

カラシナ由来の抗菌性タンパク質をもつ複合耐病性イネ系統の隔離圃場栽培実験説明会

中央農業総合研究センター  
北陸研究センター

日時：日時：平成17年4月29日（金・祝） 13:30～

場所：中央農研・北陸研究センター 講堂2階

議 事（司会：北陸地域基盤部長 田中宥司）

- |                              |                 |               |
|------------------------------|-----------------|---------------|
| 1. 開 会                       |                 | 13:30         |
| 2. 挨 拶                       | 北陸農業研究官 片山秀策    | 13:35 ～ 13:40 |
| 3. 遺伝子組換え作物を管理する法律           | 稲遺伝解析研究室長 吉田均   | 13:40 ～ 13:55 |
| 4. 平成17年度に予定している隔離圃場栽培実験について |                 |               |
| 1)ディフェンシン遺伝子導入遺伝子組換えイネ       | 稲組換え研究チーム長 川田元滋 | 13:55 ～ 14:10 |
| 2)隔離圃場実験の概要                  | 専門領域研究官 矢頭治     | 14:10 ～ 14:25 |
| 5. 質 疑                       |                 | 14:25 ～ 15:00 |
| 7. 隔離圃場見学                    |                 | 15:00 ～ 15:30 |
| 8. 閉 会                       |                 |               |

連絡先

中央農研・北陸研究センター 企画調整室北陸分室  
電話番号 025-526-8313（直）

E-mail: kumikaeh@naro.affrc.go.jp

ホームページ:

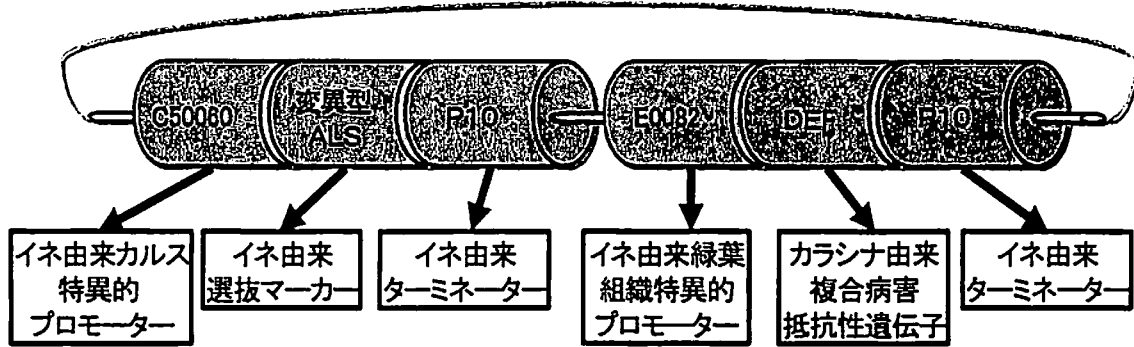
<http://narc.naro.affrc.go.jp/inada/index.html>

## 配布資料等の一覧

1. 議事次第
2. 配布資料等の一覧
3. 実験系統の概要
4. 栽培実験の概要
5. 栽培実験計画場実験図
6. 説明資料
  - 1) 遺伝子組換え作物を管理する法律
  - 2) カラシナ由来の抗菌性タンパク質をもつ複合耐病性イネ系統
  - 3) 平成17年度隔離圃場栽培実験の概要

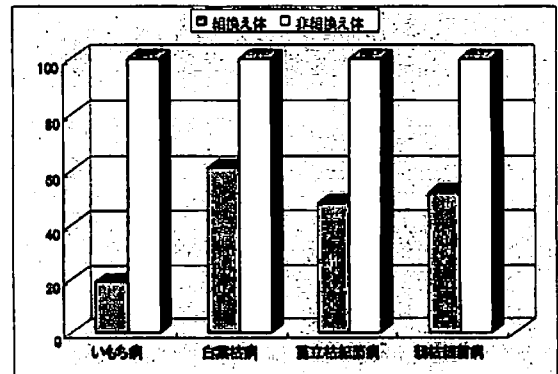
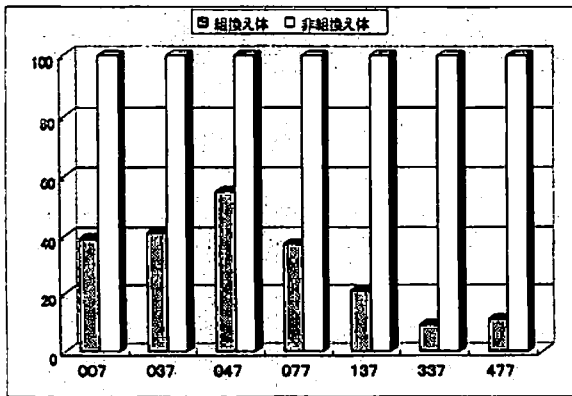
# ディフェンシン遺伝子導入組換えイネの特徴

