

スギ花粉ペプチド含有イネ (7Crp, *Oryza sativa* L.) (7Crp#10)
の生物多様性影響評価書の概要

目次

頁

第一種使用規程承認申請書

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	1
1 . 宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	1
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	1
イ 和名、英名及び学名	
ロ 宿主の品種名又は系統名	
ハ 国内及び国外の自然環境における自生地域	
(2) 使用等の歴史及び現状	1
イ 国内及び国外における第一種使用等の歴史	
ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途	
(3) 生理学的及び生態学的特性	2
イ 基本的特性	
ロ 生育又は生育可能な環境の条件	
ハ 捕食性又は寄生性	
ニ 繁殖又は増殖の様式	
ホ 病原性	
ヘ 有害物質の産生性	
ト その他の情報	
2 . 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	4
(1) 供与核酸に関する情報	4
イ 構成及び構成要素の由来	
ロ 構成要素の機能	
(2) ベクターに関する情報	8
イ 名称及び由来	
ロ 特性	
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	9
イ 宿主内に移入された核酸全体の構成	
ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法	
ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過	
(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性	11
(5) 遺伝子組換え生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性	12
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	12
イ 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性 の具体的内容	
ロ 生理学的又は生態学的特性について、宿主の属する分類学上の種との間の相違	

の有無及び相違のある場合はその程度	
①形態及び生育の特性	
②生育初期における低温又は高温耐性	
③成体の越冬性又は越夏性	
④花粉の稔性及びサイズ	
⑤種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率	
⑥交雑率	
⑦有害物質の産生性	
3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	14
(1) 使用等の内容	
(2) 使用等の方法	
(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における生物多様性影響を防止するための措置	
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置	
(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果	
(6) 国外における使用等に関する情報	
第二 項目ごとの生物多様性影響評価	15
1. 競合における優位性	15
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	
(2) 影響の具体的内容の評価	
(3) 影響の生じやすさの評価	
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	
2. 有害物質の産生性	16
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	
(2) 影響の具体的内容の評価	
(3) 影響の生じやすさの評価	
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	
3. 交雑性	17
(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定	
(2) 影響の具体的内容の評価	
(3) 影響の生じやすさの評価	
(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断	
4. その他	18
第三 生物多様性影響の総合的評価	19
引用文献リスト	20

様式 1 (第 7 条関係)

第一種使用規程承認申請書

平成 19 年 1 月 17 日

農林水産大臣 松岡 利勝 殿
環境大臣 若林 正俊 殿

氏 名 独立行政法人 農業生物資源研究所
申請者 理事長 石毛 光雄 印
住 所 茨城県つくば市観音台 2 丁目 1 番地 2

第一種使用規程について承認を受けたいので、遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物の多様性の確保に関する法律第 4 条第 2 項の規定により、次のとおり申請します。

<p>遺伝子組換え生物等の種類の名称</p>	<p>スギ花粉ペプチド含有イネ (7Crp, <i>Oryza sativa</i> L.) (7Crp#10)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>栽培（独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構作物研究所（茨城県つくば市観音台2丁目1番地18）及び独立行政法人農業生物資源研究所（茨城県つくば市観音台2丁目1番地2）内のほ場において、周辺で栽培されるイネと隔離距離を置く、または開花期をずらす等の交雑防止措置をとる場合に限る）、加工（同ほ場内での精米までの加工に限る）、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>—</p>

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1. 宿主または宿主の属する分類学上の種に関する情報

(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況

イ 和名、英名及び学名

イネ、Rice、*Oryza sativa* L.¹⁾

ロ 宿主の品種名又は系統名

キタアケ 品種登録番号 第594号 品種登録年月日1984年9月5日

ハ 国内及び国外の自然環境における自生地域

我が国において宿主植物種*Oryza sativa*及び近縁野生種の自生は基本的に見られない。近縁野生種については世界中の熱帯・亜熱帯に分布し、様々な環境、特に生育地の多様な水条件に適応分化している。多様性中心あるいは多様性の中核地域は、インドの北東諸州（マニプール、メガラヤ、ナガランド州など）を西端とし、ラオスを東端とする東西に延びる地域にあり、北端は中国雲南省のシーサンバンナ・タイ族自治州を含む西南地域、南端はミャンマー（ビルマ）、タイのデルタと丘陵部の境界地域にある。これらの地域はいずれも山岳地帯、丘陵地帯を背景とする地域で、現在では地形が複雑で、むしろ大規模稲作には適しない地域である¹⁾。*Oryza sativa*の祖先種は*O. nivara*と*O. rufipogon*で、遺伝的多様性の中心はアッサム(インド)、バングラディッシュからビルマ・北タイ・雲南にかけての帯と考えられている¹⁾。

なお、圃場及び畦畔には栽培に伴って雑草イネが発生する可能性があるが、その生育域は我が国においては主に農耕地及びその近傍に限られている。南アジア及び東南アジアの雑草イネは栽培種イネと野生種イネの交雑のみでなく、栽培種イネどうしの遠縁交雑でも生じたことが示されていること^{2), 3)}、我が国には野生種イネ（*O. nivara*、*O. rufipogon*等）が自生していないことなどから、我が国における雑草イネは栽培種イネの変異であり、栽培種イネ間の交雑により雑草性の形質が出てきたものと考えられる。

(2) 使用等の歴史及び現状

イ 国内及び国外における第一種使用等の歴史

*Oryza sativa*は紀元前1万5千年から1万年の間に栽培化されたと考えられ、栽培の起源はインド説、中国説、アッサム・雲南説がある¹⁾。

日本へは縄文時代晩期に中国から直接ないしは朝鮮半島を經由して伝来したと推定されている⁴⁾。我が国の農耕の歴史とともに存在し、現在も我が国の最も重要な作物として広く栽培されている。

ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

アジアのモンスーン地帯を中心に、北緯53度～南緯40度にわたる種々の気候条件下で栽培されている⁴⁾。栽培面積は約1億500万ha、玄米の総生産量は5億tを越える。生産量はアジア(90%以上)、中南米、アフリカ、北米、旧ソ連、ヨーロッパの順となっている。日本でも栽培地は北緯44度にまで及び、また世界で最も生産力が高い生産地域になっている。我が国では通常、春に播種して秋に収穫する。この期間内で、田植え可能となる最低気温が13℃、登熟が停止する最低気温は15℃と見なされている⁵⁾。

我が国での流通実態は、約800万tが国内で生産され、ほとんどが国内消費向けに流通し

ている。輸入は60～70万t程度である。これらのうち、約92%が主に食用として消費され、残りが加工用、種子用、飼料用に使用されている。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本特性

—

ロ 生息又は生息可能な環境の条件

イネの生育時期別の限界温度、最適温度を次表に示す。

通常の栽培可能温度は20℃以上で、水稻は湛水条件(水田)で栽培する。栽培土壌が常時湛水され、強度の還元土壌になった場合は根腐れを起し、養分吸収、生育が阻害される。逆に、栽培土壌の乾燥が進行し、土壌水分が萎凋点以下になった場合には、生育は抑制され、はなはだしいときは早害を受ける⁶⁾。

表1 生育時期別の温度変化に対するイネの反応³⁾

生育時期	限界温度			生育時期	限界温度		
	低	高	最適		低	高	最適
発芽	10	45	20～35	幼穂分化	15	—	—
出芽・苗立ち	12～13	35	25～30	幼穂形成	15～20	38	—
活着	16	35	25～28	開花	22	35	30～33
葉の伸長	7～12	45	31	登熟	12～18	30	20～25
分けつ	9～16	33	25～31				

