第２　遺伝子組換え作物の栽培実績書（様式２）
令和４年度遺伝子組換え作物栽培実績書

令和５年１月27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 022-217-6184
氏　　名　国立大学法人東北大学　総長　大野　英男　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	私たちは、イネの個葉の光合成および生産性の向上を目指し、現大気条件下の光合成の律速因子で、炭酸固定の初発反応を担う酵素、Rubisco (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) の研究を行っている。遺伝子組換え技術を用いて、Rubisco 酵素量が増加した遺伝子組換えイネ (Rubisco 過剰生産イネ) を作出した。イネの個葉の Rubisco 量増加が、乾物生産および収量への影響を検証するため、平成 28 年 4 月 12 日、平成 31 年 3 月 1 日および令和 4 年 3 月 7 日に文部科学大臣および環境大臣より、「第一種使用規程」の承認を得て、平成 28 年度から今年度までの 7 か年間、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遺伝子組換え作物専用ほ場 (隔離ほ場) を利用し、Rubisco 過剰生産イネと非遺伝子組換えイネ (能登ひかり) の比較栽培試験を行った。 Rubisco 過剰生産イネの詳細は以下の通りである。 ① Rubisco の小サブユニット遺伝子 *RBCS2* をイネ (能登ひかり) に順方向に導入し Rubisco タンパク質量が増加したイネである。 ② 本年度を含む 7 か年のほ場栽培試験により、窒素十分条件下において最大 28%玄米収量が増加することを確認している。
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**：石山　敬貴 (ﾌﾘｶﾞﾅ：イシヤマ　ケイキ) **住　所**：980-8572　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　植物栄養学分野 連絡先 (電話)　：　022-757-4290
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：令和4年3月7日 使用期間：平成4年3月7日 - 令和7年3月31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）**	**住所:** 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所属隔離ほ場 (通称、隔離ほ場) および隔離ほ場内施設 (実験室・物置・ビニルハウス) (北緯38°44'、東経140°45'、標高140 m) ・露地 **規模:** 隔離ほ場 5320 m^2 のうち砂質水田 500 m^2 (畦畔を含む) を使用
播種･定植･収穫実績 ※作業工程表を添付 **（別添図表3）**	**令和4年度隔離ほ場作業工程　(別添図表3)** **1.　施肥** 隔離ほ場砂質水田を、中窒素区に加え、高窒素区と低窒素区に三分割した。尚、高窒素区の緩効性肥料を除き窒素は硫安を使用した。 **全処理区共通リン酸およびカリ施肥：令和4年5月9日** P_2O_5：8.0 kg/10a、K_2O：8.0 kg/10a **①　標準窒素区　(総窒素量; 8.0 kg/10a) (別添図表4)** **基肥：令和4年5月9日** 全層；N: 4.0 kg/10a* **追肥 (幼穂形成期)：令和4年7月11日** 全層；N: 2.0 kg/10a* **追肥 (出穂期)：令和4年7月19日** 全層；N: 2.0 kg/10a* **②　高窒素区　(総窒素量; 15.0 kg/10a)** **基肥：令和4年5月9日** 全層；N: 11.0 kg/10a (4.0 kg/10a* + 9.0 kg/10a**) **追肥 (幼穂形成期)：令和4年7月11日** 全層；N: 2.0 kg/10a* *硫安 **緩効性肥料LP70 **③　低窒素区　(総窒素量; 0 kg/10a)** 2.　**播種 (別添図表5A)** **令和4年4月17日** 野生型 (能登ひかり、能登ひかり交雑種、秋田63号) および、Rubisco過剰生産イネの種子を、それぞれ10000粒 (約240 g) 使用した。さらに、外周に植え付けた能登ひかりに関しては、さらに種子を10000粒 (約240 g) 使用した。 **3.　育苗：(別添図表5B, C)**

