

欧米における新たな育種技術の開発・規制  
政策や開発動向等に関する調査業務報告書

平成26年3月

公益社団法人 農林水産・食品産業技術振興協会

# 目次

	ページ
1 欧米における新たな育種技術の開発・規制政策や開発動向等 に関する調査業務報告 . . . . .	1
資料 1 CRISPR-CAS に関する科学論文 . . . . .	19
資料 2 NBT により作成された植物に対する USDA-APHIS による審査結果 . . . . .	24
資料 3 欧米での訪問スケジュール . . . . .	27
資料 4 「新たな育種技術」シンポジウム . . . . .	29

## 欧米における新たな育種技術の開発・規制政策や開発動向等に関する調査業務報告

### 1 はじめに

本事業は、農林水産省が行った公募による「欧米における新たな育種技術の開発・規制政策や開発動向等に関する調査業務」を（公社）農林水産・食品産業技術振興協会が受託して実施した事業の経過及び結果をまとめたものである。

### 2 事業の背景及び目的

最近、遺伝子組換え技術をはじめとする各種先端技術を農林水産業の振興に積極的に活用しようとする動きが欧米で活発化している。とりわけ、遺伝子組換え技術の利用分野においては、育種段階において導入した外来遺伝子が作出した農作物等に最終的に残存しない育種技術や生物が元々有している遺伝子情報を人為的に操作・改良するいわゆるゲノム編集技術など、「新たな育種技術」の開発が急速に進んでいる。これらの技術を活用して、農林水産業にイノベーションをもたらす画期的な農作物等の開発が可能となりつつある。

このため、「攻めの農林水産業」を推進する一環として、農林水産物の新品種・新技術の開発・普及を加速化するとの方針の下、欧米における当該技術の開発・規制動向を本調査によりの確に把握することで、我が国における今後の研究開発・規制政策に活かすことを目的とする。また、先般、我が国からの提案により、OECD「バイオテクノロジー規制監督の調和に関するワーキンググループ」において当該技術に係る規制の国際的な調和を図るための検討が開始されたことから、本調査により得られた結果を基に当該ワーキンググループの検討を支援することも可能となる。

### 3 委託事業推進の実施方針および調査対象となる新たな育種技術の範囲

2011年5月に欧州委員会共同研究センター（JRC）が公表した「New plant breeding techniques: State-of-the-art and prospects for commercial development

(<http://ftp.jrc.es/EURdoc/JRC63971.pdf>)」に示された以下の8種類の育種技術（ただし、合成ゲノムを除く。）のように、農作物等の育種過程に遺伝子組換え技術を利用するものの、① 導入した外来の遺伝子が当該農作物等に残存しない育種技術、② 宿主ゲノムに突然変異を誘発するのみ（いわゆるナチュラルオカレンスやセルフクローニングに該当するもの）となるため慣行の育種方法で作出された農作物等と区別・識別することができない育種技術や、宿主と交雑可能な植物種の遺伝子を組換え技術で導入する等の新しい植物育種技術を調査対象とする。

（参考）欧州委員会共同研究センター（JRC）報告書に記載された技術

- ① ジンクフィンガー・ヌクレアーゼ（ZFN）技術（ZFN-1、ZFN-2、ZFN-3）
- ② オリゴヌクレオチド誘発型突然変異（ODM）
- ③ シスジェネシスとイントラジェネシス

- ④ RNA 依存性 DNA メチル化 (RdDM)
- ⑤ GM 台木への接ぎ木
- ⑥ 逆育種
- ⑦ アグロインフィルトレーション
- ⑧ 合成ゲノム

#### 4 委託事業推進の実施方針

##### (1) 国内の有識者による検討会の設置

下記(2)に示す調査の円滑な実施及び国内の研究開発政策や規制政策等に関する提案を目的として検討会を設置する。検討会を構成する委員は、上記育種技術に詳しい大学等や民間企業関係者等の有識者で構成し、7名以上とする。

##### (2) 調査の実施

###### 1) 関連情報の収集・分析

米国及び欧州における遺伝子組換え技術に係る研究開発政策や規制政策について、関連する学術論文や関係当局のウェブサイト情報等から、最新の情報を収集するとともに、上記3の新たな育種技術に関係する情報を特定した上で、同地域における研究開発政策や規制政策の検討状況を分析する。

また、JRC が公表した「New plant breeding techniques: State-of-the-art and prospects for commercial development」報告書や米国 USDA - APHISA の「Regulated letters inquiry ([http://www.aphis.usda.gov/biotechnology/reg\\_loi.shtml](http://www.aphis.usda.gov/biotechnology/reg_loi.shtml))」等を参考にして、民間バイオテック企業や大学等における新たな育種技術を用いた農作物等の開発動向を分析・考察する。これら情報収集の実施に関する調査内容や調査手法等については検討会の結果を基に具体的に決定し、調査を実施する。

###### 2) 海外調査の実施

①米国及び欧州の遺伝子組換え農作物等の研究開発当局、規制当局を訪問し、米国内および欧州域内の施策における新たな育種技術の位置づけや研究開発動向、規制のあり方に関する検討状況等を調査する。

・調査実施時期は平成25年11月～12月とし、期間は米国及び欧州各10日間程度とし、訪問機関は各6機関以上とする。

・調査を行う者は、上記検討会委員1名を含む3名以上とする。

・欧州域内では、オランダ王国のほか欧州委員会参加の加盟国等からドイツ、ベルギー等2カ国以上を選定し、調査を行う。

検討会の助言を基に調査候補国のほか、訪問候補機関となる各国の当局名を具体的に特定し、訪問スケジュール案等を作成する。また、別紙の調査項目を参考としながら具体的な調査を実施する。

②上記1)の調査に合わせて、米国及び欧州に拠点を持つ民間バイオテック企業や大学、民間団体等

を訪問し、新たな育種技術を用いた農作物等の開発状況等を調査し、今後の商業化の見通し等を分析する。このため、調査候補企業等の名称を具体的に特定し、訪問スケジュール案等を作成する。また、別紙の調査項目を参考としながら具体的な調査を実施する。

### (3) 新たな育種技術に関するシンポジウムの開催

上記(2)の海外調査の結果や、新たな育種技術を用いた研究開発動向等を広く紹介する事を目的とするシンポジウムを開催する。このため、平成26年1月までに以下の開催要領に沿った開催計画を作成し、農林水産技術会議事務局技術政策課に報告する。

#### 〔開催要領〕

- 1) 開催場所は東京23区内とする。
- 2) 開催時期は平成26年2月とする。
- 3) 参集範囲は国内の新たな育種技術を研究対象としている大学、独立行政法人の研究機関や民間企業の研究従事者およびカルタヘナ法に基づく生物多様性影響評価に関する部局に勤務する者とする。
- 4) 参集規模は200名程度とする。

## 5 事業の経過及び結果

### (1) NBT に関連する技術情報調査 (科学論文、特許と米国 USDA での審査情報)

#### 1) 網羅的な解析結果について

NBT の研究開発を進める際、規制政策や研究開発動向に加えて、関連する技術の科学論文の出版や特許の出願情報の調査も重要である。JRC は、NBT に関係した科学論文や特許出願について主として 2010 年までの公表分について網羅的に報告した。その共著者である Parisi 氏が、その後の 2012 年データを追加して学位論文にまとめて報告している。地域別では、科学論文では欧州から全体の 46% (オランダが最大)、米国から 32% が出され、組織としては公的機関から 81%、企業から 9% であり、他に両者の共同が 10% あった。一方、特許の出願に関しては米国から全出願数の 50%、欧州から 38% が出され、組織としては企業から 76%、公的機関から 20% 出願されている。

#### 2) 最近の技術開発情報

標的遺伝子に特異的な変異導入 (ゲノム編集) 技術はヒトゲノムの変異遺伝子の治療などの医療分野にも応用が可能のため、ZFN や Meganuclease を使って、各種の生物を対象とした研究開発結果が報告された。特に、2009 年以降には標的遺伝子に特異的な変異導入 (ゲノム編集) 技術について大きな進展があり、それらの技術分野の発表が激増した (TALE や CRISPR-Cas9)。植物分野でも同様な傾向があった。なお、ゲノム編集以外の NBT 関係の技術としては、cisgenesis/intragenesis および接ぎ木技術に関する科学論文の出版や特許の出願が比較的多く見られた。

最も新しいゲノム編集技術である CRISPR-Cas について科学論文の出版状況を調査した例を記載する。科学論文のデータベースである PubMed を使用し、Key word として「crispr/cas または crispr-cas」、植物については「plant」を追加して検索した結果は次の通りである。

	全生物	植物	植物ゲノム編集
2009-	13		
2010	16	1	
2011	30	3	
2012	62	3	
2013	165	13	11
2014	30	4	4

CRISPR-Cas9 に関しては微生物遺伝学の観点で 2005 年頃から科学論文が散見していたが、2010 年から論文数が急増し、ゲノム編集に関する研究結果が報告された。その間、植物に関しても植物への感染遺伝学に関する研究が報告され、2013 年以降になると植物でのゲノム編集の研究例が報告されるようになった (資料 1)。

なお、TALE、CRISPR-Cas9 などの新しい技術に関する特許出願は、一部の出願内容が判明しているものの、権利化状況の把握には年月を要するものと思われる。例えば、CRISPR-Cas9 に関しては下記の国際出願が見いだされる。

>Brounds & Oost., Wageningen Univ. (NL), WO/2013/098244

>Charpentier et al., Univ. of California (US)/Univ., of Vienna (AT), WO/2013/176772

### 3) 米国 USDA での審査状況

米国 USDA - APHIS からは、個々の開発ケースについての質問状と、それに対する UADS からの判断の結果が公表されている。

「Regulated letters inquiry ( [http://www.aphis.usda.gov/biotechnology/reg\\_loi.shtml](http://www.aphis.usda.gov/biotechnology/reg_loi.shtml))」このホームページには、2011年に4件、2012年に9件、2013年に2件が掲示されている(2014年2月28日時点、資料2)。そこから NBT に関係した技術(meganuclease、ZFN、null-segregant、cisgenesis/intragenesis)に関する USDA の審査結果を読むことができる。但し、これらは個別の質問への審査回答であり、当該技術への一般的な回答ではないことに留意する必要がある。

## (2) 訪問先および訪問機関について (資料3)

### 1) 訪問先の選定

事前に調査した情報を参考にし、NBT に関して活発に研究開発を行っている訪問先候補を選定した。また、欧州や米国において遺伝子組換え作物を監督する規制当局や研究開発当局を訪問し、NBT の規制のあり方、研究開発上の位置づけや開発動向に関する状況等について調査することとした。なお、米国については、農林水産省による別プロジェクトでの訪問先を考慮して選定した。

