

平成 29 年 4 月 18 日

平成 28 年度 Rubisco 過剰生産及び生産抑制遺伝子組換えイネを用いた隔離ほ場での生育及び収量評価試験実績報告、及び、平成 29 年度同試験計画に関する公開説明会

東北大学 環境・安全委員会遺伝子組換え実験安全専門委員会  
大学院農学研究科

日時： 平成 29 年 4 月 29 日 13:30～17:00

場所： 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター・新研究棟

議事予定

1. 開会
2. 挨拶  
東北大学環境・安全委員会遺伝子組換え実験安全専門委員会
3. 平成 28 年度 Rubisco 過剰生産及び生産抑制遺伝子組換えイネを用いた隔離ほ場での生育及び収量評価試験実績、及び、平成 29 年度同試験計画について  
牧野 周 (大学院農学研究科)
4. 質疑応答
5. 閉会
6. 隔離ほ場(現場)の見学 \*希望者

会場までのアクセス

【公共交通機関】

- ① 仙台駅 → (東北新幹線) → 古川駅 → (陸羽東線) → 川渡温泉駅 → (徒歩約 45 分・タクシー約 5 分) → セミナーセンター
- ② 仙台駅 → (東北本線) → 小牛田駅 → (陸羽東線) → 川渡温泉駅 → (徒歩約 45 分・タクシー約 5 分) → セミナーセンター
- ③ 仙台駅 → (高速バス) → 古川駅 → (陸羽東線) → 川渡温泉駅 → (徒歩約 45 分・タクシー約 5 分) → セミナーセンター

【自家用車】

- ① 仙台 → 東北自動車道 → 古川インター → (R47 鳴子・新庄方面約 40 分) → セミナーセンター

\*以下、HP をご参照ください。

<http://www.bureau.tohoku.ac.jp/kawatabi/access.html>

第2 遺伝子組換え作物の栽培実績書（様式2）  
平成28年度遺伝子組換え作物栽培実績書

平成29年1月30日

宮城県知事 殿

郵便番号 980-8577

住 所 仙台市青葉区片平 2-1-1

電話番号 022-217-6017

氏 名 国立大学法人東北大学 総長 里見 進 印

「遺伝子組換え作物の栽培に関する指針」第4の規定により、下記のとおり届け出ます。

栽培の目的	<p>私たちは、イネの個葉光合成の改善と生産性の向上を目指して、光合成炭酸固定酵素 Rubisco (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) を増強する研究を行っている。これまでの研究過程において、遺伝子組換え操作により Rubisco 酵素を過剰に生産する形質転換体イネと、逆に Rubisco の生産が抑制された形質転換体イネの作出を、既に、行っている。これら 2 系統の形質転換体イネと非組換えイネを、ほ場レベルで栽培し、比較することにより、Rubisco 量の増減が、イネの個体生育と収量に及ぼす影響を評価したいと考えている。</p> <p>試験栽培に使用する第一種使用規程承認作物は以下の 2 系統である。</p> <p>(1) Rubisco 過剰生産イネ (<i>RBCS2</i>-sense, <i>Oryza sativa</i> L.) (Sr26-8) Rubisco の小サブユニット遺伝子 <i>RBCS2</i> を、イネ(品種：能登ひかり)にセンス方向に導入し、Rubisco 酵素のタンパク質量を増加させた系統。</p> <p>(2) Rubisco 生産抑制イネ(<i>RBCS2</i>-antisense, <i>Oryza sativa</i> L.) (AS-71) Rubisco の小サブユニット遺伝子 <i>RBCS2</i> を、イネ(品種：能登ひかり)にアンチセンス方向に導入し、Rubisco 酵素のタンパク質量を減少させた系統。</p> <p>平成28年度の試験は、平成28年度から平成30年度までの3か年で実施する予定の初年度であり、上記2系統の組換えイネと親株である能登ひかりを東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター隔離ほ場で栽培し、定期的に生育及び収量調査を行った。得られた結果より、イネRubisco酵素の増減が、直接、生育や生産性</p>
-------	--

	に与える影響を評価した。
栽培管理責任者名・ 連絡先 ※栽培従事者一覧添付 (別添図表1)	氏名：牧野 周 (フリガナ：マキノ アマネ) 住所：980-0845 仙台市青葉区荒巻字青葉468-1 東北大学大学院農学研究科 連絡先(電話)：022-757-4287
作物名・品種名	作物名： イネ 品種名： 能登ひかり(ノトヒカリ)
第一種使用規程	承認年月日：平成28年4月12日 使用期間：平成28年5月9日～平成29年3月17日
栽培ほ場の地名・地番 構造・規模 ※ほ場・施設図面添付 (別添図表2)	宮城県大崎市鳴子温泉字蓬田232-3 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター 隔離ほ場(通称, 隔離ほ場)及び隔離ほ場内施設(実験室・物置・ビニールハウス)(北緯38°44', 東経140°45', 標高170 m)・露地 規模 隔離ほ場 5,320 m <sup>2</sup> のうち, 畦畔部分を含む砂質水田 500 m <sup>2</sup> を使用(尚, 畦畔部分を除く作付け可能な面積は, 381 m <sup>2</sup> )
播種・定植・収穫実績 ※作業工程表を添付 (別添図表3)	平成28年度隔離ほ場作業工程 (別添図表3) 1. 施肥： ① 基肥：平成28年5月23日 側条；N: 6.30 kg/10a (5.04 kg/10a + *1.06 kg/10a), P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : 5.80 kg/10a, K <sub>2</sub> O: 4.66 kg/10a *緩効性肥料LPS60及びLP70 ② 追肥(つなぎ肥)：平成28年6月6日 全層；N: 3.67 kg/10a, P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : 3.67 kg/10a, K <sub>2</sub> O: 3.67 kg/10a ③ 追肥(幼穂形成期)：平成28年7月16日 全層；N: 1.30 kg/10a ④ 追肥(減数分裂期)：平成28年7月24日 全層；N: 1.95 kg/10a  2. 播種： 平成28年4月22日 非組換えイネ(能登ひかり), Rubisco過剰生産イネ(Sr26-8)及びRubisco生産抑制イネ(AS-71)の種子を, それぞれ約560粒(15.1 g), 約740粒(18.3 g), 及び試験区外周定植用として能登ひかり 53,000粒(約650 g), 使用した。  3. 育苗： 平成28年4月22日～5月23日

	<p>東北大学大学院農学研究科(雨宮キャンパス)の閉鎖系(P1P)温室で、育苗を行った。</p> <p><b>4. 定植 (田植え) :</b>  <b>平成28年5月26日</b></p> <p>隔離ほ場内の砂質水田に畝幅・株間30 × 16 cm間隔の一株3本植え(70株/坪)で、非組換えイネ(能登ひかり)を120株、Rubisco生産抑制イネを87株、Rubisco過剰生産イネを132株、それぞれ定植した。また、試験区の組換えイネの周囲には、Rubisco生産抑制及びRubisco過剰生産イネの親株である非組換えイネ、能登ひかりを7,300株、定植した。</p> <p>◇ 尚、本年度の計画書においては、当該砂質水田に隣接する粘質水田(500 m<sup>2</sup>)に、水田機能の維持管理を目的として、非組換えイネ(能登ひかり)を定植し、収穫まで栽培する予定すると記載したが、水利の不都合があつて、これを行わなかった。</p> <p><b>5. 収穫 (稲刈り) :</b>  <b>平成28年10月6日</b></p> <p>非組換えイネ(能登ひかり)、Rubisco過剰生産イネ、及びRubisco生産抑制イネの収穫は、鎌を用いて手作業で行った。周辺部の非組換えイネ(能登ひかり)は、手作業及び刈取機(イセキ農機株式会社 R L50 2条刈り)を使用し、行った。</p> <p><b>6. 乾燥及び残渣処理 :</b>  <b>平成28年10月6日~平成28年11月22日</b></p> <p>収穫した参照実験用非組換えイネ(能登ひかり)、Rubisco過剰生産イネ、及びRubisco生産抑制イネを、直ちに、隔離ほ場に設置した「二重構造形質転換体イネ専用乾燥小屋(通称 ; 乾燥小屋)」(別添図表8B)へと運び、自然乾燥させた。また、解析に用いない不要なイネは、隔離ほ場内に施工した溝(長さ約10 m、幅約3 m、深さ約1 m)に投棄した後、土で埋没させ、腐食処理に供した(別添図表3C、8C)。</p>
<p>看板設置  情報公開  (別添図表4)</p>	<p><b>1. 看板設置 (別添図表4)</b>  平成28年4月21日設置  設置期間: 平成28年4月21日より平成31年3月31日</p>



	<p><b>2. 情報公開（別添図表4）</b></p> <p>① 平成28年5月12日 大崎市鳴子地区区長会（場所； 大崎市鳴子公民館， 宮城県大崎市鳴子温泉鷺ノ巣85-4）</p> <p>② 平成28年5月21日 住民説明会（場所； 東北大学川渡共同セミナーセンター， 第1研修室， 宮城県大崎市鳴子温泉原75）</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 案内先；一般住民，大崎市，大崎市鳴子地区区長，各階級議会議員（地区選出衆議院議員，宮城県会議員，大崎市議会議員），JAいわでやま，NOSAI宮城）</li> <li>◇ 案内方法；大崎タイムス及び古川記者クラブ，鳴子地区に回覧板による告知，東北大学遺伝子実験センターHPによる告知(<a href="http://www.cgr.tohoku.ac.jp/">http://www.cgr.tohoku.ac.jp/</a>)，持ち込み</li> </ul> <p>③ 常時 東北大学遺伝子実験センター(<a href="http://www.cgr.tohoku.ac.jp/">http://www.cgr.tohoku.ac.jp/</a>)及び東北大学大学院農学研究科植物栄養生理学分野HP(<a href="http://www.agri.tohoku.ac.jp/syokuei/index-j.html">http://www.agri.tohoku.ac.jp/syokuei/index-j.html</a>)による作業進捗状況の開示</p>
--	--

種籾 種苗	購入先	<p><b>非組換えイネ(能登ひかり)</b></p> <p>JA珠洲（珠洲市農業協同組合； 石川県珠洲市若山町出田16の部16-1）</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 尚，本試験研究では，平成27年度に東北大学大学院農学研究科（雨宮キャンパス）のP1P温室にて育成，取得したRubisco過剰生産イネT3世代，及びRubisco生産抑制イネT3世代を使用した。</li> </ul>
	購入量	非組換えイネ(能登ひかり) 2.0 kg
	保管方法	<p><b>Rubisco過剰生産イネ，及びRubisco生産抑制イネの種籾の保管</b></p> <p>Rubisco過剰生産イネT3世代，及びRubisco生産抑制イネT3世代の種籾は，東北大学大学院農学研究科内のP1P実験室内の専用保管庫において，他の種籾とは区分して保管している。</p> <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 尚，播種前(平成28年4月3日時点)の，保管していたこれら形質</li> </ul>

		<p>転換体2系統のイネ種籾重量は、Rubisco過剰生産イネが54.4 g，Rubisco生産抑制イネが21.2 gであった。</p>
<p>同種栽培作物との距離 ※周辺地図を添付 (別添図表2)</p>	<p>作物名： イネ 距離(最短) 200 m 同種・近縁種との距離(最短) 200 m</p>	
<p>交雑防止措置</p>	<p><b>平成28年度計画書記載内容</b></p> <p>1. 「第一種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」の隔離距離による交雑防止措置に従う。なお、本組換えイネの栽培する隔離ほ場から同種の栽培イネが栽培されている最も近い場所は、川渡フィールドセンター内の研究ほ場で約200 m、一般農家のほ場で約400 mである。このことは、指針で示されている30 m以上隔離し組換えイネを栽培するという条件を満たしていることになる。また、当隔離ほ場の周囲は、高さ185 cmのメッシュフェンスで囲われ、かつ、隔離ほ場から研究及び一般ほ場側の三方は、高さ約20 mの樹木(防風林)が覆っている。</p> <p>2. さらに、出穂約2週間前から収穫時まで、防雀網(20 mmメッシュ)を設置する。</p> <p><b>本年度実施した交雑防止措置</b></p> <p>1. 本年度栽培計画書に則り、同種栽培作物との隔離距離を十分に確保(別添図表2)</p> <p>2. 平成28年7月28日 防雀網支柱補強 (別添図表5)</p> <p>3. 平成28年8月3日 防雀網設置 (別添図表5)</p> <p>◇ 本試験に使用した隔離ほ場砂質水田に、出穂前の平成28年8月3日、防雀網(20 mmメッシュ)を設置した。防雀網の裾は、長さ4 m、直径20 mm、重量約5 kgの鉄管で押さえ、小動物が侵入できないようにした。</p>	
<p>交雑の有無の確認</p>	<p><b>1. 開花期の風速の確認</b></p> <p>本年度栽培計画書に則り、風速計を平成28年7月13日に、砂質水田内に設置し、水田内の風速の計測を開始した(別添図表6B)。また、花粉トラップを、出穂前の平成28年8月4日~8月16日まで、隔離ほ場の内外に設置した(別添図表7A)。尚、花粉トラップ版の交換は、24時間~48時間毎に交換した。平成28年度において試験に用いた2系統の形質転換体イネの開花が最初に確認されたのは、8月5日であった。そして、これら2系統の形質転換イネに加え、非組換えイネ(能登ひかり)のおよそ3~4割が開花したのは、</p>	

8月8日であり、従って、平成28年度の開花日を8月8日とした。

- ◇ 本年度の栽培計画書では、「開花期(出穂期)の平均風速が3 m/sを超えるなどの花粉飛散の恐れまたはその可能性が発生したと判断された場合は、交雑の有無を確認するため、以下の実験を行う。」とした。開花期を含む平成28年8月1日～平成28年8月23日の隔離ほ場の風速に関して解析を行った(別添図表6A)。この期間には、9日に台風5号(別添図表7B)、16日に台風7号、22日に台風9号(別添図表6A)が、宮城県に接近した。しかし、風速解析を行った期間で、任意の2分間における平均風速が3 m/sを越えることはなかった。尚、この期間に観測された瞬間最大風速は、8月1日の2.5 m/sであった(別添図表6A)。さらに、気象庁の見解によれば、「平均風速」とは、10分間の平均風速を示すとある。
- ◇ 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター内に設置されている気象庁のアメダス(<http://www.data.jma.go.jp/obd/stats/etrn/index.php>)のデータと比較して、隔離ほ場内の風速は、約1/5以下に抑えられていた。これは、隔離ほ場を囲む防風林の効果と考えられる(別添図表2)。
- ◇ 防雀網を設置した平成28年8月3日以降、隔離ほ場砂質水田内の風速は、減少の傾向が見られる(別添図表6B)。

## 2. 花粉の飛散状況の確認

開花期において「2分間の平均風速が3 m/sを超える」ことはなかったが、開花期中の平成28年8月9日、台風5号が宮城県に接近した。この日の午前4時から午前11時までの平均風速は、2.4 m/s～3.6 m/sと強い風が観察された。しかし、隔離ほ場に設置した風力計では、2分間の平均最大風速は午前6時56分から58分までの0.54 m/sであり、「平均風速が3 m/sを超える」ことはなかった。尚、瞬間風速においても、午前5時44分に計測された2.10 m/sが最大であった。

この時の花粉トラップに捕集された花粉を Single Pollen Genotyping 法(花粉一粒からの遺伝子型決定法)を用いて、形質転換体イネの花粉の飛散状況の確認を行った(別添図表7)。Rubisco 過剰生産イネには、導入したセンス *RBCS2* 遺伝子にハイグロマイシン耐性遺伝子(*HPT* 遺伝子)が、また、Rubisco 生産抑制組換えイ

ネには、導入したアンチセンス *RBCS2* 遺伝子にビアラホス耐性遺伝子(*bar* 遺伝子)が連結されている。回収したプレートに付着した花粉の分析は、東北大学大学院農学研究科内の遺伝子組換え実験室 (P1P 実験室) にて行った。花粉が形質転換体イネ由来であるか否かについての検定は、Rubisco 過剰生産イネのみが有するハイグロマイシン耐性遺伝子、または、Rubisco 生産抑制イネが有するビアラホス耐性遺伝子が、花粉 DNA 中に含まれているか否かの検出方法により行った。具体的には、ガラスプレートに付着した花粉を光学顕微鏡下で注射針を用いてかき取り(別添図表 7A)、かき取った各花粉から抽出した DNA をテンプレートに、ハイグロマイシン、またはビアラホス耐性遺伝子を特異的に増幅するプライマーを用いた PCR (Polymerase Chain Reaction) 法により検定を行った。また検査した花粉がイネ由来であるか否かに関しては、イネ特異的な配列を有する tubulin の DNA の存在の有無を PCR 法により調べた

◇ その結果、隔離ほ場内外の何れの花粉トラップからも、形質転換体イネの花粉は、検出されなかった。

### 3. 交雑試験

形質転換体イネと、形質転換体イネの外周に栽培した非組換えイネ(能登ひかり)との交雑の有無の確認を行った。前述したように、Rubisco過剰生産イネには、導入したセンス *RBCS2* 遺伝子にハイグロマイシン耐性遺伝子(*HPT* 遺伝子)が、また、Rubisco生産抑制組換えイネには、導入したアンチセンス *RBCS2* 遺伝子にビアラホス耐性遺伝子(*bar* 遺伝子)が連結されている。この2系統の形質転換体イネの遺伝子的特性を利用して、交雑の有無の確認を行った。

試験区の周囲で栽培した非組換えイネ(能登ひかり)から種子を収穫した(別添図表 7C)。収穫した種子から、ランダムに30粒を抽出し、殺菌処理した後、水、50 mg l<sup>-1</sup>ハイグロマイシンまたは50 mg l<sup>-1</sup>ビアラホス水溶液をシャーレに満たし、種子を播種した。播種後、30°Cの恒温槽で10日間育成した。水処理の非組換えイネ(能登ひかり)、または耐性を持つ薬剤処理の形質転換体イネと同様の生育を示めすものを、生存数として数えた(別添図表 7C)。

