

令和4年度つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会

期日 令和4年(2022年)6月3日(金)午後2時00分～

場所 本庁舎2階会議室203

1 開 会

2 あいさつ

3 委員紹介

4 議 事

(1) 令和3年度(2021年度)

つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会経過報告 (資料1)

(2) 令和3年度(2021年度)栽培実験結果報告及び

令和4年度(2022年度)栽培実験計画

1 国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構

① 広範な病害抵抗性イネ (資料2)

② スギ花粉ペプチド含有イネ (資料3)

ノボキニン蓄積イネ (資料3)

③ シンク能改変イネ (資料4)

2 国立学校法人筑波大学

① 水利用効率改善遺伝子組換え交雑アスペン (資料5)

② 長鎖オメガ3系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ (資料6)

(3) その他遺伝子組換え等に関する情報提供

(4) その他

5 閉 会

令和3年度（2021年度）つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会経過報告について

開催日	開催内容
令和3年6月4日	つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会を開催
令和3年11月16日	第2回つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会を開催

※圃場見学について、令和3年度は新型コロナウイルス感染予防のため開催なし。

※第2回については、6月連絡会で終了できなかった議事に対する臨時開催。

報告日/收受日	報告内容
令和3年4月5日	令和2年度遺伝子組換えイネ等の栽培実験結果の公表について（農研機構）
令和3年4月23日	令和3年度遺伝子組換えイネ等の栽培の実施について（農研機構）
令和3年5月27日	令和3年度栽培実験計画書（シンク能改変イネ、変更版）の公表について（農研機構）
令和3年7月5日	第1種使用規定申請中の遺伝子組換え作物等の栽培に関する情報（筑波大学）
令和3年9月2日	長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ栽培計画書について（筑波大学）
令和3年9月10日	令和3年度遺伝子組換えイネの収穫について（農研機構）
令和3年10月14日	令和3年度シンク能改変イネの収穫について（農研機構）
令和4年2月10日	令和4年度遺伝子組換え作物等の栽培予定について（農研機構）
令和4年3月4日	令和4年度遺伝子組換え作物等の栽培予定について（追加：ノボキニン蓄積イネ）（農研機構）
令和4年3月16日	令和3年度遺伝子組換えイネ等の栽培管理及び交雑調査結果について（農研機構）
令和4年3月28日	令和4年度遺伝子組換えイネ等の栽培実験計画書公表・説明会開催のお知らせ（農研機構）
令和4年3月28日	長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネの栽培状況について（筑波大学）

※国や研究機関からの情報提供があった場合、随時つくば市ホームページに情報をアップしています。

広範な病害抵抗性イネの 栽培実験

令和3年度栽培結果報告

農研機構 生物機能利用研究部門

作物生長機構研究領域

森 昌樹、井上晴彦

病害抵抗性イネが必要な理由

- ◆ 人口増加と経済発展により2050年の世界の食料需要量は2010年比1.7倍となる見込みです。（2050年における世界の食糧自給見通し_農水省_2019）



- ◆ 耕地面積は限られていることから、品種改良などにより生産性を上げる必要があります。



- ✓ 世界の米生産の約1%（日本の年間米生産量の半分相当）が、いもち病害により失われていると推定されています（福田2010）。
- ✓ 熱帯など高温多湿な地域では白葉枯病、ごま葉枯病も重要病害です。

（参考；農薬要覧2020）

国内発生 面積(ha)	病害名
581367	紋枯病
235054	葉いもち病
216143	穂いもち病
159482	ごま葉枯病
113380	縞葉枯病
27403	もみ枯細菌病
11989	馬鹿苗病
8355	苗立枯病
4399	白葉枯病

- *Broad-Spectrum Resistance1* (広範な病害抵抗性の意) の略称
- 我々がイネ品種「日本晴」より単離・同定
- 植物内で信号伝達に関与すると思われる、タンパク質リン酸化酵素をコード
- 高レベルに発現 (高発現) することにより、双子葉植物のシロイヌナズナ、単子葉植物のイネでそれぞれ複数の病害に抵抗性を示しました。

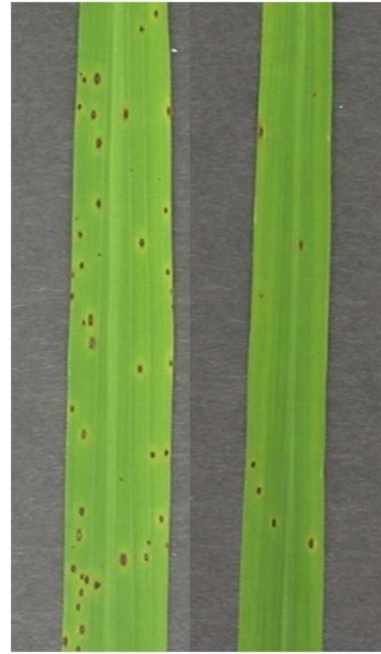
BSR1遺伝子を高発現したイネを作出

いもち病菌接種



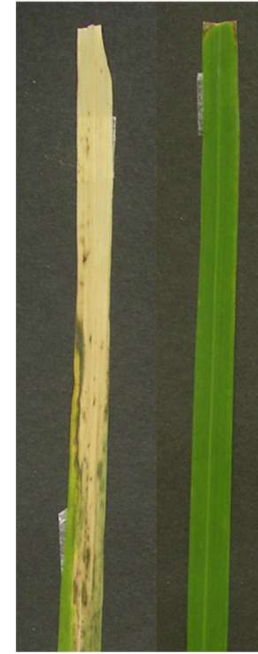
非組換え 原品種 BSR1 高発現イネ

ごま葉枯病菌接種



非組換え 原品種 BSR1 高発現イネ

白葉枯病菌接種



非組換え 原品種 BSR1 高発現イネ

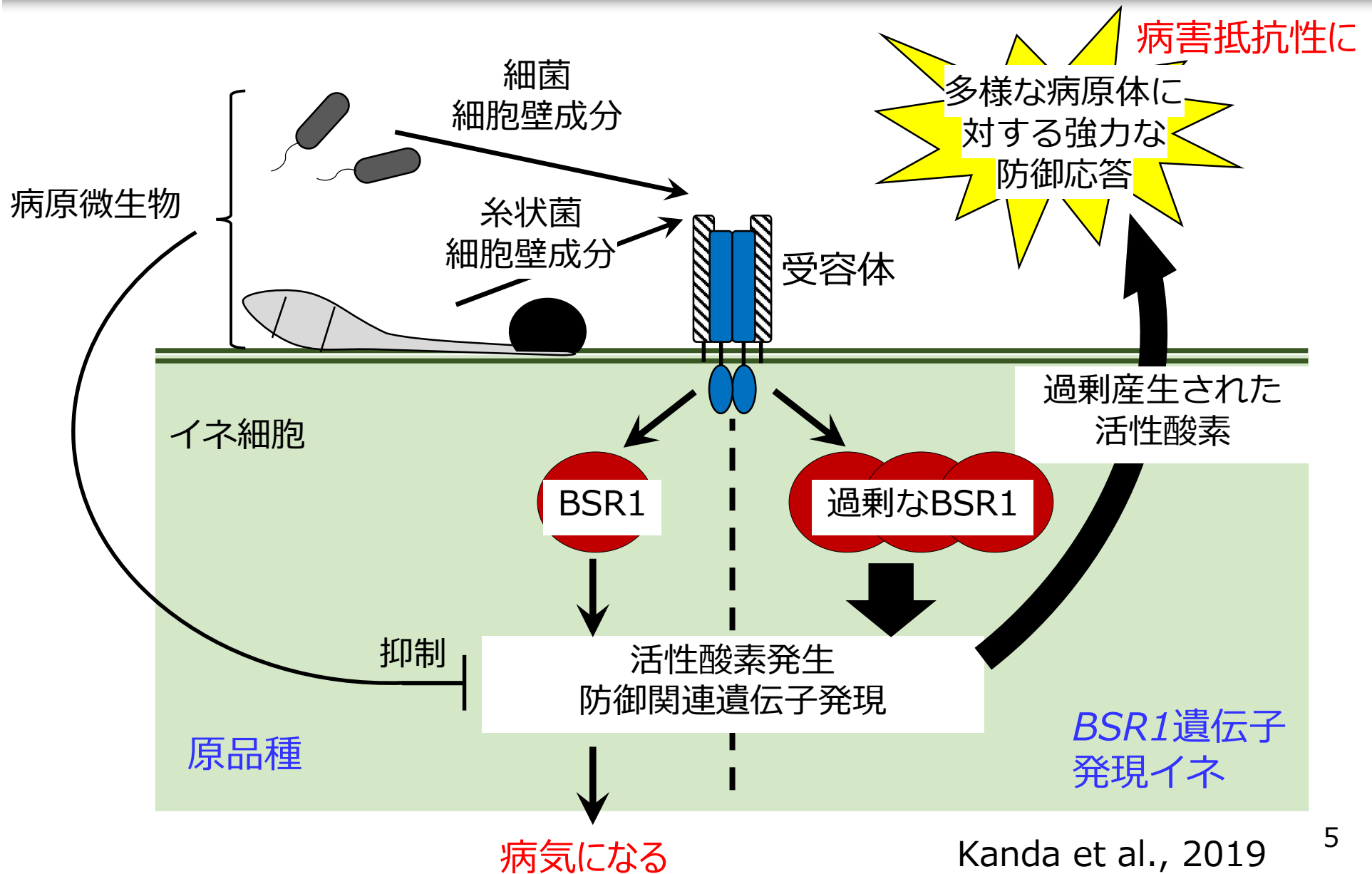
もみ枯細菌病菌接種



非組換え 原品種 BSR1 高発現イネ

4種の重要病害への抵抗性を示しました
(広範な病害抵抗性イネ)

広範な病害抵抗性イネのしくみ



- ・世界の米生産の約1%（日本の年間米生産量の半分相当）がいもち病害により失われていると推定（福田2010）
- ・熱帯など高温多湿な地域では白葉枯病、ごま葉枯病も重要病害



- ・BSR1の技術を用いることにより、広範な病害に対する抵抗性を付与することが可能になるのではないか
- ・農薬代、散布の手間といったコストの抑制が期待されます

また、本研究で得られた知見は、イネ以外の作物に応用する際の参考にもなります

令和3年度 栽培結果
広範な病害抵抗性イネ
(*BSR1*遺伝子発現イネ)
(*Oryza sativa* L. Ubi7-*BSR1*)

R3 広範な病害抵抗性イネ栽培概要

BSR1遺伝子を強力に発現すると、発芽率や収量が低下した



プロモーターを変え発現レベルを下げることでそのような不具合を解消するねらい



栽培系統

系統名 (原品種日本晴；抗生物質抵抗性遺伝子も導入)	Ubi7-BSR1
使用するプロモーターの由来	イネの <i>Ubi7</i>
使用するプロモーターの特徴	全組織で常時 中庸に発現

*Ubi7*プロモーター

BSR1

令和元年度に栽培したUbi7-BSR1系統の次世代を栽培

R3 広範な病害抵抗性イネ栽培概要（水田）



栽培目的 野外栽培における特性調査（生育・収量等）及び種子の採種

栽培場所 農研機構 観音台第3事業場
組換え植物隔離ほ場内 杣水田A 2杣（約0.25a）

栽培経過

3月23日	防鳥網設置
5月31日	田植え
7月30日	モニタリング用モチイネ設置
8月10日	
～25日	遺伝子組換えイネの開花
9月1日	モニタリング用モチイネ撤去
10月5日	収穫
10月8日	鋤き込み（栽培終了）
11月8日	防鳥網撤去

遺伝子組換えイネモニタリングの調査方法

モチ品種玄米の例



もちみのりはこちらのタイプ°
玄米は白色

ウルチ品種玄米の例



遺伝子組換えイネはこちらのタイプ°
玄米は半透明

- ・モチ品種の花に、ウルチ品種の花粉が受粉すると、ウルチ米が結実します。
- ・上記写真のようにウルチ米とモチ米とは、目視で容易に区別が可能です。

本試験においては、仮に遺伝子組換えイネ (ウルチ) の花粉がモニタリングのもちみのり (モチ) に受粉した場合、もちみのりの株から得られる種子内にウルチ米が混在し、交雑の有無が目視で確認できます。各事業場毎にモニタリングイネ種子を**10,000粒以上調査**し、ウルチ米が発見された場合は組換えイネ花粉との交雑かどうかをPCRで確認し、最終判断を行います。

