

第一種使用規程承認申請書

平成 31 年 2 月 19 日

文部科学大臣 柴山 昌彦 殿
環境大臣 原田 義昭 殿

氏名 国立研究開発法人
申請者 農業・食品産業技術総合研究機構
理事長 久間 和生 印
住所 茨城県つくば市観音台 3-1-1

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。

遺伝子組換え生物等の種類 の名称	広範な病害抵抗性イネ (<i>BSR1</i> 遺伝子発現イネ) (<i>Oryza sativa</i> L. PR1-BSR1)
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の内容	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
遺伝子組換え生物等の第一種使用等の方法	所在地：茨城県つくば市観音台 2-1-2 名 称：農業・食品産業技術総合研究機構 観音台第三事業場 隔離ほ場 及び 所在地：茨城県つくば市観音台 3-1-1 名 称：農業・食品産業技術総合研究機構 観音台第四事業場 高機能隔離ほ場 及び 所在地：茨城県つくば市観音台 3-1-3 名 称：農業・食品産業技術総合研究機構 観音台第七事業場 隔離ほ場 使用期間：承認日から平成 36 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金属製フェンスを設置する。 (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正面入口の見やすい場所に掲示する。 (3) 隔離ほ場で使用した機械、器具及び靴等を洗浄するための洗い場を設置すると共に、水田については、本遺伝子組換えイネの隔離ほ場外への流出を防止するための設備を有する排水系を設置

している。

- (4) 野生動物等の摂食を防ぐため、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。栽培は慣行法に準じ、気象等に対応して防風網又はビニルハウス等の設置を行う場合がある。

2 隔離ほ場の作業要領

- (1) 本遺伝子組換えイネ及び比較対照の非遺伝子組換えイネ以外の植物が隔離ほ場内の使用区画で生育することを、除草管理等により最小限に抑制する。
- (2) 本遺伝子組換えイネ及び比較対照の非遺伝子組換えイネを隔離ほ場外に運搬又は保管する場合には、第二種使用等として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（平成15年法律第97号）第12条又は第13条で定める拡散防止措置を実施する。
- (3) 本遺伝子組換えイネの栽培終了後、保管しない種子（もみ）は焼却処理により確実に不活化を行う。また、刈り取られた稲わらを含む地上部はオートクレーブ又は焼却炉にて不活化する。刈り取られない残りのイネの残さ及びひこばえは、ほ場内に全てすき込み又は埋設等により不活化する。
- (4) 隔離ほ場内で使用した機械、機具及び靴等は作業終了後、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、施設の維持及び管理を行う。
- (6) (1)から(5)までに掲げる事項を第一種使用等をする者に遵守させる。
- (7) 本遺伝子組換えイネによる生物多様性影響が生ず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書に基づき、速やかに対処する。

生物多様性影響評価書

広範な病害抵抗性イネ（*BSRI*遺伝子発現イネ）

（*Oryza sativa* L. PR1-BSR1）

国立研究開発法人

農業・食品産業技術総合研究機構

目次

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報	3
1、宿主又は宿主の属する分類学上の種に関する情報	3
(1) 分類学上の位置付け及び自然環境における分布状況	3
(2) 使用等の歴史及び現状	3
(3) 生理学的及び生態学的特性	4
2、遺伝子組換え生物等の調製等に関する情報	8
(1) 供与核酸に関する情報	8
(2) ベクターに関する情報	10
(3) 遺伝子組換え生物等の調製方法	11
(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	13
(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	15
(6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違	15
3、遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報	20
(1) 使用等の内容	20
(2) 使用等の方法	20
(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	20
(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	20
(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 環境と類似している環境での使用等の結果	21
(6) 国外における使用等に関する情報	21
第二 項目ごとの生物多様性影響の評価	22
1、競合における優位性	22
2、有害物質の産生性	23
3、交雑性	25
第三 生物多様性影響の総合的評価	27
引用文献リスト	28

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

① 和名、英名及び学名

イネ、rice、*Oryza sativa* L. ¹⁾

② 国内及び国外の自然環境における自生地域

国内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。遺伝的多様性の中核地域は、インド東北部のアッサム地方、ラオス、中国雲南省南端のシーサンパンナ・タイ族自治州、ミャンマーと北部タイの範囲であると考えられている。これらの地域はいずれも山岳地帯、丘陵地帯であり複雑な地形を有する地域である¹⁾。

なお、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の特性として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に由来するものであり、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

① 国内及び国外における栽培の歴史

*O. 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

在も最も重要な作物として広く栽培されている。

② 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

イネは非常に広範な地域で栽培されており、北はロシアと中国国境のアムール川の河畔（北緯53度）から南はアルゼンチン中央部（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5億トンを超える。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。我が国でも栽培地は北緯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⁾。

栽培方法によってイネは陸稲と水稲に分けられる。陸稲は畑に直接播種し、畑状態で栽培する。水稲は水田へ直接播種する直播栽培もあるが、苗を移植する栽培法が一般的である。

我が国でのコメの流通実態は、約950万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90万トン程度である。流通量の約88%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⁶⁾。

(3) 生理学的及び生態学的特性

イ 基本特性

本来は多年性であるが栽培上は一年生作物として扱われる。部分他殖性の風媒花であり、通常的环境下では開花と同時に高率で自家受粉が行われる。イネは茎、葉、根、穂の各器官で構成されている。根は種子根と冠根に区別される。冠根は地上部の節部から発生する。茎は地上部の骨格をなすもので、ところどころ節で区切られ、伸長した節間は中空である。葉は葉身と葉鞘からなる。穂は茎の最上節につく。穂は総状花序型の分枝を呈す⁷⁾。

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。

イネの生育最低温度は10～12℃、通常の栽培可能温度は20℃以上で、開花結実には22℃を必要とする。逆に34℃以上では高温障害が発生する。水稻は湛水条件(水田)で栽培する。元来が水生植物であるイネは要求水量の大きな植物であり、灌水がなく土壌水分が表層土で10%以下、下層土で12%以下で干ばつ害が発生する。

表1 イネの生育時期別の限界温度、最適温度(単位:℃)

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

捕食性、並びに寄生性は認められていない。

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

イネは種子繁殖であり、熱帯に分布するインド型イネは比較的脱粒しやすいが日本で栽培される日本型イネでは、一般に脱粒性は低い⁷⁾。

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⁸⁾。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⁷⁾。

② 栄養繁殖の様式（ひこばえ、塊茎、塊根、葡萄枝等）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

イネは一年生の種子繁殖植物であるが、適切な水分や温度条件では種子収穫後も栄養体を維持できる。これは、“ひこばえ”と呼ばれる新しい分けつが節から発生し生長するものであるが、我が国の露地栽培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

イネは自殖性が非常に高い作物である。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4.5 m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⁹⁾。しかし、北海道立農業試験場のデータでは、種子親の低温による雄性不稔化处理、強風、大面積の花粉源等の条件が重なった特殊な状況では、600 m程度の長距離交雑も起こりうるということが報告されている¹⁰⁾。近縁野生種である *O. nivara*、*O. rufipogon* 等は、栽培イネと交雑可能である。国外では、それらが自生している地域もあるが、我が国に自生しているという報告はない。また、自家不和合性及びアポミクシスについての報告はない。

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。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。基本的に自家受粉作物で、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¹¹⁾。花粉の飛散による交雑距離としては、上記の様に特殊な条件下では600 mまで交雑が認められた例もあるが、多くの報告では10 m程度とされている。花粉の寿命は一般に3~5分¹²⁾、最大で10分程度とされる。

ホ 病原性

病原性は認められていない。

へ 有害物質の産生性

レタスを用いたプラントボックス (PB) 法によってイネのアレロパシー (他感物質を産生することによる周囲の野生植物の生育抑制) 能について検討した藤井の報告¹³⁾によると、水稻の中には、アレロパシーを示すものが存在し、この品種間差は大きく、また、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。PB法によりアレロパシー活性の強いことを見出した赤米 (阿波赤米、紅血糯等) は圃場でも雑草抑制作用を示した¹⁴⁾。イネはアレロパシー物質としてモミラクトン群を合成し、根から放出することで、周囲の植物との競争で優位となること、また、ストレス条件下ではより強いアレロパシー活性を持つモミラクトンBの生合成を誘導し、根からの分泌量を増加させることなどが報告されている¹⁵⁾。

