

環境局

化学品委員会と化学品に関するワーキングパーティーとの合同会合

バイオテクノロジーにおける規制的監督の調和シリーズ No.10

除草剤グリホサートに耐性をもたらす遺伝子とその酵素に関する
一般的な情報についてのコンセンサス文書

(注) 本文書は、日本の読者の便に供するため、OECD コンセンサス文書（原本は英語）を日本語に翻訳したものです。引用を行う場合は、原本から直接引用してください。原本は下記の URL から参照することができます。

http://www.oecd.org/document/51/0,3343,en_2649_34387_1889395_1_1_1_1,00.html

バイオテクノロジーにおける規制的監督の調和シリーズとして、下記のものも公表されています。

No. 1, *Commercialisation of Agricultural Products Derived through Modern Biotechnology: Survey Results* (1995)

No. 2, *Analysis of Information Elements Used in the Assessment of Certain Products of Modern Biotechnology* (1995)

No. 3, *Report of the OECD Workshop on the Commercialisation of Agricultural Products Derived through Modern Biotechnology* (1995)

No. 4, *Industrial Products of Modern Biotechnology Intended for Release to the Environment: The Proceedings of the Fribourg Workshop* (1996)

No. 5, *Consensus Document on General Information concerning the Biosafety of Crop Plants Made Virus Resistant through Coat Protein Gene-Mediated Protection* (1996)

No. 6, *Consensus Document on Information Used in the Assessment of Environmental Applications Involving Pseudomonas* (1997)

No. 7, *Consensus Document on the Biology of Brassica Napus L. (Oilseed Rape)* (1997)

No. 8, *Consensus Document on the Biology of Solanum tuberosum subsp. tuberosum (Potato)* (1997)

No. 9, *Consensus Document on the Biology of Triticum aestivum (Bread Wheat)* (1999)

Consensus Document on General Information Concerning the Genes and their Enzymes which Confer Tolerance to Phosphinothricin Herbicides (in preparation)

Consensus Document on the Biology of Picea abies L. (Norway Spruce) (in preparation)

Consensus Document on the Biology of Picea glauca (Moench) Voss (White Spruce)

(in preparation)

Consensus Document on the Biology of Populus L. (Poplars) (in preparation)

Consensus Document on the Biology of Oryza sativa (Rice) (in preparation)

Consensus Document on Information Used in the Assessment of Environmental Applications Involving Rhizobiaceae (in preparation)

Consensus Document on Information Used in the Assessment of Environmental Applications Involving Bacillus (in preparation)

© OECD 1999

この資料の全ての部分の複製または翻訳には、下記への許可申請が必要です：

Head of Publications Service, OECD, 2 rue André-Pascal, 75775 Paris Cedex 16, France.

OECD の環境、保健、安全に関する出版物

バイオテクノロジーにおける規制的監督の調和シリーズ

No.10

除草剤グリホサートに耐性をもたらす遺伝子とその酵素に関する
一般的な情報についてのコンセンサス文書

環境局

経済協力開発機構

1999 年 パリ

OECD について

経済協力開発機構（OECD）は、北米、ヨーロッパ、太平洋地域及び欧州委員会の工業国29カ国の代表が、政策を調整し調和させ、相互に関係する問題を討議するために会談し、国際的な問題に対処するために連携する政府間組織である。OECDの活動のほとんどは、加盟国の代表者で構成される200以上の専門委員会とその下部グループによって実施されている。OECDの多くのワークショップやその他の会議には、OECD内で特別な資格を有する数カ国のオブザーバー、および関連する国際組織のオブザーバーが出席する。フランスのパリにあるOECD事務局は、複数の部局と課で構成されており、各委員会とその下部グループの事務を行っている。

環境保健安全課は、テストと評価、優良試験所基準と遵守監視、農薬、リスク管理、バイオテクノロジーにおける規制的監督の調和、そして化学品事故の6つの異なったシリーズについて、無料の文書を公表している。環境保健安全計画、およびその出版物に関する詳細は、OECDのウェブサイト（以下を参照）で入手可能である。

この出版物は電子的に無料で入手可能です。

本件やその他の多数の環境、保健、安全に関する出版物の完全なテキストは、
OECDのウェブサイト(<http://www.oecd.org/ehs/>)をご覧ください。

または

OECD 環境局
環境保健安全課
2 rue Andre-Pascal
75775 Paris Cedex 16
フランス

Fax : (33) 01 45 24 16 75

E-mail : ehscont@oecd.org までご連絡ください。

序 文

OECD のバイオテクノロジーにおける規制的監督の調和に関するワーキンググループ¹は、1995年6月に開催された最初の会合において、加盟国間で相互に認められるコンセンサス文書の作成に重点的に取り組むことを決定した。これらのコンセンサス文書には、特定産物の規制評価の際に用いるための情報が含まれている。植物のバイオセーフティの分野では、特定の植物種の生物学、植物種に導入された場合に特定の形質を発現させる特定の遺伝子とそのタンパク質、植物にもたらされる特定の一般的な形質の改変によって生ずるバイオセーフティの問題に関して、コンセンサス文書が作成されている。

グリホサート除草剤に耐性をもたらす遺伝子とその酵素に関する一般的な情報について扱う本コンセンサス文書は、ドイツおよびオランダの協力のもと、リード国としての米国によって作成された。1998年の2回目の再調査の後に OECD 加盟国から受領した意見、およびその後の各国担当者からの意見に基づき、本文書は改訂された。

