

厚生労働科学研究費補助金

食品の安心・安全確保推進研究事業

食品衛生法における遺伝子組換え食品等の
表示のあり方に関する研究

平成20年度 総括・分担研究報告書

(H20-食品-016)

研究代表者 手島 玲子

平成21年3月

目次

I. 総括研究報告書	
食品衛生法における遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する研究	
手島 玲子	1
II. 分担研究報告書	
1. 遺伝子組換え食品等の国際動向調査	
手島 玲子	7
2. スタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究	
穂山 浩	17
3. 遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する研究	
(資料：食品衛生法における遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する現状調査)	
吉川 肇子	25
III. 研究成果の刊行に関する一覧表	145

食品衛生法における遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する研究

研究代表者 手島 玲子 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 部長

研究要旨

食品衛生法における遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する研究を遂行するため、1 主任研究者、2 分担研究者を中心として、7 機関にわたる研究グループを組織した。1) 遺伝子組換え食品についての海外の規制の現状調査と文献調査、2) 遺伝子組換え食品の表示の有無が購買意欲にもたらす影響に関するアイカメラ並びにアンケートによる調査、3) 遺伝子組換え食品に対する態度を決める際の情報として、人びとが何を手がかりにしているのかについて情報探索法を用いた調査、4) スタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究、ならびに、組換え食品検査法の国際的ハーモナイゼーションの動きに関する調査研究を行った。

研究分担者

吉川肇子 慶應義塾大学商学部
准教授

穂山 浩 国立医薬品食品衛生研究所
代謝生化学部室長

GM 品種トウモロコシが混入している試料を測定する場合、粒単位で測定する方法が最善であると考えられている。そのため従来どおり粉砕物から組換え遺伝子コピー数を測定する方法で考えるか、穀粒の粒単位で多穀粒を測定する方法で考えるかで表示制度の目安である 5% の捉え方が異なってくる。そこで、我が国の遺伝子組換え食品の表示制度における非 GM 食品の目安である 5% 以下を検証可能な検査法のシステムの確立が急務である。そこで GM 表示制度に沿った GM 食品の定量検査法のシステムの確立と検証（バリデーション）に関する研究を行う。具体的には安全性審査が終了した GM トウモロコシにおいて、スクリーニング試験用の GM トウモロコシの定量検査法の開発と複数機関の検証を行う。また粒検査法と系統種を判別するための定性試験法の確立と検証を行う。さらにスクリーニング試験用における重量換算の係数である内標比の値について、実態に即した値を設定するために GM 混入系統の実態調査を行う。また近年、食品の表示偽装が大きな社会問題になっている。従って食品衛生法と JAS 法

A. 研究目的

わが国の遺伝子組換え (GM) 食品の表示制度における非 GM 食品の目安は重量換算で 5% 以下とされている。安全性審査済みの遺伝子組換え食品の系統は増え続けている。一方、単一系統をかけ合わせたスタック GM 品種トウモロコシの開発が急激に進んでおり、我が国でも 18 品種のスタック GM 品種トウモロコシについて安全性審査が既に終了している。しかしスタック GM 品種トウモロコシ穀粒が試料に混入している場合、粉砕物を現在の公定検査法で定量すると、コピー数の多重計測が起り、測定混入率が重量換算で測定した値より高く見積もられる可能性がある。このことは、表示基準の考え方が異なってきたため、2 国間の貿易障壁になる恐れがある。現在のところ、スタック

の整合性を図り、食品衛生法上の遺伝子組換え (GM) 食品を中心に表示全般について科学的知見に基づく食品表示の在り方に関する国際的動向調査、国内のアンケート調査等から検討を加え、望ましい食品表示のあり方の提案を行うことを目的とする。

B. 研究方法

遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する文献調査並びにアイカメラを用いた実践研究を吉川班員、1粒測定法によるスタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究を穂山班員、遺伝子組換え食品の国際動向調査、組換え食品検査法の国際的ハーモナイゼーションの動きに関する調査研究並びに総括を手島研究代表者が担当した。また、アイカメラを用いた研究では、立教大学現代心理学部と、スタック品種遺伝子組換え食品の検査のパリテーション試験では、広島県立総合技術研究所保健環境センター、横浜検疫所 輸入食品・検疫検査センター、神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター、(株)ファスマック、(独)農研機構食品総合研究所と共同研究を行った。

C. 結果およびD. 考察

遺伝子組換え食品についての海外の規制の現状調査と文献調査：

本年度は、まず、遺伝子組換え作物・食品の表示等については、国や地域により違いがあること、表示に関連して意図的でない混入の閾値についても、国や地域により大きな違いがあることを確認した。すなわち、表示の閾値は、日

本、タイ、インドネシア、台湾で 5%、韓国で 3%、ブラジル、オーストラリア・ニュージーランド、サウジアラビアで 1%、EU 0.9%、中国 0%(閾値なし)となっている。次いで、諸外国の組換え食品の表示にも大きな影響を与える欧州連合 (EU) の表示基準並びに共存施策の政策動向についてもまとめを行った。

世界に先駆けて 2003 年 7 月に提案された欧州の共存施策は、慣行農業、有機農業、GM 農業のいずれも排除されてはならないということを原則として策定されたものであるが、2009 年 3 月現在、EU 各国の足並みがそろっておらず、各国での取り組みの報告が遅れており、欧州全体での共存対策への新たな指針作りへの動きはみられていないことが確認された。今後、共存実行に向け経済的な価値との釣り合いの議論も含め、EU の各国の共存に関する取り組みには注視してゆく必要があると思われる。

遺伝子組換え食品の表示の有無が購買意欲にもたらす影響に関するアイカメラ並びにアンケートによる調査：

被験者は 41 名のうち、データとして使用するのには不適当であると判断した主婦群 3 名、学生群 4 名の計 7 名分のデータを分析対象から除外し、主婦群 17 名、学生群 17 名の 34 名分のデータを分析対象とした。

質問紙調査の結果、購入意欲の高い商品および購入意欲の低かった商品、遺伝子組換え非表示の商品をそれぞれ 1 つ、計 3 商品を分析の対象とした。

分析方法は対象商品の注視範囲をパッケージ、成分表示文、価格、それ以外と分類してそ

それぞれの範囲の注視時間と広告全体の総注視時間を分析した。なお、今回の調査では時間で区切らず被験者が自由に視認することが出来たので、各範囲の注視時間をそのままデータとして分析せず、それぞれを各注視範囲内における総注視時間を対象商品注視中全体の注視時間で割ったものをデータとして記載した。これを本研究では「注視時間率」と定義して分析を行うものとした。また、本研究において、注視時間の定義は青木・伊藤(2001)の先行研究をもとに停留時間が0.1秒以上続いたものとした。

