtiss, A., Alcantara, E., Dean, D.H. (1995) Mutations in domain I of *Bacillus thuringiensis* δ -endotoxin CryIAb reduce the irreversible binding of toxin to *Manduca sexta* brush border membrane vesicles. *J. Biol. Chem.* 270: 6412-6419.
23. Cornelissen, M., Vandewiele, M. (1989) Nuclear transcriptional activity of the tobacco plastid *psbA* promoter. *Nucleic Acids Research* 17: 19-29.
24. De Almeida, E.R.P., Gossele, V., Muller, C.G., Dockx, J., Reynaerts, A., Botterman, J., Krebbers, E., Timko, M.P. (1989) Transgenic expression of two marker genes under the control of an *Arabidopsis rbcS* promoter: Sequences encoding the Rubisco transit peptide increase expression levels. *Mol. Gen. Genet.* 218: 78-86.
25. Depicker, A., Stachel, S., Dhaese, P., Zambryski, P., Goodman, H.M. (1982) Nopaline synthase: Transcript mapping and DNA sequence. *J. Mol. Appl. Genet.* 1: 561-573.
26. Duke, J.A. (1983) *Gossypium hirsutum* L. In: Handbook of Energy Crops, unpublished. Center for New Crops & Plant Products, Purdue Univ. West Lafayette, Indiana. http://www.hort.purdue.edu/newcrop/duke_energy/gossypium_hirsutum.html (accessed 2012-12-7)
27. FAO. FAOSTAT ProdSTAT: Crops. Food and Agriculture Organization of the United Nations. <http://faostat.fao.org/site/567/DesktopDefault.aspx?PageID=567> (accessed 2012-10-04)
28. 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 Res.* 13: 7095-7106.
29. Gruys, K.J., Walker, M.C., Sikorski, J.A. (1992) Substrate synergism and the steady-state kinetic reaction mechanism for EPSP synthase from *Escherichia coli*. *Biochemistry* 31: 5534-5544.
30. Gouffon, C., Van Vliet, A., Van Rie, J., Jansens, S., Jurat-Fuentes, J.L. (2011) Binding sites for *Bacillus thuringiensis* Cry2Ae toxin on heliothine brush border membrane

vesicles are not shared with Cry1A, Cry1F, or Vip3A toxin. Applied and Environmental Microbiology 77: 3182-3188.

31. Gunstone, F.D. (2007) Cottonseed oil (*Gossypium hirsutum* and *G. barbadense*). In: Gunstone, F.D., Harwood, J.L., Dijkstra, A.J. (eds.) The Lipid Handbook with CD-ROM, 3rd edn. CRC Press, Florida. 44-45.
32. Hajdukiewicz, P., Svab, Z., Maliga, P. (1994) The small, versatile *pPZP* family of *Agrobacterium* binary vectors for plant transformation. Plant Mol. Biol. 25: 989-994.
33. Harpster, M.H., Townsend, J.A., Jones, J.D.G., Bedbrook, J., Dunsmuir, P. (1988) Relative strengths of the 35S cauliflower mosaic virus, 1', 2' and nopaline synthase promoters in transformed tobacco, sugarbeet and oilseed rape callus tissue. Mol. Gen. Genet. 212: 182-190.
34. Herrmann, K.M., Somerville, R.L. (1983) Chapter 17, The common aromatic biotynthetic pathway. In: Amino acids, Biosynthesis and genetic regulation., Addison-Wesley publishing Company, MA. 301.322.
35. Höfte, H., De Greve, H., Seurinck, J., Jansens, S., Mahillon, J., Ampe, C., Vandekerckhove, J., Vanderbruggen, H., Van Montagu, M., Zabeau, M., Vaeck, M. (1986) Structural and functional analysis of a cloned delta endotoxin of *Bacillus thuringiensis berliner* 1715. Eur. J. Biochem. 161: 273-280.
36. Itoh, Y., Watson, J.M., Haas, D., Leisinger, T. (1984) Genetic and molecular characterization of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. Plasmid 11: 206-220.
37. Kandylis, K., Nikokyris, P.N., Deligiannis, K. (1998) Performance of growing-fattening lambs fed whole cotton seed. J. Sci. Food Agric. 78: 281-289.
38. Kerkhoven, G.J., Mutsaers, H.J.W. (2003) *Gossypium* L., In: Plant resources of south-east Asia, No.17, Fiber plants (Brink, M., Escobin, R.P., eds.). Backhuys Publishers, Leiden 139-150.
39. Knowles, B.H., Dow, J.A.T. (1993) The crystal δ -endotoxins of *Bacillus thuringiensis*: Models for their mechanism of action on the insect gut. BioEssays 15: 469-476.
40. Lebrun, M., Leroux, B., Sailland, A. (1996) Chimeric gene for the transformation of plants. US patent US5510471 (23-APRIL-1996). Rhone Poulenc Agrochimie (FR).
41. Lebrun, M., Sailland, A., Freyssinet, G., Degryse, E. (2003) Mutated 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase, gene coding for said protein and transformed plants containing said gene. US patent US6566587B1 (20-MAY-2003). Bayer CropScience SA (FR).
42. Marshall, J.S., Stubbs, J.D., Taylor, W.C. (1996) Two genes encode highly similar chloroplastic NADP-malic enzymes in *Flaveria*. Plant Physiol. 111: 1251-1261.
43. McGregor, S.E. (1976) Insect pollination of cultivated crop plants. Agriculture Handbook No.496. U.S. Department of Agriculture. <http://www.ars.usda.gov/SP2UserFiles/Place/53420300/OnlinePollinationHandbook.pdf> (accessed 2012-12-7)

