

(別紙) 栽培実験計画書

栽培実験名	スギ花粉ポリペプチド含有イネ ( <i>GluA2-F1</i> 、 <i>GluB1-F2</i> 、 <i>GluC-F3</i> 、 <i>SH-Cry j 2</i> 、改変 <i>ALS</i> 、 <i>Oryza sativa</i> L.) (OsCr11) の栽培
実施法人・研究所名	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門
公表年月日	平成28年4月19日
<b>1. 栽培実験の目的、概要</b> (1) 目的 国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構（以下「農研機構」という。）生物機能利用研究部門は、遺伝子組換え技術を用いて、スギ花粉症を治療する治療薬の候補であるスギ花粉ポリペプチド含有イネ ( <i>GluA2-F1</i> 、 <i>GluB1-F2</i> 、 <i>GluC-F3</i> 、 <i>SH-Cry j 2</i> 、改変 <i>ALS</i> 、 <i>Oryza sativa</i> L.) (OsCr11)（以下、「遺伝子組換えイネ」という。）を開発しました。 今回の栽培実験は、本遺伝子組換えイネの野外栽培における生物多様性影響評価等のデータを収集するために行います。収穫物は、種子の特性調査や加工プロセスの開発、有効性・安全性の調査等に使用します。 (2) 概要 本栽培実験では、平成28年5月から平成29年3月まで、本遺伝子組換えイネの栽培試験を行います。	
<b>2. 栽培実験に使用する第1種使用規程承認作物</b> (1) 作物の名称 スギ花粉ポリペプチド含有イネ ( <i>GluA2-F1</i> 、 <i>GluB1-F2</i> 、 <i>GluC-F3</i> 、 <i>SH-Cry j 2</i> 、改変 <i>ALS</i> 、 <i>Oryza sativa</i> L.) (OsCr11) (2) 第1種使用規程の承認取得年月日等 平成28年3月31日に第1種使用規程（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）の承認を取得しています。 (3) 食品安全性承認又は飼料安全性承認作物の該当性 食品安全性承認作物及び飼料安全性承認作物に該当しません。	
<b>3. 栽培実験の全体実施予定期間、年度毎の栽培開始予定期間及び栽培終了予定期間</b> (1) 全体実施予定期間 平成28年5月 ～ 平成29年3月 (2) 年度毎の栽培開始予定時期及び栽培終了予定時期等 平成28年5月中旬～ 播種・育苗 平成28年6月上旬 隔離ほ場内の水田に移植 平成28年8月中旬～ 出穂期・登熟期 平成28年9月下旬～ 収穫・脱穀	

**4. 栽培実験を実施する区画の面積及び位置（研究所内等の区画配置関係）**

- (1) 第1種使用規程承認作物の栽培規模：隔離ほ場内の水田 2,078㎡  
（水田区画6カ所：隔離水田1 333㎡、隔離水田2 329㎡、隔離水田3 388㎡、  
隔離水田4 381㎡、隔離水田5 386㎡、隔離水田6 261㎡）

なお、水田近傍で、若干数のポットを用いた栽培も行います。

- (2) 栽培実験区画の位置：茨城県つくば市観音台2-1-2  
農研機構観音台第3事業場（以下、「観音台第3事業場」という。）（図1～3参照）  
過去のデータ等から、本栽培実験区画では、イネの開花期の平均風速が毎秒3mを  
超えないことを確認しています。

**5. 同種栽培作物等との交雑防止措置に関する事項**

- (1) 交雑防止措置及びモニタリング措置の内容

本遺伝子組換えイネの栽培実験区画は、観音台第3事業場外の最も近いほ場から約200m離れています。また、「第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」に従って、観音台第3事業場内で試験栽培により開花させる同種栽培作物から30m以上の隔離距離をとります。

