

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) 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) 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 2) 第 100 回 日本食品衛生学会学術講演会 (2010.9)
- 3) 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)
- 4) 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
- 5) 手島玲子: 先端技術を用いた作物・食品等の安全性評価と受容性, BioJapan 2009 -World Business Forum- 「バイオによる食糧問題の革新」(2009.10) 横浜
- 6) 手島玲子: 遺伝子組換え食品の安全性評価の実際, 第 53 回 日本薬学会関東支部大会 (2009.10) 埼玉
- 7) 手島玲子: 遺伝子組換え植物研究の現状と課題、日本植物学会第 73 回大会特別企画「遺伝子組換え食品の安全性評価」シンポジウム (2009.9) 山形

8) 手島玲子: 遺伝子組換え食品と安全性について、千里ライフサイエンス市民公開講座 第 56 回 「食の安全」(2010.2)大阪

K 9) Kitta K., Mano J., Furui S., Futo S., Akiyama H., Teshima R., Hino A. The development of detection methods for the monitoring of GMO in Japan, Fourth International Conference on Co-existence of Genetically Modified Crops (2009.11, Australia)

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)
- 4) 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
- 5) 手島玲子: 新開発食品の安全性 1. 遺伝子組換え食品とは, 食品中の化学物質と安全性, 日本食品衛生協会, 東京 (2009), p132-137
- 6) Oguchi T, Onishi M, Minegishi Y, Kurosawa Y, Kasahara M, Akiyama H, Teshima R, Futo S, Furui S, Hino A, Kitta K. Development of quantitative duplex real-time PCR method for screening analysis of genetically modified maize. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 50, 117-125 (2009).

- 7) Shimizu E, Futo S, Masubuchi T, Minegishi Y, Kasahara M, Akiyama H, Teshima R, Hino A, Mano J, Furui S, Kitta K. Selection of suitable polypropylene tubes for DNA testing using real-time PCR. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*, 51, 43-47 (2010).
- 8) 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).
- 9) 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)
- 10) 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)
- 11) 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)
- 12) 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)
- 13) 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)
- 14) 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)
- 15) 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)
- 16) 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)
- 17) 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)
- 18) 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)
- 19) 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

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」
総合研究報告書（平成20～22年度：分担）

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 穠山 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

従来の遺伝子組換え食品の定量は、輸入ロット単位の粉碎物を対象とし、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。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、(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。

新たにスクリーニング分析法の効率化・省コスト化を目指して開発したP35S配列およびGA21特異的配列を同時に定量検知することが可能なDuplexリアルタイムPCR法を確立し、分析法としての妥当性を確認した。内標比試験を行ったところ、ABI PRISM 7900 HTではP35Sが0.36、GA21が0.38で、ABI PRISM 7500ではP35Sが0.38、GA21が0.33であった。ブラインド試験では、Cochran検定およびGrubbs検定をそれぞれ行い、無効機関の棄却を行った。ABI PRISM 7900 HTについて、1%ブラインド試料のGA21および、10%ブラインド試料のP35Sでそれぞれ1機関が棄却された。ABI 7500について棄却機関はなかった。0%ブラインド試料については全て0%という回答だった。この結果、本スクリーニング分析法は、妥当性が確認された。

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289粒分析で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。

協力研究者

坂田こずえ、牧山太樹、中村公亮

(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、真野潤一、橘田和美

((独)農研機構 食品総合研究所)

九谷真紀子、岡田和也、(キリンビール (株))

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碎物を対象とし、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。

平成 20 年度には、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。

平成 21 年度には新たにスクリーニング分析法の効率化・省コスト化を目指して開発した P35S 配列および GA21 特異的配列を同時に定量検知することが可能な Duplex リアルタイム PCR 法を確立し、分析法としての妥当性を確認した。また、平成 20 年度に妥当性確認を行った粒検査法を用いて、2009 年度産の不分別トウモロコシの混入率及び系統判別分析するために、粒検査法における粒からの半自動 DNA 抽出装置を試作しを検討した。

平成 22 年度は本研究では、平成 20 年度妥当性確認を行った粒検査法、及び平成 21 年度試作した半自動 DNA 抽出装置を用いて、2009 年度産の不分別トウモロコシの 5 検体の混入率及び系統判別分析に応用した。

B. 研究方法

平成 20 年度

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) 専用破砕チューブ (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(株)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。

Universal Master Mix (x2)

(AppliedBiosystems)、Primer pairs and Probes (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)、以上すべて NIPPON GENE 社製を用いた。SSIIb-taq (10 μ M each) は AppliedBiosystems 社に合成依頼した。9-plex 用 primer mixture はグライナに合成依頼した。AmpliTaq Gold は AppliedBiosystems 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。粒試験は国立衛研から参加 5 機関に粉碎したトウモロコシ粉碎物を 1 粒平均重量の約 0.37g を各チューブに分注した 90 チューブ、試験プロトコール及

び必要試薬・機器を配付し、各機関で粒毎に DNA 抽出を行い、Multiplex Real-time PCR を用いて GM 粒の個数を測定した¹⁾。配付した 90 チューブの内訳は各機関とも非 GM トウモロコシ (Non-GM) 粒 86 チューブ、GM 粒 4 チューブにした。GM4 チューブの内訳は粉砕 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。配付した各試料には番号を記載し、GM 粒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。

3 品種のトウモロコシはそれぞれ個別に粉砕し、均一試料とした。それぞれ専用破砕チューブに一粒平均重量 0.3g (±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、non-GM 86 本、GM 4 本の合計 90 本を一セットとして各機関に送付した。各チューブには番号をつけ、ブラインド試料とした。

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 realtime 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。