化学品委員会と化学品に関するワーキングパーティーとの合同会合で、本文書を公開することが提言された。本文書は、OECDの事務総長の権限のもと公開されるものである。

¹ 1998年8月、OECDの委員会およびワーキンググループの名称を合理化することがOECDの議会で決定されたことを受けて、「バイオテクノロジーにおける規制的監督の調和に関する専門家グループ」は、「バイオテクノロジーに関する規制的監督の調和に関するワーキンググループ」に改称された。

目 次

| | |
|-------------------------------|----|
| 前書き | 7 |
| 概要 | 9 |
| 第1節 除草剤耐性 | 10 |
| 第2節 除草剤としてのグリホサート | 11 |
| 第3節 グリホサート耐性植物の開発 | 13 |
| 第4節 グリホサート耐性をもたらす遺伝子と酵素 | 14 |
| 第5節 植物における導入遺伝子発現の影響 | 16 |
| 第6節 参考文献 | 18 |
| OECDへの返信アンケート | 23 |

前書き

OECD加盟国は、現在、現代のバイオテクノロジーによる農産物、および工業産品を商業化し、市販している。不必要な貿易障壁を避けるために、これらの生産物を評価する規制的な取り組みについての調和の必要性が確認された。

1993年に、OECDの環境政策委員会と農業委員会の共同プロジェクトとして、**現代のバイオテクノロジーを利用した農産物の商業化**が開始された。本プロジェクトの目的は、現代のバイオテクノロジーを利用した農産物の規制的監督、特に安全性を確実にする取組において各国を支援すること、監督方針をより透明で効果的なものにする、そして貿易を促進することである。本プロジェクトは、これらの農産物の市場参入に影響を与える規制的監督に関して、国の政策をレビューすることに重要性が置かれている。

本プロジェクトの第一段階として、これらの産物の規制的監督に関する各国の政策についての調査が実施された。さらに、現代のバイオテクノロジーを利用した産物に必要とされるデータ、およびデータの評価のためのメカニズムが調査された。これらの結果は、「現代のバイオテクノロジーを利用した農産物の商業化：調査結果（OECD、1995年）」として公開された。

続いて、1994年6月にワシントンD.C.において、OECDワークショップが開催された。その目的は、バイオテクノロジーによる農産物に関して策定された規制的監督のさまざまなシステムについて認識を向上させ理解を深め、さまざまな取り組みにおける類似点と相違点を確認し、これらの取り組みの調和に向けたOECDの最も適切な任務を確認するものであった。このワークショップには、16のOECD加盟国、8の非加盟国、欧州委員会、およびいくつかの国際機関を代表する、環境的バイオセーフティ、新規食品の安全性、および種子の品種証明分野の専門家約80名が参加した。また、「現代のバイオテクノロジーを利用した農産物の商業化に関するOECDワークショップ報告」が、1995年にOECDにより公開された。

調和に向けての次の段階として、バイオテクノロジーにおける規制的監督の調和に関するワーキンググループが、加盟国間で**相互に認められるコンセンサス文書**の作成に着手した。これらの文書の目的は、各国間での情報の共有化を促進し、取り組みの重複を防ぐため、現代のバイオテクノロジーを利用して開発された新植物品種の安全性評価における共通要素を記述することである。これらの共通要素は、次の3つの一般的なカテゴリーに分類される。すなわち、宿主となる植物種または作物の生物学、新たな形質をもたらす導入遺伝子と遺伝子産物、そして植物にもたらされる特定の遺伝的な形質の導入によって生ずるバイオセーフティの問題である。

本コンセンサス文書は、規制的なリスク評価に関連する可能性のある最新情報の「スナップショット」である。これは、規制当局のみならず、産業界、研究や製品開発を実施する人々にとって、一般的な指針および参考文献として役立つものと思われる。

新たな形質をもたらす遺伝子および産物に係る本コンセンサス文書および本シリーズのその他の文書は、植物の種の生物学に関するコンセンサス文書、および一般的な形質を植物中で利用することから生ずるバイオセーフティの問題に関する情報を提供するその他の文書とともに、遺伝子組換え植物のバイオセーフティの評価に役立てられていくものと期待される。

近年出版されたOECDの他の2つの出版物もまた、参考になるであろう。「伝統的な作物育種：現代のバイオテクノロジーの役割を評価するベースラインとしての歴史的再考」には、17種の作物に関する情報が掲載されており、遺伝資質の移動にあたっての植物防疫に関する考慮事項、および作物の最新の最終用途に関する項が含まれている。さらに、最新の育種手法についての詳細な項も含まれている。「バイオテクノロジーに関する安全性の考慮：作物のスケールアップ」には、植物育種に関する背景が記載され、スケールに依存する効果について論じられ、「新たな形質」を有する植物の放出に関連するさまざまな安全性の問題が指摘されている。¹

科学的発展、および技術的発展が考慮されることを確実にするため、OECD 加盟国は、コンセンサス文書が定期的に更新されることに合意しています。各コンセンサス文書の主題に関連する追加の分野は、更新の際に考慮されます。

このため、本文書の利用者に OECD への新たな科学的情報および技術的情報の提供、ならびに今後考慮すべき追加の分野に関する提言をお願いします。

返送先を記した簡単なアンケートが本文書の最後に添付されていますので、依頼情報を、記載された住所のひとつに OECD 宛てご送付ください。

1. これらに関する詳細な情報および他の OECD の出版物については、OECD 出版物サービス、2 rue André-Pascal, 75775 Paris Cedex 16, フランス. Fax: (33) 01.49.10.42.76; E-mail: PUBSINQ@oecd.org までご連絡頂くか、<http://www.oecd.org> をご参照ください。

