

201033014A

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22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23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 （参考資料：GE動物と食品表示の倫理（まとめ） 手島 玲子	7 18
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	20
3. 遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する研究 吉川 肇子	28

III. 研究成果の刊行に関する一覧表	51
---------------------	----

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に関する心理学実験及び聞き取り調査について、3) スタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究並びに実態調査、ならびに、4) 組換え食品の表示に関する国際的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

穉山 浩 国立医薬品食品衛生研究所
代謝生化学部 室長

のところ、スタック 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碎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。

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、単一系統をかけた合わせたスタック 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 50 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、粉碎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しまうため、2 国間の貿易障壁になる恐れがある。現在

従って食品衛生法と JAS 法の整合性を図り、食品衛生法上の遺伝子組換え(GM)食品の表示、並びに消費者への受けとめられ方に関して、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、科学的知見に基づく情報を得ることを目的とする。

B. 研究方法

遺伝子組換え食品の表示のあり方等に関するヒアリング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磯山班員、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バリデーション試験では、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

①遺伝子組換え食品についての海外の動向：

イギリスのサリー大学については、遺伝子組換え食品を含む新しい食品技術のリスクとベネフィットについて、本年度より5年計画で研究計画が開始された。この研究には、EU 諸国の研究機関が参画している。彼らの関心は、必ずしも本研究班の課題と一致しないところもあるが、本研究班の課題と一致するものについて、協力して調査を行い、データを共有することとした。本年度に

ついては、食品関係の利害関係者について、非構造化面接を行う計画であるが、その一部について、日本においてもフォーカス・グループインタビューでデータを収集することにした。また、非構造化面接の質問項目のうち、調査対象者の負担が大きい項目については、日本側はインターネット調査で代替することとした。

スイスのチューリッヒ工科大学では (Visschers, Hess and Siegrist (2010)) はアイカメラを用いた消費者の商品パッケージの視線の動きの研究を行っている。彼らの研究結果によれば、実験参加者が健康に関する動機づけをされたときの栄養情報への視線の動きが異なることが明らかになっている。実験参加者を2つの群に分け、ひとつは栄養動機群として、幼稚園用に商品を選ぶという課題を課し、もう一方は味覚動機群として大学のカフェテリア用に商品を選ぶという課題を課した。商品は実験国であるスイスのスーパーで売られている5種類のコーンフレークが使用された。栄養動機群の実験参加者は、味覚動機群の実験参加者よりも長く、また多い回数栄養情報を見ているという結果であった。大学カフェテリア用のグループはデザインやロゴなどの栄養以外の情報に一番長い時間注目していた。また、シンプルなデザインのパッケージや、栄養情報を強調したパッケージの商品ほど栄養表示への注目が多かった。このことよりパッケージのデザインも栄養表示への注目に関係することがわかった。この研究により、健康への動機づけとパッケージのデザインが消費者の食品の栄養情報への注目を促すことが明らかになった。

彼ら以前の栄養表示に関する研究では表示にどの程度注目しているかどうかは、自己報告がほとんどである。また、本研究班の昨年度までの研

究は、表示をスクリーン上に投影して表示への注目を測定していたが、本年度はチューリヒ工科大学と同様、手元で実際の商品を手にとって見るという状況で実験を行うこととした。

以上、本年度は、イギリス・スイスの2大学と研究内容を調整しながら研究を進めることができた。

② 遺伝子組換え食品の表示に関する心理学実験及び聞き取り調査について:

心理学的実験としては、昨年と同様、アイカメラを用いた研究を行った。2010年10月から11月に実験を行った。実験参加者は男性5名、女性14名の計19名(アイカメラのキャリブレーションが取れなかった人を含め26名)の大学生であった。被験者の平均年齢は21.3歳(範囲:20-27歳)であった。なお、全ての被験者の裸眼視力もしくは矯正視力(コンタクトレンズ、眼鏡)は正常であった。

眼球運動は、NAC アイマークレコーダーEMR-8によってハードディスクレコーダー(Pioneer DVD RECORDER DVR-99H)に記録した。サンプリングレートは60Hzであった。実験に使用する商品は、実験参加者の前の机に1カテゴリーずつ3商品を並べて提示した。学童保育条件と大学サークル条件とに分けた課題が、商品の栄養への関心に関係したかどうかを確認した。

また、分析方法は商品パッケージの注視範囲を栄養表示、成分表示、パッケージの栄養情報、その他の4つに分類し、栄養表示の注視時間と注視回数、成分表示の注視時間と注視回数、パッケージの栄養情報の注視時間と注視回数、総注視時間を分析した。その結果、商品ごとの栄養表示、成分表示、並びにパッケージの栄養情報への注視時間

において、学童保育条件と大学サークル条件において有意な交互作用は見られなかった。

次いで、聞き取り調査においては、一般消費者に対するフォーカス・グループインタビュー(女性対象者は、中学生以下の子を持つグループと子供を持たないグループの1グループあたり6人からなる2グループ、男性対象者は20-40代の成人男性6名から構成されるグループ)、及び加工食品を取り扱う事業者6名に対する個別インタビューを行った。

新しい食品技術として、最も名前が挙がったのは遺伝子組み換え技術であり、その名前の浸透度は高かった。また店頭でも目にしている人がほとんどであり、市場にも浸透している様子が伺えた。

しかし、遺伝子組み換えがどんな技術なのかわからない、新しい技術であるため長期間の摂食による身体への将来的な影響や遺伝子レベルへの影響などが実証されていない、と感じられておりまたそうした説明情報もほとんどないことに不安が感じられていた。

遺伝子組み換え食品の安全性に対しては安全性が低いと考えている人が多く、外食など自分で選択できない場面は仕方がないとあきらめているものの、遺伝子組み換え食品をできるだけ購入しないようにしている人がほとんどである。

遺伝子組み換え食品の利益は「虫が付きにくい/病気になりにくい」などの安全面でのメリットのほかに、「年中作れる/長持ちする」などの保管機能、「生産原価が安い」といった経済的メリットが挙げられた。

反対にリスクとして「人間の遺伝子にも影響がありそう/将来的な発がん性が気になる」などの健康面でのリスクのほかに「何が悪いのか悪いのかわからない/わからないことが怖い」など、リ

スクがわからないことにリスクを感じているという意見もあった。

行政の規制は適切に行われていると感じる人と行われていないと感じる人とに分かれた。適切に行われていると感じる人は日本人の食への関心の高さゆえに他の国に比べてきちんとした管理がされていそう、流通しているからにはそれなりの基準をクリアしているのではないかという印象が持たれていた。

一方で、行政の規制が不十分と感じる点としては製造に関与していない故の知識不足の可能性が挙げられていた。「きちんとした説明ができていない」ことも行政の知識不足を疑う要因となっている。