◇ その結果、ハイグロマイシン、またはビアラホスに耐性を示す非組み換えイネ(能登ひかり)種子は無く、非組み換えイネと形質転換体イネとの間に交雑は起きていないと判断した。

混入防止措置	<p>注) 斜字体記載→「平成28年度計画書記載内容」、太字体記載→「本年度実施した混入防止措置」</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. 承認された組換えイネ、実験対照及び水田機能維持のために栽培するイネ以外の植物が隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。 <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 栽培期間中、約一月に一度は、隔離ほ場内の除草を行うことにより、雑草を含めた他の植物が隔離ほ場内で生育することを最小限に抑えた(別添図表 8A)。</li> </ul> </li> <li>2. 播種は、全て手作業で行い、定植は、手植え、または、田植機(クボタ 歩行型 sp-2)を使用して行う。残苗は、オートクレーブにより不活化し、その後に廃棄する。 <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 播種及び定植は、計画書に記載の通りに行った。また、残苗に関しても、オートクレーブを行い不活化した後に、廃棄した。</li> </ul> </li> <li>3. 開花前から収穫時まで栽培箇所全体を防雀網で覆い、また地面と防雀網の接地部分は隙間ができないように網を地面に密着させる。さらに、土をかぶせることで、栽培区域内への野鳥や小動物等の進入を防止する。 <ul style="list-style-type: none"> <li>◇ 開花期(出穂期)前の平成 28 年 8 月 3 日に、防雀網の設置を行った。裾に「土を被せる」ことは、畦畔の除草などの作業に不都合になるとの判断により、代わりに、長さ 4 m、直径 20 mm、重量約 5 kg の鉄管を購入し、防雀網の裾に置くことにより防雀網と地面を密着、固定させ、野鳥や小動物等の侵入防止策とした(別添図表 5)。</li> <li>◇ 防雀網設置に先立つ平成 28 年 7 月 28 日に、防雀網の支えとなる「支柱」の補強を、業者に依頼し、行った(別添図表 5)。</li> </ul> </li> <li>4. イネの刈取り作業は鎌を使用した手作業、または、刈取機(イセキ農機株式会社 RL50 2条刈り)を使用して行う。刈り取ったイネは、収量調査を行うまで、隔離ほ場内のビニールハウス内に設置する乾燥棚に掛け、自然乾燥を行う。 <ul style="list-style-type: none"> <li>乾燥棚をネットで覆うことで、野鳥や小動物等の進入を防止する。また、ビニールハウスの出入りの際は、迅速に扉の開閉を行うことにより、野鳥や小動物等の侵入を防止する。さらに、野鳥や小</li> </ul> </li> </ol>
--------	---

動物等の侵入口となりうるビニールハウスの破損の有無を、定期的に監視するとともに維持管理を徹底して行う。特に、ビニールハウスと地面と接触面に、野鳥や小動物等の侵入口がないかについては、重点的に監視を行う。

脱穀に関しては、機器類を使用せずに隔離ほ場の実験室内で手作業により行う。籾摺り作業に関しては、隔離ほ場の実験室内において、籾すり機(オータケ インペラ籾摺り機 FC2K)を使用して行う。なお、収量調査終了後のサンプル(藁、籾殻、玄米等)、ならびに乾燥時のビニールハウス内、隔離ほ場の実験室内での落ち穂、こぼれ籾等は回収し、オートクレーブにより不活化後に廃棄する。または隔離ほ場内の栽培区画外に約1mの深さに埋め込むことで廃棄する。なお、埋め込んだイネ種子の生命力(発芽力)に関して、翌年の春(5月前後)に調査を行う。

- ◇ 稲刈りに関しては、本年度の計画書に則り、行った。
- ◇ 収穫後のイネの自然乾燥は、「二重構造形質転換イネ専用乾燥小屋(通称;乾燥小屋)」を設置し、その中で行った。これは、計画書に記した以上に、野鳥や小動物侵入対策に資するものである(別添図表 8B)。
  - ◆ この「乾燥小屋」は、床は、厚さ約2cmの合板からなり、床下から侵入を試みる小動物を排除する。また、出入りに必要な引き戸を設置し、人の出入りは、できる限り素早く行うこととした。また、乾燥のための通気性の確保と、小動物の侵入を防ぐために、小屋の側面と天井は、1cmメッシュのネットを貼った。さらに、この小屋を、ビニールハウス内に設置することにより、外界から二重構造をもって、小動物の侵入を防ぐこととなる(別添図表 8B)。
- ◇ 脱穀に関しては、計画書に記載した以外に、手作業にて行った(別添図表 8C)。
- ◇ 実験室内で生じた残渣は、計画書則り、オートクレーブによる不活化処理後に廃棄した。
- ◇ 隔離ほ場内で生じた残渣は、計画書通りに処理し、埋め込みを行ったイネ種子の発芽力調査は、平成29年5月に調査を行う予定である(別添図表 8C)。

5. 隔離ほ場内で栽培したイネの残渣、種子及び発生した植物は、試験終了後に回収し、漏出しないような容器に納め、オートクレーブ

により不活化し廃棄する。また、隔離ほ場内の栽培区画外に約1mの深さに埋め込むことで廃棄する。さらに、試験終了後、栽培区画内は、トラクター(ヤンマー エコトラ EG445)を用いて、栽培区画の収穫残渣の鋤込み作業を、必ず複数回、行う。

- ◇ 残渣処理は、計画書則り、行った。
- ◇ 隔離ほ場における落穂拾いを、平成28年10月12日に行った(別添図表8C)。
- ◇ 収穫後の隔離ほ場のトラクター用いた残渣の鋤き込み作業は、平成28年10月22日及び平成28年11月22日に行った(別添図表8C)。

6. 隔離ほ場で使用した機械、器具、及び隔離ほ場で作業した者の靴等は、作業終了後に、隔離ほ場内で洗浄し、隔離ほ場内の植物残渣、土等を外に持ち出さないことに細心の注意を払い、組換えイネが隔離ほ場外に持ち出されることを防止する。隔離ほ場の用水は、沢よりポンプで汲み上げられ、貯水池へと溜められる。排水路は、隔離ほ場を周回する形で設置されており、排水は、再び貯水池へと流入し、外部へは漏出しない。

- ◇ 使用した機械、器具などの洗浄は、計画書に則り、行った。
- ◇ 用排水に関しても、計画書に記載された通りである(別添図表2)。

7. 隔離ほ場維持管理責任者を置き、隔離ほ場の設備が本来有する機能を発揮するよう維持及び管理を行う。

- ◇ 計画書に則り、隔離ほ場の維持及び管理を行う責任者を置いている。
- ◇ 隔離ほ場への小動物の侵入防止策として、一月に一度は、隔離ほ場のフェンス際の内外の除草を行うとともに、フェンスを取り巻く防風林の間伐も行った(別添図表8A)。
- ◇ 隔離ほ場を取り囲むフェンスと地面との隙間が大きい所には、土嚢を設置し、隙間を埋め、小動物侵入防止策とした(別添図表8A)。
- ◇ 平成29年2月～4月の期間内に、小動物侵入防止策を目的とした本格的なフェンス補強工事を行う予定である(別添図表8A)。

	<p>8. 栽培のために使用した種子, 及び, 収穫した組換え体イネの種子に関しては, 種子管理及び記録責任者を置き, 数量管理を実施し, 記録する。種子の保管に関しては, 施錠をした専用保管庫で行い, 盗難防止等に留意する。</p> <p>◇ 計画書に則り, 種子の管理を行っている(別添図表 8D)。</p> <p>9. 隔離ほ場・入退記録責任者を置き, 隔離ほ場の出入り口は, 常時, 施錠し, その鍵の管理は細心の注意を払い行う。関係者以外の立入を厳格に禁ずる。また, 隔離ほ場への入退を行った者は, その度に, 記録簿に氏名, 所属, 日付等を記載することとする。さらに, 形質転換イネ, 及びその種子を始めとした隔離ほ場の施設及び備品等に対し, 第三者による盗難や破壊行為等が無きよう監視を行う。尚, 隔離ほ場には, 防犯用のカメラを設置しており, これらのカメラにより記録された映像を, 定期的に精査する。</p> <p>◇ 計画書に則り, 隔離ほ場への入退の管理を行っている(別添図表 8D)。</p> <p>10. 隔離ほ場での作業時の服装は, 通常の農作業着を着用する。農作業着は, 常に清浄に保つこととする。また, 開花期の作業などで, 作業着に花粉が付着した可能性がある場合は, 作業着ごとオートクレーブで花粉の不活化を行い, 作業着ごと廃棄する。また, 形質転換イネを運搬する際は, 手袋及びマスクと共に, 必要に応じて防護用眼鏡を着用する。</p> <p>◇ 計画書に則り, 作業従事者の服装の清浄維持を行った。</p> <p>11. 1 から 10 に掲げる事項を, 隔離ほ場を使用する者は, 徹底的に遵守する。</p> <p>◇ 本年度, 隔離ほ場の業務に従事した全てのものに, 1 から 10 の事項を周知徹底させた。</p>						
<p>収穫物</p>	<table border="1"> <tr> <td data-bbox="371 1653 580 1798"> <p>収穫量</p> </td> <td data-bbox="580 1653 1516 1798"> <p>1. Rubisco過剰生産イネ ; *約3.8 kg (580 kg/10a) 2. Rubisco生産抑制イネ ; *約1.7 kg (365 kg/10a) *籾重量換算</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="371 1798 580 1854"> <p>収穫期間</p> </td> <td data-bbox="580 1798 1516 1854"> <p>平成28年10月6日</p> </td> </tr> <tr> <td data-bbox="371 1854 580 1995"> <p>運搬方法 (別添図表8C)</p> </td> <td data-bbox="580 1854 1516 1995"> <p>1. 平成 28 年 5 月 23 日 東北大学大学院農学研究科(雨宮キャンパス ; 仙台市青葉区堤通雨宮町1-1)にて育苗した非組み換えイネ(能登ひかり), Rubisco過剰</p> </td> </tr> </table>	<p>収穫量</p>	<p>1. Rubisco過剰生産イネ ; *約3.8 kg (580 kg/10a) 2. Rubisco生産抑制イネ ; *約1.7 kg (365 kg/10a) *籾重量換算</p>	<p>収穫期間</p>	<p>平成28年10月6日</p>	<p>運搬方法 (別添図表8C)</p>	<p>1. 平成 28 年 5 月 23 日 東北大学大学院農学研究科(雨宮キャンパス ; 仙台市青葉区堤通雨宮町1-1)にて育苗した非組み換えイネ(能登ひかり), Rubisco過剰</p>
<p>収穫量</p>	<p>1. Rubisco過剰生産イネ ; *約3.8 kg (580 kg/10a) 2. Rubisco生産抑制イネ ; *約1.7 kg (365 kg/10a) *籾重量換算</p>						
<p>収穫期間</p>	<p>平成28年10月6日</p>						
<p>運搬方法 (別添図表8C)</p>	<p>1. 平成 28 年 5 月 23 日 東北大学大学院農学研究科(雨宮キャンパス ; 仙台市青葉区堤通雨宮町1-1)にて育苗した非組み換えイネ(能登ひかり), Rubisco過剰</p>						



		<p>生産イネ及びRubisco生産抑制イネの幼苗を、隔離ほ場へと移送した(別添図表3B)。</p> <p><b>2. 平成 28 年 10 月 28 日</b></p> <p>隔離ほ場で収穫し、自然乾燥させた非組み換えイネ(能登ひかり)、Rubisco過剰生産イネ及びRubisco生産抑制イネを隔離ほ場から東北大学大学院農学研究科(雨宮キャンパス)へと移送した(別添図表8B)。</p> <p><b>3. 平成 28 年 11 月 25 日</b></p> <p>東北大学大学院農学研究科の雨宮キャンパスから新青葉山キャンパスへの移転に伴い、隔離ほ場で収穫し、雨宮キャンパスに移送した乾燥非組み換えイネ(能登ひかり)、Rubisco過剰生産イネ及びRubisco生産抑制イネの籾、及び個体を、雨宮キャンパスから新青葉山キャンパス(現・東北大学大学院農学研究科所在地；仙台市青葉区荒巻字青葉468-1)へと移送した。</p> <p>◇ 尚、移送時には、苗が漏出しないように密閉式のプラスチック容器に収め、さらに、ビニールシートで覆った。また、移送中に、ビニールシートを傷つけないように注意を払うとともに、こぼれ落ちがないか目視で確認した(別添図表8C)。</p>
	保管	<p>輸送したイネの籾及び個体は、全て、東北大学大学院農学研究内の遺伝子組み換え実験室(P1P実験室：承認済み)に搬入した後、漏出等がないことを確認した後に、他の植物と区分して専用保管庫に保管した。尚、形質転換体イネの収穫量、試験使用量に関しては、数量管理した(別添図表8D)。</p>
	出荷先	<p>収穫した種子は、全て研究材料として分析を行う。よって、出荷することはない。</p>
ほ場・収穫残さの処理		<p>隔離ほ場内の栽培区画外に、約1 mの深さに鋤込むことで廃棄した。さらに、試験終了後、栽培区画内は、トラクター(ヤンマー エコトラ EG445)を用いて、隔離ほ場内栽培区画の収穫残渣の鋤込み作業を行った(別添図表8C)。</p>
次年度のほ場利用計画		<p>本年度と同様に、隔離ほ場内砂質水田(20 m x 25 m; 500 m<sup>2</sup>)を利用し、平成29年度においても、作付けを予定している(平成29年度遺伝子組換え作物栽培計画書参照のこと)。</p>

**平成28年度遺伝子組換え作物栽培実績書  
別添図表及び参考資料**

## 平成28年度 隔離ほ場栽培従事者一覧

### 業務管理責任者

高橋 英樹 東北大学遺伝子組換え実験安全専門委員

### 業務管理主任者

牧野 周 東北大学大学院農学研究科 教授

### 隔離ほ場管理者

渋谷 暁一 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド  
教育研究センター環境農林科長

### 業務従事者

石田 宏幸 東北大学大学院農学研究科 准教授

### 業務従事者, 種子管理及び記録責任者

鈴木 雄二 東北大学大学院農学研究科 助教

### 業務従事者, 隔離ほ場維持管理及び入退記録責任者

石山 敬貴 東北大学大学院農学研究科 研究支援者



# 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター隔離ほ場(通称, 隔離ほ場)および隔離ほ場内施設 (北緯38°44', 東経140°45', 標高170 m)

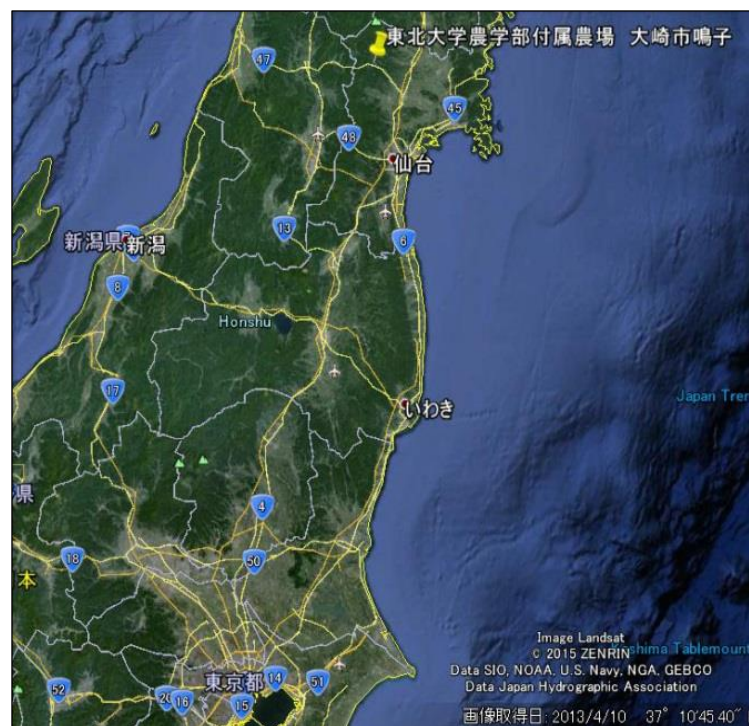


図1 農場施設所在地(1)



図2 農場施設所在地(2)

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/noujou/access.html>



図3 東北大学大学院農学研究センター附属複合フィールド教育研究センター周辺

隔離ほ場の試験区から、最も近い一般農家ほ場(イネ栽培水田)までの距離は、約400 m、また、最も近いセンター内の研究ほ場は約200 mである。赤線は附属複合生態フィールド教育研究センターの敷地を示す。

