総説

バイオテクノロジー応用食品の現状とその安全性評価：
主に組換え作物について

豊田 正 武*

Current Status of Foods Derived by Biotechnology and Its Safety Evaluation:
Refer to Genetically Modified Plant Products

Masatake TOYODA

(National Institute of Health Sciences: 1-18-1, Kamiyoga, Setagaya-ku, Tokyo 158, Japan)

1. はじめに

バイオテクノロジー応用食品（いわゆるバイオ食品）については、1 昨年（平成 6 年）5 月米国で細胞壁の分解を防ぎ日持ちをよくするようにした遺伝子組換えトマトが販売許可となり、昨年には類似のトマト 3 種、除草剤に耐性のあるダイズ及びナタネ、ウィルスに耐性のあるカボチャ、耐虫性のあるジャガイモも認可されるようになった。一方、我が国においても数十種の作物について組換え体の作出が試みられており、このうちウィルス抵抗性トマト及びイネについては既に一般圃場での栽培が行われている。またウィルス抵抗性メロン及びジャガイモ、低グルテリン及び低タンパクイネについての栽培研究も進行しつつある。

本総説ではこのような内外におけるバイオ食品の生産販売に対する著しい状況変化を踏まえて、食品に関するバイオテクノロジーの従来の経緯と現状を解説するとともに、食品として登場する計画の作物の解説とそれらの安全性評価のポイントについて説明を加えることにする。

2. バイオテクノロジーの内容

バイオテクノロジーは生物・細胞及びその一部又は分子アナログを製品の生産などに利用する技法の総称であり、古来より発酵食品の製造に微生物が使用され、また生物の突然変異を利用した改良作物の作出や、交配による新品種の作出も頻繁に行われて来た。このようにバイオテクノロジーによる生産物は従来から多数存在するし、食されても来ている。しかし、バイオテクノロジーの技術面に関しては近年格段の進歩があり、図 1 に示すように細胞融合、組織培養、遺伝子組換えなどの技術が急速に進展し、特に後者の技術による作物からの食品

についてはその安全性評価体制の確立と評価項目の設定が必要となっている。

3. 既に食品として販売もされているバイオ食品

1) 作物分野でのバイオテクノロジー

表 1 にこれまでに我が国で開発されたバイオテクノロジーを利用した植物の品種改良の例を示した¹⁾。

イ) 組織培養

植物の葉、茎、根などの一部分を切り取り、寒天培地や液体培地などで育てる技術である。食品ではウィルスの感染していない植物の生長点（芽の先端部）を無菌的に切り出して培養する生長点培養の技術がウィルスフリーのイチゴの苗の生産に用いられている。また組織培養中の突然変異株を選択して病気に強いイチゴの苗を作ることに成功している。更に薬用人参の、国産品であるオタネニンジン（液体培地を入れた大型のタンクで培養が可能となり、商品として販売されている）。

ロ) 胚培養

通常では作物の出来ない植物を受精させ、その胚を受精直後に切り出し培養して新しい作物を作り出す技術である。かんきつ、ハクサイなどの例があり、千宝菜はキャベツとコマツナから胚培養により得られた新しい品種である。ハクランはキャベツとハクサイから得られた品種である。

ハ) 薬培養

植物の薬（花粉の入った袋）を採取して培養し、個体を再生する技術である。従来の手法より短期間で安定した品種を得ることが出来るため、薬培養では育種年限を大幅に短縮できる。イネ、ムギ、ハクサイの例があり、ハクサイとカブを交配し品種の固定化を行っている。

ニ) 細胞融合

異種又は同種の細胞同士を、融合促進剤のポリエチレングリコールや電気刺激、あるいは物理的手段により融

* 国立衛生試験所：〒158 東京都世田谷区上用賀 1-18-1

図1. バイオ作物などの作出に使用されるバイオテクノロジーの主な技法

表1. バイオテクノロジーを利用した植物の品種改良の事例

	作物名	系統名又は品種名	品種登録	育成者（機関）
組織培養	イチゴ ネギ サトイモ	アキタベリー 春川おく太 大吉 (No. 8)	登録 登録 農家栽培	秋田県農業短期大学 麒麟麦酒(株) 鹿児島県農業試験場
胚培養	カンキツ 千宝菜 ハクラン ユリ	白川 千宝菜1号, 2号 岐阜グリーン ひのはな	登録 登録 登録 登録	熊本県果樹研究所 麒麟麦酒(株), トキタ種苗(株) 岐阜県農業総合研究センター 野菜・茶業試験場
蒴培養	イネ イネ イネ ハクサイ	越の華 吉備の華 ひろひかり オレンジクイン	登録, 奨励 登録, 奨励 登録, 奨励 登録	富山県農業技術センター 岡山県農業試験場 広島県農業試験場 タキイ種苗(株)
細胞融合	カンキツ ヒラタケ	オレンジカラタチ中間母本 農1号（通称オレタチ） 森林総研 P01 号	中間母本, 登録 登録	果樹試験場, キッコーマン(株) 森林総合研究所
プロトプ ラスト	イネ イネ バレイショ	はつあかね 夢かほり ジャガキッズパープル 90	登録 登録 登録	三井東圧化学(株) 三菱化学(株), 三菱商事(株) 麒麟麦酒(株)

合させ、新しい遺伝子の組み合わせを持つ細胞を作り出す技術である。かんきつ、ジャガイモ、ネギ、ハクサイ、キノコでの例がある。最初の実験的な作物としてジャガイモとトマトから細胞融合により得られたポマトが有名な例である。我が国では、オレンジとカラタチの細胞壁を酵素により除去したプロトプラストと呼ばれる細胞膜のみ有する細胞同士を融合させたオレタチの例がある。また従来の酵母を使用したパンでは生地を冷凍保存ができないことから、冷凍しても死なない冷凍耐性の酵母と普通のパン酵母とを細胞融合させ、新しい冷凍耐性パン酵母が得られた。このバイオテクノロジー技術（バイテク技術）によりパン生地を希望の期間冷凍保存し、販売の直前にパン焼き器によりパンを焼くことが出来るようになっている。