ト その他の情報

障害不稔が発生すると玄米のタンパク質含量が高くなる¹⁶⁾。

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（広範な病害抵抗性イネ（*BSR1*遺伝子発現イネ）*O. sativa* L.；PR1-BSR1）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2に示した。

表2 供与核酸のサイズ、由来及び機能

構成要素	サイズ	由来及び機能
遺伝子発現カセット1（ハイグロマイシン抵抗性遺伝子）		
35S プロモーター (<i>P35</i>)	0.8 kb	由来；カリフラワーモザイクウイルス、カリモウイルス科に属する植物ウイルス。主にアブラナ科植物に感染し、モザイク症を起こす。 機能；35sRNAのプロモーター領域。下流の遺伝子を強力に発現させる。
<i>HPT</i>	1.1 kb	由来；大腸菌、腸内細菌科に属する細菌。温血動物の消化管内に生息する。 機能；翻訳産物が抗生物質ハイグロマイシンBを解毒する。遺伝子組換えイネの選抜マーカー
<i>nos</i> ターミネーター (<i>T_{nos}</i>)	0.3 kb	由来；アグロバクテリウム リゾビウム科に属する細菌。多くの双子葉植物に感染し、癌腫病を起こす。 機能；ノバリン合成酵素遺伝子(<i>nos</i>)のターミネーター領域。転写を終結させる。
遺伝子発現カセット2（ <i>BSR1</i> 遺伝子）		
<i>PR1b</i> プロモーター (<i>P_{PR1b}</i>)	2.0 kb	由来；イネ（宿主の記載を参照） 機能；感染誘導性遺伝子（ <i>Pathogenesis Related 1b</i> ）のプロモーター領域を含む5'上流配列。イネでいもち病原菌、白葉枯病原菌の感染に応答して下流の遺伝子を発現させる。
<i>BSR1</i> cDNA (目的遺伝子)	1.3 kb	由来；イネ（宿主の記載を参照） 機能；翻訳産物はイネの病害抵抗性を制御するリン酸化酵素遺伝子。5'非翻訳領域全長と3'非翻訳領域の一部を含む。
35Sターミネーター (<i>T_{35S}</i>)	0.2 kb	由来；カリフラワーモザイクウイルス（上述） 機能；35sRNAのターミネーター領域。転写を終結させる。
<i>nos</i> ターミネーター (<i>T_{nos}</i>)	0.3 kb	由来；アグロバクテリウム（上述） 機能；ノバリン合成酵素遺伝子(<i>nos</i>)のターミネーター領域。転写を終結させる。

ロ 構成要素の機能

本遺伝子組換えイネは、表 2 に示した発現カセット 1 より、大腸菌由来 *HPT* 遺伝子を植物体全体で発現することにより抗生物質であるハイグロマイシン B（以下「ハイグロマイシン」という）に耐性を示す。

また、表 2 に示した発現カセット 2 より、イネ由来の *BSR1* を病原菌感染に応答して発現することが期待される。*PR1b* プロモーターは、いもち病原菌および白葉枯病原菌の両菌の感染に応答して発現する遺伝子の転写開始点上流約 2kb の配列である¹⁷⁾。*PR1b* プロモーターの制御下に *BSR1* を発現させる組換えイネでは、閉鎖系温室内において広範な病害抵抗性を発揮していることがこれまでの研究で明らかにされつつあり¹⁸⁾、野外環境でも同様であることが期待される。

ハ *BSR1* の性質について

いもち病および白葉枯病はイネの主要病害であり、いずれもイネの生産に大きな被害を与える。*BSR1* 遺伝子は、病原菌由来成分（キチンやリポ多糖）に対するイネの防御応答（活性酸素産生や防御遺伝子発現）において重要な役割を果たす受容体様細胞内タンパク質リン酸化酵素遺伝子である^{19), 20)}。*BSR1* 遺伝子を強力なプロモーターであるトウモロコシ・ユビキチン・プロモーターの制御下で植物体全体に過剰発現させた遺伝子組換えイネは、いもち病、白葉枯病、ごま葉枯病等に対して非常に強い抵抗性（広範な病害抵抗性）を示す^{21), 22)}。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称及び由来

pZHI P_{PR1b} : BSR1 (*pZHI* 改変バイナリーベクター)

ロ 特性

未公表データにつき非開示

図1 本遺伝子組換えイネ作出に用いた形質転換用プラスミド (バイナリーベクター) の構造 トータルサイズ 13.3 kb

LB : T-DNA領域レフトボーダー

RB : T-DNA領域ライトボーダー

P_{35S} : CaMV35Sプロモーター

HPT : ハイグロマイシン抵抗性遺伝子

T_{nos} : *nos*ターミネーター

P_{PR1b} : *PR1b*プロモーター

BSR1 : 5'非翻訳領域全長と3'非翻訳領域の一部を含む *BSR1* cDNA

T_{35S} : *35S*ターミネーター

T_{nos} : *nos*ターミネーター

SpR : スペクチノマイシン抵抗性遺伝子

pBR322 ori : 大腸菌複製開始点

pVS1 ori : 緑膿菌複製開始点

staA : プラスミド *pVS1* の安定化タンパク質遺伝子

repA : プラスミド *pVS1* の複製タンパク質遺伝子

ベクター *pZHI P_{PR1b} : BSR1* の塩基数は13.3 kb であり、図1に示すような構成となっている。

本ベクターの基となった *pZHI*²³⁾ は、DNA複製開始点 *pBR322 ori* と *pVS1 ori* を持つ2本鎖環状DNAであり、大腸菌とアグロバクテリウムを含む広範囲の細菌を宿主としてスペクチノマイシン耐性を付与する。

*pZHI*は、宿主菌の分裂増殖によって伝達されるが、プラスミドの他菌体への伝達性は別因子により支配されているため*pZHI*自体の伝達性は無い。宿主である細菌に哺乳動物等に対する病原性を付与することは知られていない。

ベクターを有するアグロバクテリウムの感染により、基本的には右側境界配列(RB)と左側境界配列(LB)に挟まれた領域のDNA(T-DNA領域)が宿主植物の染色体に伝達される。T-DNA領域外には植物で機能する発現カセットは存在しない。植物に移入された核酸は交配によってのみ伝達される。宿主である細菌に哺乳動物等に対する病原性を付与することは知られていない。

(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

バイナリーベクターの構成要素は表2に記載した。また、ベクター内での供与核酸の構成要素の位置は図1に示した。

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

プラスミドを保持したアグロバクテリウムをイネ種子胚盤由来のカルスに感染させ、ハイグロマイシン(30 μ g/ml)を含む選抜培地で抵抗性遺伝子が移入された細胞を選抜し、再分化させることにより、遺伝子組換えイネ再分化当代(T_0)を得た。この T_0 個体群を閉鎖系温室で栽培、自殖種子(T_1 系統群)を得た。さらに、これらの種子から発芽、成長した個体を栽培し、自殖後代の種子(T_2 系統群)を得た。

得られた T_1 あるいはそれ以降の後代については、それぞれの系統の種子から発芽した植物体について、アグロバクテリウムの残存性確認作業を行っているため、アグロバクテリウムが残存していることはない。

具体的には T₁ 種子について、5%次亜塩素酸ナトリウム水溶液を用いて滅菌し、アグロバクテリウムや他の雑菌の除去後に MS 培地上に無菌播種を行った。1 週間以上育苗し、胚乳及び培地表面にバクテリアの増殖は観察されなかった。これら、アグロバクテリウムの残存していないことを確認した T₁ 個体を閉鎖系温室で栽培し、次代（以降）の種子を得た。

本隔離ほ場栽培では、これらの除菌後の後代種子を使用する。

ニ 第一種使用等を行う系統について

本申請は、上記の手順によって得られた複数の系統をほ場で栽培し、第二種使用等（屋内栽培）の段階で観察された広範な病害抵抗性の表現型が、より自然な環境であるほ場栽培で観察されるかについて解析することを目的としている。

1. 隔離ほ場に展開した本遺伝子組換えイネ後代の草丈、稈長、有効分げつ数等の生育調査。
2. 隔離ほ場に展開した本遺伝子組換えイネ後代のいもち病抵抗性、白葉枯病抵抗性等の病害抵抗性調査。
3. 収穫後の乾物重量、一穂粒数、種子稔実率、千粒重等の収量性調査。

