

農林水産研究推進事業委託プロジェクト研究

「種苗開発を支える「スマート育種システム」の開発」

民間事業者、地方公設試等の種苗開発を支える育種基盤技術の開発

令和4年度 最終年度報告書

課題番号	18063981
研究実施期間	平成30年度～令和4年度（5年間）
代表機関	国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構 作物研究部門
研究開発責任者	杉本 和彦
研究開発責任者 連絡先	TEL : 029-838-7004
	FAX : 029-838-7408
	E-mail : kazuhiko@affrc.go.jp
共同研究機関	国立大学法人 神戸大学
	国立大学法人 岩手大学
	国立大学法人 佐賀大学
	国立大学法人 岡山大学
	国立大学法人 京都大学
	国立大学法人 九州大学
	地方独立行政法人 北海道立総合研究機構
国立研究開発法人 国際農林水産業研究センター	

<別紙様式3>最終年度報告書

I-1. 年次計画

研究課題	研究年度					担当研究機関・研究室		研究担当者 (注1)
	H30	R1	R2	R3	R4	機関	研究室	
研究開発責任者	/	/	/	/	/	農研機構作物研究部門	作物デザイン研究領域	◎杉本和彦
1 イネ変異を利用した有用遺伝子カタログの構築 (DIT1001)	○	○	○	○	○	農研機構遺伝資源研究センター	ジーンバンク事業技術室	○江花薫子
1-1 耐病性・耐虫性関連遺伝子のカタログ化	○	○	○	○	○	農研機構作物研究部門	オーダーメイド育種基盤グループ	△溝淵律子 上田忠正
						農研機構生物機能利用研究部門	作物病害制御機構グループ	高橋章
							昆虫制御技術グループ	田村泰盛
1-2 収量性関連遺伝子カタログ	○	○	○	○	○	国際農林水産業研究センター	生物資源・利用領域	△小原実広
						農研機構作物研究部門	作物遺伝子機能評価グループ	平林秀介
1-3 品質関連遺伝子カタログ	○	○	○	○	○	農研機構農業環境研究部門	無機化学物質グループ	△石川寛 安部匡 倉俣正人
						農研機構食品研究部門	流通技術・新用途開発グループ	荒木悦子
						農研機構作物研究部門	作物遺伝子機能評価グループ	杉本和彦
							ゲノム育支援室	山内 歌子
1-4 有用突然変異体の取得	○	○	○	○		農研機構中日本農業研究センター	作物開発グループ 稲育種グループ	△山口武彦 福田あかり 前田英郎 (~R3.3) △松下 景 (R3.4~)

2 コムギ変異体集団を活用した迅速な多様性補足技術の開発 (DIT1002)	○	○	○	○	○	農研機構作物研究部門	作物デザイン開発グループ	○小林史典
						農研機構作物研究部門	育種ビッグデータ整備利用グループ	○石川吾郎
						農研機構作物研究部門	畑作物先端育種グループ	△八田浩一 蝶野真喜子 乙部千雅子 藤郷誠
						農研機構作物研究部門	作物遺伝子機能評価グループ	△大野陽子
						北海道立総合研究機構 北見農業試験場	麦類畑作グループ	△木内均 大西志全 其田達也 荒木和哉 佐藤優美
						北海道立総合研究機構 中央農業試験場	生物工学グループ	△相馬ちひろ 奥山昌隆 道満剛平
						京都大学大学院農学研究科	植物遺伝学研究室	△吉田健太郎
						農研機構北海道農業研究センター	畑作物育種グループ	△松中仁 寺沢洋平 川口謙二
農研機構九州沖縄農業研究センター	作物育種グループ	△谷中美貴子 中田克 平将人						
3 変異を利用したダイズ有用遺伝子カタログの構築 (DIT1003)	○	○	○	○	○	農研機構作物研究部門	作物デザイン開発グループ	平賀勸 (~R4.3) △李 鋒 (R4.4~)
3-1 ダイズ草型変異の特定	○	○	○	○	○	農研機構作物研究部門	作物デザイン開発グループ	平賀勸 (~R4.3) △李 鋒 (R4.4~) 加賀秋人
						農研機構東北農業研究センター	作物遺伝子機能評価グループ	△島村聡 菊池彰夫
							水田作物品種グループ	菱沼亜衣 笹谷 絵梨

3-2 ダイズ種子成分変異の特定	○	○	○	○	○	農研機構作物研究部門	作物デザイン開発グループ	平賀勸 (~R4.3) △李 鋒 (R4.4~) 加賀秋人
						農研機構東北農業研究センター	作物遺伝子機能評価グループ	島村聡 菊池彰夫
						九州大学大学院農学研究院	水田作物品種グループ	菱沼亜衣 笹谷絵梨 穴井豊昭
3-3 ダイズ有用変異原因遺伝子の特定と変異の拡大	○	○	○	○	○	農研機構作物研究部門	作物デザイン開発グループ	平賀勸 (~ R4.3) △李 鋒 (R4.4~) 竹島亮 (R4.4~) 中田隆 (R4.4~)
						農研機構東北農業研究センター	作物遺伝子機能評価グループ	加賀秋人
						九州大学大学院農学研究院	水田作物品種グループ	島村聡 菊池彰夫 菱沼亜衣 笹谷絵梨 穴井豊昭
4 品種改良を変える新技術の開発 (DIT2001)	○	○	○	○	○	農研機構作物研究部門	作物遺伝子機能評価グループ	杉本和彦 (~R4.3) ○堀清純 (R4.4~)
4-1 リファレンスゲノム構築技術の開発	○	○	○	○	○	農研機構高度分析研究センター	ゲノム情報大規模解析ユニット	△川原善浩 熊谷真彦
						農研機構作物研究部門	育種ビッグデータ整	米丸淳一

					門	備利用グループ	佐藤豊 竹久妃奈子
						オーダーメイド育種 グループ	常松浩史
						作物遺伝子機能評価 グループ	シントマシュー 田中 伸裕 石丸 健
4-2 遺伝子カタ ログ基盤情報の構築	○	○	○	○	農研機構高度分析研 究センター	ゲノム情報大規模解 析ユニット	△川原善浩 熊谷真彦
					農研機構作物研究部 門	育種ビッグデータ整 備利用グループ	米丸淳一 伊藤博紀 佐藤豊
						作物遺伝子機能評価 グループ	竹久妃奈子 シントマシュー 田中伸裕
4-3 生殖制御や DNA 修復機構の改変 による新技術開発	○	○	○	○	農研機構作物研究部 門	作物遺伝子機能評価 グループ	△杉本和彦 (~R4.3) 堀清純 (R4.4~)
					岡山大学	資源植物科学研究所	山本敏央 長岐清孝
4-4 アリル評価 のための変異体選抜	○	○	○	○	農研機構生物機能利 用研究部門	作物病害制御機構グ ループ	△高橋章
					農研機構作物研究部 門	作物遺伝子機能評価 グループ	杉本和彦 (~R4.3) 堀清純 (R4.4~) シントマシュー
					農研機構高度分析セ ンター	ゲノム情報大規模解 析ユニット	川原善浩
5 果樹類のゲノム 編集の実用化に向け たゲノム編集酵素の 直接導入によるゲノ	○	○	○	○	農研機構生物機能利 用研究部門	ゲノム編集作物開発 グループ	○今井亮三

ム編集技術の開発 (DIT3001)								
5-1 ゲノム編集 酵素の直接導入技術 の高度化	○	○	○	○	○	農研機構生物機能利 用研究部門	ゲノム編集作物開発 グループ	△今井亮三 遠藤真咲
5-2 直接導入法 によるリンゴのゲノ ム編集技術の開発	○	○	○	○	○	農研機構果樹茶業研 究部門 岩手大学	果樹茶育種基盤グル ープ 植物生命科学科	△西谷千佳子 遠藤朋子 根岸克弥 小森貞男
5-3 直接導入法 によるブドウのゲノ ム編集技術の開発	○	○	○	○	○	農研機構果樹茶業研 究部門 農研機構生物機能利 用研究部門	果樹茶育種基盤グル ープ ゲノム編集作物開発 グループ	△中島育子 遠藤朋子 西谷千佳子 根岸克弥 遠藤真咲
5-4 直接導入法 によるカンキツのゲ ノム編集実用化技術 の開発	○	○	○	○	○	農研機構果樹茶業研 究部門 農研機構生物機能利 用研究部門	果樹茶育種基盤グル ープ カンキツ品種育成・ 生産グループ ゲノム編集作物開発 グループ	△遠藤朋子 西谷千佳子 中島育子 島田武彦 今井亮三 遠藤真咲

(注1) 研究開発責任者には◎、小課題責任者には○、実行課題責任者には△を付してください。

I-2. 研究目的

日本の農業の強化を目指す農業競争力強化支援法（平成29年法律第35号）が施行された。水稲、小麦、大豆の種子生産への民間事業者等の参入が容易になることから、民間活力等による種苗開発、さらに、種苗生産の活発化が期待される。作物開発力を強化するためには、これら農作物の迅速な遺伝子特定、新技術を活用した育種技術の高度化、同時に、これらの遺伝子情報、育種素材や技術を使いやすい形で民間事業者等に提供することが重要である。

我が国の主要作物である水稲、麦類、大豆に関しては、品種改良を加速する新しい有用遺伝子を明らかにし、新規遺伝子を中心に遺伝子情報を品種改良に利用しやすくするために、主要な品種がもつ農業形質を制御する遺伝子の一覧とそれぞれの品種が持つ遺伝子の効果の程度を明らかにした「遺伝子カタログ」を構築する。その他、品種育成を高度化するための技術として、染色体の交叉頻度向上技術、半数体誘導系統の開発等にも取り組む。

一方、栄養繁殖性作物である果樹類は、品種育成には長い年月がかかることから、評価の高い優良品種をゲノム編集によりピンポイント改良する技術はきわめて有効である。本課題では遺伝子組換え技術を用いず、ゲノム編集酵素による直接の改良を可能にする技術の開発に取り組む。

このため、本研究では、

1. イネ変異を利用した有用遺伝子カタログの構築 (DIT1001)
2. コムギ変異体集団を活用した迅速な多様性捕捉技術の開発 (DIT1002)
3. 変異を利用したダイズ有用遺伝子カタログの構築 (DIT1003)
4. 品種改良を変える新技術の開発 (DIT2001)
5. 果樹類のゲノム編集の実用化に向けたゲノム編集酵素の直接導入によるゲノム編集技術の開発 (DIT3001)

に取り組む。

その結果、

1. 民間や地方公設試の品種育成の活性化により、豊かで活力ある農業に結びつく。
2. 果樹類の品種育成技術が高度化することにより、国際競争力が高まる。ことが期待される。

