

除草剤グリホサート耐性ワタ (*2mepsps, Gossypium hirsutum* L.) (GHB614, OECD UI: BCS-GH002-5) の生物多様性影響評価書の概要

第一種使用規程承認申請書	1
生物多様性影響評価書の概要	
第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	4
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	4
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	4
(2) 使用等の歴史及び現状	4
(3) 生理学的及び生態学的特性	6
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	8
(1) 供与核酸に関する情報	8
(2) ベクターに関する情報	12
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	13
(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	15
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法 並びにそれらの感度及び信頼性	17
(6) 宿主又は宿主に属する分類学上の種との相違	17
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	20
(1) 使用等の内容	20
(2) 使用等の方法	20
(3) 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	21
(4) 国外における使用等に関する情報	21
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	23
1 競合における優位性	23
2 有害物質の産生性	24
3 交雑性	26
4 その他の性質	27
第三 生物多様性影響の総合的評価	28
参考文献	30
別添資料の内容	30
緊急措置計画書の概要	31

## 第一種使用規程承認申請書

平成 19 年 11 月 22 日

農林水産大臣 若林 正俊 殿  
環境大臣 鴨下 一郎 殿

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 ジョン グレイ 印  
住所 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 5 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耐性ワタ ( <i>2mepsps, Gossypium hirsutum</i> L.) (GHB614, OECD UI: BCS-GH002-5)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	<p>所在地：茨城県つくば市観音台三丁目1番地3  名称：独立行政法人農業環境技術研究所隔離ほ場  使用期間：承認日から平成22年5月31日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1) 部外者の立入りを防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設置している。</p> <p>(2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。</p> <p>(3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えワタの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該ワタの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。</p> <p>(4) 隔離ほ場周辺には、防風林を設置している。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1) 本遺伝子組換えワタ及び比較対照のワタ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。</p> <p>(2) 本遺伝子組換えワタを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該ワタが漏出しない構造の容器に入れる。</p> <p>(3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、本遺伝子組換えワタの栽培終了後は、当該ワタ及び比較対照のワタを隔離ほ場内ですき込む等により、確実に不活化する。</p> <p>(4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えワタが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。</p> <p>(5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。</p>

	<p>(6) (1) から (5) までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。</p> <p>(7) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。</p>
--	---

## 第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

### 1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

#### (1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

##### イ 和名、英名及び学名

和名：ワタ（リクチメン）

英名：Upland cotton

学名：*Gossypium hirsutum* L.

##### ロ 宿主の品種名

宿主の品種名は、四倍体栽培ワタ（*Gossypium hirsutum* L.）のCoker312である。

##### ハ 国内及び国外の自然環境における自生地域

我が国の自然環境下において、*G. hirsutum*を含め四倍体栽培ワタと交雑可能な*Gossypium*属植物の分布は報告されていない。

*Gossypium*属は世界に46種あり（文献17）、そのうち栽培種は、旧大陸の栽培アジア綿と総称される二倍体の*G. herbaceum*及び*G. arboreum*、また、世界で最も広く栽培されている四倍体の*G. hirsutum*、同じく四倍体で長繊維種の*G. barbadense*の計4種である（文献9）。また、野生二倍体種は地理的分布により、オーストラリア群17種、アフリカ・アラビア群9種、アメリカ群12種の3群に分けられる。さらに、野生四倍体種は熱帯地方に分布しており、*G. tomentosum*（ハワイ）、*G. darwinii*（ガラパゴス）、*G. mustelinum*（ブラジル）、*G. lanceolatum*（メキシコ）がある（文献17）。

#### (2) 使用等の歴史及び現状

##### イ 国外及び国内における第一種使用等の歴史

ワタは数千年間その繊維を得るために栽培されてきた。パキスタンのモヘンジョダロ遺跡から紀元前3000年頃の綿布片が発掘されており、その繊維は*G. arboreum*のものであったといわれる。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ている。これらの発見から、古代インド人とペルーのインディオによって別々に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*G. hirsutum*のさくが発掘され、ワタの栽培利用の歴史はきわめて古いと考えられている（文献9）。

中南米で栽培された*G. hirsutum*は1700年前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た。その後*G. hirsutum*は米国の主要作物となったが、南北戦争のために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（文献9）。

我が国における在来の栽培種は*G. arboreum*であり、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である。その後、16世紀に入ってから全国的に栽培が広まった（文献20）が、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が、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（文献9）。

#### ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

現在、ワタは工芸作物の中で最大の栽培面積を持つ。2005年の世界におけるワタの生産量は約4,308万tであり、主な生産国は中国（1,140万t）、米国（771万t）、インド（666万t）、パキスタン（443万t）、ウズベキスタン（247万t）、ブラジル（180万t）、トルコ（113万t）である（文献7）。

2005年度において、約16万tの採油用の綿実が我が国に輸入されている（文献15）。綿実の輸入先はオーストラリア、米国の順に多い。また、綿実油は2005年度において約615万tが輸入され、主な輸入先はオーストラリア（354万t）及び米国（194万t）である。2005年の綿実油粕の輸入量は約618万tであり、主な輸入先は中国（564万t）、米国（44万t）であった（文献1）。

ワタ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（文献20）。

ワタは工芸作物の中でも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、綿花は糸に紡がれる。また、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、抽出した油は食用油として、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（文献20）。

