

厚生労働科学研究費補助金（食品の安全確保推進研究事業）
「バイオテクノロジーを用いて得られた食品のリスク管理及び国民受容に関する研究」
分担研究報告書（平成 28 年度）

新育種法を用いた作物の検出のための未知領域解析手法の検討と情報収集

研究分担者 近藤 一成（国立医薬品食品衛生研究所）

研究協力者 野口 秋雄、中島 治（国立医薬品食品衛生研究所）

研究要旨：バイオテクノロジー技術の更なる進歩により、これまで以上に多様な生物で遺伝子組換え（GM）体が開発され、それに合わせた検知手法の開発が必要である。メヤコムギなどの主要作物に対する対策は重要な課題である。検査の効率化という点でも、複数の作物に適用可能なスクリーニング法の開発は有用である。我が国における GM コメの食品への混入事例数はヨーロッパ（RASFF）に比べて少ない。これは、我が国では GM コメのスクリーニング検査を実施しておらず、我が国で検査対象外の未承認 GM コメを見逃している可能性が考えられる。そこで、TaqMan プローブを用いたリアルタイム PCR による GM コメのスクリーニング検査法の検討を行った。その結果、GM コメに幅広く導入されている P35S, TNOS, cry1Ab/Ac を標的とした本検査法は良好な PCR 効率および直線性、ならびに十分な感度を有していた。本検査法は、現在見逃されている可能性のある未承認 GM コメを検出することが可能になると期待される。

近年、従来使用されてきた外来のプロモーターやターミネーターではなく内在性のもので使用した遺伝子組換え（GM）作物の開発が増加している。このような GM 作物は、従来のスクリーニング検査では遺伝子組換え体であることを迅速に確認することは極めて困難である。これらの問題を解決する手法の一つで、既知配列から導入遺伝子やゲノム上の導入位置を迅速に明らかにできる Linear-amplified mediated PCR (LAM-PCR)法について、本研究では遺伝子組換え(GM)ジャガイモ Innate™ event-1 を対象に検討を行った。ジャガイモの内在性プロモーターpGBSS の配列をもとにプライマーを設計し、LAM-PCR を実施した結果、予想される断片長の増幅産物が得られた。シーケンス解析の結果、元々ジャガイモゲノム上に存在する配列と一致する配列、導入された PHL 遺伝子の一部と一致する配列および導入された ASN 遺伝子の一部と一致する配列が確認された。以上の結果から、LAM-PCR は内在性配列をもとに導入遺伝子の情報やコピー数を迅速に明らかにできることが示された。本方法は、スクリーニング検査などで陽性と判定された検体について迅速に GM 品種を特定することが可能になると期待される。

諸外国（特に、米国、EU、オーストラリア・ニュージーランド、カナダ）の GM 生物の規制に関する法律等について整理した。これまでに、親育種法を用いて作製された生物では、米国においてイントラジェネシスのジャガイモ、ゲノム編集のマッシュルーム、トウモロコシが承認されている。EU では、ゲノム編集を含む親育種法を用いた生物に対する規制上の取り扱いの判断はされていない。

A. 研究目的

(1)スクリーニング法開発 (コメの例)

害虫抵抗性の遺伝子組換え (GM) コメは、アメリカや中国を中心に開発されてきた。特に近年中国では数多くの種類の GM コメが開発されており、市場商品への混入が懸念されている。実際に、GM コメが承認されていないヨーロッパでは GM パパイヤとならび、GM コメの食品への混入事例が数多く報告されており、その大半が中国からの輸入品である。我が国においても GM コメは承認されていないが、GM コメの食品への混入事例が報告されている。しかし、その報告数はヨーロッパに比べて少ない。ヨーロッパにおける GM コメの検査は、cauliflower mosaic virus 由来 35S プロモーター (P35S)、*Agrobacterium tumefaciens* 由来 nopaline synthase ターミネーター (TNOS)、殺虫性タンパク質遺伝子 *cryIAb* および *cryIAc* (*cryIAb/Ac*) の配列をターゲットとしたスクリーニング検査法にて実施しているが、一方、我が国では主要な GM コメ 4 系統 (63Bt, NNBt, CpTI, LLRICE601) に対する検査法を実施している。このため、我が国では検査対象外の未承認 GM コメを見逃している可能性が考えられ、幅広く GM コメを検出できるスクリーニング検査法の開発が求められる。そこで、本研究では、我が国の GM 作物検査で主に用いられている TaqMan プローブを用いたリアルタイム PCR による GM コメのスクリーニング検査法の検討を行った。

(2) LAM-PCR を用いた内在性プロモーターから周辺未知配列の解析

2013 年以降、GM 作物の栽培面積はアジ

ア・アフリカなど発展途上国が先進国を上回っている。一方、アメリカを中心とする先進国では新たな GM 作物が次々と開発されている。遺伝子発現を制御するプロモーターについては、汎用されてきた P35S に代わり rice actin プロモーター、maize ubiquitin プロモーター、あるいは potato granule-bound starch synthase プロモーターなどの内在性プロモーターが使用される傾向にある。また、ターミネーターに関しても内在性のものを使用する傾向にある。このような GM 作物の場合、遺伝子組換え体 (GMO) であることをプロモーターやターミネーターを用いたスクリーニング検査で迅速に確認することが極めて困難である。この問題を解決するためには、小さな既知 DNA 配列をもとに導入遺伝子の種類やコピー数および挿入位置を迅速に明らかにする分析手法が必要である。本研究ではそのために Linear-amplified mediated PCR (LAM-PCR) 法の検討を行った。本年度は、対象作物に GM ジャガイモ Innate™ event-1 を用い、内在性プロモーターの配列情報から導入遺伝子の解明が可能であるかを検討した。

(3) GMO 規制と開発に関する情報収集

現在、新育種法 (NPBT) に関する規制上の取扱いの検討が EU など諸外国で行われている。一方で、GM に特化した規制上の法律がない米国では、独自の基準により幾つかの作物が USDA で承認されている現状がある。米国以外の国では、これらは未承認 GM 扱いとなる。このような現状から、日本国内においても NPBT に関する検討を進めておく必要があることから、情報収集を行う。

B. 研究方法

(1)スクリーニング法開発 (コメの例)

1. プライマー・プローブの設計

開発が報告されている GM コメに幅広く導入されている P35S, TNOS, cry1Ab/Ac を標的とした (表 1-1). また, コメ陽性対照試験用の内在性遺伝子としては phospholipase D (PLD) を用いた. これらの配列を検出するプライマー・プローブは既報の文献を参考にした (表 1-2) ²⁾⁴⁾.

2. リアルタイム PCR

【リアルタイム PCR 用反応液組成】PCR 用反応液は 25 μ L/well として調製した. 組成は以下のとおりである. FastStart Universal Probe Master (Rox) (Roche Diagnostics: Basel, Switzerland) 12.5 μ L, 対象プライマー対溶液 (各プライマー, 50 μ mol/L) 各 0.25 μ L, 対象プローブ溶液 (10 μ mol/L) 0.5 μ L を混合し, DNA 試料液 5 μ L を添加し滅菌蒸留水で全量 25 μ L に調製した.

【リアルタイム PCR 条件】リアルタイム PCR には, ABI PRISM™ 7900HT (Thermo Fisher Scientific) を使用した. PCR 条件は以下のとおりである. 50°C, 2 分間の条件で保持した後, 95°C で 10 分間加温し, ホットスタート法で反応を開始した. その後, 95°C 15 秒, 60°C 1 分を 1 サイクルとして, 45 サイクルの増幅反応を行った.

【測定結果の解析】結果の判定は Amplification plot 上で指数関数的な増幅曲線と C_q 値の確認, および multicomponent 上での対象蛍光色素由来の蛍光強度 (FAM) の指数関数的な明確な増加の確認をもって

行った. ベースラインは 3 サイクルから 15 サイクルで設定し, ΔRn のノイズ幅の最大値の上側で, 安定した指数関数的な増幅曲線上で交わる Threshold line として 0.2 に設定した.

3. 陽性コントロールプラスミドの作製

PLD, P35S, TNOS, cry1Ab/Ac の増幅配列を導入したプラスミドを作製した (図 1-1). 各増幅配列を連結した配列を eurofins (Kraainem, Belgium) の人工遺伝子合成サービスを利用して合成した. 合成した配列は, アンピシリン耐性遺伝子を含むベクター pEX-A2J1 に組み込んだ. リアルタイム PCR には, EcoO109I にて切断することで線状化し, フェノール:クロロホルム:イソアミルアルコール (25:24:1) 抽出, クロロホルム抽出, エタノール沈殿により精製したものをを用いた. コピー数は, Qubit® dsDNA BR Assay Kit にて測定した DNA 濃度と分子量から算出した.

(2) LAM-PCR を用いた内在性プロモーターから周辺未知配列の解析

1. 試料

GM ジャガイモ Innate™ event-1 (J.R. Simplot Company) は, 開発企業から入手したものをを使用した.