I-3. 研究方法

(1) イネ変異を利用した有用遺伝子カタログの構築 (DIT1001)

イネの参照ゲノム配列が明らかになって以降、農業上有用なイネの遺伝子の情報が急速に蓄積されてきた。従来は形質の特性情報や系譜から交配組合わせを決めてきたが、育種を効率化するためには、農業上有用な遺伝子座について対立遺伝子（アレル）の変異情報を元にした交配組合わせの決定や交配後代からの選抜が有効である。そこで、有用な遺伝子座についてイネ集団内の塩基配列多型や形質変異を明らかにし、イネの有用遺伝子のアレルの一覧である有用遺伝子カタログを整備する。病虫害抵抗性や収量性等の重要な形質に着目し、いもち病・もみ枯細菌病抵抗性、トビイロウンカ・ツマグロヨコバイ抵抗性、窒素吸収能、収量関連形質、穂発芽耐性、ヒ素吸収、米糠中の機能性成分等に関わる遺伝子を対象とする。

(2) コムギ変異体集団を活用した迅速な多様性捕捉技術の開発 (DIT1002)

小麦普及品種等をガンマー線、エチルメタンサルフォン酸 (EMS) 処理等により作出した突然変異体集団から、耐病性、稈長、開花期などの栽培特性について形質改善が期待される有望個体を選抜する。これらの形質を支配するDNA変異を特定する技術を開発し、耐病性、稈長、開花期変異の原因遺伝子の同定を目指す。イネの先行研究により明らかにされているカドミウム低吸収性遺伝子のコムギ突然変異体をガンマー線あるいはEMS処理集団から選抜し、その効果を検証する。また、既知の機能遺伝子（出穂性、品質など）について自然変異を調査する。これらにより、耐病性、稈長、開花期および重金属吸収性等の形質について、合計10以上の有用遺伝子を選定し、品種や育種材料についてアレルと形質データとを合わせた遺伝子カタログを作成する。

(3) 変異を利用したダイズ有用遺伝子カタログの構築 (DIT1003)

収量性や耐倒伏性など大豆栽培に大きな影響を及ぼす草型の変異体、豆腐加工適性や健康機能性等の制御に重要な種子成分の変異体を得るため、EMS 処理により作出した変異系統群をスクリーニングする。変異形質の表現型の安定性を評価し、有望な変異体について原因遺伝子特定のため、バルク法による全ゲノムリシーケンシングによる原因遺伝子の特定を行う。本課題で特定される遺伝子と既知の重要遺伝子について、大豆遺伝資源における多様性情報を収集し、可能なものについては遺伝的変異による機能変化を評価することで、有用遺伝子カタログを構築する。

(4) 品種改良を変える新技術の開発 (DIT2001)

有用遺伝子カタログを構築するためのDITコアコレクションのゲノム情報解析、参照ゲノム配列の構築、既知遺伝子の情報、DIT1001、1002、1003の課題から得られる新規遺伝子の情報の収集とデータベース化を行う。さらに、遺伝子カタログの利便性向上のために遺伝子型を表示するブラウザを開発する。

半数体誘導や薬培養による迅速なゲノムの固定では組み換え頻度が低くゲノムの交換が進まない。そこで、DNAヘリカーゼに変異を誘導することで相同組換えの頻度を向上させる技術を開発する。

(5) 果樹類のゲノム編集の実用化に向けたゲノム編集酵素の直接導入によるゲノム編集技術の開発 (DIT3001)

リンゴ、ブドウ、カンキツの再生個体を得ることが出来る組織に対して、パーティクルガン法による蛍光タンパクの導入により、最適な条件を明らかにする。さらに、ゲノム編集酵素 (RNP ; ribonucleoprotein) を金粒子にコートし、パーティクルガン法による打込み、変異検出、再分化によりゲノム編集個体を取得する。

I-4. 研究結果

(1) イネ変異を利用した有用遺伝子カタログの構築 (DIT1001)

イネ有用遺伝子の同定に関しては、耐病虫性、収量性、ビタミンE群等の成分関係の遺伝子を対象とした。難防除病害であるもみ枯細菌病の苗における抵抗性遺伝子2つ、いもち病抵抗性に関しては新規の抵抗性遺伝子を3つ単離した。ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子*GRH7*座のゲノム配列を解析した結果、抵抗性を示すアレルを2種類見出し、またトビイロウンカ抵抗性では2つの新規遺伝子を同定した。

収量関連遺伝子については、遺伝子の網羅的な発現解析とイネ内在性レトロトランスポゾン*Tos17*突然変異によりイネの窒素吸収関連遺伝子を特定した。品質関連遺伝子としては、コシヒカリ突然変異集団から取得した低ヒ素変異体を利用して、原因遺伝子を単離し遺伝子変異の箇所を明らかにした。また、これとは別の遺伝子座として、Local Basmati由来の低ヒ素遺伝子座を絞り込んだ。これらの両低ヒ素遺伝子座の集積により、コシヒカリと比べて玄米ヒ素濃度を52%低減させることに成功した。また、イネの5つの遺伝子の突然変異により白未熟粒の発生を抑制することが出来ることを明らかにした。

これらの情報に既知遺伝子の情報を加え、耐病虫性、収量性などの500以上の遺伝子についてイネ192品種・系統の遺伝子カタログを構築した。

(2) コムギ変異体集団を活用した迅速な多様性捕捉技術の開発 (DIT1002)

ガンマー線照射やEMS処理により構築した突然変異体集団の形質調査により、穂発芽耐性、硬質性、早生性や短稈性などの栽培特性の改良が期待される有望系統を得た。さらに次世代シーケンサーにより得られるショートリードを参照ゲノム配列にマッピングすることにより欠失、転座などを検出する突然変異体の原因変異同定法を開発し、これまでに穂発芽耐性突然変異体1系統、硬質突然変異体1系統、早生突然変異体1系統、短稈突然変異体1系統を獲得し、これらの原因となる変異遺伝子を同定した。主要品種や小麦の各育種場所の育種材料から構成される遺伝子カタログ作成用の品種セットを作成し、国内5地点、3シーズンの出穂調査および出穂関連遺伝子39個の遺伝子型データを整理した。*Vrn-1*と*Ppd-1*の遺伝子アレルの環境による出穂期への効果を明らかにするとともに、出穂期の2-3日程度の微調整が可能な新規有用遺伝子の同定に成功した。さらに、国内外で育種利用されている既知の実用形質(耐病性、収量性、出穂期等)について、遺伝子78個の遺伝子型調査を実施した。これらのデータをアレルグラフに格納し、遺伝子カタログとして整備した。

(3) 変異を利用したダイズ有用遺伝子カタログの構築 (DIT1003)

圃場で栽培したエンレイに由来するダイズ変異系統群から、矮性・多分枝等の草型変異体10系統を選抜し、このうち、多分枝型として選定したEnT-6158変異体の半矮性と多莢性(多粒性)は、安定的かつ明瞭に形質発現することを明らかにした。また、エンレイに由来するダイズ変異体集団から質量分析計などによる成分分析によりスクリーニングを行った結果、高カルシウム(Ca)、低Caと高モリブデン(Mo)の3系統、高イノシトール、高アラニン、高ピログルタミン酸、高メチオニン4系統の変異体を得た。これらのうち、10変異体について原因となる候補遺伝子の座乗領域を同定した。

有用遺伝子のカタログ化については、開花期・伸育性・脱粒性・粒大・根粒菌共生・耐塩性など27個の既知遺伝子および本課題で特定した種子成分・草型を制御すると考えられる5個の候補遺伝子のアレル情報を整理した。コアコレクション192系統、日米育成系統・品種196系統における各遺伝子のアレル情報を統合し、カタログ化を進めた。

(4) 品種改良を変える新技術の開発 (DIT2001)

農業形質に関与する重複、転座、欠失などの染色体構造変異に関するゲノム情報を取得するためには *de novo* による参照ゲノム配列級のゲノム配列の構築が複数品種・系統について必要である。参照ゲノム配列級のゲノム配列を取得するためには、ロングリードシーケンスや超ロングリードシーケンスによる配列解析とそれを整列化させる解析技術の二つが必要になる。本課題では、ロングリードシーケンサーであるPacBio社のSequel-IIによるロングリード、NovaSeqのショートリードによるエラー訂正、Hi-Cと呼ばれる整列化手法を組み合わせることにより、多収性を示すインド型品種「タカナリ」「北陸193号」について参照ゲノム配列をそれぞれ作成した。また、遺伝子アノテーションを作成した。

イネについて、海外の育種素材や国内の有望系統を追加し、DITコレクションを192品種に拡張し、農業上重要な形質（出穂期、収量性、休眠性、耐病性、耐虫性等）に関わる約400個の有用遺伝子についての遺伝子IDや機能情報等をDIT-Wikiと命名したデータベース上で整理した。複数の遺伝子座のアリルの組み合わせを可視化するツール（アリルグラフ）の開発を行った。さらに、コムギとダイズについても、開花関連遺伝子を中心にカタログ化し、アリルグラフでアリルと形質情報の可視化できるように整備した。

相同組換えの頻度を向上させる技術については、DNAの安定化に寄与するヘリカーゼ変異により組換え頻度が3倍以上に向上した。

本課題では有用遺伝子カタログの構築、すなわち、遺伝子の形質への効果を明らかにするために、イネ突然変異集団から解析対象とする遺伝子の変異体を提供してきた。プロジェクト期間中に遺伝子単離や機能解析のために16の遺伝子について変異体を選抜し、合計979の変異体を獲得した。これらの変異体から、原因変異として非同義置換、ナンセンス変異、フレームシフト変異等をもつ合計471の変異体を提供、固定系統選抜支援を行った。

(5) 果樹類のゲノム編集の実用化に向けたゲノム編集酵素の直接導入によるゲノム編集技術の開発 (DIT3001)

本課題ではカンキツ、リンゴ、ブドウに対して外来DNAを使わずにゲノム編集酵素を直接導入することによるゲノム編集技術の開発に取り組んだ。その結果、カンキツ品種「ハムリン」において2つの色素合成系遺伝子に対して変異が導入された個体が多数得られた。また「麗紅」においては、1つの遺伝子に対して変異個体を2つ得られた。リンゴについて「グリーンスリーブズ」、主要品種X（特許出願準備中のため非公開）の2品種についてゲノム編集酵素の導入について様々な条件を試行し、主要品種Xについて1662個体中34個体で変異を検出した。変異個体についてキメラ性を解除し、全細胞が変異細胞と考えられる個体を3個体獲得した。ブドウに関しては効率を向上させるためにジェミニウイルスベクターを用いた新たなゲノム編集酵素の導入技術の開発を行った。