新しい技術だからきちんと管理するのではないかという期待感を持つ人がいる反面、未知の部分があり、どうしても完璧には出来ないのではないかという不安を持つ人もいた。

③スタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究：

本研究では、(1)平成21年度までに妥当性確認を行った粒単位検査法を用いて、2009年度産の不分別トウモロコシ5検体の混入率及び系統判別分析への応用を行い、また、(2)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った。

(1)2009年度産の不分別トウモロコシ5検体の混入率及び系統の実態調査：具体的には、試作した半自動DNA抽出装置を用いて不分別トウモロコシ5検体のDNAを粒単位で抽出し、リアルタイムPCRでGMトウモロコシの混入を解析した。試料1は289粒中GM粒が243粒、non-GM粒が46粒で混入率は84.1%であった。試料2は237粒中GM

粒が191粒、non-GM粒が46粒で混入率は80.6%であった。試料3は212粒中GM粒が169粒、non-GM粒が43粒で混入率は79.7%であった。試料4は221粒中GM粒が189粒、non-GM粒が32粒で混入率は85.5%であった。試料5は229粒中GM粒が181粒、non-GM粒が48粒で混入率は79.0%であった。2005年度産の調査時の、GM混入率及びスタック種の混入割合は、51%、12%であり、今回2009年度産の調査結果は、2005年度の調査時より、高い傾向を示した。上記で抽出したDNAを2種類のMultiplex PCR法とリアルタイムPCRアレイ法を用いて系統分析を検討した。5検体におけるGMの混入率は類似していたが、各GM系統の混入系統の割合は異なっていた。試料1,2,4,5の単一系統の混入頻度の高い主なものはMON88017系統(グリホサート除草剤耐性(CP4-EPSPS 導入)及びコウチュウ目害虫抵抗性(Cry3Bb1 導入))、NK603系統(グリホサート除草剤耐性(CP4-EPSPS 導入))が主であった。試料3は、MON810系統(チョウ目害虫抵抗性(Cry1Ab 導入))、NK603系統(グリホサート除草剤耐性)が主であった。

また、各試料中でスタック種の割合は、試料1で28.4%、試料2で43.5%、試料3で34.4%、試料4で44.3%、試料5で26.2%であったが、スタックを構成する系統は、以下の通りであった。試料1,2,4,5のスタック種の混入頻度の最も高いものはMON810系統(チョウ目害虫抵抗性)とMON88017系統(グリホサート除草剤耐性及びコウチュウ目害虫抵抗性)の掛け合わせ品種であり、試料3のスタック種の混入頻度の最も高いものはMON810系統(チョウ目害虫抵抗性)、NK603系統(グリホサート除草剤耐性)の掛け合わせ品種であった。

以上、GMの系統判別では、MON88017系統(グリ

ホサート除草剤耐性及びコウチュウ目害虫抵抗性)が主流の粒であることが判明した。スタック品種では MON810 系統(チョウ目害虫抵抗性)と MON88017 系統の掛け合わせ品種が主流であった。

(2) 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: 除草剤耐性酵素 CP4-EPSPS, PAT およびバチルス害虫毒素タンパク Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1 に対するポリクローナル抗体を用いて、ELISA の系の構築を行った。本研究で作成した除草剤耐性酵素 (CP4-EPSPS, PAT) に対する抗体 2 種、バチルス害虫毒素 (Cry) タンパク質 (Cry1Ab, Cry3Bb1, Cry1Ac) に対する抗体 3 種は、感度が高く、サンドイッチ ELISA で、10ng/ml の感度を有していた。また、今回測定対象とした新規産生タンパク質は、現在流通している主な遺伝子組換え (GM) 植物に広く用いられているものであり、GM 植物の検出に有用であると考えられた。

また、サンドイッチ ELISA を原理とする新規タンパク質用 BIST で、新規タンパク質 4 項目 (CP4-EPSPS, PAT, Cry3Bb1, Cry1Ab) 同時検出を実現することの可能性を示すことができたことは、今後、ELISA 法の粒検査法への応用を可能とする有用な方法と思われる。各種抗原に対する単クローン抗体の作成も進んでおり、抗体の安定供給を行ううえで、有用であると思われる。

④ 組換え食品の表示に関する国際的動きに関する調査研究:

組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査では、組換え動物の食品としての開発の動向並びに表示に対する消費者の反応につき焦点をあてて調査を行い、2010 年に FDA が組換えさけに関する科学諮問委員会と AquAdvantage Salmon 由来の食品のラベル表示に関する公聴会を開催し

たとの情報が得られた。

組換え動物の表示に対しては、まだ、組換え動物が食品として開発されてきた例は、少ないため、消費者の反応に関する情報は、まだ多くは集められていない。米国の研究者による調査資料では、どちらかという、組換え植物の場合よりも、倫理上の問題もあり、組換え動物の表示に関しては、より厳密な表示を求める傾向が強いようである。今後、組換え植物ばかりでなく、組換え動物の表示に関する議論も盛んになってくるものと思われる。組換え動物の表示に関しては、組換え植物の場合と違い、環境要因及び倫理の問題も関係してくるため、慎重な対応が必要と思われた。

GM 食品全般の表示の国際的ハーモナイゼーションの動きとして、コーデックスのコーデックス食品表示部会 (the Codex Committee on Food Labelling, CCFL) の動きについて調査を行った。1991 年、コーデックス総会は表示部会に遺伝子組換え食品の表示に関する作業を依頼し、爾来 20 年近くなるが、表示部会での結論は得られていない状況で、平成 22 年 5 月 3 日～7 日、カナダケベック市で開かれた第 38 回会議でも、結論は得られず、継続審議となった。すなわち、冒頭文書案について、議長が提案したブラジル案の修正案 (冒頭文書案 1- 表示規制は各国において異なることを示すこと)、及び非公式会合による代替案 (冒頭文書案 2- 遺伝子組換え食品に関する表示制度は各国で異なっているが、本文書は、既存のコーデックス文書で遺伝子組換え食品の表示に関する重要な要素を編纂することのみを目的としている。この文書は、遺伝子組換え食品が、その生産方法を理由に、他の食品と異なっていることを想起させることを目指しているわけではない) について、ステップ 3 として、各国のコメン

トを求めることとなった。なお、コーデックス執行委員会は2-3年以内にこれに決着を付ける事を求めている状況である。

E. 結論

(1) 遺伝子組換え食品についての海外の動向：現状および今後の動きについて、国内外の関係者のヒヤリングを行い、本年度は、イギリス・スイスの2大学と研究内容を調整しながら研究を進めることができた。

(2) 遺伝子組換え食品の表示に関する心理学実験及び聞き取り調査について：アイカメラを用いた心理学的実験から、商品ごとの栄養表示、成分表示、並びにパッケージの栄養情報への注視時間において、学童保育条件と大学サークル条件において有意な交互作用は見られなかったという結果が得られた。また、国内の消費者、事業者を対象とした聞き取り調査においては、新しい食品技術として、最も名前が挙がったのは遺伝子組み換え技術であり、その名前の浸透度は高く、また店頭でも目にしている人がほとんどであり、市場にも浸透している様子が伺えた。しかし、遺伝子組み換えがどんな技術なのか分からない、新しい技術であるため長期間の摂食による身体への将来的な影響や遺伝子レベルへの影響などが実証されていない、と感じられており、またそうした説明情報もほとんどないことに不安が感じられていた。