	令和4年4月17日-5月21日 隔離ほ場内のビニルハウスで育苗を行った。 4. **定植 (田植え)**：**(別添図表5D)** **令和4年5月21日** 試験区に、畝幅30.0 cm、株間16.7 cmの3本植え (20.0 株/m^2) で、野生型イネ (能登ひかり、能登ひかり交雑種、秋田63号) およびRubisco過剰生産イネを、それぞれ約2000本植えつけた。また、試験区の外周には能登ひかりを植え付けた。尚、定植は手作業で行った。 5. **収穫 (稲刈り)**：**(別添図表6A, B)** **令和4年9月25日および10月2日** 収穫は鎌を用いて手作業で行った。 **6. 乾燥および残渣処理：(別添図表6C, D)** **令和4年9月25日および10月2日** 解析に使用する能登ひかり、能登ひかり交雑種、秋田63号およびRubisco過剰生産イネは、収穫後直ちに乾燥小屋へと運び、自然乾燥させた。解析に不要なイネは、隔離ほ場内に施工した溝 (長さ約10 m、幅約3 m、深さ約2 m) に投棄、土で埋没し腐食処理に供した。
看板設置 情報公開	**1. 看板設置** **令和4年4月1日設置** 設置期間: 令和4年4月1日より令和7年3月31日 **2. 情報公開** **① 令和4年2月24日** 大崎市鳴子川渡地区区長会 場所: 大崎市川渡地区公民館 住所: 〒989-6711 宮城県大崎市鳴子温泉字川渡25-5 **② 令和4年3月26日** **住民説明会;** オンライン会議 **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、

	JAいわでやま、NOSAI宮城 **案内方法**；大崎タイムスおよび古川記者クラブ、鳴子温泉川渡地区への告知、並びに、東北大学動物・遺伝子実験支援センターHPによる告知 (https://www.clag.med.tohoku.ac.jp/) **③ 常時** (ア) マスコミ発表 (例; 大崎タイムス紙) (イ) 東北大学動物・遺伝子実験支援センター (https://www.clag.med.tohoku.ac.jp/) のHPを利用し作業進捗状況の開示

種籾 種苗	購入先	購入はしない (自家採取)
	購入量	なし
	保管方法	**Rubisco過剰生産イネの保管** Rubisco過剰生産イネの種籾は、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。
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, 7)**		**本年度実施した交雑防止措置** **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)** **2. 風速計設置期間 令和 4 年 7 月 29 日 - 8 月 15 日 (別添図表 7)** **3. 防雀網設置期間 令和 4 年 7 月 29 日 - 11 月 1 日 (別添図表 7)** **4. 花粉トラップ設置期間 令和 4 年 7 月 29 日 - 8 月 15 日 (別添図表 7)** 出穂前の令和4年7月29日に、風速計を水田内に設置、風速の計測を開始した。また、花粉トラップを、令和4年7月29日から8月15日まで隔離ほ場の内外に設置した。尚、花粉トラップ版の交換は約48時間毎に行った。 今年度の出穂日は令和4年8月2日であった。防雀網 (20 mmメッシュ) は、令和4年7月29日から11月1日まで設置した。防雀網の裾を長さ4 m、直径20 mm、重量約5 kgの鉄管で押さえ、小動物の侵入を防いだ。二回目の鋤込み後の令和4年11月1日に防雀網を撤去した。

交雑の有無の確認 **(別添図表8, 9)**	**1. 開花期の風速の確認 (別添図表 8)** 本年度の栽培計画書では、「開花期の2分間平均風速が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。 風速計設置期間の平均風速の最大値は、開花日前の令和4年8月1日に観察された1.05 m/sであった。花粉飛散試験を行う基準となる平均風速3 m/sを下回る値であった。 **2. 花粉の飛散状況の確認** 開花期において規程の平均風速を超えることはなかった。従って、花粉トラップに捕集した花粉の交雑確認試験を行わなかった。 **3. 交雑試験 (別添図表 9)** Rubisco過剰生産イネと、Rubisco過剰生産イネの外周に定植した能登ひかりとの交雑の有無の確認を行った。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が連結されている。このRubisco過剰生産イネの遺伝子的特性を利用し、交雑の有無の確認を行った。 試験区の周囲で栽培した能登ひかりから種子を収穫し、ランダムに150粒を抽出、殺菌処理した後に、水、または、50 mg/Lハイグロマイシン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15日間育成した。水処理の能登ひかりまたはハイグロマイシン処理のRubisco過剰生産イネと同様の生育を示したものを生存数とした。その結果、ハイグロマイシン耐性を示した能登ひかりの種子は無く、能登ひかりとRubisco過剰生産イネの間に交雑は起きていないと判断した。
混入防止措置	1. 承認された組換えイネ、実験対照およ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。 ✧ 栽培期間中、約一月に 1、2 回、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。尚、除草には、隔離ほ場専用、歩行型除草機および刈払い機を使用した。 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。