I-5. 今後の課題

(1) イネ変異を利用した有用遺伝子カタログの構築 (DIT1001)

イネ有用遺伝子カタログを構築することで、交配組み合わせを決める際に、表現型情報だけでなく、形質発現に関与する遺伝子アリルの情報を考慮して交配計画をたてることが可能になった。構築したイネ有用遺伝子カタログの有効活用のために、DIT2001と連携し、農研機構内の品種育成場所への情報提供を行うほか、既知遺伝子の情報に関してはイネのゲノムデータベースであるRAP-DBに掲載する形で公表した。新規遺伝子に関しては、遺伝子ごとに論文化し順次公

開する。また、遺伝資源センターが構築した世界のイネコアコレクションと日本のイネコアコレクションのゲノム情報をもとにした有用遺伝子カタログの成果について論文化した後に、データ等を公開する。有用遺伝子カタログの構築、遺伝子単離の過程で作成された実験系統群の情報も有用遺伝子カタログに掲載し、育種素材としての活用を今後進めていく。

(2) コムギ変異体集団を活用した迅速な多様性捕捉技術の開発 (DIT1002)

コムギ突然変異集団からの形質評価により、穂発芽耐性、硬質性などの品質特性、開花、稈長などの栽培特性の改善に期待できる有望系統を選抜した。Mutmap+解析や全ゲノムシーケンス解析を利用した突然変異体の原因変異特定法を利用することで、突然変異体の育種利用を促進できるものと考ええる。6倍体でゲノムを3組持つコムギでは、2倍体の作物種と比較して遺伝子カタログの情報を品種育成に活用するには時間がかかるため、世代促進や変異の特定を迅速化する必要がある。今後は穂発芽耐性、硬質性、出穂期に加え、収量性や品質などの有用な形質について遺伝子カタログを充実させることで、品種開発に重要な情報を収集・整備し、育種に積極的に利用する体制を構築する必要がある。

(3) 変異を利用したダイズ有用遺伝子カタログの構築 (DIT1003)

約 1000 の変異体系統から表現型が安定した草型ならびに種子成分変異体を選抜し、耐倒伏性に関係する草丈(節間長)、豆腐の硬さに関係するカルシウム、甘味を持つアミノ酸であるアラニン等の成分を制御する候補遺伝子を明らかにした。また、開花期、粒大、耐塩性などに関わる 32 の既知・新規有用遺伝子の多型カタログを作成した。開花期と粒大について、カタログ化した各遺伝子のアレル効果を育成系統で確認した。

対象とした形質とは関係のない遺伝子領域に変異が生じている可能性があるため、今後、特定の品種を利用した戻し交配等で遺伝的背景を均一にし、その変異の遺伝的効果を評価する必要がある。原因遺伝子を特定したものについては DNA マーカーを開発し、育種現場への実装に向けて草型変異体や種子成分変異体の利用を促進する取組みを推進する。

(4) 品種改良を変える新技術の開発 (DIT2001)

水稲、収量性、耐病性、穂発芽耐性、品質等の農業形質に関わる500個以上の有用遺伝子や既知アレル情報の収集を行った。このうちの466個のイネ有用遺伝子については、RAP-DBから公開した。

有用遺伝子カタログに掲載したデータベース (DIT-Wiki) と遺伝子型を可視化するブラウザであるアレルグラフの論文を公表し、品種開発の加速化に向けてこれらを円滑に公開・利用する体制を整備する予定である。今後は、本課題で明らかにしたアレルの遺伝子型の効果を元にして、収量、出穂期、品質等の農業上有用な形質を予測するためのモデルを構築し、品種育成の際の交配組み合わせや後代からの選抜するための情報として提供できる仕組みを整備する必要がある。仕組みの構築にあたって、有用遺伝子カタログはBAC課題 (BAC1001) で開発したBRIMASSに保存、参照可能にする。また、BAC課題で取得したBRIMASSに収容されているイネの形質情報をカタログに掲載し、連携して進める。

(5) 果樹類のゲノム編集の実用化に向けたゲノム編集酵素の直接導入によるゲノム編集技術の開発 (DIT3001)

本課題ではカンキツ、リンゴ、ブドウに対して外来DNAを使わずにゲノム編集酵素導入による直接ゲノム編集に取り組んだ。その結果、カンキツ品種「ハムリン」、「麗紅」、リンゴ、ブドウに関しては効率を向上させるために新たなゲノム編集酵素の導入技術の開発を行った。

リンゴについては、直接ゲノム編集と得られた変異体のキメラ性の解除に成功したが、より効率を高めた、ゲノム編集法の開発が必要である。ブドウについては、導入した細胞内にお

けるRNPの安定化の工夫、選抜のしやすい品種の選択、変異検出の簡便化をはかり、処理数をふやせる実験系を構築する必要がある。また、カンキツについては、標的変異を受け継ぐモザイク性のない植物体を獲得する必要がある。

小課題番号	DIT1001	小課題 研究期間	平成30～令和4年 度
小課題名	1 イネ変異を利用した有用遺伝子カタログの構築		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	農研機構遺伝資源研究センター・ジーンバンク事業技術 室・江花薫子		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

本課題では、既報の有用遺伝子座について対立遺伝子変異（アレル）を塩基配列多型や形質変異から明らかにし、染色体断片置換系統を用いて効果を検証して、イネの有用遺伝子カタログを整備する。また、遺伝解析で同定した新規の有用遺伝子や、農研機構内で利用しているイネMNU誘導変異データベース（RiceMMDB）や北陸193号の突然変異集団を活用したMutMap+解析で検出した遺伝子を含めてカタログ化する。新規遺伝子は、いもち病・もみ枯細菌病抵抗性、トビイロウンカ・ツマグロヨコバイ抵抗性、窒素吸収能、収量関連形質、穂発芽耐性遺伝子、ヒ素吸収、米糠中の機能性成分等に関わる遺伝子とする。カタログの対象品種は、これまでに品種育成や実験系統として利用されているコアコレクション、実験や育種のリソースとして利用されているNAROイネコアコレクションの内、DNAマーカーを用いた分類の結果に基づき、各クレードから一つずつ、合計10品種以上のゲノム断片を保有する染色体断片置換系統の親品種、さらには現在普及が見込まれる新品種、主要品種などから選定し、DITコレクションとして活用する。さらに、イネの有用遺伝子のカタログ化に貢献するため、コシヒカリMNU変異集団のゲノム解析による突然変異をデータベース化、遺伝子に存在する変異を容易に検索できる機能を付与するRiceMMDBと北陸193号突然変異集団から有用変異体を取得し、その原因遺伝子をMutMap+法を用いて敏速に特定することを可能にし、有用遺伝子カタログに必要な遺伝子の効果を取得する。

2) 研究方法

本課題では、イネ品種、系統から構成されるイネDITコレクション、21の供与親品種に由来するゲノム断片に置換された各染色体置換系統、コシヒカリやとよめきの突然変異集団などから、いもち病・もみ枯細菌病抵抗性、トビイロウンカ・ツマグロヨコバイ抵抗性、窒素吸収能、収量関連形質、穂発芽耐性、ヒ素吸収、米糠中の機能性成分等に関わる有用変異の検出を行うとともに、関与遺伝子をQTL解析やGWAS、MutMap+法、遺伝子識別アレイなどの手法によって検出し、検出された遺伝子座については、既報の情報も活用して、アレルの変異を含めたカタログ化を図る。RiceMMDBおよび北陸193号突然変異集団を養成し、農業上有用と思われる変異を持つ系統を見出して遺伝子を特定する。

3) 研究結果

DITコレクションとして、これまでに品種育成や自然変異を研究する実験系統群として利用されているNAROコアコレクション (Kojima Y *et al.* 2005, Tanaka *et al.* 2020)、実

験や育種の素材として利用されているMuha、Tupa 121-3など、染色体断片置換系統 (CSSLs) の親品種、さらには現在普及が見込まれる新品種、主要品種などから96品種を選んだ。さらに、GWAS解析が可能となるように品種数を拡大し、現在は192品種のセットとしてDIT課題の共通素材として利用している。また、RiceMMDB、北陸193号突然変異集団として利用できるように採種を行うとともに、形質評価にも取り組み、高温登熟性が期待される変異を検出した。有用遺伝子の同定に関しては、耐病虫性、収量性、トコフェロール等の成分関係の遺伝子を対象とした。もみ枯細菌病の苗における抵抗性遺伝子*RBG1*を同定した (Mizobuchi *et al.* 2023)。もみ枯細菌病の穂での抵抗性遺伝子*RBG2*については、インド型品種に由来するアリルに新規に抵抗性関与の可能性のある多型を検出した。いもち病抵抗性に関しては*Pit*、*Pish*、*Pib*、*Piz*、*Pi13*、*Pii*、*Pia*、*Pik*、*Pita*、*Pita2*を識別できるいもち病抵抗性遺伝子識別アレイを用いてDITコレクションのこれら遺伝子座の遺伝子型を明らかにするとともに、未同定のいもち病抵抗性遺伝子として*Pit-h*、*Pi19*、*Pi20*の3つの遺伝子をマップベースクローニング法により単離し、アリルの多型と耐病性との関連を明らかにした。ツマグロヨコバイ抵抗性遺伝子*GRH7*座のアリルの活性をCSSLsやCRISPR/Cas9を用いたノックアウト実験により評価し、イネDITコレクションの中に抵抗性アリルが2種類あることを明らかにした。また、トビイロウンカ抵抗性遺伝子*BPHI*座の3種類のアリルに対して200kbにわたるゲノム配列比較から、抵抗性遺伝子の座乗領域外に類似配列が存在し、その類似配列の数等に品種間で多様性があることが明らかにするとともに、マルチプレックスPCR法によるアリルの簡易識別法を開発した (Ikoma *et al.*, 2021)。一度に複数の断片を増幅、配列を解析するマルチプレックスPCR法による解析によりDITコレクションから、*BPHI*座以外に、第6染色体に抵抗性遺伝子座 (*qBPH6*と仮称) を、WRCコアコレクションから第4染色体に主要な抵抗性遺伝子 (*qBPH4*と仮称) を見出した。

収量関連形質については窒素吸収効率について注目し、突然変異体から十分なアンモニア態窒素 (500 μ M: NH_4Cl)、および低い硝酸態窒素 (5 μ M: KNO_3) の条件下において、一次根の総長を促進し窒素を効率的に吸収する新規の窒素吸収関連遺伝子を特定した。また、野生イネ (*O. longisataminata*) 由来の多収性遺伝子の遺伝解析を進め、第4染色体長腕6 Mb内に収量増となる領域を5カ所検出した。ファインマッピングによる領域の絞りこみを継続したが、年次変動の影響で候補遺伝子までは絞り込めなかった。

