

生物多様性影響評価検討会における検討の結果

名称：*HC-mAG* 遺伝子導入改変緑色蛍光タンパク質含有絹糸生産カイコ (*HC-mAG*、*Bombyx mori*)

5 (GN7、GCS7、GN7×GCS7、GN7×中 511 号、GCS7×日 604 号)

第一種使用等の内容：隔離飼育区画における①催青処理開始後の卵の保管、運搬及び孵化、②幼虫の飼育（孵化直後から繭の形成まで）、③繭の生産、④幼虫及び繭の保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びに①から④までに付随する行為

申請者：国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構

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 *HC-mAG* 遺伝子導入改変緑色蛍光タンパク質含有絹糸生産カイコ (*HC-mAG*、*Bombyx mori*) (GN7、GCS7、GN7×GCS7、GN7×中 511 号、GCS7×日 604 号) (以下、本組換えカイコという。) 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。

15

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、

20

① フィブロイン H 鎖及び改変緑色蛍光タンパク質の融合タンパク質をコードする *HC-mAG* 遺伝子及び選抜マーカーとして改変緑色蛍光タンパク質 (EGFP) をコードする *EGFP* 遺伝子が組み込まれたドナープラスミド (pBac[3xP3-EGFP]_{HC-mAG})

25

② *piggyBac* 転移酵素タンパク質をコードする *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)

30

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作出された。本組換えカイコには *HC-mAG* 遺伝子及び *EGFP* 遺伝子 (以下「目的遺伝子」という。) が染色体上に 4 コピー組み込まれ、世代間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、目的遺伝子の発現の安定性については、RT-PCR 法及び繭の外観形質により確認されている。ただし、*piggyBac* 転移酵素遺伝子については、本組換えカイコの染色体上に組み込まれていないことが PCR 法により確認されている。

(1) 競合における優位性

35

宿主であるカイコは、人間の管理が行われない野外に放置されると、速やかに捕食されて死亡することや、擬態に必要な斑紋・行動を欠いていること、移動能力が低いことなどから、生存・繁殖することがない。また、食草を同じくする近縁野生種であるクワコと比べても幼虫や成虫の移動能力が低いことなど、自然条件下で生育・繁殖に不利な性質を有していることから、野生のクワコに対して競合における優位性を示すことはない。

40

本組換えカイコは、緑色蛍光タンパク質—フィブロイン H 鎖融合タンパク質を絹

糸に含み、改変型緑色蛍光タンパク質を眼で発現するが、これらのタンパク質はカイコの運動性等に関与しないため、競合における優位性を高めることはない。

5 本組換えカイコと非組換えカイコとの間で生理学的・生態学的特性について検討したところ、幼虫体重・繭重・繭層重・孵化歩合・幼虫の行動範囲・産卵範囲・産卵数等について、本組換えカイコが非組換えカイコの生理学的又は生態学的特性の範囲を超え生物多様性影響をもたらす能力を持つと考えられる結果はなかった。

10 以上のことから、本組換えカイコは、本申請における作業要領に従って隔離飼育区画における①催青処理開始後の卵の保管、運搬及び孵化、②幼虫の飼育（孵化直後から繭の形成まで）、③繭の生産、④幼虫及び繭の保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びに①から④までに付随する行為の範囲内では、競合における優位性に起因する生物多様性影響を生じ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 宿主であるカイコは幼虫期に人為的に与えられた桑葉又は人工飼料のみを摂食する。また、カイコ幼虫が野外で桑葉を摂食している例はこれまで報告されていない。さらに、成虫は摂食及び飲水は一切しない。

20 本組換えカイコは、緑色蛍光タンパク質—フィブロイン H 鎖融合タンパク質を絹糸に含み、改変型緑色蛍光タンパク質を眼で発現するが、これらのタンパク質はカイコの食性等に関与しないため、カイコ幼虫の捕食性を高めることはない。

25 以上のことから、本組換えカイコは、本申請における作業要領に従って隔離飼育区画における、①催青処理開始後の卵の保管、運搬及び孵化、②幼虫の飼育（孵化直後から繭の形成まで）、③繭の生産、④幼虫及び繭の保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びに①から④までに付随する行為の範囲内では、捕食性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等が特定されなかったことから、生物多様性影響を生じ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

30 宿主であるカイコは、弥生時代から日本国内で飼育され、養蚕農家で生じる糞や死体を含む残渣を敷地内に掘った穴や桑畑に廃棄することが一般的に行われているが、これまで、野生動植物等の生育に悪影響を及ぼすような有害物質を産生しているとの報告はない。