R3 花粉飛散による交雑は確認されず

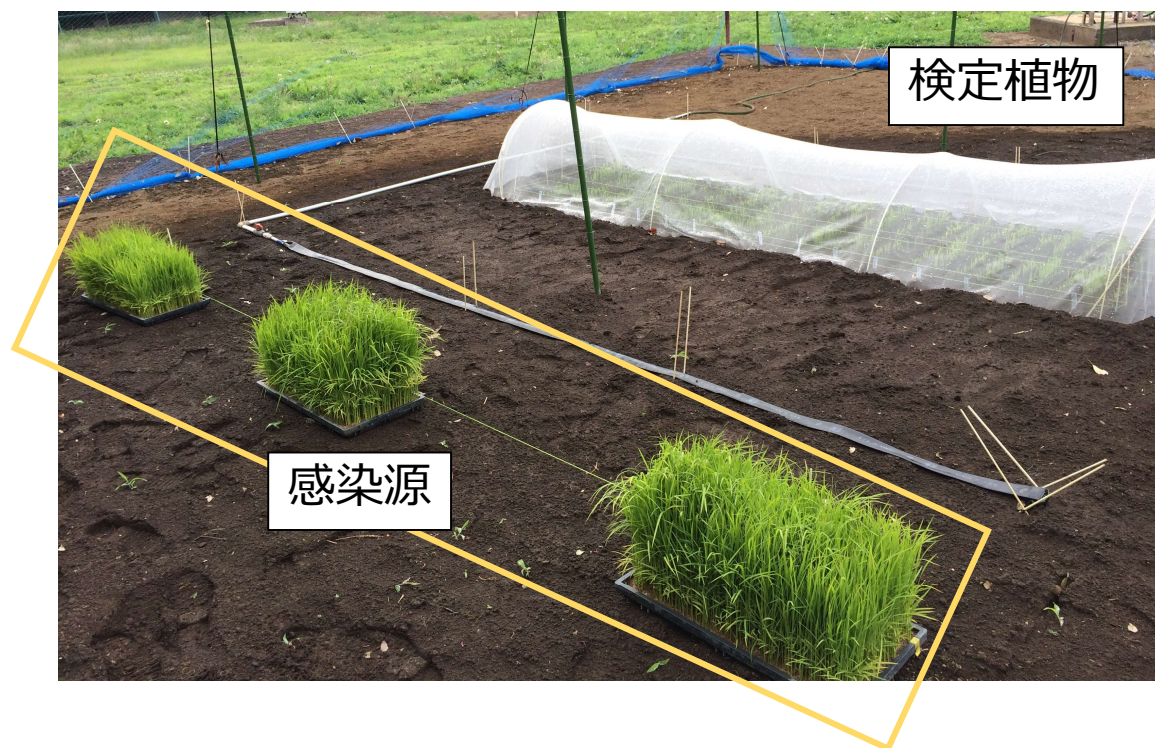


① から ⑥ の地点で、広範な病害抵抗性イネと同時期に開花するもち米「もちみのり」を栽培し、収穫後、玄米の観察を行った。

調査粒数は13,640粒、交雑を示すうるち米は0粒。
花粉飛散による交雑は確認されなかった

栽培目的 野外栽培におけるいもち病抵抗性を評価

○いもち病検定（畑晩播法について）



- ・遅く播いて（晩播）、
幼苗期に梅雨に当てる
- ・畑作
- ・多肥
- ・密植

以上の条件で育てることで、
「葉いもち」が出やすくなる

幼苗期に評価

R3 広範な病害抵抗性イネ 栽培実験概要（畑）



栽培目的 野外栽培におけるいもち病抵抗性を評価

栽培場所 農研機構 観音台第3事業場
組換え植物隔離ほ場内 畑ほ場2（約3.2a）

栽培経過

5月31日	直播
7月	抵抗性調査
8月3日	鋤き込み（栽培終了）

開花前に鋤き込みを行い、栽培を終了
したことから花粉の飛散はなかった

R4年度は広範な病害抵抗性イネの栽培実験は実施しない

ノボキニン蓄積イネ 及び スギ花粉ペプチド含有イネ の栽培実験

令和3年度 栽培実験結果
令和4年度 栽培実験計画

農研機構 生物機能利用研究部門
若佐 雄也

<ノボキニン蓄積イネ> ノボキニンについて

ノボキニンは、卵白アルブミンのキモトリプシン消化物由来のオボキニンIIIをアミノ酸置換により高機能化したペプチド*です。(*数～数十アミノ酸が繋がってできた分子をペプチドと呼びます。)

高血圧時特異的に動脈拡張・弛緩、血圧降下作用を持ちます。

ノボキニン アルギニン – プロリン – ロイシン – リジン – プロリン – トリプトファン
(1文字表記 RPLKPW)

○先天性高血圧ラットを用いた試験では、体重 1 kg あたり、
0.1 mgの経口投与で有意な血圧降下作用が認められます。

○血圧降下を仲介するレセプター（AT₂レセプター）に結合することで
血圧降下作用を示します。



ラット

今回栽培する組換えイネ系統は、コメ（胚乳）にノボキニンペプチド配列を含む組換えタンパク質を蓄積しています。

<ノボキニン蓄積イネ> 宿主イネと導入遺伝子について

宿主イネ コシヒカリ変異系統 a123 (種子貯蔵タンパク質変異系統であり、通常のコシヒカリよりも導入遺伝子産物のコメでの高蓄積が期待されます。)

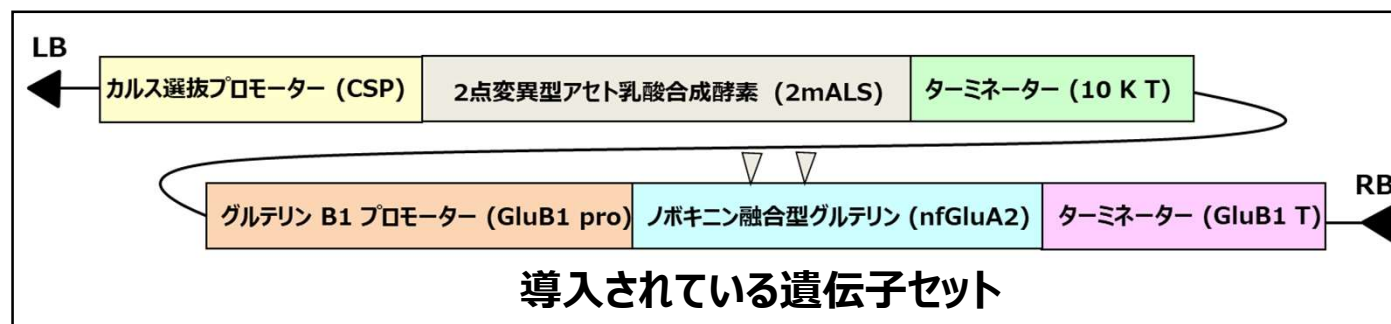
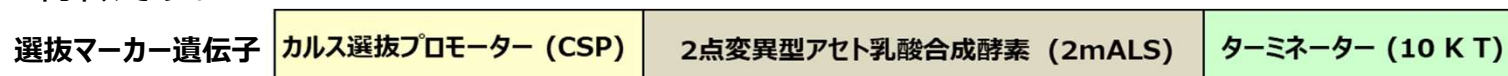
導入遺伝子 1. コメにノボキニンを蓄積させるための遺伝子

2つ連結したノボキニン(RRPLK**PW**QRPLK**PW**Q)を、種子貯蔵タンパク質グルテリン (GluA2) の2か所につなぎ、合計4分子のノボキニンを含有した**ノボキニン融合型グルテリンタンパク質**をコメ (種子)のみで発現するよう設計した遺伝子。



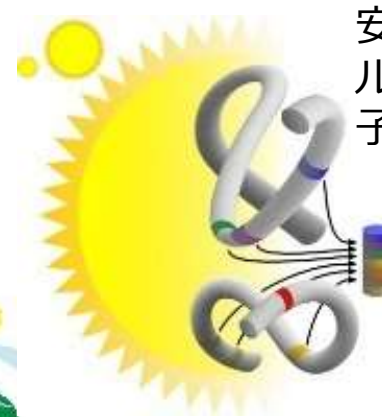
導入遺伝子 2. 遺伝子組換えイネ細胞を選抜するための遺伝子

上記導入遺伝子 1 が導入された細胞を選抜する (選抜マーカー) 遺伝子。この遺伝子が導入された細胞は、特定の除草剤にのみ対して耐性となります。**全てイネゲノム由来の DNA 配列からなる**ことが特徴です。

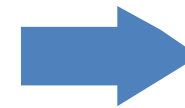


現状：花粉エキスの注射
(減感作療法)

- 8割で効果あり
- 5年後も有効
- △ 副作用リスク
- △ 長期治療(数年)



安全な形に改変したアレルギー由来ペプチド遺伝子を導入



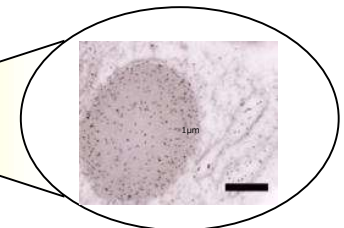
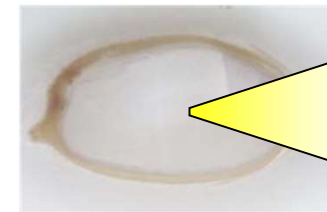
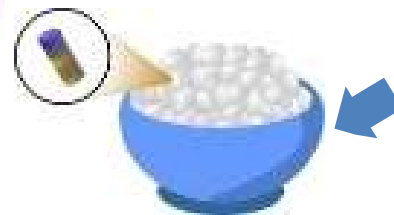
米細胞中の難消化性タンパク質顆粒(PB-I)中に、有効成分を高蓄積したスギ花粉ペプチド含有イネを開発した



アレルギー反応が緩和する

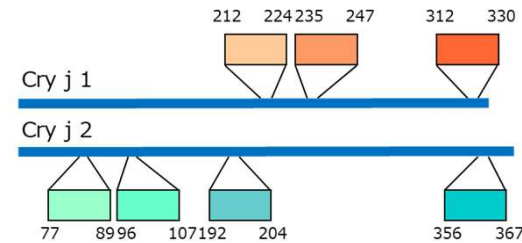


スギ花粉米をスギ花粉シーズン前の数週間～数ヶ月間摂取する



導入した遺伝子① コメ（胚乳）に有効成分を高蓄積させるための遺伝子

- ・ シグナルペプチド(SP)
- ・ 2種類のスギ花粉アレルゲンタンパク質 (Cry j 1、Cry j 2) に由来する7 種類の T 細胞エピトープの連結ペプチド(7Crp、右図)
- ・ 小胞体係留シグナル(KDEL)

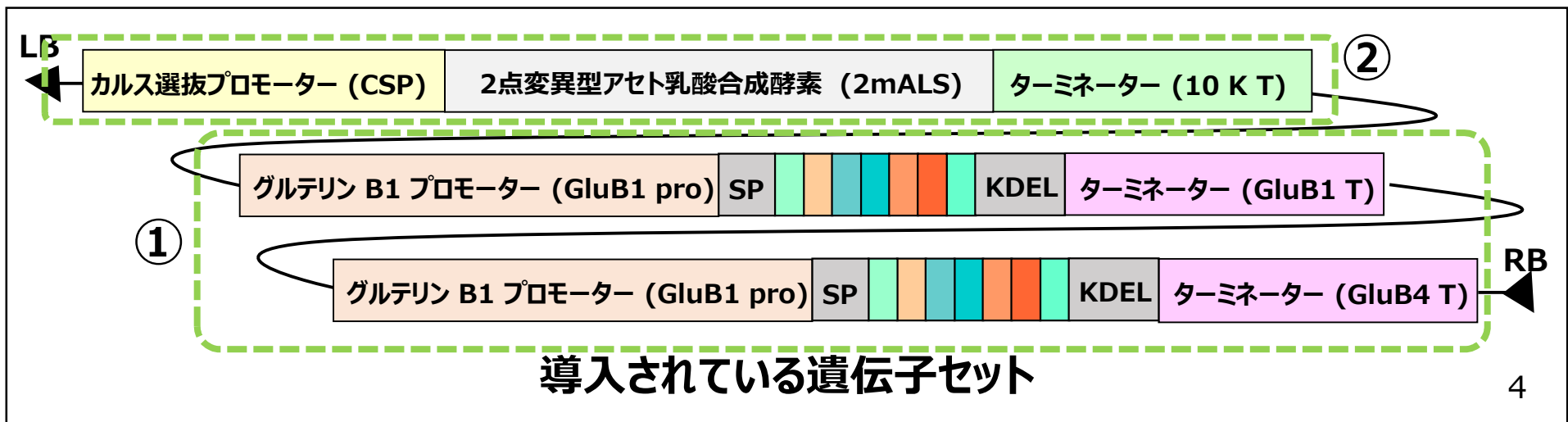


の3つが連結した組換えタンパク質をコメで発現するように設計した遺伝子。



これらの遺伝子を2セットつなげて導入した。（下図の点線囲み部分）

導入した遺伝子② ノボキニン蓄積イネと同じイネゲノム由来選抜マーカー遺伝子



2 種類のスギ花粉ペプチド含有イネの相違点

	<u>平成30年度まで栽培していた系統</u> (7Crp、 <i>Oryza sativa</i> L.) (7Crp#10)	<u>令和元年度から栽培を始めた系統</u> (7Crp、2mALS、 <i>Oryza sativa</i> L.) (Os7Crp2)
選抜マーカー	ハイグロマシン抵抗性遺伝子 (<u>微生物由来</u>)	2点変異型アセト乳酸合成酵素遺伝子(2mALS) (除草剤抵抗性遺伝子) (<u>イネ由来</u>)
移入した核酸の存在状態	<u>3つ</u> のT-DNA領域がタンデムに挿入 (3遺伝子の7Crp)	<u>1つ</u> のT-DNA領域が挿入 (2遺伝子の7Crp)
品種	キタアケ (<u>食味低</u>)	どんとこい (<u>良食味</u>)

