総説

遺伝子組換え食品の検知と表示制度の動向と今後の課題

穂山 浩^{1,*} 橋田 和美²

Recent Trends and Future Prospects for Labeling Regulation and Detection Methods of Genetically Modified Foods in Japan

Hiroshi AKIYAMA^{1,*} and Kazumi KITTA²¹National Institute of Health Sciences, Division of Novel Foods and Immunochemistry:

1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158-8501, Japan

²National Food Research Institute, Analytical Science Division:

2-1-12 Kannon-dai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan;

*Corresponding author

Key words: 遺伝子組換え食品 genetically modified foods; 検知法 detection method; 表示 labeling; ポリメラーゼ連鎖反応 polymerase chain reaction

遺伝子組換え作物とは、バイオテクノロジー技術を応用した農産物の一種であり、ある生物の遺伝子を人為的な方法によって別の生物に入れる遺伝子組換え技術によって作られた農産物をいう。現在、種子植物に限って商品化されている。英語では「Genetically Modified Organisms; GMO」と呼ばれており、遺伝子組換え作物(GM作物)およびそれを用いた加工食品を、総称して遺伝子組換え食品(GM食品)という。

GM食品開発の主要な目的のひとつは、人口増加に伴う食糧不足対策である。現在のペースで世界の人口が増加すれば、数十年後には世界中が食糧不足になると予想されている。そのため食糧増産対策として寒冷地や砂漠のような厳しい環境でも生育する作物の開発が必要になってくる。従来の品種改良では不可能であった2生物間の交配品種であっても、GM技術を用いれば短期間に効率よく開発することが可能であり、さまざまなGM作物の開発が進められている。

GM食品の安全性に関し消費者の関心が高まり、その安全性確保が強く求められ、国際的な基準作りが進められた。近年ではGM食品の開発や実用化は、アメリカ、カナダ、中国を中心に世界各国で急速に広がっている。GM植物のみならず、GM魚を代表とするGM動物の開発も行われ、実用化されつつある。またトウモロコシ等の作物に組換え技術を応用し、医療用の医薬品原料等を生産させることも実用化されつつある。さらには食品添加物を生産するためのGM微生物はすでに応用されており、工業原

料生産および環境浄化目的のGM植物・生物の開発も急速に行われている。2001年からわが国では食品衛生法により、GM食品の安全性審査が義務づけられている、しかしながら、前述のような多種多様なGM植物・生物が各国で開発されている現状では、意図せずに未承認のGM植物・生物が食品として国内に流入、流通するおそれがある。したがって食用および非食用を問わず、未承認の遺伝子組換え体の食品への混入は未然に防ぐことが求められている。一方、安全性審査が終了したGM食品に関しては、「遺伝子組換え食品」あるいは「不分別遺伝子組換え食品」の表示が義務づけられている。わが国では輸入に際して分別生産流通管理により、非GM食品を確保しているが、非意図的な混入があることを考慮し、食品衛生法の届出義務における分別GM食品混入の目安は重量割合(粒割合)で5%以下と考えている。そのため書類等により証明されている場合でも、表示の妥当性を科学的に検証するためには5%を定量する必要がある。わが国では、定量PCR法により5%の検証を行ってきた。しかし、掛け合わせGMトウモロコシが混入した場合、多重測定が起こり、真値が得られないことが問題になってきた。これらのGM食品の行政規制上の諸問題に対応すべく検知法が開発され行政対応されている。本論ではわが国のGM食品の表示制度と最新の動向も踏まえGM食品の検知法について紹介する。

1. GM食品の表示行政と制度

厚生労働省では、安全性未審査のものが国内で流通しないよう、食品衛生法に基づく食品の規格基準(厚生労働大臣告示)に規定を設けることにより、2001年4月から安全性審査を法的に義務化することとなった。併せて安全性審査の義務化と一体のものとして、食品の内容を消費者に

* 連絡先

¹ 国立医薬品食品衛生研究所 代謝生化学部: 〒158-8501 東京都世田谷区上野賀 1-18-1² (独)農研機構 食品総合研究所 食品分析研究領域: 〒305-8642 つくば市観音台 2-1-12

