#### (別紙1) 栽培実験計画書

栽	培	実	験	名	カルビンサイクル強化イネ(FBP/SBPase 発現イネ) ( <i>Oryza sativa</i> L.)の栽培
実 施	法人	. •	研究所	名	国立研究開発法人農業・食品産業技術総合研究機構 生物機能利用研究部門
公	表	年	月	日	平成 28 年 4 月 8 日

#### 1. 栽培実験の目的、概要

#### (1)目的

ラン藻由来 FBP/SBPase 遺伝子(フルクトース-1,6-ビスホスファターゼ/セドヘプツロース-1,7-ビスホスファターゼ)を導入した遺伝子組換えイネ「カルビンサイクル強化イネ」の、導入遺伝子の発現量や緑葉での光合成活性等を調べるとともに、出穂期、草丈、稈長、穂長、有効分げつ数等の生育調査、及び株全重収量、一穂籾数、種子稔実率、玄米千粒重等の収量調査を行い、これらの結果を踏まえて有望系統を選抜するために栽培実験を行います。

#### (2) 概要

本栽培実験では、平成28年5月から平成29年3月まで、本遺伝子組換えイネを栽培します。栽培の詳細は以下の通りです。

#### 2. 栽培実験に使用する第1種使用規程承認作物

(1) 作物の名称

カルビンサイクル強化イネ (FBP/SBPase 発現イネ) (*Oryza sativa* L.) の4系統 (以下「本遺伝子組換えイネ」という。)

- NICS12-OSNB-UBFBP/SBP
- NICS12-OSNB-RbcAcFBP/SBP
- NICS12-OSKH-RbcAcFBP/SBP
- NICS12-OSMR-RbcAcFBP/SBP
- (2) 第1種使用規程の承認取得年月日等

平成25年6月4日に第1種使用規程(隔離ほ場における栽培、保管、運搬及び廃棄並びにこれらに付随する行為)の承認を取得しています。

- (3) 食品安全性承認又は飼料安全性承認作物の該当性 食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物に該当しません。
- 3. 全体実施予定期間、栽培開始予定時期及び栽培終了予定時期
- (1) 栽培実験の全体実施予定期間

平成 28 年 5 月 ~ 平成 29 年 3 月

(2) 各年度ごとの栽培開始予定時期及び栽培終了予定時期

平成28年4月下旬 播種・育苗(隔離温室又は特定網室)

平成28年5月中旬 隔離ほ場での移植(栽培開始)

平成28年8月中旬 出穂期

平成 28 年 10 月下旬 収穫 (栽培終了)

平成28年11月中旬 脱穀・残渣等の処理

平成29年1月中旬

越冬性の調査

- 4. 栽培実験を実施する区画の面積及び位置(研究所内等の区画配置関係)
  - (1) 第1種使用規程承認作物の栽培規模:約5aの水田6面のうち、2面(約10a)に本遺伝子組換えイネ及び比較対照品種として「日本晴」「クサホナミ」および「モミロマン」等を栽培します。
  - (2) 栽培実験区画の位置:国立研究開発法人 農業・食品産業技術総合研究機構(以下「農研機構」という。) 観音台第 4 事業場 高機能隔離圃場(茨城県つくば市観音台 3-1-1)(図 1 参照)

過去のデータ等から、本栽培実験区画は、本遺伝子組換えイネの開花期の平均風速 が毎秒3mを超えないことを確認しています。

- 5. 同種栽培作物等との交雑防止措置に関する事項
- (1) 交雑防止措置の内容

本遺伝子組換えイネの栽培区画は、最も近いほ場からも 250m以上離れています。「第1種使用規程承認遺伝子組換え作物栽培実験指針」に従って、観音台第4事業場内で試験栽培される同種栽培作物から 30m以上の隔離距離をとります。また、開花期の低温により交雑の可能性が想定される場合及び開花期に台風等による強風が想定される場合には、防風ネット等で抑風する等交雑防止措置をとります。