【農林水産省委託調査研究プロジェクト 「新たな遺伝子組換え生物にも対応できる生物多様性影響評価・管理技術の開発」(実施機関:(独)農業環境技術研究所)、訪問先:米国 USDA, FDA、民間団体=ASTA, CSPI、企業=Monsanto, DuPont】

### 2) 具体的な訪問先

#### a. 政府系機関の訪問先

- ・ 欧州: 欧州委員会 (DG-SANCO)、ドイツ農業省および Julius Kuhn 研究所、オランダ (COGEM)
- ・ 米国: 環境保護庁 (EPA)。

#### b. 民間団体、大手企業、研究開発ベンチャーおよび大学の訪問先は次の通り。

- ・ 欧州: 民間団体=EuropaBio および欧州種苗協会 (ESA)、大手種苗会社=Rijk Zwaan、研究開発ベンチャー=KeyGene、大学=Wageningen 大学。
- ・ 米国: 民間団体=CropLife International、大手企業=BASF、Bayer、Syngenta、研究開発ベンチャー=Cellectis、Precision、大学=Harvard Medical School。

訪問先の機関をセクター別に分類すると次のようになる。

	政府系機関	民間団体	大手企業	ベンチャー	大学
欧州	欧州委員会 DG-SANCO	欧州種苗協会 (ESA)	Rijk Zwaan	KeyGene	Wageningen 大学
	独・農務省	EuropaBio			
	独・JKI				
	オランダ COGEM				
米国	EPA	CropLife International	BASF	Cellectis	Harvard 大学
			Bayer	Precision	
			Syngenta		
別プロジェクト 調査(米国)	USDA	ASTA	DuPont		
	FDA	GSPI(NPO)	Monsanto		

なお、米国の大手企業である Dow AgroScience 社については、同社担当者の来日講演（2013 年 10 月 15 日、東京）を聴取し、また米国の CropLife International 訪問時に電話会議で NBT に関する見解を聴取している。

### 3) 訪問期間および訪問者の構成（訪問スケジュールは資料 3）

#### a. 欧州：2013 年 11 月 3 日～12 日

茨城大学農学部	教授	立川 雅司
（独）農業生物資源研究所	室長	田部井 豊
農研機構九州沖縄農業研究センター	上席研究員	桂 真昭
当協会イノベーション事業部	担当部長	戸栗 敏博

#### b. 米国：2013 年 12 月 1 日～10 日

茨城大学農学部	教授	立川 雅司
（独）農業生物資源研究所	主任研究員	雑賀 啓明
当協会イノベーション事業部	担当部長	戸栗 敏博

### （3）規制および研究開発動向の概要

#### 1) 規制動向の概要

##### ①欧州

- ・ EU では、欧州委員会での検討が滞っており、具体的な進展は、2015 年以降になる見通し。
- ・ GM 規制だけでなく、新規食品規則との重層的な規制が検討されている。

##### ②米国

- ・ アメリカにおいては、規制 3 省庁（USDA-APHIS、FDA および EPA）のいずれも、基本的にケースバイケースでの判断を行う方針。
- ・ USDA（規制根拠：Plant Pest）からは、NBT 関連製品に関して、すでにいくつかの判断が示されている。

- ・FDA も含めて、製品の安全性確保は企業責任とされており、外来遺伝子の残存がないよう確保することも企業に委ねられている。開発者や企業は、自己防衛のためにも、政府に意見を求めている状況。

## 2) 研究開発動向の概要

### ①欧州

- ・オランダで cisgenesis や reverse breeding が開発され、応用を目指している。cisgenesis は、果樹などの栄養繁殖系の作物の育種で育種年限を格段に短縮し、野生遺伝資源に存在する遺伝子の利用にも適用できる。一方 reverse breeding は、染色体置換を利用した育種研究の将来的な発展の可能性を示す。

### ②米国

- ・ベンチャー企業や大学等の多数の機関が競って標的遺伝子特異的な変異導入技術の開発競争を繰り広げている。当初は遺伝子治療が主目的であったが、最近では作物への応用について大きな注目を集めている。

- ・標的遺伝子特異的な変異導入技術は、GM 作物の作成方法の改良方法としても、GM 遺伝子の導入箇所を集中させる stacking による系統の作成などへの応用が注目される。

- ・他の技術では cisgenesis (intragenesis) と RNAi が注目された。

#### (4) 個別の訪問先機関での調査結果のポイント

##### 1) 欧州

###### ① 欧州委員会 健康・消費者保護総局 (DG-SANCO)

・2013年8月にNBTの担当者が異動して以降、後任が未定の状態にあり、実質的な作業が進んでいない状況(ただし、NBTの技術毎に指令の法令解釈上の位置づけに関する総局内での検討は継続)。

・法的解釈についてガイダンス文書を出すかどうか、また将来的にもプロセスベースでの政策が適用されるかどうか不明。

・null-segregant は非GMであるので証明方法を指定する必要はない。

###### ② ドイツ農業省および同省バイオセイフティー委員会 (ZKBS)

・外来遺伝子の断片が残った場合の取り扱いについて、数bpでも外来遺伝子断片が残っていれば法律違反になる。断片であれば機能しないから問題にならないということではない。

・null-segregant の確認について、基本的には申請者が証明しなければならない。サザンブロットで十分だとは思いますが小さい断片は見つからない。そのため、シークエンサーで全ゲノムをチェックすることを推薦した。この方法は行き過ぎと考えるかもしれないが、申請者企業が商品化した後で、外来DNA断片が見つかった後の損害を考えれば、自己防衛するためには無駄ではないだろう。

・GM台木から得られた果実の扱いに関しては、EUではGM食品飼料規則のGMOの定義は、環境放出指令を参照するということになっているので、規則と指令でGMOの定義がずれることはない。従って台木はGMであるが、それから得られた果実は、非GMとして扱われるだろう。

###### ③ ドイツ Julius Kuhn 研究所内のバイオセイフティー研究所

・NBTの技術的な判断は既にクリアーになっている。

・基本的にtransgeneを含まなければ、非GMと見なすべき。

・EFSA(欧州食品安全機関)に対して欧州委員会はすべての技術に関して検討することを要請した。しかし、現在までのところ2つのレポートしか公表されていない。

・self-cloningはドイツでは微生物を想定して使用する。しかし、文書中には「similarity of self-cloning」という表現を用いることがあり、この場合には植物も含むというのがEFSAの見解。

・ジャガイモの野生種との交雑は自然に起こらないので、cisgenesisと言えないという見解もある。

###### ④ オランダ COGEM (遺伝子組換えに関する助言機関)

・既に出すべき報告書は出しており、欧州委員会の決定を待っている状況。当面、NBTに関して具体的な検討予定はない。

・基本的にNTWGでの多数派意見と同じ考え方。

・法的解釈が含まれていないので規制上の判断はこの報告書ではできない。

- ・ **off-target mutation** もケミカルや放射線誘導による人為突然変異と同様であり、人為突然変異処理では ODM より大きな変異が生じる。

- ・ **cisgenesis** の場合には、基本的に慣行育種と同等のリスクであるが、コンセンサスを得るのは **reverse breeding** や ODM より難しいだろう。

#### ⑤ EuropaBio（化学系大企業の民間団体）

- ・ NBT に対するポジションペーパーを EuropaBio としては公表していない。その主な理由は、NTWG のレポートはインフォーマルなものであり公式に発表されたものではないこと。意見を表明するとすればとしては ESA や CropLife International と同様であり、それらの内容を支持する。

- ・ 新規食品規則との関連性について、新しい改訂案の中で NBT 由来の食品を新規食品規則として規制するという規程が盛り込まれる可能性がある。（NBT が非 GM とされた場合、新規食品規則でカバーするという案）。

- ・ オーストラリア、ニュージーランドが規制検討上のトップランナー。次いでアルゼンチン、米国といった状況。

#### ⑥ 欧州種苗協会（European Seed Association）

- ・ 現在の欧州委員の任期中には何も起きないだろう。2014 年 11 月に新しい欧州委員が就任し、最速で 2015 年半ばに何らかの発表がなされるものと考えられる。OECD の議論も長くかかるので、2015 年までは何も大きな動きはないだろう。従って、企業にとっては法的な曖昧さがしばらく続くことになる。

- ・ 法的な側面も重要だが、技術的な面からもゴールを示して政策を動かしていく必要がある。

- ・ NBT が GM と見なされれば、技術がアメリカや南米など EU 外へ流出する。

- ・ **Cisgenesis** を GM から外すためには、指令の **Appendix** を改訂しなければならない。この作業はほとんど不可能で、より厳しくなる恐れもあるため規制改訂を望んでいない。ESA としては、**cisgenesis** は GM と認めざるを得ず、NBT の 8 つの技術のうち 6 種類が非 GM として認められれば良い。

#### ⑦ Rijk Zwaan（大手種苗会社）

- ・ GM を開発しないのは **pragmatic decision** であり、**principle objection**（GM に対する原理的反対）ではない。野菜の市場は GM には小さすぎる。

- ・ NBT に関しては、もしも GM と見なすことになれば商業的見通しは厳しくなる。

- ・ **reverse breeding** はエリートラインから始め、これを再生することができる。慣行育種は最終製品がエリートラインである。トマトなどでは初期分離世代で確実にエリート個体を識別できるため、染色体一本毎に非常に厳密な育種が可能になる。

- ・ EU では **cisgenesis** が論争的になっている。

- ・ CMS は細胞質の融合（**cytoplasmic cell fusion**）によって作出されたもの。現行規制では GMO であるが規制対象から除外（**exempt**）されている。

## ⑧ KeyGene (植物分野のベンチャー企業)

- ・ GM 研究だけでなく非 GM 技術も開発している。その理由は、GM は開発費用が高価で \$ 20~100M もかかるので野菜などにはコストが高すぎ、社会的反対が強いためである。
- ・ 開発投資の選択的集中を行い、当該分野でのトップになるために、molecular breeding 分野に集中。アブラムシ耐性レタスや日持ちのよいキュウリなどを開発。多数の商品に KeyGene の技術が生かされている。
- ・ ODM に関しては、KeyBase という商品名で扱っており、導入効率の問題は急速に改善しつつある。また、導入した DNA は 24~48 時間後には細胞内から完全に消失している。
- ・ 外来遺伝子がゲノム内に存在していなければ GMO ではない (ODM は非 GM と考える)。

