

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

令和2年3月19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。

<p>栽培の目的</p>	<p>私たちは、イネの光合成の向上および生産性の向上を目指し、光合成における炭酸固定酵素、Rubisco (ribulose-1,5-bisphosphate carboxylase/oxygenase) に焦点を当てた研究を行ってきた。遺伝子組換え技術を用いて、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。イネ葉の Rubisco 量が、乾物生産および収量への影響を検証するため、文部科学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 年度から令和元年度までの 4 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、上記、2 系統のイネと非組換えイネ(能登ひかり)の比較栽培試験を行っている。</p> <p>栽培試験に供した遺伝子組換えイネの詳細は以下の通りである。</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Rubisco 過剰生産イネ(<i>RBCS</i>-sense) (Sr26-8) Rubisco の小サブユニット遺伝子 <i>RBCS2</i> をイネ(能登ひかり)にセンス方向に導入し、Rubisco タンパク質量が増加したイネ。 2. Rubisco 生産抑制イネ(<i>RBCS</i>-antisense) (AS-71) Rubisco の小サブユニット遺伝子 <i>RBCS2</i> をイネ(能登ひかり)にアンチセンス方向に導入し、Rubisco タンパク質量が減少したイネ。
<p>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)</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 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</p>
<p>作物名・品種名</p>	<p>作物名： イネ 品種名： 能登ひかり(ノトヒカリ)</p>
<p>第一種使用規程</p>	<p>承認年月日：平成31年4月1日</p>

	使用期間：平成31年4月1日～令和4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)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、畦畔部分を含む砂質水田 500 m ² を 使用
播種・定植・収穫実績 ※作業工程表を添付 (別添図表3、4)	令和元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、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酸を使用した。 全処理区共通リン酸およびカリ施肥 (P ₂ O ₅ : 8.0 kg/10a、K ₂ O: 8.0 kg/10a) 施肥日：令和元年5月5日 ① 標準窒素区 (総窒素量; 8.0 kg/10a) 基肥：令和元年5月14日 全層；N: 4.0 kg/10a、 追肥(分けつ期)： 令和元年6月11日(第一回定植区); 7月2日(第二回定植区) 全層；N: 2.0 kg/10a 追肥(幼穂形成期)： 令和元年7月15日(第一回定植区); 7月28日(第二回定植区) 全層；N: 2.0 kg/10a ② 高窒素区 (総窒素量; 15.0 kg/10a) 基肥：令和元年5月14日 全層；N: 11.0 kg/10a (4.0 kg/10a + *7.0 kg/10a)、 *緩効性肥料LP70 追肥(分けつ期)： 令和元年6月11日(第一回定植区); 7月2日(第二回定植区) 全層；N: 2.0 kg/10a 追肥(幼穂形成期)： 令和元年7月15日(第一回定植区); 7月28日(第二回定植区) 全層；N: 2.0 kg/10a ③ 低窒素区 (総窒素量; 0 kg/10a) 2. 播種：(別添図表5)

平成31年4月16日および令和元年5月13日

本年度は、1回目の播種時のイネにおいて、ばか苗病が発生した。そのため、2回播種を行うこととなった。野生型および形質転換イネの播種に使用したイネ種子量は、この2回の播種に使用した合算量である。能登ひかり、Rubisco過剰生産イネおよび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、それぞれ約12000粒 (300 g)、使用した (別添図表4)。尚、作付けの変更に関しては、令和元年8月に変更届を、宮城県に提出済みである。

3. 育苗：(別添図表5)

平成31年4月16日-6月3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5)

① 第一回目定植：令和元年5月20日-22日

畝幅・株間(30.0×16.7 cm)に、一株3本植え(20.5株/m²)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1200本、定植した。また、試験区の周囲には、能登ひかり、能登ひかりの交雑種、または、夢あおばを合わせて約6000本、定植した。尚、定植は、全て手作業で行った。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。尚、夢あおばに関しては、加美町の一般農家より譲渡された幼苗を使用した。