2. プライマーの設計

GM ジャガイモ Innate™ event-1 に導入されている内在性プロモーター pGBSS の配列情報から, 下流領域を増幅するプライマーを設計した (図 2-1 および表 2-1). Linear PCR および 1st nested PCR には biotin 化プライマ

一を用いた。

3. LAM-PCR

【Linear PCR】反応液組成は以下の通りである。10×ExTaq Buffer (TAKARA) 5 μL, 2.5 mM each dNTP Mixture (TAKARA) 4 μL, 50 μM primer pGbss-Rev2 0.5 μL, 5 U/μL ExTaq HS (TAKARA) 0.25 μL を混合し、non-GM ジャガイモまたは GM ジャガイモ Innate™ event-1 から抽出した DNA 試料液 (100 ng/μL) 5 μL を添加し、蒸留水で全量 50 μL に調製した。反応は GeneAmp® PCR System 9700 (Thermo Fisher Scientific) を用い、98°C で 5 分間加温し、ホットスタート法で反応を開始した。その後、98°C, 1 分, 60°C, 30 秒, 72°C, 1 分 30 秒を 1 サイクルとして、50 サイクルの増幅反応を行った。増幅産物は既報の方法²⁾に従って、磁気化 streptavidin ビーズ (Streptavidin Mag Sepharose, GE Healthcare) に補足させた。

【dsDNA 合成】反応液組成は以下の通りである。10×hexanucleotide mixture (Sigma-Aldrich) 2 μL, 200 μM each dNTPs 0.5 μL, 2 U/μL Klenow polymerase (New England Biolabs) 0.25 μL を混合し、蒸留水で全量 20 μL に調製した。増幅産物を補足させたビーズに反応液を加え、37°C で 1 時間インキュベートした。反応後、既報の方法²⁾に従ってビーズを洗浄した。

【制限酵素処理】制限酵素 MseI の反応液組成は以下の通りである。10×CutSmart Buffer (New England Biolabs) 2 μL, 4 U/μL MseI (New England Biolabs) 1 μL を混合し、蒸留水で全量 20 μL に調製した。dsDNA 合成後のビーズに反応液を加え、37°C で 1 時間インキュベートした。反応後、既報の方法²⁾に

従ってビーズを洗浄した。

【リンカーカセットの調整】リンカーカセット調整液の組成は以下の通りである。1 M Tris-HCl (pH7.2) 20 μL, 25 mM MgCl₂ 40 μL, 100 μM LC1 (5'-GACCCGGGAGATCTGAATTCAGTGGCACAGCAGTTAGG-3') 40 μL, 100 μM LC4 (5'-TACCTAACTGCTGTGCCACTGAATTCAGATC-3') 40 μL を混合し、蒸留水で全量 200 μL に調製した。GeneAmp® PCR System 9700 を用い、95°C で 5 分間加温し、13 時間かけて 20°C に冷却した。冷却後、Amicon® Ultra - 0.5 mL Ultracel® - 30K (Merck Millipore) を用いて脱塩・濃縮した(最終液量 80 μL)。

【リンカーライゲーション】反応液組成は以下の通りである。10×T4 DNA Ligase Reaction Buffer (New England Biolabs) 2 μL, 4 U/μL MseI (New England Biolabs) 1 μL, リンカーカセット 2 μL を混合し、蒸留水で全量 20 μL に調製した。制限酵素処理後のビーズに反応液を加え、室温で 1 時間インキュベートした。反応後、既報の方法²⁾に従ってビーズを洗浄した。

【一本鎖 DNA の遊離】リンカーライゲーション後のビーズに 0.1 M NaOH 5 μL を加え、室温で 30 分間インキュベートし、一本鎖 DNA を遊離させた。

【1st Nested PCR】反応液組成は以下の通りである。10×ExTaq Buffer 5 μL, 2.5 mM each dNTP Mixture 4 μL, 50 μM primer 1st nest pGbss-Rev2 0.5 μL, 50 μM primer LCI 0.5 μL, 5 U/μL ExTaq HS 0.25 μL を混合し、一本鎖 DNA 溶液 1 μL を添加し、蒸留水で全量 50 μL に調製した。反応は GeneAmp® PCR System 9700 を用い、98°C で 5 分間加温し、ホットスタート法で反応を開始した。その

後、98°C, 10 秒, 60°C, 30 秒, 72°C, 1 分 30 秒を 1 サイクルとして、35 サイクルの増幅反応を行い、その後 72°C, 10 分反応させた。増幅産物は既報の方法²⁾に従って、磁気化 streptavidin ビーズに補足させた。その後、0.1 M NaOH 5 µL を加え、室温で 30 分間インキュベートし、一本鎖 DNA を遊離させた。

【2nd Nested PCR】反応液組成は以下の通りである。10×ExTaq Buffer 5 µL, 2.5 mM each dNTP Mixture 4 µL, 50 µM primer 2nd nest pGbss-Rev2 0.5 µL, 50 µM primer LCII 0.5 µL, 5 U/µL ExTaq HS 0.25 µL を混合し、1st Nested PCR 産物 1 µL を添加し、蒸留水で全量 50 µL に調製した。反応は GeneAmp® PCR System 9700 を用い、98°C で 5 分間加温し、ホットスタート法で反応を開始した。その後、98°C, 10 秒, 60°C, 30 秒, 72°C, 1 分 30 秒を 1 サイクルとして、35 サイクルの増幅反応を行い、その後 72°C, 10 分反応させた。

4. シーケンス解析

LAM-PCR 増幅産物は 2% アガロースゲル電気泳動[アガロース, Agarose 21 (ニッポンジーン); 染色剤, Gel Red (Biotium)]に供し、検出された主要バンドを切り出し、精製した。pGEM-T Easy Vector Systems (Promega) を用いて、精製した LAM-PCR 増幅産物をクローニングし、プラスミド DNA をシーケンス解析した。解析した増幅産物の配列を BLAST 解析あるいは GM ジャガイモ Innate™ event-1 の導入配列とのアライメント解析を行った。

(3) GMO 規制と開発に関する情報収集

主要国における GM 規制上の法律等の調

査、および新育種法を用いた GM 生物の開発状況を調査した。主要国である、米国、EU、オーストラリア・ニュージーランド、カナダ) の GM 生物の規制に関する法律等について整理を行った。新育種法 (NPBT) を用いた生物の開発状況を調査した。

C. 研究結果

(1) スクリーニング法開発 (コメの例)

1. PCR 効率の算出

各検知試験の PCR 効率を調べるために、100, 500, 1,000, 5,000, 10,000, 50,000, 100,000 copies/well の陽性コントロールプラスミドを鋳型にして 3 併行でリアルタイム PCR を実施した。その結果、PLD, P35S, TNOS および cry1Ab/Ac 全てにおいて、PCR 効率 ($E=92.6, 92.3, 92.5, 96.6\%$), 直線性 ($R^2=0.9997, 0.9993, 0.9999, 0.9998$) とともに良好であった (図 1-2)。

2. 検出限界 (LOD) の算出

検出限界 (LOD) を算出するために、2.5, 5, 10, 20 copies/well の陽性コントロールプラスミドを鋳型にして 21 併行でリアルタイム PCR を実施した。その結果、PLD, P35S および TNOS において 10 copies では 95% 以上の検出率を示したが、5 copies では 95% 以下の検出率を示した (表 1-3)。この結果から、これらの LOD を 5~10 copies の間とした。一方で、cry1Ab/Ac においては 5 copies では 95% 以上の検出率を示したが、2.5 copies では 95% 以下の検出率を示した (表 1-3)。この結果から、cry1Ab/Ac の LOD を 2.5~5 copies の間とした。

(2) LAM-PCR を用いた内在性プロモーターから周辺未知配列の解析

1. LAM-PCR による内在性プロモーター pGBSS 下流領域の増幅

GM ジャガイモ Innate™ event-1 の導入配列中にはジャガイモ内在性プロモーター pGBSS が 2 コピー存在している。そのため、LAM-PCR によって pGBSS 下流領域を増幅させた場合、元々ジャガイモゲノム中に存在する pGBSS 由来のものを含めて少なくとも 3 つの増幅断片が形成されると予想され (図 2-2), LAM-PCR の結果、非組換えジャガイモから抽出した DNA 溶液を鋳型にした場合に、2nd Nested PCR において、約 300 bp の 1 本のバンドが検出された (図 2-3)。一方で、GM ジャガイモ Innate™ event-1 から抽出した DNA 溶液を鋳型にした場合に、2nd Nested PCR において、約 300 bp と約 250 bp の 2 本のバンドが検出された (図 2-3)。元々の pGBSS 由来の配列は予想増幅断片長が 297 bp、GM ジャガイモ Innate™ event-1 に導入した pGBSS 由来の配列は予想増幅断片長が 254 bp と 297 bp であり、LAM-PCR の結果はこれに一致した。

