

昆虫分科会における検討の結果

- 1 名称:高染色性絹糸生産カイコ(改変 *Fibroin H, Bombyx mori*) (中 515 号×GCS500)
第一種使用等の内容:隔離飼育区画における幼虫の飼育(3 齢幼虫期以降から繭の
5 形成まで)並びに繭の生産、保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びにこれらに付随する行為

申請者:国立研究開発法人農業生物資源研究所

10 昆虫分科会は、申請者から提出された生物多様性影響評価書に基づき、第一種使用規程に従って本遺伝子組換えカイコの第一種使用等をする場合の生物多様性影響に関する申請者による評価の内容について検討を行った。主に確認した事項は以下のとおりである。

1 生物多様性影響評価の結果について

15 本組換えカイコは、

① 高染色性絹繊維蛋白質を産生する改変 *Fibroin H* 遺伝子¹⁾及び選抜マーカーとしてオワンクラゲ由来の *EGFP* 遺伝子(緑色蛍光蛋白質をコード)が組み込まれたドナープラスミド(pBac[3×P3-EGFPafm]_FibHmod)

20 ② *piggyBac* 転移酵素遺伝子が組み込まれたヘルパープラスミド(pHA3PIG)をそれぞれカイコの受精卵(胚)に顕微注入することにより、目的遺伝子(改変 *Fibroin H* 遺伝子及び *EGFP* 遺伝子)が染色体上に 1 コピー組み込まれた親系統と非組換えカイコ²⁾を交雑することにより得た雑種第一代である。

25 目的遺伝子の伝達及び発現の安定性については、親系統の継代及び雑種第一代(本組換えカイコ)においてサザンハイブリダイゼーション法及び RT-PCR 法により確認されている。なお、染色体上に *piggyBac* 転移酵素遺伝子が存在しないことが PCR 法により確認されている。

(1) 競合における優位性

30 宿主が属する生物種であるカイコは、我が国において長年にわたり飼育されてきたが、これまでカイコが野外に逸出して自然環境下で繁殖したとの報告はない。

また、仮に、カイコが自然環境下に放出されたとしても、

① 幼虫はほとんど移動できないため、餌となる桑に到達することができないこと

② カイコは近縁野生種であるクワコ(*B. mandarina*)と異なり、幼虫は保護色を有しないため、外敵となる野鳥や昆虫に速やかに捕食されてしまうこと

35 ③ また仮に、成虫が発生した場合でも、飛ぶことができないため、野鳥や昆虫に捕食される可能性が高いこと

から自然環境下で繁殖することは想定し難い。

40 さらに、本組換えカイコは、絹糸腺で改変 *Fibroin H* 蛋白質が、眼で緑色蛍光蛋白質が発現するが、これらの蛋白質が幼虫の運動性を高めたり、成虫に飛行能力を付与したりすることはなく、これらの蛋白質が競合における優位性を高めるとは考

1) 塩基性色素との結合性を高めるため、カイコ由来のフィブロイン H 鎖のうち、グリシン-アラニンのアミノ酸配列のほぼすべてを、グリシン-グルタミン酸を主とするアミノ酸配列に置換した改変 *Fibroin H* 蛋白質をコード

2) 中国種系統「中 515 号」

え難い。

5 本組換えカイコ及び対照の非組換えカイコとの間で形態及び生育の特性（幼虫の体重、孵化歩合、幼虫の行動範囲、営繭率、産卵範囲、産卵数、幼虫期間及び脱皮回数）を比較したところ、幼虫体重（2 齢期）及び産卵数について統計学的有意差は認められたが、非組換えカイコと比べて本組換えカイコのほうが適応度を高めるとは考え難い。

10 以上のことから、本申請の範囲内では、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 捕食性

15 カイコは幼虫期に与えられた桑葉のみを摂食し、桑葉以外の植物や昆虫等を摂食することはなく、成虫期には摂食や飲水は一切行わない。本組換えカイコでは、幼虫期に絹糸腺で改変 Fibroin H 蛋白質が、眼で緑色蛍光蛋白質が発現するが、これらの蛋白質が本組換えカイコの食性に変化を与え難い。

20 以上のことから、本申請の範囲内では、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、捕食性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(3) 有害物質の産生性

25 宿主が属する生物種であるカイコが、野生動植物等の生息又は生育に悪影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

