

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

(7 Crp # 1 0) 申請書等の概要

第一種使用規程承認申請書..... 1

生物多様性影響評価書の概要

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..... 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..... 3

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..... 5
- (2) ベクターに関する情報..... 6
- (3) 遺伝子組換え生物等の調製方法..... 7
- (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..... 8
- (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..... 9
- (6) 宿主又は宿主の属する分類学上の種との相違..... 9

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..... 10
- (2) 使用等の方法..... 10
- (3) 生物多様性影響が生じ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..... 11

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..... 11
- 2 有害物質の産生性..... 12
- 3 交雑性..... 13

第三 生物多様性影響の総合的評価..... 14

緊急措置計画書..... 15

第一種使用規程承認申請書

平成16年2月19日

農林水産大臣 亀井 善之 殿
環境大臣 小池 百合子殿

申請者 氏名 全国農業協同組合連合会
代表理事理事長 田林 聡

住所 東京都千代田区大手町1-8-3

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（同法第9条第4項において準用する場合を含む）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	スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネ（7Crp, <i>Oryza sativa</i> L.） （7Crp#10）
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、廃棄及び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：〒254-0016 神奈川県平塚市東八幡5-5-1 名称：全農 営農・技術センター 場内隔離ほ場 試用期間：平成16年6月1日～平成19年3月31日 1．隔離ほ場の施設 （1）外周を囲むフェンスを設置。 （2）隔離ほ場および部外者立入禁止を表示した標識は設置済。 管理責任者名を明示した標識は平成16年4月末日までに設置。 （3）隔離ほ場入口にコンクリート敷の洗場を設置。 2．隔離ほ場の作業要領（手順書） （1）作業区域 組換えイネの栽培は、営農・技術センター西側隔離水田ほ場内のみで行う。 （2）試験計画の遵守 隔離水田ほ場内での栽培は、試験計画に定められた組換えイネ及び比較のイネ品種とし、他の植物は栽培しない。 （3）組換えイネの運搬及び保管 組換えイネを隔離水田ほ場内外に運搬する場合は、組換えイネが漏出しないような構造の容器等に納めてから運搬す

る。

組換えイネを保管する場合は、組換えイネが漏出しないような構造の容器等に納め、所定の場所に保管する。

(4) 組換えイネの廃棄

隔離水田ほ場内で栽培したイネの残渣及び発生した植物は、試験終了後速やかに隔離ほ場内に鋤き込む。

(5) 作業機器等の取扱

隔離水田ほ場で使用した機械、器具又は隔離水田ほ場で作業した者の靴等は、作業終了後隔離水田ほ場内で洗浄し、隔離水田ほ場内の植物残渣、種子、土等を外に持ち出さない。

(6) 施設の管理

施設の点検を定期的に行い、本来有すべき機能が十分に発揮されていることを確認する。

(7) 交雑防止

組換えイネと隣接する試験水田イネとの交雑を防止するために、開花期前に隔離水田ほ場のフェンスを不織布等で囲う。

開花時間帯は隔離水田ほ場に入らない。ただし、その時間帯に隔離水田ほ場に入る必要が生じた場合は、白衣等の実験着を着用し、花粉を外部へ持ち出さないようにする。

(8) 防雀網の設置

開花期までに、隣接試験圃場を含む圃場を防雀網で囲い、雀害を最小限にする。

(9) 隣接試験ほ場の取扱

隔離ほ場に隣接する試験ほ場イ、ロ(生産システム研究室のほ場番号場内B、C)の収穫物は、試験に使用するもの以外は全て回収し、試験ほ場内に鋤き込む。

隣接試験ほ場の収穫に使用したコンバインは、収穫後に内部の掃除を行い、発生した残渣は試験ほ場内に鋤き込む。

(10) 緊急措置計画書の厳守

使用する組換えイネに生物多様性影響が生ずる恐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. 緊急措置計画書

別紙のとおり。

生物多様性影響評価書の概要

第一 生物多様性影響の評価に当たり収集した情報

1 宿主また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およ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.