2. pGBSS 下流領域のシーケンス解析

非組換えジャガイモおよび GM ジャガイモ Innate™ event-1 から抽出した DNA 溶液を鋳型に LAM-PCR にて増幅された主要バンドを精製し、クローニングした後、シーケンス解析を行った。非組換えジャガイモからの約 300 bp の増幅断片 7 クロウンをシーケンス解析した結果、全てでジャガイモの pGBSS および GBSS 遺伝子の一部とほぼ一致した (表 2-2, 図 2-4A-G)。GM ジャガイ

モ Innate™ event-1 からの約 300 bp の増幅断片 12 クロウンをシーケンス解析した結果、8 クロウンは pGBSS および GBSS 遺伝子の一部と、2 クロウンは pGBSS および導入した phosphorylase L (PHL) 遺伝子の一部と、1 クロウンは pGBSS および導入した asparagine synthetase (ASN) 遺伝子の一部と、1 クロウンは pGBSS の一部とほぼ一致した (表 2-2, 図 2-4H-S)。GM ジャガイモ Innate™ event-1 からの約 250 bp の増幅断片 8 クロウンをシーケンス解析した結果、4 クロウンは pGBSS および導入した ASN 遺伝子の一部と、4 クロウンは pGBSS の一部とほぼ一致した (表 2-2, 図 2-4T-α)。

(3) GMO 規制と開発に関する情報収集

NPBT 作物・動物の承認状況

2017.1 現在

1. 米国 USDA : (1) Dupont Pioneer's waxy gene knockout corn

USDA approved on April 2016

理由 : 7CFR340 に基づき、PPA (Plant Protection Act) に該当しないため。

(2) PPO knockout Mushroom to prevent browning (Pennsylvania Univ) on April 2016

理由 : 7CFR340 に基づき、PPA (Plant Protection Act) に該当しないため。

2. 欧州: 承認したものはない。ゲノム編集 (小さな改変) 作物の GMO 規制からの除外に前向きな国は、英国、ドイツ、スウェーデン、イタリア、フランス、オランダ。ただし、ドイツは ZKBS、BVL が ODM とゲノム編集による小さな改変を GMO 規制外としたが、EU の現在の枠組みである Directive 2001/18/EC に基づいた NPBT 技術の判断について、多くの技術が GMO の規

制の枠内とされるのではないかとされている。フランスは、現在欧州司法裁判所にゲノム編集作物の扱いについて判断を求めており、その判断は2018年とされているため、それまではEUの正式な判断はない。ゲノム編集での数塩基の変異やODMについて、2015年EASAC(欧州科学アカデミー)は、技術ではなく形質(trait)やプロダクトで判断すべきと報告。一方、シスジェネシスは、cisgenic appleを開発しているオランダはGMO除外を主張しているが、UKなど他の国はGMO規制内との考えが主流である。意図的に改変したものは、全て組換え体として判断すべきとの主張である国民と、ゲノム編集などの小さな変異導入は自然に起きる変化と同等であるため組換え体と扱わないようにすべきとする開発側との間での意見の相違が極めて大きい。そのため、規制側の判断が遅れている。リスクコミュニケーションの重要性が痛感される。

3. オーストラリア・ニュージーランド：ニュージーランドのEPAは、ZFN and TALEN-based GM pine (Crown Research Institute Scion)を規制外としたが、High Courtは判断を覆してGMOと判断
理由：ゲノム編集を従来の自然界で起きる程度の変化と考えるだけの根拠や歴史がないため。

4. アルゼンチン：基本は外来遺伝子が残存しているかどうかの判断であるが、ゲノム編集作物はcase-by-caseで判断する

5. カナダ：
用いた技術に関係なく、新しい形質を持つものは審査の対象であるため、NPBTについても新規食品として審査される。ODMナタネが審査中

6. 日本：ゲノム編集生物は、京都大学と近畿大学による筋肉量増強マダイ(CRISPR)を始め、マグロ、ニワトリトマトなどで研究されている。接ぎ木を利用したジャガイモ(穂木としてGMタバコを非GMジャガイモ台木に接木してGBSS遺伝子抑制)は、産生したsiRNAは非GM体へ移行して機能する(もち性上昇)もので、ゲノム編集イネとともに国内での隔離圃場試験が承認される予定である。

主要国の規制上の法律とGMOの定義を一覧表(表2)に整理した。

D. 考察

(1)スクリーニング法開発(コメの例)

GMコメの検査において、我が国ではスクリーニング検査を実施しておらず、検査対象外の未承認GMコメを見逃している可能性が考えられ、幅広くGMコメを検出できるスクリーニング検査法の開発が求められている。そこで本研究では、開発が報告されているGMコメに幅広く導入されているP35S, TNOS, cry1Ab/Acを標的としたリアルタイムPCRを用いたスクリーニング検査法の検討を行った。本検査法は良好なPCR効率および直線性、ならびに十分な感度を有していた。また、標的配列を検出するプライマー・プローブは既報の文献を参考にしているため、特異性は高いと考えられる²⁴⁾。

今回標的とした配列は、ヨーロッパで実施されているGMコメスクリーニング検査法で用いられている配列と同じであるが⁹⁾、ヨーロッパの方法はSYBR Green Iを用いたリアルタイムPCRであるのに対し、本検査

法は TaqMan プローブを用いたリアルタイム PCR であるため、より高い特異性が期待される。また将来的には、マルチプレックスリアルタイム PCR への発展が期待できる。

(2) LAM-PCR を用いた内在性プロモーターから周辺未知配列の解析

内在性プロモーターやターミネーターを使用して開発された GM 作物は、従来のスクリーニング検査では GMO であることを迅速に確認することは極めて困難である。これらの問題を解決する手法の一つである LAM-PCR 法について、本研究では GM ジャガイモ Innate™ event-1 を対象に検討を行った。GM ジャガイモ Innate™ event-1 の内在性プロモーター-pGBSS は元々存在している配列が少なくとも 1 コピー、導入配列由来の配列が 2 コピー存在するため、合計で少なくとも 3 コピー存在する。pGBSS の配列をもとにプライマーを設計し、LAM-PCR を実施した結果、検出された増幅産物は 2 本であった。これは、元々存在している配列と導入配列由来の内の 1 つの配列との増幅断片長が非常に近い（それぞれ 297 bp, 296 bp）ために、アガロースゲル電気泳動法ではこれらを分離できなかったためであり、シーケンス解析の結果、元々存在する配列と一致する配列、導入された PHL 遺伝子の一部と一致する配列および導入された ASN 遺伝子の一部と一致する配列が確認された。以上の結果から、LAM-PCR は内在性配列をもとに導入遺伝子の情報やコピー数を迅速に明らかにできることが示された。今回の実験系では、ゲノムとの境界領域の情報を得るには至らなかったが、増幅産物の伸長

方向を変えて LAM-PCR を実施することで、ゲノムとの境界領域の情報を得ることができると考えられる。

E. 結論

(1)スクリーニング法開発（コメの例）

TaqMan プローブを用いたリアルタイム PCR による GM コメのスクリーニング検査法の検討を行った。本検査法は、現在見逃されている可能性のある未承認 GM コメを検出することが可能になると期待される。

(2) LAM-PCR を用いた内在性プロモーターから周辺未知配列の解析

GM ジャガイモ Innate™ event-1 を対象に LAM-PCR の検討を行った結果、内在性配列をもとに導入遺伝子の情報やコピー数を迅速に明らかにできることが示された。本方法は、スクリーニング検査などで陽性と判定された検体について迅速に GM 品種を特定することが可能になると期待される。

(3) GMO 規制と開発に関する情報収集

親育種法 (NPBT) の EU のを含む各国の規制上の取扱は定まっていない。米国は独自の基準により判断し、いくつかの作物が既に USDA により承認されている。開発者、規制側、国民の間での考え方に大きな乖離がある。

【参考文献】

- 1) RASFF Portal, <https://webgate.ec.europa.eu/rasff-window/portal/>
- 2) Kuribara, H. et al., *J. AOAC Int.*, **85**, 1077–

- 1089 (2002).
- 3) Grohmann, L. et al., *Accred. Qual. Assur.*, **20**, 85-96 (2015).
- 4) 厚生労働省, 食安監発 0528 第 2 号 (2012).
- 5) Schmidt, M. et al., *Nat. Methods*, **4**, 1051-1057 (2007).
- 6) Kluga, L. et al., *Food Anal. Methods*, **6**, 361-369 (2013).

F. 健康危険情報

なし

G. 研究発表

1. 論文発表

- (1) Noguchi, A., Nakamura, K., Sakata, K., Sato-Fukuda, N., Ishigaki, T., Mano, J., Takabatake, R., Kitta, K., Teshima, R., Kondo, K. and Nishimaki-Mogami, T. (2016) Development and Interlaboratory Validation of a Simple Screening Method for Genetically Modified Maize using $\Delta\Delta Cq$ -based Multiplex Real-time PCR. *Anal. Chem.*, **88**, 4285-4293.
- (2) Nakamura, K., Kondo, K., Akiyama, H., Ishigaki, T., Noguchi, A., Katsumata, H., Takasaki, K., Futo, S., Sakata, K., Fukuda, N., Mano, J., Kitta, K., Tanaka, H., Akashi, R. and Nishimaki-Mogami, T. (2016) Whole genome sequence analysis of unidentified genetically modified papaya for development of a specific detection method. *Food Chemistry*, **205**, 272-279.

