

除草剤グリホサート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ
 (*cp4 epsps, cry1Ac, cry2Ab, Gossypium hirsutum* L.)
 (MON88913×15985, OECD UI : MON-88913-8×MON-15985-7)
 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書.....	1
生物多様性影響評価書の概要	
第一 生物多様性影響の評価にあたり収集した情報	2
1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報.....	2
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況.....	2
(2) 使用等の歴史及び現状.....	2
(3) 生理学的及び生態学的特性.....	3
2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報.....	5
(1) 供与核酸に関する情報.....	5
(2) ベクターに関する情報.....	14
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法.....	14
(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.....	30
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....	30
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報.....	39
(1) 使用等の内容.....	39
(2) 使用等の方法.....	39
(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法.....	40
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置.....	40
(5) 実験室等での使用又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果.....	40
(6) 国外における使用等に関する情報.....	40
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	43
1 競合における優位性.....	43
2 有害物質の産生性.....	45
3 交雑性.....	47
4 その他の性質.....	47
第三 生物多様性影響の総合的評価	48
引用文献.....	51
緊急措置計画書.....	52

第一種使用規程承認申請書

平成 17 年 6 月 21 日

農林水産大臣 島村宜伸 殿
環境大臣 小池百合子 殿

氏名 日本モンサント株式会社
申請者 代表取締役社長 山根精一郎 印
住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 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及びチョウ目害虫抵抗性ワタ(<i>cp4 epsps, cry1Ac, cry2Ab, Gossypium hirsutum</i> L.) (MON88913 × 15985, OECD UI : MON-88913-8 × MON-15985-7)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	食用又は飼料用に供するための使用、加工、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	—

生物多様性影響評価書の概要

第一・生物多様性影響の評価にあたり収集した情報

1 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

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

ロ. 宿主はアオイ科ワタ属に属する4倍体栽培ワタ(*Gossypium hirsutum*)の品種Coker312である。

ハ. ワタ属の野生種は熱帯及び亜熱帯の乾燥地帯に分布しており、Fryxell は野生の2倍体種をその地理的分布から、オーストラリア群(11種)、アフリカ・アラビア群(8種)及びアメリカ群(12種)の3群に分けている(文献1)。また、野生2倍体種に加え、新大陸に自生する野生4倍体種には、*G. tomentosum*(ハワイ)、*G. mustelinum*(ブラジル北西部)、*G. darwinii*(ガラパゴス)、*G. lanceolatum*(メキシコ)、*G. barbadense*(アンチル列島、中南米)及び*G. hirsutum*(中米)がある(文献1; 文献2)。*G. hirsutum*の自生個体が群生していることは稀で、多くの場合海岸沿いないしは小島に分散して生育している(文献2)。

尚、わが国において*G. hirsutum*を含め4倍体栽培ワタと交雑が可能な*Gossypium*属植物の自然分布は報告されていない(文献3、文献4)。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ. *Gossypium*に属する種、亜種は40余を数え、ワタの野生種は新旧両大陸・アフリカ及びオーストラリアに知られ、原産地はインド・メキシコおよびペルーとされる。ワタの日本への伝来は、799年にインド人によってもたらされたのが最初であるとされているが、このワタはすぐに消滅したようである。その後、文禄年間(1592～1595)にワタの種子が九州に再び伝えられ、ワタ作は関東以南に広がり、明治15～20年頃には10万ha、2万4千トンの生産をみるにいたったが、その後、外綿の輸入に押されてしだいに衰微した(文献5)。現在では、ワタの日本国内における商業栽培は行われておらず、主に観賞用などの目的で栽培されているのみである。尚、日本で古くから栽培されているのはアジア綿の*G. arboreum*と考えられている。

ロ. ワタ属は亜種を含めると40余から成るが、このうち栽培種は、旧大陸の「アジア綿」と総称される2倍体種(n=13)の*G. herbaceum*と*G. arboreum*及び、新大陸の「陸地綿」と呼ばれる4倍体種(n=26)の*G. hirsutum*と*G. barbadense*である(文献5)。

現在、「アジア綿」は、インド、アフリカ及びアジアの限定された地域で栽培されているのみで、世界で生産されるワタの約98%は2つの「陸地綿」で、その90%は *G. hirsutum* 種となっている(文献2)。

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

米国農務省の統計情報に基づくと、2002年の全世界におけるワタの栽培面積は2,943万haであり、上位国を挙げるとインドが760万ha、米国が503万ha、中国が418万ha、パキスタンが280万haとなっている(文献6)。

2002年のわが国における種子の輸入量は約15万トンであり、その内の約96%がオーストラリアから輸入されている(文献7)。輸入された種子の内、約4万トンが搾油用として用いられ、残りのほとんどは、牛の飼料用として用いられた。尚、我が国では、大阪府内の製油会社が唯一、種子を海外から輸入して搾油を行っている。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本的特性

ワタは種子繁殖する多年生のアオイ科作物で、草丈は90cm~120cmに伸び、15~20節を有し、各節に葉と2芽をつけ、発育枝と結果枝を生じる。尚、多年生となるのは基本的に熱帯地方のみで、日本では一年生である。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ワタの生育は平均気温25℃を最適とし、20~28℃に適する。降雨量は年1,000~1,500mmが適しており、生育期には相当の降雨を必要とする。しかし開花期以降の多雨は落花・落さくを増加させる。また少雨では繰綿歩合が低下する(文献8)。北米のワタ作地帯は北緯37~39°であり、北半球では一般に北緯43°が北限で、ヨーロッパでは42°、中央アジアでは44.3°まで分布している。日本では奥羽南端(37.5°)までとされる。土壌は排水良好な砂質壤土に適し、アルカリ土壌に強く酸性を嫌う。また相当塩濃度の高い干拓地にも生育する(文献8)。

ハ 捕食性又は寄生性

—

ニ 繁殖又は増殖の様式

① 完熟した種子は開じよの際に出てくるが、基本的に綿毛に覆われているために脱粒しにくい。種子の休眠性はきわめて浅い。

② ワタは、塊茎や地下茎などによる栄養繁殖を行わず、種子繁殖する。自然条件下において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性があるという報告はこれまでのところない。

③ ワタの受粉様式に関しては、他家受粉も可能であることが知られているが、基本的には自家受粉である(文献 9)。尚、我が国においてワタと交雑可能な近縁野生種は知られていない(文献 3、文献 4)。

④ ワタの花粉は比較的重く、粘着性があるため風媒により交雑することは考えにくい。花粉はマルハナバチ(*Bombus* sp.)やセイヨウミツバチ(*Apis mellifera*)によって媒介されることがある(文献 10)。花粉に蛍光粒子を付着させて周辺の花への花粉の飛散を追跡した報告によると、意図的にハチの巣箱を回りに配置したワタ畑から約 45m ~60m 離れた花畑でワタの花粉が付着していたのは 1.6%程度であった(文献 10)。また、試験によるとワタ畑から 1m離れた場合の交雑率は 0.4%以下であり、16m離れると 0.03%以下まで減少していたことが報告されている(文献 11)。更に遺伝子組換えワタのマーカー遺伝子を用いた交雑試験の結果によると、30×136m のワタ畑から 1m離れた場所での交雑率は 5%であったのに対して、7m離れた地点では 1%以下に減少していた。しかし 1%以下の交雑率はワタ畑から最も離れた 25mの地点でも散発的に認められた(文献 12)。

ホ 病原性

—

ヘ 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性は知られていない。

ト その他の情報

ワタには、ゴッシポールと呼ばれるテルペノイド物質が含まれており、この生理活性物質は種子を含むあらゆる植物組織の分泌器官に存在する(文献 13)。ゴッシポールは哺乳動物の内臓器官や肺に炎症を起こし、実験動物においては呼吸困難、麻痺を起こす毒性物質として知られている(文献 14)。しかし、ゴッシポールは植物から放出され他の生物に阻害的あるいは促進的(共栄的)な何らかの作用を及ぼす他感作用物質には分類されない。また、野生の哺乳動物が種子を捕食するという例は報告されていない。

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

2 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

除草剤グリホサート耐性ワタ(*cp4 epsps*, *Gossypium hirsutum*) (MON88913, OECD UI : MON-88913-8) (以下「MON88913」とする)と、チョウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac*, *cry2Ab*, *Gossypium hirsutum* L.) (15985, OECD UI : MON-15985-7)(以下「15985」とする)を従来の育種法を用いて育成された除草剤グリホサート耐性及びチョウ目害虫抵抗性ワタ(*cp4 epsps*, *cry1Ac*, *cry2Ab*, *Gossypium hirsutum* L.) (OECD UI : MON-88913-8×MON-15985-7) (以下、「本スタック系統ワタ」とする)は、親系統である MON88913 と 15985 の 2 つの組換えワタのそれぞれの特性を有する。したがって、以下では MON88913 と 15985 の調製等に関する情報について個別に述べた。

尚、15985 は *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* (*B.t.k*) 由来の改変型 *cry1Ac* 遺伝子が導入されたチョウ目害虫抵抗性ワタ(*cry1Ac*, *Gossypium hirsutum* L.) (531, OECD UI : MON- 00531-6)(以下「531」とする)と非組換えワタ品種 DP50 との間で交配を繰り返し育成された組換えワタ品種 DP50B に、新たに *B.t.k* 由来の改変型 *cry2Ab* 遺伝子を導入することにより作出された。従って、以下では 531 の調製等に関する情報についても述べている。

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

MON88913 の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は p10, 11 の表 1 に示した通りである。尚、MON88913 の供与核酸の全ての構成要素の塩基配列は、MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 に記載した。

531 の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は p12 の表 2 に示した通りである。尚、531 の供与核酸の全ての構成要素の塩基配列は、531 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 に記載した。

15985 の作出に用いられた供与核酸の構成及び構成要素の由来は p13 の表 3 に示した通りである。尚、15985 の供与核酸の全ての構成要素の塩基配列は、15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 に記載した。

ロ 構成要素の機能

【MON88913 の作出に用いた目的遺伝子】

① MON88913 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は p10～p11 の表 1 に示した通りである。

(改変型 *cp4 epsps* 遺伝子)

グリホサートは、非選択的な除草剤であるラウンドアップの有効成分で、芳香族アミノ酸の生合成経路であるシキミ酸経路中の酵素の一つである 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(EPSPS)(E.C.2.5.1.19)と特異的に結合してその活性を阻害する(文献 15; 文献 16)。そのため植物はグリホサートを処理すると EPSPS が阻害されることにより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れてしまう。目的遺伝子である改変型 *cp4 epsps* 遺伝子は除草剤グリホサートに高い耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質を発現する。改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は、グリホサート存在下でも活性阻害を受けないため、結果として本蛋白質を発現する組換え植物ではシキミ酸経路が正常に機能して生育することができる。

尚、EPSPS は植物中では葉緑体などの色素体に存在する(文献 17)。シキミ酸経路は植物の固定する炭素の 5 分の 1 に関与すると考えられる重要な代謝経路である(文献 18; 文献 16)。本経路は、その第一段階に関与する 3-デオキシ-D-arabino-ヘプツロン酸-7-リン酸(DAHP)合成酵素によって調節を受けて制御されるが、DAHP から EPSPS が触媒する 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸(EPSP)の生成を経てコリスミ酸が生成されるまでの段階では、中間代謝物質や最終生成物によって阻害されたり抑制される可能性が極めて低いことが明らかにされている(文献 19; 文献 20)。このことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを示唆しており、従って、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いる。実際に、通常の 40 倍の EPSPS を生成する植物細胞において、芳香族アミノ酸が過剰に合成されないことが報告されており(文献 21)、加えて、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤グリホサート耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ

酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。これらのことは EPSPS が本経路における律速酵素ではないことを支持している。また、EPSPS は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、EPSP と無機リン酸 (Pi) を生じる可逆反応を触媒する酵素であり(文献 22)、これらの基質と特異的に反応することが知られている(文献 23)。これら以外に唯一 EPSPS と反応することが知られているのは S3P の類似体であるシキミ酸であるが、その反応性は S3P との反応性の 200 万分の 1 にすぎず、仮に反応したとしても植物体内の代謝系に有意な影響を及ぼすとは考えにくい。

② 改変型 CP4 EPSPS 蛋白質が、既知の接触アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(GenBank, EMBL, PIR, NRL3D, Swiss Prot)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を共有していなかった。

【531 及び 15985 の作出に用いた目的遺伝子】

531 の作出に用いられた供与核酸の機能は p11 の表 2 に示した。15985 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は p13 の表 3 に示した。