ロ 宿主の品種名又は系統名

キタアケ 品種登録番号 第594号 品種登録年月日1984年9月5日

八 国内及び国外の自然環境における自生地域

*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。

国内では「赤米」といわれる雑草型の稲が水田および陸稲畑に混在するが、これは古代栽培品種の残存物と思われる。国内に自生する地域はない。

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可能性があるが、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。また、発生が多いのは直播栽培時のみであり移植栽培時にはほとんど発生しない。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だけでなく、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、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) 使用等の歴史および現状

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。

国内の稲作の開始期は縄文晩期といわれている。

ロ 主たる栽培地域、栽培方法、流通実態及び用途

主にアジアの水田で栽培されている。日本では全国で栽培されており、生産量はおよそ1000万トン/年、食用として利用されている。

(3) 生理学および生態学的特性

イ 基本特性

イネは我が国で長期間栽培されているため省略。

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、最適温度を次表に示す。

通常の栽培可能温度は20 以上で、水稻は湛水条件(水田)で栽培する。栽培土壤が常時湛水され、強度の還元土壤になった場合は根腐れを起し、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。

表 生育時期別の温度変化に対するイネの反応

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				

八 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現在の栽培種は難脱粒性であるが、一部に脱粒性を有するものがある。

休眠の程度はJaponica、Indicaの順に強くなる。

土壌中に埋蔵した赤米は普通の白色米に比べ寿命が長く、3年後の調査でも寿命を保持していたが、白色米のイネ種子の寿命は、収穫年の最初の年の冬の間生命力を失った。

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

刈株から“ひこばえ”と呼ばれる新しい分けつが発生し生長するが、我が国では通常越冬することはない。

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

イネは自殖性である。同種の場合、近隣で栽培すると条件によっては5%程度の自然交雑が起こりうるが、通常は1ないし2%である。国外では、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ている植物（*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

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。稔性はほぼ100%、形状は球形である。花粉は風により飛散するが、自家受粉が他家受粉に優先する。

花粉の飛散距離は、糯品種への粳品種の混入試験では、両者の距離が15mまでは混入が見られたが、20m以上では混入が見られなかった。花粉の寿命は3～5分である。

二 有害物質の産生性

これまでにイネが、自然条件下で周囲の野生動植物等の生息又は生育に支障を及ぼす物質を産生するという報告はない。

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 構成および構成要素の由来

a. 花粉症予防効果ペプチド(7Crp)発現カセット

- ア) Glu-B1 プロモーター : イネ由来、AY427569
- イ) Glu-B1 シグナルペプチド : イネ由来、AY427569
- ウ) 7Crp(目的遺伝子) : スギ由来
- エ) KDEL(局在化シグナル) : 真核生物由来
- オ) Glu-B1 ターミネーター : イネ由来、X54314

b. ハイグロマイシン耐性発現カセット

- ア) CaMV35S プロモーター : カリフラワーモザイクウイルス由来、U28417
- イ) hpt : 大腸菌K-12株由来、K01193
- ウ) Ag7 ターミネーター¹¹⁾ : *Agrobacterium tumefaciens* C58 株由来

ロ 構成要素の機能

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) Glu-B1 プロモーター

イネ由来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。胚乳特異的に発現する。

イ) Glu-B1 シグナルペプチド

イネ由来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およ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。

ウ) 7Crp

スギ花粉中の花粉症の原因となる蛋白質Cry j およびCry j に含まれる、ヒトT細胞エピトープ部分を発現させる塩基配列。

アミノ酸残基数12から19個からなるCry j 3箇所、Cry j 4箇所の合計7箇所 of ヒトT細胞エピトープが同定されている。この7種類のエピトープを連結させ、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。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。

エ) KDEL

蛋白質を小胞体へ局在化させる役割を果たす4つのアミノ酸の塩基配列。C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) Glu-B1 ターミネーター

イネ由来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のに必要な塩基配列。

b. ハイグロマイシン耐性発現カセット

ア) CaMV35S 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。

イ) hpt

大腸菌K-12株由来の抗生物質ハイグロマイシン耐性を示す遺伝子。

ウ) Ag7 ターミネーター

Agrobacterium tumefaciens C58株由来のターミネーターで、mRNAの合成を終結させるのに必要な塩基配列。

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タンパク質がアレルギー性(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タンパク質と相同性を有する場合はその旨

a . 7Crp

7Crpは、スギ花粉のヒトT細胞エピトープ7種類が連結したペプチドである。

近年、アレルゲンやアレルゲン由来の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。その機構としては、T細胞応答性の抑制・不応答や、T細胞自身がアポトーシスにより死滅することが示唆されている。