ハ 捕食性又は寄生性

—

ニ 繁殖又は増殖の様式

① 種子の脱粒性、散布様式、休眠性及び寿命

イネは種子繁殖性である。種子の散布は、籾の老化が進み枝梗から種子が脱落することで行われる。しかし、現在の日本における栽培稲では、一般に脱粒性は極めて小さい⁶⁾。イネの休眠性には品種間差があり、一般に日本型イネ品種では秋に収穫して室温に保管した場合、翌春には休眠は失われる。種子の寿命に関しては、低温・低湿条件下では長期間の保存が可能であり、室温下でも種子水分を9.7%以下にすることで95%以上の発芽率を5年間、維持することができる⁷⁾。一方、土壌中に種子が埋蔵された場合、赤米が3年以上の寿命があるのに対し、一般の白色米の種子では一部に翌年発芽するものもあるが、大部分の種子が発芽能を失う⁶⁾。

② 栄養繁殖の様式(ひこばえ、塊茎、塊根、匍匐枝等)並びに自然条件において植物体を再生しうる組織又は器官からの出芽特性

刈株から“ひこばえ”と呼ばれる新しい分けつが発生し生長するが、我が国においては温暖地域(沖縄等)以外、通常冬の低温のため枯死し、越冬することはない。

③ 自殖性、他殖性の程度、自家不和合性の有無、近縁野生種との交雑性及びアポミクシスを生ずる性質を有する場合にはその程度

イネは極めて自殖性が高い作物である。他殖性の程度を示す情報として、開花期間の重複する糯品種と粳品種とを用いた花粉飛散による交雑試験の結果、隔離距離が4.5mの場合は交雑率が0.6%以下、10mでは0.04%以下であることが報告されている⁸⁾。また、平成16年度に実施された調査では、風下側に25.5m離れた位置での交雑が認められた(未発表データ)⁹⁾。国外では、栽培イネと交雑可能な近縁野生種として野生イネと呼ばれている植物(*O. nivara*, *O. rufipogon*等)が自生している地域もあるが、それらが我が国に自生しているという報告はない。

④ 花粉の生産量、稔性、形状、媒介方法、飛散距離及び寿命

イネの受粉形式は風媒であり、葯は開花(穎)直前には開裂するため、花粉の多くは自花の雌蕊にかかる。すなわち、開花前に自花の葯から受粉してしまうため、他家(花)からの風媒による受粉は栽培品種においては極めて少数(1%以下)である¹⁰⁾。穎花は、1葯当たり1000個以上の花粉が詰まった6本の葯を持つ。稔性はほぼ100%、形状は球形で、葯内では粘質で花粉塊をなしているが、葯が開裂し始めると花粉表面が乾き、粘着性が失われ、飛散しやすくなる。花粉の飛散距離としては③に示したように、未発表データとして、風下側に25.5m離れた位置で花粉飛散による交雑が認められた⁹⁾。花粉の寿命は一般に3~5分¹¹⁾、最大で10分程度とされる。

ホ 病原性

—

へ 有害物質の産生性

日本で一般的に栽培されている水稻の中には、周囲の野生植物の生育を抑制する他感物質を産生するものが存在している。品種間差は大きく、特にジャワ型の在来品種と赤米において強い活性を示すものがあるが、概して日本の栽培品種のアレロパシー活性は低いことが報告されている¹²⁾。他感物質の土壤中での残存期間は長くて数ヶ月程度と考えられている。

ト その他の情報

—

2. 遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報

(1) 供与核酸に関する情報

イ 構成及び構成要素の由来

- a. スギ花粉ペプチド含有イネ (*7Crp*, *O. sativa* L.) (*7Crp*#10) の作出に用いられた供与核酸の発現カセットの構成及び構成要素の由来を表に示した。

表2 供与核酸のサイズと機能

構成要素	サイズ (kb)	由来及び機能
スギ花粉ペプチド (<i>7Crp</i>) 発現カセット		
グルテリン GluB-1 プロモーター	2.3kb	イネ種子貯蔵蛋白質グルテリン GluB-1 をコードする遺伝子のプロモーター。種子登熟期の胚乳組織特異的に発現を規定する。イネ由来。
グルテリン GluB-1 シグナルペプチド	0.072kb	イネ貯蔵蛋白質グルテリン GluB-1 のシグナルペプチド配列。グルテリン貯蔵蛋白質の小胞体膜内への輸送に関与する。イネ由来。
<i>7Crp</i> (目的遺伝子)	0.288kb	スギ花粉 <i>Cryj I</i> 及び <i>Cryj II</i> アレルゲン蛋白質遺伝子由来で、ヒトのスギアレルゲン特異的 T 細胞が認識する 7 箇所の配列を連結させた人工ペプチドをコードする遺伝子。
KDEL 局在化シグナル	0.012kb	導入遺伝子産物の小胞体への係留に関与するシグナル配列。イネ由来。
グルテリン GluB-1 ターミネーター	0.65kb	グルテリン GluB-1 遺伝子のターミネーター。転写終結を規定する。イネ由来。
ハイグロマイシン耐性発現カセット		
CaMV35S プロモーター	0.8kb	恒常的発現プロモーター。下流につないだ遺伝子を植物体全体で発現させる。カリフラワーモザイクウイルスゲノム DNA 由来。
<i>hpt</i>	1.1kb	ハイグロマイシン耐性を付与する選抜マーカー遺伝子。大腸菌由来。
Ag7 ターミネーター	0.3kb	アグロバクテリウム Ti プラスミド上の Ag7 遺伝子のターミネーター。導入遺伝子の転写終結を規定する。アグロバクテリウム・Ti プラスミド由来。

用語解説

T 細胞：胸腺由来で、ヘルパー T 細胞として抗原刺激により活性化され、B 細胞の分化・増殖、そして IgE 抗体産生を助ける。

ロ 構成要素の機能

花粉が鼻や目から吸入されると、花粉を異物として認識し、異物を排除する防御反応が生体に備わっている。この反応を免疫反応と呼び、異物を抗原（アレルゲン）、抗原と結びついて抗原を排除する物質を抗体と呼んでいる。この免疫反応が過剰になった状態がアレルギー症状で、花粉症などのアレルギー疾患としてあらわれる。

スギ花粉症では、花粉中の Cryj I 及び Cryj II と呼ばれる蛋白質が主要な抗原として同定されている。これらの抗原が体内へ侵入して免疫細胞に取り込まれると、まず、免疫反応の司令塔である T 細胞が活性化を受ける。活性化された T 細胞は、B 細胞（白血球の成分の一つ）に対して、IgE と呼ばれる抗体を産生するよう B 細胞の活性化を促す指令を出す。B 細胞により産生された IgE は、肥満細胞に結合して待機した状態になり、スギ花粉が飛散する時期に花粉抗原が来ると、抗原は肥満細胞の持っている抗体と結合して、肥満細胞からさまざまな炎症を起こす化学伝達物質を出す。この化学伝達物質の作用で毛細血管の拡張や皮膚の腫れ、粘液の分泌などが起こり、その結果、くしゃみ、鼻水、鼻づまり、かゆみなどアレルギー炎症を引き起こす¹³⁾。

花粉症の治療には、化学伝達物質の作用や合成・放出を抑える薬物や免疫抑制剤を利用した対症療法が一般的である。唯一の根治的治療法は減感作療法と呼ばれるもので、アレルギーの原因となっている花粉抗原を少しずつ増やしながら注射していき、抗原に対する過敏性を減弱させることを目的とする方法である。しかし、減感作療法は、毎週通院して注射を打つという煩雑さや、抗原を注射することによる痛みやかゆみを伴い、治療期間が長くかかること、まれに副作用がおこる可能性があり、その上、全ての患者に必ずしも有効ではないことから、あまり普及していない¹³⁾。