(3) スタック品種遺伝子組換え食品の検査法に関する研究：

(i) 平成20年度に妥当性が確認された粒単位検査法を用いて2009年度産の不分別トウモロコシ5

検体の混入率及び系統判別分析に応用した。5検体の混入率の結果は、平成21年度に妥当性が確認された粒単位検査法を用いて2009年度産の不分別トウモロコシ5検体の混入率及び系統判別分析に応用した。5検体の混入率の結果は、試料1は84.1%、試料2は237粒分析で80.6%、試料3は212粒分析で79.7%、試料4は221粒分析で85.5%、試料5は229粒分析で79.0%であった。GMの系統判別では、MON88017系統(グリホサート除草剤耐性及びコウチュウ目害虫抵抗性)が主流の粒であることが判明した。スタック品種ではMON810系統(チョウ目害虫抵抗性)とMON88017系統の掛け合わせ品種であった。

(ii) 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、除草剤耐性酵素CP4-EPSPS, PATおよびバチルス害虫毒素タンパクCry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1に対するポリクローナル抗体を用いて、サンドイッチELISA系を確立し、更に複数同時測定可能な簡易型のサンドイッチELISAを原理とするBIST (Bead Array in Single Tip)法を構築し、CP4-EPSPS, PAT, Cry1Ab, Cry3Bb1 4項目の同時測定が可能な良好な結果が得られた。

(4) 組換え食品の表示に関する国際的動きに関する調査研究：組換え動物の食品としての開発の動向並びに表示に対する消費者の反応につき焦点をあてて調査を行い、2010年にFDAが組換えさけに関する科学諮問委員会とAquAdvantage Salmon由来の食品のラベル表示に関する公聴会を開催したとの情報が得られた。今後、組換え植物ばかりでなく、組換え動物の表示に関する議論も盛んになってくるものと思われる。

F. 健康危険情報

なし

G. 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）の表示部会(CCFL)等の国際的機関における遺伝子組換え食品表示に向けた議論を把握すること、(3)粒測定法にも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、組換え動物の食品としての開発の動向並びに表示に対する消費者の反応につき焦点をあてて調査を行い、2010年にFDAが組換えさけに関する科学諮問委員会とAquAdvantage Salmon由来の食品のラベル表示に関する公聴会を開催したとの情報が得られた。今後、組換え植物ばかりでなく、組換え動物の表示に関する議論も盛んになってくるものと思われた。(2)コーデックス関連では、2010年5月に行われた38回CCFLの審議の動向につき調査を行ったが、バイオテクノロジー応用食品の表示に関しては、部会での結論が得られず、継続審議となったとの情報が得られた。(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、除草剤耐性酵素CP4-EPSPS、PATおよびバチルス害虫毒素タンパクCry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1に対するポリクローナル抗体を用いて、サンドイッチELISA系を確立し、更に複数同時測定可能な簡易型のサンドイッチELISAを原理とするBIST(Bead Array in Single Tip)法を構築し、CP4-EPSPS, PAT, Cry1Ab, Cry3Bb14項目の同時測定が可能な良好な結果が得られた。

協力研究者

中島 治、中村 里香

(国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部)

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、国際的バリデ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3つの部分からなる。

第1は、遺伝子組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査では、組換え動物に関する開発状況並びに諸外国の食品の表示に対する考え方に焦点をあてて文献調査等を行った。

第2は、コーデックス（国際食品規格委員会）の表示部会(CCFL)の平成22年度における議論を把握した。

第3は、粒測定法に応用可能な抗体を用いる新

規產生タンパク質の検査法の開発では、除草剤耐性酵素 CP4-EPSPS, PAT およびバチルス害虫毒素タンパク Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1 に対するポリクローナル抗体を用いて、サンドイッチ ELISA 系を確立し、複数同時測定法としては、複数抗体ビーズを用いる多検体同時計測システムである BIST (Bead Array in Single Tip) 法への応用を図った。

C. 研究結果

1. 組換え動物の食品としての開発の動向並びに表示に対する消費者の反応

[I] 組換え動物の食品としての開発の動向

組換え食品のうち、平成 22 年度に、米国において、食用の組換え動物として、AquaBounty Technologies 社の AquaAdvantage Salmon (AAS) (成長ホルモン遺伝子を導入した GM 大西洋サケ)が、FDA の安全性審査が終了し、パブリックコメントを求め、これらの意見を元に最終判断をする状況となっている。これらの状況を踏まえ、組換え動物に関する表示については今後各国で、活発な議論がされてくると思われる。

以下、米国 FDA が、遺伝子組換え (GE) 動物の規制に関するガイドラインを作成し、2009 年 1 月に公表するに至った経緯、概要についてまとめを行う。

(a) FDA の GE 動物の規制に関するガイドライン作成にいたる経緯

(i) FDA は、2008 年 9 月にガイダンス案 (<http://www.fda.gov/cvm/Guidance/guid.187.pdf>) を公表し 60 日間の意見募集を履行した。

(ii) 2009 年 1 月にコメントの要約と FDA の対応は、動物用医薬品センター (CVM) のサイトに掲載した (<http://www.fda.gov/cvm/GEanimals.htm>)。CVM は、初期段階とより完成した段階の両方で GE 動物の作出者と協働予定で、今のところ、GE 動物申請許可の決定について事前に公開で科学諮問委員会を開催する予定である。

(iii) 同じく 2009 年 1 月に GE 動物の規制に関する最終ガイダンス (Guidance for Industry #187 - Regulation of Genetically Engineered Animals Containing Heritable Recombinant DNA Constructs)

(<http://www.fda.gov/cvm/Guidance/fguide187.pdf>) を公表した。

(b) 最終ガイダンスの概要

(i) 「遺伝性 r DNA 構築物を有する遺伝子組換え動物の規制」と題する本ガイダンスは連邦食品・医薬品・化粧品法 (FFDCA) の動物用医薬品の規定による GM 動物の規制に関する業界向け最終ガイダンスであり、FDA の規制権限を明確にし、GE 動物作出者に対し、法の定める義務と責任について勧告するものである。

(ii) 遺伝子組換え (GE) とは、一般的に組換え DNA (r DNA) 技術を用い生物に新しい特性や形質を導入することである。新たな特質の獲得を目的に DNA 片を継ぎ合わせ、その DNA を生物に導入することを r DNA 技術と呼ぶ。継ぎ合わされた DNA 片は、rDNA 構築物と呼ばれる。GE 動物は新たな特性や形質の付与を意図した r DNA 構築物を含む。(iii) 本ガイダンスは GE 動物由来製品の安全性と有効性を確認するための申請の効率的な評価を助けるものである。