### (3) 生理学的及び生態学的特性

#### イ 基本的特性

ワタは原産地では木本多年生の原始的な栽培系統が存在するが、現在世界で栽培される品種群は一年生の系統に由来する(文献20)。主茎は直立し、茎長は0.5~1.5mになる(文献9)。

#### ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ワタの発芽の最低温度は12℃、最適温度は27℃~36℃である。また、生育初期の温度は24℃~30℃、後期ではさらに高温が良いとされる(文献9)。さらに、無霜期間は180~200日以上、年間降雨量は500mm以上、生育期間の40%以上の晴天日が必要である。ワタは酸性に弱い、アルカリ性に対する適応性が高く、塩分の多いアルカリ性土壌で栽培可能である(文献20)。

#### ハ 繁殖性又は増殖の様式

##### ① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

さくは3~5室に分かれており、1室に7~8個の種子を含んでいる。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(文献9)、種子の脱粒性は低い(文献11)。また、品種によっては収穫後2~3ヶ月の休眠期を持つ。水分含有率10%以上の種子は貯蔵中に急速に活力を失う(文献19)。

##### 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発芽特性

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。

##### 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し、他殖率は通常5~30%とされている(文献11)。なお、我が国においてワタと交雑可能な近縁野生種は知られていない。

#### ④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

ワタは一花からおよそ3万5千個の花粉を生産する（文献23）。ワタの花粉粒は重いため、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としてマルハナバチやセイヨウミツバチのような媒介昆虫の活動に依存している（文献17）。雄性不稔系統と放飼昆虫を用いた米国における交配試験により、12mを超えると明らかな花粉移動は見られないという報告がある（文献23）。他方、中国における除草剤耐性ワタを用いた試験では、50mの距離で2680個体中1個体の耐性個体（0.04%）が認められたものの、10mを超えると出現程度は極めて低くなる結果が得られている（文献26）。また、花粉の寿命は12時間程度とされる（文献17）。

#### ニ 有害物質の産生性

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

#### ホ その他の情報

ワタにはゴッシポールやシクロプロペン脂肪酸が含まれている。

ゴッシポールは腺組織に存在するテルペノイドで、遊離型と結合型があり、遊離型は非反芻動物に対する毒性が高く、雄の抗受精特性を有する（文献18）。搾油工程で一部の遊離ゴッシポールは原油にも移行するが、精製工程で無害な結合型となり、脱ガム、脱酸、脱色の各工程で除去される（文献21）。

また、綿実油や搾油粕に1%程度まで含まれるステルクリン酸（C-19）やマルバリン酸（C-18）などのシクロプロペン脂肪酸は、飽和脂肪酸の脱飽和を阻害し、鶏では卵白の変色やふ化率の低下を引き起こす。これらの脂肪酸は、精製油の脱臭工程中にほとんど除去される（文献18）。

ワタの種子中にはこれらの有害物質が含まれるが、野生動物が捕食するという例は報告されていない



## 2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

### (1) 供与核酸に関する情報

#### イ 構成及び構成要素の由来

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。)の作出に用いられた供与核酸の構成要素を表1 (p.9) に示した。

表1 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	<i>Arabidopsis thaliana</i> 由来のヒストンH4のプロモーター領域を含む配列 (文献4)。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	<i>Arabidopsis thaliana</i> 由来のヒストンH3.3の第II遺伝子の第一イントロンを含む配列 (文献5)。
TPotp C	1554-1926	373	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膜輸送ペプチドをコードする遺伝子の配列 (文献12)。
<i>2mepsps</i>	1927-3264	1338	トウモロコシ ( <i>Zea 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 (文献13) で、除草剤グリホサートに対する耐性を付与する。なお、 <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>Arabidopsis thaliana</i> 由来のヒストンH4遺伝子の3'非翻訳領域を含む配列 (文献4)。
その他			
LB	0001-0025	25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のT-DNA由来の左側境界反復配列 (文献25)。
RB	4008-4032	25	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のT-DNA由来の右側境界反復配列 (文献25)。
—	4033-4224	192	合成ポリリンカーの塩基配列
<i>nptI</i> -fragment	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>npt I</i> 遺伝子 (文献16) の断片で構成されるDNA領域。
ORI ColE1	4936-6108	1173	<i>E. coli</i> のプラスミドpBR322 (文献2) 由来複製起点 (ORI ColE1)。
ORI pVS1	6109-9879	3771	<i>Pseudomonas</i> のプラスミドベクターpVS1 (文献10) の複製起点 (ORI pVS1)。
<i>aadA</i>	9880-11648	1769	ストレプトマイシン及びスペクチノマイシンに耐性を付与する選抜マーカー遺伝子 (文献14)。
—	11649-11953	305	合成ポリリンカーの塩基配列

(注：本表に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

ロ 構成要素の機能

- ① 目的遺伝子、発現調整領域、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

供与核酸の構成要素それぞれの機能は表1 (p. 9) に示した。

- ② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産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

5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) 蛋白質 (EC 2.5.1.19) 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 (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 (文献3)。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。

GHB614に導入された *2mepsps* 遺伝子は、トウモロコシ (*Zea 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ヶ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。

また、2mEPSPS蛋白質のアミノ酸配列に基づき、包括的な相同性検索 (Uniprot\_Swissprot、Uniprot\_TrEMBL、PIR、NRL-3D、DAD及びGenPept) 及びエピトープ検索 (Uniprot\_Swissprot、Uniprot\_TrEMBL、PIR、DAD及びGenPept) を行った結果、既知の毒素又はアレルギーとの相同性は認められなかった。