令和3年度 栽培実験結果

ノボキニン蓄積イネ

(*nfGluA2*, *Oryza sativa* L.)(OsNV3)

スギ花粉ペプチド含有イネ

(*7Crp*, *2mALS*, *Oryza sativa* L.)
(Os7Crp2)

令和3年度に実施した栽培実験の概要

スギ花粉ペプチド含有イネ及びノボキニン蓄積イネの栽培管理等は同時に行いました。

栽培目的 生育特性等の調査及び成分分析のための種子の確保

栽培場所 農研機構 観音台第1事業場 高機能隔離圃場(つくば市観音台 3-1-1)

同 観音台第2事業場 隔離ほ場(つくば市観音台 2-1-2)

同 観音台第3事業場 組換え植物隔離ほ場(つくば市観音台 3-1-3)

栽培経過

3月23日 防鳥網設置(第3事業場)

6月1、2、3日 田植え(第1～第3事業場)、防鳥網設置(第1、第2事業場)

7月29日 モニタリング用モチイネ設置(第1～第3事業場)

8月3日～22日 遺伝子組換えイネの開花、登熟期(第1～第3事業場)

8月23日 モニタリング用モチイネ撤去(第1～第3事業場)

9月28日 収穫、乾燥等(第1事業場)

→ 11月1日 鋤き込み、残渣等の処理、清掃、防鳥網撤去

9月30日 収穫、乾燥等(第3事業場) → 10月8日 鋤き込み、残渣等の処理、清掃

10月6日 収穫、乾燥等(第2事業場)、越冬性試験開始

11月8日 防鳥網撤去(第2事業場)

12月20日 ひこばえの枯死を確認(越冬性試験の終了)(第2事業場)

R4年1月5・6日 鋤き込み、残渣等の処理、清掃、防鳥網撤去(第2事業場)

つくば市観音台地区周辺の地図 と各隔離ほ場の配置



各隔離ほ場は筑波農林研究団地内に位置しています。

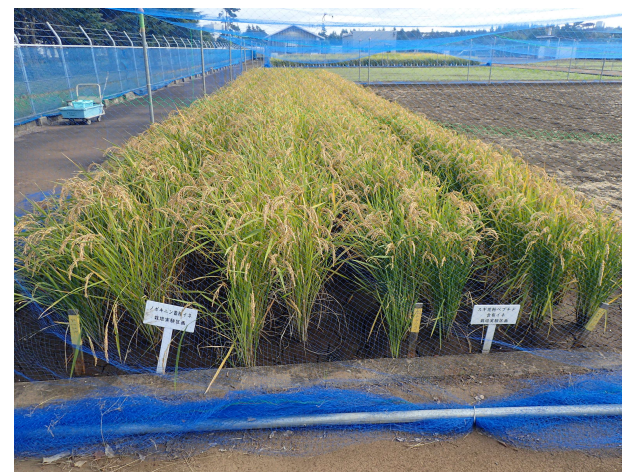
第1事業場高機能隔離圃場における栽培

水田5の一部に下図のように
ノボキニン蓄積イネと
その宿主イネ系統 a123を、
スギ花粉ペプチド含有イネと
その宿主品種「どんとこい」を、
それぞれ栽培しました。



水田5の一部(約0.4アールずつ)を使用

農研機構 観音台第1事業場
高機能隔離圃場の模式図



昨年の栽培の様子

第1事業場高機能隔離圃場における栽培 (モニタリングの配置)



① から ④ の地点で、遺伝子組換えイネと同時期に開花するモチ品種「関東糯^{もち} 236 号」を設置、遺伝子組換えイネの花
粉飛散について確認しました。



②に設置した
モニタリング用モチイネ

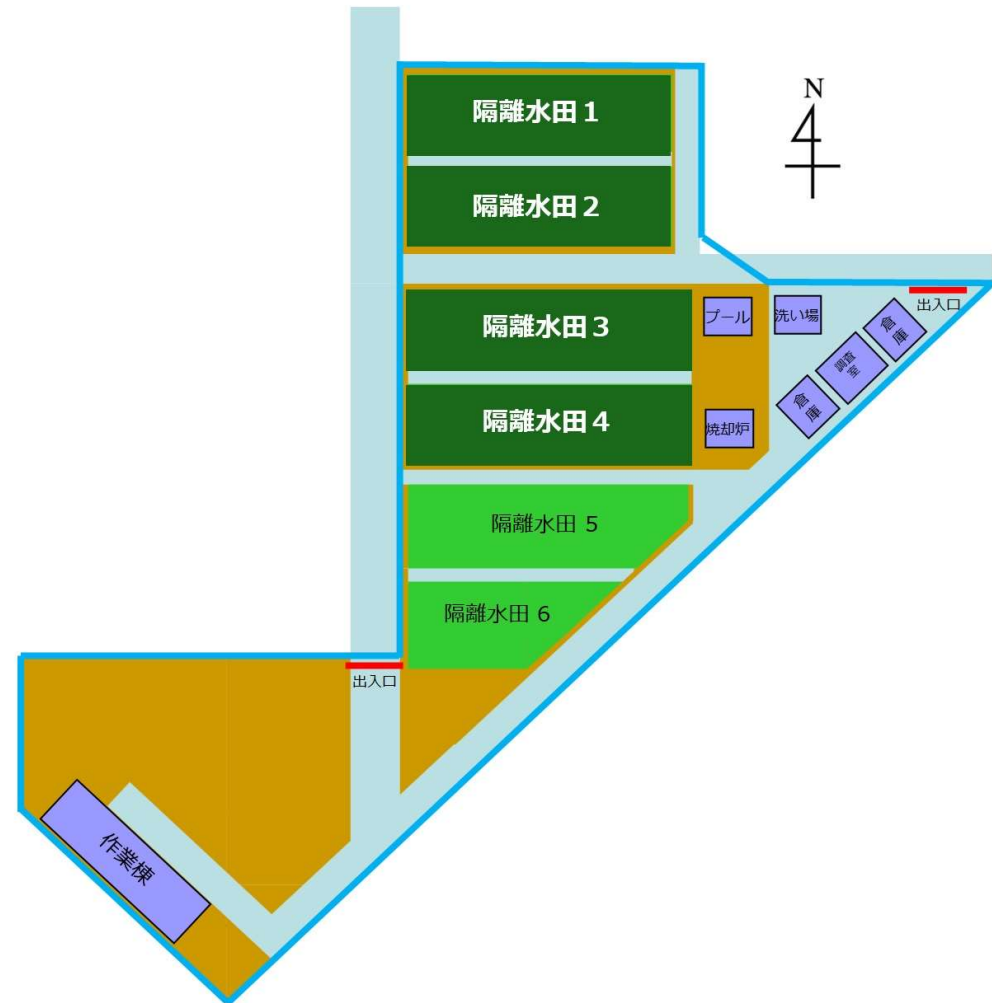
第2事業場隔離ほ場における栽培

水田1と水田2（約6.6アール）に
スギ花粉ペプチド含有イネと
その宿主品種「どんとこい」を、
水田3と水田4（約7.7アール）に
ノボキニン蓄積イネと
その宿主イネ系統 a123を、
それぞれ栽培しました。



昨年の栽培の様子
（水田2）

農研機構 観音台第2事業場
隔離ほ場の模式図



第2事業場隔離ほ場における栽培 (モニタリングの配置)



① から ⑩ の地点で同時期に
開花するモチ品種「関東糯
236号」を栽培しました。

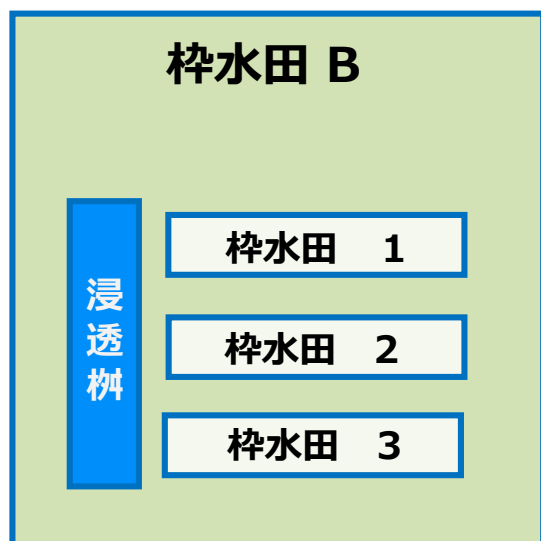
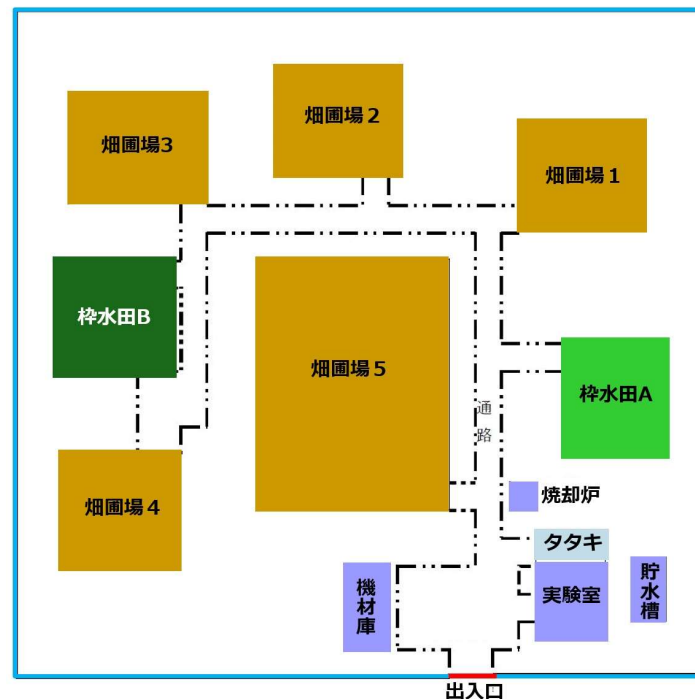


⑤に設置したモニタリング用モチイネ

第3事業場組換え植物隔離ほ場における栽培

農研機構 観音台第3事業場
組換え植物隔離ほ場の模式図

下図のように、粹水田 B の
1、2 にノボキニン蓄積イネと
その宿主イネ系統 a123 を、
3 にスギ花粉ペプチド含有イネと
その宿主品種「どんとこい」を、
それぞれ栽培しました。



0.25 アール

0.125アール



昨年の栽培の様子

第3事業場組換え植物隔離ほ場における栽培 (モニタリングの配置)



②に設置したモニタリング用モチイネ

モチ品種玄米の例



関東糯 236 号はこちらのタイプ
玄米は白色

ウルチ品種玄米の例



遺伝子組換えイネはこちらのタイプ
玄米は半透明

- ・モチ品種の花に、ウルチ品種の花粉が受粉すると、ウルチ米が結実します。
- ・上記写真のようにウルチ米とモチ米とは、目視で容易に区別が可能です。

本試験においては、仮に遺伝子組換えイネ (ウルチ) の花粉がモニタリングの関東糯 236号 (モチ) に受粉した場合、関東糯236号の株から得られる種子内にウルチ米が混在し、交雑の有無が目視で確認できます。各事業場毎にモニタリングイネ種子を**10,000粒以上調査**し、ウルチ米が発見された場合は組換えイネ花粉との交雑かどうかをPCRで確認し、最終判断を行います。

