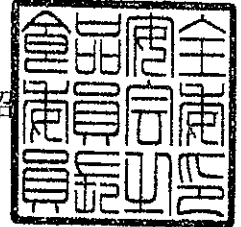




府食第638号
平成16年6月10日

厚生労働大臣
坂口 力 殿

食品安全委員会
委員長 寺田 雅昭



食品健康影響評価の結果について

平成15年10月30日付け厚生労働省発食安第1030002号をもって貴省より当委員会に対し食品健康影響評価の意見を求められた食品のうち、下記の食品については、「遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準」に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないものと判断しましたので通知します。
なお、審議結果については、別添のとおりです。

記

品 目 名	申 請 者
LLCotton25	バイエルクロップサイエンス(株)

(別添)

遺伝子組換えワタ「LLCotton25」に係る食品健康影響評価

I はじめに

食品安全委員会は食品安全基本法に基づき、厚生労働省より、「LLCotton25」の安全性の審査に係る食品健康影響評価について意見を求められた。(平成 15 年 10 月 30 日、関係書類を接受)

II 評価対象食品の概要

品 種 : ワタ (品目名:「LLCotton25」)
性 質 : グルホシネート除草剤抵抗性
申請者 : バイエルクロップサイエンス株式会社
開発者 : バイエルクロップサイエンス株式会社

「LLCotton25」は、グラム陽性放線菌 *Streptomyces hygroscopicus* ATCC21705 株に由来する *bar* (*bialaphos resistance*) 遺伝子を導入して作製され、発現する酵素 PAT (phosphinothricin acetyltransferase) により、除草剤グルホシネートの影響を受けずに生育することができるワタである。

一般にワタにおける可食部位は綿実であり、食品としての主な用途は綿実油として、家庭用サラダ油やてんぷら油に使用の他、マヨネーズその他スナック菓子の原材料として広く用いられている。

III 食品健康影響評価

第 1 安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項

1 宿主及び導入DNAに関する事項

(1) 宿主の種名及び由来

宿主植物として用いたワタ、*Gossypium hirsutum* は、Malvaceae 科または Mallow 科の *Gossypium* 属に属する植物である。今回組換えに用いた品種は Coker312 で SEEDCO 社 (米テキサス州) の米国保護品種である。Coker312 は Coker100 と D&PL-15 の交配から開発されたものである。

(2) DNA 供与体の種名

LLCotton25 に挿入された *bar* 遺伝子は、*Streptomyces hygroscopicus* ATCC21705 株から分離されている。これはグルホシネートの除草作用に対する耐性をもたらす酵素 PAT をコードしている。

(3) 導入DNAの性質及び導入方法

組換え植物のゲノムに組み込まれた *bar* 遺伝子は、アセチル基転移酵素を発現させる。この酵素は、グルホシネートをアセチル化し、N-アセチルグルホシネートとし、グルホシネートによるグルタミン合成酵素の阻害作用を不活性化する。これによりグルホシネートの除草作用に対して耐性を付与する。

bar 遺伝子は、アグロバクテリウムを用いたバイナリーベクター法でワタゲノム中に導入された。

2 宿主の食経験に関する事項

ワタ (*Gossypium* 属) は主に繊維を得るために栽培されてきた一方で、その綿実には油脂を含むことから、食用油 (綿実油) としても利用されてきた。米国においては、綿実油は、大豆油とコーン油に次いで第3位の生産量がある。

日本において綿実油は高級な食用油として食されている。

3 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項

(1) 宿主の可食部分の主要栄養素等 (タンパク質、脂質等) の種類及びその量

ワタの可食部である綿実の主要栄養組成は水分 7.0-11.0%、脂質 12.0-32.0%、粗タンパク 11.8-26.8%、灰分 3.3-4.9%、炭水化物 36.3-64.2%、粗繊維 20.8-33.1%と報告されている (参考文献①)。

(2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質 (栄養素の吸収、代謝を阻害する物質。例えばトリプシンインヒビター、フィチン酸等) 等の種類及びその量の概要