44. Michiels, F., Morioka, S., Scheirlinck, T., Komari, T. (1992) Stamen-specific promoters from rice. Patent Application WO92/13956A1 (20AUG-1992). PLANT GENETIC SYSTEMS N.V. (BE).
- 5 45. Odell, J.T., Nagy, F., Chua, N.-H. (1985) Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. *Nature* 313: 810-812.
46. OECD (1999) Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. Series on harmonization of regulatory oversight in biotechnology No. 11. ENV/JM/MONO(99)13.
- 10 47. 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.
- 15 48. 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.
49. Oka, A., Sugisaki, H., Takanami, M. (1981) Nucleotide sequence of the kanamycin resistance transposon Tn903. *J. Mol. Biol.* 147: 217-226.
- 20 50. Oosterhuis, D.M., Jernstedt, J. (1999) Morphology and anatomy of the cotton plant. *In*: Smith, W.C., Cothren, J.T. (eds.) *Cotton: Origin, History, Technology and Production*. Wiley, New York. 175-206.
51. Reddy, K.R., Reddy, V.R., Hodges, H.F. (1992) Temperature effects on early season cotton growth and development. *Agron. J.* 84: 229-237.
- 25 52. Richards, J.S., Stanley, J.N., Gregg, P.C. (2005) Viability of cotton and canola pollen on the proboscis of *Helicoverpa armigera*: Implications for spread of transgenes and pollination ecology. *Ecol. Entomol.* 30: 327-333.
53. Sanfaçon, H., Brodmann, P., Hohn, T. (1991) A dissection of the cauliflower mosaic virus polyadenylation signal. *Genes Dev.* 5:141-149.
- 30 54. Smart, C.C., Johannig, 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.
55. Stanton, M.A., Stewart, J.McD., Percival, A.E., Wendel, J.F. (1994) Morphological diversity and relationships in the A-genome cottons, *Gossypium arboreum* and *G. herbaceum*. *Crop Sci.* 34: 519-527.
- 35 56. Stipanovic, R.D., Puckhaber, L.S., Bell, A.A., Percival, A.E., Jacobs, J. (2005) Occurrence of (+)- and (-)-gossypol in wild species of cotton and in *Gossypium hirsutum* var. *marie-galante* (Watt) Hutchinson. *J. Agric. Food Chem.* 53: 6266-6271.
57. Thompson, C., Van Montagu, M., Leemans, J. (1987) Engineering herbicide resistance in plants by expression of a detoxifying enzyme. *EMBO Journal.* 6: 2513-2518.