1. 導入遺伝子すべて作物由来  
 選抜マーカー遺伝子はイネ由来を利用  
 ディフェンシン遺伝子はカラシナ由来を利用  
 プロモーター、ターミネーターはイネ由来を使用
2. 可食部では導入遺伝子を発現させない
3. 複合病害抵抗性を示す



ディフェンシン遺伝子は、  
いもち病のレース非特異的  
抵抗性を示す。

ディフェンシン遺伝子は、  
いもち病のレース非特異的  
抵抗性を示す。



\* タテ軸(発病度)は、原品種「どんとこい」を 100 としたときの相対値。  
 \* ヨコ軸は、いもち病菌のレース。

\* タテ軸(発病度)は、原品種「どんとこい」を 100 としたときの相対値。  
 \* ヨコ軸は、イネの病害。



組換え体のいもち病抵抗性検定  
 左: 非組換え体 中: 組換え体(抵抗性弱) 右: 組換え体(抵抗性強)

いもち病抵抗性検定は、隔離温室内で孢子懸濁液を  $8 \times 10^5$  個/ml に調整して噴霧接種を行い、接種後 15 日目に病害抵抗性を評価した。

## 栽培実験の概要

### 1. 栽培実験の目的, 栽培方法など

#### 1) 栽培試験・採種

組換えイネ系統の生育特性の調査と調査用種子の採種  
一般イネと開花期が異なるように栽培します。

#### 2) いもち病耐病性評価試験

いもち病菌の接種試験を行い, 葉いもち抵抗性の評価を行ないます。  
開花期には穂または植物体全部を刈り取り, 開花しないようにします。

#### 3) 白葉枯病耐病性評価試験

白葉枯病菌の接種試験を行ない, 白葉枯病抵抗性の評価を行ないます。  
一般イネと開花期が異なるように栽培します。

### 2. 隔離方法について

#### 1) 花粉飛散による自然交雑の防止

##### a) 距離

- a) 最も近い一般農家水田とは, 高架の道路をはさんで約 220m 離れています。
