

様式6（第15条第1項関係）

平成30年4月9日

独立行政法人  
日本学術振興会理事長 殿

研究機関の設置者の所在地	〒236-0027 神奈川県横浜市金沢区瀬戸22番2号	
研究機関の設置者の名称	公立大学法人 横浜市立大学	
代表者の職名・氏名	理事長 二見 良之 (記名押印)	
代表研究機関名及び機関コード	横浜市立大学	22701

平成29年度戦略的国際研究交流推進事業費補助金  
実績報告書

戦略的国際研究交流推進事業費補助金取扱要領第15条第1項の規定により、実績報告書を提出します。

整理番号	S2804	補助事業の完了日	平成30年3月31日	関連研究分野 (分科細目コード)	遺伝育種科学 (7001)
補助事業名（採択年度） 我が国を拠点とした実用作物の世界最先端ゲノム編集研究国際ネットワークの構築（平成28年度）				補助金支出額（別紙のとおり） 32,376,186円	

代表研究機関以外の協力機関  
農業・食品産業技術総合研究機構、理化学研究所

海外の連携機関  
International Center for Tropical Agriculture, Purdue University, University of Minnesota

1. 事業実施主体

フリガナ 担当研究者氏名	所属機関	所属部局	職名	専門分野
主担当研究者 ツジ ヒロユキ 辻 寛之	横浜市立大学	木原生物学研究所	准教授	植物分子遺伝学
担当研究者 バン トモヒロ 坂 智広	横浜市立大学	木原生物学研究所	教授	植物遺伝資源科学
トキ セイイチ 土岐 精一	農研機構	生物機能利用研究部門	ユニット長	植物ゲノム編集
セキ モトアキ 関 原明	理化学研究所	環境資源科学研究センター	チームリーダー	植物ゲノム発現制御科学
ウツミ ヨシノリ 内海 好規	理化学研究所	環境資源科学研究センター	研究員	植物ゲノム発現制御科学
エンドウ マサキ 遠藤 真咲	農研機構	生物機能利用研究部門	主任研究員	植物ゲノム編集
計6名				

フリガナ 連絡担当者	所属部局・職名	連絡先（電話番号、e-mailアドレス）
アベ カズヤ 安部 和哉	研究基盤課 係員	Tel:045-787-2078 E-mail:kenkyu3@yokohama-cu.ac.jp

※2頁以降は、交付決定を受けた時点の事業計画の項目に合わせて必要に応じて修正すること。

## 2. 本年度の実績概要

本研究の目的は、世界最高の実用性を有するゲノム編集技術を開発し、実用的な商用作物に適用することである。またこれを実現するための世界的拠点を日本に確立し、商業品種のゲノム編集における国際ネットワークを構築することである。対象とする実用作物は、不良環境で絶大な生産性を有することから世界的な注目が集まる塊根（芋）作物のキャッサバである。キャッサバは系統ごとに花の咲くタイミングがバラバラであることから、交配育種による有用品種育成はこれまで極めて困難であった。本研究ではゲノム編集技術の開発を通してこの問題を解決し、交配育種による品種改良の高速化を視野に入れた研究ネットワーク形成を進めた。

本研究では、1. キャッサバゲノム編集による花成時期の改変の研究、及び 2. キャッサバゲノム編集を促進する国際ネットワークの構築、の2点を目標としている。

1. キャッサバゲノム編集による花成時期の改変の研究：本研究の具体的な計画は(1)キャッサバ花成関連遺伝子の単離と発現解析、(2)キャッサバ形質転換系の高度化、(3)キャッサバのゲノム編集技術の開発、から構成されており、本報告ではこの3点に整理して記述する。

(1) キャッサバ花成関連遺伝子の単離と発現解析：花成の強力な促進因子であるフロリゲンをコードする *FT* 遺伝子をはじめ、複数の花成関連遺伝子を発見した。これらの遺伝子の発現を24時間を通したサンプリングによって解析した。その結果、人工気象器での栽培ではキャッサバの花成が生じにくいことを反映して *FT* 遺伝子の発現を認めることはできなかった。一方で野外環境ではキャッサバの花成が見られることから、次年度に向けて野外で栽培したキャッサバの徹底的なサンプリングを実施した。

本研究で計画したゲノム編集は基本的に遺伝子破壊を行うものである。このため、対象とする花成促進遺伝子の候補としてフロリゲン遺伝子 *FT* を選定し、花成抑制遺伝子としてアンチフロリゲン遺伝子 *TFL1*、赤色光受容体遺伝子 *Phytochrome B* を同定した。これらはプロジェクト内の共同研究としてゲノム編集ベクターの構築と形質転換が進められている。