- (3) Nakamura, K., Kondo, K., Akiyama, H., Ishigaki, T., Noguchi, A., Katsumata, H., Takasaki, K., Futo, S., Sakata, K., Fukuda, N., Mano, J., Kitta, K., Tanaka, H., Akashi, R. and Nishimaki-Mogami, T. (2016) Interlaboratory validation study of real-time polymerase chain reaction detection method for unauthorized genetically modified papaya line PRSV-YK. *Data in Brief*, **7**, 1165-1170.

2. 学会発表

- (1) 野口秋雄, 中村公亮, 坂田こずえ, 石垣拓実, 加藤怜子, 真野潤一, 高島令王奈, 橘田和美, 最上(西巻)知子, 近藤一成: 遺伝子組換えトウモロコシ粒検査法の簡易化, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 青森, 2016 年 10 月
- (2) 中村公亮, 石垣拓実, 野口秋雄, 坂田こずえ, 加藤怜子, 真野潤一, 橘田和美, 最上(西巻)知子, 近藤一成: アクリルアミド産生低減並びに打撲黒斑低減を目的に開発された遺伝子組換えジャガイモ(J3、F10、E12 系統)の検知法開発(第 1 報), 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 青森, 2016 年 10 月
- (3) 坂田こずえ, 中村公亮, 野口秋雄, 石垣拓実, 加藤怜子, 近藤一成: ITS-RPB2 領域を用いたクサウラベニタケ系統分類と中毒事例検体の分析, 第 53 回全国衛生化学技術協議会年会, 青森, 2016 年 10 月
- (4) 菅野陽平, 青塚圭二, 佐藤正幸, 鈴木智宏, 坂田こずえ, 野口秋雄, 中村公亮,

- 近藤一成：Loop-Mediated Isothermal Amplification (LAMP) 法を用いたツキヨタケの迅速判別法の検討，第 112 回日本食品衛生学会学術講演会，函館，2016 年 10 月
- (5) 野口秋雄，中村公亮，坂田こずえ，石垣拓実，加藤怜子，真野潤一，高畠令王奈，橘田和美，最上（西巻）知子，近藤一成：遺伝子組換えトウモロコシの簡易粒検査法の開発（続報），第 112 回日本食品衛生学会学術講演会，函館，2016 年 10 月
- (6) 高畠令王奈，大西真理，布藤聡，峯岸恭孝，野口秋雄，中村公亮，近藤一成，手島玲子，真野潤一，橘田和美：遺伝子組換えイネ検出のためのイネ種共通内在性配列の検討，2016 年度 AOAC 日本セクション年次大会，東京，2016 年 7 月
- (7) 高畠令王奈，増渕友子，布藤聡，峯岸恭孝，野口秋雄，近藤一成，手島玲子，倉嶋たけ代，真野潤一，橘田和美：遺伝子組換えトウモロコシ MIR162 の系統特異的定量検知法の開発および妥当性確認，2016 年度 AOAC 日本セクション年次大会，東京，2016 年 7 月
- (8) 真野潤一，西辻泰之，野間聡，菊池洋介，福留真一，川上裕之，佐藤恵美，新畑智也，栗本洋一，布藤聡，野口秋雄，中村公亮，近藤一成，高畠令王奈，橘田和美：リアルタイム PCR を用いた DNA 断片化測定法の開発と性能評価，2016 年度 AOAC 日本セクション年次大会，東京，2016 年 7 月
- (9) 高畠令王奈，鍵屋ゆかり，峯岸恭孝，布藤聡，野口秋雄，近藤一成，最上（西巻）知子，真野潤一，橘田和美：LAMP 法を用いた安全性審査済み遺伝子組換えダイズおよびトウモロコシのスクリーニング的定性検知法開発，日本食品化学学会 第 22 回総会・学術大会，高知，2016 年 6 月
- (10) 中村公亮，近藤一成，穂山浩，石垣拓実，野口秋雄，勝又啓史，高崎一人，布藤聡，坂田こずえ，福田のぞみ，真野潤一，橘田和美，田中秀典，明石良，最上（西巻）知子：安全性未審査の遺伝子組換えパパイヤ検知に向けた全ゲノムシーケンシング技術応用の検討について，日本食品化学学会 第 22 回総会・学術大会，高知，2016 年 6 月

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

なし

2. 実用新案登録

なし

3. その他

なし

表 1-1 GM コメ系統と導入配列 (参考文献 6) を改変

	P35S	TNOS	Cry1Ab/Ac
Kefeng-6	✓	✓	✓
Ilyou Kefeng-6 (hybrid line)	✓	✓	
Huahui 1		✓	✓
Bt63		✓	✓
KMD1 (Kemingdao)	✓	✓	
LLRice 601	✓		
LLRice 62	✓		
Event T103-10 (Xa21-IR72)	✓		
Event 11586 (Golden Rice)		✓	
GM II-Youming 86	✓	✓	
Bt aizawai 7-29	✓		
Bt Xiushui 11			
Minghui 63a			
GM Minghui 63b			
IR72; Minghui 63c			✓
GM Minghui 86a			
Eyi 105; Ewan 5	✓		
Xiushui 11; Chunjiang 11	✓		
Jijing81; Jijing 88; Tong 887	✓		
Minghui86b			
Minghui63d, Zhenshan97A, MaxieA			✓
Zhuxian B			
Eyi105, Ewan5			
Zhongua91(a)			
Zhongua91(b)			
Xiushui110			

表 1-2 本検査法で用いたプライマー・プローブ

name	sequence (5'-3')	amplicon size (bp)	reference
<i>PLD</i>			
PLD3959F	GCTTAGGGAACAGGGAAGTAAAGTT	80	4)
PLD4038R	CTTAGCATAGTCTGTGCCATCCA		
PLD-PB	FAM-TGAGTATGAACCTGCAGGTCGC-BHQ1		
<i>P35S</i>			
P35S 1-5'	ATTGATGTGATATCTCCACTGACGT	101	2)
P35S 1-3'	CCTCTCCAAATGAAATGAACTTCCT		
P35S-TaqB	FAM-CCCCTATCCTTCGCAAGACCCTTCCT-BHQ1		
<i>TNOS</i>			
NOS ter 2-5'	GTCTTGCGATGATTATCATATAATTTCTG	151	2)
NOS ter 2-3'	CGCTATATTTTGTCTTCTATCGCGT		
NOS-TaqB	FAM-AGATGGGTTTTTATGATTAGAGTCCCGCAA-BHQ1		
<i>cry1Ab/Ac</i>			
Bt-F1(mod)	GAGGAAATGCGTATTCAATTCAAC	74	3)
Bt-R	TTCTGGACTGCGAACAATGG		
Bt-P	FAM-ACATGAACAGCGCCTTGACCACAGC-BHQ1		

