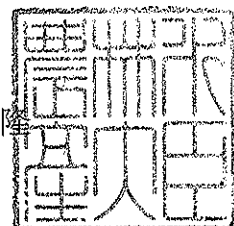




21消安第8809号  
平成21年11月2日

農業資材審議会長  
土肥一史 殿

農林水産大臣 赤松 広隆



組換えDNA技術応用飼料の安全性に関する確認に係る諮問について

下記の飼料について、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（平成14年11月26日農林水産省告示第1780号）第3条第2項の規定に基づき、貴審議会の意見を求める。

記

チョウ目害虫抵抗性ピマワタ15985系統  
除草剤グリホサート耐性ピマワタMON88913系

## 組換えDNA技術応用飼料の安全性確認

平成21年11月2日付け21消安第8809号をもって諮問された組換えDNA技術応用飼料の安全性確認について「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を定める件」（平成14年11月26日付け農林水産省告示第1780号。以下「確認手続」という。）に基づき確認を行った。その結果は次のとおりである。

### 1 除草剤グリホサート耐性ピマワタMON88913系統

#### (1) 申請品目

飼料名 : 除草剤グリホサート耐性ピマワタMON88913系統  
性質 : 除草剤グリホサート耐性  
申請者 : 日本モンサント株式会社  
開発者 : Monsanto Company

#### (2) 経過

平成21年11月2日 諮問  
平成22年4月27日 第37回組換え体委員会

#### (3) 結果

確認手続第3条第1項に基づく確認を行って差し支えないと判断される。

参考：飼料に係る食品健康影響評価（畜産物の安全性）

平成21年11月2日 農林水産省より、食品安全委員会に諮問

平成22年8月26日 食品安全委員会より、食品健康影響評価は必要なく、当該飼料を家畜が摂取することに係る畜産物の安全性上の問題はない旨の答申

1 「除草剤グリホサート耐性ピマワタ MON88913 系統」に係る安全性確認(案)

2

### 3 I はじめに

4 除草剤グリホサート耐性ピマワタ MON88913 系統（以下「MON88913 (*G.*  
5 *barbadense*) 系統」という。)について、「組換え DNA 技術応用飼料及び飼料添加物の  
6 安全性に関する確認の手続」(平成 14 年 11 月 26 日農林水産省告示第 1780 号)に基づ  
7 き審議を行った。

8

### 9 II 確認対象飼料の概要

10 飼料名：除草剤グリホサート耐性ピマワタ MON88913 系統

11 性 質：除草剤グリホサート耐性

12 申請者：日本モンサント株式会社

13 開発者：Monsanto Company

14

15 MON88913(*G. barbadense*)系統は、*Gossypium hirsutum* L.を宿主として既に平  
16 成 18 年 2 月 2 日に飼料としての安全性確認がなされている除草剤グリホサート耐性ワ  
17 タ(改変 *cp4 epsps*, *G. hirsutum* L. (MON88913)) (以下、「MON88913(*G.*  
18 *hirsutum*) 系統」という)に導入されている *Agrobacterium* sp. CP4 株由来の改変 5-エ  
19 ノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素遺伝子(改変 *cp4 epsps* 遺伝子)を、同じワ  
20 タ属の複 2 倍体であるが、別の種に分類される *G. barbadense* へ、戻し交配育種によ  
21 り導入し作出した。

22 除草剤グリホサートは、芳香族アミノ酸生合成経路(シキミ酸合成経路)中の酵素  
23 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)  
24 (E.C.2.5.1.19)と特異的に結合してその活性を阻害、芳香族アミノ酸が不足した植物  
25 体は枯死する。MON88913(*G. barbadense*)系統は、改変 *cp4 epsps* 遺伝子により、改  
26 変 5-エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸合成酵素(改変 CP4 EPSPS たん白質)を発  
27 現する。グリホサートは改変 CP4 EPSPS たん白質と結合することができないため、シ  
28 キミ酸合成経路が阻害されず、植物体は正常に芳香族アミノ酸を合成し、成長・生育す  
29 ることができる。

30 なお、MON88913(*G. barbadense*)系統と既存のピマワタとの相違は、MON88913  
31 (*G. barbadense*)系統が改変 CP4 EPSPS たん白質の発現によりグリホサートの影響を  
32 受けない点のみであり、有害生理活性物質の一つであるゴシポールを含め、成分の種類  
33 や濃度は変化していない。

34 一般に、ピマワタは綿実及び綿実油かすが家畜等の飼料として使用されている。

35

### 36 III 審議内容

37 1 生産物の既存のものとの同等性に関する事項

38 (1) 遺伝的素材に関する事項

39 MON88913(*G. barbadense*)系統の宿主植物は *Gossypium barbadense* L.であ  
40 る。MON88913(*G. barbadense*)系統は、戻し交配育種法を用いて、MON88913

41 (*G. hirsutum*) 系統中の導入遺伝子以外の遺伝的背景を *G. hirsutum* から *G.*  
42 *barbadense* に置き換えることにより作出されている。このことから、MON88913  
43 (*G. barbadense*) 系統中に導入されている改変 *cp4 epsps* 遺伝子は、2006 年 2 月 2  
44 日に飼料としての安全性確認がなされている MON88913 (*G. hirsutum*) 系統に  
45 導入されている改変 *cp4 epsps* 遺伝子と同一である(参考文献 1)。なお、改変 *cp4*  
46 *epsps* 遺伝子は、土壤中及び植物の根圏に存在する微生物類の一つである  
47 *Agrobacterium sp.* CP4 株に由来する。

48  
49 (2) 家畜等の安全な飼養経験に関する事項

50 MON88913(*G. barbadense*) 系統の宿主は *G. barbadense* 種に属する商業栽培  
51 ピマワタ品種である。主に綿実の搾油かすが牛、豚、鶏等の配合飼料の原料とし  
52 て用いられる他、綿実そのものも、乳牛用の飼料原料として利用される。

53  
54 (3) 飼料の構成成分等に関する事項

55 宿主植物であるピマワタ及び MON88913(*G. barbadense*) 系統における、主要  
56 構成成分(たん白質、脂質、食物繊維、灰分、炭水化物)及び毒性物質・抗栄養  
57 素(ゴシポール及びシクロプロペノイド脂肪酸)全 52 成分の比較を行った結果、  
58 安全性に影響を及ぼす差異は認められなかった(参考文献 2)。

59  
60 (4) 既存種と新品種との使用方法の相違に関する事項

61 MON88913(*G. barbadense*) 系統と宿主との相違は、MON88913(*G.*  
62 *barbadense*) 系統が改変 CP4 EPSPS たん白質の発現によりグリホサートの影響  
63 を受けずに生育できる点のみである。この点を除くと MON88913(*G.*  
64 *barbadense*) 系統は宿主と同じであり、既存種と比較して①収穫時期(成熟程度)  
65 と貯蔵方法、②摂取(可食)部位、③摂取量、④調整及び加工方法についても全く  
66 変わりはない。

67  
68 以上(1)～(4)により、MON88913(*G. barbadense*) 系統の飼料としての安全  
69 性を評価するために、既存のピマワタを比較対照として用いる方法が適用できると判  
70 断された。

71  
72 2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

73 MON88913(*G. barbadense*) 系統中には、MON88913 (*G. hirsutum*) 系統から戻  
74 し交配育種法を用いて移入された 2 つの改変 *cp4 epsps* 遺伝子により、除草剤グリホ  
75 サートに対する耐性が高まる。その結果、収穫時に問題となる雑草に対して、グリホ  
76 サート散布が可能になる。このように、収穫期の雑草防除が可能となることにより、  
77 ワタ農家が機械で大規模収穫する際に混入する雑草に起因する綿毛(リント)の汚色を  
78 防止し、より品質の高い綿毛を収穫することが可能となる。

79  
80 3 宿主に関する事項

81 (1) 学名、品種、系統名等の分類学上の位置付けに関する事項

82 宿主はアオイ科 (Malvaceae) ワタ属 (*Gossypium*) に属する複 2 倍体栽培ワタ (*G.*  
83 *barbadense*) である。 *G. barbadense* は *G. hirsutum* と共通の染色体構造を持つ  
84 複 2 倍体 (tetraploid:  $2n = 4x = 52$ ) であり、遺伝的障壁はなく容易に交配できる  
85 ことが知られている (参考文献 3、4)。