58. Van Deynze, A.E., Sundstrom, F.J., Bradford, K.J. (2005) Pollen-mediated gene flow in California cotton depends on pollinator activity. *Crop Sci.* 45: 1565-1570.
59. Verdaguer, B., De Kochko, A., Beachy, R.N., Fauquet, C. (1996) Isolation and expression in transgenic tobacco and rice plants, of the cassava vein mosaic virus (CVMV) promoter. *Plant Mol. Biol.* 31: 1129-1139.
60. Vollesen, K. (1987) The native species of *Gossypium* (Malvaceae) in Africa, Arabia and Pakistan. *Kew Bull.* 42: 337-349.
61. Wehrmann, A., Van Vliet, A., Opsomer, C., Botterman, J., Schulz, A. (1996) The similarities of *bar* and *pat* gene products make them equally applicable for plant engineers. *Nat. Biotechnol.* 14: 1274-1278.
62. Weiss, U., Edwards, J.M. (1980) . Chapter15, Regulation of the shikimate pathway. *In*; The biosynthesis of aromatic compounds. A Wiley- Interscience Publication John Wiley & Sons, NY. 287-301.
63. Wendel, J.F., Cronn, R.C. (2003) Polyploidy and the evolutionary history of cotton. *Adv. Agron.* 78: 139-186.
64. Zambryski, P. (1988) Basic processes underlying *Agrobacterium*-mediated DNA transfer to plant cells. *Ann. Rev. Genet.* 22: 1-30.
65. Zhang, B., Pan, X., Guo, T., Wang, Q., Anderson, T.A. (2005) Measuring gene flow in the cultivation of transgenic cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Molecular Biotechnology* 31: 11-20.
66. Zhu, J., Oger, P.M., Schrammeijer, B., Hooykaas, P.J.J., Farrand, S.K., Winans, S.C. (2000) The bases of crown gall tumorigenesis. *J. Bacteriol.* 182: 3885-3895.
67. 財務省 貿易統計 (2012)
<http://www.customs.go.jp/toukei/srch/index.htm?M=01&P=0>(accessed 2012-12-07)
68. 新谷 勳 (1989) 食品油脂の科学 幸書房 31-32.
69. 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.
70. 農林水産省 (2012) 農林水産物輸出入概況2011年(平成23年) 確定値.
http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kokusai/pdf/yusyutu_gaikyo_11.pdf (accessed 2012-10-04)
71. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2007) 移入された核酸の確認 (特性・後代への伝搬の安定性・T-DNA外配列の移入の確認) (社内報告書: 社外秘)
72. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2009a) 除草剤グリホサート耐性ワタ GHB614の隔離ほ場試験報告書 (社内報告書: 社外秘)
73. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2009b) Summary report on the molecular characterization of Cry1Ab Cotton event T304-40. (社内報告書: 社外秘)

74. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2009c) Summary report on the molecular characterization of Cry2Ae Cotton event GHB119. (社内報告書：社外秘)
75. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2009d) T304-40の特性調査及び環境影響評価試験. (社内報告書：社外秘)
- 5 76. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2009e) GHB119の特性調査及び環境影響評価試験. (社内報告書：社外秘)
77. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2009f) 農薬抄録. グルホシネート(除草剤). 独立行政法人農林水産消費技術センター.
<http://www.acis.famic.go.jp/syouroku/glufosinate/index.htm> (アクセス 2012年12月14日)
- 10 78. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2012a) 除草剤グルホシネート耐性及びチヨウ目害虫抵抗性ワタT304-40の隔離ほ場試験報告書 (2011年度). (社内報告書：社外秘)
- 15 79. バイエルクロップサイエンス株式会社 (2012b) 除草剤グルホシネート耐性及びチヨウ目害虫抵抗性ワタGHB119の隔離ほ場試験報告書 (2011年度). (社内報告書：社外秘)
80. 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.