(i) 対象商品の注視時間の比較

対象商品の注視時間の平均値を求めて比較を行った。3商品ともに平均注視時間が5秒程度であった。分散分析の結果、注視時間において3商品間に有意な差はみられなかった($F(2, 66) = .122, n. s.$)。

(ii) 対象商品の注視時間率の比較

各対象商品における注視範囲別の注視時間率の平均を計算した。3商品とも商品名やロゴへ注視する割合が高かった。また、遺伝子組換え大豆不使用の表示をしている2商品において、遺伝子組換え不使用であるという表示は同じ成分表示内にある原材料や内容量・賞味期限よりも注視している割合が低かった。

(iii) アイカメラ分析の群別比較結果

対象商品の注視時間および注視時間率の群別比較を行った。主婦群と学生群における各注視時間の平均値を示した。t検定の結果、各商品において主婦群の方が学生群よりも注視時間は多いが有意な差はみられなかった。

次に、主婦群および学生群の各対象商品にお

ける注視範囲別の注視時間率の平均を示した。主要な注視範囲において2群間に有意差はみられず、高購入意欲商品の価格と遺伝子組換え非表示商品の内容量・賞味期限で有意傾向がみられた(それぞれ、 $t(32) = 1.84, p < .10$; $t(32) = 1.81, p < .10$)。

以下、結果の考察を述べる。商品ごとの注視範囲における注視時間率については、3商品ともパッケージへの注視割合が高く、成分表示文への注視割合はパッケージと比較して低かった。中でも遺伝子組み換えに関する表示の注視割合は2~3%程度であり、この結果は、低関与による浅い情報処理がなされたことをアイカメラという行動データからも示唆しているといえる。

また、本調査では、群間比較のために、普段から食品購入を行っている主婦とあまり行っていないと考えられる女子学生というデモグラフィック要因の違いを検討し、今後の研究への布石とした。初めに、認知率については全体的に主婦群の方が各商品の認知率が高い傾向がみられたが、有意な差がみられたのは(有意傾向のものも含めて)5商品だけであった。また、購入意欲については有意な差がみられた商品は1商品だけであり、両群においてあまり差はみられなかった。次に、大豆食品に対する重視点と遺伝子組換え食品に対する意見への同意については、大豆食品に対する重視点では「消費期限と加工日」で、遺伝子組換え食品に対する意見では「種を特定の企業に独占される」でそれぞれ主婦の方が有意に高かったが、それ以外の項目では有意な差はみられなかつ

た。また、アイカメラ分析の結果についても注視時間で両群に差はみられず、注視範囲における注視時間率でも差がみられたところは少なかった。

このことから、本調査において主婦と女子学生では遺伝子組換えに関してほぼ同等の認識であり、食品購入時にも購入に対する情報処理にあまり差がみられないことがアイカメラデータと質問紙調査の両面から示唆された。本調査における購入の決定要因が価格である可能性が高いことは上述のとおりである。価格が低いという要因は主婦でも学生でも同等に働く魅力要因であろう。逆に主婦と学生で差がみられると想定された遺伝子組換え技術については、普段から購買行動を行っている主婦でも学生と同等であった。これは、主婦・学生に関係なく、日常の購買行動では「遺伝子組換え」ということにあまり気にせず、何となく「遺伝子組換え食品（技術）は悪いもの」というネガティブな知識を持っていることを裏付けるものといえると思われる。

遺伝子組換え食品に対する情報探索に関する調査：

情報探索法を用いて、遺伝子組換え食品に対する肯定的な意見と否定的な意見のどれを消費者が読んでおり、それぞれの意見をどのように評価するのかを調査した。全 36 項目の意見のうち、10 項目を閲覧することができる条件で、どの情報がよく読まれるのかを調査した。対象者は、20 代～60 代の男女 2011 名であり、インターネット調査モニターの中から抽出された。多く読まれた情報は、「遺伝子組換え食品の安

全性は証明されたのですか」(61.9%)であり、以下「遺伝子組換え食品は体に悪いのですか」(52.8%)、「環境や生態系に何らかの影響を与えますか」(52.1%)と続いている。全体としては、読まれている情報は、遺伝子組換え食品に対して否定的なものが肯定的なものよりも多く、安全性や環境への影響について関心が高いことがわかる。肯定的な意見で比較的良好に読まれていたのは、「私たちはすでに遺伝子組換え食品を食べているのですか」(39.5%)、「遺伝子組換え食品を食べ続けても大丈夫ですか」(34.8%)、「遺伝子組換え食品の安全性はどのように確認されていますか」(31.0%)であり、肯定的な意見であっても安全性に関する記述がよく読まれていることがわかり、遺伝子組換え食品のメリットや栽培、技術開発などについての意見はそれほど読まれていないことがわかった。さらに、これらの情報の評価には、被験者があらかじめ持っている遺伝子組換え食品に対する態度や、その強度が影響していることが示唆された。

スタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究：

5 機関のパリデーション試験の前に、国立衛研で ABI PRISM™ 7900 及び ABI PRISM™ 7500 の 2 機種で粒試験法の頑健性を確認した。その結果、non-GM の 86 チューブ、MON810 の 2 チューブ及び MON810×NK603 の 2 チューブ、合計 90 チューブから抽出した DNA 溶液について、2 機種共に粒試験が頑健に行われることを確認した。リアルタイム PCR の機種は参加 5 機関が各々所有している機種を用いて試験を行った。

内訳は ABI PRISM™ 7900 は 3 機関及び ABI PRISM™ 7500 は 2 機関であった。non-GM 試料及び GM 試料に関しては、全機関からの全試料においてトウモロコシ陽性対照用プローブを用いた試験で陽性と判定され、各機関において DNA が良好に抽出されていることが確認された。また同時に行った GM 検出用プローブ試験で各機関すべて試験 90 粒中 4 粒が陽性と判定し、当該試料番号も一致した。系統判別試験では、各機関で GM 陽性と判断されたチューブ試料からの DNA 抽出液を用いて、9-plex PCR 試験を行ったところ、各機関とも MON810 系統が 2 チューブ、MON810×NK603 品種が 2 チューブと判定し、当該試料番号も一致した。この結果から本粒検査法はリアルタイム PCR の機種や機関の操作誤差に関係なく、頑健に GM 粒を検知可能であることが確認された。以上の結果より、粒検査法の妥当性が確認されたと判断した。