一方、抗原や抗原由来の T 細胞抗原決定基（T 細胞エピトープ）を注射や経鼻、経口により投与すると、アレルギー反応が軽減することが報告されている。その機構として、スギ花粉抗原特異的 T 細胞の不応答化や、T 細胞自身の欠失、制御性 T 細胞が誘導されることが示唆されている^{14),15)}。T 細胞エピトープの投与により、T 細胞の反応性が抑制されて B 細胞の活性化を促す指令が低下すると、B 細胞の活性化が抑制されて肥満細胞に結合する IgE 抗体の量も少なくなる。その結果、肥満細胞から放出される化学伝達物質の量が減少して、アレルギー炎症が抑制されると考えられている^{17),18)}。

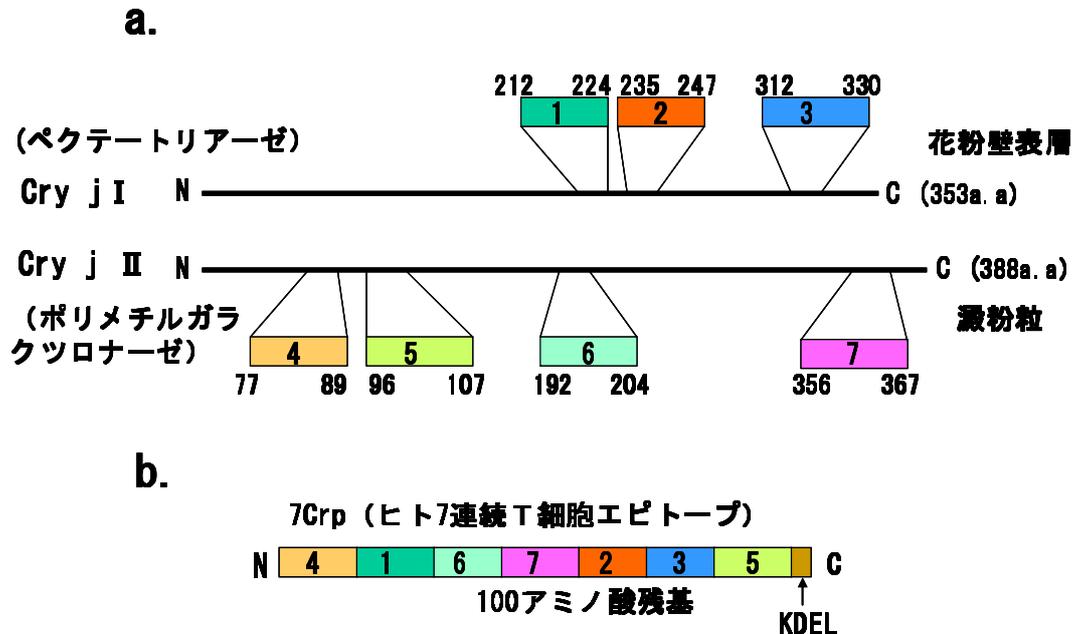
そこで、この現象を利用し T 細胞エピトープを用いたペプチド免疫療法が提案されている。この療法では、アレルゲン自体を用いず、B 細胞エピトープを含まないようにして投与するため副作用がなく、簡便に適用できるという特徴をもっており、第 2 世代の抗原特異的免疫療法として注目されている。

さらに、腸管には経口免疫寛容現象と呼ばれる有効な免疫機構が備わっていることから、一般に食物に対して免疫反応が見られないように、経口でスギ抗原が投与された場合には、スギ花粉抗原に対するアレルギー反応を効率的に抑制させる（経口免疫寛容の誘導）ことができる可能性も高い。

スギ花粉アレルギーを引き起こす抗原として同定されているスギ花粉抗原蛋白質、Cry j I と Cry j II に対して、スギアレルゲン特異的な T 細胞によって認識される T 細胞エピトープ（12-19 アミノ酸）が詳細に調べられている¹⁶⁾。そこで、スギアレルゲンの T 細胞エピトープを毎日摂取するコメの中に蓄積させることができれば、経口免疫寛容現象を利用して、

“食べることでスギ花粉症の緩和や治療効果の期待できる米”を開発できるのではないかというアイデアに基づき、エピトープペプチド集積米が開発された。

図 1 a に示されるように、米の中で発現させる T 細胞エピトープとして、Cryj I から 3 箇所、Cryj II から 4 箇所の計 7 個が多くの人々のスギアレルギー特異的 T 細胞が認識する主要なエピトープとして同定されてきた。そこでこれら 7 個のエピトープを図 1 b のように連結した 7 連続ペプチド (7Crp; 96 アミノ酸の長さ) を構築し、さらにこの 7Crp の蓄積量を高



める KDEL 配列を 7Crp 配列の下流に連結した 100 アミノ酸のペプチドを米の胚乳中に蓄積することとした¹⁷⁾。同じアレルギーから複数のエピトープを用いるのは、ヒトの遺伝子型によって認識されるエピトープが異なることから、それぞれのアレルギーに対して、複数個用いることで、エピトープとして認識される確率を高め、治療できるスギ花粉症患者の幅を増やす効果が期待できるからである。

図 1. ヒトの T 細胞が認識するスギアレルギーの抗原決定基 (エピトープ) と 7Crp 中の 7 個のエピトープの配列順序

こうした 7 連続ペプチド (7Crp) は、もともとの Cryj I や Cryj II と同様 90% 以上の患者でスギ花粉抗原特異的な T 細胞に認識されることが報告されている¹⁶⁾。またスギ花粉アレルギー特異的な IgE 抗体との結合性がないことも明らかになっており、安全に経口免疫寛容を起こすためには、アレルギーそのものを用いるよりはるかに適切といえる。

有効性を調べる試験の一つとして、コメに集積させたエピトープペプチドを抽出し、マウスに対して T 細胞増殖反応性を調べた結果、本来のアレルギーと同様な反応性を示した。さらに 7 個のエピトープの 1 個をエピトープとして認識する特別なマウスに、このエピトープ集積米を毎日 5, 6 粒ずつ 1 ヶ月摂食させ、その後スギアレルギーを 1 日おきに 9 回鼻から感作させたところ、普通のコメを摂食させたマウスに比べて IgE 抗体のレベルが約 30% 程度に低下することを確認した^{17), 18)}。

用語解説

エピトープ：抗原提示細胞（マクロファージ）内で消化・修飾され抗原性を強調された抗原蛋白質から由来する 10～20 アミノ酸残基からなる抗原ペプチド。このペプチドは抗原情報として、細胞膜表面に露呈され、T細胞へと伝えられる。