(2) 形質転換系の高度化：キャッサバの商業品種はともに形質転換が非常に難しいので、まず形質転換のどのステップがボトルネックになっているのかを同定する。

キャッサバの形質転換では、Friable Embryogenic Callus (FEC) と呼ばれる繁殖力の旺盛なカルスの誘導効率を高めることがキャッサバの形質転換のキーとなる。本年度はこれを高効率に誘導する系を確立した。また本プロジェクトメンバーである土岐精一ラボを訪問している Stanton B Gelvin 教授との研究打ち合わせを行った。また研究員を Stanton Gelvin 教授の研究室へ派遣し、形質転換効率の向上に関わることが期待される因子の分子遺伝学的解析を行った。

(3) キャッサバにおけるゲノム編集技術の開発：ゲノム編集を効果的に実施するためのベクターを多数整備した。標的遺伝子を効率的に破壊するために、複数の sgRNA を同時

に発現させるベクターや、gene family に共通する領域をターゲットとする sgRNA を配したベクターを作成した。また、形質転換可能なキャッサバ系統を材料に、モデル遺伝子を標的としたゲノム編集の実験系開発に着手した。

## 2. キャッサバゲノム編集を促進する国際ネットワークの構築：

(1) 派遣に関して：キャッサバの花成研究と形質転換系の整備に向けて、横浜市立大学・木原生物学研究所から Behnam Babak 博士を CIAT ヘッドクォーター（コロンビア）へ、徳永浩樹博士をキャッサバ分子育種国際共同研究ラボの ILCMB（ベトナム；2012 年に CIAT と AGI が設立したキャッサバの国際共同研究ラボで理研グループは設立当初からコアグループとして参加）、雑賀啓明博士をパデュー大学の Gelvin 博士の研究室へ派遣し、派遣先の研究者と緊密な連携を取りながら研究を実施した。CIAT-HQ では CIAT のキャッサバ研究者との研究ネットワークを形成し、キャッサバからの花成関連遺伝子の単離及びその発現解析のためのキャッサバ栽培技術等を習得した。雑賀啓明博士は Stanton B Gelvin 教授の研究室に滞在し、形質転換効率の向上に関わることが期待される複数の因子の分子遺伝学的解析を行った。

(2) 招へいに関して： CIAT においてキャッサバの分子遺伝学研究を進める Ishitani 博士と、キャッサバ研究のリーダーである Luis Augusto 博士を日本に招へいした。同時にキャッサバの形質転換とゲノム編集技術の開発に向けて、担当研究者の一人である農研機構の土岐精一博士がミネソタ大の Voytas 博士とパデュー大学の Gelvin 博士と Lan-Ying Lee 博士を招へいし、関係者全員が集まって研究の進捗と今後の計画を議論するミーティングを行った。形質転換（Gelvin 博士）、ゲノム編集（Voytas 博士）、キャッサバ研究（Luis Augustuto 博士、Ishitani 博士）の世界的な中心人物が一堂に介してのミーティングとなり、研究遂行上重要な情報交換がなされた。

(3) 訪問に関して：日本側研究代表者の辻（横浜市立大・木原生物学研究所）及び研究員の遠藤（農研機構）、内海（理化学研究所）が CIAT を訪問した。CIAT では、CIAT におけるキャッサバ研究のリーダーである Joe Tohme 博士をはじめとする研究者と、国際共同研究推およびネットワーク形成のための議論を進め、並行して CIAT の見学と新しい共同研究のためのミーティングが行われた。また、遠藤博士は CIAT の主催するゲノム編集の国際シンポジウムで基調講演を行った。これらを通して、CIAT で衛星リモートセンシング研究に用いられている材料を遺伝子発現解析での共同研究に用いるといった、新しい共同研究を開始することができた。

## **3. 到達目標に対する本年度の達成度及び進捗状況**

(1) ゲノム編集の標的遺伝子の同定：到達目標は花成関連遺伝子の同定と発現解析であった。本年度は遺伝子の同定と発現解析を実施し、人工気象器環境では見られないことを明らかにした。一方で圃場で生育するキャッサバでは花成が生じることからこれの大規模なサンプリングを実施した。またネットワーク形成の側面でも CIAT の研究計画と密に連携できる状況を作り、当初想定を超える共同研究を開始することができた。

