

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6月9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

電話番号 022-217-6017

氏 名 国立大学法人東北大学 総長 里見 進



「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</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 ² のうち、畦畔部分を含む砂質水田 500 m ² を使用(尚、畦畔部分を除く作付け可能な面積は、381 m ²)
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 ₂ O、P ₂ O ₅ 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>2. 播種： 平成29年4月上旬 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>3. 定植（田植え）： 平成29年5月上旬 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>4. 収穫（稲刈り）： 平成29年9月中下旬 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>5. 乾燥，腐食処理，収量調査など： 平成29年9月中下旬以降 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>*平成 28 年度に準じて行う。</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>*平成 28 年度に準じて行う。変更点は、下線で記す。</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。<u>尚、風力計は、隔離ほ場中央部により近い位置の砂質水田内に設置することとする。</u></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> 遺伝子にピ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ピアラホス耐性)の有無を確認する。</p>	

混入防止措置	<p>*平成 28 年度に準じて行う。変更点は、下線で記す。</p> <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。</p> <p>(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(121℃、20分、2 atm)により不活化し、その後に廃棄する。</p> <p>(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、<u>平成 28 年度に購入した「鉄管」を用いて地面に密着させ</u>、栽培区域内への野鳥や小動物等の進入を防止する。</p> <p>(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「<u>乾燥小屋</u>」内に設置する乾燥棚に掛け、自然乾燥を行う。</p> <p>「<u>乾燥小屋</u>」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「<u>乾燥小屋</u>」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、「<u>乾燥小屋</u>」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。</p> <p>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「<u>乾燥小屋</u>」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(121℃、20分、2 atm)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 6 月までに調査を行う。</p> <p>(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</p>
--------	--

(121℃、20分、2 atm)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(121℃、20分、2 atm)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	*平成28年度に準じて行う。 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。
	保管 (場所・方法)	*平成28年度に準じて行う。 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。
	出荷先	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。
ほ場・収穫残さの処理		*平成28年度に準じて行う。 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(121℃、20分、2 atm)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 E G445)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。 平成28年度に隔離ほ場砂質水田にて栽培を行い、収穫後に腐食処理のために鋤き込んだ2系統の形質転換イネの種子に関しては、平成29年6月までに掘り起こし、その後、発芽試験を行い、発芽能が失われていることを確認する。
次期(次年度)作のほ場利用計画及び後作の収穫物の扱い		本試験栽培は、隔離ほ場内の砂質水田(20 m x 25 m; 500 m ²)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。