本遺伝子組換えイネでは最大20系統程度の栽培を計画している。栽培個体については系統・世代が判別できる管理を行う。

以下、(4)～(6)の情報は、全ての系統のものではなく、先行して得られた系統の一部について示しているが、以下の理由から、生物多様性影響評価を行うことは可能であると考えられる。

- ・交雑可能な野生植物が我が国には存在しないこと。
- ・本遺伝子組換えイネの栽培が管理された隔離ほ場内で行われ、隔離距離の確保、持ち出しを防止する施設・措置などにより本遺伝子組換え

イネの隔離ほ場からの散逸防止策を講じていること。

(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

本遺伝子組換えイネ系統#28のT₁世代の種子36粒について、ハイグロマイシンを含むMS培地に無菌的に播種し、2週間後に発芽個体数を計数し、ハイグロマイシン抵抗性の分離を観察した(表3)。

表3 移入したT-DNAの分離(ハイグロマイシン抵抗性による検出)

未公表データにつき非開示

移入したT-DNAを持つ個体の割合は、有意水準5%で、分離比は単一優性遺伝子の分離比3:1に適合した。

導入遺伝子がオルガネラゲノム上に挿入されている場合には集団のすべての個体が導入遺伝子を持つはずであるが、表3に示す様に、自殖後代で導入遺伝子を持つ個体と持たない個体が分離して出現したことから、移入した核酸が宿主の染色体上に存在していると判断された。

また、選抜マーカーの発現カセットは染色体に移入されたときに機能するようにデザインされており、形質転換の過程で当該イネが薬剤耐性を示したことから考えあわせると、移入した核酸はイネ染色体に組み込まれ、イネ染色体の複製と同時に維持されていることが推察される。また、移入した核酸は、イネ細胞内における複製メカニズムを持たないことから、染色体に組み込まれなかった核酸は、細胞内で核酸分解酵素に分解され、あるいは複製・伝達が起こらないことから、細胞分裂に伴い希釈、消滅したと考えられる。以上から、移入された核酸の複製物は宿主染色体ゲノム上にあると推察される。また、今後得られる系統についても、移入された核酸の複製物は宿主染色体ゲノムにのみ存在することが推察される。

ロ. 移入された核酸の複製物のコピー数及び複数世代における伝達の安定性

T3 世代 2 系統のサザン解析の結果、目的の核酸が組換えイネ中に 2~4 コピー移入されていることを確認した (図 2)。一般的にアグロバクテリウム法で宿主ゲノム上に移入される核酸のコピー数は 1 コピーから数十コピーとなるものまでである。コピー数がジーンサイレンシング等の効果により、発現量等に影響を与えることは知られているため、仮にコピー数が増加しても発現量は頭打ちになることが想定される。

目的遺伝子の発現に伴う表現形質が重要であることから、全系統のコピー数自体のデータがなくても生物多様性影響評価を行うことは可能であると考えられる。

また、植物宿主の染色体ゲノムに移入された核酸の複製物は、転移因子等の配列が含まれない場合には基本的に植物のゲノムには移入された核酸を排除する仕組みがないことから、交配を通じ、伝達される。

本遺伝子組換えイネに移入された核酸には、転移因子等、ゲノムの組換えにかかわる配列を意図的に導入していないことから、安定に伝達されると考えられる。

未公表データにつき非開示

図 2 サザン解析

全DNAを*Hind*IIIで消化後サザンプロットし、HPT領域をプローブとしたハイブリダイゼーションを行った。

ハ. 個体間及び世代間での発現の安定性

表3に示したように、 T_1 世代において導入した選抜マーカー遺伝子によるハイグロマイシンに対する抵抗性が複数個体で観察され、個体間、世代間での発現が安定していることが確認された。

ニ. 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

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、該当しない。

(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

供与核酸の配列に基づいて設計したプライマー対を用い、PCRを行うことで、移入遺伝子の特異的に検出することが可能であり、その感度については、約50ngの全DNAを鋳型として供すれば、検出可能である。また、サザンブロットハイブリダイゼーションによる特異的な検出、識別が可能であり、その検出感度については、約1 μ gの全DNAを用いれば検出可能である。

(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

本遺伝子組換えイネは、宿主と異なり、選抜マーカー遺伝子発現ユニットの移入により、抗生物質ハイグロマイシンに対する耐性が付与されている。

また、イネ*BSRI*遺伝子発現カセットの移入により、いもち病、白葉枯病およびごま葉枯病といった病害に対する広範な抵抗性が付与されていることが期待される。図3は閉鎖系温室でのいもち病検定の結果であり、宿主と比較して抵抗性であることを示している。

未公表データにつき非開示

図3 いもち病抵抗性

3.5-4.5葉期のイネに親和性いもち病菌（race 003.0）を噴霧接種し、6日後に上位2葉における病斑数を計数し合計した。6-8個体の平均値±標準偏差。本組換えイネは原品種に対して病斑数が有意に少なかった（ $P < 0.001$; Dunnett's test）。

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がある場合はその程度

1) 形態及び生育の特性

先行して得られた系統について、閉鎖系温室における達観における観察では、特筆すべき形態学的差異は認められなかった。

かん長、穂数、草型、分けつ数等の形態形質について、また、出穂期、開花期、発芽特性等の生育特性について、承認後、隔離ほ場試験において調査を行う。本申請は限定された隔離ほ場において外部環境への拡散を防止しつつ栽培を行い、野生動植物と競合・交雑させずに栽培試験を行うものであるから、これらのデータがなくても生物多様性への影響評価を行うことは可能であると考えられる。

2) 生育初期における低温耐性

本申請は限定された隔離ほ場において外部環境への拡散を防止しつつ栽培を行い、野生動植物と競合・交雑させずに栽培試験を行うものであ

るから、これらのデータがなくても生物多様性影響評価を行うことは可能であると考えられる。なお、これまで申請されてきた組換えイネにおいては、意図せずに低温耐性が付与された事例は知られていない。

3) 成体の越冬性又は越夏性

承認後、隔離ほ場試験において調査を行う。本申請は限定された隔離ほ場において外部環境への拡散を防止しつつ栽培を行い、野生動植物と競合・交雑させずに栽培試験を行うものであるから、これらのデータがなくても生物多様性影響評価を行うことは可能であると考えられる。なお、これまで申請されてきた組換えイネにおいては、意図せず越冬性が付与された事例は知られていない。

4) 花粉の稔性及びサイズ

本申請は限定された隔離ほ場において、農林水産省が「第1種使用規定承認組換え作物栽培実験指針」で定める交雑防止措置やモニタリング措置等を執りつつ栽培するもので、野生動植物と競合・交雑させずに栽培試験を行うものであるから、これらのデータがなくても生物多様性への影響評価を行うことは可能であると考えられる。

5) 種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

種子の生産性については承認後、隔離ほ場試験において調査を行う。第二種使用等（屋内栽培）における栽培管理に当たっての取扱い経験からは、休眠性、発芽率に特筆すべき差異は認められなかった。また、脱粒性については、遺伝子組換えイネ各系統、1個体の収穫後の穂を握って脱粒の程度を調査した。その結果、組換えイネ系統と宿主である日本晴の間に相違は認められず、脱粒がなかったことから、脱粒性は難と判断した（表4）。なお*ZmUbi*プロモーターで発現させた場合など発現レベルが高すぎると発芽率の低下が生じることは報告されている²¹⁾。

表 4 脱粒性	
	脱粒性
日本晴	難
<i>PR1b-BSR1 #23</i>	難
<i>PR1b-BSR1 #28</i>	難

イネ品種・特性データベース検索システム
「<https://ineweb.narcc.affrc.go.jp/index.html>」における日本晴の脱粒性は難

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

選抜マーカーである HPT タンパク質は同タンパク質（APH4と記載されているがHPTと同じもの）を発現する遺伝子組換え作物（ワタCOT102系統）の食品健康影響評価において、マウスに対する急性毒性試験、既知の毒性タンパク質との同一性、アレルギー誘発性等を検討したうえで、ヒトの健康を損なう恐れがないとされ、組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続きを経た生物として公表されている（平成24年7月19日厚生労働省告示第432号）ことから、同タンパク質に毒性があることは考えにくい。