- ③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

2mEPSPS蛋白質のPEP及びS3Pに対する親和性の濃度 ( $K_m$  値: ミカエリス定数) について、EPSPS蛋白質と比較した結果、PEPに対する  $K_m$  値は同等であった。また、

S3Pに対する親和性は、2mEPSPS蛋白質の方がEPSPS蛋白質よりわずかに低かった。さらに、酵素活性を調べた結果、最大反応速度 ( $V_{max}$ ) は、PEPとS3Pのいずれに対してもEPSPS蛋白質の方が2mEPSPS蛋白質より高く、PEPに対して約4.7倍、S3Pに対して約4倍、それぞれ高い数値を示した。また、グリホサートがPEPの競合阻害剤となることから、PEP濃度を  $K_m$  値の5倍の濃度に設定してPEPに対するグリホサートの50%阻害濃度 ( $IC_{50}$  値) を調べた結果、2mEPSPS蛋白質の  $IC_{50}$  値はEPSPS蛋白質の約190倍高かった。さらに、PEPに対するグリホサートの阻害定数 ( $K_i$  値) は2mEPSPS蛋白質では2.3mM、EPSPS蛋白質では0.9  $\mu$ Mとなり、グリホサートの2mEPSPS蛋白質に対する阻害活性は、EPSPS蛋白質に対してよりも約2000分の1であった(表2)。以上から、PEP及びS3Pに対する  $K_m$  値が同等であったことから、各結合部位に変化はなく、2mEPSPS蛋白質はEPSPS蛋白質と同じ基質特異性を保持しながらそれ以外の部位に変異が生じてグリホサートに対する高い耐性が誘導されたと考えられる。なお、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、EPSPS蛋白質とシキミ酸の反応性は低く(文献8)、高い基質特異性を有している。

また、通常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かったことが報告されている(文献22)。このことは、EPSPS蛋白質がシキミ酸経路の律速酵素ではないことを示唆している。2mEPSPS蛋白質ばかりでなくEPSPS蛋白質を産生すると考えられる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)の含有量には、除草剤グリホサートの散布の有無にかかわらず、宿主品種であるCoker312の種子と比較して統計学的有意差は認められなかった(別添資料8, p.10, Table 2)。

以上から、*2mepsps*遺伝子の発現により、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。

表2 2mEPSPS蛋白質及びEPSPS蛋白質の反応動力学的定数( $K_m$ 値、 $IC_{50}$ 値、 $K_i$ 値)

酵素	$K_m$ 値/PEP (mM)	$K_m$ 値/S3P (mM)	$V_{max}$ /PEP (U/mg)	$V_{max}$ /S3P (U/mg)	$IC_{50}$ 値/PEP (mM)	$K_i$ 値/PEP ( $\mu$ M)
2mEPSPS	0.07 $\pm$ 0.005	0.12 $\pm$ 0.01	2.6 $\pm$ 0.05	3.0 $\pm$ 0.08	18.3 $\pm$ 2.7	2300
EPSPS	0.07 $\pm$ 0.01	0.09 $\pm$ 0.006	12.2 $\pm$ 0.42	11.9 $\pm$ 0.19	0.098 $\pm$ 0.005	0.9

(平均 $\pm$ 標準偏差)

(注：本表に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

## (2) ベクターの情報

### イ 名称及び由来

GHB614の作出に用いたベクターは、pGSC1700（文献6）から作出されたpTYG50に由来するプラスミドpTEM2である（図1, p. 13）。

### ロ 特性

#### ① ベクターの塩基数及び塩基配列

pTEM2の塩基数は11,953bpである。本ベクターの構成要素を別添資料1 (p. 7, Table 1) 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

pTEM2はT-DNA領域の外側に以下の配列を含むが、これらの配列がGHB614には導入されていないことは、サザンブロット分析によって確認されている（別添資料3, p. 18, Figure 14～p. 22, Figure 18）。

- 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*npt I* 遺伝子（文献16）の断片で構成されるDNA領域。
- *E. coli*のプラスミドpBR322（文献2）由来複製起点(ORI ColE1)及び*Pseudomonas*のプラスミドベクターpVS1(文献10)の複製起点 (ORI pVS1)。
- ストレプトマイシン及びスペクチノマイシンに耐性を付与する選抜マーカー遺伝子 (*aadA*)（文献14）。

