

516. 遺伝子組換え食品については、食品自体の安全性、環境への影響等につき、危惧されており、様々な、反対意見が表面化してきている。特に、安全性等の確認は現在の指針よりもっと厳しくし、その根拠となる情報の提供を要望する。

(消)

735. ・農林水産サイドでもこのようなアンケートを実施し、分析結果を知らせてほしい。

・農林水産分野での考え方とのちがいを知りたい。

・安全性評価指針にかなっていれば安全という考え方が消費者には理解できないのだと思う。

・現時点で危険性が証明できない ということではないか (保)

741. サルモネラ菌などに見られる薬剤耐性の増加、サルモネラの卵、O-157 の牛肉等 食品の安全性を確保するには、川上の生産段階からの安全対策が必要となり、品質と経営の農林サイドとの溝が大きい

「From Farm to Eat」までの安全対策のシステム作りが強く希望します。(原文のまま) それにはまずトレーサビリティの導入とそれを支える情報技術の確立が急務と考えている。(保)

#### その他

178. 「こちら移動消費生活センターです」の出前講座(10名以上のグループ等から申し込みがあった場合)の中で「食の知識よく知って」「あなたの食卓は安全ですか」のテーマで外部講師を依頼し情報提供しています。

また、11年度ですが、消費者講演会でも「表示マークで知る食品の安全性について」のテーマで講演会を開催しました。(消)

387. 今回のアンケートの結果に基づき、新たな提案、情報等がありましたら、お知らせいただければ幸いと存じます。(保)

508. x x x x (不明, wish?) の根本からの見直しをして欲しい。(保)

525. 調査結果を一部ご提供いただければ幸いです。(消)

568. 市民に答える立場の担当者自身が遺伝子組換え食品に疑問を抱いている。

市民が求める答えは○か×かであり○であるなら将来永久に○でなくてはならない。

途中経過や現時点での考えや理論を話しても理解していただけない。

農林水産省や関係団体等よりQ&Aや資料が送付されているが我々はそれを元に答えることになる。しかし勉強をする機会がないのが現状である。(保)

573. (1) 設問1から4までは「消費者の認識」について確認したいのだから、消費者団体等に直接聞くとよいと思う。

(2)同じ目的の国の研究機関は業務の効率上一本に総一してはどうか。(原文のまま)

[例] ジェノックス研究所、かずさDNA研究所、ヘリックス研究所、sDNAコンソーシアム、科学技術振興事業団理化学研究所の一本化。(保)

661. 農林水産省からもパンフレットや冊子等が送付されたりと情報提供があり、この問題に関しては、農林水産省の関与が大きいと認識しています。(保)

735. ・農林水産サイドでもこのようなアンケートを実施し、分析結果を知らせてほしい。

・農林水産分野での考え方とのちがいを知りたい。

・安全性評価指針にかなっていれば安全という考え方が消費者には理解できないのだと思う。

現時点で危険性が証明できない ということではないか (保)

## 高機能食品の開発に関する研究

分担研究者 江崎 治 国立健康・栄養研究所臨床栄養部 部長

協力研究者 山内 淳 国立健康・栄養研究所 応用食品部 研究員

### 研究要旨

ヒトは、n-3 系列脂肪酸の $\alpha$ -リノレン酸と n-6 系列脂肪酸のリノール酸を de novo 合成できず、それぞれ食事から摂取する必要がある。また、これらの脂肪酸を相互に代謝変換することもできない。よって、生活習慣病予防に効果が期待される n-3 系列脂肪酸であるエイコサペンタエン酸(EPA)、ドコサヘキサエン酸(DHA)は直接摂取するか、前駆体である $\alpha$ -リノレン酸から生合成する必要がある。そこで本研究では遺伝子工学的手法を用いて、日本人の主食であるイネに $\alpha$ -リノレン酸を効率よく発現させ、疾病予防や健康の維持増進に役立つ高機能食品の開発を最終目標とし研究を開始した。

### A. 研究目的

リノール酸から $\alpha$ -リノレン酸への変換酵素であるイネ $\omega$ -3 fatty acid desaturase (OsFAD3) cDNA を取得し、酵母を用いた酵素活性の測定法の確立を試みた。