トウモロコシ一粒粉砕モデル試料 (non-GM トウモロコシ、GM トウモロコシ 2 種の合計 3 種類) 専用破砕チューブ (ST-0350F-0)、磁性体メタルコーン (MC-0316)、粉砕装置、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。

Universal Master Mix (x2)

(AppliedBiosystems)、Primer pairs and Probes (SSIIb-3 (25 μM each)、GA21-3 (25 μM each)、P35S-1 (25 μM each)、GA21-taq (10 μM each)、P35S-taq (10 μM each)、以上すべて NIPPON GENE 社製を用いた。SSIIb-taq (10 μM

each) は AppliedBiosystems 社に合成依頼した。9-plex 用 primer mixture はグライナに合成依頼した。AmpliTaq Gold は AppliedBiosystems 社のものを用いた。

平成 21 年度

GM トウモロコシ (MON810 および GA21) の粉砕物を、それぞれ重量比で 0%、0.5%、1%、5%、10% 含有するように non-GM トウモロコシの粉砕物と混合し、コラボ試験用の均一な試料 (ブラインド試料) を作製した。

トウモロコシ内在性遺伝子 (SSIIb) を標的とした Simplex リアルタイム PCR と P35S 配列および GA21 特異的配列を標的とした Duplex リアルタイム PCR の 2 検知系により定量 PCR を行った。Duplex 化にあたり、標的とする P35S 配列と GA21 配列のコピー数をできるだけ揃えるため、GA21 系統の標的を構造特異的配列から系統特異的配列に変更した。本試験に用いる定量 PCR の機種は、本分析法の開発で適用性が確認された ABI PRISM 7900、同 7500 を用いた。PCR 反応液の調製および PCR 温度条件は JAS ハンドブックに従い、45 サイクルで PCR を行った。

内標比測定試験は、標準分析法でリアルタイム PCR 法により GM 系統を定量するには、まず純粋な GM ダイズまたはトウモロコシ系統ごとの代表的な種子から抽出したゲノム DNA 中の組換え DNA 配列と内在性遺伝子のコピー数の比率 (内標比 : 式 1) を決定する。その後、混入率が未知の試料から抽出した DNA 中の (組換え DNA 配列の数) / (内在性遺伝子の数) の比率を測定し、その値を内標比で除すれば、未知試料中の GM 農作物の混入率が算出される (式 2)。

ブラインド試験の実施に先立ち、各機関に GM トウモロコシ (MON810 および GA21) の粉砕物から抽出した DNA 溶液を配付した。各機関はあらかじめ配付したプロトコールに従って、リアルタイム PCR および解析を行った。リアルタイム PCR 装置機種ごとにデータを統計処理した値を本試験に用いる確定内標比とした。

(式 1)内標比 = 純粋な GM 系統種子から抽出した DNA 中の組換え DNA 配列の数/純粋な GM 系統種子から抽出した DNA 中の内在性遺伝子の数

(式 2)混入率 (%) = 未知試料から抽出した DNA 中の組換え DNA 配列の数/未知試料から抽出した DNA 中の内在性遺伝子の数/内標比

ブラインド試験では、5 濃度の GM トウモロコシブラインド試料 (0%, 0.5%, 1%, 5%, 10%) を各濃度 2 点ずつ配布した。各機関はあらかじめ配布したプロトコールに従って、DNA 抽出、リアルタイム PCR および解析を行った。食品総合研究所において全参加機関のデータを集計し、リアルタイム PCR 装置機種ごとに統計解析を行った。AOAC の共同試験のガイドライン³⁾に従って、外れ値の棄却検定を行ったのちに、平均値、試験所内標準偏差、試験所間標準偏差等の統計量を算出し、本定量法の妥当性を確認した。

平成 22 年度

試料: 2009 年度米国産不分別トウモロコシ 5 検体は厚生労働省医薬食品局食品安全部を通して入手した。**試薬・装置:** 粉碎には安井器械 (株)社製の多検体同時粉碎装置 MULTI-BEADS SHOCKER (MB601NIHS) を用いた。半自動 DNA 抽出装置 (安井器械 (株) 社製 MBDS-100) は、トウモロコシ粒専用粉碎チューブ (ST-0350F-PD) と (株)ニッポンジーン社製 DNA 抽出キット (GM quicker 96) を用いて抽出可能な半自動 DNA 抽出装置を試作した。定量 PCR 装置は Life technologies 社製の ABI PRISM 7900HT Sequence Detector System を用いた。サーマルサイクラーは Life technologies 社製 Veriti 200 を、電気泳動装置は島津製作所社製の多検体用キャピラリー電気泳動装置 (MultiNA) を用いた。**操作:** トウモロコシ穀粒は検体毎に水と 1% SDS で洗浄・乾燥後、一粒粉碎用チューブに入れ粉碎した。その後、半自動 DNA 抽出装置を用いて粒単位の DNA 抽出を検討した。その後、DNA 抽出溶液、primers・probe Mix および TaqMan™ Universal PCR Master Mix

(Life technologies 社製) から試験溶液を調製し、Multiplex real-time PCR を行った¹⁾。その後、GM トウモロコシ粒からの DNA 抽出溶液に対して、Multiplex 定性 PCR を行った^{2,3)}。一部についてはリアルタイム PCR アレイ法を行った⁴⁾。

C. 研究結果

平成 20 年度の検討結果

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 チューブ及び MON810 及び MON810×NK603 の 4 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 (Table 1)。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 (Table 1)。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 (Table 2)。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。

平成 21 年度の検討結果

スクリーニング試験法の妥当性確認

内標比試験を行ったところ、ABI PRISM 7900 HT では P35S が 0.36、GA21 が 0.38 で、ABI PRISM 7500 では P35S が 0.38、GA21 が 0.33 であった。

