

スギ花粉ペプチド含有イネ (7Crp, *Oryza sativa* L.)
(7Crp#242-95-7)の生物多様性影響評価書の概要

目 次

第一種使用規程承認申請書

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
(2) 使用等の歴史及び現状	1
(3) 生理学的及び生態学的特性	2
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
(2) ベクターに関する情報	9
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	10
(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	12
(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	13
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	13
3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	15
(1) 使用等の内容	15
(2) 使用等の方法	15
(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	15
(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	16
(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	16
(6) 国外における使用等に関する情報	16

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

1 競合における優位性	17
2 有害物質の産生性	17
3 交雑性	18
4 その他の性質	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

緊急措置計画書

第一種使用規程承認申請書

平成19年2月23日

農林水産大臣 松岡 利勝 殿
環境大臣 若林 正俊 殿

申請者 氏名 独立行政法人 農業生物資源研究所
理事長 石毛 光雄 印
住所 茨城県つくば市観音台二丁目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 #242-95-7)</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容</p>	<p>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</p>
<p>遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法</p>	<p>所在地：茨城県つくば市観音台二丁目1番地2 名称：独立行政法人 農業生物資源研究所 隔離ほ場 使用期間：承認日から平成22年3月31日まで</p> <p>1 隔離ほ場の施設</p> <p>(1)部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むように、フェンスを設置している。 (2)隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を、見やすい所に掲げている。 (3)隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えイネの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該イネの隔離ほ場の外への流出を防止するために、排水系統には沈殿槽、網等を設置している。 (4)野生動物等の摂食を防止するために、遅くとも出穂期までには、防鳥網を本遺伝子組換えイネの栽培水田を取り囲むように設置する。</p> <p>2 隔離ほ場での作業要領</p> <p>(1)本遺伝子組換えイネ及び比較対照のイネ以外の植物が、当該イネの栽培水田で生育することを最小限に抑える。 (2)本遺伝子組換えイネを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、当該イネが漏出しない構造の容器に入れる。 (3)(2)により運搬又は保管する場合を除き、本遺伝子組換えイネの栽培終了後は、当該イネ及び比較対照のイネを隔離ほ場内に鋤込む等により確実に不活化する。 (4)隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えイネが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。 (5)隔離ほ場が本来有する機能が十分発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。 (6)(1)から(5)に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。 (7)生物多様性影響が生じるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。</p>

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主又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

品種名：日本晴

登録年：1963 年

登録番号：なし（現行種苗法制定以前の登録のため）

八 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⁾。

我が国にも雑草性の赤米系統の存在が知られているが、その分布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)}、また、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 億トン

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地域となっている。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 万トンが国内で生産され、ほとんどが国内消費向けに流通している。輸入は 60~70 万トン程度である。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 基本的特性

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、最適温度を表 1 に示す。通常のカイ培可能温度は 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こし、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

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イネでは、一般に脱粒性は極めて低い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⁾。一般の日本型イネ品種の白色米の種子をほ場の土壌中に埋蔵した場合、大部分の種子では発芽能を失うが、一

部に翌年発芽するものもある⁶⁾。

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げつが発生し生長する。しかし、我が国においては、沖縄等の温暖な地域を除いて、"ひこばえ" は通常冬の低温により枯死するため、越冬して生長することはない。

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て花粉飛散による交雑を調査した結果、隔離距離が 4.5 m の場合は交雑率が 0.6 % 以下、10 m では 0.04 % 以下、15 m では 0.03 % 以下であることが報告されている⁸⁾。また、未発表データとして、平成 16 年度に実施された調査では、風下側に 25.5 m 離れた位置での交雑粒が確認された（交雑率は 0.01 %）⁹⁾。国外には、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。

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るが、葯は開花（開穎）直前には裂開するため、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である¹⁰⁾。穎花は、1000 個以上の花粉が詰まった葯を持つ。花粉の稔性はほぼ 100 %、形状は球形で、葯内では粘質で花粉塊をなしているが、葯が裂開し始めると、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、¹¹⁾ に示したように、未発表データとして風下側に 25.5 m 離れた位置で花粉飛散による交雑が認められている⁹⁾。花粉の寿命は最大で 10 分程度とされる¹¹⁾。

ホ 病原性

へ 有害物質の産生性

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活性は低いことが報告されている¹²⁾。土壌中における他感物質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