ワタはゴシポール、シクロプロペン脂肪酸といった有害成分を生産することが知られているが、ゴシポールは精製過程で除去されている (参考文献②③)。また、シクロプロペン脂肪酸はワタに存在する独特の脂肪酸であるが、精製過程での水素添加や 230~235℃での脱臭操作により有害性が失われるか、または油から除去される (参考文献③④⑤)。

4 宿主の組換え体の食品としての利用方法及びその相違に関する事項

(1) 収穫時期 (成熟程度) と貯蔵方法

ワタの播種から収穫までの日数は最も良い条件で 100 日から7ヶ月くらいであり、LLCotton25 の栽培においても相違はない。また、収穫後の収穫物の使用方法や貯蔵方法にも相違はない。

(2) 摂取 (可食) 部位

非組換えワタと LLCotton25 との可食部に相違はない。

(3) 摂取量

日本においてワタは主に綿実油として摂取される。一日一人当たりの油脂類摂取量は 11.3g (平成 13 年、国民栄養調査結果) であり、この摂取量中に含まれる。

(4) 調理及び加工方法

非組換えワタと LLCotton25 との加工方法に相違はない。

5 宿主以外のものを比較対象に追加している場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項

宿主以外のものは比較対象としていない。

6 安全性評価において検討が必要とされる相違点

LLCotton25 において、*bar* 遺伝子の挿入により PAT タンパク質が産生されていることが、宿主との相違点と考えられる。

以上、1~6 により、LLCotton25 の安全性評価においては、既存のワタとの比較が可能であると判断された。

第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

LLCotton25 のゲノムに組み込まれた *bar* 遺伝子は、PAT タンパク質を産生し、グルホシネート除草剤の作用を不活性化する。これにより植物の枯死（除草効果）を妨げる。この作用によりグルホシネート耐性組換え植物は、その栽培中にグルホシネートを散布しても影響を受けずに作物の成長を続ける一方、耐性を持たない一般の雑草の防除をすることが可能になる（参考文献⑥）。

第3 宿主に関する事項

1 分類学上の位置付け（学名、品種及び系統名等）

宿主植物として用いたワタ (*Gossypium hirsutum*) の品種は SEEDCO 社の Coker312 である。

Coker312 は、Coker100 と D&PL-15 の交配から開発され、系統選抜の継代を通して選択されたものである（参考文献⑦）。

2 遺伝的祖先並びに育種開発の経緯

地域別に存在する幾種もの在来種のワタが交雑し、現在の栽培用のワタが開発されたと考えられる。

3 有害生理活性物質の生産

ワタはゴシポール、シクロプロペン脂肪酸といった有害成分を生産することが知られている。

(1) ゴシポール

ゴシポールは多くの *Gossypium* 属植物に通常認められるテルペン類であり、食欲減退、体重減少、消化不良等の問題を引き起こす（参考文献②）。ゴシポールは種子全体に遊離した形か、粉末に加工する過程においてアミノ酸のリシンか又は他の成分に結合した形で存在する。なお、精製された綿実油にはゴシポールは存在しない（参考文献③）。

(2) シクロプロペン脂肪酸

ステルクリン酸 (C-19) やマルバリン酸 (C-18) などのシクロプロペン脂肪酸（綿実油の中に 0.1-1.3%）はワタに通常存在する脂肪酸である（参考文献④⑤）。このシクロプロペン脂肪酸はステアリン酸からオレイン酸への不飽和化を阻害し、その結果、膜の透過性が変化する。なお、これらの脂肪酸は精製時の水素添加や 230~235°C での脱臭時に有害性が失われるか、または油から除去される（参考文献③）。

4 アレルギー誘発性に関する事項

ワタが原因となる明確な食物アレルギーが生じたという報告はない。

5 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項

ワタの病気は多く知られているが、これらのワタに感染する病原体について、ヒトに対して病原性をもつという報告はない。

6 安全な摂取に関する事項

綿実油は古くから食用油として利用されており、主に家庭用のサラダ油やてんぷら油に利用されている。

綿実油に加工されることにより、ゴシポール等の有害生理活性物質は除去される。現状においては特に問題にはならない。

7 近縁の植物種に関する事項

Gossypieae 亜科にはゴシポールが含まれており、これを摂取すると、内臓器官、肺の炎症を起こすことが知られている。実験動物では呼吸困難、麻痺を起こすことが報告されている。当該亜科に含まれる8つの属のうち1つが *Gossypium L.* 属であり、この中に宿主である Coker312 が含まれている。