ブラインド試験では、Cochran 検定および Grubbs 検定をそれぞれ行い、無効機関の棄却を行った。ABI PRISM 7900 HT について、1% ブラインド試料の GA21 および、10% ブラインド試料の P35S でそれぞれ1機関が棄却された。ABI 7500 について棄却機関はなかった。0% ブラインド試料については全て 0% という回答だった。

ABI PRISM 7900HT を用いた統計解析結果を Table 3 に、ABI PRISM 7500 を用いた統計解析結果を Table 4 に示す。

平成 22 年度の検討結果

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。5 検体とも 2005 年度産の調査に比べて、混入率及びスタック種の混入割合が高い傾向を示した⁵⁾。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。Table 5 に 5 検体の混入率を示す。5 検体における各系統の 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に異なっていた。Figure1 に各試料の単一系統の割合を示す。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及びコウチュウ目害虫抵抗性)、NK603 系統(グリホサート除草剤耐性)が主であった。試料 2 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)が主であった。Figure2 に各試料に混入しているスタック種の割合を示す。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。

D. 考察

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もられる。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。

スクリーニング試験は妥当性確認されたことから、検査法として適用可能と考えられた。

不分別トウモロコシの実態調査に関しては、試作した半自動 DNA 抽出装置を用いて、粒単位で抽出 DNA を検討したところ、数粒から良好に DNA が抽出されないことが明らかになった。現在、半自動 DNA 抽出装置の操作過程の改良を行っている。

不分別トウモロコシの実態調査に関しては、試作した半自動 DNA 抽出装置を用いて、5 検体の GM 混入率分析と系統分析を行った。予想通り高く、また GM 粒の中での混入率及びスタック粒の割合も 2005 年に収穫されたサンプルの分析の値に比べて高い値を示した。

E. 結論

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、1 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。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。

トウモロコシのスクリーニング分析法は、妥当性が確認された。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、試料 1 は 289 粒分析で 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、4 系統とも MON88017 系統が主流の粒であることが判明した。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%と高い割合だった。

【参考文献】

- 1) *Anal. Chem.* 77, 7421-7428 (2005)
- 2) *J. Agric. Food Chem.* 53, 9713-9721 (2005)
- 3) *Food Hyg. Saf. Sci.* 51, 92-100 (2010)
- 4) *J. Agric. Food Chem.* 57, 26-37 (2009)
- 5) *J. Agric. Food Chem.* 56, 1977-1983 (2008)

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

学会発表

- 1) Akiyama, H., Sakata, K., Kondo, K., Tanaka, A., Liu, M.S., Oguchi, T., Furui, S., Kitta, K., Hino, A., Teshima, R., Individual detection of genetically modified maize varieties in non-identity preserved maize samples 1st global conference on GMO analysis (June 2008, Italy)
- 2) Minegishi, Y., Kurosawa, Y., Nishikawa, C., Doi, N., Kanayama, S., Kodama, T., Kasahara, M., Watanabe, T., Akiyama, H., Teshima, R., Mano, J., Furui, S., Hino, A., Kitta, K., Evaluation of a DNA Extraction Kit for PCR Detection of Genetically Modified Soybean 1st global conference on GMO analysis (June 2008, Italy)
- 3) Shimizu, E., Kato, H., Nakagawa, Y., Kodama, T., Futo, S., Minegishi, Y., Watanabe, T., Akiyama, H., Teshima, R., Furui, S., Hino, A., Kitta, K., Plasmid Based Quantitative-Competitive PCR as Screening Method for Genetically Modified Soybean 1st global conference on GMO analysis (June 2008, Italy)
- 4) Oguchi, T., Onishi, M., Minegishi, Y., Kurosawa, Y., Kasahara, M., Akiyama, H., Teshima, R., Futo, S., Furui, S., Hino, A., Kitta, K., Development of duplex real-time PCR method for quantitative screening analysis of genetically modified (GM) maize 1st global