品質関連遺伝子としては、ヒ素吸収に関して、低ヒ素変異体のMutMap+解析によって、低ヒ素吸収に関連する遺伝子変異 (*Ias4*) を明らかにした。また、Local Basmati由来の低ヒ素遺伝子座 (*qAs1*) をQTL解析によって第1染色体上の0.6Mb領域に絞り込んだ。*Ias4*と*qAs1*を集積すると、コシヒカリに比べて玄米ヒ素濃度が52%低減し、*Ias4*および*qAs1*の単独での効果よりもヒ素低減量が高い結果が得られた。米糠機能性成分に関しては、コアコレクションやDITコレクション、CSSLs等のリソースを対象として、トコフェロールおよびトコトリエノールを測定し、関連遺伝子領域の推定を行った。

育種素材として作成したRiceMMDBデータベースから検出した有望変異系統のコシヒカリへの戻し交雑系統を作出し、*PLDa1*、*PLDb2*、*PLA2-3*、*RbohC*、*RbohG*の5遺伝子が高温登熟性を向上させることを明らかにした。さらに、北陸193号M2とM3系統約3,000個体から、これまでに早生性、高粒重性、高収量性、難脱粒性、を示す4系統を選抜しNGS解析を実施した。

4) 成果活用における留意点

各遺伝子の情報に関して、論文投稿中の*RBG1*は、論文受理後にDITコレクションの形質値

およびアレルタイプは公開する。イネいもち病抵抗性遺伝子の識別アレイによるいもち病抵抗性遺伝子型の評価は、原因遺伝子近傍の塩基配列をDNAマーカーにより判別した結果であることに留意する必要がある。窒素吸収能関連遺伝子については、確実なDNAマーカーを開発するために、原品種のアレルを特定してから、育種に用いる必要がある。*O. longistaminata*由来の「HLoIL27」には登熟に関する収量関連形質に関わる遺伝子座が複数存在しており、原因遺伝子の特定には至っていない。低ヒ素吸収能については、関与遺伝子をDNAマーカー育種により他の品種に導入することで、玄米ヒ素濃度は4割～5割減が期待できるが、種子稔性に影響を及ぼす可能性があり、今後の検討が必要である。玄米機能性成分に関しては、多数の遺伝子による影響を受けていると考えられるが、RiceMMDBから確定した高温登熟性を向上させる遺伝子のうち*PLDa1*、*PLA2-3*、*RbohC1*は、収量性がコシヒカリより低く、実用化に向けた収量性改善の取組みが必要である。

5) 今後の課題

イネの病虫害抵抗性、収量性、穂発芽耐性や重金属吸収性、高温登熟性などの品質に関して、DITコレクション内の既知や新規有用遺伝子のアレルやその効果を特定した。

DITコレクションについてはプロジェクト内でデータおよび種子を公開しており、DIT2001と連携して公開可能な情報から順次公開する。以下に記述する各遺伝子多型に関しても、農研機構内での育種利用を進めるほか、論文などで公開された時点で遺伝子カタログに追加、公開する。

もみ枯細菌病抵抗性では、実際の利用場面を想定して、他の研究成果(*RBG*遺伝子の集積、干渉作用により病害を抑制する菌の利用、高温蒸気による種子消毒技術等)と組み合わせることにより減農薬栽培技術の開発が必要である。

耐虫性遺伝子座は遺伝子の重複により遺伝子が複数並んだクラスターを形成し、系統によって重複する遺伝子の数が異なる事例があり、候補遺伝子を同定し変異アレルを解析することが困難な場合がある。今後、ゲノムの構造に多様性がある耐虫性遺伝子座のアレルを比較する場合は、ロングリードシーケンス解析を併用することで、解析情報の正確性が増すと期待される。

窒素吸収効率に関するアレルの評価は、本研究では水耕栽培で行っているため、実際の利用を想定した多地点の水田での特性を確認する必要がある。*O. longistaminata*に由来する収量関連形質について、*O. longistaminata*はAゲノム野生種の中では*O. sativa*とは最も遠縁にあたり、変異の蓄積が豊富である一方で、対象とする染色体領域に*O. sativa*集団には存在しない比較的大きな塩基配列の挿入などがあるため候補遺伝子の単離は難しい可能性がある。

低ヒ素吸収に関しては、ヒ素の吸収を抑制することで、他のイオンの吸収などへの影響が懸念されるため、関与遺伝子の機能について詳細な解析が必要である。

<引用文献>

Ikoma M., Hatakeyama Y. & Tamura Y. (2021) Development of a multiplex PCR system to discriminate the alleles of the brown planthopper resistance locus *BPHI* in rice (*Oryza sativa* L.) *Appl. Entomol. Zool.* 56, 133-137.

Kojima Y et al. (2005) Development of an RFLP-based Rice Diversity Research Set of Germplasm. *Breeding Science* 55: 431-440.

Tanaka N et al. (2020) Whole-genome sequencing of the NARO World Rice Core Collection (WRC) as the basis for diversity and association studies. *Plant and Cell Physiology* 61: 922-932.

Mizobuchi, R., Sugimoto, K., Tsushima, S. et al. (2023) A *MAPKKK* gene from rice, *RBG1res*, confers resistance to *Burkholderia glumae* through negative regulation of ABA. *Sci Rep* 13, 3947. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-30471-9>

小課題番号	DIT1002	小課題 研究期間	平成30～令和4年 度
小課題名	2 コムギ変異体集団を活用した迅速な多様性捕捉技術の開発		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	農研機構作物研究部門・作物デザイン開発グループ・小林 史典		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

きたほなみやチクゴイズミのコムギ突然変異体集団から、出穂日、稈長などの栽培特性の形質改善が期待される有望個体を選抜する。これらの形質変異を支配するDNA変異を特定する技術を開発し、上記有望個体の原因遺伝子の同定を目指す。また、イネの先行研究により明らかにされているカドミウム低吸収性遺伝子のコムギ突然変異体を選抜し、その効果を圃場試験により検証する。出穂性や品質に関する既知の遺伝子について、コムギ突然変異体集団を用いて自然変異を調査する。これらにより、病害抵抗性、穂発芽耐性、硬質性、稈長等の形質について、合計10以上の有用遺伝子を選定し、品種や育種材料についてアリルと形質データとを合わせた遺伝子カタログを作成する。

2) 研究方法

本研究では、コムギの安定生産に関わる病害や障害、出穂性などに着目し、これら形質に関わる有用遺伝子の同定とカタログ化を目標とする。そこで、突然変異体集団を用いた順遺伝学および逆遺伝学的手法により、有用遺伝子の探索を行う。順遺伝学的手法としては、ゲノムが巨大なコムギに適した次世代シーケンサーを利用した遺伝子同定技術の開発を行うとともに、形質調査によって得られた有望個体の原因遺伝子の同定を目指す。逆遺伝学的手法では、イネで同定されているカドミウム低蓄積が見込まれる有用遺伝子のコムギ変異体をガンマー線照射集団及びEMS処理集団から選抜し、そのコムギ相同遺伝子の有用性を圃場試験により検証する。また一方で、既知遺伝子については、育種利用を促進するために、農業上有用な形質に関わる遺伝子、特に*Ppd-1*、*Vrn-1*等の出穂関連遺伝子39座に着目し、コムギDITコレクション136品種が保有するアリル情報を整理する。これにより、遺伝子情報と形質データとを統合して遺伝子カタログとして整備し、事業育種の現場に提供する。

3) 研究結果

コムギ突然変異体集団（3,000系統）の形質調査により、穂発芽耐性、硬質性、早生性、短稈性の改良が期待される有望系統を選抜した。NGS解析によるMutMap+解析の事例が報告されていない中、次世代シーケンサーを用いたショートリードの参照配列へのマッピングによる突然変異体の原因変異同定法を開発し、これまでに穂発芽耐性突然変異体、硬質突然変異体、早生突然変異体、短稈突然変異体の原因変異の特定に成功した。

カドミウム吸収関連遺伝子の突然変異系統から選抜した欠失突然変異体の形質調査から、カドミウム蓄積を低減する可能性が示されたので、コムギのA、Bゲノムに座乗する2つの遺伝子の変異の集積を進めている。主要品種や小麦の各育種場所の育種材料から構成される遺伝子カタログ作成用の品種セットであるコムギDITコレクションを作成し、国内5地点、

3シーズンの出穂調査による表現型データおよび出穂関連遺伝子39個の遺伝子型データを整理した。これまで育種現場で利用されてきた主働遺伝子の遺伝子型情報を再整理することで、新規アレルの出穂期への効果を明らかにするとともに、2-3日程度の出穂期の微調整が可能な新規有用遺伝子の同定に成功した。さらに、国内外で育種利用されている既知の実用形質（出穂、稈長、収量性、病害抵抗性、ストレス耐性、品質他）について、遺伝子78個の遺伝子型調査を実施した。これらのデータをアレルグラフに格納し、遺伝子カタログとして整備した。

4) 成果活用における留意点

本研究では、国内で広く栽培されている主要品種を変異集団の材料としているため、有用な母本が得られれば、直ちに実用品種開発に向けた育種素材として利用できる。さらに、本研究で開発した次世代シーケンサーによるショートリードの参照配列へのマッピングによる有用形質の原因変異同定技術によって、有用形質の選抜・導入に利用可能なDNAマーカーの開発が可能である。これらをセットとして利用することで、品種育成が効率化できる。また、本研究で整備したコムギの遺伝子カタログに関して、特に出穂性では、北海道から九州までの国内5地点での3シーズンの出穂データと39遺伝子のアレル情報が、DIT2001で開発されたアレルグラフに格納された。各品種や系統が保有する遺伝子の組合せを視覚化できると同時に、各品種・系統の特定の地点における出穂期の分布を確認でき、交配組合せの参考情報として利用できる。