② 第二回目定植：令和元年6月3日

畝幅・株間(30.0×16.7 cm)間隔の一株3から6本植え(20.5株/m²)で、試験区に、能登ひかり、Rubisco過剰生産イネおよびRubisco生産抑制イネを、それぞれ約1800本、定植した。また、試験区の周囲には、能登ひかりを合わせて約6000本、定植した。尚、定植は、手作業および隔離ほ場専用の田植え機を使用した。

5. 収穫 (稲刈り)：(別添図表6)

令和元年9月16日、19日、24日、25日および11月18日

能登ひかり、Rubisco過剰生産イネおよび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. 乾燥および残渣処理：(別添図表6)

令和元年9月16日-11月28日

解析に使用する能登ひかりおよび形質転換イネは、収穫後直ちに、

	<p>乾燥小屋へと運び、自然乾燥させた。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、土で埋没、<u>廃食処理</u>に供した。</p>
<p>看板設置 情報公開 (別添図表7)</p>	<p>1. 看板設置 平成31年4月5日設置 設置期間: 令和元年4月5日より令和4年3月31日</p> <p>2. 情報公開</p> <p>① 平成31年3月25日 大崎市鳴子川渡地区区長会 (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31年3月30日 (別添図表7) 住民説明会 (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、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(http://www.cgr.tohoku.ac.jp/)、持ち込み</p> <p>③ 常時 (別添図表7) 東北大学遺伝子実験センター(http://www.cgr.tohoku.ac.jp/)およびFacebook(https://www.facebook.com/%E6%9D%B1%E5%8C%97%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E5%A4%A7%E5%AD%A6%E9%99%A2%E8%BE%B2%E5%AD%A6%E7%A0%94%E7%A9%B6%E7%A7%91%E5%B7%9D%E6%B8%A1%E3%83%95%E3%82%A3%E3%83%BC%E3%83%AB%E3%83%89%E3%82%BB%E3%83%B3%E3%82%BF%E3%83%BC%E9%9A%94%E9%9B%A2%E3%81%BB%E5%A0%B4-446604939411947/)を利用した作業進捗状況の開示</p>

種籾 種苗	購入先	
	購入量	
	保管方法	<p>Rubisco過剰生産イネ、およびRubisco生産抑制イネの種籾の保管 Rubisco過剰生産イネおよびRubisco生産抑制イネの種籾は、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</p>

	<p>粳とは区分して保管している。</p>
<p>同種栽培作物との距離 ※周辺地図を添付 (別添図表2)</p>	<p>作物名： イネ 距離(最短) 200 m 同種・近縁種との距離(最短) 200 m</p>
<p>交雑防止措置 (別添図表2および8)</p>	<p>本年度実施した交雑防止措置</p> <ol style="list-style-type: none"> 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 令和元年 7月 2日~8月 26日(別添図表 8) 3. 防雀網設置期間 令和元年 7月 24日~11月 27日(別添図表 8) 4. 花粉トラップ設置期間 令和元年 8月 3日~8月 26日(別添図表 8) <p>令和元年7月2日に、風速計を砂質水田内に設置、風速の計測を開始した。また、花粉トラップを、出穂前の令和元年8月3日から8月26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。本年度、形質転換イネの出穂は、一回目定植区が令和元年8月5日、二回目が令和元年8月12日であった。一回目定植区の出穂日の13日前に、水田に防雀網(20 mmメッシュ)を設置した。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、小動物が侵入できぬようにした。また、防雀網の撤去は第二回の鋤込みが終わった令和元年11月27日に行った。</p>
<p>交雑の有無の確認 (別添図表9-11)</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. 開花期の風速の確認 (別添図表 9) 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。 イネの開花期の令和元年8月12日から13日に、<u>台風10号が接近したが、最接近時においても平均風速の最大値は0.73 m/sであった。尚、風速計設置期間の平均風速の最大値は令和元年7月13日の1.28 m/s、また、開花期(8月5日から8月26日)の平均風速の最大値は令和元年8月25日の1.17 m/sであった。</u> 2. 花粉の飛散状況の確認 開花期において上記規程の平均風速を超えることはなかった。従って、<u>花粉トラップに捕集した花粉の交雑確認は行わなかった。</u> 3. 台風 19号による隔離ほ場への影響 (別添図表 10) 令和元年10月11日に日本へ上陸した台風19号は、各地に大きな被害をもたらした。令和元年10月12日、隔離ほ場における台風による被害の有無の調査を行った。<u>大きな被害は無かったが、ビニルハウスおよび防雀網に、1、2か所ほどの台風によるものと思われる傷を発見し、直</u>