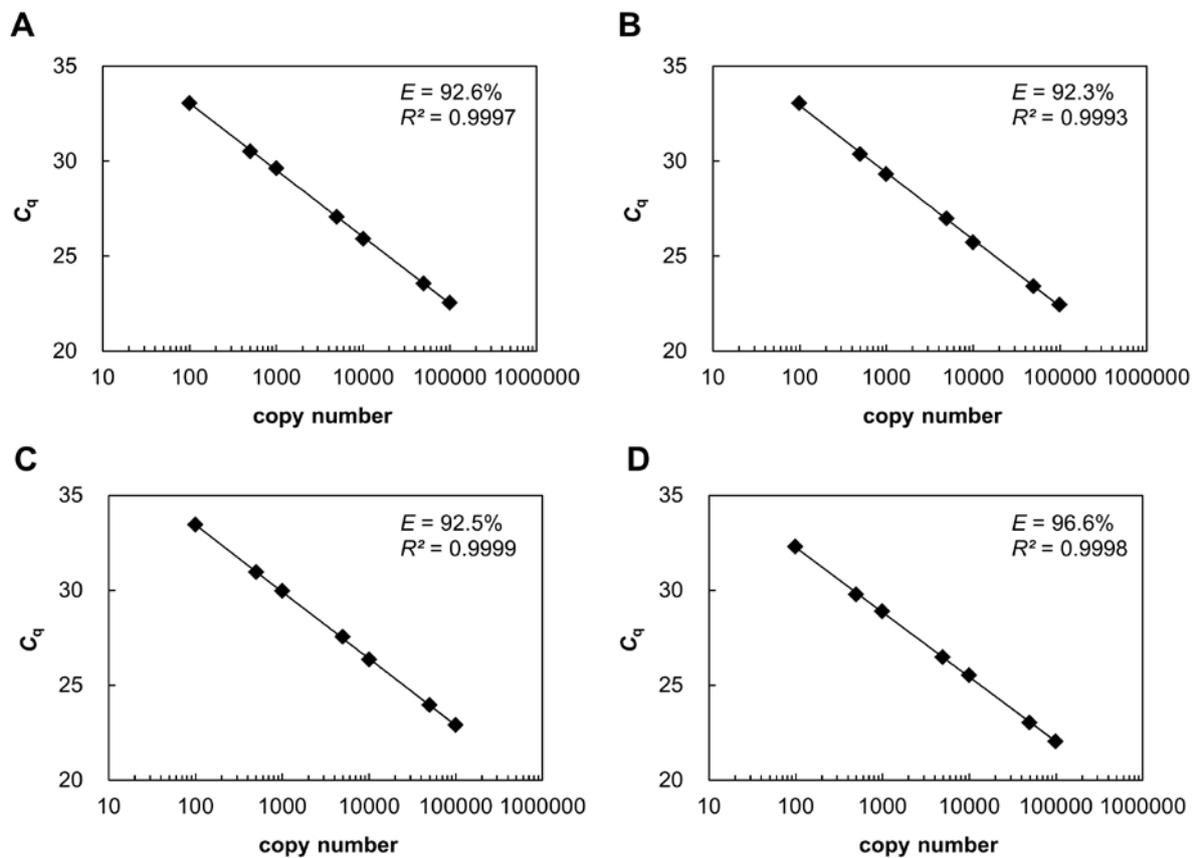


図 1-2 GM コメスクリーニング検査法の PCR 効率

横軸にプラスミド DNA のコピー数の対数值，縦軸に C_q 値をプロットした。(A) PLD, (B) P35S, (C) TNOS, (D) cry1Ab/Ac 反応系のプロット図。E, PCR 効率。

C

```

TAGTCCACCAAGAACATCACCTAGTCCACCAGTTTTGCTCCAAGGACCAACCTCAGTACCCACAAAGATCAAGTTCATTCCCTTTCCACAAACAATGGTA
GCTGAGCATCCAGGTCTCTTGGTCTCAGTTCTGGATGCCATCTTGGGTGTACCTTAGTATTAGTTCCTTGATTGGAGCCCATCAAGCTTGTTAACAGCCC
TTAAACCATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCCTATCTGTGACAAGTTGATTTGGTGTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGA
AGCTGTGATGCTTGCCATGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAATTGATTTCTGAGAAGAAG

AAGAAGAAGAGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAAATCAGAAATAGATGAGATGAGATATGAAA

1st nest pGbss-Rev2 B pGbss-Rev2 B 2nd nest pGbss-Rev2
CAACGTTTATACACCATAACACGATTCATAATAGAATGTAGGGAAACATGCATGAAATCAGAAATAATTGGAGGAGATGAGTAAAAGTTACCACTTGTTC

AGCTGTGTGAGTGAGTGAGTGAGTGAGTGTGAGAATGAGGAGGTGCCTGCCTTATTTGTAGCAGGTTTCAGTGACACGTGTCAAGAGAATAGCGGGTGGCTATCCCTT
AGCGGAAGGCAACTGTGGACACTGTATTATAGGAAAATGCTCATCGACAGTATTATGGGCCCTCTCTTTGTTGATTACGGCTGGACTTCAACTTGGGCC
TTGCAATGGGCCCTCCGGTCTGTCTCCTAGTATCTAAAAAACTAAACCAACTCCCTCCTACCGCTACCACTTGACATTCCTATGTCTCGTGTAAATTA
AAATATTATTATA
  
```

図 2-1 LAM-PCR 増幅断片周辺の DNA 配列 (続き)

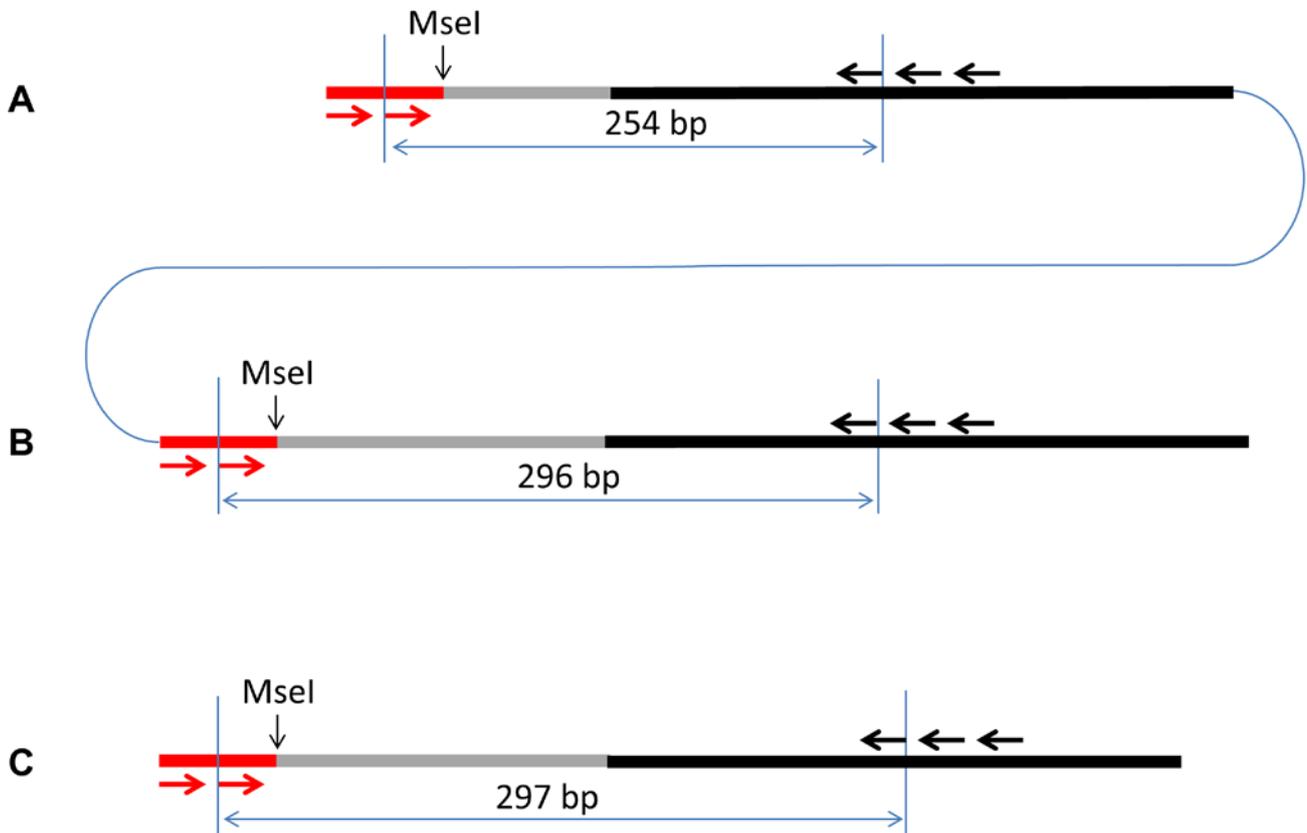


図 2-2 LAM-PCR 増幅断片の模式図

(A) GM ジャガイモ Innate™ event-1 に導入された遺伝子カセットの pGBSS-ASN 周辺配列. (B) GM ジャガイモ Innate™ event-1 に導入された遺伝子カセットの pGBSS-PHL 周辺配列. (C) ジャガイモに元々存在する pGBSS-GBSS 周辺配列. 黒ボックス, pGBSS. 灰ボックス, 各遺伝子. 赤ボックス, リンカーカセット. 黒矢印, ゲノム配列特異的プライマー (右から pGbss-Rev2, 1st nest pGbss-Rev2, 2nd nest pGbss-Rev2). 赤矢印, アダプター特異的プライマー (左から LCI, LCII).