また、受容体様細胞内酵素タンパク質に毒性があるという報告はないが、BSR1タンパク質が既知のアレルゲン及び毒性タンパク質との同一性がないかを調査した。同一性検索には、ネブラスカ大学Food Allergy Research and Resource Program (FARRP) の既知アレルゲンデータベースを用いた。WHOとFAOによって設置された国際食品規格委員会 (Codex Alimentarius Commission) は、新規タンパク質内の連続した80アミノ酸の内35%超が既知のアレルギー性を有するタンパク質と一致した場合に、IgEとの交差性の可能性を検討するように定めている²⁴⁾。そこで Open Reading Frame (ORF) 内の連続した80アミノ酸のうち、35%超が既知のアレルギー性を有することが明らかとなっているタンパク質と一致

する場合、相同性があると定義した。検索の結果、既知のアレルゲン及び毒性タンパク質との類似の配列は認められなかった。

BSRI遺伝子はイネが本来有しているものであることから、本遺伝子組換えイネで野生動植物等に影響を与えるような有害物質が産生されることは考えにくい。

本遺伝子組換えイネ及び宿主（原品種）の産生する物質が他の植物に与える影響を比較するため、本遺伝子組換えイネ及び原品種（日本晴）を用い、後作土壌および細かく刻んだ葉を混合した土壌でのレタスの発芽及び生育の比較を行った。その結果、遺伝子組換えイネと宿主の間で有意差が認められなかった（表5及び表6）ことから、本遺伝子組換えイネは宿主と比較して、有害物質の産生性に変化がないと推察される。

表5 イネを栽培した後の土壌に播種したレタスの発芽率、新鮮重及び下胚軸長

発芽率(%)	P 値 (t 値)	新鮮重 (mg/10 個体)	P 値 (t 値)	下胚軸長(cm)	P 値 (t 値)
--------	--------------	-------------------	--------------	----------	--------------

未公表データにつき非開示

イネ1個体を約5か月栽培した後の土壌（ボンソル2号、住友化学製）に播種したレタス（メルボルンMT）の、播種14日後（明所、気温22℃の条件を維持）の発芽率、新鮮重及び下胚軸長の平均値（発芽率：33粒当たりの発芽率を3反復、新鮮重：10個体あたりの新鮮重を3反復、下胚軸長：25個体の平均値）。宿主（日本晴）、 P_{PR1b} 系統#23を栽培した後の土壌のいずれを用いても、発芽率等について有意差はない（t-検定、 $P>0.05$ ）。発芽率のP値とt値はデータの逆正弦変換を行い、算出を行った。

表6 イネの葉を混合した土壌に播種したレタスの発芽率、新鮮重及び下胚軸長

発芽率(%)	P 値 (t 値)	新鮮重 (mg/10 個体)	P 値 (t 値)	下胚軸長(cm)	P 値 (t 値)
--------	--------------	-------------------	--------------	----------	--------------

未公表データにつき非開示

微粉末化したイネ3個体分の葉を、重量比5%で培土（花三味、サカタ製）に混合し、同土壌に播種したレタス（Vレタス）の、播種7日後（明所、気温22℃の条件を維持）の発芽率、新鮮重及び下胚軸長（発芽率：30粒当たりの発芽率を4反復、新鮮重：10個体あたりの新鮮重を4反復、下胚軸長：25個体の平均値）。宿主（日本晴）、 P_{PR1b} 系統#23の葉を混合した土壌のいずれを用いても、発芽率等について有意差はない（t-検定、 $P>0.05$ ）。発芽率のP値とt値はデータの逆正弦変換を行い、算出を行った。

3. 遺伝子組換え生物等の使用等に関する情報

本申請は、広範な病害抵抗性に関与する *BSR1* 遺伝子のより詳細な機能解析を行うために、本遺伝子組換えイネを隔離ほ場で栽培し、生育、形態、病害抵抗性といった表現形質及び、宿主の遺伝的背景が形質発現に及ぼす影響といったことに着目した生理学的・遺伝学的研究を行うものである。

(1) 使用等の内容

隔離ほ場における栽培、栽培、保管、運搬及び廃棄ならびにこれらに付随する行為。

(2) 使用等の方法

第一種使用規程のとおり。

なお、隔離ほ場の地図及び隔離ほ場内における試験区の配置図を別紙「隔離ほ場の情報」に示す。

(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

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構のホームページを通して、栽培実験計画書、モニタリング実施計画書等の本件についての情報をお知らせすると同時に、情報収集を行う。

(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

別紙「緊急措置計画書」のとおり。

(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

2の(6)の宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違の項に記載した情報以外に生物多様性の影響を評価する際の参考とすべき情報は特になし。

(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

宿主であるイネ栽培種 (*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ことから、宿主であるイネ自身は、他の野生植物に対し競合における優位性はない。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、本遺伝子組換えイネ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

本遺伝子組換えイネは選抜マーカーとしてハイグロマイシン抵抗性遺伝子発現カセットを有し、抗生物質であるハイグロマイシンに耐性であるが、選抜に有効な高濃度の抗生物質が自然条件下に存在することは考えられず、本カセットの移入が、野生植物に対する競合性を付加することは考えられない。

一方、本遺伝子組換えイネは *BSRI* 遺伝子発現カセットの移入により、いもち病、白葉枯病およびごま葉枯病などの病害に対する抵抗性が付与されていることが期待される。病害抵抗性であることで適応度が若干高まることは否定できないが、野生植物との競合性は、宿主イネ本来の生活サイクルや繁殖様式、形態的・生理的形質といった種固有の特性に大きく依存している。本遺伝子組換えイネでは、これらの性質が *BSRI* 遺伝子発現カセットの移入によって大きく影響を受けていないことから、自然条件で、本遺伝子組換えイネの競合性が高まることは考えられない。

また、本遺伝子組換えイネが抵抗性となる病気の病原菌に対しては、当該個体に付着したものの感染及び増殖が阻害されるが、もともと、我が国において感染宿主となるイネ及び近縁野生種イネの自生は見られな

いことから野生環境で当該組換えイネが耐病性を呈したとしても、病原菌の菌相に影響を与えることは考えられない。

当該第一種使用等は、本遺伝子組換えイネを第一種使用規程に従い隔離ほ場に限定して使用等するものである。隔離ほ場では、本遺伝子組換えイネの持ち出しを防止する施設・措置を講じていること、十分な隔離距離の確保といった、種子・花粉の散逸防止策を講じていることから、隔離ほ場の外部にある野生植物と競合することはない。以上の結果、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植物等は特定されない。

(2) 影響の具体的内容の評価

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動植物等が特定されなかったことから、影響の具体的内容の評価は実施していない。

(3) 影響の生じやすさの評価

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動植物等が特定されなかったことから、影響の生じやすさの評価は実施していない。

(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など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の特定

本遺伝子組換えイネ及び宿主について、後作試験及び鋤込み試験を行ったが、他の植物に対するアレロパシー物質生産性に有意差はみられな

かった。

なお、BSR1と同様の受容体様細胞内タンパク質リン酸化酵素に毒性があるという報告はなく、既知のアレルゲンと機能上重要なアミノ酸を共有するかどうか、アレルゲンデータベースを用いて類似性検索及びシーケンスアライメントを行ったが、既知のアレルゲンと構造的に類似性のある配列は認められなかった。

また、選抜マーカーであるHPTタンパク質に毒性があるという報告はなく、同タンパク質を発現する遺伝子組換え作物が組換えDNA技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続きを経た生物として公表されていることから、同タンパク質に毒性があることは考えにくい。

本申請は、限定された隔離ほ場において栽培を行うものである。隔離ほ場はフェンスで囲まれ、出穂期までに防鳥網を設置するから、イネ種子を摂食する比較的大型の動物や鳥類は接触できない。また、万が一イネに接触する小動物等に対して影響があったとしても、影響を受ける可能性のある小動物等は隔離ほ場に来訪するものに限定的である。さらに、イネに接触した土壌等の持ち出しを防ぐ措置が講じられていることから、栽培土壌を介して外部の動植物等に影響を与えることは考えにくい。

以上から判断して、影響を受ける可能性のある野生動植物等は特定されない。

(2) 影響の具体的内容の評価

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が特定されなかったことから、影響の具体的内容の評価は実施していない。