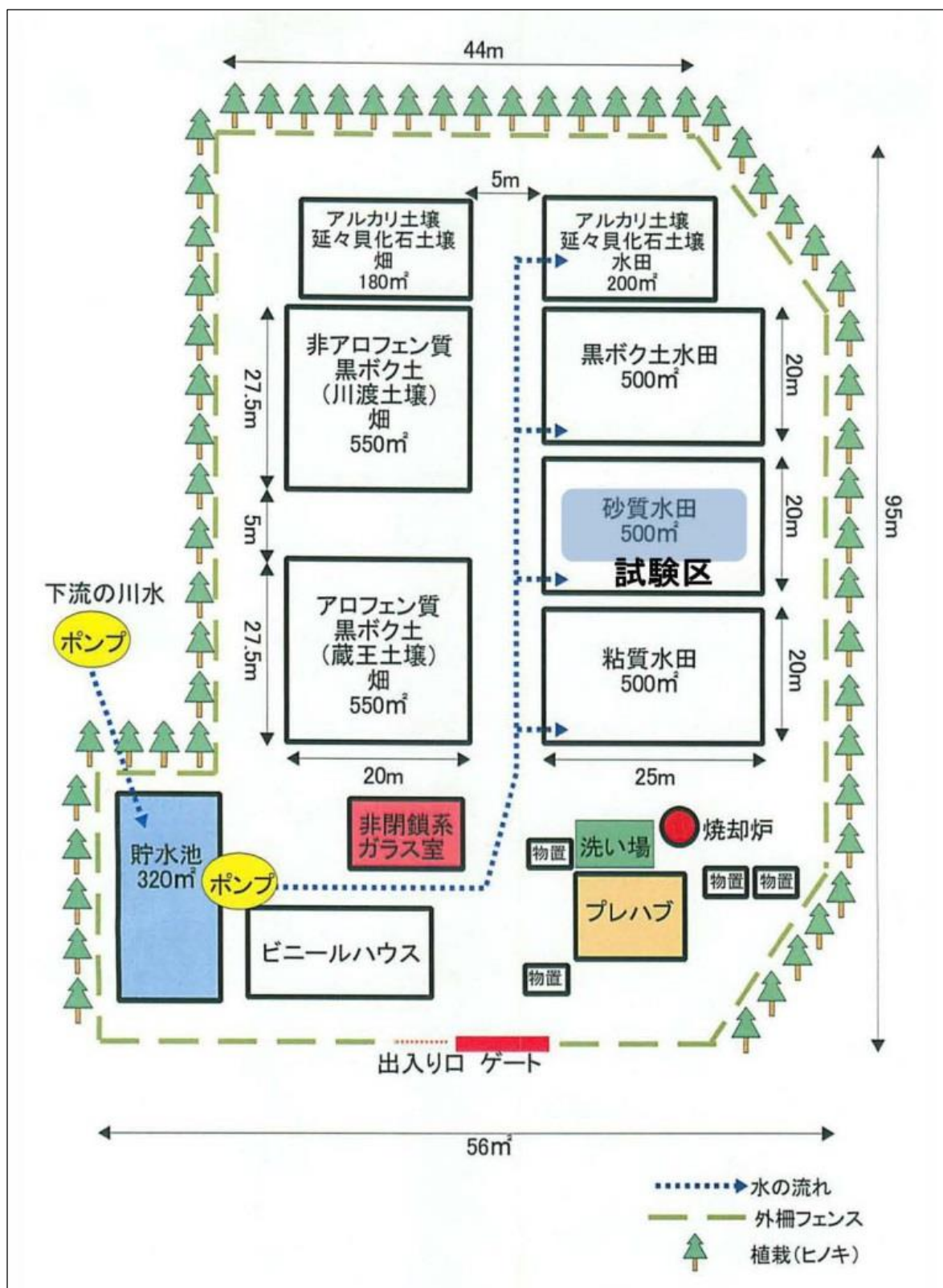


図4 組換え植物隔離ほ場の概略と栽培予定試験区

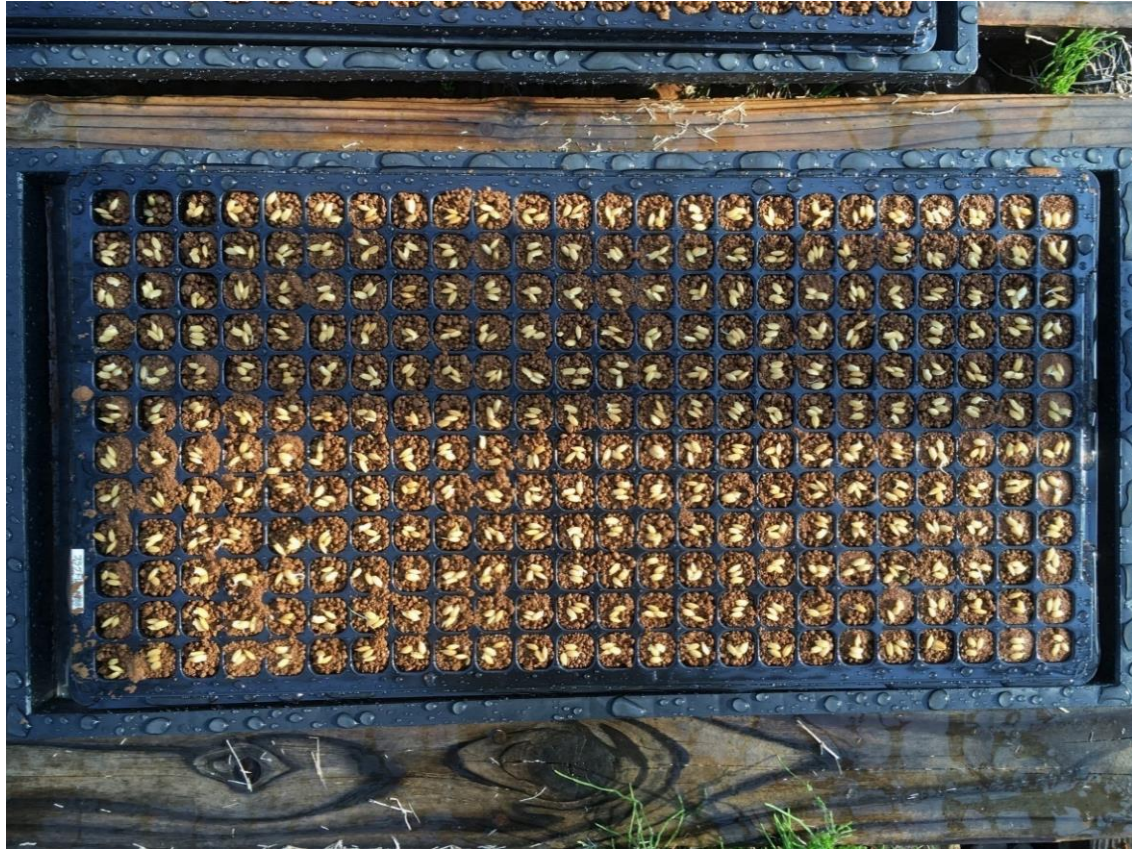
# 平成28年度 隔離ほ場作業工程表

月	日	水田作業等	管理作業	情報公開, 査察	備考	
4	22	播種				
5	9			宮城県査察	東北大学・農・雨宮	
	12			大崎市川渡地区区長会	大崎市鳴子公民館	
	21			住民説明会	東北大学川渡共同セミナーセンター	
	23	施肥（基肥）				
		苗の運搬（移送）				雨宮 → 川渡
26	田植え（定植）					
6	1		草刈り			
	6	施肥（追肥）				
	15			宮城県査察	隔離ほ場・川渡	
成長解析					草丈, 分けつ数, SPAD	
7	13		風速計設置			
			草刈り			
	14		成長解析		草丈, 分けつ数, SPAD	
	16	施肥（穂肥）				
	23		成長解析		幼穂長の測定	
	24	施肥（穂肥）				
28		防雀網支柱補強工事				
8	3		防雀網設置			
	4		花粉トラップ設置	宮城県査察	隔離ほ場・川渡	
	8	開花（出穂）				
		成長解析				草丈, 穂数, SPAD
		台風5号対策				
	16		台風7号対策			
	22		台風9号対策			
	24		草刈り			
29		台風10号対策				
9	1		草刈り			
			乾燥小屋の整備開始			
12		成長解析		草丈, 穂数, SPAD		
10	1		乾燥小屋完成			
	6	稲刈り				
	12		落穂拾い			
	17		ほ場残渣の埋め込み			
	19			宮城県査察	隔離ほ場・川渡	
	22	水田の耕起作業				
	28	乾燥イネの運搬			川渡 → 雨宮	
11	22	水田の耕起作業				
	25	乾燥イネの運搬			雨宮 → 青葉山	
12	28	施肥（基肥, コンポスト散布）				



# 作業工程写真1

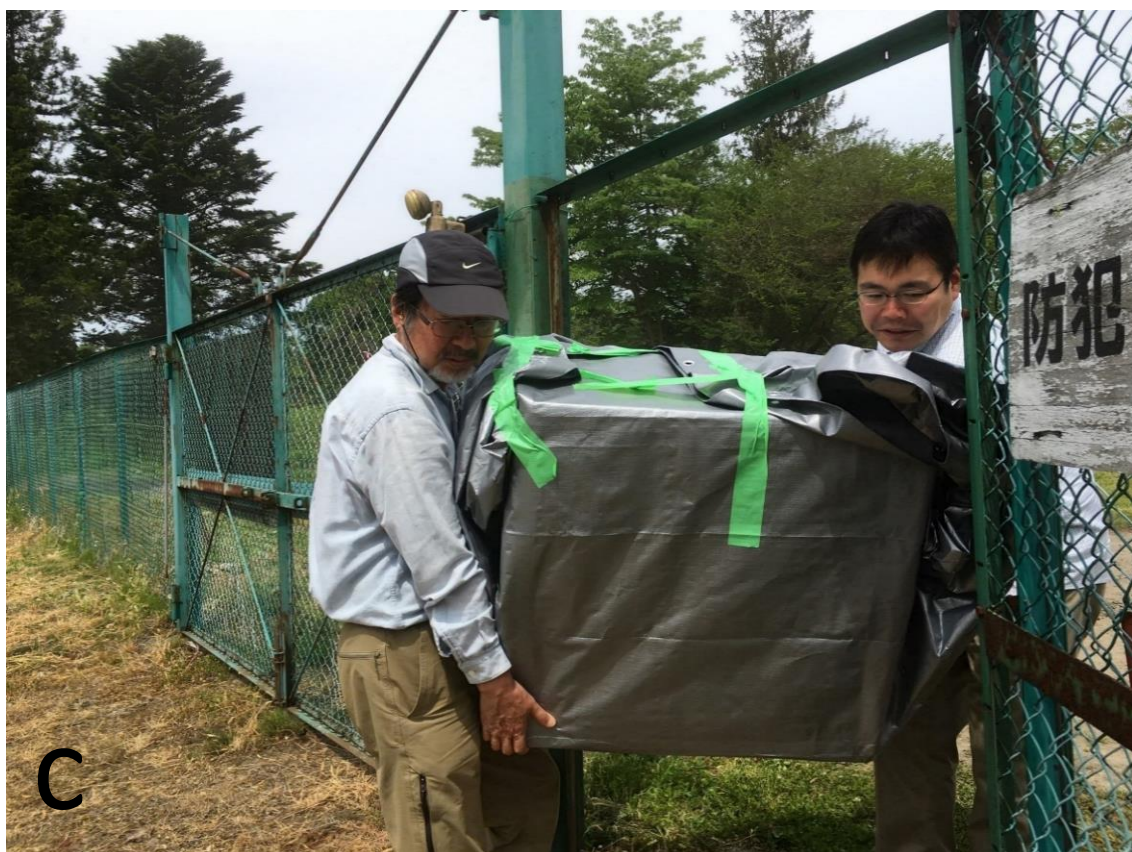
播種 平成28年4月22日



育苗 平成28年4月22日~



移送 平成28年5月22日





# 作業工程写真2

定植 平成28年5月26日



収穫 平成28年10月6日



乾燥 平成28年10月6日~

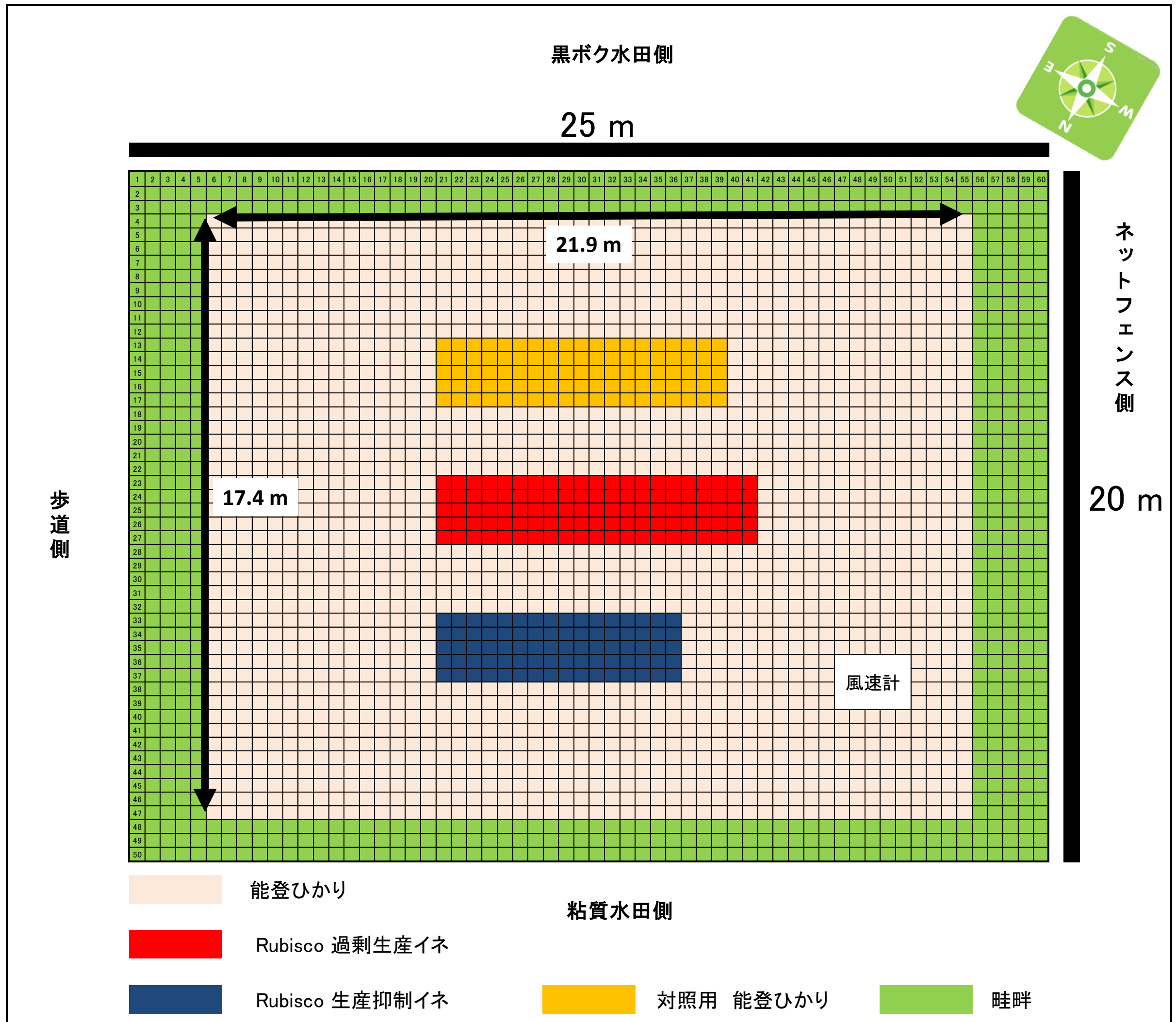


腐食処理 平成28年10月6日~





# 隔離ほ場砂質水田における作付け模式図





# 情報公開及び伝達方法

## 看板設置 平成28年4月21日



# 情報公開

平成28年5月21日 住民説明会



## 東北大学遺伝子実験センターHP





# 隔離ほ場砂質水田への防雀網設置関連

防雀網支柱補強 平成28年7月28日



防雀網設置 平成28年8月3日





# 隔離ほ場の風速の解析

## 平成28年8月1日~23日の期間における隔離ほ場の平均風速及び瞬間風速の順位

平均風速 (8月1日~23日)

	日時	平均風速(m/s)	瞬間風速(m/s)	備考
1	2016/08/02 11:40	0.75	2.0	前
2	2016/08/03 14:25	0.71	2.5	前
3	2016/08/22 21:20	0.71	2.3	台風9号
4	2016/08/01 12:55	0.64	1.5	前
5	2016/08/01 10:20	0.61	1.8	前
6	2016/08/03 14:30	0.61	1.7	前
7	2016/08/01 15:00	0.57	1.4	前
8	2016/08/03 14:35	0.56	1.3	前
9	2016/08/03 14:40	0.55	1.6	前
10	2016/08/01 15:05	0.54	1.2	前
11	2016/08/01 17:00	0.54	1.0	前
12	2016/08/09 6:58	0.54	1.5	台風5号
13	2016/08/01 12:35	0.52	1.5	前
14	2016/08/01 12:45	0.51	1.3	前
15	2016/08/01 13:15	0.50	1.6	前
16	2016/08/01 16:10	0.50	1.0	前
17	2016/08/06 13:44	0.50	1.1	
18	2016/08/01 13:25	0.49	1.1	前
19	2016/08/01 13:30	0.49	1.5	前
20	2016/08/01 15:10	0.49	1.3	前

瞬間風速 (8月1日~23日)