2) 畜産分野でのバイオテクノロジー

イ) 体外受精

雌ウシの卵巣から未成熟卵を取り出し、試験管内で成熟させた後精子と受精させ、この受精卵を雌ウシの体内に戻して優良な子ウシを得る技術で、良く知られている手法である。

ロ) 受精卵移植

優良な雌ウシから排卵促進剤などの使用により多数排卵させ、優良な雄ウシの精子と人工受精後、他の雌ウシの子宮に移植し、一度に多くの優秀な品種のウシを得る技術である。

ハ) 核移植

ウシの受精卵を取り出し、分割している個々の細胞から核を取り出して別のウシの未受精卵に移植し、培養後雌ウシの子宮に戻して優良な同一の性質を持つウシを得る技術である。

3) 漁業分野でのバイオテクノロジー

イ) 三倍体魚類

図2. アグロバクテリウム法の概要

(鎌田 博: 植物バイオテクニクス, 2, p. 2 (1996) より引用)

図3. パーティクルガン法の概略

(植物バイオテクニクス, 2, p. 3 (1996) より引用)

魚の卵(性染色体がXX)を精子(X又はY)で受精させ、その受精卵に物理的な刺激である加圧や加熱などの処理を与えることにより、染色体が三対ある三倍体の魚(XXX又はXXY)とする技術である。この魚は不妊化しており、同種の魚類と比べ大きな個体となる。この技術はニジマス、ヤマメ、カキ、アマゴ、ヒラメ、ギンザケ、サクラマスなどに応用されている。しかし、三倍体魚などの健全かつ秩序ある利用を図るため、水産庁では、「三倍体等の水産生物の利用要領」(平成4年7月水産庁長官通達)を制定し、染色体操作技術を用いて作出した水産生物の利用は当面養殖に限定することとしている。

ロ) 全雌魚

魚の卵を紫外線照射して染色体の機能を無くした精子で受精させ、その受精卵に加圧や加熱などの物理的処理を加えて、卵の染色体を倍化することにより、雌ばかり

の魚を作る技術である。サクラマスなどに利用されている。

4) バイオリアクター

固定化酵素、固定化微生物、動植物細胞などを触媒として、希望する物質を生産する反応装置をバイオリアクターと呼んでいる。すなわち生化学的な反応を人工の容器のなかで再現するシステムの構築技術を意味している。様々なタイプのバイオリアクターが工夫され、固定層型、流動層型、膜型などがある。この技術は特定の食品分野で良く使用され、例として異性化糖、バラチノース、エリスリトール、オリゴ糖、シクロデキストリン、一部の調味料などがバイオリアクターを用いて製造されている。

5) 遺伝子組換え

動植物や微生物の遺伝子に品種改良のために必要な情報を組み込む技術である。一般には、試験管内で動植物

表 2. 海外で開発中の組換え作物の例

作物	国名	商品化または予定年
日持ちの良いトマト	米国	1994～1995
ウィルス抵抗性トマト	中国	
味を良くしたトマト	英国	1995
ウィルス抵抗性カボチャ	米国	1995
ラウリン酸高生産性ナタネ	米国	1995
害虫抵抗性ジャガイモ	米国	1995
除草剤の影響を受けないダイズ	米国	1995
除草剤の影響を受けないナタネ	カナダ	1995～1996
〃	独	1996
〃	ベルギー	1996
除草剤の影響を受けないトウモロコシ	米国	1996
害虫抵抗性トウモロコシ	スイス	1996
〃	米国	1996
害虫抵抗性及び除草剤の影響を受けないトウモロコシ	米国	1996
日持ちの良いミニトマト	米国	
ウィルス抵抗性ジャガイモ	米国	1997

や微生物から必要な遺伝子の分離と単離などを行い、この遺伝子をベクターに組み込み、目的とする動植物や微生物の遺伝子に組み込むことにより、新しい性質を持つ動植物や微生物を作り出す技術である。この技術を品種改良に応用すると短期間のうちに目的とする性質だけを付与した作物の作出が可能となる。遺伝子の組換えに用いられる方法は必ずしも同じではなく、次のような方法が使用されている。

イ) アグロバクテリウム法

植物に腫瘍を引き起こす細胞であるアグロバクテリウムを利用する方法で、図2に示すようにアグロバクテリウム中の環状DNAであるプラスミド(Tiプラスミド)を取り出し、制限酵素でその必要な部分だけを残し(T-DNA)、これに別に取り出した必要な遺伝子を酵素で繋ぎ合わせる。出来上がったこのプラスミドをアグロバクテリウムにもどし、目的とする作物などに接触させてその植物細胞内にプラスミドを取り込ませる。以上の操作により必要な遺伝子が作物に組み込まれることになる。

ロ) エレクトロポレーション法

植物細胞のプロトプラストに必要な遺伝子を直接電気パルスの力を借りて導入する技術である。目的とする作物のプロトプラストと動植物や微生物から取り出した必要な遺伝子とを混合し、その溶液に電圧パルスを掛けることにより、プロトプラストの細胞膜に穴が空き外部の遺伝子が細胞内に組み込まれる原理に基づいている。処理後のプロトプラストを培養し、植物体を再生させ新しい性質を有する品種を作り出す。