第4 ベクターに関する事項

1 名称及び由来に関する事項

LLCotton25 を作製するためのベクターはプラスミド pGSV1 を用いて作出した。

プラスミド pGSV1 は、プラスミド pGSC1700 を基に作製され、プラスミド pBR322 (参考文献⑧) に由来する複製起点を有し、また *Rhizobium radiobacter (Agrobacterium tumefaciens)* における複製を可能にするために *Pseudomonas* のプラスミド pVS1 (参考文献⑨) 由来の複製起点も含まれている。

2 性質に関する事項

・DNA の塩基数及びその塩基配列を示す事項

プラスミド pGSV1 の塩基数は 8033bp である。

・プラスミド中の既知の有害塩基配列等の有無

プラスミド pGSV1 に存在する全ての遺伝子は、その特性が各々明らかとなっており、既知の有害な塩基配列を含んでいない。

・薬剤耐性

プラスミド pGSV1 は、大腸菌および *Rhizobium radiobacter (Agrobacterium tumefaciens)* においてストレプトマイシンおよびスペクチノマイシンに耐性を付与する選択マーカー遺伝子(大腸菌由来 *aadA* 遺伝子)を持っている。

aadA 遺伝子は、大腸菌を用いてプラスミド pGSV1 を構築する際に選択マーカーとして用いたもので、この遺伝子は植物で機能するプロモーターを持たないため、植物での発現は考えられない。また、本遺伝子は T-DNA の外部に位置しているのでワタゲノム中には挿入されなかった。

・伝達性

pBR322 及び pVS1 に由来するプラスミド pGSV1 の宿主としては大腸菌や *Rhizobium radiobacter (Agrobacterium tumefaciens)* などの細菌が知られており、実験室での操作に使用されているが、ワタのような植物体ではこのプラスミドは伝達性を持たない。

第5 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項

1 挿入DNAの供与体

LLCotton25 に挿入された *bar* 遺伝子は、*Streptomyces hygrosopicus* ATCC21705 株から分離された(参考文献⑩)。*Streptomyces* 属はグラム陽性芽胞形成性土壌細菌(放線菌)であり、ヒトによる直接的な食経験はないが、病原性等の問題は報告されていない。

2 挿入DNAまたは遺伝子(抗生物質マーカー遺伝子を含む。)及びその遺伝子産物の性質

bar 遺伝子は *Streptomyces hygrosopicus* ATCC21705 株からクローニングされた(参考文献⑩)。挿入DNAの遺伝要素は表のとおりであり、制限酵素による切断地図、機能等は明らかとなっている。なお、抗生物質耐性マーカー遺伝子は導入されていない。

3 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

(1) プロモーターに関する事項

bar 遺伝子の転写に必要なプロモーターはカリフラワーモザイクウイルス(CaMV)の35Sプロモーターが用いられている(参考文献⑪)。

(2) ターミネーター

ターミネーターには、ノパリン合成酵素遺伝子(*nos*)から得た3' *nos* ターミネーター(3' 非翻訳領域)が用いられている(参考文献⑫)。

(3) その他

特に発現制御に関わるエンハンサーは導入されていない。

4 ベクターへの挿入DNAの組込方法に関する事項

LLCotton25 の作出に用いた発現ベクターpGSV71 は、pGSC1700(参考文献⑬)に由来する植物形質転換用ベクターpGSV1のT-DNA内の余分な配列を除去した後、ポリリンカー配列を導入し、pGSV7を作製し、次に35Sプロモーター及び3' *nos* ターミネーターを含む *bar* 遺伝子カセットをpGSV7に導入することにより構築した。