緊急措置計画書（食用・飼料用に供する場合）

平成24年12月19日

5 氏名 バイエルクロップサイエンス株式会社
 代表取締役社長 ギャビン マーチャント
 住所 東京都千代田区丸の内一丁目6番5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グルホシネート耐性並びにチヨウ目害虫抵抗性ワタ（*2mepsps*, 改変*bar*, 改変*cry1Ab*, *cry2Ae*, *Gossypium hirsutum* L.）（GHB614×T304-40×GHB119, OECD UI: BCS-GH002-5×BCS-GH004-7×BCS-GH005-8）（以下、「本スタック系統」とする。）並びに本スタック系統から分離した後代系統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リスク評価において確認された場合は、弊社は適切に当該影響を防止するため、以下の措置をとることとする。

15 なお、生物多様性影響が生ずるおそれがあるとリスク評価において確認された場合とは、本スタック系統及び本スタック系統から分離した後代系統に関して、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

20 弊社は社内に、緊急措置に適切に対応するために危機対策本部を速やかに設置する。

（平成24年12月現在）

危機対策本部	
（危機対策本部長）	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部長
	バイエルクロップサイエンス株式会社 開発本部 種子規制部長
	バイエルクロップサイエンス株式会社 広報
	Bayer CropScience, Seeds Global regulatory affairs manager, Cotton

【個人名は個人情報につき非開示】

25

2 第一種使用等の状況の把握の方法

5 弊社は本スタック系統子実及び本スタック系統から分離した後代系統の子実の我が国への輸入業者、我が国における配給業者、輸入した本スタック系統子実及び本スタック系統から分離した後代系統の子実の量及び時期を可能な限り特定する。

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

10 確認された明らかな生物多様性影響が生ずるおそれに基づき、適切に、弊社は上記2で明らかにした本スタック系統子実及び本スタック系統から分離した後代系統の子実の我が国への輸入業者及び我が国における配給業者に当該影響を防止するために適切な措置を講ずることを通知する。さらに、弊社は可能な限りにおいて本スタック系統子実及び本スタック系統から分離した後代系統の子実を我が国に配給している、又はその可能性のある国の配給業者及び農業業者団体に生物多様性影響が生ずるおそれが確認されたこと及び当該影響を防止する措置に関して通知する。

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

20 確認された明らかな生物多様性影響が生ずるおそれに基づき、適切に、弊社は上記2及び3において示した個人又は団体に対し、本スタック系統及び本スタック系統から分離した後代系統を不活性化する措置又は環境への放出を防止するための措置、並びに既に環境に放出された本スタック系統及び本スタック系統から分離した後代系統の拡散を防止する措置について連絡、指導する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

30 本スタック系統及び本スタック系統から分離した後代系統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、緊急措置対応のための社内における組織体制及び連絡窓口を報告する。

資料一覧

- 資料1. 生物多様性影響評価検討会での検討の結果「除草剤グリホサート耐性ワタ
GHB614」（承認日：2010年6月11日）
- 5 資料2. 生物多様性影響評価検討会での検討の結果「除草剤グルホシネート耐性及び
チョウ目害虫抵抗性ワタT304-40」（総合検討会における検討日：2012年9月7
日）
- 資料3. 生物多様性影響評価検討会での検討の結果「除草剤グルホシネート耐性及び
チョウ目害虫抵抗性ワタGHB119」（総合検討会における検討日：2012年9月7
日）
- 10

資料1

5 生物多様性影響評価検討会での検討の結果

「除草剤グリホサート耐性ワタGHB614」

10

15

20 (総合検討会における検討日：2009年10月5日)

生物多様性影響評価検討会での検討の結果

1 (略)

2 (略)

3 名称：除草剤グリホサート耐性ワタ

(2mepsps, *Gossypium hirsutum* L.) (GHB614, OECD UI: BCS-GH002-5)

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

申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

(1) 生物多様性影響評価の結果について

ア 競合における優位性

宿主が属する生物種であるワタは、我が国において長期にわたり輸入され、加工用として使用されてきた実績があるが、我が国において自生化することは報告されていない。

本組換えワタは、移入した 2mepsps 遺伝子により除草剤グリホサート耐性が付与されているが、自然環境下においてグリホサートが選択圧となる可能性は考えにくいことから、この形質は競合における優位性を高めるものではないと考えられる。