ハ) パーティクルガン法

圧力を使って遺伝子を直接組織や細胞に打ち込む方法である。図3に示すように金などの微粒子の表面に必

要な遺伝子を着け、これを高圧ガスなどの高圧で目的とする作物の組織や細胞に打ち込み、新しい性質を有する作物を作り出す。

なおこれらの方法において植物体への必要な遺伝子の導入を確認するために、マーカー遺伝子が用いられる。このマーカー遺伝子は、必要な遺伝子と同一のベクターに組み込ませて植物細胞に導入し、組換えた植物細胞や植物体でのマーカー遺伝子の発現の有無により必要な遺伝子の導入をチェックできる。最も良く使用されるマーカー遺伝子は抗生物質耐性遺伝子であり、また除草剤耐性遺伝子が使用される場合もある。

以上記載のバイオテクノロジー応用食品の例とバイオテクノロジー技術については、分かりやすい図解付きのパンフレットが農林水産省より作成されているので参照されたい²⁾。本総説でもそのかなりの部分は本パンフレットに基づいて作成されている。

4. 海外で開発されている組換え作物の現状

表2に数年前より開発が進んで商品化されたか又は今後商品化予定の作物の例をまとめて示した³⁾。

日持ちの良いトマトは米国で世界で始めて食用目的に作られた組換え作物である。商品名フレーバーセーバートマトと呼ばれ、日持ちが通常のトマトより良いため、価格が通常のトマトの約2倍と高価であるにもかかわらず、1994年5月に米国で販売が開始され、同年末には全米の750店舗で販売され、1995年末には1,700店舗で販売されるようになっている。

この作物の組換え操作は図4に示すようなアンチセンス法と呼ばれる原理で行われている。すなわち、遺伝子のアンチセンス遺伝子鎖からの転写RNAが、センス鎖からの転写RNAと複合体を形成し翻訳を阻害することを期待した方法であり、トマトのペクチンを分解する

図4. アンチセンスDNA技術の概要

図5. 除草剤グリホサートに対する耐性のメカニズム (耐性酵素使用)

図6. 除草剤グリホサートに対する耐性のメカニズム (分解酵素使用)

図7. 除草剤グルホシネートに対する耐性のメカニズム (アセチル化)

ポリガラクトクロナーゼの生成を遺伝子レベルで抑制するために、ポリガラクトクロナーゼ遺伝子をアンチセンス側に導入したものである。

除草剤耐性ダイズは、除草剤のグリホサート耐性を付与した作物である。図5に示すようにグリホサートは芳香族アミノ酸合成経路であるシキミ酸経路にある5-

表 3. 我が国における組換え作物の開発状況（一般温室実験以降）

	組換え植物 (品種名)	開 発 者 (隔離は場申請者)	特 徴 (導入遺伝子)	栽 培 試 験 (年)			
				①	②	③	④
1	トマト	農業環境技術研究所, 農業生物資源研究所, 農業研究センター	ウィルス病抵抗性 (タバコモザイク ウィルス外被タンパク質遺伝子)	1989	1989	1991	1992
2	イネ (日本晴: 16-2)	農業研究センター, 農業生物資源研究所	ウィルス病抵抗性 (イネ縞葉枯ウィル ス外被タンパク質遺伝子)	1990	1992	1993	1994
3	イネ (キヌヒカリ)	農業環境技術研究所, (株)植物工学研究所	ウィルス病抵抗性 (イネ縞葉枯ウィル ス外被タンパク質遺伝子)	1990	1992	1993	1994
4	メロン (プリンス)	農業研究センター, 農業生物資源研究所 (農業 環境技術研究所)	ウィルス病抵抗性 (キュウリモザイ クウィルス外被タンパク質遺伝子)	1990	1992	1993	1996
5	イネ (キヌヒカリ)	三井東圧化学(株) (農業環 境技術研究所)	低アレルゲン米 (イネアレルゲン遺 伝子のアンチセンス側)	1992	1993	1994	
6	イネ (アキヒカリ)	(株)加工米育種研究所 (日 本たばこ産業(株))	酒造米用低タンパク質米 (イネグル テリン遺伝子のアンチセンス側)	1991	1993	1994	
7	バレイショ (メークイン)	(株)北海道グリーンバイオ 研究所 (北海道農業試験 場)	ウィルス病抵抗性 (ジャガイモ葉巻 ウィルス外被タンパク質遺伝子)	1992	1993	1994	
8	ダイズ	モンサント(株) (農業環 境技術研究所)	除草剤耐性 (グリホサート耐性遺 伝子)	米国	1994	1995	1996
9	トマト(405)	野菜・茶業試験場	ウィルス病抵抗性 (キュウリモザイ クウィルス外被タンパク質遺伝子)	1992	1994	1995	1996
10	トマト(707)			1992	1994	1995	1996
11	ナタネ	モンサント(株) (農業環 境技術研究所)	除草剤耐性 (グリホサート耐性遺 伝子及びグリホサート分解酵素遺 伝子)	米国	1994	1995	1996
12	トマト(ICI9)	カゴメ(株)	日持ち性の改良 (ポリガラクチュ ロナーゼ遺伝子のアンチセンス側)	1991	1994	1995	1996
13	トマト(ICI13)			1991	1994	1995	1996
14	トマト	キリンビール(株)	日持ち性の改良 (ポリガラクチュ ロナーゼ遺伝子のアンチセンス側)	米国	米国	1994	1996
15	ナタネ (HCN92)	ヘキスト・シェーリング・ アグレボ(株) (北海道農業 試験場)	除草剤耐性 (グルホシネート耐性遺 伝子)	カナダ	カナダ	1995	1996
16	ナタネ (PGS1)	プラント・ジェネティッ ク・システム社 (北海道農 業試験場)	除草剤耐性 (グルホシネート耐性遺 伝子) 及び雄性不稔 (花粉生産阻害遺 伝子)	カナダ	カナダ	1995	1996
17	ナタネ (HCN25)	ヘキスト・シェーリング・ アグレボ(株) (北海道農業 試験場)	除草剤耐性 (グルホシネート耐性遺 伝子)	カナダ	カナダ	1995	
18	トウモロコシ	ヘキスト・シェーリング・ アグレボ(株) (北海道農業 試験場)	除草剤耐性 (グルホシネート耐性遺 伝子)	米国	米国	1995	
19	トウモロコシ (MON810)	モンサント(株) (農業環 境技術研究所)	害虫抵抗性 (Bt 産生殺虫タンパク 合成遺伝子)	米国	米国	1996	