- b) 試験圃場内の最も近いイネとは 26m 以上離れています。

##### b) 開花時期

- a) いもち病耐病性試験区は穂を刈り取ります。
- b) その他の試験区は, 一般イネと開花期が異なるように栽培時期を遅らせます。

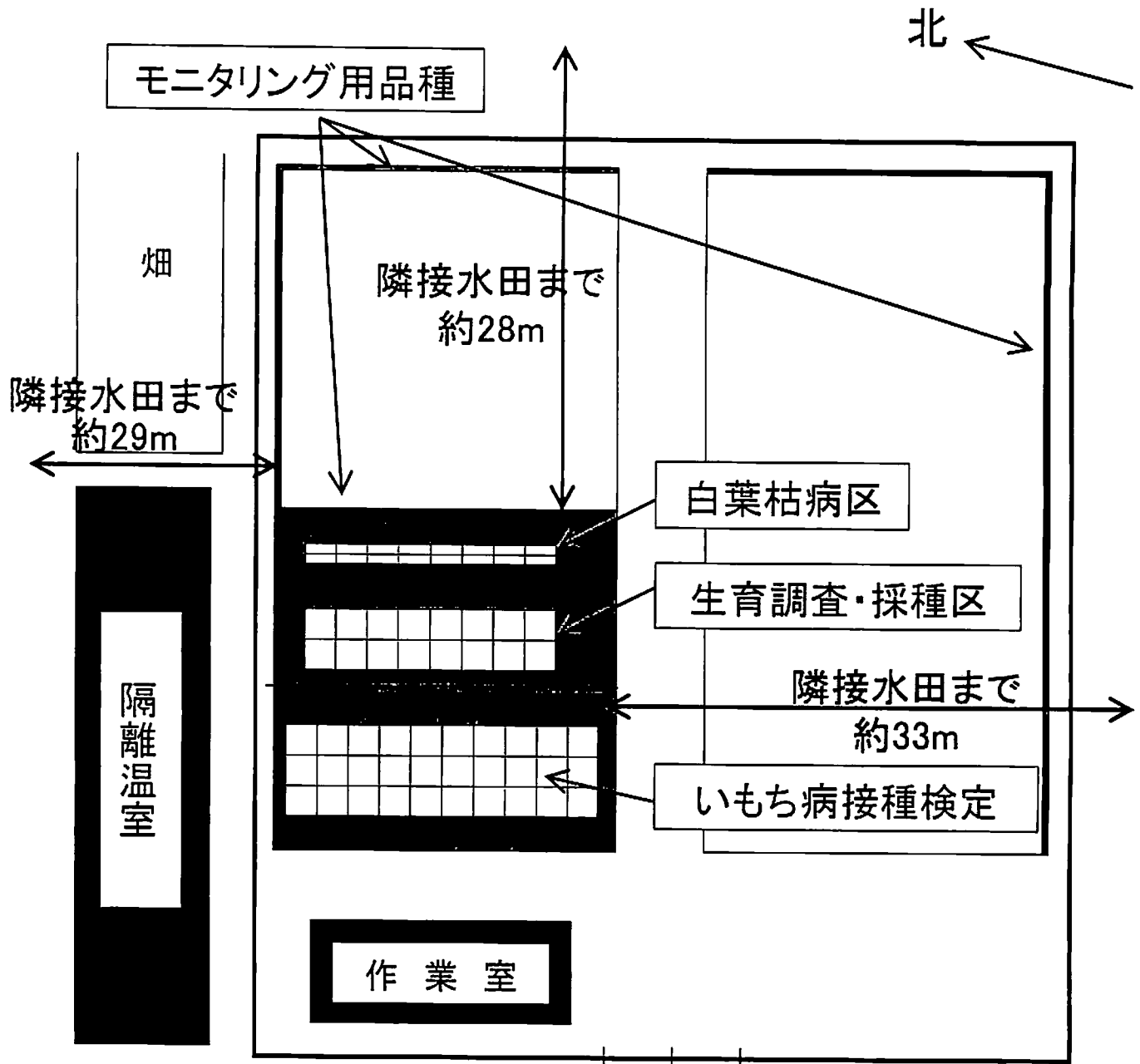
##### c) 花粉飛散防止

開花期には袋かけまたはシートで覆うことによって, 花粉飛散を防止します。

#### 2) 種子の混入防止

- ・栽培期間中は防鳥網をかけます。
- ・排水口に網を設置します。
- ・農具・長靴等は隔離圃場内専用とします。
- ・農業機械は隔離圃場内で洗浄します。
- ・収穫物は隔離圃場内で裁断し, 鋤き込みます。
- ・栽培物を隔離圃場外に持ち出す場合は密封容器を利用します。
- ・種子は許可された室内で分別管理します。
- ・その他, 栽培指針に従って厳格な管理をします。

# 2005年度隔離圃場栽培実験図



## 遺伝子組換え作物を管理する法律

中央農業総合研究センター 北陸地域基盤研究部  
稲遺伝解析研究室長

吉田 均

1. 背景
2. 法令(カルタヘナ法)について
3. 農水省指針(栽培実験指針)について

1

## 背景

遺伝子組換え作物の実験をほ場で行うためのルール

カルタヘナ法…野生生物への影響を考慮した「法令」  
栽培実験指針…農作物への影響を考慮した「指針」

↓

「野生生物・農作物への影響に留意」

2

## 「カルタヘナ法」について(1)

カルタヘナ認定書  
(遺伝子組換え生物の取り扱いに関する国際的な約束)  
「遺伝子組換え生物等の使用による生物多様性への悪影響を防止」

生物多様性とは? → 野生生物の生態系のバランス

↓

認定書にもとづいた一連の国内法  
(いわゆるカルタヘナ法)