表 1. 遺伝子組換え食品の表示制度

I 従来のもとの組成、栄養価等が同等のもの (除草剤の影響を受けないようにした大豆、害虫に強いトウモロコシなど)	
①農産物及びこれを原材料とする加工食品であって、加工後も組換えられた DNA 又はこれによって生じたタンパク質が残存するものは以下の 3 つのタイプの表示内容に分類される。	
(1) 分別生産流通管理が行われた GM 食品の場合	「遺伝子組換え食品」である旨（義務表示） 例 大豆（遺伝子組換え食品）
(2) GM 食品と非 GM 食品の分別生産流通管理（Identity Preserved (IP) ハンドリング）* が行われていない場合	「遺伝子組換え不分別」である旨（義務表示） 例 大豆（遺伝子組換え不分別）
(3) 分別生産流通管理が行われている非 GM 食品の場合	「遺伝子組換えではない」（任意表示） 例 トウモロコシ（遺伝子組換えでない）
②組換えられた DNA 及びこれらによって生じたタンパク質が、加工後に残存しない加工食品（大豆油、醤油、コーン油、異性化液糖等）	
「遺伝子組換えではない」、「遺伝子組換え不分別」等（任意表示）	
II 従来のもとの組成、栄養価等が著しく異なるもの（高オレイン酸大豆など）（JAS 法のみ義務表示）	
「大豆（高オレイン酸遺伝子組換え）等」（義務表示）	

* 分別生産流通管理（Identity Preserved (IP) ハンドリング）とは GM 作物または non-GM を農場から食品製造業者まで生産、流通および加工の各段階で相互に混入が起らないよう管理し、そのことが書類等により証明されていることという。

表 2. GM 表示の対象となりうる加工食品

1 豆腐および油揚げ類	17 コーンスターチ
2 凍豆腐、おからおよび湯葉	18 ポップコーン
3 納豆	19 冷凍トウモロコシ
4 豆乳類	20 トウモロコシ缶詰およびトウモロコシ瓶詰
5 みそ	21 コーンフラワーを主な原料とする加工品
6 大豆煮豆	22 コーングリッツを主な原料とする加工品
7 大豆缶詰および大豆瓶詰	23 トウモロコシ（調理用）を主な原料とする加工品
8 きな粉	24 16～20 を主な原料とする加工品
9 大豆いり豆	25 ポテトスナック菓子
10 1～9 を主な原料とする加工品	26 乾燥ばれいしょ
11 調理用の大豆を主な原料とする加工品	27 冷凍ばれいしょ
12 大豆粉末を主な原料とする加工品	28 ばれいしょデンプン
13 大豆タンパク質を主な原料とする加工品	29 調理用のばれいしょを主な原料とする加工品
14 枝豆を主な原料とする加工品	30 25～28 を主な原料とする加工品
15 大豆もやしを主な原料とする加工品	31 アルファルファを主な原料とする加工品
16 コーンスナック菓子	32 調理用のてん菜を主な原料とする加工品

明らかにするために表示制度を開始した。また農林水産省では、JAS 法（農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律）に基づき、GM 作物とその加工食品について表示基準を定め、同様に 2001 年 4 月より適用を開始した。厚生労働省の表示については、食品衛生法の公衆衛生の観点から表示を義務づけ、農林水産省の表示については、JAS 法の消費者の選択の観点から表示を義務づけた。2009 年 9 月より消費者庁発足に伴い、厚生労働省が所管していた食品衛生法および農林水産省が所管する JAS 法のそれぞれ食品表示に関する業務は消費者庁に移管された。具体的表示制度の内容を表 1 に示す。また表示の対象となる加工食品を表 2 に示す。表示が義務づけられている加工食品における主な原材料とは、すべての原材料中、重量で上位 3 品目の中に入り、かつ食品中に占める重量が 5 パーセント以上のものとしている。^{1), *1, *2}

2. イベントと系統と品種

GM 食品の開発企業は染色体挿入部位とそのコピー数の違いから、多くの組換えイベント (event) を分離取得する。その後、イベント毎に増殖・分化されるが、このひとつのイベント由来の後代植物を系統 (line) と言う²⁾。開発者は、導入形質を安定化させ、さまざまな気候で栽培できる品種 (variety あるいは cultivar) を育成するために、ひとつの GM 系統から多数の優良品種を育成している。GM トウモロコシの種子は、1 代限りの優良形質を持つ