(改変型 *cry1Ac* 遺伝子)

① 改変型 *cry1Ac* 遺伝子は、N 末端から 466 番目までのアミノ酸が *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 株の産生する Cry1A b 蛋白質に由来し、467 番目から C 末端の 1178 番目のアミノ酸が同じく *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 株の産生する Cry1Ac 蛋白質に由来する。この二つの領域からなる改変型 Cry1Ac 蛋白質のアミノ酸配列は野生型 Cry1Ac 蛋白質と比較すると 7ヶ所が異なっており、その相同性は 99.4% であり、さらに殺虫活性を持つコア蛋白質のアミノ酸配列は野生型の Cry1Ac 蛋白質と同一である。本組換えワタ中で発現する Cry1Ac 蛋白質は、以下「改変型 Cry1Ac 蛋白質」とする。改変型を含む Cry1Ac 蛋白質は米国及びオーストラリアでのワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm (*Heliothis virescens*)、Pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) 及び Cotton bollworm 別名 Corn earworm (*Heliothrips zea*) を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。改変型 Cry1Ac 蛋白質は、植物での発現を高めるために野生型 Cry1Ac 蛋白質の N'末端のアミノ酸配列のみを改変したものであり、コア蛋白質のアミノ酸配列に関しては変化していない為、改変型 Cry1Ac 蛋白質のチョウ目害虫に対する活性は、野生型 Cry1Ac 蛋白質と同等であると考えられる。改変型 Cry1Ac 蛋白質を含む Cry1Ac 蛋白質は上記のワタの主要害虫以外にもメイガ科の European corn borer (*Ostrinia nubilalis*) などに対しても殺虫活性を持つが、チョウ目昆虫以外の幼虫に対しては殺虫活性を持たないことが知られている(文献 24)。B.t. 菌の産生する B.t. 蛋白質は、標的昆虫の中腸上皮の特異的受容体と結合して陽イオン選択的小孔を形成し、その結果、消化プロセスを阻

害して殺虫活性を示す(文献 25; 文献 26)。また、本組換えワタ中に産生される、改変型 Cry1Ac 蛋白質の活性部分であるコア蛋白質は、市販されている微生物農薬である Bt 製剤中の Cry1Ac 蛋白質のコア蛋白質と同一であり、Cry1Ac 蛋白質を含む Bt 製剤は、米国、ヨーロッパ及び日本での作物や樹木のチョウ目害虫防除に使用されている。

② 改変型 Cry1Ac 蛋白質が、既知の接触アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(SwissProt, GenPept, PIR, GenBank/EMBL)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を共有していなかった。

(改変型 *cry2Ab* 遺伝子)

① 改変型 *cry2Ab* 遺伝子がコードする改変型 Cry2Ab 蛋白質は、土壤中に一般的に存在するグラム陽性菌である *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* に由来し、Cry2Ab2、CryIIB、CryB2 または CryIIAb とも呼ばれている(文献 27; 文献 28; 文献 29)。Cry2Ab 蛋白質は、Cry1Ac 蛋白質と同様に米国及びオーストラリアのワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm (*Heliothis virescens*)、Pink bollworm(*Pectinophora gossypiella*)及び Cotton bollworm 別名 Corn earworm (*Heliothrips zea*)などに対する殺虫活性を有するが、その他にも Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*)、Beet Armyworm (*Spodoptera exigua*)、Soybean Looper (*Pseudoplusia includens*)などの Cry1Ac 蛋白質に対してはあまり感受性を示さないチョウ目害虫に対しても殺虫活性を有する。改変型 Cry2Ab 蛋白質は植物中での発現を高めるために野生型 Cry2Ab 蛋白質の N 末端のアミノ酸配列のみを改変したものであり、コア蛋白質のアミノ酸配列に関しては変化していない為、チョウ目害虫に対する活性は、野生型の Cry2Ab 蛋白質と同等であると考えられる。

② 改変型 Cry2Ab 蛋白質が、既知の接触アレルゲンと機能上重要なアミノ酸配列を共有するかどうか、データベース(SwissProt, GenPept, PIR, GenBank/EMBL)を用いて比較したところ、既知アレルゲンと構造的に類似性のある配列を共有していなかった。

(改変型 *cry1Ac* 遺伝子+改変型 *cry2Ab* 遺伝子)

15985 中では 531 由来の改変型 Cry1Ac 蛋白質に加えて、新たに改変型 Cry2Ab 蛋白質が発現している為、これまで 531 では防除効果が得られなかったヨトウムシ類(Fall Armyworm、Beet Armyworm)やアオムシ類(Soybean Looper)を防除することが可能になる(文献 30, 文献 31)。

更に 15985 は殺虫スペクトラムが比較的重複している改変型 Cry1Ac 蛋白質と改変型 Cry2Ab 蛋白質を発現しているため、両 Bt 蛋白質に対して感受性を示すチョウ目害虫は、それぞれの Bt 蛋白質に対して抵抗性を獲得しなければ抵抗性害虫になれない。このことから 15985 は、改変型 Cry1Ac 蛋白質のみを単独で発現する 531 と比べ

て、両 Bt 蛋白質に感受性を示す標的チョウ目害虫が抵抗性を獲得する確率をより一層低く出来ると期待されている。

表 1 MON88913 の作出に用いられたベクターPV-GHGT35 の各構成要素¹

構成要素	由来及び機能
P-FMV/TSF1 により制御される改変型 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子発現カセット	
P-FMV/TSF1	シロイヌナズナ TSF1 プロモーターに <i>Figwort Mosaic Virus(FMV)</i> 35S プロモーターのエンハンサー配列を結合させたキメラプロモーター(文献 32; 文献 33)。目的遺伝子の生殖器官及び栄養器官での恒常的発現に関与する。尚、FMV が属する <i>Caulimovirus</i> 属のウイルスが <i>Gossypium</i> 属の植物を宿主とする報告はなく、組換えによって新たなウイルスが生じる可能性は極めて低いと考えられた(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 4)。
L-TSF1	翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードするシロイヌナズナ TSF1 遺伝子のリーダー配列(exon 1) (文献 32)。目的遺伝子の発現を高める。
I-TSF1	翻訳伸長因子 EF-1 alpha をコードするシロイヌナズナ TSF1 遺伝子のイントロン配列(文献 32)。目的遺伝子の発現を高める。
TS- <i>ctp2</i>	シロイヌナズナ EPSPS 由来の葉緑体輸送ペプチドをコードする配列(文献 34)。芳香族アミノ酸が合成される葉緑体へ、CP4 EPSPS 蛋白質を輸送する。
CR- <i>cp4 epsps</i> (改変型 <i>cp4 epsps</i>)	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子(文献 35; 文献 36)。植物中での発現量を高めるため、CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更することのないように塩基配列に改変を加えたもので、アミノ酸配列に関しては N 末端から 2 番目のセリンがロイシンに改変されたのみである。
T-E9	エンドウの <i>ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9</i> 遺伝子の 3'非翻訳領域(文献 37)。mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する。
P-35S/ACT8 により制御される改変型 <i>cp4 epsps</i> 遺伝子発現カセット	
P-35S/ACT8	シロイヌナズナ ACT8 プロモーターにカリフラワーモザイクウイルス (CaMV)35S プロモーターのエンハンサー配列を結合させたキメラプロモーター(文献 38; 文献 39)。目的遺伝子の栄養器官での恒常的発現に関与する。尚、CaMV が属する <i>Caulimovirus</i> 属のウイルスが <i>Gossypium</i> 属の植物を宿主とする報告はなく、組換えによって新たなウイルスが生じる可能性は極めて低いと考えられた(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 4)。
L-ACT8	シロイヌナズナの ACT8 遺伝子のリーダー配列。目的遺伝子の発現を高める(文献 38)。
I-ACT8	シロイヌナズナの ACT8 遺伝子のイントロンと、その近傍のエクソン配列(文献 38)。目的遺伝子の発現を高める。
TS- <i>ctp2</i>	芳香族アミノ酸が合成される葉緑体へ CP4EPSPS 蛋白質を輸送するシロイヌナズナ EPSPS 由来の葉緑体輸送ペプチドをコードする配列(文献 34)。
CR- <i>cp4 epsps</i> (改変型 <i>cp4 epsps</i>)	<i>Agrobacterium</i> CP4 菌株由来の 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子(文献 35; 文献 36)。植物中での発現量を高めるため、CP4 EPSPS 蛋白質の機能活性を変更することのないように塩基配列に改変を加えたもので、アミノ酸配列に関しては N 末端から 2 番目のセリンがロイシンに改変されたのみである。
T-E9	エンドウの <i>ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9</i> 遺伝子の 3'非翻訳領域。mRNA の転写を終結させ、ポリアデニル化を誘導する(文献 37)。

¹ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表 1 MON88913 の作出に用いられたベクターPV-GHGT35 の各構成要素(続き)²

構成要素	機能及び由来
T-DNA の外骨格構成	
B-Left Border (左側境界配列)	Ti プラスミド pTiA6 に由来する左境界配列(25bp)を含む DNA 断片。左側境界配列は、T-DNA が <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへ伝達される際の終結点である(文献 40)。
OR-ORI V	広域宿主プラスミド RK2 から単離された複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> においてベクターに自律増殖能を付与する(文献 41)。
CR-rop	<i>E. coli</i> 中でのプラスミドのコピー数の維持の為にプライマー蛋白質を抑制するコーディング配列(文献 42)。
OR-ORI-PBR322	pBR322 から単離された複製開始領域であり、 <i>E. coli</i> においてベクターに自律増殖能を付与する(文献 43)。
CR-aad	大腸菌のトランスポゾン Tn7 に由来するアミノグリコシドアデニルトランスフェラーゼ (AAD)をコードする遺伝子であり、スペクチノマイシン或いはストレプトマイシン耐性を付与する(文献 44)。
B-Right Border (右側境界配列)	Ti プラスミド pTiT37 に由来する、ノパリン型 T-DNA の右境界配列(25bp)を含む DNA 断片。右側境界配列は、T-DNA が <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへの T-DNA の伝達の際、伝達の開始点として利用される(文献 45)。

² 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表2 531の作出に用いられたベクターPV-GHBK04の各構成要素³

構成要素	由来及び機能
改変型 <i>cry1Ac</i> 遺伝子発現カセット	
P-E35S	2重エンハンサー(文献39)を持つ、カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)のプロモーター(文献46)。
改変型 <i>cry1Ac</i>	Tobacco budworm (<i>Heliothis virescens</i>)、Pink bollworm(<i>Pectinophora gossypiella</i>)及びCotton bollworm 別名 Corn earworm (<i>Helicoverpa zea</i>)などのワタの主要害虫を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す改変型 <i>Cry1Ac</i> 蛋白質をコードする遺伝子。 <i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> の産生する野生型 <i>Cry1Ac</i> 蛋白質とのアミノ酸配列相同性は99.4%だが、コア蛋白質のアミノ酸配列は野生型 <i>Cry1Ac</i> 蛋白質と同一である(文献47)。
7S 3'	ダイズの β -conglycinin 遺伝子の3'非翻訳領域であり、mRNAのポリアデニル化シグナルを含む(文献48)。目的遺伝子の転写を終結させる機能を持つ。
<i>nptII</i> 遺伝子発現カセット	
P-35S	カリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の35Sプロモーター領域(文献49; 文献50)。
<i>nptII</i>	<i>E. coli</i> のトランスポゾンTn5に由来する遺伝子(Beck <i>et al.</i> ,1982)。ネオマイシンフォスフォトランスフェラーゼIIをコードし、植物にカナマイシン耐性を付与する。遺伝子導入の際、組換え体植物を選抜するためのマーカーとして用いられる(文献51)。
NOS3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子の3'非翻訳領域(文献45; 文献52)。転写を終結させポリアデニル化を誘導する。
その他の構成要素	
右境界配列(RB)	TiプラスミドpTiT37に由来する、ノパリン型T-DNAの右境界配列(24bp)を含むDNA断片。右境界配列は、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> から植物ゲノムへのT-DNAの伝達の際、伝達の開始点として利用される(文献45; 文献52)。
<i>aad</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> 由来の3''(9)-O-アミノグリコシドアデニリルトランスフェラーゼ(AAD)をコードする遺伝子であり、スペクチノマイシン、及びストレプトマイシン耐性を付与する(文献44)。
<i>ori-V</i>	広宿主域プラスミドRK2に由来する複製開始領域であり、 <i>Agrobacterium tumefaciens</i> ABI株においてベクターに自律増殖能を付与する(文献41)。
<i>ori322/rop</i>	<i>E. coli</i> プラスミドpBR322に由来する複製開始領域であり、ベクターに <i>E. coli</i> における自律増殖能を付与する。この領域は複製開始点の他に、複製開始の制御に関わる <i>rop</i> 領域及び <i>E. coli</i> から <i>Agrobacterium tumefaciens</i> への接合伝達に必要な <i>oriT</i> 配列を含む(文献53; 文献43)。

³ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表 3 15985 の作出に用いられたベクターPV-GHBK11L の各構成要素⁴

構成要素	機能
<i>uidA</i> 遺伝子発現カセット	
P-E35S	2重エンハンサー(文献 39)を持つ、カリフラワーモザイクウイルス (CaMV)のプロモーター(文献 46)。
<i>uidA</i>	大腸菌プラスミド pUC19 由来の <i>uidA</i> 遺伝子。GUS(β -D-glucuronidase)蛋白質をコードする(文献 54)。
NOS3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域(文献 45; 文献 52)。転写を終結させポリアダニル化を誘導する。
改変型 <i>cry2Ab</i> 遺伝子発現カセット	
P-E35S	2重エンハンサー(文献 39)を持つ、カリフラワーモザイクウイルス (CaMV)のプロモーター(文献 46)。
PetHSP70 leader	ペチュニア(<i>Petunia hybrida</i>)の <i>hsp70</i> (熱ショック蛋白質)5'非翻訳領域
AEPSPS/CTP2	<i>Arabidopsis thaliana</i> EPSPS 遺伝子由来の N 末端葉緑体輸送ペプチドをコードする配列(文献 55)
改変型 <i>cry2Ab</i>	<i>Bacillus thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> に由来し、ワタ栽培における主要チョウ目害虫である Tobacco budworm (<i>Heliothis virescens</i>)、Pink bollworm(<i>Pectinophora gossypiella</i>)及び Cotton bollworm 別名 Corn earworm (<i>Helioverpa zea</i>)などに対して殺虫活性を有する改変型 Cry2Ab 蛋白質をコードする遺伝子(文献 28)。尚、その他にも改変型 Cry2Ab 蛋白質は、ワタ栽培におけるチョウ目害虫である Fall Armyworm (<i>Spodoptera frugiperda</i>)、Beet Armyworm (<i>Spodoptera exigua</i>)、Soybean Looper (<i>Pseudoplusia includens</i>)にも殺虫活性を有する。
NOS3'	<i>Agrobacterium tumefaciens</i> 由来のノパリン合成酵素遺伝子の 3'非翻訳領域(文献 45; 文献 52)。転写を終結させポリアダニル化を誘導する。

⁴ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

MON88913、531 及び 15985 の作出に用いられたプラスミド・ベクターはいずれも、pBR322 に由来する。pBR322 は *E.coli* 由来の合成プラスミドである。

ロ 特性

MON88913 の作出に用いられた PV-GHGT35 の全塩基数は 13,741bp であり、ベクター部分の構成要素の詳細は p10, 11 の表 1 に示した通りである。また、塩基配列は、MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 に記載した。

531 の作出に用いられた PV-GHBK04 の全塩基数は 11,407bp であり、ベクター部分の構成要素の詳細は p12 の表 2 に示した通りである。また、塩基配列は、531 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 に記載した。

15985 の作出に用いられた PV-GHBK11 の全塩基数は 8,718bp であり、ベクター部分の構成要素の詳細は p13 の表 3 に示した通りである。また、塩基配列は、15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 に記載した。

(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

MON88913 の作出に用いられたベクター内での供与核酸の構成要素の位置及び方向並びに制限酵素による切断部位に関しては p15 の図 1 に記載した。

531 の作出に用いられたベクター内での供与核酸の構成要素の位置及び方向並びに制限酵素による切断部位に関しては p16 の図 2 に記載した。

15985 の作出に用いられたベクター内での供与核酸の構成要素の位置及び方向並びに制限酵素による切断部位に関しては p17 の図 3 に記載した。尚、植物細胞に遺伝子を導入する際には、PV-GHBK11 を制限酵素 *KpnI* で処理し、*uidA* 遺伝子発現カセット ([P-e35S]-[*uidA*]-[NOS 3']) 及び改変型 *cry2Ab* 遺伝子発現カセット ([P-e35S]-[PetHSP70 leader]-[AEPSPS/CTP2]-[*cry2Ab*]-[NOS3']) から構成される直鎖状 DNA 断片 PV-GHBK11L を用いた。

