資料６－２

チョウ目害虫抵抗性ワタ (改変*vip3A*, 改変*cry1Ac*, 改変*cry2Ab2*, *Gossypium hirsutum* L.) (COT102 × 15985, OECD UI: SYN-IR102-7 × 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 3
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
① 和名、英名及び学名 3
② 宿主の品種名又は系統名 3
③ 国内及び国外の自然環境における自生地域 3
(2) 使用等の歴史及び現状 4
① 国内及び国外における第一種使用等の歴史 4
② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途 4
(3) 生理的及び生態学的特性 5
イ 基本的特性 5
ロ 生息又は生育可能な環境の条件 5
ハ 捕食性又は寄生性 6
ニ 繁殖又は増殖の様式 6
① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命 6
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 6
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じる特性を有する場合はその程度 6
④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命 6
ホ 病原性 7
ヘ 有害物質の産生性 7
ト その他の情報 7
2　遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報 7
(1) 供与核酸に関する情報 8
イ 構成及び構成要素の由来 8
ロ 構成要素の機能 8
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 8
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 (食品としてのア

レルギー性を除く。) 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.....13
③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容.....16
(2) ベクターに関する情報.....17
イ 名称及び由来.....17
ロ 特性.....17
① ベクターの塩基数及び塩基配列.....17
② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能.....18
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.....18
(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.....22
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過.....22
① 核酸が移入された細胞の選抜の方法.....22
② 核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウムの菌体の残存の有無.....22
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.....22
(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.....25
① 移入された核酸の複製物が存在する場所.....25
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.....25
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.....25
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.....26
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.....26
(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.....26
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違.....27
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.....27

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 28
a 形態及び生育の特性 29
b 生育初期における低温耐性 29
c 成体の越冬性 29
d 花粉の稔性及びサイズ 29
e 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率 29
f 交雑率 29
g 有害物質の産生性 29
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報 29
(1) 使用等の内容 29
(2) 使用等の方法 29
(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 29
(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 29
(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 29
(6) 国外における使用等に関する情報 29
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価 32
1 競合における優位性 33
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 33
(2) 影響の具体的内容の評価 33
(3) 影響の生じやすさの評価 33
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 33
2 有害物質の産生性 33
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 33
(2) 影響の具体的内容の評価 33
(3) 影響の生じやすさの評価 33
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 33
3 交雑性 33
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定 33
(2) 影響の具体的内容の評価 33
(3) 影響の生じやすさの評価 33
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断 33
第三 生物多様性影響の総合的評価 34
参考文献 35

緊 急 措 置 計 画 書 44
資料一覧 46

本評価書に掲載されている情報を無断で複製・転載することを禁ずる。

第一種使用規程承認申請書

平成25年11月28日

農林水産大臣　　林 芳正 殿
環境大臣　　石原 伸晃 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	チョウ目害虫抵抗性ワタ (改変*vip3A*, 改変*cry1Ac*, 改変*cry2Ab2*, *Gossypium hirsutum* L.) (COT102 × 15985, OECD UI: SYN-IR102-7 × 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

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

①　和名、英名及び学名

和名：ワタ
英名：cotton 又は upland cotton
学名：*Gossypium hirsutum* L.

②　宿主の品種名又は系統名

親系統である COT102 の作出に用いた品種名は、Coker312 である。また、15985 の宿主は組換えワタ品種 DP50B である。

DP50B は、*Bacillus thuringiensis* ssp. *kurstaki* 由来の改変 *cry1Ac* 遺伝子が導入され改変 Cry1Ac 蛋白質を発現するチョウ目害虫抵抗性ワタ (*cry1Ac*, *Gossypium hirsutum* L.) (531, OECD UI: MON-ØØ531-6) (以下、「531」とする。) と、非組換えワタ品種 DP50 との間で交配を繰り返し育成された商業品種である。

③　国内及び国外の自然環境における自生地域

ワタはアオイ科 *Gossypium* 属に属する。*Gossypium* 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 群にさらに分けている (Fryxell, 1984)。また、野生の 2 倍体種に加え、新大陸に自生する野生の 4 倍体種には、*G. tomentosum* (ハワイ)、*G. mustelinium* (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 (Fryxell, 1984; Lee, 1984)。*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 (Lee, 1984)。

なお、わが国において *G. hirsutum* と交雑が可能な *Gossypium* 属植物の自然分布は報告されていない。

(2) 使用等の歴史及び現状

① 国内及び国外における第一種使用等の歴史

Gossypium 属のうち栽培種は 4 種に分けられ、旧大陸の「アジア綿」と総称される 2 倍体種 (2n=26) の *G. herbaceum* と *G. arboreum*、及び新大陸の複 2 倍体種 (2n=52) で「陸地綿、アメリカ綿、メキシコ綿」として知られる *G. hirsutum*、「ピマ綿、超長繊維 (ELS) 綿、海島綿、エジプト綿、クレオール綿、インド綿」として知られる *G. barbadense* があり、個々に栽培品種化されてきた (原田, 1981; Lee, 1984; Brubaker et al., 1999; OGTR, 2008)。

日本で古くから栽培されているワタはアジア綿の *G. arboreum* である。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至ったが、その後、外綿の輸入に押されて次第に衰微した (原田, 1981)。現在では、ワタの日本国内における商業栽培はほとんど行われておらず、主に観賞用などの目的で栽培されているのみである。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

G. herbaceum はアフリカ及びアジアの乾燥地帯で、また、同じく 2 倍体種の *G. arboreum* は主にインドで栽培されている。

G. hirsutum 及び *G. barbadense* は主要な栽培ワタ種であり、世界的なワタの主要栽培地域であるアメリカ、ヨーロッパ、中国、アフリカ及びオーストラリアで栽培されている (Lee, 1984; Jenkins, 2003)。

米国農務省の統計情報に基づくと、2011/12 年の全世界におけるワタの栽培面積は 3,572 万 ha であり、上位国を挙げるとインドが 1,220 万 ha、中国が 540 万 ha、米国が 383 万 ha、パキスタンが 300 万 ha となっている (USDA-FAS, 2013)。

2012 年のわが国における搾油用種子 (綿実) の輸入量は 11 万 5,740 トンであり、そのうち約 94%がオーストラリア、約 4.9%が米国、約 0.4%がギリシャから輸入されている (財務省, 2013)。播種用種子は中国とポーランドから輸入されており、輸入量は、1 トン未満である (財務省, 2013)。

摘採した実綿には種子が付いており、これを繰綿機にかけて分離した綿毛 (lint) を綿花又は原綿と呼んでいる。綿花は綿糸・綿織物などの製綿用、又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 (綿実) で、その表面に付く平均 3~5mm の短い繊維 (短毛又は地毛) を脱リンター機でかき取ったものをリンターと呼ぶ。リンターは搾油工場で副産物として生産され、人造繊維や綿火薬の原料とされ、やや長いものは太糸の原料ともされる。リンターをとった種子 (綿実) 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種子油 (綿実油) が得られる。種子 (綿実) 1t から約 130kg の種子油 (綿実油) が得られ、食用油のほかマーガリンや石鹸の原料などとして用いられる。搾油後の種子粕 (綿実粕) は精製して主に飼料や肥料として用いられる (原田, 1981)。

(3) 生理的及び生態学的特性

ィ 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 1.0~2.0m に伸び、発育枝と結果枝を生ずる (OECD, 2008)。葉は主茎又は枝の軸にらせん状に交互につき、各結果枝は 6~8 個の花芽を付ける (OECD, 2008)。

なお、栽培条件下では一年生農作物として栽培され、草丈に関しては 1~1.5m 程度に抑制される (OECD, 2008)。

ロ 生息又は生育可能な環境の条件

ワタの生育に最適な気温は 30~35℃である (OECD, 2008)。ワタは通常年降水量 1,000~1,500 mm ぐらいのところで作られるが、灌漑ができれば、降雨は少ないほうがよい (原田, 1981)。着蕾期及び開花期に多雨、日照不足、干ばつなどが起こると落蕾や落さくが増加する (平野, 1987)。ワタの栽培は主にオーストラリアやアルゼンチン北部などの北緯 37 度から南緯 32 度の間で行われているが、中央アジアや中国など北緯 43~45 度に至る地域でも栽培されている (OECD, 2008)。ワタは様々な土壌で栽培されているが、生育に最適なのは水はけ、水もちが良く、有機物を多く含む土壌である (OECD, 2008)。

ハ　捕食性又は寄生性

―

ニ　繁殖又は増殖の様式

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

ワタのさくは3~5室で構成されている (OECD, 2008)。ワタの完熟したさくは、さく皮が裂けて開じょするが、種子は綿毛に覆われているために脱粒性は低い (Llewellyn and Fitt, 1996)。また、種子の休眠期間は2~3ヶ月である (OECD, 2008)。