### B. 研究方法

#### (1) 研究材料の選択

ヒトにおいては、n-3 系列脂肪酸の $\alpha$ -リノレン酸と n-6 系列脂肪酸のリノール酸を体内で de novo 合成できず、それぞれ食事から摂取する必要がある。また、これらの脂肪酸を相互に代謝変換することもできないことから、これらの脂肪酸は必須脂肪酸である。一方、植物体はこれら

の脂肪酸を体内で生合成できる。そこで、イネにおける当該生合成酵素を検索したところ、リノール酸から $\alpha$ -リノレン酸への変換酵素であるイネ $\omega$ -3 fatty acid desaturase

(OsFAD3) cDNA のクローニングがすでに報告されていた。そこで、本研究に供するため、OsFAD3 cDNA を取得した。OsFAD3 の in vitro 酵素活性測定する方法は見い出されおらず、植物体内、あるいは酵母内に強制発現させ、内因性の因子を動員して測定する方法のみが報告されている。そこで、本酵素を酵母に導入し、効率的な酵素活性測定法の確立を試みた。

## (2) 酵母発現ベクターの構築

OsFAD3 の塩基配列を確認後、ORF を全て含む領域を GAL1 プロモーターをもつ酵母発現ベクターである pYES2 (Invitrogen) に挿入した (OsFAD3/pYES2)。

## (3) 酵母強制発現系

OsFAD3/pYES2 を酵母に導入し、培地中の炭素源をグルコースからガラクトースに変えることで、酵母内に OsFAD3 を一過性に強制発現させた。また、OsFAD3 の酵母内における発現を、特異的プローブを用いたノザン法による確認を試みた。

## (4) 酵母内全脂肪酸量の定量法

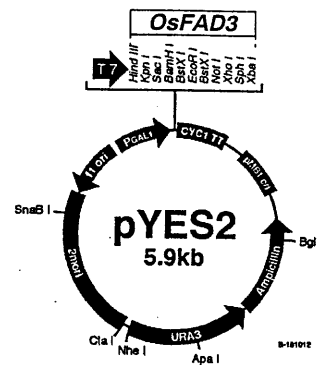
Ito らの報告を参考に、ガラスビーズを用いて酵母より全脂肪酸を抽出した。すなわち、対数増殖期の酵母を回収し、菌体 1g をクロロホルム-メタノール中にガラスビーズを用いて懸濁し、激しく攪拌することで細胞を破壊した。ホモジネートをガラスフィルターでろ過した。残存する細胞破砕物を再度クロロホルム-メタノールによって抽出した。この操作を 3 回くり返した。エバポレーターで溶媒を除去後、0.5N NaOH メタノールを加え、窒素環流下、82℃でメチル化を行った。三フッ化ホウ素メタノールを加えた後ヘキサンを用

いて全脂肪酸メチルエステルを抽出した。島津 GC-18A を用いたガスクロマトグラフィーによって酵母内の脂肪酸組成定量法の確立を試みた。

## C. 研究結果

### (1) OsFAD3 酵素活性測定法の確立

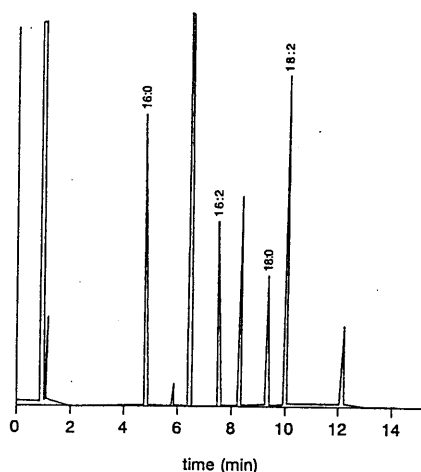
OsFAD3 の全塩基配列を確認した。ORF を全て含む領域を酵母発現ベクターに挿入した。尚、挿入断片は HindIII-XbaI とし、ベクター内に存在する配列をできるだけ除外した (図 1)。本システムは、GAL1 プロモーター直後に目的の cDNA を挿入することで、培地中の炭素源をガラクトースに変えることによってはじめて酵素を誘導することが可能である。構築した OsFAD3/pYES2 を、酵母株 INSVSC1 および W303-1a に導入し、発現誘導を試みた。その結果、INSVSC1 において良好な発現誘導が起こることを OsFAD3 特異的プローブを用いたノザン法により確認した。