開花前の低温により交雑の可能性が想定される場合及び開花期に台風等による強風が想定される場合には、防風ネットで抑風する等交雑防止措置をとります。

本遺伝子組換えイネは、食品安全性承認作物・飼料安全性承認作物に該当しないため、図2に示す観音台第3事業場と外部との境界近くの10カ所で、本遺伝子組換えイネの開発に用いた「コシヒカリ変異系統a123」と茨城県における開花期が同時期であるモチ系統「関東糯236号」を栽培して、観音台第3事業場外に本遺伝子組換えイネの花粉が飛散していないことを確認します。

交雑の確認は、キセニア現象（モチ品種にウルチ品種の花粉が受粉して玄米が半透明になること）を利用して行います。キセニアが見られた場合には、本遺伝子組換えイネに導入した遺伝子の有無を検知できるPCR法による解析により、花粉源が本遺伝子組換えイネかどうかを判別します。交雑の確認に用いる種子数は合計1万粒以上です。

**6. 研究所等の内での収穫物、実験材料の混入防止措置**

- ① 本遺伝子組換えイネの種子を種子貯蔵庫から育苗施設まで搬入する際は、こぼれ落ちないように密閉容器等に入れて搬送します。
- ② 中間管理作業、収穫作業等に使用した機械、器具、長靴等を栽培実験区画外へ移動する際は、隔離ほ場内の洗い場等において入念に清掃、洗浄します。
- ③ 出穂期から収穫期まで防鳥網を設置し、野鳥等による食害及び種子の拡散を防ぎます。

- ④ 収穫、脱穀作業は全て隔離ほ場内で行い、作業には専用の機械を使用するか、あるいは、使用後に機械等を隔離ほ場内で入念に洗浄します。
- ⑤ 収穫物はこぼれ落ちないように密閉容器等に入れ、分析を行う実験室や隔離ほ場内の保冷库等にて保管します。

#### 7. 栽培実験終了後の第1種使用規程承認作物の処理方法

- ① 収穫した種子は密閉容器等に保管し、種子の特性調査や加工プロセスの開発、有効性・安全性の調査等に使用します。調査終了後の種子はオートクレーブ等により不活化した後、廃棄します。
- ② 栽培を終了した植物体の地上部は刈り取り焼却処分するか、残りのイネの残渣及び残った株とともに隔離ほ場内に鋤き込む等により、確実に不活化します。

#### 8. 栽培実験に係る情報提供に関する事項

- ① 栽培実験を開始する前の情報提供等  
茨城県、つくば市、JAつくば市谷田部及びJAつくば市へ情報提供を行います。今後も栽培実験の詳細について情報提供を行います。
- ② 説明会等の計画  
平成28年4月19日 計画書の公表  
平成28年5月12日 栽培実験に係る説明会  
場所：農研機構
- ③ 近隣住民への情報提供  
近隣自治会の自治会長宅へ出向き栽培実験に関して情報提供を行い、各戸には回覧で栽培実験の概要と説明会等についての情報提供を行います。
- ④ その他の情報提供  
栽培実験の実施状況については、農研機構ホームページ  
(<http://www.naro.affrc.go.jp/>) で情報提供を行います。
- ⑤ 本栽培実験に係る連絡先  
農研機構 生物機能利用研究部門企画管理部 遺伝子組換え研究推進室  
電話番号 029-838-7138

#### 9. その他の必要な事項

特になし

(参考)

本遺伝子組換えイネは、スギ花粉症の主要なアレルゲンであるCry j 1（ペクテートリアーゼ）及びCry j 2（ポリメチルガラクトツロナーゼ）の立体構造を改変したタンパク質をコードする遺伝子群を「コシヒカリ変異系統a123」に導入したものです。具体的には、Cry j 1を3つの断片に分割し、個別にイネ種子貯蔵タンパク質と融合した改変Cry j 1-F1、-F2、-F3融合貯蔵タンパク質及び、Cry j 2を3つの断片に分割し、各断片の順序を入れ替えて再結合したシャッフルCry j 2タンパク質（図4：これらをあわせて「改変Cry j」といいます）を、それぞれイネ種子貯蔵タンパク質遺伝子プロモーターによって種子胚乳中に特異的に発現させています。これまでに、閉鎖系温室及び特定網室において栽培実験を行い、生物多様性への影響を調査してきました。その結果、イネの形態や生育特性、有害物質の産生性、花粉稔性や種子特性（発芽性や休眠性等）について、本遺伝子組換えイネと「コシヒカリ変異系統a123」との間に統計的な有意差は認められないことから、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断し、平成23年3月に隔離ほ場における栽培の承認を申請し、平成23年6月に承認を受け、平成23年～平成25年に隔離ほ場での栽培実験を行いました。また、隔離ほ場の拡張に伴い平成25年12月に隔離ほ場における栽培の承認を再申請し、平成26年4月に承認を受け、平成26年～平成27年に隔離ほ場での栽培実験を行いました。

