

第2 遺伝子組換え作物の栽培実績書（様式2）  
平成30年度遺伝子組換え作物栽培実績書

平成31年3月25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 大野 英男



「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

これまでに、私たちは、イネの個葉光合成改善と生産性の向上を目指し、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きた。この研究過程において、遺伝子組換え技術を使用し、Rubisco 酵素を過剰に生産する形質転換イネと、逆に、Rubisco 酵素の生産が抑制された形質転換イネの作出に成功している。そこで、これら2系統の形質転換イネと非組換えイネ(能登ひかり)を、ほ場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。

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系統の形質転換イネである。

(1) Rubisco 過剰生産イネ (*RBCS2*-sense、*Oryza sativa* L.) (Sr26-8)

Rubisco の小サブユニット遺伝子 *RBCS2* を、イネ (品種：能登ひかり) に順方向に導入し、Rubisco タンパク質の量を増加させた系統。

(2) Rubisco 生産抑制イネ (*RBCS2*-antisense、*Oryza sativa* L.) (AS-71)

Rubisco の小サブユニット遺伝子 *RBCS2* を、イネ (品種：能登ひかり) に逆方向に導入し、Rubisco タンパク質の量を減少させた系統。

平成30年度の試験は、平成28年度から平成30年度までの三か年で実施予定の最終年の作付けであった。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、定期的な生育、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、個体生育や生産性に与える影響の評価を行った。

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：980-8572 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 植物栄養生理学分野 連絡先(電話)：022-757-4287
作物名・品種名 ----- 第一種使用規程	作物名： イネ 品種名： 能登ひかり(ノトヒカリ) 承認年月日：平成28年4月12日 使用期間：平成30年4月1日～平成31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)	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)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 5320 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
播種・定植・収穫実績 ※作業工程表を添付 (別添図表3)	平成30年度隔離ほ場作業工程 (別添図表3)  1. 施肥：(別添図表4) 隔離ほ場砂質水田を、標準窒素区に加え、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。 ① 標準窒素区 (総窒素量; 7.1 kg/10a) 基肥：平成30年5月13日及び14日 全層；N: 5.6 kg/10a、P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : 8.0 kg/10a、K <sub>2</sub> O: 8.0 kg/10a 追肥(減数分裂期)：平成30年7月19日 全層；N: 1.5 kg/10a  ② 高窒素区 (総窒素量; 14.1 kg/10a) 基肥：平成30年5月13日及び14日 全層；N: 14.1 kg/10a (8.4 kg/10a + *4.2 kg/10a)、P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : 8.0 kg/10a、K <sub>2</sub> O: 8.0 kg/10a *緩効性肥料LPS70及びLP70 追肥(減数分裂期)：平成30年7月19日 全層；N: 1.5 kg/10a  ③ 低窒素区 (総窒素量; 0 kg/10a) 基肥：平成30年5月13日及び14日 全層；P <sub>2</sub> O <sub>5</sub> : 8.0 kg/10a、K <sub>2</sub> O: 8.0 kg/10a



2. 播種：(別添図表5)

平成30年4月11日

能登ひかり、Rubisco過剰生産イネ、及びRubisco生産抑制イネの種子を、それぞれ約8000粒(200 g)、さらに、試験区外周定植用の能登ひかり、または、能登ひかりの交雑種を、それぞれ8000粒(200 g)、使用した。

3. 育苗：(別添図表5)

平成30年4月11日～5月17日

隔離ほ場内のビニールハウスで、育苗を行った。

4. 定植(田植え)：

平成30年5月17日

隔離ほ場内の砂質水田に畝幅・株間30.0 × 16.7 cm間隔の一株平均約4本植え(20.5株/m<sup>2</sup>)で、試験区に、能登ひかり、Rubisco過剰生産イネ、Rubisco生産抑制イネを、それぞれ約2600株、定植した。また、試験区の周囲には、能登ひかり、または、能登ひかりの交雑種を合わせて約4600株、定植した。また、残苗は、オートクレーブにより不活化し、その後に廃棄した。

5. 収穫(稲刈り)：

平成30年9月18日、19日

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、全て、鎌を用いて手作業で行った。

6. 乾燥及び残渣処理：(別添図表6)

平成30年9月18日～平成30年11月15日

収穫した能登ひかり、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)」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。