5 構築された発現ベクターに関する事項

- ・ LLCotton25 は、発現ベクターpGSV71 を用いて作出された。
- ・ 発現ベクターpGSV71 の塩基数は9555bpである(GenBank AX705319.1)。本プラスミドの塩基配列は明らかとなっている。
- ・ LLCotton25 に導入された挿入部位はpGSV71のT-DNAに挟まれた領域であるが、その中には *bar* 遺伝子以外にはオープンリーディングフレームは存在しないことが明らかとなっている。
- ・ 発現ベクターpGSV71 においてアグロバクテリウム法によって導入される部位はT-DNAで挟まれた部位である。
- ・ 発現ベクターの各要素は純化され、目的外の遺伝子の混入はない。

・遺伝子組換えワタ LLCotton25 への挿入 DNA

略 称	ベクター上での位置	サイズ (bp)	機 能
RB	部分配列		導入遺伝子の右側境界の反復配列 (ライトボーター (RB))
リンカー	0223-0249	27	合成ポリリンカー配列
P35S3	0250-1634	1385	プロモーター領域 (<i>bar</i> 遺伝子の転写に必要な配列) カリフラワーモザイクウイルスから得た 35S プロモーター
<i>bar</i>	1635-2186	552	<i>bar</i> 遺伝子、グルホシネート除草剤耐性遺伝子
リンカー	2187-2205	19	合成ポリリンカー配列
3' nos	2206-2465	260	ターミネーター領域 (<i>bar</i> 遺伝子の転写の終結に必要な配列) パリン合成酵素遺伝子 (nos) から得た 3' nos ターミネーター
リンカー	2466-2519	54	合成ポリリンカー配列
LB	部分配列		導入遺伝子の左側境界の反復配列 (レフトボーター (LB))

6 DNA の宿主への導入方法及び交配に関する事項

発現ベクター pGSV71 (参考文献⑭) を用いて *Rhizobium radiobacter* (*Agrobacterium tumefaciens*) 形質転換法により、Coker312 品種由来の組織片 (胚軸から小根までの領域) が形質転換されている。組織片を完全な植物体に再生させ、さらにグルホシネートを含む再生培地を用いてグルホシネート耐性株が選択されている。選抜されたグルホシネート耐性株はポットに植えられ、温室で優良系統の選抜を、更には場で選抜を繰り返し行い、最終的に LLCotton25 系統が選抜された。

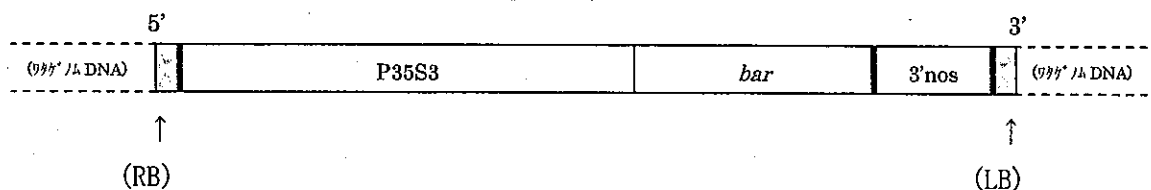
第 6 組換え体に関する事項

1 遺伝子導入に関する事項

(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

LLCotton25 ゲノムに挿入されたコピー数およびその完全性を確認するために、サザンブロット分析を行った結果、*bar* 遺伝子カセットの完全な 1 コピーがワタゲノムに組み込まれていることが示された。また、挿入近傍配列も明らかとなっている。

・組換えワタ LLCotton25 に挿入された DNA (模式図)



(2) オープンリーディングフレームの有無ならびにその転写及び発現の可能性

LLCotton25 に導入された DNA の塩基配列を決定し、発現ベクター pGSV71 上の T-DNA で挟まれた領域の塩基配列と比較したところ、相違はなかった。

bar 遺伝子はコザックコンセンサス配列を持つ翻訳開始点を有し、内部の ATG から目的以外のタンパク質を発現する可能性はないと考えられる。

LLCotton25 における挿入遺伝子の発現を調べるために、*bar* 遺伝子の相補鎖 RNA をプローブとしてノーザンブロット分析を行ったところ、*bar* 遺伝子は根、茎、葉、種子等の全ての組織において発現していることが確認された。また、想定される長さの RNA が作られていることが確認された。