本遺伝子組換えイネ (7Crp #242-95-7) の作出に用いた供与核酸の発現カセットの構成要素、サイズ、由来及び機能を表 2 に示した。

表 2 供与核酸の発現カセットの構成要素、サイズ、由来及び機能

構成要素	サイズ	由来及び機能
7Crp 発現カセット		
グルテリン GluB-1 プロモーター (GluB1-P)	2.3 kbp	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。(アクセッション番号 AY427569)
グルテリン GluB-1 シグナルペプチド (^{sig} Glu)	72 bp	グルテリン GluB-1 のシグナルペプチド配列。グルテリン蛋白質の小胞体膜内への輸送に關与する。(アクセッション番号 AY427569)
7Crp (目的遺伝子)	288 bp	スギ花粉 Cryj I 及び Cry j 由来で、ヒトのスギ花粉抗原特異的 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。スギ由来。図 1 を参照。
KDEL 局在化シグナル	12 bp	導入遺伝子産物の小胞体への係留に關与するシグナル配列。イネ由来。図 1 を参照。
グルテリン GluB-1 ターミネーター (GluT)	0.65 kbp	グルテリン GluB-1 をコードする遺伝子のターミネーター。転写終結を規定する。イネ由来。(アクセッション番号 X54314)
MAT ベクターカセット ^{注1)}		
CaMV 35S プロモーター (35S-P)	0.8 kbp	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。(アクセッション番号 U28417)
hpt	1.1 kbp	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。(アクセッション番号 AY373338)
Nos ターミネーター (NosT)	0.3 kbp	アグロバクテリウム Ti プラスミド上のノパリン合成酵素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。(アクセッション番号 AE009420)
T-IPT	1.4 kbp	アグロバクテリウム Ti プラスミド上のサイトカイニン合成酵素遺伝子 (ipt) と、そのターミネーター。選抜マーカー遺伝子として使用。アグロバクテリウム Ti プラスミド由来。(アクセッション番号 AB025109)
R	1.4 kbp	酵母の部位特異的組換え酵素をコードする遺伝子。酵母 pSR1 プラスミド由来。(アクセッション番号 AX380956)
RS	0.4 kbp	酵母の部位特異的組換え DNA 配列。酵母 pSR1 プラスミド由来。(アクセッション番号 X02398)

注 1

本遺伝子組換えイネ (7Crp #242-95-7) には、MAT ベクターカセットは存在せず、RS 配列が 1 個存在する。

用語解説

T細胞：胸腺に由来し、抗原刺激により活性化され、B細胞の分化、増殖及びIgE抗体産生を誘導する。

□ 構成要素の機能

スギ花粉症の発症機構

花粉が鼻や目から吸入されると、花粉を異物として認識する。生体には異物を排除する防御反応が備わっており、この反応を免疫反応と呼び、異物を抗原、抗原と結合して抗原を排除する物質を抗体と呼ぶ。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現れる。

スギ花粉症では、花粉中の Cry j 及び Cry j 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つ抗体に結合して、肥満細胞から様々な炎症を起こす化学伝達物質が放出される。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、かゆみなどのアレルギー炎症を引き起こす¹³⁾。

スギ花粉症の治療方法

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か注射していき、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ながら、全ての患者が根治することがないことから、さほど普及していない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、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細胞の誘導が示唆されている^{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^{14, 15)}。そこで、この現象を活用した T細胞エピトープを用いるペプチド免疫療法が提案されている。この療法は、抗原自体を用いず、B細胞エピトープを含まない T細胞エピトープペプチドを投与するため、副作用がなく、簡便に適用できるという特徴を持ち、第二世代の抗原特異的免疫療法として注目されている。

一般に食べ物に対して免疫反応が見られないように、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。したがって、経口でスギ花粉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。

スギ花粉抗原蛋白質の T 細胞エピトープ

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、スギ花粉抗原特異的な 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、スギ花粉抗原の T 細胞エピトープを毎日食べ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、Cry j I から 3 箇所、Cry j II から 4 箇所の計 7 箇所が、多くのヒトのスギ花粉抗原特異的 T 細胞が認識する主要なエピトープとして同定されている。そこで、これらのエピトープを図 1 b のように連結した人工ペプチド (7Crp) を構築した。種子での 7Crp の蓄積量を高めるため、種子貯蔵蛋白質群において使用頻度の高いコドンを選択して 7Crp 遺伝子を合成すると共に、7Crp 配列の C 末端に KDEL 配列を連結した合計 100 アミノ酸のペプチドを、米の胚乳中で発現させる系を構築した¹⁷⁻¹⁹⁾。同じ抗原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、それぞれの抗原に対して、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。