	✧ 定植は、全て手作業で行った。 ✧ 残苗は、オートクレーブし、不活化した後、廃棄した。 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、「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。 ✧ 防雀網の設置等は計画書記載の通りに行った。鋤き込み作業終了後に防雀網を撤去した。 4. イネの刈取り作業は鎌を使用し手作業で行う。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、東北大学大学院農学研究科に移送後、手作業にて行う。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 2 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、令和 5 年の春 (5 月ごろ) に調査を行う。 ✧ 令和 4 年 5 月に、令和 3 年度に収穫し、埋土による腐敗処理した種子を掘り起こし、それらの種子の発芽力検定試験を行った。その結果、腐食処理を行った種子は完全に発芽力を失っていることが確認された **(別添図表 10)** 。 ✧ 稲刈りに関しては、本年度の計画書に則り行った。 ✧ 刈り取りは、全て手作業で行った。 ✧ 収穫後のイネの乾燥は、設置の乾燥小屋で行った。 ✧ 実験室内で生じた残渣は、計画書に則り、オートクレーブし不活化後に廃棄した。 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２ｍ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、隔離ほ場専用のトラクター (ホンダ) を用いて、栽培区画の収穫残渣の鋤込み作業を、2 回、行う。 ✧ 残渣処理は、計画書に則り、行った。隔離ほ場における落穂拾いを令和 4 年 10 月 2 日に、収穫後の隔離ほ場のトラクターを用いた残渣の鋤込み作業を、令和 4 年 10 月 28 日および 31 日に行った。尚、鋤込み作業は、隔離ほ場専用の小型トラクター (ホンダ) を使用した。 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。 ✧ 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)** 。尚、使用した機械の洗浄には、隔離ほ場専用の高圧洗浄機を使用した。 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および管理を行う。 ✧ 計画書に則り、隔離ほ場の維持およ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った。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、鉄柵および土嚢を設置し、小動物侵入防止策とした。令和 4 年 4 月に、小動物侵入防止策を目的として、経年劣化などにより破損した箇所のフェンスの修理、補強を行った。 8. 栽培のために使用した種子、および、収穫した組換え体イネの種子に関しては、種子管理およ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。 ✧ 計画書に則り、種子の管理を行っている。 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、遠隔操作観察 (防犯用) カメラを設置しており、このカメラの映像を、定期的に精査する。 ✧　計画書に則り、隔離ほ場への入退の管理を行っている。 ✧　防犯カメラに記録された映像を定期的に精査した。 10.　隔離ほ場での作業時の服装は、通常の農作業着を購入し、隔離ほ場専用とし着用、使用する。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。 ✧　計画書に則り、作業従事者の服装の清浄維持を行った。作業時は、同一のウインドブレーカーの着用を義務付けている。 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。 ✧　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。 **混入防止対策総括** 今年度を含む過去7年間の作付けにおいて、形質転換イネの種子または花粉が隔離ほ場以外に拡散した事実はない。この結果は、上記の混入対策の妥当性を示すものである。次年度も、厳格に、この対策に沿って形質転換イネの作付け、種子および隔離ほ場の入退室等の管理を行う。
収穫物	収穫量	Rubisco過剰生産イネ；*約2.0 kg/籾 *籾重量換算
	収穫期間	**令和4年9月25日および10月2日**
	運搬方法	**運搬日；令和4年10月23日** 隔離ほ場で収穫し、自然乾燥させた能登ひかり、Rubisco過剰生産イネを隔離ほ場から東北大学大学院農学研究科 (新青葉山キャンパス) へと移送した。尚、移送時には、籾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。
	保管	輸送したイネの籾および個体は、全て、東北大学大学院農学研究内

		の遺伝子組換え実験室 (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。
	出荷先	収穫した種子は、全て研究目的に使用する。よって、出荷先はない。
ほ場・収穫残さの処理 **(別添図表6E, F)**		隔離ほ場内の栽培区画外に、約2 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 (ホンダ) 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。
次年度のほ場利用計画		令和4年度と同様に令和5年度においても、本試験栽培を、川渡フィールドセンター隔離ほ場を使用し行う。