概要

本文書は、グリホサート耐性遺伝子組換え植物を構築するために利用されてきた遺伝子の起源、それらがコードする酵素の性質、およびその酵素が植物の代謝におよぼす影響について、利用可能な情報を要約する。

本文書の範囲：OECD加盟国は、本文書がグリホサート耐性を植物にもたらず導入遺伝子およびその酵素についての考察に限定することに合意した。本文書は、グリホサート耐性植物を用いた科学実験すべての辞書的な解説を目的とするものではない。さらに、本文書は除草剤グリホサートそのもの、あるいは農業やその他に本除草剤を活用する際に利用可能な情報の価値について考察するものでもない。グリホサート耐性植物へのグリホサートの使用に関する食品の安全面については、本文書では考察されていない。関連情報は、除草剤の使用を規制する個別の政府機関を含め、他の情報源から入手が可能である。

本文書は、グリホサート耐性の構築に関与する遺伝子および酵素に重点を置いているが、グリホサート耐性の導入が想定される特定の植物種については言及していない。グリホサート耐性植物の栽培に関連するあらゆる問題、またはグリホサート耐性植物から他の作物、または近縁野生種への遺伝子の移動に関する潜在性、または潜在的な影響に関連する問題は、本文書の同意の範囲を越えるものである。しかしながら、新たにグリホサート除草剤耐性を有する植物に対してバイオセーフティに関する評価がなされる場合、本文書は、特定植物種の生物学に関するコンセンサス文書（本文書の最初にある出版物のリストを参照のこと）とあわせて用いるべきである。

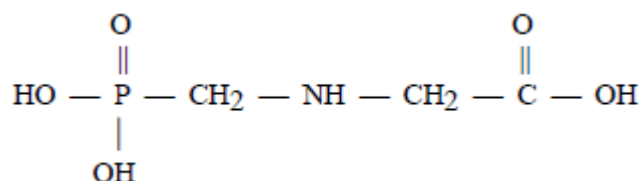
第1節 除草剤耐性

多くの除草剤は、植物中での酵素作用を阻害することによって植物を枯死させる。ほとんどの除草剤は、植物中で鍵となる代謝反応を触媒する単独の酵素に影響を与える。一般的に、植物は農業に利用される除草剤に対してさまざまな感受性を示し、ある除草剤に対して相当な耐性を示す種も存在する。除草剤の曝露に対し、植物を耐性にするいくつかの機構が存在する。すなわち、（1）その植物が、除草剤を解毒する酵素を産生する、（2）その植物が、除草剤の作用を受けない改変された標的酵素を産生する、または（3）その植物が除草剤の植物組織および細胞内への取り込みを妨げる物理的または生理的な障壁物を産生することである（Devine 他、1993年）。

第2節 除草剤としてのグリホサート

グリホサートは、広範な雑草防除薬剤として広く利用されており、多くの国において除草剤として登録されている (Duke、1996年、Shah 他、1986年)。グリホサートは、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) に対する酵素である 5-エノールピルビル-3-ホスホシキミ酸シンターゼ (EPSPS) の可逆的競合阻害剤であるが、グリホサートは、他の PEP 依存的酵素反応はいずれも阻害しない。グリホサートは、3-ホスホシキミ酸に対する EPSPS の非競合的阻害剤である (Steinrucken 他、1984年)。グリホサートは、化学合成によって生産される。グリホサートは天然の産物ではない。グリホサートは、化学的には N-ホスホノメチルグリシン (図1参照) である。グリホサートは、除草剤 ラウンドアップ (Roundup®、モンサント) の有効成分である。

図 1 グリホサートの 化学構造



グリホサート
に対する作物の

感受性は高く、グリホサートの利用は、不耕起栽培管理における植付け前の雑草に対する除草剤として、また作物収穫直前に使用する除草剤および作物枯渇剤としての利用に限定されてきた。遺伝子組換えグリホサート耐性作物の開発によって、作物にほとんど被害を与えることなく、作物と雑草両者が発芽した後に本除草剤を利用することが可能となる。

グリホサートは、酵素である5-エノールピルビル-3-ホスホシキミ酸シンターゼ (EPSPS) を阻害することによって、通常の植物の代謝を妨げる。植物および微生物において、EPSPS は芳香族アミノ酸、ビタミン、および多くの二次代謝産物の生合成に関与している。EPSPS は動物中には存在しない (Levin および Sprinson、1964年、Steinrucken および Amrhein、1980年)。植物において、EPSPSは色素体内に局在している。この酵素は、ホスホエノールピルビン酸 (PEP) と 3-ホスホシキミ酸を縮合して5-エノールピルビル-3-ホスホシキミ酸を生成させる。芳香族アミノ酸の生合成を阻害することにより、結果としてタンパク質合成が妨げられ、植物を枯死させる (Kishore および Shah、1988年)。EPSPS 反応の下流産物であるアミノ酸、ビタミンのいくつかは、すべての生物の生育に必須のものであり、さらにシキミ酸経路から生ずるいくつかの二次代謝産物には、それを産生する生物に固有の生存価がある (Malik、1986年)。この酵素は、その基質であるシキミ酸-3-リン酸塩、および ホスホエノールピルビン酸塩に対して厳密な特異性がある (Anderson および Johnson、1990年)。反応生成物である 5-