## ⑨ Wageningen 大学

- ・ 欧州委員会は指令の定義のみを見て、そこから判断を行いたいと考えている。現在は加盟国と定義をめぐって意見交換している。
- ・ カルタヘナ議定書での LMO の定義は、Process と Product の 2 つの側面がある。「novel combination of genetic material … Result (product)」、「use of modern biotechnology … Process」。この 2 つの条件が満たされた場合を LMO と考えるとするならば、cisgenesis は、後者の条件は満たしているが、前者の条件は満たしておらず LMO といえない。
- ・ Cisgenesis を GM 規制から外す提起をした時、2 つのグループから反対があった。
- ・ 耐病性リンゴの cisgenesis を適用した経過について、1912 年に Scab 抵抗性のリンゴが見つかったが、果実が豆のように小さかった。抵抗性育種を続け、他の不良形質 (genetic drag) を改善するために 80 年かかった。しかし、残念ながら、この抵抗性品種も既に地域のよっては罹病し始めている。そのための解決策として、cisgenesis が用いられた。

## 2) 米国

### ① 環境保護庁 (Office of Pesticide Program, Environmental Protection Agency)

- ・ Coordinated Framework による 3 省庁の分担のもとで GMO を規制。
- ・ EPA は農薬規制に依拠して規制している。
- ・ (農薬としての) RNAi に対する規制について、当初、2013 年 10 月に開催する予定であった会合が 2014 年 1 月に延期された。Science Advisory Panel (SAP) において農薬としての RNAi を検討しており、そのためのパブリック・ミーティングとして開催される。農薬としての RNAi に関しては、すでに申請があり、Experimental Use Permit の認可を出している。
- ・ ZFN と RNAi に関しては、企業からも情報提供を受けたが、EPA の基本的な立場は、技術を規制対象にするのではなく、プロダクトをケースバイケースで見るという立場。
- ・ EU では 20bp 以下は見なくても良いといった議論がなされているが、恣意的と感じる。1bp の変更であっても、理論的には PIP (plant incorporated protectants) を発現する可能性がある。この場合には EPA の規制対象となる。

- ・ cisgenesis を PIP 登録から免除する提案については、その後、進捗していない。その理由は、予算やリソースがないため。

#### ② CropLife International (大手企業による民間団体)

- ・ 米国では USDA が NBT に関する議論を行っている。NBT の手法は今後も続々と登場すると考えられる。従って、この問題に対する長期的な解決策を検討する良い機会である。

- ・ USDA ではケースバイケースでの決定を行っているが、完全に明確ではない。より透明性や予測可能性を求める必要がある。Industry Guidance などを出すことも一案か。

- ・ CropLife International による NBT に対する Position Statement を改訂準備中。(2014 年 1 月にホームページ上に掲載)。 <http://www.croplife.org/Resources>

- ・ NBT が大企業の研究開発だけと結びつくと、GM と同じ図式になり非常に問題が生じるだろう。大学などのアカデミックや中小企業によっても NBT が利用できる状況にしておくことが必要。

#### ③ Bayer Crop Science

- ・ 標的遺伝子に特異的な変異導入技術 (targeted genome engineering) は、新しい育種形質素材の作成のために重要である。これらの技術が規制されないことが重要。

- ・ ワタへの Meganuclease を用いた新たな遺伝子導入 (stacking) の研究論文が、今年の 6 月に掲載された。狙った場所に正確に stacking できる技術を実証した論文として貴重。導入効率も向上するという効果を有している。バッククロスを行っても分離する確率が低くなり、育種スピード・コストを低く抑えることができる。デザインも容易となり導入部位もクリーンである。新しい遺伝子を探すことと共に、適切な導入部位を探すことも重要。特に商業化を目指す場合には re-target の技術は重要である。

- ・ CRISPR-Cas に関する発表が急増し、非常に革命的な技術である。

- ・ NBT は野菜においては有益な手法。現在は、マーカー育種を多く用いている。

#### ④ BASF Plant Science

- ・ トウモロコシ、大豆、イネに重点をおいて研究。標的形質は、収量増加、ストレス耐性、除草剤耐性、カビ耐性など。遺伝子や関連技術を他社に販売している。

- ・ 野菜はニッチ市場であるので GM では開発不可能。GM 開発は時間と費用がかかる。

- ・ NBT は重要な育種技術であり、各技術による産物はケースバイケースで判断されるべき。

- ・ 国家間の規制の調和が必要であり、過度な規制は避けるべき。

- ・ 慣行育種から作出されるものと区別できない。科学的論拠に基づいた規制や透明性、予測可能性が必要。

- ・ APHIS(Animal and Plant Health Inspection Service)に対しては継続的に照会することが必要。新しい実験や試験を行うたびに USDA に対しては照会を行うことになるだろう。(常にケースバイケース)

#### ⑤ Syngenta Biotechnology

- ・ トウモロコシ、ワタ、大豆、サトウキビ、カノーラなどを重点としてビジネスを行って

いる。NBT に関しても、これらの作物に応用していくことになると考えられる。さらにニッチ作物にも適用できるだろう。

- ・ ゲノム編集に関する 4 つの手法 (Meganuclease, ZFN, TALE, CRISPR-Cas9) に関して比較評価している。
- ・ TALE は *Xanthomonas* 由来のものを一部に利用しており、plant pest 規制対象の可能性はある。一方、CRISPR は植物病原体由来ではない。

#### ⑥ Precision Biosciences

- ・ インフォーマティクスと過去の実験例をデータ・ライブラリーとして蓄積し、新規の meganuclease をデザインし動物細胞で一次評価し、その後のプロセスは外部のパートナー企業と動植物で試験する。
- ・ 主要な対象は遺伝子治療が目的であり、農業への応用は今後に発展する課題である。
- ・ 現在は 50bp に 1 か所の頻度で導入でき、5 週間で 1 次評価までできる。
- ・ 植物ではトウモロコシ、ダイズ、イネ、タバコ、アラビドプシス、ペチュニア、ワタ、ソルガムで実験例がある
- ・ Pioneer と共同で実施した SPT は第 1 世代の技術であった。昨年、染色体中の恒常的高発現部位に導入する技術について、10 の遺伝子を集積し導入する実施例を含めて特許を出願した。
- ・ 19 の特許が成立した。日本企業へのライセンスが可能。

#### ⑦ Collectis Plant Science

- ・ meganuclease 技術について USDA に質問した経験がある。Dow は ZFN 技術について USDA に相談したが同じ結論を得ており、USDA は標的遺伝子が欠失した個体 (SDN-1) は規制を受けないという基本的な考えを持った模様。但し、個々の申請の内容に応じて、case by case で判断する。
- ・ TALE は *Xanthomonas* 属の細菌由来であり、米国の植物病害リストに記載されている。しかし、TALE は、植物の hypertrophy (細胞、組織の肥大) や過敏反応に必要な NLS (核移行シグナル) や AAD (転写活性化因子) を削り植物病害性を失っており、pathogenic ではない。
- ・ 日本企業にも TALEN 特許のライセンスが可能である。

#### ⑧ Harvard Medical School

- ・ CRISPR-Cas9 の毒性に関しては、(ヒト以外の系での検討も必要であり) 恒常的に大量発現させた場合は毒性を示す懸念がある。
- ・ Spacer 配列を長くしても DNA 認識の特異性が上がるわけではない。Off-target を防ぐための 1 つの方法は nickase を用いることである (変異型 Cas9)。
- ・ Cas9 は他の人工ヌクレアーゼに比べて使いやすのが特徴。他の人工ヌクレアーゼについては、ZFN は変異導入の正確性が高いと思うし、変異型 Meganuclease もタンパク工学による改良がなされたようだ。

- ・ GC 含量が高い spacer は類似の別の配列とミスマッチを起こしやすいため、あまりよくない。また、ゲノム DNA のメチル化に Cas9 のヌクレアーゼ切断活性は影響されない。標的にできると予測される（ヒトゲノム中の）エクソンの割合は、現時点ではほぼ 100%になっている。
- ・ 植物で効率よく標的配列を切断したいとき、Cas9 や guide RNA を大量に発現させることが一つの方法となりうる。

(5) 特許出願およびライセンス状況の概要

商業的に特許を使用できるかどうかは、特許の成立状況や、侵害が疑われる場合の裁判での判決結果を待たなければならない。鍵となると思われる特許の権利者である企業からのライセンス供与情報が各社のホームページ上で公表されており、特許権を利用する場合の参考情報となる。それに加えて今回の訪問においても各社から意見が表明された。なお、Meganuclease については裁判での係争が続いてきたが、当事者企業間で和解が進んでいる。

技術名	ライセンス権者	製品名	関係者からのコメント	第3者機関からのコメント
ODM	Cibus Co. (US)	RTDS	ナタネで商業化を目指した実施例あり。細胞培養技術が必要。	技術的に限界があり、変異の導入効率も悪い。
	KeyGene (オランダ)	KeyBase	Keygene：ライセンス可能。プロトプラストに導入し効率も上がってきた。非組換え技術である。多数の作物に適用可能。	
ZFN	Sangamo (US) から Dow が作物での独占実施権を得る	EXZACT	—	正確な編集が可能。適用遺伝子の範囲に限界。作成に時間がかかる。毒性があるが改善されてきたようだ。
Mega-nuclease	Collectis (フランス)		Collectis：大手企業との共同研究中。特許係争は2014年1月30日付けで一部の技術について Precision社と和解。	実施例が増えている。Meganucleaseのデザイン各社では難しい。技術の評価は分かれる。
	Precision B. S. (US)	DNE	Precision：ライセンス可能。大手企業との共同研究中。	
TALEN	Collectis (フランス)		Collectis：ライセンス可能。大手企業と共同研究中。Off-target低い。	Two BladesとCollectisの権利は共存
	Two Blades F. (US)		Two Blades (メー)：技術・作物別のライセンス可能。改良発明のグラントバックが必要。10社に許諾済。	
Cis-genesis	Wageningen U. (NL)		Wageningen Univ.：EFSAも食品上の安全性を報告。非GMと考える。	GMである。技術は評価できる。
Intra-genesis	Simplot Co. (US)	Innate	—	
CRISPR-Cas9	不明		Harvard Univ.：急速に技術改良が進んでいる (off-targetなどを改良中)。最も操作が容易。ヒトの全exonをカバーできる可能性がある。	発表が急増しており、新進の技術として期待。特許権の帰属は現段階では予想が困難。

## (6) シンポジウムの開催

新たな育種技術に関するシンポジウムを下記の要領で開催した。

- 1) 日時： 2014年2月28日 13時～17時
- 2) 会場： 発明会館 地下ホール（東京都港区虎ノ門2-9-14）
- 3) シンポジウムの内容： （開催案内は資料4）
  - ・「欧米における新たな育種技術の開発・規制政策や開発動向等に関する調査」の結果の報告
  - ・国内においてNBTを用いた研究開発活動についての紹介
- 4) 参加者： 国内でNBT技術を研究対象とする大学、独立行政法人の研究機関や民間企業の研究従事者及びカルタヘナ法に基づく生物多様性影響評価に関係する部局に勤務する者から学会等のホームページや関係者への直接の連絡により参加者を募った。当日の参加者数は、講演者や事務局を含めて約130名であった。（講演要旨は資料5）