- conference on GMO analysis (June 2008, Italy)
- 5) Furui, S., Noda, M., Mano, J., Kitta, K., Chikagawa, Y., Futo, S., Kodama, T., Kasahara, M., Minegishi, Y., Kanayama, S., Hino, A., Watanabe, T., Akiyama, H., Teshima, R., A Qualitative Detection Method for Genetically Modified Alfalfa Events J101 and J163. 1st global conference on GMO analysis (June 2008, Italy)
 - 6) Kitta, K., Mano, J., Furui, S., Futo, S., Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A., The development of detection methods for the monitoring of GMO in Japan, Fourth International Conference on Co-existence of Genetically Modified Crops (2009. 11, Australia)
 - 7) Mano, J., Shigemitsu, N., Futo, S., Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A., Furui, S., Kitta, K., Real-time PCR array as a Universal Platform for the GM crop detection and its Application in Identifying Unapproved GM crops in Japan, Fourth International Conference on Co-existence of Genetically Modified Crops (2009. 11, Australia)
 - 8) 穂山浩、遺伝子組換え食品の検知法、生物化学的測定研究会 第14回学術集会 (2009. 6)
 - 9) 穂山浩、坂田こずえ、中島安基江、小川麻子、山岸亨、布藤聡、小口太一、橘田和美、手島玲子遺伝子組換えトウモロコシの粒検査法の妥当性確認試験について日本食品衛生学会第97回学術大会 (2009. 5)
 - 10) 穂山浩、遺伝子組換え食品に関する安全性の確保、日本防菌防黴学会・女性研究者の会第5回学術講演会 (2009. 8)
 - 11) 穂山浩、牧山太樹、佐々木伸大、近藤一成、真野潤一、橘田和美、小関良宏、手島玲子カナダ産未承認遺伝子組換えナタネの検知法について (第一報)、日本食品化学学会第15回学術大会 (2009. 5)
 - 12) 山田千尋、穂山浩、中村文美、中島治、張替直輝、古井聡、橘田和美、川上浩、手島玲子、未承認遺伝子組換え作物のスクリーニング検知法について 日本食品化学学会第15回学術大会 (2009. 5)
 - 13) 穂山浩、遺伝子組換え食品の検知法の最新の動向 日本分析化学会関東支部懇話会 (2010. 3)
 - 14) 穂山浩、未承認遺伝子組換え食品およびアレルギー誘発物質の検知法の開発と評価に関する研究 日本食品衛生学会第99回学術講演会 (2010. 5)
 - 15) 中村公亮、穂山浩、山田千尋、佐藤里絵、牧山太樹、坂田こずえ、川上浩、真野潤一、橘田和美、手島玲子、カナダ産安全性未審査遺伝子組換え亜麻の検知法について 日本食品衛生学会第99回学術講演会 (2010. 5)
 - 16) 伊東篤志、田口朋之、和気仁志、穂山浩、手島玲子、佐々木伸大、山田晃世、小関良宏、DNAチップを用いた遺伝子組換え食品の遺伝子非増幅検出法の検討 日本食品化学学会第16回学術大会 (2010. 6)
 - 17) 張替直輝、吉田雄三、橘田和美、近藤一成、穂山浩、手島玲子、プライマー伸長反応を使用した遺伝子組換え大豆の発色定量法 日本食品化学学会第16回学術大会 (2010. 6)
 - 18) 高島令王奈、大西真理、小岩智宏、布藤聡、峯岸恭孝、穂山浩、手島玲子、古井聡、橘田和美、遺伝子組換え(GM)ダイズ新系統MON89788の系統特異的定量検知法開発および妥当性の確認 日本食品化学学会第16回学術大会 (2010. 6)
 - 19) 山田千尋、中村公亮、穂山浩、高島令王奈、北川麻美子、橘田和美、川上浩、手島玲子、トマト含有加工食品中の未承認遺伝子組換えトマトの検知法の確立に向けて 日本食品化学学会第16回学術大会 (2010. 6)
 - 20) 穂山浩、未承認遺伝子組換え食品の検査法について 平成22年度食品安全行政講習

- 会 (2010. 6)
- 21) 笠間菊子、小熊恭代、鈴木達也、穂山浩、大島赴夫、小島幸一、特定原材料検査に関する外部精度管理の実施に向けた検討 第100回日本食品衛生学会学術講演会 (2010. 9)
- 22) 真野潤一、谷中有香、池津陽子、大西真理、布藤聡、穂山浩、手島玲子、日野明寛、高島令王奈、古井聡、橋田和美、スタック品種の混入に影響を受けない遺伝子組換えトウモロコシ混入率評価手法グループテストリングの性能確認 第100回日本食品衛生学会学術講演会 (2010. 9)
- 23) 大森清美、中村公亮、穂山浩、濱岡志津子、牧山太樹、坂田こずえ、笠原正輝、橋田和美、岸弘子、藤巻照久、手島玲子、加工食品からのパパイヤDNA抽出精製法の検討 第100回日本食品衛生学会学術講演会 (2010. 9)
- 24) 中村公亮、穂山浩、大森清美、濱岡志津子、牧山太樹、坂田こずえ、笠原正輝、橋田和美、手島玲子、ハワイ産遺伝子組換えパパイヤ55-1系統の特異的検知法の開発について 第100回日本食品衛生学会学術講演会 (2010. 9)
- 25) Mano, J., Shigemitsu, N., Ikezu, Y., Yanaka, Y., Hatano, S., Futo, S., Minegishi, Y., Akiyama, H., Teshima, R., Takabatake, R., Furui, S., Kitta, K., In-house validation of component reactions on the real-time PCR array for comprehensive GMO analysis, AOAC 124rd Annual Meeting (2010. 9)
- 26) 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, AOAC 124rd Annual Meeting (2010. 9)
- 27) Ito, K., Yamamoto, T., Doi, H., Shoji, M., Kato, M., Akiyama, H., Adachi, R., Novel ELISA for determine food allergen in processed food, AOAC 124rd Annual Meeting (2010. 9)
- 28) 穂山浩、遺伝子組換え食品の検査 第47回 全国衛生化学技術協議会年会 (2010. 11)
- 29) 穂山浩、牧山太樹、真野潤一、安井修二、

峯岸恭孝、坂田こずえ、中村公亮、橋田和美、手島玲子、2009年度米国産不分別トウモロコシ試料における遺伝子組換えトウモロコシの混入率と系統分析 全国衛生化学技術協議会年会 (2010. 11)

論文発表

- 1) Akiyama, H., Sakata, K., Kondo, K., Tanaka, A., Liu, S.M., Oguchi, T., Furui, S., Kitta, K., Hino, A., Teshima, R.: Individual Detection of Genetically Modified Maize Varieties in Non-Identity Preserved Maize Samples, *J. Agric. Food Chem.*, **56**, 1977-1983 (2008).
- 2) Oguchi, T., Onishi, M., Chikagawa, Y., Kodama, T., Suzuki, E., Kasahara, M., Akiyama, H., Teshima, R., Futo, S., Hino, A., Furui, S., Kitta, K.: Investigation of residual DNAs in sugar from sugar beet (*Beta vulgaris* L.). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. **50**, 41-46 (2009).
- 3) Shimizu, E., Kato, H., Nakagawa, Y., Kodama, T., Futo, S., Minegishi, Y., Watanabe, T., Akiyama, H., Teshima, R., Furui, S., Hino, A., Kitta, K.: Development of a screening method for genetically modified soybean by plasmid-based quantitative competitive polymerase chain reaction. *J. Agric. Food Chem.* **56**, 5521-5527 (2008).
- 4) 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, *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. **51**, 32-36 (2010).
- 5) Shimizu, E., Futo, S., Masubuchi, T., Minegishi, Y., Kasahara, M., Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A., Mano, J., Furui, S., Kitta, K.: Selection of suitable polypropylene tubes for DNA testing using real-time PCR, *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. **51**, 43-47 (2010).