(3) 影響の生じやすさの評価

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が特定されなかったことから、影響の生じやすさの評価は実施していない。

(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、生物多様性への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るという報告はないことから、影響を受ける野生動植物等は特定されない。

ほ場及び畦畔には栽培種イネの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源があるされている^{2), 3)}が、我が国の雑草イネは野生種イネとの交雑に由来するのではなく栽培種イネ同士の交雑に由来するとされる²⁵⁾。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

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ため、影響の具体的内容の評価は実施していない。

(3) 影響の生じやすさの評価

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ため、影響の生じやすさの評価は実施していない。

(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、本遺伝子組換えイネ及びその後代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。

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ついて、イネは我が国において長年の使用経験がある農作物である。自然条件下で自生することは知られていないことと、本遺伝子組換えイネについて競合における優位性が高まるような知見は得られていないことから、第一種使用規程に従う限りにおいては、本遺伝子組換えイネ及びその後代と競合する可能性のある野生植物は特定されない。また、本第一種使用等は、本遺伝子組換えイネ及びその後代を第一種使用規程に従い隔離ほ場に限定して使用等するものであるから、野生動植物と競合することはなく、隔離ほ場内において競合における優位性が認められた場合であっても、遺伝子組換え生物等の持ち出しを防止する施設・措置を講じていること、十分な隔離距離の確保といった、種子・花粉の散逸防止策を講じていることから、本遺伝子組換えイネ及びその後代の野生植物に対する競合における優位性には影響しない。

有害物質の産生性について、アレロパシー物質の産生性を検討したが、本遺伝子組換えイネと宿主である原品種の間で差はみられなかった。さらに、BSR1タンパク質について、既知のアレルゲンタンパク質と相同性を示さないこと、選抜マーカーである HPT タンパク質に毒性が報告されていないこと及び、隔離ほ場における限定的な栽培であることから、生物多様性影響は生じるおそれはないと判断した。

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には自生していないことから、生物多様性影響は生じるおそれはないと判断した。

競合における優位性、有害物質の産生性及び交雑性について、影響を受ける可能性がある野生動植物等は特定されないことから、総合的評価として、本遺伝子組換え系統及びその後代を第一種使用規程に従った隔離ほ場内での承認された範囲での限定された使用を行った場合には、生物多様性影響を生ずる恐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., 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) 農林水産省 (2018) 平成 29 年度食料需給表
<http://www.maff.go.jp/j/zyukyu/fbs/>
- 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、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.
- 8) 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.
- 9) 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種使用規程承認承認組換え作物栽培実験指針」検討会資

料5-1. <http://>

www.affrc.maff.go.jp/docs/committee/use_rule/02/pdf/siryou5_1.pdf

10) 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.affrc.maff.go.jp/docs/committee/use_rule/05/pdf/siryou1.pdf

11) 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.

12) 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.

13) 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.

14) 荒谷博、平舘俊太郎、藤井義晴 (2004) 赤米等のアレロパシー活性とアレロケミカルの探索 雑草研究49 174-175.

15) 加藤尚 (2016) イネの根からのアレロパシー物質モミラクトンの分泌 根の研究 (Root Research) 25 (1) : 5-13.

16) 北海道の米づくり (2002) 北海道・北海道米麦改良協会

17) Goto S, Sasakura-Shimoda F, Yamazaki M, Hayashi N, Suetsugu M, Ochiai H, Takatsuji H. (2016) Development of disease-resistant rice by pathogen-responsive expression of WRKY45.

- Plant Biotechnol J. 14(4), 1127-38.
- 18) 前田哲、後藤新悟、高辻博志、森昌樹 (2017) 恒常性および感染応答性プロモーターを用いた*BSR1*発現病害抵抗性イネの改良 3. いもち病およびごま葉枯病抵抗性について 育種学研究19 (別1) 、228.
- 19) Kanda Y, Yokotani N, Maeda S, Nishizawa Y, Kamakura T, Mori M (2017) The receptor-like cytoplasmic kinase *BSR1* mediates chitin-induced defense signaling in rice cells. Biosci. Biotechnol. Biochem. 81(8), 1497-1502.
- 20) 神田恭和、西澤洋子、鎌倉高志、森昌樹 (2018) イネ受容体様細胞質キナーゼ*BSR1*は種々のMAMPsに対する防御応答の誘導に關与する 平成30年度日本植物病理学会大会講演要旨集、P. 60
- 21) Dubouzet J.G, Maeda S, Sugano S, Ohtake M, Hayashi N, Ichikawa T, Kondou Y, Kuroda H, Horii Y, Matsui M, Oda K, Hirochika H, Takatsuji H, Mori M (2011) Screening for resistance against *Pseudomonas syringae* in rice-FOX Arabidopsis lines identified a putative receptor-like cytoplasmic kinase gene that confers resistance to major bacterial and fungal pathogens in Arabidopsis and rice. Plant Biotechnol. J. 9(4), 466-485.
- 22) Maeda S, Hayashi N, Sasaya T, Mori M (2016) Overexpression of *BSR1* confers broad-spectrum resistance against two bacterial diseases and two major fungal diseases in rice. Breeding Science 66(3), 396-406.
- 23) Kuroda, M., Kimizu, M., and Mikami, C. (2010) A simple set of plasmids for the production of transgenic plants. Biosci. Biotechnol. Biochem. 74(11), 2348-2351.
- 24) CODEX (2003) Guideline for the conduct of food safety

assessment of foods derived from recombinant DNA plants.

CAC/GL 45.

- 25) 牛木 純、石井 俊雄、石川 隆二 (2005) 岡山県に発生した日本型
およびインド型雑草イネの生理・形態的形質と分布の特徴 育種学研
究 7 (4) p. 179-187

【別紙】

緊急措置計画書

平成 31 年 2 月 19 日

氏名 国立研究開発法人
農業・食品産業技術総合研究機構
理事長 久間 和生
住所 茨城県つくば市観音台 3-1-1

第一種使用規程の承認を申請している「広範な病害抵抗性イネ（BSRI 遺伝子発現イネ）」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

生物機能利用研究部門

業務管理責任者
業務管理主任者
業務従事者
業務従事者

個人情報につき非開示

（以上は現時点での体制及び責任者であり、異動や所内での業務体制の見直しによる変更の際には適切な対応を行う）

2 第一種使用等の状況の把握の方法

(1) 第一種使用等の状況は、作業従事者から説明される実験計画、栽培状況報告、終了報告等により把握し、農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 遺伝子組換え実験安全委員会（作物業務安全委員会）による検討を行う。

なお、本委員会の現時点における構成は以下の通りである。

個人情報につき非開示

個人情報につき非開示

(2) 当該イネ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。

(3) 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

業務従事者等の間での情報共有を速やかに行う。また、生物多様性への影響が生ずるおそれが認められたことを直ちに隔離ほ場のある自治体に電話、ファックス、電子メール、および文書などにより連絡する。さらにホームページ等で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

隔離ほ場で栽培されているイネについて、実験に用いる場合は、第二種使用等として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（平成15年法律第97号）第12条又は第13条で定める拡散防止措置を実施して運搬、保管する。それ以外の不要な種子及び稲わら等そ

の他の部位は、隔離ほ場内のオートクレーブまたは焼却処理あるいはすき込み等による不活化を行う。

5 文部科学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可能性が示唆された場合は、緊急措置を講じた後、速やかに文部科学省研究振興局ライフサイエンス課生命倫理・安全対策室及び環境省自然環境局野生生物課に報告するとともに作物業務安全委員会並びに農業・食品産業技術総合研究機構内関係部署に報告する。

別紙

隔離ほ場の情報

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構がつくば観音台地区に保有する3か所の隔離ほ場の情報を以下に示す。第一種使用等を行うほ場は第一種使用規程のとおり。

◎ 受容環境（隔離ほ場）に関する情報

1. 隔離ほ場の所在地等

(1) 名称

- | | | |
|--------------------|----------|---------|
| A. 農業・食品産業技術総合研究機構 | 観音台第三事業場 | 隔離ほ場 |
| B. 農業・食品産業技術総合研究機構 | 観音台第四事業場 | 高機能隔離ほ場 |
| C. 農業・食品産業技術総合研究機構 | 観音台第七事業場 | 隔離ほ場 |