エノールピルビルシキミ酸-3-リン酸 (EPSP) は、さらに別の酵素によって作用を受けてコリスミ酸を生じ、コリスミ酸から (トリプトファンの前駆体である) アントラニル酸、および転位により (フェニルアラニンとチロシンの前駆体である) プレフェン酸が生成される。

グリホサートの作用機序に関する知識をもとに、除草剤の曝露に対し耐性のある植物を開発するいくつかの方策が出されてきた。グリホサート耐性植物を作り出すふたつの有効な方策は、グリホサート耐性の EPSPS を導入すること、およびグリホサートを不活化する酵素であるグリホサートオキシドレダクターゼ (GOX) を導入することである。グリホサート耐性 EPSPS 酵素をコードする遺伝子単独、または EPSPS 遺伝子および GOX 遺伝子を併せて受容植物中で発現させるために、遺伝子組換え技術が利用されてきた (Nida 他、1996年, Padgett 他、1995年, 1996年)。

第3節 グリホサート耐性植物の開発

科学者は、従来技術を利用してグリホサート耐性植物を作出することには成功していない。従来の突然変異誘発と選抜技術は、望ましい酵素機能を保持しつつ、除草剤に対して耐性を示す対象酵素の変異型を生み出しうるが、作物種における実用的なレベルの耐性を生み出すことには成功しなかった。また、植物育種家は、種子を化学物質もしくは放射線に曝露させることによって植物ゲノムに突然変異を誘発させる標準的な技術を用いたグリホサート耐性作物の作出にも成功していない。要求される表現型が除草剤耐性である場合、生育チャンバー内またはほ場で実生に散布することにより、突然変異を誘発させた何百万の固体から個別の耐性植物を首尾よく選抜できる可能性がある場合もある。この方法は、イミダゾリノン耐性トウモロコシおよびダイズの栽培品種の商業的開発に用いられてきたが、グリホサート耐性植物の作出には成功していない。これは、すべての EPSPS の突然変異がグリホサート耐性と並行してホスホエノールピルビン酸塩に対する親和性を減少させることによる。その結果、グリホサート耐性植物は常に芳香族アミノ酸の生合成低下を示した。

遺伝子組換え技術は、さまざまな作物にグリホサート耐性をもたらすために利用されてきた。この方法では、グリホサート耐性酵素をコードする遺伝子を用いて植物が形質転換され、その植物はグリホサートによって阻害されずにアミノ酸の生合成のための基質を供給する。いくつかの例では、この酵素をコードする遺伝子によって与えられた耐性を、グリホサートを解毒するための酵素であるグリホサートオキシドレダクターゼ (GOX) をコードする2番目の遺伝子を発現させることによって、さらに増強させた (Padgett 他、1996年, Shah 他、1986年)。

第4節 グリホサート耐性をもたらす遺伝子と酵素

Roundup® 除草剤の活性成分であるグリホサートに対し、ほ場レベルの耐性度を与える3個の遺伝子が商業用の栽培品種に導入された。最初のグリホサート耐性 EPSPS 遺伝子が土壌細菌である *Agrobacterium* から単離された (Barry、他、1994年、Duke、1996年)。この *Agrobacterium* 由来の EPSPS シンターゼは、グリホサートに対して非常に耐性が高いものであった。EPSPS シンターゼが植物中で発現する場合、(天然に遍在する) 植物型の EPSPS 酵素がグリホサートに対して感受性であるのに対し、この *Agrobacterium* の遺伝子によってコードされる EPSPS は、グリホサート存在下でその植物が必要とする芳香族アミノ酸の必要性を満足させる。*Agrobacterium* 属の種は、ヒトまたは動物に対する病原菌ではないが、植物によっては病原菌となる種もある (Croon、1996年、Holt、1984年)。

最近、グリホサート耐性酵素を得るため、*in vitro*においてトウモロコシ (*Zea mays*) 由来の EPSPS 遺伝子に突然変異が誘発された。改変されたトウモロコシの遺伝子から産生された耐性型酵素は、もととなった酵素と99.3%同一である (Monsanto、1997年)。

また、グリホサートオキシドレダクターゼ (GOX) と称されるグリホサート分解酵素をコードする遺伝子が天然に遍在する土壌細菌である *Achromobacter* の LBAA 株から分離された (Barry et al. 1994)。この遺伝子によってコードされる酵素は、グリホサートの除草効果を失活させる。グリホサートオキシドレダクターゼは、グリホサートからアミノメチルホスホン酸 (AMPA) とグリオキシル酸への変換を触媒する。GOX は、その活性にフラビンアデニンジヌクレオチド (FAD) およびマグネシウムを必要とする。従って、より適切にはアポ酵素といえる。

グリホサート作用の標的である EPSPS 酵素は、細胞質で合成され、その後葉緑体に輸送される (Kishore および Shah、1988年)。葉緑体へのこのタンパク質の輸送は、葉緑体輸送ペプチド (CTP) と称される N-末端タンパク質配列によって行われる。CTPs は、通常、タンパク質の葉緑体への輸送後、成熟タンパク質から切断され、分解される (Della-Cioppa 他、1986年)。多くの場合、葉緑体輸送ペプチドを発現する植物由来のコード配列がグリホサート耐性を与えるそれぞれの遺伝子に連結される。このペプチドは、シキミ酸経路およびグリホサート作用の場である葉緑体に、新たに翻訳された酵素が移入することを促進する。