(iv) FFDCA では、「ヒトあるいは他の動物の身体構造や生体機能に影響を与えることを意図する (食品以外の) 物品」を医薬品と規定している。GE 動物の r DNA 構築物は、動物の構造や機能に影響を与えることを意図しており、当該動物が食用に意図された、あるいは、ある種の物質を産生するのに用いられるかに係らず、動物用医薬品の定義に合致する。GE 動物開発者は、構築物及び/もしくは挿入された構築物により発現した新規生成物が GE 動物の健康に対する安全性と食用動物であれば食品としての安全性を証明しなければならない。本ガイダンスは、国家環境対策法に基づく環境評価の要件を満たすとの事業者の責任も明記している。

(c) GM 大西洋サケの開発の動向

GM 大西洋サケを開発した AquaBounty Technologies 社は 1994 年からずっと食品として GM 大西洋サケを出荷できるように FDA に求め続けてきたが、FDA は食品としてでなく、動物医薬品として扱ったため、今まで曖昧な状況におかれてきた。それが 2009 年 1 月に公表された GM 動物の取り扱いを定めた産業界向けのガイダンスに始めて食品を想定した GM 動物についての取り扱いが載り、2010 年開催された公開科学諮問委員会につながったと思われる。具体的には、FDA は 2010 年 9 月 19 日から 21 日にかけて公開で AquaBounty Technologies 社が開発し、食品として申請している AquaAdvantage Salmon (AAS) (成長ホルモン遺

伝子を導入した GM 大西洋サケ) に関する科学諮問委員会と AquAdvantage Salmon 由来の食品のラベル表示に関する公聴会を開催した (<http://www.fda.gov/NewsEvents/PublicHealthFocus/ucm224089.htm>)。また、11月22日まで文章による意見を提出することが可能であった。

今回の申請のポイントとして、GM 大西洋サケの定義として、成長がよいことだけでなく、養殖場所等も定義にはいっており、このことから、飼育条件・飼育場所が異なってくると、あらたに申請をし直さなければならず、このことがすぐに他の地域で GM 大西洋サケが養殖されるわけでは無いと思われるが、アメリカ国内における表示に関しては、情報を更に収集する必要がある。

〔II〕表示に対する消費者の反応

組換え動物の表示に対しては、まだ、組換え動物が食品として開発されてきた例は、少ないため、消費者の反応に関する情報は、まだ多くは集められていない。参考資料に示す米国の研究者による調査資料では、どちらかという、組換え植物の場合よりも、倫理上の問題もあり、組換え動物の表示に関しては、より厳密な表示を求める傾向が強いようである。

2. コーデックスの表示部会 (CCGFL) の平成 22 年度における審議の動向について

コーデックス食品表示部会 (the Codex Committee on Food Labelling, CCFL) の動きとしては、1991 年、コーデックス総会は表示部会に遺伝子組換え食品の表示に関する作業を依頼した。爾来 20 年近くなるが、表示部会での結論は得られていない。第 37 回 CCFL 会議が、平成 21 年 5 月 4 日～8 日、カナダカルガリーで開かれたが、結論は得られず、平成 22 年 5 月 3 日～7 日、カナダケベック市で開かれた今回の第 38 回会議¹⁾でも、結論は得られず、継続審議となった。すなわち、冒頭文書案について、議長が提案したブラジル案の修正案(冒頭文書案 1-表示規制は各国において異なることを示すこと)、及び非公式会合による代替案(冒頭文書案 2-遺伝子組換え食品に関する表示精度は各国で異なっているが、本文書は、既存のコーデックス文書で遺伝子組換え食品の表示に関する重要な要素を編纂することのみを目的としている。この文書は、遺伝子組換え食品が、その生産方法を理由に、他の食品と異なっていることを想起させることを目指しているわ

けではない) について、ステップ 3 として、各国のコメントを求めることとなった。なお、コーデックス執行委員会は 2-3 年以内にこれに決着を付ける事を求めている状況である。

3. 新規産生タンパク質の ELISA 原理の同時測定系の開発

除草剤耐性酵素 CP4-EPSPS, PAT およびバチルス害虫毒素タンパク Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1 に対するポリクローナル抗体を用いて、ELISA の系の構築を行った。具体的内容は、以下に記す。

(i) 新規産生タンパク質に対するポリクローナル抗体の作成

粒測定法に応用可能な抗体を作成することを目的とし、大腸菌に発現した除草剤耐性酵素 CP4-EPSPS, PAT タンパク質、害虫毒素タンパク質 Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1 を精製し、免疫抗原として、ウサギに 6 回投与して得たポリクローナル抗体を用いた。なお、CP4-EPSPS, Cry1Ac, Cry3Bb1 に対するポリクローナル抗体は、昨年までに作成しており、今年度、新たに、PAT, Cry1Ab に対する抗体を作成した。Table 1 に、昨年作成したものも含め、今年度のサンドイッチ ELISA に用いた抗体の ELISA による抗体価を示す。

Table 1 本研究で用いた剤耐性並びにバチルス害虫毒素に対する抗体一覧

抗原名	抗体の種類	抗体価 (ELISA)
CP4-EPSPS	polyclonal (rabbits)	60,000
PAT	polyclonal (rabbits)	62,500
Cry3Bb1	polyclonal (rabbits)	65,000
Cry1Ab	polyclonal (rabbits)	60,000
Cry1Ac	polyclonal (rabbits)	22,000

(ii) 除草剤耐性酵素 CP4-EPSPS, PAT およびバチルス害虫毒素タンパク Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1 サンドイッチ ELISA 検出系の確立

除草剤耐性酵素 CP4-EPSPS, PAT、バチルス害虫毒素タンパク Cry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1 に対するポリクローナル抗体を含むウサギ血清 5 mL に、飽和硫酸アンモニウム溶液を等量加えた後、遠心して沈殿タンパク質を回収した。沈殿タンパク質を 0.02 M リン酸バッファー (pH 7.0) に溶解した後、HiTrap Protein A HP (GE Healthcare 社) を用いてポリクローナル IgG 抗体を精製した。精製ポリクローナル IgG 抗体のうち、200ug を Peroxidase Labeling Kit-NH2 (同仁化学) を用

いて HRP (Horse radish peroxidase) 標識した。

次いで、96 穴プレート (Nunc 社, Cat. No. 446469) に、50 mM 炭酸バッファー (pH 9.6) に溶解した各精製ポリクローナル IgG 抗体を 1 ug/50 ul/well 加え、4°C で 1 晩以上静置して固相化した。0.05% Tween20-PBS で 5 回洗浄後、0.1% casein-PBS を加えて室温 1 時間ブロッキングを行った。洗浄後、0, 10, 50, 100 ng/ml 濃度の抗原タンパク質を加え、室温 1 時間インキュベートした。洗浄後、500 倍または 1000 倍に希釈した HRP 標識ポリクローナル IgG 抗体を加え、室温 1 時間静置した後、TMB Substrate Reagent Set (BD Biosciences 社) を用いて HRP 酵素反応を行い、2N 硫酸を加えて反応を停止し、450 nm の吸光度を測定した。