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 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じる特性を有する場合はその程度

ワタの受粉様式に関しては、基本的には自家受粉である (Niles and Feaster, 1984)。虫媒による他家受粉も可能であることが知られており、その際の他家受精率は5~30%であったと報告されている (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。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

Gossypium 属の花粉の生産量は 1 花当たりおよそ 4 万 5,000 粒である (McGregor, 1976)。花粉は直径 101 μm、刺状突起の長さは 12.1 μm、刺状突起の密度は 1 μm^2 当たり 8.3×10^{-3} 本である (Kakani et al., 1999)。ワタは、基本的には自家受粉であるが、虫媒 (例：ハチ) による他家受粉も可能であることが知られている。ワタの花粉は比較的重く、粘性があることから風により飛散する可能性は少ない (OECD, 2008)。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 (Llewellyn and Fitt, 1996)。また、*G. hirsutum* の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

結果、ハチの巣箱を回りに配置したワタ畑から約 45m~60m 離れた花畑で約 1.6%の花からワタの花粉が検出された (McGregor, 1976)。ワタの花粉の生存率は、オーストラリアでの試験において 32 時間で 95%から 10%に低下したことが報告されている (Richards et al., 2005)。

ホ　病原性

―

ヘ　有害物質の産生性

ワタには、ゴシポールと呼ばれるテルペノイド物質が含まれており、種子を含むあらゆる植物組織の分泌腺に存在する (OGTR, 2008)。ゴシポールは哺乳動物の腹腔内臓器や肺に炎症を起こし、実験動物においては呼吸困難、麻痺を起こす有害物質として知られているが (生化学辞典, 1990)、搾油過程の加熱により無毒化される (Harris, 1981; NCPA, 1993)。

また、ワタにはジヒドロステルクリン酸、ステルクリン酸、マルバリン酸などのシクロプロペン脂肪酸 (CPFA) が含まれており、種子の総脂質中のおよそ 0.5~1.0%を占める (OECD, 2008)。本物質は鶏において卵黄の変色及びふ化率の低下などの有害な影響を及ぼすとされているが、搾油工程の脱臭過程において著しく減少する (OECD, 2004; OECD, 2008)。

ト　その他の情報

わ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

チョウ目害虫抵抗性ワタ (改変 *vip3A*, 改変 *cry1Ac*, 改変 *cry2Ab2*, *Gossypium hirsutum* L.) (COT102 × 15985, OECD UI: SYN-IR102-7 × MON-15985-7) (以下、「本スタック系統ワタ」という。) は、以下の 2 つの遺伝子組換えワタを従来の交雑育種法を用いて育成したスタック系統である。

a) チョウ目害虫抵抗性ワタ (改変 *vip3A*, *Gossypium hirsutum* L.) (COT102, OECD UI: SYN-IR102-7) (以下、「COT102」という。)
b) 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」という。)

なお、b)の導入遺伝子である *cry2Ab* 遺伝子と本スタック系統ワタで発現する改変 *cry2Ab2* 遺伝子は同一のものである。

(1) 供与核酸に関する情報

イ　構成及び構成要素の由来

COT102、15985 及び 15985 の育成に用いられた 531 の作出に用いられた供与核酸の構成と構成要素の由来は、表 1~表 3 (p9~12) に示したとおりである。

ロ　構成要素の機能

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

COT102、15985 及び 15985 の育成に用いられた 531 の作出に用いられた供与核酸の構成要素の機能は、それぞれ表 1~表 3 (p9~12) に示した。

表 1　COT102 の作出に用いられた pCOT1 の各構成要素の由来及び機能[1]

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
害虫抵抗性遺伝子カセット		
Act2 プロモーター	1,408	*Arabidopsis thaliana*由来のアクチン遺伝子 (actin-2遺伝子) の第1エクソン及びイントロンを含むプロモーター領域(An et al., 1996)。目的遺伝子 (改変*vip3A*遺伝子) を恒常的に発現させる。
改変*vip3A* 遺伝子	2,370	一般に土壌に生息するグラム陽性細菌である*Bacillus thuringiensis* strain AB88由来の*vip3A*遺伝子 (Estruch et al., 1996)を、植物における発現に適したコドン (Murray et al., 1989) に改変した遺伝子。チョウ目昆虫に殺虫活性を示す改変Vip3A蛋白質をコードする。改変Vip3A蛋白質では、そのアミノ酸配列の284番目のアミノ酸がリシンからグルタミンに置換されている。
NOS ターミネーター	253	*Agrobacterium tumefaciens*由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター配列 (GenBank Accession Number V00087) (NCBI, 2006)。ポリアデニル化により、mRNAの転写を終結させる(Depicker et al., 1982)。
形質転換体選抜マーカー遺伝子カセット		
Ubq3 プロモーター	1,721	*A. thaliana*由来のポリユビキチン遺伝子 (*ubi3*) の第１イントロンを含むプロモーター領域 (Norris et al., 1993)。目的遺伝子 (*aph4*) を恒常的に発現させる。
aph4 遺伝子	1,026	大腸菌 (*Escherichia coli*) 由来のリン酸基転移酵素 (ハイグロマイシンBリン酸基転移酵素) 遺伝子(Waldron, 1997)。ハイグロマイシンといくつかの類縁アミノグリコシドをリン酸化することから (Rao et al., 1983)、ハイグロマイシン耐性を付与する。COT102作出の際の形質転換細胞の選抜マーカー。
NOS ターミネーター	253	*A. tumefaciens*由来のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーター配列 (GenBank Accession Number V00087) (Depicker et al., 1982; NCBI, 2006)。ポリアデニル化により、mRNAの転写を終結させる。

[1]本表に記載された情報に係る権利及び内容の責任はシンジェンタジャパン株式会社に帰属する

表 1　COT102の作出に用いられたpCOT1の各構成要素の由来及び機能　(つづき)

構成要素	サイズ (bp)	由来及び機能
その他の領域 (＝外骨格領域)		
LB	25	*A. tumefaciens*由来のノパリンTiープラスミドのT-DNAレフトボーダー領域 (GenBank Accession Number J01825) (Zambryski et al., 1982; NCBI, 2006)。
spec	789	*E. coli*由来のトランスポゾンTn7のストレプトマイシンアデニル酸転移酵素遺伝子 (*aadA*) (GenBank Accession Number X03043) (Fling et al., 1985; NCBI, 2006)。ストレプトマイシン、スペクチノマイシン耐性を付与するため、ベクターの選抜マーカーとして用いた。
repA	1,074	*Pseudomonas*属細菌由来のプラスミドpVS1由来のレプリコン (DNAの複製を制御する最小機能複製単位) 領域。*A. tumefaciens*においてベクターの維持に必要な遺伝子 (Heeb et al., 2000)。
VS1 ori	405	*Pseudomonas*属細菌由来のプラスミドpVS1の複製起点共通配列。*A. tumefaciens*における複製起点となる (Itoh et al., 1984)。
ColE1 ori	807	*E. coli*由来のプラスミドの複製起点 (Itoh and Tomizawa, 1978)。
RB	25	*A. tumefaciens* 由来のノパリンTiープラスミドのT-DNAライトボーダー領域 (GenBank Accession Number J01826) (Wang et al., 1984; NCBI, 2006)。

表 2　15985の供与核酸の作出に用いられたPV-GHBK11L[2]の各構成要素の由来及び機能[3]

構成要素	サイズ (Kb)	機能
改変*uidA*遺伝子発現カセット		
E35S	0.61	2重エンハンサー (Kay et al., 1987) 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 (Odell et al., 1985)。
改変*uidA*	1.81	大腸菌プラスミドpUC19由来の改変*uidA*遺伝子。GUSE377K (β-D-glucuronidase) 蛋白質をコードする (Jefferson et al., 1986)。
NOS3’	0.26	*A. tumefaciens*由来のノパリン分成酵素遺伝子の3’末端非翻訳領域 (Depicker et al., 1982; Bevan et al., 1983)。転写を終結させポリアデニル化を誘導する。
改変*cry2Ab2*遺伝子発現カセット		
E35S	0.61	2重エンハンサー (Kay et al., 1987) 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 (Odell et al., 1985)。
PetHSP70 leader	0.10	ペチュニア (*Petunia hybrida*) のhsp70 (熱ショック蛋白質) 5’末端非翻訳領域
AEPSPS/CTP2	0.23	*A. thaliana* 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 (Klee et al., 1987; Herrmann, 1995)。
改変*cry2Ab2*	1.91	*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*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 (*Heliothis virescens*)、Pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*)及びCotton bollworm 別名Corn earworm (*Heliocoverpa zea*) などに対して殺虫活性を有する改変Cry2Ab2蛋白質をコードする遺伝子 (Widner and Whiteley, 1990)。なお、その他にもCry2Ab2蛋白質は、ワタ栽培におけるチョウ目害虫である Fall Armyworm (*Spodoptera frugiperda*)、Beet Armyworm (*Spodoptera exigua*)、Soybean Looper (*Pseudoplusia includens*) にも殺虫活性を有する。
NOS3’	0.26	*A. tumefaciens*由来のノパリン合成酵素遺伝子の3’末端非翻訳領域 (Depicker et al., 1982; Bevan et al., 1983)。転写を終結させポリアデニル化を誘導する。