5) 今後の課題

突然変異集団からの有用変異の選抜と原因遺伝子の特定に取り組み、有用変異とそれを育種利用するためのDNAマーカーの開発を行った。突然変異体の利用技術については、有用形質を保有する個体の選抜から原因変異の特定とDNAマーカーの開発に至る、一連の育種素材開発のためのツールを確立した。しかし、安定的な評価が耐病性や耐凍性など難しい形質もあり、人工的に環境を再現して評価する手法を用いた一連の育種素材開発も並行して必要であると考え。また、逆遺伝学的に目的遺伝子の突然変異個体を選抜することは比較的容易だが、変異を集積するための交配と選抜に時間がかかるため、迅速に育種素材に戻し交配等で変異を導入し素材開発することが課題である。突然変異体を利用した迅速な育種素材の開発に向けて、世代促進設備の普及と変異の選抜・導入用のDNAマーカー、特に遺伝子欠失判定用の共優性マーカーの開発を推進する必要がある。遺伝子カタログについては、本研究では特に出穂関連遺伝子のコーディング領域のアレル情報を整備した。出穂関連遺伝子の発現パターンは出穂変異と関連することから、発現調節領域の調査しカタログに情報を反映させることも今後は必要と考える。

小課題番号	DIT1003	小課題 研究期間	平成30～令和4年度
小課題名	3 変異を利用したダイズ有用遺伝子カタログの構築		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	農研機構作物研究部門・作物デザイン研究領域・作物デザイン開発グループ・李鋒（R4）、平賀勸（H30～R3）		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

ダイズの参照ゲノム配列が公開されて以降、病虫害抵抗性や開花期などの重要形質を中心に遺伝子が特定されてきた。一方、複数の遺伝子によって制御され、環境による表現型の変動が大きいと考えられる草型や種子成分を制御する遺伝子の情報は十分ではなく、両形質は、未だに栽培試験や機器分析の結果に基づいて選抜される。また、これまでに特定された遺伝子に関しても、ごく一部の品種・系統のアリルしか明らかになっておらず、ダイズ遺伝資源の多様性を十分に活用できていない。本小課題では、交配組合せの的確な選定やDNAマーカーを用いた後代選抜による、実需者ニーズに応じた効率的かつ迅速な品種開発を可能にする基盤を開発する。

このため、本研究では、草型や品質の制御に関わる新しい有用遺伝子を明らかにするとともに、遺伝子情報を育種に利用しやすくするために、主要な品種がもつ農業上有用な遺伝子の一覧とそれぞれの品種が持つ遺伝子の効果の程度を記載した「遺伝子カタログ」を作成する。

2) 研究方法

(1) ダイズ草型変異の特定

生産性や耐倒伏性などダイズ栽培に大きな影響を及ぼす草型の変異体を得るため、国産品種エンレイの変異系統群約1,000系統から変異体候補を選抜し、東北農研（秋田県大仙市）もしくは作物研（茨城県つくば市）の2地点における栽培試験により、表現型の安定性を評価した。安定性が認められた変異系統は、野生型エンレイと戻し交配し（東北農研・大豆育種グループ）、原因遺伝子の変異特定のための遺伝解析集団（F₂およびF₃）を作出し、圃場で栽培して表現型の分離を確認した。明瞭な分離が確認された場合は、NGS-BSA解析の材料とした。

外観により多分枝と判定した EnT-6158（繁茂）について、東北農研（秋田県大仙市）と作物研（茨城県つくば市）の圃場で栽培して表現型の安定性を評価すると共に、分枝数や多莢性・多粒性の数値データを取得した。また EnT-6158 はエンレイ（野生型）より主茎長が短く耐倒伏性があることから、密植栽培適性を確認するために栽植密度を標準栽培の2倍にして東北農研の2圃場で草型の表現型を数値化するとともに収量性を評価した。

(2) ダイズ種子成分変異の特定

豆腐加工適性や健康機能性等の制御に重要な種子成分の変異体を得るため、(1)と同じ変異系統約1,000系統について種子粉を調製した。ICP-MSによるイオノーム解析やGC-MSによるメタボローム解析で変異系統群をスクリーニングし、無機成分含量や一次代謝産物含

量の変異体を探索した。選抜された変異体候補を2地点（茨城県つくば市と秋田県大仙市刈和野）で栽培し、表現型の安定性を評価した。有望な変異系統は、野生型エンレイと戻し交配し（東北農研・大豆育種グループ）、原因遺伝子の変異特定のための材料養成を進めた。交配の後代F₂とF₃集団を圃場で栽培して表現型の分離を評価し、明瞭な分離が確認された場合は、NGS-BSA解析の材料とした。

（3）ダイズ有用変異原因遺伝子の特定と変異の拡大

（1）や（2）で特定された変異体の遺伝解析集団の形質評価の結果に基づいて、表現型の差が明確な個体群のDNAを抽出し、野生型個体群と変異体個体群それぞれにひとまとめに（バルク化）した。次世代シーケンサーで20倍ゲノム以上のクリーンリードを得、クリーンリードをMutMap+パイプラインや独自開発したパイプラインで解析し、出力されたSNP indexプロット等から、原因遺伝子の座乗領域を探索した。座乗領域が見出された場合は、その領域内のORFでSNP indexの高い遺伝子を探索し、原因遺伝子候補とした。

文献調査や国内ダイズ研究者への聞き取り調査などにより、農業形質を制御することが明確となっているダイズ遺伝子の情報を収集した。古四倍体起源のダイズではほとんどの遺伝子が重複していることから、パラログの情報も収集し、あわせて整理した。項目として、制御する形質、遺伝子ID、遺伝子記号、コードするタンパク質の名称と機能、座乗染色体（連鎖群）、位置と長さ（品種Williams 82のゲノム塩基配列上の座標に基づく）、特定遺伝資源に見られる遺伝子（アリル）の場合はその遺伝資源名、発表文献情報、文献URLを収集した。

アリル情報がある既知の有用遺伝子および本課題で特定した候補遺伝子合計32遺伝子について、国内および海外品種からなるコアコレクション192系統、日米育成系統・品種196系統の全ゲノム情報から各遺伝子のアリルを推定し、アリルグラフにより可視化した。

カタログ化した有用遺伝子の効果を検証するため、日米育成系統・品種196系統および、「コスズ」と「里のほほえみ」の交配に由来するRILs（155系統）を作物研圃場で栽培し、開花期・粒大の調査を行った。

カタログ化した有用遺伝子を用いた表現型予測のパイロット版として、コアコレクションにおける13の開花期既知遺伝子アレル情報および2011～2013年（つくば圃場）の開花期表現型データを利用して、開花期の予測モデルを構築した。構築したモデルは、日米育成系統・品種196系統の開花期表現型データ（2022年つくば圃場）を用いてその精度を検証した。

3) 研究結果

（1）ダイズ草型変異の特定

圃場に栽培したダイズ変異系統群から、矮性、多分枝、下位節分枝等の草型変異体候補を137系統選抜し、それらを、栽培上の重要性、表現型の明確さ、育種家の評価に基づいて、37系統に絞り込んだ。つくば市と大仙市それぞれで、これら37系統（M₃世代）を栽培し、表現型の安定性を評価した。表現型が明確に遺伝し、なおかつつくば市と大仙市で再現良く表現型が観察された約半数の系統のうち、表現型の分離が観察されなかったものを中心に10系統を野生型エンレイと戻し交配し、F₁種子を得た。10変異体のF₂集団を、大仙市とつくば市の圃場で栽培し、変異表現型の分離を調査した。4系統（矮性、多分枝、開帳、および主茎屈曲）のF₂個体表現型の分離を確認した。F₃世代で再確認したところ、主茎屈曲と開帳の程度が不安定で分離も不明確であった。外観により多分枝と判定したEnT-6158について、栽培場所や年次により、エンレイ比べて分枝数・主茎節数に差は認められなかったが、多粒性、かつ主茎

長が短く、耐倒伏性が優れているため、東北農研の畑圃場および水田転換畑圃場において、密植無培土栽培による形質および収量性を調査した。収量関連形質を比較すると、EnT-6158の収量は畑圃場では33.5kg/a(エンレイ比109%)、水田転換畑では31.0kg/a(エンレイ比89%)となり、圃場により異なっていた。

EnT-6158変異体の半矮性と小粒、多粒性の関連性を明らかにするため、F₃集団の主茎長の測定結果に基づき、表現型の差が明確な系統群をそれぞれ半矮性と野生型系統群とし、全粒重、百粒重および個体粒数の調査を実施した。作物研圃場では、半矮性系統の個体全粒重と百粒重の平均値は野生型系統に比べそれぞれ12.0、14.7%減少したが、個体あたりの粒数は有意な差が観察されなかった。東北農研圃場も同様の結果が得られた。

(2) ダイズ種子成分変異の特定

圃場に栽培したダイズ変異体集団(M₂'世代、997系統)のうち、種子が得られた988系統(6,381個体)の種子を粉砕し、イオノーム解析とメタボローム解析による成分変異体スクリーニングを行った。

無機成分変異体については、イオノーム分析で得たデータに基づき、土壌の養分ムラ等の栽培位置による影響を考慮した上で、原品種と差が認められた34系統を選抜した(増加の場合は最大50%、減少の場合は最大30%)。後代における表現型安定性を評価するため、圃場での栽培試験を行い、高カルシウム(Ca)、低カルシウム(Ca)と高モリブデン(Mo)の3系統に絞り込んだ。

一次代謝物に関する変異体については、集団中に含まれる変異の検出効率を優先し、988系統の各1個体より得られた種子を粉砕した試料を用い、GC-MSで再現性良く検出された39化合物を対象として変異体候補の一次スクリーニングを行った。その結果、顕著な含量変化を示した26系統の代謝変異体候補を得た。そこで、候補系統の全個体(~8個体/系統)の分析による二次スクリーニングを行った結果、22系統については全個体あるいは一部の個体において表現型の変化が認められた。これらの22系統について、翌年度に複数圃場での栽培試験による表現型の安定性を確認したところ、表現型が固定されており有用性が高くかつ生育も良好な4系統の変異体(高イノシトール、高アラニン、高ピログルタミン酸、高メチオニン)を得た。

原因遺伝子を特定するためのNGS-BSA解析に向けて、選抜系統と原品種を交配したF₂集団の養成および栽培試験を順次進め、F₃種子を粉砕し、イオノーム解析とメタボローム解析を行った。その結果、3つの種子成分変異体系統(高Mo、低Caおよび高Ca変異体)と親系統の交雑に由来するF₂集団において、それぞれの成分の分離をイオノーム解析によって確認した。また、他の3つの種子成分変異体系統(高イノシトール、高アラニンおよび高ピログルタミン酸変異体)と親系統の交雑に由来するF₂集団において、それぞれの成分の分離をメタボローム解析によって確認した。高メチオニン変異体とのF₂集団については、表現型の分離が確認されなかった。

(3) ダイズ有用変異原因遺伝子の特定と変異の拡大

草型、種子成分変異体の原因遺伝子探索については、NGS-BSAにより、短節間・矮性・高Ca・低Ca・高イノシトール・高アラニン・高ピログルタミン酸、合計10変異体の候補遺伝子領域について座乗領域を同定した。候補遺伝子が明らかとなっている変異体に関しては、遺伝解析集団において、遺伝子型と表現型の関連性を確認した。