86  
87 (2) 遺伝的先祖に関する事項

88 ワタ属のうち栽培種は 4 種 (*G. herbaceum*、*G. arboreum*、*G. hirsutum*、*G.*  
89 *barbadense*) に分けられる。

90 南米の北西部が原産地と考えられている *G. barbadense* は、超長繊維 (Extra  
91 Long Staple: ELS) の特性を有し、高級衣料素材として使用されている。一方、飼  
92 料としての安全性確認が済んでいる MON88913 (*G. hirsutum*) 系統の宿主であ  
93 る *G. hirsutum* は、陸地ワタ (Upland cotton) と呼ばれ、中繊維の特性を有し、  
94 全ワタ生産量の 90% を占め、衣料用素材として使用されている。両者は品種改良  
95 を目的に頻繁に交配が行われてきた。遺伝的類似性も非常に高いと考えられてい  
96 る (参考文献 5-7)。

97  
98 (3) 有害生理活性物質の生産に関する事項

99 ピマワタには、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、この  
100 生理活性物質は綿実を含むあらゆる植物組織の分泌器官に存在する (参考文献 8)。  
101 ゴシポールは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  
102 を起こす毒性物質として知られている。また、ゴシポール含量は、一般的に *G.*  
103 *barbadense* の方が *G. hirsutum* より高いことが知られているが、搾油工程の加  
104 熱処理により無毒化されることが知られている (参考文献 9)。綿実油は圧搾法、  
105 抽出法及び圧抽法により搾油されており、全ての方法において油腺を破壊させる  
106 ための熱と圧力が用いられている (参考文献 10、11)。搾油工程中の熱、圧力及  
107 び加湿により油腺が破壊されると、ゴシポールはたん白質やその他の物質と結合  
108 し、毒性の少ない結合型となる (参考文献 12)。遊離型ゴシポールは単胃動物に  
109 にとって有害であることが知られているが、結合型ゴシポールは動物が利用できな  
110 い不活型のゴシポールであり、毒性は低いと考えられている。

111 また、搾油工程における大量のアルカリによる脱酸あるいは温度条件によつて  
112 は、シクロプロペノイド脂肪酸 (マルバリン酸、ステルクリン酸及びジヒドロステ  
113 ルクリン酸) が生じることがある。シクロプロペノイド脂肪酸は、生殖・繁殖力に  
114 有害な影響を及ぼすとされているが、搾油工程における脱臭処理によって著しく  
115 減少するため、問題にはならない (参考文献 13)。

116  
117 (4) 寄生性及び定着性に関する事項

118 ピマワタは種子植物であり、それを食する家畜等や他の生物に寄生または定着  
119 することはない。

120 (5) ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項

121 ピマワタに感染する病原体は知られているが、家畜等に対する病原性はもたな  
122 いことが知られている。

123  
124  
125  
126  
127  
128  
129  
130  
131  
132  
133  
134  
135  
136  
137  
138  
139  
140  
141  
142  
143  
144  
145  
146  
147  
148  
149  
150  
151  
152  
153  
154  
155  
156  
157  
158  
159  
160  
161  
162

(6) 自然環境を反映する実験条件の下での生存及び増殖能力に関する事項

ピマワタは栽培作物であり、雑草化する能力は極めて低く、MON88913 (*G. barbadense*) 系統もその特性は同様であると考えられる。

(7) 有性生殖周期及び交雑性に関する事項

現在栽培されているピマワタは、雄ずいと雌ずいの生殖器官を 1 つの花に有する両性植物である。ピマワタは主に自家受粉によって種子が作られる。遺伝的には他のワタとの他家受粉は可能であるが、他の植物種とは交雑しない。花粉は重い  
ため風媒は起こりにくく、ハチによる虫媒はわずかに起こる。我が国におけるワタの栽培はごく僅かであり、観賞用に栽培されているに過ぎない。

(8) 飼料に利用された歴史に関する事項

現在、ピマワタを含め、ワタは繊維原料として実綿(綿毛のついた種子)から綿毛が、綿毛を分離したあとの種子(綿実)から食用油、油かす及びリントが生産されている。一般に綿実重量比で、油が16%、油かすが45%、リントが9%となっており、残りは種子殻及び生産時に生じるロス分である(参考文献 14)。ワタは飼料分野では主として油かすの形態で利用されている。綿実油かすは、乳牛、養豚、肉牛用として配合飼料の原料として用いられている。また綿実そのものも、乳牛に給与されている(参考文献 15)。

2008 年における綿実油かすの輸入量は約 5,086 トンであった(参考文献 16)。2007 年度には、約 6,061 トンの綿実油かすが配合飼料の原料として用いられている。その内訳は、乳牛用として 98.7 %、豚用として 0.5%、肉牛用として 0.7%となっている(参考文献 17)。

(9) 飼料の安全な利用に関する事項

上記(3)のとおり、ピマワタにはゴシポール等の有害生理活性物質が存在することが知られているが、上記(8)のとおり、ピマワタは利用形態ごとに飼料として安全に利用されている。

(10) 生存及び増殖能力を制限する条件に関する事項

ピマワタは種子繁殖する植物であり、その生育には高温、高照度、低土壌水分条件を好む。生存・増殖能力は、栽培される地域の気候条件あるいは生育期の気象条件に左右されている。また、種子の自然条件下での寿命は短く、土壌温度が15~16°Cに達する前に播種されると、土壌中でほとんど腐敗してしまう(参考文献 18)。ピマワタは耕転や感受性を示す除草剤の使用により防除される。よって雑草化する可能性は無いものと考えられる。

(11) 近縁種の有害生理活性物質の生産に関する事項



	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。目的遺伝子の生殖器官及び栄養器官での恒常的発現に寄与する。
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)。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。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 CP4 EPSPS たん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。
改変 <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。植物中での発現量を高めるため、CP4 EPSPS たん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変更を加えたもの。
T-E9	エンドウの ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9 遺伝子の 3' 非翻訳領域。mRNA の転写を集結させ、ポリアデニル化を誘導する。
P-35S/ACT8 により制御される <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 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。目的遺伝子の栄養器官での恒常的発現に寄与する。
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。
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。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 CP4 EPSPS たん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。
改変 <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。植物中での発現量を高めるため、CP4 EPSPS たん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変更を加えたもの。
T-E9	エンドウの ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase E9 遺伝子の 3' 非翻訳領域。mRNA の転写を集結させ、ポリアデニル化を誘導する。

199

200 (6) 安定性に関する事項

201 MON88913 (*G. baebadense*) 系統の 3 世代の自殖後代について、各世代におけ  
202 る挿入遺伝子の安定性を確認するためにサザンブロット分析を行った。その結果、  
203 すべての世代から挿入遺伝子に由来するバンドが検出され、複数世代における安定  
204 性を確認できた。また、ウェスタンブロットティング分析を行った結果、すべての世  
205 代から改変 CP4 EPSPS たん白質が検出され、複数世代で正常に発現していること  
206 が確認できた。

207 以上の結果から MON88913 (*G. barbadense*) 系統に導入された改変 *cp4 epsps*  
208 遺伝子が後代世代に安定して遺伝していることが示された (参考文献 19)。

209

210 (7) コピー数に関する事項

211 既に飼料としての安全性確認がされている MON88913 (*G.hirsutum*) 系統にお  
212 いては、ゲノム中 1 箇所にも 1 コピーの T-DNA 領域が組み込まれていることが確認  
213 されている。上記 5 の (6) 安定性に関する事項のとおり、MON88913  
214 (*G.barbadense*) 系統においても、当該 T-DNA 領域は安定して遺伝している (参考  
215 文献 20)。

216

217 (8) 発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

218 MON88913 (*G. barbadense*) 系統における改変 CP4 EPSPS たん白質の発現量  
219 について、2007 年に米国の 5 カ所のは場から採取した葉及び種子サンプルを供し  
220 て ELISA 法により測定した。その結果、改変 CP4 EPSPS たん白質の葉における  
221 発現量の範囲は 1800 ~ 3200 µg/g dwt (平均値 2400 µg/g dwt)、種子における発  
222 現量の範囲は 200 ~ 450 µg/g dwt (平均値 360 µg/g dwt) であった (参考文献 21)。