固相に用いる各抗原に対するポリクローナル IgG 抗体の量を調節して、抗原を 10 ng/ml 以上の感度で検出できる条件を確立した (表 2)。確立した条件でサンドイッチ ELISA を行った結果を図 1a-e に示した。

次に、各抗原特異的抗体の交叉反応性を検討するため、特異的抗原以外のタンパク質 4 種を抗原として加えてサンドイッチ ELISA を行った (図 2)。抗 Cry1Ac 抗体は、特異的抗原である Cry1Ac だけでなく、Cry1Ab にも交叉反応性を示した。その他の抗体は、特異的抗原以外の抗原には交叉反応性を示さなかった。

更に、ポリクローナル IgG 抗体を用いたサンドイッチ ELISA 検出系を用いた、GM トウモロコシ中の新規産生タンパク質の検出を試みた。作製した抗 Cry3Bb1 抗体により、Cry3Bb1 が導入された MON 863, MON 88017 を GM トウモロコシ抽出タンパク質 1% 以上で検出できた (図 3a, b)。抗 Cry3Bb1 抗体は感度が良く、100% GM トウモロコシ抽出タンパク質溶液を添加すると、吸光度が測定範囲を超過した。抗 CP4-EPSPS 抗体では MON 88017 を 1% 以上で検出できた (図 3a)。抗 Cry1Ab 抗体では MON 810 を検出できなかったが、抗 Cry1Ac 抗体を用いると MON 810 を 1% 以上で検出できた (図 3a)。抗 PAT 抗体は、DAS 59122 と Bt 11 を 100% 添加時のみ検出できた (図 3b, c)。Bt 11 は MON 810 と同様、抗 Cry1Ab 抗体では検出できなかったが、抗 Cry1Ac 抗体により 1% 以上で検出された。DAS 59122 に導入されている Cry34Ab1 と Cry35Ab1 は、今回用いた 5 種の抗体では検出されなかった。

(iii) BIST 法を用いる新規タンパク質多項目同時測定系の構築

サンドイッチ ELISA を原理とする新規タンパク質用 BIST は、4 種類の異なる抗体を固定した 1mm 径ビーズを複数個、キャピラリーに封入して作製した。この BIST で新規タンパク質 4 項目 (CP4-EPSPS, PAT, Cry3Bb1, Cry1Ab) 同時検出を実現することの可能性を示すことができた (図 4)。

D. 考察

1. 組換え食品の表示のあり方に関する国際動向調査

今年度は、組換え動物に関する開発状況並びに諸外国の食品の表示に対する考え方に焦点をあてて文献調査等を行った。

2010 年に FDA が組換えさけに関する科学諮問委員会と AquAdvantage Salmon 由来の食品のラベル表示に関する公聴会を開催したとの情報が得られた。今後、組換え植物ばかりでなく、組換え動物の表示に関する議論も盛んになってくるものと思われた。組換え動物の表示に関しては、組換え植物の場合と違い、環境要因及び倫理の問題も関係してくるため、慎重な対応が必要と思われる。

2. コーデックス (国際食品規格委員会) の動向について

コーデックス関連では、2010 年 5 月に行われた 38 回 CCFL の審議の動向につき調査を行ったが、バイオテクノロジー応用食品の表示に関しては、部会での結論が得られず、継続審議となった旨の情報が得られた。CCFL が、2-3 年うちには、何らかの結論をだすものと思われるが、その動向を注視してゆく必要があると思われる。

3. 新規産生タンパク質に対する抗体作成について

本研究で作成した除草剤耐性酵素 (CP4-EPSPS, PAT) に対する抗体 2 種、バチルス害虫毒素 (Cry) タンパク質 (Cry1Ab, Cry3Bb1, Cry1Ac) に対する抗体 3 種は、感度が高く、サンドイッチ ELISA で、10ng/ml の感度を有していた。また、今回測定対象とした新規産生タンパク質は、現在流通している主な遺伝子組換え (GM) 植物に広く用いられているものであり、GM 植物の検出に有用であると考えられた。

また、サンドイッチ ELISA を原理とする新規タンパク質用 BIST で、新規タンパク質 4 項目

(CP4-EPSPS, PAT, Cry3Bb1, Cry1Ab) 同時検出を実現することの可能性を示すことができたことは、今後、ELISA法の粒検査法への応用を可能とする有用な方法と思われる。各種抗原に対する単クローン抗体の作成も進んでおり、抗体の安定供給を行ううえで、有用である。

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)の表示部会(CCFL)等の国際的機関における遺伝子組換え食品表示に向けた議論を把握すること、(3)粒測定法にも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、組換え動物の食品としての開発の動向並びに表示に対する消費者の反応につき焦点をあてて調査を行い、2010年にFDAが組換えさけに関する科学諮問委員会とAquAdvantage Salmon由来の食品のラベル表示に関する公聴会を開催したとの情報が得られた。今後、組換え植物ばかりでなく、組換え動物の表示に関する議論も盛んになってくるものと思われる。(2)コーデックス関連では、2010年5月に行われた38回CCFLの審議の動向につき調査を行ったが、バイオテクノロジー応用食品の表示に関しては、部会での結論が得られず、継続審議となったとの情報が得られた。(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、除草剤耐性酵素CP4-EPSPS, PATおよびバチルス害虫毒素タンパクCry1Ab, Cry1Ac, Cry3Bb1に対するポリクローナル抗体を用いて、サンドイッチELISA系を確立し、更に複数同時測定の可能な簡易型のサンドイッチELISAを原理とするBIST法を構築し、CP4-EPSPS, PAT, Cry1Ab, Cry3Bb1 4項目の同時測定が可能な良好な結果が得られた。

参考文献

1) “Report of the Thirteenth Session of the Codex Committee on Food Labelling, ALINORM 10/33/22”

ftp://ftp.fao.org/codex/Alinorm 10/al33_22e.pdf

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 学会発表

- 1) 中島治、中村里香、穂山浩、手島玲子 組換えトウモロコシに導入されたCryタンパクの発現、精製および抗体との反応性について 第100回日本食品衛生学会学術講演会 (2010.9)
- 2) 中島治、中村里香、穂山浩、手島玲子 組換えトウモロコシに導入されたCryタンパクの発現、精製および抗体との反応性の研究 第131回日本薬学会年会 (2011.3)
- 3) 手島玲子: 遺伝子組換え食品の安全性について、第30回埼玉県食の安全県民会議 (2010.12.) さいたま市