また、養蚕農家では、一般的に飼育中に生じた桑葉等の残渣、カイコの糞及び死体等を敷地内の穴や桑畑に廃棄しているが、それら残渣等が野生動植物等に有害性をもたらしたとの報告もない。

30 本組換えカイコが産生する改変 Fibroin H 蛋白質及び緑色蛍光蛋白質は、既知の有毒蛋白質やアレルゲンと類似のアミノ酸配列を有さないことが確認されている。また、これら蛋白質は酵素活性を持たず、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生するとは考え難い。

35 実際に、本組換えカイコ及び対照の非組換えカイコの糞や死体をそれぞれ土壤に混合し、ブロッコリーの発芽・生育及び土壤微生物に与える影響を比較検討したところ、本組換えカイコ及び非組換えカイコとの間に統計学的有意差は認められなかった。

40 以上のことから、本申請の範囲内では、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(4) 交雑性

我が国には、カイコと交雑可能な近縁野生種としてクワコが生息しており、影響を受ける可能性のある野生動物としてクワコが特定された。

5 我が国の自然環境下において本組換えカイコとクワコが交雑した場合、本組換えカイコ由来の改変 *Fibroin H* 遺伝子及び *EGFP* 遺伝子が当該交雑体からクワコの集団に浸透し、定着する可能性が想定される。

10 カイコとクワコはいずれもメス成虫が放出する性フェロモン（ボンピコール）が同じであるため、自然環境下においてカイコのメス成虫が発した性フェロモンに誘引されて野生のクワコのオス成虫が飛来し、交尾する可能性が考えられる。一方、カイコのオス成虫は、飛翔能力が無いため、仮に自然環境下で野生のメスのクワコが発した性フェロモンを感知したとしても、当該クワコに到達することができず、交尾するとは考え難い。

15 そこで、日本各地で採集したクワコと、カイコの様々な系統について、母系遺伝するミトコンドリアのゲノム上にある COI (cytochrome c oxidase subunit I) 遺伝子の遺伝的多型を解析したところ、クワコのミトコンドリアにはカイコ型の COI 遺伝子が認められなかった。すなわち、自然環境下では、カイコのメス成虫に野生のクワコのオス成虫が交尾する可能性は極めて低いと考えられた。

20 本申請では、本組換えカイコを 3 齢幼虫期以降から繭の形成まで飼育し、繭はその後、冷凍又は乾燥により不活化することから、これら過程において成虫が発生する可能性は極めて低い。また、本申請では、万一、成虫が発生したとしても本組換えカイコのメス成虫は飛翔能力が無く、飼育施設の窓やシャッターには網が張られていることから、施設外からクワコのオス成虫が侵入することはないため、交尾する機会は得られない。仮に、餌となる桑葉に付着してクワコ幼虫や繭が施設内に侵入したとしても、本組換えカイコとクワコは外見や行動特性が異なることから容易に区別され、侵入したクワコを捕殺することが可能である。また、施設内でクワコのオス成虫が存在し、本組換えカイコのメス成虫と交尾したとしても、施設の窓やシャッターに網が張られているため、産卵は施設内に限られ、飼育終了後は施設内を清掃すること等から、卵は孵化前にすべて回収し、不活化することが可能である。

30 他方、飼育残渣については、カイコの幼虫、蛹及び繭が残存していないことを目視により確認し、廃棄することとしている。飼育残渣は一旦、屋外の残渣保管場所に移動し、その後、完全に網で覆って 30 日間保管することとしているため、仮に、カイコが残渣に残存していたとしても、その間、目視による捕殺が可能である。万一、網の中で本組換えカイコ同士が交尾し産卵したとしても、カイコ成虫は 15 日程度で死亡するため、網の外に放出されることは無い。加えて、卵を含む残渣については、休眠卵が完全に孵化する翌年の 6 月までエサとなる桑葉が存在しない区画に完全に隔離されるため、孵化したとしても生存することはできない。

40 このように、本申請における使用の範囲内で、本組換えカイコが成虫となって野外に放出されるおそれは低く、日本国内に生息する野生のクワコと交雑するとは考え難い。

以上のことから、本申請の範囲内では、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

5 2 昆虫分科会の結論

以上より、本組換えカイコは、限定された環境で一定の作業要領を踏まえた隔離飼育区画における幼虫の飼育（3齢幼虫期以降から繭の形成まで）並びに繭の生産、保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びにこれらに付随する行為では、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当であると判断した。