看板設置 情報公開	<p>1. 看板設置          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>2. 情報公開</p> <p>① 平成30年2月27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、〒989-6711 宮城県大崎市鳴子温泉字川渡25-5)</p> <p>② 平成30年3月24日          住民説明会 (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、宮城県大崎市鳴子温泉字蓬田232-3)          ☆ 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          ☆ 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</p> <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	
	購入量	
	保管方法	<b>Rubisco過剰生産イネ、及びRubisco生産抑制イネの種籾の保管</b> Rubisco過剰生産イネT3及びT4世代、及びRubisco生産抑制イネT3及びT4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。
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	<p>本年度実施した交雑防止措置</p> <ol style="list-style-type: none"> <li>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)</li> <li>2. 風速計設置期間                   平成 30 年 7 月 20 日~8 月 10 日</li> <li>3. 防雀網設置期間                   平成 30 年 7 月 20 日~9 月 25 日</li> <li>4. 花粉トラップ設置期間   平成 30 年 7 月 25 日~8 月 10 日 (別添図表 3)</li> </ol> <p>◇ 本試験に使用した隔離ほ場砂質水田に、出穂(平成 30 年 7 月 28 日)の 8 日前に、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。また、防雀網の撤去は、第一回の鋤込みが終わった 9 月 25 日に行った。</p>
交雑の有無の確認	<ol style="list-style-type: none"> <li>1. 開花期の風速の確認 <p>本年度栽培計画書に則り、風速計を平成 30 年 7 月 20 日に、砂質水田内に設置し、風速の計測を開始した。また、花粉トラップを、出穂前の平成 30 年 7 月 25 日から 8 月 10 日まで、隔離ほ場の内外に設置した(別添図表 7)。尚、花粉トラップ版の交換は、約 48 時間毎に交換した。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、7 月 26 日であった。そして、これら 2 系統の形質転換イネに加え、能登ひかりのおよそ 3~4 割が開花したのは、7 月 28 日であり、従って、平成 30 年度の開花日を 7 月 28 日とした。</p> <p>◇ 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。</p> <p>◇ 開花期を含む平成 30 年 7 月 20 日~平成 30 年 8 月 10 日の隔離ほ場の風速に関して解析を行った。この期間、7 月 28 日に台風 12 号が、8 月 9 日に台風 13 号が、日本列島に上陸または接近したが、県内への影響は軽微であった。実際、隔離ほ場における風速計では、台風 12 号接近時の 7 月 28 日 20 時 50 分に風速 1.8 m/s、台風 13 号接近時の 8 月 9 日 12 時 20 分に風速 1.6 m/s と、それぞれの台風の接近時における平均風速の最大を記録した。しかし、いずれの場合においても、花粉トラップに捕集された花粉の交雑確認試験を行う基準である「任意の 2 分間における平均風速が 3 m/s」を下回ったため、同試験は行わなかった。(別添</p> </li> </ol>

	<p>図表 8)。</p> <p>2. 花粉の飛散状況の確認</p> <p>開花期において「2分間の平均風速が3 m/s を超える」ことはなかったことより、花粉トラップに捕集された花粉の交雑確認は、行わなかった。</p> <p>3. 交雑試験</p> <p>形質転換体イネと、形質転換体イネの外周に栽培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<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。この2系統の形質転換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。</p> <p>試験区の周囲で栽培した能登ひかりから種子を収穫した(別添図表9)。収穫した種子から、ランダムに300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>ピ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15日間育成した。水処理の能登ひかり、または耐性を持つ薬剤処理の形質転換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9)。</p> <p>◇ その結果、ハイグロマイシン、またはピアラホスに耐性を示す非組換えイネ(能登ひかり)種子は無く、非組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。</p>
混入防止措置	<p>注) 斜字体記載→平成30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> <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>◇ 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。</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>◇ 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</p>



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。

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。

播種及び定植は、計画書に記載の通りに行った。

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「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、平成31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 6)。

- ◇ 実験室内で生じた残渣は、計画書に則り、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 31 年 5 月に調査を行う予定である。尚、腐食処理を行った平成 29 年度産種子の発芽力調査の結果、発芽力は認められなかった(別添図表 10)。
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。
- ◇ 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、平成 30 年 9 月 19 日に行った。
  - ◇ 収穫後の隔離ほ場のトラクターを用いた残渣の鋤き込み作業は、平成 30 年 9 月 25 日及び平成 30 年 10 月 15 日に行った。
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、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。

- ◇ 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、鉄柵を設置し、小動物侵入防止策とした。
- ◇ 平成 30 年 3 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、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。

- ◇ 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、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。

- ◇ 計画書に則り、隔離ほ場への入退の管理を行っている。

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。

- ◇ 計画書に則り、作業従事者の服装の清浄維持を行った。

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

		過去3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を確認することはなかった。この結果は、上記の混入対策の妥当性を示すものであり、次年度以降も厳格に、この対策に沿って形質転換イネの作付け、種子、及び隔離ほ場の入退室等の管理を行っていくべきと考えている。
収穫物	収穫量	1. Rubisco過剰生産イネ；*約8.5 kg/粍 2. Rubisco生産抑制イネ；*約6.0 kg/粍 *粍重量換算
	収穫期間	平成30年9月18日及び19日
	運搬方法	1. 平成30年10月15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(新青葉山キャンパス)へと移送した。尚、移送時には、粍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	輸送したイネの粍及び個体は、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。	
次年度のほ場利用計画	平成31年3月1日、文部科学及び環境省より第一種使用規程の延長承認を得たことにより、平成31年度においても、本年度と同様、本試験栽培は、ほ場を利用し行う予定である。	