表 3. つづき

	組換え植物 (品種名)	開発者 (隔離は場申請者)	特徴 (導入遺伝子)	栽培試験 (年)			
				①	②	③	④
20	トウモロコシ (MON802)	モンサント(株) (農業環境 技術研究所)	害虫抵抗性 (Bt 産生殺虫タンパク合 成遺伝子) 及び除草剤耐性 (グリホ サート耐性遺伝子)	米国	米国	1996	
21	トマト (117)	野菜・茶業試験場	ウィルス病抵抗性 (キュウリモザイク ウィルス外被タンパク質遺伝子)	1992	1996	1996	
22	トマト (1046)			1992	1996	1996	
23	トマト (1204)			1992	1996	1996	
24	トマト (1208)			1992	1996	1996	
25	トウモロコシ (Bt 11)	ノースラップキング社(株) (農業環境技術研究所)	害虫抵抗性 (Bt 産生殺虫タンパク合 成遺伝子) 及び除草剤耐性 (グリホシ ネート耐性遺伝子)	米国	米国	1996	
26	トウモロコシ (Event 176)	チバ シード社 (農業環境 技術研究所)	害虫抵抗性 (Bt 産生殺虫タンパク合 成遺伝子) 及び除草剤耐性 (グリホシ ネート耐性遺伝子)	米国	米国	1996	
27	ナタネ (PGS2)	プラント・ジェネティッ ク・システムズ社 (北海道 農業試験場)	除草剤耐性 (グルホシネート耐性遺 伝子), 雄性不稔 (雄性不稔遺伝子) 及 び雄性不稔回復 (雄性不稔回復遺 伝子)	カナダ	カナダ	1996	
28	トウモロコシ (B16)	デカルブ社(株) (農業環境 技術研究所)	除草剤耐性 (グルホシネート耐性遺 伝子)	米国	米国	1996	
29	イネ(日本晴: 20-2)	農業研究センター, 農業生 物資源研究所 (農業環境技 術研究所)	ウィルス病抵抗性 (イネ縞葉枯ウィ ルス外被タンパク質遺伝子)	1990	1992	1996	
30	イネ(日本晴: 21-3)			1990	1992	1996	

注: 栽培試験の①は閉鎖温室実験 (科技厅), ②は非閉鎖温室実験 (科技厅), ③は隔離は場試験 (農水省), ④は一般は場での栽培を示す。海外において作出・安全性評価されたものは, 栽培試験の①及び②に国名で示す。

資料: 農林水産省先端産業技術研究課

エノール-ピルピルシキミ酸-3-リン酸合成酵素 (EPSPS) と特異的に結合し, その作用を阻害することにより作物を枯らす。本組換え作物は土壌細菌のアグロバクテリウム由来の CP4EPSPS 遺伝子をダイズに導入したもので, この CP4EPSPS 遺伝子はグリホサートとの結合性が弱いため, 本作物はグリホサートの影響を受けずに生育出来るようになる。

また除草剤耐性ナタネは, 除草剤のグリホサートに対する耐性を上記のダイズと同様に付与したものであるが, 機構的には上記の耐性機構に更に別の耐性機構を加えたものである。すなわち, ナタネの場合はグリホサートに対する耐性が CP4EPSPS のみでは不足のため, グリホサートを分解するグリホサート酸化還元酵素 (GOX) の遺伝子をアグロバクテリウムより分離し, ナタネに導入したものであり, グリホサートはアミノメチ

ルスルホン酸とグリオキシレートに代謝される (図 6)。本組換えナタネはグリホサート耐性とグリホサート分解の両者の作用により, グリホサートの影響を受けずに生育出来るようになる。

他の除草剤耐性ナタネは, 除草剤のグルホシネートに対する抵抗性を付与した作物である。図 7 に示すようにグルホシネートは植物のグルタミン合成酵素を阻害し, アンモニアが蓄積されて植物が枯れる。本組換え作物では, グルホシネートの主成分であるホスフィノスリンをアセチル化するホスフィノスリンアセチルトランスフェラーゼ (PAT) の遺伝子を土壌細菌のストレプトマイセスより単離し, ナタネに導入したもので, グルホシネートは本酵素によりアセトアミド・メチルホスフィネート・ブチレート (AMPB) に代謝され, 本作物はグルホシネート存在下でも生育できるようになる。

これら除草剤耐性作物には、除草作業の省力化、農薬散布回数の減少によるコストダウンと残留農薬の減少、作物の高品質化、不耕起栽培が可能、食品の安定供給などの長所があると云われている。

害虫抵抗性作物の場合は、微生物農薬と云われる BT 剤の殺虫成分である *B. t.* タンパク質を植物体に導入している。すなわち *Bacillus* 属の菌で生産される殺虫成分である *Bacillus thuringiensis* 殺虫タンパク質の遺伝子を取り出し、作物に導入し発現させている。この結果、作物はこの作物を食する特定の害虫の影響を受けずに生育できる。殺虫活性の原理は、その殺虫タンパク質が幼虫の消化管内のアルカリ性条件下で可溶化し、中腸上皮の特異的受容体と結合して膜に侵入して陽イオン選択的小孔を形成することにより、消化機能が阻害され幼虫が生きていられなくなり死に至る。例としてアワノメイガ抵抗性の殺虫タンパク質である Cry I A(b) タンパク質の遺伝子及びコロラドハムシ抵抗性の殺虫タンパク質である Cry III A タンパク質の遺伝子が作物に導入されている。