2008 年に我が国の隔離ほ場において、競合における優位性に関わる諸形質として、形態及び生育の特性、成体の越冬性、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率について調査した。その結果、栽培試験用種子の発芽率に関して系統間に統計学的有意差が認められたものの、これらの栽培試験用種子は採種地が異なり、対照品種の場合、収穫前の天候不順により GHB614 ほど発芽率の高い種子が得られなかったものと考えられた。また、収穫種子及びその風乾種子の発芽率については、GHB614 と対照品種との間に統計学的有意差は認められなかったことから、栽培試験用種子に認められた発芽率の差は遺伝子組換えによる影響ではないと考えられる。また、2007 年に我が国の特定網室において、生育初期における低温耐性について宿主との比較調査がなされたが、両者の間に統計学的有意差は認められなかった。

以上より、第一種使用等により、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

イ 有害物質の産生性

ワタの種子には、非反芻動物に対して毒性を示すゴッシンポールや飽和脂肪酸の脱飽和を阻害して鶏卵の変色やふ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ことが知られている。しかし、野生動物がワタの種子を捕食するという例は報告されていない。また、ワタについては、野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は報告されていない。

本組換えワタは、グリホサート耐性を付与する **2mEPSPS** 蛋白質を産生するが、本蛋白質は既知のアレルゲンや毒素との間でアミノ酸配列に相同性はみられないことが確認されている。また、**2mEPSPS** 蛋白質は、**EPSPS** 蛋白質と同様に高い基質特異性を有すると考えられることから、宿主の代謝系に影響を及ぼし、有害物質を産生することはないと考えられる。

さらに、我が国の隔離ほ場試験において、本組換えワタの有害物質（根から分泌されて他の植物及び土壌微生物へ影響を与えるもの、植物体が有し枯死した後に他の植物に影響を与えるもの）の産生性の有無を、後作試験、土壌微生物相試験及び鋤込み試験により比較検討した結果、対照区との間で統計学的有意差は認められなかった。

以上より、第一種使用等により、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

ウ 交雑性

我が国の自然環境中にはワタと交雑可能な野生植物は生育していないことから、影響を受ける可能性のある野生植物は特定されず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 生物多様性影響評価書を踏まえた結論

以上を踏まえ、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、我が国における生物多様性に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判断した。

4 (略)

5 (略)

資料2

5 生物多様性影響評価検討会での検討の結果

「除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタT304-40」

10

15

20 (総合検討会における検討日：2012年9月7日)

- 3 名称：除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ(改変 *bar*, 改変 *cry1Ab*, *Gossypium hirsutum* L.)(T304-40, OECD UI: BCS-GH004-7)
 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
 申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

(1) 生物多様性影響評価の結果について

本組換えワタは、プラスミド pGSV20 をもとに構築された発現ベクターpTDL008 をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

本組換えワタは、*Streptomyces hygroscopicus* 由来の改変 PAT 蛋白質(ホスフィノスリシン・アセチル基転移酵素)をコードする改変 *bar* 遺伝子、*Bacillus thuringiensis* 由来の改変 *Cry1Ab* 蛋白質をコードする改変 *cry1Ab* 遺伝子を含む 1 コピーのほぼ完全な T-DNA 領域、1 コピーの改変 *cry1Ab* 遺伝子発現カセット及び 3'me1 断片が染色体上に隣接して組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達されていることが遺伝子の分離様式やサザンブロット分析及びシーケンス分析により確認されている。また、目的の遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることが ELISA 法により確認されている。

ア 競合における優位性

宿主が属する生物種であるワタは、我が国において長期にわたり使用等の実績があるが、自生化しているとの報告はなされていない。

2008 年度に我が国の P1P 実験室及び 2011 年度に我が国の隔離ほ場において、本組換えワタの競合における諸形質について調査が行われた結果、開花期、開じょ期及び総分枝数において、本組換えワタと対照の非組換えワタとの間に差異又は統計学的有意差が認められた。

開花期及び開じょ期は、いずれも本組換えワタが対照の非組換えワタよりも 1 日早まったものの、その差は僅かであり、競合における優位性を高めるものではないと考えられた。また、総分枝数において、本組換えワタが対照の非組換えワタに比べて少なく、統計学的有意差が認められた。これは、生育初期に虫害を受けたために補植した本組換えワタ株において、一時的な生育遅れが生じ、特に分枝の展開が遅れる傾向となり、摘心時の調査において差が生じたものと推察された。しかし、収穫期に調査した地上部重等において統計学的有意差は認められていないことから、この差は一時的なものであると考えられた。