[2] PV-GHBK11を制限酵素で処理した直鎖状DNA断片であり、パーティグルガン法により植物細胞に遺伝子を導入する際に用いられた。

[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の育成に用いられた531の作出に用いられたPV-GHBK04の各構成要素の由来及び機能[4]

構成要素	サイズ (Kb)	由来及び機能
改変*cry1Ac*遺伝子発現カセット		
E35S	0.62	2重エンハンサー(Kay et al., 1987)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 (Odell et al., 1985)。
改変*cry1Ac*	3.5	Tobacco budworm (*Heliothis virescens*)、Pink bollworm (*Pectinophora gossypiella*) 及びCotton bollworm 別名Corn earworm (*Heliocoverpa zea*) 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Cry1Ac蛋白質をコードする遺伝子。*B. thuringiensis* subsp. *kurstaki*の産生する野生型Cry1Ac蛋白質と99.4%のアミノ酸配列同一性を持つ蛋白質をコードする (Adang et al., 1985)。
7S 3’	0.44	ダイズの*β-conglycinin*遺伝子の3'末端非翻訳領域であり、mRNAのポリアデニル化シグナルを含む (Schuler et al., 1982)。目的遺伝子の転写を終結させる機能を持つ。
*npt Ⅱ*遺伝子発現カセット		
35S	0.32	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 (Gardner et al., 1981; Sanders et al., 1987)。
npt Ⅱ	0.97	*E. coli*のトランスポゾンTn5に由来する遺伝子 (Beck et al., 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 (Fraley et al., 1983)。
NOS3'	0.24	*A. tumefaciens*由来のノパリン合成酵素遺伝子の3’末端非翻訳領域 (Depicker et al., 1982; Bevan et al., 1983)。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)	0.36	TiプラスミドpTiT37に由来する、ノパリン型T-DNAの右境界配列を含むDNA断片。右境界配列は、*A. tumefaciens*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 (Depicker et al., 1982; Bevan et al., 1983)。
aad	0.79	トランスポゾンTn7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 (Fling et al., 1985)。
oriV	0.39	広宿主域プラスミドRK2に由来する複製開始領域であり、*A.tumefaciens* ABI株においてベクターに自律増殖能を付与する (Stalker et al., 1981)。
ori322/rop	1.22	*E. coli*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*E. coli*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*rop*領域及び*E. coli*から*A. tumefaciens*への接合伝達に必要な*oriT*配列を含む (Bolivar et al., 1977; Sutcliffe, 1979)。

[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 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 (食品としてのアレルギー性を除く。) 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

a. 目的遺伝子の発現により産生される蛋白質の機能

―チョウ目害虫抵抗性蛋白質―

【改変 Vip3A 蛋白質】

改変Vip3A蛋白質は、チョウ目害虫であるコットンボールワーム (*Helicoverpa zea*) (シンジェンタジャパン株式会社, 2008b)、タバコバッドワーム (*Heliothis virescens*) (シンジェンタジャパン株式会社, 2008b; シンジェンタジャパン株式会社, 2008a) 等に殺虫活性を示すことが確認されている。チョウ目昆虫以外のコウチュウ目、ハチ目、アミメカゲロウ目及びトビムシ目等の昆虫、並びに哺乳類、鳥類、魚類等の非標的生物に対する毒性は認められていない (シンジェンタジャパン株式会社, 2008b)。

なお、COT102由来の改変Vip3A蛋白質は、アミノ酸配列のN末端から284番目のリシンがグルタミンに置換されている。

【改変 Cry1Ac 蛋白質】

改変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タバコバッドワーム (*H. virescens*)、ピンクボールワーム (*Pectinophora gossypiella*) 及びコットンボールワーム別名コーンイヤーワーム (*H. zea*) を中心としたチョウ目昆虫に対して殺虫活性を示す。

改変Cry1Ac蛋白質は、Cry1Ac蛋白質のアミノ酸配列との相同性が非常に高い*cry1Ab*遺伝子の最初の1,398塩基 (アミノ酸配列ではN末端から1-466番目) (Perlak et al., 1990) と*cry1Ac* 遺伝子の1,399~3,534番目 (アミノ酸配列ではN末端から467-1178番目) の塩基 (Adang et al., 1985; Fischhoff and Perlak, 1996) を結合させることにより構築された。改変Cry1Ac蛋白質は、*B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-73から産生される野生型のCry1Ac蛋白質と比較して7つのアミノ酸が異なる。7つのアミノ酸の違いのうち、6つはアミノ酸配列のN末端から466番目までに存在し、これは改変Cry1Ac蛋白質の前半部分の由来であるCry1Ab蛋白質と野生型のCry1Ac蛋白質の間のアミノ酸配列の違いによるものである。また、N末端から766番目のアミノ酸の違いは*B. thuringiensis* のCry1Ac蛋白質の持つ多様性に起因するものであり、遺伝子のクローニングに用いた株がもとも

と有していたアミノ酸変異であると考えられた。結果として本スタック系統で発現する改変Cry1Ac蛋白質の推定アミノ酸配列と、*B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-73株から生産される野生型Cry1Ac蛋白質の推定アミノ酸配列 (Adang et al., 1985) (Genbank accession M11068) との相同性は99.4%である。

Cry1A蛋白質はチョウ目昆虫のみに殺虫活性を持つことが知られている (Crickmore et al., 1998)。また、Cry1Ac蛋白質に分類される蛋白質は95%の相同性の範囲内で多様性を持っており (Crickmore et al., 1998)、*B.thuringiensis*から同定されたCry1Ac蛋白質にいくつかの変異型が存在することも知られている (Von Tersch et al., 1991)。上述したように、本スタック系統で発現する改変Cry1Ac蛋白質と*B. thuringiensis* ssp. *kurstaki* HD-73株が生産する野生型Cry1Ac蛋白質との相同性は99.4%であり、Cry1Ac蛋白質がもともと有する95%以上の相同性の範囲内であるため、改変Cry1Ac蛋白質のチョウ目昆虫に対する殺虫スペクトラムは自然界に存在するCry1Ac蛋白質と同等と考えられる。

【改変 Cry2Ab2 蛋白質】

改変 Cry2Ab2 蛋白質は、改変 Cry1Ac 蛋白質と同様に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タバコバッドワーム (*H. virescens*)、ピンクボールワーム (*P. gossypiella*) 及びコットンボールワーム別名コーンイヤーワーム (*H. zea*) などに対する殺虫活性を有するが、その他にもフォールアーミーワーム (*Spodoptera frugiperda*)、ビートアーミーワーム (*S. exigua*)、ソイビーンルーパー (*Pseudoplusia includens*) などの改変 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。

なお、15985 由来の改変 Cry2Ab2 蛋白質は、アミノ酸配列の N 末端に 1 個のアミノ酸 (アスパラギン酸) が付加されている。

―選抜マーカー蛋白質―

【APH4 蛋白質】

APH4 蛋白質（ハイグロマイシン B リン酸基転移酵素）は、抗生物質ハイグロマイシンに対する耐性を付与する。APH4 蛋白質は基質特異性が高く、アミノグリコシド系抗生物質のハイグロマイシン B、ハイグロマイシン B2、さらに構造が類似したデストマイシン A、デストマイシン B をリン酸化することが知られているが、他のアミノシクリトール系やアミノグリコシド系の抗生物質（ネオ

マイシン、ストレプトマイシン、ゲンタマイシン、カナマイシン、スペクチノマイシン、トブラマイシン、アミカシン等）はリン酸化しない (Rao et al., 1983; U.S. EPA, 2003)。APH4 蛋白質はハイグロマイシンをリン酸化して無毒化するため、この蛋白質を有する細胞はハイグロマイシン耐性を示すことから (Rao et al., 1983)、遺伝子が導入された細胞を選抜するマーカーとして利用した。

【GUSE377K蛋白質】

GUS 蛋白質は、グルクロン酸と種々のアグリコンとの縮合体である β-グルクロニドを加水分解する酵素である (Oshima et al., 1987)。組織化学的検定には、基質として 5-ブロモ-4-クロロ-3-インドリル-β-グルクロニド (5-bromo-4-chloro-3-indolyl-β-glucuronide, X-gluc) が用いられている。この基質は GUS 蛋白質により加水分解を受け二量化し、インジゴチンの青色の色素を生成することから、GUS 蛋白質は植物形質転換の過程で可視定量マーカーとして使用される (Jefferson et al., 1987)。