*1 食品衛生法施行規則第 21 条

<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syokusanzen/kisei/dl/syokuei4.pdf>

*2 遺伝子組換えに関する表示に係る加工食品品質表示基準第 7 条第 1 項及び生鮮食品品質表示基準第 7 条第 1 項の規定に基づく農林水産大臣の定める基準（平成 12 年 3 月 31 日農林水産省告示第 517 号）

http://www.maff.go.jp/j/jas/hyoji/pdf/kijun_03.pdf

F1 ハイブリッド（雑種強勢品種）として育成されている。しかし最近では、異なる組換え系統間での交配を行って、2種類の導入遺伝子を持つスタック (stack) の F1 ハイブリッド品種も育成されている。わが国では系統ごと（スタック品種に関してはスタック品種ごと）に特性評価および安全性評価が実施される。

したがって系統ごとに検知法を確立することが必要になっている。食品中に存在する GM 食品を検知する基本的手法としては、大きく分けて導入遺伝子から作られるタンパク質を検出対象とした方法 (protein-based method) と、GM 食品に使用された DNA の領域配列を検知するポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase Chain Reaction; PCR) を利用した方法 (DNA-based method) がある。

3. 安全性未審査の GM 食品の検査法

2010 年 7 月現在、安全性未審査の GM 食品としては、トウモロコシとして CBH351 系統（害虫抵抗性）³⁾、DAS 59132 系統（除草剤耐性）⁴⁾、Bt10 系統（害虫抵抗性）⁵⁾ が検査対象となっている。また 2009 年までは安全性審査が継続中であったハワイ産抗ウイルスパパイヤ（55-1 系統）は定性 PCR 法^{6), 7)}と組織染色法⁸⁾を検査法として採用していた。また監視安全課長通知法として、米国産長粒種 LL コメ（LL601 系統）⁹⁾、中国産害虫抵抗性 Bt コメ（Bt 63 系統および未知系統）¹⁰⁾、カナダ産 GM 亜麻（FP967 系統）¹¹⁾、カナダ産 GM ナタネ（*Brassica rapa* RT73 系統）が検査対象になっている。表 3 に各検査法を示す。

3.1 定性 PCR 法およびリアルタイム定性 PCR 法

定性 PCR 法の場合、鋳型となるゲノム DNA の抽出は PCR 検出を可能にするのに重要である。ゲノム DNA と複合体を形成しやすいセチルトリメチルアンモニウムブロマイド (CTAB) などを利用した方法や市販の DNA 抽出用のキット（シリカゲル膜タイプ法、イオン交換カラム法）を用いる方法が規定されている。

PCR 反応を行う際には、コントロールとして対象作物

に必ず含まれる内在性遺伝子の DNA 配列の PCR（ダイズであれば *le1* 遺伝子等、トウモロコシであれば *Zein*, *SSIb* 遺伝子等）を行う必要がある。PCR 法の原理を図 1 に示す。PCR 反応後、反応液はアガロース電気泳動したものをエチジウムブロマイドで蛍光染色し、紫外線照射下において画像解析機器等で写真撮影する。設計したプライマー対に挟まれた DNA の長さとも一致するバンドが検出される。違反の際の社会的な影響を考慮して、異なった標的

図 1. PCR 法の原理

表 3. 未承認遺伝子組換え食品の検知法

作物	系統名	検知方法	タンパク質あるいは DNA 抽出法
トウモロコシ	CBH351; Starlink	ラテラルフロー法	水でタンパク質を抽出
トウモロコシ加工品	CBH351; Starlink	定性 PCR 法	イオン交換樹脂タイプキット法
トウモロコシ	Bt10	定性 PCR 法	シリカゲル膜タイプキット法
	DAS59132	リアルタイム定性 PCR 法	シリカゲル膜タイプキット法
コメ	米国産 LL コメ	リアルタイム定性 PCR 法	シリカゲル膜タイプキット法
	中国産 Bt コメ	ラテラルフロー法	水でタンパク質を抽出
コメ加工品	中国産 Bt コメ	定性 PCR 法 リアルタイム定性 PCR 法	シリカゲル膜タイプキット法
ナタネ	RT73 <i>B. rapa</i>	リアルタイム定性 PCR 法 (end-point 解析)	シリカゲル膜タイプキット法
亜麻	FP967; CDCTriffid	リアルタイム定性 PCR 法	イオン交換樹脂タイプキット法