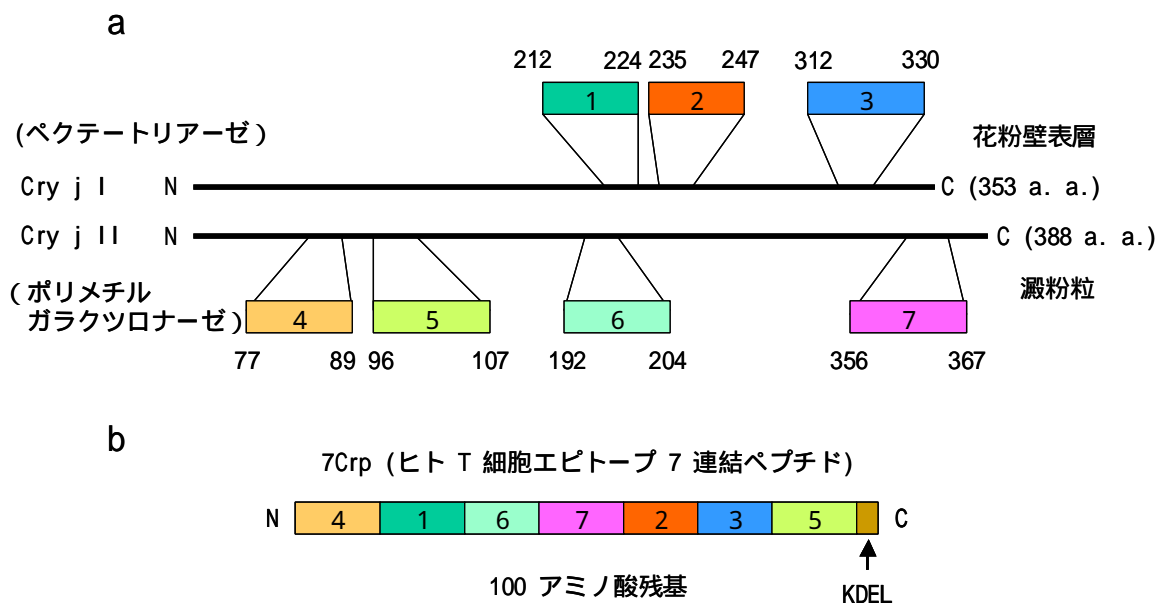


図 1 ヒトの T 細胞が認識するスギ花粉抗原の抗原決定基 (エピトープ) と 7Crp 中のエピトープの配列順序

この 7Crp ペプチドは、Cry j₁ や Cry j₂ 蛋白質と同様に、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、スギ花粉抗原特異的な 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、抗原そのものを用いるよりはるかに適切といえる。

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。

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。(アクセッション番号 AY427569)

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。(アクセッション番号 AY427569)

ウ) 7Crp

スギ花粉中の花粉症の原因となる抗原蛋白質 Cry j₁ 及び Cry j₂ 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" と記載する）部分を発現させる塩基配列（図 1 参照）。

ヒト T 細胞エピトープとして、Cry j₁ 中の 3 箇所、Cry j₂ 中の 4 箇所の領域が同定されている¹⁶⁾。これらのエピトープを連結させた 96 アミノ酸残基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¹⁷⁻¹⁹⁾。

エ) KDEL

蛋白質を小胞体へ局在化させる役割を果たすアミノ酸の塩基配列。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

イネ由来種子貯蔵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塩基配列。(アクセッション番号 X54314)

b MAT ベクターカセット

ア) CaMV 35S 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。
(アクセッション番号 U28417)

イ) hpt

大腸菌由来のハイグロマイシンリン酸化酵素をコードする遺伝子。
(アクセッション番号 AY373338)

ウ) Nos ターミネーター

アグロバクテリウム Ti プラスミド上のノパリン合成酵素遺伝子のターミネーターであり、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。
(アクセッション番号 AE009420)

エ) T-IPT

アグロバクテリウム Ti プラスミド上のサイトカイニン合成酵素遺伝子 (ipt) と、そのターミネーター。選抜マーカー遺伝子として使用。アグロバクテリウム Ti プラスミド由来。(アクセッション番号 AB025109)

オ) R

酵母の部位特異的組換え酵素をコードする遺伝子。酵母の pSR1 プラスミド由来。
(アクセッション番号 AX380956)

カ) RS

酵母の部位特異的組換え DNA 配列。酵母の pSR1 プラスミド由来。
(アクセッション番号 X02398)

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 j₁ 及び Cry j₂ に由来するヒト T 細胞エピトープを連結したペプチドである。しかし、一連のアレルギー反応に必要とされる抗原特異的 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、アレルギー反応を引き起こす可能性は極めて低いと考えられる¹⁴⁻¹⁶⁾。

7Crp 遺伝子を導入した遺伝子組換えイネとして、日本晴を宿主とする本遺伝子組換えイネ 7Crp #242-95-7 とは別に、キタアケを宿主とするスギ花粉ペプチド含有イネ (7Crp, *Oryza sativa* L.) (7Crp #10) が作出され、7Crp ペプチドは 7Crp #10 の胚乳にのみ集積することが明らかにされている¹⁷⁻¹⁹⁾。種子形成期以降にイネ種子を吸汁するクモヘリカメムシを用いた 7Crp #10 種子の摂取試験の結果、クモヘリカメムシの生存率について、7Crp #10 種子を摂取した実験群と比較対照である非組換えキタアケ種子を摂取した実験群との間に、統計学的有意差は認められなかった²¹⁾。このこと