なお、15985 由来の GUSE377K 蛋白質は、野生型 GUS 蛋白質のアミノ酸配列と比較して、N 末端から 377 番目のアミノ酸がグルタミン酸 (E) からリシン (K) に置換されている。

【NPTⅡ蛋白質】

NPTⅡ蛋白質はアミノグリコシド系抗生物質であるネオマイシン、パロモマイシンやカナマイシンなどをATPによりリン酸化して不活化する。そのため、NPTⅡ蛋白質を発現する細胞はアミノグリコシドに暴露されても、生存することができる。NPTⅡ蛋白質 (ネオマイシンホスホトランスフェラーゼII) は形質転換体の選抜マーカーとしての機能を有する (De Block et al., 1984; Horsch et al., 1984)

b. 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の相同性

改変Vip3A蛋白質、改変Cry1Ac蛋白質、改変Cry2Ab2蛋白質、APH4蛋白質、GUSE377K蛋白質及びNPTII蛋白質が、既知のアレルゲンと類似のアミノ酸配列を共有するかどうかを以下のデータベースを用いて比較したところ、既知アレルゲンと類似の配列は共有していなかった。

FARRP Protein AllergenOnline Database (2012): 改変Vip3A蛋白質及びAPH4蛋白質

AD_2012 (2012) : 改変Cry1Ac蛋白質、改変Cry2Ab2蛋白質、GUSE377K蛋白質及びNPTII蛋白質

③ 宿主の持つ代謝系を変化させる場合はその内容

【改変 Vip3A 蛋白質、改変 Cry1Ac 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質】

改変Vip3A蛋白質、改変Cry1Ac蛋白質及び改変Cry2Ab2蛋白質は、いずれもBt蛋白質である。これらのBt蛋白質が殺虫活性を発揮するメカニズムについては数多くの研究がなされており (Yu et al., 1997; Lee et al., 2003; OECD, 2007)、これまでのところBt蛋白質が他の機能を有するとの報告はない。よって、これらのBt蛋白質が酵素活性を持つとは考えられず、宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

【APH4 蛋白質】

aph4 遺伝子によって発現する APH4 蛋白質は、ハイグロマイシン B と一部の類縁アミノグリコシド系抗生物質をリン酸化する酵素であるが、極めて基質特異性が高く、植物体中に基質となり得る物質が存在することは知られていないことから (USDA, 2005)、植物の代謝系に何らかの影響を及ぼす可能性は極めて低いと考えられる。

【GUSE377K蛋白質】

GUSE377K蛋白質の基質であるグルクロニドは、脊椎動物の生体内ではUDPグルクロン酸がグルクロニル基の供与体となり、UDP グルクロノシルトランスフェラーゼ (UDP glucuronosyltransferase) の作用により合成される。生理学的にはこの反応は解毒の意味を持ち、ステロイド、ビリルビン、アニリン、安息香酸などが肝臓でグルクロニドに合成され尿中に排出される。植物中ではβ-グルクロニドの存在は殆ど知られていないが、これまでに明らかとなっているものを挙げるとサポニン-グルクロニド (Yamaguchi et al., 1988)、クエルセチン-グルクロニド及びフラボノイド-グルクロニド (Merfort and Wendisch, 1988) がある。植物におけるこれらのβ-グルクロニドの生理学的活性は殆ど不明で遺伝子組換え植物で発現する*Escherichia coli*由来のGUS 蛋白質及び腸のGUS 蛋白質の基質に成り得るかということも解っていない。しかし、グルクロニドのような水に

易溶性の二次代謝物は、液胞やアポプラストへの排泄により一次代謝から取り除かれることが知られている (Luckner, 1977)。

さらに15985の構成成分の分析において、対照の組換え母本DP50B (531) 及び非組換え系統DP50との間に意味を持つと考えられる差異が認められなかったことや米国や日本で行われた環境安全性試験で形態、生育特性に差異が認められなかったこと、そして他の食用作物においてGUS様活性が認められていることからもGUSE377K蛋白質の発現が、植物の代謝経路に重要な影響を及ぼすとは考えにくい。

【NPTⅡ蛋白質】

NPTⅡ蛋白質は、ネオマイシン、カナマイシン、パロモマイシン、リボスタマイシン、ブチロシンのような限られたアミノグリコシド系抗生物質のリン酸化反応にのみ関与していることが報告されている (Price et al., 1974; Davies and Smith, 1978; Davies, 1986)。さらに、NPTⅡ蛋白質の構造活性学的な検討の結果、NPTⅡ蛋白質はアミノグリコシド系抗生物質のアミノ配糖体の構造の微細な変化 (例：水酸基を除去する、アミノ基を改変する等) により、アミノグリコシド系抗生物質を基質とすることができなくなることが示されている (Price et al., 1974)。以上のことから、NTPⅡ蛋白質が宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

ｲ　名称及び由来

親系統の作出に用いられたプラスミド・ベクターは以下のとおりである。

COT102:　*E. coli* 由来のベクターpBluescript II SK(+) を基に構築されたpCOT1

15985:　*E. coli* 由来のベクターpBR322 等を基に構築された PV-GHBK11

ﾛ　特性

① ベクターの塩基数及び塩基配列

親系統の作出に用いられたプラスミド・ベクターの塩基数は以下のとおりである。

COT102:　pCOT1; 11,801 bp

15985:　PV-GHBK11; 8,718bp

② 特定の機能を有する塩基配列がある場合は、その機能

COT102及び15985の作出時に選抜マーカーとして利用された抗生物質耐性遺伝子は以下のとおりである。これらの抗生物質耐性遺伝子のうち、COT102 の *aph4* 遺伝子及び15985の育成に用いられた531に由来する *npt Ⅱ*遺伝子のみが宿主に導入されている。

COT102: ストレプトマイシン、スペクチノマイシン耐性を付与する *spec* 遺伝子及びハイグロマイシン耐性を付与する *aph4* 遺伝子

15985： なし（ただし、育成に用いられた 531 の作出時にカナマイシン耐性を付与する *npt Ⅱ*遺伝子及びスペクチノマイシン又はストレプトマイシン耐性を付与する *aadA* 遺伝子が用いられた）

また、15985 の植物形質転換の過程で可視定量マーカーとして、*uidA* 遺伝子が使用されており、宿主に導入されている。

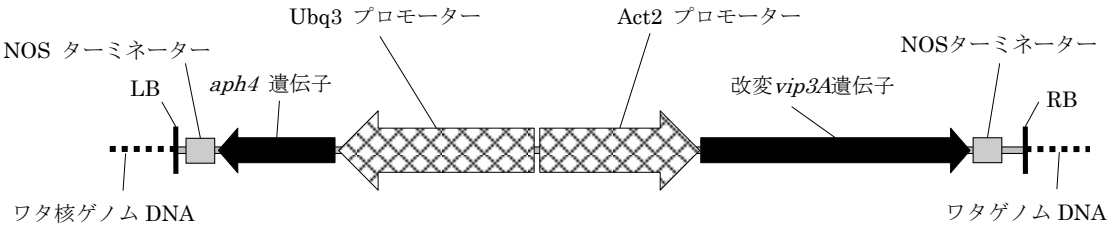
③ ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

pCOT1 及び PV-GHBK11 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

ィ 宿主内に移入された核酸全体の構成

COT102、15985 及び 15985 の育成に用いられた 531 に移入された供与核酸の構成要素の位置を、それぞれ図 1~図 3 (p19~p21) に示した。



5　図 1　COT102 の導入遺伝子地図[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シンジェンタジャパン株式会社に帰属する

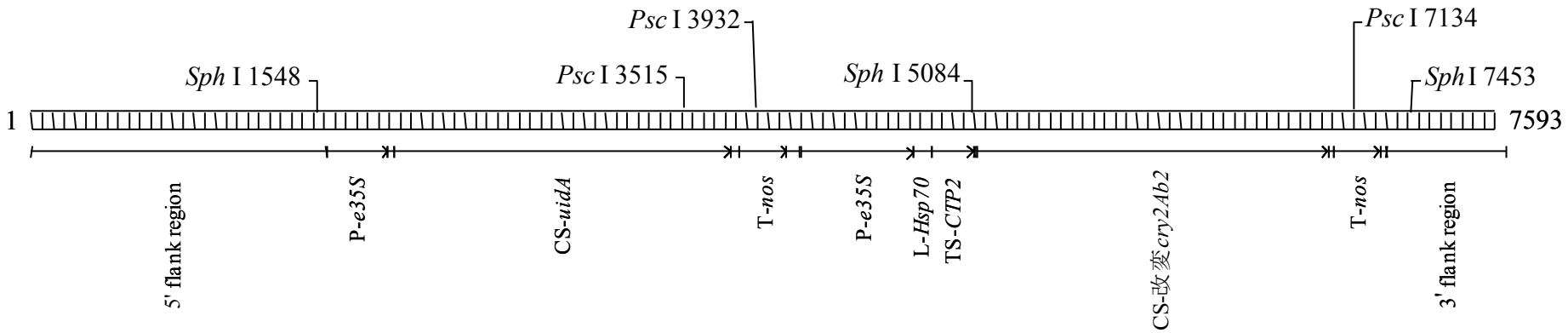


図 2　15985 の導入遺伝子地図[6]

