

第1 遺伝子組換え作物の栽培計画書（様式1）
遺伝子組換え作物栽培計画書（改訂版）

平成28年6月6日

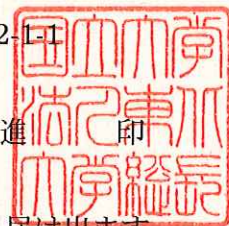
宮城県知事 殿

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。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>上記2系統の組換えイネと親株である能登ひかりを隔離ほ場で栽培し、定期的に生育及び収量調査を行う。これらの結果より、イネの Rubisco の増減が、直接、生育や生産性に与える影響を評価する。</p>
栽培管理責任者名・連絡先	氏 名：牧野 周 (フリガナ：マキノ アマネ) 住 所：981-8555 仙台市青葉区堤通雨宮町1-1 東北大学大学院農学研究科

※栽培従事者一覧添付 (別添 資料1)	連絡先(電話) : 022-717-8769
作物名・品種名	作物名 : イネ 品種名 : 能登ひかり
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 資料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 隔離ほ場および隔離ほ場内施設(鉄骨ハウス・パイプハウス) 露地 規模 500 m ²
周辺への周知状況 ※説明会等で使用する資料添付 (別添 資料3)	説明会の開催 : 平成28年5月21日13:30～17:00 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 資料4及び5)	栽培期間 : 平成28年5月23日より平成29年3月17日まで <u>平成28年度作付け計画</u> 播種 : 平成28年4月中旬 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600粒(約18 g)及び試験区外周定植用として能登ひかり 22000粒(約650 g)を使用する。但し、平成28年度に関しては、東北大学大学院農学研究科の閉鎖系(P1P)温室にて、播種、及び育苗を行い、5月9日以降に、隔離ほ場へと運搬する。運搬時には、苗が漏出しない容器に収める。また、次年度以降は、隔離ほ場に併設されているビニールハウス内にて、播種、及び育苗を行う。 定植 : 平成28年5月下旬 (平成28年5月21日予定の住民説明会以降) 隔離ほ場内の砂質水田に前後左右30 × 16 cm間隔の3本植えて、Rubisco生産抑制イネを約80株、Rubisco過剰生産イネを約120株、植え付ける。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20000株、植え付ける。

	<p>(備考) 当該砂質水田に隣接する粘質水田には、水田機能の維持管理を目的として、野性型イネを定植し、収穫まで行う。</p> <p>収穫： 平成28年10月上旬</p> <p>Rubisco過剰生産イネに関しては、25 g/株が、Rubisco生産抑制イネに関しては、10 g/株の収量が見込まれる。</p> <p>乾燥、終了調査など： 各サンプル刈り取り後、隔離ほ場内に設置されているビニールハウス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。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)で行い、収穫は、手作業で鎌を利用して行うか、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。</p>
看板設置	平成28年4月21日設置済

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 資料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 資料2)	<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 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。</p> <p>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。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	花粉トラップ板を、開花予定日 2 週間前より、別添の地図に示したように、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	

<p>(別添 資料5, 6)</p>	<p>設置し、開花期の平均風速が 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板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 過剰生産組換えイネには、導入遺伝子である <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 生産抑制組換えイネには、導入遺伝子である <i>RBCS2</i> 遺伝子にピアラホス耐性遺伝子(<i>bar</i> 遺伝子)が連結された状態で導入されている。そのため、実った種子の一部を回収し、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>
<p>混入防止措置</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。</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。</p> <p>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、</p>

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。

- (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。
- (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。
- (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。

		<p>(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。</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>(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>
収穫物	運搬方法	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)	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		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。
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。

遺伝子組換え作物栽培計画書（改訂版）

別添

別添 資料 1

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、及び、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、及び、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

別添 資料 2

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所在地



図1 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施設所在地 (1)

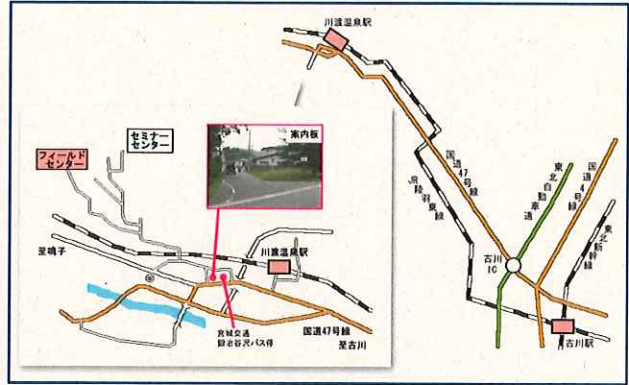


図2 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター施設所在地 (2)