2 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量

除草剤（グルホシネート・アンモニウム）を散布した場合の葉（生育の 4 段階）、有毛種子（綿毛を除いたもの）、種子（有毛種子からリント皮を除いたもの）中の PAT 含量の平均値はそれぞれ、約 57.7~98.3 $\mu\text{g/g}$ 生重、61.3~74.5 $\mu\text{g/g}$ 生重、108~136 $\mu\text{g/g}$ 生重（平均 127 μg ）、また、根、茎については、グルホシネート・アンモニウムを散布しなかった場合であるが、根で 5.63~10.1 $\mu\text{g/g}$ 、茎で 34.3~45.5 $\mu\text{g/g}$ であった。

3 遺伝子産物（タンパク質）が一日タンパク摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項

我が国においてワタは主に綿実油として摂取される。粗油及び脱臭油中において PAT タンパク質は検出されなかった。仮に検出限界値以下の PAT タンパク質が存在したとしても検出限界値は 10.4ng/g 試料であり、一日一人当たりの油脂類摂取量は 11.3g（平成 13 年 国民栄養調査結果）であることから、これを当該油脂で摂取したとしても、PAT タンパク質の一日一人当たりの予想摂取量は多くても 118ng となり、極めてわずかである。

4 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性

(1) 挿入遺伝子の供与体のアレルギー誘発性

bar 遺伝子の供与体である *Streptomyces hygroscopicus* が、アレルギーを誘発するという報告はない。

(2) 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性

bar 遺伝子産物である PAT タンパク質に関してアレルギーを誘発したという報告はない。

(3) 遺伝子産物（タンパク質）の物理化学的処理に対する感受性

① 人工胃液に対する感受性

組換え大腸菌により生産させた *bar* 遺伝子産物である PAT タンパク質を人工胃液中で 0.5~60 分間処理した結果、30 秒以内に消化されることが確認されている。

② 人工腸液に対する感受性

組換え大腸菌により生産させた *bar* 遺伝子産物である PAT タンパク質を人工腸液中で 0.5~60 分間処理した結果、5 分以内に消化されることが確認されている。

③ 加熱処理に対する感受性

PAT タンパク質を 40°C 以上で 15 分間保温した場合、酵素活性が失活することが確認されている。

(4) 遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン（グルテン過敏性腸疾患に関するタンパク質を含む。以下、アレルゲン等）との構造相同性

①アレルゲン等と *bar* 遺伝子産物についての全体的なアミノ酸配列相同性と、②アレルゲンエ

ピトーブになり得るアミノ酸配列長を単位とした部分的相同性について評価した(参考文献⑬)。

① 全体的相同性評価

*bar*遺伝子産物(PATタンパク質)と80残基の範囲で35%以上の相同性を示すタンパク質について検索を行ったところ、予想されたように種々の生物種由来のPATタンパク質(毒性及びアレルギー誘発性は報告されていない)に相同性を示したが、アレルゲン等のタンパク質とは相同性は検出されなかった。

② アレルゲンエピトーブになり得るアミノ酸配列長による評価

アレルゲンエピトーブになり得る可能性があるアミノ酸配列長を8個として、*bar*遺伝子産物(PATタンパク質)の全アミノ酸配列を部分毎に重複する形で、8連続アミノ酸を単位とするブロック毎に、データバンク中にあるアレルゲン等のアミノ酸配列に対して検索を行ったところ、完全に一致するものは存在しなかった。

以上のことから、*bar*遺伝子産物(PATタンパク質)は既知のアレルゲン等と一次構造において相同性を有しないと判断された。

なお、以上の検索には、Swiss-Prot(release 40.18)、trEMBL(release 20.8)、GeneSeq-Prot、PIR(Protein Identification Resources, release71.01)、PDB(Protein Data Bank, release99)、DAD(DDBJ Aminoacid sequence Databace, release18.0)、GenPept(release127.0)の各データベースが用いられた。

PATタンパク質のアレルギー誘発性について、(1)～(4)及び前項3から総合的に検討した結果、安全性を確認しうると判断された。

5 組換え体に導入された遺伝子の安定性

挿入DNAの安定性を調べるために後代種における挿入DNAのサザンブロット分析を行った。また異なった遺伝的背景におけるLLCotton25の安定性を証明するために、サザンブロット解析を自家交雑した5世代目までとFM989品種と戻し交雑した系統を用いて実施した結果、すべての試験サンプルにおいて、予測された内部T-DNA断片と右境界組み込み断片が確認され、ゲノムレベルでLLCotton25中の挿入遺伝子の安定性が確認された。