図2. 定量PCRの原理

領域を認識するプライマー対を2種類（検出と確認）用いて試験し、両方検出されれば陽性と判断する。リアルタイム定性PCR法は、近年リアルタイムPCR機器の普及により、広く応用されるようになっていく。指数関数的な増幅曲線の有無で陽性あるいは陰性と判断できるため、アガロースゲル電気泳動を行う必要がなく、多検体を迅速かつ簡易に判定することが可能である。

3.2 組換えタンパク質を検知する方法

組換えタンパク質を検知する定性検知法としては、ラテラルフロー法¹²⁾、組織化学染色法⁸⁾、などが採用されている。ラテラルフロー法についてはすでにいくつかのキットが販売されている。定性PCR法と比較して、ラテラルフロー法および組織化学染色法は簡便である。

4. 安全性審査済みのGM食品の検査法

わが国では、分別生産流通管理により、書類等により証明されている場合でも、非意図的な混入があることを考慮し、科学的な検知による行政上の判断の目安は重量割合（粒割合）で5%以下と考えている。そのため表示の妥当性を検証するためには5%を定量する必要がある。

4.1 ELISA法

GM食品に発現しているタンパク質を免疫抗体による特異的な結合を利用し、抗体に結合された酵素と基質により発色させて測定する酵素免疫測定法である。GMダイズ（ラウンドアップダイズ、GTS 40-3-2）の定量検査にELISA法が採用されている¹³⁾。しかしELISA法は、GM

トウモロコシのように種々の系統に共通して発現しているタンパク質を検知する場合は、系統ごとの正確な定量は困難である。

4.2 定量PCR法

GM食品を定量PCR法により定量するためには、一般に分析用の標準物質として、各GM系統を一定量だけ含むnon-GM作物の種子粉砕物またはそのゲノムDNAが必要になる。GM食品の混入率は、複数の混入率の標準物質から測定した検量線から計算することになる。しかし、わが国の標準分析法ではGMダイズ、各GMトウモロコシに導入されている組換えDNA断片のPCR増幅産物をプラスミド上に連結した標準物質を採用している^{14), 15), 19), 20)}。この標準物質を用いることにより、作物の種子を手せずとも、GM系統ごとに混入率を検査できる利点がある。

リアルタイムPCRを用いた定量PCR法は、該当する作物が必ず持っている内在性遺伝子に対する組換え遺伝子の存在比率からGM作物が何%存在するかを相対的に測定する方法である^{16), 17)}。わが国の公定検査法に採用されている定量PCR法の原理 (TaqMan Chemistry) を図2に示す。

定量PCR法では、一定のサイクルでの目的領域の生産量（プロダクト量）を比較するのではなく、一定のプロダクト量に達するサイクル数（Ct; スレッシュホールドサイクル）で比較する¹⁸⁾。あらかじめ既知濃度の標準DNA（公定検査法ではプラスミド）を用いて定量PCRを行い、得られたCt値をもとに検量線を作成する（図3）。現状のGM食品定量検査法はGMダイズ (GTS 40-3-2) とGMトウモロコシ5系統 (MON810, GA21, Bt11, E176, T25) について示されている。GMトウモロコシの定量検査法は、GMトウモロコシ5系統のコンストラクト特異的な領域のDNA配列を定量する分析法を使用して、種子（F1世代）中の挿入DNA配列のコピー数を反映した内標比を測定し、これを使用して試料（穀物; F2世代）中のGM特異的な配列のコピー数から種子の重量ベースとしてGM混入率を表している（図3）。しかし、トウモロコシ5系統を最初からすべて測定するのは煩雑なので、広く共通して使われているカリフラワーモザイクウイルス35Sプロモーター (P35S) 内の配列とGA21系統のコンストラクト特異的な配列の定量法を組み合わせたスクリーニング法をまず行い、求められたMON810系統換算値が4.5%を超える場合においては5系統ごとに個別に定量することになっている。