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



図3 東北大学大学院農学研究科附属複合生態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400m、また、最も近いセンター内の研究ほ場は約200mである。

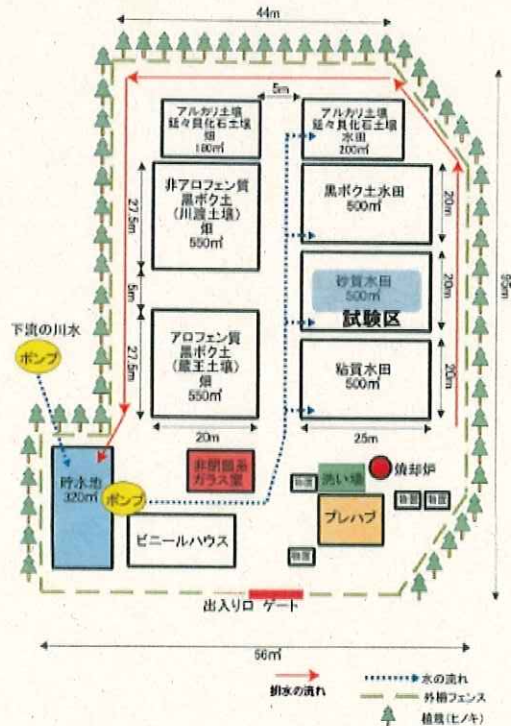


図4 東北大学大学院農学研究科附属複合生態フィールド教育研究センター隔離ほ場見取り図



A 隔離圃場入り口



B 隔離圃場入り口の看板



C 隔離圃場を囲む強固な網状フェンス



D 隔離圃場の全景



E 隔離圃場周囲の防風林



F 水田に水を供給する貯水槽



G 隔離圃場に設置されているプレハブ小屋(奥)とビニルハウス:プレハブ小屋では着替え、また、小屋の前には洗い場が設置されている。

図5 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施設内の様子

別添 資料 3

平成28年4月27日

平成22～27年度 紫外線UVB耐性遺伝子組換えイネを用いた隔離ほ場での紫外線影響
評価試験実施最終報告

および

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
大学院生命科学研究科
大学院農学研究科

日時： 平成28年5月21日 13:30～17:00

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
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22～27年度 紫外線UVB耐性遺伝子組換えイネを用いた隔離ほ場での紫外線
影響評価試験実施最終報告 日出間 純 (大学院生命科学研究科)
4. 質疑応答
5. 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研究計画の概要 牧野 周 (大学院農学研究科)
6. 質疑応答
7. 閉会
8. 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