223

224 (9) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

225 MON88913 (*G. barbadense*) 系統には導入されていない。

226

227 (10) 外来のオープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性  
228 に関する事項

229 既に飼料としての安全性確認がされている MON88913 (*G.hirsutum*) 系統には、  
230 目的以外のたん白質を発現するオープンリーディングフレームは含まれていない  
231 ことが確認されている。同様に、従来育種法を用いて作出された MON88913  
232 (*G.barbadense*) 系統にも、目的以外のたん白質を発現するオープンリーディング  
233 フレームは含まれていないと考えられる。

234

235 6 組換え体に関する事項

236 (1) 組換え DNA 操作により新たに獲得された性質に関する事項

237 MON88913 (*G. barbadense*) 系統と宿主との相違は、MON88913 (*G.*  
238 *barbadense*) 系統が改変 CP4 EPSPS たん白質の発現によりグリホサートの影響  
239 を受けずに生育できる点のみである。この点を除けば、MON88913 (*G.*  
240 *barbadense*) 系統は既存種とその形態及び生育特性において相違は認められず、  
241 飼料としての利用方法も変わらない。

242

243 (2) 遺伝子産物の毒性に関する事項

244 MON88913 (*G. barbadense*) 系統中で発現する改変 CP4 EPSPS たん白質は、  
245 MON88913 (*G. hirsutum*) 系統中で発現する改変 CP4 EPSPS たん白質と同一で  
246 ある。

247 改変 CP4 EPSPS たん白質が既知の毒性たん白質と構造相同性を有していない  
248 こと、急性的に毒性を示すとは考えにくいことは、既に安全性確認がされている

249 MON88913(*G. hirsutum*)系統の評価の際に、データベースを用いた既知毒素と  
250 のアミノ酸配列の比較及びマウスを用いた急性経口投与試験により確認されてい  
251 る。同様に、従来育種法を用いて作出された MON88913(*G. barbadense*)系統が  
252 発現する改変 CP4 EPSPS たん白質についても、毒性を有するとは考えられない。

253

254 (3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

255 MON88913(*G. hirsutum*)系統中で発現する改変 CP4 EPSPS たん白質が消化  
256 や熱処理に対して不安定であることは MON88913(*G. hirsutum*)系統の評価の際  
257 に、①人工胃液、②人工腸液及び③加熱処理のそれぞれに対する感受性を試験す  
258 ることにより確認されている。従来育種法を用いて作出された MON88913  
259 (*G. barbadense*)系統が発現する改変 CP4 EPSPS たん白質についても、物理化学  
260 的処理に対する感受性は同様であり、従来の方法で確実に失活・消化すると考え  
261 られる(参考文献 1)。

262

263 (4) 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項

264 EPSPS たん白質は、芳香族アミノ酸の合成経路であるシキミ酸経路を触媒する。  
265 シキミ酸経路は、植物が固定する炭素の 5 分の 1 に関与していると推測されてお  
266 り、代謝において重要な経路とされている(参考文献 22、23)。本経路における  
267 炭素の流れは、経路の第 1 段階に関与する 3-デオキシ-D-アラビノ-ヘプツロン酸-7-  
268 リン酸(DAHP)合成酵素の活性による調節を受け制御されることが証明されてい  
269 るが、DAHP からコリスミ酸が生成されるまでの段階は、中間代謝物質や最終生  
270 成物によって阻害・抑制されることはほとんどないことが知られている(参考文  
271 献 24、25)。これらのことは、EPSPS たん白質が本経路における律速酵素ではな  
272 いことを示唆する。従って、仮に EPSPS たん白質活性が増加したとしても、本  
273 経路の最終産物である芳香族アミノ酸の濃度が高くなることはないと推測された。  
274 また実際に MON88913(*G. barbadense*)系統の芳香族アミノ酸濃度について非組  
275 換えピマワタと比較した結果、同等性が確認された。

276 また、EPSPS たん白質はホスホエノールピルビン酸(PEP)及びシキミ酸-3-  
277 リン酸(S3P)と特異的に反応することが知られている。PEP と S3P 以外に唯一  
278 EPSPS たん白質と反応することが報告されているのは、S3P の類似体であるシキ  
279 ミ酸のみで、EPSPS たん白質と反応する PEP の類似体はない(参考文献 26)。  
280 EPSPS たん白質とシキミ酸の反応性は、EPSPS たん白質と S3P の反応性のおよ  
281 そ 200 万分の 1 であり、シキミ酸が *in planta* で EPSPS たん白質と反応するこ  
282 とはないと考えられる。

283

284 (5) 宿主との差異に関する事項

285 2007 年に米国の 5 箇所のは場において栽培された MON88913(*G. barbadense*)  
286 系統、対照の非組換えピマワタ及び 8 品種の商業ワタ品種について、アミノ酸組成、  
287 脂肪酸組成(C14-C22)、シクロプロペノイド脂肪酸(マルバリン酸、ステルクリン  
288 酸、ジヒドロステルクリン酸)、繊維質{酸性デタージェント繊維(ADF)、中性デタ

289 ーゼント繊維(NDF)、ミネラル(カルシウム、銅、鉄、マグネシウム、マンガン、  
290 リン、カリウム、ナトリウム、亜鉛)、主要構成成分(たん白質、脂質、灰分及  
291 び水分)、ビタミン E、ゴシポールの合わせて 52 項目について成分分析を行った。

292 その結果、すべての項目の分析値が従来ピマワタ品種の変動の範囲内であり、分  
293 析を行った主要構成成分及び栄養阻害物質に関して、MON88913(*G. barbadense*)  
294 系統と非組換えピマワタは同等であると考えられた(参考文献 2)。

295

296 (6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項

297 2007 年に MON88913(*G. barbadense*)系統のほ場試験を米国で行い、  
298 MON88913(*G. barbadense*)系統の生存・増殖能力が対照の非組換えピマワタと  
299 同等であることを確認した。

300

301 (7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項

302 上述のように、MON88913(*G. barbadense*)系統の生存及び増殖能力は対照の  
303 非組換えピマワタと同等であることから、生存及び増殖能力の制限についても両  
304 者の間に相違はないと考えられる。

305

306 (8) 不活化法に関する事項

307 MON88913(*G. barbadense*)系統は、物理的防除(耕耘)や化学的防除(感受性を  
308 示す除草剤の使用)など、ピマワタを枯死させる従来の方法で不活化される。

309

310 (9) 外国における認可等に関する事項

311 米国では遺伝子組換え作物の形質を従来 of 交配育種法を用いて異なる種に導入  
312 する場合新たな規制の対象とはならない。米国食品医薬品局(FDA)により 2006  
313 年 8 月に飼料について承認されている MON88913(*G. hirsutum*)系統の承認の範  
314 囲に、MON88913(*G. barbadense*)系統が含まれるとの確認がなされた。

315 欧州食品安全機関(EFSA)へ 2007 年 4 月に MON88913(*G. hirsutum*)系統  
316 of 承認の範囲に、MON88913(*G. barbadense*)系統を追加し、MON88913(*G.*  
317 *hirsutum*)系統の再登録の申請を行った。

318 カナダ食品検査局(CFIA)により 2008 年 10 月に *G. hirsutum* と *G.*  
319 *barbadense* の同等性に関する資料を提出し、飼料としての安全性が確認された。

320 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局(FSANZ)において、*G. hirsutum*  
321 と *G. barbadense* は区別されていないため、新たに食品として MON88913(*G.*  
322 *barbadense*)系統の安全性を確認する必要はない。

323

324 (10) 作出、育種及び栽培方法に関する事項

325 MON88913(*G. barbadense*)系統と従来 of ピマワタとの栽培方法における違い  
326 は、MON88913(*G. barbadense*)系統では除草剤グリホサートに対して耐性を示  
327 す点のみである。それ以外は、従来 of 栽培方法と相違はない。