6 遺伝子産物(タンパク質)の代謝経路への影響

PATタンパク質は極めて高い基質特異性を有している。グルホシネート以外に生体内でPATタンパク質の基質となるものとして最も可能性の高い物質としては、親和性は極めて低いながらも δ -ヒドロキシリジンが考えられるが、植物中においてその存在は報告されていない。したがって新たに導入されたPATの基質となる物質はワタには存在せず、新たに導入されたPATタンパク質がワタの代謝経路に影響を与えることはないと考えた。

7 宿主との差異に関する事項

LLCotton25及び宿主(Coker312)の綿実について、主要構成成分、アミノ酸組成、脂肪酸組成等を分析、比較した。なお、比較に当たっては、ANOVA(分散分析)の統計手法による同等性(equivalence)解析が行われ、組換え体の平均値の95%両側信頼区間が比較対照の非組換え体における平均値の $\pm 20\%$ の変動内に収まっている場合は同等性(equivalence)があると判定されてい

る。

主要構成成分の分析では、粗脂肪、粗タンパク、粗繊維、灰分、酸性デタージェントファイバー (ADF)、中性デタージェントファイバー (NDF)、炭水化物、水分において、ANOVA による同等性が確認された。また、いずれの値も文献値の範囲内であった。

アミノ酸、脂肪酸組成についても、ペンタデカン酸を除き、ANOVA による同等性が確認された。なお、ペンタデカン酸については、定量限界以下の測定値が多く、ばらつきが大きかったためと考えられた。

カルシウム、リンなどの無機塩類、ビタミン E の含量の測定においては、カルシウムを除き、ANOVA による同等性は確認された。なお、カルシウムについても、測定値は文献値の範囲内であった。

綿実中の有害生理活性物質であるゴシポールおよびシクロプロペン脂肪酸に該当するステルクリン酸、マルバリン酸、ジヒドロステルクリン酸を分析したところ、ジヒドロステルクリン酸を除き、ANOVA による同等性が確認された。ジヒドロステルクリン酸を含め、いずれの測定値も文献値の範囲内であったことから問題ないと考えられる。

さらに、参考までに綿実精製油中のゴシポール等のデータが示されているが、ゴシポールは検出限界以下、シクロプロペン脂肪酸は文献値の範囲内であった。

以上のことから、既存のワタと比較して、生物学的に意味のある差異はないと考えられた。

8 諸外国における認可、食用等に関する事項

米国においては、2002 年 2 月、米国農務省に無規制栽培の申請を行い、2003 年 3 月に認可を得ている。また、2003 年 4 月に米国食品医薬品局 (FDA) に食品及び飼料としての安全性に関する協議を終了している。

日本では、2003 年 2 月、環境安全性の許可を得るために模擬的環境利用の申請を行い、4 月にその承認が得られ、現在、独立行政法人農業技術研究機構九州沖縄農業研究センターの隔離ほ場にて環境安全性の栽培試験を行っている。

9 栽培方法に関する事項

LLCotton25 と従来のワタの栽培方法の違いは、ワタの生育期間を通じて除草剤グルホシネートを利用できる点であり、それ以外は従来と同じである。

10 種子の製法及び管理方法に関する事項

LLCotton25 系統の種子の製法及び管理方法については、従来のワタ品種と同じである。

第 7 第 2 から第 6 までにより安全性の知見が得られていない場合は次の試験の成績に関する事項

第 2 から第 6 までにより安全性の知見が得られており、次に示された試験は必要ないと判断された。

なお、組換え大腸菌を用いて生産された PAT タンパク質を用いてマウスの急性静脈内投与試験が行われている。PAT タンパク質 1、10mg/kg をマウス各 5 匹に静脈内投与したところ、いずれの投与群でも死亡例はなく、15 日後の剖検においても異常な病理学的所見等は認められなかった (参考文献⑩)。

