

(別紙1) 栽培実験計画書

栽 培 実 験 名	スギ花粉症治療イネ（改変Cry j 蓄積イネ， <i>Oryza sativa</i> L.）(0sCr11)の栽培
実施独立行政法人・研究所名	独立行政法人農業生物資源研究所
公 表 年 月 日	平成26年4月30日

1. 栽培実験の目的、概要

(1) 目的

独立行政法人農業生物資源研究所は、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として、スギ花粉症治療イネ（改変Cry j 蓄積イネ，*Oryza sativa* L.）(0sCr11)（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、0sCr11 の生物多様性影響評価のためのデータを収集するためのものであります。また、収穫物は医薬品（スギ花粉症治療薬）開発の一環として、加工プロセスの開発、スギ花粉症治療米の治験薬としての有効性及び安全性の評価（動物実験）を行うための材料等に使用します。

(2) 概要

平成26年5月から平成26年10月まで、遺伝子組換えイネの栽培実験を行います。栽培の詳細は以下のとおりです。

2. 栽培実験に使用する第1種使用規程承認作物

(1) 作物の名称

スギ花粉症治療イネ（改変Cry j蓄積イネ，*Oryza sativa* L.）(0sCr11)

(2) 第1種使用規程の承認取得年月日等

平成26年4月15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。

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

(1) 全体実施予定期間

平成26年5月 ～ 平成26年10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26年5月下旬	播種・育苗
平成26年6月中旬	隔離ほ場内の水田に移植
平成26年8月中旬	出穂期・登熟期
平成26年9月下旬	収穫（栽培終了）
平成26年10月上旬	脱穀・残渣等の処理

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㎡)
- (2) 栽培実験区画の位置：茨城県つくば市観音台2-1-2（図1・2・3参照）
過去のデータ等から、本栽培実験区画は、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、研究所外の最も近いほ場から約200m離れております。
- 「第1種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」に従って、研究所内で試験栽培される同種栽培作物から30m以上の隔離距離をとります。また、開花期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、防風ネット等で抑風する等交雑防止措置をとります。
- なお、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に示す研究所外部との境界近くの6カ所で、本遺伝子組換えイネの開発に用いた「コシヒカリ低グルテリン変異系統 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、研究所外に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）を利用して行ないます。キセニアが見られた場合には、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法により、花粉源が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. 研究所等の中での収穫物、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研究所内の種子貯蔵庫から育苗施設まで搬入する際には、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を隔離ほ場内に入念に洗浄します。
- ⑤ 収穫物はこぼれ落ちないように密閉容器等に入れ、分析を行う実験室又は隔離ほ場調査室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、医薬品開発の一環として、加工プロセスの開発、スギ花粉症治療米の治験薬としての有効性及び安全性の評価（動物実験）を行うための材料等に使用します。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、J A谷田部及びJ Aつくば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26年4月30日 計画書の公表
平成26年5月11日 栽培実験に係る説明会
場所：（独）農業生物資源研究所
- 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、当研究所ホームページ
（<http://www.nias.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
（独）農業生物資源研究所 広報室 電話番号 029-838-8469

9. その他の必要な事項

特になし

(参考)

栽培実験を行う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ナーゼ）の立体構造を改変した新規タンパク質遺伝子を「コシヒカリ 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、OsCr11と「コシヒカリ a123」との間に統計的な有意差は認められないことから、生物多様性に影響を与える恐れはないと判断し、平成23年3月に、隔離ほ場における栽培の承認を申請しました。平成23年6月に承認を受けた後、平成23年・24年・25年に、隔離ほ場での栽培実験を行いました。