OsFAD3の酵母発現ベクター作成 (図1)

## (2) 酵母内全脂肪酸量の定量法の確立

酵母中の全脂肪酸を効率良く抽出する方法を試みたところ、16:0, 16:2, 18:0 および 18:2 (リノール酸) が検出された (図2)。



ガスクロマトグラフィーを用いた酵母全脂肪酸定量法の確立 (図2)

## D. 考察

OsFAD3 の酵素活性測定法は、現在のところ酵母を用いた *in vivo* の方法のみが報告されている。本研究において、導入した OsFAD3 が酵母内で機能する系を確立できるものと思われる。今後この解析系を用い、酵母内に強制発現させた OsFAD3 の活性測定を行うと同時に、site directed mutagenesis を用いた点変異体を作成し、dominant positive なクローンのスクリーニングを行う予定である。なおこの目的に際し、pYES2 ベクターは配列内に f1 origin を有する

ことから、点変異体の作成およびスクリーニングに最適と思われる。

酵母内全脂肪酸量の定量法の確立に関しては、得られた結果より、予想される脂肪酸が検出されることから、本研究には有効であると考えられる。

## E. 結論

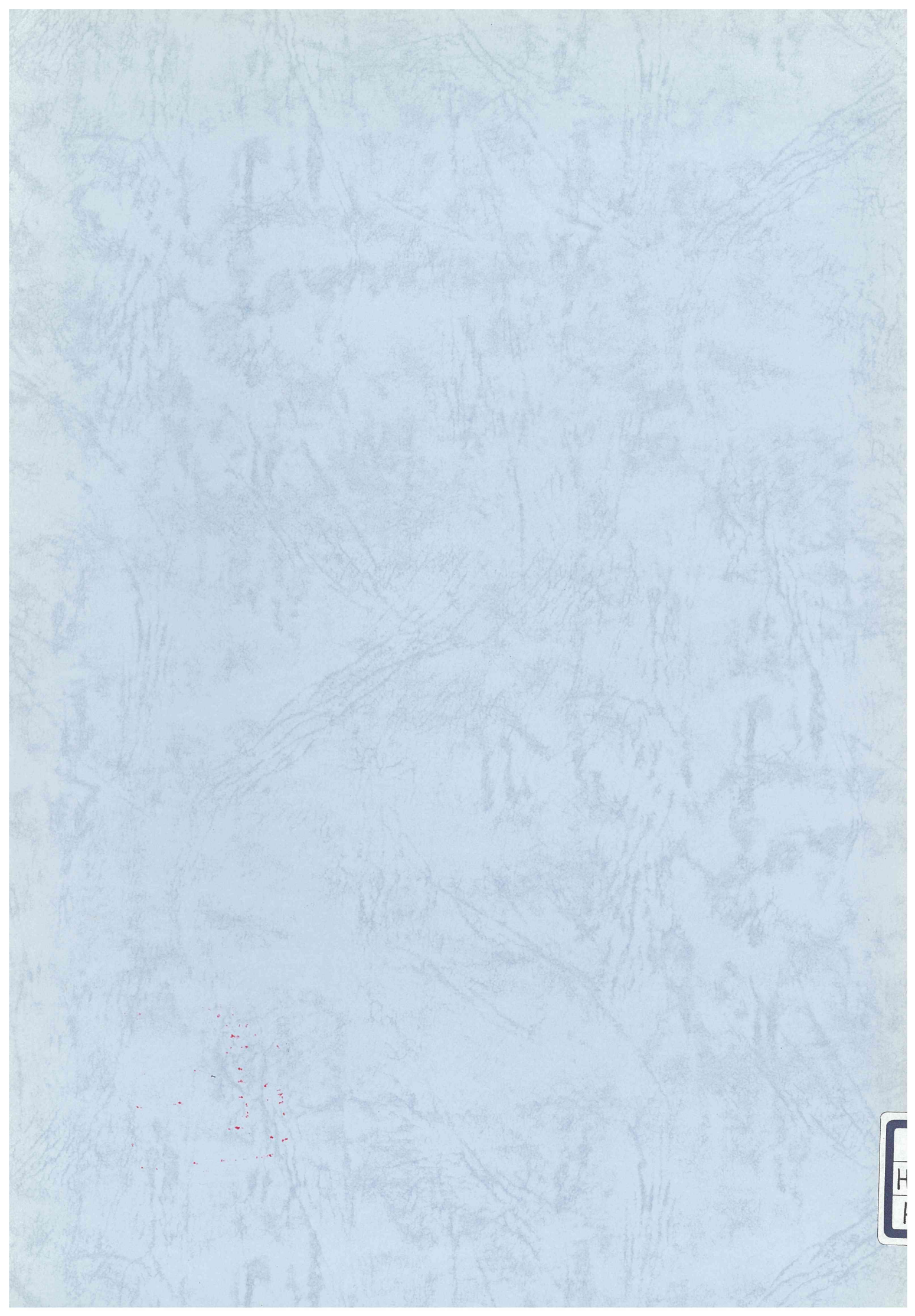
リノール酸から  $\alpha$ -リノレン酸への変換酵素であるイネ OsFAD3 を効率良く酵母内に発現させる系を確立し、酵母を用いた本酵素活性測定のための基本的な系を確立した。□