2. 論文発表

- 1) 手島玲子: 遺伝子組換え農作物のアレルゲン性評価, 食品安全ハンドブック, 丸善, 東京(2010), p574-577
- 2) Nakajima O, Koyano S, Akiyama H, Sawada J, Teshima R. Confirmation of a predicted lack of IgE binding to Cry3Bb1 from genetically modified (GM) crops. *Regul. Toxicol. Pharmacol.* 56 (3), 306-11 (2010).
- 3) 手島玲子, 中村亮介: 食品中のアレルゲンの予測, *日本食品衛生学会誌*, 52, 1-9 (2011)
- 4) Oguchi, T., Onishi, M., Mano, J., Akiyama, H., Teshima, R., Futo, S., Furui, S., Kitta, K., Development of multiplex PCR method for simultaneous detection of four events of genetically modified maize, DAS-59122-7, MIR604, MON863 and MON88017, *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 51, 92-100 (2010)
- 5) Akiyama, H., Sakata, K., Spiegelhalter, F., Furui, S., Nakashima, A., Kitta, K., Teshima, R., Interlaboratory Validation of an Event-Specific Real time Polymerase Chain Reaction Detection Method for Genetically Modified DAS59132 maize, *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 51, 65-70 (2010)
- 6) Mano, J., Yanaka, Y., Akiyama, H., Teshima, R.,

Furui, S., Kitta, K., Improvement of polymerase chain reaction-based Bt11 maize detection method by reduction of non-specific amplification, *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 51, 32-36 (2010)

- 7) Nakamura, K., Yamada, C., Akiyama, H., Takabatake, R., Kitagawa, M., Kitta, K., Kawakami, H., Teshima, R., Evaluation of tomato DNA fragmentation and PCR amplicon size for detection of tomato DNA in processed products, *Jpn. J. Food Chem. Safety*, 17, 123-128 (2010)
- 8) Takabatake, R., Onishi, M., Koiwa, T., Futo, S., Minegishi, Y., Akiyama, H., Teshima, R., Furui, S., Kitta, K., Establishment and Evaluation of Event-Specific Quantitative PCR Method for Genetically Modified Soybean MON89788, *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 51, 242-246 (2010)
- 9) Takabatake, R., Futo, S., Minegishi, Y., Watai, M., Sawada, C., Nakamura, K., Akiyama, H., Teshima, R., Furui, S., Akihiro, H., Kitta, K., Evaluation of quantitative PCR methods for genetically modified maize (MON863, NK603, TC1507 and T25), *Food Sci. Technol. Res.*, 16, 421-430 (2010)
- 10) Kodama, T., Kasahara, M., Minegishi, Y., Futo, S., Sawada, C., Watai, M., Akiyama, H., Teshima, R., Kurosawa, Y., Furui, S., Hino, A., Kitta, K., Interlaboratory Study of Qualitative PCR Method for Roundup Ready Soybean, *JAOAC Int.* 94(1), 224-231 (2010)
- 11) Akiyama, H., Makiyama, D., Nakamura, K., Sasaki, N., Minegishi, Y., Mano, J., Kitta, K., Ozeki, Y., Teshima, R., A Novel Detection System for the Genetically Modified Canola (*Brassica rapa*) Line RT73, *Anal Chem.*, 82, 9909-9916 (2010)
- 12) Takabatake, R., Akiyama, H., Sakata, K., Onishi, M., Koiwa, T., Futo, S., Minegishi, Y., Teshima, R., Furui, S., Kitta, K., Development and Evaluation of Event-Specific Quantitative PCR Method for Genetically Modified Soybean A2704-12, *Food Hygiene and Safety Science (Shokuhin Eiseigaku Zasshi)*, 52(2), 100-107 (2011)
- 13) Akiyama, H., Sakata, K., Makiyama, D., Nakamura, K., Teshima, R., Nakashima, A., Ogawa, A., Yamagishi, T., Futo, S., Mano, J.,

Oguchi, T., Kitta, K.: Inter-laboratory Study of DNA Extraction from Multiple Ground Samples, Multiplex Real-Time PCR and Multiplex Qualitative PCR for Individual Kernel Detection System of Genetically Modified Maize, *JAOAC Int.* in press.