5　図中の矢印は導入遺伝子の5’及び3’末端とそれに続く近傍のワタ内在性配列を示している。
図中の数字はワタ核ゲノム中における位置を示しているため、表 2 (p11) に示すサイズとは数字が一致しない。

[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

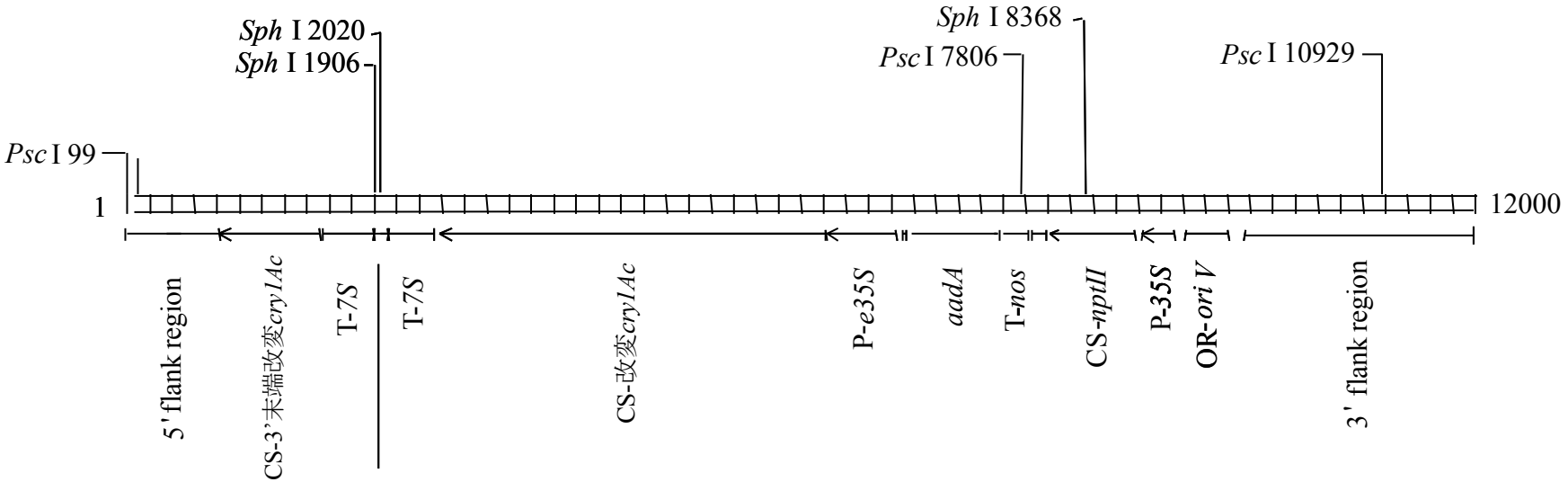


図 3　15985 の育成に用いられた 531 の導入遺伝子地図[7]

5　図中の矢印は導入遺伝子の5'及び3'末端とそれに続く近傍のワタ内在性配列を示している。
図中の数字はワタ核ゲノム中における位置を示しているため、表 3 (p12) に示すサイズとは数字が一致しない。

[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

核酸の移入は、それぞれ以下の方法で行った。
COT102：　アグロバクテリウム法
15985：　　パーティクルガン法

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

形質転換された細胞の選抜は、それぞれ以下を添加した培地を用いて行った。
COT102:　　ハイグロマイシン
また、15985 に関しては、GUSE377K 蛋白質を用いた組織化学的検定により選抜を行った。

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

COT102 については、形質転換細胞の選抜培養培地に抗生物質セフォタキシムを添加することにより形質転換に用いたアグロバクテリウムを除菌し、その後、セフォタキシムを含まない培地で培養し、菌体の残存のないことを確認した。
なお、15985 においては、宿主への核酸の導入はパーティクルガン法を用いた。

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

本スタック系統ワタは、既に承認された COT102 及び 15985 を交雑育種法により育成したスタック系統である。図 4 (p23) に本スタック系統ワタの育成図を示す。なお、以下に COT102、15985 及び本スタック系統ワタのわが国における申請・認可状況を記載した (表 4, p24)。

【社外秘につき非開示】

図 4　本スタック系統ワタの育成例

【社外秘につき非開示】

表 4　COT102、15985 及び本スタック系統ワタのわが国における申請・認可状況

平成 26 年 1 月現在

	食品[8]	飼料[9]	環境[10]
COT102	2012年7月 安全性確認	2012年7月 安全性確認	2012年9月 第一種使用規程承認
15985	2002年10月 安全性確認	2003年3月 安全性確認	2004年12月 第一種使用規程承認
本スタック系統ワタ	[redacted][11] 申請予定	[redacted][11] 届出予定	2013年11月 第一種使用規程申請

[8] 食品衛生法に基づく。
[9] 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。
[10] 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。
[11] 社外秘につき非表示

(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

COT102及び15985の導入遺伝子は核ゲノム上に存在することが確認されている (シンジェンタジャパン株式会社, 2008c; Monsanto Company, 2009)。

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

【COT102】

サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、COT102 のワタゲノム中の1ヵ所に目的遺伝子が1コピー存在することを親系統の評価で確認した (シンジェンタジャパン株式会社, 2008d)。また、親系統の評価において、導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確認された (シンジェンタジャパン株式会社, 2008d)。

【15985】

サザンブロット分析による導入遺伝子の解析の結果、導入遺伝子は15985の核ゲノム中1ヵ所に1コピー組み込まれていることを確認した。続いて改変*cry2Ab2*遺伝子発現カセット及び改変*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*cry2Ab*遺伝子発現カセットは完全な状態で導入されているが、改変*uidA*遺伝子発現カセットは一部が欠失して導入されていることが示唆された (Doherty et al., 2000a)。

この改変*uidA*遺伝子発現カセットの欠失した部位については、導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279 bpと、約24 bp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 (Doherty et al., 2001)。

また、導入遺伝子の伝達の安定性は複数世代のサザンブロット分析によって確認されている (Doherty et al., 2000b)。

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

COT102 及び 15985 はすべて 1 コピーなので該当しない。

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

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。

COT102：　ELISA 法による改変 Vip3A 蛋白質及び APH4 蛋白質の発現確認 (シンジェンタジャパン株式会社, 2008e)。

15985:　ウエスタンブロット分析による改変 Cry2Ab2 蛋白質の発現確認 (日本モンサント株式会社, 2001)。

また、改変 Cry1Ac 蛋白質の安定性は、15985 の育種過程における選抜の際に ELISA 法により確認している。

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

COT102 及び 15985 に移入された核酸の配列には伝達を可能とする機能はないため、ウイルスの感染その他の経路を経由して野生動植物等に伝達されるおそれはない。

(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

COT102 を検出及び識別するための方法として、導入遺伝子及びその周辺のワタ核ゲノムの DNA 配列をプライマーとして用いた COT102 の特異的検出法が開発されている (シンジェンタジャパン株式会社, 2008f)。

15985 を検出及び識別するための方法としては、導入遺伝子及びその周辺のワタ核ゲノムの DNA 配列に特異的なプライマーを用いた定性的 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 (Doherty et al., 2001)。

(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

本スタック系統ワタには各親系統に由来する以下の特性が付与されている。

COT102: 導入遺伝子に由来する改変 Vip3A 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性

15985: 導入遺伝子に由来する改変 Cry1Ac 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質によるチョウ目害虫抵抗性

なお、選抜マーカーとして COT102 由来の APH4 蛋白質、15985 由来の GUSE377K 蛋白質及び 531 由来の NPTⅡ蛋白質が発現する。

1. 害虫抵抗性蛋白質間での機能的な相互作用について

第1-2-(1)-ロ-③ (p16~17) に記載したように、改変Vip3A蛋白質、改変Cry1Ac蛋白質及び改変Cry2Ab2蛋白質はチョウ目害虫に対して殺虫活性を示す。また、これらのBt蛋白質が殺虫活性を発揮するメカニズムについては数多くの研究がなされており (OECD, 2007)、これまでのところBt蛋白質が他の機能を有するとの報告はない。よって、これらのBt蛋白質が酵素活性を持つとは考えられず、宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。

