

機能検定を行い、SSA アッセイにより、これらが標的配列を認識して切断する活性を有することを示した。これらの技術および作出された形質転換体は TALEN を用いた NBT 技術の解析に供することができると考えている。

さらに、NBT 適用植物の作成過程において「中間体」として構築されると想定される、TALEN 遺伝子を導入した遺伝子組換えイネを、組換え体検知対象モデルとして使用し、その検知法を開発、評価した。その結果、一般的と考えられる TALEN 遺伝子を標的とした組換え体の PCR 法による検知が可能であることが示された。

#### F. 参考文献

- 1) Christian, M., Cermak, T., Doyle, EL., Schmidt, C., Zhang, F., Hummel, A., Bogdanove, AJ., Voytas, DF., *Genetics* **186**, 757–761(2010)
- 2) Sakuma, T., Ochiai, H., Kaneko, T., Tomoji, M., Tokumaru, D., Sakane, Y., Suzuki, K., Miyamoto, T., Sakamoto, N., Matsuura, S., Yamamoto, T., *Sci. Rep.*, **3**:b 3379, 1–8 (2013)
- 3) Asano, T., Kunieda, N., Omura, Y., Ibe, H., Kawasaki, T., Takano, M., Sato, M., Furuhashi, H., Mujina, T., Takaiwa, F., Wu, C.Y., Tada, Y., Satozawa, T., Sakamoto, M. and Shimada, H. *The Plant Cell*, **14**(3), 619-628 (2002)
- 4) 「安全性未審査の中国産米加工品の検知法について」食安監発第0220002号 (平成19年2月20日)
- 5) Sakuma, T., Hosoi, S., Woltjen, K., Suzuki, K., Kashiwagi, K., Wada, H., Ochiai, H., Miyamoto, T., Kawai, N., Sasakuma, Y., Matuura, S., Okada, Y., Kawahara, A., Hayashi, S., Yamamoto, T., *Gene Cells*, **18**, 315–326 (2013)

#### G. 研究発表

##### 1. 学会発表

- 1) 紀平望帆、小野寺瞳、青木裕美、草野博彰、島田浩章 (東京理科大・生物工) 「植物ゲノム編集 活性評価ベクター pDual35S-R-Luc+ の開発」第56回植物生理学会年会 2015年3月16日(月) -18日(水) 東京農業大学世田谷キャンパス
- 2) 紀平望帆、宮野大輝、廣政智子、河本健正、シャク高志、草野博彰、島田浩章:イネ貯蔵物質遺伝子 *FLO2* の機能に関する研究、東京理科大学公開シンポジウム「アグリバイオへの理工学的なアプローチを目指して」、東京理科大学葛飾キャンパス(2015.7)
- 3) 小野寺瞳、紀平望帆、草野博彰、島田浩章:TALENのための2遺伝子発現ベクターの開発と植物ゲノム編集の簡略化、第33回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム、東京大学弥生キャンパス(2015.8)
- 4) 草野博彰、小野寺瞳、紀平望帆、島田浩章:植物で TALEN 遺伝子を構築するためのエントリーベクターpPlat シリーズの開発、第33回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム、東京大学弥生キャンパス(2015.8)
- 5) 紀平望帆、小野寺瞳、青木裕美、草野博彰、島田浩章:植物細胞内における TALEN 活性評価のためのプラスミド開発:第33回日本植物細胞分子生物学会大会・シンポジウム、東京大学弥生キャンパス(2015.8)
- 6) 紀平望帆、青木裕美、小野寺瞳、板垣文子、堀江峻晃、松崎ひかる、草野博彰、島田浩章:植物ゲノム編集のための2遺伝子発現ベクター構築系と SSA アッセイプラスミドの開発。第38回日本分子生物学会年会・第38回日本生化学会大会合同大会(BMB2015)、神戸(2015.11)
- 7) 小野寺瞳、紀平望帆、青木裕美、堀江峻晃、河野徳昭、吉松嘉代、近藤一成、松崎ひかる、板垣文子、草野博彰、島田浩章:

Construction of the desired TALEN gene using the Emerald Gateway TALEN kit for the rice genome editing and its evaluation、第57回日本植物生理学会年会、岩手大学上田キャンパス(2016.3)

## 2. 論文発表

Kusano, H., Onodera, H., Kihira, M.,

Aoki, H., Matsuzaki, H., Shimada, H. A simple Gateway-assisted construction system of TALEN genes for plant genome editing. (投稿中)

H. 知的財産権の出願、登録状況  
無し

### III. 研究成果の刊行に関する一覧表

研究成果の刊行に関する一覧表  
(H25-27 総合)