から、7Crp #10 種子の摂取により、クモヘリカメムシが影響を受ける可能性は低いと考えられる。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

名称は、pMAT/GluB1 7Crp。大腸菌 K-12 株及び *Agrobacterium tumefaciens* C-58 株に由来する。

ロ 特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

全塩基数は 20.9 kbp。本 pMAT/GluB1 7Crp ベクターの構造等については、図 2 及び文献 20 を参照。

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)、サイトカイニン合成酵素遺伝子として ipt 遺伝子、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、アグロバクテリウム Ti プラスミド由来のノパリン合成酵素遺伝子ターミネーター及びサイトカイニン合成酵素遺伝子のターミネーター、部位特異的組換え酵素として酵母 pSR1 プラスミド由来の R 遺伝子、部位特異的組換え DNA 配列として酵母の pSR1 プラスミド由来の RS 配列が存在する。

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

本 pMAT/GluB1 7Crp ベクターが感染性を有するという報告はない。

(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

宿主に移入された核酸の構成について、図 2 の に示した。ただし、本組換え体の調製の過程で、図 2 のとおり Hm-MAT ベクターシステムの脱離反応により MAT ベクターカセット部分は除去されている。

なお、マーカーフリー個体の選抜方法については以下のとおりである。

MAT ベクターカセット部分に位置する ipt 遺伝子は、アグロバクテリウム Ti プラスミド由来のサイトカイニン合成酵素をコードする。この ipt 遺伝子産物により合成されるサイトカイニンには植物の茎葉の分化を促進する作用があり、ipt 遺伝子を保持する個体は、過剰なサイトカイニンの作用により多芽体を形成する²⁰⁾。一方、酵母由来の R 遺伝子産物である部位特異的組換え酵素により、ipt 遺伝子や hpt 遺伝子等のマーカー遺伝子を含む RS 配列に挟まれた領域がゲノム DNA から除去された個体では、細胞内サイトカイニン濃度が低下して、正常な茎葉が伸長する²⁰⁾。この茎葉の形態の違いを指標として、マーカー遺伝子が除去されたマーカーフリー個体が選抜された。