令和3年度ノボキニン蓄積イネおよび スギ花粉ペプチド含有イネ栽培におけるモニタリングの結果



	観音台 第1事業場	観音台 第2事業場	観音台 第3事業場
調査した関東糯 236号の粒数	12,226粒	12,929粒	11,988粒
うちモチ米	12,226粒	12,929粒	11,988粒
うちウルチ米	0粒	0粒	0粒

いずれの事業場においても

花粉飛散による交雑は認められませんでした。

令和4年度 栽培実験計画

ノボキニン蓄積イネ

(*nfGluA2*, *Oryza sativa* L.)(OsNV3)

スギ花粉ペプチド含有イネ

(*7Crp*, *2mALS*, *Oryza sativa* L.)(Os7Crp2)

令和4年度遺伝子組換えイネ栽培計画

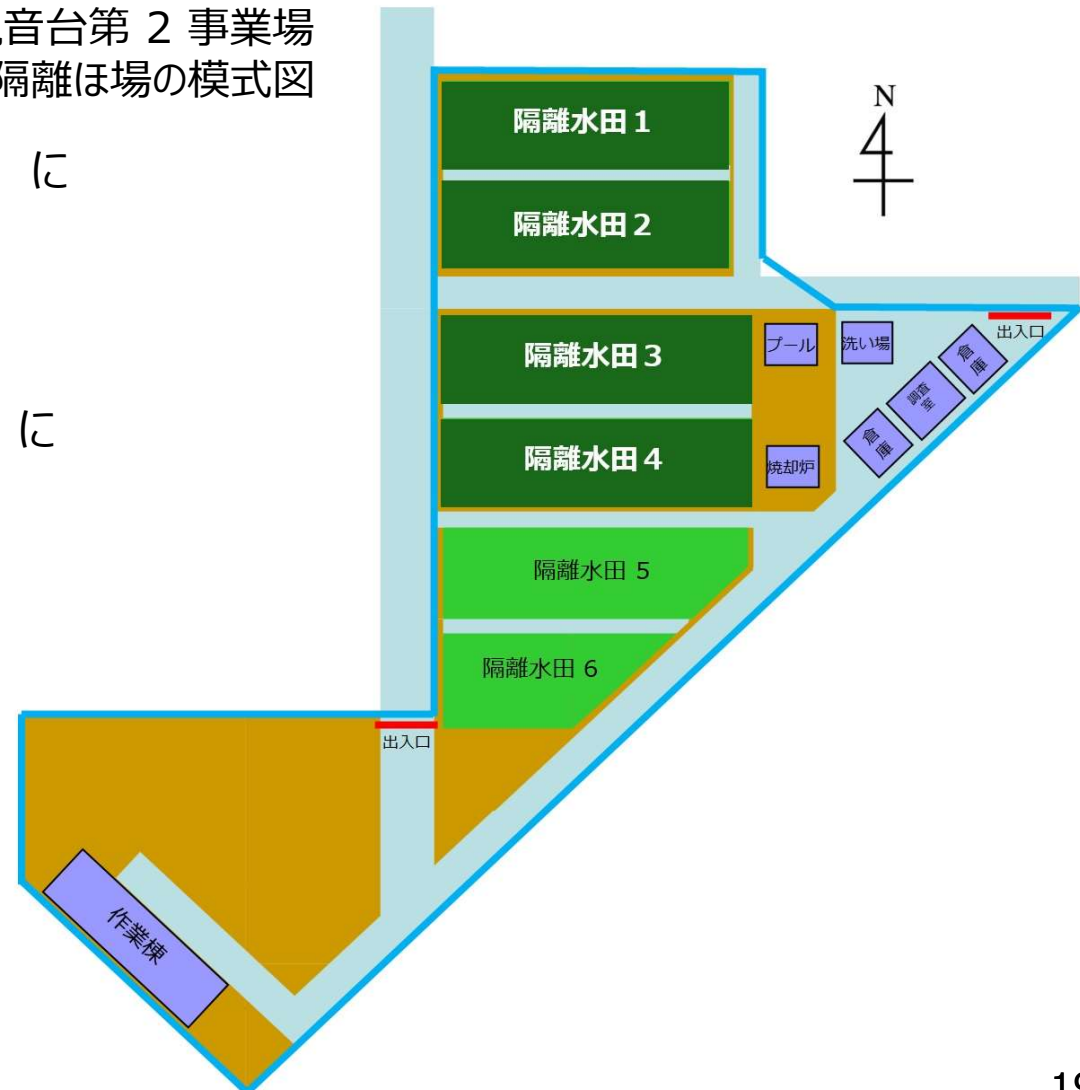


栽培目的	生育特性等の調査及び植物の分析等のための材料確保等	
栽培場所	<u>ノボキニン蓄積イネ</u>	
	農研機構	観音台第2事業場 隔離ほ場 (つくば市観音台 2-1-2)
	同	観音台第3事業場 組換え植物隔離ほ場 (つくば市観音台 3-1-3)
	<u>スギ花粉ペプチド含有イネ</u>	
	農研機構	観音台第2事業場 隔離ほ場 (つくば市観音台 2-1-2)
栽培予定	6月初旬	～ 幼苗管理、田植え (第2、第3事業場)
	8月中旬	～ 出穂期、登熟期
	10月初旬	～ 収穫、脱穀、乾燥 (第2、第3事業場) すき込み 残渣等の処理、清掃 (第3事業場) 第2事業場は越冬性試験を実施
	R5、3月まで	～ すき込み 残渣等の処理 清掃 (第2事業場)

第2事業場隔離ほ場における栽培

農研機構 観音台第2事業場
隔離ほ場の模式図

水田1と水田2（約6.6アール）に
スギ花粉ペプチド含有イネと
その宿主品種「どんとこい」を、
水田3と水田4（約7.7アール）に
ノボキニン蓄積イネと
その宿主イネ系統 a123を、
それぞれ栽培します。



第2事業場隔離ほ場における栽培 (モニタリングの配置)

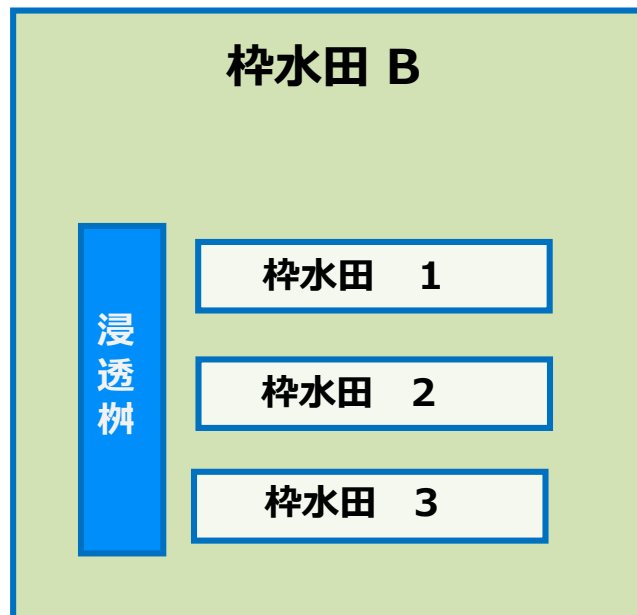


① から ⑥ の地点で同時期に
開花するモチ品種「関東糯
236号」を栽培します。
R3と同じ

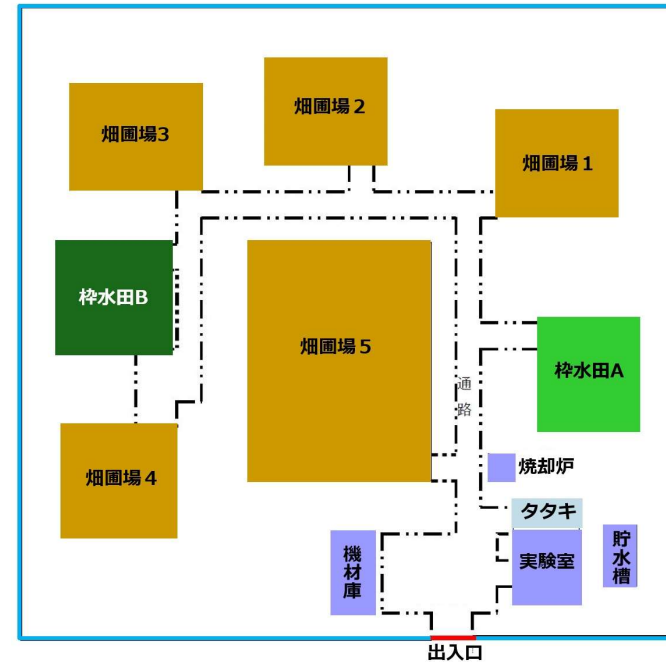
第3事業場組換え植物隔離ほ場における栽培

農研機構 観音台第3事業場
組換え植物隔離ほ場の模式図

下図のように、粹水田 B の
粹水田 1~3 全てにノボキニン
蓄積イネのみ栽培します。



0.375 アール



粹水田

第3事業場組換え植物隔離ほ場における栽培 (モニタリングの配置)



① から ⑥ の地点で同時期に
開花するモチ品種「関東糯
236号」を栽培します。
R3と同じ

- 1 各栽培実験区画は、それぞれの事業場外の最も近いほ場から少なくとも 200 m 以上離れています。なお、栽培実験指針に従い、各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 30 m 以上の隔離距離をとります。
- 2 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、防風ネット等で抑風する等の交雑防止措置をとります。
- 3 各事業場と外部との境界近く等で、組換えイネと同時期に開花するモチ品種「関東糯 236 号」を栽培し、花粉飛散による交雑をモニタリングします。

令和4年度遺伝子組換えイネ混入防止措置

- 1 種子や苗の移動の際は、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 管理、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、野鳥等による食害や種子の拡散を防ぎます。
- 4 収穫は全て隔離ほ場で行い、脱穀作業は隔離ほ場、または、実験室で行います。収穫作業には専用の機械等を使用するか、あるいは、使用後に隔離ほ場内で機械等を入念に洗浄します。
- 5 収穫物は、こぼれ落ちないように密閉容器等に入れ、実験室や隔離ほ場の保冷库等に保管します。

令和4年度遺伝子組換えイネ栽培実験終了後の処理



- 1 収穫した種子は、密閉容器等に保管し、イネ形質の調査等に使用します。
- 2 栽培を終了した植物体の地上部は、刈り取り後に焼却処分するか、残りのイネの残渣や残った株とともに隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化します。

つくば市 遺伝子組換え作物の栽培に係る 対応方針補足事項



⑩ 交雑及び混入等による不測の事態発生時の対処方法

- ・ 交雑及び混入等による不測の事態発生時は、状況把握と原因究明により更なる交雑及び混入の防止措置を徹底します。
- ・ 不測の事態発生に関する原因、状況及び対策等を、電話、電子メール、または文書により関係機関等へ連絡します。また、本件を周知するため、ホームページにお知らせを掲載します。