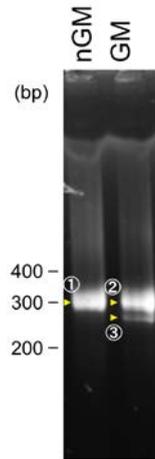


図 2-3 2nd Nested PCR 増幅断片のアガロース電気泳動解析

非組換えジャガイモ DNA から増幅された約 300 bp のバンド (①), GM ジャガイモ Innate™ event-1 DNA から増幅された約 300 bp のバンド (②) および約 250 bp のバンド (③) についてクローニングし, シーケンス解析を行った。

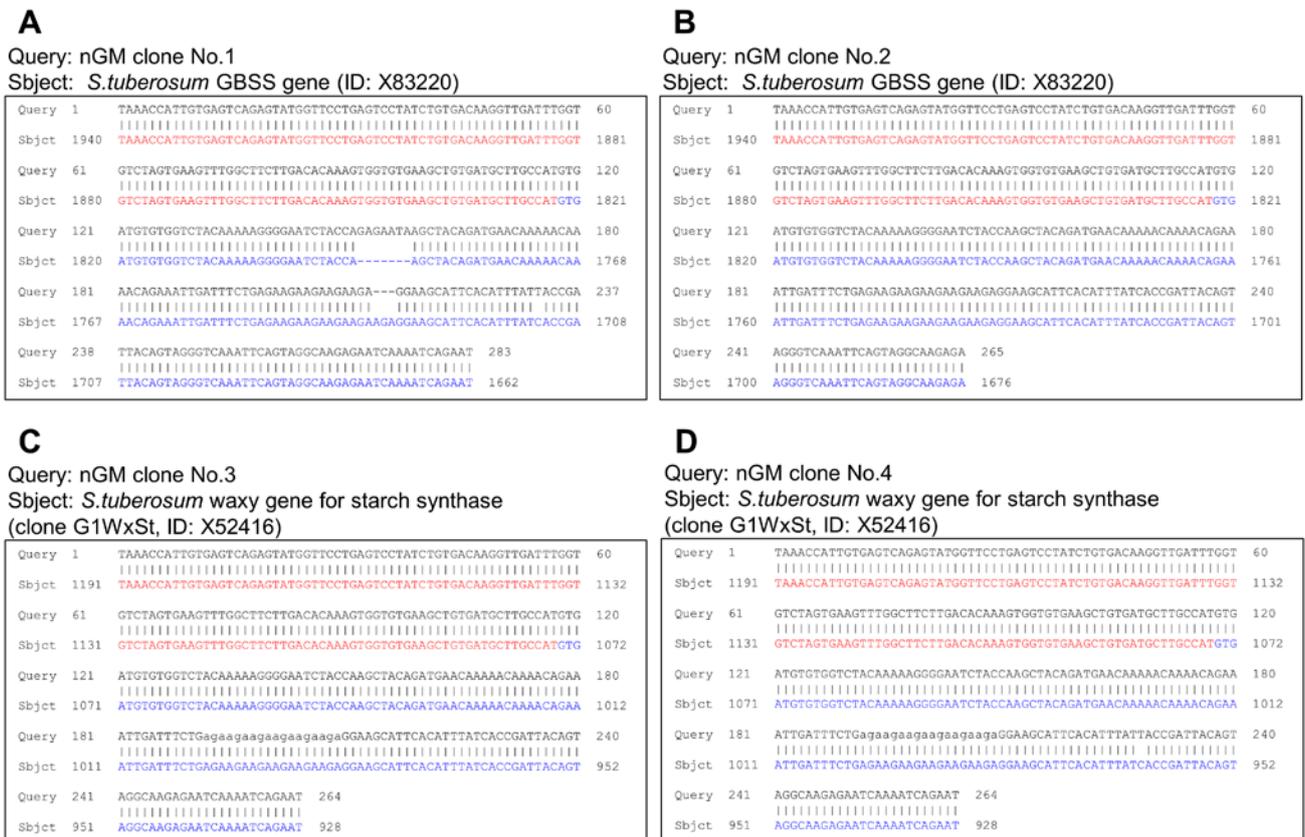


図 2-4 2nd Nested PCR 増幅断片のシーケンス解析結果とアライメント解析結果

(A-G) 非組換えジャガイモからの約 300 bp の増幅断片 7 クローンの解析結果. (H-S) GM ジャガイモ Innate™ event-1 からの約 300 bp の増幅断片 12 クローンの解析結果. (T-α) GM ジャガイモ Innate™ event-1 からの約 250 bp の増幅断片 8 クローンの解析結果. 黒字配列, Query 配列. 青字配列, pGBSS. 赤字配列, GBSS 遺伝子. 緑字配列, PHL 遺伝子. 橙字配列, ASN 遺伝子.

E

Query: nGM clone No.5
 Subject: *S.tuberosum* waxy gene for starch synthase
 (clone G1WxSt, ID: X52416)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTCTATCTGTGACAAGGTTGATTGGT	60
Sbjct	1191	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTCTATCTGTGACAAGGTTGATTGGT	1132
Query	61	GTCTAGTGAAGTTGGCTTCTTGACACAAAAGTGGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1131	GTCTAGTGAAGTTGGCTTCTTGACACAAAAGTGGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1072
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1071	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1012
Query	181	ATTGATTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATTACCGATTACAGT	240
Sbjct	1011	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACATTTATTACCGATTACAGT	952
Query	241	AGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	264
Sbjct	951	AGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	928

F

Query: nGM clone No.6
 Subject: *S.tuberosum* GBSS gene (ID: X83220)

Query	5	AAGCT-TGATGCTTGCCATGTGATGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACA	63
Sbjct	1842	AAGCTGTGATGCTTGCCATGTGATGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACA	1783
Query	64	GATGAACAAAACAAAACAGAAATTTGATTTCTGAGAAGAAGAAGA---GGAAGCATT	120
Sbjct	1782	GATGAACAAAACAAAACAGAAATTTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAGGAGCATT	1723
Query	121	CACATTTATCACCATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAA	180
Sbjct	1722	CACATTTATCACCATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAA	1663
Query	181	T	181
Sbjct	1662	T	1662

G

Query: nGM clone No.7
 Subject: *S.tuberosum* waxy gene for starch synthase
 (clone G28WxSt, ID: X52417)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTCTATCTGTGACAAGGTTGATTGGT	60
Sbjct	1322	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTCTATCTGTGACAAGGTTGATTGGT	1263
Query	61	GTCTACTGAAGTTGGCTTCTTGACACAAAAGTGGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1262	GTCTACTGAAGTTGGCTTCTTGACACAAAAGTGGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1203
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAA	180
Sbjct	1202	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAA	1143
Query	181	AACAGAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACATTTATTACCGATTA	240
Sbjct	1142	AACAGAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACATTTATTACCGATTA	1083
Query	241	CAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	268
Sbjct	1082	CAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	1055

H

Query: GM(300 bp) clone No.1
 Subject: pGBSS-PHL

Query	1	TAATTCCTGTGTGATCAATAATTGACTTCTCCAATCTTCATCAATAAAATAATTGAC	60
Sbjct	1	TAATTCCTGTGTGATCAATAATTGACTTCTCCAATCTTCATCAATAAAATAATTGAC	60
Query	61	AATCCTCACTCTCTTATCACTCTCAATCGAAAAGCTAGATTGCTATAGAGAGCACCGTGA	120
Sbjct	61	AATCCTCACTCTCTTATCACTCTCAATCGAAAAGCTAGATTGCTATAGAGAGCACCGTGA	120
Query	121	TGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAA	180
Sbjct	121	TGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAA	180
Query	181	TTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACATTTATTACCGATTACAGTA	240
Sbjct	181	TTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACATTTATTACCGATTACAGTA	240
Query	241	GGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	278
Sbjct	241	GGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	278

I

Query: GM(300 bp) clone No.2
 Subject: pGBSS-PHL

Query	1	TAATTCCTGTGTGATCAATAATTGACTTCTCCAATCTTCATCAATAAAATAATTGAC	60
Sbjct	1	TAATTCCTGTGTGATCAATAATTGACTTCTCCAATCTTCATCAATAAAATAATTGAC	60
Query	61	AATCCTCACTCTCTTATCACTCTCAATCGAAAAGCTAGATTGCTATAGAGAGCACCGTGA	120
Sbjct	61	AATCCTCACTCTCTTATCACTCTCAATCGAAAAGCTAGATTGCTATAGAGAGCACCGTGA	120
Query	121	TGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAA	180
Sbjct	121	TGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAA	180
Query	181	TTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACATTTATTACCGATTACAGTA	240
Sbjct	181	TTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACATTTATTACCGATTACAGTA	240
Query	241	GGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	278
Sbjct	241	GGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	278

J

Query: GM(300 bp) clone No.3
 Subject: pGBSS-ASN

Query	1	TAAGACAAACAGGCTACATCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTCTGGATA	60
Sbjct	1	TAAGACAAACAGGCTACATCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTCTGGATA	60
Query	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Sbjct	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Query	121	ACAAAACAAAACAGAAATTTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACAT	180
Sbjct	121	ACAAAACAAAACAGAAATTTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACAT	180
Query	181	TTATCACCATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236
Sbjct	181	TTATCACCATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236

K

Query: GM(300 bp) clone No.4
 Subject: *S.tuberosum* GBSS gene (ID: X83220)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTCTATCTGTGACAAGGTTGATTGGT	60
Sbjct	1940	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTCTATCTGTGACAAGGTTGATTGGT	1881
Query	61	GTCTAGTGAAGTTGGCTTCTTGACACAAAAGTGGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1880	GTCTAGTGAAGTTGGCTTCTTGACACAAAAGTGGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1821
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1820	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1761
Query	181	ATTGATTTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATTACCGATTACAGT	240
Sbjct	1760	ATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGAAGCATTACATTTATTACCGATTACAGT	1701
Query	241	AGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	279
Sbjct	1700	AGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	1662

図 2-4 2nd Nested PCR 増幅断片のシーケンス解析結果とアライメント解析結果 (続き)