**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**

金山 喜則 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

石田 宏幸 東北大学大学院農学研究科 准教授

鈴木 雄二 岩手大学農学部 准教授

田副 雄士 東北大学大学院農学研究科 特任助教

菅波 真央 東北大学大学院農学研究科 博士課程後期1年

渡邊 まり 東北大学大学院農学研究科 博士課程前期1年

小倉 真紀 東北大学農学部 4年

尹 郭敬 東北大学大学院農学研究科 研究員

- **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 特任助教

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。

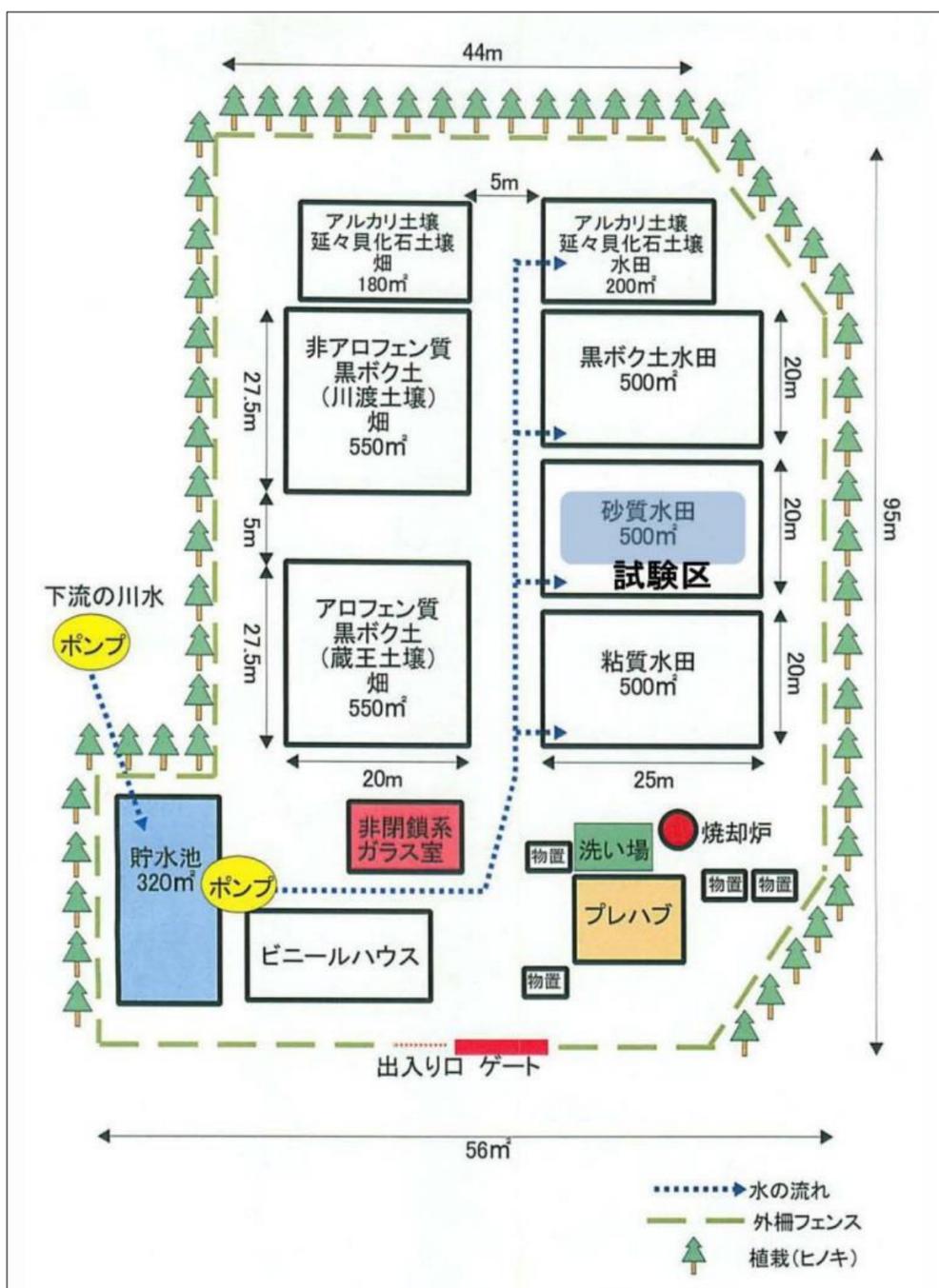


図4 組換え植物隔離ほ場の概略と栽培予定試験区

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

LN

SN

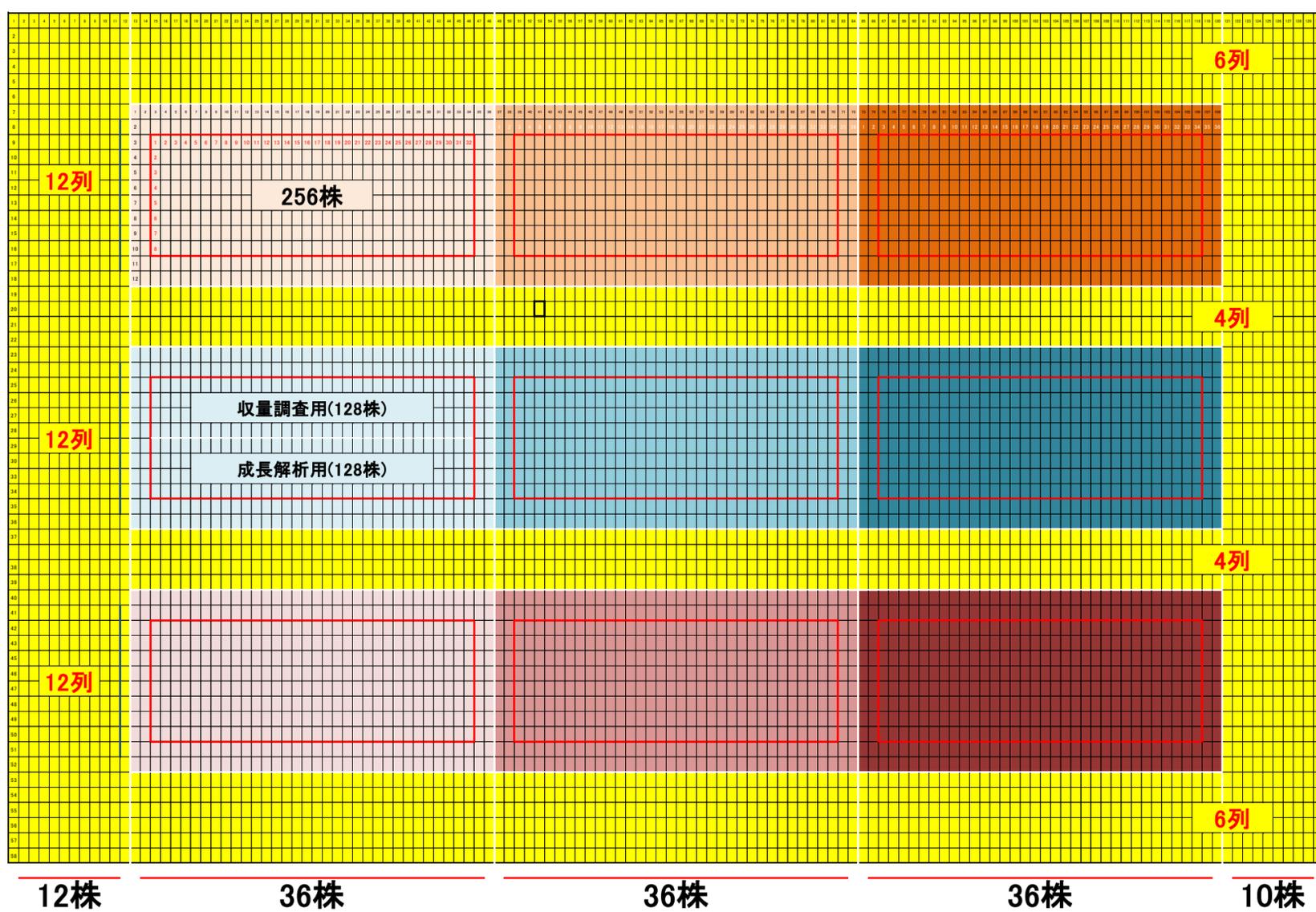
HN

20株/m² (植え付け間隔; 30 cm X 16.7 cm)

1.6 m 6.2 m 6.2 m 6.2 m 1.6 m



歩道



センス
フェンス
3.6 m
野生型
3.6 m