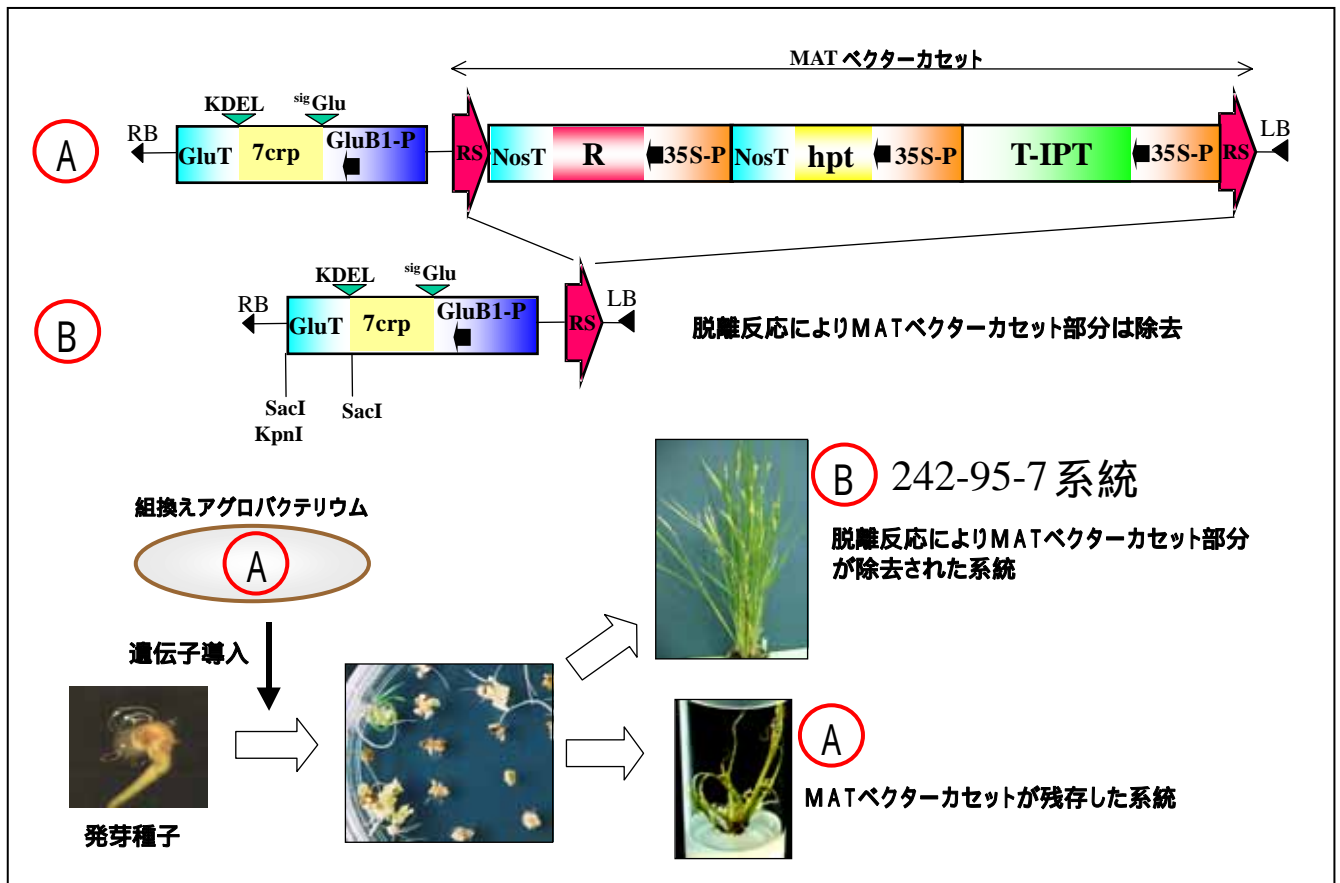


図 2 MAT ベクターシステムの概要

□ 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。

八 遺伝子組換え生物等の育成の経過

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発芽種子に感染させ、ハイグロマイシン (50 mg/l) を含む選抜培地で核酸が移入された細胞を選抜した。その後、正常な茎葉の伸張を指標にして、部位特異的組換え酵素の作用によりマーカー遺伝子が除去されたイネ個体を選抜した。

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 (別紙 1 p1)

7Crp #242-95-7 の T₄ 種子 6 粒をマルチピースショッカーで粉末状に破碎し、1 ml の滅菌水を加えて混合し、遠心上清 0.2 ml を YEB (50 mg/l カナマイシンを含む) プレートへ塗布して、暗所 28 °C で 3 日間培養した。その結果、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された。

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 8 月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、7Crp を種子中に最も多く蓄積するマーカーフリー系統として、T₃ 世代の遺伝子組換えイネ（7Crp #242-95-7）を選抜した。この系統について、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解析を進めた。

平成 16 年 9 月から特定網室（「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第二種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」（平成十六年一月二十九日文部科学省・環境省令第一号）に基づく分類）における安全性試験を開始し、現在 T₇ 植物を栽培している。以下に、系統樹並びに実施した試験項目及び試験対象とした世代を示す。なお、全ての試験において、対照品種は宿主である日本晴とした。

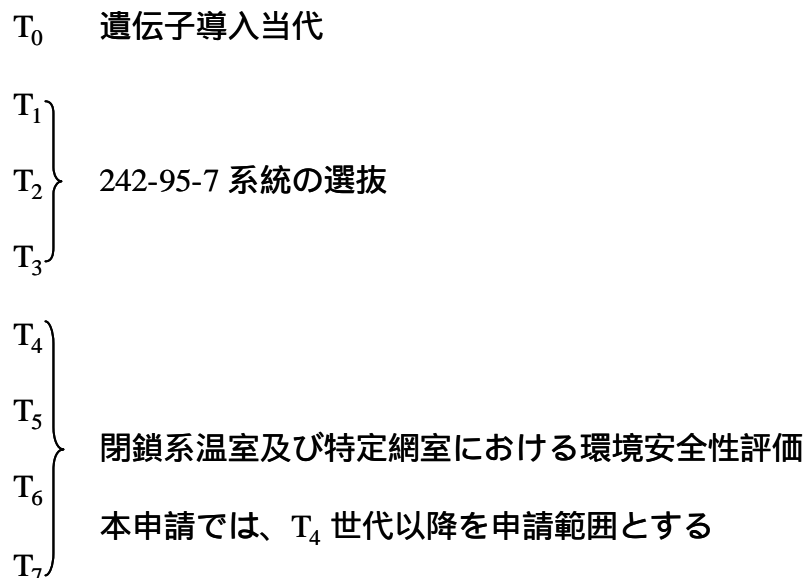


表 3 試験項目及び試験対象とした世代

試 験 項 目	世 代							
	T ₀	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅	T ₆	T ₇
遺伝子の存在状態 (サザンプロット解析) (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								
種子の生産量、稔実率、発芽率、 脱粒性及び休眠性								

(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 (別紙1 p2-4)

7Crp #242-95-7 の T_0 、 T_2 、 T_3 、 T_4 世代のゲノム DNA を用いたサザンプロット分析の結果、全ての世代において 7Crp 遺伝子のシグナルが検出され、バンドパターンが全て同一だった。このことから、移入した 7Crp 遺伝子は、安定して染色体上に存在すると判断された。

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

核酸のコピー数 (別紙1 p2-4)

