

4. 名称：ミラクリン産生トマト (*MIR, Solanum lycopersicum* L.) (5B)

第一種使用等の内容：隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為

申請者：国立大学法人筑波大学、株式会社インプランタイノベーションズ

5

生物多様性影響評価検討会は、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組換えトマト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。

10

1 生物多様性影響評価の結果について

本組換えトマトは、大腸菌由来のプラスミド pBR322 をもとに構築された pBI-MIR の T-DNA 領域をアグロバクテリウム法により導入し作出されている。

15

本組換えトマトは、ミラクルフルーツ (*Synsepalum dulcificum*) 由来のミラクリン蛋白質をコードする *MIR* 遺伝子及び *Escherichia coli* 由来のネオマイシンリン酸化酵素 II をコードする *npt II* 遺伝子の発現カセットが染色体上に 1 コピー組み込まれており、複数世代にわたり安定して伝達されていることが遺伝子の分離様式及びサザンブロット法により確認されている。

20

また、目的の遺伝子が複数世代にわたり安定して発現していることが RT-PCR 法、ウエスタンブロット法及び ELISA 法により確認されている。

(1) 競合における優位性

トマトは、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでに自然環境下で野生化したとの報告はない。

25

2011 年及び 2012 年に我が国の特定網室において本組換えトマト及び対照の非組換えトマトを栽培し競合における優位性に関わる諸形質（形態及び生育の特性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率）を調査したところ、統計学的有意差及び相違は認められなかった。生育初期における低温耐性試験（10℃、15℃）において本組換えトマトで発芽率が低い傾向がみられたが、非組換えトマトに対して優位性がないことを示す結果であった。

30

また、本組換えトマトは、ネオマイシンリン酸化酵素 II の産生によりアミノグリコシド系抗生物質に対する耐性を有するが、当該抗生物質の散布が想定されない自然環境下において、当該抗生物質耐性であることが競合における優位性を高めるとは考えられない。

35

以上のことから、本組換えトマトの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) 有害物質の産生性

40

トマトは、我が国において長年栽培されてきた歴史があるが、これまでにトマトが周辺の野生動植物等の生育や生息に影響を及ぼす物質を産生するとの報告はない。

2006年から2009年にかけて我が国の特定網室で栽培した本組換えトマト及び非組換えトマトに含まれる一次代謝産物（アミノ酸、糖類、脂肪酸、ビタミン類等）を網羅的に解析したところ、代謝産物の相違は、一般的な栽培トマト品種間で見られる相違の範囲内であることが示された。

5 トマトには糖アルカロイドのトマチンが含まれているが、本組換えトマトにおけるトマチン含量は文献値の範囲内であり、完熟果の通常の摂取であれば中毒症状を起こす可能性はないと考えられた。

10 本組換えトマトが産生するミラクリン蛋白質は、甘味受容体に結合し酸性条件下で活性化することで甘味を誘導しているが、既知の酵素蛋白質との間に構造相同性がないことが確認されており、酵素活性をもたないと考えられた。また、ネオマイシンリン酸化酵素Ⅱは酵素活性を有するが、高い基質特異性を示す。このため、これらの蛋白質が宿主の代謝系に影響し新たな有害物質を産生するとは考えにくい。またこれらの蛋白質が有害物質との報告はなく、既知アレルゲンと構造的に類似性のあるアミノ酸配列も持たないことが確認されている。

15 本組換えトマトの産生するミラクリン蛋白質に影響を受ける可能性のある動物種のうち、隔離ほ場周辺で出現する可能性のあるコウモリ目、イタチ属について、その甘味受容体のアミノ酸配列をヒトと比較したところ、相同性が低く、甘味誘導作用に重要な複数の特定アミノ酸が保存されておらず、誘導効果が欠失しているか著しく低下していると考えられた。また花粉媒介昆虫、害虫の味覚受容体は、脊椎動物の甘味受容体と相同性が認められなかったことから、ミラクリン蛋白質を結合することはできないと考えられた。

20 2011年に我が国の特定網室において栽培した本組換えトマト及び非組換えトマトの若葉及び老葉の粉末を加えた培地にレタス種子を播種してサンドイッチ法試験を行った。レタス種子の発芽率と発芽した幼苗の生育に及ぼす影響を調査した結果、発芽率及び茎長については、若葉及び老葉の粉末、ともに本組換えトマトと非組換えトマトの間に統計学的に有意な差はみられなかった。若葉粉末を添加した培地のレタスの根長については、対照の非組換えトマトに比べて本組換えトマトの方が低い値を示し、統計学的有意差が認められたが、同時に行った異なるトマト品種を用いた試験結果との間には統計学的有意差が認められなかったことから当該品種との差の範囲内であることが示された。後作試験では、レタスの発芽率など全ての項目において統計学的有意差は認められなかった。土壌微生物相試験では、細菌数については統計学的有意差が認められず、放線菌数及び糸状菌数については統計学的有意差が認められたものの、2回行った試験で一致して有意差が認められることはなく、実施時期による影響が大きいと考えられた。

35 以上のことから、本申請の範囲内では、本組換えトマトの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。

40 (3) 交雑性

我が国において、自然環境下でトマトの近縁野生種が自生したとの報告はない。こ

のため、本組換えトマトの交雑性に起因して生物多様性影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されなかった。

5 以上のことから、本組換えトマトが交雑性に起因する生物多様性影響を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

10 以上より、本組換えトマトは、限定された環境で一定の作業要領を備えた隔離ほ場における栽培、保管、運搬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。