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

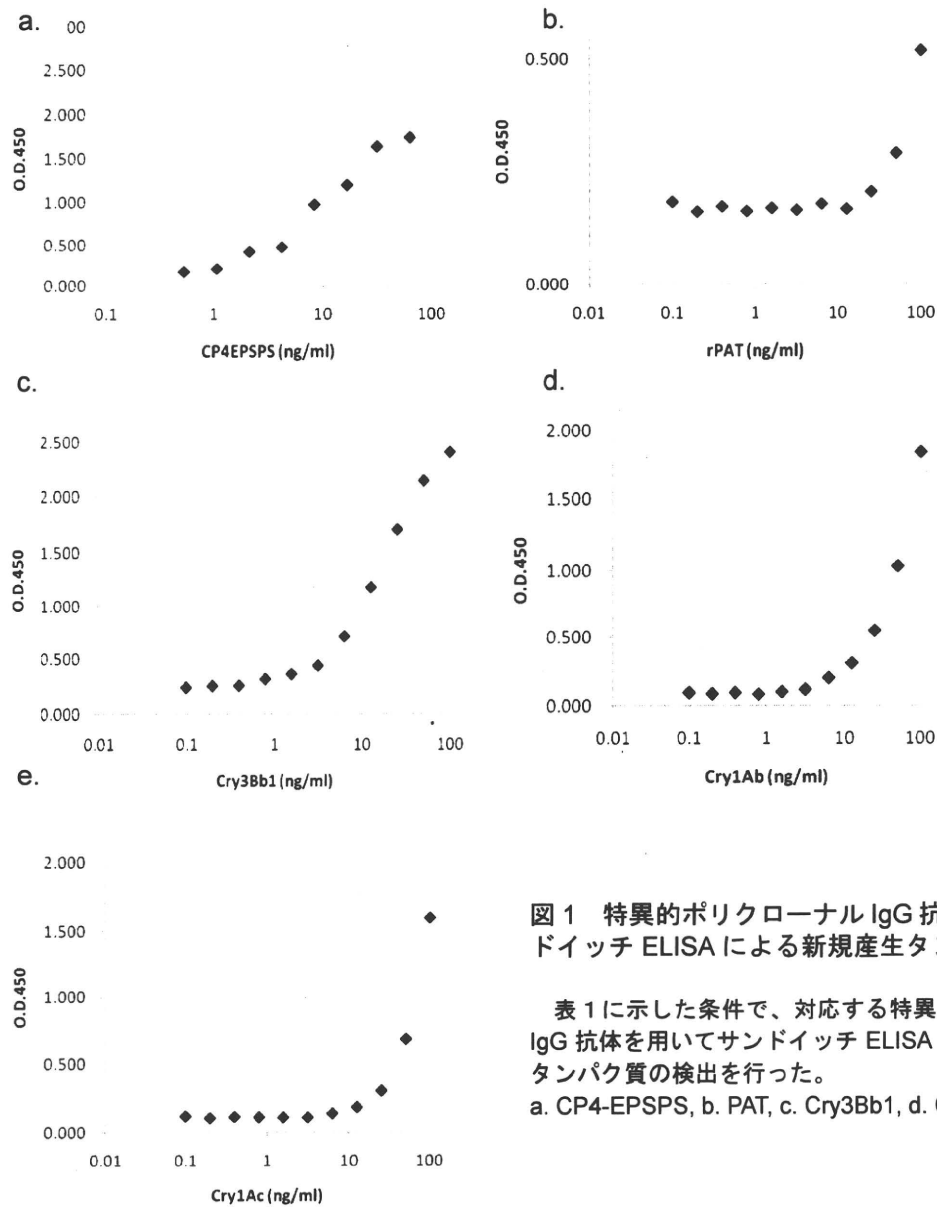


図1 特異的ポリクローナルIgG抗体を用いたサンドイッチELISAによる新規産生タンパク質の検出

表1に示した条件で、対応する特異的ポリクローナルIgG抗体を用いてサンドイッチELISAを行い、新規産生タンパク質の検出を行った。

a. CP4-EPSPS, b. PAT, c. Cry3Bb1, d. Cry1Ab, e. Cry1Ac

抗原名	CP4-EPSPS	PAT	Cry3Bb1	Cry1Ab	Cry1Ac
固相抗体量	1 µg/ well	1 µg/ well	1 µg/ well	1 µg/ well	1 µg/ well
HRP 標識抗体希釈率	1:1000	1:1000	1:1000	1:1000	1:500
TMB 基質反応時間	5 min	5 min	2 min	5 min	10 min

表2 抗原特異的ポリクローナルIgG抗体を用いたサンドイッチELISA条件の検討

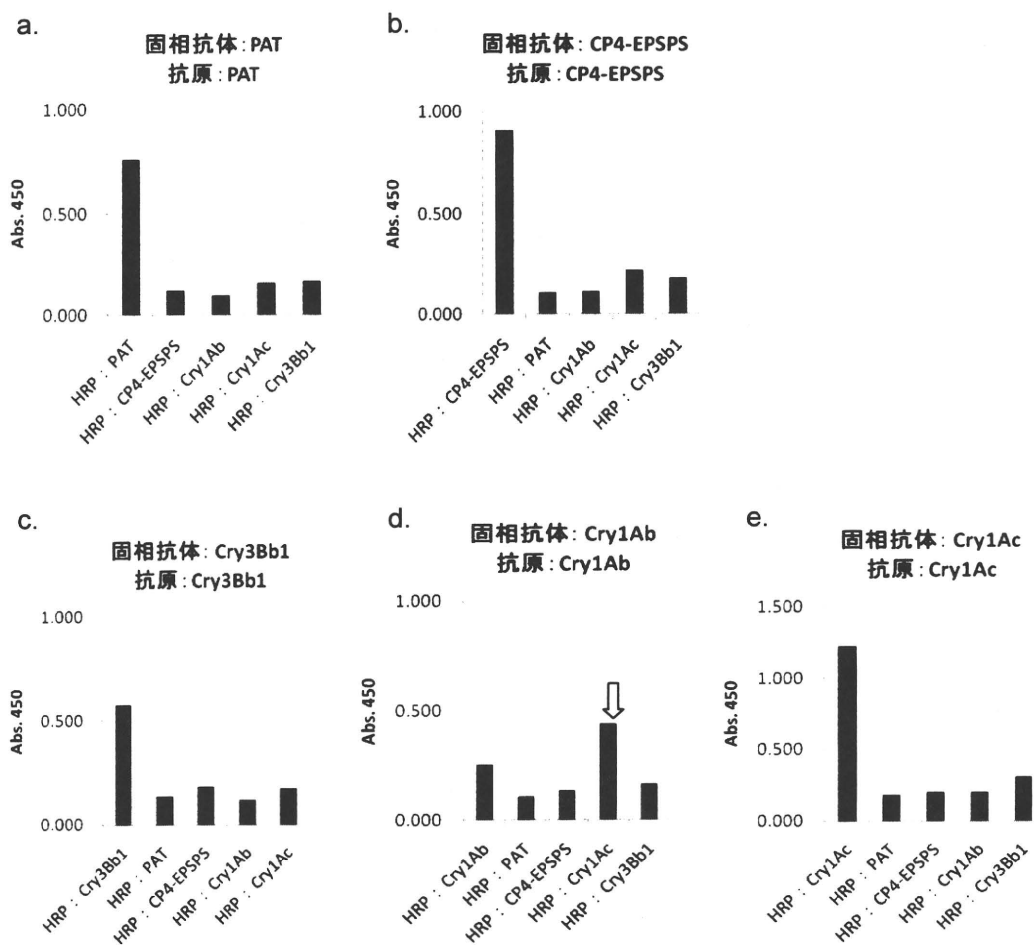


図 2 特異的ポリクローナル IgG 抗体を用いたサンドイッチ ELISA の交叉反応性の検討

固相抗体に対応する特異的抗原 100 ng/ml を添加した 96 ウェルプレートに、各抗原特異的な HRP 標識 2 次抗体を添加して、各抗原に対する抗体の交叉反応性を検討した。HRP 標識 2 次抗体の希釈は、表 1 に示したものをを用いた。

a. 固相抗体と抗原が CP4-EPSPS、b. 固相抗体と抗原が PAT、c. 固相抗体と抗原が Cry1Ab、d. 固相抗体と抗原が Cry1Ac、e. 固相抗体と抗原が Cry3Bb1