4.3 トウモロコシ粒検査法

安全性審査が終了したGM食品が年々多くなり、さらに生産性の効率性や開発費用の低コストなどの理由により、異なる系統由来のGMトウモロコシを掛け合わせたスタック品種トウモロコシ（例えば害虫抵抗性と除草剤耐性の掛け合わせ）の開発が急激に進んでおり、わが国でも50種のスタック品種トウモロコシについて安全性審査が

$$\text{GM 混入率 (\%)} = \frac{\text{組換え遺伝子特異的配列の数}}{\text{内在性遺伝子の数}} \times \frac{1}{\text{内標比}} \times 100$$

(内標比は GM の系統および増幅部位等による定数)

図 3. 定量 PCR 法による遺伝子組換え体の定量

すでに終了している (2010 年 7 月現在) (表 4)。国際的に使用されている一般的な定量 PCR 法は、該当する作物が必ず持っている内在性遺伝子に対する組換え遺伝子の存在比率から GM 作物が何%存在するかを相対的に測定する方法である^{16), 17)}。

従来の単一系統のみのトウモロコシ系統の重量換算で混合した粉碎試料を、通知で定められている検査法による定量 PCR 法で分析しても、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、その粉碎物を定量 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こり、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²¹⁾。この問題を解決するには粒ごとの検査法の必要が生じ、粒単位検査法が確立された^{22), 23)} (図 4)。この方法は現在までの表示閾値に則した考え方を大幅に修正せず運用できる。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、ある一定企業のリアルタイム PCR 機種マーケットに依存する状況などがある。粒迅速検査法では、このような諸問題が大幅に解消される可能性がある。適切なサンプル数の検査を行えば、粒単位での GM 混入率を求めることができ、また Multiplex PCR^{24), 25)} と併用することにより、単一系統かスタック品種の区別およびその系統判別が可能となった。本法は平成 21 年 8 月に厚生労働省食品安全部医薬食品局部長通知として示された。本法を用

いて 2005 年度米国産の不分別トウモロコシの分析を 5 検体 (各検体 180 粒) 行ったところ、GM トウモロコシの混入率は 40.0~79.4% の範囲で平均 52.2% であった。各検体とも系統別分析で同様の傾向であったことから、すべての検体を合わせて合計 900 粒としてその系統割合を計算した。単一系統では Mon810 系統が主流であり、スタック品種では MON810 系統と NK603 系統の掛け合わせ品種が主流であった (図 5)。

今後は著しく増加を続けるスタック品種の混入試料に関してどのように表示を検証するかが課題である。また以前から望まれていた加工食品から直接に定量可能な検査法の開発も必要になってくると考えられる。

5. 最近の動向

5.1 未承認 GM 食品のスクリーニング検知法

著者らは、未承認 GM 食品の混入防止を目的としたスクリーニング的な監視のために、リアルタイム PCR 機器とマルチプレックス PCR および増幅産物の融解曲線解析を用いて GM 食品に汎用される P35S と NOST を同時に検出する検知法を確立した²⁶⁾。

GM 食品に汎用されるターゲット配列として P35S, NOST を選択した。PCR の妥当性を評価するための内部標準プラスミドに ColE1 を用いた。ターゲット DNA 配列および ColE1 プラスミド配列を検知するプライマー対を設計し、GM トウモロコシ (NK603) にてピークの分離度を確認後、鋳型濃度や PCR 条件などの最適化を行った。試料として GM ダイズ (Roundup Ready Soybean), GM ジャガイモ (NewLeaf), Bt コメ混入もち米, GM ダイズ (Roundup Ready Soybean) が混入したビスケットを用いて 3-plex PCR を行った結果、再現性の高い良好な