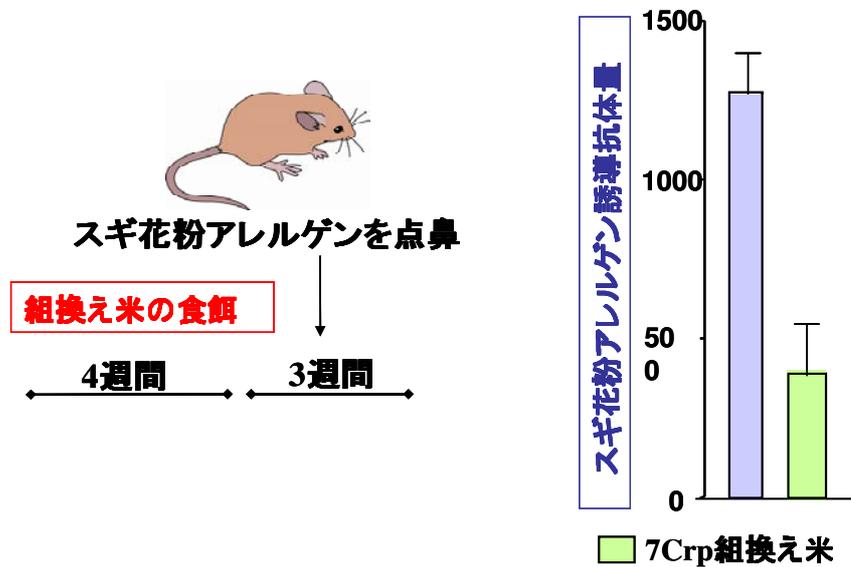


図2. 7Crp エピトープペプチド集積米経口投与による免疫寛容誘導能

さらに、通常の炊飯による摂取形態を考慮して、このコメに蓄積されたエピトープペプチドの高温安定性を、100℃、20分沸騰水中で処理して調べたところ、安定であることが明らかになった。また、このエピトープペプチドを発現することで、米に本来含まれている米アレルギーの原因となっている米アレルゲン蛋白質遺伝子の発現にも影響がないことも確かめた。

① 目的遺伝子、発現調節領域、局在化シグナル、選抜マーカーその他の供与核酸の構成要素それぞれの機能

a. 7Crp発現カセット

ア) GluB-1 プロモーター

イネ由来種子貯蔵蛋白質グルテリンのプロモーターで、DNAを鋳型にmRNA合成を開始するDNA上の特定の塩基配列である。種子登熟期の胚乳に特異的に発現する。

イ) GluB-1 シグナルペプチド

イネ由来種子貯蔵蛋白質グルテリンのシグナルペプチドの塩基配列。シグナルペプチドは合成された蛋白質の小胞体への付着及び膜通過の先導役を努め、膜通過後にシグナルペプチターゼで切断される。

ウ) 7Crp

スギ花粉中の花粉症の原因となる抗原蛋白質Cry j I及びCry j IIに含まれ、ヒトのスギ花粉抗原特異的T細胞により認識されるアミノ酸配列（以下“ヒトT細胞エピトープ”）部分を発現させる塩基配列（図1参照）。

Cry j I から3箇所、Cry j II から4箇所の合計7箇所より、それぞれの長さが12から19

個アミノ酸残基数からなるヒトT細胞エピトープが同定されている。この7箇所のエピトープ（アミノ酸配列）を連結させ、96アミノ酸残基数からなる人工ペプチド(7Crp)を発現させるため、T細胞エピトープのアミノ酸配列に従って人工遺伝子を合成した（図1参照）。合成の際、イネ種子の主要な貯蔵蛋白質をコードする遺伝子群のなかで使用頻度の高いコドンを選択した^{17), 18)}。

エ) KDEL

蛋白質を小胞体へ局在化させる役割を果たす4つのアミノ酸の塩基配列。C末端にKDEL配列(アミノ酸)をもつ蛋白質は小胞体に局在化する。

オ) GluB-1 ターミネーター

イネ由来蛋白質グルテリンのターミネーターで、mRNAの合成を終結させるのに必要な塩基配列。

b. ハイグロマイシン耐性発現カセット

ア) CaMV35S プロモーター

カリフラワーモザイクウイルス由来のプロモーターで、DNAを鋳型にmRNA合成を開始するDNA上の特定の塩基配列である。植物の全組織で発現する。

イ) *hpt*

大腸菌K-12株由来の遺伝子で抗生物質ハイグロマイシン耐性を示す。

ウ) Ag7 ターミネーター

Agrobacterium tumefaciens C58株由来のターミネーターで、mRNAの合成を終結させるのに必要な塩基配列。

② 目的遺伝子及び選抜マーカーの発現により産生される蛋白質の機能及び当該蛋白質がアレルギー性(食品としてのアレルギー性を除く)を有することが明らかとなっている蛋白質と相同性を有する場合はその旨

a. 7Crp

7Crpはスギ花粉抗原蛋白質、Cry j I 及びCry j II のヒトT細胞エピトープ部分である。しかし、一連のアレルギー反応に必要とされる特異的IgE抗体との結合性はなく、B細胞エピトープも含まないことから、アレルギーを引き起こす可能性は極めて少ないと考えられる。

b. *hpt*

ハイグロマイシンをリン酸化させる酵素を産生する。この酵素の働きによりハイグロマイシンがリン酸化され不活化する。ハイグロマイシン耐性酵素については、アレルゲン蛋白質との相同性は認められず、アレルギー反応を引き起こす可能性は極めて低いと推定される。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

バイナリーベクター-pGTV-35S-HPT²¹⁾。大腸菌K12株及び*Agrobacterium tumefaciens* C58株由来。

ロ 特性

①ベクターの塩基数及び塩基配列

塩基数は13,900bps。塩基配列等は文献19参照。

②特定の機能を有する塩基配列がある場合はその機能

薬剤耐性遺伝子としてハイグロマイシン耐性遺伝子 (*hpt*) と、*hpt* 遺伝子の発現調節因子として、カリフラワーモザイクウイルス由来のCaMV 35Sプロモーター及び *Agrobacterium tumefaciens* C58株由来のAg7ターミネーターが存在する。

③ベクターの感染性の有無及び感染性を有する場合はその宿主域に関する情報

ベクターの感染性は知られてない。

(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法

イ 宿主内に移入された核酸全体の構成

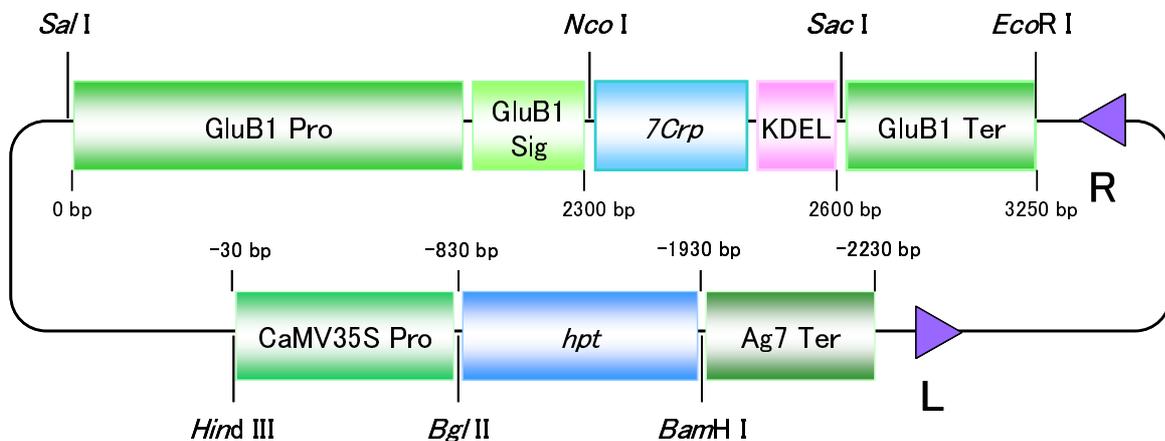


図3. 宿主内に移入された核酸全体（発現プラスミド）の構成図

GluB1 Pro: GluB-1 プロモーター, GluB1 Sig: GluB-1 シグナルペプチド,
CaMV35S Pro: CaMV35Sプロモーター, Ag7 Ter: Ag7 ターミネーター,
R: ライトボーダー, L: レフトボーダー,
なお各構成要素の詳細についてはp4の表2を参照