農研機構ホームページで、研究の概要を紹介しているので参照ください。

(<http://www.naro.affrc.go.jp/>)

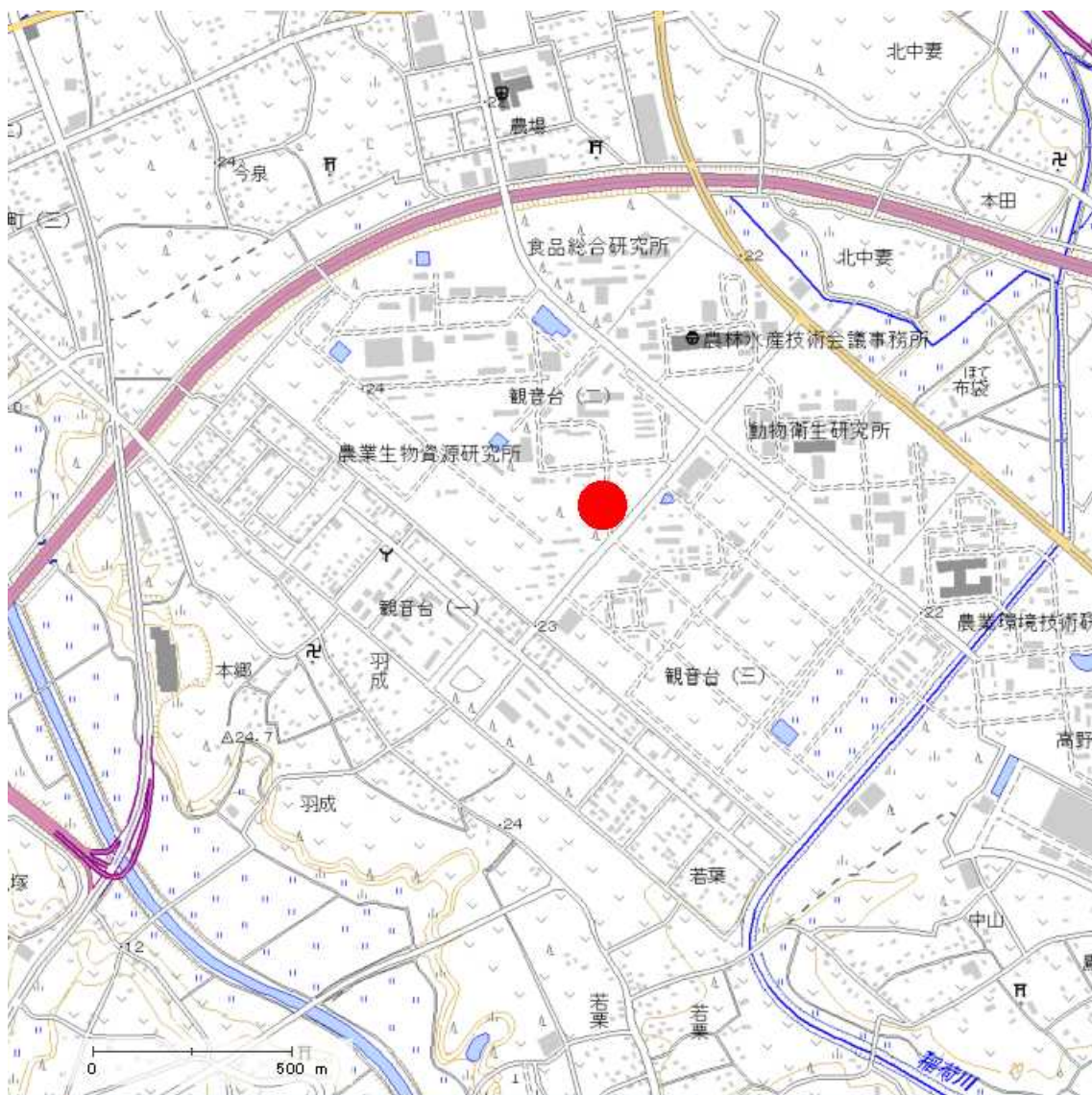