従来の単一系統のみのトウモロコシ系統では、重量換算で混合した試料を現在の通知検査法により粉砕物を定量 PCR で分析しても、科学的にはほぼ同じ値の測定値になる。しかしスタック品種トウモロコシが試料に混入している場合、粉砕物を定量 PCR で定量する方法では、1 穀粒中に複数の異なった GM 遺伝子が挿入されているため、コピー数の多重計測が起り、測定混入率が重量割合で測定した値より常に高く見積られる。この問題を解決するには粒毎の検査法の必要が生じ、粒検査法が確立された。この方法は現在までの表示閾値に則した考え方を遵守できる。また従来の定量 PCR 法の諸問題として、スタック品種混入による定量値の

ばらつき、トウモロコシにおける胚乳の核相 (3n) と胚芽の核相 (2n) が異なることから生じる定量値のばらつき、GM が父親由来か母親由来で種子 (F1) の GM 遺伝子量が異なることから生じる定量値のばらつき、機種間による定量値のばらつき、DNA 抽出法による定量値のばらつき、ある一定企業の定量 PCR 機種のマーケットに依存する状況などがある。粒検査法では、このような諸問題が大幅に解消される可能性がある。適切なサンプル数を行えば、粒単位での GM 混入率を求めることができ、また Multiplex PCR と併用することにより、単一系統かスタック品種の区別及びその系統判別が可能となる。今後、スクリーニング法と粒検査法を組み合わせた検査法システムの改正が望まれる。

E. 結論

- (1) 遺伝子組換え食品についての海外の規制の現状調査と文献調査：現状および今後の動きについて、関係者のヒヤリングを含め、さらに詳細な資料入手が必要と考えられる。
- (2) 遺伝子組換え食品の表示の有無が購買意欲にもたらす影響に関するアイカメラ並びにアンケートによる調査：遺伝子組換え非表示の商品は認知率・購入経験率は低いものの購入意欲は高かった。これは購入決定要因に価格が強く寄与されていることが考えられた。遺伝子組換え技術については、ネガティブなイメージを持っているものの具体的な情報を消費者は知っておらず、今後、正確な事実をもとにした消費者と公共機関や企業とのコミュニケーション

が望まれた。また、調査手法として、アイカメラが有望であることも示唆された。

(3) 遺伝子組換え食品に対する情報探索に関する調査：今後は、情報探索されやすい情報をもとに、遺伝子組換え食品について、一般の人びとが読みやすい情報提供のあり方や、発問形式などを検討していく可能性を検討していく必要があると思われる。

(4) スタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究：我々が既に確立した粒単位検査法について、Real-time PCR を有する国内 5 機関におけるバリデーション試験を実施した。判定試験法は、一粒ずつ個別に粉碎し DNA 抽出を行い、(i) Multiplex Real-time PCR を用いた定性検査において遺伝子組換えの有無を判定し、陽性判定の検体については (ii) 9-plex PCR による定性検査 による系統判別を行うものである。この結果から本粒検査法はリアルタイム PCR の機種や機関の操作誤差に関係なく、頑健に GM 粒を検知可能であることが確認された。以上の結果より、粒検査法の妥当性が確認されたと判断した。

F. 研究発表

個別の研究報告書に記載済み。

遺伝子組換え食品等の国際動向調査

研究分担者 手島 玲子 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 部長

研究要旨

本分担研究では、(1)組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査を行うこと、(2)コーデックス（国際食品規格委員会）の分析・サンプリング部会(CCMAS)等の国際的機関における遺伝子組換え食品測定法のハーモナイゼーションに向けた議論を把握すること、(3)粒測定法に応用可能な抗体を用いる新規産生タンパク質の検査法の開発を行うことを目的に検討を行った。具体的には、(1)組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査では、諸外国の組換え食品の表示にも大きな影響を与える欧州の表示基準並びに共存施策の政策動向につき焦点をあてて調査を行った。(2)コーデックス関連では、2009年3月に行われた30回CCMASの審議の動向等につき調査を行った。(3)粒測定法に応用可能な抗体を用いる新規産生タンパク質の検査法の開発では、パチラス害虫毒素タンパクの保存領域を認識するポリクローナル抗体を作成し、複数のパチラス害虫毒素タンパク質を検出できることを確認した。

協力研究者

中島治, 中村里香, 白井公幸, 樋山浩
(国立医薬品食品衛生研究所)

A. 研究目的

組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査を行うことにより、表示のあり方について有益な手がかりを得ること、組換え食品の分析に関して精度の高い測定法の開発を行うこと、国際的パリエーションの動向について調査を行うことを目的とする。

B. 研究方法

本研究は4つの部分からなる。

第1は、遺伝子組換え食品の組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査では、諸外国の組換え食品の表示にも大きな影響を与える欧州の表示基準並びに共存施策の政策動向を中心として、インターネット調査、文献調査を行い、EU内の国ごとの対応の違いについてもまとめを行った。

第2は、コーデックス（国際食品規格委

員会）の分析・サンプリング部会(CCMAS)等の国際的機関における遺伝子組換え食品測定法のハーモナイゼーションに向けた議論を把握した。

第3は、パチラス害虫毒素タンパク(Cry)の保存領域に位置するペプチドの抗体を作成した。具体的には、Cryタンパクの保存された領域の検索としてCry1Ab、Cry1Ac、Cry1F、Cry3A、Cry3Bb1タンパク質のアミノ酸配列を並べて保存されている領域を検索した。見出された領域を図1に示すが、Bの配列を選び、N末端にシステイン残基を加えてペプチド合成を行った。これをキャリアタンパク質(KLH)に結合後、ウサギに免疫してポリクローナル抗体を作成した。次いで、Cry1Ab、Cry1Ac、CryBb1タンパク質とポリクローナル抗体の反応をウェスタンブロットで確認した。すなわち、大腸菌で発現させた組換えCryタンパク質(Cry1Ab、Cry1F、Cry3Bb1)をSDS-PAGE後、ニトロセルロースにウェスタンブロットティング(転写)し、上記のウサギポリクローナル抗体を一次抗体に、二次抗体にはアルカリホスファターゼ標識したヤギ抗

ウサギ IgG (H+L) 抗体 (Bio-Rad) を用い、検出には AP Conjugate Substrate Kit (Bio-Rad) を用いて確認を行った。

C. 研究結果

1. 欧州の表示基準並びに共存問題の政策動向について

遺伝子組換え作物・食品の表示等については、国や地域により違いがある。詳しくは、吉川研究分担者の報告書の資料表 5 に詳しく書かれているが、表示に関連して意図的でない混入の閾値についても、国や地域により大きな違いがある。すなわち、日本、タイ、インドネシア、台湾で 5%、韓国で 3%、ブラジル、オーストラリア・ニュージーランド、サウジアラビアで 1%、EU 0.9%、中国 0% (閾値なし) となっている。本報告書では、欧州連合 (EU) の表示基準についてと共存方策について詳しく記す。