各親系統で発現するこれら害虫抵抗性蛋白質は、標的害虫に対して特異的に作用し、独立して殺虫効果を示すと考えられる。また、本スタック系統ワタに産生されるこれら害虫抵抗性蛋白質の殺虫効果の特異性に関与する領域の構造に変化が生じているとは考え難く、標的害虫に対する効果に変化はないと考えられる。このことから、本スタック系統ワタにおいて、各親系統が有する殺虫効果が相加的に高まることはあり得るが、お互いの作用に影響を及ぼし合うことによる相乗効果や拮抗作用が生じることは考えにくい。

なお、本スタック系統ワタで発現する改変Cry1Ac蛋白質及び改変Cry2Ab2蛋白質は、いずれも親系統である15985由来のものであり、両蛋白質が存在することによる影響は15985の申請時に評価済みである。

2. 選抜マーカー蛋白質間での機能的相互作用について

第1-2-(1)-ロ-③ (p16~17) に記載したように、APH4蛋白質、GUSE377K蛋白質

及びNPTⅡ蛋白質は高い基質特異性を有し、宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。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。したがって、これらの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。

なお、選抜マーカーであるGUSE377K蛋白質及びNPTⅡ蛋白質は、いずれも親系統である15985由来のものであり、両蛋白質が存在することによる影響は15985の申請時に評価済みである。

3. 害虫抵抗性蛋白質及び選抜マーカー蛋白質間での機能的な相互作用について

害虫抵抗性蛋白質及び選抜マーカー蛋白質は、それぞれ異なる作用を持ち、独立して作用していると考えられ、また酵素活性を持たない又は高い基質特異性を有することから、相互に影響を及ぼす可能性は考え難い。

以上のことから、本スタック系統ワタにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が相互作用を示す可能性は低いと考えられた。

したがって、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 COT102 及び15985 を個別に調査した結果 (日本モンサント株式会社, 2001; シンジェンタジャパン株式会社, 2008g) に基づき評価した。

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

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[12] から参照できる。

[12]各親系統の生理学的又は生態学的特性に関する情報は以下のURLから参照できる。
[COT102]
https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=1576&ref_no=1
[15985]
https://ch.biodic.go.jp/bch/OpenDocDownload.do?info_id=95&ref_no=1

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
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

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

―

(6) 国外における使用等に関する情報

COT102、15985 及び本スタック系統ワタの諸外国における申請・認可状況は以下の表 5 (p31) に示したとおりである。

表 5　COT102、15985 及び本スタック系統ワタの諸外国における申請・認可状況

平成 26 年 1 月現在

	安全性審査の種類	COT102	15985	本スタック系統ワタ
FDA	食品・飼料	2005年7月 安全性確認	2002年7月 安全性確認	—*
USDA	環境	2005年7月 安全性確認	2002年11月 安全性確認	—*
Health Canada	食品	2011年4月 安全性確認	2003年6月 安全性確認	—*
CFIA	環境・飼料	2011年3月 安全性確認	2003年6月 安全性確認	[redacted][13]
FSANZ	食品	2005 年 2 月 安全性確認	2002 年 10 月 安全性確認	—*
KFDA/ MFDS	食品	[redacted][13]	2003 年 10 月 安全性確認	[redacted][13]
RDA	環境	[redacted][13]	2004 年 12 月 安全性確認	[redacted][13]
MOA	環境・食品・飼料	[redacted][13]	2006 年 7 月 安全性確認	—*

FDA: 米国食品医薬品庁

USDA: 米国農務省

Health Canada: カナダ保健省

CFIA: カナダ食品検査庁

FSANZ: オーストラリア・ニュージーランド食品基準機関

KFDA: 韓国食品医薬品庁

MFDS: 韓国食品医薬品安全処

RDA: 韓国農村振興庁

MOA: 中国農業部

*FDA、USDA、Health Canada、FSANZ 及び MOA においてスタック系統は規制されていないため、申請は行っていない。

[13] 社外秘につき非表示

第二　項目ごとの生物多様性影響の評価

本スタック系統ワタは COT102 及び 15985 の自殖系統から、交雑育種法により作出した。

第一-2-(6)-① (p27~p28) で述べたとおり、COT102及び15985で発現する害虫抵抗性蛋白質 (改変Vip3A蛋白質、改変Cry1Ac蛋白質及び改変Cry2Ab2蛋白質) は酵素活性を持たない蛋白質であること、標的害虫に対して特異的に作用し、独立して殺虫効果を示すと考えられること、これらの蛋白質の殺虫効果の特異性に関与する領域に変化が生じているとは考え難く、殺虫効果に対する影響を及ぼすことはないと考えられることから、これらの蛋白質が互いの作用に影響を及ぼし合うことによる相乗効果や拮抗作用が生じることは考え難い。また、COT102と15985で発現する選抜マーカー蛋白質 (APH4蛋白質、GUSE377K蛋白質及びNPTⅡ蛋白質) は高い基質特異性を有する。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。したがって、害虫抵抗性蛋白質及び選抜マーカー蛋白質は、それぞれ異なる作用を持ち、独立して作用していると考えられること、及びこれらの蛋白質が酵素活性を持たない又は高い基質特異性を有することから、相互に影響を及ぼす可能性は考え難い。

よって、本スタック系統ワタにおいて、それぞれの親系統由来の発現蛋白質が相互作用を示すことにより、それぞれの性質が変化することはないと判断した。

以上のことから、本スタック系統ワタ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 1~2 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、本スタック系統ワタ並びに COT102 及び 15985 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。

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

(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

(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

第三　生物多様性影響の総合的評価

本スタック系統ワタは、チョウ目害虫抵抗性ワタ COT102 及びチョウ目害虫抵抗性ワタ 15985 から、交雑育種法により作出した。

本スタック系統ワタで発現する害虫抵抗性蛋白質 (改変 Vip3A 蛋白質、改変 Cry1Ac 蛋白質及び改変 Cry2Ab2 蛋白質) は酵素活性を持つとは考えられず、宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。また、これらの蛋白質は、標的害虫に対して特異的に作用し、独立して殺虫効果を示すと考えられる。さらに、これらの蛋白質の殺虫効果の特異性に関与する領域に変化が生じているとは考え難く、殺虫効果に対する影響を及ぼすことはないと考えられることから、これらの蛋白質が互いの作用に影響を及ぼし合うことによる相乗効果や拮抗作用が生じることは考え難い。また、選抜マーカー蛋白質 (APH4 蛋白質、GUSE377K 蛋白質及び NPTⅡ蛋白質) は、高い基質特異性を有しているため、宿主の代謝系を変化させることはないと考えられる。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。

さらに、害虫抵抗性蛋白質及び選抜マーカー蛋白質は、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可能性は考え難い。

したがって、これらの蛋白質が相互作用を示すことはないと考えられ、本スタック系統ワタについて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。このことから、本スタック系統ワタの生物多様性影響は、各親系統の生物多様性影響評価に基づいて評価できると判断した。

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結論されていることから、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、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

Adang, M.J., M.J. Staver, T.A. Rocheleau, J. Leighton, R.F. Barker and D.V. Thompson. 1985. Characterized full-length and truncated plasmid clones of the crystal protein of *Bacillus thuringiensis* subsp. *kurstaki* HD-73 and their toxicity to *Manduca sexta*. Gene 36: 289-300.

An, Y.-Q., J.M. McDowell, S. Huang, E.C. McKinney, S. Chambliss and R.B. Meagher. 1996. Strong, constitutive expression of the *Arabidopsis ACT2/ACT8* actin subclass in vegetative tissues. The Plant Journal 10: 107-121.

Beck, E., G. Ludwig, E.A. Auerswald, B. Reiss and H. Schaller. 1982. Nucleotide sequence and exact localization of the neomycin phosphotransferase gene from transposon Tn*5*. Gene 19: 327-336.

Bevan, M., W.M. Barnes and M.-D. Chilton. 1983. Structure and transcription of the nopaline synthase gene region of T- DNA. Nucleic Acids Research 11: 369-385.

Bolivar, F., R.L. Rodriguez, P.J. Greene, M.C. Betlach, H.L. Heyneker, H.W. Boyer, J.H. Crosa and S. Falkow. 1977. Construction and characterization of new cloning vehicles. II. A multipurpose cloning system. Gene 2: 95-113.

Brubaker, C.L., F.M. Bourland and J.F. Wendel. 1999. The origin and domestication of cotton. Pages 3-31 in Cotton: Origin, History, Technology, and Production. C.W. Smith and J.T. Cothren (eds.). John Wiley & Sons, Inc., New York, New York.

Crickmore, N., D.R. Zeigler, J. Feitelson, E. Schnepf, J. Van Rie, D. Lereclus, J. Baum and D.H. Dean. 1998. Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins. Microbiology and Molecular Biology Reviews 62: 807-813.

Davies, J. 1986. Aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and their modifying enzymes. Pages 474-489 in Antibiotics in Laboratory Medicine. V. Lorian (ed.). Williams and Wilkins, Baltimore, Maryland.