#### 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

pTEM2の宿主域は*E. coli*及び数種のグラム陰性菌に限られており、植物体では伝達性を持たないと考えられる。

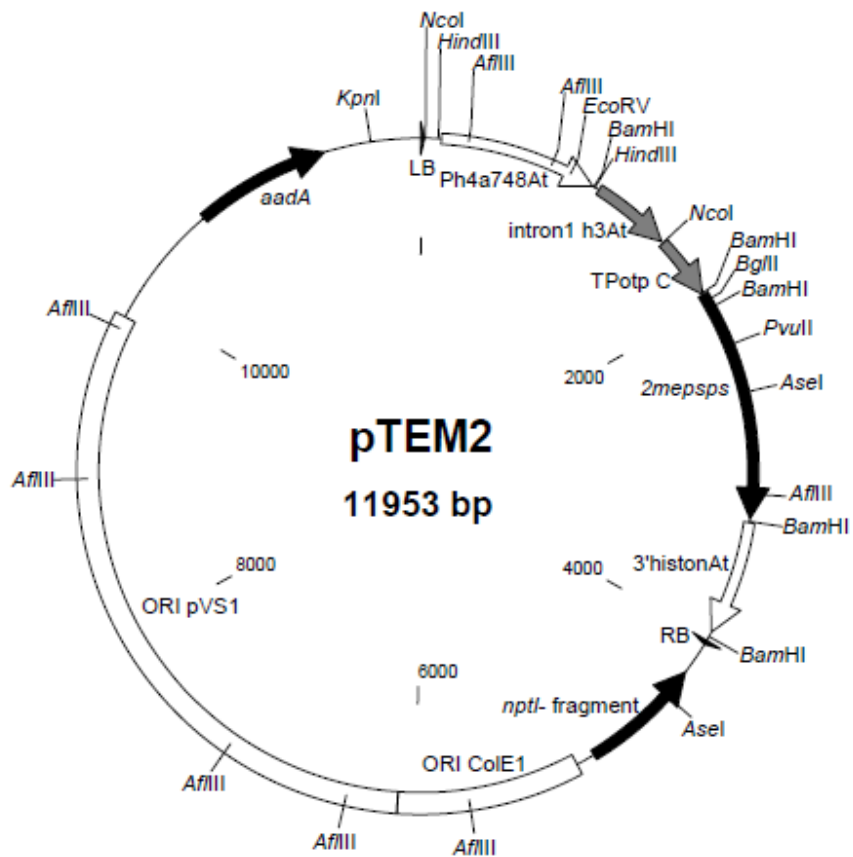


図1 pTEM2のベクター地図及び制限酵素切断部位  
 (注：本図に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

### (3) 遺伝子組換え生物等の調整方法

#### イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

宿主内には、pTEM2上のLBとRBに挟まれた2mepsps遺伝子発現カセット ([Ph4a748At]-[intron1 h3At]-[TPotp C]-[2mepsps]-[3'histonAt]) が移入された。T-DNA領域の構成を図2 (p. 14) に示した。

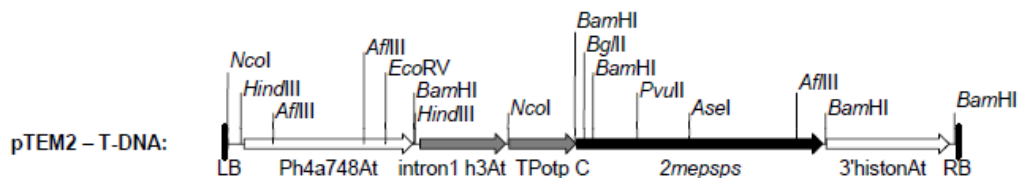


図2 T-DNA領域の構成及び制限酵素による切断部位  
(注：本表に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

## ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

宿主品種Coker312（以下、「Coker312」とする。）への核酸の移入はアグロバクテリウム法を用いて行われた。Coker312の組織片を、ベクターpTEM2を転移させた *Rhizobium radiobacter* (*A. tumefaciens*) C58C1<sup>Rif</sup>株（文献24）の培養液に曝露し、形質転換を行った。

## ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

### ① 核酸が移入された細胞の選抜の方法

核酸が移入された組織片は、claforan 500mg/Lを含む再生培地においてアグロバクテリウム菌体を除去した後、グリホサートにより選抜された。

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

核酸の移入後にclaforan 500mg/Lを含む培地で培養しており、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。

### 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及び系統樹

生長した苗条をポットに移植して温室内で栽培し、GHB614当代（T0）を得た。さらに、除草剤グリホサート耐性形質及び農業形質等により優良系統を選抜した。なお、本申請の対象は、T0世代において除草剤グリホサート耐性を示した個体及びその後代である。

GHB614の育成の経過を図3（p. 15）に示した。

図3 GHB614の育成の経過

(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

イ 移入された核酸の複製物が存在する場所

除草剤グリホサートに対する耐性/感受性の分離比について、BC2F2、F1、F2、BC1F1及びBC2F1世代を用いて調べた結果、いずれの世代においても、挿入遺伝子に関して1遺伝子座支配と仮定した場合に想定されるとおりの分離比を示した（表3）。よって、GHB614に移入された核酸の複製物はワタゲノムの1ヶ所に存在すると考えられる。

表3 GHB614の除草剤グリホサート耐性に関する分離比の解析

交配親	世代	比率	観察された株数		期待値		$\chi^2$ 検定 <sup>a</sup>
		R:S	R	S	R	S	
BC2F1の自殖	BC2F2	3:1	28 <sup>b</sup>	8	27	9	0.15
BC2F2 <sup>c</sup> ×品種B	F1	1:1	7	9	8	8	0.25
F1ヘテロの自殖	F2	3:1	113	43	117	39	0.60
F1ヘテロ×品種B	BC1F1	1:1	9	12	10.5	10.5	0.43
BC1F1ヘテロ×品種B	BC2F1	1:1	11	6	8.5	8.5	1.47

a. 1遺伝子座支配と仮定。自由度1、 $\alpha=0.05$ において、 $\chi^2$ 値3.84以上で帰無仮説が棄却される。

b. PCRによるホモ・ヘテロ接合体検定を行った結果、ホモ接合体が9株、ヘテロ接合体が19株であった。

c. 上記bのヘテロ接合体を用いた。

R=耐性株 S=感受性株

(注：本表に記載された情報に関する権利及び内容の責任は申請者にある。)

