

(別紙)栽培実験計画書

栽培実験名	スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネの増殖と生物多様性影響評価(平成18年度)
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18年3月14日
1. 栽培実験の目的、概要 (1) 目的 ① 組換え作物の開発目的 スギ花粉症は国民病といってよいほど日本では最も主要なアレルギー疾患であり、その患者数は2000万人(平成12年度)以上、予備群は国民の5～6割にも及んでいます。スギ花粉症の発症時期は2月から4月までの短期間であるにも関わらず、国民医療保険などで出費される医療費は少なくとも2800億円(平成12年度)にも及び、さらに作業効率の低下や外出ができないなど生活の質の低下などを招くことから、スギ花粉症の根治的治療法の開発が国家的急務となっています。 現在の花粉症の一般的な治療法は、抗アレルギー剤やステロイドホルモンの使用といった対症療法が中心です。唯一の根治的治療法はスギ花粉エキスの注射による減感作療法ですが、副作用や通院の煩わしさ、痛み等を伴うことから、あまり利用されていません。そこで、第2世代の抗原特異的免疫療法として「T細胞エпитープを用いたペプチド免疫療法」が提案されています。人には、一般に食べ物に含まれているタンパク質を異物として認識しない免疫機構(経口免疫寛容現象)が備わっているため、経口でスギ花粉抗原が投与された場合にもアレルギー反応を効率的に抑制させることが期待されます。 そこで、スギ花粉アレルギーの原因となる物質(アレルゲン)の全体構造のうち、ヒトのリンパ球(T細胞)によってアレルゲンとして認識される特定部位(エピトープ)をイネの種子の胚乳中に特異的に蓄積させた米を開発し、この米を食べることで経口免疫寛容を誘導し、スギ花粉症を緩和させることを目的として研究をおこなっています。 ② 本栽培実験の目的 本組換えイネは、閉鎖系及び特定網室での栽培試験で、イネの形態や生育特性、有害物質の産生性、発現の安定性、花粉稔性や種子特性(発芽性や休眠性など)について、非組換えイネと差異が無いことが示されてきました。そこで、平成17年度には、通常の栽培環境条件に近い隔離ほ場において、特定網室で実施した調査項目に加え、種子を摂食・吸汁する昆虫(カメムシ)を用いた摂食・吸汁試験を行い、生物多様性への影響評価を行いました。その結果、隔離ほ場での栽培試験においてもこれら調査項目について本組換えイネは、非組換えイネと実質的な差異が無いことを確認しました。また、平成17年度の栽培により、約300kgの種子を収穫しました。現在、この種子を用いて、食品としての安全性試験(マウス、ラット、サルを用いた急性及び慢性毒性試験、生殖試験、変異原性試験、抗原性試験)を実施しています。 今年度は、生物多様性影響評価試験を継続して行い、環境に対する安全性をさらに調査するとともに、食品安全性・有効性の評価試験に用いる種子を確保するため、本組換えイネを2回(4月中旬～、8月上旬～)栽培します。 (2) 概要 本栽培実験では、平成17年6月上旬より平成19年3月まで、(独)農業生物資源研究所の隔離ほ場で本組換えイネの栽培を行います。	

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

スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネ(7Crp, *Oryza sativa* L.)(7Crp#10)

(2) 第1種使用規程の承認取得年月日等

栽培実験に用いるスギ花粉症予防効果ペプチド含有イネは、「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」に基づく第1種使用規程の承認を得た作物です(平成17年5月25日承認)。

(3) 食品安全性承認又は飼料安全性承認作物の該当性

スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネは、食品安全性承認作物・飼料安全性承認作物に該当しません。

3. 栽培実験の全体実施予定期間、各年度ごとの栽培開始予定期間および栽培終了予定期間

(1) 全体実施予定期間

平成17年6月上旬～平成19年3月まで、隔離ほ場で栽培を行う予定です。

(2) 各年度毎の栽培開始予定時期及び栽培終了予定時期等

[1回目の栽培実験]

平成18年3月下旬	特定網室でスギ花粉症予防効果ペプチド含有イネの播種
平成18年4月中旬	隔離ほ場の水田に移植
平成18年7月中旬	収穫

[2回目の栽培実験]

平成18年7月下旬	特定網室でスギ花粉症予防効果ペプチド含有イネの播種
平成18年8月上旬	隔離ほ場の水田に移植
平成18年10月上旬	収穫
平成19年3月	越冬性試験

4. 栽培実験を実施する区画の面積及び位置(研究所等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: 8.0a

(2) 栽培実験区画の位置: 茨城県つくば市観音台 2-1-2 (別紙図参照)