328

329 (11) 種子の製法及び管理方法に関する事項  
330 MON88913(*G. barbadense*)系統の種子の製法及び管理方法は従来のピマワタ  
331 と同様である。

332  
333 7 2から6までに掲げる資料により飼料の安全性に関する知見が得られていない場合  
334 は、次に掲げる試験のうち必要な試験の成績に関する事項  
335 該当しない。

336  
337 IV 審議結果  
338 除草剤グリホサート耐性ピマワタ MON88913 系統について、「組換え DNA 技術応用  
339 飼料及び飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づき審議した結果、同第3条第1  
340 項による確認を行って差し支えないと判断された。

341  
342 V 提出資料で引用された参考文献

- 1 除草剤グリホサート耐性ワタ MON88913 系統の安全性評価 ー要旨ー (社内レポート)
- 2 除草剤グリホサート耐性ピマワタ MON88913(*G. barbadense*)系統における構成成分の分析: MSL-0021809 (社外秘) (社内レポート)
- 3 Percival, A. E., J.F. Wendel, and J.M. Stewart. (1999) Taxonomy and Germplasm Resources, in Cotton: Origin, History, Technology, and Production. Pp 33-63. Smith, W.C. (ed.). John Wiley and Sons, Inc.
- 4 Pillay, M and Myers, G.O., Genetic Diversity in Cotton Assessed by Variation in Ribosomal RNA Genes and AFLP Markers, Crop Sci. 39 (6) 1881. (1999)
- 5 Yuan, Y.L., Chen, Y.H., Tang, C.M., Jing, S.R., Liu, S.L., Pan, J.J., Koher, R.J., Zhang, T.Z. (2000) Effects of the dominant glandless gene Gl2e on agronomic and fibre characters of Upland cotton. Plant breeding 119: 59-64
- 6 Wang, L., Dong, M., Paterson, A.H. (1995) The distribution of *Gossypium hirsutum* chromatin in *G.barbadense* germ plasm: molecular analysis of ontogenetic plant breeding. TAG Theoretical and Applied Genetics V91: 1153-1161.
- 7 Khan, S.A., Hussain, D., Askari, E., Steward, J.M., Malik, K.A., Zafar, Y. (2000) Molecular phylogeny of *Gossypium* species by DNA fingerprinting. Theoretical and Applied Genetics 101: 931-938.
- 8 Abou-Donia, M.B. 1976. Physiological Effects and Metabolism of Gossypol. Residue Review 61:126-160.
- 9 生化学辞典、東京化学同人、1990.
- 10 NCPA. (1993) Cottonseed Oil. L.A.Jones and C.C.King eds. National Cottonseed Products Association, Inc., and The Cotton Foundation. Pp.1-60.
- 11 Martin, S. D. 1990. "Gossypol effects in animal feeding can be controlled." Feedstuffs. Vol 62, No 33.
- 12 Hron, R.J. Sr., Kuk, M.S., and Wan, P.J. 1996. Quick method for estimating free gossypol in cottonseed, meats, collets, and extracted meals. J. Amer. Oil Chem. Soc.. 73. 2. 199-202

- 13 Phelps, R.A., F.S. Shenstone, R.J. Kemmerer, and R.J. Evans. 1965. A Review of Cyclopropenoid Compounds: Biological Effects of some Derivatives. *Poult.Sci.* 44: 358-394.
- 14 Cherry, J.P. and H.R. Leffler. 1984. Seed. In Cotton, Kohel, R.J. and Lewis, C.F., eds. *Amer. Soc. Agron. Madison, WI. Chapter 13, p 511-569.*
- 15 新編 飼料ハンドブック、日本科学飼料協会、1998年
- 16 日本貿易月表、大蔵省編、日本関税協会、平成20年12月号、2008.
- 17 飼料月報、平成20年8月、農林水産省生産局畜産部畜産振興課編 社団法人配合飼料供給安定機構発行
- 18 Hughes, H.D. and E.R. Nelson. 1957. *Crop Production, Principles and Practices. The MacMillian Company, New York.*
- 19 除草剤グリホサート耐性ピマワタ MON88913(G. *barbadense*)系統の発現たん白質の複数世代間での発現の安定性: MSL-0021860(社外秘) (社内レポート)
- 20 除草剤グリホサート耐性ピマワタ MON88913(G. *barbadense*)系統中における導入遺伝子の複数世代での安定性: MSL-0022369(社外秘) (社内レポート)
- 21 除草剤グリホサート耐性ピマワタ MON88913(G. *barbadense*)系統中の改変 CP4 EPSPS たん白質の発現量: MSL-0021554(社外秘) (社内レポート)
- 22 Haslam,E. 1974. *The Shikimate Pathway. John Wiley and Sons, New York, New York.*
- 23 Haslam,E. 1993. *Shikimic Acid : Metabolism and Metabolites, John Wiley and Sons, Chichester, England.*
- 24 Herrmann,K.M. 1983. *The Common Aromatic Biosynthetic Pathway. In Amino Acids: Biosynthesis and Genetic Regulation. K.M.Herrmann and R.L.Somerville, eds. Addison-Wesley, Reading, MA. 301-322.*
- 25 Weiss,U. and J.M.Edwards. 1980. *Regulation of the Shikimate Pathway. In The Biosynthesis of Aromatic Compounds. John Wiley and Sons, New York. pp287-301.*
- 26 Gruys,K.J., M.C.Walker, and J A.Sikorski. 1992. *Substrate Synergism and the Steady-State Kinetic Reaction Mechanism for EPSP Synthase from E. coli. Biochem. 31, 5534-5544.*

## 2 チョウ目害虫抵抗性ピマワタ15985系統

### (1) 申請品目

飼料名 : チョウ目害虫抵抗性ピマワタ15985系統

性質 : チョウ目害虫抵抗性

申請者 : 日本モンサント株式会社

開発者 : Monsanto Company

### (2) 経過

平成21年11月2日 諮問

平成22年4月27日 第37回組換え体委員会

### (3) 結果

確認手続第3条第1項に基づく確認を行って差し支えないと判断される。

参考：飼料に係る食品健康影響評価（畜産物の安全性）

平成21年11月2日 農林水産省より、食品安全委員会に諮問

平成22年8月26日 食品安全委員会より、食品健康影響評価は必要なく、当該飼料を家畜が摂取することに係る畜産物の安全性上の問題はない旨の答申

1 「チョウ目害虫抵抗性ピマワタ 15985 系統」に係る安全性確認(案)

2

3 I はじめに

4 チョウ目害虫抵抗性ピマワタ 15985 系統(以下「15985 (*G. barbadense*) 系統」と  
5 いう。)について、「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  
6 手続」(平成 14 年 11 月 26 日農林水産省告示第 1780 号)に基づき審議を行った。

7

8 II 確認対象飼料の概要

9 飼料名：チョウ目害虫抵抗性ピマワタ 15985 系統

10 性 質：チョウ目害虫抵抗性

11 申請者：日本モンサント株式会社

12 開発者：Monsanto Company

13

14 15985(*G. barbadense*) 系統は、*Gossypium hirsutum* L.を宿主とし、既に平成 15  
15 年 3 月 27 日に飼料としての安全性確認がなされているチョウ目害虫抵抗性ワタ(以下、  
16 「15985(*G. hirsutum*) 系統」という)に導入されている改変 *cry1Ac* 遺伝子、改変 *cry2Ab2*  
17 遺伝子、改変 *uidA* 遺伝子及び *npt II* 遺伝子を、同じワタ属の複 2 倍体であるが、別の  
18 種に分類される *G. barbadense* へ、戻し交配育種により導入し作出した。

19 改変 *cry1Ac* 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子の供与体は、*Bacillus thuringiensis*  
20 subsp. *kurstaki* (*B.t.k.*)であり、発現する改変 Cry1Ac たん白質及び Cry2Ab2 たん白  
21 質が、標的昆虫の中腸上皮に存在する受容体と特異的に結合し、生体膜に陽イオン透過  
22 性小孔を形成し、消化プロセスを阻害することにより、オオタバコガ、タバコガ、ワタ  
23 キバガ、ヨトウムシ等のチョウ目害虫に対する抵抗性が付与される。また、改変 *uidA*  
24 遺伝子及び *npt II* 遺伝子は、*Escherichia coli* 由来であり、選択マーカーとして利用さ  
25 れた。これらの遺伝子は、これまでに多くの遺伝子組換え作物において選択マーカーと  
26 して使用されており、安全性に問題がないことが確認されている。