研究成果の刊行に関する一覧表

雑誌

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
Hiroshi Kamada	Detection of Recombinant DNA in Genetically Modified Soybeans and Tohu	Jpn. J. Food Chem	7	112-116	2000
鎌田博	植物バイオテクノロジーの食品への応用	食品衛生研究	50	45-65	2000
鎌田博	21世紀に花開く植物バイオテクノロジー	郵政	1	16-19	2000
鎌田博	21世紀に託された遺伝子組換え植物の未来	FFI ジャーナル	185	2-4	2000
鎌田博	遺伝子組換え植物の現状と未来	遺伝	54	44-50	2000
鎌田博	遺伝子組換えによる育種の実際	農学大事典	印刷中		2001
鎌田博	遺伝子組換え植物の安全性研究の現状と展望	研究ジャーナル	印刷中		2001
Yasuhiko Matsushita Hiroshi Nyunoya	The tomato mosaic tobamovirus movement protein interacts with a putative transcriptional coactivator KERP	Mol. Cells	in press		2001
Masatake Toyoda	A method of detecting recombinant DNA from genetically modified maize.	Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)	41	137-143	2000
Masatake Toyoda	Effect of GM and non-GM soybeans on the immune system of BN rats and B10A mice.	J. Food Hyg. Soc. Japan	41	188-193	2000
Masatake Toyoda	A multiplex PCR method of detecting recombinant DNAs from five lines of genetically modified maize.	Sokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan),	42	24-32	2001
Masatake Toyoda	A detection method for Recombinant DNA from Genetically Modified Maize CBH351	Sokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)	42	in press	2001

発表者氏名	論文タイトル名	発表誌名	巻号	ページ	出版年
手島玲子	組換え食品の安全性とその評価	農林水産技術 研究ジャーナル	4月号	in press	2001
Tomoyuki Shirai	Modifying effects of phytic acid and $\gamma$ -oryzanol on the promotion stage of rat carcinogenesis.	Anticancer Res.	19	3665- 3670	1999
Tomoyuki Shirai	Non-carcinogenicity, but dose-related increase in preneoplastic hepatocellular lesions, in a two-year feeding study of phenobarbital sodium in male F344 rats.	Fd. Chem. Toxic.	37	869-879	1999
Tomoyuki Shirai	Non-carcinogenicity, but dose-related increase in preneoplastic hepatocellular lesions, in a two-year feeding study of phenobarbital sodium in male F344 rats.	Fd. Chem. Toxic.	37	869-879	1999
Tomoyuki Shirai	Effects of arctiin on PhIP-induced mammary, colon and pancreatic carcinogenesis in female Sprague-Dawley rats and MeIQx-induced hepatocarcinogenesis in male F344 rats.	Cancer Lett.	155	79-88	2000
Tomoyuki Shirai	Enhancing effects of 2-amino-4,5-diphenylthiazole-induced polycystic kidneys on renal carcinogenesis in rats treated with dimethylnitrosamine., Toxicol.	Appl. Pharmacol.	167	12-17	2000
Tomoyuki Shirai	Modifying effects of propolis on MeIQx promotion of rat hepatocarcinogenesis and in a female rat two-stage carcinogenesis model after multiple carcinogen initiation.	Nutrition and Cancer,	37	179-186	2000



Faint red rectangular stamp with illegible characters.