(2) 食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物でない場合のモニタリング措置の内容

本遺伝子組換えイネは、食品安全性承認作物又は飼料安全性承認作物に該当しないため、観音台第4事業場と外部との境界近くの4カ所(図2参照)にモチ品種をポット栽培し、研究所外に本遺伝子組換えイネの花粉が飛散していないことを確認する予定です。

モチ品種には、本遺伝子組換えイネの開発に用いた宿主品種「日本晴」「クサホナミ」「モミロマン」と同時期に開花する「モチミノリ」等を使用します。交雑の有無の確認は、キセニア現象(モチ品種にウルチ品種の花粉が受粉して玄米が半透明になること)を利用して行ないます。キセニアが見られた場合には、本遺伝子組換えイネに導入した遺伝子の有無を検知できる PCR 法により、花粉源が本遺伝子組換えイネかどうかを判別します。交雑の確認に用いる種子数は合計1万粒以上です。

- 6. 研究所等の内での収穫物、実験材料の混入防止措置
  - ①本遺伝子組換えイネの種子を観音台第 4 事業場内の実験室等から播種・育苗に用いる隔離温室又は特定網室等の育苗施設まで搬出する際には、こぼれ落ちないよう密閉容器に入れて搬送します。育苗した苗を隔離ほ場に搬出する際には、苗を密閉容器に入れて搬送します。
  - ②中間管理作業、収穫作業に使用した機械、器具、長靴等を栽培実験区画外へ移動する際は、隔離ほ場内の洗い場において入念に清掃、洗浄します。
  - ③出穂期から収穫期まで、防鳥網を設置し、野鳥等による食害及び種子の拡散を防ぎます。
  - ④収穫・脱穀作業は、全て隔離ほ場内で行い、作業には専用の機械を使用するか、あるいは使用後に機械を隔離ほ場内で入念に洗浄します。

- ⑤収穫物はこぼれ落ちないように密閉容器に入れて実験棟に搬送し、分析を行う実験 室で保管します。
- 7. 栽培実験終了後の第1種使用規程承認作物の処理方法
  - ①収穫した種子は密閉容器に保管し、必要により試験研究の試料として使用します。
  - ②栽培を終了した植物体の地上部は刈り取り焼却処分するか、残りのイネの残渣及び 残った株とともに、隔離ほ場内に鋤き込むことにより、確実に不活化します。
- 8. 栽培実験に係る情報提供に関する事項
  - ①栽培実験を開始する前の情報提供等

茨城県、つくば市、JAつくば市谷田部及びJAつくば市へ情報提供を行います。 栽培実験開始後も栽培実験の詳細について情報提供を行います。

②説明会等の計画

平成28年4月8日 栽培実験計画書の公表

平成28年4月27日 栽培実験に係る説明会(場所:農研機構)

③近隣住民への情報提供

近隣自治会の自治会長様宅へ出向き栽培実験に関して情報提供を行い、各戸には回覧で栽培実験の概要と説明会等についての情報提供を行います。

④その他の情報提供

栽培実験の実施状況については、農研機構ホームページ (http://www.naro.affrc.go.jp/) で、情報提供を行います。

⑤本栽培実験に係る連絡先

農研機構 生物機能利用研究部門企画管理部 遺伝子組換え研究推進室 電話番号 029-838-7138

#### 9. その他の必要な事項

(参考)

