

生物多様性影響評価検討会での検討の結果

名称：緑色蛍光タンパク質含有絹糸生産カイコ (*HC-EGFP*、*Bombyx mori*) (HC-EGFP ぐんま × HC-EGFP 200)

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

申請者：独立行政法人農業生物資源研究所

(1) 生物多様性影響評価の結果について

本遺伝子組換えカイコは、緑色蛍光を発するフィブロイン (絹繊維タンパク質) を産生させるため、フィブロイン H 鎖タンパク質遺伝子及びオワンクラゲ (*Aequorea victoria*) 由来の改変型緑色蛍光タンパク質遺伝子を融合させた *HC-EGFP* 遺伝子とイソギンチャクモドキ類 (*Discosoma* sp.) 由来の改変型赤色蛍光タンパク質遺伝子 (*DsRed2* 遺伝子) をそれぞれ組込んだドナープラスミド (pBac[3xP3-DsRed2afm]_HC-EGFP) と *piggyBac* 転移酵素遺伝子が組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 (*HC-EGFP* 遺伝子及び *DsRed2* 遺伝子) が、カイコのゲノム上に挿入されている。

上記 2 つの遺伝子は染色体上に 1 コピー組み込まれ、後代系統において安定的に伝達されていることが、サザンハイブリダイゼーション法により確認されている。また、上記遺伝子が、後代系統において安定的に発現していることが RNA の発現、繭の緑色蛍光及び眼における赤色蛍光の発現により確認されている。なお、ヘルパープラスミドについては、本遺伝子組換えカイコに *piggyBac* 転移酵素遺伝子が存在していないことが PCR 法により確認されていることから、本遺伝子組換えカイコに残存していないと考えられた。

(ア) 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、

幼虫はほとんど移動できないため、エサとなる桑に到達することができないこと、カイコは近縁野生種であるクワコと異なり、幼虫は擬態しないため、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、

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できないと考えられる。

さらに、本遺伝子組換えカイコで発現する緑色蛍光タンパク質や赤色蛍光タンパク質は、それぞれ絹糸腺や眼において蛍光を発現するにすぎず、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も無い。また、非遺伝子組換えカイコと本遺伝子組換えカイコにおける、孵化率、営繭率 (繭を作った幼虫の割合)、幼虫の行動範囲を

比較したところ有意差が認められず、幼虫体重、産卵数、産卵範囲等については、本遺伝子組換えカイコの方が統計学的に有意に小さい結果となった。

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。

(イ)捕食性

カイコは幼虫期に人為的に与えられた桑葉^{そうよう}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。本遺伝子組換えカイコは、幼虫期に絹糸腺で緑色蛍光タンパク質を、眼で赤色蛍光タンパク質をそれぞれ発現するが、これら2つのタンパク質がカイコの食性に変化を与えるとは考え難い。

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。

(ウ)有害物質の産生性

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やカイコの糞、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。

本遺伝子組換えカイコは、幼虫期に絹糸腺で緑色蛍光タンパク質を、眼で赤色蛍光タンパク質を発現するが、これら2つのタンパク質は、遺伝子組換え体の選抜マーカーに通常用いられ、これまで生物に対する毒性は認められていない。また、既知の有毒タンパク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。さらに、本遺伝子組換えカイコ及び非遺伝子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、生育や土壤微生物に与える影響を比較検討したところ、本遺伝子組換えカイコと非遺伝子組換えカイコとの間で統計学的な有意差は認められなかった。

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。

(エ)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。

我が国の自然環境下において本遺伝子組換えカイコとクワコが交雑した場合、本遺伝子組換えカイコ由来の *HC-EGFP* 遺伝子及び *DsRed2* 遺伝子が当該交雑体からクワコの集団に浸透し、定着する可能性がある。

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、

飛翔能力が無い場合、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、交尾する可能性は考え難い。

本申請では、遺伝子組換えカイコを 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、万一、成虫が発生したとしても本遺伝子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、施設外からクワコのオス成虫が侵入することは無い場合、交尾する機会は得られない。さらに、クワコ幼虫や繭等が桑葉に付着して施設内に持ち込まれたとしても、カイコとは容易に区別され、捕殺することが可能である。仮に飼育施設内でクワコのオス成虫が存在したとしても、窓やシャッターに網が張られているため、交尾しても産卵は施設内に限られ、交雑卵は目視により捕殺することが可能である。

飼育残渣については、カイコの幼虫、蛹、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。また、飼育残渣は一旦、屋外の残渣保管場所に移動し、その後、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。また、万一、網の中で本遺伝子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。

このため、本申請における使用の範囲内で、本遺伝子組換えカイコが成虫となって野外に放出されることはなく、日本国内に生息する野生のクワコと交雑する可能性は極めて低いと考えられた。

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) 生物多様性影響評価を踏まえた結論

以上より、本遺伝子組換えカイコは、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の範囲内では、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。