E  
L



200000433A

厚生科学研究費補助金

ヒトゲノム・再生医療等研究事業

バイオテクノロジー応用食品の安全性確保  
及び高機能食品の開発に関する研究

平成12年度 総括・分担研究報告書

(H12-食品-001 第2分冊)

主任研究者 吉倉 廣

平成13年3月

バイオテクノロジーに用いられる微生物およびその成分と安全性に関する  
文献調査研究 資料

研究協力者

東亜大学大学院  
義平 邦利

## 目 次

資料 1. バイオテクノロジーに 응용が予想される微生物およびその成分の安全性に関する 文献調査研究 .....	11
<i>Abtsidia glaurca</i> .....	12
<i>Acetobacter aceti</i> .....	12
<i>Acetobacter (Glurconobacter) suboxydans</i> .....	13
<i>Acetobacter xylinum</i> .....	13
<i>Achlya ambisexuals</i> .....	16
<i>Achromobacter liquidum</i> .....	16
<i>Achromobacter obae</i> .....	16
<i>Aerobacter aerogenes</i> .....	16
<i>Aeromonas hydrophila</i> .....	18
<i>Agrobacterium tumefaciens</i> .....	18
<i>Alcaligenes eutrophus</i> .....	20
<i>Alicyclobacillus acidocaldarius</i> .....	20
<i>Alicyclobacillus acidoterrestris</i> .....	21
<i>Alicyclobacillus cycloheptanicus</i> .....	21
<i>Anaerobiospirillum succiniciproducens</i> .....	21
<i>Apiotrich currata</i> .....	21
<i>Arthrobacter paraffineus</i> .....	22
<i>Aspergillus awamori</i> .....	22
<i>Aspergilla flavus</i> .....	22
<i>Aspergilla fumigatus</i> .....	23
<i>Aspergillus griseus</i> .....	23
<i>Aspergillus nidulans</i> .....	23
<i>Aspergillus niger</i> .....	37
<i>Aspergillus oryzae</i> .....	55
<i>Aspergillus parasiticus</i> .....	69
<i>Aspergillus saitoi</i> .....	136
<i>Aspergillus shirovsamii</i> .....	136
<i>Aspergillus soyae</i> .....	137
<i>Aspergillus terreus</i> .....	137
<i>Aureobasidium pullulans</i> .....	224
<i>Bacillus alcalophilus</i> .....	232
<i>Bacillus alginolyticus</i> .....	232
<i>Bacillus alvei</i> .....	232
<i>Bacillus aminovorans</i> .....	233
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> .....	233
<i>Bacillus amylolyticus</i> .....	234
<i>Bacillus aneurinolyticus</i> .....	234

Bacillus anthracis	235
Bacillus apiarius	235
Bacillus atrophaeus	235
Bacillus azotofixans	235
Bacillus azotoformans	235
Bacillus badius	235
Bacillus benzoovorans	237
Bacillus brevis	237
Bacillus carotarum	252
Bacillus cereus	253
Bacillus chondroitinus	265
Bacillus coagulans	265
Bacillus fastidiosus	266
Bacillus firmus	266
Bacillus flavothermus	266
Bacillus flavus	266
Bacillus flexus	266
Bacillus freudenreichii	266
Bacillus fusiformis	267
Bacillus globisporus	267
Bacillus glucanolyticus	267
Bacillus gordonae	267
Bacillus insolitus	267
Bacillus kaustophilus	267
Bacillus laevolacticus	267
Bacillus larvae	268
Bacillus laterosporus	268
Bacillus lautus	271
Bacillus laevolacticus	271
Bacillus lentimorbus	271
Bacillus lentus	271
Bacillus licheniformis	271
Bacillus macerans	279
Bacillus macquariensis	284
Bacillus marinus	284
Bacillus marscens	284
Bacillus megaterium	284
Bacillus mycoides	289
Bacillus pabuli	289
Bacillus pallidus	290