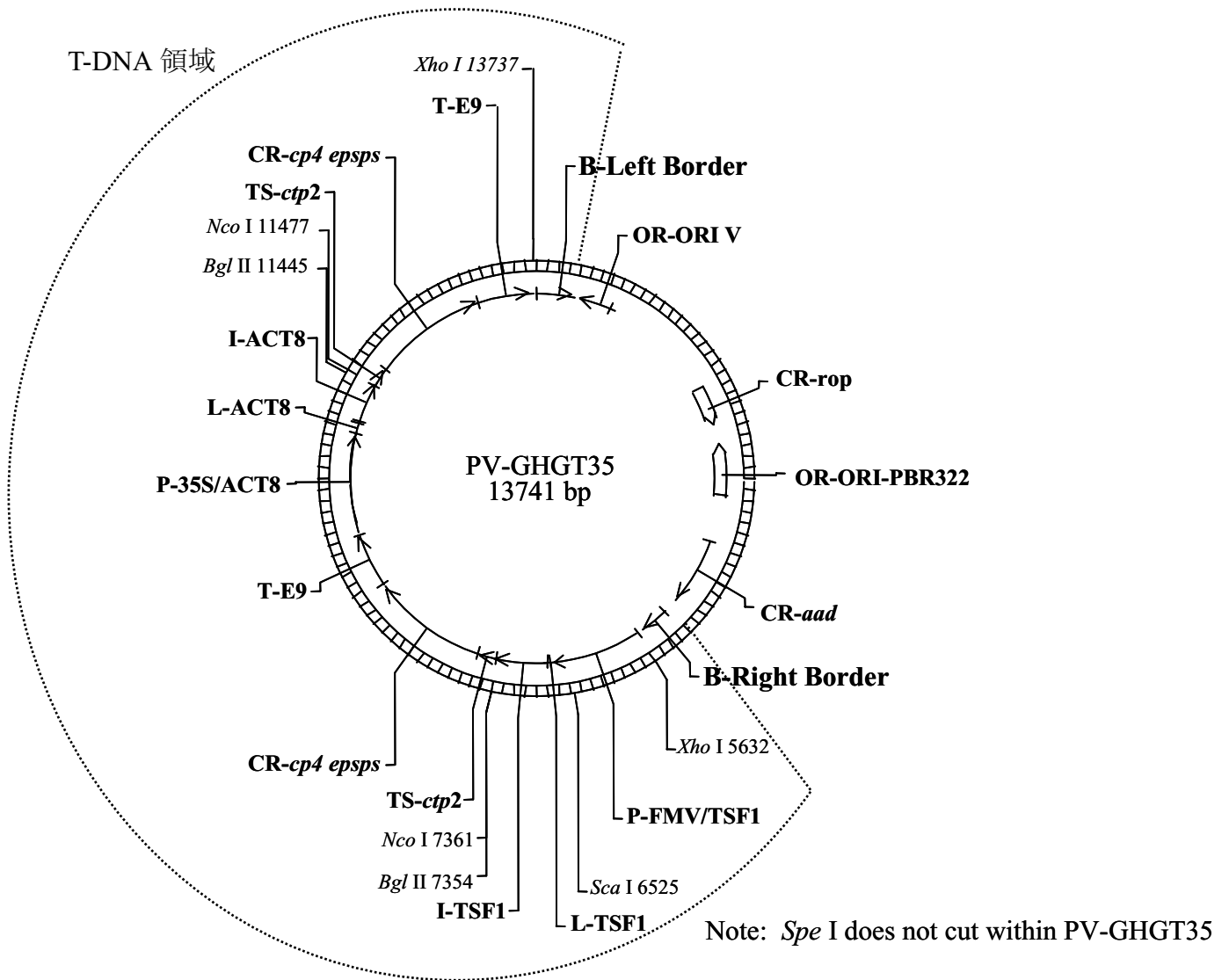


図 1 グリホサート耐性ワタ MON 88913 の作出に用いられた PV-GHGT35 のプラスミドマップ⁵

⁵ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

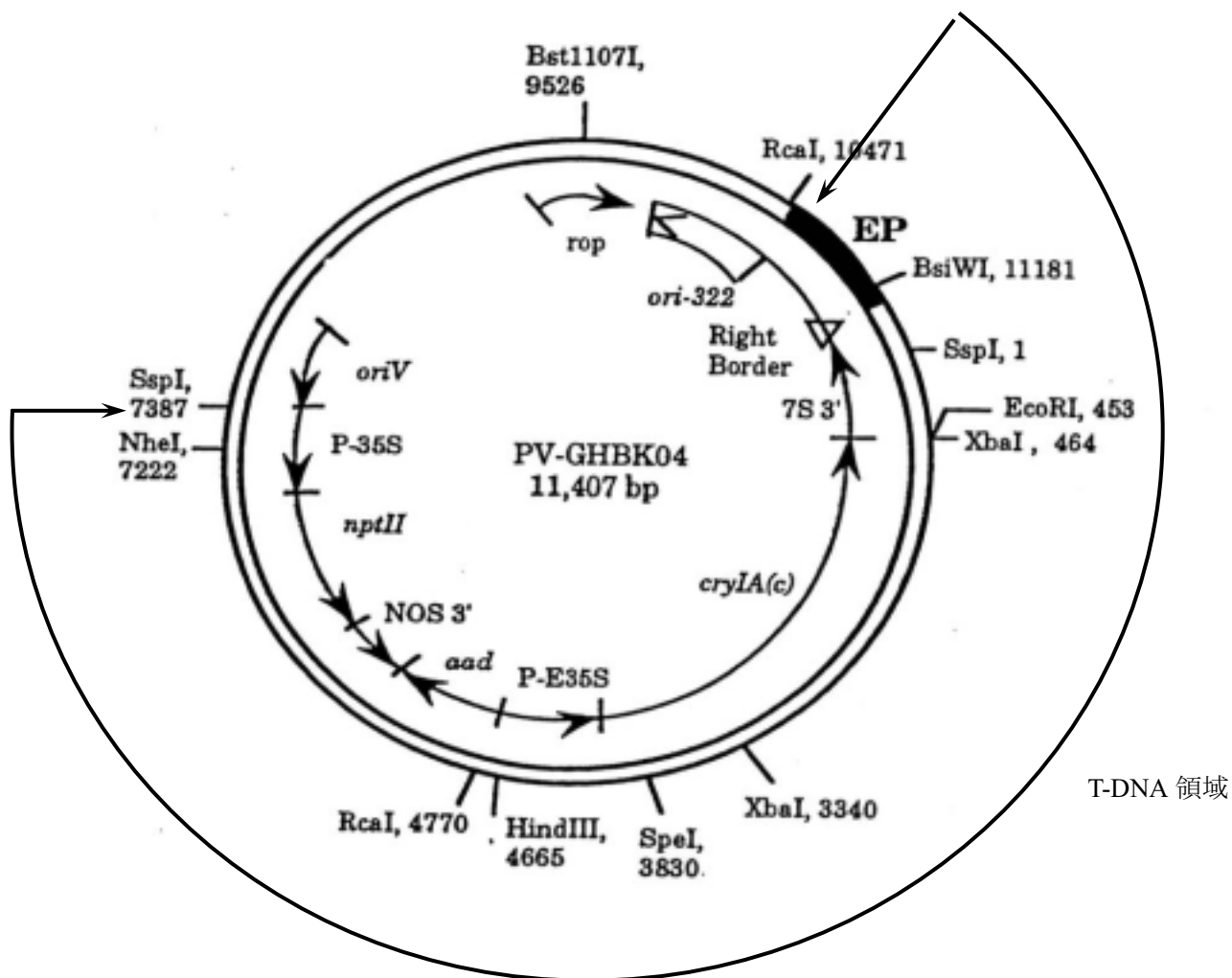


図2 チョウ目害虫抵抗性ワタ 531 の作出に用いられた PV-GHBK04 のプラスミドマップ⁶

⁶ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

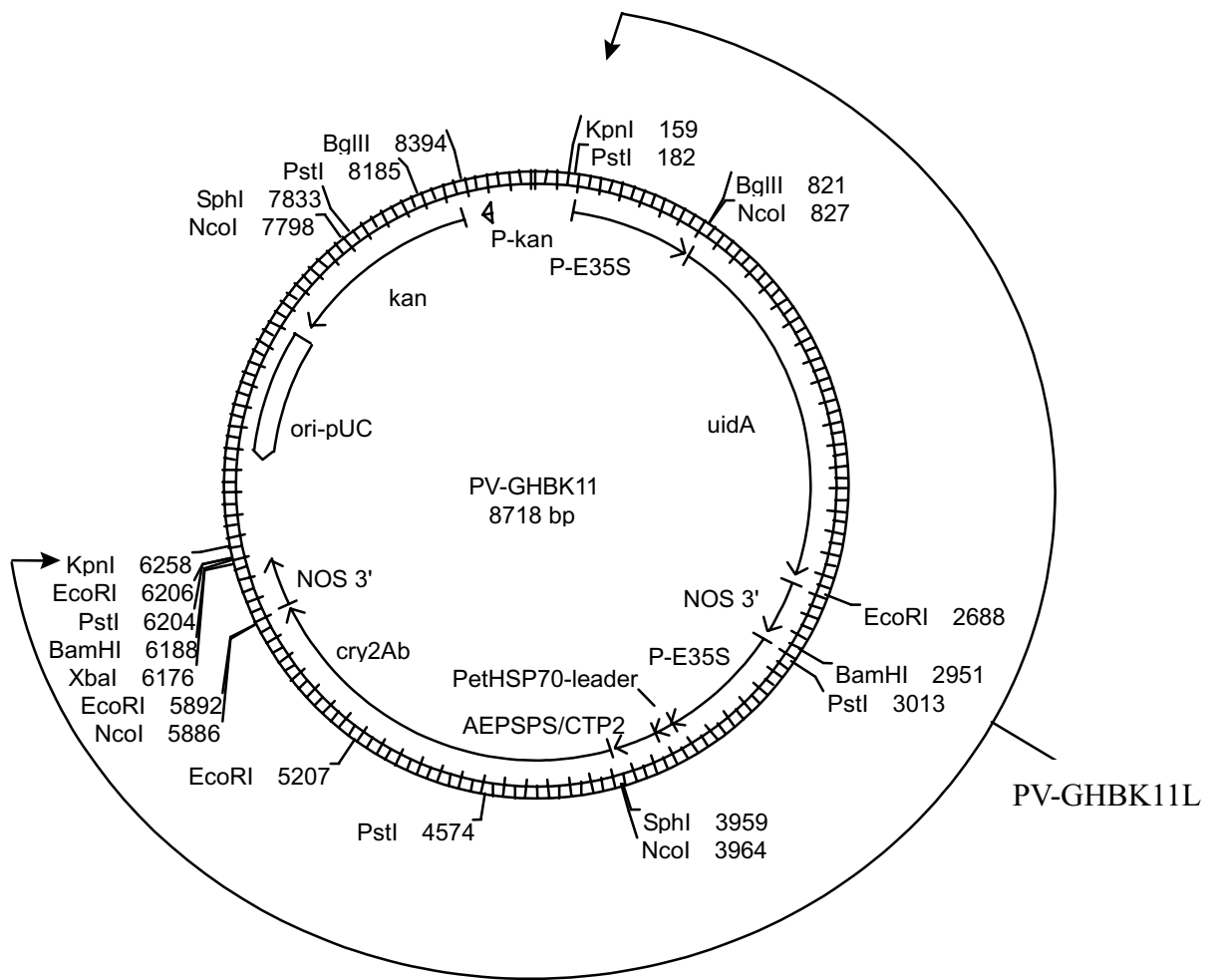


図 3 チョウ目害虫抵抗性ワタ 15985 の作出に用いられた PV-GHBK11 のプラスミドマップ⁷

⁷ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

MON 88913 の作出では、プラスミド・ベクターPV-GHGT35 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により従来ワタ品種 Coker 312 へ導入した。

531 の作出では、プラスミド・ベクターPV-GHBK04 中の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により従来ワタ品種 Coker 312 へ導入した。

15985 の作出では、直鎖状プラスミド・ベクターPV-GHBK11L をパーティクルガン法により組換えワタ品種 DP50B へ導入した。尚、DP50B とは、531 と非組換えワタ品種 DP50 との間で交配を繰り返し育成された組換え商業ワタ品種のことである。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

【MON 88913 の育成の経過】

- ① アグロバクテリウム法によりプラスミド・ベクターPV-GHGT35 を Coker 312 の組織切片に導入した後、グリホサートを含む培地上で再生個体を得た。
- ② 形質転換体をカルベニシリンとパロモマイシンを含む培地で培養した後、これらの抗生物質を含まない再生培地に移して培養することによって、アグロバクテリウムの残存性がないことを確認している(文献 56)。
- ③ 得られた再生個体について挿入遺伝子や CP4 EPSPS 蛋白質の発現量の解析により更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外圃場での実際のグリホサート耐性及び農業形質(形態・生育に関する特性、収量に関わる特性、病害虫感受性など)などから総合的に判断して MON 88913 が選抜された(試験に用いた世代については p20 の図 4 を参照)。

わが国における認可状況は以下の通りである。

- | | |
|-------------|---|
| 2004 年 11 月 | 農林水産省に飼料利用としての安全性確認の申請を行った。現在審査中である。 |
| 2005 年 2 月 | 農林水産省及び環境省に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第一種使用(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について)の申請を行った。現在は審査中であるが、6 月 9 日に開催された生物多様性影響評価検討委員会の総合検討会による審査を終了している。 |
| 2005 年 4 月 | 厚生労働省に食品利用としての安全性確認を受けた。 |

【531 の育成の経過】

- ① アグロバクテリウム法によりプラスミド・ベクターPV-GHBK04 中の T-DNA 領域を Coker 312 の胚軸に導入した後、カナマイシンを含む培地上で再生個体を得た。
- ② 形質転換体からアグロバクテリウムを除くため、形質転換体をカルベニシリン含有培地で培養した後、これらの抗生物質を含まない胚発芽培地中で培養することによって アグロバクテリウムの残存性がないことを確認している(文献 56)。
- ③ 得られた再生個体について挿入遺伝子や改変型 Cry1Ac 蛋白質の発現量の解析により更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外圃場での実際の害虫抵抗性及び農業形質(形態・生育に関する特性、収量に関わる特性、病害虫感受性など)などから総合的に判断して 531 が選抜された(試験に用いた世代については p21 の図 5 を参照)。

我が国における認可状況は以下の通りである。

- | | |
|-------------|---|
| 1997 年 4 月 | 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)について、指針への適合性が確認された。 |
| 1997年5月 | 厚生労働省(当時厚生省)より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。 |
| 1997年6月 | 農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。 |
| 2001 年 3 月 | 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。 |
| 2003 年 3 月 | 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。 |
| 2004 年 11 月 | 農林水産省及び環境省より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第一種使用規定の承認を受けた。(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について) |

【15985 の育成の経過】

- ① 組換えワタ品種 DP50B を宿主とし、その茎頂細胞に PV-GHBK11L をパーテ

ィクルガン法により導入した。再生個体の選抜は、GUS 蛋白質を用いた組織化学的染色法により行った。

- ② 得られた再生個体について PV-GHBK11L 由来の挿入遺伝子や改変型 Cry2Ab 蛋白質及び改変型 Cry1Ac 蛋白質の発現量の解析により、更に選抜を進め、人工気象室、温室試験を経て、野外圃場での実際の害虫抵抗性及び農業形質などから総合的に判断して本組換えワタが選抜された(試験に用いた世代については p21 の図 6 を参照)。

我が国における認可状況は以下の通りである。

- 2001 年 7 月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)について、指針への適合性が確認された。
- 2002 年 10 月 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003 年 3 月 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。
- 2004 年 12 月 農林水産省及び環境省より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第一種使用規定の承認を受けた。(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について)

【MON 88913×15985 の育成の経過】

本スタック系統ワタは、MON 88913 と 15985 の二つの組換えワタ同士を交雑育種法を用いて作出した(p21 の図 7)。

社外秘情報につき非開示

図 4 除草剤グリホサート耐性ワタ MON88913 系統の育成図

社外秘情報につき非開示

図 5 チョウ目害虫抵抗性ワタ 531 の育成図

社外秘情報につき非開示

図 6 チョウ目害虫抵抗性ワタ 15985 の育成系統樹

社外秘情報につき非開示

図 7 スタック系統ワタ MON88913×15985 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

【MON 88913 に移入した核酸の存在状態及び形質発現の安定性】

イ. 移入された核酸の複製物が存在する場所

染色体上

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

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、MON 88913 のゲノム中 1ヶ所に 1 コピーの T-DNA 領域が組み込まれていることが確認された(p27 の図 8)。また、T-DNA 領域以外の外側骨格領域は挿入されておらず(MON 88913 生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p47、Figure V-4)、T-DNA 領域内の 2 つの改変型 *cp4 epsps* 遺伝子発現カセットも完全な状態で挿入されていた(MON 88913 生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p51～54、Figure V5-V8)。更に挿入遺伝子は安定して後代に遺伝していることが複数世代におけるサザンブロット分析によって示された(MON 88913 生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p58、Figure V-10)。

ハ. 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

—

ニ. (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

異なる 4 箇所のほ場(アラバマ州、カリフォルニア州、ジョージア州、テキサス州)から採取したサンプルを用いて ELISA 分析により改変型 CP4 EPSPS 蛋白質の発現量を分析した結果、採取した各組織において改変型 CP4 EPSPS 蛋白質の発現が確認された (MON 88913 生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p64 の Table VI-1)。本組換えワタの世代間における改変型 CP4 EPSPS 蛋白質の発現の安定性に関しては、各世代での除草剤グリホサートに対する耐性能により評価している。

ホ. 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

プラスミド PV-GHGT35 は、自律増殖可能な宿主域が、*E.coli* と *A.tumefaciens* などのグラム陰性菌に限られており、自然条件下において野生動植物に対する伝達性は考えられない。

【531 に移入した核酸の存在状態及び形質発現の安定性】

イ. 移入された核酸の複製物が存在する場所

染色体上

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

サザンブロット分析、コスミドクローニング法、そしてゲノムウォーキング法により、挿入遺伝子の解析を行った結果、531 のゲノム DNA 中には、改変型 *cryIAc* 遺伝子発現カセット、*nptII* 遺伝子発現カセットそして *aad* 遺伝子発現カセットより構成される第 1 挿入遺伝子と、第 1 挿入遺伝子の 5'末端側に逆向きに隣接し、改変型 *cryIAc* 遺伝子の 3'領域断片と 7S3'ターミネーターにより構成される第 2 挿入遺伝子、そして第 3 挿入遺伝子として 245bp の 7S 3'ターミネーター断片が存在していることが明らかとなった(p28 の図 9)。

サザンブロット分析に関しては、7 種類のプローブ(Probe 1～Probe 6 及び挿入遺伝子の 5'近傍配列) (531 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p50 の Figure2 及び p67 の Figure18)と 6 通りの制限酵素処理(*AseI* + *BstZ17I*, *SspI*, *XmnI*, *BamHI*, *BamHI* + *NdeI*, *BamHI* + *PmeI*) (531 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p52～p58 の Figure 3～Figure 8)を組み合わせることにより行われた(531 の生物影響評価書の別添資料 2 の p60～p65 の Figure 11～Figure 16)。

次にコスミドクローニング法及びゲノムウォーキング法により得られた DNA 断片の配列を解析することにより第 2 挿入遺伝子の 5'近傍配列(531 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p67 の Figure18)、第 1 挿入遺伝子の 3'近傍配列(531 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p68 の Figure19)、第 3 挿入遺伝子の両近傍配列(531 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p70 の Figure21)を決定した。また、第 1 及び第 2 挿入遺伝子の構造を最終的に確認するために、PV-GHBK04 の塩基配列をもとにプライマーを設計し PCR 分析を行った結果、予想されたサイズの PCR 産物が検出された(531 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p78～p79 の Figure29～Figure30)。更にこれらの PCR 産物の DNA 配列を解析することにより、最終的に第 1 及び第 2 挿入遺伝子の全塩基配列を決定した(531 の生物

多様性影響評価書の別添資料 2 の p80～p84 の Figure31～Figure32)。

第 1 並びに第 2 挿入遺伝子が安定して後代に遺伝していることが、R5、R6 世代及び 2 つの商品化品種のゲノム DNA を抽出し、サザンブロット分析を行うことにより明らかとなった(531 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p77 の Figure28)。尚、2 つの商品化品種のゲノム DNA 中には、7S3'配列の断片である第 3 挿入遺伝子は含まれていない(531 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p77 の Figure28)。