ロ 宿主内に移入された核酸の移入方法

アグロバクテリウム法によった。

ハ 遺伝子組換え生物等の育成の経過

①核酸が移入された細胞の選抜の方法

目的遺伝子を導入したアグロバクテリウムをイネ種子カルスに感染させ、ハイグロマイシン (50mg/l) を含む選抜培地で核酸が移入された細胞を選抜した。

②核酸の移入方法がアグロバクテリウム法の場合はアグロバクテリウムの菌体の残存性

組換えイネ (T₁世代) の種子をマルチビーズショッカーで粉末状に粉碎し、滅菌水を加えて混合後、遠心後の上清をリファンピシン (20mg/l) を含むYEB培地へ塗布し、28℃で

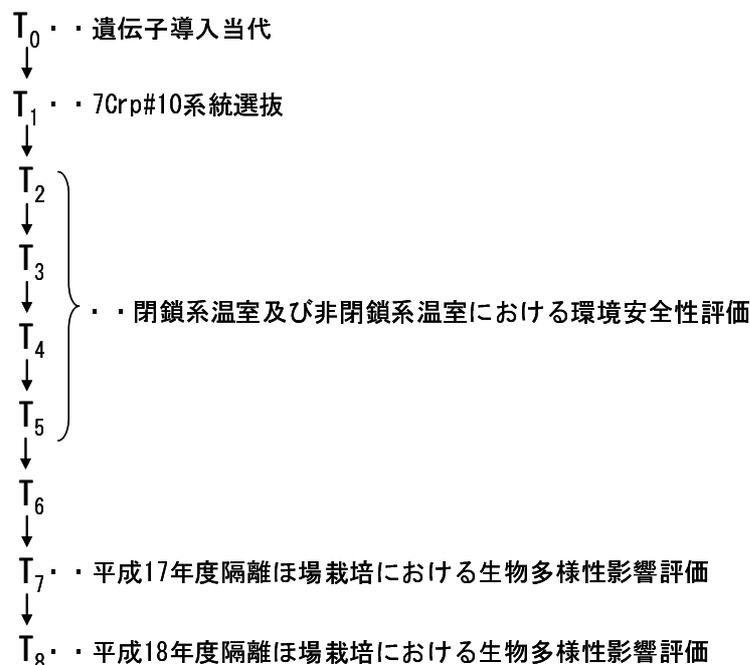
培養した。3日後、観察によりアグロバクテリウムの確認を行った結果、アグロバクテリウムの増殖は観察されなかった。このことから、組換えイネ後代には遺伝子導入に用いたアグロバクテリウムは残存していないと判断した。

③核酸が移入された細胞から、移入された核酸の複製物の存在状態を確認した系統、閉鎖系及び非閉鎖系温室での試験に供した系統、その他の生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために用いられた系統までの育成の経過及び系統樹

平成13年から遺伝子導入実験を開始し、閉鎖系（文部科学省旧「組換えDNA実験指針」に基づく分類）における安全性試験の過程で4系統を選抜した。この4系統について自殖により世代を進めるとともに、生物多様性影響評価に必要な情報を収集するために更に解析を進めた。

平成15年から非閉鎖系区画（文部科学省旧「組換えDNA実験指針」に基づく分類）での安全性試験を開始し、「スギ花粉ペプチド含有イネ（7Crp、*Oryza sativa* L.）（7Crp #10）（以下「7Crp#10」という）」が7Crpペプチドを種子中に最も多く蓄積していることから選抜した。平成17年5月に農林水産省より遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律第4条第2項に基づき、隔離ほ場（生物資源研究所）における使用について承認された。平成17年度は隔離ほ場でT₇植物を栽培し生物多様性影響評価試験を行った。さらに平成18年度には隔離ほ場においてT₈植物を栽培し、評価を継続して行っている。系統樹、世代と実施した試験を次図に示す。

なお、全ての試験において、対照品種は宿主であるキタアケとした。



本申請では、T₂世代以降を申請範囲とする

図4. 試験に用いたイネの系統樹

表3 世代と実施した試験

試験項目	世代						
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₇
遺伝子の存在状態 (サザンブロット解析) (PCR)			○			○	○
遺伝子の発現状態 部位特異的発現		○	○	○	○	○	○
アグロバクテリウムの残存性		○					
形態及び生態学的特性					○		○
生育初期における低温耐性						○	
花粉の稔性及び直径					○		○
種子の生産性、発芽率、 休眠性及び脱粒性					○	○	○
有害物質産生性					○		○

(4) 細胞内に移入した核酸の存在状態及び当該核酸による形質発現の安定性

イ 移入された核酸の複製物が存在する場所

ゲノムDNAを用いたサザンブロット解析により、移入した核酸は染色体上に挿入されていることを確認した。また、世代間でサザンブロット解析のバンドパターンが一致していたことから移入した核酸は染色体上に存在すると判断した。

ロ 移入された核酸の複製物のコピー数及び移入された核酸の複製物の複数世代における伝達の安定性

①核酸のコピー数

T₂及びT₅世代のゲノムDNAのサザンブロット解析により *7Cnp*、*hpt*遺伝子ともにゲノム上に安定に保持され、コピー数は4と推定した。

②複数世代における遺伝の安定性

T₁~T₄世代のPCR解析の結果、T₂ T₅及びT₇世代のゲノムDNAのサザンブロット解析の結果、各世代で安定して遺伝子が保持されていた。

ハ 染色体上に複数コピーが存在している場合は、それらが隣接しているか離れているかの別

サザンブロット解析の結果、導入されたカセットは4コピーであるが、それぞれ4コピーのうち2コピーずつ遺伝子は隣接して位置していた。導入箇所は2箇所、すなわち2遺伝子座と推定した。

ニ (6)のイにおいて具体的に示される特性について、自然条件の下での個体間及び世代間での発現の安定性

7Crp#10の閉鎖系で採種したT₂~T₄種子、非閉鎖系温室で採種したT₅種子及び隔離ほ場で採種したT₈種子についてウエスタンブロット解析を行った結果、安定した発現が確認された。

ホ ウイルスの感染その他の経路を經由して移入された核酸が野生動植物等に伝達されるおそれのある場合は、当該伝達性の有無及び程度

該当するウイルスは存在しない。

(5) 遺伝子組換えの生物等の検出及び識別の方法並びにそれらの感度及び信頼性

7Crp遺伝子全長を増幅するためのオリゴプライマー(7Crp-F、7Crp-2R)を用いたPCR法により、7Crp遺伝子の特異的に検出及び識別が可能である。このプライマーセットを用いたPCRでは非形質転換体であるキタアケのDNAを鋳型として用いた時には増幅されるバンドはなく、組換えイネから導入遺伝子の特異的に検出する。

(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違

イ 移入された核酸の複製物の発現により付与された生理学的又は生態学的特性の具体的な内容

7Crp#10のT1植物の穎及び葉、T2種子の胚及び胚乳のウエスタンブロット解析を行ったところ、スギ花粉抗原蛋白質、Cry j I 及びCry j II から由来する12~19アミノ酸残基からなるヒトT細胞エピトープ7個を連結した7連続ペプチドは、登熟期以降の胚乳で特異的に発現していることが確認された。

なお、7Crp 遺伝子の発現に用いているグルテリンプロモーターは胚乳組織特異的であることから、7Crp#10 の花粉において 7Crp 遺伝子は発現しないと考えられる^{17, 20), 23)}。