10

- 2 名称:高染色性絹糸生産カイコ(改変 *Fibroin H, Bombyx mori*) (中 515 号×GCS500)
第一種使用等の内容:隔離飼育区画における幼虫の飼育(3 齢幼虫期以降から繭の
形成まで)並びに繭の生産、保管、運搬、不活化処理及び廃
棄並びにこれらに付随する行為

5 申請者:国立研究開発法人農業生物資源研究所、群馬県蚕糸技術センター

昆虫分科会は、申請者から提出された生物多様性影響評価書に基づき、第一種使用
規程に従って本遺伝子組換えカイコの第一種使用等をする場合の生物多様性影響に
関する申請者による評価の内容について検討を行った。主に確認した事項は以下のと
10 おりである。

1 生物多様性影響評価の結果について

本組換えカイコは、

① 高染色性絹繊維蛋白質を産生する改変 *Fibroin H* 遺伝子¹⁾及び選抜マーカーと
15 してオワンクラゲ由来の *EGFP* 遺伝子(緑色蛍光蛋白質をコード)が組み込まれ
たドナープラスミド(pBac[3×P3-EGFPafm]_FibHmod)

② *piggyBac* 転移酵素遺伝子が組み込まれたヘルパープラスミド(pHA3PIG)
をそれぞれカイコの受精卵(胚)に顕微注入することにより、目的遺伝子(改変 *Fibroin*
H 遺伝子及び *EGFP* 遺伝子)が染色体上に 1 コピー組み込まれた親系統と非組換え
20 カイコ²⁾を交雑することにより得た雑種第一代である。

目的遺伝子の伝達及び発現の安定性については、親系統の継代及び雑種第一代(本
組換えカイコ)においてサザンハイブリダイゼーション法及び RT-PCR 法により確
認されている。なお、染色体上に *piggyBac* 転移酵素遺伝子が存在しないことが PCR
法により確認されている。

(1) 競合における優位性

宿主が属する生物種であるカイコは、我が国において長年にわたり飼育されてき
たが、これまでカイコが野外に逸出して自然環境下で繁殖したとの報告はない。

また、仮に、カイコが自然環境下に放出されたとしても、

- 30 ① 幼虫はほとんど移動できないため、餌となる桑に到達することができないこと
② カイコは近縁野生種であるクワコ(*B. mandarina*)と異なり、幼虫は保護色を
有しないため、外敵となる野鳥や昆虫に速やかに捕食されてしまうこと
③ また仮に、成虫が発生した場合でも、飛ぶことができないため、野鳥や昆虫に
捕食される可能性が高いこと

35 から自然環境下で繁殖することは想定し難い。

さらに、本組換えカイコは、絹糸腺で改変 *Fibroin H* 蛋白質が、眼で緑色蛍光蛋
白質が発現するが、これらの蛋白質が幼虫の運動性を高めたり、成虫に飛翔能力を
付与したりすることはなく、これらの蛋白質が競合における優位性を高めるとは考
え難い。

40 本組換えカイコ及び対照の非組換えカイコとの間で形態及び生育の特性(幼虫の
体重、孵化歩合、幼虫の行動範囲、営繭率、産卵範囲、産卵数、幼虫期間及び脱皮
回数)を比較したところ、幼虫体重(2 齢期)及び産卵数について統計学的有意差

は認められたが、非組換えカイコと比べて本組換えカイコのほうが適応度を高めるとは考え難い。

5 以上のことから、本申請の範囲内では、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、競合における優位性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(2) 捕食性

10 カイコは幼虫期に与えられた桑葉のみを摂食し、桑葉以外の植物や昆虫等を摂食することはなく、成虫期には摂食や飲水は一切行わない。本組換えカイコでは、幼虫期に絹糸腺で改変 *Fibroin H* 蛋白質が、眼で緑色蛍光蛋白質が発現するが、これらの蛋白質が本組換えカイコの食性に変化を与えるとは考え難い。

15 以上のことから、本申請の範囲内では、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、捕食性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(3) 有害物質の産生性