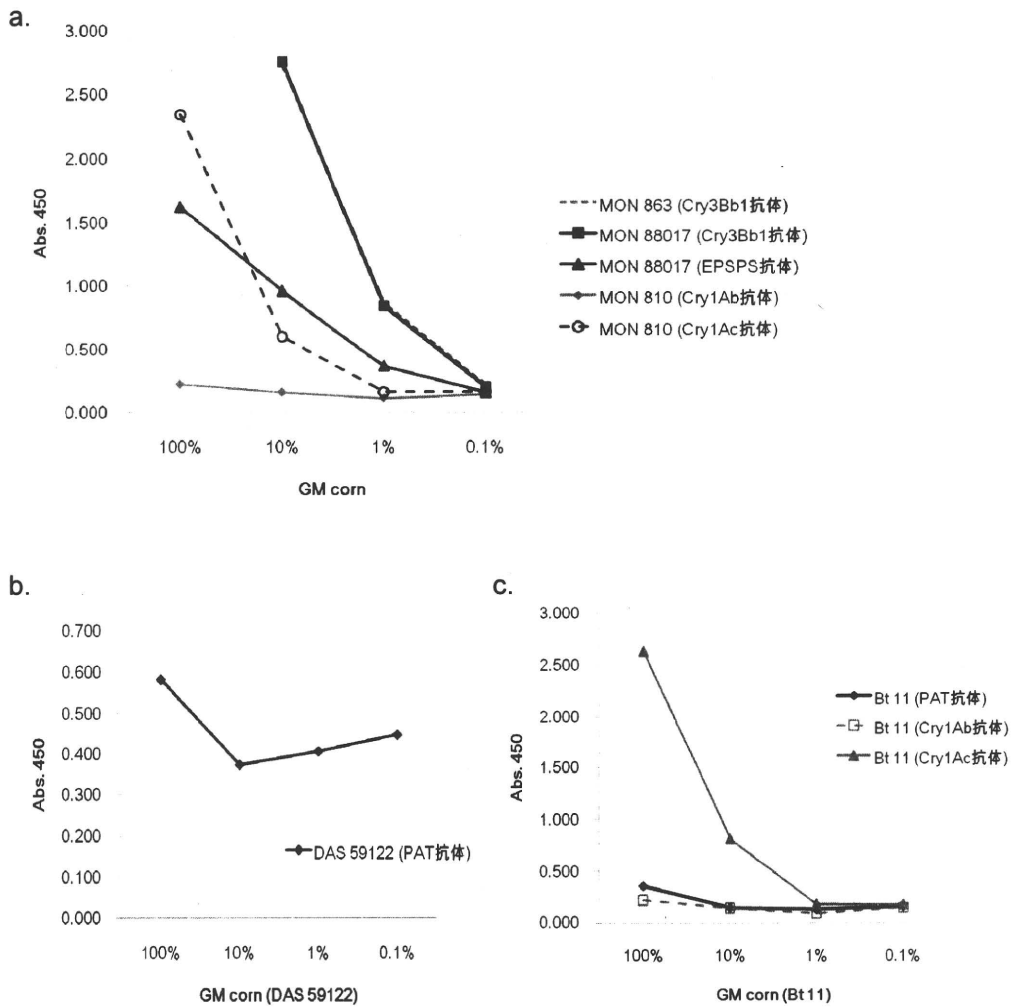
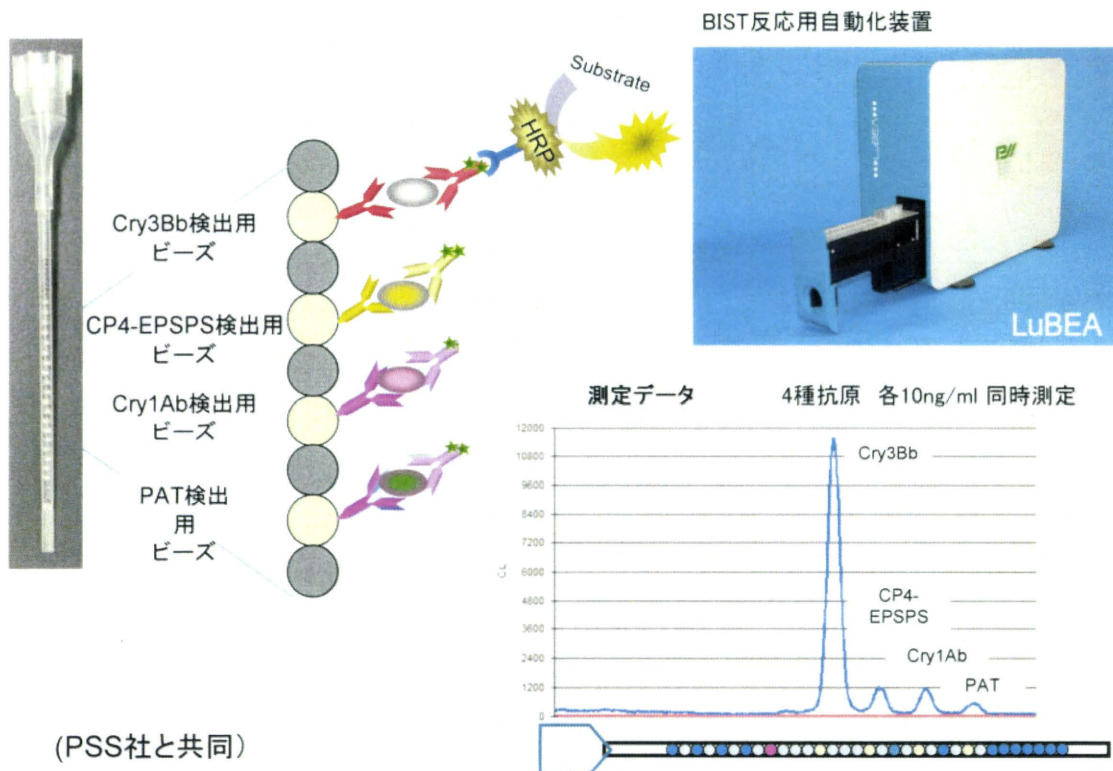


図3 特異的ポリクローナルIgG抗体を用いたサンドイッチELISAによるGMトウモロコシの検出

抗原としてGMトウモロコシから抽出したタンパク質溶液を添加し、特異的ポリクローナルIgG抗体を用いたサンドイッチELISAで検出可能であるかを検討した。GMトウモロコシ抽出タンパク質は100%、10%、1%、0.1%に希釈したものを添加した。

- a. MON 863/ MON 88017/ MON 810
- b. DAS 59122
- c. Bt 11

図 4 GMタンパク質の抗体を用いる 多項目同時検出ツール(BIST)の開発



(参考資料) G E 動物と食品表示の倫理 (まとめ)

Labeling Genetically modified food- the philosophical and legal debate-
Edited by Paul Weirich (Oxford University Press) 2007

第 5 章 “Genetically Engineered Animals and the Ethics of Food Labeling”

遺伝子組換え(GM)動物と食品表示の倫理 p63-p87

Robert Streiffer¹⁾ & Alan Rubel²⁾

¹⁾Department of Medical Sciences in the school of Veterinary Medicine at the University of Wisconsin-Madison, ²⁾Agrobiotechnology Center at the University of Missouri-Columbia

問題となっているのは？

G E (Genetically Engineered) 食品については注意が向いているが、G E 動物はまだまだ G E 動物の問題は、G E 微生物の問題なのか？ 違う。

(G E 動物特有の問題)

- ・動物には倫理的な問題あり
- ・法制度上、G E 動物由来食品と、他の生物由来食品は、分けて考える必要あり
- ・二つの動物種が、審査中である。(salmon, pig)

消費者の権利保護という問題

民主制度の下での、監督機関は？

- ・監督機関へ権限を付与する法制度によって律される。
- ・具体的には、
 - FDA, USDA に監督権限責務があり、それは FDCA(the Federal Food Drug Cosmetics Acts), FMIA(the Federal Meat Inspection Act), PPIA(the Poultry Products Inspection Act), EPIA(the Egg Products Inspection Act)の法制度が根拠となっている

消費者の購買行動には誤解が発生している

- ・多くの消費者は、G E 食品は表示がされていると誤解している。
 - 表示が誤解をさせなくても、誤解した状態にある消費者をそのままにしている。

表示制度への反対意見

- ・どんな表示にしても、誤解は生じる(広告と虚偽の区別は難しい)
- ・FDCA の文面から来るもの
 - 次の3つさえを適切に表示させれば良い(摂取の効果、使用方法、成分のポジティブな表示という考えに沿った情報)
 - G E 表示は、この3つの表示要件に含まれるのかどうか？という問題