⑪ 防犯措置

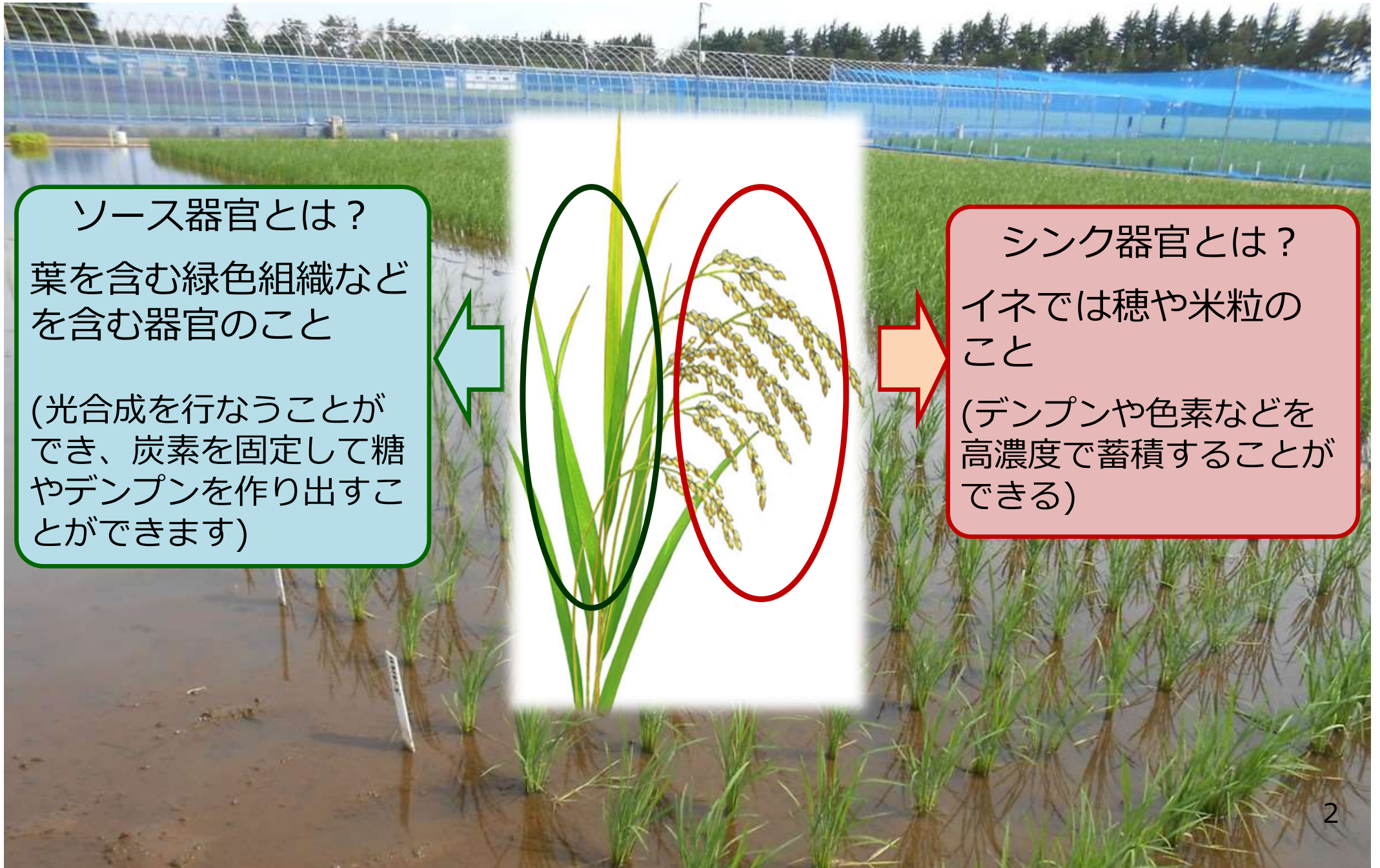
- ・ 夜間・休日は、隔離ほ場近くの通用門を車両の通行ができないように施錠します。
- ・ 隔離ほ場周りのフェンスに破損等が無い点検するとともに、出入り口は施錠します。
- ・ 隔離ほ場は、監視カメラや見回りによる監視を行います。
- ・ 隔離ほ場において異常があった場合は、担当職員が直ちに現地に出向き状況を確認すると共に、関係者へ連絡し再発防止等必要な措置を講じます。
- ・ 関係機関等への連絡は、必要に応じて前項に準じて行います。

シンク能改変イネの栽培試験目的

シンク能改変イネ系統は、粳数に関与する遺伝子に対し、ゲノム編集技術により特異的に変異を導入することで、穂の形態などのシンク容量の向上を目指したイネ系統です。

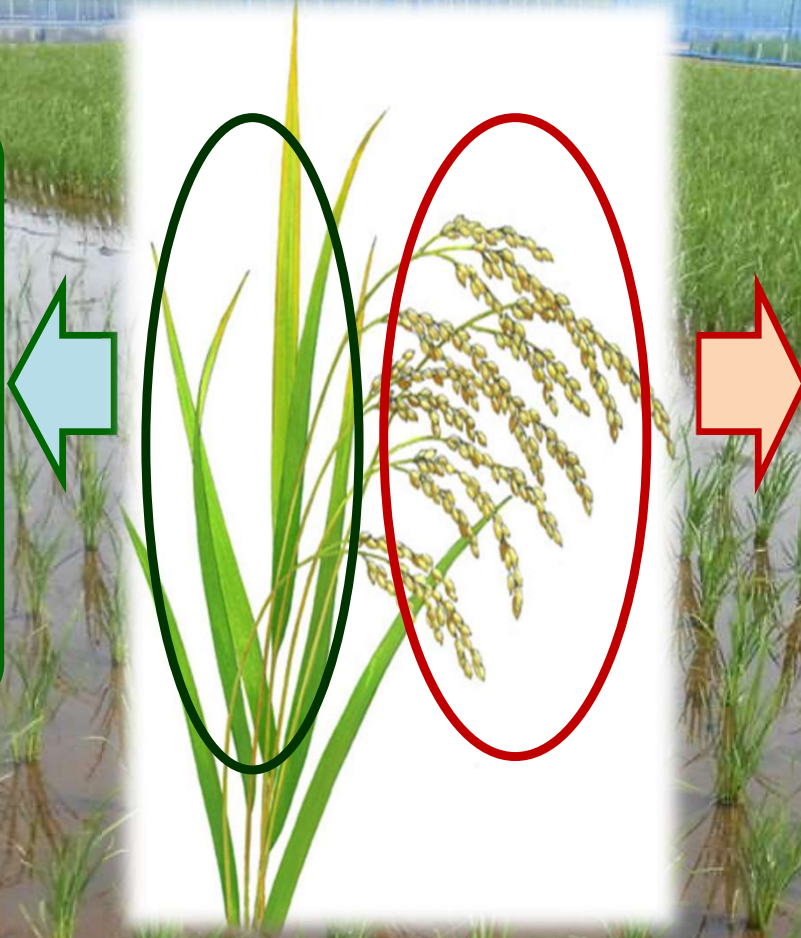
シンク能力が高まることで澱粉を蓄積する器が大きくなり、最終的にはイネの収量増加に寄与できるかを調査する目的で、当該イネ系統の野外栽培試験を実施します。

シンクとソースについて



ソース器官とは？
葉を含む緑色組織など
を含む器官のこと

(光合成を行なうことができ、炭素を固定して糖やデンプンを作り出すことができます)



シンク器官とは？
イネでは穂や米粒のこと

(デンプンや色素などを高濃度で蓄積することができる)

シンク能改変イネの開発目的

シンク能改変イネ系統は、粳数や粒重に関与する遺伝子に対し、ゲノム編集技術により特異的に変異を挿入することで、穂の形態や米粒の大きさ、数などのシンク能強化を目指したイネ系統です。

作物の収量性を高める意義

- ・ 単位面積当たりの収量を上げることで、生産コストの削減 → **販売価格の低減**



販路拡大にはコスト削減による低価格化が必要

- ・ 人口増加、異常気象に対応するための**食糧安全保障**



「シンク能改変イネ」について

シンク能改変イネは、「Cas9ヌクレアーゼ遺伝子」と、ターゲットとなる収量性関連遺伝子上で、Cas9ヌクレアーゼが働けるようにするための「ガイドRNA配列」を導入したイネ系統です。



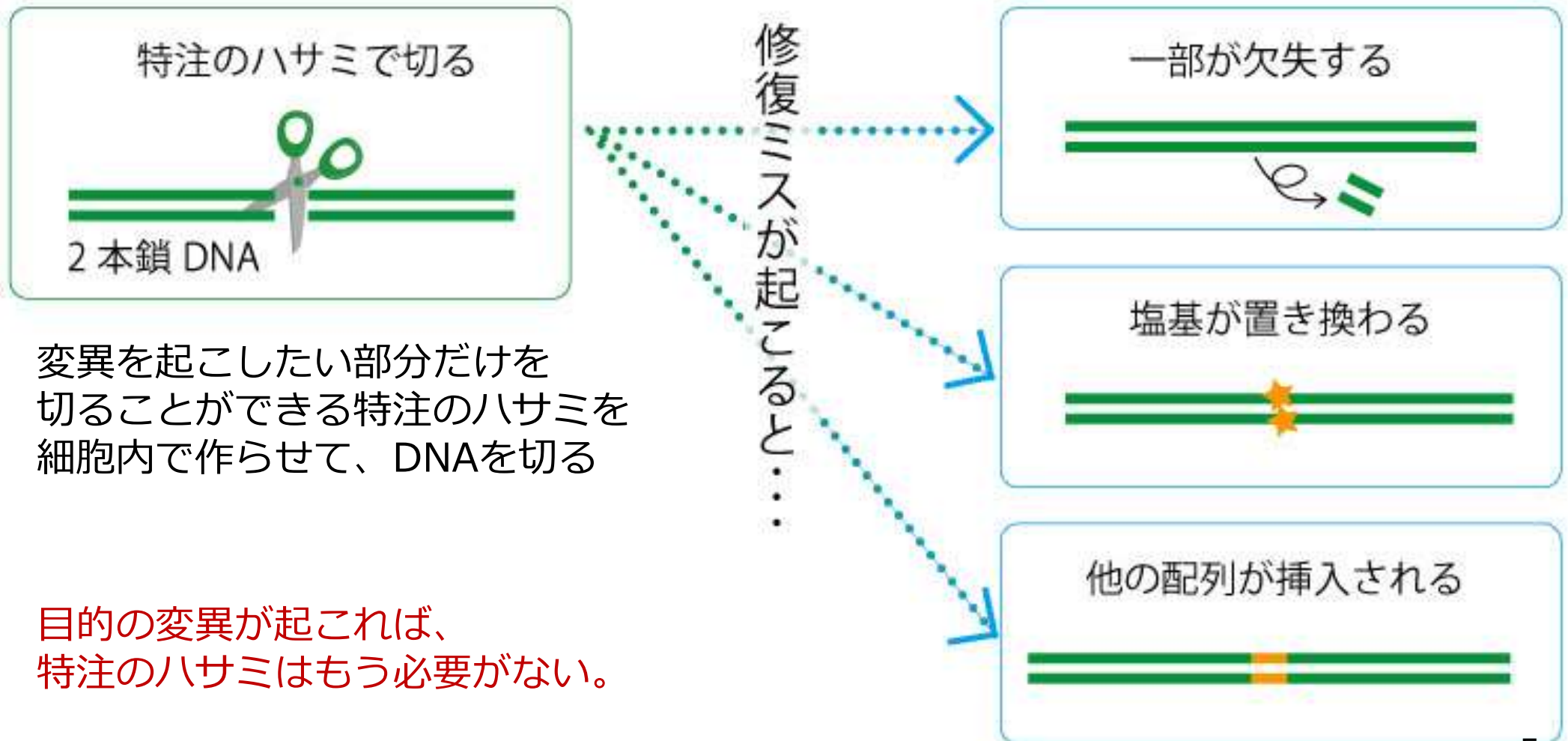
Cas9ヌクレアーゼは2本鎖DNAを切断する酵素で、ガイドRNA配列と複合体を形成することで、部位特異的な2本鎖DNAの切断を誘導し、ゲノム編集のツールとして利用します（CRISPR-Cas9システム）。



2本鎖DNA切断または塩基置換のターゲットとなる収量性関連遺伝子は、以下の2つになります。

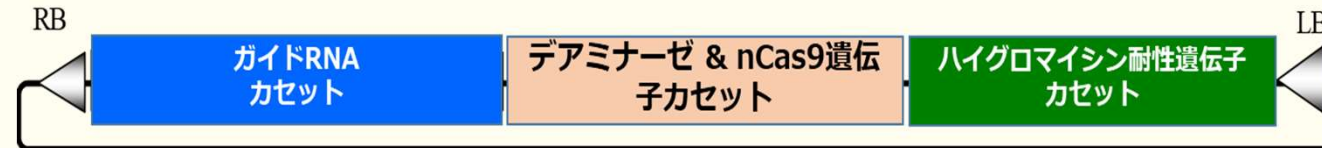
- ・ **サイトカイニンオキシダーゼ (*OsCKX2/Gn1a*) 遺伝子**の発現量が減少または無くなることで、穂の枝分かれが促されることによる粒数の増加を期待
- ・ **インドール酢酸グルコースヒドラーゼ (*IAA-Glucose hydrolase /TGW6*) 遺伝子**の発現量が減少または無くなることで、粒サイズの増加を期待

