

栽培実験計画書

栽 培 実 験 名	シンク能改変イネ (<i>Oryza sativa</i> L.) の栽培
実 施 法 人 ・ 研 究 所 名	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門
公 表 年 月 日	平成31年3月26日

1. 栽培実験の目的、概要

(1) 目的

国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構(以下「農研機構」という。)生物機能利用研究部門は、遺伝子組換え技術及びゲノム編集技術を用いて、シンク能改変イネ (*Oryza sativa* L.) を作出しました。

今回の栽培実験は、出穂期、草丈、稈長、穂長、有効分げつ数等の生育調査及び株全重収量、一穂粒数、種子稔実率、玄米千粒重等の収量調査を行い、これらの結果を踏まえて有望系統を選抜することを目的とします。

(2) 概要

平成31年5月から平成32年2月まで、シンク能改変イネの栽培実験を行います。

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

シンク能改変イネ (*Oryza sativa* L.)

NIAS16-OSCas-Gn1a

NIAS16-OSCas-TGW6

NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-1

NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-2

(2) 第1種使用規程の承認取得年月日等

平成29年4月20日 (NIAS16-OSCas-Gn1a、NIAS16-OSCas-TGW6) 及び平成30年5月25日 (NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-1、NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-2) に、「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(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31年5月～平成32年2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31年4月上旬～	催芽・播種・育苗(隔離温室又は特定網室)
平成31年5月上旬～	隔離ほ場内水田への移植(栽培開始)
平成31年8月上旬～	出穂期・登熟期
平成31年10月下旬	収穫・脱穀・乾燥
平成31年11月～	残渣等の処理
平成32年2月まで	越冬性の確認

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）

・農研機構観音台第4事業場（以下「観音台第4事業場」という。）高機能隔離圃場

- （１）第１種使用規程承認作物の栽培規模：約 10 アールに本シンク能改変イネ及び比較対照品種として「日本晴」、「北陸 193 号」、「モミロマン」等を栽培します。

なお、水田近傍で、若干数のポットを用いた栽培も行います。

- （２）栽培実験区画の位置：茨城県つくば市観音台3-1-1（図 1、図 2 参照）

過去のデータ等から、本栽培実験区画では、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）交雑防止措置の内容

観音台第4事業場の栽培実験区画は、観音台第4事業場外の最も近いほ場から250m以上離れています。また、「第１種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」に従い、観音台第4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30m以上の隔離距離をとります。

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、防風網等で抑風する等の交雑防止措置をとります。

- （２）食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物でない場合のモニタリング措置の内容

シンク能改変イネは、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４事業場と外部との境界近くの4カ所（図3参照）にモチ品種をポット栽培し、研究所外に本シンク能改変イネの花粉が飛散していないことを確認する予定です。

モチ品種には、シンク能改変イネの開発に用いた宿主品種「日本晴」「北陸 193 号」「モミロマン」等と同時期に開花するモチ品種「モチミノリ」等を使用します。交雑の有無の確認は、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、シンク能改変イネに導入した遺伝子の有無を検知できる PCR 法により、花粉源がシンク能改変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. 研究所等の内での収穫物、実験材料の混入防止措置

- ① シンク能改変イネの種子を種子貯蔵庫から育苗施設まで搬入する際は、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 中間管理作業、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、野鳥等による食害及び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。

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、玄米千粒重等の収量調査等に使用します。
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つくば市谷田部及びJ Aつくば市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31年3月26日 栽培実験計画書の公表
平成31年4月25日 栽培実験に係る説明会（場所：農研機構）
- 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、農研機構ホームページ
(<http://www.naro.affrc.go.jp/>) で情報提供を行います。
- ⑤ 栽培実験に係る連絡先
農研機構 生物機能利用研究部門 企画管理部 遺伝子組換え研究推進室
電話番号 029-838-7138