表 4. 安全性審査の経た遺伝子組換え (GM) スタック品種トウモロコシ

除草剤耐性		害虫抵抗性		その他の形質	トウモロコシ品種名称 (平成 22 年 7 月 25 日現在)
グリホ サート	グルホ シネート	チョウ目 (鱗翅目)	コウチュウ目 (鞘翅目)		
○		○			MON810×GA21, MON810×NK603, MON89034×NK603, MON89034×1507, MIR162×GA21, MIR162×1507, 1507×GA21, MIR162×1507×GA21, MON89034×1507×NK603,
○			○		MON863×NK603, MIR604×GA21
○		○	○		MON863×MON810, MON810×MON88017, MON89034×MON88017, MON810×MON863×NK603, MON89034×1507×MON88017, MIR162×MIR604×GA21
	○	○			MON810×T25, Bt11×MIR162, Bt11×1507
○	○				NK603×T25
		○	○		MIR604×MIR162
	○	○	○		1507×B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7, Bt11×MIR604, MON89034×B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7, Bt11×MIR162×MIR604
○	○	○			NK603×1507, Bt11×GA21, Bt11×MIR162×GA21, Bt11×MIR162×1507, Bt11×1507×GA21, Bt11×MIR162×1507×GA21
○	○		○		NK603×B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7, B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7×MON88017
○	○	○	○		NK603×B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7×1507, Bt11×MIR604×GA21, 1507×MON88017, MON89034×1507×B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7, 1507×B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7×MON88017, MON89034×B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7×MON88017, MON89034×1507×B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7×MON88017, Bt11×MIR162×MIR604×GA21
		○		高リシン	LY038×MON810
○				耐熱性 α-アミラーゼ産生	3272×GA21
			○	耐熱性 α-アミラーゼ産生	3272×MIR162
	○	○		耐熱性 α-アミラーゼ産生	3272×Bt11, 3272×Bt11×MIR162
○		○		耐熱性 α-アミラーゼ産生	3272×MIR162×GA21
○	○	○		耐熱性 α-アミラーゼ産生	3272×Bt11×GA21
○	○	○	○	耐熱性 α-アミラーゼ産生	3272×Bt11×MIR162×GA21

結果が得られた (図 6). 蛍光色素として用いた Eva green[®] は細胞不浸透性なので SYBR green[®] と比べて毒性が低く, かつ PCR 阻害性の低いことなどが特徴とされている. 確立された方法は, 未承認 GM 食品のスクリーニング法として迅速性, 安全性, 信頼性に優れた手段であると考えられる.

5.2 リアルタイム PCR アレイ分析法を利用した網羅的未承認 GM 食品推定法

現行の技術では, 組換え DNA 情報が確認できる場合を除いて, 未承認 GM 食品の検出はできない状況にある. そこで著者らは GM 食品網羅的検知技術リアルタイム PCR アレイ分析法を利用し, 組換え DNA 情報が未確認のものを含めた未承認 GM 食品の系統の混入を推定する

図4. スタック品種トウモロコシ混入試料に対応した粒単位の遺伝子組換えトウモロコシ検知法 (粒単位検査法)

図5. GM 不分別トウモロコシ試料中の混入 GM トウモロコシの系統別割合

手法を確立した²⁷⁾. その概要を図7に示す. GM トウモロコシおよび GM ダイズの承認系統, プロモーターやターミネーター領域などの組換え DNA セグメント, 作物内在性遺伝子等を標的とするリアルタイム PCR アレイ分析法により, 幅広い GM 農作物の検出が可能であることが明らかになった.

この分析法の結果を利用し, サンプル中への未承認 GM 食品系統の混入を推定する手法の開発を検討した. 未承認 GM 食品系統はすべての GM 食品系統から承認 GM 食品系統を削除したものと定義される. リアルタイム PCR ア

レイ分析の結果として得られる GM 食品に共通性が高い組換え DNA セグメントおよび承認 GM 食品系統特異的検出の結果に加え, 承認 GM 食品系統が有する組換え DNA セグメントの情報を総合的に判断することで, 未承認 GM 食品の混入が推定可能であることを見いだした. また, リアルタイム PCR アレイの分析結果を入力するだけでこの推定プロセスを簡便に実施可能なソフトウェアを開発した.

これまでに混入が問題となった CBH351 トウモロコシ, 米国産 LL コメ (LL601 系統), 中国産 Bt コメ, DAS

図 6. 未承認遺伝子組換え作物のスクリーニング検知法の適用

- A: GM soybean (Roundup Ready soybean)
 B: GM potato (New Leaf)
 C: Rice contaminated with unauthorized GM rice.
 D: Biscuit contaminated with GM soybean of unknown amount.