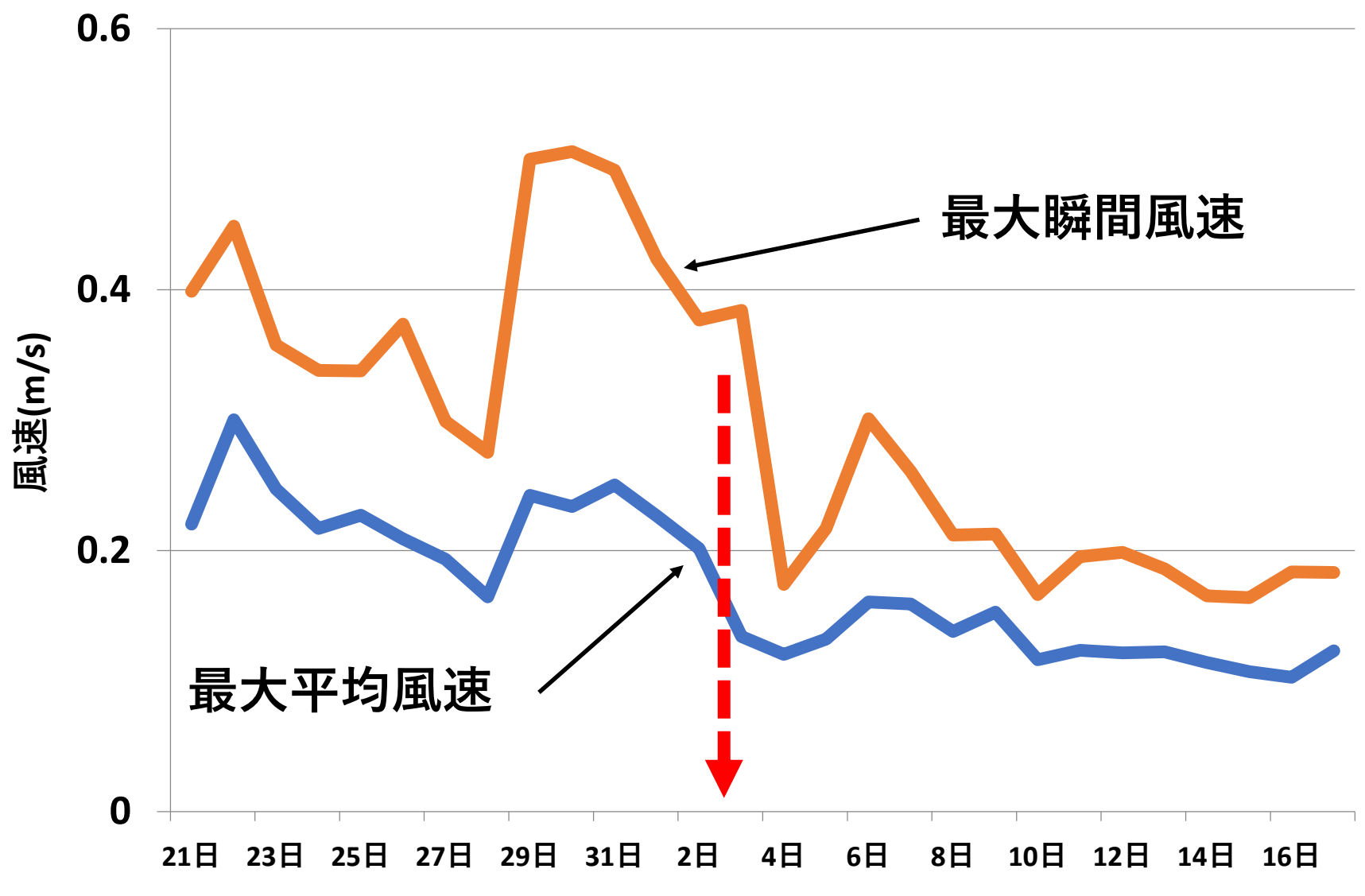
	日時	平均風速(m/s)	瞬間風速(m/s)	備考
1	2016/08/01 17:20	0.36	2.5	前
2	2016/08/03 14:25	0.71	2.5	前
3	2016/08/01 11:20	0.35	2.4	前
4	2016/08/22 20:50	0.30	2.4	台風9号
5	2016/08/22 21:20	0.71	2.3	台風9号
6	2016/08/01 13:50	0.30	2.1	前
7	2016/08/06 15:02	0.46	2.1	
8	2016/08/09 5:44	0.35	2.1	台風5号
9	2016/08/02 11:40	0.75	2.0	前
10	2016/08/13 1:04	0.39	1.9	
11	2016/08/01 9:55	0.38	1.8	前
12	2016/08/01 10:10	0.32	1.8	前
13	2016/08/01 10:20	0.61	1.8	前
14	2016/08/01 11:40	0.48	1.8	前
15	2016/08/02 9:00	0.36	1.8	前
16	2016/08/09 4:46	0.26	1.8	台風5号
17	2016/08/01 13:05	0.19	1.7	前
18	2016/08/01 14:00	0.41	1.7	前
19	2016/08/03 14:30	0.61	1.7	前
20	2016/08/06 14:42	0.42	1.7	

## 平成28年8月22日台風9号接近時のアメダスと隔離ほ場の風速の比較

川渡 2016年8月22日 (1時間ごとの値)							
時	降水量 (mm)	気温 (°C)	風速・風向 (m/s)		日照 時間 (h)	雪(cm)	
			風速	風向		降雪	積雪
13	0	27.5	5	東南東	0	///	///
14	0	27.3	2.6	南東	0	///	///
15	0	26.6	2.7	東南東	0	///	///
16	0	25.9	1.6	東北東	0	///	///
17	0	25.3	2.3	東北東	0	///	///
18	10.5	24	2.2	南東	0	///	///
19	7.5	24.7	4.7	東	0	///	///
20	10.5	24.8	6.9	東北東		///	///
21	7.5	24.6	8.4	北東		///	///
22	14.5	23.6	5.8	東北東		///	///
23	7.5	23.2	3.9	北北東		///	///
24	8.5	21.5	1.6	西北西		///	///

順位	風速 (m/s)			
	平均	日時	瞬間	日時
1	0.71	2016/08/22 21:20	2.4	2016/08/22 20:50
2	0.45	2016/08/22 21:16	2.3	2016/08/22 21:20
3	0.42	2016/08/22 20:58	1.5	2016/08/22 12:52
4	0.37	2016/08/22 20:32	1.5	2016/08/22 19:48
5	0.36	2016/08/22 20:12	1.5	2016/08/22 20:54
6	0.36	2016/08/22 21:08	1.5	2016/08/22 21:02
7	0.35	2016/08/22 21:18	1.4	2016/08/22 21:16
8	0.34	2016/08/22 20:42	1.3	2016/08/22 11:02
9	0.33	2016/08/22 18:02	1.3	2016/08/22 18:54
10	0.32	2016/08/22 20:30	1.3	2016/08/22 21:10
11	0.31	2016/08/22 21:10	1.2	2016/08/22 22:52
12	0.30	2016/08/22 20:50	1.1	2016/08/22 12:14
13	0.30	2016/08/22 21:28	1.1	2016/08/22 18:02
14	0.29	2016/08/22 21:00	1.1	2016/08/22 20:30

# 平成28年8月1日~17日の期間における 隔離ほ場の平均風速及び瞬間風速の推移



7月 8月

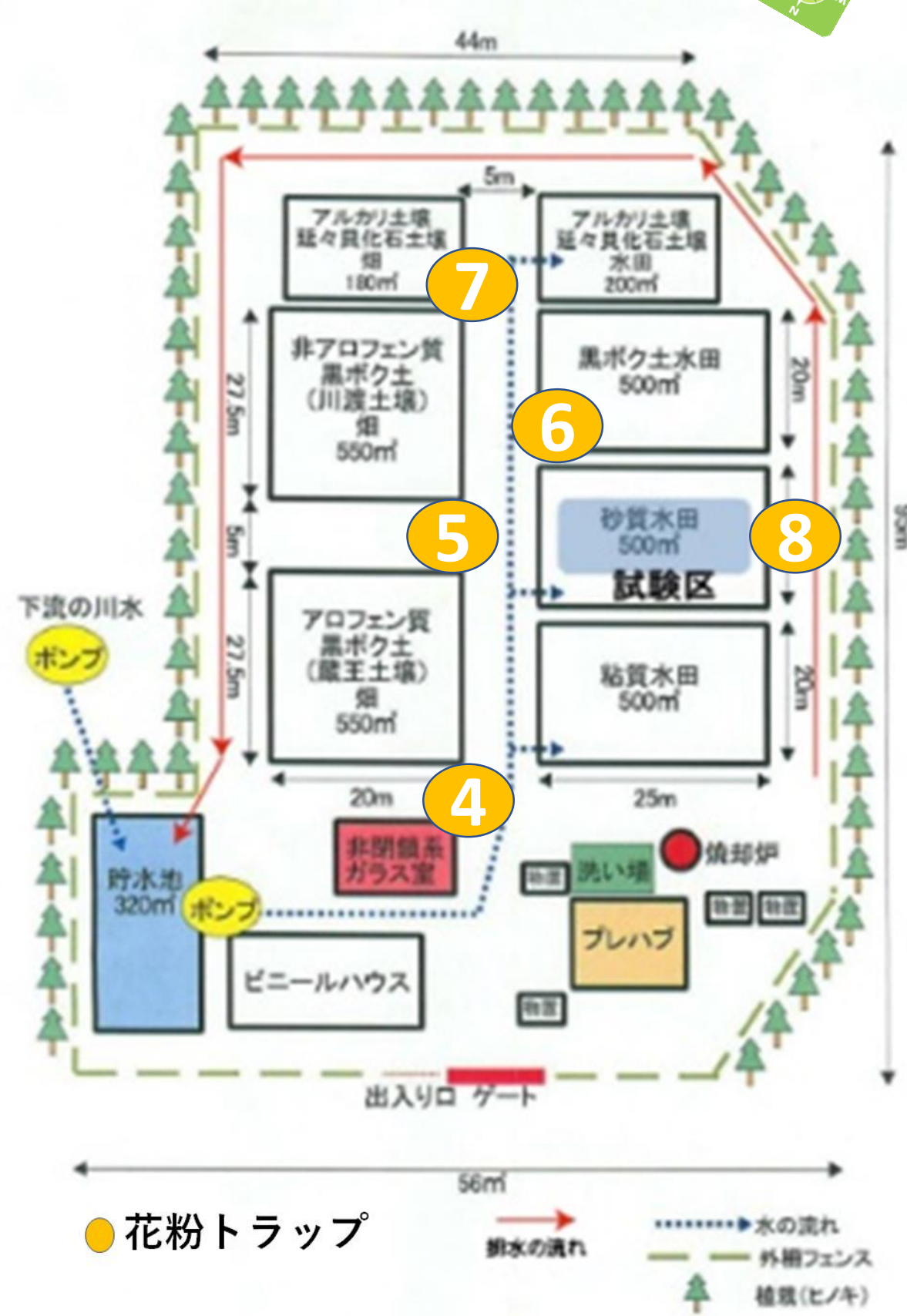
— → 防雀網の設置日(平成28年8月3日)



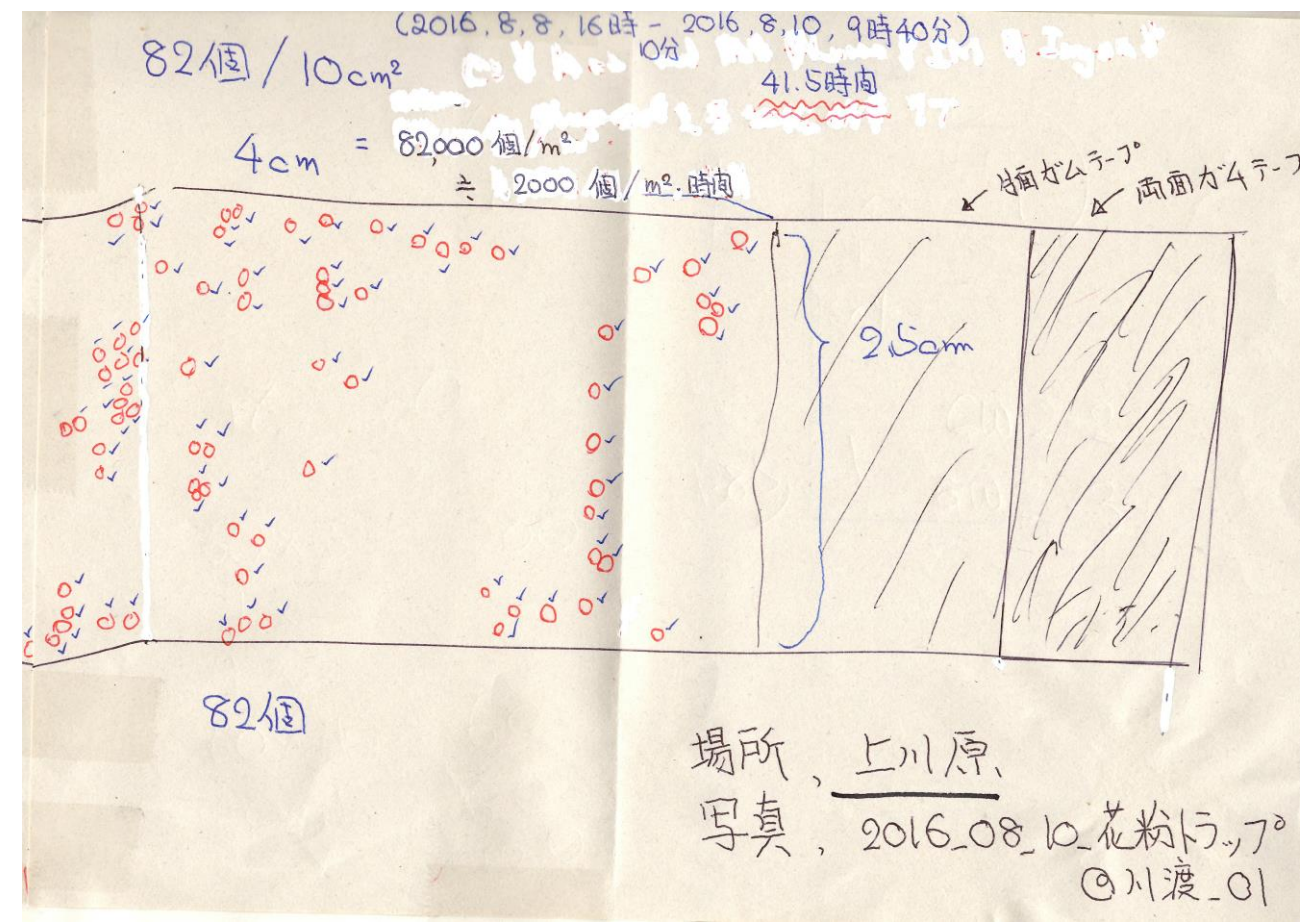
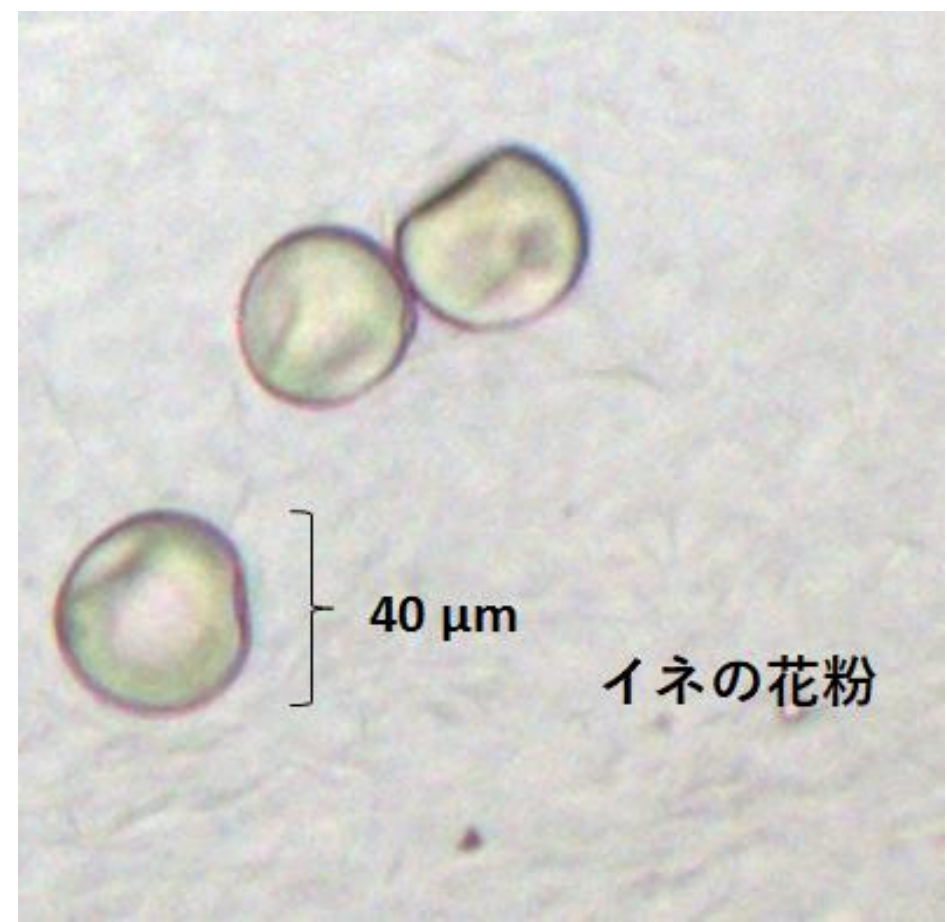


# 花粉の飛散調査

## 花粉トラップの設置箇所



## イネ花粉の顕微鏡観察と計数





# 台風5号接近時の風速調査

## 川渡 2016年8月9天候

時	降水量 (mm)	気温 (°C)	風速・風向 (m/s)		日照 時間 (h)	雪(cm)	
			風速	風向		降雪	積雪
1	0	22	0.3	西北西		///	///
2	0	25.1	1.5	北西		///	///
3	0	25.6	3.2	北西		///	///
4	0	25.7	<b>3.6</b>	北西		///	///
5	0	25.9	3	西北西	0	///	///
6	0	26	2.4	西北西	0	///	///
7	0	26.1	2.5	北西	0	///	///
8	0	26.7	2.4	北西	0	///	///
9	0	27.7	2.9	北西	0	///	///
10	0	29.3	3.6	北西	0.7	///	///
11	0	30.9	1.8	北西	0.9	///	///
12	0	31.4	1.1	西	0.7	///	///
13	0	29.7	1.3	西	0.7	///	///
14	0	30.7	1.1	西南西	0.7	///	///
15	0	29.6	1.1	西北西	0.8	///	///
16	0	29	1	西南西	0.9	///	///
17	0	26.3	1.5	西	0.9	///	///
18	0	25.1	1.3	西	0	///	///
19	0	24.3	1.3	西	0	///	///
20	0	23.6	1	西北西		///	///
21	0	23	0.6	西		///	///
22	0	22.2	0.9	北北西		///	///
23	0	22.4	1.4	西		///	///
24	0	23.4	2.2	西北西		///	///

台風5号  
接近時間帯

## 平成28年8月9日の期間における隔離ほ場の 平均風速及び瞬間風速の順位

	日付	平均風速	日付	瞬間風速
1	2016/08/09 6:58	0.54	2016/08/09 5:44	2.10
2	2016/08/09 6:56	0.45	2016/08/09 4:46	1.80
3	2016/08/09 5:00	0.42	2016/08/09 8:46	1.70
4	2016/08/09 5:34	0.42	2016/08/09 11:12	1.70
5	2016/08/09 2:30	0.38	2016/08/09 5:34	1.60
6	2016/08/09 10:54	0.38	2016/08/09 6:20	1.60
7	2016/08/09 6:20	0.37	2016/08/09 6:58	1.50
8	2016/08/09 5:44	0.35	2016/08/09 9:06	1.50
9	2016/08/09 9:06	0.35	2016/08/09 5:00	1.40
10	2016/08/09 11:04	0.35	2016/08/09 3:38	1.30