(a) 欧州 (EU) における表示基準 (閾値の設定) について

(i) 0.9% の閾値

Regulation (EC) No. 1829/2003 は、第 12 条第 2 項及び 3 項、第 24 条第 2 項及び 3 項、第 47 条で、規則で定められた要件を適用するかしないかの判断基準となる閾値について規定している。食品や飼料に含まれる、Council Directive 90/220/EEC, 2001/18/EC, Regulation (EC) No. 258/97, Regulation (EC) No. 1829/2003 で承認された GMO に対し 0.9% 未承認であるが、EU のリスク評価で肯定的な決定を受けた GMO については、2004 年 4 月以降 3 年の期限で 0.5% の閾値を設定している。

GM 物質を含む製品でこの閾値以下のものは、その GM の存在が偶発的あるいは技術的に避けられないものであると証明できる場合は、トレーサビリティの確保と表示をする必要がない。事業者は、執行機関に対し、混入を避けるために適切な措置を取ったことを証明しなければならず、混入を避けることが可能な場合、あるいは混入が不可避でも閾値を越えた場合の許容範囲はない。混入を避けるうえでどのような措置が適切であるかは、執行責任のある各機関の担当者が判断する。GMOs を意図的に使用している場合は、どのような値であっても表示しなければならず、閾値は、原材料を遺伝子組換えではないものから得ている場合に限り適用される

もので、事業者は適切な IP ハンドリングシステムの使用などにより、それが非遺伝子組換えであることを証明しなければならない。

(ii) 閾値の変遷

1997 年に出された Regulation (EC) No. 258/97 (新規食品及び新規食品成分に関する規則) は、遺伝子組換えの有無に限らず、「新規」の要件に該当する食品の認可制度及び特定の追加表示義務について定めた規則である。この規則が対象としなかった、当時すでに流通していた遺伝子組換え大豆及びトウモロコシに表示を義務付ける、

Commission Regulation (EC) No. 1813/97 (特定の GMOs を原料とする食品の表示義務について) が同じ年に出され、翌 1998 年に、表示義務の判断基準や表示の内容など運用に関する詳細を定めた Council Regulation (EC) No. 1139/98 が出された。

しかし、この Council Regulation (EC) No. 1139/98 では、ネガティブ・リストの作成や表示義務の閾値の設定について、規定はあるものの実際にはその内容が提示されていなかった。この規則を改定した 2000 年の Commission Regulation (EC) No. 49/2000 で、偶発的な混入として表示しなくてもよいとする閾値が、1% と定められた。そもそも閾値の設定は、事業者が GMOs を避けようと努めたにもかかわらず、偶発的な混入によって GMOs が低率で存在してしまうという問題を解決するためのものであり、事業者に法的な確実性を与えることを目的としている。Commission Regulation (EC) No. 49/2000 では以下のような説明がなされている。

- ・ 明確であるとの目的に沿って、閾値は単一のパーセンテージとする。
- ・ 1% という値は、許容値の値を低くとどめ、かつ実現可能性を考慮に入れた値として最善のものである。検出方法についても、既に、あるいはまもなくこの値に対応できる。
- ・ 1% は最大値とみなすべきであり、事業者は可能な限り低い値にとどめることを目指さなければならない。

この 1% の閾値は、2004 年から施行されている Regulation (EC) No. 1829/2003 で 0.9% に引き下げられた。

Regulation (EC) No. 1829/2003 の策定過程においては、当初欧州委員会の提案では、未承認の品種も含めて 1% までの偶発的な混入

には表示義務を課さないとなっていたが、2002年には欧州議会で、承認品種で表示を免除する閾値は0.5%、未承認品種は混入をみとめない案に修正している。NGOなどは基本的に閾値を設けるべきではないとし、食品業界などは1%でさえ実現が困難な数値であるとの立場から意見が出され、立法手続きの過程で0.5~1%の間で議論が交わされた。最終的に0.9%で決着している。

(b) 欧州における共存施策について

欧州における共存方策の政策動向については表1に示すが、2003年7月に共存に関するガイドラインが公表された¹⁾。

ガイドラインは、慣行農業、有機農業、GM農業のいずれも排除されてはならないということを原則とするが、概要は、以下のようになる。

(i) 共存問題とは経済問題である。環境への影響評価は2001年の環境放出指令でカバーされており、共存問題は、専ら、価格の違う作物の混在からくる経済的な被害に関する問題を扱うことになる。具体的には、被害を抑えるための実施策と被害が起きた場合の損害賠償制度の二つである。

この問題を解決することにより、GM作物栽培への実務的な障壁を取り除き、農家に栽培方法の選択権を与え、最終的には消費者サイドへの商品選択の自由も確保される。

(ii) 共存措置を実行可能にするために

問題が経済問題である以上、環境・安全面の法令を守った上で、費用対効果のある措置を行う必要がある。また、関係者間での公平な負担が必要であるし、効率的な措置が求められる。それ故、

・各国が自主性を持って、個別に効果的な方法(法律、合意などを組み合わせ)を策定する。

・欧州全体としては、支援機関(専門家組織)を作り、各国間の情報の交換や各国への助言サービスを促進する。

・委員会は、各国の措置が基本法に反しないかをチェックする。問題なければ施行、合意できなければ、司法へ。

また、適用範囲は、生産から販売まで(種子からサイロまで)である。

(iii) 措置策定上の原則

・新しい栽培方法(GMなど)の導入で生じる負担は、その導入者が負う。

・モニタリングを継続しながら、検

証されたモデルを使う。

・既存の農作物の分離に関する方法を土台にする。

・GMフリーゾーンの創設は、農作物生産の選択の自由を奪うので原則禁止。

・賠償に関する法整備は、各国で行う。(保険制度など)

・地域別、農場別での措置を考慮する(州単位、地域単位など)

・諸所の特異性を考慮して、ベストプラクティスを推進する。

・混入表示の閾値：共存措置の施策として、閾値を定めることができる。しない場合は、全体基準(0.9%未満)。しかし、費用の増大を招かないようにしなければならない。

(iv) 措置策定上でポイントになるもの

・農法上の特性：輪作方法、隔離距離、種子バンクでの蓄積の効果

・地域の特性：気候、地形、現地での農業習慣

・作物の特異性：花粉対策、

・種子生産に関しては、別途、個別法を適用予定。

(v) ガイドラインでの指示目録

・隔離対策においては、相加・相乗効果で隔離距離を小さくできるかなどを考慮。

・作物毎の他殖の潜在能力の関数としての隔離距離の特定。

・耕作、輪作計画、花粉トラップ道具の分離、自生種子の抑制など。

・収穫、貯蔵道具、貯蔵の分離
圃場モニタリング 自生種子の監視

・計画の通知を周囲へ。種子の注文前に通告を。自発的な合意に基づく調整。

・モニタリングとしてトラブルの報告、改善のための報告、重要管理点をリアルタイム監視。

・土地台帳でGM作物の圃場を識別
・栽培経過から出荷までの記録が、トレーサビリティと表示に関する規制に従って必要。

・研修講座と公開講座が必要

・経済的な損失の責任のあり方への通知、共存措置の通知、ホットラインの創設などの情報交換

・和解手続きの整備。

以上が、2003年のガイドラインの概要であるが、その後、2006年3月に共存方策に関する各国の実施状況に関する報告書²⁾が出された。この報告書の主なポイントは、2006年現在、GM共存法を策定している加盟国は少数にすぎず、EUにおける遺伝子組換え作物栽培の経験不足から、共存に関するEU規則の制定は時期尚早と考えられるというものであった。