(2) 形質転換系の高度化：キャッサバ商業品種はともに形質転換が非常に難しいが、これを実現するためのキーである商業品種における FEC 形成の効率化を達成した。

(3) ゲノム編集の高度化：キャッサバのゲノム編集用ベクターを開発することを目標とした。この目標に対して効率的に構築の可能なゲノム編集ベクター、及び複数の gRNA を同

時に発現して複数の遺伝子を破壊できるベクター等を整備し使用可能な状態にした。

#### 4. 日本側研究グループ（実施主体）の研究発表状況（本年度分）

##### ①学術雑誌等（紀要・論文集等も含む）に発表した論文又は著書

論文名・著書名 等	
<p>（論文名・著書名、著者名、掲載誌名、査読の有無、巻、最初と最後の頁、発表年（西暦）について記入してください。）（以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。）</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・査読がある場合、印刷済及び採録決定済のものに限って記載して下さい。査読中・投稿中のものは除きます。</li> <li>・さらに数がある場合は、欄を追加して下さい。</li> <li>・著者名について、責任著者に「※」印を付してください。また、主担当研究者には<u>二重下線</u>、担当研究者については<u>下線</u>、若手研究者については<u>波線</u>を付してください。</li> <li>・海外の連携機関の研究者との国際共著論文等には、番号の前に「◎」印を、また、それ以外の国際共著論文等については番号の前に「○」印を付してください。また、主要連携研究者については<u>斜体・太下線</u>、連携研究者については<u>斜体・破線</u>としてください。</li> </ul>	
1	Formation of friable embryogenic callus in cassava is enhanced under conditions of reduced nitrate, potassium and phosphate, <u>Yoshinori Utsumi</u> , Chikako Utsumi, Maho Tanaka, Vu The Ha, Akihiro Matsui, <u>Satoshi Takahashi</u> and <u>Motoaki Seki</u> ※, PLoS One, 査読有, Vol.14, e0180736, 2017
2	
3	
4	
5	

##### ②学会等における発表

発表題名 等	
<p>（発表題名、発表者名、発表した学会等の名称、開催場所、口頭発表・ポスター発表の別、審査の有無、発表年月（西暦）について記入してください。）（以上の各項目が記載されていれば、項目の順序を入れ替えても可。）</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>・発表者名は参加研究者を含む全員の氏名を、論文等と同一の順番で記載すること。共同発表者がいる場合は、全ての発表者名を記載し、責任発表者名は「※」印を付して下さい。発表者名について主担当研究者には<u>二重下線</u>、担当研究者については<u>下線</u>、若手研究者については<u>波線</u>を付してください。</li> <li>・口頭・ポスターの別、発表者決定のための審査の有無を区分して記載して下さい。</li> <li>・さらに数がある場合は、欄を追加して下さい。</li> <li>・海外の連携機関の研究者との国際共同発表には、番号の前に「◎」印を、また、それ以外の国際共同発表については番号の前に○印を付してください。また、主要連携研究者については<u>斜体・太下線</u>、連携研究者については<u>斜体・破線</u>としてください。</li> </ul>	
◎ 1	Studies on environmental factors affecting flower formation and branch development in cassava, <u>徳永浩樹</u> ※, <u>Quynh Nhu Thi Do</u> , <u>Anh Hai Nguyen</u> , <u>Thu Anh Vu</u> , 石谷学, <u>辻寛之</u> , <u>内海好規</u> , 関原明, 第59回日本植物生理学会年会、北海道・札幌、口頭発表、審査無、2018年3月
◎ 2	Rice and Arabidopsis DNA polymerase $\theta$ (polQ) mutants can integrate T-DNA, <u>Stanton B. Gelvin</u> , 横井彩子, <u>雑賀啓明</u> , 原奈穂, Lan-Ying Lee, <u>土岐精一</u> , The 38th Crown Gall Conference、オレゴン州立大学、口頭発表、審査無、2017年10月
3	A universal site-directed mutagenesis system via genome editing in rice, <u>雑賀啓明</u> ※, Center for Plant Biology Seminar, パデュー大学、口頭発表、審査無、2017年12月
4	Genome editing technology in rice, <u>雑賀啓明</u> ※, 横井彩子, <u>遠藤真咲</u> , 廣瀬咲子, <u>土岐精一</u> , (内部セミナー), インディアナ大学、口頭発表、審査無、2017年12月