これまでの開発・安全性評価の経緯及び導入遺伝子の役割については以下のとおりです。

#### (参考)

## 【これまでの開発・安全性評価の経緯】

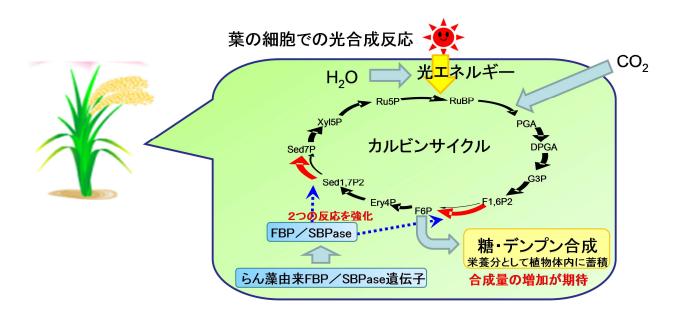
平成19年10月:アグロバクテリウム法による遺伝子導入実験を開始

平成 20 年 4月:再分化個体の検定を実施 平成 20 年 8月:閉鎖系温室での栽培を開始 平成 22 年 5月:特定網室での栽培を開始

平成24年4月:特定網室における生物多様性影響評価試験を実施

平成25年2月:隔離ほ場における第一種使用規程承認を文部科学省・環境省に申請

平成 25 年 6 月 4 日:隔離ほ場における第一種使用規程大臣承認



### (参考文献)

Ichikawa Y. et al., Generation of transplastomic lettuce with enhanced growth and high yield. GM Crops. 2010 1(5):322-326.

Yabuta Y. et al., Molecular design of photosynthesis-elevated chloroplasts for mass accumulation of a foreign protein. Plant Cell Physiol. 2008 49(3):375-85.

Tamoi M. et al., Contribution of fructose-1,6-bisphosphatase and sedoheptulose-1,7-bisphosphatase to the photosynthetic rate and carbon flow in the Calvin cycle in transgenic plants. Plant Cell Physiol. 2006 47(3):380-90.

Miyagawa Y. et al., Overexpression of a cyanobacterial fructose-1,6-/sedoheptulose-1,7-bisphosphatase in tobacco enhances photosynthesis and growth. Nat Biotechnol. 2001 19(10):965-9.

Nakamura Y. et al., Purification, crystallization and preliminary X-ray diffraction analysis of the fructose-1,6-/sedoheptulose-1,7-bisphosphatase of Synechococcus PCC 7942. Acta Crystallogr D Biol Crystallogr. 2001 57:454-6.

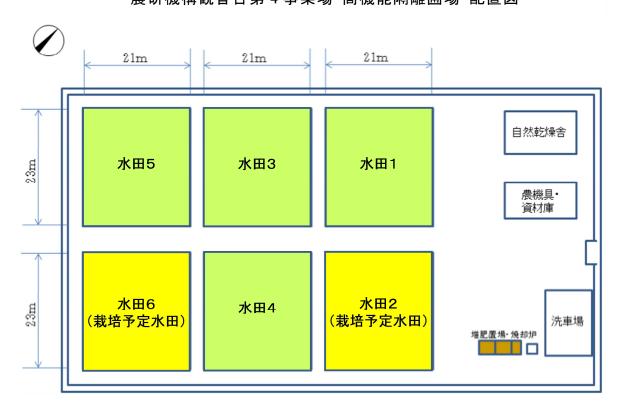
Tamoi M. et al., Acquisition of a new type of fructose-1,6-bisphosphatase with resistance to hydrogen peroxide in cyanobacteria: molecular characterization of the enzyme from Synechocystis PCC 6803.

Biochim Biophys Acta. 1998 2;1383(2):232-44.

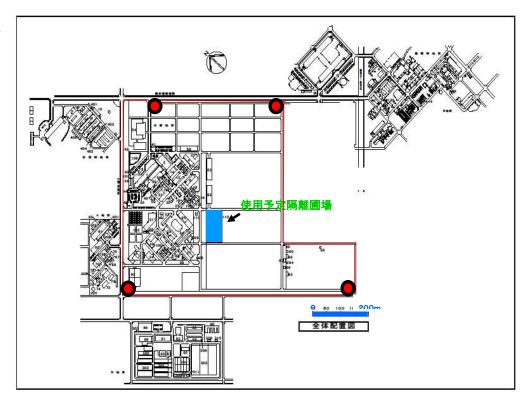
# 図1 農研機構観音台第4事業場 高機能隔離圃場位置



## 農研機構観音台第4事業場 高機能隔離圃場 配置図



# 図2



高機能隔離ほ場周辺の花粉飛散モニタリング用「モチミノリ」等の配置図(案) 4ヵ所(赤い丸印)で花粉飛散モニタリング用モチ品種「モチミノリ」等を栽培します。