総括の部分と、将来に向けての部分以下に記す。

(総括)

スペインを除き、加盟各国でのGM作物栽培の経験は少なく、栽培地域も限られているのが現状である。多くの加盟国で、共存措置に関する枠組みは準備段階にとどまっているが、草案は用意されてきている。現状、共存措置の法制化で先行した国(オーストリア、デンマーク、ドイツ、ポルトガル)のGM作物の栽培は少ない。制定された共存措置の有用性と経済性が正当性を検証するモニタリングプログラムの確立・運用をこれからである。

加盟国で提案もしくは採択されたすべての共存措置には、共通の骨子が存在する。非GM栽培農家を、偶発的なGMOsの混入による経済的な被害から守るように設計されていることである。その一方、GM作物の栽培も容認されている。共存措置に関する強制の度合いにばらつきができることは容認されているが、加盟国は、ある地域内で共存が確保できるようなGM作物・慣行・有機農業間での選択の自由を認める為の努力している。

GM作物・非GM作物の隔離による負担は、一般的にはGM作物栽培農家が負う。加盟各国の隔離への取り組みかたには、重要な違いがある。まず、GMOの偶発的な混入が経済的な被害を発生させた場合での、責任の問題についての違いである。この問題に対して、個別の法案を用意しない国もある。そういう国は、既存の一般的な賠償責任に関する法制度で対処している。民事賠償制度は各加盟国によって決められるものであるため、共存からくる賠償制度は各国で異なることが予想される。他の法制度が各国で異なるのと同じである。他の国では、この混入被害のための損害賠償または引き当ての制度を計画してい

るところもある。

また、隔離措置をどの程度まで徹底するか点においても違いがみられる。ある国では、委員会の勧告に沿った形で、欧州の混入表示の基準閾値に収まるように共存措置を定めているところがある。他の国では、GMOの偶発的混入の閾値に明確な基準を設けなかったり、欧州の基準を下回るものであったりする。

GM作物が、常に共存措置や強制力のある法律を伴って導入されているわけではない。スペインの場合は、規制は必要ないとされている。市場が肥料用GMコーンのGM・非GMの区別を求めてないからである。全体としての共存措置のための法的な枠組みは進展したが、品種別のほ場での共存対策は遅れている。ほとんどの国では、数種類の品種のみに対策があるだけである。これは、品種によって共存措置のための科学的な研究成果にばらつきがあるためである。今の時点で唯一認可が降りているコーンに関しては、非常に多くの研究結果や経験が存在する。GM・非GMコーンの隔離対策は、個別栽培農家が実行可能であり近隣農家の協力を得ることができるといった技術的な対策によって達成されている。しかし、欧州の農家の置かれている状況は多様である。農場・ほ場の大きさ、栽培方法、輪作とその作付様式、当然、自然条件も違う。この多様性の結果、隔離対策を行う上での費用対効果は違ってくる。ゆえに、その地域の実情に合わせた対策が必要になる。

GM作物の栽培は始まったばかりであり、実際の共存措置を行う上での、運用可能性や費用対効果のデータは限られている。よって、共存を達成するための方法を個別に進展させていくためには、現状の各国別に最大限の裁量を与える方式を維持する必要がある。加盟各国またはその地域内での共存対策は、EUでの法令に合致する必要がある。よって、特定の地域でGMOsを原則的に排除することはできず、共存措置の目的を逸脱した制限を課すことでGM作物を事実上禁止することもできない。欧州委員会は、各国・地域の共存措置の法令化において、EU法令を順守されるように必要な手段を取る。

スペインの例からは、ある加盟国・地域の

領内全体で同じ共存対策を行ったとしても、GM作物の収穫量は違ってくる。これは、農業を行う条件の違い、その土地における関係者の嗜好の差などがあるからである。GM作物の作付け比率が加盟国やその地域内で違うからといって、そのことが、その地域での市場のゆがみを示すものとは言えない。現在、国内での共存措置への取り組みの差の影響は、じゅうぶんに評価できていないのかもしれない。各加盟国の課題は、共存措置が経済的に持続可能なものにしていくことである。これを実現するためには、モニタリングプログラムの結果に合わせて、ほ場に適用される技術的なルールを、柔軟に変えていくことが大切になる。委員会は、加盟国・地域で優勢な個別状況に共存対策を調和させる必要を認識している。しかし、ほ場での経験や研究の成果を最大限尊重した形での健全な科学を元に共存措置が作られるべきであると考え。共存に関する研究の多くは、国家の単位で行われ、情報が集約されていない、そして、必ずしもすべての関係当局で利用可能になっていない。

(将来にむけて)

今まで述べてきた結論をもとに、欧州委員会は、さらなる各国別の共存措置の実施状況を集める必要があると考える。同時に、委員会は共存を確かなものとするために、各加盟国・地域でより積極的な協力をする必要があると考える。経験は少ないが、各国の共存措置の実行について判断を下さなければならぬ。その点からは、現時点で最適化されすぎた方法を取ることは賢明とは思えない。同時に、欧州委員会は以下の行動を取るように(関係者に)要望する。

- 現在ある情報がすべての加盟国・地域で可能になるような努力を継続し、共存に関する関係者間での知識ギャップの解消につとめる事。

なお、COEX-NETにみられるような加盟国・地域での積極的協力の構築が、よりよい活動を生み出すものになっている。

●種子・採種栽培における隔離対策について、利用可能な経済・科学情報を点検・分析。この点検・分析は、隔離対策が市場でどれだけ求められているかという点と、地域別の食

品・肥料の相対的なシェアという2点も考慮に入れるべきである。

●2006年を始めとして、加盟国・地域の当局と関係者は共同で、品種毎の助言を出せるように、隔離対策の技術的な面でのベストプラクティスの推進。スペインや他の加盟国・地域でのGMコーンの商業栽培の経験が、この対策の推進には大変重要である。地域の要素による影響を考慮されることになるだろう。ほ場の平均面積、品種別の割合などである。これは、加盟国・地域での一般的な隔離対策への意見の集約に影響を与えることになる。