設計図が分かっているならば、計画的にDNAの書き換えができるはず。
偶然起こる変異を待たなくて良い。



「シंक能改変イネ」について

もう一つのゲノム編集システムは、ヤツメウナギ由来「シチジンデアミナーゼ遺伝子」と「Cas9ヌクレアーゼ遺伝子」および、ターゲットとなる収量性関連遺伝子上で、デアミナーゼとCas9ヌクレアーゼが働くようにするための「ガイドRNA配列」を導入して作出したイネシステムです。



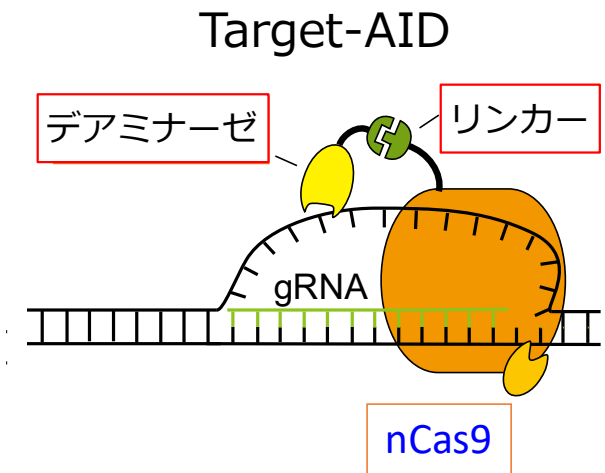
シチジンデアミナーゼは塩基変換を促す酵素で、ガイドRNA配列と複合体を形成することで、部位特異的な塩基置換を誘導し、ゲノム編集のツールとして利用します (Target-AIDシステム)。



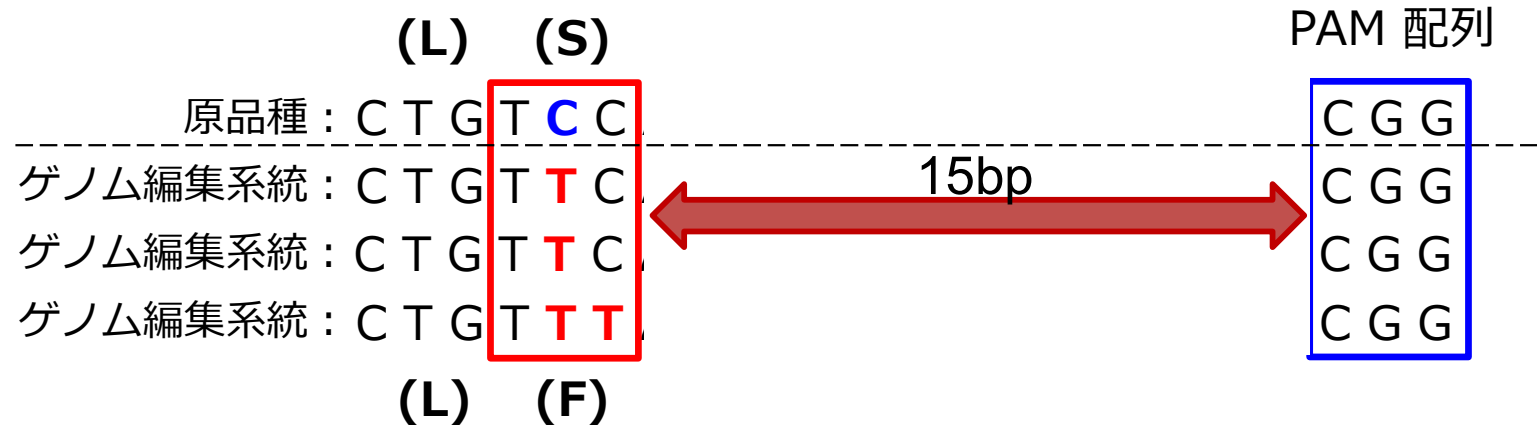
塩基置換ゲノム編集のターゲットとなる収量性関連遺伝子には 以下のような変化が起きると予想されます

- ・ **サイトカイニンオキシダーゼ (*OsCKX2/Gn1a*)** の酵素活性が減少することで、穂の枝分かれが促されることによる籾数の増加を期待
- ・ **インドール酢酸グルコースヒドラーゼ (*IAA-Glucose hydrolase /TGW6*)** 遺伝子に終止コドンが創生され働かなくなることで、粒サイズの増加を期待

限定された領域への点変異導入



セリン残基(S) ⇒ フェニルアラニン残基(F)



令和3年度 栽培試験 (シンク能改変イネ)

シンク能改変イネ (6系統)

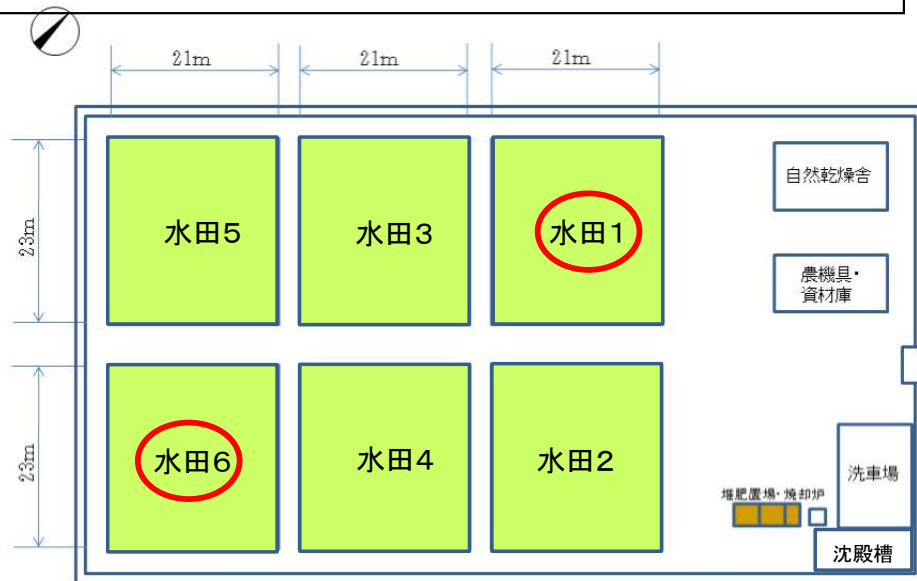
- ・ NIAS16-OSCas-Gn1a (一穂粒数増加)
- ・ NIAS16-OSCas-TGW6 (粒重増加)
- ・ NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-1 (粒重増加)
- ・ NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-2 (粒重増加)
- ・ NIAS18-OSCas-Gn1a (一穂粒数増加)
- ・ NIAS18-CDA-Gn1a (一穂粒数増加)

「日本晴」 (ジャポニカ標準品種)

「あきだわら」

「北陸193号」 「モミロマン」 「ゆめあおば」

「べこあおば」 「クサホナミ」 等



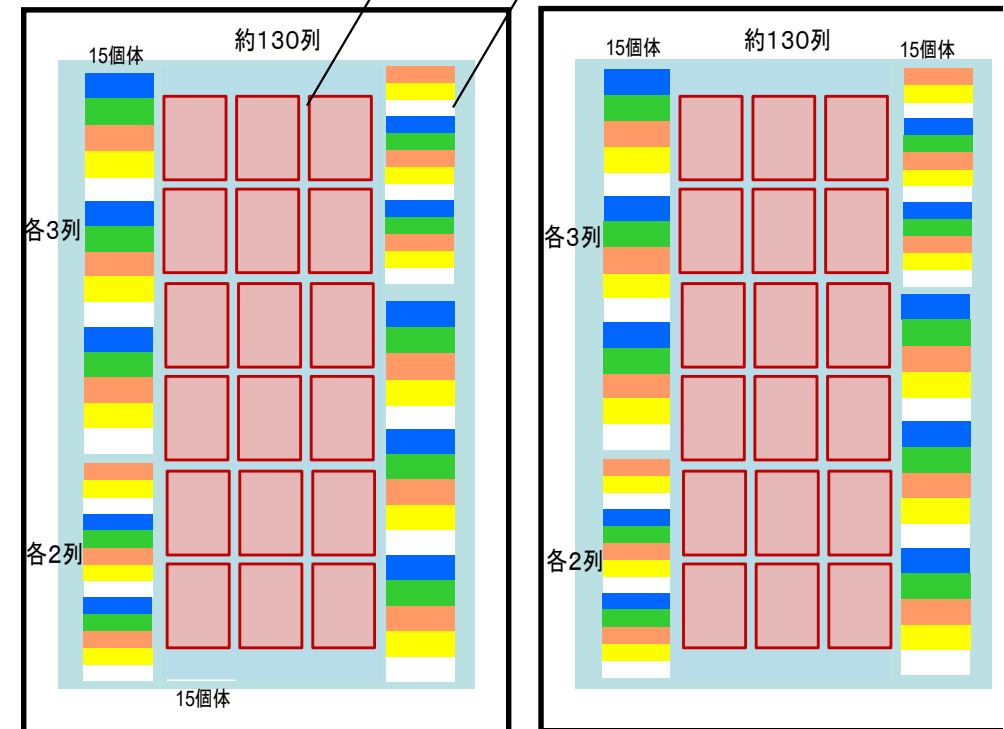
坪刈区

列植区

水田1

水田6

約70列



試験区の配置図

実施場所： 農研機構・高機能隔離圃場 (つくば)
(5アール × 2面)

【実施場所・期間等】

実施場所： 農研機構・観音台第1事業場 高機能隔離圃場（10アール）

実施期間： 令和3年5月～令和4年3月

【令和元年度の栽培】

令和3年 4月中旬	播種・育苗
5月11日、12日	隔離ほ場での移植、防鳥網設置
7月26日～9月17日	モニタリング用モチイネ設置
7月30日～9月3日	出穂・開花期
9月21日～11月1日	収穫（栽培終了）
11月1日	防鳥網撤去、鋤き込み
令和4年 1月中旬	越冬性の確認 (ひこばえ等の枯死状況の確認)



※本遺伝子組換えイネは、食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物に該当しないため、観音台第1事業場と外部との境界近くの4カ所にモチ品種をポット栽培し、研究所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した。

令和3年度「シンク能改変イネ」の野外栽培経過



ゲノム編集イネ系統の様子
(水田1、R3年6月1)



ゲノム編集イネ系統の様子(中干し期間中)
(水田1、R3年6月28日)



ゲノム編集イネ系統の様子
(水田1、R3年8月11)



ゲノム編集イネ系統の様子
(水田1、R3年10月1日)

モチ品種玄米の例



玄米は白色

うるち品種玄米の例



シンク能改変イネはこちらのタイプ
玄米は半透明

原理

うるち米ともち米は目視で区別できる。

もち品種の花に、うるち品種の花粉が受粉・受精すると、うるち米が結実する（キセニア現象）。

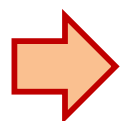


農研機構 第1事業場 建物配置図



モニタリングに使用するモチ品種

- ・ 本栽培試験では栽培実験指針に従い、花粉交雑のモニタリングを実施
- ・ 敷地外周の4地点（上図の赤丸）に同開花期のモチ品種を配置
- ・ モニタリング用モチ品種収穫後、キセニアで判断。1万粒以上で実施し、交雑の可能性を判断



キセニア粒数 = 0
12,044粒

結論：キセニア粒は確認されなかったことから、
花粉飛散による交雑は認められませんでした。

シンク能改変イネの栽培試験目的

シンク能改変イネ系統は、粳数や粒重に関与する遺伝子に対し、ゲノム編集技術により特異的に変異を導入することで、穂の形態などのシンク容量の向上を目指したイネ系統です。