L

Query: GM(300 bp) clone No.5
 Sbjct: *S.tuberosum* GBSS gene (ID: X83220)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	60
Sbjct	1940	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	1881
Query	61	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1880	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1821
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1820	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1761
Query	181	ATTGATTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	240
Sbjct	1760	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	1701
Query	241	AGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	279
Sbjct	1700	AGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	1662

M

Query: GM(300 bp) clone No.6
 Sbjct: *S.tuberosum* GBSS gene (ID: X83220)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	60
Sbjct	1940	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	1881
Query	61	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1880	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1821
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1820	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1761
Query	181	ATTGATTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	240
Sbjct	1760	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	1701
Query	241	AGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	279
Sbjct	1700	AGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	1662

N

Query: GM(300 bp) clone No.7
 Sbjct: *S.tuberosum* waxy gene for starch synthase
 (clone G1WxSt, ID: X52416)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	60
Sbjct	1191	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	1132
Query	61	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1131	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1072
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1071	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1012
Query	181	ATTGATTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	240
Sbjct	1011	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	952
Query	241	AGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	264
Sbjct	951	AGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	928

O

Query: GM(300 bp) clone No.8
 Sbjct: *S.tuberosum* waxy gene for starch synthase
 (clone G1WxSt, ID: X52416)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	60
Sbjct	1191	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	1132
Query	61	GTTTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1131	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1072
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1071	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1012
Query	181	ATTGATTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	240
Sbjct	1011	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	952
Query	241	AGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	264
Sbjct	951	AGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	928

P

Query: GM(300 bp) clone No.9
 Sbjct: *S.tuberosum* GBSS gene (ID: X83220)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	60
Sbjct	1940	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	1881
Query	61	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1880	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1821
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1820	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1761
Query	181	ATTGATTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	240
Sbjct	1760	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	1701
Query	241	AGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	279
Sbjct	1700	AGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	1662

Q

Query: GM(300 bp) clone No.10
 Sbjct: *S.tuberosum* GBSS gene (ID: X83220)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	60
Sbjct	1940	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	1881
Query	61	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1880	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1821
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1820	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1761
Query	181	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGA---GGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	237
Sbjct	1760	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	1701
Query	238	AGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	276
Sbjct	1700	AGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	1662

R

Query: GM(300 bp) clone No.11
 Sbjct: *S.tuberosum* waxy gene for starch synthase
 (clone G1WxSt, ID: X52416)

Query	1	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	60
Sbjct	1191	TAAACCAATTGTGAGTCAGAGTATGGTTCCTGAGTCTATCTGTGACAAAGGTTGATTTGGT	1132
Query	61	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	120
Sbjct	1131	GTCTAGTGAAGTTTGGCTTCTTGACACAAAGTGGTGTGAAGCTGTGATGCTTGCATGTG	1072
Query	121	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	180
Sbjct	1071	ATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAA	1012
Query	181	ATTGATTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	240
Sbjct	1011	ATTGATTCTGAGAAGAAGAAGAAGAAGGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGT	952
Query	241	AGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	264
Sbjct	951	AGGCAAGAGAATCAAATCAGAAT	928

S

Query: GM(300 bp) clone No.12
 Sbjct: *Solanum tuberosum* granule bound starch synthase gene,
 promoter region and 5' UTR (ID: HM363755)

Query	4	AACCGAGA-AGGAATGAGGATATGAACGAACTACCTTACGAATGAGAAGAAGAAGA	62
Sbjct	653	AAGCTACAGATGAACAAAACA-AAACGAAATTTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGA	595
Query	63	GGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCA	122
Sbjct	594	GGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCA	535
Query	123	AAATCAGAAT	132
Sbjct	534	AAATCAGAAT	525

図 2-4 2nd Nested PCR 増幅断片のシーケンス解析結果とアライメント解析結果 (続き)

T

Query: GM(250 bp) clone No.1
 Sbjct: pGBSS-ASN

Query	1	TAAGAGCAAAACAGGGTACATCCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTTCGGATA	60
Sbjct	1	TAAGAGCAAAACAGGGTACATCCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTTCGGATA	60
Query	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Sbjct	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Query	121	ACAAAACAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACAT	180
Sbjct	121	ACAAAACAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACAT	180
Query	181	TTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236
Sbjct	181	TTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236

U

Query: GM(250 bp) clone No.2
 Sbjct: pGBSS-ASN

Query	1	TAAGAGCAAAACAGGGTACATCCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTTCGGATA	60
Sbjct	1	TAAGAGCAAAACAGGGTACATCCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTTCGGATA	60
Query	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Sbjct	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Query	121	ACAAAACAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACAT	180
Sbjct	121	ACAAAACAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACAT	180
Query	181	TTATCACTGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236
Sbjct	181	TTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236

V

Query: GM(250 bp) clone No.3
 Sbjct: pGBSS-ASN

Query	1	TAAGAGCAAAACAGGGTACATCCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTTCGGATA	60
Sbjct	1	TAAGAGCAAAACAGGGTACATCCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTTCGGATA	60
Query	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Sbjct	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Query	121	ACAAAACAGAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACAT	180
Sbjct	121	ACAAAACAGAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACAT	180
Query	181	TTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236
Sbjct	181	TTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236

W

Query: GM(250 bp) clone No.4
 Sbjct: pGBSS-ASN

Query	1	TAAGAGCAAAACAGGGTACATCCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTTCGGATA	60
Sbjct	1	TAAGAGCAAAACAGGGTACATCCCGCTGGGGCTTAGAAGCTAGAGTACCATTTCGGATA	60
Query	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Sbjct	61	AAGAGTTCGAATTCGTGATGTGTGGTCTACAAAAGGGGAATCTACCAAGCTACAGATGA	120
Query	121	ACAAAACAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACAT	180
Sbjct	121	ACAAAACAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACAT	180
Query	181	TTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236
Sbjct	181	TTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	236

X

Query: GM(250 bp) clone No.5
 Sbjct: *S. tuberosum* clone GKCM-TU01 granule-bound starch synthase (*waxy*) gene, partial cds (ID: EU548081)

Query	34	TACTAAGGTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAAATTGATTTCTGagaagaagaagaaga	93
Sbjct	998	TACCAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGA	939
Query	94	agaGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	151
Sbjct	938	AGAGGAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	881

Y

Query: GM(250 bp) clone No.6
 Sbjct: *S. tuberosum* granule bound starch synthase gene, promoter region and 5' UTR (ID: HM363755)

Query	24	CAAGAACTAACAGAAAATTGATTTCTGagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATT	83
Sbjct	639	CAAAAACAAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGAGGGAAGCATTACATT	580
Query	84	TATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	138
Sbjct	579	TATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCAAAATCAGAAT	525

Z

Query: GM(250 bp) clone No.7
 Sbjct: *S. tuberosum* granule bound starch synthase gene, promoter region and 5' UTR (ID: HM363755)

Query	4	CAAGTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAAATTGATTTCTGagaagaagaagaaga	63
Sbjct	654	CAAGCTACAGATGAACAAAACAAAACAGAAAATTGATTTCTGAGAAGAAGAAGAAGA	595
Query	64	GGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCA	123
Sbjct	594	GGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGGTCAAATTCAGTAGGCAAGAGAATCA	535
Query	124	AAATCAGAAT 133	
Sbjct	534	AAATCAGAAT 525	

α

Query: GM(250 bp) clone No.8
 Sbjct: *S. tuberosum* clone GKCM-TU01 granule-bound starch synthase (*waxy*) gene, partial cds (ID: EU548081)

Query	39	TgagaagaagaagaagaGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGCAAGAG	98
Sbjct	955	TGAGAAGAAGAAGAAGAAGGGAAGCATTACATTTATCACCGATTACAGTAGGCAAGAG	896
Query	99	AATCAAAATCAGAAT 113	
Sbjct	895	AATCAAAATCAGAAT 881	

図 2-4 2nd Nested PCR 増幅断片のシーケンス解析結果とアライメント解析結果 (続き)