そこで、この現象を利用したヒトT細胞抗エピトープを用いたペプチド免疫療法が提案されている。この療法は、アレルゲン自体を用いず、T細胞エピトープ部分にIgE抗体との結合部位やB細胞抗原決定基を含まないようにして投与するもので、アナフィラキシーショックといった副作用がなく、簡便に適用できるという特徴をもち、第2世代の抗原特異的免疫療法として注目されている。

7Crpをイネ胚乳中で発現させた米を食べることにより、スギ花粉症に対し、同上の効果が期待できる。

なお、7CrpはヒトT細胞エピトープ部分であり、スギアレルギー患者のIgE抗体との結合性がなく、B細胞エピトープも含まないことから、アレルギーを引き起こす可能性は極めて少ないと考えられる。

b . hpt

ハイグロマイシンをリン酸化させる酵素を産生する。この酵素の働きによりハイグロマイシンがリン酸化され、不活化する。

(2) ベクターに関する情報

イ 名称および由来

バイナリーベクター-pGTV-35S-HPT。大腸菌K12株由来。

ロ 特性

ベクターの塩基数及び塩基配列

省略。

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B耐性遺伝子(hpt)と、hpt遺伝子の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プロモーター及び、

Agrobacterium tumefaciens C58株由来のAg7ターミネーターが存在する。
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
ベクターの感染性はない。

(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
省略。

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

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種子カルスに感染させ、ハイグロマイシンを含む選抜培地で核酸が移入された細胞を選抜した。

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

T₁種子のアグロバクテリウムの残存性を調査した結果、残存は認められなかった。核酸が移入された細胞から、移入された核酸の副生物の存在状態を確認した系統、隔離ほ場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から4個体を選抜した。この4個体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更に解析を進めた。

平成15年から非閉鎖系区画（文部科学省旧「組換えDNA実験指針」に基づく分類）での安全性試験を開始し、「スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネ（7Crp、*Oryza sativa* L.）（7Crp#1）（以下「7Crp#1」という）」、「スギ花粉症予防効果ペプチド含有イネ（7Crp、*Oryza sativa* L.）（7Crp#10）（以下「7Crp#10」という）」の2系統を選抜した。現在、非閉鎖系温室でT₅植物を栽培している。実施した試験と世代を次図に示す。

なお、全ての試験において、対象品種は宿主であるキタアケとした。

試験項目	系統名	7Crp#10					
	世代	T	T ₁	T ₂	T ₃	T ₄	T ₅
遺伝子の存在状態(サザン) (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							
形態および生態学的特性							
生育初期における低温耐性							
花粉の稔性および直径							
種子の生産性、発芽率、 休眠性および脱粒性							
有害物質産生性							

(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

染色体上に安定して存在する。

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

ゲノムサザン分析の結果、コピー数は4と推定される。

複数世代における遺伝の安定性

T₁~T₄世代のPCR分析の結果、各世代で安定して遺伝子を保持していた。

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

離れている。

ニ (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

7Crp#10の閉鎖系で採種したT₂~T₄種子および非閉鎖系温室で採種したT₅種子についてウエスタン解析を行った結果、安定した発現を示した。

ホ ウイルスの感染その他の経路を経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

供与核酸が野生動植物に伝達されるおそれはない。

(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

7Crp遺伝子全長を増幅するためのオリゴプライマー(7Crp-F、7Crp-2R)を用いたPCR法により、7Crp遺伝子特異的に検出及び識別可能である。

(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

イネの胚乳部分で、スギ花粉アレルギー蛋白質の12~19アミノ酸残基からなるT細胞エpitep7個を連結した7連続ペプチドの発現を確認した。他に付与された生理学的又は生態学的特性はない。

また、7Crp#10のT1植物の穎及び葉、T2種子の胚及び胚乳のウエスタン解析を行ったところ、胚乳特異的に発現していることが確認された。

ロ 以下に掲げる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T₄世代の7Crp#10と宿主であるキタアケについて、非閉鎖系温室内有底水田(内寸7.2×1.1m)に、2003年5月2日に、栽植密度25×15cmで移植した。施肥量はNPK各4kg/10aとした。なお、播種は閉鎖系で2003年3月24日に行った。