5	
---	--

5. 若手研究者の派遣実績（計画）

【海外派遣実績（計画）】

年度	平成28年度	平成29年度	平成30年度	合計
派遣人数	2 人	3 人 (2 人)	3 人 (3 人)	3 人

※当該年度は実績、次年度以降は計画している人数を記載

【本年度の海外派遣実績】

**派遣者①の氏名・職名：Babak Behnam 横浜市立大学・木原生物学研究所・特任助教**

（当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動）

CIAT の Manabu Ishitani の研究室へ派遣し、キャッサバ商業品種、および育種母本となる遺伝資源の栽培と形質評価を行う。派遣先はコロンビアの CIAT 本体、及びベトナムのキャッサバ分子育種の国際共同ラボ ILCMB である。ゲノム編集の標的とする花芽分化の制御遺伝子単離のために、RNA-seq とその後の情報解析を実施する。この過程で CIAT、横浜市立大学、理化学研究所の共同研究の要としての役割を果たす。

（具体的な成果）

人工環境下での徹底的なサンプリングと遺伝子発現解析を実施し、フロリゲン遺伝子の発現が見られないことを示した。次いで野外環境下での徹底的なサンプリングを実施し、花の咲く野外でフロリゲン遺伝子がどのように発現するのか調査する準備を完了した。

派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成28年度	平成29年度	平成30年度	
<b>国名：Colombia/Vietnam 機関名 CIAT</b> <b>部局名 Agrodiversity Research Area</b> <b>受け入れ研究者 Manabu Ishitani</b>	84 日	304 日	120 日	508 日

**派遣者②の氏名・職名：徳永浩樹 理化学研究所・特別研究員**

（当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動）

キャッサバの分子育種の主要国際研究機関である CIAT がハノイに設置した ILCMB へ派遣し、キャッサバ商業品種からゲノム編集の標的遺伝子単離、形質転換、ゲノム編集、改変作物の形質評価を実施する。キャッサバの農業上重要な形質に関わる分子メカニズム解明を目的に、開花誘導や除草剤耐性に関わる遺伝子などをゲノム編集の標的とする。標的遺伝子は RNA シークエンス解析のデータや、これまでにモデル植物で得られた知見をあわせて単離する。ゲノム編集作物の形質評価は ILCMB にある大規模温室で行う。

（具体的な成果）

AGI の研究者らとゲノム編集のための形質転換を実施し、改変作物の形質評価などを進めている。

派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成 28 年度	平成 29 年度	平成 30 年度	
国名 Colombia/Vietnam 機関名 CIAT 部局名 Agrodiversity Research Area 受け入れ研究者 Manabu Ishitani	84 日	113 日	115 日	312 日

派遣者③ の氏名・職名：雑賀啓明 農研機構・主任研究員

<p>(当該若手研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)</p> <p>パデュー大の Stanton Gelvin の研究室、及びミネソタ大の Daniel Voytas の研究室へ派遣し、形質転換のメカニズムを明らかにし、それをゲノム編集技術に応用する研究を実施する。この研究の目的はキャッサバとコムギの商業品種における形質転換のボトルネックの解明であるため、理化学研究所のキャッサバ形質転換や横浜市立大学のコムギの実験と連携しながら進める。この研究により、派遣研究者はゲノム編集のキーのひとつである形質転換系の高度化を進め、高効率なゲノム編集技術を構築する役割を果たす。</p> <p>(具体的な成果)</p> <p>パデュー大の Stanton Gelvin の研究室に滞在し、高等植物の形質転換効率を向上させるための遺伝的要因を分子遺伝学的手法によって探索した。</p>				
派遣先 (国・地域名、機関名、部局名、受入研究者)	派遣期間			合計
	平成 28 年度	平成 29 年度	平成 30 年度	
国名 USA 機関名 Purdue University 部局名 Department of Biological Sciences, 受け入れ研究者 Stanton Gelvin	0 日	174 日	100 日	274 日
国名 USA 機関名 University of Minnesota 部局名 Center for Genome Engineering, 受け入れ研究者 Daniel Voytas	0 日	0 日	60 日	60 日

※本年度の派遣者毎に作成すること。

6. 研究者の招へい実績 (計画)

【招へい実績 (計画)】

年度	平成 28 年度	平成 29 年度	平成 30 年度	合計
招へい人数	3 人	4 人 (3 人)	3 人 (3 人)	5 人

※当該年度は実績、次年度以降は計画している人数を記載

【本年度の招へい実績】

招へい者①の氏名・職名：Manabu Ishitani, Senior Scientist, CIAT

(当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)