- 6) Harikai, N., Saito, S., Abe, M., Kondo, K., Kitta, K., Akiyama, H., Teshima, R., Kinoshita, K.: Optical detection of specific genes for genetically modified soybean and maize using multiplex PCR coupled with primer extension on a plastic plate. *Biosci Biotechnol Biochem.* **73**, 1886-1889 (2009).
- 7) Oguchi, T., Onishi, M., Minegishi, Y., Kurosawa, Y., Kasahara, M., Akiyama, H., Teshima, R., Futo, S., Furui, S., Hino, A., Kitta, K.: Development of quantitative duplex real-time PCR method for screening analysis of genetically modified maize. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi.* **50**, 117-125 (2009).
- 8) 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).
- 9) Harikai, N., Akiyama, H., Kondo, K., Kitta, K., Teshima, R., Yoshida, Y.: A novel chromogenic method for determining the genetically modified soybean content in soybean powder with primer extension, *Jpn. J. Food Chem. Safety*, **17**, 110-115 (2010).
- 10) 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).
- 11) Takabatake, R., Futo, S., Minegishi, Y., Watai, M., Sawada, C., Nakamura, K., Akiyama, H., Teshima, R., Furui, S., Hino, A., Kitta, K.: Evaluation of quantitative PCR methods for genetically modified maize (MON863, NK603, TC1507 and T25), *Food Sci. Technol. Res.*, **16**, 421-430 (2010).
- 12) 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.* in press (2010).
- 13) 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)
- 14) 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. (2011)

H. 知的財産権の出願・登録状況
なし

Table 1. 90 検体の判定結果

Table: 90検体の判定結果

[VIC]SSIb		non-GM(86)		GM1(2)		GM2(2)		total(90)	
機関	machine	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
A	AB7500	86	0	2	0	2	0	90/90	0/90
B	AB7900	86	0	2	0	2	0	90/90	0/90
C	AB7900	86	0	2	0	2	0	90/90	0/90
D	AB7500	86	0	2	0	2	0	90/90	0/90
E	AB7900	86	0	2	0	2	0	90/90	0/90
expected result		86	0	2	0	2	0	90/90	0/90
collect rate (%)		100	100	100	100	100	100	100	100

sample No.	No.10,45	No.59,79	
Maize trait	non-GM	MON810xNK603	MON810

[FAM]P35S & GA21		non-GM(86)		GM1(2)		GM2(2)		total(90)	
機関	machine	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)	(+)	(-)
A	AB7500	0	86	2	0	2	0	4/90	86/90
B	AB7900	0	86	2	0	2	0	4/90	86/90
C	AB7900	0	86	2	0	2	0	4/90	86/90
D	AB7500	0	86	2	0	2	0	4/90	86/90
E	AB7900	0	86	2	0	2	0	4/90	86/90
expected result		0	86	2	0	2	0	4/90	86/90
collect rate (%)		100	100	100	100	100	100	100	100

sample No.	No.10,45	No.59,79	
Maize trait	non-GM	MON810xNK603	MON810

Table 2. 陽性判定試料の定性確認結果

Table: 陽性判定試料の定性確認結果

機関	No. 10	No. 45	No. 59	No. 79
A	MON810xNK603	MON810xNK603	MON810	MON810
B	MON810xNK603	MON810xNK603	MON810	MON810
C	MON810xNK603	MON810xNK603	MON810	MON810
D	MON810xNK603	MON810xNK603	MON810	MON810
E	MON810xNK603	MON810xNK603	MON810	MON810
expected result	MON810xNK603	MON810xNK603	MON810	MON810
collect rate (%)	100	100	100	100

Table 3. 統計解析結果 (ABI PRISM 7900 HT)

	ブラインド 試料濃度	外れ値検定後 の試験室数	真度		再現性	
			平均値	偏差%	室内再現性%	室間再現性%
P35S	0.5%	11	0.60	+19.9	19.4	19.4
	1%	11	1.19	+18.8	21.2	21.2
	5%	11	5.82	+16.4	13.1	13.1
	10%	10	11.91	+19.1	9.5	9.5
GA21	0.5%	11	0.57	+13.2	17.5	17.5
	1%	10	1.13	+12.7	8.7	10.2
	5%	11	5.60	+11.8	12.6	12.6
	10%	11	11.15	+11.5	6.1	9.0

Table 4. 統計解析結果 (ABI PRISM 7500)

	ブラインド 試料濃度	外れ値検定後 の試験室数	真度		再現性	
			平均値	偏差%	室内再現性%	室間再現性%
P35S	0.5%	4	0.55	+9.2	14.1	26.4
	1%	4	1.02	+1.7	17.0	27.1
	5%	4	5.49	+9.7	9.3	18.7
	10%	4	11.23	+12.3	11.2	14.1
GA21	0.5%	4	0.56	+12.8	28.6	40.5
	1%	4	1.07	+7.4	15.6	22.3
	5%	4	6.03	+20.5	8.5	17.0
	10%	4	11.84	+18.4	11.3	15.5