Davies, J. and D.I. Smith. 1978. Plasmid-determined resistance to antimicrobial agents. Annual Review of Microbiology 32: 469-518.

De Block, M., L. Herrera-Estrella, M. Van Montagu, J. Schell and P. Zambryski. 1984. Expression of foreign genes in regenerated plants and in their progeny. The EMBO Journal 3: 1681-1689.

Depicker, A., S. Stachel, P. Dhaese, P. Zambryski and H.M. Goodman. 1982. Nopaline synthase: Transcript mapping and DNA sequence. Journal of Molecular and Applied Genetics 1: 561-573.

Doherty, S.C., K.A. Hamilton, R.P. Lirette and I. Borovkova. 2000a. Amended report for molecular characterization of cotton event 15985. Monsanto Technical Report MSL-16620. St. Louis, Missouri. (社内報告書).

Doherty, S.C., R.P. Lirette and K.A. Hamilton. 2000b. Molecular analysis of the stability of cotton event 15985. Monsanto Technical Report MSL-16749. St. Louis, Missouri. (社内報告書).

Doherty, S.C., D.W. Mittanck and R.P. Lirette. 2001. Confirmation of the genomic DNA sequences flanking the 5' and 3' ends of the *cry2Ab2* insert in Bollgard II cotton event 15985. Monsanto Technical Report MSL-17099. St. Louis, Missouri. (社内報告書).

Estruch, J.J., G.W. Warren, M.A. Mullins, G.J. Nye, J.A. Craig and M.G. Koziel. 1996. Vip3A, a novel *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein with a wide spectrum of activities against lepidopteran insects. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 93: 5389-5394.

Fischhoff, D.A. and F.J. Perlak. 1996. Synthetic plant genes. Patent 5,500,365, U.S. Patent Office, Washington, D.C.

Fling, M.E., J. Kopf and C. Richards. 1985. Nucleotide sequence of the transposon Tn7 gene encoding an aminoglycoside-modifying enzyme, 3"(9)-O nucleotidyltransferase. Nucleic Acids Reseach 13: 7095-7106.

Fraley, R.T., S.G. Rogers, R.B. Horsch, P.R. Sanders, J.S. Flick, S.P. Adams, M.L. Bittner, L.A. Brand, C.L. Fink, J.S. Fry, G.R. Galluppi, S.B. Goldberg, N.L. Hoffman and S.C. Woo. 1983. Expression of bacterial genes in plant cells. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 80: 4803-4807.

Fryxell, P.A. 1984. Taxonomy and germplasm resources. Pages 27-57 in Cotton. R.J. Kohel and C.F. Lewis (eds.). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.

Gardner, R.C., A.J. Howarth, P. Hahn, M. Brown-Luedi, R.J. Shepherd and J. Messing. 1981. The complete nucleotide sequence of an infectious clone of cauliflower mosaic virus by M13mp7 shotgun sequencing. Nucleic Acids Reseach 9: 2871-2888.

Harris, W.D. 1981. Cottonseed. Pages 375-391 in Encyclopedia of Chemical Processing and Design. Volume 12. J.J. McKetta and W.A. Cunningham (eds.). Marcel Dekker, Inc., New York, New York.

Heeb, S., Y. Itoh, T. Nishijyo, U. Schnider, C. Keel, J. Wade, U. Walsh, F. O'Gara and D. Haas. 2000. Small, stable shuttle vectors based on the minimal pVS1 replicon for use in gram-negative, plant-associated bacteria. Mol Plant Microbe Interact 13: 232-237.

Herrmann, K.M. 1995. The shikimate pathway: Early steps in the biosynthesis of aromatic compounds. The Plant Cell 7: 907-919.

Horsch, R.B., R.T. Fraley, S.G. Rogers, P.R. Sanders, A. Lloyd and N. Hoffmann. 1984. Inheritance of functional foreign genes in plants. Science 223: 496-498.

Itoh, T. and J. Tomizawa. 1978. Initiation of replication of plasmid ColE1 DNA by RNA polymerase, ribonuclease H and DNA polymerase I. Cold Spring Harbor Symposium on Quantitative Biology 43: 409-418.

Itoh, Y., J.M. Watson, D. Haas and T. Leisinger. 1984. Genetic and molecular characterization of the *Pseudomonas* plasmid pVS1. Plasmid 11: 206-220.

Jefferson, R.A., S.M. Burgess and D. Hirsh. 1986. β–Glucuronidase from *Escherichia coli* as a gene-fusion marker. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 83: 8447-8451.

Jefferson, R.A., T.A. Kavanagh and M.W. Bevan. 1987. GUS fusions: β-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. The Embo Journal 6: 3901-3907.

Jenkins, J.N. 2003. Cotton. Pages 61-70 in Traditional Crop Breeding Practices: An Historical Review to Serve as a Baseline for Assessing the Role of Modern Biotechnology. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

Kakani, A., S. Saha, V.T. Sapra, A. Zipf and D.M. Stelly. 1999. Genetic mechanism and chromosomal location of pollen-specific gene(s) in *Gossypium*. Crop Science 39: 668-673.

Kay, R., A. Chan, M. Daly and J. McPherson. 1987. Duplication of CaMV 35*S* promoter sequences creates a strong enhancer for plant genes. Science 236: 1299-1302.

Kerkhoven, G.J. and H.J.W. Mutsaers. 2003. *Gossypium* L. Pages 139-150 in Plant Resources of South-East Asia No 17: Fibre Plants. M. Brink and R.P. Escobin (eds.). Backhuys Publishers, Leiden, Netherlands.

Klee, H.J., Y.M. Muskopf and C.S. Gasser. 1987. Cloning of an *Arabidopsis thaliana* gene encoding 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase: Sequence analysis and manipulation to obtain glyphosate-tolerant plants. Molecular and General Genetics 210: 437-442.

Lee, J.A. 1984. Cotton as a world crop. Pages 1-25 in Cotton. R.J. Kohel and C.F. Lewis (eds.). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.

Lee, M.K., F.S. Walters, H. Hart, N. Palekar and J.-S. Chen. 2003. The mode of action of the *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A differs from that of Cry1Ab δ -endotoxin. Applied and Environmental Microbiology 69: 4648-4657.

Llewellyn, D. and G. Fitt. 1996. Pollen dispersal from two field trials of transgenic cotton in the Namoi Valley, Australia. Molecular Breeding 2: 157-166.

Luckner, M. 1977. Secondary metabolites in the life of plants and animals. Pages 2-12 in Secondary Metabolism in Plants and Animals. Chapman and Hall, London, United Kingdom.

McGregor, S.E. 1976. Insect pollination of cultivated crop plants. Agricultural Handbook No. 496. U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, Washington, D.C.

Merfort, I. and D. Wendisch. 1988. Flavonoid glucuronides from the flowers of *Arnica montana*. Planta Medica 54: 247-250.

Monsanto Company. 2009. Segregation of Bollgard II cotton event MON 15985. Monsanto Technical Report RAR-09-202. St. Louis, Missouri. (社内報告書).

Murray, E.E., J. Lotzer and M. Eberle. 1989. Codon usage in plant genes. Nucleic Acids Res 17: 477-498.

NCBI. 2006. Entrez Nucleotide Database, including GenBank. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Nucleotide.

NCPA. 1993. Cottonseed oil. L.A. Jones and C.C. King (eds.). National Cottonseed Products Association, Inc. and The Cotton Foundation, Memphis, Tennessee.

Niles, G.A. and C.V. Feaster. 1984. Breeding. Pages 201-231 in Cotton. R.J. Kohel and C.F. Lewis (eds.). American Society of Agronomy, Inc., Crop Science Society of America, Inc., Soil Science Society of America, Inc., Madison, Wisconsin.

Norris, S.R., S.E. Meyer and J. Callis. 1993. The intron of *Arabidopsis thaliana* polyubiquitin genes is conserved in location and is a quantitative determinant of chimeric gene expression. Plant Mol Biol 21: 895-906.

Odell, J.T., F. Nagy and N.-H. Chua. 1985. Identification of DNA sequences required for activity of the cauliflower mosaic virus 35S promoter. Nature 313: 810-812.

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. ENV/JM/MONO(2004)16. Series on the Safety of Novel Foods and Feeds No. 11. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

OECD. 2007. Consensus document on safety information on transgenic plants expressing *Bacillus thuringiensis*-derived insect control proteins. ENV/JM/MONO(2007)14. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 42. Organisation of Economic Co-operation and Development, Paris, France.

OECD. 2008. Consensus document on the biology of cotton (*Gossypium* spp.). ENV/JM/MONO(2008)33. Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No.45. Organisation for Economic Co-operation and Development, Paris, France.