●委員会は、各国・地域でGM・非GM作物の偶発的混入に適用される法制度を考慮しながら、各国・地域での民事賠償制度を収集・検討。この収集された情報は、共存にまつわって発生する責任と賠償の制度が多様化する場合のその有用性と潜在的な効果に役立つ。

●2008年に、委員会は欧州議会と閣僚理事会に、上記で記した活動の経過を報告する。また、各国・地域で更新された共存措置の進展・実行状況についても報告する。

以上が、2006年共存方策に関する各国の実施状況に関する報告の概要であるが、その後、2007年におけるEU主要国の共存措置に関する現状を表2に示す。2006年の報告書がだされた段階では、2008年中にも、委員会から理事会への各国の共存措置に関する報告が行われ、これを受けて、欧州全体での共存対策への新たな指針が、2009年以降でされる予定であったが、今のところ、各国での取り組みの報告が遅れており、新たな指針作りへの動きはみられていない。

なお、国によっては、GMOフリーゾーンなど厳格なGMO規則を作っていたり、セーフガード条項を発動したりして、自国内での対象GMOの禁止をしたりしているケースもある。2008年11月のNature BiotechnologyにだされたDevos博士らの"Coexistence in the EU-return of the moratorium on GM crops?"という記事³⁾の中で、

当初できた共存政策は欧州のモラトリアム解禁に貢献するものであったのだが、現在

では、GM 作物の新たな障害になり始めていることだ。いくつかの地域では、Bt トウモロコシの偶発的な混入を許容しようとする政治的な意志はほとんど見られない。偶発的な混入の許容を全く認めない条件を採用した地域で、唯一の共存の事前共存措置として導入したのは、広範囲で固定的な隔離距離だけである。これでは、国・地域レベルで、モラトリアム解禁時への後戻り、またはその状態の続行を意味することになりかねない。との総括があり、共存実行に向け経済的な価値との釣り合いの議論も含め、今後の EU の各国の共存に関する取り組みは注視してゆく必要があると思われる。と記されている。

2. コーデックス（国際食品規格委員会）の動向について

2007年9月のコーデックスバイオテクノロジータスクフォース(TFFBT)で、組換え動物評価指針、栄養改変植物評価指針、低レベルで存在する未承認組換え植物評価指針の3つの指針が議論され、何れも議論が尽くされタスクフォースとして採択された。「組換え動物」は倫理問題、「栄養改変」は議論が紛糾するコーデックス栄養部会との関係、「低レベル混入」は特に貿易に関わり、何れも非常に紛糾が予想される議題であった。これがほぼ一回の議論で合意に達したのは、作業グループでの効率的な議論と加盟国の指針を完成したいと云う強い意志があった為と考えられる。

特に「低レベル混入」については、輸出側の米国、輸入側のEU、何れの側も（特に関係産業界）regulatory costの面から問題を抱えており、早急にルールが欲しいと考えていた状況がある。又、EUの”co-existence”の導入はこの問題を避けて通れない状況にした。

「低レベル混入」指針のポイントは、「低レベル混入をリスク管理ではなくリスク評価として捉え、必要な項目についてのみ評価する」と同時に「生産者（国）は組換え作物の必要なデータを提供する」と言う2つの要素からなっている点である。従って、「低レベル混入」指針の合意には情報提供が必須であった。

OECDはBIOTRACK ONLINEの作業の中で加盟国が認可した組み換え穀物にコード番号

(unique identifier)を付け、産物に関するコンタクトポイントの情報も含めwebペー

スのデータベースを提供していた。このシステムは、ほぼコーデックスで提案した内容そのものであった為、FAOがこのシステムを利用し、webベースのデータベース提供を行う事となった。2つの性質の異なる国際機関の協力として記念すべきものとなった。

なお、「低レベル混入」に関する閾値の決定は、各国のリスク管理にゆだねられることになったが、今後遺伝子組換え食品の検査法の整備、国際的ハーモナイゼーションも重要となってくる。コーデックスの第29回分析・サンプリング法部会(CCMAS)(2008年3月開催)で、議題6で、バイオテクノロジー応用食品の検出と同定に関する分析法の規準に関する概要が討議され、第30回(2009年3月開催)のCCMASから、新規作業として議論することの合意が得られた。第30回CCMASで上記議題(バイオテクノロジー応用食品の検出と同定に関する分析法の規準に関する概要)に関する議論が、ステップ1/2/3として開始された。今後のCCMASの議論の進展を見守ってゆき、必要に応じてコメントを提出してゆくことが重要と思われる。

3. 新規産生タンパク質であるバチルス害虫毒素タンパクに対する抗体作成について

(i)害虫毒素タンパクの保存された領域の検索

害虫毒素(cry)タンパクのアミノ酸配列を並べたものを図1に示すが、保存された領域が2か所見出された。図1(B)に示す配列は(A)の配列よりも抗原性が高く、タンパク分子の表面に露出している可能性も高いと予測された。そこで、市場に出ているGM作物の中で一番広く使われているCry1Abのこの領域の配列を抗原に選んで、ペプチド合成し、うさぎポリクローナル抗体作成を行った。

(ii)Cryタンパク質とCryペプチド抗体とのイムノプロットング

図2に示すように、Cry1Ab、Cry1F、Cry3Bb1のすべてのレーンにおいて約70kDaのタンパクと抗体との結合が確認された。

D. 考察

1. 欧州の表示基準並びに共存施策の政策動向について

欧州の共存施策に関しては、2008 年中にも、委員会から理事会への各国の共存措置に関する報告が行われ、これを受けて、欧州全体での共存対策への新たな指針が、2009 年以降にされる予定であったが、今のところ、各国での取り組みの報告が遅れており、新たな指針作りへの動きはみられていないので、今後の動向を見守る必要があると思われる。

2. コーデックス（国際食品規格委員会）の動向について

第 30 回 CCMAS でバイオテクノロジー応用食品の検出と同定に関する分析法の規準に関する概要に関する議論が、ステップ 1/2/3 として開始された。今後の CCMAS の議論の進展を見守ってゆき、必要に応じてコメントを提出してゆき、分析法の国際的ハーモナイゼーションに貢献してゆくことが重要と思われる。

3. 新規産生タンパク質であるバチルス害虫毒素タンパクに対する抗体作成について

本研究で作成した抗体はバチルス害虫毒素 (Cry) タンパク質を広く認識できることが確認された。今後、CP4-EPSPS (5-enolpyruvyl-shikimate-3-phosphate synthase) や PAT (phosphino-thricin acetyltransferase) を認識する抗体と合わせて使用すれば、GM 作物のかなりの部分をタンパク質レベルで検知できると期待される。