## 6 国内の研究開発政策や規制政策等に関する提案

検討会において国内の研究開発政策や規制政策等に関して意見交換を行い、農林水産技術会議事務局技術政策課への提案として下記のように取りまとめた。

- ① 技術情報の発信： 「新しい植物育種技術（NBT）」\*には、ゲノム編集技術のように目的とする変異作成の正確性や育種の効率化が期待される技術がある。また、null-segregant\*\*の利用や遺伝的形質転換の別形のように、画期的な効果が期待できる技術等も含まれている。それらの新しい技術に関して、育種関係者等の専門家へ継続的に情報発信することを期待する。
- ② null-segregant： 我が国として null-segregant の扱いについて方針を早急に定めるべきである。
- ③ リスク管理： NBT の研究開発や利用機関からは、規制はプロダクト毎のリスクの大きさに見合ったものであるべきとの意見がある。本検討会は、科学的な知見に基づいてプロダクト毎のリスクベースの規制を行うべきと考える。
- ④ 国産NBT技術の開発： 画期的な新品種を作るために国産NBT技術の開発を推進し、併せて知財戦略も検討すべきである。
- ⑤ 社会への情報発信： NBT に関して一般社会にも、わかりやすく正確な情報発信を進める活動が必要である。
- ⑥ 海外との情報共有： 欧米を含めて海外での研究開発や規制動向の調査を引き続き行うことが必要である。

\* 新しい植物育種技術：この報告書ではNBTと省略し表現している。大別すると、ゲノム編集技術、null-segregantの利用、遺伝的形質転換の別形（GM台木や intragenesis の利用など）の3つの技術カテゴリーに分けられる。

\*\* null-segregant：育種の初期過程で一過的に組換え遺伝子を導入することにより、雄性不稔個体の効率的作出や果樹の育種年限の短縮等を行い、その後代で組換え遺伝子を含まない植物個体を選抜して使用する技術分野がある。ここでは、後代での組換え遺伝子を含まない植物個体のことを示す。

## 7 検討会

### (1) 検討会の設置について

本事業の実施に当たって、指導・助言をいただくために、以下のメンバーからなる検討会を設置した。

検討会委員名簿（敬称略）：

筑波大学生命環境系教授	大澤 良（座長）
筑波大学生命環境系教授	鎌田 博
茨城大学農学部教授	立川 雅司
宮城大学食産業学部教授	三石 誠司
広島大学理学部教授	山本 卓
岩手大学農学部教授	吉川 信幸
農研機構 食品総合研究所 GMO 検知解析ユニット長	橘田 和美
（独）農業生物資源研究所遺伝子組換え研究推進室長	田部井 豊
（独）農業生物資源研究所ゲノム機能改変ユニット長	土岐 精一
（株）サカタのタネ研究本部長	加々美 勉
タキイ種苗（株）茨城研究農場長	山本 正美

### (2) 検討会の開催状況

#### 1) 第1回検討会

日時： 平成 25 年 8 月 29 日（木）13 時～15 時 30 分

場所： 三会堂ビル 2 階 S 会議室

概要：

- ・本事業の仕様書および提案書の説明を事業者が行った。
- ・海外調査の訪問先について、各委員から来日して講演をする計画の情報や訪問先があった。
- ・農水省の別プロジェクトでの訪問先（特に米国の官庁関係）を含めて、監督官庁を訪問する際のヒアリングのポイントについて指摘があった。特に、欧州の規制について欧州委員会でのガイドラインなどの作成スケジュールについては重要なポイントである。
- ・特許権利関係やライセンス情報を可能な範囲でヒアリングすることへの要望があった。

#### 2) 第2回検討会

日時： 平成 25 年 12 月 26 日（木）13 時～15 時 30 分

場所： 三会堂ビル 2 階 S 会議室

概要：

- ・農水省から諸外国での検討状況の説明。

- ・ 事業者から欧米調査の実施結果の概要を報告。
- ・ 欧州については cisgenesis についての議論の内容、有機団体の動向について質疑があった。
- ・ 米国においても、食品での安全性評価については欧州と同様に、新規食品の考えが考慮されるとの指摘があった。
- ・ meganuclease の技術評価について質疑があった。
- ・ 中国での NBT 研究開発の評価の必要性について意見があった。
- ・ 今後日本発で開発が期待される技術、新しい育種と突然変異体の選抜について意見交換があった。
- ・ シンポジウムの周知方法と技術全体の解説の講演を追加する点の指摘があり、変更した。

### 3) 第3回検討会

日時： 平成 26 年度 3 月 7 日（木）13 時 30 分～16 時

場所： 共同通信会館 5 階 B 会議室

#### 概要

- ・ シンポジウムの開催報告（開催概要と主な質疑）。
- ・ 報告書（案）について説明（構成、調査業務報告および検討会からの提言について）。
- ・ 訪問時に入手した情報の管理について指摘があった。
- ・ 検討会としての提言内容に関して意見交換があった。

# 資料一覧

- 資料 1 CRISPR-Cas に関する科学論文
- 5
- 資料 2 NBT により作成された植物に対する USDA-APHIS による審査結果
- 資料 3 欧米での訪問スケジュール
- 10 資料 4 「新たな育種技術」シンポジウム

## 資料 1 CRISPR-Cas に関する科学論文

## CRISPR-Cas9 に関する科学論文の検索について

CRISPR-Cas9 に関する研究は、最近になって急速に進んでおり、JRC やその共著者の一人である Parisi (2012) らの網羅的な文献解析の時には含まれていなかった技術である。その技術に関する論文の発表状況の概要を把握するため、科学論文に関する代表的なデータベースである「PubMed」を使用して検索をした。

ここで、検索用のキーワードとして、全生物を対象とする場合は「crispr-cas」、植物を対象とする場合は「crispr-cas, plant」とした。

検索したサイトは次のようになる。

全生物 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=CRISPR-Cas>

植物 <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=CRISPR-Cas+plant>

なお、植物でのゲノム編集に関する個々の論文については、3月7日時点での17報のリストを次ページに記載した（番号1～17が植物ゲノム編集技術、18は微生物遺伝学で対象範囲外）。

PubMed  

Display Settings:  Summary, 20 per page, Sorted by Recently Added

## Results: 1 to 20 of 24

- [Multigeneration analysis reveals the inheritance, specificity, and patterns of CRISPR/Cas-induced gene modifications in Arabidopsis.](#)  
 1. Feng Z, Mao Y, Xu N, Zhang B, Wei P, Yang DL, Wang Z, Zhang Z, Zheng R, Yang L, Zeng L, Liu X, Zhu JK.  
 Proc Natl Acad Sci U S A. 2014 Feb 18. [Epub ahead of print]  
 PMID: 24550464 [PubMed - as supplied by publisher]
- [Precision genetic modifications: a new era in molecular biology and crop improvement.](#)  
 2. Fichtner F, Urrea Castellanos R, Ulker B.  
 Planta. 2014 Feb 8. [Epub ahead of print]  
 PMID: 24510124 [PubMed - as supplied by publisher]
- [Cas-OFFinder: a fast and versatile algorithm that searches for potential off-target sites of Cas9 RNA-guided endonucleases.](#)  
 3. Bae S, Park J, Kim JS.  
 Bioinformatics. 2014 Feb 17. [Epub ahead of print]  
 PMID: 24463181 [PubMed - as supplied by publisher] **Free Article**
- [CasOT: a genome-wide Cas9/gRNA off-target searching tool.](#)  
 4. Xiao A, Cheng Z, Kong L, Zhu Z, Lin S, Gao G, Zhang B.  
 Bioinformatics. 2014 Jan 21. [Epub ahead of print]  
 PMID: 24389662 [PubMed - as supplied by publisher]
- [Gene targeting in plants: 25 years later.](#)  
 5. Puchta H, Fauser F.  
 Int J Dev Biol. 2013;57(6-8):629-37. doi: 10.1387/ijdb.130194hp.  
 PMID: 24166445 [PubMed - in process]
- [The CRISPR/Cas system mediates efficient genome engineering in Bombyx mori.](#)  
 6. Wang Y, Li Z, Xu J, Zeng B, Ling L, You L, Chen Y, Huang Y, Tan A.  
 Cell Res. 2013 Dec;23(12):1414-6. doi: 10.1038/cr.2013.146. Epub 2013 Oct 29. No abstract available.  
 PMID: 24165890 [PubMed - in process]
- [RNA-guided genome editing for target gene mutations in wheat.](#)  
 7. Upadhyay SK, Kumar J, Alok A, Tuli R.  
 G3 (Bethesda). 2013 Dec 9;3(12):2233-8. doi: 10.1534/g3.113.008847.  
 PMID: 24122057 [PubMed - in process] **Free PMC Article**
- [Synthetic nucleases for genome engineering in plants: prospects for a bright future.](#)  
 8. Puchta H, Fauser F.  
 Plant J. 2013 Oct 1. doi: 10.1111/tpj.12338. [Epub ahead of print]  
 PMID: 24112784 [PubMed - as supplied by publisher]
-