20 宿主が属する生物種であるカイコが、野生動植物等の生息又は生育に悪影響を及ぼすような有害物質を産生するとの報告はない。

また、養蚕農家では、一般的に飼育中に生じた桑葉等の残渣、カイコの糞及び死体等を敷地内の穴や桑畑に廃棄しているが、それら残渣等が野生動植物等に有害性をもたらしたとの報告もない。

25 本組換えカイコが産生する改変 *Fibroin H* 蛋白質及び緑色蛍光蛋白質は、既知の有毒蛋白質やアレルギーと類似のアミノ酸配列を有さないことが確認されている。また、これら蛋白質は酵素活性を持たず、宿主の代謝系に作用して有害物質を産生するとは考え難い。

30 実際に、本組換えカイコ及び対照の非組換えカイコの糞や死体をそれぞれ土壤に混合し、ブロッコリーの発芽・生育及び土壤微生物に与える影響を比較検討したところ、本組換えカイコ及び非組換えカイコとの間に統計学的有意差は認められなかった。

35 以上のことから、本申請の範囲内では、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、有害物質の産生性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

(4) 交雑性

我が国には、カイコと交雑可能な近縁野生種としてクワコが生息しており、影響を受ける可能性のある野生動物としてクワコが特定された。

40 我が国の自然環境下において本組換えカイコとクワコが交雑した場合、本組換えカイコ由来の改変 *Fibroin H* 遺伝子及び *EGFP* 遺伝子が当該交雑体からクワコの

集団に浸透し、定着する可能性が想定される。

5 カイコとクワコはいずれもメス成虫が放出する性フェロモン（ボンビコール）が同じであるため、自然環境下においてカイコのメス成虫が発した性フェロモンに誘引されて野生のクワコのオス成虫が飛来し、交尾する可能性が考えられる。一方、カイコのオス成虫は、飛翔能力が無いため、仮に自然環境下で野生のメスのクワコが発した性フェロモンを感知したとしても、当該クワコに到達することができず、交尾するとは考え難い。

10 そこで、日本各地で採集したクワコと、カイコの様々な系統について、母系遺伝するミトコンドリアのゲノム上にある COI (cytochrome c oxidase subunit I) 遺伝子の遺伝的多型を解析したところ、クワコのミトコンドリアにはカイコ型の COI 遺伝子が認められなかった。すなわち、自然環境下では、カイコのメス成虫に野生のクワコのオス成虫が交尾する可能性は極めて低いと考えられた。

15 本申請では、本組換えカイコを3齢幼虫期以降から繭の形成まで飼育し、繭はその後、冷凍により不活化することから、これら過程において成虫が発生する可能性は極めて低い。また、本申請では、万一、成虫が発生したとしても本組換えカイコのメス成虫は飛翔能力が無く、隔離飼育区画内のパイプハウス蚕室及びプレハブ蚕室（以下「各蚕室」という。）の内側全体又は開放する窓や戸に4mm目以下の網が張られていることから、各蚕室外からクワコのオス成虫が侵入することはないため、交尾する機会は得られない。仮に、餌となる桑葉に付着してクワコ幼虫や繭が各蚕室内に侵入したとしても、本組換えカイコとクワコは外見や行動特性が異なることから容易に区別でき、侵入したクワコを捕殺することが可能である。各蚕室内でクワコのオス成虫が存在し、本組換えカイコのメス成虫と交尾したとしても、各蚕室内には網が張られているため、産卵は各蚕室内に限られ、飼育終了後は各蚕室内を清掃すること等から、卵は孵化前に全て回収し、不活化することが可能である。

30 他方、飼育残渣については、粉砕機による粉砕処理を行うことにより、完全に不活化することが可能である。

このように、本申請における使用の範囲内で、本組換えカイコが成虫となって野外に放出されるおそれは低く、日本国内に生息する野生のクワコと交雑するとは考え難い。

35 以上のことから、本申請の範囲内では、交雑性に起因する生物多様性影響が生ずるおそれはないとの申請者による結論は妥当であると判断した。

2 昆虫分科会の結論

40 以上より、本組換えカイコは、限定された環境で一定の作業要領を踏まえた隔離飼育区画における幼虫の飼育（3齢幼虫期以降から繭の形成まで）並びに繭の生産、保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びにこれらに付随する行為では、我が国における生物多様性に影響が生ずるおそれはないとした生物多様性影響評価書の結論は妥当で

あると判断した。