移入した 7Crp 発現カセットには、Kpn I が認識する配列が、7Crp 遺伝子の 3' 末端と RB との間の領域に 1 箇所存在する。一方、Sac I が認識する配列は 7Crp 発現カセットに 2 箇所存在するが、どちらも 7Crp 遺伝子の 3' 末端と RB との間の領域に存在する (図2 参照)。したがって、7Crp 遺伝子をプローブとしたサザンプロット分析において、検出されるバンドの数は 7Crp 遺伝子のゲノム上の移入部位数に相当する。

Kpn I あるいは Sac I を用いたサザンプロット分析の結果、どちらの酵素を用いた場合でも、全ての世代においてバンドの数は 1 であり、移入部位数は 1 と判断された。単一の移入部位に複数の 7Crp 発現カセットが存在する場合は、Kpn I、Sac I どちらかの酵素を用いた場合でも、7Crp 発現カセットに由来する 2-3 kb のバンドが検出されるはずである。該当するバンドは検出されなかったことから、移入した 7Crp 発現カセットのコピー数は 1 であると判断された。

複数世代における遺伝の安定性 (別紙1 p2-5)

T_0 、 T_2 、 T_3 、 T_4 それぞれの世代のゲノム DNA のサザンプロット分析の結果及び T_4 世代のゲノム DNA の PCR 分析の結果、各世代で安定して 7Crp 遺伝子が保持されていた。また、 T_3 、 T_4 各世代のゲノム DNA のサザンプロット分析の結果及び T_4 世代の PCR 分析の結果、hpt 遺伝子、ipt 遺伝子、R 遺伝子について、シグナル及び増幅されたバンドは検出されなかった。このことから、これらの 3 遺伝子は、ゲノム DNA から除去されたと判断された。

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

二 (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 (別紙1 p6-7)

7Crp #242-95-7 の T_7 種子 8 個の全蛋白質に対するウェスタンプロット解析を行った。その結果、全ての種子で 7Crp のシグナルが検出された。このことから、7Crp の発現に関して 7Crp #242-95-7 の種子個体間での差異はなく、7Crp の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
該当するウイルス等は存在しない。

(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

7Crp 遺伝子の一部を増幅するためのオリゴプライマーを用いた 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 (別紙 1 p2-5)。このプライマーを用いた PCR では、非形質転換体である日本晴の 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 (別紙 1 p2-5)。

(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 (別紙 1 p7)

7Crp #242-95-7 の T₆ 植物の葉、茎及び T₇ 種子の胚乳、胚の全蛋白質に対するウェスタンブロット解析を行ったところ、7Crp のシグナルは胚乳画分でのみ検出され、その他の画分では検出されなかった。このことから 7Crp ペプチドは、7Crp #242-95-7 の胚乳にのみ集積していると判断された。

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 #242-95-7 の花粉において 7Crp 遺伝子は発現しないと考えられる^{22, 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、7Crp #242-95-7 の T₆ 世代の植物及び比較品種である日本晴について、閉鎖系温室内で平成 18 年 5 月 2 日に播種・育苗し、5 月 12 日に特定網室で 1/5000 a ポットに移植した。1 系統・品種当たり 20 ポット移植、施肥量は NPK 各 3.5 kg/a の条件で栽培を行い、形態及び形質の調査を行った。

形態及び生育の特性 (別紙 1 p8)

出穂期は、7Crp #242-95-7 が 1 日早かった。稈長は、7Crp #242-95-7 が約 4 cm 長く、統計学的に有意な差が認められた (有意水準 1%)。穂長、穂数には有意差は認められなかった。

生育初期における低温耐性 (別紙 1 p8)

2 葉期の苗を、暗所 5 で 10 日間処理した後特定網室に移し、4 週間後の生育状況を観察した。その結果、7Crp #242-95-7、日本晴ともに、4 週間後に全て枯死したことから、生育初期における低温耐性について、両者の間に有意な差は認められなかった。

成体の越冬性

隔離ほ場において調査を行う。

花粉の稔性及びサイズ (別紙 1 p9)

花粉稔性及びサイズについて、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に有意な差は認められなかった。

種子の生産量、稔実率、発芽率、脱粒性及び休眠性 (別紙 1 p10-11)

1 株粒数、稔実率ともに、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に有意な差は認められなかった。

7Crp #242-95-7 の発芽率は 99.3 %、日本晴の発芽率は 95.3 % で、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に有意な差は認められなかった。

7Crp #242-95-7、日本晴ともに、脱粒性は "難" で、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に相違は認められなかった。

種子の休眠の強弱は収穫直後の種子の発芽に影響を及ぼす⁶⁾ことから、種子の休眠性を調査するため、種子の穂発芽検定を行った。その結果、7Crp #242-95-7、日本晴ともに、発芽の程度は "中" で、種子の休眠性について、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に相違は認められなかった。