# 花粉の飛散と種子交雑

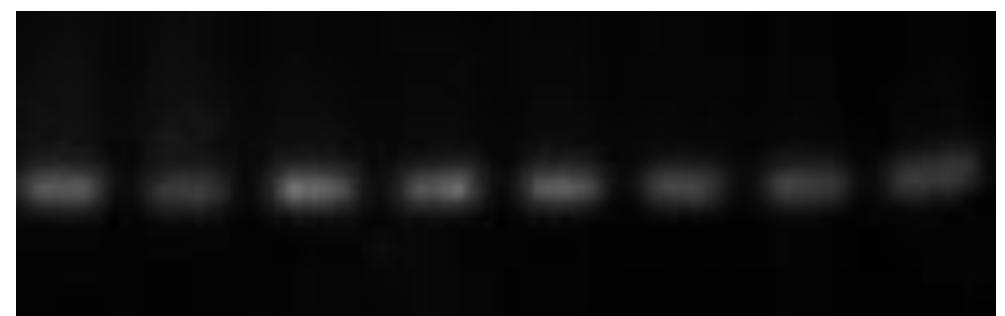
## 花粉の飛散状況確認

No.	場所	砂質水田からの距離 (m)	イネ花粉飛散量 (個・m <sup>-2</sup> ・h <sup>-1</sup> )	ハイグロマイシン	ビアラホス
1	一般ほ場	400	2000	0/15	0/15
2		400	8200	0/12	0/12
3	研究ほ場	200	13000	0/14	0/14
4	隔離ほ場	25	160	0/13	0/13
5		6	515	0/13	0/13
6		3	550	0/13	0/13
7		20	385	0/15	0/15
8		1.5	1070	0/14	0/14

PCR実例1 (一般ほ場; No.2, ビアラホス)

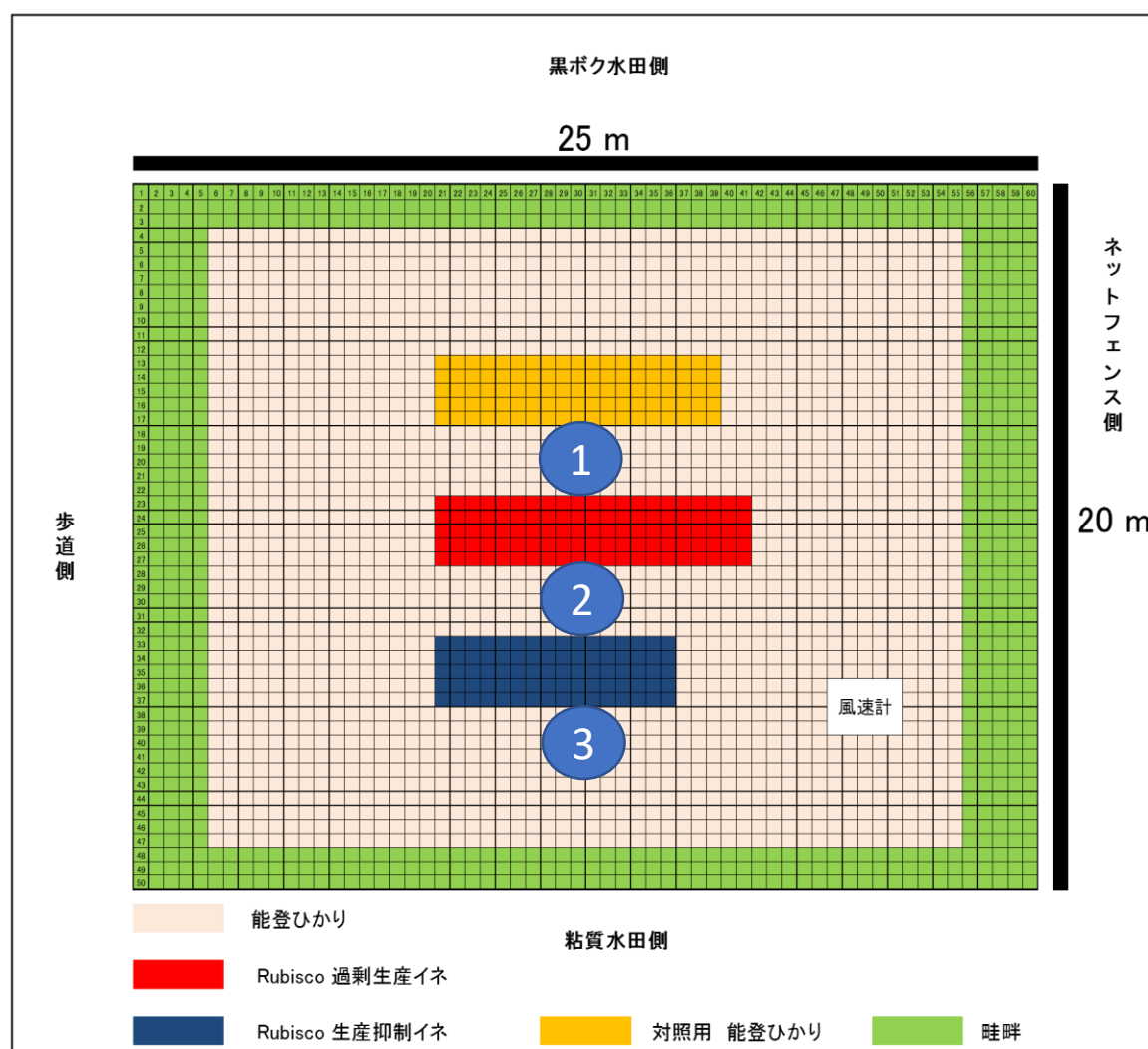


PCR実例2 tubulinプライマーを用いた場合



花粉の飛散は確認されず

## 種子の交雑確認



処理	水	ハイグロマイシン	ビアラホス
系統	能登ひかり	Rubisco過剰生産	Rubisco生産抑制
割合	28/30	27/30	29/30
発芽率 (%)	93.3	90.0	96.7

処理	発芽率 (%)		
	水	ハイグロマイシン	ビアラホス
能登ひかり 1	96.7	0	0
能登ひかり 2	100	0	0
能登ひかり 3	93.3	0	0

交雑は確認されず



# 隔離ほ場の小動物侵入対策

## 除草後の隔離ほ場



## 土嚢の設置



## 間伐の実施

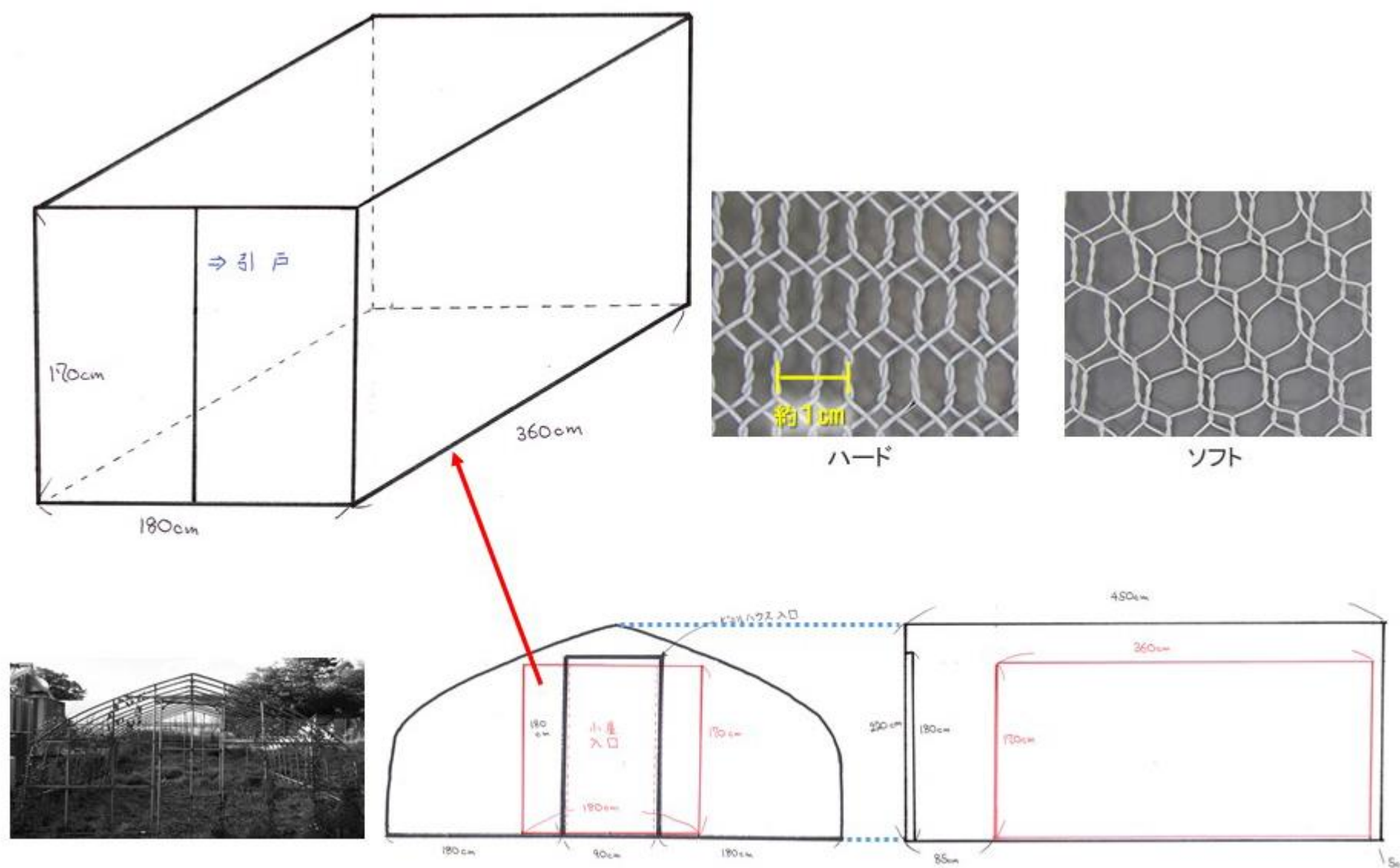


## フェンスと地面の間から侵入対策





# 「二重構造形質転換イネ専用乾燥小屋」の設計と設置





# 残渣の処理，収量調査，及び移送様子

## 落穂拾い



## 腐食処理のための溝



## 残渣の鋤き込み

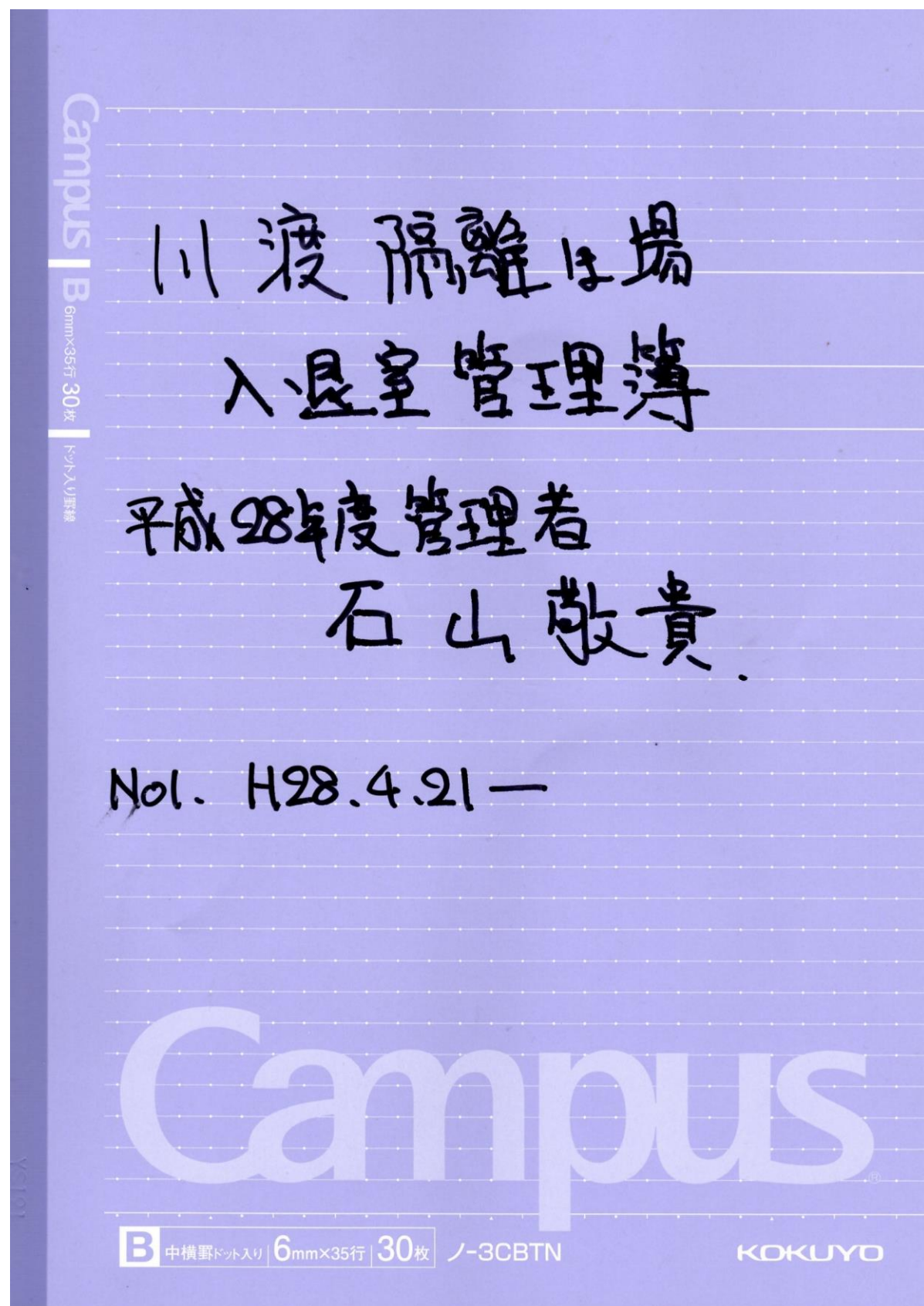
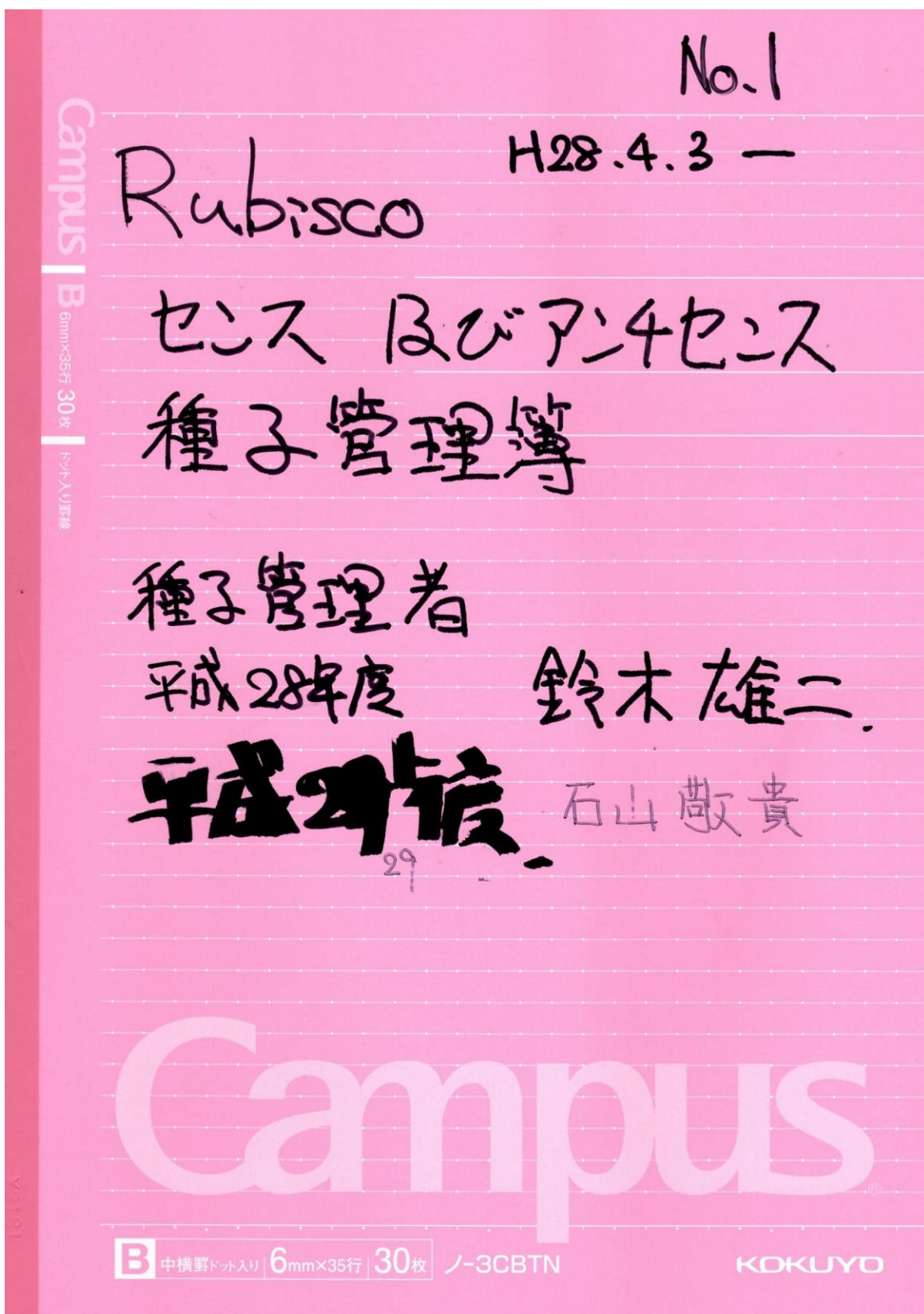