27 なお、15985(*G. barbadense*) 系統と既存のピマワタとの相違は、15985(*G.*  
28 *barbadense*) 系統が改変 Cry1Ac たん白質及び改変 Cry2Ab2 たん白質の発現によりチ  
29 ヨウ目害虫に対する抵抗性を有する点のみであり、有害生理活性物質の一つであるゴシ  
30 ポールを含め、成分の種類や濃度は変化していない。

31 一般に、ピマワタは綿実及び綿実油かすが家畜等の飼料として使用されている。

32

33 III 審議内容

34 1 生産物の既存のものとの同等性に関する事項

35 (1) 遺伝的素材に関する事項

36 15985(*G. barbadense*) 系統の宿主植物は *G. barbadense* L.である。15985(*G.*  
37 *barbadense*) 系統は、戻し交配育種法を用いて、15985(*G. hirsutum*) 系統中の  
38 導入遺伝子以外の遺伝的背景を *G. hirsutum* から *G. barbadense* に置き換えるこ  
39 とにより作出されている。このことから、15985(*G. barbadense*) 系統中に導入さ  
40 れている改変 *cry1Ac* 遺伝子、改変 *cry2Ab2* 遺伝子、改変 *uidA* 遺伝子及び *npt*

41 *II*遺伝子は、2003年3月27日に飼料としての安全性確認がなされている15985  
42 (*G. hirsutum*) 系統に導入されている改変 *cry1Ac* 遺伝子、改変 *cry2Ab2* 遺伝子、  
43 改変 *uidA* 遺伝子及び *npt II* 遺伝子と同一である(参考文献1、2)。なお、  
44 改変 *cry1Ac* 遺伝子及び改変 *cry2Ab2* 遺伝子は、土壌中に一般的に存在するグラ  
45 ム陽性菌である *B. thuringiensis subsp. kurstaki* に由来し、改変 *uidA* 遺伝子及  
46 び *npt II* 遺伝子は、*E. coli* K-12 株に由来する。

47  
48 (2) 家畜等の安全な飼養経験に関する事項

49 15985(*G. barbadense*) 系統の宿主は *G. barbadense* 種に属する商業栽培ピマ  
50 ワタ品種である。主に綿実の搾油かすが牛、豚、鶏等の配合飼料の原料として用  
51 いられる他、綿実そのものも、乳牛用の飼料原料として利用される。

52  
53 (3) 飼料の構成成分等に関する事項

54 宿主植物であるピマワタ及び15985(*G. barbadense*) 系統における、主要構成成  
55 分(たん白質、脂質、食物繊維、灰分、炭水化物)及び毒性物質・抗栄養素(ゴ  
56 シポール及びシクロプロペン脂肪酸)全52成分の比較を行った結果、安全性に影  
57 響を及ぼす差異は認められなかった(参考文献3)。

58  
59 (4) 既存種と新品種との使用方法の相違に関する事項

60 15985(*G. barbadense*) 系統と宿主との相違は、15985(*G. barbadense*) 系統が  
61 改変 *Cry1Ac* たん白質及び改変 *Cry2Ab2* たん白質の発現によりチョウ目害虫に対  
62 する抵抗性を有する点のみである。この点を除くと15985(*G. barbadense*) 系統は  
63 宿主と同じであり、既存種と比較して①収穫時期(成熟程度)と貯蔵方法、②摂取  
64 (可食)部位、③摂取量、④調整及び加工方法についても全く変わりはない。

65  
66 以上(1)～(4)により、15985(*G. barbadense*) 系統の飼料としての安全性を  
67 評価するために、既存のピマワタを比較対照として用いる方法が適用できると判断さ  
68 れた。

69  
70 2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

71 15985(*G. barbadense*) 系統中には、15985 (*G. hirsutum*) 系統から戻し交配育  
72 種法を用いて移入された改変 *Cry1Ac* たん白質及び改変 *Cry2Ab2* たん白質の発現に  
73 より、標的となるピマワタの主要チョウ目害虫に対して相乗的な防除効果が得られる。  
74 改変 *Cry1Ac* たん白質と改変 *Cry2Ab2* たん白質は殺虫スペクトラムが比較的重複し  
75 ており、両 *Bt* たん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* たん白質  
76 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ため、抵抗性害虫の発生を回  
77 避できる。

78  
79 3 宿主に関する事項

80 (1) 学名、品種、系統名等の分類学上の位置付けに関する事項

81 宿主はアオイ科(Malvaceae)ワタ属(*Gossypium*)に属する複2倍体栽培ワタ(*G.*

82 *barbadense*)である。*G. barbadense*は*G. hirsutum*と共通の染色体構造を持つ  
83 複2倍体(tetraploid:  $2n = 4x = 52$ )であり、遺伝的障壁はなく容易に交配できる  
84 ことが知られている(参考文献4、5)。

85  
86 (2) 遺伝的先祖に関する事項

87 ワタ属のうち栽培種は4種(*G. herbaceum*、*G. arboreum*、*G. hirsutum*、*G.*  
88 *barbadense*)に分けられる。

89 南米の北西部が原産地と考えられている*G. barbadense*は、超長繊維(Extra  
90 Long Staple: ELS)の特性を有し、高級衣料素材として使用されている。一方、飼  
91 料としての安全性確認が済んでいる15985(*G. hirsutum*)系統の宿主である*G.*  
92 *hirsutum*は、陸地ワタ(Upland cotton)と呼ばれ、中繊維の特性を有し、全ワタ  
93 生産量の90%を占め、衣料用素材として使用されている。両者は品種改良を目的  
94 に頻繁に交配が行われてきた。遺伝的類似性も非常に高いと考えられている(参  
95 考文献6、7)。

96  
97 (3) 有害生理活性物質の生産に関する事項

98 ピマワタには、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、この  
99 生理活性物質は綿実を含むあらゆる植物組織の分泌器官に存在する(参考文献8)。  
100 ゴシポールは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  
101 を起こす毒性物質として知られている。また、ゴシポール含量は、一般的に*G.*  
102 *barbadense*の方が*G. hirsutum*より高いことが知られているが、搾油工程の加  
103 熱処理により無毒化されることが知られている(参考文献9)。綿実油は圧搾法、  
104 抽出法及び圧抽法により搾油されており、全ての方法において油腺を破壊させる  
105 ための熱と圧力が用いられている(参考文献10、11)。搾油工程中の熱、圧力及  
106 び加湿により油腺が破壊されると、ゴシポールはたん白質やその他の物質と結合  
107 し、毒性の少ない結合型となる(参考文献12)。遊離型ゴシポールは単胃動物に  
108 にとって有害であることが知られているが、結合型ゴシポールは動物が利用できな  
109 い不活型のゴシポールであり、毒性は低いと考えられている。

110 また、搾油工程における大量のアルカリによる脱酸あるいは温度条件によつて  
111 は、シクロプロペノイド脂肪酸(マルバリニン酸、ステルクリン酸及びジヒドロステ  
112 ルクリン酸)が生じることがある。シクロプロペノイド脂肪酸は、生殖・繁殖力に  
113 有害な影響を及ぼすとされているが、搾油工程における脱臭処理によって著しく  
114 減少するため、問題にはならない(参考文献13)。