導入遺伝子を植物中で発現させる技術の利用は、現在ではごく一般的に行われる。細菌の遺伝子を植物内で効率的に発現させるため、植物中への遺伝子導入に先立って細菌を起源とする遺伝子のコドン使用パターンを改変することが研究者によって一般的に行われてきた。本件の場合、*Agrobacterium* のグリホサート耐性 EPSPS 遺伝子および

Achromobacter のグリホサートオキシダーゼ遺伝子を植物中で効率的に発現させることを目的に、コドンの最適化を図るため、これらの遺伝子のコドン使用パターンが化学的に合成された。結果として得られる酵素のアミノ酸配列には変化がない。通常、移行ペプチドのコード配列に結合された遺伝子が、プロモーター、ターミネーター、エンハンサー、およびイントロンといった調節塩基配列に連結される。これらの調節塩基配列は、通常、タンパク質をコードしていない (Croon, 1996年)。

これらの遺伝子は、グリホサート耐性を付与したり、形質転換植物を特定するための選択可能マーカーとして利用する目的で、(単独、または組み合わせて) 多くの植物種に遺伝子組換えされてきた。これらの遺伝子を有し、野外試験が実施された植物には、以下のものが含まれる。すなわち、*Beta vulgaris* (ビート)、*Zea mays* (トウモロコシ)、*Gossypium hirsutum* (ワタ)、*Lactuca sativa* (レタス)、*Populus* (ポプラ)、*Solanum tuberosum* (ジャガイモ)、*Brassica napus* (セイヨウナタネ)、*Glycine max* (ダイズ)、*Nicotiana tabacum* (タバコ)、*Lycopersicon esculentum* (トマト)、*Triticum aestivum* (コムギ) である。

OECD 加盟国は、遺伝子組換え植物の野外試験、および非制限放出を規制する政府機関を有している。このような植物についての情報は、さまざまな加盟国間で共有されている。OECDは、この情報交換のための電子データベース形式に関して支援を行っている。データベース情報は、最新かつ正確な情報を提供するために、定期的に更新される (<http://www.oecd.org/ehs/service.htm>)。

第5節 植物における導入遺伝子発現の影響

いずれの除草剤耐性植物も、その生活環において、除草剤に曝露されることは極めて低頻度である。グリホサート耐性をコードする酵素の産生を除き、植物の代謝に他の変化がないようにすべきである。グリホサートの散布後、導入遺伝子によって発現した酵素活性により、その植物は除草剤曝露に対し生存が可能となる。EPSPS が導入された場合、天然酵素との唯一の違いはそのグリホサートに対する非感受性のみであり、新たな代謝産物は形成されない。しかしながら、遺伝子導入の結果、発現レベルが非常に高くなる場合には、下流の代謝産物のレベルが変化する可能性がある。一方、GOX は、グリホサートが散布されると、グリホサートをアミノメチルホスホン酸 (AMPA) とグリオキシル酸に変換する (Torstensson, 1985年)。グリオキシル酸は、天然に発生する炭素循環に含まれる植物代謝産物であり、さらに代謝されて、クレブス回路のための中間体を生成する。GOXは、その基質であるグリホサートに対して非常に特異的であるため、グリホサートが存在しない場合には、代謝産物は生じない。米国環境保護庁は、植物および動物の農産物中のグリホサート残留物のみが規制されるものであり、その代謝産物である AMPA は、食物中のそのレベルにかかわらず、毒物学上の懸念となるものではないとの判断を下した (米国 EPA, 1997年)。グリホサート除草剤耐性植物に関係する決定についての情報は、以下のサイトで参照することができる。

<http://www.olis.oecd.org/bioprod.nsf>

http://www.cfia-acia.agr.ca/english/plant/pbo/home_e.html (カナダ)

<http://ss.s.affrc.go.jp/docs/sentan/eguide/commerc.htm> (日本)

<http://www.aphis.usda.gov/biotech/petday.html> (米国)

http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scp/outcome_en.html (欧州委員会)

ウェスタンブロットおよび酵素活性測定によって、*Agrobacterium* CP4 株由来の EPSPS タンパク質を人工胃液中でインキュベートした場合、2分以内に即座に分解されることが示されている。この酵素の活性、および免疫反応性は、人工腸液中ではそれよりも長く、10分間では検出される状態にあるが、270分では検出不能となる。GOX タンパク質は、人工胃液中および腸液中で急速に分解される。ウェスタンブロット分析によれば、GOX は胃液中で15秒間インキュベーションした後では、そのタンパク質の90%未満の抗原決定基を有しており、胃液中で1分間インキュベートした後の分析では、その酵素の活性が90%以上失活している。人工腸液においても同様の結果が認められている (米国環境保護庁、1996年および1997年)。

このような植物は、その親の植物と同様の農業生産力を有することから、GOX およびグリホサート耐性 EPSPS の発現が植物の生育に対して有害となることはないといえる。米国 (米国農務省、1994年、1995年、1997年)、カナダ (カナダ農務農産食品省、