この理由としては、隣接して挿入されている第 1 並びに第 2 挿入遺伝子と比べると第 3 挿入遺伝子は染色体上で離れた位置に挿入されている為、戻し交配の過程で分離したことが考えられた。すなわち、第 3 挿入遺伝子は転写を終結させる因子である 7S3'配列の断片であり、531 における目的形質であるチョウ目害虫抵抗性には寄与していないため、生育にかかる選抜の過程で脱落したことが考えられた。

ハ. 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

—

ニ. (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

チョウ目害虫抵抗性については、複数世代において安定して発現している事が、改変型 Cry1Ac 蛋白質の発現の有無のみを確認できる簡便 ELISA 法により育成過程で確認されている。

ホ. 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

プラスミド PV-GHBK04 は、自律増殖可能な宿主域が、*E.coli* と *A.tumefaciens* などのグラム陰性菌に限られており、自然条件下において野生動植物に対する伝達性は考えられない。

【15985 に移入した核酸の存在状態及び形質発現の安定性】

イ. 移入された核酸の複製物が存在する場所

染色体上

- 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

サザンブロット分析による挿入遺伝子の解析の結果、挿入遺伝子は 15985 の染色体ゲノム中 1 ヶ所に 1 コピー組み込まれていることが確認された(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p28,29 の Figure3,4)。続いて改変型 *cry2Ab* 遺伝子発現カセット及び *uidA* 遺伝子発現カセットの完全性をそれぞれの構成要素をプローブとして用いて確認した結果、改変型 *cry2Ab* 遺伝子発現カセットは完全な状態で挿入されているが(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p30~p33 の Figure5~Figure8)、*uidA* 遺伝子発現カセットは一部が欠損して挿入されていることが示唆された(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 2 の p34~p39 の Figure9~Figure13)。この *uidA* 遺伝子発現カセットの欠損した部位については、挿入遺伝子の近傍配列をゲノムウォーキングで解析した結果、P-E35S の 5'末端側の約 279bp と、約 24bp のマルチクローニングサイト由来のポリリンカーであることが確認された(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p19 の Figure4A)。尚、挿入遺伝子地図は p29 の図 10 に示した。

- ハ. 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

—

- ニ. (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

ウエスタンブロット分析の結果、15985 の R1、R3、R4 及び BC2F3 世代において、改変型 Cry2Ab 蛋白質が安定して発現していることが示された(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 7 の p17 の図 4-5)。

尚、挿入遺伝子の塩基配列を解析した結果、*uidA* 遺伝子の 5'末端から 1,490 番目の塩基が、*E.coli* に導入されている植物発現用プラスミド中の *uidA* 遺伝子配列と比較してグアニン(G)からアデニン(A)に変化しており(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 4-B, p19, 20 Figure4)、その結果アミノ酸配列の N 末端から 377 番目のアミノ酸残基がグルタミン酸(E)からリシン(K)に変化していることが明らかとなった(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 4-C, p32~34, Appendix A)(この蛋白質を以下「GUSE377K」とする)。

この GUSE377K に関しては、①アミノ酸の変化が認められたアミノ酸配列 N 末端から 377 番目は、植物、微生物そして哺乳動物中で発現している全ての GUS 蛋白質ファミリー中で共通して保存されている活性部位に含まれるアミノ酸ではない(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 4-C, p32~34, Appendix A)。②このアミノ酸の変異は GUS 蛋白質の活性部位及び三次元構造に影響を及ぼさない(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 4-C, p17, Figure 2 及び p19, Figure 4)。③蛋白質データベース(SwissProt ver.30, PIR ver.41)を用いて GUSE377K が既知アレルゲンとアミノ酸配列を共有するかどうか調べた結果、GUSE377K は既知アレルゲンとの間に配列の相同性を持たないことが示された(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 4-D)ことから、通常の GUS 蛋白質と GUSE377K の構造と機能は同等であると考えられた。

更に今回の挿入遺伝子の解析を行った世代は米国での環境安全性評価を行った R3 世代と R1 世代から派生した複数の BC2F3 世代であり(p21 の図 6)、解析した全ての世代において *uidA* 遺伝子の 5'末端から 1,490 番目の塩基がアデニン(A)であることが明らかとなった。よって *uidA* 遺伝子の 5'末端から 1,490 番目のグアニン(G)からアデニン(A)への変化は、*E.coli* 中での植物発現用プラスミドの増殖あるいは、パーティクルガン法による遺伝子導入の際に起こったものであり、後代へ遺伝する間に起こったものではないと結論された。このことから日本において環境安全性試験を行った世代(R1 及び R4 世代)でも GUSE377K が発現していることが示唆された。

15985 の遺伝的安定性は複数の世代(15985 系統の自殖後代 R1、R2、R3、R4 及び 2 つの従来ワタ品種との交配後代世代 BC2F3)においてサザンブロット分析によって証明された(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p16 の図 4-4)。

ホ. 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

プラスミド PV-GHBK11L は、自律増殖可能な宿主域が、*E.coli* と *A.tumefaciens* などのグラム陰性菌に限られており、自然条件下において野生動植物に対する伝達性は考えられない。

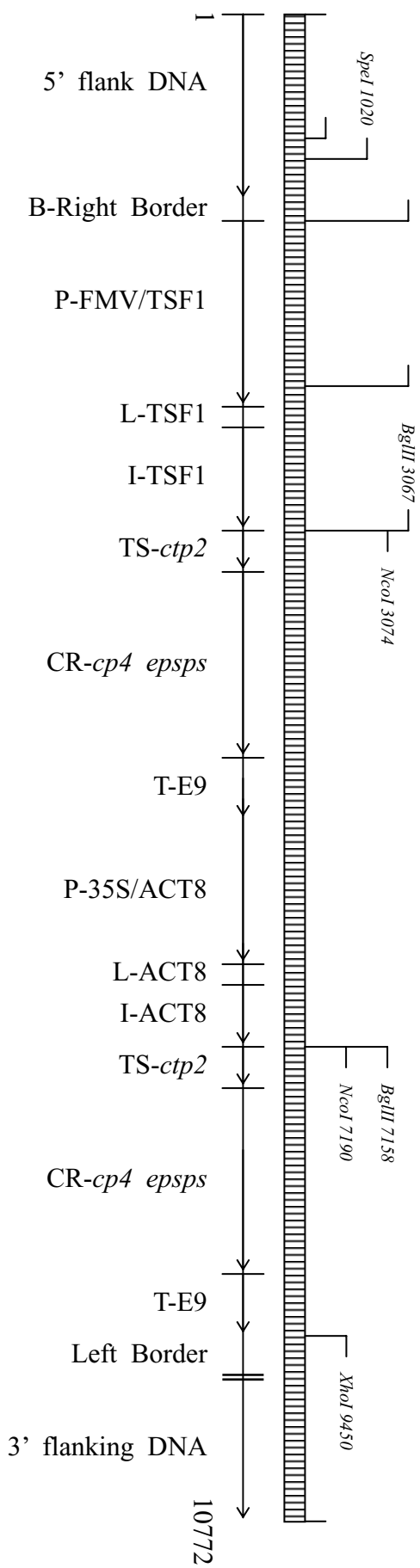


図 8 除草剤グリホサート耐性ワタ MON88913 の挿入遺伝子地図⁸

⁸ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

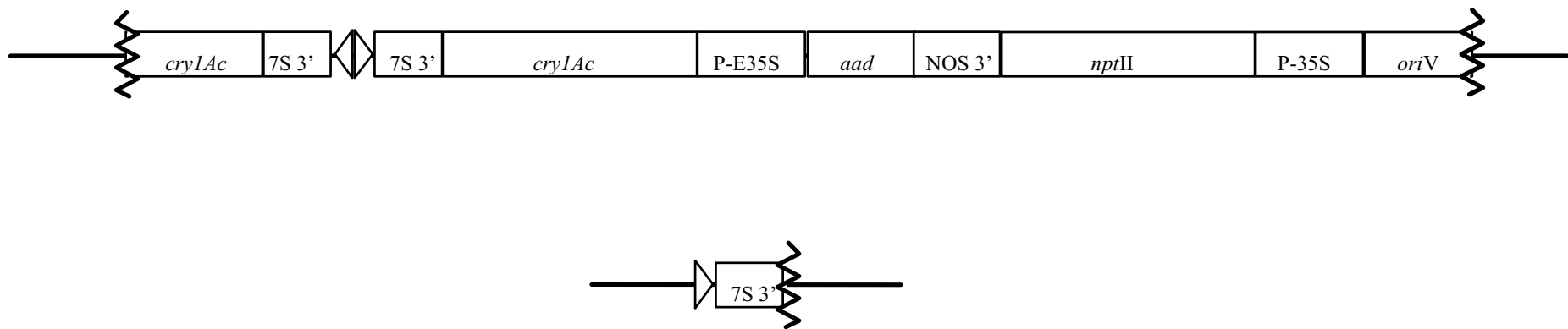


図 9 チョウ目害虫抵抗性ワタ 531 の挿入遺伝子地図⁹

⁹ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

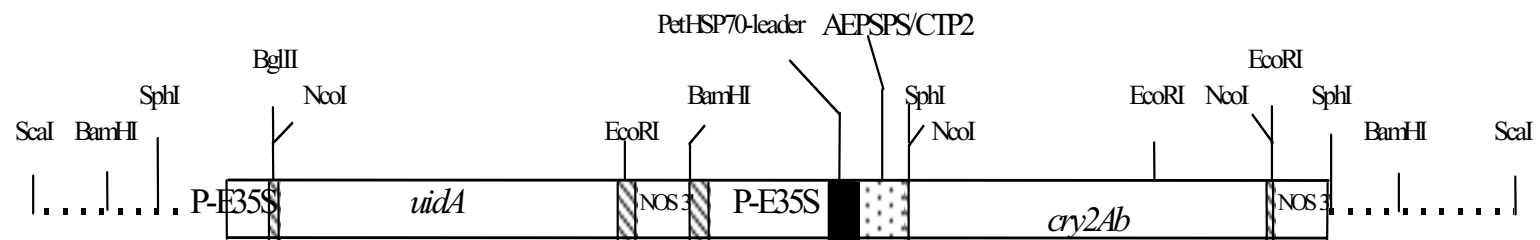


図 10 チョウ目害虫抵抗性ワタ 15985 の挿入遺伝子地図¹⁰

¹⁰ 本図に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

(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

MON88913 を検出及び識別する為の方法としては、挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムの DNA 配列をプライマーとして定性的 PCR 法を開発しており、本法により MON88913 を特異的に検出可能である。詳細は MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 に示した。

15985 を検出及び識別する為の方法としては、挿入遺伝子及びその周辺の植物ゲノムの DNA 配列をプライマーとした定性的 PCR 法を開発しており、本法により 15985 を特異的に検出可能である。詳細は 15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 に示した。

本スタック系統ワタを検出及び識別するためには、上述の 2 方法をワタの種子 1 粒毎について行う必要がある。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

本スタック系統ワタの親系統である MON88913、15985 に挿入された遺伝子により、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質、改変型 Cry1Ac 蛋白質及び改変型 Cry2Ab 蛋白質が植物体内において発現していると推測される。第一の 2-(1)-ロで述べたように、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質と同等の機能を持つ EPSPS 蛋白質は、シキミ酸経路の律速酵素ではないことが示唆されていること、また、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤グリホサート耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物中の芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されていることから、宿主の代謝経路には影響を及ぼさないと考えられる。さらに、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は基質特異性が高い。同じく、改変型 Cry1Ac 蛋白質及び改変型 Cry2Ab 蛋白質は酵素活性を持たず、宿主の代謝系とは独立して機能している。以上のことから、これら 3 つの蛋白質が相互に作用するとは考えにくい。

実際に確認するために、除草剤グリホサートに対する耐性能については、MON88913、本スタック系統ワタ(MON88913×15985)、及び非組換えワタにグリホサートを散布した後に、グリホサートによる植物体の壊死の程度を調査した。その結果、MON88913 及び本スタック系統ワタのグリホサート散布による壊死の程度に統計学的有意差は、認められなかった (p32 の表 5)。

同様にチョウ目害虫抵抗性については、15985、本スタック系統ワタ及び非組換えワタから採取した葉組織を、標的昆虫である tobacco budworm(TBW)の 3 齢幼虫に与