※ 当研究所ホームページで、当研究所における研究の概要を紹介しているので参照ください。

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



図1 農業生物資源研究所周辺の地形図（国土地理院のウェブサービスより）隔離ほ場は丸印の場所に位置する

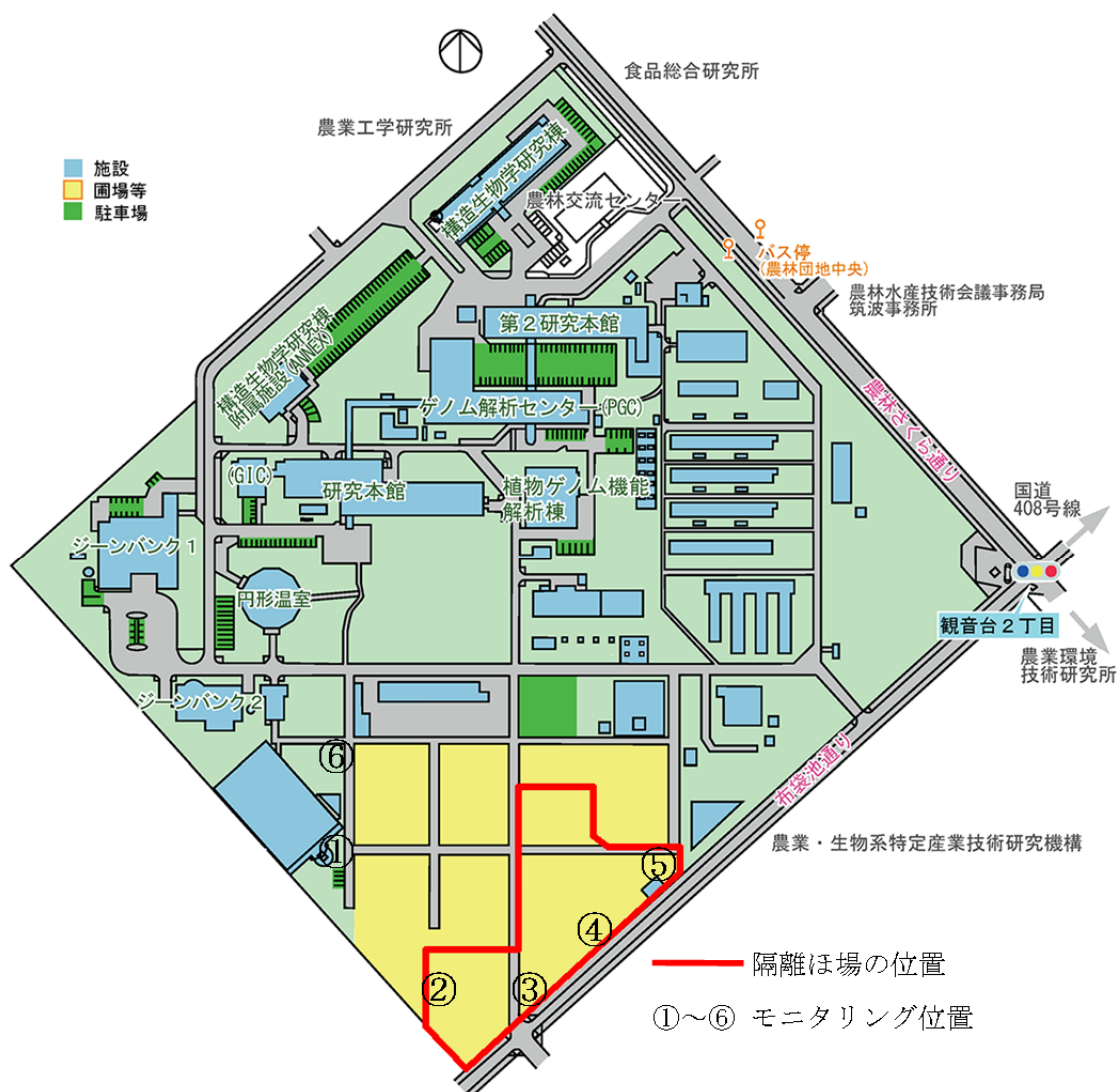


図2 農業生物資源研究所所内配置図

※①～⑥の番号の位置で花粉飛散モニタリング用モチイネ（関東糯 236 号）を栽培します。

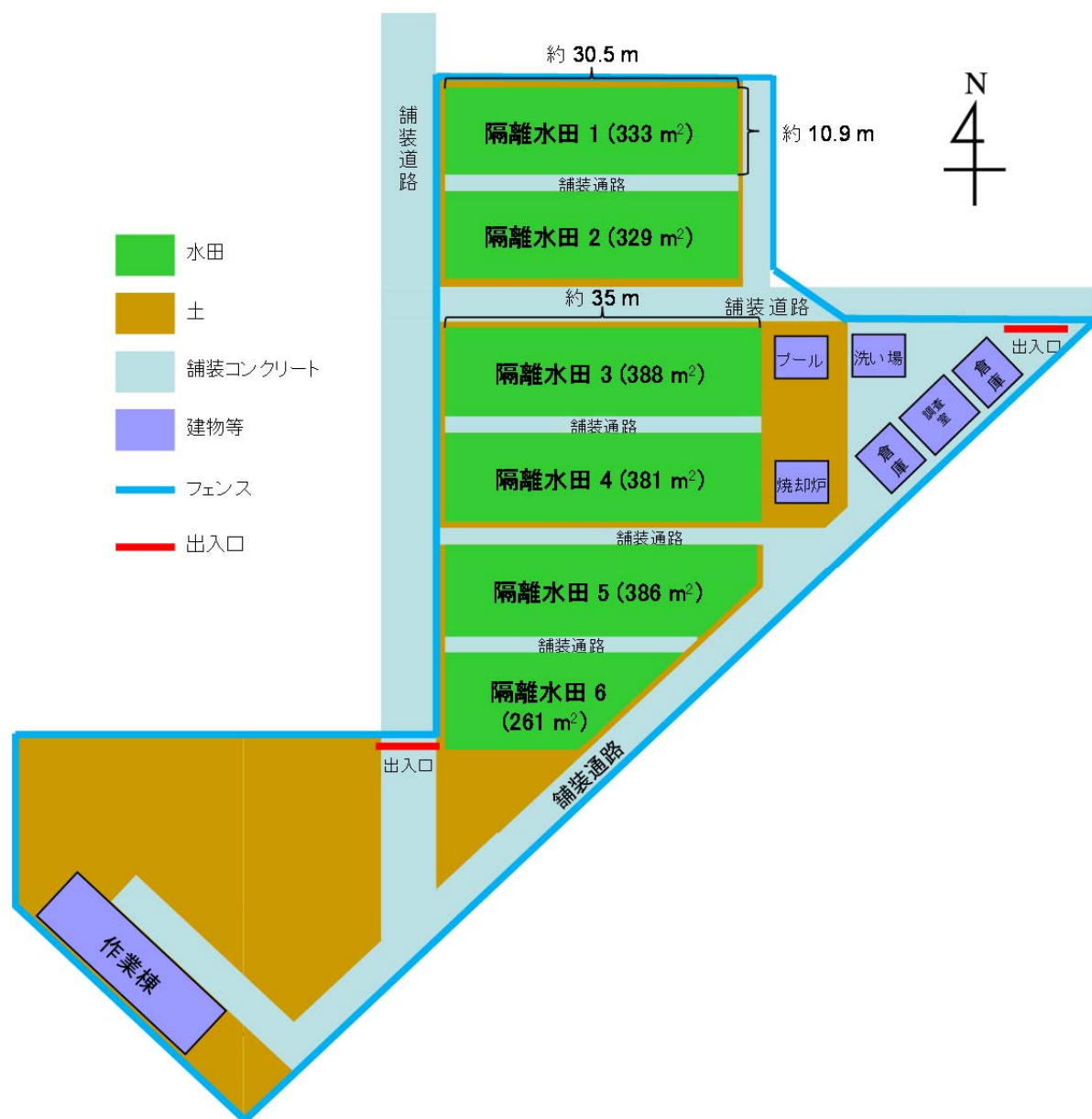