115  
116 (4) 寄生性及び定着性に関する事項

117 ピマワタは種子植物であり、それを食する家畜等や他の生物に寄生または定着  
118 することはない。

119 (5) ウイルス等の病原性の外来因子に汚染されていないことに関する事項

120 ピマワタに感染する病原体は知られているが、家畜等に対する病原性はもたな  
121 いことが知られている。

- 123 (6) 自然環境を反映する実験条件の下での生存及び増殖能力に関する事項  
124 ピマワタは栽培作物であり、雑草化する能力は極めて低く、15985 系統もその  
125 特性は同様であると考えられる。  
126
- 127 (7) 有性生殖周期及び交雑性に関する事項  
128 現在栽培されているピマワタは、雄ずいと雌ずいの生殖器官を 1 つの花に有す  
129 る両性植物である。ピマワタは主に自家受粉によって種子が作られる。遺伝的に  
130 は他のワタとの他家受粉は可能であるが、他の植物種とは交雑しない。花粉は重  
131 いため風媒は起こりにくく、ハチによる虫媒はわずかに起こる。我が国における  
132 ワタの栽培はごく僅かであり、観賞用に栽培されているに過ぎない。  
133
- 134 (8) 飼料に利用された歴史に関する事項  
135 現在、ピマワタは、繊維原料として実綿(綿毛のついた種子)から綿毛が、綿毛  
136 を分離したあとの種子(綿実)から食用油、油かす及びリントが生産されている。  
137 一般に綿実重量比で、油が16%、油かすが45%、リントが9%となっており、残り  
138 は種子殻及び生産時に生じるロス分である(参考文献 14)。ワタは飼料分野では主  
139 として油かすの形態で利用されている。綿実油かすは、乳牛、養豚、肉牛用とし  
140 て配合飼料の原料として用いられている。また綿実そのものも、乳牛に給与され  
141 ている(参考文献 15)。  
142 2008 年における綿実油かすの輸入量は約 5,086 トンであった(参考文献 16)。  
143 2007 年度には、約 6,061 トンの綿実油かすが配合飼料の原料として用いられてい  
144 る。その内訳は、乳牛用として 98.7 %、豚用として 0.5%、肉牛用として 0.7%と  
145 なっている(参考文献 17)。  
146  
147
- 148 (9) 飼料の安全な利用に関する事項  
149 上記(3)のとおり、ピマワタにはゴシポール等の有害生理活性物質が存在す  
150 ることが知られているが、上記(8)のとおり、ピマワタは利用形態ごとに飼料  
151 として安全に利用されている。  
152
- 153 (10) 生存及び増殖能力を制限する条件に関する事項  
154 ピマワタは種子繁殖する植物であり、その生育には高温、高照度、低土壌水分  
155 条件を好む。生存・増殖能力は、栽培される地域の気候条件あるいは生育期の気  
156 象条件に左右されている。また、種子の自然条件下での寿命は短く、土壌温度が1  
157 5~16℃に達する前に播種されると、土壌中でほとんど腐敗してしまう(参考文献  
158 18)。ピマワタは耕耘や感受性を示す除草剤の使用により防除される。よって雑草  
159 化する可能性は無いものと考えられる。  
160
- 161 (11) 近縁種の有害生理活性物質の生産に関する事項  
162 ワタ属と交雑可能な近縁植物は存在せず、日本においては商業的栽培されてい

163 ない。

164

165 4 ベクターに関する事項

166 15985(*G. barbadense*) 系統は、2003年3月27日に飼料としての安全性確認がな  
167 されているチョウ目害虫抵抗性ワタ 15985 (*G. hirsutum*) 系統に導入されている改  
168 変 *cry1Ac* 遺伝子、改変 *cry2Ab2* 遺伝子、改変 *uidA* 遺伝子及び *npt II* 遺伝子を、戻  
169 し交配育種により同じワタ属の複 2 倍体であるが、別の種に分類される *G.*  
170 *barbadense* に導入することにより作出された。そのため、ベクターに関する以下の  
171 (1) ~ (7) の事項については既に安全性の確認が済んでいる。

- 172 (1) 名称及び由来に関する事項
- 173 (2) 性質に関する事項
- 174 (3) 薬剤耐性に関する事項
- 175 (4) 伝達性に関する事項
- 176 (5) 宿主依存性に関する事項
- 177 (6) 発現ベクターの作成方法に関する事項
- 178 (7) 発現ベクターの宿主への挿入方法及び位置に関する事項

179

180 5 挿入遺伝子に関する事項

181 15985(*G. barbadense*) 系統は、2003年3月27日に飼料としての安全性確認がな  
182 されているチョウ目害虫抵抗性ワタ 15985 (*G. hirsutum*) 系統に導入されている改  
183 変 *cry1Ac* 遺伝子、改変 *cry2Ab2* 遺伝子、改変 *uidA* 遺伝子及び *npt II* 遺伝子を、戻  
184 し交配育種により同じワタ属の複 2 倍体であるが、別の種に分類される *G.*  
185 *barbadense* に導入することにより作出された。そのため、挿入遺伝子に関する、  
186 (1) 供与体に関する事項、(3) 構造に関する事項、(4) 性質に関する事項及び  
187 (5) 純度に関する事項については既に安全性の確認が済んでいる。

188

189 (2) 遺伝子の挿入方法に関する事項

190 15985(*G. barbadense*) 系統ピマワタは、15985 (*G. hirsutum*) に非組換え *G.*  
191 *barbadense* の商業品種を掛け合わせた F1 雑種に、当該商業品種を合計で 6 回戻  
192 し交配を繰り返した後、自殖により固定することで作出された。導入遺伝子のホ  
193 モ接合性を確認し、選抜された個体の後代をほ場における農業形質評価の対象と  
194 した。挿入された遺伝子の性質について表 1 にまとめた。

195

196

表 1 挿入遺伝子の各構成要素、由来及び機能

構成要素	由来及び機能
改変 <i>cry1Ac</i> 遺伝子発現カセット	
<i>E35S</i>	カリフラワーモザイクウイルス (CaMV) 由来のプロモーター配列。 (プロモーター：転写の開始に関与する領域。)
改変 <i>cry1Ac</i>	<i>B. thuringiensis</i> subsp. <i>kurstaki</i> HD-73 株の <i>cry1Ac</i> 遺伝子の一部を

	改変した配列。改変 Cry1Ac たん白質を発現する領域。
7S 3'	ダイズの $\beta$ -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ターミネーター配列。 (ターミネーター：転写を終結させる領域。)
<i>npt II</i> 遺伝子発現カセット	
35S	CaMV の 35S プロモーター配列
<i>npt II</i>	<i>E. coli</i> K-12 株のトランスポゾン Tn5 に由来する遺伝子。ネオマイシンフォスフォトランスフェラーゼ II を発現し、スペクチノマイシン、ストレプトマイシンに対する耐性を付与することで、選抜マーカーとして利用する。
NOS3'	ノパリン合成酵素遺伝子の 3' 非翻訳領域であり、ターミネーター配列として機能。
改変 <i>uidA</i> 遺伝子発現カセット	
P-e35S	CaMV の 35S プロモーター配列
改変 <i>uidA</i>	<i>E. coli</i> のプラスミド pUC19 の <i>uid</i> 遺伝子の一部を改変した配列。改変 GUS たん白質を発現することで、選抜マーカーとして利用する。
NOS3'	ノパリン合成酵素遺伝子の 3' 非翻訳領域であり、ターミネーター配列として機能。
改変 <i>cry2Ab2</i> 遺伝子発現カセット	
P-e35S	CaMV の 35S プロモーター配列
PetHSP70 leader	ペチュニアの hsp70 (熱ショックたん白質) の 5' 非翻訳領域。
AEPSPS/CT P2	<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
改変 <i>cry2Ab</i>	<i>B. thuringiensis</i> の <i>cry2Ab</i> 遺伝子の一部を改変した配列。改変 Cry2Ab たん白質を発現する領域。
NOS3'	ノパリン合成酵素遺伝子の 3' 非翻訳領域であり、ターミネーター配列として機能。

197

198 (6) 安定性に関する事項

199 15985 (*G. baebadense*) 系統の 3 つの自殖後代について、各世代における挿入  
200 遺伝子の安定性を確認するためにサザンブロット分析を行った。その結果、すべて  
201 の世代から挿入遺伝子に由来するバンドが検出され、複数世代における安定性を確  
202 認できた。また、ウェスタンブロット分析を行った結果、すべての世代から  
203 改変 CP4 EPSPS たん白質が検出され、複数世代で正常に発現していることが確認  
204 できた (参考文献 19、20)。

205 以上の結果から 15985 (*G. barbadense*) 系統に導入された改変 *cry1Ac* 遺伝子、  
206 改変 *cry2Ab2* 遺伝子、改変 *uidA* 遺伝子及び *npt II* 遺伝子が後代世代に安定して遺  
207 伝していることが示された。