Regulatory Framework to GMO

USA	EU member states	Australia/NewZealand	Canada
<p>USDA <u>Animal Health Protection Act (AHPA)</u>: protect livestock from animal pest and disease risk <u>Plant Protection Act (PPA)</u>: protect agricultural products from damage caused by organisms that pose or plant pest.</p> <p>FDA <u>Federal Food Drug and Cosmetics Act (FD&C)</u>: ensure human and animal food is safe, sanitary, and properly labeled, ensure human and animal drugs are safe and effective</p> <p>For GE animals, the genetic materials and recombinant DNA construct, that is integrated into the DNA of an animal and is intended to affect the animal's structure or function meets the definition of "a drug" under FD&C Act. Therefore, a premarket approval is required. CVM (Center for veterinary Medicine) is responsible for evaluating the safety and effectiveness of the rDNA construct. FDA review process has seven categories; product definition, molecular characterization of construct, molecular characterization of GE animal lineage, phenotype, durability, environmental food safety, claim validation.</p> <p>EPA <u>Federal Insecticide, fungicide, and rodenticide Act (FIFRA)</u>: For dietary or residential human health effects, the sole standard is the safety of all the combined exposures to the pesticide and related compounds <u>FD&C</u>: ensure that no harm will result from aggregate exposure to the pesticide chemical residue <u>Toxic Substance Control Act (TSCA)</u>: prevent manufacture, processing, distribution in commerce, use, disposal of chemical substances...</p> <p>If plant-incorporated protectant is produced by plant, EPA regulates the pesticide substance and related genetic material for human safety.</p>	<p>European commission GMO legislation <u>Directive 2001/18/EC</u> on the deliberate release of GMOs into the environment. In accordance with the precautionary principle, the objective of this Directive is to approximate the laws, regulations and administrative provisions of the Member States and to protect human health and the environment.</p> <p><u>Regulation (EC) 1829/2003</u> on genetically modified food and feed: (a) provide the basis for ensuring a high level of protection of human life and health, animal health and welfare, environment and consumer interests in relation to genetically modified food and feed, whilst ensuring the effective functioning of the internal market; (b) lay down Community procedures for the authorisation and supervision of genetically modified food and feed; (c) lay down provisions for the labelling of genetically modified food and feed.</p> <p><u>Directive (EU) 2015/412</u> amending Directive 2001/18/EC as regards the possibility for the Member States to restrict or prohibit the cultivation of GMOs in their territory. The following Articles are inserted: Article 26b, Cultivation 1. During the authorisation procedure of a given GMO or during the renewal of consent/authorisation, a Member State may demand that the geographical scope of the written consent or authorisation be adjusted to the effect that all or part of the territory of that Member State is to be excluded from cultivation. This is important.</p> <p><u>Regulation (EC) 1830/2003</u> concerning the traceability and labelling of genetically modified organisms and the traceability of food and feed products produced from genetically modified organisms.</p> <p><u>Directive 2009/41/EC</u> on contained use of genetically modified micro-organisms. Regulation (EC) 1946/2003 on transboundary movements of GMOs.</p>	<p>FSANZ (Food Standard Australia/NewZealand) GM foods are regulated under <u>Standard 1.5.2 – Food produced using Gene Technology</u>, in the Food Standards Code. The standard has two provisions – mandatory pre-market approval (including a food safety assessment) and mandatory labelling requirements.</p> <p>GM foods are regulated under Standard 1.5.2 – Food produced using Gene Technology, in the Food Standards Code. The standard has two provisions – mandatory pre-market approval (including a food safety assessment) and mandatory labelling requirements. This standard ensures that only assessed and approved GM foods enter the food supply. Approved GM foods are listed in Schedule 26 of the Food Standards Code. Anyone seeking to amend the Code to include a new GM food should refer to the Application Handbook. Details on FSANZ's assessments of GM foods and current approvals can be found here. Not every approved GM food enters the marketplace. Many GM crops approved for use as food, are grown for animal feed and some GM approved plants don't make it to market because of a variety of reasons, for example if they are not commercially viable.</p> <p><u>In Australia</u>, the <u>Office of the Gene Technology Regulator (OGTR)</u> oversees the development and environmental release of GM organisms under <u>the Gene Technology Act 2000</u>. <u>In New Zealand</u>, similar functions are undertaken by the Environmental Protection Authority, under the <u>Hazardous Substances and New Organisms (HSNO) Act 1996</u>.</p>	<p>Health Canada Role: Health Canada assesses the safety of all genetically-modified and other novel foods proposed for sale in Canada. Companies are required to submit detailed scientific data for review and approval by Health Canada, before such foods can be sold.</p> <p>Food and Drug Regulations <u>C.R.C., c. 870. FOOD AND DRUGS ACT</u> What are Novel Foods and Genetically Modified (GM) Foods? Novel Foods are: Foods resulting from a process not previously used for food. Products that do not have a history of safe use as a food. Foods that have been modified by genetic manipulation, also known as genetically modified foods, GM foods, genetically engineered foods or biotechnology-derived foods.</p> <p><u>novel food means</u> (a) a substance, including a microorganism, that does not have a history of safe use as a food; (b) a food that has been manufactured, prepared, preserved or packaged by a process that (i) has not been previously applied to that food, and (ii) causes the food to undergo a major change; and (c) a food that is derived from a plant, animal or microorganism that has been genetically modified such that (i) the plant, animal or microorganism exhibits characteristics that were not previously observed in that plant, animal or microorganism, (ii) the plant, animal or microorganism no longer exhibits characteristics that were previously observed in that plant, animal or microorganism, or (iii) one or more characteristics of the plant, animal or microorganism no longer fall within the anticipated range for that plant, animal or microorganism.</p>
<p>There is no GMO definition.</p> <p>For GE plants, FDA established a <u>premarket consultation</u> process to help ensure that any safety or other regulatory issues associated with food from a new plant variety are resolved. FDA reviews description of biotech foods, ifunctions of introduced genetic materials, identity and function of expression products, toxicity and allergenicity, info comparing the composition of biotech and conventional foods, etc.</p> <p>GE organism is considered if the donor organism, recipient organism, vector or vector agent used in engineering the organisms belongs to one of the ataxa listed in 7C.F.R. section 340.2 and also considered a plant pest. Required data and info to conduct a plant pest risk assessment is provided in 7C.F.R.340.6 (c). GE organism is also regulated when APHIS has reason to believe that the GE organism may be a plant pest.</p>	<p>Directive 2001/18/EC Article 2 Definitions</p> <p>(2) "genetically modified organism (GMO)" means an organism, with the exception of human beings, in which the genetic material has been altered in a way that does not occur naturally by mating and/or natural recombination; Within the terms of this definition: (a) genetic modification occurs at least through the use of the techniques listed in Annex I A, part 1; Techniques of genetic modification referred to in Article 2(2)(a) are inter alia: (1) recombinant nucleic acid techniques involving the formation of new combinations of genetic material by the insertion of nucleic acid molecules produced by whatever means outside an organism, into any virus, bacterial plasmid or other vector system and their incorporation into a host organism in which they do not naturally occur but in which they are capable of continued propagation; (2) techniques involving the direct introduction into an organism of heritable material prepared outside the organism including micro-injection, macro-injection and micro-encapsulation; (3) cell fusion (including protoplast fusion) or hybridisation techniques</p>	<p>Standard 1.5.2—2 Definitions</p> <p>food produced using gene technology means a food which has been derived or developed from an organism which has been modified by gene technology. Note This definition does not include food derived from an animal or other organism which has been fed food produced using gene technology, unless the animal or other organism is itself a product of gene technology. gene technology means recombinant DNA techniques that alter the heritable genetic material of living cells or organisms.</p> <p><u>OGTR's definition</u> Definition: The full definition of a GMO appears under section 10 of the Gene Technology Act 2000 (the Act). In essence, a GMO means: An organism that has been modified by gene technology; or An organism that has inherited traits from an organism, where the traits occurred in the initial organism because of gene technology.</p> <p><u>EPA's definition</u> all organisms developed through conventional and longstanding chemical and radiation treatments do not require HSNO Act approval as GMOs.</p>	<p>There is no regulation specific to GMO. Instead, GMO is treated as a novel food.</p> <p>DIVISION 28 Definition of Novel Foods B.28.001 The definitions in this section apply in this Division. genetically modify means to change the heritable traits of a plant, animal or microorganism by means of intentional manipulation.</p> <p>major change means, in respect of a food, a change in the food that, based on the manufacturer's experience or generally accepted nutritional or food science theory, places the modified food outside the accepted limits of natural variations for that food with regard to (a) the composition, structure or nutritional quality of the food or its generally recognized physiological effects; (b) the manner in which the food is metabolized in the body; or (c) the microbiological safety, the chemical safety or the safe use of the food. (changement majeur)</p>
	<p>Article 3 Exemptions</p> <p>1. This Directive shall not apply to organisms obtained through the techniques of genetic modification listed in Annex I B. 2. This Directive shall not apply to the carriage of genetically modified organisms by rail, road, inland waterway, sea or air. Techniques/methods of genetic modification yielding organisms to be excluded from the Directive, on the condition that they do not involve the use of recombinant nucleic acid molecules or genetically modified organisms other than those produced by one or more of the techniques/methods listed below are: (1) mutagenesis, (2) cell fusion (including protoplast fusion) of plant cells of organisms which can exchange genetic material through traditional breeding methods.</p>		
<p>Intragenic Potato (Simplot Inc) and CRISPR/Cas9-based mushrooms (Univ.), intragenic GALA apple (Okanagan) and Maize (deleted a whole gene Waxy seq, Monsanto) have approved by USDA. ODM-based Rape seeds of Cibus Inc. approved.</p>	<p>UK, Germany, Sweden, Italy, France, Ireland, Netherland, Finland showed signs of welcome about genome-editing plants.</p> <p>France asked the judgement to European Court of Justice.</p>	<p>NewZealand has decided not to deregulate ZFN-TALEN-based biotech product.</p>	<p>ODM-based Cibus rapeseed will be approved</p>