9. Plant genome editing made easy: targeted mutagenesis in model and crop plants using the CRISPR/Cas system.  
Belhaj K, Chaparro-Garcia A, Kamoun S, Nekrasov V.  
*Plant Methods*. 2013 Oct 11;9(1):39. doi: 10.1186/1746-4811-9-39.  
PMID: 24112467 [PubMed] Free PMC Article
- Targeted mutagenesis in rice using CRISPR-Cas system.
10. Miao J, Guo D, Zhang J, Huang Q, Qin G, Zhang X, Wan J, Gu H, Qu LJ.  
*Cell Res*. 2013 Oct;23(10):1233-6. doi: 10.1038/cr.2013.123. Epub 2013 Sep 3. No abstract available.  
PMID: 23999856 [PubMed - in process] Free PMC Article
- Demonstration of CRISPR/Cas9/sqRNA-mediated targeted gene modification in Arabidopsis, tobacco, sorghum and rice.
11. Jiang W, Zhou H, Bi H, Fromm M, Yang B, Weeks DP.  
*Nucleic Acids Res*. 2013 Nov 1;41(20):e188. doi: 10.1093/nar/gkt780. Epub 2013 Sep 2.  
PMID: 23999092 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article
- Application of the CRISPR-Cas system for efficient genome engineering in plants.
12. Mao Y, Zhang H, Xu N, Zhang B, Gou F, Zhu JK.  
*Mol Plant*. 2013 Nov;6(6):2008-11. doi: 10.1093/mp/sst121. Epub 2013 Aug 22. No abstract available.  
PMID: 23963532 [PubMed - in process]
- Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system.
13. Feng Z, Zhang B, Ding W, Liu X, Yang DL, Wei P, Cao F, Zhu S, Zhang F, Mao Y, Zhu JK.  
*Cell Res*. 2013 Oct;23(10):1229-32. doi: 10.1038/cr.2013.114. Epub 2013 Aug 20. No abstract available.  
PMID: 23958582 [PubMed - in process] Free PMC Article
- RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system.
14. Xie K, Yang Y.  
*Mol Plant*. 2013 Nov;6(6):1975-83. doi: 10.1093/mp/sst119. Epub 2013 Aug 17.  
PMID: 23956122 [PubMed - in process]
- Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system.
15. Shan Q, Wang Y, Li J, Zhang Y, Chen K, Liang Z, Zhang K, Liu J, Xi JJ, Qiu JL, Gao C.  
*Nat Biotechnol*. 2013 Aug;31(8):686-8. doi: 10.1038/nbt.2650. No abstract available.  
PMID: 23929338 [PubMed - in process]
- Cytotoxic chromosomal targeting by CRISPR/Cas systems can reshape bacterial genomes and expel or remodel pathogenicity islands.
16. Vercoe RB, Chang JT, Dy RL, Taylor C, Gristwood T, Clulow JS, Richter C, Przybilski R, Pitman AR, Fineran PC.  
*PLoS Genet*. 2013 Apr;9(4):e1003454. doi: 10.1371/journal.pgen.1003454. Epub 2013 Apr 18.  
PMID: 23637624 [PubMed - in process] Free PMC Article
- The CRISPR system--keeping zebrafish gene targeting fresh.
17. Blackburn PR, Campbell JM, Clark KJ, Ekker SC.  
*Zebrafish*. 2013 Mar;10(1):116-8. doi: 10.1089/zeb.2013.9999. Epub 2013 Mar 28. Review.  
PMID: 23536990 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- Mobile CRISPR/Cas-mediated bacteriophage resistance in Lactococcus lactis.
18. Millen AM, Horvath P, Boyaval P, Romero DA.

PLoS One. 2012;7(12):e51663. doi: 10.1371/journal.pone.0051663. Epub 2012 Dec 11.  
PMID: 23240053 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article

In vivo protein interactions and complex formation in the *Pectobacterium atrosepticum* subtype I-F  
19. CRISPR/Cas System.

Richter C, Gristwood T, Clulow JS, Fineran PC.

PLoS One. 2012;7(12):e49549. doi: 10.1371/journal.pone.0049549. Epub 2012 Dec 3.

PMID: 23226499 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article

Advances in bacteriophage-mediated control of plant pathogens.

20. Frampton RA, Pitman AR, Fineran PC.

Int J Microbiol. 2012;2012:326452. doi: 10.1155/2012/326452. Epub 2012 Aug 13.

PMID: 22934116 [PubMed] Free PMC Article

PubMed  

Display Settings:  Summary, 20 per page, Sorted by Recently Added

### Results: 21 to 24 of 24

- [CRISPR-Cas systems in bacteria and archaea: versatile small RNAs for adaptive defense and regulation.](#)  
21. Bhaya D, Davison M, Barrangou R.  
Annu Rev Genet. 2011;45:273-97. doi: 10.1146/annurev-genet-110410-132430. Review.  
PMID: 22060043 [PubMed - indexed for MEDLINE]
- [Csy4 is responsible for CRISPR RNA processing in Pectobacterium atrosepticum.](#)  
22. Przybilski R, Richter C, Gristwood T, Clulow JS, Vercoe RB, Fineran PC.  
RNA Biol. 2011 May-Jun;8(3):517-28. Epub 2011 May 1.  
PMID: 21519197 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free Article
- [Diversity, evolution, and functionality of clustered regularly interspaced short palindromic repeat \(CRISPR\) regions in the fire blight pathogen Erwinia amylovora.](#)  
23. Rezzonico F, Smits TH, Duffy B.  
Appl Environ Microbiol. 2011 Jun;77(11):3819-29. doi: 10.1128/AEM.00177-11. Epub 2011 Apr 1.  
PMID: 21460108 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article
- [Pyrosequencing-based comparative genome analysis of the nosocomial pathogen Enterococcus faecium and identification of a large transferable pathogenicity island.](#)  
24. van Schaik W, Top J, Riley DR, Boekhorst J, Vrijenhoek JE, Schapendonk CM, Hendrickx AP, Nijman IJ, Bonten MJ, Tettelin H, Willems RJ.  
BMC Genomics. 2010 Apr 14;11:239. doi: 10.1186/1471-2164-11-239.  
PMID: 20398277 [PubMed - indexed for MEDLINE] Free PMC Article

資料 2 NBT により作成された植物に対する  
USDA-APHIS による審査結果



[Home](#) | [About APHIS](#) | [Newsroom](#) | [Career Opportunities](#) | [Help](#) | [Contact Us](#)

A<sup>+</sup> A<sup>+</sup>

Search APHIS



Browse by Audience

Select an Option

Browse by Subject

- ▶ [Animal Health](#)
- ▶ [Animal Welfare](#)
- ▶ [Biotechnology](#)
- ▶ [Emergency Preparedness and Response](#)
- ▶ [Import and Export](#)
- ▶ [International Services](#)
- ▶ [Permits](#)
- ▶ [Plant Health](#)
- ▶ [Regulations and Assessments](#)
- ▶ [User Fees](#)
- ▶ [Wildlife Damage Management](#)

You are here: [Home](#) > [Biotechnology](#) > [BRS](#) > [Regulations](#) > [Am I Regulated?](#)

## Biotechnology

### Regulated Letters of Inquiry

#### March 21, 2013

APHIS responded to an inquiry from BioGlow LLC regarding the regulatory status of genetically engineered (GE) plant lines produced without plant pest sequences.

[BioGlow LLC: Inquiry on Regulatory Status of GE Plants Produced Without Plant Pest Sequences](#)

[APHIS BRS Response Letter to BioGlow LLC Regarding Their GE Plant Lines](#)

#### January 13, 2013

APHIS responded to an inquiry from Del Monte Fresh Produce Company regarding the regulatory status of importing genetically engineered (GE) pineapple into the United States.

[Del Monte Fresh Produce Company: Inquiry on Regulatory Status of Importing GE Pineapple into the United States](#)

[APHIS BRS Response Letter to Del Monte Fresh Produce Company Regarding Importing Their GE Pineapple into the United States](#)

#### January 3, 2013

APHIS responded to similar inquiries from Ceres, Inc., regarding the regulatory status of their genetically engineered (GE) lines of switchgrass.

[Ceres, Inc.: Inquiry on Regulatory Status of GE TRG101W Switchgrass](#)

[Ceres, Inc.: Inquiry on Regulatory Status of GE TRG106E Switchgrass](#)

[Ceres, Inc.: Inquiry on Regulatory Status of GE TRG107E Switchgrass](#)

[Ceres, Inc.: Inquiry on Regulatory Status of GE TRG108E Switchgrass](#)

[APHIS BRS Responses to Ceres Regarding Their GE Switchgrass Lines](#)

#### September 20, 2012

APHIS responded to an inquiry from BioGlow LLC regarding the regulatory status of a genetically engineered (GE) plant line produced without plant pest sequences.

[BioGlow LLC: Inquiry on Regulatory Status of GE Plants Produced Without Plant Pest Sequences](#)

[APHIS BRS Response Letter to BioGlow LLC Regarding Their GE Plant Line](#)

#### June 6, 2012

APHIS responded to an inquiry from the University of Nebraska regarding the regulatory status of null segregant plants derived from genetically engineered (GE) plants.

[University of Nebraska: Inquiry on Regulatory Status of Null Segregant \(NS\) Plants Derived from GE Plants](#)

[APHIS BRS Response Letter to University of Nebraska Regarding NS Plants](#)

- [Overview](#)
- [Introducing Genetically Engineered Organisms that may be Plant Pests](#)
- [About BRS](#)
- [About Permits, Notifications, and Petitions](#)
- [Status of Permits, Notifications, and Petitions](#)
- [Compliance and Inspection](#)
- [Biotechnology Regulations and Statutes](#)
- [BRS Library](#)
- [FOIA Reading Room](#)
- [News and Information](#)
- [Biotechnology Site Map](#)
- [U.S. Regulatory Agencies Unified Biotechnology Website](#)

- [View Hot Topics](#)
- [Apply for a Permit, Notification, or Petition](#)
- [Check the Status of a Permit, Notification, or Petition](#)
- [Learn about Compliance Assistance](#)
- [Report a Compliance Issue](#)
- [Register as a BRS Stakeholder](#)
- [Learn about BRS](#)
- [Find Biotechnology Environmental Documents](#)
- [Submit a Public Comment](#)
- [Learn about BRS Job Opportunities](#)
- [Ask a Question](#)

**Notify Me**  
email updates

**BRS Stakeholder Registry**

**May 8, 2012**

APHIS responded to an inquiry from Scotts Miracle-Gro Company regarding the regulatory status of St. Augustinegrass genetically engineered without genetic material from plant pests.

Scotts Miracle-Gro Company: Inquiry on Regulatory Status of St. Augustinegrass Engineered Without Plant Pest Sequences

APHIS BRS Response Letter to Scotts Miracle-Gro Company Regarding GE St. Augustinegrass

---



ISO 9001:2008  
FM 535173  
FS 589668

**May 8, 2012**

APHIS responded to an inquiry from Scotts Miracle-Gro Company regarding the regulatory status of Kentucky bluegrass genetically engineered using biolistics and genetic material from other plant species.

Scotts Miracle-Gro Company: Inquiry on Regulatory Status Kentucky Bluegrass Engineered Without Plant Pest Sequences

APHIS BRS Response Letter to Scotts Miracle-Gro Company Regarding GE Kentucky Bluegrass

---

**April 24, 2012**

APHIS responded to an inquiry from Ceres, Inc., regarding the regulatory status of their genetically engineered (GE) TRG101B switchgrass.

Ceres, Inc.: Inquiry on Regulatory Status of GE TRG101B Switchgrass

APHIS BRS Response Letter to Ceres Regarding GE TRG101B Switchgrass

---

**April 2, 2012**

APHIS responded to an inquiry from the Wageningen University and Research Centre, Netherlands, regarding the regulatory status of their cisgenic, apple scab resistant apples.

Wageningen University: Inquiry on Regulatory Status of Cisgenic Apple Scab Resistant Apples

APHIS BRS Response Letter to Wageningen University Regarding Their Cisgenic Apples

---

**April 2, 2012**

APHIS responded to an inquiry from the Mid-Florida Research and Education Center at the University of Florida regarding the regulatory status of grapevine with genes and regulatory elements from grapevine.