9. その他の必要な事項

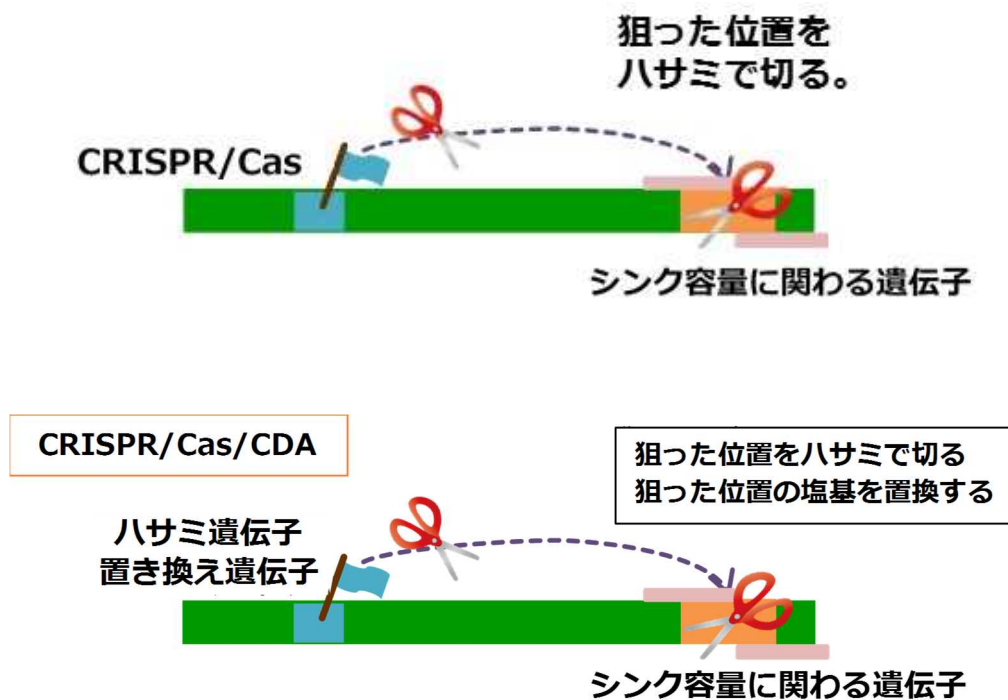
(参考)

[これまでの開発・安全性評価・野外栽培の経緯]

- ・ NIAS16-OSCas-Gn1a及びNIAS16-OSCas-TGW6に関して
平成27年 : アグロバクテリウム法による遺伝子導入実験
平成28年 : 閉鎖系温室にて生物多様性影響調査
平成28年12月 : 隔離ほ場における第一種使用規程承認を文部科学省・環境省に申請
- ・ NIAS17-OSCas/CDA-TGW6-1及びNIAS17-OSCas/CDA-TGW6-2に関して
平成27年 : アグロバクテリウム法による遺伝子導入実験
平成28年 : 閉鎖系温室にて生物多様性影響調査
平成29年12月 : 隔離ほ場における第一種使用規程承認を文部科学省・環境省に申請

シンク能改変イネ系統は、下記*Streptococcus. pyogenes* 由来CRISPR/Cas9システム及びヤツメウナギ由来シチジンデアミナーゼ (Cytidine Deaminase) を利用し、gRNAとしてシンク能関連遺伝子上の20bpとの複合体を形成させることにより、シンク能関連遺伝子のエクソン領域に対する切断・修復又は置換・修復の過程において変異誘発を促した系統です。この変異誘発によりトリプレッドコドンの読み枠がずれる、又は特定箇所が塩基置換することによりストップコドンを生ずることにより、シンク能関連遺伝子が破壊（ノックアウト）された系統を作出しました。

これらの系統について、隔離ほ場栽培での形態特性及び収量パフォーマンス等について調査していく予定です。



出典：くらしとバイオプラザ21より一部改変

(参考文献)

Ishimaru K., et al. (2013) Loss of function of the IAA-glucose hydrolase gene *7C* enhances rice grain weight and increases yield. *Nature Genetics* :45 (6)70

Endo M., Mikami M and Toki S(2015) Multigene Knockout Utilizing Off-Target Mutationsof the CRISPR/Cas9 System in Rice. Plant Cell Physiol. 56(1): 41-47

Ashikari M., Sakakibara H., Lin S., Yamamoto T., Takashi T., Nishimura A., Angeles ER., Qian Q., Kitano H., Matsuoka M.(2005) Cytokinin Oxidase Regulates Rice Grain Production. SCIENCE:309(29) 741-745