208

209 (7) コピー数に関する事項

210 既に飼料としての安全性確認がされている 15985 (*G.hirsutum*) 系統においては、  
211 ゲノム中に改変 *cry1Ac* 遺伝子及び *npt II* 遺伝子を含む T-DNA 領域並びに改変  
212 *cry2Ab2* 遺伝子及び改変 *uidA* 遺伝子を含む直鎖状遺伝子断片領域がそれぞれ 1 コ  
213 ピーずつ組み込まれていることが確認されている。上記 5 の (6) 安定性に関する  
214 事項のとおり、15985 (*G.barbadense*) 系統においても、当該 T-DNA 領域は安定し  
215 て遺伝している (参考文献 19、20)。

216

217 (8) 発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

218 15985 (*G. barbadense*) 系統における改変 Cry1Ac たん白質、改変 Cry2Ab2 た  
219 ん白質、改変 GUS たん白質及び NPT II たん白質の発現量について、2007 年に米  
220 国の 5 ヶ所のは場から採取した葉及び種子サンプルを供して ELISA 法により測定  
221 した (参考文献 21)。その結果は以下のとおり。

222 1) 改変 Cry1Ac たん白質

223 葉 : 1.2~11µg/g dwt (平均値 4.5µg/g dwt)

224 種子 : 0.39~1.1µg/g dwt (平均値 0.6µg/g dwt)

225 2) 改変 Cry2Ab2 たん白質

226 葉 : 210~570µg/g dwt (平均値 320µg/g dwt)

227 種子 : 380~610µg/g dwt (平均値 480µg/g dwt)

228 3) 改変 GUS たん白質

229 葉 : 1,300~2,700µg/g dwt (平均値 1,900µg/g dwt)

230 種子 : 88~140µg/g dwt (平均値 110µg/g dwt)

231 4) NPTII たん白質

232 葉 : 定量限界以下~36µg/g dwt (平均値 24µg/g dwt)

233 種子 : 定量限界以下~5.7µg/g dwt (平均値 4.1µg/g dwt)

234

235 (9) 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性に関する事項

236 *npt II* 遺伝子は、*E.coli* K-12 株 のトランスポゾンである Tn5 由来であり、そ  
237 の遺伝子産物である NPT II たん白質は形質転換細胞の選抜の際に抗生物質耐性マ  
238 ーカーとして使用される。NPT II たん白質は ATP を利用してネオマイシン及び関  
239 連するアミノグリコシド系抗生物質をリン酸化して不活化する。これまでに NPT  
240 II たん白質が家畜等の健康に影響を与えたという報告はされていない。

241

242 (10) 外来のオープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性  
243 に関する事項

244 既に飼料としての安全性確認がされている 15985 (*G.hirsutum*) 系統には、目的  
245 以外のたん白質を発現するオープンリーディングフレームは含まれていないこと  
246 が確認されている。同様に、従来育種法を用いて作出された 15985

247 (G. barbadense) 系統にも、目的以外のたん白質を発現するオープンリーディング  
248 フレームは含まれていないと考えられる (参考文献 20)。

249

## 250 6 組換え体に関する事項

### 251 (1) 組換え DNA 操作により新たに獲得された性質に関する事項

252 15985 (G. barbadense) 系統と既存のピマワタとの相違は、15985 (G.  
253 barbadense) 系統が改変 Cry1Ac たん白質及び Cry2Ab2 たん白質の発現により  
254 チョウ目害虫に対する抵抗性を有する点のみである。この点を除けば、15985 (G.  
255 barbadense) 系統は既存種とその形態及び生育特性において相違は認められず、  
256 飼料としての利用方法も変わらない。

257

### 258 (2) 遺伝子産物の毒性に関する事項

259 15985 (G. barbadense) 系統中で発現する改変 Cry1Ac たん白質、改変 Cry2Ab2  
260 たん白質、改変 GUS たん白質及び NPT II たん白質は、15985 (G. hirsutum) 系  
261 統中で発現する改変 Cry1Ac たん白質、改変 Cry2Ab2 たん白質、改変 GUS たん  
262 白質及び NPT II たん白質と同一である。

263 これらのたん白質が既知の毒性たん白質と構造相同性を有していないこと、急  
264 性的に毒性を示すとは考えにくいことは、既に安全性確認がされている 15985 (G.  
265 hirsutum) 系統の評価の際に、データベースを用いた既知毒素とのアミノ酸配列  
266 の比較及びマウスを用いた急性経口投与試験により確認されている。同様に、従  
267 来育種法を用いて作出された 15985 (G. barbadense) 系統が発現するこれらのたん  
268 白質についても、毒性を有するとは考えられない (参考文献 1、2)。

269

### 270 (3) 遺伝子産物の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

271 15985 (G. hirsutum) 系統中で発現する改変 Cry1Ac たん白質、改変 Cry2Ab2  
272 たん白質、改変 GUS たん白質及び NPT II たん白質が消化や熱処理に対して不安  
273 定であることは 15985 (G. hirsutum) 系統の評価の際に、①人工胃液、②人工腸  
274 液及び③加熱処理のそれぞれに対する感受性を試験することにより確認されてい  
275 る。従来育種法を用いて作出された 15985 (G. barbadense) 系統が発現する改変  
276 CP4 EPSPS たん白質についても、物理化学的処理に対する感受性は同様であり、  
277 従来の方法で確実に失活・消化すると考えられる (参考文献 1、2)。

278

### 279 (4) 遺伝子産物の代謝経路への影響に関する事項

#### 280 1) 改変 Cry1Ac たん白質

281 改変 Cry1Ac たん白質は酵素活性を持たないため、植物中の代謝経路に影響を  
282 与えるとは考えられない。

283

#### 284 2) 改変 Cry2Ab2 たん白質

285 改変 Cry2Ab2 たん白質は酵素活性を持たないため、植物中の代謝経路に影響を  
286 与えるとは考えられない。

287

288

### 3) 改変 GUS たん白質

289

290

291

292

293

改変 GUS たん白質を発現する *uidA* 遺伝子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 (参考文献 22、23)。 *E.coli* 由来の GUS たん白質は食品として安全であると報告されている (参考文献 24)。 更に、GUS 様活性はトウモロコシ、ダイズ及びトマト等を含む 50 以上の植物の胚、果実、種皮及び胚乳などの多くの組織で検出されている (参考文献 25)。

294

295

296

297

298

299

15985 (*G. hirsutum*) 系統の構成成分の分析において、対照の非組換えワタ (*G. hirsutum*) との間に安全性に影響を及ぼす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、GUS たん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。

300

### 4) NPT II たん白質

301

302

303

304

305

306

307

308

309

NPT II たん白質は、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 (参考文献 26-28)。 さらに、NPT II たん白質の構造活性学的な検討の結果、NPT II たん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 (参考文献 26)。 以上のことから、NPT II たん白質がピマワタ中で発現することにより新規の代謝系が生じたり、新規の代謝産物が生じたりすることはないと考えられる。

310

### (5) 宿主との差異に関する事項

312

313

314

315

316

317

318

2007 年に米国の 5 箇所のほ場において栽培された 15985 (*G. barbadense*) 系統、対照の非組換えピマワタ及び 8 品種の商業ワタ品種について、アミノ酸組成、脂肪酸組成 (C14-C22)、シクロプロペノイド脂肪酸 (マルバリン酸、ステルクリン酸、ジヒドロステルクリン酸)、繊維質 {酸性デタージェント繊維 (ADF)、中性デタージェント繊維 (NDF)}、ミネラル (カルシウム、銅、鉄、マグネシウム、マンガン、リン、カリウム、ナトリウム、亜鉛)、主要構成成分 (たん白質、脂質、灰分及び水分)、ビタミン E、ゴシポールの合わせて 52 項目について成分分析を行った。

319

320

321

その結果、すべての項目の分析値が従来ピマワタ品種の変動の範囲内であり、分析を行った主要構成成分及び栄養阻害物質に関して、15985 (*G. barbadense*) 系統と非組換えピマワタは同等であると考えられた (参考文献 3)。