Mid-Florida Research and Education Center at the University of Florida: Inquiry on Regulatory Status of Grapevine with Genes and Regulatory Elements from Grapevine

APHIS BRS Response Letter to the Mid-Florida Research and Education Center at the University of Florida Regarding Grapevine with Genes and Regulatory Elements from Grapevine

---

**March 8, 2012**

APHIS responded to an inquiry from Dow AgroSciences regarding the regulatory status of organisms modified using their zinc finger technology (EXZACT™).

Dow AgroScience: Inquiry on Regulatory Status of Organisms Modified Using Zinc Finger Technology (EXZACT™)

APHIS BRS Response Letter to Dow AgroSciences Regarding Corn Modified Using Zinc Finger Technology (EXZACT™)

APHIS BRS Response Letter to Dow AgroSciences Regarding Organisms Modified Using Zinc Finger Technology (EXZACT™)

---

**February 1, 2012**

APHIS responded to an inquiry from Danziger Flower Farm regarding the regulatory status of genetically engineered cut Baby's Breath for importation into the U.S.

Danziger Flower Farm: Inquiry on Regulatory Status of Genetically Engineered Cut Baby's Breath

APHIS BRS Response Letter to Danziger Flower Farm

---

**January 6, 2012**

APHIS responded to an inquiry from Collectis S. A. and its U.S. subsidiary, Collectis Plant Sciences, regarding the regulatory status of plants modified using the I-Crel meganuclease technology platform.

Collectis S. A./Collectis Plant Sciences: Inquiry on Regulatory Status (I-Crel Meganuclease)

APHIS BRS Response Letter to Collectis (I-Crel Meganuclease)

---

**October 27, 2011**

APHIS responded to an inquiry from the New Zealand Institute for Plant and Food Research Ltd. regarding the regulatory status of a GE plant using centromere-mediated chromosome elimination (CCE) technique. The inquiry and response have been redacted for confidential business information (CBI) and personally identifiable information (PII).

New Zealand Institute for Plant and Food Research Ltd.: Inquiry on Regulatory Status (CCE GE Plant)

APHIS BRS Response Letter to the New Zealand Institute for Plant and Food Research Ltd. (CCE GE Plant)

---

**October 27, 2011**

APHIS responded to an inquiry from North Carolina State University regarding the regulatory status of null-segregant (NS) lines derived from GE plants in an accelerated tobacco breeding program.

North Carolina State University: Inquiry on Regulatory Status (NS Tobacco)

APHIS BRS Response Letter to North Carolina State University (NS Tobacco)

---

**October 27, 2011**

APHIS responded to an inquiry from the USDA's Agricultural Research Service regarding the regulatory status of non-genetically engineered plum seedling null-segregant (NS) lines derived from GE early flowering parents used in the 'FasTrack' plum breeding program.

USDA ARS: Inquiry on Regulatory Status of (NS Plums)

APHIS BRS Response Letter to USDA ARS (NS Plums)

---

**July 1, 2011**

APHIS responded to an inquiry from Scotts Miracle-Gro Company regarding the regulatory status of glyphosate tolerant Kentucky bluegrass genetically engineered using biolistics and genetic material from other plant species.

Scotts Miracle-Gro Company: Inquiry on Regulatory Status (Glyphosate Tolerant Kentucky Bluegrass)

APHIS BRS Response Letter to Scotts Miracle-Gro Company (Glyphosate Tolerant Kentucky Bluegrass)

---

Last Modified: June 14, 2013

## 資料3 欧米での訪問スケジュール

## 欧米出張について

米国や欧州において遺伝子組換え作物を管轄する研究開発当局や規制当局を訪問し、NBTの研究開発上の位置づけや開発動向、規制のあり方に関する検討状況等について調査した。

なお、訪問先の選定に当たっては農林水産省技術会議事務局の別プロジェクト\*での調査を考慮して選定した。

\*農林水産省委託調査研究プロジェクト「新たな遺伝子組換え生物にも対応できる生物多様性影響評価・管理技術の開発」（実施機関＝（独）農業環境技術研究所）、面談先：米国 USDA, FDA、民間団体＝ASTA, CSPI、企業＝Monsanto, DuPont

### 1 訪問期間および訪問者

#### 1) 欧州：2013年11月3日～12日

茨城大学農学部	立川 雅司 教授
（独）農業生物資源研究所	田部井 豊 室長
農研機構九州沖縄農業研究センター	桂 真昭 上席研究員
当協会イノベーション事業部	戸栗 敏博 担当部長

#### 2) 米国：2013年12月1日～10日

茨城大学農学部	立川 雅司 教授
（独）農業生物資源研究所	雑賀 啓明 主任研究員
当協会イノベーション事業部	戸栗 敏博 担当部長

### 2 訪問先

#### 1) 政府系機関の訪問先

① 欧州：欧州委員会（DG-SANCO）、ドイツ農業省およびJulius Kuhn研究所、オランダ（遺伝子組換えに関する助言機関、COGEM）

② 米国：環境保護庁（EPA）

#### 2) 民間団体、大手開発企業、ベンチャーおよび大学の訪問先

① 欧州：民間団体＝EuropaBio および欧州種苗協会（ESA）、大手種苗会社＝Rijk Zwaan、研究開発ベンチャー＝KeyGene、大学＝Wageningen 大学

② 米国：民間団体＝CropLife International、化学系大企業＝BASF、Bayer および Syngenta、研究開発ベンチャー＝Cellestis および Precision、大学＝Harvard Medical School。

旅程を以下に示す。

欧州

年月日	都市	訪問先	用務内容
H25.11.4 (月)	ベルリン	ドイツ農業省、食品安全庁	NBTへのドイツの考え方
H25.11.5 (火)	クウェデリンブルク	ドイツ Julius Kuhn 研究所 (バイオセイフティー研究所)	GM審査・規制について NBTへのドイツの考え方
H25.11.6 (水)	ブリュッセル	(PM) EuropaBio	NBTへの業界の考え方
H25.11.7 (木)	ブリュッセル	(PM1)欧州委員会	ECとして規制の考え方 NBT検討の進捗
		(PM2)欧州種苗協会	NBTへの種苗業界の考え方
H25.11.8 (金)	ワーゲニンゲン	(AM)KeyGene	ODM他NBTヒアリング
		(PM)Wageningen大学	Cisgenesisヒアリング
H25.11.9 (土)		休日	
H25.11.10 (日)			
H25.11.11 (月)	De Lier	(AM)Rijk Zwaan	Reverse breeding他 ヒアリング
	ユトレヒト	(PM)COGEM	NBTへのオランダの考え方

米国

年月日	都市	訪問先	用務内容
H25.12.2 (月)	ワシントンDC	(AM)CropLife International (PM)EPA	米国業界団体のNBTへの考え EPAのNBTへの規制政策
H25.12.3 (火)	ノースカロライナ州 Raleigh	Bayer CropScience	大手企業ヒアリング
H25.12.4 (水)	ノースカロライナ州 Raleigh	Precision	開発ベンチャーヒアリング
H25.12.5 (木)	ノースカロライナ州 Raleigh	(AM)BASF Plant Science	大手企業ヒアリング
		(PM)Syngenta Biotechnology	同上
H25.12.6 (金)	ボストン	Harvard Medical School	先端技術ヒアリング
H25.12.7 (土)		休日	
H25.12.8 (日)			
H25.12.9 (月)	ミネアポリス	Collectis	開発ベンチャーヒアリング

以上

## 資料4 「新たな育種技術」シンポジウム

**「新たな育種技術」シンポジウム**

## **講演要旨**

**平成 26 年 2 月 28 日（金）**

**発明会館**

**主催 公益社団法人 農林水産・食品産業技術振興協会**

# 「新たな植物育種技術」シンポジウム プログラム

(進行: 農林水産・食品産業技術振興協会イノベーション事業部 戸栗敏博)

13:00-13:10 挨拶 農林水産省農林水産技術会議事務局技術政策課技術安全室 室長 鈴木富男

## 【シンポジウム】

座長 筑波大学生命環境系教授 大澤 良

### 第1部

#### 「欧米における新たな育種技術の開発・規制政策や開発動向等に関する調査」の結果報告

- 13:10-13:20 調査の進め方の概要  
農林水産・食品産業技術振興協会イノベーション事業部 担当部長 戸栗敏博
- 13:20-14:30 調査結果のポイント
- 1) 規制政策動向(欧州および米国)  
茨城大学農学部地域環境科学科教授 立川雅司
- 2) 研究開発動向
- ① 欧州  
(独)農業生物資源研究所遺伝子組換え研究推進室 室長 田部井豊
- ② 米国  
(独)農業生物資源研究所農業生物先端ゲノム研究センター 主任研究員 雑賀啓明
- 14:30-14:40 他の報告事項  
農林水産・食品産業技術振興協会イノベーション事業部 担当部長 戸栗敏博
- 14:40-15:00 ～～ 休憩 ～～

### 第2部

#### 国内における新しい育種技術を用いた研究開発活動

- 15:00-15:30 国内での新しい育種技術の開発概要  
(独)農業生物資源研究所農業生物先端ゲノムセンター  
ゲノム機能改変研究ユニット ユニット長 土岐精一
- 15:30-16:30 国内での開発ケースについて
- 1) イネ等の自殖性作物への循環選抜育種法の応用  
(独)農研機構作物研究所稲育種領域 主任研究員 田中淳一
- 2) RNA ウイルスペクターの植物育種への利用  
岩手大学大学院農学研究科教授 吉川信幸
- 16:30-17:00 総合討論

## 新しい植物育種技術に関する欧米調査の進め方の概要

(公益社団法人) 農林水産・食品産業技術振興協会 戸栗敏博

### 1 調査の目的

本事業は農林水産省からの調査業務として委託され、新しい植物育種技術 (NBT) に関して欧米での研究開発や規制動向を的確に把握することを通じて、我が国における今後の研究開発や規制の政策決定に活かすことを目的とする。

### 2 調査対象技術

欧州委員会共同研究センター (JRC) が 2011 年 5 月に公表した NBT に関する報告書に記載された 8 種類の技術のうち、「合成ゲノム」を除いた 7 種の育種技術\*を事例とし、それらを含めて、①導入した外来遺伝子が当該農作物等に残存しない育種技術、②宿主ゲノムに突然変異を誘発する遺伝子や交雑可能な植物種の遺伝子を導入する育種技術、など慣行の育種技術で作出された農作物と区別できない技術を、JRC の報告書の公表以降に最近開発された技術も含めて調査の対象にした。