交雑率

交雑可能な近縁野生種が、我が国で自生しているという報告がないことから、調査は行なっていない。

有害物質の産生性 (別紙 1 p 12-14)

閉鎖系温室内で平成 18 年 5 月 2 日に播種・育苗後、5 月 12 日に特定網室で 1 /5000 a ポットに移植して栽培した後の土壌を使用した後作試験、成熟後に収穫、乾燥させた茎葉及び籾を使用した鋤込み試験を行った。その結果、ダイコンの発芽及び生体重について、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に有意な差は認められなかった。

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 #242-95-7 と日本晴との間に有意な差は認められなかった。

3 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

(1) 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

(2) 使用等の方法

所在地：茨城県つくば市観音台二丁目1番地2

名称：独立行政法人 農業生物資源研究所 隔離ほ場

使用期間：承認日から平成22年3月31日まで

1 隔離ほ場の施設

- (1) 部外者の立入りを防止するために、隔離ほ場を取り囲むように、フェンスを設置している。
- (2) 隔離ほ場であること、部外者は立入禁止であること及び管理責任者の氏名を明示した標識を、見やすい所に掲げている。
- (3) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等に付着した土、本遺伝子組換えイネの種子等を洗浄によって除去するための洗い場を設置しているとともに、当該イネの隔離ほ場の外への流出を防止するために、排水系統には沈殿槽、網等を設置している。
- (4) 野生動物等の摂食を防止するために、遅くとも出穂期までには、防鳥網を本遺伝子組換えイネの栽培水田を取り囲むように設置する。

2 隔離ほ場での作業要領

- (1) 本遺伝子組換えイネ及び比較対照のイネ以外の植物が、当該イネの栽培水田で生育することを最小限に抑える。
 - (2) 本遺伝子組換えイネを隔離ほ場の外に運搬し、又は保管する場合は、遺伝子組換えイネが漏出しない構造の容器に入れる。
 - (3) (2)により運搬又は保管する場合を除き、本遺伝子組換えイネの栽培終了後は、当該イネ及び比較対照のイネを隔離ほ場内に鋤込む等により確実に不活化する。
 - (4) 隔離ほ場で使用した機械、器具、靴等は、作業終了後、隔離ほ場内で洗浄すること等により、意図せずに本遺伝子組換えイネが隔離ほ場の外に持ち出されることを防止する。
 - (5) 隔離ほ場が本来有する機能が十分発揮されるように、設備の維持及び管理を行う。
 - (6) (1)から(5)に掲げる事項を第一種使用等を行う者に遵守させる。
 - (7) 生物多様性影響が生じるおそれがあると認められるに至った場合は、別に定める緊急措置計画に基づき、速やかに対処する。
- (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
モニタリング実施計画書を参照。

- (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
なし。
- (6) 国外における使用等に関する情報
なし。

第二 項目ごとの生物多様性影響の評価

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等の特定

7Crp #242-95-7 と日本晴とを比較した温室での栽培試験の結果、出穂期については7Crp #242-95-7の方が1日早く、稈長については7Crp #242-95-7の方が約4cm長かった(有意水準1%で統計学的に有意な差)。一方、その他の形態及び生育の特性、生育初期における低温耐性、花粉の稔性及びサイズ、種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率について調査した結果では、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に有意な差は認められなかった。7Crp #242-95-7 と日本晴との間で、出穂期については相違が、稈長については統計学的有意差が認められた。しかし、これらの7Crp #242-95-7の形態や生育特性により、競合における優位性が高まるとは考えにくい。

また、7Crp #242-95-7は、種子胚乳において、ヒトT細胞が認識するエピトープのみで構成される7Crpペプチドを発現しているが、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。

これらのことから、競合における優位性に関して、7Crp #242-95-7は、比較対照である日本晴と同等であると判断された。

以上のことから、競合における優位性に起因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

上記の評価から、競合における優位性に関して、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

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等の特定

特定網室において栽培した7Crp #242-95-7を用いた後作試験、鋤込み試験、土壌微生物相の調査を行った結果、これらの項目において、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に有意な差は認められなかった。

特定網室において栽培した7Crp #242-95-7の種子を用いて、マウスに対する経口投与試験を行った。その結果、対照である日本晴の種子を経口投与したマウスと比較して、皮膚の炎症や異常な行動等のアレルギー症状の発症は観察されなかった。また、ヒトT細胞エピトープが、他の哺乳動物や鳥類と反応するという報告はない。

以上のことから、有害物質の産生性に起因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

上記の評価から、有害物質産生性に関して、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

3 交雑性

(1) 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定

国外では、栽培種イネ (*O. sativa* L.) と交雑可能な近縁野生種として、野生種イネと呼ばれる植物 (*O. nivara*, *O. rufipogon* 等) が自生し、栽培種イネと交雑することが知られている。しかし、これら野生種イネ等の植物が我が国で自生しているという報告はない。このことから、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