有害物質の産生性を調査するために、T₄世代の7Crp#10とキタアケについて、非閉鎖系温室で、水田土壌を詰めた1/5000aポットに2003年4月24日に移植した。

形態及び生育の特性

出穂期と稈長、穂長、穂数については成熟期に調査した。7Crp#10とキタアケに相違は認められなかった。

生育初期における低温耐性

2葉期の苗を暗所5で10日間処理した後、非閉鎖系温室での生育を2週間後に調査した。7Crp#10、キタアケとも約80%の個体が生存した。生存した個体はすべて主茎が枯死し、分けつが主茎の他に平均1.1本発生した。7Crp#10とキタアケに相違は認められなかった。

成体の越冬性又は越夏性

該当しない。

花粉の稔性及びサイズ

花粉稔性及びサイズについて7Crp#10とキタアケに相違は認められなかった。

種子の生産量、脱粒性、休眠性及び発芽率

1穂粒数を調査した結果、7Crp#10とキタアケに相違は認められなかった。

成熟期の穂を握って脱粒性を調査した結果、7Crp#10、キタアケともに難で、相違は認められなかった。

休眠性（穂発芽性の調査）の試験を行った結果、7Crp#10、キタアケともに穂発芽易で、相違は認められなかった。

収穫後5 で約3ヶ月保存した種子の発芽率を調査した結果、7Crp#10、キタアケともに90%以上の発芽率で、相違は認められなかった。

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、調査しない。

有害物質の産生性

閉鎖系で栽培したT3世代の7Crp#10とキタアケについて揮発性成分のガスクロマトグラフィー分析、植物体内成分の高速液体クロマトグラフィー分析を行った結果、7Crp#10とキタアケに相違は認められなかった。

非閉鎖系温室でポット栽培した後の土壌を使用した後作試験、成熟期の植物体を使用した鋤き込み試験の結果、ダイコンの発芽に問題はなく、7Crp#10とキタアケに相違は認められなかった。

栽培後の土壌の糸状菌、放線菌、細菌数を調査した結果、7Crp#10とキタアケに相違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

スギ花粉症アレルギーの原因となっている2種類の蛋白質（アレルゲン）の主要なヒトT細胞エピトープ7種類を連結した人工ペプチドをイネの胚乳中で発現させ、スギ花粉症を緩和する米の開発を行う。

隔離ほ場試験で生物多様性影響のための情報収集を行うとともに、収穫物は花粉症緩和等についての有効性評価試験（動物試験等）に用いる。

（1）使用等の内容

隔離ほ場における栽培、保管、運搬、廃棄及びこれらに付随する行為

（2）使用等の方法

イ 所在地：〒254-0016 神奈川県平塚市東八幡5-5-1

ロ 名称：全農 営農・技術センター 場内隔離ほ場

ハ 試用期間：平成16年6月1日～平成19年3月31日

ニ 隔離ほ場の施設

外周を囲むフェンスを設置。

隔離ほ場および部外者立入禁止を表示した標識は設置済。管理責任者名を明示した標識は平成16年4月末日までに設置予定。

隔離ほ場入口にコンクリート敷の洗場を設置。

ホ 隔離ほ場の作業要領（手順書）

作業区域

組換えイネの栽培は、営農・技術センター西側隔離水田ほ場内のみで行う。

試験計画の遵守

隔離水田ほ場内での栽培は、試験計画に定められた組換えイネ及び比較のイネ品種とし、他の植物は栽培しない。

組換えイネの運搬及び保管

- a．組換えイネを隔離水田ほ場内外に運搬する場合は、組換えイネが漏出しないような構造の容器等に納めてから運搬する。
- b．組換えイネを保管する場合は、組換えイネが漏出しないような構造の容器等に納め、所定の場所に保管する。