Bacillus pantothenicus	290
Bacillus pasteurii	290
Bacillus polymyxa	290
Bacillus popilliae	299
Bacillus psychrophilus	299
Bacillus psychrosaccharolyticus	299
Bacillus pulvifaciens	299
Bacillus pumilus	299
Bacillus schlegelii	305
Bacillus simplex	305
Bacillus smithii	305
Bacillus sphaericus	305
Bacillus stearothermophilus	309
Bacillus subtilis	310
Bacillus thermocatenulatus	336
Bacillus thermocloacae	336
Bacillus thermodenitrificans	336
Bacillus thermoglucosidasius	336
Bacillus thermooleovorans	336
Bacillus thermophilus	336
Bacillus thermoruber	337
Bacillus thiaminolyticus	337
Bacillus thuringiensis	338
Bacillus tusciae	340
Bacillus validus	341
Bacillus circulans	341
Blackeslea trispora	353
Brettanomyces custersii	353
Brevibacterium ammoniagenes	354
Brevibacterium epideomis	354
Brevibacterium flavum	354
Brevibacterium lactofermentum	354
Brochothrix thermosphacta	355
資料 2. 食品分野に於ける最近の遺伝子組換え技術の動向を知るために文献調査	356
植物	360
アズキ	360
イチゴ	360
イネ	361
エンドウ	367
オオムギ	368

カンキツ	369
カンショ	370
キクイモ	373
キノコ	374
キュウリ	374
穀類	375
コムギ	376
コムギ	377
ジャガイモ	377
シイタケ	379
ソラマメ・レンズマメ・エンドウ及びヒヨコマメ	379
ダイズ	380
ダイズ	381
トウモロコシ	382
トマト	383
チーズ	390
トマト	391
甜菜	391
ナシ	391
ネギ	392
ビート	392
メロン	393
リンゴ	393
微生物	395
乳酸菌	395
酵母	396
焼酎麹菌	398
醤油麹菌	398
ビール酵母	399
ウイルス	400
動物	401
ウシ	401
ブタ	402
ニワトリ	404
飼料	405
食品	406
発酵食肉	406
食酢	406
アルコール	406
醤油	407

ペプチド	407
ブタノール	408
マニトール	408
味噌	409
ワイン	409
食品と微生物利用	410
分子エコロジー	411
酵素	412
植物分野の遺伝子組換え	414
遺伝子組換えによる耐性	416
耐虫性	416
耐病性	416
ウイルス病抵抗性	417
除草剤抵抗性	417
耐寒性	418
海水耐性	419
各種耐性	419
その他	421
病害抵抗性作物	421
抗生物質耐性	421
遺伝子組換えに関する分析法	422
カンキツ	422
コムギ	422
ジャガイモ	422
ダイズ	422
トウモロコシ	423
トマト	425
発酵ソーセージ	426
動物飼料	426
遺伝子組換え有用形質の検出	427
遺伝子組換え関連微生物の検出	427
レビュー及び解説	432
農林水産技術会議	432
農水省 食品流通局	441
環境庁企画調整局	442
中小企業庁	442
農業試験場等	443
遺伝子組換え技術一般	445
遺伝子組換え技術と食品	445
GM(遺伝子組換え)作物をめぐる問題	450

表示	454
各国の対応	475
環境・バイオマス等	480
生態系	480
環境	481
バイオマス	482
分子エコロジー	483
安全性について	484
安全性評価	484
微生物の安全評価	485
遺伝子組換え(GM)大豆摂取	485
遺伝子組換え食品の安全性に関する意見	486



資料1. バイオテクノロジーに応用が予想される微生物およびその成分の安全性に関する文献調査研究

---

*Abtsidia glaurca*

---

当該菌について含有成分に関する報告はない。

---

*Acetobacter aceti*

---

29-(2,3,4,5-Tetrahydroxypentyl)-6,11-hopadiene; (32*R*,33*R*,34*S*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

29-(2,3,4,5-Tetrahydroxypentyl)-6-hopene; (32*R*,33*R*,34*R*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

29-(2,3,4,5-Tetrahydroxypentyl)-6-hopene; (32*R*,33*R*,34*S*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