図1 観音台第3事業場周辺の地形図（国土地理院のウェブサービスより）

隔離ほ場は赤丸印の場所に位置します。



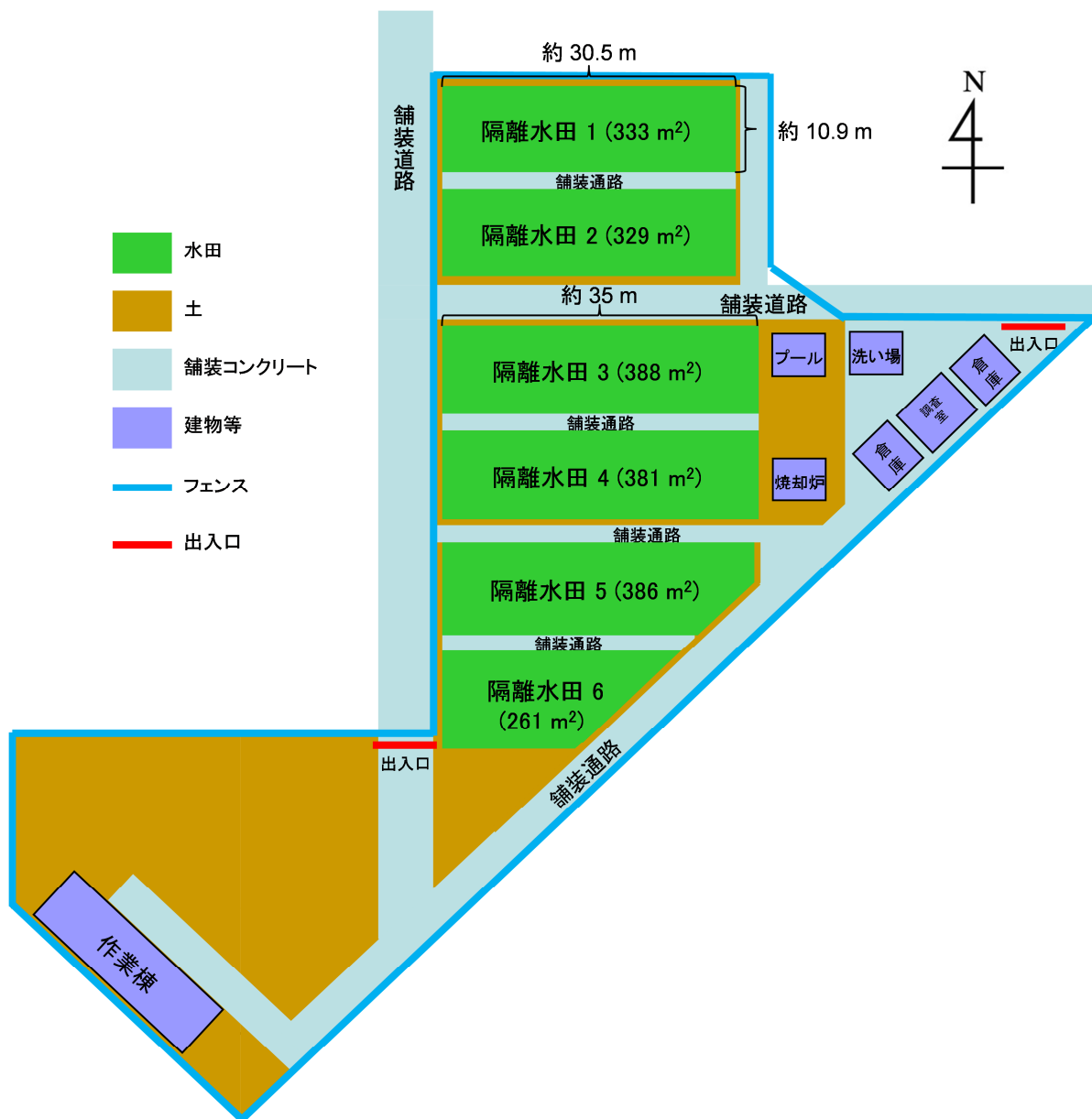


図3 隔離ほ場内の配置図