35 本組換えカイコは、緑色蛍光タンパク質—フィブロイン H 鎖融合タンパク質を絹糸に含み、改変型緑色蛍光タンパク質を眼で発現するが、どちらのタンパク質もその特性から考えても、土壤中に混入した場合に他の生物に影響を与えるとは想定されない。また、糞や死体を土壤中に混合し、植物の発芽・生育や土壤微生物に与える影響を比較検討したところ、本組換えカイコと非組換えカイコとの間で統計学的に有意な差は認められなかった。

40 以上のことから、本組換えカイコは、本申請における作業要領に従って隔離飼育区画における、①催青処理開始後の卵の保管、運搬及び孵化、②幼虫の飼育（孵化直後から繭の形成まで）、③繭の生産、④幼虫及び繭の保管、運搬、不活化処理及び廃棄

並びに①から④までに付随する行為の範囲内では、有害物質の産生性に起因する影響を受ける可能性のある野生動植物等が特定されなかったことから、生物多様性影響を生じ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 (4) 交雑性

カイコと交雑可能な近縁野生種として日本国内に分布している昆虫はクワコのみであり、交雑性に起因して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。

10 カイコとクワコは、メス成虫が放出する性フェロモンが同一であるため、カイコのメス成虫とクワコのオス成虫を人為的に出会わせれば交尾して交雑個体を生じることができるが、今までに一般的な養蚕農家の周辺でクワコとカイコの交雑第一代は認められた報告はなかったことや、日本各地のクワコにカイコからの遺伝子流入は見つかっていないことから、現在行われている養蚕の現場において、交雑が起きていないか、極めて稀であると考えられる。

15 一般的な養蚕農家では、繭（蛹）までしかカイコを飼育しないほか、収穫した繭は製糸工場で熱乾燥処理により不活化するため、成虫を生じさせることがない。また、養蚕に用いるカイコの卵（蚕種）は、通常、専門の蚕種製造業者が生産する。蚕種製造業者は、蚕種製造に用いる原種の幼虫の飼育を分場農家に委託する場合があるが、分場農家では蚕種製造に必要な原種の飼育を行い、生産した繭（蛹）は上蔭後 10 日
20 余りで、全量を蚕種製造業者に納品し運び入れるため、分場農家において成虫を生じさせることはない。

もし成虫が生じたとしても、屋外では鳥や昆虫類に速やかに捕食されることから生存することは難しい。その上で、カイコのメス成虫が生き残ってクワコのオス成虫と交尾して産卵したとしても、交雑第一代の幼虫が孵化するのは屋外に廃棄した飼育残渣等
25 中であり、そこから周辺の桑樹に到達して桑葉を食し生存することは考えられない。

本組換えカイコの幼虫の行動範囲及びメス成虫の産卵範囲は、非組換えカイコとほぼ同程度又は狭い範囲に止まり、本組換えカイコがクワコと交尾する可能性が高まる
30 ことはない。仮に交尾したとしても、窓等には網を張ることから各蚕室で休眠卵を産卵するに過ぎないこと、さらにこれら休眠卵が翌年 6 月までに孵化しても孵化幼虫の周囲には桑樹はないため、生存することができない。

また、搬出した壮蚕飼育室の飼育残渣は、成虫が生じてもすべて死亡する 30 日後まで残渣保管場所で 4mm 目以下の網を掛けて保管する。もし網の中でカイコ同士が交尾して受精卵が生じても幼虫が孵化してすべて死亡する翌年 6 月 15 日まで隔離飼
35 育区画内にある残渣管理用の穴に保管することにより不活化できる。

仮に、万が一搬出した残渣中で、本組換えカイコのメス成虫と野生のクワコのオス成虫が交尾して交雑個体が生じたとしても、絹糸腺や繭糸での緑色蛍光タンパク質—フィブロイン H 鎖融合タンパク質の発現や、眼での改変型緑色蛍光タンパク質の発現が、自然環境下での競合における優位性を高めるとは考え難く、その交雑個体が野生のクワコ集団において優占化する可能性は低いと考えられた。
40

以上のことから、本組換えカイコは、本申請における作業要領に従って隔離飼育区

画における、①催青処理開始後の卵の保管、運搬及び孵化、②幼虫の飼育（孵化直後から繭の形成まで）、③繭の生産、④幼虫及び繭の保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びに①から④までに付随する行為の範囲内では、交雑性に起因する生物多様性影響を生じ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 生物多様性影響評価検討会の結論

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①催青処理開始後の卵の保管、運搬及び孵化、②幼虫の飼育（孵化直後から繭の形成まで）、③繭の生産、④幼虫及び繭の保管、運搬、不活化処理及び廃棄並びに①から④まで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じ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