図 3 隔離ほ場内の配置

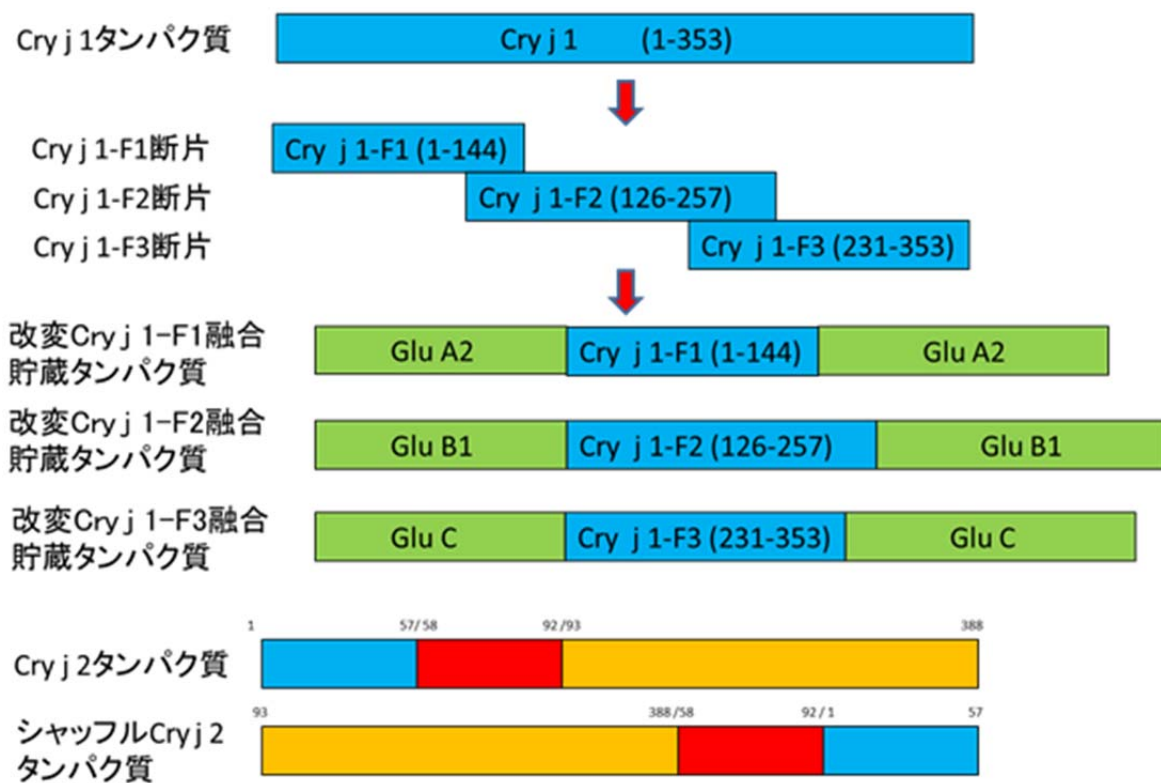


図4 改変 Cry j 1-F1、-F2、-F3 融合貯蔵タンパク質及びシャッフル Cry j 2 タンパク質

(参考)

[これまでの開発・安全性評価の経緯]

平成 19 年からアグロバクテリウム法による遺伝子導入実験、系統選抜開始

平成 21 年から閉鎖系温室における安全性評価試験

平成 23 年 3 月に隔離ほ場における生物多様性影響評価試験について、文部科学省・環境省に申請