えてから 6 日後に、幼虫の死亡率と生体重を調査した。その結果、15985 と本スタック系統ワタを与えた TBW の幼虫の死亡率と生体重には、統計学的有意差は認められなかった(p36 の表 6)。尚、本試験は 3 齢幼虫よりも感受性の高い 2 齢幼虫を用いても行われているが、葉組織を与えて 6 日後の平均死亡率が 15985、MON88913×15985 共に 100%であった為に統計処理は行わなかった。

以上のことから、本スタック系統ワタ中で発現する改変型 CP4 EPSPS 蛋白質、改変型 Cry1Ac 蛋白質及び改変型 Cry2Ab 蛋白質は、それぞれ独立して作用していることが証明された。よって、第二の項目ごとの生物多様性影響の評価の際に用いる本スタック系統ワタと宿主の属する分類学上の種であるワタとの相違に関する情報については、以下に示す MON88913 及び 15985 の諸形質を個別に調査した結果を引用することとした。

表 5 MON88913、本スタック系統ワタ、及び非組換えワタに対して、除草剤グリホサートを散布した後に壊死の起きた割合の比較^{a 11}

	散布量 1.125 lb ae/acre ^c	散布量 16.125 lb ae/acre
試験サンプル ^b	13 葉期	13 葉期(標準誤差)
MON88913	0.0	26.7 (1.67) a
MON88913x 15985	0.0	22.5 (1.71) a
非組換えワタ	10.0	81.7 (1.67) b

a, グリホサート散布してから約 7 日後に壊死の起こった割合(0-100%)を測定した。カラム内の数値の後にあるアルファベットが異なる場合は壊死の程度に統計的有意差が認められたことを示す(p<0.05)。尚、グリホサート散布量 1.125lb ae/acre は、通常の約 1.5 倍量の散布量であるのに対して、16.125 lb ae/acre は、通常の約 21 倍量の散布量である。このように過剰のグリホサートを散布することによって MON88913 と本スタック系統ワタ間でグリホサート耐性が高まっていないかを確認した。その結果、本スタック系統ワタと MON88913 との間で壊死による生育阻害度の割合に統計的有意差は認められなかった。従って、本スタック系統ワタの除草剤グリホサート耐性度は、CP4 EPSPS 蛋白質を単独で発現する MON88913 と同程度であることが示された。

b, グリホサート散布試験に用いた各試験サンプルの個体数を以下に示した。

1.125 lb ae/acre

MON88913 ; 7 個体

MON88913 × MON15985 ; 11 個体

非組換えワタ ; 4 個体

16.125 lb ae/acre

MON88913 ; 6 個体

MON88913 × MON15985 ; 10 個体

非組換えワタ ; 3 個体

c, ae ; acid equivalent とは酸換算のことである。グリホサートは、ラウンドアップ製剤中で、グリホサートイソプロピルアミン塩として存在する。このうち活性成分はグリホサート酸であるため、活性成分としての酸換算量を記載単位として用いた。尚、1.125 lb ae/acre は 10 a あたり除草剤グリホサートの原液を 350m l 散布する量に相当し、16.125 lb ae/acre は、10 a あたり除草剤グリホサートの原液を 5,000 m l 散布する量に相当する。

¹¹ 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

表 6 15985、本スタック系統ワタ、及び非組換えワタの葉組織をチョウ目害虫 tobacco budworm(TBW)の幼虫に与えた後の死亡率と体重の比較¹²

試験サンプル	TBW	
	% M ^a (標準誤差)	Wt ² (標準誤差)
15985	80 (9.4) a	33.4(2.9) a
MON88913x 15985	85 (6.1) a	29.9 (2.5) a
非組換えワタ	0 (0.0) b	99.3 (3.1) b

TBW の 3 齢幼虫が一匹ずつ入っている 32 穴プレート中に 15985 系統、本交配後代品種、非組換えワタから採取した葉組織をそれぞれ加えてから 6 日後に、幼虫の死亡率と体重を比較した。カラム内の数値の後にあるアルファベットが異なる場合は死亡率の程度に統計的有意差が認められたことを示す(p<0.05)。尚、改変型 Cry1Ac 蛋白質と改変型 Cry2Ab 蛋白質の両 Bt 蛋白質を発現する 15985 系統は、改変型 Cry1Ac 蛋白質のみを発現する 531 系統よりも、定量的生物検定法によって平均して約 4 倍と有意に高い発現量として示す為、改変型 *cry1Ac* 遺伝子又は改変型 *cry2Ab* 遺伝子のどちらかが分離していた場合はすぐに確認できる。

統計処理の結果、15985 と本スタック系統ワタとの間で TBW の死亡率と生体重に統計的有意差は認められなかった。従って、本スタック系統ワタのチョウ目害虫抵抗性は、15985 と同程度であることが示された。

^a % M＝葉組織を与えて 6 日後の TBW の平均死亡率(%)。カッコ内は標準誤差。

²Wt＝葉組織を与えて 6 日後に生存している TBW の平均重量(mg)。カッコ内は標準誤差。

¹² 本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

イ. MON88913 では、除草剤耐性を付与する改変型 *cp4 epsps* 遺伝子によってコードされる改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は、若葉、葉、根、種子、花粉中で発現していることが ELISA 分析により確認されている(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p64 の TableVI-1)。

15985 中には改変型 *cry 1Ac* 遺伝子がコードする改変型 Cry1Ac 蛋白質と改変型 *cry2Ab* 遺伝子がコードする改変型 Cry2Ab 蛋白質が発現しているが、改変型 Cry2Ab 蛋白質については、15985 の若葉、葉、種子、植物体中で発現していることが ELISA 分析により確認されている(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 5 の p25~27 の Table1~3)。一方、改変型 Cry1Ac 蛋白質については 15985 とその宿主である DP50B 中での発現量が若葉、葉、種子、植物体、花粉を用いて ELISA 分析により調査されているが、15985 と DP50B のそれぞれの器官における改変型 Cry1Ac 蛋白質の発現量に差異は認められないことから、改変型 Cry1Ac 蛋白質と改変型 Cry2Ab 蛋白質は 15985 中で互いに相互作用を示さないことが証明された(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 5 の p44~46 の Table13~15)。尚、NPTII 蛋白質に関しても同様に 15985 と DP50B 中での発現量が葉と種子を用いて ELISA 分析により調査されているが、その発現量に明らかな相違は認められなかった(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 5 の p44 の Table13)。

従って、本スタック系統ワタでも、改変型 Cry1Ac 蛋白質、改変型 Cry2Ab 蛋白質及び改変型 CP4 EPSPS 蛋白質が葉及び種子中で発現していると考えられる。

ロ. ¹³MON88913 の隔離ほ場試験は、日本モンサント社の河内研究農場の隔離ほ場で、2004 年 5 月から 2005 年 2 月まで行われた(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3)。尚、本隔離ほ場試験には、MON88913 の R2 世代の収穫種子(=R3 世代)、また対照の非組換えワタには MON88913 の育成過程において、R2 世代から改変型 *cp4 epsps* 遺伝子の分離により得られたグリホサート感受性の Null 型ワタ(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 中では MON88913(-)と記載されているが、以降、本評価書中では Null 型ワタと表記する)を用いた(p20 の図 4)。

15985 の隔離ほ場試験は、15985 と対照の宿主ワタである DP50B 及び非組換えワタ DP50 を用いて九州農業試験場と日本モンサント社の河内研究農場の隔離ほ場で、平成 12 年 5 月から平成 13 年 3 月まで行われた。尚、DP50B とは、531 と非組換えワタ品種 DP50 との間で交配を繰り返し育成された組換え商業ワタ品種のことである。

¹³本項目中の以下に続く①~⑦に記載された情報に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社に帰属する。

① 形態及び生育の特性

【MON88913 の形態及び生育の特性】

18 項目(発芽揃い、発芽率、草型、草丈、開花数、花色、葉形、有効花・さく数、結果枝数、開じょ期、さくの形状、繊維の色、1 個体あたりのさく数、さくの室数、さくあたり種子数、種子の色、さくの重量、収穫期の地上部重及び地下部重)について、MON88913 及び対照の Null 型ワタ間の形態特性及び生育の特性における差異を調査した(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p11 の表 2)。

その中で、発芽率、草丈、開花数、有効花・さく数、結果枝数、1 個体あたりのさく数、さく重、さくの室数、さくあたりの種子数、収穫期の地上部重及び地下部重について測定を行い、得られた結果について統計処理を行った(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p12,13 の表 3-1, 3-2)。その結果、発芽率、草丈において、対照の Null 型ワタとの間で統計学的有意差が認められたが($p < 0.05$)、それ以外の項目については、差異は認められなかった。

統計学的有意差の認められた MON88913 の発芽率の平均値は 41.0%、対照の Null 型ワタは 55.8%であった。尚、参考として 2002 年に米国の 3 ケ所のほ場(カリフォルニア州 : CA、ジョージア州 : GA、アラバマ州 : AL)で行った発芽試験では、ジョージア州とアラバマ州で収穫された MON88913 と対照の Null 型ワタの種子の発芽率についても、平均で 50%以下と低い値であった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p175~p177 の TableC-2~TableC-4)。

また、同じく統計学的有意差の認められた草丈の平均値は MON88913 で 167.2cm、対照の Null 型ワタでは 175.2cm であった。尚、参考として 2002 年に米国の 14 箇所のほ場において、播種後 4 週間(1st plant height)、8 週間(2nd plant height)、12 週間(3rd plant height)、そして収穫期に草丈を測定しているが、MON88913 と対照の Null 型ワタとの間で統計学的有意差は認められていない(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p75,76 の TableVII-3, VII-4)。

【15985 の形態及び生育の特性】

20 項目(発芽揃い、発芽率、草型、草丈、開花期、花色、葉形、有効花蕾数、結果枝数、開じょ期、繊維の色(綿毛の色)、さく(ワタの果実)の形状、1 株当りのさく数、未収穫のさく数、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、収穫期、1 さくの乾燥重量、収穫期の地上部・地下部の重量)について 15985 と対照の宿主ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 間の形態特性及び生育の差異を調査した。その中で、草型、草丈、

有効花蕾数、結果枝数、繊維の色(綿毛の色)、さく(ワタの果実)の形状、1株当りのさく数、さくの室数、さく当りの種子数、種子の色、1さくの乾燥重量、及び収穫期の地上部・地下部の重量については、各プロットの中央列から3個体以上を選び、合計10個体以上についてそれぞれ調査した。ただし、さくに関する調査は1個体当たり2さくについて行った。また、発芽揃い、発芽率、開花期、開じょ期、収穫期については、全個体を調査の対象とした。

その結果、R1世代を用いた河内研究農場での試験においては、全ての項目に15985と対照の宿主ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の間で差異は認められなかった(15985の生物多様性影響評価書の別添資料8のp22の表4-3、p24~31の写真4-3、4-4、4-5、4-6、4-7、4-8)。

一方、九州農業試験場の隔離ほ場においてR4世代を用いて行われた試験では、葉形(葉長)、地下部重において有意差が認められたが、その他の項目について差異は認められなかった(15985の生物多様性影響評価書の別添資料8のp23の表4-4)。葉長における差異は宿主ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の両方に対して認められ、15985の葉長の平均値は16.5cm、宿主ワタ DP50B の平均値は17.8cmそして非組換えワタ DP50 の平均値は17.9cmであった。地下部重における差異は非組換えワタ DP50 に対してのみ認められ、宿主ワタ DP50B との間で差異は認められなかった。尚、15985の地下部重の平均値は163.3g、宿主ワタ DP50B の平均値は156.7gそして非組換えワタ DP50 の平均値は133.3gであった。

② 生育初期における低温又は高温耐性

【MON88913の生育初期における低温又は高温耐性】

MON88913及び対照のNull型ワタの幼植物は、いずれも低温(5℃)条件下静置後24日目ではほぼ完全に枯死しており、その枯死程度に差異は認められなかった(MON88913の生物多様性影響評価書の別添資料3のp21,22の図7-1,7-2)。

【15985の生育初期における低温又は高温耐性】

隔離ほ場試験において、生育初期における低温耐性試験は行っていないが、米国の22箇所のほ場において翌春発生する自生個体の観察が行われている。尚、これら米国のほ場試験は米国南部の代表的なワタの栽培地帯で行われており、我が国の平均的な気候条件と比較して冬季の冷え込みも比較的少ないことから、我が国よりもワタが生育し易い気候条件であると判断された(文献57)。

観察の結果、収穫の際にはほ場内にこぼれ落ちた種子が秋に発芽しているのが僅かな

がら確認されたが、翌春には全て枯死していたということであった。以上のことから 15985 の生育初期における低温耐性は、対照の非組換えワタと同様に低いと判断された。