アンチセンス
3.6 m

12株 36株 36株 36株 10株

平成29年度、隔離ほ場砂質水田の作付け計画

2系統の形質転換(Rubiscoセンス及びアンチセンス)及び野生型イネを、低窒素区(LH)、標準窒素区(SH)、及び高窒素区(HN)に区分し、作付けを行う。周辺部は、野生型イネ(黄色の部分)を植えることにより、形質転換イネの花粉飛散、及び交雑防止対策とする。基肥として、基肥として、いずれの区にもカリ及びリンを、K₂O、P₂O₅として、それぞれ8-10 kg/10a施肥した後で、LHには、窒素肥料を一切投与せず、SHには、基肥としてNを4 kg/10a、追肥(分けつ期、及び幼穂形成期)、追肥としてNを2 kg/10a x 2回、投与する。また、HNには、基肥として Nを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)として、Nを2 kg/10a x 3回、投与する。

略語 センス; RBCS2センスイネ、アンチセンス; RBCS2アンチセンスイネ、野生型(非組換えイネ、ノトヒカリ)

花粉トラップの設置箇所



形質転換イネの花粉の飛散の有無を確認するために、開花前より花粉トラップを設置する。花粉トラップの設置場所は、平成28年度と同じ個所とする。開花期に「2分間の平均風速が3 m/sを越える」ようなことが生じた場合、直ちに、花粉トラップを回収、PCR法を用い、花粉の飛散の有無を調査する。風速計は、昨年設置した場所より移動させ、より隔離ほ場の中心部に近い砂質水田内に設置する。