ロ 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

GHB614 (BC2F4) から抽出したDNAを制限酵素により切断し、Ph4a748At、intron1h3At+TPotp C、*2mepsps*、3'histonAt及び完全な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結果、1コピーのT-DNA領域が移入されていることが確認された（別添資料3, p. 4, Figure 2～p. 8, Figure 6）。また、GHB614に移入されたT-DNA領域についてシーケンス解析を行った結果、pTEM2上のT-DNA領域と一致することが確認された（別添資料2, p. 15～22）。

また、5世代のGHB614（T3, T4, T5, T6, BC2F2）から抽出したDNAについてサザンブロット分析を行った結果、いずれの世代においても同一のバンドが認められ、移入されたT-DNA領域の複数世代における伝達の安定性が確認された（別添資料3, p. 10, Figure 8～p. 14, Figure 12）。

さらに、GHB614から抽出したDNAについて、プラスミドpTEM2上のT-DNA領域外配列全体をカバーする5つの断片をプローブとしてサザンブロット分析を行った結果、いずれにおいてもバンドは検出されず、T-DNA領域外配列がGHB614に移入されていないことが確認された（別添資料3, p. 18, Figure 14～p. 22, Figure 18）。

ハ （6）のイ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

GHB614（BC2F4）の第一生育期（2-3葉期）、第二生育期（4-6葉期）、第三生育期（開花直前）及び第四生育期（開花期）における葉、茎、根、花蕾、頂部及び花粉について、2mEPSPS蛋白質の含有量をELISA法により測定した。なお、葉は全ての生育期、茎及び根は第二及び第四生育期、花蕾、頂部及び花粉は第四生育期について調べた。その結果、いずれにおいても2mEPSPS蛋白質が検出された（別添資料4, p. 16, Table 7）。また、GHB614の有毛種子（穀実+地毛外皮）についてELISA法により測定した結果、2mEPSPS蛋白質が検出された（別添資料5, p. 12, Table 2）。

また、特定網室試験において、GHB614（T6）及びCoker312の幼苗に除草剤グリホサート散布した結果、Coker312は全ての株が枯死したのに対し、GHB614は全ての株が耐性を示しており、本形質は自然条件下において安定して発現していることが確認された（別添資料6, p. 10, 表14）。

ニ 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は伝達性のあるDNA配列を有しておらず、自然条件下において野生動植物

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

GHB614は、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法によって識別することができる（別添資料10）。なお、本識別法はGHB614の栽培管理に有効に利用されている。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 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

GHB614は*2mepsps*遺伝子の発現により、除草剤グリホサート耐性を示す。

ロ 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

2004年及び2005年に米国において野外試験を行い、GHB614（T5）の形態及び生育の特性や収量等について、Coker312と比較した（別添資料7）。また、2007年に我が国の特定網室内において、生育初期における低温耐性及び有害物質の産生性について、GHB614（T6）とCoker312を比較した（別添資料6）。

① 形態及び生育の特性

米国の南東部、中南部及び南西部における2004年及び2005年の野外試験において、GHB614とCoker312の草丈、節数、平均節間長、第一位さく数、開花までの日数、開じょまでの日数、開じょ率、葉型、花型及び草型、一株あたりのさく数、さく重、一さくあたりの種子数及び100粒重を調査した。その結果、地域別にみると、2004年に南西部において開じょ率（別添資料7, p. 4, 表2-3）に、中南部において100粒重（別添資料7, p. 5, 表2-5）に統計学的有意差が認められた。また、2005年には南東部において第一位さく数、開花までの日数、開じょまでの日数及び100粒重（別添資料7, p. 3, 表2-2）に、南西部において開じょ率（別添資料7, p. 5, 表2-6）にそれぞれ統計学的有意差が認められた。

開じょ率については2004年及び2005年にいずれも南西部において統計学的有意差が認められたが、2004年はGHB614の方が低かったのに対し、2005年はGHB614の方

が高くなり、一貫した傾向は認められなかった。また、100粒重については2004年に南西部、2005年に南東部においてそれぞれ統計学的有意差が認められたが、いずれの年次においても他地域において統計学的有意差は認められていない。さらに、2005年に南東部において統計学的有意差が認められた第一位さく数、開花までの日数及び開じよまでの日数に関しては、他の年次及び地域において統計学的有意差は認められていない。以上のように、いずれの形質についても、年次・場所を通じて一貫して差が認められるものではなかった。

また、全地域では、上記の形質に加えて一株あたりの種子数についても比較した結果、両年次ともに、いずれの形質にも統計学的有意差は認められなかった（別添資料7, p. 6, 表3-1及び3-2）。

#### ② 生育初期における低温又は高温耐性

特定網室試験で、GHB614及びCoker312の幼植物体における5℃・10時間明条件下での萎縮程度について経時的に達観評価を行った。その結果、全ての調査時にも系統間に統計学的有意差は認められず、低温条件に移してから24日目には両系統ともに全ての個体の枯死が確認された（別添資料6, p. 9, 表13）。したがって、GHB614の生育初期における低温耐性は、Coker312と同等であると考えられる。