組換えイネの廃棄

隔離水田ほ場内で栽培したイネの残渣及び発生した植物は、試験終了後速やかに隔離ほ場内に鋤き込む。

作業機器等の取扱

隔離水田ほ場で使用した機械、器具又は隔離水田ほ場で作業した者の靴等は、作業終了後隔離水田ほ場内で洗浄し、隔離水田ほ場内の植物残渣、種子、土等を外に持ち出さない。

施設の管理

施設の点検を定期的に行い、本来有すべき機能が十分に発揮されていることを確認する。

交雑防止

- a．組換えイネと隣接する試験水田イネとの交雑を防止するために、開花期前に隔離水田ほ場のフェンスを不織布等で囲う。
- b．開花時間帯は隔離水田ほ場に入らない。ただし、その時間帯に隔離水田ほ場に入る必要が生じた場合は、白衣等の実験着を着用し、花粉を外部へ持ち出さないようにする。

防雀網の設置

開花期までに、隣接試験ほ場を含むほ場を防雀網で囲い、雀害を最小限にする。

隣接試験ほ場の取扱

- a．隔離ほ場に隣接する試験ほ場イ、ロ(生産システム研究室のほ場番号場内B、C)の収穫物は、試験に使用するもの以外は全て回収し、試験ほ場内に鋤き込む。
- b．隣接試験ほ場の収穫に使用したコンバインは、収穫後に内部の掃除を行い、発生した残渣は試験ほ場内に鋤き込む。

緊急措置計画書の厳守

使用する組換えイネに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に基づき、速やかに対処する。

- へ 隔離ほ上の地図及び隔離ほ場内における試験区の配置図
別紙のとおり。

- (3) 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。

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植物等の特定

7Crp#10と宿主であるキタアケの形態および生育の特性、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おける相違について調査した結果、7Crp#10とキタアケに相違は認められなかった。

7Crp#10の競合における優位性において、我が国の自然環境下での特性が明らかではないため、隔離ほ場に限定して第一種使用等を行う。

隔離ほ場の施設は、フェンス、隔離ほ場であることや部外者は立ち入り禁止であること等を明記した標識、洗い場を設置しており、7Crp#10が外部に漏出することはない。

隔離ほ場の作業要領は、試験ほ場が隣接しているため、7Crp#10の開花期前に隔離ほ場のフェンスを不織布で囲うこと、隣接試験ほ場の収穫物は試験ほ場内に鋤き込むこと、雀害を避けるため、隣接ほ場を含む隔離ほ場を防雀網で囲うこととしている。

これらの隔離ほ場の設備及び作業要領から、生物多様性影響を防止することが可能である。

以上のことから、競合における優位性において影響を与える可能性のある野生植物は特定されない。

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ります。遺伝子組換えイネを栽培した場合に雑草イネと交雑することが考えられる。しかし、上記のように移入された核酸による形質は競合における優位性を高めるとは考えられない。また、その他競合における優位性に係わる形質について遺伝子組換えイネと対照の非組換えイネとの間に相違はみられていない。これらのことから、遺伝子組換えイネと雑草イネが交雑した場合でも、非組換えイネと雑草イネが交雑した個体による影響を上回ることはないと考えられる。

(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おいて、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断する。

2 有害物質の産生性

(1) 影響を受ける可能性のある野生植物等の特定

非閉鎖系温室までに、揮発性成分、植物体内成分の分析、後作試験、鋤き込み試験、土壌微生物相の調査を行った結果、7Crp#10とキタアケに相違は認められなかった。

7Crpが発現するペプチドは、ヒトT細胞のエピトープのみで構成されており、スギアレルギー患者のIgE抗体との結合性を示さないことが明らかにされている。また、7Crp

発現米をマウスに経口投与した実験においても、顕著な影響は認められていない。これらの結果から、ヒトやマウスに対する7Crp#10の有害性は低いと考えられる。

ヒトT細胞エプトープは他の動物、鳥類との反応の可能性は極めて少ないこと、隔離ほ場はフェンスの設置、防雀網の設置をしているため、他の動物、鳥類の摂食を防ぐことが可能であることから、問題はないと判断した。

7Crp#10の有害物質の産生性において、我が国の自然環境下での特性が明らかではないため、隔離ほ場に限定して第一種使用等を行う。

隔離ほ場の施設は、フェンス、隔離ほ場であることや部外者は立ち入り禁止であること等を明記した標識、洗い場を設置しており、7Crp#10が外部に漏出することはない。

隔離ほ場の作業要領は、試験ほ場が隣接しているため、7Crp#10の開花期前に隔離ほ場のフェンスを不織布で囲うこと、隣接試験ほ場の収穫物は試験ほ場内に鋤き込むこと、雀害を避けるため、隣接ほ場を含む隔離ほ場を防雀網で囲うこととしている。