(2) 住所

- A. 茨城県つくば市観音台2-1-2
- B. 茨城県つくば市観音台3-1-1
- C. 茨城県つくば市観音台3-1-3

(図1、2、4、6)

(3) 連絡先電話番号

029-838-8709

(農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門 リスク管理室)

2. 施設概要

部外者の立入りを制限するためのフェンス、立入禁止であること及び管理責任者の氏名を記載した標識、洗場、焼却炉を設置している。水田を備えている。

畑ほ場を備えている（C.のみ）

(図3、5、7)

3. 面積

- A. 隔離ほ場全体の面積は約 55.4a； 水田の面積は約 20.8a
- B. 隔離ほ場全体の面積は約 60a； 水田の面積は約 30a
- C. 隔離ほ場全体の面積は約 82a； 水田の面積は約 5.2a、畑ほ場は約 13.8a

4. 隔離ほ場の周辺環境

(1) 地形

茨城県つくば市内、筑波・稲敷台地に位置する

(2) 周辺の土地利用状況

隔離ほ場は機構の敷地内にある。隔離ほ場外周から機構の敷地境界までそれぞれ最短で

A. (敷地を貫く公道を除き) 約 250m である。

B. 約 150m である。

C. 約 50m である。

なお、機構内の試験水田で栽培される受粉可能なイネは、隔離ほ場からは 200m 以上離れている。

(3) 5. 周辺の環境保護区の名称と隔離ほ場からの距離

半径 1km 圏内に環境省の定める自然保護地域（国立公園、国定公園、厚生自然環境保全地域、自然環境保全地域）はない。なお、最も近い自然保護地域は水郷筑波国定公園であり、茨城県土浦市の霞ヶ浦まで約 10 キロである。

(4) 気象条件

隔離ほ場の最寄りの気象情報観測地点である茨城県つくばアメダス観測所（茨城県つくば市館野）における気象データの平年値を表1に示した（気象庁ウェブサイト、気象統計情報ページより。アクセス日 2018年12月10日、http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/view/nml_sfc_ym.php?prec_no=40&block_no=47646&year=&month=&day=&view）。

表1 茨城県つくばアメダス観測所（茨城県つくば市館野）における気象データの平年値

つくば(館野) 平年値(年・月ごとの値) 主要要素						
要素	降水量 (mm)	気温 (°C)			風向・風速 (m/s)	日照時間 (時間)
	合計	平均	最高	最低	平均	合計
統計期間	1981 ～2010	1981 ～2010	1981 ～2010	1981 ～2010	1981 ～2010	1981 ～2010
資料年数	30	30	30	30	30	30
1月	43.8	2.7	9	-3.2	2.3	194.1
2月	51.6	3.7	9.7	-2.2	2.5	174.2
3月	99.5	7.1	12.8	1.2	2.6	171
4月	105.6	12.5	18.3	6.6	2.8	173.3
5月	120.3	16.9	22	11.8	2.6	172.7
6月	133.1	20.2	24.6	16.3	2.4	121.2
7月	127.1	23.9	28.3	20.4	2.4	139.5
8月	130.6	25.5	30.2	21.8	2.4	178.6
9月	183.2	21.9	26.2	18.1	2.3	123.9
10月	165.9	16	20.9	11.3	2	136.5
11月	78.8	10	15.9	4.6	1.9	146.5
12月	43.6	5	11.4	-0.9	2.1	181.3
年	1282.9	13.8	19.1	8.8	2.4	1912.8

(5) 台風の襲来歴

隔離ほ場のある関東地方への過去 10 年間の台風の接近数を表 2 に示した。

表 2 関東地方への過去 10 年間の台風の接近数

(気象庁ウェブサイト、気象統計情報ページより。アクセス日 2018 年 12 月 10 日
http://www.data.jma.go.jp/fcd/yoho/typhoon/statistics/accession/kanto_koshin.html)

「台風が中心が茨城県、栃木県、群馬県、埼玉県、千葉県、東京都（島しょ部を除く）、神奈川県、山梨県、長野県のいずれかの気象官署等から 300km 以内に入った場合を「関東甲信地方（伊豆諸島および小笠原諸島を除く）に接近した台風」としています。(注) 接近は 2 か月にまたがる場合があり、各月の接近数の合計と年間の接近数とは必ずしも一致しません。」(サイトの原文のまま)

年	1月	2月	3月	4月	5月	6月	7月	8月	9月	10月	11月	12月	年間
2017							1	1	1	2			5
2016								4	1	1			6
2015									1				1
2014							1	1		2			4
2013									1	2			3
2012						1			1	1			2
2011							1		1				2
2010								1	1	1			3
2009								2	1	2			4
2008								1	1				2

(6) 過去 10 年におけるほ場冠水の経験とその程度

隔離ほ場を建設して (A. 2004 年、B. 2006 年、C. 1991 年) 以来、冠水したことはない。

(7) 過去 10 年における強風の経験とその程度

2018 年 9 月 30 日に関東地方を通過した台風 24 号により、観音台第七事業場 隔離ほ場外からの倒木により、外周を取り巻くフェンスが破損し、早急に修繕を行った。当時、栽培されていた遺伝子組換え植物はなかった。それ以外では、隔離ほ場を建設して以来、強風による設備・作物への被害はない。

(8) 市町村が策定するハザードマップ上の位置付け

隔離ほ場は、つくば市が作製した「つくば市洪水ハザードマップ」において、浸水想定区域に指定されていない。

(9) 周辺地域における鳥獣害の発生状況

隔離ほ場周辺にカラス及びスズメ等が見られるが、イネの栄養生長期における鳥類による被害は報告されていない。出穂期以降は防鳥網によってこれらの侵入を防ぐことができる。また、隔離ほ場にはフェンスが設置されており、獣害は発生していない。

(10) 隔離ほ場周辺の生物相

- 1) 遺伝子組換え植物を隔離ほ場で栽培等を行うことによって、影響を受ける可能性のある野生動植物等及びその中に希少種が含まれる場合はその名称
影響を受ける可能性のある野生動植物等はない。
- 2) 交雑可能な近縁野生種及びその中に希少種が含まれる場合はその名称
交雑可能な近縁野生種はない。

5. 栽培管理等

(1) 栽培履歴

隔離ほ場における過去5年間の栽培履歴は以下のとおりである。

A.

栽培年度	植物
2014年	イネ*
2015年	イネ*
2016年	イネ*
2017年	イネ*
2018年	イネ*

*は遺伝子組換え植物を含む

B.

栽培年度	植物
2014年	イネ*
2015年	イネ*
2016年	イネ*
2017年	イネ*
2018年	イネ*

*は遺伝子組換え植物を含む

C.

栽培年度	植物
2014年	イネ*
	タバコ*
	ソルガム
	コムギ
2015年	イネ*
	タバコ*
	ソルガム
	コムギ
2016年	イネ*
	ソルガム
	コムギ
	コマツナ
2017年	イネ*
	ソルガム
	コムギ
	コマツナ
2018年	イネ*
	ソルガム
	コムギ
	コマツナ

(2) 気象災害時の対応

気象災害が発生した場合、まず、栽培区域における被害状況を確認し、必要と判断した場合には、別紙「緊急措置計画書」にしたがって速やかに対策を講じる。

(3) 栽培終了後の利用計画（ボランティア植物の監視を含む）

ボランティア植物の発生を確認した場合、ただちに隔離ほ場内での不活化や拡散防止措置を行うとともに、その他の適切な措置を講じる。なお、本遺伝子組換えイネの栽培終了後も、本隔離ほ場では遺伝子組換え植物の栽培を行う予定である。