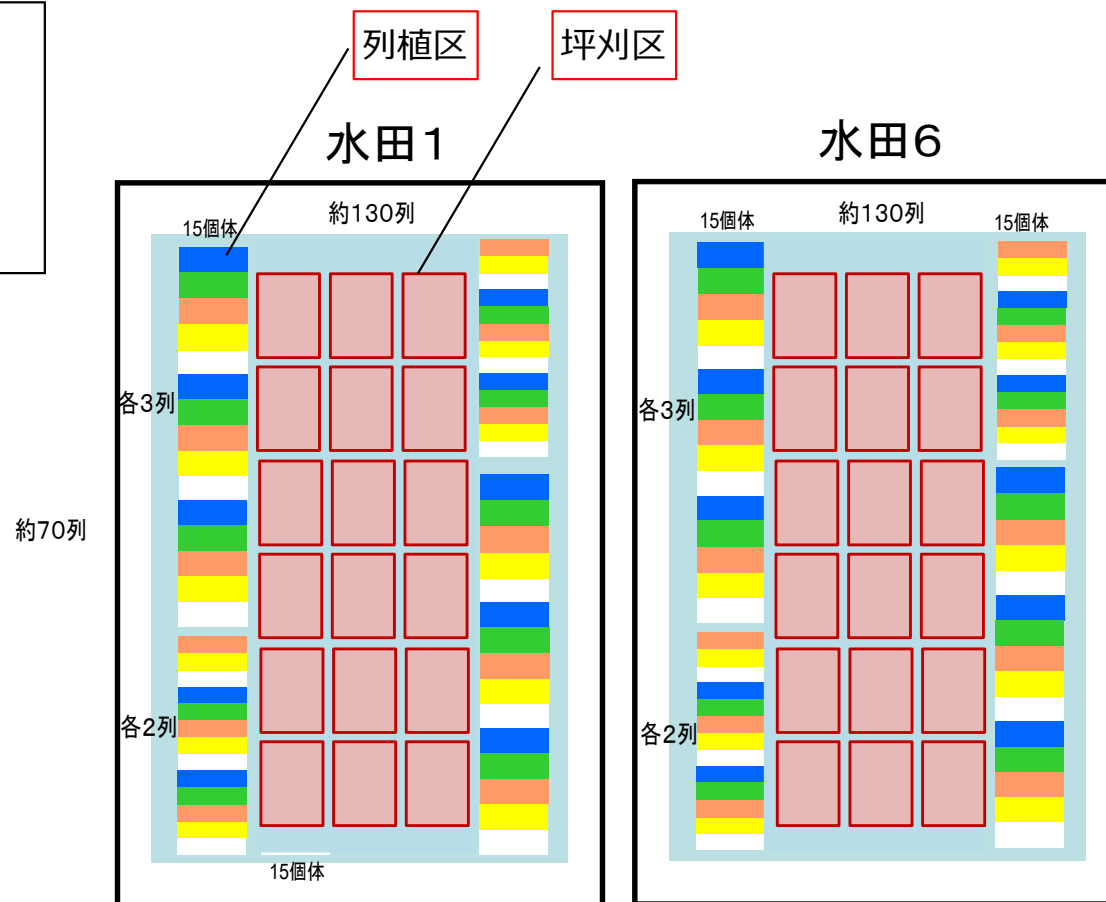
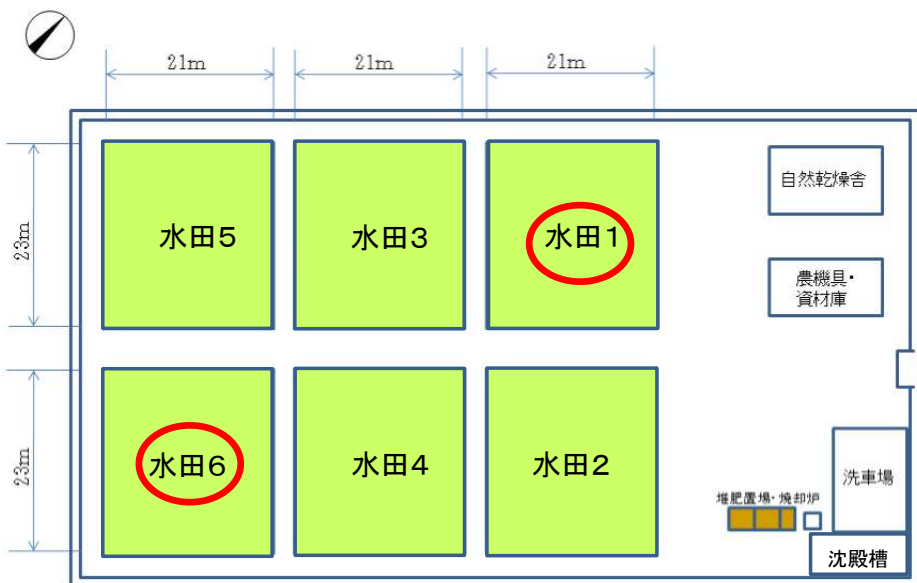
シンク能力が高まることで澱粉を蓄積する器が大きくなり、最終的にはイネの収量増加に寄与できるかを調査する目的で、当該イネ系統の野外栽培試験を実施します。

令和4年度 栽培試験 (シンク能改変イネ)

シンク能改変イネ (4系統)

- ・ NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-1 (粒重増加)
- ・ NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-2 (粒重増加)
- ・ NIAS18-OSCas-Gn1a (一穂粒数増加)
- ・ NIAS18-CDA-Gn1a (一穂粒数増加)

「日本晴」 (ジャポニカ標準品種)
 「あきだわら」
 「北陸193号」 「ゆめあおば」
 「べこあおば」 「クサホナミ」 等



試験区の配置図

実施場所： 農研機構・高機能隔離圃場 (つくば)
 (5アール × 2面)

【実施場所・期間等】

実施場所： 農研機構・観音台第1事業場 高機能隔離圃場（10アール）

実施期間： 令和4年5月～令和5年3月

【令和4年度の栽培計画】

令和4年 4月中旬	播種・育苗
5月10日、11日	隔離ほ場での移植、防鳥網設置
7月25日	モニタリング用イネ（モチ品種）設置
8月 1日～30日	出穂・開花期
9月12日～11月1日	収穫（栽培終了）
11月2日	防鳥網撤去、鋤き込み
令和5年 1月中旬	越冬性の確認 (ひこばえ等の枯死状況の確認)



田植えの様子
(水田1、R4年5月10日) 15



農研機構 第1事業場 建物配置図



モニタリングに使用するモチ品種

- ・ 本栽培試験では栽培実験指針に従い、花粉交雑のモニタリングを実施
- ・ 敷地外周の4地点（上図の赤丸）に同開花期のモチ品種を配置
- ・ モニタリング用モチ品種収穫後、キセニアで判断。1万粒以上で実施し、交雑の可能性を判断

1. 栽培実験区画は500 m 以上、観音台第1事業場外の最も近いほ場から離れています。また、栽培実験指針に従い、各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 30 m 以上の隔離距離をとります。
2. 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、防風ネット等で抑風する等の交雑防止措置をとります。
3. 観音台第1事業場と外部との境界近く等に、シンク能改変イネと同時期に開花するモチ品種を栽培し、花粉飛散による交雑をモニタリングします。

1. 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、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. 管理・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で入念に清掃、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止する。
4. 収穫は隔離ほ場で行い、脱穀作業は隔離ほ場または実験室で行う。作業には、専用の機械等を使用するか、使用後に機械等を隔離ほ場内で入念に洗浄する。
5. 収穫物は、こぼれ落ちないように密閉容器に入れ、分析を行う実験室に保管する。

1. 収穫した種子は、密閉容器に保管し、玄米千粒重等の調査等に使用します。
2. 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。
3. 栽培を終了した植物体の地上部は、刈り取り後に焼却処分するか、残りのイネの残渣や残った株とともに隔離ほ場内にすき込む等により、確実に不活化します。

※オートクレーブ（高温・高圧滅菌装置）

⑩ 交雑及び混入等による不測の事態発生時の対処方法

- ・ 交雑及び混入等による不測の事態発生時は、状況把握と原因究明により更なる交雑及び混入の防止措置を徹底します。
- ・ 不測の事態発生に関する原因、状況及び対策等を、電話、電子メール、または文書により関係機関等へ連絡します。また、本件を周知するため、ホームページにお知らせを掲載します。

⑪ 防犯措置

- ・ 夜間・休日は、隔離ほ場近くの通用門を車両の通行ができないように施錠します。
- ・ 隔離ほ場周りのフェンスに破損等が無い点検するとともに、出入り口は施錠します。
- ・ 隔離ほ場は、監視カメラや見回りによる監視を行います。
- ・ 隔離ほ場において異常があった場合は、担当職員が直ちに現地に出向き状況を確認すると共に、関係者へ連絡し再発防止等必要な措置を講じます。
- ・ 関係機関等への連絡は、必要に応じて前項に準じて行います。

水利用効率改善遺伝子組換え交雑アスピンの 隔離ほ場栽培試験について

承認番号：18-26P-0005 (2018-05-25 ~ 2022-12-31)

説明者：
筑波大学 生命環境系/T-PIRC遺伝子実験センター 小口太一

第一種使用承認の概要

宿主植物：交雑アスペン
(*Populus tremula* x *P. tremuloides* clone T89)

導入形質：水利用効率改善

特性遺伝子：ガラクチノール合成遺伝子 (*AtGo/S2*)
(シロイヌナズナ *Arabidopsis thaliana*由来)

形質転換法：アグロバクテリウム媒介法

第一種使用の目的：生物多様性影響評価

実施場所：T-PIRC遺伝子実験センター模擬的環境試験圃場II
(隔離ほ場II)

承認申請した大臣：文部科学大臣、環境大臣

承認申請期間：平成30年5月25日から令和4年12月31日まで

第一種使用作業要領

- ・ 隔離ほ場内栽培区画での適切な雑草管理
- ・ 実験等で組換え体を隔離ほ場の外へ持ち出す際は容器に密閉
- ・ それ以外の場合、栽培終了後の組換え体は、隔離ほ場内で裁断処理し、隔離ほ場内にすき込むか、オートクレーブ等で不活化
- ・ 花芽が形成されたら、速やかに切除
- ・ 栽培区画で使用した機械、器具等は隔離ほ場内で洗浄
- ・ 隔離ほ場の設備の維持及び管理
- ・ 上記要領を従事者に遵守させる
- ・ 万が一、生物多様性への影響が生ずる事故等が発生した場合は、本学遺伝子組換え実験安全委員会の責任のもと、緊急措置計画を実行

令和3年度・実施報告

- ・ 昨年度に実施した渇水制限による水欠乏ストレス耐性評価に関する補足データの収集
- ・ 生育測定

(補足)

- ・ 令和4年4月13日及び5月10日の2回に分けて、全27個体の伐採・伐根を実施した。

→以降、今年末の第一種承認期間終了まで事後観察



4月13日の作業中様子

情報提供・情報公開

- 2019年4月20日 一般公開(科学技術週間)での隔離ほ場を含む遺伝子組換え植物栽培施設の一般見学の実施
- 2019年6月26日 つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会で説明
- 2019年7月27日 公開講座での隔離ほ場を含む遺伝子組換え植物栽培施設の一般見学の実施
- 2019年7月29日 作物連絡会のほ場見学会での現地説明
- 2020年2月3日 遺伝子組換え実験に関するつくば市との連絡協議会で説明
- 2020年10月5日 つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会で説明(書面)
- 2021年 6月4日 つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会で説明

他、遺伝子実験センターホームページ内の「遺伝子組換え体関連ニュース」にて、栽培状況を報告

https://gene.t-pirc.tsukuba.ac.jp/research/gene_news/

長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び 除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ の 隔離ほ場栽培試験について

2020年 12月 第一種使用承認申請

2021年 8月5日 第一種使用承認

2021年 11月29日 本試験

現在も栽培中

説明者:

筑波大学 生命環境系/T-PIRC遺伝子実験センター 津田麻衣

第一種使用承認の概要



宿主植物： セイヨウナタネ (*Brassica napus*)

導入形質： 長鎖オメガ三系脂肪酸産生、除草剤グルホシネート耐性

特性遺伝子： デサチュラーゼ5種・エロンガーゼ2種をコードする遺伝子(微生物類および酵母由来)、

*pat*遺伝子(*Streptomyces viridochromogenes*由来)

形質転換法： アグロバクテリウム法

第一種使用の目的： 生物多様性影響評価

実施場所： 筑波大学 T-PIRC 産官学・共同研究部門(インダストリアルゾーン)・模擬的環境試験圃場V(隔離圃場V)

承認申請した大臣： 農林水産大臣・環境大臣

承認申請期間： 承認日から令和8年3月31日

遺伝子組換えセイヨウナタネに導入された脂肪酸合成経路

オレイン酸

↓ **デサチュラーゼ ①**

リノール酸

↓ **デサチュラーゼ ②**

α-リノレン酸

↓ **デサチュラーゼ ③**

ステアリドン酸

→ **エイコサテトラエン酸**

エロンガーゼ ①

↓ **デサチュラーゼ ④**

エロンガーゼ ②

エイコサペタエン酸

EPA

→ **ドコサペンタエン酸**

デサチュラーゼ ⑤

↓ **ドコサヘキサエン酸**

DHA



非組換えセイヨウナタネでも合成される経路、ただし合成量が少ないので本遺伝子組換えセイヨウナタネでは2つのデサチュラーゼ遺伝子導入により合成量を増加させている

脂肪酸の分類

脂肪酸

不飽和脂肪酸

常温で
固まりにくい

飽和脂肪酸

常温で
固まりやすい

**飽和脂肪酸を
多く含む食品**

牛脂・ラード・
乳脂肪・
肉類の脂身など

多価不飽和脂肪酸 (必須脂肪酸)