## 収量調査の様子



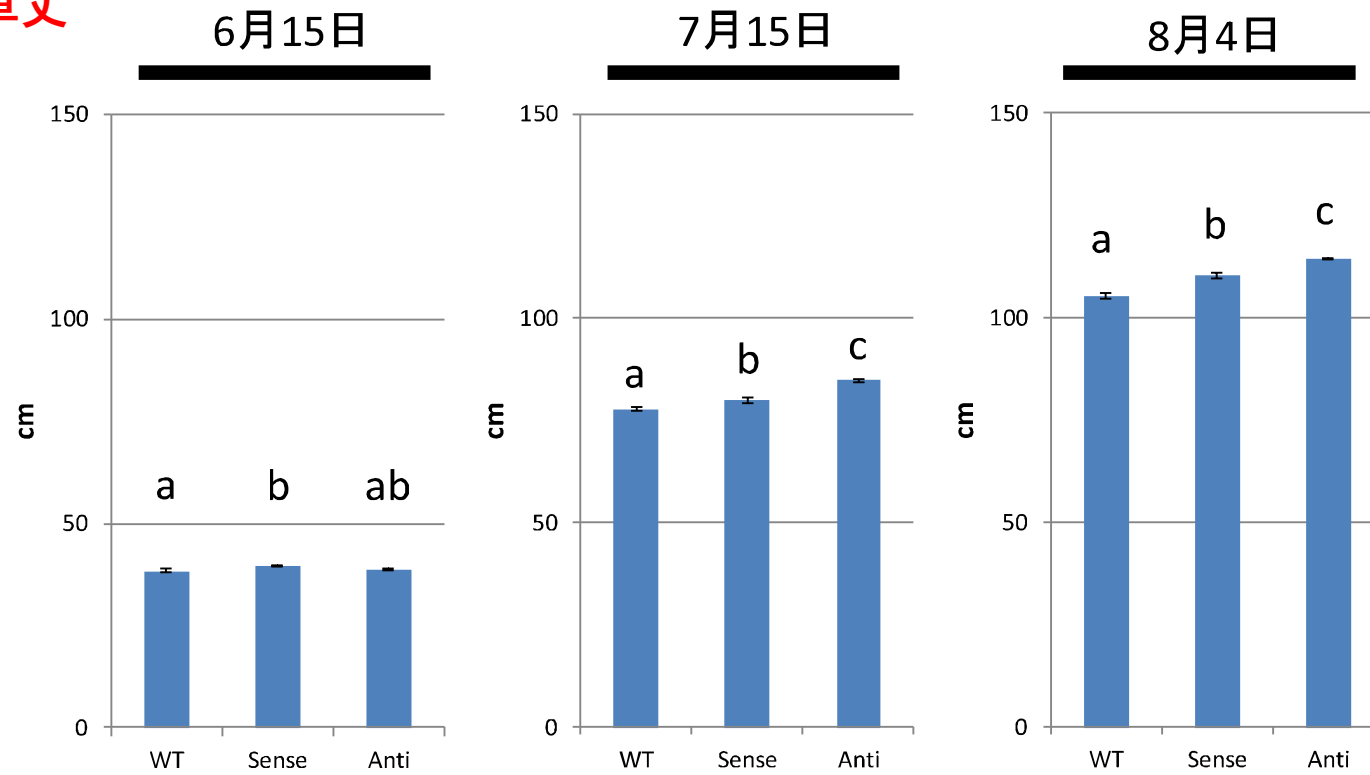


# 種子管理簿， 及び隔離ほ場入退室管理簿

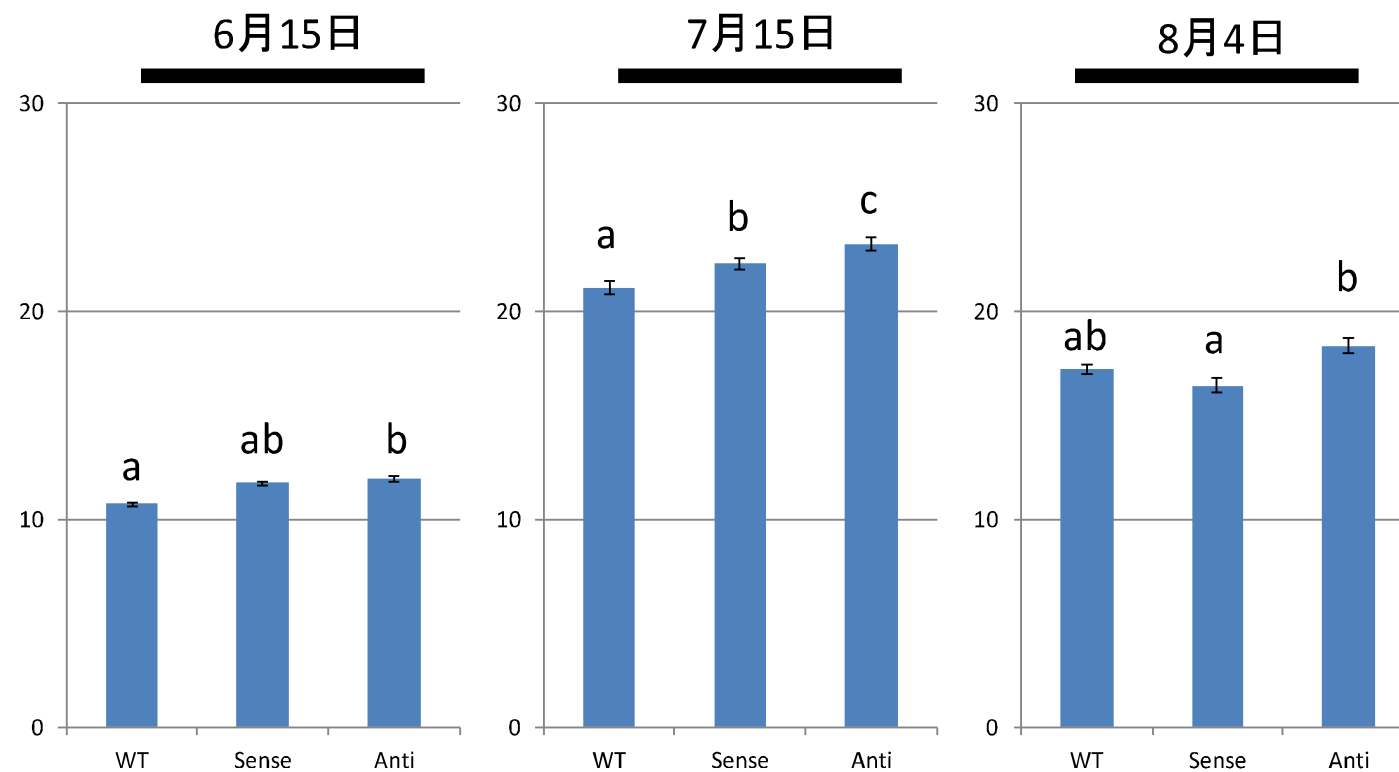


# 成長解析結果

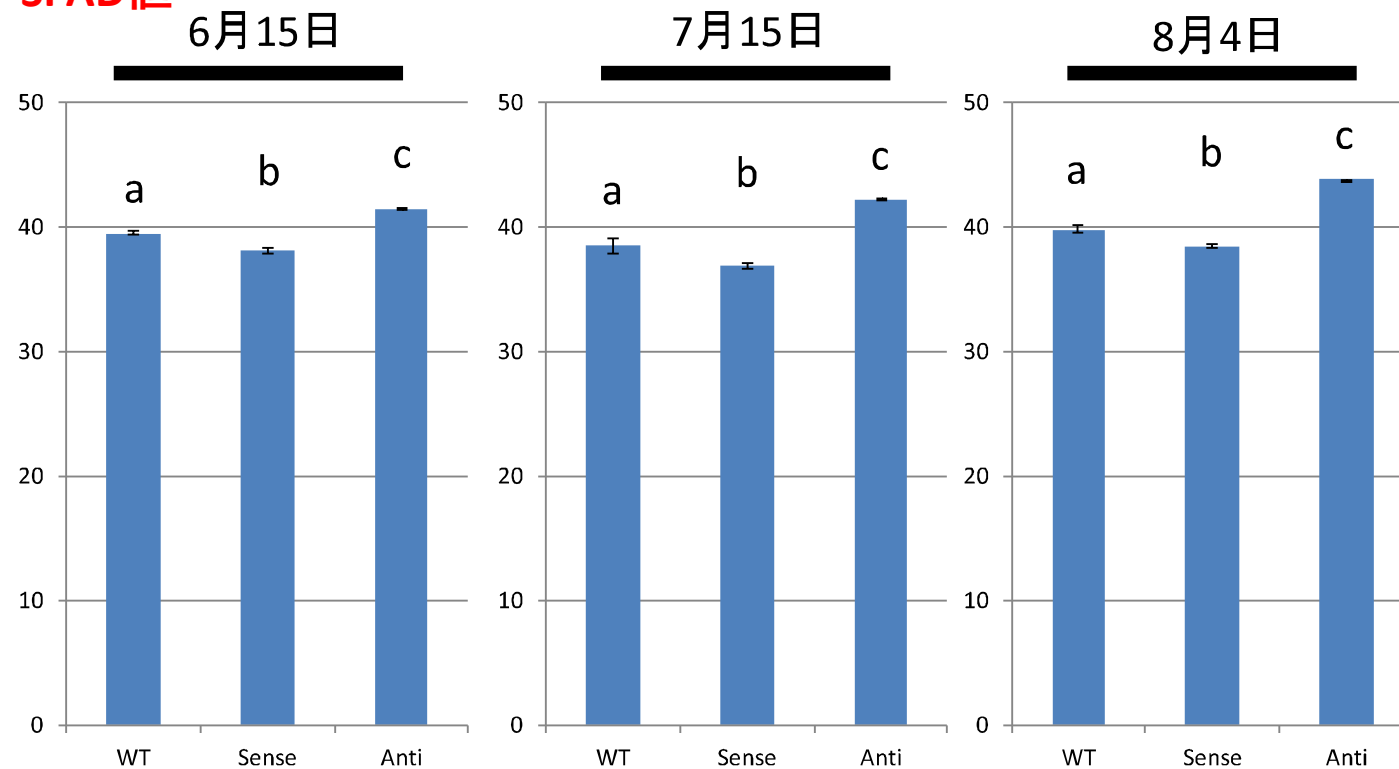
## 草丈



## 茎数または穂数



## SPAD値

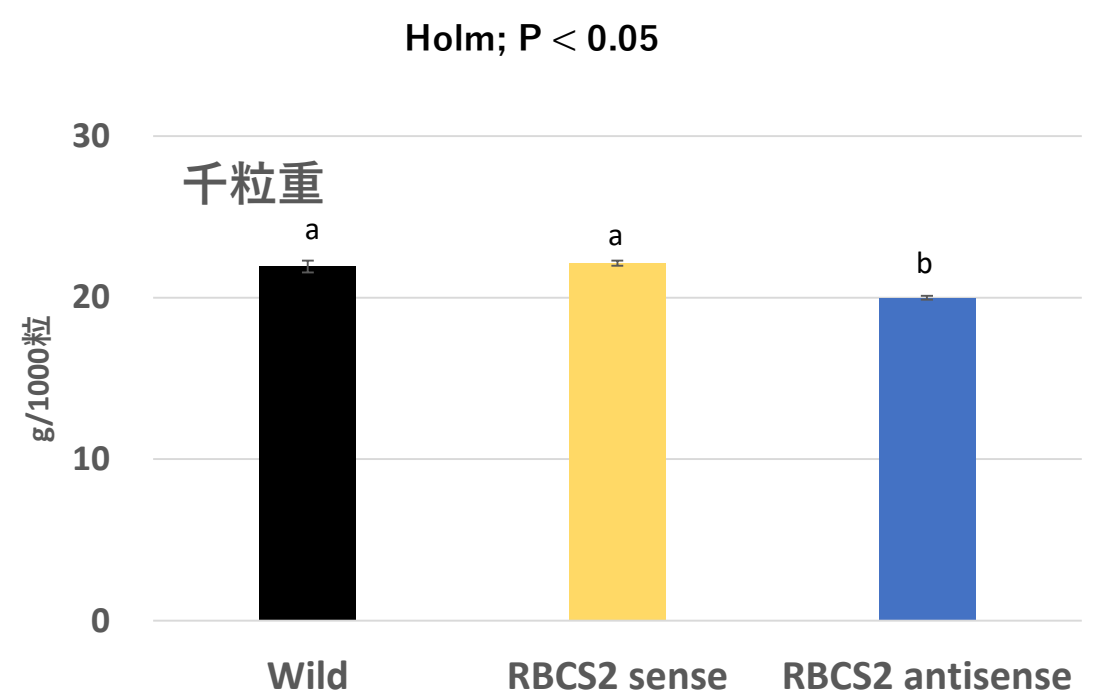
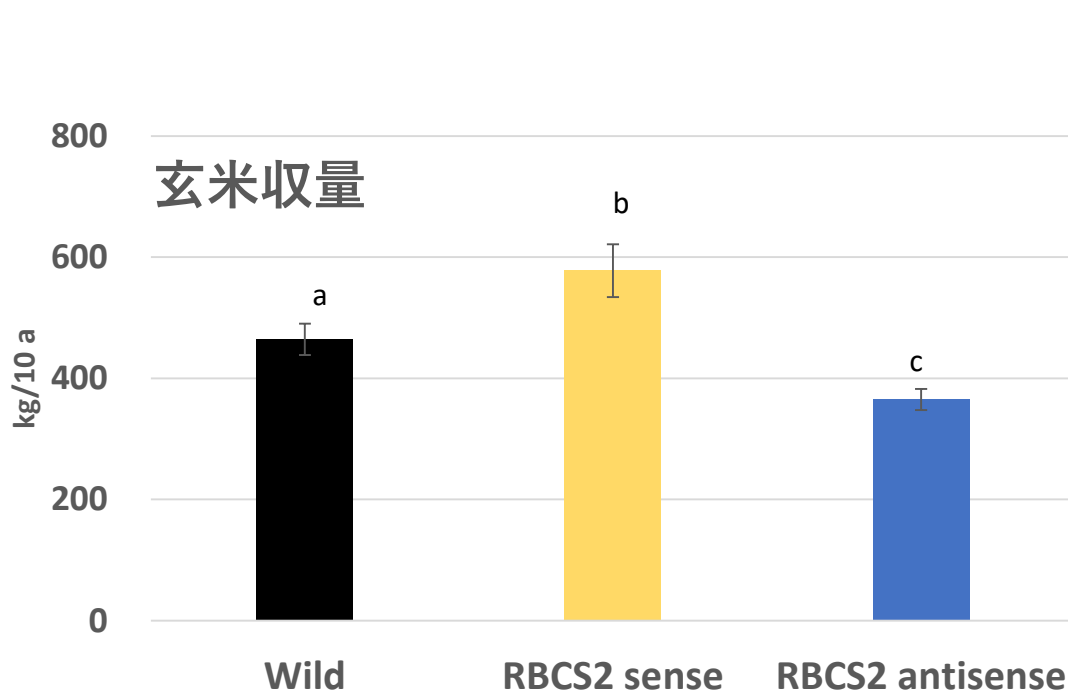


Oneway ANOVA followed by Holm tests were used to identify significant differences between the wild-type, Sense-*RBCS2* and Antisense-*RBCS2* ( $P < 0.05$ ). WT; non-transgenic rice plant (Notohikari), Sense; transgenic rice plant with overproduced Rubisco (*RBCS-sense*, *Oryza sativa* L.), Antisense; transgenic rice plant with decreased Rubisco (*RBCS-antisense*, *Oryza sativa* L.)



# 成長解析結果

	野生型	Rubiscoセンス	Rubiscoアンチセンス
地上部風乾重/株 (g)	64.19 ± 2.79 ab	75.46 ± 5.75 a	58.28 ± 2.13 b n = 8 - 9
穂を除く地上部風乾重/株 (g)	34.04 ± 1.52 ab	41.19 ± 3.80 a	31.82 ± 1.45 b n = 8 - 9
穂数/株 (本)	17.00 ± 0.38 a	16.56 ± 1.03 a	16.39 ± 0.45 a n = 8 - 9
全籾風乾重/株 (g)	30.15 ± 1.82 ab	34.27 ± 2.33 a	26.46 ± 1.19 b n = 8 - 9
完熟籾風乾重/株 (g)	28.88 ± 1.72 a	<b>33.04 ± 2.28</b> b	26.46 ± 1.19 a n = 8 - 9
全籾風乾重/穂 (g)	1.75 ± 0.11 ab	2.00 ± 0.08 a	1.62 ± 0.07 b n = 8 - 9
全籾数/穂 (個)	67.47 ± 3.86 ab	80.75 ± 3.52 a	66.84 ± 4.29 b n = 8 - 9
完熟籾数/穂 (個)	58.10 ± 3.61 a	<b>73.56 ± 3.93</b> b	53.91 ± 3.39 a n = 8 - 9
千籾重 (風乾) (g)	27.04 ± 0.20 a	26.54 ± 0.30 a	<b>24.06 ± 0.24</b> b n = 9
千粒重 (風乾) (g)	21.92 ± 0.37 a	22.13 ± 0.16 a	<b>19.99 ± 0.12</b> b n = 9
登熟歩合 (%)	86.17 ± 2.38 ab	<b>90.84 ± 1.15</b> a	<b>80.95 ± 1.86</b> b n = 8 - 9
収量 (kg/10a)	464.4 ± 25.8 a	<b>578.0 ± 43.6</b> b	<b>365.0 ± 17.4</b> c n = 8 - 9



Oneway ANOVA followed by Holm tests were used to identify significant differences between the wild-type, Sense-RBCS2 and Antisense-RBCS2 (P<0.05).