4. 試験期間及び隔離ほ場試験における生物多様性影響の安全対策に関する措置
第一種使用規程のとおり



図1 つくば地区観音台事業場における隔離ほ場の配置図

上記の隔離ほ場は、直近の一般農家の水田から 500m 以上、また、農業・食品産業技術総合研究機構が有する直近の水田から 200m 以上の隔離距離を確保している。

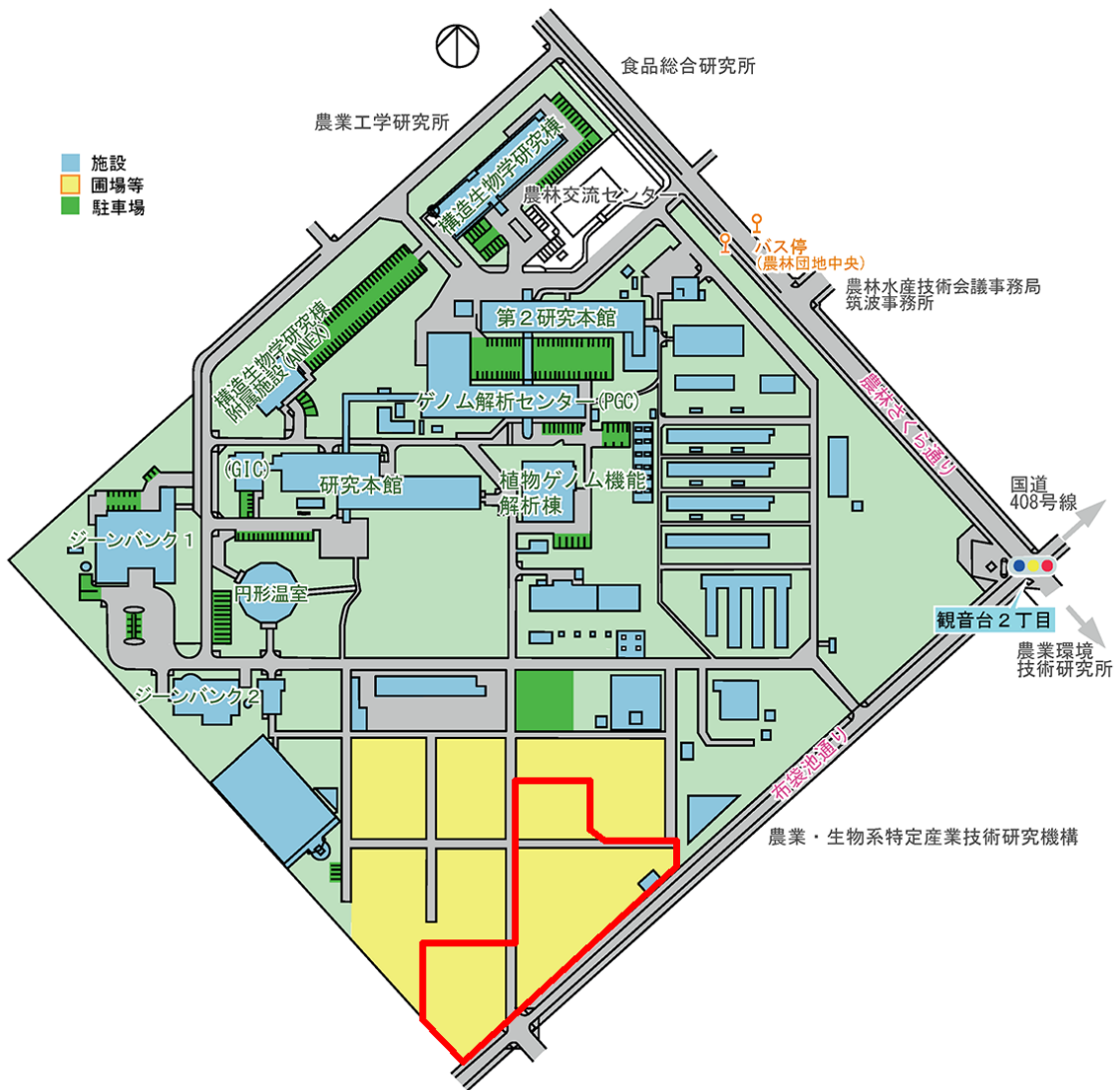


図2 農業・食品産業技術総合研究機構
 観音台第三事業場内配置図

隔離ほ場略図

- 水田
- 畑地・土
- 舗装コンクリート
- 建物等
- フェンス
- 出入口
- 給水施設
- 浸透弁
- 排水用溝 及び 流路