これら害虫抵抗性作物は、作物に取り付いた害虫のみを駆除し、作物外の環境中の益虫は影響を受けないため、益虫による害虫の駆除が期待され、農薬の残留が少なく、環境への影響も少ない長所があると云われている。

5. 我が国における開発中の組換え作物

表 3 に開発中の組み換え作物の例を示した⁴⁾。現在 40 数種類の作物について組換え作物が開発されており、ウィルス抵抗性遺伝子導入トマトとイネ 2 品種及びアレルギー物質の生産を抑制する遺伝子を導入したイネに関しては、隔離ほ場での安全性評価が終了し、一般ほ場での栽培が可能となっている。

6. 近年の諸外国及び国際機関における組換え作物の安全性評価

前記に記したように諸外国特に先進諸国では、組換え技術を用いた食品の開発がかなり以前より進行し、商品化を求める要求もなされるようになった事情を踏まえ、国際的な機関でもその安全性評価の基本方針について検討がなされるようになった。

1990 年 FAO/WHO は専門家による協議を開始し⁵⁾、1991 年には OECD がバイオテクノロジーを用いて作られた作物の安全性評価について、実質的同等性 (Substantial Equivalence: SE) の概念を提唱した⁶⁾。この概念は、次の 3 原則より成っている。①導入された新しい形質が特定され、更にその形質転換により起こり得る 2 次の影響も含めて無害であると確認できる食品は、そのもととなる食品と同じと考える。②実質的に従来の食品と同じ食品は、対応する既存の食品と同様に評価される。③実質的に同じとみなすことが困難な新食品については、類似の食品などで得られた知見を参考にして評価

する。

米国 FDA は、1992 年 5 月「バイオテクノロジー等により作られた新しい植物品種から得られる食品の安全性に関する政策 (ポリシー)」を連邦政府公報 (Federal Register) に公表した⁷⁾。そこでは、新しい植物品種由来の食品の主要成分が、既存の主要成分と同等もしくは類似している場合には、発売前に審査は不要であり、表示も必要ないこととしている。意図する発現物質が既存物質と顕著に異なり問題が予想される場合には、食品添加物としての規制も考慮し、生産者は FDA と協議することとなっている。また実際のケースに則して協議すべき安全性評価の項目を提案している⁸⁾。

WHO は、1993 年「遺伝子組換えに使用されるマーカー遺伝子に関するワークショップ」を開催 (デンマーク) し、組換え作物の選択に使用されるマーカー遺伝子の種類、マーカー遺伝子の使用に伴う安全性と、マーカー遺伝子導入植物の食品としての安全性評価の方法論について討議がなされ、組換え作物におけるマーカー遺伝子の健康に係わる見解という表題の報告書が作成されている⁹⁾。そこでは良く使用されるマーカー遺伝子の食品中の存在そのものが安全性に問題を起こすようなことはないし、マーカー遺伝子による発現タンパク質の安全性はその機能に焦点を当てて評価すべきであるとしている。また遺伝子導入による二次的影響もないとしている。

更に 1994 年 5 月、米国において、FDA、EPA、USDA 共催の下に「組換え作物におけるアレルギー性の可能性に関する会議」が開催され、アレルギーを起こしやすい食品、暴露量とアレルギー反応、抗原決定基、*in vitro* 及び *in vivo* 診断法、動物モデルについての発表と討論が行われた¹⁰⁾。また 1994 年 5 月、FDA は、遺伝子組換えに良く使用されるマーカー遺伝子であるカナマイシン耐性 NPT II (アミログリコシド 3'-ホスホトランスフェラーゼ II) 遺伝子について、その安全性を評価し、新品種のトマト、ナタネ、ワタについて開発工程での食品添加物としての使用を認可している¹¹⁾。

1994 年 9 月、OECD による「食品の安全性評価に関するワークショップ」が英国で開催された。本会合では、OECD が以前に提案したバイオテクノロジー応用食品の評価における実質的同等性 (SE) の概念に基づき、特定食品に関する安全性評価事例、食品の安全性評価について従来の方法と別の新しい方法の例、また今後の食品の安全性評価についての方法論に関して検討がなされた。ワーキンググループでの討論内容の総括が報告書に記載されている¹²⁾。

引き続き、1994 年 11 月デンマークにて、「組換え植物に由来する食品またはその成分の安全性評価に対する実質的同等性の原則の適用」に関する WHO ワークショップが開催された。本会合では、実質的同等性

(SE)の応用に係わる討議として、SEの確立に必要なパラメーターの設定を目的として、分子特性、栽培特性、栄養素と毒素のような化学特性、参照特性としてキーとなる成分の分析及びレフェレンス（対照）の設定が話題となり、結論は報告書としてまとめられている¹³⁾。

また昨年、米国EPAは、*Bacillus thuringiensis*由来の殺虫成分であるCry III A殺虫タンパク質を植物農薬として使用する場合、その成分の安全性に特に問題が見られないことから、農薬としての残留基準を免除することを決定している¹⁴⁾。

7. 我が国における組換え作物の安全性評価

組換えDNA技術などを用いた上記バイオ食品などの安全性を確保するために、厚生省では平成3年12月に「バイオテクノロジー応用食品・食品添加物の安全性確保のための基本方針」、「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の製造指針」及び「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針」を策定した¹⁵⁾。基本方針では、バイオテクノロジーについてこの技術そのものが危険であることを示す科学的根拠はないが、バイオテクノロジーが高度先端技術であり、応用経験が少ないものであることから有害不純物の混入防止などの観点から、この技術により製造される食品・食品添加物の安全性の一層の確保を図ることにしている。製造指針では、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の製造段階において遵守しなければならない項目を定めている。また安全性評価指針では、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価に必要な項目を定めている。