図1 観音台第4事業場内の「高機能隔離圃場」配置図

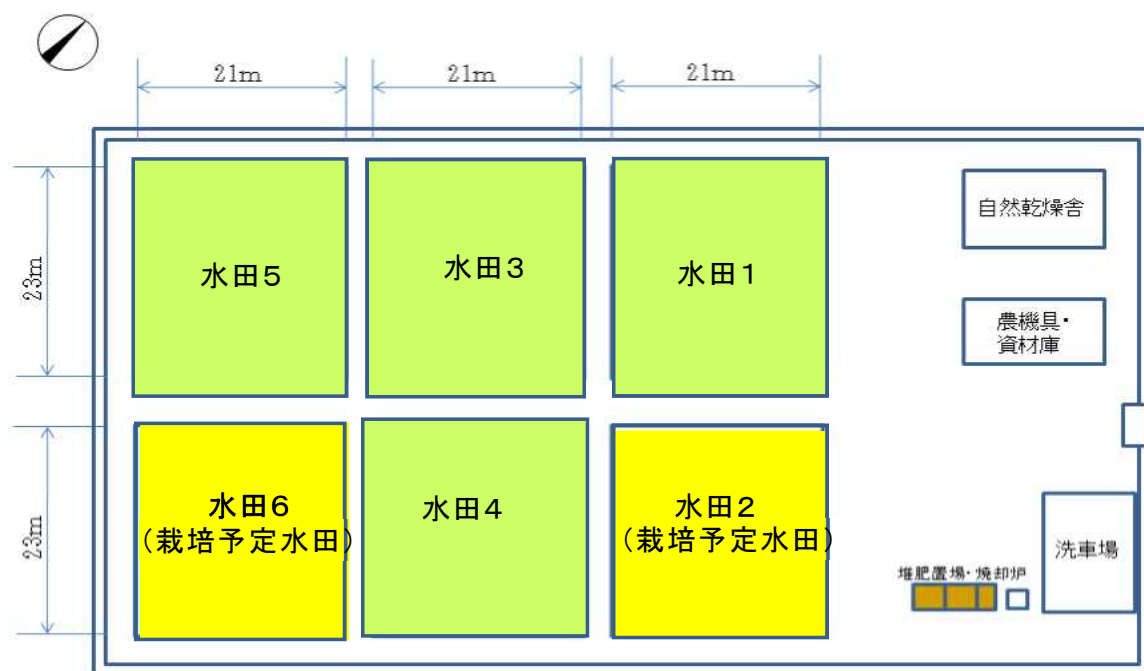


図2 観音台第4事業場高機能隔離圃場内の水田配置図

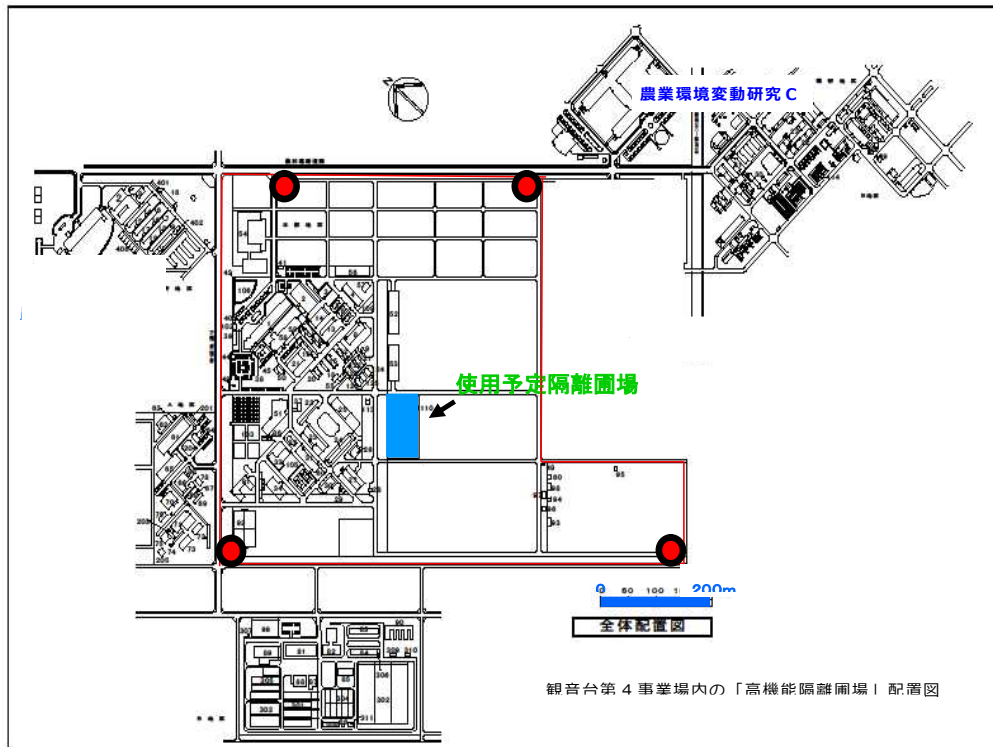


図3 「高機能隔離圃場」周辺の花粉飛散モニタリング用「モチミノリ」等の配置図
4ヵ所（赤い丸印）で花粉飛散モニタリング用モチ品種「モチミノリ」等を栽培します。