図 7. リアルタイム PCR アレイ分析法の概略

59132 トウモロコシなどの未承認 GM 食品系統はいずれもリアルタイム PCR アレイで検知可能な組換え DNA セグメントを有しているため、本研究で確立した推定プロセスの対象となりうる事が予想された。現段階では、承認 GM 食品系統特異的検出はすべての承認 GM 食品系統を

対象としておらず、未承認 GM 食品系統として誤判定される可能性がある。こうした承認 GM 食品系統および最近承認された GM 食品系統のさらなる標的の追加とそれに伴った推定プロセスの改良が今後の課題である。

謝 辞

本稿で紹介した内容は、著者らが行ってきた研究の一部が含まれている。これらの研究の遂行にご協力とご指導を賜りました諸先生方に御礼申し上げます。なお本研究の一部は、厚生労働科学研究費補助金および農林水産技術会議委託研究「遺伝子組換え生物の産業利用における安全性確保研究」によった。ここに記して感謝の意を表します。

文 献

- 1) 穂山 浩. 食品衛生学―「食の安全」の科学, 菊川清見, 那須正夫編. 東京, 南江堂, 2004, p. 283-298. (ISBN: 9784524401970)
- 2) Hino, A., Akiyama, H., Kuribara, H. Current detection methods for genetically modified crops. *Nippon Shokuhin Kagaku Kogaku Kaishi*, **50**, 107-114 (2003).
- 3) Matsuoka, T., Kuribara, H., Suefuji, H., Miura, H., Kusakabe, Y., Akiyama, H., Goda, Y., Isshiki, K., Toyoda, M., Hino A. A detection method for recombinant DNA from genetically modified maize CBH 351. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **42**, 197-201 (2001).
- 4) 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 DAS 59132, maize. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (Food Hygiene and Safety Science)*, **51**, 65-70 (2010).
- 5) Watanabe, T., Tokishita, S., Spiegelhalter, F., Furui, S., Kitta, K., Hino, A., Matsuda, R., Futo, S., Akiyama, H., and Maitani, T. Development and evaluation of event-specific qualitative PCR methods for genetically modified Bt10 maize. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 1274-1279 (2007).
- 6) Goda, Y., Asano, T., Shibuya, M., Hino, A., Toyoda, M. Detection of recombinant DNA from genetically modified papaya. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **42**, 231-236 (2001).
- 7) Yamaguchi, A., Shimizu, K., Mishima, T., Aoki, N., Hattori, H., Sato, H., Ueda, N., Watanabe, T., Hino, A., Akiyama, H., Maitani, T. Detection method for genetically modified papaya using duplex PCR. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **47**, 146-150 (2006).
- 8) Wakui, C., Akiyama, H., Watanabe, T., Fitch, M. M., Uchikawa, S., Ki, M., Takahashi, K., Chiba, R., Fujii, A., Hino, A., Maitani, T. A histochemical method using a substrate of beta-glucuronidase for detection of genetically modified papaya. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **45**, 19-24 (2004).
- 9) Watanabe, T., Shiramasa, Y., Furui, S., Kitta, K., Minegishi, Y., Akiyama, H., Maitani, T. Development and evaluation of qualitative detection methods for unapproved genetically modified rice (LLRice). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **48**, 170-178 (2007).
- 10) Akiyama, H., Sasaki, N., Sakata, K., Ohmori, K., Toyota, A., Kikuchi, Y., Watanabe, T., Furui, S., Kitta, K., Maitani, T. Indicated detection of two unapproved transgenic rice lines contaminating vermicelli products. *J. Agric. Food Chem.*, **55**, 5942-5947 (2007).
- 11) Nakamura, K., Akiyama, H., Yamada, C., Satoh, R., Makiyama, D., Sakata, K., Kawakami, H., Mano, J., Kitta, K., Teshima, R. Novel method to detect a construct-specific sequence of the acetolactate synthase gene in genetically-modified flax CDC Triffid (FP967). *Biol. Pharm. Bull.*, **33**, 532-534 (2010).
- 12) Akiyama, H., Watanabe, T., Kikuchi, H., Sakata, K., Tokishita, S., Hayashi, Y., Hino, A., Teshima, R., Sawada, J., Maitani, T. Development and evaluation of qualitative detection methods for unapproved genetically modified rice (LLRice). *Shokuhin Eiseigaku Zasshi (J. Food Hyg. Soc. Japan)*, **47**, 111-114 (2006).