両指針の対象は、組換えDNA技術を応用して製造された食品のうち、組換え体そのものを摂取することのない食品・食品添加物で、生産物が既知のものと同じ又は同一とみなし得るものに限っており、平成4年4月よりガイドラインとして運用されている。すなわち、組換えDNA技術を用いて食品を製造しようとする製造者及び組換えDNA技術を用いて製造された食品を輸入しようとする輸入業者は、その製造及び安全性評価の方法について上記指針に適合していることの確認を厚生大臣に申請することが出来るようになっていく。実際に平成6年には、組換え微生物により生産された酵素キモシン（チーズの凝乳酵素）の安全性が食品衛生調査会で確認され、輸入・販売が開始されている。しかし、この指針は組換え体を食べる場合には適用できないことから、組換え体を食べる場合の食品の安全性指針を作成することが必要となった。

そこで、平成7年6月厚生大臣より食品衛生調査会に対し、組換え作物などの安全性確保のための方策についての諮問がなされ、その答申を受け、平成8年2月に生活衛生局長通知（5日衛食32号）により、組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針が改正された¹⁶⁾。この改正指針は組換えDNA技術を応用し

て製造された食品などであって、組換え体そのものを食べる場合の安全性評価を組み込んだスタイルとなっており、ガイドラインであることに代わりはない。この場合、組換えDNA技術とは酵素などを用いた切断、再結合の操作によって、DNAを繋ぎ合わせた組換えDNAを作製し、それを生細胞に移入し、増殖させる技術のことである。この指針では、組換えDNAにより生産物に付加されたすべての因子について評価がなされる。従って、組換えDNA技術により付加された目的とする性質のみではなく、組換えDNA技術により発生する可能性のあるその他の影響についても評価することになっている。

本改正指針は、既存のものと同等と見なす生産物を、食品・食品添加物として利用する場合に適用し、組換え体そのものを食べる生産物では、組換え体が種子植物の場合に適用する。組換え体が既存のものと同等とみなし得るかどうかは、①遺伝的素材に関する資料、②広範囲なヒトの安全な食経験に関する資料、③食品の構成成分などに関する資料、④既存種と新品種の使用法の相違に関する資料により判定し、組換え体が既存のものと同等とみなし得ることが確認された場合に、必要な資料に基づき安全性評価を行うこととなっている。

組換え体を食べる場合における組換え体などの安全性評価に必要な資料は、①組換え体の利用目的及び利用方法、②宿主（組換えDNA技術においてDNAが移入される生細胞）に関する資料として、分類上の位置付け（学名、品種、系統名等）、遺伝的祖先、有害生理活性物質の生産、アレルギー誘発性、寄生性・定着性、外来因子（ウィルス等）に関する資料（病原性の外来因子に汚染されていないこと）、自然環境を反映する実験条件下での生存・繁殖能力、有性生殖周期と交雑性、食品に利用された歴史、安全な摂取、生存・増殖能力を制限する条件に関する資料、宿主の近縁種の有害生理活性物質の生産、③ベクターに関する資料として、名称、由来、性質（DNAの分子量、制限酵素による切断地図、有害塩基配列等の有無（既知の有害塩基配列を含まないこと））、薬剤耐性、伝達性、宿主依存性、発現ベクターの作成方法、発現ベクターの宿主への挿入方法・位置、④挿入遺伝子関連資料として、供与体の名称、由来及び分類、供与体の安全な摂取、挿入遺伝子の構造（プロモーター、ターミネーター、有害塩基配列の有無（既知の有害塩基配列を含まないこと））、性質（挿入DNAの機能、制限酵素による切断地図、分子量）、純度、安定性、コピー数、発現部位、発現時期及び発現量、抗生物質耐性マーカーの安全性、外来のオープンリーディングフレームの有無とその転写や発現の可能性、⑤組換え体に関する資料として、組換えDNA操作により新たに獲得された性質、遺伝子産物のアレルギー誘発性、遺伝子産物の毒性影響（アレルギー誘発性に関する資料を除く）、

表 4. 抗生物質耐性マーカー遺伝子の安全性評価に必要な資料

(1) 遺伝子及び遺伝子産物の特性に関する資料
・構造及び機能
・耐性発現のメカニズムと使用方法, 関連代謝産物
・同定及び定量方法
・調理又は加工による変化(熱や物理的圧力に対する安定性)
・消化管内環境における変化(酸や消化酵素に対する安定性)
(2) 遺伝子及び遺伝子産物の摂取に関する資料
・予想摂取量
・耐性の対象となる抗生物質の使用状況
・通常存在する抗生物質耐性菌との比較
・経口投与した抗生物質の不活化推定量とそれに伴って問題が生ずる可能性

表 5. アレルギー誘発性に関する安全性評価に必要な資料

(1) 供与体の生物の食経験に関する資料
(2) 遺伝子産物がアレルゲンとして知られているかに関する資料
(3) 遺伝子産物の物理化学処理に対する感受性に関する資料 ^{*1}
(4) 遺伝子産物の摂取量を有意に変えるかに関する資料
(5) 遺伝子産物と既知の食物アレルゲンとの構造相同性に関する資料
(6) 遺伝子産物が一日たんぱく摂取量の有意な量を占めるかに関する資料

注 1. 合理的な理由があれば、一部を省略することができる。

注 2. (1)～(6)により安全性が確認されない場合は、

- ・構造相同性が認められたアレルゲンに対する患者 IgE 抗体と遺伝子産物との結合能に関する資料^{*2}
- ・主要アレルゲンに対する患者 IgE 抗体と遺伝子産物との結合能に関する資料^{*2, *3}を提出し、厚生省と協議を行う。