書籍

著者氏名	論文タイトル名	書籍全体の 編集者名	書籍名	出版社名	出版地	出版 年	ペー ジ
なし							

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakamura, K., Kondo, K., Akiyama, H., Ishigaki, T., Noguchi, A., Katsumata, H., Takasaki, K., Futo, S., Sakata, K., Fukuda, N., Mano, J., Kitta, K., Tanaka, H., Akashi, R., & Nishimaki-Mogami, T.	Interlaboratory study on unauthorized genetically modified papaya PRSV-YK real-time PCR detection method.	Data in Brief	7	1165-1170	2016
Nakamura, K., Kondo, K., Akiyama, H., Ishigaki, T., Noguchi, A., Katsumata, H., Takasaki, K., Futo, S., Sakata, K., Fukuda, N., Mano, J., Kitta, K., Tanaka, H., Akashi, R., Nishimaki-Mogami, T.	Whole genome sequence analysis of unidentified genetically modified papaya for development of a specific detection method.	Food Chemistry	205	272-279	2016
Sakuma T, Nakade S, Sakane Y, Suzuki KT and Yamamoto T.	MMEJ-assisted gene knock-in using TALENs and CRISPR-Cas9 with the PITCh systems.	Nature Protocols	11	118-133, 2016	2016
Kusano, H., Onodera, H., Kihira, M., Aoki, H., Matsuzaki, H., Shimada, H.	A simple Gateway-assisted construction system of TALEN genes for plant genome editing.	(submitted)			

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Takabatake, R., Onishi, M., Futo, S., Minegishi, Y., Noguchi, A., Nakamura, K., Kondo, K., Teshima, R., Mano, J., Kitta, K.	Comparison of the specificity, stability, and PCR efficiency of six rice endogenous sequences for detection analyses of genetically modified rice.	Food Control	50	949-955	2015
Kasai A, Harada T.	Epimutant Induction as a New Plant Breeding Technology.	JARQ (Japan Agricultural Research Quarterly)	49	301-305	2015
Kondo, K., Nakamura, K.	Scientific review on novel genome editing techniques.	Food Hygiene and Safety Science	55	231-246	2014
Kitagawa, M., Nakamura, K., Kondo, K., Ubukata, S., Akiyama, H.	Examination on the detection of common DNA sequence of genetically modified tomatoes in processed vegetable foods.	Food Hygiene and Safety Science	55	247-253	2014
Noguchi, A., Akiyama, H., Nakamura, K., Sakata, K., Minegishi, Y., Mano, J., Takabatake, R., Futo, S., Kitta, K., Teshima, R., Kondo, K., Nishimaki-Mogami, T.	A novel trait-specific real-time PCR method enables quantification of genetically modified (GM) maize content in ground grain samples containing stacked GM maize.	European Food Research and Technology	240	413-422	2015
Minegishi, Y., Mano, J., Takabatake, R., Nakamura, K., Kondo, K., Kato, Y., Kitta, K., Akiyama, H.	Development of pBT63, a positive control plasmid for qualitative detection of genetically modified rice.	Japanese Journal of Food Chemistry and Safety	21	48-56	2014
Nakamura, K., Kondo, K., Kobayashi, T., Noguchi, A., Ohmori, K., Takabatake, R., Kitta, K., Akiyama, H., Teshima, R., Nishimaki-Mogami, T.	Identification and detection method for genetically modified papaya resistant to papaya ringspot virus strains in Thailand.	Biological & Pharmaceutical Bulletin	37	1-5	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ochiai H, Miyamoto T, Kanai A, Hosoba K, Sakuma T, Kudo Y, Asami K, Ogawa A, Watanabe A, Kajii T, Yamamoto T and Matsuura S.	TALEN-mediated single-base pair editing identification of an intergenic mutation upstream of BUB1B as causative of PCS (MVA) syndrome.	Proc Natl Acad Sci U S A	111	1461-1466	2014
Sakane Y, Sakuma T, Kashiwagi K, Kashiwagi A, Yamamoto T and Suzuki K.	Targeted mutagenesis of multiple and paralogous genes in <i>Xenopus laevis</i> using two pairs of TALENs.	Dev Growth Differ	56	108-114	2014
Nakade S, Tsubota T, Sakane Y, Kume S, Sakamoto N, Obara M, Daimon T, Sezutsu H, Yamamoto T, Sakuma T and Suzuki K.	Microhomology-mediated end-joining-dependent integration of donor DNA in cells and animals using TALENs and CRISPR/Cas9.	Nature Communications	5	5560	2014
Ochiai H, Sugawara T, Sakuma T and Yamamoto T.	Stochastic promoter activation affects Nanog expression variability in mouse embryonic stem cells.	Scientific Reports	4	7125	2014
Sakuma T, Nishikawa A, Kume S, Chayama K and Yamamoto T.	Multiplex genome engineering in human cells using all-in-one CRISPR/Cas9 vector system.	Scientific Reports	4	5400	2014
Tanaka, H., Kitazaki, Y., Nakamura, K., Akiyama, H., Akashi, R.	Development of a simple detection method for genetically modified papaya PRSV-YK	Ikushugaku Kenkyu	16	158-161	2014
Mano, J., Hatano, S., Futo, S., Minegishi, Y., Ninomiya, K., Nakamura, K., Kondo, K., Teshima, R., Takabatake, R., Kitta, K.	Development of direct real-time PCR system applicable to a wide range of food and agricultural products.	Food Hygiene and Safety Science	55	25-33	2014