今後は組換え Cry タンパクを精製してタンパク質を定量した後に SDS-PAGE にかけてイムノブロッティングを行う予定であり、今回作成した抗体について Cry タンパク質の種類ごとの検出限界や認識の選択性を調べたい。

また、今回作成した抗体と、変成させずに精製した組換え Cry タンパク質を抗原として使用して ELISA が行えるかを試したい。ELISA による測定が可能であれば、イムノブロッティングよりも簡便な方法で GM 作物のスクリーニングができることが期待できると思われる。

E. 結論

本分担研究では、(1)組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査を行うこと、(2)コーデックス（国際食品規格委員会）の分

析・サンプリング部会 (CCMAS) 等の国際的機関における遺伝子組換え食品測定法のハーモナイゼーションに向けた議論を把握すること、(3)粒測定法に適用可能な抗体を用いる新規産生タンパク質の検査法の開発を行うことを目的に検討を行った。具体的には、(1)組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査では、諸外国の組換え食品の表示にも大きな影響を与える欧州の表示基準並びに共存施策の政策動向につき焦点をあてて調査を行い、共存施策に関する EU 各国の取り組みに国により違いのあること、EU としてのまとめの作業が予定より遅れていることより、今後の動向を見守る必要があることが確認された。(2)コーデックス関連では、2009 年 3 月に行われた 30 回 CCMAS の審議において、バイオテクノロジー応用食品の検出と同定に関する分析法の規準に関する概要に関する議論が開始したことが確認された。(3)粒測定法に適用可能な抗体を用いる新規産生タンパク質の検査法の開発では、バチルス害虫毒素タンパクの保存領域を認識するポリクローナル抗体を作成し、複数のバチルス害虫毒素タンパク質を検出できることを確認した。

参考文献

- 1) "Guidelines for the development of national strategies and best practices to ensure the co-existence of genetically modified crops with conventional and organic farming"
http://ec.europa.eu/agriculture/publi/reports/coexistence2/index_en.htm
- 2) "Report on the implementation of national measures on the coexistence of genetically modified crops with conventional and organic farming"
http://ec.europa.eu/agriculture/coexistence/com104_en.pdf
- 3) Y.Devos, Demont M., Sanvido O., Coexistence in the EU-return of the moratorium on GM crops ? Nature Biotech. 26(11), 1223-1225 (2008)

F. 健康危険情報 なし

G. 研究発表

1. 学会発表

1) Hiroshi Akiyama, Kozue Sakata, Kazunari Kodo, Asako Tanaka, Ming S. Liu, Taichi Oguchi, Satoshi Furui, Kazumi Kitta, Akihiro Hino, Reiko Teshima: Individual detection of genetically modified maize varieties in non-identity preserved maize samples 1st global conference on GMO analysis (June 2008, Italy)

2. 論文発表

1) H. Akiyama, K. Sakata, K. Kondo, A. Tanaka, S. M. Liu, T. Oguchi, S. Furui, K. Kitta, A. Hino, R. Teshima: Individual detection of genetically modified maize varieties in non-identity-preserved maize samples. *J. Agric. Food Chem.*, 56, 1977 (2008).

2) T. Oguchi, M. Onishi, Y. Chikagawa, T. Kodama, E. Suzuki, M. Kasahara, H. Akiyama, R. Teshima, S. Futo, A. Hino, S. Furui, K. Kitta. Investigation of residual DNAs in sugar from sugar beet (*beta vulgaris L.*). *日本食品衛生学会誌* 50(1), 41-46 (2009)

3) 手島玲子: 遺伝子組換え食品、食品衛生学雑誌 49(4), J-269-J274 (2008)

H. 知的財産権の出願・登録状況

なし

表 1

EUの共存方策の政策動向

欧州委員会の動き

- ・ 2003年7月 共存に関するガイドラインを公表
- ・ 2006年3月 共存方策に関する各国の実施状況に関する報告
- ・ 2008-9年 再度、実施状況を欧州理事会へ報告

共存に関する欧州全体の動き

- ・ 欧州における共存に関する第1回国際会議(GMCC-03) (デンマーク農業科学研究所の主催) 2003.11デンマーク
- ・ 欧州における共存に関する第2回国際会議(GMCC-05) 2005.11 フランス
- ・ GMOの共存:選択の自由シンポジウム(欧州委員会農業総局・オーストリア政府共催) 2006.4 ウィーン
- ・ 欧州における共存に関する第3回国際会議(GMCC-07)(欧州委員会、JRC) 2007.11 スペイン

行政機関の情報交換

- ・ COEX-NET:欧州委員会決定(2005/463/EC)により設置、加盟国における共存方策に関する情報交換を行うためのネットワーク 2005年9月22日に初会合

表2 EU主要国の共存措置に関する現状

	法制度	
デンマーク	●	ライセンス制、事前通告は関係者に広く、基金を設立
ドイツ	●	3ヶ月前に申請、地区登録・公表 民事上の損害芭蕉制度
オランダ	●	毎年申請を行う。優良規範制度の遵守 関係者による基金の設立
オーストリア	●	州単位での共存措置。小規模、有機農家への配慮
フランス	●	法案が今年5月通過。隔離規制(50m)、栽培地の登録、賠償規定はなし
イギリス		GMOに関するフィールド調査(部署はDefra)。今年・来年に共存措置を予定
イタリア	●	大統領令で施行。地域に権限を委譲。地域ではGMフリーゾーンを主張する所も
スペイン		90年代から、GMOコーンの栽培が盛ん。共存法はドラフト段階。
ギリシャ		共存規定の議論はあるが、GMOへの反対が強く、GMフリーゾーンを適用してる。
フィンランド		反対論は強くないが、気候的に栽培に向けた作物がない
他に、ポルトガル、スロバキア、チェコなどが共存法を制定してる。		

農業生物資源研究所 第5号(立川雅司) 2005年8月、www.gmo-compass.org/eng/news/country_reports/ 2007年3月 から作成

図1 バチルス害虫毒素(Cry)タンパク質の保存された領域の検索

(A)

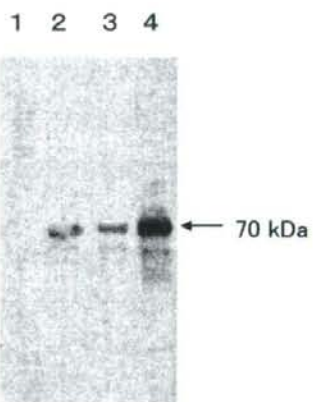
```
                232                242
Cry1Ab: FRRELTTLTVLD
Cry1Ac:
Cry1F:      D
Cry3A:  Y    M
Cry3Bb1:    M
```