3

## 「カルタヘナ法」について(2)

### 遺伝子組換え生物等の第一種使用と第二種使用?

- ・ 第一種使用…拡散防止措置なし  
一般ほ場、隔離ほ場
- ・ 第二種使用…拡散防止措置あり  
特定構室、隔離温室、実験室

第一種使用のためには…

- ・ 生物多様性影響評価(隔離温室等での事前チェック)  
野生生物への影響を評価  
(雑草性、交雑性、有害物質をつくるか、など)
- ↓
- ・ 「第一種使用規程」を作成する  
申請 → 審査 → 承認

4

## 遺伝子組換え農作物の安全性評価の流れ

生物多様性影響評価

第二種使用

実験室  
隔離温室  
特定網室

第一種使用

隔離ほ場  
(研究所内)  
一般ほ場

食品安全性評価

---

飼料安全性評価

---

非食品用途(花など)

審査

栽培実験指針

5

## 「栽培実験指針」について(1)

### 組換え作物の栽培実験上の注意事項

- ・ 野生生物だけでなく、研究所内外で栽培されている同種の一般作物への影響を考慮
- ・ 「栽培実験計画書」を作成する
- ・ 同種栽培作物との交雑防止措置  
隔離距離・栽培時期で交雑防止  
(イネの場合、距離20m以上+出穂期2週間以上)  
(距離が確保できない場合は摘花、ネット被覆等)
- 交雑のモニタリング(イネ、ダイズ)  
研究所の境界近くに指標作物
- ・ 混入防止措置

6

## 「栽培実験指針」について(2)

- ・ 情報提供  
実験開始前…計画書の公表、説明会  
実験実施中…経過をHPで公開、見学会  
実験終了後…結果をHPで公開
- ・ 管理体制  
栽培実験責任者…実験全般の総括  
作業管理責任者…作物の管理、交雑防止、混入防止等  
情報提供主任者…情報提供作業

7

## まとめ

1. ほ場で組換え作物の栽培実験を行うためには、「カルタヘナ法」と「栽培実験指針」を守らなければいけない。
2. 野生生物の生態系に悪影響がないように実験を行う。(カルタヘナ法)
3. 同種の栽培作物にも影響を及ぼさないように実験を行う。(栽培実験指針)

8

## より詳しい情報を知りたい方に ～関係ウェブサイト～

- ・ バイセーフティクリアリングハウス  
(環境省ホームページ)  
<http://www.bch.bioc.go.jp/index.html>
- ・ 遺伝子組換え技術の情報サイト  
(農林水産省ホームページ)  
<http://www.saffrc.go.jp/docs/anzenka/index.htm>

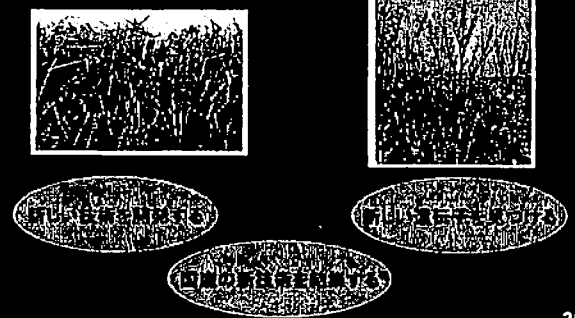
9

カラシナ由来の抗菌性タンパク質をもつ複合耐病性イネ系統の  
隔離圃場栽培実験説明会

北陸地域基盤研究部 稲組換研究チーム長  
川田 元滋

北陸研究センターにおける組換えイネ開発  
複数の病気に強い遺伝子を用いる

安心に配慮した組換え体にする  
刃入遺伝子を可食部(米粒)で隠さない  
刃入遺伝子はすべて作物由来

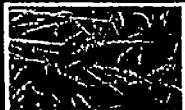


- ＊病気に強いイネの開発は、減農薬栽培を実現します。
- ＊病気に強いイネの開発は、低コスト生産・環境負荷の低減を実現します。



日本の農薬用殺菌剤市場は  
800億円以上で、  
いもち病防除剤の出荷額は  
430億円

食べておいしいイネ品種への  
病害抵抗性付与が  
強く求められています。



イネの最重要病害、いもち病

病気に強い遺伝子

- ＊イネ以外の作物は、イネが持っていない、病気に強い性質（遺伝子）を持っています。
- ＊イネ以外の作物の性質（遺伝子）は、イネに交配で導入することができません。
- ＊イネ以外の作物の性質（遺伝子）を、イネに導入することができると、今まで実現できなかった高度な病害抵抗性を付与することができます。