本組換えワタは、改変 PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性及び改変 *Cry1Ab* 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性が付与されている。しかしながら、栽培種であるワタが我が国の自然環境下で自生することは困難であることから、我が国の自然環境下では競合における優位性を高めるとは考え難い。

以上より、本組換えワタは、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

イ 有害物質の産生性

宿主が属する生物種であるワタについては、非反芻動物に対して毒性を示すゴッシポール及び飽和脂肪酸の不飽和化を阻害することにより鶏卵の脱色やふ化率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。しかし、野生動物がワタの種子を摂

食するという報告はなされていない。また、ワタには、他感作用物質のような野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

本組換えワタは導入された遺伝子等により、改変 PAT 蛋白質及び改変 Cry1Ab 蛋白質が発現しているが、既知アレルゲン類似性の配列を有しないことが確認されている。

我が国の隔離ほ場において、本組換えワタの有害物質（根から分泌されて他の植物及び土壌微生物へ影響を与えるもの、植物体が内部に有し枯死した後に他の植物に影響を与えるもの）の産生性の有無を土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験により検討した結果、本組換えワタの試験区と対照の非組換えワタの試験区との間に差異は認められなかった。

改変 PAT 蛋白質は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た。なお、本組換えワタにグルホシネートを散布すると、改変 PAT 蛋白質により *N*-アセチルグルホシネートが産生される。*N*-アセチルグルホシネートは、綿実におけるグルホシネートの残留基準値の規制対象化合物に含まれており、その毒性は、普通物に分類されるグルホシネートよりも低いことが確認されている。

本組換えワタは改変 Cry1Ab 蛋白質によりチョウ目害虫抵抗性が付与されているため、我が国に生息するチョウ目昆虫が本組換えワタの植物体を摂食した場合、また、本組換えワタから飛散した花粉を摂食した場合に生存に影響を及ぼす可能性が考えられた。しかしながら、我が国においてワタの自生は報告されておらず、輸入されたワタ種子が運搬の途中でこぼれ落ち、自然条件下で生育あるいは自生する可能性は低い。また、仮に生育しても、ワタの花粉は比較的強く粘着性があることから、風により広範囲に飛散する可能性は低い。よって、我が国に生息するチョウ目昆虫種が本組換えワタを摂食する可能性並びに花粉に暴露される可能性はいずれも極めて低いと考えられた。

以上より、本組換えワタは、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

ウ 交雑性

我が国の自然環境中にはワタと交雑可能な野生植物は生育していないことから、影響を受ける可能性のある野生植物は特定されず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 生物多様性影響評価を踏まえた結論

以上を踏まえ、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、我が国における生物多様性に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判断した。

資料3

5 生物多様性影響評価検討会での検討の結果

「除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタGHB119」

10

15

20 (総合検討会における検討日：2012年9月7日)

- 2 名称：除草剤グルホシネート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ(改変 *bar*, *cry2Ae*, *Gossypium hirsutum* L.)(GHB119, OECD UI: BCS-GH005-8)
 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
 申請者：バイエルクロップサイエンス株式会社

(1) 生物多様性影響評価の結果について

本組換えワタは、プラスミド pGSC1700 をもとに構築された発現ベクター pTEM12 をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

本組換えワタは、*Streptomyces hygroscopicus* 由来の改変 PAT 蛋白質(ホスフィノスリシン・アセチル基転移酵素)をコードする改変 *bar* 遺伝子、*Bacillus thuringiensis* 由来の *Cry2Ae* 蛋白質をコードする *cry2Ae* 遺伝子及を含む T-DNA 領域が染色体上に 1 コピー組み込まれ、複数世代にわたり安定して伝達されていることが遺伝子の分離様式やサザンブロット分析により確認されている。また、目的の遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることが ELISA 法により確認されている。

ア 競合における優位性

宿主が属する生物種であるワタは、我が国において長期にわたり使用等の実績があるが、自生化しているとの報告はなされていない。

2008 年度に我が国の P1P 実験室及び 2011 年度に我が国の隔離ほ場において、本組換えワタの競合における諸形質について調査が行われた結果、開花期、開じょ期、莖長、着蕾数及びさくの重量において、本組換えワタと対照の非組換えワタとの間に差異又は統計学的有意差が認められた。

