

第1 遺伝子組換え作物の栽培計画書（様式1）
平成31年度遺伝子組換え作物栽培計画書

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 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。

<p>栽培の目的</p>	<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イネと逆に Rubisco の生産を抑制した形質転換イネを作出した。平成28年度～平成30年度において、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、ほ場レベルで、これら2系統のイネと非組換えイネ(能登ひかり)とを比較栽培を行った。さらに詳細なデータを得ることを目的として、現在、文部科学省及び環境省に第一種使用規程の延長申請を行っている。承認後、過去三年間と同様に、これまで得られた作付け結果の再現性を図るとともに、分子生物学的な手法を用いて、イネの Rubisco 量の増減が、イネの生産性や成長に与える制御機構の解明を目指す。</p> <p>試験栽培する作物は、過去3年と同様に、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>栽培管理責任者名・ 連絡先</p>	<p>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</p>

※栽培従事者一覧添付 (別添図表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31年3月1日 使用期間 : 平成31年4月1日～平成32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 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 ² のうち、畦畔部分を含む砂質水田 500 m ² を使用
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31年4月上旬 説明会の場所 : 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 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31年4月1日より平成32年3月31日まで 平成31年度作付け計画 1. 施肥 : 平成31年5月上旬～7月中旬 (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(分げつ期、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(分げつ期、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 *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。 2. 播種 : 平成31年4月中旬

	<p>能登ひかり、能登ひかり交雑種、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27000粒(約750 g)を使用する。</p> <p>*能登ひかり交雑種は、能登ひかりと秋田63号を交配して得られた子孫に対して、能登ひかりでバッククロスを複数回行い獲得されたイネで、遺伝子的には「99%以上」能登ひかりと推定されている。</p> <p>3. 定植 (田植え): 平成31年5月中旬</p> <p>隔離ほ場砂質水田を三分割し、畝幅・株間30.0 × 16.7 cm間隔の一株3~4本(20株/m²)植えて、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2600株、能登ひかり交雑種に関しては、約2000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。試験区の周辺部は、能登ひかりを植え付ける(別添図表5)。</p> <p>4. 収穫 (稲刈り): 平成31年9月中旬</p> <p>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)を使用し行う予定である。標準窒素区では、能登ひかり、能登ひかり交雑種、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30 g/株、約35 g/株、約26 g/株、乾籾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31年9月中旬から11月上旬</p> <p>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、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31年4月上旬 (第一種使用規程の延長の承諾を得次第、設置予定)

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30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200m、一般農家のほ場で400mである。このことは、指針で示されている「30m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185cm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20m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(20mmメッシュ)を設置する。</p>	
交雑の有無の確認	<p>*平成30年度に準じて行う。</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「2分間の平均風速が3m/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

*平成 30 年度に準じて行う。

- (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、「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 32 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・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プ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30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30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30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、平成32年度においても継続して行う予定である。

緊急時の対応

交雑、混入等の事故が発生した場合は、文部科学省及び環境省に提出している「緊急措置計画書」(別添図表6)に則り速やかに行動するとともに、同時に、宮城県農政のみやぎ米推進課に状況を報告し、指導及び指示を仰ぐものとする。