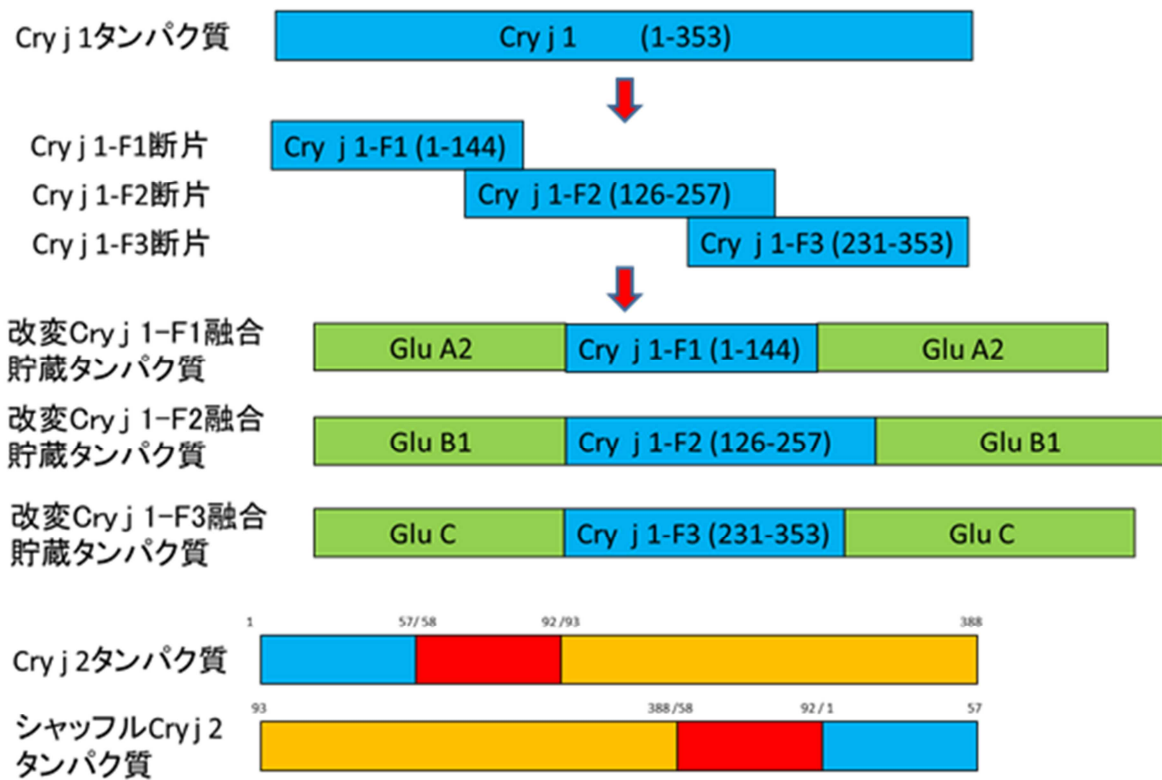


図4 改変Cry j 1-F1、-F2、-F3融合貯蔵タンパク質及びシャッフルCry j 2タンパク質



(参考)