(B)

```
                521                532
Cry1Ab: QRYRVRIRYAST
Cry1Ac: T      V      V
Cry1F:      A
Cry3A:  K    A    H
Cry3Bb1:    A
```

(A)、(B)に示す2つの領域が見出された。アミノ酸配列の位置はGM作物に導入されたCry1Abに基づいて番号を付けた。

図2 図1(B)に示したCry1Abの配列を抗原にして作成した抗体を使用したイムノブロットイング



レーン1: 分子量マーカー、レーン2: Cry1Ab、レーン3: Cry1F、レーン4: Cry3Bb1

スタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究

研究分担者 穂山 浩 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部 室長

研究要旨

従来の検知法は輸入ロット単位の粉砕物を対象とし、内在性遺伝子と組換え遺伝子のコピー数を定量して混入率を算出するスクリーニング検査であるため、複数の導入形質を有する組換え体が含まれる場合、正しい混入率を算出することが困難であった。正確な混入率を導き出すためには一粒毎に検査することが望ましく、我々はスタック品種を含む多種の遺伝子組換えトウモロコシ一斉検知のための粒単位検査法を確立している。本研究では、我々が既に確立した粒単位検査法について、Real-time PCR を有する国内 5 機関におけるバリデーション試験を実施した。判定試験法は、一粒ずつ個別に粉砕し DNA 抽出を行い、(1) Multiplex Real-time PCR を用いた定性検査 において遺伝子組換えの有無を判定し、陽性判定の検体については (2) 9-plex PCR による定性検査 による系統判別を行うものである。この結果から本粒検査法はリアルタイム PCR の機種や機関の操作誤差に関係なく、頑健に GM 粒を検知可能であることが確認された。以上の結果より、粒検査法の妥当性が確認されたと判断した。

協力研究者

坂田こずえ、牧山太樹（国立医薬品食品衛生研究所）、中島安基江（広島県立総合技術研究所保健環境センター）、小川麻子（横浜検疫所輸入食品・検疫検査センター）、山岸亨（神戸検疫所 輸入食品・検疫検査センター）、布藤聡（(株) ファスマック）、小口太一、橘田和美（(独) 農研機構 食品総合研究所）

A. 研究目的

近年の遺伝子組み換えトウモロコシ品種の作出数増加と輸出生産国における組前品種の生産量増加に伴い国内での分別・不分別流通実態について確認する必要が高まってきた。5% を閾値としてそれ以上の組換え体の混入が判

明した場合、積み戻し・食外転用・廃棄などの法的処理が適用されるが、従来の検知法は輸入ロット単位の粉砕物を対象とし、内在性遺伝子と組換え遺伝子のコピー数を定量して混入率を算出するスクリーニング検査であるため、複数の導入形質を有する組換え体が含まれる場合、正しい混入率を算出することが困難であった。正確な混入率を導き出すためには一粒毎に検査することが望ましく、すでに我々はスタック品種を含む多種の遺伝子組換えトウモロコシ一斉検知のための粒単位検査法を確立している。

本研究では、我々が既に確立した粒検査法について、Real-time PCR を有する国内 5 機関におけるバリデーション試験を実施した。粒検

査法は、一粒ずつ個別に粉碎しDNA抽出を行い、
(1) Multiplex Real-time PCR を用いた定性検査 において遺伝子組換えの有無を判定し、陽性判定の検体については (2) 9-plex PCR による定性検査 による系統判別を行うものである。

B. 研究方法

トウモロコシ一粒粉碎モデル試料 (non-GM トウモロコシ、GM トウモロコシ 2 種の合計 3 種類) 専用破碎チューブ (ST-0350F-0)、磁性体メタルコーン (MC-0316)、粉碎装置、専用遠心機、以上すべて安井器械㈱を用いた。DNA 抽出キット (DNeasy 96 Plant Kit : QIAGEN、90 粒一試験分)、バキュームキット (QIA-vac)、ポンプ、以上すべて QIAGEN 製を用いた。

Primer pairs および Probes のうち SSIIb-3 (25 μ M each)、GA21-3 (25 μ M each)、P35S-1 (25 μ M each)、GA21-taq (10 μ M each)、P35S-taq (10 μ M each) はすべて NIPPON GENE 社製を用いた。SSIIb-taq (10 μ M each) は Applied Biosystems 社に合成依頼した。9-plex 用 primer mixture はグライナーに合成依頼した。Universal Master Mix (x2)、AmpliTaQ Gold は Applied Biosystems 社のものを用いた。

粒検査法のバリデーション試験は粒試験と系統判別試験の 2 段階で行った。粒試験は、粉碎したトウモロコシ粉碎物の 1 粒相当量を分注した 90 チューブ、試験プロトコール及び必要試薬・機器を国立衛研から参加 5 機関に配付した。配付した試料 90 チューブの内訳は、各機関とも非 GM トウモロコシ (Non-GM) 86 チューブ、GM4 チューブにした。GM4 チューブの内訳は粉碎 MON810 系統トウモロコシを分注した 2

チューブ、MON810×NK603 トウモロコシを分注した 2 チューブにした。3 品種のトウモロコシはそれぞれ個別に粉碎し、均一試料とした。それぞれ専用破碎チューブに一粒平均重量 0.37 g ($\pm 10\%$ の許容誤差) ずつ測りとり、磁性体メタルコーン一個を加え封したものをモデル試料とした。試料 90 チューブにはそれぞれ番号を記載し、ブラインド試料とした。配付各機関で 1 チューブずつ個別に DNA 抽出を行い、Multiplex Real-time PCR を用いて測定し GM 試料数を算出した¹⁾。GM 試料と判断した試料番号と測定データを回収した。次に系統判別試験は、各機関で GM 試料と判断された粒試料からの DNA 抽出液を用いて、9-plex PCR 試験²⁾を実施し、トウモロコシ系統判別を行い、結果を回収した。

バリデーション参加 5 機関においては、送付試料の DNA 抽出からの操作を行い Multiplex Real-time PCR において陽性 (GM) と判定した DNA 試料液 (4 sample) について、9-plex PCR 法により系統判定を試行した。

C. 研究結果

5 機関のバリデーション試験の前に、国立衛研で ABI PRISM™ 7900 及び ABI PRISM™ 7500 の 2 機種で粒試験法の頑健性を確認した。その結果、non-GM の 86 チューブ、MON810 の 2 チューブ及び MON810×NK603 の 2 チューブ、合計 90 チューブから抽出した DNA 溶液について、2 機種共に粒試験が頑健に行われることを確認した。リアルタイム PCR の機種は参加 5 機関が各々所有している機種を用いて試験を行った。内訳は ABI PRISM™ 7900 は 3 機関及び ABI PRISM™ 7500 は 2 機関であった。non-GM 試料及