③ 成体の越冬性又は越夏性

ワタは基本的に多年生植物であるが、これは熱帯地方で生育した場合のみであり、日本及び世界のワタの栽培地帯では、結実後、冬季には通常自然に枯死する。実際に MON88913 及び 15985 の隔離ほ場試験終了時には、部分的に枯死が始まっていることを確認している。以上のことから、MON88913 及び 15985 において成体の越冬性試験は行わなかった。

④ 花粉の稔性及びサイズ

我が国においては、MON88913 及び 15985 の種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培自体も行われていない(文献 5)。したがって、MON88913 及び 15985 が我が国の生物多様性に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中に我が国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは、自生化して他の植物を駆逐する場合が想定された。しかし、花粉は、こぼれ落ちた種子が発芽した後に成育或いは自生化して、完全な成体になるまでは形成されないことと、これまでに、輸送中にこぼれ落ちた種子が、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていないことから、MON88913 及び 15985 において花粉の稔性及びサイズの調査は行わなかった。

⑤ 種子の生産量、休眠性及び発芽率

【MON88913 の種子の生産量、休眠性及び発芽率】

MON88913 の 1 個体あたりのさく数とさくあたりの種子数を、対照の Null 型ワタと比較した結果、統計学的有意差は認められなかった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p12,13 の表 3-1, 3-2)。

脱粒性に関して、MON88913 及び対照の Null 型の種子は共に繊維に絡み合って分離しにくく、脱粒性は双方とも同程度に低いと考えられた。

休眠性及び発芽率について、MON88913 及び対照の Null 型ワタの間で収穫した種子の発芽率は、それぞれ 58.9%と 54.4%で低かったが、両者間で統計的有意差は認められなかった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p20 の表 4)。

尚、参考として 2002 年に米国のカリフォルニア州(CA)、ジョージア州(GA)及びア

アラバマ州(AL)の3ヶ所の圃場で収穫された MON88913、対照の Null 型ワタ及び参考として加えた6つの従来品種の種子を用いて発芽試験を行った結果、アラバマ州及びジョージア州で収穫された種子の発芽率についても、平均で50%以下と低い値であった。更にいずれも発芽、死滅あるいは吸水膨潤状態(Viable Firm Swollen)であり、休眠状態(Viable Hard)の種子は認められなかった(MON88913の生物多様性影響評価書の別添資料1のp175~p177のTableC-2~TableC-4)。

【15985の種子の生産量、休眠性及び発芽率】

種子の生産量については、①の形態及び生育の特性で示したように、1株当りのさく数、さくの室数、さくあたりの種子数について15985と宿主ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 との間で差異を調査している。その結果、R1 及び R4 世代とも全ての項目において統計的有意差は認められなかった(15985の生物多様性影響評価書の別添資料8のp22, 23の表4-3、4-4)。

脱粒性については、15985とその対照の非組換えワタは共に、収穫時種子は綿毛とリントに覆われており、自然条件での脱粒性は観察されなかった。

休眠性については、1999年に米国のテキサス州(TX)、サウスカロライナ州(SC)及びルイジアナ州(GA)の3ヶ所のほ場試験において収穫された15985、宿主ワタである DP50B、非組換えワタ DP50、そして参考として加えた11の従来品種の種子を用い、5~40℃の異なる温度条件下での種子発芽率を調査することによって評価した(15985の生物多様性影響評価書の別添資料9のp23~25のTable5,6)。

その結果、いくつかの温度条件下では、15985と対照の宿主ワタである DP50B との間で統計的有意差($p < 0.05$)が認められたが、それらは参考として加えられた11の従来品種の値の範囲内であった(15985の生物多様性影響評価書の別添資料9のp23のTable5)。一方、それぞれの温度条件下で、15985、宿主ワタ DP50B 及び参考として加えた11の従来品種の種子は、いずれも発芽(germinated)、吸水膨潤(Viable Firm Swollen)あるいは死滅状態(degenerated)であり、休眠状態(Viable Hard)の種子は認められなかった(15985の生物多様性影響評価書の別添資料9のp23のTable5)。

発芽率については、①の形態及び生育の特性で示したように、R1 及び R4 世代とも対照の宿主ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 との間で差異は認められなかった(15985の生物多様性影響評価書の別添資料8のp22, 23の表4-3、4-4)。

⑥ 交雑率

わが国では MON88913 及び 15985 が属する4倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交

雑可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は存在しない(文献 3、文献 4)。従って MON88913 及び 15985 の交雑率については試験を行わなかった。

⑦ 有害物質の産生性

【MON88913 の有害物質の産生性】

鋤き込み試験、後作試験及び土壌微生物試験を行った結果、全ての項目において MON88913 と対照の Null 型ワタとの間で統計学的に有意な差異は認められなかった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p26、27 の表 5、6、7)

【15985 の有害物質の産生性】

R1 世代及び R4 世代の植物体を用いて鋤き込み試験、後作試験及び土壌微生物試験を行っているが、全ての項目において 15985 と対照の宿主ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の間で統計学的に有意な差異は認められなかった(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p33～p37 の表 4-5～表 4-11)。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 使用等の内容

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

(2) 使用等の方法

—

- (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

—

- (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

申請書に添付した緊急措置計画書を参照。

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

—

- (6) 国外における使用等に関する情報

MON 88913 の国外における使用等に関する情報は以下の通りである。

2004年12月 米国農務省(USDA)より無規制裁培の認可を受けた。

2005年3月 米国FDAより食品・飼料としての安全性認可を受けた。

尚、MON 88913 のわが国における認可状況は以下の通りである。

2004年11月 農林水産省に飼料利用としての安全性確認の申請を行った。現在審査中である。

2005年2月 農林水産省及び環境省に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第一種使用(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について)の申請を行った。現在は審査中であるが、6月9日に開催された生物多様性影響評価検討委員会の総合検討会による審査を終了している。

2005年4月 厚生労働省に食品利用としての安全性確認を受けた。

531 の国外における使用等に関する情報は以下の通りである。

1995年6月 米国食品医薬品局(FDA)より食品及び飼料としての安全性認可を受けた。

1995年7月 米国農務省(USDA)より無規制裁培の認可を受けた。

1995年8月 米国環境省(EPA)は Cry2Ab 蛋白質に対し、残留基準値の設定の免除を認めた。

1996年8月 オーストラリア遺伝子技術規制局の暫定機関(IOGTR)から

- 飼料及び環境への安全性認可を受けた。
- 2000年7月 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局(FSANZ)から食品としての安全性認可を受けた。
- 2003年6月 オーストラリア遺伝子技術規制局(OGTR)から飼料及び環境への安全性認可を受けた。

尚、531の我が国における認可状況は以下の通りである。

- 1997年4月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体の利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)について、指針への適合性が確認された。
- 1997年5月 厚生労働省(当時厚生省)より「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針第4章」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 1997年6月 農林水産省より「組換え体利用飼料の安全性評価指針6の(2)」に基づき、飼料利用としての安全性認可を受けた。
- 2001年3月 厚生労働省より「組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003年3月 農林水産省より「組換えDNA技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。
- 2004年11月 農林水産省及び環境省より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第一種使用規定の承認を受けた。(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について)

15985の国外における使用等に関する情報は以下の通りである。

- 1995年6月 米国食品医薬品局(FDA)より食品及び飼料としての安全性認可を受けた。
- 1995年7月 米国農務省(USDA)より無規制裁培の認可を受けた。
- 1995年8月 米国環境省(EPA)はCry2Ab蛋白質に対し、残留基準値の設定の免除を認めた。
- 1996年8月 オーストラリア遺伝子技術規制局の暫定機関(IOGTR)から飼料及び環境への安全性認可を受けた。
- 2000年7月 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局(FSANZ)から食品としての安全性認可を受けた。
- 2003年6月 オーストラリア遺伝子技術規制局(OGTR)から飼料及び環境への安全性認可を受けた。

尚、15985 の我が国における認可状況は以下の通りである。

- 2001年7月 農林水産省より「農林水産分野等における組換え体利用のための指針」に基づき、日本への輸入(加工用及び飼料用としての利用)について、指針への適合性が確認された。
- 2002年10月 厚生労働省より「組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査基準」に基づき、食品利用としての安全性確認を受けた。
- 2003年3月 農林水産省より「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続き」に基づき、飼料利用としての安全性確認を受けた。
- 2004年12月 農林水産省及び環境省より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第一種使用規定の承認を受けた。(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について)

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価¹⁴

本スタック系統ワタは MON88913 と 15985 を従来育種法により掛け合わせた品種である。従って、本スタック系統ワタは MON88913 と 15985 の特性を併せ持つ。第一の 2-(6) で述べたとおり、改変型 Cry1Ac 蛋白質及び改変型 Cry2Ab 蛋白質は酵素活性を持たず宿主の代謝系とは独立に機能しており、また改変型 CP4 EPSPS 蛋白質は宿主の代謝系には影響を及ぼさないことから、本スタック系統ワタではこれら 3 つの蛋白質が相互に作用することはないと考えられる。実際に除草剤グリホサート耐性及びチョウ目害虫抵抗性については、生物検定を行い、除草剤グリホサート耐性は本スタック系統と MON88913 との間で、チョウ目害虫抵抗性は本スタック系統と 15985 との間で、それぞれ統計学的有意差がなかったことを確認している(第一の 2-(6))。従って、本スタック系統ワタの生物多様性影響の評価は、MON88913 と 15985 の諸形質を個別に調査した結果を用いて行った。

1 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

本スタック系統ワタの親系統である MON88913 と 15985 の競合における優位性に関わる諸形質について、第一、2-(6)の① 形態及び生育の特性、②生育初期における低温耐性、⑤種子の生産量、休眠性及び発芽率に記載したように比較検討した。

その結果、MON88913 においては発芽率と草丈を除いた全ての項目で対照の Null 型ワタとの間に差異は認められなかった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p12~p17 の表 3-1,3-2 及び図 6-1~図 6-6)。

尚、統計学的有意差の認められた発芽率については、本組換えワタの発芽率の平均値は 41.0%、対照の Null 型ワタは 55.8%で、ともに低い値であった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p12 の表 3-1)。しかし、2002 年に米国のカリフォルニア州(CA)、ジョージア州(GA)及びアラバマ州(AL)の 3 ヶ所の圃場において収穫された本組換えワタ、対照の Null 型ワタ及び参考として加えた 6 つの従来品種の種子について発芽試験を行った結果、アラバマ州及びジョージア州で収穫された種子の発芽率についても、平均で 50%以下と低い値であった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p175~p177 の TableC-2~TableC-4)。この原因としては、2002 年の平均降水量が 461mm であり、一般的に乾燥した気候であるカリフォルニア州に比べて、2002 年の平均降水量がそれぞれ 1,288mm と 1,473mm であったジョージア州とアラバマ州の湿度の高い環境条件下で形成された種子が湿害を受た為であると考え

¹⁴ 本項目中で、第一の 2-(6)の①~⑦に記載された試験結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社 に 帰 属 する。また、本項目の 2.(2)の第二パラグラフ及び第三パラグラフに記載された生物検定の結果に係る権利及び内容の責任は日本モンサント株式会社 に 帰 属 する。

られた(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p79~p80、各州の 2002 年の平均降水量は国立気候データ・センター(NCDC)のデータベース(文献 58)から検索した)。そこで、米国本社に本隔離ほ場に用いられた種子を採取した場所について確認したところ、予想通りジョージア州とアラバマ州であった。従って、本隔離ほ場試験に用いた種子の低い発芽率も湿害による種子稔性の低下が原因であると判断された。

また、草丈においも本組換えワタと対照の Null 型ワタとの間で統計学的有意差が認められ、草丈の平均値は本組換えワタで 167.2cm、対照の Null 型ワタでは 175.2cm であった。しかし、2002 年に米国の 14 箇所のほ場において、播種後 4 週間(1st plant height)、8 週間(2nd plant height)、12 週間(3rd plant height)、そして収穫期に草丈を測定しているが、本組換えワタと対照の Null 型ワタとの間で統計学的有意差は認められていない(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 1 の p75, 77 の TableVII-3, VII-4)。従って、本隔離ほ場試験において認められた発芽率及び草丈における統計学的有意差は、挿入遺伝子に起因するものではなく、これらの差異のみで競合における優位性が高まるとは考えにくい。