1995年、1996年）、日本（農林水産省、1996年）および欧州連合（欧州委員会、1998年a, b）の政府の規制当局は、EPSPS および GOX タンパク質が植物中に存在することによって、その植物が環境中で危険性をもたらすことはないとの判断を下した。いくつかの一連の証拠は、これらの酵素が哺乳類に対して低毒性であるとの結論を支持している。すなわち、（1）これらの酵素は、いずれも既知のアレルゲンや哺乳類に対する毒素とアミノ酸との相同性を示さない（Burke および Fuchs、1996年）。（2）これらの酵素の高濃度による急性経口投与毒性試験のデータは、毒性を示さなかった（Harrison 他、1996年）。細菌由来の CP4 EPSPS タンパク質の急性経口投与毒性試験では、試験動物の体重1 kg 当たり572 mg の投与（mg/kg）において、被検物質による悪影響は示されなかった。細菌由来の GOX タンパク質の急性毒性試験では、試験動物への91.3 mg/kg の投与において、被検物質による悪影響は示されなかった。（3）両酵素は、熱または弱酸性条件によって容易に不活性化され、また*in vitro*の消化性試験において容易に分解された。このことは、経口投与毒性のないことと一貫性がある（米国環境保護庁、1996年、1997年）。この2種の酵素がほとんど毒性を示さないことは、大抵の酵素が脊椎動物に対して有毒ではないとみなされるという見解と矛盾するものではない（Kessler 他、1992年）。非常に異なった接触シナリオを有するジフテリア毒素およびヘビの毒液中に存在するある種の酵素は、明らかな例外である。

米国（食品医薬品局、1996年）、カナダ（カナダ農務農産食品省、1995年、1996年）、日本、および欧州連合の政府の規制当局は、環境に放出された植物中の EPSPS および GOX タンパク質の存在が重大なアレルゲンとしての危険性を引き起こすことはないとの判断を下した。異なるふたつの一連の証拠が、これらの酵素が潜在的なアレルゲンではないことを支持している。すなわち、（1）一般的なアレルゲンは、熱、酸、およびタンパク質分解酵素による分解に対して抵抗性を示す傾向にあり、グリコシル化されており、食物中に高濃度で存在することが、最新の科学的知見により示されている。EPSPS および GOX タンパク質は、*in vitro*で胃液によって急速に分解され、またグリコシル化されていない。従って、これらのタンパク質の食物アレルゲンとしての潜在性はごくわずかである（Astwood 他、1996年、Burke および Fuchs、1996年）。（2）あるタンパク質の遺伝子配列を他の既知のアレルゲンをコードする遺伝子と比較するために、国際的な遺伝子データベースを利用することが可能である。配列中に8個の全く同じ連続したアミノ酸の一致があることを類似性と規定した場合、疾患に関与する既知のアレルゲン、またはタンパク質のアミノ酸配列に、EPSPS または GOX タンパク質と類似性を示すものは存在しなかった。同様に、配列中に8個の連続したアミノ酸の一致があることを類似性と規定した場合、セリアック病に関与する既知のアレルゲン、またはタンパク質のアミノ酸配列に、EPSPS または GOX タンパク質と類似性を示すものは存在しなかった（米国環境保護庁、1997年）。

第5節 参考文献

Agriculture and Agri-food Canada (as of 1 April 1997, the Canadian Food Inspection Agency). 1995. Monsanto Canada Inc.'s Glyphosate-tolerant soybean (*Glycine max* L.) Line GTS 40-3-2. DD95-05.

(Available electronically at <http://www.cfia-acia.ca/english/food/pbo/bhome.html>)

Agriculture and Agri-food Canada, Food Production and Inspection Branch (as of 1 April 1997, the Canadian Food Inspection Agency). 1996. Monsanto Canada Inc.'s Roundup Herbicide-Tolerant *Brassica napus* Canola line GT200. DD96-07.

(Available electronically at <http://www.cfia-acia.ca/english/food/pbo/bhome.html>)

Anderson, K.S. and Johnson, K.A. 1990. Kinetic and structural analysis of enzyme intermediates: lessons from EPSP synthase. *Chem. Rev.* 90: 1131-1149.

Astwood, J.D., Leach, J.N. and Fuchs, R.L. 1996. Stability of food allergens to digestion in vitro. *Nature Biotechnology* 14:1269-1273.

Barry, G., Kishore, G., Padgette, S., Taylor, M., Kolacz, K., Weldon, M., Re, D., Eichholtz, D., Fincher, K. and Hallas, L. 1992. In: Singh, B.K., Flores, H.E. and Shannon, J.C. (eds.), *Biosynthesis and Molecular Regulation of Amino Acids in Plants*. American Society of Plant Physiologists, Madison, Wisconsin, pp. 139-145.

Barry, G.F., Taylor, M.L., Padgette, S.R., Kolacz, K.H., Hallas, L.E., Della-Cioppa, G. and Kishore, G.M. 1994. Cloning and Expression in *Escherichia coli* of the Glyphosate-to-Aminomethylphosphonic Acid Degrading Activity from *Achromobacter* sp. strain LBAA. Monsanto Technical Report MSLB13245, St. Louis.

Burke, A.W. and Fuchs, R.L. 1996. Assessment of the endogenous allergens in glyphosate-tolerant and commercial soybean varieties. *J. Allergy and Clinical Immunology* 96:1008-1010.

Croon, K.S. 1996. Petition for Determination of Nonregulated Status: Insect-protected Roundup Ready Corn Line MON 802. USDA Petition No. 96 - 317 - 01P.