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>

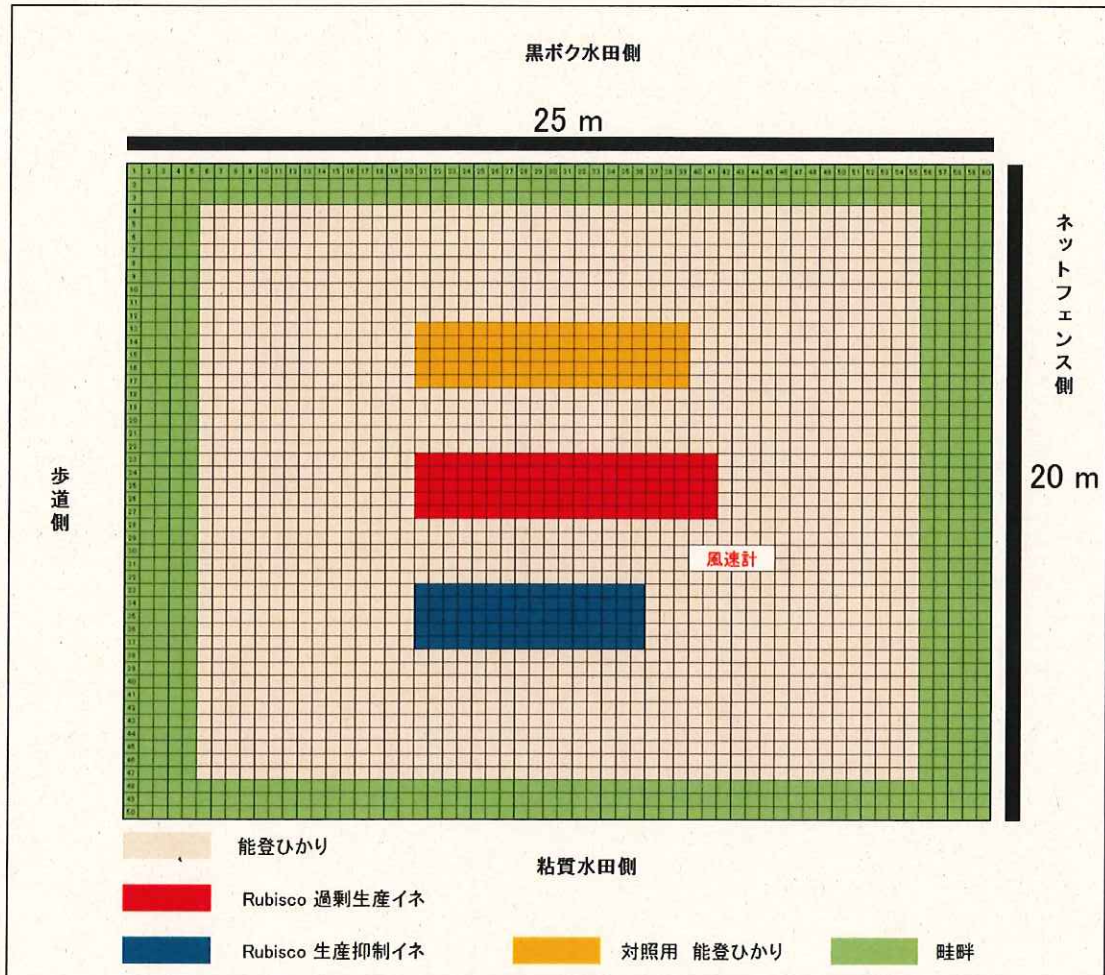
別添 資料 4

作業工程表

年 月	平成28年										平成29年		
	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	
平成28年度作業工程		*組換え体イネ定植	*生育調査	*防雀網設置 *生育調査	*開花予定		*刈り取り 圃場の収穫残渣処理 (鋤込み等)	*圃場整備	*収穫に関わる化学分析 圃場の収穫残渣処理 (鋤込み等)			*圃場整備	

別添 資料 5

平成 28 年度の試験区での組換えイネの植え付け図



別添 資料 6

隔離ほ場、及び隔離ほ場周辺における花粉トラップ設置予定場所



図1 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内の研究ほ場及び一般ほ場の花粉トラップ設置予定場所

● 花粉トラップ

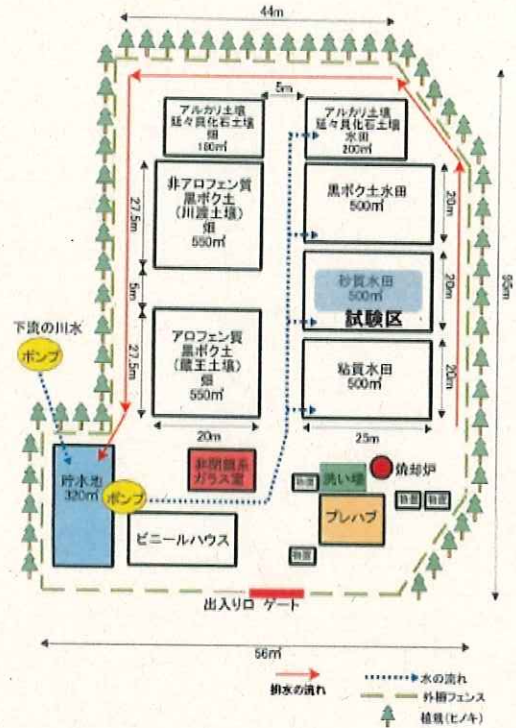


図2 東北大学大学院農学研究センター附属複合フィールド教育研究センター隔離ほ場内の花粉トラップ設置予定場所