これらの隔離ほ場の設備及び作業要領から、生物多様性影響を防止することが可能である。

以上のことから、有害物質の産生性において影響を与える可能性のある野生植物は特定されない。

(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ついて、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断する。

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、これらの植物が我が国に自生しているという報告はない。

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。雑草イネには種々の起原があると考えられているが、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どうしの交雑に由来すると考えられる。その生育域が主に農耕地及びその近傍に限られていることや、多数発生するのは直播栽培時のみであり移植栽培時にはほとんど発生がみられないことも考慮すれば、雑草イネは我が国の生物

多様性の構成要素としてその遺伝的多様性を維持すべきものとはいえ、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

(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ついて、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断する。

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ついては、非閉鎖系温室での栽培において、7Crp#10とキタアケに相違が認められなかったこと、7Crp#10の第一種使用等の内容及び方法により生物多様性影響を防止することが可能なことから、生物多様性影響は生じないと判断した。

有害物質産生性については、非閉鎖系温室での栽培において、7Crp#10とキタアケに相違が認められなかったこと、7Crp#10が発現するペプチドにも有害性はないと考えられること、7Crp#10の第一種使用等の内容及び方法により生物多様性影響を防止することが可能なことから、生物多様性影響は生じないと判断した。

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存在しないことから、生物多様性影響は生じないと判断した。

以上を総合的に評価し、7Crp#10を第一種使用規程に従い使用した場合、生物多様性影響が生ずるおそれはないと判断する。

緊急措置計画書

平成16年2月19日

氏名 全国農業協同組合連合会
代表理事理事長 田林 聡

住所 東京都千代田区大手町1-8-3

第一種使用規程の承認を申請しているスギ花粉症予防効果ペプチド含有イネ（7Crp、*Oryza sativa* L）（7Crp#10）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
実施体制は図1のとおり。
責任者は、全農 営農総合対策部長とする。
- 2 第一種使用等の状況の把握の方法
本件は隔離圃場試験の申請で、隔離圃場以外での栽培は行わない。
- 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
直ちに隔離圃場試験に従事している者及び隔離圃場のある自治体に連絡、周知徹底する。
- 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
 - (1) 本LMOの栽培用種子はオートクレーブ処理により不活化する。
 - (2) 隔離圃場で栽培されている本LMOについては、隔離圃場内ですき込みによる不活化を行う。
 - (3) 栽培用種子を保存する必要があるときは密閉容器に入れ、当該容器の見やすい個所に遺伝子組換えイネであることを表示のうえ、遺伝子組換え生物以外の生物等と明確に区別して保管し、保管場所の見やすい個所に、遺伝子組換えイネを保管している旨の表示を行う。
- 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社内におけ

る組織体制及び連絡窓口に報告する。

以上

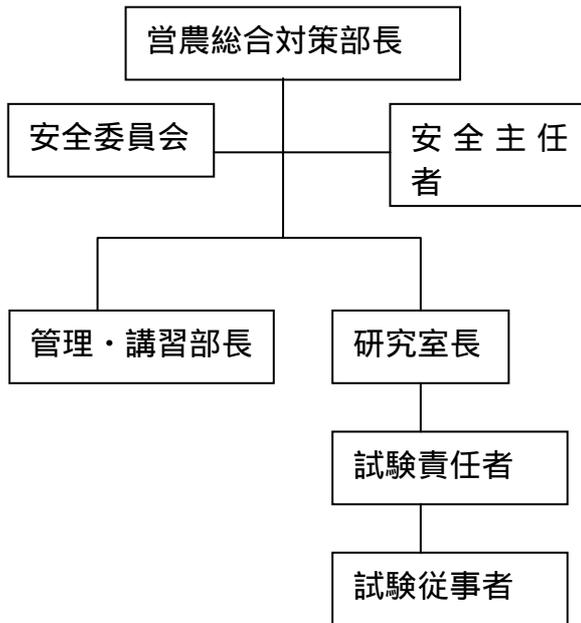


図1 実施体制