食事で摂り入れる
必要がある

一価不飽和脂肪酸

体内で合成される

オレイン酸・
パルミトレイン酸など

**オレイン酸を
多く含む食品**

アマニ油・
オリーブオイルなど

**パルミトレイン酸を
多く含む食品**

マカダミアナッツなど

オメガ3 (n-3系)

DHA

EPA

α-リノレン酸※

オメガ6 (n-6系)

リノール酸・
アラキドン酸など

**リノール酸を
多く含む食品**
ゴマ油・ナタネ油など

**アラキドン酸を
多く含む食品**
肉類・レバー・
卵黄など

※体内で一部がDHAやEPAに変換される

第一種使用作業要領

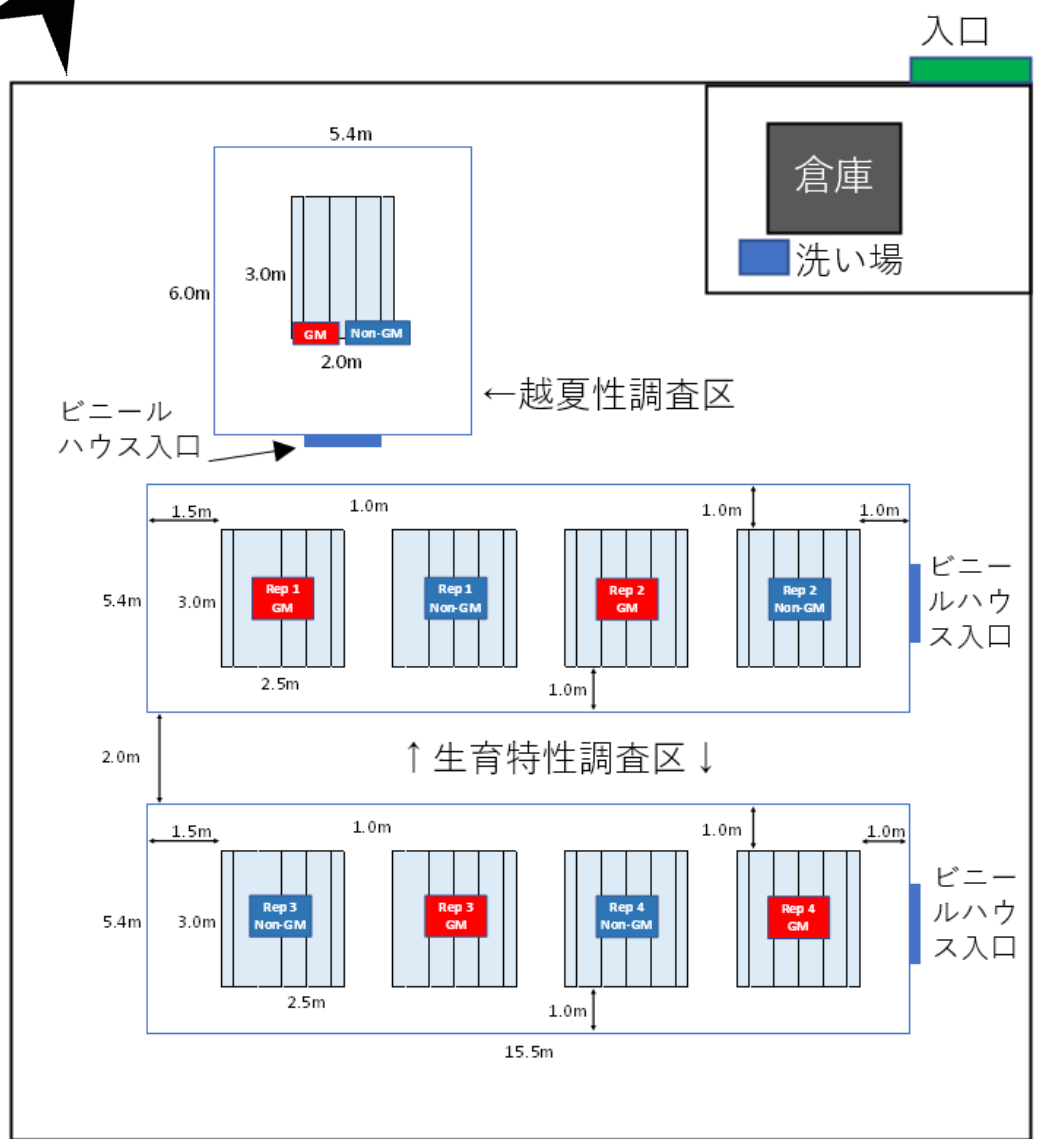
- ・ 隔離ほ場内栽培区画での適切な雑草管理
- ・ 実験等で組換え体を隔離ほ場の外へ持ち出す際は容器に密閉
- ・ 上記以外の場合、および栽培終了後の組換え体は、隔離ほ場内で裁断して隔離ほ場内に鋤き込むか、オートクレーブ等で不活化
- ・ 播種時、成熟期には防鳥網で組換え体の拡散を防止
- ・ 開花期には、試験区を寒冷紗等で覆うことにより花粉飛散を防止
- ・ 栽培区画で使用した機械、器具等は隔離ほ場内で洗浄
- ・ 隔離ほ場設備の適切な維持・管理
- ・ 上記要領を従事者に遵守させる
- ・ 万が一、生物多様性への影響が生ずる事故等が発生した場合は、本学遺伝子組換え実験安全委員会の責任のもと、緊急措置計画を実行



隔離ほ場の所在地



隔離ほ場における第一種使用実施予定区画



横からみた隔離ほ場のフェンスと側溝の構造



令和3年～令和4年度 栽培実施計画

2020年 12月 第一種使用承認申請

2021年 8月 第一種使用承認

2021年 11月 本試験開始

2022年 7月 生育特性調査区8区画の評価を終了予定

(成熟度合いにより遅延の可能性あり)

2022年 8月末 成体の越夏性を調査する1区の評価を終了予定

情報提供・情報公開について

2021年 6月4日 つくば市遺伝子組換え作物栽培連絡会で説明

2021年 7月31日

本遺伝子組換えセイヨウナタネの隔離ほ場試験一般説明会を開催予定
他、遺伝子実験センターホームページ内「遺伝子組換え体関連ニュース」にて、
随時栽培状況等を報告している

https://gene.t-pirc.tsukuba.ac.jp/research/gene_news/

2021年11月29日

遺伝子組換えセイヨウナタネの栽培試験を開始しました。

2021年8月5日に承認を得た「長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ」（承認番号 **21-46P-0007**）の栽培試験を、第一種使用規程に基づき、筑波大学T-PIRCの隔離ほ場（模擬的環境試験圃場 **V**）で開始しました。

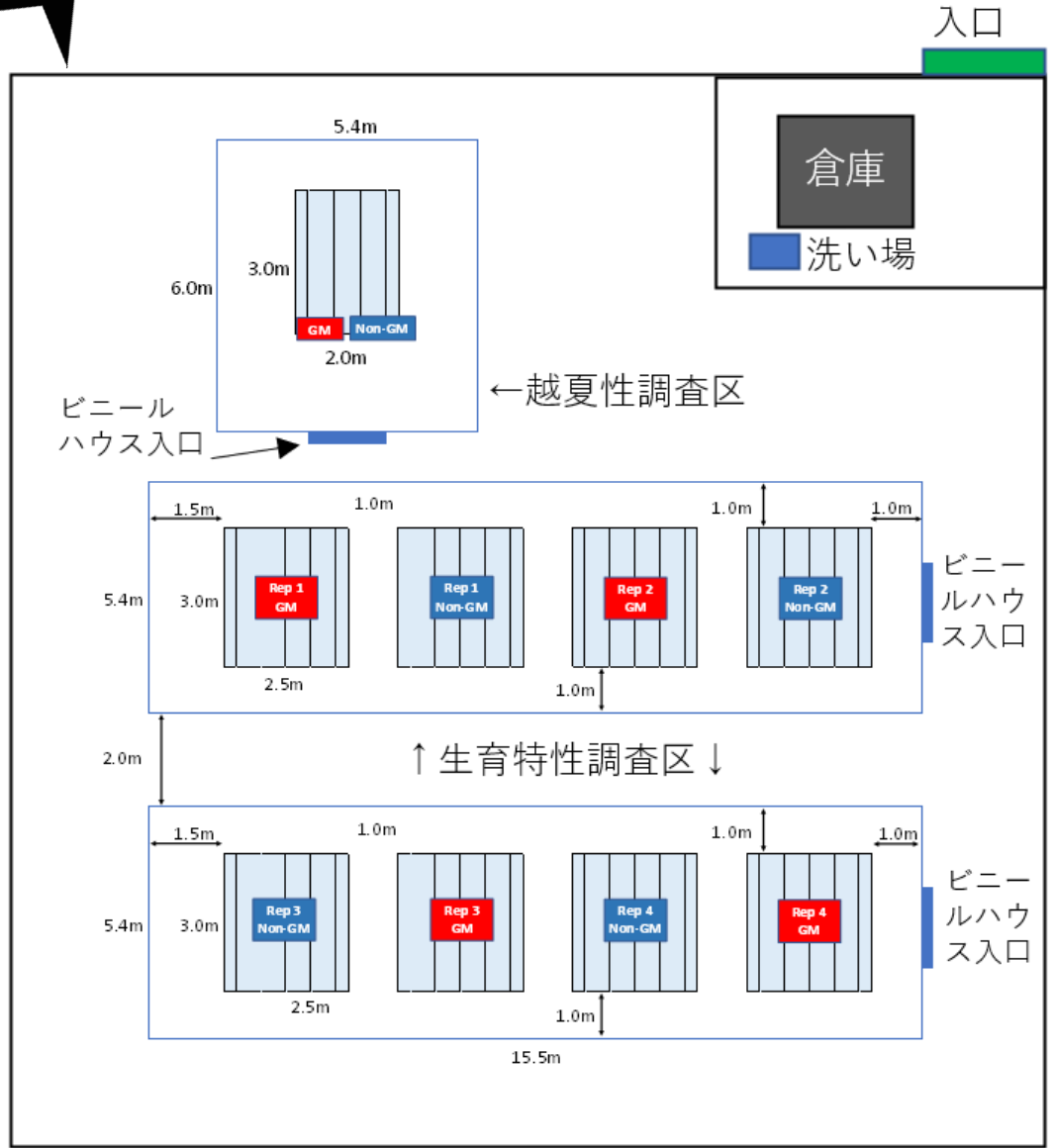
実験内容：組換えセイヨウナタネと非組換えセイヨウナタネの生育特性と成熟期後の高温下での越夏性を調査する。

材 料 ：長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ（**NS-B50027-4**）と宿主である非組換えセイヨウナタネ（品種：**AV Jade**）

栽培方法：2021年11月29日、隔離ほ場内に建設したビニールハウス3棟内に、種子を播種した。試験区は、株間15 cm、条間50 cm、1条3m長の列を5列で1プロットとした。生育特性調査区はビニールハウス2棟内に4プロットずつ計8プロット配置し、遺伝子組換え区、非遺伝子組換え区4プロットずつを交互に配置した。越夏性調査区は、生育特性区よりも小さいビニールハウス1棟に配置し、遺伝子組換え用に2列、非遺伝子組換え用に2列播種した。播種は1か所に数粒ずつ行っているため、播種約1か月後である12月末頃に各列20個体となるように間引きを行う予定である。播種後の様子は、写真に示した（左：生育特性調査区、右：越夏性調査区）。



隔離ほ場
 (模擬的感情試験圃場V)
 の区画配置



Rep* は反復試験区の番号を示す。GMは遺伝子組換え区、Non GMは非遺伝子組換え区を栽培している。

2022年3月25日

遺伝子組換えセイヨウナタネが開花期に入りました。

2021年8月5日に承認を得た「長鎖オメガ三系脂肪酸産生及び除草剤グルホシネート耐性セイヨウナタネ」（承認番号 21-46P-0007）の栽培試験は、第一種使用規程に基づき、筑波大学T-PIRCの隔離ほ場（模擬的環境試験圃場V）で2021年11月29日に播種を行って開始しました。その後順調に生育し、**3月上旬から開花をはじめ、3月23日現在、ほとんどの個体が開花を迎えています。**





2022年5月17日の様子
成熟期に近づいてきました