29-(2,3,4,5-Tetrahydroxypentyl) hopane; (21  $\beta$  *H*,32*R*,33*R*,34*S*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

3-Methyl-29-(2,3,4,5-tetrahydroxypentyl)-11-hopene; (3  $\beta$ , 32*R*,33*R*,34*R*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

3-Methyl-29-(2,3,4,5-tetrahydroxypentyl)-11-hopene; (3  $\beta$ , 32*R*,33*R*,34*S*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

3-Methyl-29-(2,3,4,5-tetrahydroxypentyl)-6,11-hopadiene; (3  $\beta$ , 32*R*,33*R*,34*R*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

3-Methyl-29-(2,3,4,5-tetrahydroxypentyl)-6,11-hopadiene; (3  $\beta$ , 32*R*,33*R*,34*S*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

3-Methyl-29-(2,3,4,5-tetrahydroxypentyl)-6-hopene; (3  $\beta$ , 32*R*,33*R*,34*S*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

3-Methyl-29-(2,3,4,5-tetrahydroxypentyl) hopane; (3  $\beta$ , 32*R*,33*R*,34*R*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

3-Methyl-34,35-dinor-6,11-bacteriohopadiene-32,33-diol; (3  $\beta$ , 22*R*,32*R*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

34,35-Dinor-6,11-bacteriohopadiene-32,33-diol; (22*R*,32*R*)-form

有害生理活性等に関する報告がない。

34,35-Dinor-6-bacteriohopene-32,33-diol

有害生理活性等に関する報告がない。

Aminobacteriohopanetriol

29-(2,3,4,5-tetrahydroxypentyl)hopane(3  $\beta$ ,32*R*,33*R*,34*S*),35-deoxy,35-amino

有害生理活性等に関する報告がない。

---

*Acetobacter (Glurconobacter) suboxydans*

---

xylo-5-Hexulosonic acid; D-form

有害生理活性等に関する報告がない。

Tagatose; D-form

有害生理活性等に関する報告がない。

---

*Acetobacter xylinum*

---

Acetan(CAS 名)

有害生理活性等に関する報告がない。

Cholest-4-en-3-one(CAS 名)

RTECS 番号	: FZ7700000
化学名	: Cholest-4-en-3-one
CAS 番号	: 601-57-0
最新データに改正した日	: 1997-01
記載又は更新日	: 2 日.
分子式	: C <sub>27</sub> H <sub>44</sub> O
分子量	: 384. 71
生体影響物質	: 変異原物質.
シノニムと商品名	: $\delta$ (sup 4)-Cholestenone
	: 4-Cholesten-3-one
	: Cholesterone

\*\*\* 健康障害に関するデータ \*\*\*

\*\* 変異原性に関するデータ \*\*

試験方法 : 姉妹染色分体交換試験

曝露経路 : 直腸の.

試験系 : 齧歯類-マウス.

投与量・期間 : 94 mg/kg

-----文 献-----

ENMUDM Environmental Mutagenesis. (New York, NY) V. 1-9, 1979-87 For publisher information, see EMMUEG. [Vol.,頁,年] 8(Suppl 6),41,1986

\*\*\* 米国に於ける状況 \*\*\*

EPA TSCA Section 8(b) CHEMICAL INVENTORY

\*\*\* 以上 \*\*\*

Sorbose(CAS名)(旧CAS名)

RTECS番号 : WG3195025

化学名 : L-Sorbose

CAS番号 : 87-79-6

最新データに改正した日 : 1997-01

記載又は更新日 : 7日.

分子式 : C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>

分子量 : 180.18

シノニムと商品名 : Esorben

: L-Sorbinose

: Sorbose

: Sorbose, L-

\*\*\* 健康障害に関するデータ \*\*\*

\*\* 急性毒性に関するデータ \*\*

試験方法 : 致死量(Lethal dose)

曝露経路 : 経口投与.

被験動物 : げっ歯類-ラット.

投与量・期間 : >11 gm/kg

毒性影響 : 致死量以外に毒性影響に関する報告はない.

-----文 献-----

USXXAM United States Patent Document. (U. S. Patent Office, Box 9, Washington, DC 20231)

試験方法 : LD<sub>50</sub>(50%致死量)試験.