ロ 生理学的又は生態学的特性について、遺伝子組換え農作物と宿主の属する分類学上の種との間の相違の有無及び相違がある場合はその程度

形態及び生育特性を調査するためにT₄世代の7Crp#10と宿主であるキタアケを、非閉鎖系温室内有底水田(内寸7.2×1.1m)に、栽植密度25×15cmで、平成15年5月2日に移植した。施肥量はNPK各4kg/10aとした。なお移植苗は、平成15年3月24日に閉鎖系温室で播種し、育苗したものを使用した。

有害物質の産生性を調査するために、T₄世代の7Crp#10とキタアケについて、非閉鎖系温室で水田土壌を詰めた1/5000aポットに平成15年4月24日に移植した。

生物資源研究所の隔離ほ場において形態、生育特性、越冬性及び有害物質産生性を調査するため、T₇世代の7Crp#10を平成17年5月19日に播種、非閉鎖系温室で育苗後、6月8日に隔離ほ場内の生育調査区に移植した。栽植密度は30cm×18cmで1本植えにし、施肥量はNPK各5.26kg/10a、ようりん56kg/10aとした。

①形態及び生育の特性

非閉鎖系温室における調査の結果、出穂期に差異は認められず、稈長、穂長、穂数については7Crp#10とキタアケとの間に統計学的な有意差は認められなかった。

隔離ほ場において形態及び生育の特性を調査した。出穂初めは7Crp#10が2日遅れた。

また 7Crp#10 でキタアケと統計学的有意差が見られた項目は穂長、穂数、玄米長、玄米厚であった。

②生育初期における低温耐性

2葉期の苗を暗所 5℃で 10 日間処理した後、非閉鎖系温室での生育を 2 週間後に調査した。7Crp#10、キタアケとも約 80%の個体が生存した。生存した個体はすべて主茎が枯死し、分げつが主茎の他に平均 1.1 本発生した。7Crp#10 とキタアケとの間に差異は認められなかった。

③成体の越冬性又は越夏性

イネは熱帯地域では多年生植物であるが、我が国の栽培地帯では、結実後、冬季には通常自然に枯死することが知られている。実際に9月14日の収穫後の隔離ほ場において、切り株からのひこばえを観察したところ、7Crp#10のひこばえはキタアケと同様に生長した後、11月30日頃から生長が停止し、12月12日頃にかけて同調して枯死の過程が推移したので、越冬性は対照品種と同様に極めて低いと判断した。

④花粉の稔性及びサイズ

7Crp#10とキタアケの花粉は、いずれも同程度の大きさの球形で、形状に差異は認められず、その大きさ（直径）には統計学的有意差は認められなかった。また、花粉の稔性についても差異は認められなかった。

⑤種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

非閉鎖系温室で栽培したイネについて 1 穂粒数、脱粒性、休眠性（穂発芽性）、発芽率を調査した結果、7Crp#10 とキタアケの間に差異は認められなかった。

隔離ほ場で栽培したイネについて 1 穂粒数、稔実率、1 株当たりの精籾重、玄米重、千粒重について調査した。1 穂粒数は7Crp#10のほうが統計学的に有意に多かったが稔実率、1 株当たりの籾重、玄米重、千粒重は統計学的有意差が認められなかった。

成熟期の穂を握って脱粒性を調査した結果、7Crp#10、キタアケともに難で、差異は認められなかった。

休眠性の調査のため穂発芽検定を行った結果、7Crp#10、キタアケともに穂発芽性は易（非閉鎖系）または中（隔離ほ場）で、差異は認められなかった。

隔離ほ場で収穫した直後の種子及び5℃で約6ヶ月保存した種子の発芽率を調査した結果、95%以上の発芽率で、7Crp#10、キタアケの間に統計学的有意差は認められなかった。

⑥交雑率

我が国に交雑可能な近縁野生種が自生していないことから、調査は行なっていない。

⑦有害物質の産生性

閉鎖系で栽培したT₃世代の7Crp#10とキタアケについて揮発性成分のガスクロマトグラフィー分析、植物体内成分の高速液体クロマトグラフィー分析を行った結果、7Crp#10とキタアケの間に差異は認められなかった。

非閉鎖系温室でポット栽培した後の土壌を使用した後作試験、成熟期の植物体を使用した鋤込み試験を行った結果、ダイコンの発芽に与える影響について7Crp#10とキタアケとの間に統計学的有意差は検出されなかった。

また、栽培後の土壌の糸状菌、放線菌、細菌数を調査した結果、7Crp#10とキタアケの間に統計学的有意差は認められなかった。

隔離ほ場で収穫後の土壌を使用した後作試験、収穫後の乾燥した茎葉及び目的産物であるペプチドが蓄積している玄米を使用した鋤込み試験をレタス種子を用いて行った結果、レタスの発芽率・生重量について7Crp#10 とキタアケの間に統計学的有意差は認められなかった。また、生育調査区の7Crp#10及びキタアケ栽培区画の土壌を採取し、田植え前、出穂期、収穫後の土壌の糸状菌、放線菌、細菌数を調査した結果、両者に統計学的有意差は認められなかった。

さらに、隔離ほ場栽培試験では7Crp#10 の産生物の昆虫に対する影響を調べるため、飛来昆虫相の調査、クモヘリカメムシを用いた飼育、生存率調査を行った。その結果、生育調査区に飛来した昆虫相に差異は認められず、また、7Crp#10及びキタアケを吸汁したクモヘリカメムシの生存率に統計学的有意差は認められなかった。

⑧その他 (参考資料1)

平成17年度の隔離ほ場栽培においてキタアケ及び7Crp#10の周囲に「はくちょうもち」の48株のポットを隣接して配置し、キセニアの有無によって「はくちょうもち」から採取した種子のウルチとの交配を調査した。キタアケ、7Crp#10及び「はくちょうもち」は出穂日が若干異なったが開花最盛期はほぼ一致していた。はくちょうもちに稔った全23,952粒中、7Crp#10及びキタアケの花粉飛散による交雑は1粒も無く、両者の花粉飛散の程度は同様に少ないと考えられた。

3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

本組換えイネは、平成17年5月に隔離ほ場での栽培のための第一種使用規程が承認され、平成17年度及び18年度の2カ年に渡り隔離ほ場栽培を行った。この栽培は、生物多様性影響評価のためのデータ収集と併せて本組換えイネを摂食した際の安全性評価試験（動物試験）を行うための材料確保を目的としておよそ8aの水田で行われ、約300kgの玄米を収穫した（平成17年度）。また、隔離ほ場内の生育調査区において生物多様性影響評価を行った結果、周囲の生物に対する影響が対照品種と同等であることを確認した。

なお、今回の申請の目的は、安全性に係る試験を行う上で、その材料として必要な約1トンの玄米を確保するため、より広いほ場で栽培を行うものである。

(1) 使用等の内容 (参考資料2)

栽培（独立行政法人農業・食品産業技術総合研究機構（つくば市観音台2丁目1番地18）及び独立行政法人農業生物資源研究所（つくば市観音台2丁目1番地2）内のほ場において、周辺で栽培されるイネと隔離距離を置く、または開花期をずらす等の交雑防止措置をとる場合に限る）、加工（同ほ場内での精米までの加工に限る）、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為。

(2) 使用等の方法

—

(3) 承認を受けようとする者による第一種使用等の開始後における情報収集の方法

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれのある場合における生物多様性影響を防止するための措置

緊急措置計画書を参照。

(5) 実験室等での使用等又は第一種使用等が予定されている環境と類似の環境での使用等の結果

—

(6) 国外における使用等に関する情報

国外における使用の実績はない。なお、国内においては平成17年5月に農林水産省より遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律第4条第2項に基づき、隔離ほ場における使用について承認されている。（承認時の名称は「スギ花粉予防効果ペプチド含有イネ」としていた。）