^{*1}: 人工胃液, 人工腸液による処理及び加熱処理に対する感受性をタンパク質電気泳動法及びウェスタンブロット法により調べる。

^{*2}: ウェスタンブロット法及び ELISA 法によるアレルギー患者の IgE 抗体結合能の評価を行う。

^{*3}: 卵, ミルク, 大豆, 米, 小麦, ソバに対するアレルギー患者血清を用いて検査する。

表 6. フレーバーセーバートマトと対照トマトとの栄養素含量の比較

成 分	文 献 値	組換えトマト	対照トマト
Protein	0.85 g (.015 SE)	0.75～1.14	0.53～1.05
Vitamin A	192～1,667 IU	330～1,600	420～2,200
Thiamin	16～80 µg	38～72	39～64
Riboflavin	20～78 µg	24～36	24～36
Vitamin B ₆	50～150 µg	86～150	10～140
Vitamin C	8.4～59 mg	15.3～29.2	12.3～29.2
Niacin	0.3～0.85 mg	0.43～0.70	0.43～0.76
Calcium	4.0～21 mg	9～13	10～12
Magnesium	5.2～20.4 mg	7～12	9～13
Phosphorus	7.7～53 mg	25～37	29～38
Sodium	1.2～32.7 mg	2～5	2～3

遺伝子産物の代謝経路への影響, 宿主との差異(栄養・抗栄養素に関する資料及び、含有量の変動により有害性が示唆される成分の変動に関する資料は必ず含む), 外界における生存・増殖能力, 組換え体の生存・増殖能力の制限, 組換え体の不活化法, 諸外国における認可・食

用等, 作出・育種・栽培方法, 種子の製法及び管理方法。又特に抗生物質耐性マーカー遺伝子及び遺伝子産物のアレルギー誘発性については、慎重に評価するため、表 4 及び 5 に示す資料を要求している。以上の資料により安全性の知見が得られていない場合は、急性毒性試

表 7. 7 種組換え技術応用食品の概要

食品名	除草剤耐性 ダイズ	除草剤耐性 なたね (1)	除草剤耐性 なたね (2)	除草剤耐性 なたね (3)	害虫抵抗性 ジャガイモ	害虫抵抗性 トウモロコシ (1)	害虫抵抗性 トウモロコシ (2)
食用形態	大豆種子	菜種油	菜種油	菜種油	塊茎	穀粒	穀粒
開発者の国名	米国	米国	カナダ	ベルギー	米国	米国	米国
挿入遺伝子	グリホサート耐性 CP4EPSPS	グリホサート耐性 CP4EPSPS グリホサート分解 性 GOX	グルホシネート耐性 PAT	グルホシネート耐性 PAT 花粉生成阻害 RNase RNase 阻害	コロラドハムシ 抵抗性 Cry III A	アワノメイガ 抵抗性 Cry I A(b)	アワノメイガ 抵抗性 Cry I A(b)
マーカー遺伝子	抗生物質 (カナマイシン) 耐性	除草剤耐性 CP4EPSPS	抗生物質 (カナマイシン) 耐性	抗生物質 (カナマイシン) 耐性	抗生物質 (カナマイシン) 耐性	除草剤耐性 PAT	除草剤耐性 PAT
発現物質	CP4EPSPS タンパク質	CP4EPSPS タンパク質 GOX タンパク質	PAT タンパク質 NPTII タンパク質	なし NPTII タンパク質	B.t.t. タンパク質 NPTII タンパク質	B.t.k. タンパク質 PAT タンパク質	B.t.k. タンパク質 PAT タンパク質
発現量	微量	油脂中検出 限界以下	油脂中検出 限界以下	なし	微量	微量～検出 限界以下	検出限界以下

験, 亜急性毒性試験, その他の必要な試験により安全性を評価することとなっている。

8. 米国フレーバーセーバートマトの評価例

米国カルジーン社の日持ちの良いトマトは、遺伝子組換え作物の最初の例として、その安全性は米国FDAにより十分に検討されている。安全性評価に関する一部のデータは成書としてもまとめられているので、その一端を紹介する¹⁷⁾。表6に本組換えトマトの栄養成分などについて対照の非組換えトマト及び従来の文献値とも比較した結果を範囲で示してある。組換えトマトの表示成分は対照トマト及び文献値の範囲内にあり、実質的に既存のトマトと同等であることが分かる。一方トマト中の天然有害アルカロイドであるトマチン濃度は未熟の青色のトマトが組換え体で、0~8.79 mg/100 gであるのに対し、対照の非組換えトマトで、0~6.48 mg/100 gであり、熟した赤色のトマトではその含量が低下し前者が0~1.09 mg/100 g、後者が0~2.31 mg/100 gといずれの場合も組換え体のトマチン量はほぼ対照と同レベルかそれ以下であり、組換えにより有害アルカロイドの含量が変わることはないことが分かる。また両製品の諸特性を評価した場合、組換えにより意図する特性であるポリガラクトクトロナーゼ(PG)活性、軟化率、粘度、カビ抵抗性が変化し、PG活性が1/10以下に低下したため組織は固くなりカビに対する抵抗性も高まった。一方、意図しない特性である栄養成分などのRDA(勧告一日許容量)、味、加工特性、色などは変化していない。