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

Oshima, A., J.W. Kyle, R.D. Miller, J.W. Hoffmann, P.P. Powell, J.H. Grubb, W.S. Sly, M. Tropak, K.S. Guise and R.A. Gravel. 1987. Cloning, sequencing, and expression of cDNA for human β-glucuronidase. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America 84: 685-689.

Perlak, F.J., R.W. Deaton, T.A. Armstrong, R.L. Fuchs, S.R. Sims, J.T. Greenplate and D.A. Fischhoff. 1990. Insect resistant cotton plants. Bio/Technology 8: 939-943.

Price, K.E., J.C. Godfrey and H. Kawaguchi. 1974. Effect of structural modifications on the biological properties of aminoglycoside antibiotics containing 2-deoxystreptamine. Advances in Applied Microbiology 18: 191-307.

Rao, R.N., N.E. Allen, J.N. Hobbs, W.E. Alborn, H.A. Kirst and J.W. Paschal. 1983. Genetic and enzymatic basis of hygromycin B resistance in *Escherichia coli*. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 24: 689-695.

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

Sanders, P.R., J.A. Winter, A.R. Barnason, S.G. Rogers and R.T. Fraley. 1987. Comparison of cauliflower mosaic virus 35S and nopaline synthase promoters in transgenic plants. Nucleic Acids Research 15: 1543-1558.

Schuler, M.A., E.S. Schmitt and R.N. Beachy. 1982. Closely related families of genes code for the α and α' subunits of the soybean 7S storage protein complex. Nucleic Acids Research 10: 8225-8244.

Stalker, D.M., C.M. Thomas and D.R. Helinski. 1981. Nucleotide sequence of the region of the origin of replication of the broad host range plasmid RK2. Molecular and General Genetics 181: 8-12.

Sutcliffe, J.G. 1979. Complete nucleotide sequence of the *Escherichia coli* plasmid pBR322. Cold Spring Harbor Symposia on Quantitative Biology 43: 77-90.

U.S. EPA. 2003. *Bacillus thuringiensis* Cry3Bb1; Notice of filing a pesticide petition to establish a tolerance exemption for a certain pesticide chemical in or on food. Federal Register 68: 60371-60375.

USDA-FAS. 2013. Cotton area, yield, and production. U.S. Department of Agriculture, Foreign Agricultural Service, Washington, D.C. http://www.fas.usda.gov/psdonline/psdreport.aspx?hidReportRetrievalName=BVS&hidReportRetrievalID=851&hidReportRetrievalTemplateID=1 [Accessed October 28, 2013].

USDA. 2005. Syngenta petition 03-155-01p for determination of nonregulated status for lepidopteran resistant cotton event COT102. USDA/APHIS Environmental Assessment and Finding of No Significant Impact. http://www.aphis.usda.gov/brs/aphisdocs/03_15501p_ea.pdf.

Von Tersch, M.A., H.L. Robbins, C.S. Jany and T.B. Johnson. 1991. Insecticidal toxins from *Bacillus thuringiensis* subsp. *kenyae*: Gene cloning and characterization and comparison with *B. thuringiensis* subsp. *kurstaki* CryIA(c) toxins. Applied and Environmental Microbiology 57: 349-358.

Waldron, C.A. 1997. Selectable marker for development of vectors and transformation systems in plants. United States Patent No. 5,668,298.

Wang, K., L. Herrera-Estrella, M. Van Montagu and P. Zambryski. 1984. Right 25 bp terminus sequence of the nopaline T-DNA is essential for and determines direction of DNA transfer from *Agrobacterium* to the plant genome. Cell 38: 455-462.

Widner, W.R. and H.R. Whiteley. 1990. Location of the dipteran specificity region in a lepidopteran-dipteran crystal protein from *Bacillus thuringiensis*. Journal of Bacteriology 172: 2826-2832.

Yamaguchi, H., H. Matsuura, R. Kasai, O. Tanaka, M. Satake, H. Kohda, H. Izumi, M. Nuno, S. Katsuki, S. Isoda, J. Shoji and K. Goto. 1988. Analysis of saponins of wild *Panax ginseng*. Chemical and Pharmaceutical Bulletin 36: 4177-4181.

Yu, C.-G., M.A. Mullins, G.W. Warren, M.G. Koziel and J.J. Estruch. 1997. The *Bacillus thuringiensis* vegetative insecticidal protein Vip3A lyses midgut epithelium cells of susceptible insects. Applied and Environmental Microbiology 63: 532-536.

Zambryski, P., A. Depicker, K. Kruger and H.M. Goodman. 1982. Tumor induction by *Agrobacterium tumefaciens*: Analysis of the boundaries of T-DNA. Journal of Molecular and Applied Genetics 1: 361-370.

財務省　2013　財務省貿易統計　　http://www.customs.go.jp/toukei/info/index.htm [Accessed April 10]

シンジェンタジャパン株式会社　2008a　本組換え体を用いた標的昆虫に対する抵抗性試験　(社内報告書)

シンジェンタジャパン株式会社　2008b　Vip3A蛋白質の殺虫スペクトラム (社内報告書)

シンジェンタジャパン株式会社　2008c　COT102: 分離比による挿入遺伝子の安定性評価　(社内報告書)

シンジェンタジャパン株式会社　2008d　COT102: 挿入遺伝子のコピー数及び複数世代における安定性　(社内報告書)

シンジェンタジャパン株式会社　2008e　COT102 : ELISAによる蛋白質の発現量測定　(社内報告書)

シンジェンタジャパン株式会社. 2008f　COT102 : 系統特異的検出方法　(社内報告書)

シンジェンタジャパン株式会社 2008g　チョウ目害虫抵抗性ワタ(改変*vip3A*, *Gossypium hirsutum* L.) (COT102, OECD UI: SYN-IR102-7) 隔離ほ場試験結果報告書　（社内報告書)

生化学辞典 1990　生化学辞典 第2版 今堀和友、山川民夫 (編) 東京化学同人 東京 p. 497

日本モンサント株式会社　2001　様式 1-5 組換え植物利用計画 (開放系利用) 鱗翅目害虫抵抗性ワタ15985系統の輸入 (加工用及び飼料用としての利用)　(社内報告書)

原田重雄　1981　II 繊維料 ワタ 工芸作物学　栗原浩 (編)　農山漁村文化協会 東京　pp. 26-42

平野寿助　1987　15 工芸作物 繊維料作物 ワタ　農学大事典 第2次増訂改版 農学大事典編集委員会 (編)　養賢堂 東京 pp. 709-71

緊 急 措 置 計 画 書

平成25年11月28日

氏名　日本モンサント株式会社
代表取締役社長　山根　精一郎
住所　東京都中央区銀座四丁目10番10号

第一種使用規程の承認を申請しているチョウ目害虫抵抗性ワタ (改変*vip3A*, 改変*cry1Ac*, 改変*cry2Ab2*, *Gossypium hirsutum* L.) (COT102 × 15985, OECD UI: SYN-IR102-7 × 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おそれがあると、科学的に判断された場合、以下の措置を執ることとする。

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

平成25年11月現在

社内委員	
*	日本モンサント株式会社　代表取締役社長 東京都中央区銀座四丁目10番10号 （電話番号　03-6226-6080）
	日本モンサント株式会社　農薬規制・環境部　部長
	日本モンサント株式会社　バイオ規制・環境部　部長
	日本モンサント株式会社　広報部　部長
	日本モンサント株式会社　広報部

*： 管理責任者

2　第一種使用等の状況の把握の方法

弊社は、モンサント・カンパニーと連絡をとり、種子、穀物生産、収穫物の状況に関し、種子生産、種子供給、販売、穀物取扱業者など使用の可能性がある関係各者から可能な限り情報収集を行う。

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

弊社は、モンサント・カンパニーと連絡をとり、生産農家や穀物取扱業者などの取引ルートへ本スタック系統ワタの適切な管理、取扱いなどの生物多様性影響のリスクとその危機管理計画について情報提供を行う。

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

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、弊社は、モンサント・カンパニーの協力のもと、本スタック系統ワタが環境中に放出されないように必要かつ適切な措置をとるとともに、環境中に放出された本スタック系統ワタに対し、科学的根拠に基づきリスクの程度に応じて、速やかに機動的な対応を行う。

5　農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制

弊社は、信憑性のある証拠及びデータにより生物多様性影響が生ずる可能性が示唆された場合、そのことを直ちに農林水産省消費・安全局農産安全管理課及び環境省自然環境局野生生物課に報告する。

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「チョウ目害虫抵抗性ワタ (改変*vip3A*, *Gossypium hirsutum* L.) (COT102, OECD UI: SYN-IR102-7)」
(総合検討会における検討日：2008年8月21日)

資料 2：生物多様性影響評価検討会での検討の結果「チョウ目害虫抵抗性ワタ (*cry1Ac, cry2Ab, Gossypium hirsutum* L.) (15985, OECD UI: MON-15985-7)」
(総合検討会における検討日：2004年7月30日)