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

宿主である日本型イネ栽培種 (*Oryza sativa* L.) は我が国における農耕の歴史とともに存在し、現在も最重要作物として広く栽培されている。これまでの経験から通常の使用法の範囲で扱う限り、水田や畑地で野生化、雑草化するおそれは極めて少ないと考えられる。ここでは生物多様性影響評価実施要領別表第三に基づき、組換え体と宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違点を考慮して生物多様性影響評価を行う。

1. 競合における優位性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

①スギ花粉ペプチド含有イネ (7Crp, *Oryza sativa* L.) (7Crp#10) は、ヒト T細胞が認識するエピトープのみで構成されている目的遺伝子産物の 7Crp ペプチドを胚乳において発現しているが、この形質により競合における優位性が高まるとは想定されない。これに加え、選抜マーカー遺伝子として抗生物質耐性遺伝子を有しており、ハイグロマイシンに対する耐性が付与されている。しかし、付与された抗生物質耐性が自然環境下での競合において優位に作用することは考え難い。

温室での栽培試験においては、本組換えイネと対照品種であるキタアケの形態及び生育の特性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量について調査した結果、両者の間で有意差は認められなかった。一方、自然条件に極めて近い隔離ほ場における栽培試験では一般形態、特性のうち、7Crp#10 とキタアケの間で出穂日については差異があり、穂長、穂数、一穂粒数、種子サイズについては統計学的有意差が認められた。しかし、その差異はこれまでに当該地域で行われてきた日本型イネの栽培試験の結果の範囲内である^{21) 22)}。表4にデータベースから検索した特性調査結果の一部を示す。したがって、これらの有意差は認められるものの、競合における優位性に関して野生動植物に対する影響を評価する場合には遺伝子組換えではないイネと同等であると判断した。

表4 関東地方で試験栽培されたイネの特性 (ジーンバンク 検索システム 稲 より)

	穂長(cm)		穂数(本)		玄米長(mm)		一穂粒数(粒)	
	最小値	最大値	最小値	最大値	最小値	最大値	最小値	最大値
隔離ほ場栽培試験結果	15.3	18.3	10.4	22.2	4.92	5.34	64.9	87.8
データベース検索結果	14.6	19.8	10	26.2	3.8	5.4	63*	95.2*
品種和名	ユキモチ	ササニシキ	ほくと	ささほなみ	ササニシキ	ササニシキ	クサブエ	ゴロピカリ
試験地	生物研	生物研	生物研	生物研	生物研	生物研	埼玉県	群馬県*
試験年度	1991	2005	1991	2002	1998	1999		

*イネ学データベースより

②閉鎖系温室、非閉鎖系温室及び隔離ほ場における環境影響評価実験の範囲において、本組換えイネの競合に関わると考えられる形質（生育初期における低温耐性、脱粒性、休眠性、発芽率、越冬性など）はキタアケとの間に差異が認められていない。

以上①及び②のように、これまでのところ競合における優位性が7Crp#10がキタアケと異なるような知見は得られていないことから、両者の競合における優位性が大きく異なるとは考えられない。よって、本組換えイネが野生植物と競合することはなく、また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。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上より、競合における優位性に関して影響を受ける可能性のある野生植物等が特定されなかったことから生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

2. 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物の特定

7Crp#10が発現するペプチドは、ヒトT細胞が認識するエピトープのみで構成されており、スギアレルギー患者のIgE抗体との結合性を示さないことが明らかにされている¹⁶⁾。また、7Crp発現米のマウスに対する経口投与により、マウスの生育が阻害されたり、アレルギー症状が観察されたという報告はない¹⁶⁾。これらの結果から、ヒトやマウスに対する7Crp発現米の有害性は低いと考えられる。

ヒトT細胞エピトープは他の哺乳動物、鳥類との反応の可能性を示す報告がないことから、これらの野生動物に影響を及ぼすおそれはないと判断した。

閉鎖系温室または非閉鎖系温室において、揮発性成分、植物体内成分の分析の結果、差異は認められず、また後作試験、鋤込み試験、土壌微生物相の調査を行った結果、7Crp#10とキタアケとの間に統計学的有意差は検出されなかった。

また、平成17年度の隔離ほ場栽培試験において後作試験、茎葉及び玄米を用いた鋤込み試験、土壌微生物相の調査を行った結果、両者に統計学的有意差は認められなかったことから、影響を受ける可能性のある植物、微生物は特定されなかった。さらに、隔離ほ場栽

培試験では飛来昆虫相の調査を行った結果、7Crp#10とキタアケの各栽培区画において飛来した昆虫の数に統計学的有意差は認められなかった。昆虫への影響については、7Crpペプチドの発現部位が胚乳のみであることから、種子形成期以降に米を吸汁するカメムシやウンカ等の昆虫に影響が出る可能性が懸念されていた。そこで、クモヘリカメムシを用いた飼育、生存率調査を行った結果、7Crp#10、キタアケどちらを与えた試験区でも生存率に統計学的有意差は認められなかった。したがって、発現している7Crpペプチドが周囲の昆虫に影響を与える可能性は極めて低いと判断した。

以上の結果から、本組換えイネは宿主と比べて有害物質の産生性に関して相違は認められない。よって、本組換えイネが野生動植物の種又は個体群の維持に支障を及ぼすおそれはない。以上から影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されない。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上の結果より有害物質の産生性に関して影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

3. 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生植物等の特定

野生種イネである *O. nivara*、*O. rufipogon*等の植物は栽培種イネ (*O. sativa* L.) の近縁野生植物であり、国外のイネ栽培地近辺の自生地においては栽培種イネと交雑することが知られている。しかし、これらの植物は我が国には自生していない。

ほ場及び畦畔には栽培に伴って雑草イネが発生する場合がある。雑草イネには種々の起原があると考えられているが、我が国の雑草イネは野生種イネではなく栽培種に由来すると考えられる。このため、我が国における雑草イネは影響を受ける可能性のある近縁野生植物として特定されるものではない。

以上のことから、交雑性に関して影響を受ける可能性のある野生植物は特定されなかった。

(2) 影響の具体的内容の評価

—

(3) 影響の生じやすさの評価

—

(4) 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

以上から、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されず、本組換え体の第一種使用等により生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

4. その他

以上から、上記の他に生物多様性影響の評価を行うことが適切と考えられる本遺伝子組換えイネの性質はないと考えられる。

第三 生物多様性影響の総合的評価

本組換えイネは抗生物質耐性遺伝子を有しているが、付与された抗生物質耐性が自然環境下での競合において優位に作用することはない。7Crp#10は隔離ほ場栽培試験において対照品種であるキタアケとの間で形態、生育特性の一部に差異が認められたが、我が国において栽培されている同品種の特性の範囲を超える物ではなかった。一方、競合における優位性に関わる諸形質（脱粒性、休眠性、発芽率、越冬性）には差異が認められなかった。これらから、形態、生育特性の差異は本組換えイネの競合における優位性には影響しないと判断した。

非閉鎖系温室、隔離ほ場での栽培において、本組換えイネと対照品種との間に有害物質の産生性に差異が認められなかったこと、7Crp#10が発現するペプチドにも有害性はないと考えられることから、有害物質産生性による生物多様性影響は生じるおそれはないと判断した。