\*① ジンクフィンガー・ヌクレアーゼ技術 (ZFN-1、ZFN-2、ZFN-3)、② オリゴヌクレオチド誘発型突然変異 (ODM)、③ シスジェネシスとイントラジェネシス、④ RNA 依存性 DNA メチル化 (RdDM)、⑤ GM 台木への接ぎ木、⑥ 逆育種、⑦ アグロインフィルトレーション

### 3 海外調査の実施

・米国や欧州において遺伝子組換え作物を監督する規制当局や研究開発当局を訪問し、NBT の規制のあり方、研究開発上の位置づけや開発動向に関する状況等について調査した。なお、農林水産省による別プロジェクト\*\*での調査を考慮して訪問先を選定した。

・政府系機関の訪問先は次の通り。

①欧州: 欧州委員会 (DG-SANCO)、ドイツ農業省および Julius Kuhn 研究所、オランダ (COGEM)。

②米国: 環境保護庁 (EPA)。

・民間団体、大手企業、研究開発ベンチャーおよび大学の訪問先は次の通り。

① 欧州: 民間団体=EuropaBio と欧州種苗協会 (ESA)、大手種苗会社=Rijk Zwaan、研究開発ベンチャー=Keygene、大学=Wageningen 大学。

② 米国: 民間団体=CropLife International、大手企業=BASF、Bayer、Syngenta、研究開発ベンチャー=Collectis、Precision、大学=Harvard 大学。

\* \*農林水産省委託調査研究プロジェクト「新たな遺伝子組換え生物にも対応できる生物多様性影響評価・管理技術の開発」(実施機関=(独)農業環境技術研究所)、面談先: 米国 USDA、FDA、民間団体=ASTA、CSPI、企業=Monsanto、DuPont

## アメリカおよび EU における新たな育種技術をめぐる規制政策の動向

茨城大学農学部 立川雅司

本報告では、新たな育種技術（NBT）に関して実施したアメリカおよび欧州における現地調査に基づいて、現時点における規制政策の検討状況について報告する。

### 1) アメリカ

アメリカにおける遺伝子組換え規制は、農務省、環境保護庁、食品医薬品局の3省庁が関与している。現地調査の結果、これら規制3省庁のいずれも、基本的にケースバイケースでの判断を行う方針であることが明らかになった。

農務省（規制根拠：植物病害）では、NBT 関連製品に関して、開発企業等からの照会を受けて、すでにいくつかの判断が示されている（結果に関しては USDA-APHIS-BRS のウェブサイトに掲載<sup>1)</sup>）。植物病害に関わる遺伝子やベクターを用いないものは、農務省の規制範囲外であるとされている。

環境保護庁や食品医薬品局に関しても、ケースバイケースで規制対象となるかどうかの判断を行うとしているものの、農務省も含めて、製品の安全性確保は企業責任とされており、規制対象となる外来遺伝子の残存がないよう確保することも企業に委ねられている。

### 2) EU

EU においては、2007 年以降、NBT に関する検討が様々な場で行われてきた（欧州委員会、JRC-IPTS、EFSA）。NBT に関する規制は、加盟国段階ではなく、EU 段階での政策決定によって統一的に判断される領域とされている。具体的には、EU の GM 基本法制である「環境放出指令」（2001/18/EC）の規制範囲内かどうかを検討されている。

とはいえ、EU レベルでの検討は滞っている。2014 年 5 月の欧州議会選挙とその後の欧州委員会執行部の交替が行われた後でなければ、規制上の具体的検討は進展しないと見込まれている（具体的な方針が明らかになるのは、2015 年以降になる見通しである）。また GMO の場合と同様、NBT に関しても加盟国毎の温度差が存在している。

なお、現在、「新規食品規則」（No. 258/97）の改訂作業が進んでおり、NBT 関連食品が非 GM と見なされ、かつ食品成分に新規性が認められた場合には、「新規食品規則」の規制対象になる可能性が存在している。このように、EU においては GM 規制と新規食品規制との重層的な規制が検討されている。

米欧いずれにおいても、NBT を理由に現行規制を改訂する意図はなく（政治的にも困難であると見られている）、現行規制の定義等に照らして規制するかどうかを判断する、という基本的方針である（ガイダンス文書等を出す可能性は存在する）。このような対応は、米欧間で規制対象のギャップをもたらす可能性があり、国際貿易上の新たな問題を引き起こす可能性がある。

---

<sup>1</sup> USDA-APHIS のウェブサイト参照  
([http://www.aphis.usda.gov/biotechnology/reg\\_loi.shtml](http://www.aphis.usda.gov/biotechnology/reg_loi.shtml))

## 欧州における NBT に関する研究開発動向

独立行政法人農業生物資源研究所 遺伝子組換え研究推進室

田部井豊

平成 25 年 11 月にドイツ、ベルギー、オランダの政府機関や民間団体、企業、大学等を訪問する機会を得た。オランダで訪問した Rijk Zwaan、Keygene 及び Wageningen 大学で聞き取りした内容を中心に報告する。

**Rijk Zwaan** 野菜種子生産に特化した会社で、27 作物、1,100 品種を販売する世界第 7 位の会社。NBT としては、Reverse Breeding、Cisgenesis/Intragenesis、ODM、ZFN などを開発企業等と協力して開発している。Reverse Breeding では、ナスにおける相同組換えの抑制などの研究を進めている。GM 品種開発は、受容が低いことや、世界的にも規制をクリアするためにコストがかかることなどから、開発する意志はない。NBT に関しては、非 GM と判断されることを期待しており、もしも GM と見なされれば利用することはない。

**Keygene** EU における最大のバイテクベンチャー企業で、ODM に関しては、KeyBase という商品名で扱っている。ODM は細胞に入れたのち、点変異を誘導して 24~48 時間後には完全に消失しているため、off-target が起こりにくいのではないかと考える。ODM にはプロトプラストからの再分化技術が利用されており、ペチュニアやナタネに ODM によりアセト乳酸合成遺伝子を変異させ、除草剤耐性を付与している。

**Wageningen 大学** Schouten 教授から NBT の概要と自身による Cisgenesis 等に関する開発状況等を聞いた。Gala 種リンゴは黒星病に弱いため、Cisgenesis と Intragenesis によって抵抗性を付与し耐病性試験を行っている。現在、3 つの抵抗性遺伝子 (Vf2, V25, Vr2) を導入し、Intragenesis の場合には、ルビスコのプロモーターを使用して強力な抵抗性を示すことが確認された。Wageningen 大では Cisgenesis を利用して MYB10 遺伝子を導入し、5 年で赤いリンゴの作出に成功している。現在、Cisgenesis は GMO と同じ規制の下に野外試験を実施中である。

表 Cisgenesis によって作出された作物

植物	タイプ	遺伝子	目的形質	論文
ジャガイモ	発現	R 遺伝子	疫病菌抵抗性	Havekort <i>et al.</i> (2009)
リンゴ	発現	<i>HcrVf2</i>	黒星病抵抗性	Vanblaere <i>et al.</i> (2011)
ポプラ	過剰発現	生長関連遺伝子	生長の改変	Han <i>et al.</i> (2011)
オオムギ	過剰発現	<i>HvPAPhy_a</i>	フィターゼ活性	Holme <i>et al.</i> (2012)
マカロニコムギ	発現	<i>1Dy10</i>	製パン性の改変	Gadaleta <i>et al.</i> (2008)

Holm ら (2013) より作表

## 米国におけるゲノム編集技術の開発動向について

独立行政法人農業生物資源研究所 農業生物先端ゲノム研究センター  
ゲノム機能改変研究ユニット 雑賀啓明

昨年 12 月 1 日から 11 日にかけて米国にある研究開発機関等を訪問し、新たな植物育種技術 (NBT) の開発動向について意見を聴取した。本発表では、ゲノム編集技術のツールとなる人工制限酵素の研究を行っているベンチャー企業と大学の研究動向を中心に紹介する。

・ Precision BioScience 社 (ノースカロライナ州、ダーラム)

メガヌクレアーゼ (MNs) は、既存のメガヌクレアーゼの DNA 結合配列を改変し、標的配列を切断できるように改良した人工制限酵素である。Precision BioScience 社は MNs の開発研究を行っているベンチャー企業であり、10 年程前から、MNs を利用したゲノム編集技術について農業分野への応用を図っている。同社では、依頼を受けた DNA 配列を切断する MNs の提供を行っており、これまでに、DuPont/Pioneer 社や Bayer CropScience 社との共同研究の成果 (標的変異技術による雄性不稔トウモロコシの作出、標的組換え技術を利用したワタの多重遺伝子導入等) について論文発表がなされている。

・ Collectis Plant Science 社 (ミネソタ州、ニューブライトン)

標的配列を認識する DNA 結合ドメインと DNA を切断するヌクレアーゼドメインを融合した人工制限酵素の 1 つに Transcription activator-like effector nucleases (TALENs) がある。Collectis Plant Science 社は MNs や TALENs の開発・応用研究等を行っている Collectis 社の子会社である。これまでに、植物分野において、大手バイテク企業や我が国の企業と共同研究を行っており、双子葉作物について、TALENs を利用したゲノム編集技術を利用した分子育種を進めているそうである。

・ ハーバード大学医学校 George Church 研究室 (マサチューセッツ州、ボストン)

CRISPR/Cas は DNA と相補的な RNA 分子と DNA 切断タンパク質を利用した人工制限酵素である。George Church 研究室は、真核生物において、CRISPR/Cas によるゲノム編集の成功例を世界に先駆けて報告したグループの 1 つである。今回の訪問では、CRISPR/Cas に関する研究内容について説明を受けるとともに、同研究室で行っている合成ゲノムに関する研究内容についても説明があった。

また、今回の調査では、バイテク企業 (BASF Plant Science 社、Bayer CropScience 社、Syngenta Biotechnology 社) にも訪問し、ゲノム編集技術に関する意見を聴取した。いずれの企業においても、過度な規制を回避すべきであること、科学的知見に基づいた規制を求めているとの意見があり、ゲノム編集技術を育種の効率化や正確さを高める画期的な技術として期待していることが分かった。従って、今後はゲノム編集を利用した作物育種がさらに促進され、競争が激化することが予想された。

## 新しい植物育種技術に関する特許の出願状況について

(公益社団法人) 農林水産・食品産業技術振興協会 戸栗敏博

NBTの研究開発を進める際、規制政策や研究開発動向に加えて、関連する技術の特許の出願情報の調査も重要である。ここでは、JRCでの解析結果と、今回の訪問先での聴取結果を踏まえて報告する。