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Nakamura, K., Minamitake, Y., Nakamura, K., Kobayashi, T., Noguchi, A., Takabatake, R., Kitta, K., Hashimoto, H., Kawakami, H., Kondo, K., Teshima, R., Akiyama, H.	Development of PCR primers designed for sensitive detection of genetically modified potato DNA in processed foods.	Japanese Journal of Food Chemistry and Safety	20	161- 169	2013
Nakamura, K., Akiyama, H., Kawano, N., Kobayashi, T., Yoshimatsu, K., Mano, J., Kitta, K., Ohmori, K., Noguchi, A., Kondo, K., Teshima, R.	Evaluation of real-time PCR detection methods for detecting rice products contaminated by rice genetically modified with a CpTI—KDEL—T-nos transgenic construct.	Food Chemistry	141	2618- 2624	2013
Nakamura, K., Akiyama, H., Takahashi, Y., Kobayashi, T., Noguchi, A., Ohmori, K., Kasahara, M., Kitta, K., Nakazawa, H., Kondo, K., Teshima, R.	Application of a qualitative and quantitative real-time polymerase chain reaction method for detecting genetically modified papaya line 55-1 in papaya products.	Food Chemistry	136	895- 901	2013
Takabatake, R., Noritake, H., Noguchi, A., Nakamura, K., Kondo, K., Akiyama, H., Teshima, R., Mano, J., Kitta, K.	Comparison of DNA extraction methods for sweet corn and processed sweet corns.	Food Hygiene and Safety Science	54	309- 315	2013
Nakajima, O., Nakamura, K., Kondo, K., Akiyama, H., Teshima, R.	Method of detecting genetically modified chicken containing human erythropoietin gene.	Biological & Pharmaceuti cal Bulletin	36	1454- 1459	2013
Noguchi, A., Nakamura, K., Sakata, K., Kobayashi, T., Akiyama, H., Kondo, K., Ohmori, K., Kasahara, M., Takabatake, R., Kitta, K., Teshima, R.	Interlaboratory validation study of an event-specific real-time polymerase chain reaction detection method for genetically modified 55-1 papaya.	Journal of AOAC Internationa l	96	1054- 1058	2013

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Ohmori, K., Nakamura, K., Kasahara, M., Takabatake, R., Kitta, K., Fujimaki, T., Kondo, K., Teshima, R., Akiyama, H.	A novel DNA extraction and purification method using an ion-exchange resin type kit for the detection of genetically modified papaya in processed papaya products.	Food Control	32	728-735	2013
Sakuma T, Hosoi S, Woltjen K, Suzuki KI, Kashiwagi K, Wada H, Ochiai H, Miyamoto T, Kawai N, Sasakura Y, Matsuura S, Okada Y, Kawahara A, Hayashi S and Yamamoto T.	Efficient TALEN construction and evaluation methods for humancell and animal applications.	Genes Cells	18	315-326	2013
Sakuma T, Ochiai H, Kaneko T, Mashimo T, Tokumasu D, Sakane Y, Suzuki K, Miyamoto T, Sakamoto N, Matsuura S and Yamamoto T.	Repeating pattern of non-RVD variations in DNA-binding modules enhances TALEN activity.	Scientific Reports	3	3379	2013
Kasama, K., Inoue, Y, Akiyama, H., Suzuki, T., Sakata, K., Nakamura, K., Ohshima, Y., Kojima, K., Kondo, K., Teshima, R.	Proficiency testing of unauthorized genetically modified rice using plasmid DNA test samples.	Japanese Journal of Food Chemistry and Safety	19	215-222	2012
Akiyama, H., Minegishi, Y., Makiyama, D., Mano, J., Sakata, K., Nakamura, K., Noguchi, A., Takabatake, R., Futo, S., Kondo, K., Kitta, K., Kato, Y., Teshima, R.	Quantification and Identification of Genetically Modified Maize Events in Non-Identity Preserved Maize Samples in 2009 using an Individual Kernel Detection System.	Food Hygiene and Safety Science	53	157-165	2012
Mano, J., Harada, M., Takabatake, R., Furui, S., Kitta, K., Nakamura K., Akiyama, H., Teshima, R., Noritake, H., Hatano, S., Futo, S., Minegishi, Y., Iizuka T.	Comprehensive GMO detection using real-time PCR array: single-laboratory validation	Journal of AOAC International	95	508-516	2012