有用遺伝子のカタログ化については、開花期・伸育性・脱粒性・粒大・根粒菌共生・耐塩

性など27個の既知遺伝子及び本課題で特定した種子成分・草型を制御すると推定される5個の候補遺伝子のアレル情報を整理した。コアコレクション192系統、日米育成系統・品種196系統における各遺伝子のアレル情報を統合し、カタログ化を進めた。

カタログ化した開花期有用遺伝子の効果を検証するため、日米育成系統・品種196系統でアレルが分離する10遺伝子について、開花期に対する各遺伝子の効果をANOVAにより解析した。粒大に関しては、3つの既知遺伝子のうち、*PPC2-1*遺伝子は日米育成系統・品種196系統で大粒型アレルにほぼ固定されていることが明らかとなった。残りの2つの既知遺伝子(*GmKIX8-1*と*GmSSSI*)の効果を検証するため、*GmKIX8-1*と*GmSSSI*が分離するRILs(155系統)を用いてその効果を確認した。

カタログ化した有用遺伝子を用いた表現型予測については、日米育成系統・品種196系統において分離し、かつ欠損データが少ない7遺伝子のアレル情報とコアコレクションの開花期データを用いて予測モデルを構築した。このモデルを用いて日米育成系統・品種196系統の開花期を予測したところ予測精度(r)は0.761であった。

4) 成果活用における留意点

特になし。

5) 今後の課題

ダイズEMS集団から成分や草型の変異体を選抜し、MutMap+法により原因遺伝子を特定した。有用変異とそれを検出するDNAマーカーを開発することで、育種利用を可能にした。草型変異体EnT-6158に関して、半矮性遺伝子候補領域の小粒、多莢性などへの効果の確認が必要である。また、収量性等の評価も、戻し交配により遺伝背景の影響を除去した上で、複数年にわたり圃場試験を行う必要がある。

種子成分変異体の育種利用については、同定された原因遺伝子候補をDNAマーカーとして利用した戻し交配により遺伝背景の影響の除去と評価が必要である。

本課題で同定した候補遺伝子や、今後明らかに遺伝子について、遺伝資源と育成系統に存在するアレルの特定とその効果の評価を行い、カタログの充実化を図ることが必要である。突然変異集団から得られた有用な形質を示す系統の遺伝子情報を農研機構内で共有し、大豆の品種改良に活用する。論文公表後はMTA等を通して、変異体とDNAマーカーをセットにして提供することにより、育種利用の利便性向上に努める。

小課題番号	DIT2001	小課題 研究期間	平成30～令和4年 度
小課題名	4 品種改良を変える新技術の開発		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	農研機構作物研究部門・作物遺伝子機能評価グループ・堀 清純		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

我が国のイネ品種の育成に有用な、インド型品種を始めとした複数の品種について、ゲノム情報を整備し、既存の「日本晴」参照ゲノム配列のみでは困難であった日本型品種以外の多様なイネ品種を対象としたアレル情報の収集、GWASやGS、変異体集団の解析等に利用できる体制を整備する。

病虫害抵抗性、収量性、品質等の重要な農業形質に関わる遺伝子について、遺伝子単離や機能解析に関する論文が数多く公表されている。しかしながら、データベース上の遺伝子IDとの対応や、どの品種がどのアレルを持ち、どのような形質を示すのかといったような情報は一元的に整理されていない。本課題では、イネ、ムギ、ダイズの重要な遺伝子について、すでに報告されている論文を精査し、機能情報や既知のアレル情報を整理することで、遺伝子カタログ基盤を構築する。

品種育成の交配育種においては、交配により両親に由来する遺伝子セットをシャッフルし、よりよい遺伝子組合せを持つ個体を新たに作出することで、目的とする子孫を得る。そこで、本課題では突然変異により交叉頻度を向上させる技術を開発する。

遺伝子の最終的な特定には遺伝子組換え体による相補性試験、あるいは、候補遺伝子の突然変異による形質の発現が必要である。本課題では農業形質を扱うため、主に圃場での解析が可能な突然変異体を特定のために利用する。本実施課題では課題内での遺伝子特定のためにこれまでに作成したコシヒカリ等の突然変異ライブラリーからTILLING法やHRM法により候補遺伝子変異体を取得、提供するほか、固定系統選抜支援を行う。

2) 研究方法

複数のシーケンシング技術を活用し、効率よく参照ゲノム配列級のゲノム配列や遺伝子アノテーションを作成する技術をロングリードシーケンスとこれにより得られた配列（コンテイング）を整列化する技術を組み合わせ、参照ゲノム配列級のゲノム配列を安価に取得する技術を開発する。

公表されている文献情報を精査し、遺伝子の情報、遺伝子型情報を整理し、既知遺伝子の情報をデータベース化する。DIT2001では、水稻を解析するDIT1001、小麦を解析するDIT1002、大豆を解析するDIT1003と連携し、近年育成された品種や優良な系統のゲノム配列を解析し、遺伝子型の情報として収容し、有用遺伝子カタログを構築する等、情報処理を担当する。さらに、それぞれの品種の表現型情報と遺伝子型情報を元に遺伝子型による効果を明らかにするとともに、遺伝子型の効果を可視化するアレルグラフを開発する。

品種育成においては交配により遺伝子をシャッフルすることで、幅広い変異を持つ子孫が得られると考えられる。そこで、本小課題ではDNAの安定性に寄与することが知られているヒト遺伝子のイネ同祖遺伝子の変異体をTILLING法やHRM法により取得し、組換え頻度を向上させる。

これまでにEMS、ENU、DEB、NMUなどの変異原で処理して構築してきた突然変異ライブラリーからTILLING法やHRM法により候補遺伝子変異体を取得し、DIT1001の課題担当者の遺伝子の特定および遺伝子カタログの構築のために提供する。また、DIT1001課題において変異を固定した系統の選抜も支援する。

3) 研究結果

Pacific Bioscience (PacBio) 社やOxford Nanopore Technology (ONT) 社のシーケンサーによるロングリード、Illumina社のシーケンサーによるショートリードタイプのゲノムシーケンスデータ、Hi-Cデータ等を用いて、多収性をもつインド型品種「タカナリ」「北陸193号」の2つの参照ゲノム配列を作成した。また、PacBioシーケンサーによって解読した完全長cDNA配列 (IsoSeqデータ) やRNA-Seqデータ等を用いた遺伝子アノテーションを作成した。

海外の育種素材や国内の有望系統を追加し、DITコレクションを192品種に拡張した。農業上重要な形質 (出穂期、収量性、休眠性、耐病性、耐虫性等) に関わる約400個のイネ有用遺伝子についての遺伝子IDや機能情報等を整理した。また、各遺伝子領域中に存在する多型情報をもとにアレルの分類を支援するツールを開発し、イネの開花や食味、草型等に関する約30個の遺伝子座についてアレル情報を整理した。複数の遺伝子座のアレルの組み合わせを可視化するツール (アレルグラフ) の開発を推進し、アレル情報と形質情報を合わせて閲覧できるように機能を追加した。また、イネに加えて、DIT課題内の課題間連携としてコムギとダイズについても、開花関連遺伝子を中心にアレルと形質情報をカタログ化し、アレルグラフで可視化できるように整備した。有用遺伝子情報を作物横断的に利活用できるような基盤整備として、イネ、コムギ、ダイズ等のオルソログ情報の整備を行った。

DNAの安定化に寄与するヘリカーゼ遺伝子の変異体をMNU、ENU、アジ化ナトリウムで処理したコシヒカリに由来する変異体集団から取得し、タカナリゲノムを持つ染色体断片置換系統と交配することにより、交叉頻度を向上させるヘリカーゼ変異を含む染色体断片をホモ接合で保持し、他の染色体領域はヘテロに持つ個体を選抜した。その後代での置換領域の交叉頻度をDNAマーカーにより調査した結果、ヘリカーゼ変異により交叉頻度が変異を持たない集団より3倍以上向上した。

遺伝子単離や機能解析のためにコシヒカリやとよめきに由来する突然変異体集団8,800系統からスクリーニングし、穂発芽耐性、高温登熟性、重金属吸収性などの形質に関連する16の遺伝子の変異体をTILLING法により選抜した。合計979の変異体を取得し、このうち原因変異として非同義置換、ナンセンス変異、フレームシフト変異、合計471の変異体を提供し、変異の固定系統の選抜支援を行った。さらに、全ゲノムを対象としたNGS解析では解読が困難なGC含量の多い配列などの遺伝領域の配列を取得するために、アンプリコンリシーケンスに取組み、本課題で設定した約700箇所 of 難解読領域の内、約600箇所 (1カ所あたり約250-bp) の解読に成功した。

4) 成果活用における留意点

本課題で構築したイネ遺伝子の情報を収集した遺伝子カタログは世界的に見ても類を見

ない情報量となっており、品種育成への利用が期待できる。一方で、ここで集約した遺伝子型はイネの形質変異を説明するすべての遺伝子を網羅しているわけではないため、今後、カタログの情報を拡充して、説明できる割合を高める。

5) 今後の課題

イネDITコレクション192品種のゲノム情報を解析し、約500の有用遺伝子のアリルを調査、データベース（DIT-Wiki）と遺伝子の塩基配列を参照することが出来るブラウザーであるTASUKEに收容した。さらに、有用遺伝子カタログと遺伝子型のブラウザーであるアリルグラフの論文を公表し、これらを公開することで、品種開発への実装につながることが重要な課題である。今後は、遺伝子型の情報を可視化するアリルグラフの機能をさらに高め、わかりやすいインターフェースや便利な機能を付与する。また、食料安全保障や環境負荷低減といった複雑な農業形質を改良するための収量性や肥料応答性などの情報が不足していることから、継続した形質情報の収集が必要である。

本課題で明らかにしたアリルの遺伝子型の効果に関する情報を利用して、病虫害抵抗性、収量性、品質等の農業上有用な形質を予測するためのモデルを構築するとともに、品種育成の際の交配組合わせや後代からの選抜するためのアリル情報を提供できる育種支援ツールの構築が必要である。また、データベースは絶えず最新の情報を追加することにより価値が高まるものであることから、今後も継続的に遺伝子の情報を収集し続けることが重要である。

小課題番号	DIT3001	小課題 研究期間	平成30～令和4年度
小課題名	7 果樹類のゲノム編集の実用化に向けたゲノム編集酵素の直接導入によるゲノム編集技術の開発		
小課題 代表研究機関・研究室・研究者 名	農研機構・生物機能利用研究部門・今井亮三		