#### ③ 成体の越冬性又は越夏性

ワタは、生育初期では24～30℃、後期ではさらに高温が適しており、低温や降霜により枯死することが知られている（文献9）ことから、我が国の冬季において越冬性は示さないと考えられる。なお、本形質について、隔離ほ場試験において調査する予定である。

#### ④ 花粉の稔性及びサイズ

2005年に米国において、GHB614とCoker312の花粉の形状及び稔性を比較調査した。その結果、花粉の形状について両者の間に相違は認められなかった（別添資料9, p. 16, Figure 2）。また、室温条件（約23℃）及び温室条件（約30～34℃）において、花粉の発芽率を75時間にわたり経時的に計測した。なお、GHB614は0、6、28、49及び75時間後に、Coker312は0、22、27、49及び74時間後にそれぞれ計測し、回帰分析を行った結果、いずれの環境下においても両者の間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料9, p. 13～14）。

#### ⑤ 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形質として、2004年及び2005年の米国での野外試験において調査した一株あたりのさく数及び一さくあたりの種子数から一株あたりの種子数を算出し、GHB614とCoker312を比較した結果、系統間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料7, p. 3～4, 表2-1及び2-2）。また、ワタの種子は綿毛に覆われており、脱粒性は低いと考えられる。

2005年に米国の6地区において、GHB614及びCoker312の種子の発芽率について、収穫直後の種子と6ヶ月間室温条件下にて保管後の種子をそれぞれ28℃及び18℃の条件下で播種して発芽率を比較した。その結果、全地区の平均値において、収穫直後の種子の発芽率は、28℃条件下ではGHB614が42%、Coker312が36%、また、18℃条件下ではそれぞれ25%及び29%と低かった。他方、6ヶ月間保管後の発芽率は、28℃条件下でGHB614が87%、Coker312が88%、18℃条件下でもそれぞれ79%及び83%を示した。収穫直後の種子では発芽温度条件にかかわらず発芽率は低くバラツキが大きかったが、6ヶ月保管後の種子ではバラツキは減少し、高い発芽率を示した（別添資料7, p. 8, 表4-1及び4-2）。ワタ種子は品種によっては収穫後2～3ヶ月の休眠期を持つことが知られている（文献19）が、この結果はこれを支持している。また、いずれの条件においても、全地区の平均値においてGHB614とCoker312の間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料7, p. 8, 表5-1及び5-2）ことから、種子の休眠性に関して、GHB614はCoker312と相違はないと考えられる。

なお、本形質については、隔離ほ場試験において調査する予定である。

#### ⑥ 交雑率

我が国には、ワタと交雑可能な近縁種は自生していないことから、交雑性試験は行わなかった。

#### ⑦ 有害物質の産生性

特定網室において、根から分泌され他の植物に影響を与えるものについては後作試験、植物体内に有し、枯死した後に他の植物に影響を与えるものについては鋤込み試験を行った。

### 後作試験

GHB614及びCoker312を移植後約2ヶ月半にわたり栽培したワグネルポットの土壌を用いて、検定作物としてダイコンを栽培し、発芽率、草丈、根長、生重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系統間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料6, p. 5～6, 表2, 4, 6）。よって、GHB614は、根から分泌され他の植物に影響を及ぼす物質の産生性を、新たに獲得していないと考えられる。

#### 鋤込み試験

播種後約3ヶ月半にわたり栽培したGHB614及びCoker312の植物体乾燥試料を1%になるように混和した土壌においてダイコンを栽培し、発芽率、草丈、根長、生重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系統間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料6, p. 7～8, 表8, 10, 12）。よって、GHB614は、枯死した後に他の植物に影響を及ぼす物質の産生性を、新たに獲得していないと考えられる。

なお、根から分泌され土壌微生物に影響を及ぼすものについては、隔離ほ場において土壌微生物相試験を行う予定である。

### 3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

#### (1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

#### (2) 使用等の方法

所在地：茨城県つくば市観音台三丁目1番地3

名称： 独立行政法人農業環境技術研究所隔離ほ場

使用期間：承認日から平成22年5月31日まで

#### 1 隔離ほ場の施設

(1) 部外者の立入を防止するため、隔離ほ場を取り囲むようにフェンスを設

置している。

- (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を見やすい所に掲げている。
- (3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えワタの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該ワタの隔離ほ場の外への流出を防止するための設備を排水系統に設置している。
- (4) 隔離ほ場周辺には防風林を設置している。

## 2 隔離ほ場での作業要領

- (1) 本遺伝子組換えワタ及び比較対照のワタ以外の植物が、隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
  - (2) 本遺伝子組換えワタを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該ワタが漏出しない構造の容器に入れる。
  - (3) (2)により運搬又は保管をする場合を除き、本遺伝子組換えワタの栽培終了後は、当該ワタ及び比較対照のワタを隔離ほ場内ですき込む等により、確実に不活化する。
  - (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えワタが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
  - (5) 隔離ほ場が本来有す機能が十分に発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
  - (6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
  - (7) 生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画書に基づき、速やかに対処する。
- (3) 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