デフェンシンとは

抗菌活性を持つ蛋白質。  
細菌や糸状菌に対して活性を示す。  
動植物には活性を示さない。

多様な生物に存在する。  
生物種によって、少しずつ構造と機能が異なる。

デフェンシンはアブラナ科野菜に共通して存在する。  
アブラナ科野菜の葉や種に含まれる。  
カラシナ由来のデフェンシンは、強い活性を示す。



カラシナの仲間



カブの仲間

キャベツの仲間

ダイコンの仲間

アブラナの仲間

その他

カラシナは、日本の各地で栽培、葉は漬物として大量に利用されている。

タカナはカラシナと同じ仲間だが、辛味が少ないのが特徴。山形名産「青栗漬け」の青栗はカラシナの仲間。

十日町と小千谷地域で「へぎそば」の薬味として練りカラシが出されることがあり、「カラシナ」は昔からよく栽培されていた。

食用：春の若芽を摘んで、おひたし、辛子あえ、白あえ、一夜漬けに、生のままころもをつけて夫がらに。

カラシナの種子は、芥子(がいし)として日本料理に用いられている。





#### 人工胃液、人工腸液による消化性試験

人工胃液:  
15分間の処理で速やかに消化され、  
未消化物が検出限界以下となった。

人工腸液:  
1分間の処理で速やかに消化され、  
未消化物が検出限界以下となった。

ディフェンシン蛋白質は、易消化性であり、  
有害蛋白質とは異なることを確認した。

カラシナ由来の抗菌性タンパク質をもつ複合耐病性イネ系統の  
隔離圃場栽培実験

北陸地域基盤研究部 専門領域研究官  
矢頭 治

1

隔離圃場栽培実験の概要

供試系統  
5系統 (原品種「どんとこい」)