II. 小課題ごとの研究目的等

1) 研究目的

本研究課題では果樹類のゲノム編集技術の実用化に不可欠な基盤技術となるCRISPR/Cas9リボヌクレオプロテイン(RNP)等の果樹細胞へのゲノム編集酵素の直接導入による変異誘発手法を開発し、新たな攻めの切り札となる果樹類の新しい育種技術を確立する。また、変異体の効率的な獲得に向けて、葉片やシュート頂、エンブリオジェニックカルス等へゲノム編集酵素を効率的に導入するためのデリバリー条件の最適化、変異が誘発された細胞を選択的に個体再生させるための変異個体の可視化手法等を開発する。

これらの技術開発の中で、リンゴでは実用遺伝子の変異導入による形質改善、ブドウではレトロトランスポゾン*Gret1*の除去による赤色へ果皮色の変化した「シャインマスカット」等、カンキツではカロテノイド生合成遺伝子の変異導入による色調の異なる「麗紅」等のカンキツの開発も目指す。

2) 研究方法

リンゴ:

リンゴ組織へのゲノム編集酵素のデリバリー

リンゴ組織に対して、RNPを金粒子(パーティクル)にコートし、パーティクルガン法によるガスの圧力、打ち込み回数、金粒子の大きさ、組織による違いなど、蛍光タンパク質の打ち込みにより最適化した。次に最適化した条件によりゲノム編集酵素を打ち込んだ。

打ち込み処理後、標的遺伝子の変異をPCR法による増幅と制限酵素処理により検出するCAPS解析と次世代シーケンサーであるMiseqを用いたアンプリコンシーケンスを行い、変異検出を行った。

リンゴ培養系の研究

RNPの導入材料として、珠心胚やエンブリオジェニックカルスも利用できるほうが望ましい。そのため、珠心細胞由来カルス、茎頂由来カルス、葉片について培養手法の検討、RNPの打ち込みを行った。

開花後20、30、40日の種子から胚嚢を除いた珠心を取り出し培養を行った。形成した不定胚、カルスを用いてSSRマーカー、S遺伝子型による親品種との異同を調査した。

葉切片をシュート再分化培地に置床し、置床後3～20日間の器官分化を観察した。

ブドウ:

パーティクルガン法によるガスの圧力、打ち込み回数、金粒子の大きさ、ブドウの組織による違いなど、蛍光タンパク質の打ち込みにより最適化した。次に最適化した条件によりゲ

ノム編集酵素を打ち込んだ。

温室内の鉢植え植物、あるいはインキュベーターで水挿ししたブドウの茎頂を滅菌後、クリーンベンチ内でシュート頂を切り出し、1 μ M BAを含んだ1/2MS培地（1%寒天）に挿した。翌日PPMを含んだ同培地（7%寒天）に挿し、PDS（フィトエン不飽和化酵素；phytoene desaturase）を標的とするRNPをコーティングした金粒子（0.3 μ m）を打ち込んだ。翌日GFP蛍光を確認するとともに、PPMを含まない同培地（0.85%寒天）へ継代し、白い葉についてDNA抽出し、変異検出を試みた。

シャインマスカットのエンブリオジェニックカルスに対して、PDSを標的とするRNPをコーティングした金粒子（1.0 μ m）をGFPプラスミドとともに打ち込み、不定胚形成を経て再分化させた。GFP発現カルス、不定胚、再分化植物体について変異検出を試みた。

ジェミニウイルスベクターにゲノム編集酵素遺伝子とガイドRNAを搭載して、ゲノム編集効率を高めるつくばシステムの改変ベクターをブドウ用に構築した（生物研遠藤氏）。構築したベクターをアグロバクテリウムLBA4404へ導入した。

カンキツ：

種子珠心胚茎頂部へのパーティクルガン法によるガスの圧力、打ち込み回数、金粒子の大きさ、蛍光タンパク質の打ち込みにより最適化した。次に最適化した条件によりゲノム編集酵素を打ち込んだ。

種子珠心胚茎頂を露出させCas9タンパク質および*in vitro*合成したgRNAを金粒子にコートし、カンキツ胚へ打ち込んだ。

変異導入が確認された「麗紅」および「ハムリン」オレンジを育成し、標的遺伝子における変異導入を調査した。

エンブリオジェニックカルス及び上胚軸へのパーティクルガン等によりアルビノ化を誘導する（PDS-ALB）gRNAのRNPを導入した。

エンブリオジェニックカルスから単離したプロトプラストへPEG法でRNPを導入した。

3) 研究結果

リンゴに関しては、培養物へのパーティクルガン法によるゲノム編集酵素の直接導入により、品種「グリーンスリーブズ」の*Phytoene Desaturase*遺伝子、わが国の主要品種の遺伝子（特許出願準備中のため、非公開）について変異導入に成功した。「グリーンスリーブズ」については166個体へのパーティクルガン処理を行い、処理6週間後に3個体について変異配列が得られ、このうち1個体については少なくとも処理11週間まで変異が維持された。

主要品種の実用遺伝子について、1662個体への処理を行い、処理3か月後に次世代シーケンス解析を行い、変異配列が全体の3%以上の個体を34個体獲得した。複数種類の変異を有する個体や変異が消失する個体も存在したため、その後も変異を維持できた6個体について再分化を誘導し、再分化個体の次世代シーケンス解析結果から、約600リード全てが同じ変異でありキメラ性が解除できたと考えられる3個体を獲得した。それらの標的変異は、それぞれ2塩基欠損、27塩基欠損、1塩基欠損であり、キメラ性解除個体の獲得効率は0.2%であった。

ブドウにおいては、培養植物の茎頂は非常に小さく剥き出して露出出来ないため、温室で育てた植物体等から茎頂を採取し、パーティクルガン法による導入条件を検討した。そ

の結果、GFPプラスミドのみの導入ではGFPスポットが多数認められたが、同条件でRNPを打ち込んだところ、共導入したGFPプラスミドによるスポットは最大5個程度で、茎頂全体が光るものは得られなかった。さらに、打ち込み後の茎頂の生育条件について、滅菌処理や培地組成を検討したが、腋芽の成長が強く、茎頂の成育が止まるものが多かった。PDS遺伝子ノックアウトの指標となる白い葉の出た個体の葉について遺伝子解析を行ったが変異は認められなかった。エンブリオジェニックカルスについては、金粒子径1.0 μ m、金粒子濃度90ng/shot、1350psi、4回でGFPプラスミドを打ち込んだところ最も高い密度で安定的にGFPスポットが認められた。RNPの打ち込みでは、打ち込み回数が12回でGFPスポット数が最も多く、4回打ち込みより3.5倍効率が高かった。このパーティクルガン処理後に得られた106個体の再分化植物体および不定胚196個についても解析したが、変異は認められなかった。また、他の打ち込み実験で得られたGFPスポットを含んだカルス24塊および再分化個体196個体においても、変異は認められなかった。ジェミニウイルスベクターについては感染させた192不定胚と24個体の再分化個体を解析したが、変異は検出されなかった。

カンキツにおいてはカロテノイド代謝遺伝子のゲノム編集で色調の異なるカンキツ等の実用性の高い素材開発に取組み、種子珠心胚茎頂8700以上を用いたパーティクルガン法によるゲノム編集酵素導入条件および生育条件の改良の結果、標的のカロテノイド生合成遺伝子への変異導入が確認された個体が40個体以上獲得され、iPB-RNP法による変異創出手法を確立した。また、エンブリオジェニックカルスから単離したプロトプラストへPEG法によりRNPを導入後にカルスを再生し、標的のカロテノイド生合成遺伝子の塩基配列を解読した結果、解読配列の95%以上が変異導入されたカルスが1系統獲得された。

4) 成果活用における留意点

リンゴ、カンキツにおけるiPB法によるゲノム編集技術については、カネカまたは農研機構との共同研究として進めることができる。

5) 今後の課題

リンゴについては、パーティクルガン法による変異導入に成功した。品種Xについてはキメラ性解除に成功したと考えられる個体を獲得した。ただし、効率が0.2%と低いため高効率化が必要である。リンゴでは、遺伝子の機能破壊により改善できる形質が複数存在するため、複数遺伝子を同時に機能破壊するような技術の開発も有用であり、このためにも、まずはCRISPR-Cas9を用いた本技術の高効率化が課題である。

このほか、本プロジェクトで獲得した3個体については現時点で個体サイズが小さいため、今後接ぎ木により生育を促進して育成し、複数年に亘り形質確認する必要がある。また、3個体について詳細なゲノム解読によるオフターゲット解析が必要である。

ブドウではゲノム編集個体は得られず、導入した細胞内でRNPの安定化の工夫、選抜のしやすい品種の選択、変異検出の簡便化をはかり、ゲノム編集個体を得るためにはより多くの処理を行うことが必要である。

カンキツはカロテノイド代謝遺伝子を標的とし、iPB-RNP法によるゲノム編集に成功したが、この変異を維持させ、次世代体細胞胚を得る技術、あるいは、リンゴ同様のキメラ性解除技術の開発が必要である。また、プロトプラスト-RNP法によるゲノム編集カルスの取得により変異が導入された細胞から個体を獲得するための技術開発が必要である。

Ⅲ 研究成果一覧【公表可】

個別課題番号 18063981
 課題名 民間事業者、地方公設試等の種苗開発を支える育種基盤技術の開発

成果等の集計数

課題番号	学術論文		学会等発表(口頭またはポスター)		出版図書	国内特許権等		国際特許権等		PCT	報道件数	普及しうる成果	発表会の主催(シンポジウム・セミナー等)	アウトリーチ活動
	和文	欧文	国内	国際		出願	取得	出願	取得					
18063981	1	6	31	5	0	1	0	0	0	0	0	0	2	1