322

### (6) 外界における生存及び増殖能力に関する事項

324

325

2007 年に 15985 (*G. barbadense*) 系統のほ場試験を米国で行い、15985 (*G. barbadense*) 系統の生存・増殖能力が対照の非組換えピマワタと同等であること

326 を確認した。

327

328 (7) 生存及び増殖能力の制限に関する事項

329 上述のように、15985(*G. barbadense*)系統の生存及び増殖能力は対照の非組換  
330 えピマワタと同等であることから、生存及び増殖能力の制限についても両者の間  
331 に相違はないと考えられる。

332

333 (8) 不活化法に関する事項

334 15985(*G. barbadense*) 系統は、物理的防除（耕耘）や化学的防除（感受性を  
335 示す除草剤の使用）など、ピマワタを枯死させる従来の方法で不活化される。

336

337 (9) 外国における認可等に関する事項

338 米国では遺伝子組換え作物の形質を従来 of 交配育種法を用いて異なる種に導入  
339 する場合新たな規制の対象とはならない。米国食品医薬品局(FDA)により 2006  
340 年 8 月に飼料について承認されている 15985(*G. hirsutum*) 系統の承認の範囲に、  
341 15985(*G. barbadense*) 系統が含まれるとの確認がなされた。

342 欧州食品安全機関 (EFSA) へ 2007 年 4 月に 15985(*G. hirsutum*) 系統の承認  
343 の範囲に、15985(*G. barbadense*) 系統を追加し、15985(*G. hirsutum*) 系統の再  
344 登録の申請を行った。

345 カナダ食品検査局 (CFIA) により 2008 年 10 月に *G. hirsutum* と *G.*  
346 *barbadense* の同等性に関する資料を提出し、飼料としての安全性が確認された。

347 オーストラリア・ニュージーランド食品基準局 (FSANZ) において、*G. hirsutum*  
348 と *G. barbadense* は区別されていないため、新たに食品として 15985(*G.*  
349 *barbadense*) 系統の安全性を確認する必要はない。

350

351 (10) 作出、育種及び栽培方法に関する事項

352 15985(*G. barbadense*) 系統と従来 of ピマワタとの栽培方法における違いは、  
353 15985 (*G. barbadense*) 系統ではチョウ目害虫に対して抵抗性を示す点のみであ  
354 る。それ以外は、従来 of 栽培方法と相違はない。

355

356 (11) 種子の製法及び管理方法に関する事項

357 15985(*G. barbadense*) 系統の種子の製法及び管理方法は従来 of ピマワタと同  
358 様である。

359

360 7 2 から 6 までに掲げる資料により飼料の安全性に関する知見が得られていない場合  
361 は、次に掲げる試験のうち必要な試験の成績に関する事項  
362 該当しない。

363

364 IV 審議結果

365 チョウ目害虫抵抗性ピマワタ 15985 系統について、「組換え DNA 技術応用飼料及び  
366 飼料添加物の安全性に関する確認の手続」に基づき審議した結果、同第 3 条第 1 項によ

367 る確認を行って差し支えないと判断された。

368

369 V 提出資料で引用された参考文献

- 1 鱗翅目害虫抵抗性ワタ 15985 系統の安全性評価 ー要旨ー (社外秘)
- 2 インガード・ワタの安全性評価 ー要旨ー (社外秘)
- 3 チョウ目害虫抵抗性ピマワタ 15985(G. barbadense) 系統における構成成分の分析 : MSL-0021810 (社外秘)
- 4 Percival, A. E., J.F. Wendel, and J.M. Stewart. 1999. Taxonomy and Germplasm Resources, in Cotton: Origin, History, Technology, and Production. Pp 33-63. Smith, W.C. (ed.). John Wiley and Sons, Inc.
- 5 Pillay, M and Myers, G.O., Genetic Diversity in Cotton Assessed by Variation in Ribosomal RNA Genes and AFLP Markers, Crop Sci. 39 (6) 1881. (1999)
- 6 Wang, L., Dong, M., Paterson, A.H. (1995) The distribution of Gossypium hirsutum chromatin in G.barbadense germ plasm: molecular analysis of ontrogenic plant breeding. TAG Theoretical and Applied Genetics V91: 1153-1161.
- 7 Khan, S.A., Hussain, D., Askari, E., Steward, J.M., Malik,K.A., Zafar,Y. (2000) Molecular phylogeny of Gossypium species by DNA fingerprinting. Theoretical and Applied Genetics 101: 931-938.
- 8 Abou-Donia, M.B. 1976. Physiological Effects and Metabolism of Gossypol. Residue Review 61:126-160.
- 9 生化学辞典、東京化学同人、1990.
- 10 NCPA. (1993) Cottonseed Oil. L.A.Jones and C.C.King eds. National Cottonseed Products Association, Inc., and The Cotton Foundation. Pp.1-60.
- 11 Martin, S. D. 1990. "Gossypol effects in animal feeding can be controlled." Feedstuffs. Vol 62, No 33.
- 12 Hron, R.J. Sr., Kuk, M.S., and Wan, P.J. 1996. Quick method for estimating free gossypol in cottonseed, meats, collets, and extracted meals. J. Amer. Oil Chem. Soc.. 73. 2. 199-202
- 13 Phelps, R.A., F.S. Shenstone, R.J. Kemmerer, and R.J. Evans. 1965. A Review of Cyclopropanoid Compounds: Biological Effects of some Derivatives. Poultr.Sci. 44: 358-394.
- 14 Cherry, J.P. and H.R. Leffler. 1984. Seed. In Cotton, Koher, R.J. and Lewis, C.F., eds. Amer. Soc. Agron. Madison, WI. Chapter 13, P 512-558
- 15 新編 飼料ハンドブック、日本科学飼料協会、1998年
- 16 日本貿易月表、大蔵省編、日本関税協会、平成20年12月号、2008.
- 17 飼料月報、平成20年8月、農林水産省生産局畜産部畜産振興課編 社団法人配合飼料供給安定機構発行
- 18 Hughes, H.D. and E.R. Nelson. 1957. Crop Production, Principles and Practices. The MacMillian Company, New York.
- 19 チョウ目害虫抵抗性ピマワタ 15985(G. barbadense) 系統中の導入遺伝子の世代間にわたる安定性の確認 : MSL-0022379(社外秘)

- 20 チョウ目害虫抵抗性ピマワタ 15985 (G. barbadense) 系統中の発現たん白質の世代間にわたる安定性の確認 : MSL-0021859 (社外秘)
- 21 チョウ目害虫抵抗性ワタ 15985 (G. barbadense) 系統中の改変 Cry1Ac たん白質、改変 Cry2Ab2 たん白質、改変 GUS たん白質及び NPT II たん白質の発現量 : MSL-0021555 (社外秘)
- 22 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  $\beta$ -glucuronidase. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 84:685-9.
- 23 Jefferson, R. A., T. A. Kavanagh, and M. W. Bevan. 1987. GUS Fusions:  $\beta$ -D-glucuronidase as a sensitive and versatile gene fusion marker in higher plants. The EMBO Journal 6 (13): 3901-3907.
- 24 Gilissen, L. J. W., P. L. J. Metz, W. J. Stiekema and J.-P. Nap. 1998. Biosafety of E. coli  $\beta$ -glucuronidase (GUS) in plants. Trans. Res. 7:157-163.
- 25 Hu, C.Y., P.P. Chee, R.H. Chesney, J.H. Zhou, P.D. Miller and W.T. O' Brien. 1990. Intrinsic GUS-like activities in seed plants. Plant Cell Rep. 9: 1-5.
- 26 Price, K.E., and J.C. Godfrey. 1974. Effect of structural modifications on the biological properties of aminoglycoside antibiotics containing 2-deoxystreptamine. Adv Appl Microbiol 18:191-307.
- 27 Davies, J. 1980. Aminoglycoside-aminocyclitol antibiotics and their modifying enzymes. Pages 474-489 in Antibiotics in laboratory medicine, V. Lorian, (ed.) The Williams & Wilkins Co., Baltimore.
- 28 Davies, J., and D.I. Smith. 1978. Plasmid-determined resistance to antimicrobial agents. Annu Rev Microbiol 32:469-518.