本国際研究ネットワークの中心となる作物のひとつであるキャッサバに関して、先進的な分子育種の研究から商業品種の栽培、経済的な位置づけまでもっとも広範な知見を有するのが本事業の連携研究者である Dr. Ishitani である。そこで、本共同研究を効果的に推進するために必要なキャッサバの具体的な扱いや研究の情報、社会的な状況に関する情報を国際研究ネットワーク内で共有するために、横浜市立大学・木原生物学研究所に招へいして情報交換を実施する。研究の進展に合わせて、毎年度の招へいを計画している。

(具体的な成果)

キャッサバ花成関連遺伝子の単離と発現解析、ゲノム編集の実施のための戦略を議論した。遺伝子発現解析やキャッサバ形質転換等のための CIAT の温室の条件、キャッサバ遺伝資源の情報を共有した。

招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
	平成 28 年度	平成 29 年度	平成 30 年度	
招へい元（Agrodiversity Research Area, CIAT, Colombia） 日本側受け入れ研究者 辻 寛之 （横浜市立大学・木原生物学研究所）	9 日	8 日	15 日	32 日

**招へい者③の氏名・職名： Lan-Ying Lee, Research Scientist**

(当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動)

形質転換効率は、植物、アグロバクテリウム、双方の因子が関与し、両生物種間の相性も重要となってくる。Lee 博士はアグロバクテリウムの分子生物学ならびに、細胞内イメージングのエキスパートであり、Gelvin 研で行なわれている研究の多くに携わってきた。キャッサバ、コムギの形質転換におけるボトルネックを明らかにするためにはアグロバクテリウムに詳しい研究者の協力も欠かせないため、Lee 博士を招へいし、最新の情報を交換する。農研機構に滞在しつつ理化学研究所、横浜市立大学・木原生物学研究所にも訪問し、キャッサバその他の形質転換の効率向上に向けた具体的な技術情報の交換を進める。

(具体的な成果)

Stanton B Gelvin 教授と共にキャッサバの形質転換法を検討した。

招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
	平成 28 年度	平成 29 年度	平成 30 年度	
招へい元（Department of Biological Science, Purdue Univ. USA）	37 日	76 日	0 日	113 日

日本側受け入れ研究者 土岐精一 (農研機構)				
---------------------------	--	--	--	--

**招へい者⑤の氏名・職名： Daniel Voytas, Professor**

<p>(当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動) ゲノム編集の技術開発で世界をリードする Daniel Voytas 博士を招へいし、キャッサバのゲノム編集の最新の実施状況、実際に作成した作物とその分子レベルのデータを見ながら、効果的にゲノム編集ベクターを開発する方針を議論する。</p> <p>(具体的な成果) アフリカで栽培されるキャッサバのゲノム編集に関する技術的な情報を中心に情報交換した。またゲノム編集作物の市場展開に向けて、Voytas 博士の参画する企業の方法論や状況について情報交換した。</p>				
招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
	平成 28 年度	平成 29 年度	平成 30 年度	
招へい元（Center for Genome Engineering, Univ. of Minnesota, USA） 日本側受け入れ研究者 土岐精一 (農研機構)	0 日	5 日	10 日	15 日

**招へい者⑥の氏名・職名： Luis Augusto Becerra López-Lavalle, Cassava Program Leader, CIAT**

<p>(当該研究者の国際共同研究における役割を含めた具体的な研究活動) 招へい者 Luis Augusto Becerra はキャッサバのゲノムワイドな解析を通じて、キャッサバの収量性、耐病性の向上や代謝フラックス解析により Crop としての高付加価値化を目指している。しかし、キャッサバのゲノムサイズは約 760Mbp と巨大で、キャッサバのゲノムのヘテロ接合性は高いことが知られている。キャッサバゲノム解析に精通した Luis 博士を招へいし、キャッサバゲノム解析に関する情報交換を進める。</p> <p>(具体的な成果) キャッサバゲノム解析の最前線について、農研機構でミーティングを実施し、キャッサバゲノムデータ利用の最新状況について議論した。</p>				
招へい元（機関名、部局名、国名）及び 日本側受入研究者（機関名）	招へい期間			合計
	平成 28 年度	平成 29 年度	平成 30 年度	
招へい元（Agrodiversity Research Area, CIAT, Colombia） 日本側受け入れ研究者 辻 寛之	11 日	7 日	0 日	18 日



(横浜市立大学・木原生物学研究所)				
-------------------	--	--	--	--

※本年度の招へい者毎に作成すること。