(1)学術論文

区分:①原著論文、②その他論文

整理番号	区分	タイトル	著者	機関名	掲載誌	掲載論文のDOI	発行年	発行月	巻(号)	掲載ページ
1	①	High-Throughput Screening and Characterization of a High-Density Soybean Mutant Library Elucidate the Biosynthesis Pathway of Triterpenoid Saponins	Krishnamurthyら (DIT1003)	農研機構	Plant Cell Physiol	doi:10.1093/pcp/pcz025.	2019	5	60(5)	1082-1097
2	①	Suppression of phospholipase D genes improves chalky grain production by high temperature during the grain-filling stage in rice.	Yamaguchi Tら (DIT1001)	農研機構	Biosci Biotechnol Biochem	doi:10.1080/09168451.2019.1580137.	2019	6	83(6)	1102-1110
3	②	果樹の品種開発におけるゲノム編集技術への期待と課題	西谷千佳子 (DIT3001)	農研機構	果樹種苗協会「果樹種苗」	なし	2020	2	157	
4	①	Non-destructive mid-IR spectroscopy with quantum cascade laser can detect ethylene gas dynamics of apple cultivar 'Fuji' in real time.	Yumoto Mら (DIT2003)	理化学研究所	Scientific Reports	doi:10.1038/s41598-021-00254-1	2021	8	11	206-95
5	①	Mid-infrared-scanning cavity ring-down CH2F2 detection using electronically tuned Cr:ZnSe laser	Yumoto Mら (DIT2003)	理化学研究所	Optica	受理済み	2022	未定	未定	未定
6	①	Allelic variations of Vrn-1 and Ppd-1 genes in Japanese wheat varieties reveal the genotype-environment interaction for heading time	Mizuno Nら (DIT1002)	農研機構	Breeding Science	doi:10.1270/jsbbs.22017	2022	12	72	343
7	①	Mid-infrared-scanning cavity ring-down CH2F2 detection using electronically tuned Cr:ZnSe laser	Yumoto Mら (DIT2003)	理化学研究所	scientific reprot	doi.org/10.1038/s41598-022-12019-5	2022	4	12	7879

(2)学会等発表(口頭またはポスター)

整理番号	タイトル	発表者名	機関名	学会等名	発行年	発行月
1	高密度誘変変異系統群とバルク分析法を用いたダイズ草型制御遺伝子群の探索	平賀 勲(DIT1003)	農研機構	日本育種学会第134回講演会	2018	9
2	Map based cloning of Seed dormancy 1, reveals that a MAP Kinase cascade may be involved in rice seed germination or dormancy-break in rice	杉本和彦(DIT1001)	農研機構	第6回国際植物休眠シンポジウム	2018	10
3	ガンマ線照射処理コムギ集団からの種子休眠性変異体の選抜	神野裕信(DIT1002)	道総研北見農試	日本育種学会第135回講演会	2019	3
4	コメのヒ素濃度低減に向けた育種素材の探索	安倍 匡(DIT1001)	農研機構	日本土壤肥料学会2019年度静岡大会	2019	9
5	イネ有用遺伝子カタログの構築とその利用に向けて	杉本和彦(DIT1001)	農研機構	イネ遺伝学・分子生物学ワークショップ2019	2019	7
6	Genetic dissection of rice PHS resistance	杉本和彦(DIT1001)	農研機構	14th International Symposium on Pre-Harvest in Cereals	2019	7
7	共発現解析に基づくダイズサポニン配糖化酵素の同定	石本政男(DIT1003)	農研機構	日本育種学会第136回講演会	2019	9
8	ダイズ変異体集団を用いた無機成分組成変異体同定に向けた試み	高木恭子(DIT1003)	農研機構	日本育種学会第136回講演会	2019	9
9	RAP-DBから見られるイネ品種間の多様性情報	川原善浩(DIT2001)	農研機構	日本育種学会第136回講演会	2019	9
10	イネのリファレンスゲノムと様々な品種の多様性情報のいまとこれから	川原善浩(DIT2001)	農研機構	第2回 植物インフォマティクス研究会	2019	9
11	ブドウにおける形質転換に依らないゲノム編集技術の開発に向けて	中島育子(DIT3001)	農研機構	令和元年度果樹茶業研究会 果樹バイオテク研究会	2019	10
12	リンゴゲノム編集技術の確立～形質転換に依らないゲノム編集技術の開発に向けて2	西谷千佳子(DIT3001)	農研機構	令和元年度果樹茶業研究会 果樹バイオテク研究会	2019	10
13	きたほなみ穂発芽耐性変異体のゲノム解析	吉田 健太郎(DIT1002)	神戸大学	第14回ムギ類研究会	2019	11
14	Precision genome editing in plants using natural and engineered CRISPR variants in plants	遠藤真咲(DIT3001)	農研機構	Agricultural Biotechnology Research Center (ABRC) Seminar	2019	11
15	果樹品種開発におけるゲノム研究の到達点とゲノム編集の可能性	西谷千佳子(DIT3001)	農研機構	果樹種苗協会2019冬期果樹種苗研修会	2020	1

16	イネいもち病抵抗性遺伝子Pi20はPita-2/Pi19の新規対立遺伝子である	高橋章 (DIT1001)	農研機構	令和2年度日本植物病理学会大会	2020	3
17	きたほなみ変異体ゲノム解析による穂発芽耐性に関わるゲノム領域の同定	古村翔也 (DIT1002)	神戸大学	日本育種学会第137回講演会	2020	3
18	全ゲノム情報を利用したパンコムギ早生変異体の原因遺伝子の同定	古村翔也 (DIT1002)	神戸大学	日本育種学会第138回講演会	2020	10
19	パンコムギ変異体で同定された穂発芽耐性に関わるゲノム領域の解析	古村翔也 (DIT1002)	神戸大学	第15回ムギ類研究会	2020	12
20	全ゲノムシーケンスによるコムギγ線突然変異系統の表現型原因欠失領域の同定	古村翔也 (DIT1002)	神戸大学	日本育種学会第139回講演会	2021	3
21	ダイズ変異体集団を用いたセシウム低蓄積系統の解析	高木恭子 (DIT1003)	農研機構	日本育種学会第139回講演会	2021	3
22	環境によって異なる出穂期への効果を示すPpd-1およびVrn-1の遺伝子型	水野信之 (DIT1002)	農研機構	第16回ムギ類研究会	2021	12
23	2種類のパンコムギ早生変異体から作製されたパンコムギ2重変異体のゲノム解析	古村翔也 (DIT1002)	神戸大学	第16回ムギ類研究会	2021	12
24	イネ品種間~種間多様性情報の整備と他作物への展開	川原善浩 (DIT2001)	農研機構	生物多様性のDNA情報学2022	2022	4
25	「スマート育種ツールの利用に関するワークショップ」(仮)のオーガナイズおよびスマート育種プロ「DIT」の概要	杉本和彦 (DIT2001)	農研機構	日本育種学会第63回シンポジウム・ワークショップ	2022	9
26	イネ有用遺伝子情報の収集と可視化ツール「アリアルグラフ」の紹介	川原善浩 (DIT2001)	農研機構	日本育種学会第63回シンポジウム・ワークショップ	2022	9
27	Real-time C2H4 monitoring using mid-IR quantum cascade laser	湯本正樹 (DIT2003)	理化学研究所	OPIC-laser Laser Solutions for Space and the Earth 2022	2022	4
28	Non-Destructive Ethylene Gas Detection Released from Plants Using Mid-IR Quantum Cascade Laser Spectroscopy	湯本正樹 (DIT2003)	理化学研究所	Optical Sensor and Sensing Congress 2022	2022	7
29	The rapid Identification of genomic regions responsible for gamma-irradiated wheat mutants by whole-genome sequencing	古村翔也 (DIT1002)	神戸大学	第2回国際小麦会議	2022	9
30	コムギの品種開発を支える育種基盤技術の開発	小林史典 (DIT1002)	農研機構	第17回ムギ類研究会	2022	12
31	リンゴの珠心培養で作出したカルスおよび不定胚の起源に関する調査	小森貞夫 (DIT3001)	岩手大学	園芸学会令和4年度秋季大会	2022	9
32	ゲノム編集によるカラタチアルビノ個体の作成	遠藤朋子 (DIT3001)	農研機構	DNA多型学会	2022	11
33	ウンカ・ヨコバイ類に対する抵抗性イネ遺伝資源の探索と抵抗性遺伝子座のアリアル解析	田村泰盛 (DIT1001)	農研機構	第67回日本応用動物昆虫学会大会	2023	3
34	アグロバクテリウム法によるCRISPR/Cas9を用いたブドウ果皮着色に関連するレトロトランスポゾン欠失	中嶋育子 (DIT3001)	農研機構	育種学会令和5年度春季大会	2023	3
35	ブドウにおけるジェミニウイルスの複製機構を用いたゲノム編集の試み	中嶋育子 (DIT3001)	農研機構	園芸学会令和5年度春季大会	2023	3
36	γ線照射により作出されたパンコムギ短稈変異体の表現型原因変異の同定	古村翔也 (DIT1002)	神戸大学	育種学会令和5年度春季大会	2023	3
37						

(3) 出版図書

区分: ①出版著書、②雑誌(学術論文に記載したものを除く、重複記載をしない。)、③年報、④広報誌、⑤その他

整理番号	区分	著書名(タイトル)	著者名	機関名	出版社	発行年	発行月
		該当なし					

(4) 国内特許権等

区分: ①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者(出願人等)	機関名	出願番号	出願年月日	取得年月日
1	②	分光システムおよび分光方法	湯本正樹	湯本正樹ほか	理化学研究所	特願2022-008235号		

(5) 国際特許権等

区分: ①育成者権、②特許権、③実用新案権、④意匠権、⑤回路配置利用権

整理番号	区分	特許権等の名称	発明者	権利者(出願人等)	機関名	出願番号	出願年月日	取得年月日	出願国
		該当なし							

(6) 報道等

区分: ①プレスリリース、②新聞記事、③テレビ放映、④その他

整理番号	区分	記事等の名称	機関名	掲載紙・放送社名等	掲載年月日	備考
		該当なし				

(7) 普及に移しうる成果

区分: ①普及に移されたもの・製品化して普及できるもの、②普及のめどがたったもの、製品化して普及のめどがたったもの、③主要成果として外部評価を受けたもの(複数選択)

整理番号	区分	成果の名称	機関名	普及(製品化)年月	主な利用場面	普及状況
		該当なし				

(8) 発表会の主催(シンポジウム・セミナー等)の状況

整理番号	発表会の名称	機関名	開催場所	年月日	参加者数	備考
1	イネ有用遺伝子カタログの構築とその利用に向けて	農研機構	農研機構農林ホール	2019/7/31	150	https://kikaku.nias.affrc.go.jp/meeting/rice2019/

(9) アウトリーチ活動の状況

区分: ①一般市民向けのシンポジウム・講演会及び公開講座・サイエンスカフェ等、②展示会及びフェアへの出展・大学及び研究所等の一般公開への参画、③その他(子供向け出前授業等)

整理番号	区分	アウトリーチ活動	機関名	開催場所	年月日	参加者数	主な参加者	備考
1	②	スマート育種に関するブース設置と説明	農研機構	東京ビッグサイト西4ホール	2019.11.20~22	約36000人	農業関連企業等	https://agribiz-fair.maff.go.jp/