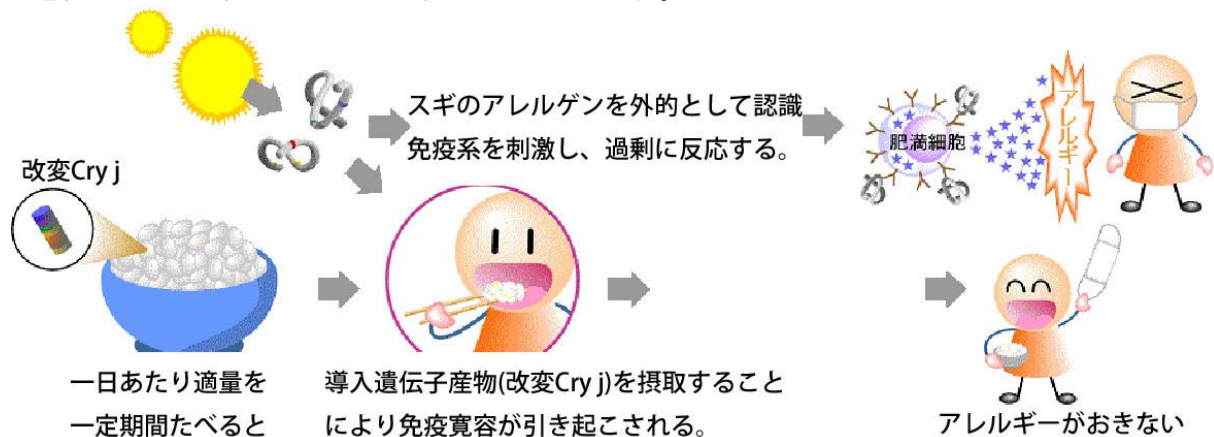
平成 23 年 7 月農業生物資源研究所の隔離ほ場において栽培開始、同年 11 月に収穫

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

[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。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新規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.