Della-Cioppa, G., Bauer, S.C., Klein, B.K., Shah, D.M., Fraley, R.T. and Kishore, G. 1986. Translocation of the precursor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase into chloroplasts of higher plants in vitro. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 83: 6873-6877.

Della-Cioppa, G., Bauer, S.C., Taylor, M.T., Rochester, D.E., Klein, B.K., Shah, D.M., Fraley, R.T. and Kishore, G.M. 1987. Targeting a herbicide-resistant enzyme from *Escherichia coli* to chloroplasts of higher plants. *Bio/Technology* 5: 579-584.

Devine, M., Duke, S.O. and Fedtke, C. 1993. *Physiology of Herbicide Action*. Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ, pp. 251-294.

Duke, S.O. 1996. *Herbicide resistant crops*. CRC Press, New York.

European Commission, Directorate General XXIV, Policy and Consumer Health Protection: Scientific Committee on Plants. 1998a. Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding submission for placing on the market of fodder beet tolerant to glyphosate notified by DLF-Trifolium, Monsanto and Danisco Seed (notification C/K/97/01)(Opinion expressed by SCP on 23 June 1998).

(See: http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scp/out16_en.htm)

European Commission, Directorate General XXIV, Policy and Consumer Health Protection: Scientific Committee on Plants. 1998b. Opinion of the Scientific Committee on Plants regarding the genetically modified cotton tolerant to glyphosate herbicide notified by the Monsanto Company (notification C/ES/97/01) (Opinion expressed by the SCP on 14 July 1998).

(See: http://europa.eu.int/comm/dg24/health/sc/scp/out17_en.htm)

Hallas, L.E., Hahn, E.M. and Korndorfer, C. 1988. Characterization of microbial traits associated with glyphosate biodegradation in industrial activated sludge. *J. Ind. Microbiol.* 3: 377-385.

Harrison, L.A., Bailey, M.R., Naylor, M.W., Ream, J.E., Hammond, B.G., Nida, D.L., Burnette, B.L., Nickson, T.E. and Mitsky, T.A. 1996. Recombinant 5-enolpyruvylshikimate 3-phosphate synthase in glyphosate-tolerant soybeans is digestible. *J. Nutr.* 126 (3) 728-40.

Holt, J.G., editor-in-chief. 1984. *Bergey's Manual of Systematic Bacteriology*. William and Wilkins, Baltimore.

Japan, Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries. 1996. *Current Status of Commercialization of Transgenic Crop Plants in Japan*.

(Available electronically at <http://ss.s.affrc.go.jp/docs/sentan/index.htm>)

Kessler, D.A., Taylor, M.R., Maryanski, J.H., Flamm, E.L. and Kahl, L.S. 1992. The safety of

foods developed by biotechnology. *Science* 256:1747-1732.

Kishore, G. and Shah, D. 1988. Amino acid biosynthesis inhibitors as herbicides. *Annu. Rev. Biochem.* 57: 627-663.

Levin, J.G. and Sprinson, D.B. 1964. The enzymatic formation and isolation of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate. *J. Biol. Chem.* 239: 1142B1150.

Malik, V.S. 1979. Genetics of applied microbiology. *Advances in Genetics* 20, 37-126.

Malik, V.S. 1986. Genetics of Secondary Metabolism in Biotechnology, Vol. 4, pp. 39-68. H.-J. Rehm and G. Reed (eds.), Springer-Verlag, New York, VCH Verlagsgesellschaft, Weinheim.

Metcalf, D.D., Astwood, J.D., Townsend, R., Sampson, H.A., Taylor, S.L. and Fuchs, R.A. 1996. Assessment of the allergenic potential of foods derived from genetically engineered crop plants. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* 36 (S):S165-186.

Monsanto. 1995. Petition for Determination of Nonregulated Status: Insect-protected Roundup Ready Corn Line MON 802. (Submitted to United States Department of Agriculture, Petition No. 96B317B01P.)

Monsanto. 1997. Petition for determination of nonregulated status: Roundup Ready Corn Line GA21 (Submitted to United States Department of Agriculture, Petition No. 97-099-01P.) (Copies of the documents are available from USDA-APHIS, Unit 147, 4700 River Road, Riverdale, Maryland 20737.)

Nida, D.L., Kolacz, K.H., Buehler, R.E., Deaton, W.R., Schuler, W.R., Armstrong, T.A., Taylor, M.L., Ebert, C.C. and Rogan, G.J. 1996. Glyphosate-tolerant cotton: Genetic characterization and protein expression. *J. Agric. Food Chem.* 44 (7) 1960-1966.

Organisation for Economic Cooperation and Development. 1992. Good Developmental Principles (GDP): Guidance for the Design of Small-Scale Research with Genetically Modified Plants and Micro-organisms. In: *Safety Considerations for Biotechnology*. OECD Publications, pp. 27-50.

Organisation for Economic Cooperation and Development. 1993. *Safety Considerations for Biotechnology: Scale-up of Crop Plants*. OECD Publications, 40pp.

Padgett, S.R., Kolacz, K.H., Delannay, X., Re, D.B., La Vallee, B.J., Tinius, C.N., Rhodes,

W.K., Otero, Y.I., Barry, G.F., Eichholtz, D.A., Peschke, V.M., Nida, D.L., Taylor, N.B. and Kishore, G.M. 1995. Development, identification, and characterization of a glyphosate-tolerant soybean line. *Crop Science* 35 (5) 1451-1461.