緊急措置計画書を参照。

- (4) 国外における使用等に関する情報

米国において、農務省（USDA）の許可を得て、2002年から2005年にかけて野外試験を行い、その結果を踏まえ、2006年11月に米国農務省（USDA）へ無規制承認申請（栽培承認）を提出した。また、2006年12月に連邦食品医薬品局（FDA）へ食品及び飼料安全承認申請を提出した。さらに、カナダにおいて2006年12月に厚生省（Health Canada）へ食品承認のための申請を、食品検査庁（CFIA）へ飼料及び環境安全承認申請をそれぞれ提出した。

なお、我が国では、2007年12月に食品としての利用のための承認申請を厚生労働省へ、また、飼料としての利用のための承認申請を農林水産省へ、それぞれ提出した。

## 第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

### 1 競合における優位性

#### (1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

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ける自生は報告されていない。

米国の南東部、中南部及び南西部における2004年及び2005年の野外試験において、GHB614とCoker312の草丈、節数、平均節間長、第一位さく数、開花までの日数、開じよまでの日数、開じよ率、一株あたりのさく数、葉型、花型及び草型、さく重、一さくあたりの種子数及び100粒重を比較した。その結果、2004年に南西部において開じよ率（別添資料7, p. 4, 表2-3）に、また、中南部において100粒重（別添資料7, p. 5, 表2-5）に統計学的有意差が認められた。また、2005年に南東部において第一位さく数、開花までの日数、開じよまでの日数及び100粒重（別添資料7, p. 3, 表2-2）に、南西部において開じよ率（別添資料7, p. 5, 表2-6）にそれぞれ統計学的有意差が認められた。しかし、いずれの形質についても、年次間・地域間において一貫して差が認められるものではなかった。また、年次別・全地域では、上記の形質に加えて一株あたりの種子数についても比較した結果、両年次ともに、いずれの形質についても統計学的有意差は認められなかった（別添資料7, p. 6, 表3-1及び3-2）。よって、GHB614の生育及び形態的特性及び種子の生産量はCoker312と同等であると考えられる。花粉の形状については、2005年に米国において調査した結果、GHB614とCoker312の間に相違は認められなかった（別添資料9, p. 16, Figure 2）。また、花粉の発芽率について経時的に調査した結果、両者の間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料9, p. 13~14）ことから、花粉の稔性は同等であると考えられる。種子の発芽率については、2005年に米国の6地区において、収穫直後及び収穫後6ヶ月間保管後にそれぞれ18℃及び28℃の条件下で調査した。その結果、収穫直後の種子では、温度条件にかかわらず、GHB614とCoker312はいずれも発芽率は低くバラツキが大きかったが、6ヶ月保管後の種子では、両系統ともにバラツキは減少し、高い発芽率を示した（別添資料7, p. 9, 表4-1及び4-2）。なお、ワタの種子は品種によっては2~3ヶ月の休眠期を持つことが知られており（文献19）、この結果はこれを支持している。また、全調査地区の発芽率の平均値において、いず



れの条件においてもGHB614とCoker312の間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料7, p. 8, 表5-1及び5-2）。これらのことから、GHB614の種子の休眠性は、Coker312と同等であると考えられる。さらに、幼植物体の低温耐性について、2007年に我が国の特定網室において調査した結果、GHB614とCoker312の間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料6, p. 9, 表13）。

また、GHB614は除草剤グリホサート耐性を有するが、自然環境下において除草剤グリホサートが散布されるような状況は考え難いことから、本形質により競合における優位性が高まることはないと考えられる。

以上から、隔離ほ場で使用する範囲内では、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。

#### (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の判断

以上から、隔離ほ場で使用する範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

## 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

ワタの種子には、非反芻動物に対して毒性を示すゴシポール及び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。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、ワタが他感物質のように野生動植物等の生息又は生育に支障を及ぼす物質を産生することは知られていない。

除草剤グリホサートは、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路において、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) を生ずる可逆反応を触媒する酵素である、5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) 蛋白質と特異的に結合してその活性を阻害する。これにより、芳香族アミノ酸の合成が阻害されて植物体は枯死する。

一方、GHB614に導入された *2mepsps* 遺伝子は、トウモロコシ (*Zea mays*) からクローニングされた *epsps* 遺伝子の2ヶ所のヌクレオチドが点突然変異により置き換えられたものであり、この改変により、*2mepsps* 遺伝子がコードする2mEPSPS蛋白質の除草剤グリホサートに対する結合親和性が低くなる。このため、除草剤グリホサートの存在下でもシキミ酸合成が正常に機能し、植物は枯死しない。

2mEPSPS蛋白質のこれらの基質に対する親和性について、EPSPS蛋白質と比較した結果、いずれもほぼ同等の  $K_m$  値を示した (表2, p. 11) ことから、2mEPSPS蛋白質はEPSPS蛋白質と同じ基質特異性を有すると考えられる。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することが知られているが、EPSPS蛋白質とシキミ酸の反応性は低く (文献8)、高い基質特異性を有している。

また、通常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かったことが報告されている (文献22)。このことは、EPSPS蛋白質がシキミ酸経路の律速酵素ではないことを示唆している。2mEPSPS蛋白質ばかりでなくEPSPS蛋白質を産生すると考えられる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、除草剤グリホサートの散布の有無にかかわらず、Coker312の種子と比較して統計学的有意差は認められなかった (別添資料8, p. 10, Table 2)。