5. 同種栽培作物等との交雑防止措置に関する事項

(1) 交雑防止措置の内容

本組換えイネの栽培区画は研究所外の最も近いほ場から約750m離れており、また、研究所内で試験栽培されている最も近いイネから32m離れています。

なお、本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、試験ほ場の周辺にポット栽培のモチ米を配置し、試験ほ場外に組換えイネの花粉が飛散していないことを確認します。モチ米には、本組換えイネと開花時期が同時期となる「はくちょうもち」を用います。組換えイネと「はくちょうもち」が交雑しているかの確認は「はくちょうもち」に実った種子を収穫し、1万粒についてキセニア現象が生じているかを確認します。キセニアが見いだされた際には、PCRにより組換えイネに導入された遺伝子の検出を行う予定です。

6. 研究所等の内での収穫物、実験材料の混入防止措置

- ①組換えイネの種子・種苗を種子貯蔵庫から育苗施設及び隔離ほ場まで運搬する際には、こぼれ落ちないように密閉容器に入れて運搬します。
- ②中間管理作業、収穫作業に使用した機械、器具等は、付着した組換えイネが外に持ち出されないように、隔離ほ場外へ移動するときは入念に隔離ほ場内で洗浄を行います。
- ③出穂期から収穫期の期間は野鳥類による食害を防止するため防鳥網を張り、組換えイネの種子が拡散しないようにします。
- ④収穫物は密封容器に入れて、分析を行う実験室内に設置された種子貯蔵庫に保管し、特性調査に供試するとともに、残りの種子は食品安全性試験の材料として精米、炊飯の上、パックに密封します。

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

収穫物をすべて脱穀した後、種子以外の刈り取った地上部はカッターで細断し、残った株とともに鋤込み等により隔離ほ場内で不活性化します。その際、生育調査区域は、越冬性試験のため切り株を残し、試験を終了し次第、これらも鋤き込み等により不活性化します。

8. 栽培実験に係る情報提供に関する事項

①説明会等の計画

平成18年3月14日 計画書の公表
平成18年3月18日 栽培実験に係る説明会
日時：平成18年3月18日(土)13:00～
場所：(独)農業生物資源研究所大会議室(第2本館3階)

その他、栽培実験実施中は随時見学を受け付けるとともに、見学会を開催すること も検討しています。見学会を行う場合には、その詳細を当研究所ホームページに掲載するほか、プレスリリース等によりお知らせします。

②その他の情報提供

栽培実験の実施状況について、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。

③本栽培実験に係る連絡先

(独)農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究推進室
電話番号：029-838-8367
メールアドレス：NIAS-GMO@nias.affrc.go.jp

9. その他の必要な事項

本研究は、農水省アグリバイオ実用化・産業化研究プロジェクト「第二世代遺伝子組換え作物の安全性確保技術の開発」で進めているものです。

(参考)

- これまでの開発・安全性評価の経緯
- 導入遺伝子の効果

※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。

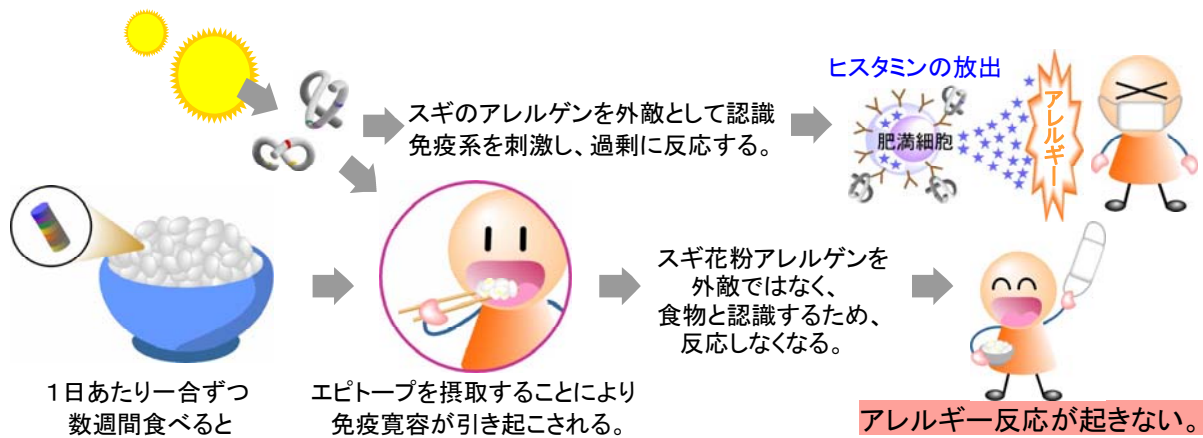
(<http://www.s.affrc.go.jp/docs/genome/genome.htm>)

また、農林水産省ホームページで遺伝子組換えに関する情報を提供しています。

(<http://www.s.affrc.go.jp/docs/anzenka/index.htm>)