Table 5. 2009年度産遺伝子組換え不分別トウモロコシの分析結果

	Sample1		Sample2		Sample3		Sample4		Sample5		Total
	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	(%)	
Non-GM	46	15.92	46	19.41	43	20.28	32	14.48	48	20.96	215
GM	243	84.08	191	80.59	169	79.72	189	85.52	181	79.04	973
single	161	55.71	88	37.13	96	45.28	91	41.18	121	52.84	557
Bt11	3	1.04	2	0.84	5	2.36	8	3.62	2	0.87	20
TC1507	4	1.38	16	6.75	15	7.08	7	3.17	13	5.68	55
M810	11	3.81	8	3.38	40	18.87	19	8.60	11	4.80	89
M863	8	2.77	4	1.69	2	0.94	1	0.45	8	3.49	23
M88017	97	33.56	28	11.81	8	3.77	26	11.76	60	26.20	219
GA21	1	0.35	0	0.00	1	0.47	2	0.90	0	0.00	4
NK603	18	6.23	21	8.86	22	10.38	24	10.86	18	7.86	103
D59122	11	3.81	8	3.38	1	0.47	2	0.90	7	3.06	29
MIR604	6	2.08	1	0.42	1	0.47	1	0.45	1	0.44	10
T25	2	0.69	0	0.00	1	0.47	1	0.45	1	0.44	5
stack	82	28.37	103	43.46	73	34.43	98	44.34	60	26.20	416
Bt11XMIR604	0	0.00	0	0.00	0	0.00	4	1.81	3	1.31	7
Bt11XGA21	2	0.69	0	0.00	1	0.47	2	0.90	0	0.00	5
TC1507XM88017	2	0.69	8	3.38	9	4.25	2	0.90	4	1.75	25
TC1507XNK603	4	1.38	4	1.69	6	2.83	2	0.90	0	0.00	16
TC1507XD59122	21	7.27	17	7.17	0	0.00	8	3.62	16	6.99	62
M810XM863	1	0.35	4	1.69	0	0.00	4	1.81	1	0.44	10
M810XM88017	42	14.53	54	22.78	24	11.32	52	23.53	26	11.35	198
M810XNK603	7	2.42	8	3.38	26	12.26	16	7.24	3	1.31	60
M863XNK603	0	0.00	0	0.00	2	0.94	0	0.00	0	0.00	2
M88017XD59122	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	2	0.87	2
NK603XD59122	0	0.00	1	0.42	2	0.94	0	0.00	2	0.87	5
Total	79	27.34	96	40.51	70	33.02	90	40.72	57	24.89	392
Bt11XMIR604XGA21	0	0.00	0	0.00	0	0.00	2	0.90	0	0.00	2
TC1507XM810XNK603	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0	0.00	0
TC1507XM88017XD59122	1	0.35	2	0.84	0	0.00	1	0.45	0	0.00	4
TC1507XNK603XD59122	0	0.00	1	0.42	2	0.94	3	1.36	0	0.00	6
M810XM863XNK603	2	0.69	4	1.69	1	0.47	2	0.90	3	1.31	12
Total	3	1.04	7	2.95	3	1.42	8	3.62	3	1.31	24
Total	289		237		212		221		229		1188