以上から、*2mepsps* 遺伝子の発現により、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。

また、本蛋白質のアミノ酸配列に基づき、包括的な相同性検索及びエピトープ検索を行った結果、既知の毒素又はアレルゲンとの相同性は認められなかった。

さらに、我が国での特定網室試験において、根から分泌され他の植物に影響を与

えるものについては後作試験、植物体内に有し、枯死した後に他の植物に影響を与えるものについては鋤込み試験を行った結果、いずれの調査項目においても、GHB614とCoker312の間に統計学的有意差は認められなかった（別添資料6, p. 5～8, 表2, 4, 6, 8, 10, 12）。

以上から、GHB614が新たに有害物質の産生性を獲得したとは考え難く、隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生性に関して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されない。

(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の判断

以上から、隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

### 3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国において、GHB614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い。

(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の判断

以上から、隔離ほ場で使用する範囲内では、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

上記の他に、隔離ほ場で使用する範囲内では、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考えられる。

### 第三 生物多様性影響の総合的評価

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ける自生は報告されていない。

競合における優位性に関わる形質について、2004年及び2005年の米国での栽培試験、並びに2007年の我が国での特定網室試験において調査した結果、GHB614の競合における優位性が高まる可能性を示唆する形質は認められなかった。

また、GHB614は、*2mepsps*遺伝子の発現により除草剤グリホサート耐性を示すが、自然環境下において除草剤グリホサートが選択圧となる可能性は考え難い。したがって、本形質により競合における優位性を高めることはないと考えられた。

以上から、隔離ほ場で使用する範囲内では、競合における優位性に起因して生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

ワタの種子には、非反芻動物に対して毒性を示すゴシポール及び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。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、ワタが他感物質のように野生動植物等の生息又は生育に支障を及ぼす物質を産生することは知られていない。

2mEPSPS蛋白質のアミノ酸配列はEPSPS蛋白質と極めて高い相同性を有しており、2mEPSPS蛋白質の基質に対する親和性についてEPSPS蛋白質と比較した結果、同様に高い親和性を示した。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、EPSPS蛋白質とシキミ酸の反応性は低く、高い基質特異性を有している。

また、通常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かったことが報告されている。このことは、EPSPS蛋白質がシキミ酸経路の律速酵素ではないことを示唆している。2mEPSPS蛋白質ばかりでなくEPSPS蛋白質を産生すると考えられる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、除草剤グリホサートの散布の有無にかかわらず、Coker312と比較して統計学的有意差は認められなかった。

以上から、*2mepsps*遺伝子の発現により、宿主の代謝系に影響を及ぼす可能性は低いと考えられた。

また、2mEPSPS蛋白質のアミノ酸配列に基づき、包括的な相同性検索及びエピトープ検索を行った結果、既知の毒素又はアレルゲンとの相同性は認められなかった。

さらに、我が国での特定網室試験において、後作試験及び鋤込み試験を行った結果、いずれの調査項目においても、GHB614とCoker312の間に統計学的有意差は認められなかった。

以上から、GHB614が新たに有害物質の産生性を獲得したとは考え難く、隔離ほ場で使用する範囲内では、有害物質の産生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。

我が国には、GHB614の宿主が属する四倍体ワタ (*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、隔離ほ場で使用する範囲内では、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。

以上から、GHB614を第一種使用規程に従い、当該隔離ほ場において第一種使用等を行った場合、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

## 参考文献

社外秘情報につき非開示

## 別添資料の内容

- |         |  |
|---------|--|
| 別添資料 1  | pTEM2 の説明<br>社外秘情報につき非開示                       |
| 別添資料 2  | GHB614 における移入された核酸の塩基配列<br>社外秘情報につき非開示         |
| 別添資料 3  | 移入された核酸の確認（特性・安定性・T-DNA 外配列の確認）<br>社外秘情報につき非開示 |
| 別添資料 4  | 各組織における 2mEPSPS 蛋白質の発現<br>社外秘情報につき非開示          |
| 別添資料 5  | 有毛種子における 2mEPSPS 蛋白質の発現<br>社外秘情報につき非開示         |
| 別添資料 6  | 特定網室試験報告書<br>社外秘情報につき非開示                       |
| 別添資料 7  | 米国における野外試験<br>社外秘情報につき非開示                      |
| 別添資料 8  | 種子の成分分析<br>社外秘情報につき非開示                         |
| 別添資料 9  | 花粉の稔性及びサイズ<br>社外秘情報につき非開示                      |
| 別添資料 10 | イベント識別方法<br>社外秘情報につき非開示                        |
| 別添資料 11 | 隔離ほ場における生物多様性影響評価試験計画書<br>社外秘情報につき非開示          |

## 緊急措置計画書

平成 19 年 11 月 22 日

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 ジョン グレイ  
住所 東京都千代田区丸の内一丁目 6 番 5 号

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耐性ワタ (*2mepsps, Gossypium hirsutum* L.) (GHB614, OECD UI: BCS-GH002-5) (以下、「GHB614」とする。)の第一種使用において、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。

### 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

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。危機対策本部は、研究開発本部長を本部長とし、バイオサイエンスグループリーダーを事務局として、広報担当者を含む各部門から構成される。

### 2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は栽培試験担当者及び管理責任者から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行なう。

### 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

GHB614の使用に伴い、生物多様性影響を生ずるおそれがあると認められた場合は、栽培試験担当者及び管理責任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。

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

当該影響を生ずるおそれに基づき、上記2及び3において示した個人または団体に対し、GHB614を不活性化する措置またはGHB614の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GHB614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

GHB614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。