宿主の属する分類学上の種であるイネと交雑可能な近縁野生種が我が国には自生していないことから、交雑による生物多様性影響は生じるおそれはないと判断した。

以上を総合的に評価し、7Crp#10を第一種使用規程に従い使用する場合に生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断した。

引用文献リスト

- 1) 松尾孝嶺(監修)(1989) 植物遺伝資源集成 1, I. 食用作物, 1. イネ. 講談社. 東京.
- 2) Ishikawa, R., Yamanaka, S., Fukuta, Y., Chitrakon, S., Bounphanousay, C., Kanyavong, K., Tang, L-H., Nakamura, I., Sato, T. and Sato, Y.-I. (2006) Genetic erosion from modern varieties into traditional upland rice cultivars (*Oryza sativa* L.) in northern Thailand. *Genet. Resour. Crop Evol.* 53, 245-252.
- 3) Ishikawa, R., Toki, N., Imai, K., Sato, Y. I., Ymagishi, H., Shimamoto, Y, Ueno, K., Morishima, H. and Sato, T. (2005) Origin of weedy rice grown in Bhutan and the force of genetic diversity. *Genet. Resour. Crop Evol.* 52, 395-403.
- 4) 蓬原雄三(1990) イネの育種学. 東京大学出版会. 東京.
- 5) 栗原 浩、蓬原雄三、津野幸人ほか(2000) 作物栽培の基礎. 農山漁村文化協会. 東京.
- 6) 松尾孝嶺、清水正治、角田重三郎、村田吉男、熊澤喜久雄、蓬原雄三、星川清親、石原 邦、平田熙、石井龍一(編)(1990) 稲学大成(第2巻) 生理編. 農山漁村文化協会. 東京.
- 7) 松尾孝嶺、清水正治、角田重三郎、村田吉男、熊澤喜久雄、蓬原雄三、星川清親、山口彦之、菊池文雄(編)(1990) 稲学大成(第3巻) 遺伝編. 農山漁村文化協会. 東京.
- 8) 農林水産技術会議(2003) 栽培実験対象作物別の隔離距離の考え方. 第2回「第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」検討会資料5-1.
http://www.s.affrc.go.jp/docs/genome/saibaikentoukai/h1512/siryou5_1.pdf
- 9) 農林水産技術会議(2005) 交雑に関する新たな科学的知見 第5回「第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」検討会資料1.
<http://www.s.affrc.go.jp/docs/genome/saibaikentoukai/h1702/pdf/siryou1.pdf>
- 10) 松尾孝嶺、清水正治、角田重三郎、村田吉男、熊澤喜久雄、蓬原雄三、星川清親、前田英三、山崎耕宇(編)(1990) 稲学大成(第1巻) 形態編. 農山漁村文化協会. 東京.
- 11) OECD. (1999) Consensus Document on the Biology of *Oryza sativa* (Rice), OECD Environmental Health and Safety Publications, Series on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology No. 14.
- 12) Fujii, Y., (1993) I. The Allelopathic Effect of Some Rice Varieties, in Allelopathy in the Control of Paddy Weeds, Food & Fertilizer Technology Center, Technical Bulletin No. 134, 1-6
- 13) 齊藤洋三、井手武 (1994) 花粉症の科学. 化学同人. 京都.
- 14) Haselden, B.M., Kay, A. B. and Larche, M. (2000) Peptide-mediated immune responses in specific immunotherapy. *Int Arch Allergy Immunol.* 122, 229-237.
- 15) Wallner, B.P. and Geftter, M.L. (1994) Immunotherapy with T-cell-reactive peptides derived from allergens. *Allergy* 49, 302-308.
- 16) Hirahara, K., Tatsuta, T., Takatori, T., Ohtsuki, M., Kirinaka, H., Kawaguchi, J., Serizawa, N., Taniguchi, Y., Saito, S., Sakaguchi, M., Inouye, S. and Shiraishi, A. (2001) Preclinical evaluation of an immunotherapeutic peptide for Japanese cedar pollinosis: a hybrid peptide comprising seven T-cell determinants of Cry j1 and Cry j2, the major Japanese cedar pollen allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108, 94-100.

- 17) Takagi, H., Saito, S., Yang, L., Nagasaka, S., Nishizawa, N. and Takaiwa, F. (2005) Oral immunotherapy against a pollen allergy using a seed-based peptide vaccine. *Plant Biotech. J.* 3, 521-533.
- 18) Takagi, H., Hiroi, T., Yang, L., Tada, Y., Yuki, Y., Takamura, K., Ishimitsu, R., Kawauchi, H., Kiyono, H. and Takaiwa, F. (2005) A rice-based edible vaccine expression of multiple T cell epitopes induces oral tolerance for inhibition of Th2-mediated IgE responses. *PNAS* 102, 17525-17530.
- 19) Becker, D., Kemper, E., Schell, J. and Masterson, R. (1992) New plant binary vectors with selectable markers located proximal to the left T-DNA border. *Plant Mol. Biol.* 20, 1195-1197.
- 20) Qu, L.Q. and Takaiwa, F. (2004) Evaluation of tissue specificity and expression strength of rice seed component gene promoters in transgenic rice. *Plant Biotech. J.* 2, 113-125.
- 21) 農業生物資源ジェーンバンク 特性情報検索システム「稲」
http://www.gene.affrc.go.jp/htbin/plant/SEARCH/common/pl_tokusei_menu.cgi
- 22) (株)植物ゲノムセンター イネ学データベース
http://www.pgcdna.co.jp/igs_system/abstract_j.html
- 23) Takaiwa, F., Takagi, H., Hirose, S. and Wakasa, Y. (2007) Endosperm tissue is good production platform for artificial recombinant proteins in transgenic rice. *Plant Biotech. J.* 5, 84-92.

緊急措置計画書

平成 19年 1月17日

氏名 石毛 光雄

住所 茨城県つくば市観音台2丁目1番地2
農業生物資源研究所

第一種使用規程の承認を申請しているスギ花粉ペプチド含有イネ（7Crp, *Oryza sativa* L.）（7Crp#10）の第一種使用等において、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合に当該影響を効果的に防止するため、以下の措置をとることとする。

- 1 第一種使用等における緊急措置を講ずるための実施体制及び責任者
個人名・所属は個人情報につき非開示
- 2 第一種使用等の状況の把握の方法
 - (1) 本スギ花粉ペプチド含有イネ（7Crp, *Oryza sativa* L.）（7Crp#10）（以下、本LMOという）の栽培用種子については、管理を徹底し部外者が入手できないようにするとともに、その情報を整理して記録する。
 - (2) さらに、生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合には、本LMOを栽培している者又は種子を保有している者の把握に努め、得られた情報を整理し記録する。
- 3 第一種使用等をしている者に緊急措置を講ずる必要があること及び緊急措置の内容を周知するための方法
緊急措置が必要となった場合には直ぐにその内容を2で把握した関係者に対して、電話、電子メールや文書などにより連絡を取る。また、周知するためにホームページ等で本件についてのお知らせを掲載する。
- 4 遺伝子組換え生物等を不活化し又は拡散防止措置を執ってその使用等を継続するための具体的な措置の内容
試験ほ場で栽培されている本LMOは、実験に用いる種子は密閉容器にて運搬、保管する。それ以外の種子は隔離された場所において精米（不活化）し、その他の部位は焼却処理あるいは鋤込み等による不活化を行う。
- 5 農林水産大臣及び環境大臣への連絡体制
生物多様性影響が生ずるおそれがあると認められた場合は、速やかに、農林水産省農産安全管理課及び環境省野生生物課に連絡するとともに、緊急措置対応のための研究所内における組織体制及び連絡窓口へ報告する。