上記の評価から、交雑性に関して、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断された。

4 その他の性質

上記の他に、生物多様性影響の評価を行うことが適当であると考えられる本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

競合における優位性に係る諸形質のうち、7Crp #242-95-7 と日本晴との間で、出穂期については相違が、稈長については統計学的有意差が認められたが、その他の諸形質に関しては、二者の間に有意な差は認められなかった。これらの 7Crp #242-95-7 の形態や生育特性により、競合における優位性が高まるとは考えにくい。

また、7Crp #242-95-7 は、胚乳において 7Crp ペプチドを発現しているが、この形質により、競合における優位性が高まるとは考えにくい。

これらのことから、隔離ほ場における 7Crp #242-95-7 の第一種使用等により、競合における優位性に起因して生物多様性への影響が生じるおそれはないと判断された。

有害物質産生性については、閉鎖系での栽培において、7Crp #242-95-7 と日本晴との間に相違が認められなかったこと、7Crp #242-95-7 が発現するペプチドに有害性はないと考えられること、7Crp #242-95-7 の第一種使用等の内容及び方法により、生物多様性への影響を防止することが可能なことから、有害物質の産生性に起因して生物多様性への影響が生じるおそれはないと判断された。

交雑性については、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で自生しているという報告はないことから、交雑性に起因して生物多様性への影響が生じるおそれはないと判断された。

以上を総合的に評価し、7Crp #242-95-7 を第一種使用規程に従い、隔離ほ場に限定して使用した場合、生物多様性への影響が生ずるおそれはないと判断された。

引用文献リスト

- 1) 松尾孝嶺 (監修) (1989) 植物遺伝資源集成 1 . 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., 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., Yamagishi, H., Shimamoto, Y, Ueno, K., Morishima, H., 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「第一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](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「第一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](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) 斉藤洋三, 井手武 (1994) 花粉症の科学 . 化学同人 . 京都 .

- 14) Haselden, B. M., Kay, A. B., Larche, M. (2000) Peptide-mediated immune responses in specific immunotherapy. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 122, 229-237.
- 15) Wallner, B. P., 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., Shiraishi, A. (2001) Preclinical evaluation of an immunotherapeutic peptide for Japanese cedar pollinosis: a hybrid peptide comprising seven T-cell determinants of Cry j 1 and Cry j 2, the major Japanese cedar pollen allergens. *J. Allergy Clin. Immunol.* 108, 94-100.
- 17) 高岩文雄, 高木英典, 楊麗軍 (2003) スギ花粉アレルゲンヒト T 細胞エピトープをコメ胚乳中に集積させたスギ花粉症緩和米の開発 - 原理と導入遺伝子の構築. 第 21 回日本植物細胞分子生物学会 196.
- 18) 高木英典, 楊麗軍, 高岩文雄 (2003) スギ花粉アレルゲンヒト T 細胞エピトープをコメ胚乳中に集積させたスギ花粉症緩和米の開発 - 形質転換イネの作出と解析. 第 21 回日本植物細胞分子生物学会 197.
- 19) Takagi, H., Saito, S., Yang, L., Nagasaka, S., Nishizawa, N., Takaiwa, F. (2005) Oral immunotherapy against a pollen allergy using a seed-based peptide vaccine. *Plant Biotechnol. J.* 3, 521-533.
- 20) Endo, S., Sugita, K., Sakai, M., Tanaka, H., Ebinuma, H. (2002) Single-step transformation for generating marker-free transgenic rice using the ipt-type MAT vector system. *Plant J.* 30, 115-122.
- 21) 廣瀬咲子, 高木英典, 渡邊朋也, 平井一男, 服部誠, 立石剣, 高岩文雄 (2006) スギ花粉症緩和米の隔離ほ場栽培における生物多様性影響評価 - 昆虫に対する影響 -. *育種学研究* 8 (別 2) 145.
- 22) Qu, L. Q., Takaiwa, F. (2004) Tissue specific expression and quantitative potential evaluation of seed storage component gene promoters in transgenic rice. *Plant Biotechnol. J.* 2, 113-125.
- 23) Takaiwa, F., Takagi, H., Hirose, S., Wakasa, Y. (2007) Endosperm tissue is good production platform for artificial recombinant proteins in transgenic rice. *Plant Biotechnol. J.* 5, 84-92.

別紙・参考資料

個人情報及び社外秘情報につき非開示

緊急措置計画書

平成19年2月23日

氏名 独立行政法人 農業生物資源研究所
理事長 石毛 光雄
住所 茨城県つくば市観音台二丁目1番地2

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 #242-95-7*) 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

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 #242-95-7*) (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、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、すぐにその内容を周知するために、電話、電子メール及び文書などにより連絡を取る。また、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 については、焼却処理あるいはすき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を設置する。