又、専門家によるフレーバーセーバートマトの評価結果の概要も文献に記載されているのでその概要を紹介する¹⁸⁾。①上記のとおり栄養素含量、栽培特性、毒性物質のアルカロイド含量は変化しない。②有害物質を生産する遺伝子配列は導入されていない。③導入遺伝子はポリガラクトクトロナーゼ(PG)のアンチセンス遺伝子と選択マーカー遺伝子であるカナマイシン耐性(NPT II)遺伝子のみである。④PGのアンチセンス遺伝子はDNAで、その生産物はアンチセンスRNAであり毒性はない。⑤カナマイシン耐性遺伝子からの生産物であるカナマイシン分解酵素についてはその基質特異性などの特性を十分検討した。⑥ヒトの腸内に棲息するカナマイシン耐性菌のレベルは、本製品を摂取しても有意に増加しない。⑦摂取したカナマイシン分解酵素はヒトの消化管内で分解されて不活性となる。⑧カナマイシン分解酵素は既知の毒素及び既知のアレルゲンと相同性を示さない。

9. 我が国における組換え作物の安全性評価の現状

平成8年3月、組換えDNA技術を応用して製造された食品7種、すなわち除草剤耐性のダイズ1種とナタネ3種及び害虫抵抗性のジャガイモ1種とトウモロコシ2種について、我が国の組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針に適合していることの確認を求める申請があり、厚生大臣は適合確認の可否に

ついて食品衛生調査会に諮問を行った。表7に申請のあった品目について遺伝子組換えの内容の概要をまとめて示した。除草剤耐性ダイズについては、既に米国及び英国で認可されており、除草剤耐性ナタネ(1及び2)は米国及びカナダで、除草剤耐性ナタネ(3)はカナダ、ベルギー、英国及び米国で、害虫抵抗性ジャガイモ及び害虫抵抗性トウモロコシ(1及び2)は米国で認可されている。

国内で開発されている組換え作物由来の食品については、表3に示された作物由来の食品が将来指針適合確認の申請へと向かうことになると考えられる。

一方、我が国では、飼料用作物のほとんどを輸入に頼っているため、飼料用の組換え作物が輸入される可能性がある。そこで農林水産省では、平成8年4月組換えDNA技術を利用して製造、輸入又は販売される飼料の安全性を確保するため、「組換え体利用飼料の安全性評価指針」を策定した¹⁹⁾。

バイオテクノロジー応用食品の安全性評価について残された課題は、組換え食品の動物実験による評価において、対象が食品であるため多量投与で栄養バランスの障害による影響が発生しやすく評価が若干困難であること、また試料として食品全体を投与するかその一部を投与するかについても議論の分かれるところである。更に発現タンパク質についてはヒトでのアレルギー性評価の代替としての動物実験による評価方法の確立が望まれている。一方、我が国における今後の課題としては、実質的同等性の証明が困難な生産物や、現在の指針には含まれてない種子植物以外の食品について、安全性をどのように評価すべきか更に検討が望まれる。

謝 辞

本総説の作成に当たり、お忙しいところ御校閲と御指摘を賜りました厚生省食品保健課池田千絵子課長補佐及び農林水産省先端産業技術研究課日野明寛課長補佐に深謝致します。

文 献

- 1) 農林水産省バイオテクノロジー課: “農林水産・食品バイオテクノロジーをめぐる最近の動向と農水省の主な施策”, p.1, 表1(1996).
- 2) 農林水産省農林技術会議事務局編: “くらしのなかのバイオテクノロジー”(1995).
- 3) 農林水産省農林技術会議事務局・農業環境技術研究所編: “組換え体の高度利用のためのマニュアル”, p.5(1996).
- 4) 農林水産省バイオテクノロジー課: “農林水産・食品バイオテクノロジーをめぐる最近の動向と農水省の主な施策”, 平成8年8月(1996).
- 5) 粟飯原景昭翻訳監修: “FAO/WHO レポート, バイオ食品の安全性, バイオテクノロジー応用食品の安全性評価のための戦略”(1992) 建帛社.
- 6) OECD: “Safety evaluation of foods derived by modern biotechnology; Concept and principles”(OECD No. 93

- 04 1) (1993).
- 7) Food and Drug Administration: "Federal Register" 57 (104), 22984 (1992).
- 8) 総合食品安全辞典編集委員会編: "総合食品安全辞典" p. 310 (1994) 産業調査会 辞典出版センター.
- 9) WHO: "Health aspects of marker genes in genetically modified plants" WHO/FNU/FOS/93.6 (1993).
- 10) FDA, EPA, USDA: "Conference on scientific issues related to potential allergenicity in transgenic food crops" Docket 94N-0053 (1994) Free State Reporting, Inc.
- 11) Food and Drug Administration: "Federal Register" 59(98), 26700 (1994).
- 12) OECD: "Food safety evaluation" OECD No.96 09 1 (1996).
- 13) WHO: "Application of the principles of substantial equivalence to the safety evaluation of foods or food components from plants derived by modern biotechnology" WHO/FNU/FOS/95.1 (1995).
- 14) Food and Drug Administration: "Federal Register" 60(85), 21725 (1995).
- 15) 厚生省生活衛生局食品保健課監修, 義平邦利監訳: "食品分野への組換え DNA 技術応用に関する指針" (1992) 中央法規出版.
- 16) 食品衛生調査会: "組換え体そのものを食する場合の安全性評価に関するバイオテクノロジー特別部会報告書" 食品衛生研究, 45(12), 81 (1995).
- 17) Redenbaugh, K., Hiatt, W., Martineau, B., Kramer, M., Sheehy, R., Sanders, R., Houck, C., Emlay, D.: "Safety assessment of genetically engineered fruits and vegetables. A case study of the Flavr Savr™ tomato" (1992) CRC Press, Inc., USA.
- 18) Redenbaugh, K., Hiatt, W., Martineau, B., Emlay, D.: Trends in Food Science & Technology 5, 105 (1994).
- 19) 農林水産省: "組換え体利用飼料の安全性評価指針" 農林水産事務次官通達 8 畜 B 第 585 号 (平成 8 年 4 月 19 日).