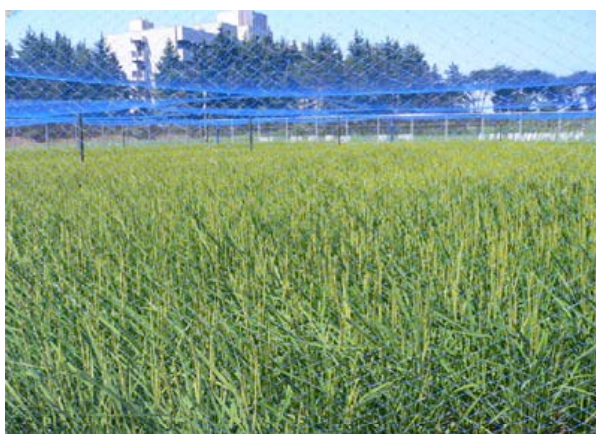
(参考)

【導入遺伝子の効果】



【これまでの開発・安全性評価の経緯】

- | | |
|----------------|--------------------------------------|
| 平成13年7月: | アグロバクテリウム法による遺伝子導入実験開始 |
| 平成13年9月: | 再分化個体の検定・栽培 |
| 平成13年10月: | 閉鎖系温室における安全性評価試験 |
| 平成13年5月: | 非閉鎖系温室における環境に対する安全性評価試験 |
| 平成16年10月: | 隔離圃場における生物多様性影響評価試験について、農林水産省・環境省に申請 |
| 平成17年4月: | 一般説明会 |
| 平成17年6月: | 隔離ほ場へ田植え |
| 平成17年6月～18年3月: | 隔離圃場における生物多様性影響評価試験を実施 |
| 平成17年9月: | 収穫 |



平成17年度実施の花粉症緩和米の栽培

写真左: 生育途中(平成17年7月28日)、右: 花粉症緩和米の収穫(平成17年9月17日)

【参考文献】

- Takagi, H.; Hiroi, T.; Yang, L.; Tada, Y.; Yuki, Y.; Takamura, K.; Ishimitsu, R.; Kawauchi, H.; Kiyono, H.; Takaiwa, F. (2005) A rice-based edible vaccine expressing multiple T cell epitopes induces oral tolerance for inhibition of Th2-mediated IgE responses. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* **102**, 17525-17530.
- 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.
- 保田浩、高岩文雄 (2006) 第2世代の健康機能性組換えイネ 遺伝3月号
- 高岩文雄、高木英典 (2006) 新しいアレルゲン特異的治療法の開発 3) 食べるワクチンの開発 アレルギー・免疫 **13**, 80-89.
- 高木英典・高岩文雄 (2006) 花粉症緩和米の開発とモデルマウスを用いた有効性の評価 農林水産技術研究ジャーナル **29**, 7-9.
- 高岩文雄 (2005) 食べるワクチン”スギ花粉症緩和米” 食品工業12月号 20-28.
- 高岩文雄 (2005) GM作物の成否を占う花粉症緩和米 農業経営者11月号 39.
- 高岩文雄 (2005) スギ花粉症緩和米の開発 Science & Technonews Tsukuba **76**, 24-25.
- 高岩文雄 (2005) 健康機能性米の開発 バイオインダストリー **8**, 16-24.
- 高岩文雄 (2005) 米の品種改良と遺伝子組換え 化学と工業 **58**, 658-660.
- 高岩文雄 (2005) 花粉症緩和米 165-173. 抗アレルギー食品開発ハンドブック サイエンスフォーラム
- 保田浩、高岩文雄 (2005) 遺伝子組換え技術を利用した機能性食品の開発状況 368-385. 新しい遺伝子組換え体(GMO)の安全性評価システムガイドブック(田部井・日野・矢木編)
- 鈴木一矢、高岩文雄 (2005) 物質生産 400-419. 新しい遺伝子組換え体(GMO)の安全性評価システムガイドブック(田部井・日野・矢木編)
- 高岩文雄 (2005) 有用物質生産 農業および園芸 **80**, 110-120.
- 高岩文雄、鈴木一矢 (2004) 機能性成分を作物可食部に蓄積させるフードデザイン 科学と工業 **78**, 188-196.
- 高岩文雄、保田浩 (2004) 植物生命科学が創る機能性食品 化学と生物 **42**, 739-746.
- 高岩文雄 (2004) スギ花粉症緩和米の開発 食の科学 **312**, 32-38.
- 高岩文雄 (2004) 遺伝子組み換え技術を使った機能性食品の開発について 化学工業 **68**, 484-486.
- 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回日本細胞分子生物学会 196.
- 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回日本細胞分子生物学会 197.
- 高木英典、高岩文雄 (2003) スギ花粉症に効果のあるペプチド含有米の開発 ブレインテクノニュース **99**, 6-9.

【隔離ほ場の位置】



隔離ほ場の写真