開花期は本組換えワタが対照の非組換えワタに比べて 3 日遅かった。これは、本組換えワタの供試種子の播種 14 日後の発芽率が 61%と低く、発芽力の低下により対照の非組換えワタに比べて初期生育が遅れる傾向にあったことが開花期に影響したと考えられたが、その後は順調に生育し、開じょ期は対照の非組換えワタよりも 2 日早くなった。しかしながら、いずれも差は僅かであり、これらの差によって本組換えワタの競合における優位性が高まることはないと考えられた。なお、供試種子の発芽率に差はみられたものの、隔離ほ場で収穫した種子における発芽率において、統計学的有意差は認められなかったことから、この差は遺伝的要因によるものではないと考えられた。

莖長及び着蕾数において、本組換えワタが対照の非組換えワタよりも低くなったが、これは、初期生育の遅れに起因するものと考えられた。さくの重量については、本組換えワタの方が対照の非組換えワタよりも大きい値となったが、これは、着蕾数が少なくなったことにより一さくが大きくなる傾向になったものと考えられる。なお、本組換えワタのさくの重量については、同年に同ほ場において栽培した商業栽培品種の値を上回っていないことから、品種間差の範囲内であると考えられた。

本組換えワタは、改変 PAT 蛋白質による除草剤グルホシネート耐性及び *Cry2Ae* 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性が付与されている。しかしながら、栽培種であるワタが我が国の自然環境下で自生することは困難であることから、我が国の自然環境下では競合における優位性を高めるとは考え難い。

以上より、本組換えワタは、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

イ 有害物質の産生性

宿主が属する生物種であるワタについては、非反芻動物に対して毒性を示すゴッシンポール及び飽和脂肪酸の不飽和化を阻害することにより鶏卵の脱色やふ化率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。しかしながら、野生動物がワタの種子を摂食するという報告はなされていない。また、ワタには、他感作用物質のような野生動植物等の生息又は生育に影響を及ぼす有害物質の産生性は知られていない。

本組換えワタは導入された遺伝子等により、改変 PAT 蛋白質及び Cry2Ae 蛋白質が発現しているが、既知アレルゲンと類似の配列を有しないことが確認されている。我が国の隔離ほ場において、本組換えワタの有害物質（根から分泌されて他の植物及び土壌微生物へ影響を与えるもの、植物体が内部に有し枯死した後に他の植物に影響を与えるもの）の産生性の有無を土壌微生物相試験、鋤込み試験及び後作試験により検討した結果、本組換えワタの試験区と対照の非組換えワタの試験区との間に差異は認められなかった。

改変 PAT 蛋白質は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た。なお、本組換えワタにグルホシネートを散布すると、改変 PAT 蛋白質により *N*-アセチルグルホシネートが産生される。*N*-アセチルグルホシネートは、綿実におけるグルホシネートの残留基準値の規制対象化合物に含まれており、その毒性は、普通物に分類されるグルホシネートよりも低いことが確認されている。本組換えワタは Cry2Ae 蛋白質によりチョウ目害虫抵抗性が付与されているため、我が国に生息するチョウ目昆虫が本組換えワタの植物体を摂食した場合、また、本組換えワタから飛散した花粉を摂食した場合に生存に影響を及ぼす可能性が考えられた。しかしながら、我が国においてワタの自生は報告されておらず、輸入されたワタ種子が運搬の途中でこぼれ落ち、自然条件下で生育あるいは自生する可能性は低い。また、仮に生育しても、ワタの花粉は比較的強く粘着性があることから、風により広範囲に飛散する可能性は低い。よって、我が国に生息するチョウ目昆虫種が本組換えワタを摂食する可能性及び花粉に暴露される可能性はいずれも極めて低いと考えられた。

以上より、本組換えワタは、影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定はされず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

ウ 交雑性

我が国の自然環境中にはワタと交雑可能な野生植物は生育していないことから、影響を受ける可能性のある野生植物は特定されず、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の申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 生物多様性影響評価を踏まえた結論

以上を踏まえ、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、我が国における生物多様性に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判断した。