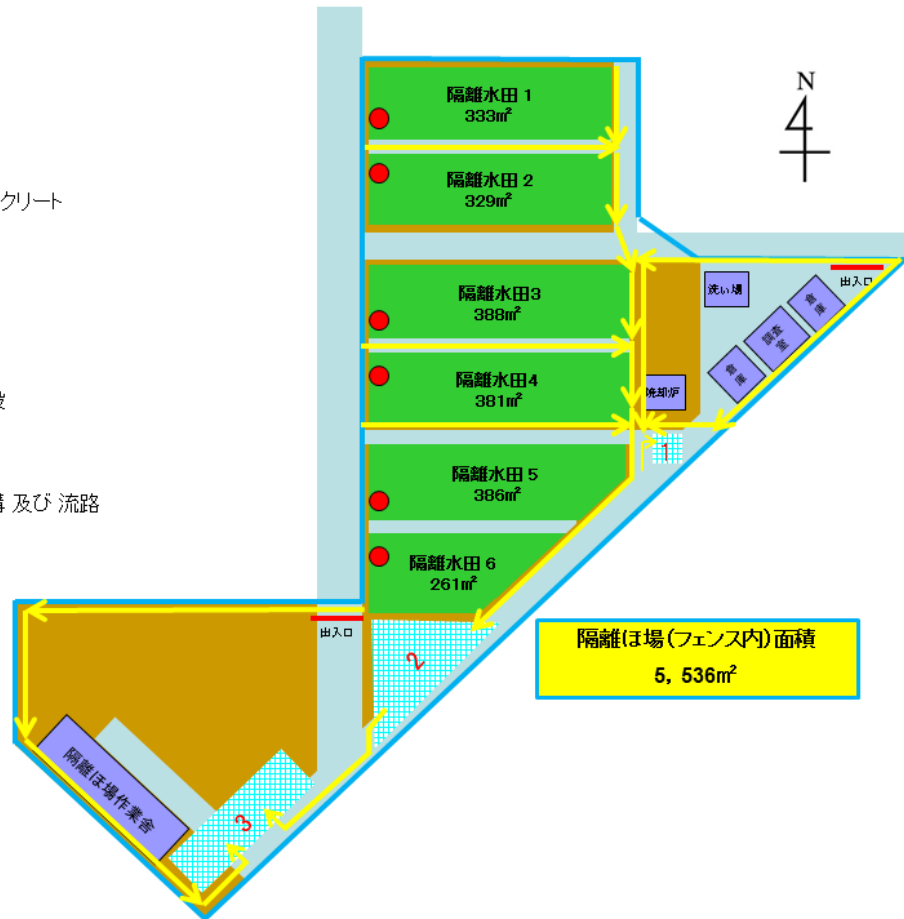


図3 農業・食品産業技術総合研究機構
観音台第三事業場 隔離ほ場内配置図

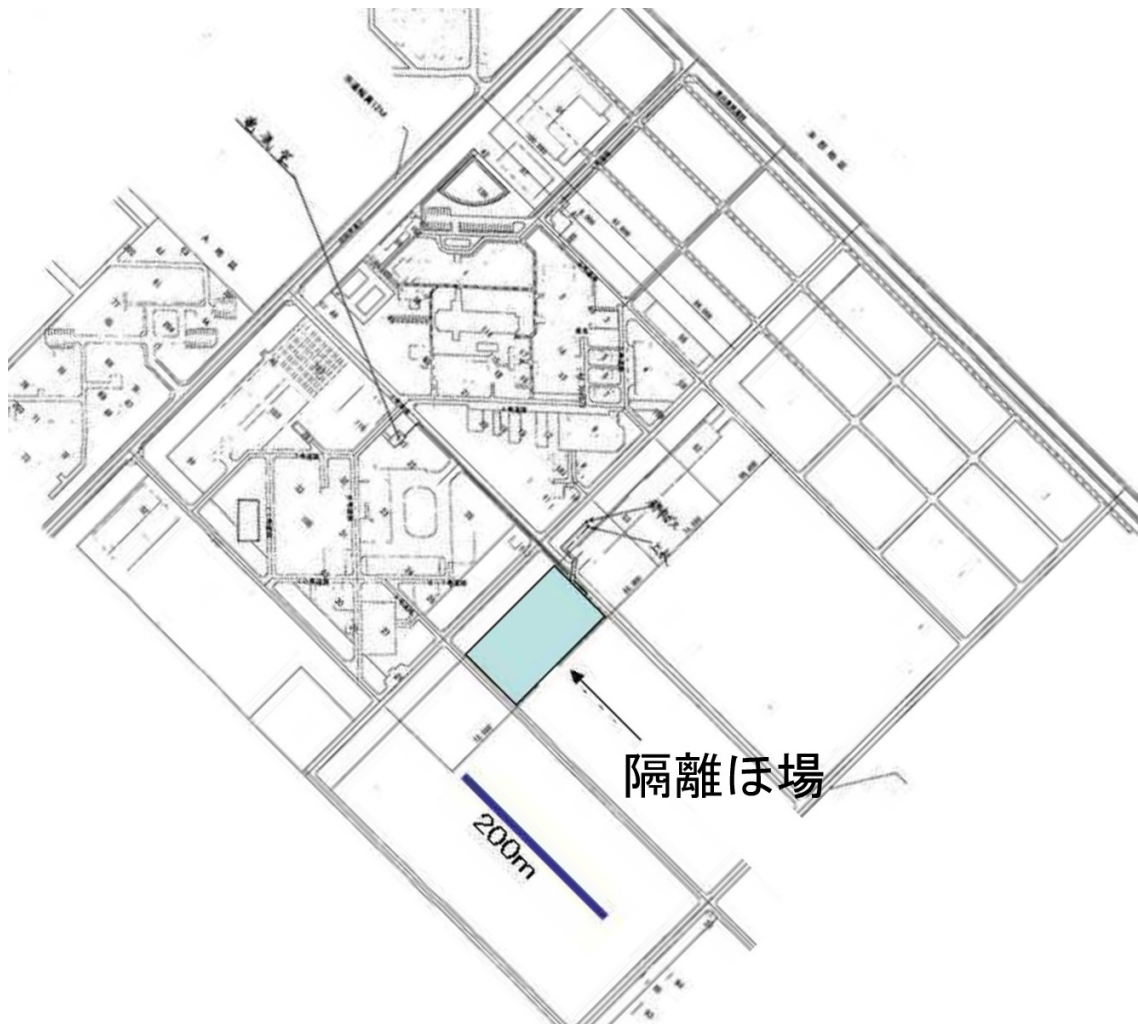


図4 農業・食品産業技術総合研究機構
観音台第四事業場内配置図

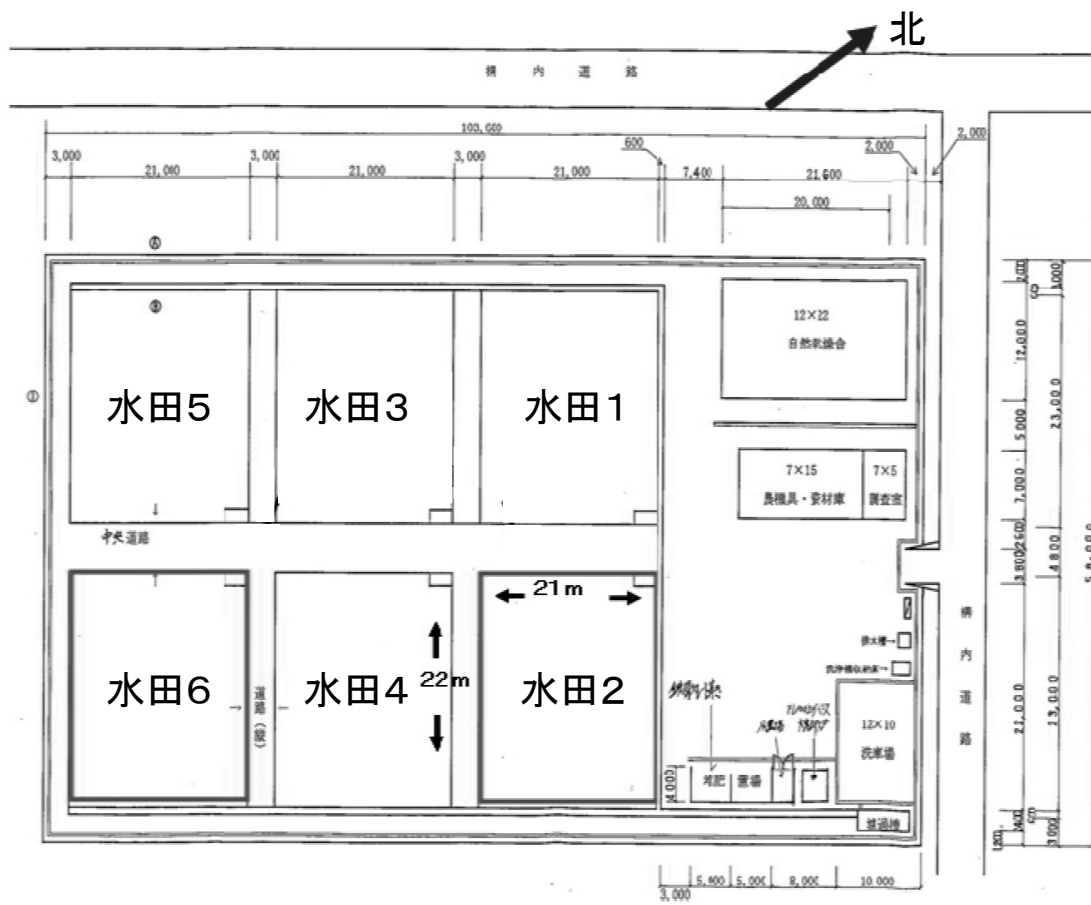


図5 農業・食品産業技術総合研究機構
 観音台第四事業場 高機能隔離ほ場内配置図



図6 農業・食品産業技術総合研究機構
観音台第七事業場内配置図

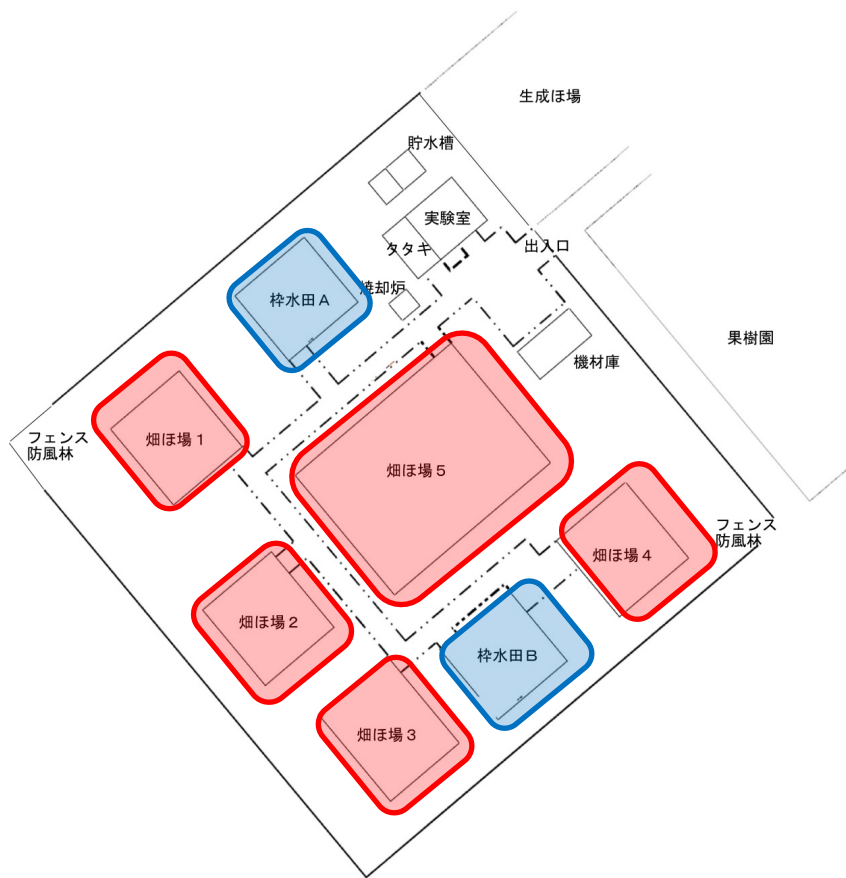


図7 農業・食品産業技術総合研究機構
 観音台第七事業場 隔離ほ場内配置図