### 1 特許の出願状況

・NBTに関係した特許出願については、JRC(2011)により主として2010年までの出願分について報告され、その共著者であるParisi氏が、その後のデータを追加してまとめている(2012)。それらによれば、2000年以降にNBTに関する出願数が急増し、特に2005年以降は標的遺伝子に特異的な変異導入技術に関する出願の割合が急増し、出願総数の3/4を占めている。他のNBT関係の技術としては、cisgenesis/intragenesisおよび接ぎ木技術に関する出願が10数件ある。出願人に関しては、地域別では米国から全体出願数の50%、欧州から38%が出され、組織としては企業から76%、公的機関から20%出願されている。

### 2 標的遺伝子に特異的な変異導入(ゲノム編集)技術について

・本技術はヒトゲノムの変異遺伝子の治療などの医療分野にも応用が可能のため、植物を対象分野としたものより早い時期から多数の出願がある模様。

・この分野の技術として1990年代にはODMに限定されていたが、2001年以降に新たな技術が続々と提案され(ZFN, Meganuclease)、2009年には「TALEN」、最近になって「CRISPR-Cas9」について発表され、関係する科学論文の発表も急増している。しかし、TALEN、CRISPR-Cas9などの新しい技術に関する特許出願は、一部の出願内容が判明しているものの、権利化状況の把握には年月を要するものと思われる。なお、Meganucleaseについて権利者間で裁判での係争が続いてきたが、和解が進んでいる模様。

### 3 商業化を目的とした使用

・商業的に特許を使用できるかどうかの判断には、特許の成立状況の確認や、侵害が疑われる場合の裁判での判決結果を待たなければならない。一方、(恐らく)鍵と思われる特許権者である企業から、ライセンスの提供情報がホームページで公表されており、権利行使の参考情報となるであろう。

## 国内での新しい育種技術の開発概要

独立行政法人農業生物資源研究所 農業生物先端ゲノム研究センター  
ゲノム機能改変研究ユニット 土岐精一

NBT 技術については、日本国内でユニークな研究が活発に行われている。今回は以下に列挙するものを中心に紹介したい。また、NBT 技術としてリストアップされていないものの、育種を加速する興味深い技術があることを指摘したい。

(ゲノム編集技術)

基盤：①ポジティブ・ネガティブ選抜を利用した標的組換え（ジーンターゲットティング）によるノックアウト植物の効率的作出技術、②マーカー遺伝子の完全な除去技術を用いた標的組換えによる必要な変異の導入、③人工ヌクレアーゼを用いた標的組換え効率をさらに向上させる方法、④植物における標的変異（ターゲット変異導入）実験系の開発および変異のスペクトラルの改変、⑤PPR タンパク質を利用したゲノム編集技術の開発  
応用：①ODM による除草剤耐性イネの作出、②標的組換えによる除草剤耐性イネと必須アミノ酸高蓄積イネの開発、③標的変異によるアルカロイド生合成経路の改変

(エピゲノム編集技術)

基盤：①RdDM が植物遺伝子の発現を活性化する現象の発見、②接ぎ木を利用したエピゲノム編集③DNA 脱メチル化酵素の活性を下げることによる効率の良い RdDM 系の開発  
応用：①ウイルスベクターを用いた花色の制御

(早期開花による育種の効率化)

①FT 遺伝子（フロリゲン）導入による柑橘の早期開花、②TFL アンチセンス遺伝子導入によるリンゴの早期開花、③ウイルスベクターを用いた開花促進、④FT タンパク質の直接導入による早期開花

## 自殖性作物における高効率循環選抜育種法(TMS 循環選抜)の開発に向けて

農研機構作物研究所稲育種領域 田中淳一

### 【自殖性作物育種の方法論とその限界】

1990年代後半以降、世界の穀物の単収増が顕著に鈍っている。作物別に見ると、トウモロコシが順調な反収増を実現しているのに比べて、イネやコムギの収量増の鈍化が際立っている。トウモロコシ育種では、その他殖性を利用して、異なるタイプのゲノム断片を“混ぜ合わせ”ながら継続的に集団選抜する育種システム（循環選抜）が効奏している。これに対し、自殖性の作物の育種では2品種かけ合わせの育種を続けた結果、ゲノムが均質化し、それらを交配しても大きな育種効果が得られにくくなっていると考えられる。

### 【自殖性作物でもトウモロコシのような育種を実現するためのこれまでのチャレンジ】

上記の問題点は古くから指摘され、その解決のために、劣性の雄性不稔（突然変異）を見出し、トウモロコシのような育種システムの実現に向けたチャレンジが繰返されてきた。しかし、集団中に雄性不稔個体が多く分離しないことや、育種現場が最も忙しい開花期に雄性不稔個体を識別する必要がある、現在までのところ自殖性作物の主要な育種法とはなり得ていない。開花前に容易に識別できる形質マーカーに連鎖した雄性不稔作出・利用する方法も考案されてきたが、世代を繰り返すと連鎖が切れてしまう問題があった。

### 【効率よく他殖させるための理想的な雄性不稔を組換え技術を使って作ろう】

これらの問題を解決し、効率よく他殖させるための理想的な雄性不稔に求められる特性は、「雄性不稔が優性遺伝すること」と「幼苗段階でポジティブ/ネガティブ選抜可能であること」である。このような雄性不稔は突然変異等で作出することが事実上不可能であろう。しかし組換え技術を使えば、薬特異的プロモーターで自殺遺伝子をドライブすれば雄性不稔が実現できるし、同一コンストラクトにより導入することでポジティブ/ネガティブ選抜マーカー形質を強烈に連鎖させることも可能である。なお、優性の雄性不稔はその維持に常に野生型の花粉を必要とする。したがって雄性不稔はホモ固定できず、各世代、雄性不稔個体と稔性個体が常に理論上1:1で分離する。このような雄性不稔が実現できれば、自殖性作物であっても効率の良い循環選抜育種システムが現実のものとなる。

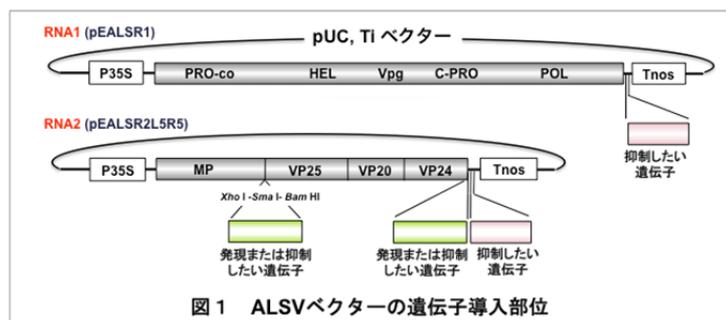
この育種システムには3つの利点がある。一つは自殖性作物であっても効率的に継続した循環選抜が可能である点、もう一つは組換え植物は必ず雄性不稔なので周辺作物との交雑リスクがほとんど想定されないこと、最後の一つはここで導入される遺伝子群はゲノムを“混ぜ合わせる”ために導入されるものであり、最終的に自殖により遺伝的固定を図るためにはむしろ障害であり、つまり、自殖の開始以降はNull Segregantになる点である。TMS 循環選抜に関する研究は日本が世界の先陣を切っており、現在、演者らはゲノム情報が充実したイネにおいて、このような育種システムの構築を急いでいる。また、環境制御による世代促進条件下で同システムを回し、これにゲノミックセレクションを融合させることにより、更に高出力な育種システムが構築できる可能性についても概説する。

## RNA ウイルスベクターの植物育種への利用

岩手大学農学部 吉川信幸

植物に無害な RNA ウイルスの一種であるリンゴ小球形潜在ウイルス (*Apple latent spherical virus*, ALSV) は径約 30nm の小球形ウイルスで、2 種類の一本鎖 RNA (RNA1 と RNA2) と 3 種類の外被タンパク質 (Vp25, Vp24, Vp20) から構成されている。ALSV は広い宿主域 (ナス科植物、ウリ科植物、マメ科植物、リンゴ、ナシ、モモ、カンキツなどの果樹類など) を持ち、その大部分に潜在感染する。ウイルスは茎頂分裂組織や葉原基に速やかに侵入し、植物体全体に均一に分布するため、植物体全体でサイレンシングを持続的に誘導できる。また ALSV は昆虫類などでは伝搬されず、伝染力も強くないため取扱いが容易である。我々は ALSV ベクターを目的遺伝子の発現や発現抑制のツールとして利用する技術開発に取り組んできた。ALSV ベクターは、ウイルスゲノム (RNA1 と RNA2) の完全長 cDNA を Ti プラスミドの 35S プロモーターと nos ターミネーター間に連結した感染性 cDNA クローンを基に、RNA1 と RNA2 に遺伝子導入サイトを付加して構築したものである (図 1)。本シンポジウムでは新育種技術としての RNA ウイルス (ALSV) ベクターの利用について紹介する。

(1) リンゴの開花促進/世代促進技術: ALSV ベクターにシロイヌナズナの花成ホルモンである“フロリゲン”遺伝子 (*AtFT*) とリンゴの開花抑制遺伝子 (*MdTFL1-1*) の一部を



連結したベクター (ALSV-*AtFT*/*MdTFL1*) を作出し、発芽直後のリンゴに感染させた。その結果、感染リンゴの 90% 以上が 1.5~3 ヶ月で早期開花し、数ヶ月にわたって開花を続けた。早期開花リンゴの花に人工授粉すると、果実が形成され、正常な種子も得られた。さらに、これらの種子由来の次世代リンゴはすべてウイルスフリーであった。以上のように、通常 5~12 年を要するリンゴの 1 世代を 1 年以内に短縮することが可能であった。*AtFT* 発現 ALSV はペチュニア、トルコギキョウ、ダイズなどでも開花促進効果を示す。

(2) ALSV は各種植物で転写後型サイレンシング (VIGS) を効率よく誘導する。我々は、ALSV ベクター感染が、メチル化による転写型サイレンシング (VITGS) を誘導するかどうかを、GFP 発現ベンサムアタバコで調べた。35S プロモーター配列を ALSV-RNA2 に連結し VITGS の誘導を解析したところ、GFP 蛍光の消失とプロモーター配列のメチル化が誘導された。さらに、ウイルスが存在しない後代植物にも VITGS は安定して遺伝した。同様に、ペチュニアの *CHS* 遺伝子のプロモーター領域を連結した ALSV をペチュニア (レッドスター) に感染させると、プロモーター領域のメチル化が誘導され、花色の発現が抑制された。この VITGS (RNA 依存 DNA メチル化) も新育種技術として利用できる可能性がある。

欧米における新たな育種技術の開発・規制政策や開発動向等  
に関する調査業務報告書

平成 26 年 3 月 20 日発行

公益財団法人 農林水産・食品産業技術振興協会

〒107-0052 東京都港区赤坂 1 丁目 9 番 13 号 三会堂ビル

電話 (03)3586-8644

FAX (03)3586-8277