15985 においては、R1 世代を用いた日本モンサント河内試験農場での試験で、全ての項目において差異は認められなかったが、九州農業試験場の隔離ほ場において R4 世代を用いて行われた試験では、葉形(葉長)及び地下部重において有意差が認められた。しかし、その他の全ての項目では差異は認められなかった(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p23 の表 4-4)。R4 世代の葉形(葉長)において認められた差異に関しては、15985 の平均値が 16.5cm であったのに対して、宿主ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の平均値がそれぞれ 17.8cm と 17.9cm であった(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p23 の表 4-4)。一方、R1 世代を用いた試験では統計的有意差は認められなかった(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p22 の表 4-3)。また R4 世代の地下部重において認められた差異に関しては、15985 の平均値が 163.3g であったのに対して、宿主ワタ DP50B 及び非組換えワタ DP50 の平均値がそれぞれ 156.7g と 133.3g であった(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p22 の表 4-4)。一方、R1 世代を用いた試験では統計的有意差は認められなかった(15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p22 の表 4-3)。しかし、葉長及び地下部重以外の競合における優位性に関わる諸形質では 15985 と対照の非組換えワタとの間で差異は認められなかったことから、これらの差異のみで競合における優位性が高まるとは考えにくい。

本スタック系統ワタは除草剤グリホサート耐性を有するが、グリホサートを散布されることが想定されにくい自然条件下においてグリホサート耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

また本スタック系統ワタはチョウ目害虫抵抗性を有しているため、同種間では競合における優位性がある程度高まることが予想される。しかし、人の手助けがないと繁殖できない栽培作物であるワタが、本形質が付与されたことによって自生化し、自己繁殖し、優占化する野生植物になるほど競合における優位性を持つとは考えられない。

以上のように、本スタック系統ワタの親系統である MON88913 では発芽率と草丈、15985 においては葉形(葉長)と地下部重において対照の非組換えワタとの間に統計学的有差が認められた。しかし、これらの差異は競合における優位性を高めるほどの差異ではないと判断されている。また、第一の 2-(6)で述べたとおり、本スタック系統ワタ中で発現する改変型 CP4 EPSPS 蛋白質、改変型 Cry1Ac 蛋白質及び改変型 Cry2Ab 蛋白質は、それぞれ独立して作用していることが証明されている。従って、親系統である MON88913 と 15985 を用いて交雑育種法により作出された本スタック系統ワタと宿主の属する分類学上の種であるワタとの間に競合における優位性に関わる差異が認められる可能性は極めて低いと判断された。

また本スタック系統ワタは、グリホサート耐性及びチョウ目害虫抵抗性を併せ持つが、これらは競合における優位性を高めるほどの形質の変化ではなく、また第一の 2-(6)で述べたとおり、それぞれの形質が互いに影響し合うとはないことが証明されている。従ってこれらの形質を全て併せ持ったとしても、競合における優位性が高まることはないと判断された。

以上のことから、本スタック系統ワタにおいて、競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上のことから、本スタック系統ワタは、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

これまでワタが他感作用物質のような野生動植物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。

本スタック系統ワタの親系統である MON 88913 及び 15985 について、有害物質の産生性の有無を、鋤き込み、後作、土壤微生物相試験(第一、2-(6),ロ,⑦)を行い比較検討した。その結果、全ての項目において統計学的有意差は認められなかった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p26、27 の表 5、6、7 及び 15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p33～p37 の表 4-5～表 4-11)。

本スタック系統ワタは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、p7 に示したように、CP4 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蛋白質であるが、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いる。実際に、モンサント社がこれまでに商品化した除草剤グリホサート耐性作物(ダイズ、ナタネ、ワタ、トウモロコシ)の食品/飼料安全性の評価の過程で、それら組換え作物種子中のアミノ酸組成を調べて、芳香族アミノ酸含量に元の非組換え作物との間で相違のないことが確認されている。従って、改変型 CP4 EPSPS 蛋白質が原因で、MON 88913 中に有害物質が産生されるとは考えにくいと判断された。

また、本スタック系統ワタ中には改変型 Cry2Ab 及び改変型 Cry1Ac 蛋白質が発現している為、本スタック系統の花粉による非標的チョウ目昆虫への影響が懸念されるが、ワタの花粉重は比較的軽く、粘着性があるため飛散する可能性は少ない。従ってワタを直接摂食しない非標的チョウ目昆虫が本組換えワタの花粉に暴露される可能性は低いと考えられる。更に我が国では、ワタの商業栽培は行われておらず、本組換えワタの種子を販売する予定もない為、本組換えワタが有害物質を産生して野生動植物に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中にこぼれ落ちた後に、生育或いは自生化した場合が想定された。しかし、現在までにワタの種子が輸送中にこぼれ落ちて、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていない。

以上のことから有害物質の産生性(根から分泌され他の植物に影響を与える物質、根から分泌され土壤微生物に影響を与える物質、植物体が内部に有し他の植物に影響を与える物質)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と判断された。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上の結果から、本スタック系統ワタは有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

我が国では本スタック系統ワタが属する4倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は自生していない(文献4)。よって、交雑性について、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等の判断

以上のことから、本スタック系統ワタは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。

4 その他の性質

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本スタック系統ワタの性質は、上記の他にはないと判断された。

第三・生物多様性影響の総合的評価

わが国においては、本スタック系統ワタの種子を販売する予定はなく、ワタの商業栽培自体も行われていない(文献 5)。更に、わが国には本スタック系統ワタと交雑可能な *Gossypium* 属植物の自然分布は報告されていないことから(文献 3、文献 4)、本スタック系統ワタがわが国の生物多様性に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中にわが国の自然条件下でこぼれ落ちて生育或いは自生化して他の植物を駆逐した場合が想定された。そこで、輸送中にこぼれ落ちた種子の発芽性、自生化の可能性について行った調査結果を中心にして本スタック系統ワタの生物多様性影響を評価した。

尚、本スタック系統ワタは MON88913 と 15985 を掛け合わせた交配後代品種であり、本スタック系統ワタは MON88913 と 15985 の特性を併せ持つ。第一の 2-(6)で述べたとおり、本スタック系統ワタにおける改変型 CP4 EPSPS 蛋白質、改変型 Cry1Ac 蛋白質及び改変型 Cry2Ab 蛋白質が相互に作用することは考えにくい。従って、親系統 MON88913 と 15985 の生物多様性影響の評価の結果を用いて本スタック系統ワタの生物多様性影響の評価を行った。

本スタック系統ワタの親系統である MON88913 と 15985 において競合における優位性に関わる諸形質について、比較検討した。その結果、MON88913 においては、形態及び生育に関わる形質のうちの発芽率と草丈で対照の Null 型ワタとの間に統計学的有意差が認められたが、その他の項目では統計学的有意差は検出されなかった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p12~p17 の表 3-1,3-2 及び図 6-1~図 6-6)。MON88913 と対照の Null 型ワタとの間で認められた発芽率及び草丈における統計学的有意差は、挿入遺伝子に起因するものではなく、これらの差異により競合における優位性に影響が生ずるとは考えられないと判断された。

15985 においては、R1 世代を用いた日本モンサント河内試験農場での試験で、全ての項目において差異は認められなかったが、九州農業試験場の隔離ほ場において R4 世代を用いて行われた試験では、葉形(葉長)及び地下部重において有意差が認められた。しかし、その他の全ての項目では差異は認められなかった。葉形(葉長)及び地下部重において認められた有意差に関しては、この差異のみで競合における優位性が高まるとは考えにくいと判断された。

以上のように、本スタック系統ワタの親系統である MON88913 では発芽率と草丈、15985 においては葉形(葉長)と地下部重において対照の非組換えワタとの間に統計学的有意差が認められた。しかし、これらの差異は競合における優位性を高めるほどの差異ではないと判断されている。また、第一の 2-(6)で述べたとおり、本スタック系統ワタ中で発現する改変型 CP4 EPSPS 蛋白質、改変型 Cry1Ac 蛋白質及び改変型 Cry2Ab 蛋白質は、それぞれ独立

して作用していることが証明されている。従って、親系統である MON88913 と 15985 を用いて交雑育種法により作出された本スタック系統ワタと宿主の属する分類学上の種であるワタとの間に競合における優位性に関わる差異が認められる可能性は極めて低いと判断された。

また本スタック系統ワタは、グリホサート耐性及びチョウ目害虫抵抗性を併せ持つが、これらは競合における優位性を高めるほどの形質の変化ではなく、また第一の 2-(6) で述べたとおり、それぞれの形質が互いに影響し合うとはないことが証明されている。従ってこれらの形質を全て併せ持ったとしても、競合における優位性が高まることはないと判断された。

以上のことから、本スタック系統ワタにおいて、競合における優位性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物は特定されなかった。

本スタック系統ワタの親系統である MON 88913 及び 15985 について、有害物質の産生性の有無を、鋤き込み、後作、土壌微生物相試験(第一、2-(6),ロ,⑦)を行い比較検討した。その結果、全ての項目において統計学的有意差は認められなかった(MON88913 の生物多様性影響評価書の別添資料 3 の p26、27 の表 5、6、7 及び 15985 の生物多様性影響評価書の別添資料 8 の p33～p37 の表 4-5～表 4-11)。

本スタック系統ワタは除草剤グリホサートに耐性を持つ改変型 CP4 EPSPS 蛋白質を産生する性質を有しているが、本蛋白質が有害物質であるとする報告はない。また、本スタック系統ワタ中には改変型 Cry2Ab 及び改変型 Cry1Ac 蛋白質が発現している為、本スタック系統の花粉による非標的チョウ目昆虫への影響が懸念されるが、ワタの花粉重は比較的軽く、粘着性があるため飛散する可能性は少ない。従ってワタを直接摂食しない非標的チョウ目昆虫が本スタック系統ワタの花粉に暴露される可能性は低いと考えられる。更に我が国では、ワタの商業栽培は行われておらず、本スタック系統ワタの種子を販売する予定もない為、本スタック系統ワタが有害物質を産生して野生動植物に影響を与えるとするならば、搾油用あるいは飼料用として輸入された種子が輸送中にこぼれ落ちた後に、生育或いは自生化した場合が想定された。しかし、現在までにワタの種子が輸送中にこぼれ落ちて、我が国の自然条件下で生育或いは自生化したという報告はされていない。

以上のことから、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断された。

我が国では本スタック系統ワタが属する 4 倍体栽培ワタ *Gossypium hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* に属する近縁野生種は自生しておらず(文献 4)、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。

よって、総合的評価として、本スタック系統ワタを第一種使用規程に従って使用した場合に生物多様性影響を生ずるおそれはないと判断した。

[引用文献]

社外秘情報につき非開示

緊急措置計画書 (食用・飼料用に供する場合)

平成17年6月21日

氏名 日本モンサント株式会社
 代表取締役社長 山根精一郎 印
 住所 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 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及びチョウ目害虫抵抗性ワタ(*cp4 epsps, cry1Ac, cry2Ab, Gossypium hirsutum* L.) (MON88913×15985, OECD UI: MON88913-8×MON-15985-7)(以下、「本スタック系統ワタ」という)の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社は生物多様性影響のリスク評価を実施する。このリスク評価に基づき、生物多様性に及ぼす影響に応じた管理計画を設定し、こうした危険性を軽減する方法の決定への協力などを必要に応じて行う。さらに、特定された危険性の重大性や起こりうる確率から判断して、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、当該影響を効果的に防止するため、特定された問題に応じ、以下のことを行う。尚、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合とは、本スタック系統ワタに関して、科学的に我が国の生物多様性に影響を生ずることが立証された場合のことである。

- 1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者は以下に示す通りである。

平成 17 年 6 月現在

社内委員	
*	日本モンサント (株) 東京都中央区銀座四丁目 10 番 10 号 (電話番号 03-6226-6080)
	日本モンサント (株) 農薬規制・環境部
	日本モンサント (株) 河内研究農場
	日本モンサント (株) バイオ規制・環境部
	日本モンサント (株) バイオ規制・環境部
	日本モンサント (株) バイオ規制・環境部

* : 管理責任者

2 第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は種子会社等から、第一種使用等の状況に関し、可能な限り情報収集を行う。

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

生物多様性影響に関して必要に応じて生産国の生産農家や関連団体に情報提供を行い、厳密な使用方法の周知徹底等に努める。

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

具体的措置として、特定された問題に応じ、輸入された本スタック系統ワタの環境放出が行われないようにすること、環境中に放出された本スタック系統ワタがあった場合はそれらが環境中で生存しないようにすること、必要に応じて本スタック系統ワタが日本に輸入されないようにすること等、必要な措置を実行する。

5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、弊社はそのことを直ちに農林水産省や環境省に報告する。