Figure 1. 5 検体の GM の割合と単一系統とスタック品種の割合

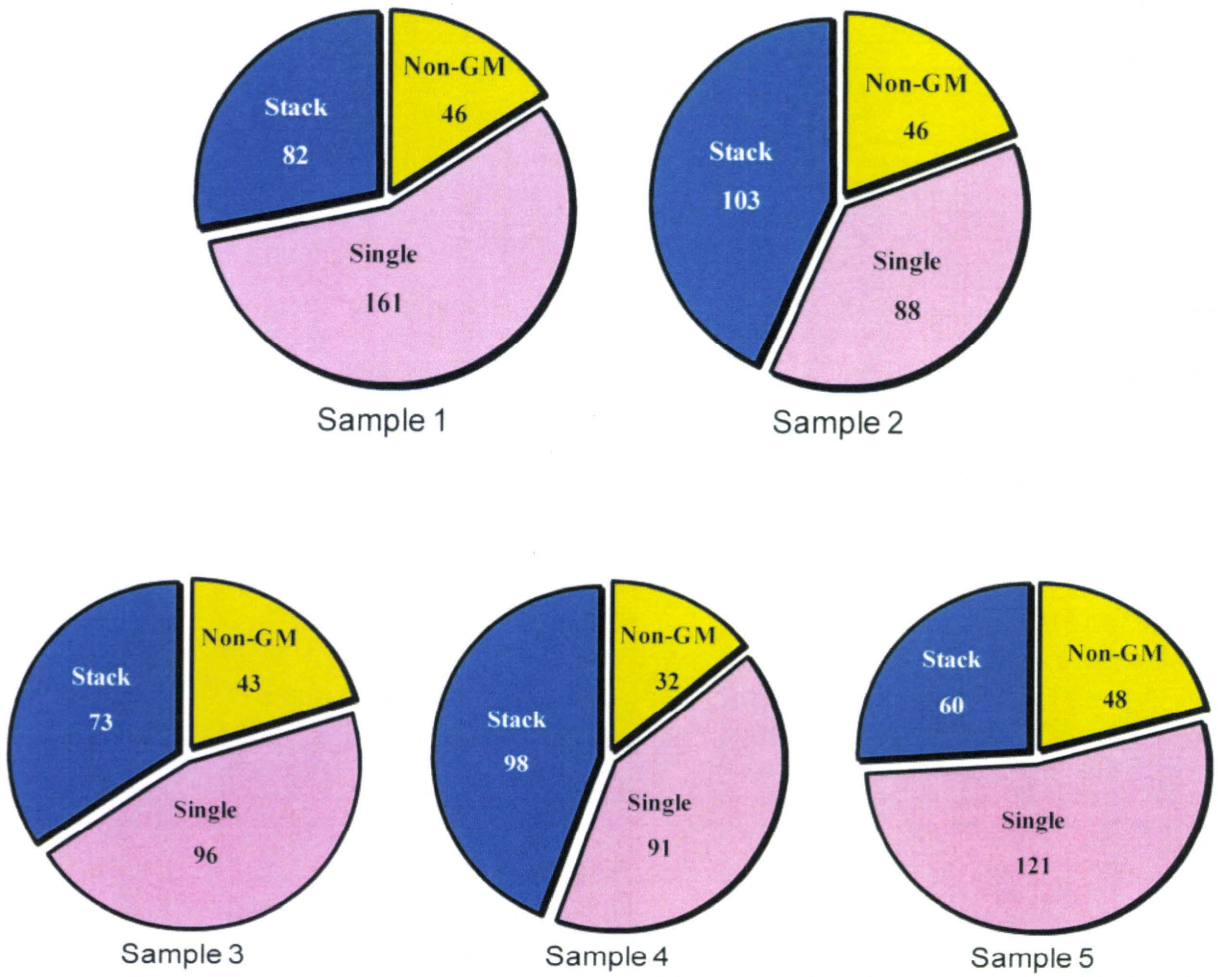
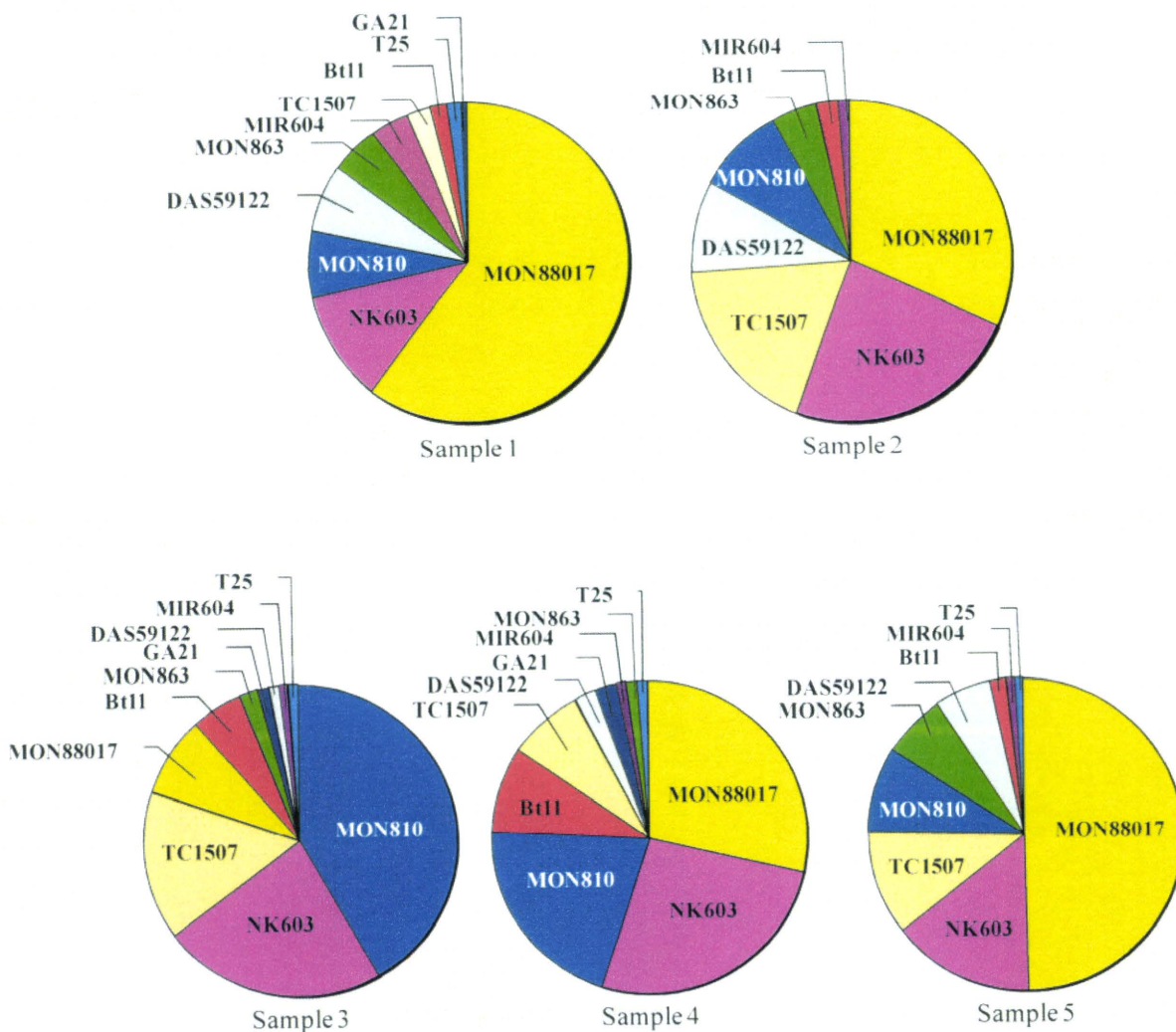


Figure 2. 単一系統の系統割合



遺伝子組換え食品等の表示のあり方に関する研究

研究分担者 吉川肇子 慶應義塾大学商学部 准教授

研究要旨

遺伝子組換え食品について、各種調査および心理学実験を行って、表示のあり方や情報提供のあり方について、有益な手がかりを得ることを目的とした。平成20年～21年度については、海外の研究動向を、主に表示を中心に分析した。心理学実験については、アイカメラを用いて、表示に対する注目を検討した。また、インターネット調査を行い、遺伝子組換え食品の受容を引き起こす要因について検討した。22年度は、これまでの研究結果を基に、海外研究機関と共同調査を行った。