第1 遺伝子組換え作物の栽培計画書（様式1）  
平成29年度遺伝子組換え作物栽培計画書

平成29年1月30日

宮城県知事 殿

郵便番号 980-8577

住 所 仙台市青葉区片平 2-1-1

電話番号 022-217-6017

氏 名 国立大学法人東北大学 総長 里見 進 印

「遺伝子組換え作物の栽培に関する指針」第4の規定により、下記のとおり届け出ます。

栽培の目的	<p>私たちは、イネの個葉光合成の改善と生産性の向上を目指して、光合成炭酸固定酵素 Rubisco (ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) を増強する研究を行っている。遺伝子組換え操作により Rubisco 酵素を過剰生産させた形質転換体イネと逆に Rubisco の生産を抑制した形質転換体イネを作出した。平成28年度は、東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター内の隔離ほ場(隔離ほ場)を利用し、これら2系統のイネと非組換えイネとをほ場レベルで比較栽培する3年計画の初年度の作付けを行った。本年度は、この昨年度の作付け結果より得られた知見を活かし、「ほ場の窒素濃度」が、2系統の形質転換体イネの個体生育と収量に与える影響を評価したいと考えている。</p> <p>試験栽培に使用する第一種使用規程承認作物は、昨年度と同様に、以下の2系統である。</p> <p>(1) Rubisco 過剰生産イネ(<i>RBCS2-sense</i>, <i>Oryza sativa</i> L.) (Sr26-8) Rubisco の小サブユニット遺伝子 <i>RBCS2</i> をイネ(品種:能登ひかり)にセンス方向に導入し、Rubisco 酵素のタンパク質量を増加させた系統。</p> <p>(2) Rubisco 生産抑制イネ(<i>RBCS2-antisense</i>, <i>Oryza sativa</i> L.) (AS-71) Rubisco の小サブユニット遺伝子 <i>RBCS2</i> をイネ(品種:能登ひかり)にアンチセンス方向に導入し、Rubisco 酵素のタンパク質量を減少させた系統。</p> <p>平成29年度の試験は、昨年度に引き続き、隔離ほ場で上記2系統の形質転換体イネと親株である能登ひかり(非組換えイネ)を栽培し、定期的に生育、及び最終的には詳細な収量調査を行う。得られる結果よ</p>
-------	--

	り、イネのRubisco酵素の増減と土壌窒素濃度の違いが、個体生育や生産性に与える影響を、ほ場レベルで評価する。
栽培管理責任者名・ 連絡先 ※栽培従事者一覧添付 (別添図表1)	氏名：牧野 周 (フリガナ：マキノ アマネ) 住所：980-0845 仙台市青葉区荒巻字青葉468-1 東北大学大学院農学研究科 連絡先(電話)：022-757-4287
作物名・品種名	作物名： イネ 品種名： 能登ひかり(ノトヒカリ)
第一種使用規程	承認年月日：平成28年4月12日 使用期間：平成29年4月1日～平成30年3月17日
栽培ほ場の地名・地番 構造・規模 ※ほ場・施設図面添付 (別添図表2)	宮城県大崎市鳴子温泉字蓬田232-3 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター 隔離ほ場(通称、隔離ほ場)及び隔離ほ場内施設(実験室・物置・ビニールハウス)(北緯38°44', 東経140°45', 標高170 m)・露地 規模 隔離ほ場 5,320 m <sup>2</sup> のうち、畦畔部分を含む砂質水田 500 m <sup>2</sup> を使用(尚、畦畔部分を除く作付け可能な面積は、381 m <sup>2</sup> )
周辺への周知状況 ※説明会等で使用する図 表添付 (別添図表3)	説明会の開催：平成29年4月上旬 説明会の場所：東北大学川渡共同セミナーセンター、第1研修室 参集範囲：周辺住民、一般市民、消費者団体、報道関係者
栽培期間 播種・定植・収穫の予定 ※作業工程表を添付 (別添図表4及び5)	栽培期間：平成29年4月1日より平成30年3月17日まで  <u>平成29年度作付け計画</u> 1. 施肥：平成29年4月～7月 (別添図表5) 隔離ほ場砂質水田を、高窒素区、標準窒素区、低窒素区に、三分割する。基肥として、いずれの区にもカリ及びリンを、K <sub>2</sub> O、P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> として、それぞれ8～10 kg/10a施肥する。窒素については、以下の通りとする。 ① 標準窒素区 (SN区) 基肥； N：4 kg/10a, 追肥(分けつ期、及び幼穂形成期)； N：2 kg/10a x 2回) ② 高窒素区 (HN区) 基肥； N：4 kg/10a + 7 kg/10a (緩効性肥料), 追肥(分けつ期、幼穂形成期、及び減数分裂期)； N：2 kg/10a x 3回) ③ 低窒素区 (LN区) 基肥； N：0 kg/10a, 追肥； N：0 kg/10a

	<p>*尚，生育の状況により追肥の窒素肥料量と回数に変更の場合あり。</p> <p><b>2. 播種：</b>  <b>平成29年4月上旬</b>  非組換えイネ(能登ひかり)，Rubisco過剰生産イネ(Sr26-8)，及びRubisco生産抑制イネ(AS-71)の各系統を，それぞれ27,000粒(約750 g)を使用する。</p> <p><b>3. 定植（田植え）：</b>  <b>平成29年5月上旬</b>  隔離ほ場砂質水田を三分割し，畝幅・株間30 × 16 cm間隔の一株3本(70株/坪)植えて，非組換えイネ(能登ひかり)，Rubisco過剰生産イネ，及びRubisco生産抑制イネを，それぞれ約2,600株，植え付ける。尚，播種及び定植は，手作業または機械(田植機；クボタ 歩行型sp-2)で行う。</p> <p><b>4. 収穫（稲刈り）：</b>  <b>平成29年9月中下旬</b>  収穫は，手作業または刈取機(イセキ農機株式会社 R L50 2条刈り)を使用し行う予定である。標準窒素区では，非組換えイネ(能登ひかり)，Rubisco過剰生産イネ，及びRubisco生産抑制イネで，それぞれ約30 g/株，約35 g/株，約26 g/株，乾粒重での収量が期待できる。</p> <p><b>5. 乾燥，腐食処理，収量調査など：</b>  <b>平成29年9月中下旬以降</b>  収穫は，手作業，または，刈取機(イセキ農機株式会社 RL50 2条刈り)を利用して行う。稲刈り後，非組換えイネ(能登ひかり)，Rubisco過剰生産イネ，及びRubisco生産抑制イネは，隔離ほ場内の「二重構造専用乾燥小屋(通称；乾燥小屋)」内で自然乾燥させる。乾燥後(1ヶ月程度)，収量に関する調査を実施する。解析に用いない不要なイネは，隔離ほ場内に施工した溝(長さ約10 m，幅約3 m，深さ約1 m)に投棄した後，土で埋没させ腐食処理を行う。</p>
看板設置	平成28年4月21日設置済み



種苗	購入先	購入はしない
	購入量	なし
	保管方法	保管することはない
同種栽培作物との距離 ※周辺地図を添付 (別添図表2)	作物名： イネ 距離(最短)            200 m 同種・近縁種との距離(最短)        200 m	
交雑防止措置 (別添図表2)	<p><b>*平成 28 年度に準じて行う。</b></p> <p>「第一種使用規程承認組換え作物栽培実験指針」の隔離距離による交雑防止措置に従う。なお、本組換えイネの栽培する隔離ほ場から同種の栽培イネが栽培されている最も近いほ場は、川渡フィールドセンター内の研究ほ場で約 200 m、一般農家のほ場で 400 m である。このことは、指針で示されている「30 m 以上隔離し組換えイネを栽培する」という条件を満たしている。また、当隔離ほ場の周囲は、高さ 185 cm のメッシュフェンスで囲われ、かつ、隔離ほ場から研究及び一般ほ場側の三方は、高さ約 20 m の樹木(防風林)が覆っている。</p> <p>さらに、出穂約 2 週間前から収穫時まで、防雀網(20 mm メッシュ)を設置する。</p>	
交雑の有無の確認 (別添図表5)	<p><b>*平成 28 年度に準じて行う。変更点は、下線で記す。</b></p> <p>花粉トラップを、開花予定日 1 週間前より、隔離ほ場の内外に設置する。使用する砂質水田内に風速計を設置し、開花期の「<u>2 分間の</u>平均風速が 3 m/s を越える」などの花粉飛散の恐れ、またはその可能性が発生したと判断された場合は、交雑の有無を確認するため、以下の実験を行う。</p> <p>設置した花粉トラップに採取された花粉を Single Pollen Genotyping 法(花粉一粒からの遺伝子型決定法)により、組換えイネの花粉が飛散しているか否かを判別する。本方法に従い、交雑の可能性を判別する。また、栽培区画内(防雀網内)の試験区の周囲に親株の能登ひかりを生育検定用とは別に移植、栽培し、交雑の有無を確認する</p> <p>確認方法は、Rubisco 過剰生産イネには、導入したセンス <i>RBCS2</i> 遺伝子にハイグロマイシン耐性遺伝子(<i>HPT</i> 遺伝子)が、また、Rubisco 生産抑制イネには、導入したアンチセンス <i>RBCS2</i> 遺伝子にビアラホス耐性遺伝子(<i>bar</i> 遺伝子)が連結されている。そのため、花粉、及び実った種子の一部を回収し、導入遺伝子、または薬剤耐性(ハイグロマイシン耐性またはビアラホス耐性)の有無を確認する。</p>	
混入防止措置	<p><b>*平成 28 年度に準じて行う。変更点は、下線で記す。</b></p>	

- (1) 承認された組換えイネ，実験対照及び水田機能維持のために栽培するイネ以外の植物が隔離ほ場内で生育することを最小限に抑える。
- (2) 播種は，全て手作業で行い，定植は，手植え，または，田植機(クボタ 歩行型 sp-2)を使用して行う。残苗は，オートクレーブにより不活化し，その後に廃棄する。
- (3) 開花前から収穫時まで栽培箇所全体を防雀網で覆い，また地面と防雀網の接地部分は隙間ができないように網を，平成 28 年度に購入した「鉄管」を用いて地面に密着させ，栽培区域内への野鳥や小動物等の進入を防止する。
- (4) イネの刈取り作業は鎌を使用した手作業，または，刈取機(イセキ農機株式会社 R L50 2 条刈り)を使用して行う。刈り取ったイネは，収量調査を行うまで，隔離ほ場内の「乾燥小屋」内に設置する乾燥棚に掛け，自然乾燥を行う。  
「乾燥小屋」の出入りの際は，迅速に扉の開閉を行うことにより，野鳥や小動物等の侵入を防止する。さらに，野鳥や小動物等の侵入口となりうる「乾燥小屋」の破損の有無を，定期的に監視するとともに維持管理を徹底して行う。特に，「乾燥小屋」と地面と接触面に，野鳥や小動物等の侵入口がないかについては，重点的に監視を行う。  
脱穀に関しては，機器類を使用せずに隔離ほ場の実験室内で手作業により行う。籾摺り作業に関しては，隔離ほ場の実験室内において，籾すり機(オータケ インペラ籾摺り機 FC2K)を使用して行う。なお，収量調査終了後のサンプル(藁，籾殻，玄米等)，ならびに乾燥時の「乾燥小屋」内，隔離ほ場の実験室内での落ち穂，こぼれ籾等は回収し，オートクレーブにより不活化後に廃棄する。または隔離ほ場内の栽培区画外に約 1 m の深さに埋め込むことで廃棄する。なお，埋め込んだイネ種子の生命力(発芽力)に関して，平成 30 年の春(5 月前後)に調査を行う。
- (5) 隔離ほ場内で栽培したイネの残渣，種子及び発生した植物は，試験終了後に回収し，漏出しないような容器に納め，オートクレーブにより不活化し廃棄する。また，隔離ほ場内の栽培区画外に約 1 m

の深さに埋め込むことで廃棄する。さらに、試験終了後、栽培区画内は、トラクター(ヤンマー エコトラ EG445)を用いて、栽培区画の収穫残渣の鋤込み作業を、必ず複数回、行う。

- (6) 隔離ほ場で使用した機械, 器具, 及び隔離ほ場で作業した者の靴等は, 作業終了後に, 隔離ほ場内で洗浄し, 隔離ほ場内の植物残渣, 土等を外に持ち出さないことに細心の注意を払い, 形質転換体イネが隔離ほ場外に持ち出されることを防止する。隔離ほ場の用水は, 沢よりポンプで汲み上げられ, 貯水池へと溜められる。排水路は, 隔離ほ場を周回する形で設置されており, 排水は, 再び貯水池へと流入し, 外部へは漏出しない。
- (7) 隔離ほ場維持管理責任者を置き, 隔離ほ場の設備が本来有する機能を発揮するよう維持及び管理を行う。
- (8) 栽培のために使用した種子, 及び, 収穫した組換え体イネの種子に関しては, 種子管理及び記録責任者を置き, 数量管理を実施し, 記録する。種子の保管に関しては, 施錠をした専用保管庫で行い, 盗難防止等に留意する。
- (9) 隔離ほ場維入退記録責任者を置き, 隔離ほ場の出入り口は, 常時, 施錠し, その鍵の管理は細心の注意を払い行う。関係者以外の立入を厳格に禁ずる。また, 隔離ほ場への入退を行った者は, その度に, 記録簿に氏名, 所属, 日付等を記載することとする。さらに, 形質転換イネ, 及びその種子を始めとした隔離ほ場の施設及び備品等に対し, 第三者による盗難や破壊行為等が無きよう監視を行う。尚, 隔離ほ場には, 防犯用のカメラを設置しており, これらのカメラにより記録された映像を, 定期的に精査する。
- (10) 隔離ほ場での作業時の服装は, 通常の農作業着を着用する。農作業着は, 常に清浄に保つこととする。また, 開花期の作業などで, 作業着に花粉が付着した可能性がある場合は, 作業着ごとオートクレーブで花粉の不活化を行い, 作業着ごと廃棄する。また, 形質転換イネを運搬する際は, 手袋及びマスクと共に, 必要に応じて防護用眼鏡を着用する。

		(11) (1)から(10)に掲げる事項を、隔離ほ場を使用する者は、徹底的に遵守する。
収穫物	運搬方法	<p><b>*平成28年度に準じて行う。</b></p> <p>組換えイネを隔離ほ場外に運搬する場合は、組換えイネが漏出しないような構造の容器、または、厚手のビニールを二重にしたものに納めて輸送する。また、運搬時には、容器を落下させたり、ビニールを傷つけたりすることなきように細心の注意を払う。</p>
	保管 (場所・方法)	<p><b>*平成28年度に準じて行う。</b></p> <p>組換えイネを保管する場合は、組換えイネが漏出しないような構造の容器内に納めて保管する。</p>
	出荷先	<p>収穫した種子は、全て研究材料として分析を行う。よって、出荷することはない。</p>
ほ場・収穫残さの処理		<p><b>*平成28年度に準じて行う。</b></p> <p>隔離ほ場内で栽培したイネの残渣、種子及び発生した植物は、試験終了後回収し、漏出しないような容器に納め、その後、オートクレーブにより不活化して廃棄する。または、隔離ほ場内の栽培区画外に、約1 mの深さに鋤込むことで廃棄する。さらに、試験終了後、栽培区画内は、トラクター(ヤンマー エコトラ EG445)を用いて、隔離ほ場内栽培区画の収穫残渣の鋤込み作業を行う。</p>
次期(次年度)作のほ場利用計画及び後作の収穫物の扱い		<p>本試験栽培は、隔離ほ場内の砂質水田(20 m x 25 m; 500 m<sup>2</sup>)内で平成31年3月末日まで継続して行うことを計画している。</p>

**平成29年度遺伝子組換え作物栽培計画書  
別添図表**

## 平成29年度 隔離ほ場栽培従事者一覧

### 業務管理責任者

高橋 英樹 東北大学遺伝子組換え実験安全専門委員

### 業務管理主任者

牧野 周 東北大学大学院農学研究科 教授

### 隔離ほ場管理者

渋谷 暁一 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド  
教育研究センター環境農林科長

### 業務従事者

前 忠彦 東北大学 名誉教授

### 業務従事者

石田 宏幸 東北大学大学院農学研究科 准教授

### 業務従事者

鈴木 雄二 岩手大学農学部 准教授

### 業務従事者, 種子管理及び記録責任者, 隔離ほ場維持管理及び入退記録責任者

石山 敬貴 東北大学大学院農学研究科 研究支援者

### 業務従事者

渡邊 まり 東北大学大学院農学研究科 博士課程前期1年



# 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター隔離ほ場(通称, 隔離ほ場)および隔離ほ場内施設 (北緯38°44', 東経140°45', 標高170 m)

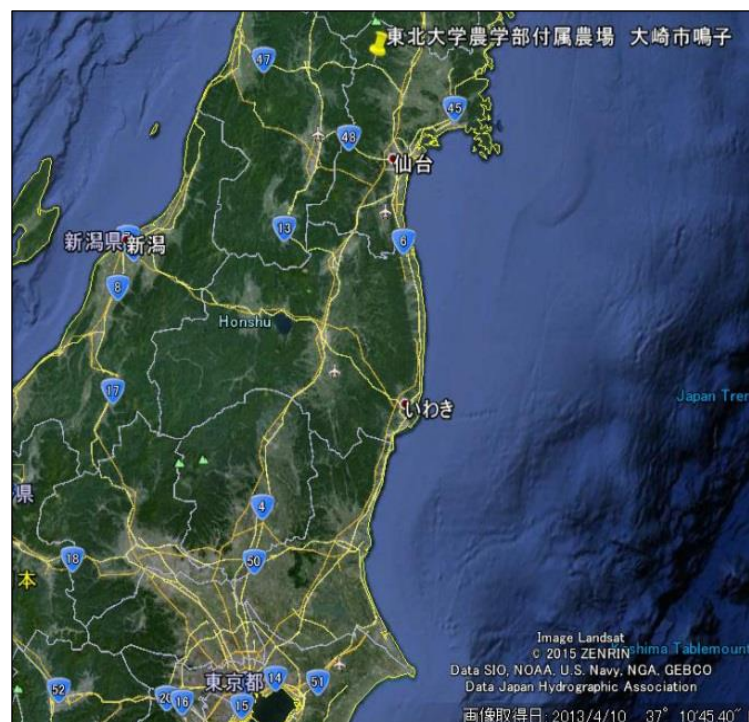


図1 農場施設所在地(1)