	<p>ちにその修復を行った。</p> <p>4. 交雑試験 (別添図表 11)</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。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11)。収穫した種子から、ランダムに約150粒を抽出し、殺菌処理した後、水、50 mg L⁻¹ハイグロマイシンまたは50 mg L⁻¹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。</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	<ol style="list-style-type: none"> 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。 <ul style="list-style-type: none"> ◇ 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。尚、隔離ほ場専用、歩行型除草機を購入した。 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。 <ul style="list-style-type: none"> ◇ 播種および定植は、計画書に記載の通りに行った。また、残苗に関しても、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。 <ul style="list-style-type: none"> ◇ 播種および定植は、計画書に記載の通りに行った。尚、本年度は、鋤き込み作業が終了後に、防雀網の撤去を行った。 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 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、令和2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。尚、刈り取りは、全て手作業で行った。

◇ 収穫後のイネの乾燥は、設置の乾燥小屋内で行った。

◇ 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、令和2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30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12)。

5. 隔離ほ場内で栽培したイネの残渣、種子および発生した植物は、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。

◇ 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元年11月18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、令和元年11月22日および27日に行った。尚、令和元年11月22日、隔離ほ場専用の小型トラクター(ホンダ)を購入した。

6. 隔離ほ場で使用した機械、器具、およ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)。尚、使用した機械の洗浄を効率的に行うために、隔離ほ場専用的高圧洗浄機を購入した。

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。令和元年5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、およびその種子を始めとした隔離ほ場の施設および備品等に対し、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。また、令和2年1月15日、遠隔操作ができる観察(防犯)カメラの設置を行った(別添図表 10)。

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、

	<p>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、手袋およびマスクと共に、必要に応じて防護用眼鏡を着用する。</p> <p>◇ 計画書に則り、作業従事者の服装の清浄維持を行った。尚、本年度、<u>同一のウインドブレーカーを購入し、全ての作業員の着衣を義務付けた。</u>(別添図表5および6)</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> <p>◇ 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。</p> <p>混入防止対策総括</p> <p>過去4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。</p>
収穫物	<p>1. Rubisco過剰生産イネ；*約4.0 kg/粍</p> <p>2. Rubisco生産抑制イネ；*約2.5 kg/粍</p> <p>*粍重量換算</p> <p>収穫期間 令和元年9月19日、24日、25日（注：解析用のサンプルの収穫を行った日を記載）</p> <p>運搬方法 運搬日； 令和元年10月15日</p> <p>隔離ほ場で収穫し、自然乾燥させた能登ひかり、Rubisco過剰生産イネおよび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。</p> <p>保管 輸送したイネの粍および個体は、全て、東北大学大学院農学研究内の遺伝子組換え実験室(PIP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、形質転換イネの収穫量、試験使用量に関しては、数量管理した。</p> <p>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。</p>
ほ場・収穫残さの処理	<p>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</p>

	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	平成31年4月1日、文部科学および環境省より第一種使用規程の延長承認を得たことより、令和元年度と同様に令和2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。