[これまでの開発・安全性評価の経緯]

平成 19 年 アグロバクテリウム法による遺伝子導入実験、系統選抜を開始

平成 21 年 閉鎖系温室における安全性評価を開始

平成 23 年 7 月 農業生物資源研究所の隔離ほ場において栽培開始、同年 11 月に収穫

平成 24 年 5 月 農業生物資源研究所の隔離ほ場において栽培開始、同年 9 月に収穫

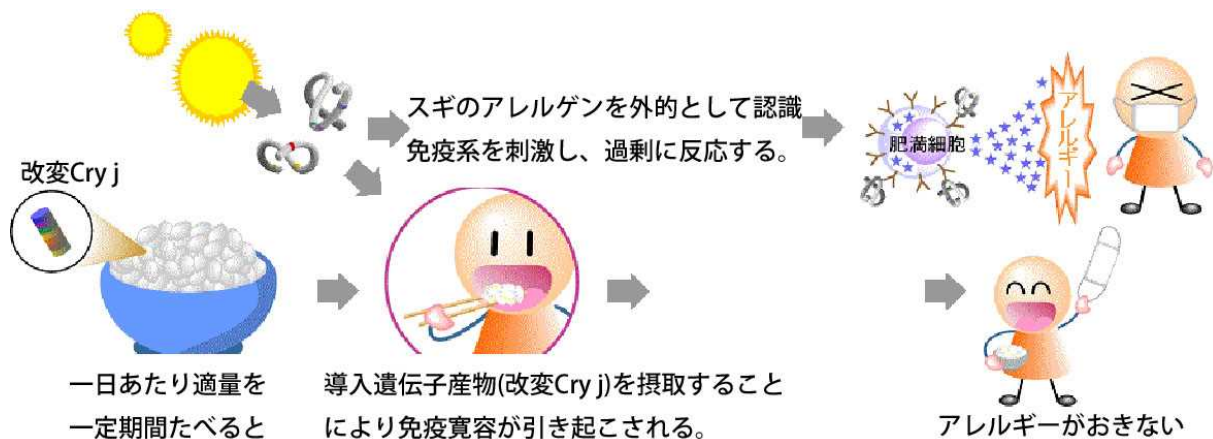
平成 25 年 5 月 農業生物資源研究所の隔離ほ場において栽培開始、同年 9 月に収穫

平成 26 年 6 月 農業生物資源研究所の隔離ほ場において栽培開始、同年 10 月に収穫

平成 27 年 5 月 農業生物資源研究所の隔離ほ場において栽培開始、同年 10 月に収穫

[導入遺伝子の効果]

スギ花粉症では、スギ花粉に含まれる Cry j 1 (ペクテートリアーゼ) 及び Cry j 2 (ポリメチルガラクトナーゼ) と呼ばれる二種類の酵素タンパク質が主要な抗原 (アレルゲン) として同定されています。本遺伝子組換えイネでは、アナフィラキシーのリスク低減を目的として、アレルゲンの立体構造を認識するスギ花粉症患者のアレルゲン特異的 IgE 抗体との結合性を低下させるため、これら二種類のアレルゲンの立体構造を改変したタンパク質を発現させています。このことから、経口減感作療法に用いるアナフィラキシーのリスクが低減した免疫寛容誘発剤として導入遺伝子産物を利用できると考えられています。



[参考文献]

- 1) 斉藤洋三、村山貢司、井手武 (2006) 花粉症の科学 化学同人
- 2) 石井保之 (2009) アレルギー疾患の予防・治療の展望 生化学81巻3号 209-217.
- 3) 高岩文雄、清野宏 (2010) 医療に役立つ経口ワクチン米の開発 農業及び園芸 85巻 1169-1172.
- 4) 高岩文雄 (2009) スギ花粉症緩和組換え米の開発 種子の科学とバイオテクノロジー 学会出版センター 153-159.