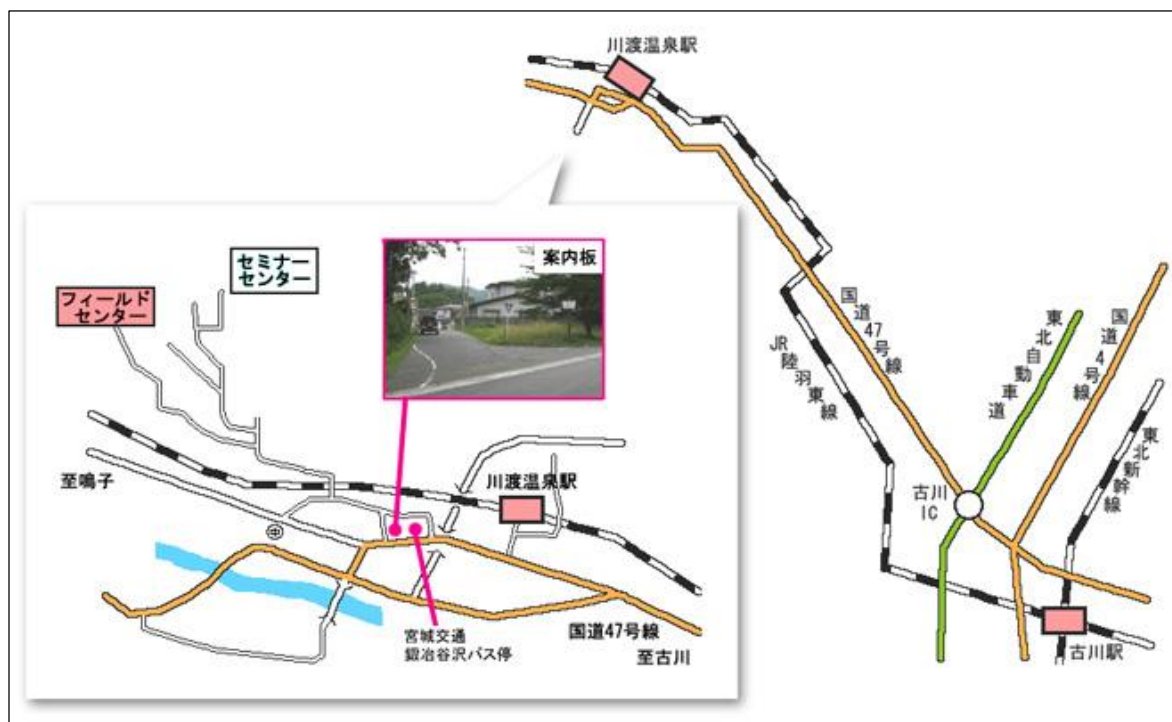


図2 農場施設所在地(2)

<http://www.agri.tohoku.ac.jp/noujou/access.html>



図3 東北大学大学院農学研究センター附属複合フィールド教育研究センター周辺

隔離ほ場の試験区から、最も近い一般農家ほ場(イネ栽培水田)までの距離は、約400 m、また、最も近いセンター内の研究ほ場は約200 mである。赤線は附属複合生態フィールド教育研究センターの敷地を示す。

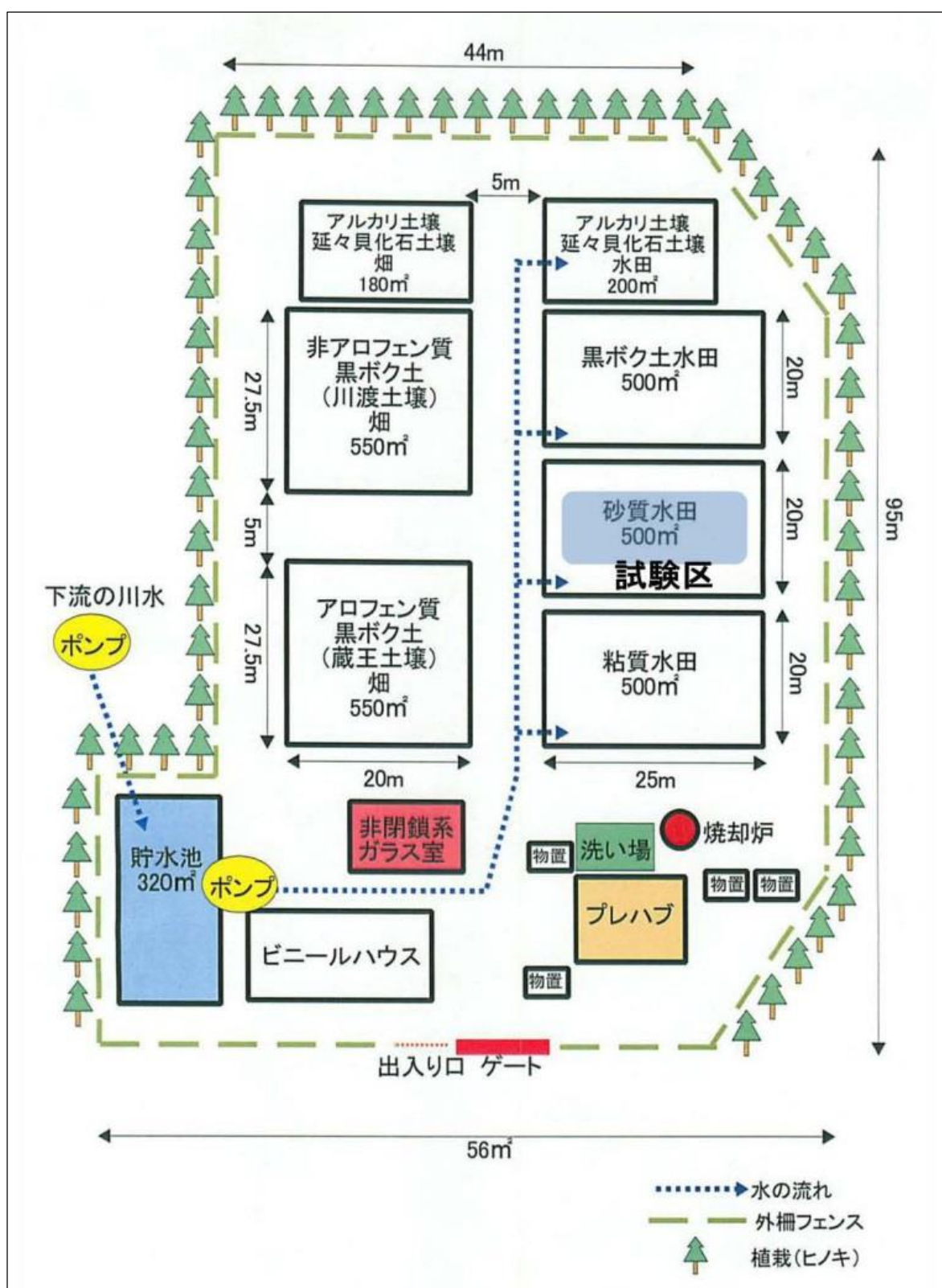


図4 組換え植物隔離ほ場の概略と栽培予定試験区



# 住民説明会案内

平成29年4月〇日

平成28年度 Rubisco 過剰生産及び生産抑制遺伝子組換えイネを用いた隔離ほ場での生育及び収量評価試験実績報告，並びに，平成29年度実施計画に関する公開説明会

東北大学 環境・安全委員会遺伝子組換え実験安全専門委員会  
大学院農学研究科

日時： 平成29年4月〇日 13:30～16:00

場所： 東北大学川渡共同セミナーセンター，第1研修室

東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター

## 議事予定

### 1. 開会

挨拶 東北大学環境・安全委員会遺伝子組換え実験安全専門委員会

### 2. 平成28年度 Rubisco 過剰生産及び生産抑制遺伝子組換えイネを用いた隔離ほ場での生育及び収量評価試験実績報告，並びに，平成29年度実施計画

牧野 周 （教授・東北大学大学院農学研究科）

### 3. 質疑応答

### 4. 閉会

### 5. 隔離ほ場(現場)の見学 \*希望者

## 【公共交通機関】

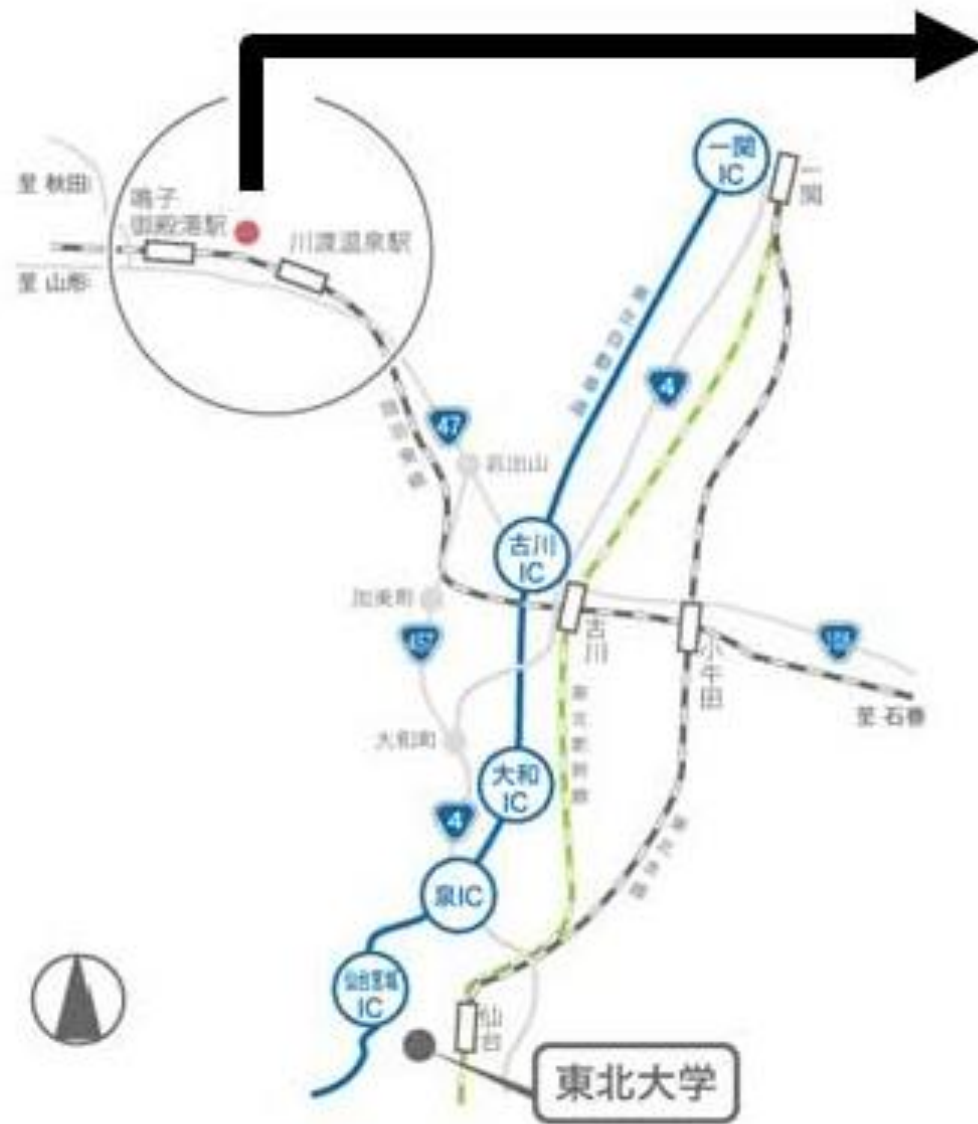
- 仙台駅 → (東北新幹線) → 古川駅 → (陸羽東線) → 川渡温泉駅 → (徒歩約45分・タクシー約5分) → セミナーセンター
- 仙台駅 → (東北本線) → 小牛田駅 → (陸羽東線) → 川渡温泉駅 → (徒歩約45分・タクシー約5分) → セミナーセンター
- 仙台駅 → (高速バス) → 古川駅 → (陸羽東線) → 川渡温泉駅 → (徒歩約45分・タクシー約5分) → セミナーセンター

## 【自家用車】

- 仙台 → 東北自動車道 → 古川インター → (R47 鳴子・新庄方面約40分) → セミナーセンター



# 住民説明会案内



アクセスに関しては、下記の URL を参照

<http://www.bureau.tohoku.ac.jp/kawatabi/access.html>

# 平成29年度 隔離ほ場作業工程表

月	日	水田作業等	管理作業	情報公開, 査察	備考
4	上旬	播種		住民説明会	東北大学川渡共同セミナーセンター
	下旬	施肥 (基肥)			隔離ほ場・川渡
5	上旬			宮城県査察	隔離ほ場・川渡
	中旬		草刈り		
		田植え (定植)			
下旬			宮城県査察	隔離ほ場・川渡	
6	上旬		成長解析		草丈, 分けつ数, SPAD
		施肥 (つなぎ肥)			
	下旬		草刈り		
7	上旬		成長解析		草丈, 分けつ数, SPAD
			風速計設置		
		施肥 (穂肥)			
	中旬		防雀網設置		
			花粉トラップ設置		
		草刈り			
			宮城県査察	隔離ほ場・川渡	
8	上旬	開花 (出穂)			
			成長解析		草丈, 穂数, SPAD
	下旬		草刈り		
9	上旬		成長解析		草丈, 穂数, SPAD
	中旬	稲刈り			
	中下旬		落穂拾い		
		ほ場残渣の埋め込み			
10	上旬			宮城県査察	隔離ほ場・川渡
	中旬	水田の耕起作業			1回目
11	上旬	水田の耕起作業			川渡 → 青葉山
	中旬	施肥 (基肥, コンポスト散布)			2回目



# 隔離ほ場砂質水田における作付け模式図

黒ボク水田側

22 m

LN

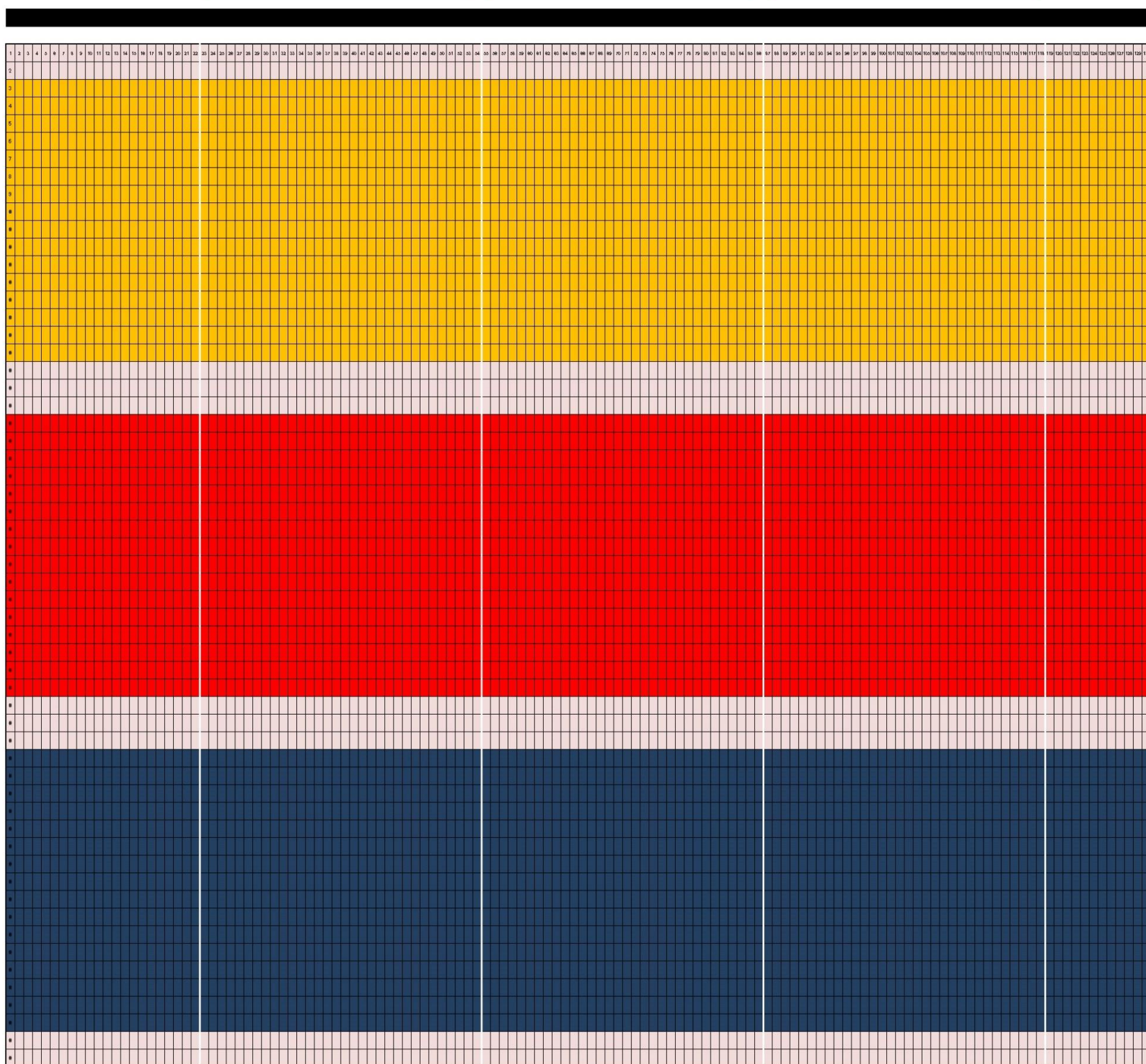
SN

HN

5.3 m

5.3 m

5.3 m



5 m

ネットフェンス側

能登ひかり

5 m

Rubisco  
過剰生産イネ  
18 m

5 m

Rubisco  
生産抑制イネ

歩道側

LN ; 低窒素区, SN ; 標準窒素区, HN ; 高窒素区



# 花粉トラップの設置箇所