Padgett, S.R., Re, D.B., Barry, G.F., Eichholtz, D.E., Delannay, X., Fuchs, R.L., Kishore, G.M. and Fraley, R.T. 1996. New weed control opportunities: Development of soybeans with a Roundup Readygene. In: Duke, S.O. (ed.), *Herbicide-resistant crops: Agricultural, environmental, economic, regulatory, and technical aspects*. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, and London, England, pp. 53-84.

Shah, D., Horsch, R., Klee, H., Kishore, G., Winter, J., Tumer, N., Hironaka, C., Sanders, P., Gasser, C., Aykent, S., Siegel, N., Rogers, S. and Fraley, R. 1986. Engineering herbicide tolerance in transgenic plants. *Science* 233: 478-481.

Steinrucken, H.C. and Amrhein, N. 1980. The herbicide glyphosate is a potent inhibitor of 5-enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase. *Biochem. Biophys. Res. Comm.* 94:1207-1212.

Steinrucken, H.C. and Amrhein, N. 1984a. 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase of *Klebsiella pneumoniae*: inhibition by glyphosate [N-(phosphonomethyl)-glycine]. *Eur. J. Biochem.* 143:351-357.

Steinrucken, H.C. and Amrhein, N. 1984b. 5-Enolpyruvylshikimate-3-phosphate synthase of *Klebsiella pneumoniae*. I. Purification and properties. *Eur. J. Biochem.* 143:341-349.

Torstensson, L. 1985. Behavior of glyphosate and its degradation. In: Grossbard, E. and Atkinson, D. (eds.), *The Herbicide Glyphosate*. Butterworths, Boston, pp. 137-150.

United States Department of Agriculture. 1994. Petition under 7CFR Part 340. Petition Number 93-258-01p, Monsanto, Soybean, Herbicide Tolerance, Glyphosate-tolerant. Approved 5/19/94. (See: <http://www.aphis.usda.gov/bbep/bp/petday.html>)

United States Department of Agriculture. 1995. Petition under 7CFR Part 340. Petition Number 95-045-01p, Monsanto, Cotton, Herbicide Tolerance, Glyphosate-tolerant. Approved 7/11/95. (See: <http://www.aphis.usda.gov/bbep/bp/petday.html>)

United States Department of Agriculture. 1997. Petition under 7CFR Part 340. Petition Number 96-317-01p, Monsanto, Cotton, Herbicide Tolerance, Glyphosate-tolerant. Approved 5/27/97. (See: <http://www.aphis.usda.gov/bbep/bp/petday.html>)

United States Environmental Protection Agency. 1996. Plant pesticide inert ingredient CP4 enolpyruvylshikimate-3-3 and the genetic material necessary for its production in all plants. Federal Register, Vol. 61, No. 150, pp. 40338-40340.

(Available electronically at <http://www.access.gpo.gov>)

United States Environmental Protection Agency. 1997. Glyphosate oxidoreductase and the genetic material necessary for its production in all plants; exemption from tolerance requirements on all raw agricultural commodities. Federal Register, Vol. 62, No. 195, pp. 52505-52509).

(Available electronically at <http://www.access.gpo.gov>)

United States Food and Drug Administration. 1996. FDA Evaluation of Bioengineered Soybean & Corn Varieties.

(Available electronically at <http://vm.cfsan.fda.gov/~lrd/biotechm.html>)

QUESTIONNAIRE TO RETURN TO THE OECD

This is one of a series of OECD Consensus Documents that provide information for use during regulatory assessment of particular micro-organisms, or plants, developed through modern biotechnology. The Consensus Documents have been produced with the intention that they will be updated regularly to reflect scientific and technical developments.

Users of Consensus Documents are invited to submit relevant new scientific and technical information, and to suggest additional related areas that might be considered in the future.

The questionnaire is already addressed (see reverse). **Please mail or fax this page (or a copy) to the OECD, or send the requested information by E-mail:**

**OECD Environment Directorate
Environmental Health and Safety Division
2, rue André-Pascal
75775 Paris Cedex 16, France**

**Fax: (33) 01 45 24 16 75
E-mail: ehscont@oecd.org**

For more information about the Environmental Health and Safety Division and its publications (most of which are available electronically at no charge), consult <http://www.oecd.org/ehs/>

- =====
1. Did you find the information in this document useful to your work?
 Yes No

 2. What type of work do you do?
 Regulatory Academic Industry Other (please specify)

 3. Should changes or additions be considered when this document is updated?

 4. Should other areas related to this subject be considered when the document is updated?

| |
|--|
| Name: |
| Institution or company: |
| Address: |
| City: Postal code: Country: |
| Telephone: Fax: E-mail: |
| <u>Which</u> Consensus Document are you commenting on? |

FOLD ALONG DOTTED LINES AND SEAL

| |
|------------------------|
| PLACE STAMP HERE |
|------------------------|

**OECD Environment Directorate
Environmental Health and Safety Division
2, rue André Pascal
75775 Paris Cedex 16
France**

原本は OECD により下記のタイトルで、英語で出版されたものである：

Series on Harmonisation of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 10
CONSENSUS DOCUMENT ON GENERAL INFORMATION CONCERNING THE
GENES AND THEIR ENZYMES THAT CONFER TOLERANCE TO GLYPHOSATE
HERBICIDE

©1999 全ての権利は OECD に保持されている。

©2009 日本語編は日本の環境省が OECD（パリ）の了解を得て作成した。
日本語訳の質及び原文との整合性についての責任は、環境省にある。