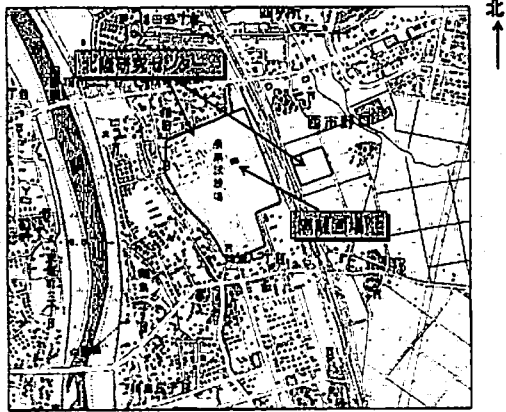
栽培面積  
隔離圃場内4aの区画の約1aに組換え体を栽培

- 実験の目的
1. 圃場条件下での実用的耐病性(いもち病・白葉枯病)
  2. 圃場条件下での生育特性
  3. 生物多様性への影響評価
  4. 採種

実験の概要  
2005年(平成17年):系統の選抜と採種  
2006年(平成18年):詳細な評価

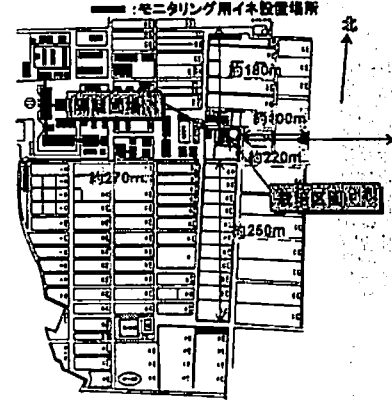
2

中央農研・北陸研究センター周辺図



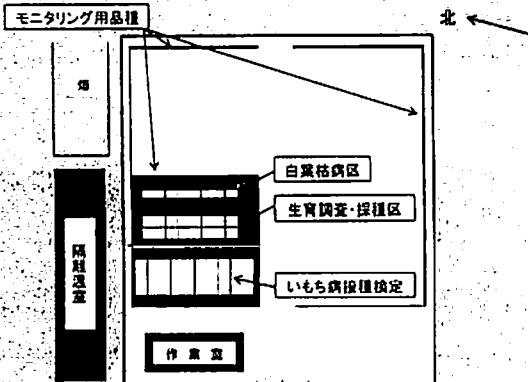
3

中央農研・北陸研究センター高田圃場図



4

2006年度隔離圃場栽培実験概念図



5

2005年栽培実験の内容

1. 耐病性の評価
  - a. いもち病接種検定  
感染源投入による葉いもちの進展
  - b. 白葉枯病検定  
剪(せん)葉接種検定
2. 生育特性・形態特性の評価  
稲種苗特性分類調査基礎
3. 生物多様性への影響の評価  
導入遺伝子の発現  
成体の越冬性  
土中微生物相への影響
4. 採種  
1系統あたり約2kg

6

### 花粉飛散による自然交雑の防止

#### 1) 距離

- a) 最も近い一般農家水田は、高架の道路をはさんで約220mの距離。
- b) 試験圃場内の最も近いイネとは28m以上の距離。

#### 2) 開花時期

- a) いもち病耐病性試験区は開花期前に穂の刈り取り。
- b) その他の試験区は、栽培時期を遅らせる(6月下旬移植)。

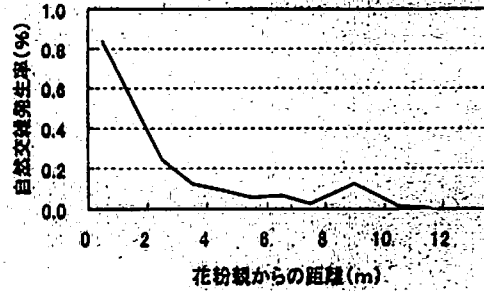
#### 3) 花粉飛散防止

開花期に、袋かけまたはシート被覆で花粉飛散を防止。

7

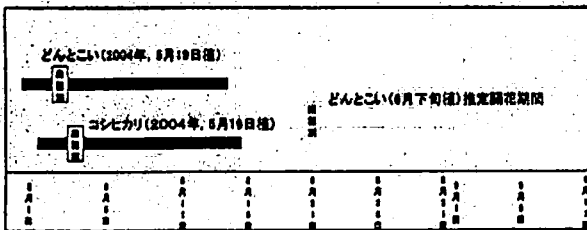
### 水稲の自然交雑の例

(2004年、風下側、稲田圃場)



8

### 稲田圃場での「ゴシヒカリ」と「どんとこい」の開花期間



9

### 種子の混入防止

栽培期間中は防鳥網をかける。  
排水口に網を設置する。

農具・長靴等は隔離圃場内専用とする。  
農業機械は隔離圃場内で洗浄する。

収穫物は隔離圃場内で脱穀し、船き込み。  
穀培物を隔離圃場外に持ち出す場合は密封容器を利用する。

種子は許可された室内で分別保管。

10

### 情報提供の経緯概要

平成16年

12月24日(金) 新潟県農林水産部

平成17年

- 1月18日(木) えちご上越農業共同組合
- 1月27日(金) 新潟県中頸城農業改良普及センター
- 1月24日(月) 上越市役所、農林水産課等
- 1月26日(火) JA新潟中央会農業対策部、JA全農にいがた米穀部
- 2月7日(月) 上越食料農業農村議員連盟
- 4月11日(月) ~13日(水) 近隣町内会長
- 4月13日(木) 近隣農家組合長
- 4月14日(木) 上越市役所農政課、上越市記者クラブ、上越ケーブルテレビ、上越タイムス、上越のみうり
- 4月21日(木) えちご上越農業共同組合
- 4月22日(金) 上越市役所農政企画課

11

### 今後の予定

- 5月下旬 第1回田植え
- 6月中旬 スプリンクラー・防風網設置
- 6月中・下旬 いもち病圃場被覆
- 6月下旬 第2回田植え
- 7月中・下旬 いもち病圃場調査
- 7月下旬 いもち病決定区の穂刈
- 8月中旬 白米枯病圃場被覆、袋掛け
- 9月中旬 一部穂外個体の刈り取り
- 9月下旬~10月上旬 収穫
- 10月下旬~ 収量調査、自然交雑調査

12