協力研究者

芳賀 繁（立教大学現代心理学部教授）

A. 研究目的

遺伝子組換え食品について、心理学実験および調査を行って、表示のあり方や情報提供のあり方について、有益な手がかりを得る。

B. 研究方法

平成20年～21年度については、海外の研究動向を、主に表示を中心に分析した。心理学実験については、アイカメラを用いて、表示に対する注目を検討した。また、インターネット調査を行い、遺伝子組換え食品の受容を引き起こす要因について検討した。22年度は、これまでの研究結果を基に、海外研究機関と共同調査を行った。本稿では、心理学実験および調査を中心に報告する。

(1) 実験1

調査時期：調査は2008年11月～12月に

行われた。

参加者：専業主婦20名（平均39.6歳）・学生21名（平均20.2歳）が参加した。

装置：調査はノート型 Windows PC（VAIO、SONY社製）を使用して制御した。刺激提示画面はプロジェクター（VPL-PX41、SONY社製）を使用して視距離3000mmの位置にスクリーン（1800mm×2500mm）を使って投影した。調査に使用する広告は、Microsoft PowerPoint上に作成し、スライドショーを用いて提示した。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（DVR-99H、Pioneer社製）に記録した。サンプリングレートは60Hzであった。

提示商品：調査で提示した商品の画像はサイズ1800mm×2500mm（視角33.40°×45.24°）、解像度1024×768ピクセルであった。商品の画像は、豆腐商品のパッケージ写真とその成分表示をテキストで記入したもの、および価格でそれぞれ構成した。

手続き：「食品に関する調査」として教示を与え、参加者に市販で流通している豆腐のパッケージと成分表示および価格を画面に提示した。参加者には順次商品を見てもらい、各商品の購入意欲（買いたい—買いたくないの5段階）を口頭で聴取した。これは、質問紙による購入意欲度では、再認によるバイアスが出る可能性があるためであった。口頭で購買意欲を回答した後、参加者はノート PC に接続してあるマウスの左ボタンをクリックし次の画像に進んだ。なお、被験者には自分のペースで普段店頭の商品を購入するのと同じ感覚で商品の確認および購買意欲を回答することを求めた。これは時間ベースで調査を行うことによって被験者が意図しない情報にまで注意を向けてしまう可能性が生じてしまうことを排除するためであった。さらに、同一の商品を反復してみることを防ぐために、マウスの左ボタン以外の使用は教示により禁止した。商品の提示は順序効果を排除するため提示順序を入れ替えた4つのパターンのいずれかを提示した。

全ての商品パッケージを見た後に質問紙調査への記入を求めた。

(2)調査 1

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の調査を行った。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。

(3)調査 2

調査はアレルギー保持者もしくは同居

家族にアレルギー保持者がいる回答者を対象に調査を実施し、個人差要因としてアレルギーの影響があるかどうかを再度検討するものとした。

食品アレルギー保持の有無については、本調査の前の事前調査として、自分自身や家族に対する病歴の有無などを複数回答してもらい、そのうちの一つに「食べ物のアレルギーがある」という質問を設け、回答を行なった者を本調査回答者とした。なお、この事前調査には様々なテーマの質問をダミー項目として挿入した。結果として、自身が食品アレルギーを保持するまたは同居家族が食品アレルギーを保持する、20～40歳代の男女387名（平均：35.57歳；SD8.12）が課題とアンケートに回答した。

(4)実験 2

2010年10月から11月に実施した。実験参加者は男性5名、女性14名の計19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。

実験参加者は実験室へ入室後、実験者から実験の説明を受けた。「日常の商品に対する購買行動についての実験」であるという説明がなされ、実験参加者は実験参加同意書に署名をした。その後実験者は実験参加者に眼球運動の測定に必要なアイカメラを装着した。測定の準備が整うと、実験者は実験内容の詳細を説明した。実験参加者には、自分のペースで普段店頭の商品を購入するのと同じ感覚

で商品を見ることを求めた。さらに、左の商品から順番に手に取って見るよう指示をし、一度見た商品を反復して見ることを禁止した。賞味期限は判断の材料にしないよう教示した。

半分の実験参加者には「学童保育のおやつ」、もう半分の実験参加者には「大学のサークルの合宿で食べるおやつ」を買う立場であったとき、どの商品を買いたいと思うかを口頭で答えてもらった。低カロリーイメージ商品2カテゴリー、高カロリーイメージ商品2カテゴリー、遺伝子組み換え表示商品1カテゴリーの計5カテゴリーの商品を提示した。

(6) フォーカス・グループインタビュー

a. 消費者対象のヒヤリング方法

一般消費者に対するフォーカス・グループインタビューを行った。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2グループに分けて実施した。

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であった。

b. 事業者対象のヒヤリング方法

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。

C. 研究結果

(1) 実験1

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 ($F(2,66)=.122, n.s.$)。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。

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。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。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、 $t(32)=1.84, p<.10$; $t(32)=1.81, p<.10$)。

(2) 調査1

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んですか」(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る。

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ている。

(3) 調査2

食品アレルギー保持者もしくは同居家族に食品アレルギー保持者がいる回答者における、遺伝子組換え食品に対する3群間の選択率を検討した。それぞれの商品ごとの選択率について χ^2 検定を行った結果、3商品ともに有意な違いが見られた(米 $\chi^2(2)=22.83, p<.01$; トマト χ