1. 急性毒性に関する試験
2. 亜急性毒性に関する試験
3. 慢性毒性に関する試験
4. 生殖に及ぼす影響に関する試験
5. 変異原性に関する試験
6. がん原性に関する試験
7. その他必要な試験 (腸管毒性試験、免疫毒素試験、神経毒性試験、栄養試験等)

IV 評価結果

遺伝子組換えワタ (品目名:「LLCotton25」) については、「遺伝子組換え食品 (種子植物) の安全性評価基準」に基づき評価した結果、ヒトの健康を損なうおそれはないものと判断された。

V 参考文献

- ① Lawhon J.T., Cater C.M., Mattil K.F. 1977. Evaluation of the food use potential of sixteen varieties of cottonseed. J. Am. Oil Chem. Soc. 54. 75-80. Abstract.
- ② Berardi L.C., Goldblatt L.A. 1980. Gossypol. In Toxic constituents of plant foodstuffs. 2nd Ed., I.I. Liener, ed., Academic Press, New York. 183-237.
- ③ Gunstone F.D., Harwood J.L., Padley F.B. 1994. In The Lipid Handbook, 2nd Edition (Chapman & al., eds.) London. University Press, Cambridge. pp. 13-14, 47-146.
- ④ Cherry J.P., Leffler H.R. 1984. Seed. In Cotton (Kohel, R.J. and Lewis, C.F., eds.) Amer. Soc. Agron. Madison, WI. 511-558.
- ⑤ Phelps R.A., Shenstone F.S., Kemmerer R.J., Evans, R.J. 1965. A review of cyclopropenoid compounds: biological effects of some derivatives. Poult. Sci. 44. 358-394.
- ⑥ OECD 1999. Series on Harmonization of regulatory oversight in biotechnology No.11 Consensus document on general information concerning the genes and their enzymes that confer tolerance to phosphinothricin herbicide. ENV/JM/MONO(99)13.
- ⑦ Metzger R.M., Supak J.R. 1990. Characteristics of Cotton Varieties Grown in Texas. Third Edition. Texas Agricultural Extension Service B1312. p. 34.
- ⑧ Bolivar F., Rodriguez R.L., Greene P.J., Betlach M.C., Heyneker H.L., Boyer H.W., Crosa J., Falkow S. 1977. Construction and characterization of new cloning vehicles. II. A multipurpose cloning system. Gene. 2. 95-113.
- ⑨ Itoh Y., Watson J.M., Haas D., Leisinger T. 1984. Genetic and molecular characterization of the Pseudomonas plasmid pVS1. Plasmid. 11. 206-220.
- ⑩ Murakami, T., Anzai, H., Imai, S., Sathah, A., Nagaoka, K., Thompson, C.J. 1986. The Bialaphos Biosynthetic Genes Of *Streptomyces Hygroscopicus*: Molecular Cloning And Characterization Of The Gene Cluster. Molec. Gen. Genet. 205:42-50.

- ⑪ Odell J.T., Nagy F., Chua, N-H. 1985. Identification of DNA Sequences Required for Activity of the Cauliflower Mosaic Virus 35S Promoter. *Nature*. 313. 810-812.
- ⑫ Depicker A., Stachel S., Dhaese P., Zambryski P., Goodman H.M. 1982. Nopaline synthase : transcript mapping and DNA sequence. *J. Molec. Appl. Genet.* 1. 561-573.
- ⑬ Cornelissen M., Vandewiele M. 1989. Nuclear transcriptional activity of the tobacco plastid *psbA* promoter. *Nucleic Acids Research*. 17. 19-29.
- ⑭ Reynaerts A. 1999. Description of vector pGSV71 (*Gossypium hirsutum*). Aventis Document # C004636. (未公表)
- ⑮ Evaluation of Allergenicity of Genetically Modified Foods, Report of a Joint FAO/WHO Expert Consultation on Allergenicity of Foods Derived from Biotechnology 22-25 January 2001.
- ⑯ Kennel P. 2002. PAT(Phosphinothricin-Acetyl-Transferase)protein derived from *bar* gene Acute toxicity by intravenous injection in the mouse. Bayer CropScience Report of study SA 01352 (未公表)