- 13) Akiyama, H., Goda, Y., Aoyagi, Y., Watanabe, T., Wakui, C., Chiba, R., Toyoda, M., Maitani, T. A comparative study of real-time PCR method and ELISA method for detection of recombinant DNA from genetically modified soybean as soybean grain and defatted soybean. *Nippon Shokuhin Kagaku Gakkaishi (Jpn. J. Food Chem.)*, **10**, 73-77 (2003).
- 14) Kuribara, H., Shindo, Y., Matsuoka, T., Takubo, K., Futo, S., Aoki, N., Hirao, T., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M., Hino, A. Novel reference molecules for quantitation of genetically modified maize and soybean. *J. AOAC Int.*, **85**, 1077-1089 (2002).
- 15) Shindo, Y., Kuribara, H., Matsuoka, T., Futo, S., Sawada, C., Shono, J., Akiyama, H., Goda, Y., Toyoda, M., Hino, A. Validation of real-time PCR analyses for line-specific quantitation of genetically modified maize and soybean using new reference molecules. *J. AOAC Int.*, **85**, 1119-1126 (2002).
- 16) Hubner, P., Waiblinger, H. U., Pietsch, K., Brodmann, P. Validation of PCR methods for quantitation of genetically modified plants in food. *J. AOAC Int.*, **84**, 1855-1864 (2001).
- 17) Vaitilingom, M., Pijnenburg, H., Gendreau, F., Brignon, P. Real-time quantitative PCR detection of genetically modified Maximizer maize and Roundup Ready soybean in some representative foods. *J. Agric. Food Chem.*, **47**, 5261-5266 (1999).
- 18) Suzuki, T. mRNA expression analysis by real-time polymerase chain reaction (PCR) technique. *Bunseki*, **1**, 11-17 (2008).
- 19) Kodama, T., Kuribara, H., Minegishi, Y., Futo, S., Watai, M., Sawada, C., Watanabe, T., Akiyama, H., Maitani, T., Teshima, R., Furui, S., Hino, A., Kitta, K. Evaluation of modified PCR quantitation of genetically modified maize and soybean using reference molecules: Interlaboratory study. *J. AOAC Int.*, **92**, 223-233 (2009).
- 20) 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* (J. Food Hyg. Soc. Japan), **50**, 117–125 (2009).
- 21) Goda, Y., Kakiyama, Y., Akiyama, H., Matsuoka, T., Hino, A., Toyoda, M. Detection of unexpected recombinant DNA in maize grain. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (J. Food Hyg. Soc. Japan), **43**, 74–79 (2002).
- 22) Akiyama, H., Watanabe, T., Wakabayashi, K., Nakade, S., Yasui, S., Sakata, K., Chiba, R., Spiegelhalter, F., Hino, A., Maitani, T. Quantitative detection system for maize sample containing combined-trait genetically modified maize. *Anal. Chem.*, **77**, 7421–7428 (2005).
- 23) 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).
- 24) Onishi, M., Matsuoka, T., Kodama, T., Kashiwaba, K., Futo, S., Akiyama, H., Maitani, T., Furui, S., Oguchi, T., Hino, A. Development of a multiplex polymerase chain reaction method for simultaneous detection of eight events of genetically modified maize. *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 9713–9721 (2005).
- 25) 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, MIR 604, MON 863 and MON 88017. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi* (Food Hygiene and Safety Science), **51**, 92–100 (2010).
- 26) Akiyama, H., Nakamura, F., Yamada, C., Nakamura, K., Nakajima, O., Kawakami, H., Harikai, N., Furui, S., Kitta, K., Teshima, R. A screening method for the detection of the 35S promoter and the nopaline synthase terminator in genetically modified organisms in a real-time multiplex polymerase chain reaction using high-resolution melting-curve analysis. *Biol. Pharm. Bull.*, **32**, 1824–1829 (2009).
- 27) 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 detection of genetically modified crops and its application in identifying unapproved genetically modified crops in Japan. *J. Agric. Food Chem.*, **57**, 26–37 (2009).