

内閣府食品安全委員会
平成17年度食品安全確保総合調査

遺伝子組換え魚類等の安全性評価のための 調査報告書

平成18年3月

株式会社 三菱総合研究所

はじめに

1990年代から始まった遺伝子組換え技術の食品分野への応用は、トウモロコシ、ダイズ、ナタネ等の主要農作物からキモシン等の食品添加物まで多岐に及んでいる。遺伝子組換え食品の安全性については、既に食品安全基本法及び食品衛生法にもとづいて安全性評価が実施されているところであるが、今後も新たな組換え食品の開発が進むと予想されることから、組換え食品等の研究開発動向について幅広く情報収集を行ない、食品安全性評価における課題等について幅広く検討しておく必要がある。

その中でもサケ、コイ、ティラピア等を対象とした遺伝子組換え魚類については、成長ホルモン遺伝子の導入による成長促進や脂肪酸組成の改良など食品応用を念頭においた技術開発が進んでおり、これらの実用化はわが国にとっても大いに関連がある。

本調査は、以上の背景を踏まえて、遺伝子組換え技術を利用して研究・開発されている魚類について、食品としての利用目的以外のものも含めて、国内外の最新の研究開発、実用化及び規制等の状況を把握するとともに、食品としての安全性確保に関するデータの収集、整理、抽出を行い、将来的に安全性評価を行う時点での検討事項を整理したものである。

検討に当たっては、有識者からなる検討委員会を設置し、関連情報の提供と助言を受けながら作業を実施した。

平成18年3月
(株)三菱総合研究所

「遺伝子組換え魚類の安全性に関する検討会」メンバー

	氏 名	所 属	役 職
委員	青木 宙	東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科	教授
	加藤 順子	株式会社三菱化学安全科学研究所 リスク評価研究センター	センター長
	鎌田 博	筑波大学大学院生命環境科学研究科	教授
	豊原 治彦	京都大学大学院農学研究科応用生物科学専攻	助教授
	中山 一郎	独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所 水産遺伝子解析センター	センター長
	名古屋 博之	独立行政法人水産総合研究センター養殖研究所 生産技術部育種グループ安全性評価チーム	主任研究官
	吉倉 廣	国立感染症研究所	名誉所員

<オブザーバー>

	氏 名	所 属	役 職
内閣府 食品安全委員会 事務局	吉富 真理	内閣府食品安全委員会事務局 評価課	課長補佐
	浦野 剛	内閣府食品安全委員会事務局 評価課	新食品等係長

	氏 名	所 属	役 職
事務局	内野 尚	(株) 三菱総合研究所 資源循環研究グループ	主任研究員
	山崎 恵美	(株) 三菱総合研究所 資源循環研究グループ	研究員

目 次

はじめに

- 1. 遺伝子組換え魚類の研究開発動向1. 1
 - 1. 1 遺伝子組換え魚類等の研究開発の概況1. 1
 - 1. 2 遺伝子組換え魚類に関する個別研究開発事例1. 14
- 2. 遺伝子組換え魚類等の食品安全性評価に関する考え方の整理2. 1
 - 2. 1 遺伝子組換え魚類等の食品安全性評価に関する検討状況2. 1
 - 2. 2 遺伝子組換え魚類の安全性評価における論点2. 12
- 3. 遺伝子組換え魚類の安全性確保・評価に関する検討3. 1
 - 3. 1 遺伝子組換え魚類の研究開発の見通し3. 1
 - 3. 2 遺伝子組換え魚類の安全性確保・評価についての課題3. 3

参考資料

遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準（平成 16 年 1 月 29 日、食品安全委員会決定）

1. 遺伝子組換え魚類の開発動向

1. 遺伝子組換え魚類の研究開発動向

1 章では、組換え魚類等の国内外での研究開発動向を整理した。文献調査のほか、検討会委員からの提供資料、専門家へのヒアリング内容も含めてとりまとめた。

なお、魚類以外の組換え食品に関するトピックスについても必要に応じて取り上げた。

1.1 遺伝子組換え魚類等の研究開発の概況

(1) 組換え魚類の開発動向に関する文献調査

(a) 学術文献の調査

各種の文献データベースを用いて水産バイオテクノロジー分野の学術雑誌を中心に、最近数年間の組換え魚類等の開発に関わる学術文献を検索した。そのうち主要な文献を整理した結果を表 1-1 に示す。整理した項目は以下の通りである。

○整理項目

- ・ 論文（文献）名
- ・ 著者
- ・ 対象魚
- ・ 研究目的
- ・ 導入遺伝子
- ・ 概要
- ・ 文献の分類（総説、食品目的の組換え体開発、その他の組換え魚類の開発）
- ・ 出典、出版年

表 1-1 組換え魚類の開発等に関する最近の文献例 (1)

No.	論文名	著者	対象魚	研究目的	導入遺伝子	要旨	現状	食品衛生	環境衛生	その他	出典	出版年
1	Expression of endogenous and exogenous growth hormone (GH) messenger RNA in a GH-transgenic tilapia	Antje Gaele et al. (University of Zurich)	ティラピア	成長ホルモン遺伝子発現様式の解明と成長促進作用の解明	成長ホルモン遺伝子	野生型のティラピア(メス)とチヌークサケ成長ホルモン遺伝子(sGH, antihypoxia promoter下流に連結)を導入した組換え体(オス)の交配により組換えティラピアを得た。体内でのsGHとティラピアGHの発現をリアルタイムPCRを用いてmRNAを定量することにより解析した。sGHは主として肝臓で発現すると予想したが、肝臓以外の部位でも発現していた。このことから、sGHは肝臓由来のIGF-1の分泌を促進するだけでなく、他の器官でのIGF-1の発現を増大させることによって成長を促進していると考えられた。		○			Transgenic Res. Vol.14, 95-104, 2005	2005
2	Characterization of transgene integration pattern in F4 hGH-transgenic common carp (Cyprinus carpio L.)	Bo Wu (Institute of Hydrobiology), Yan Wu Wang (Wuhan University) et al.	コイ	導入遺伝子の安定性の検証	成長ホルモン遺伝子	マイクロインジェクションによってコイに導入した遺伝子の安定性をF4世代を対象に調べた。マウスメタロチオネインプロモーター下流にヒト成長ホルモン(イントロン欠失)遺伝子をつないだプラスミドを導入した。F4個体は200コピーのpMTHGHを保持しており、挿入部位はゲノムの4、5箇所に散在することが分かった。導入された遺伝子の84%程度は4世代にわたって忠実に複製され、遺伝していたが、その他の分子量、制限酵素地図の結果から、変異、再配置、欠失等を受けていると考えられた。		△			Cell Research Vol.15, No.6, 447-454, 2005	2005
3	Faithful Expression of Living Color Reporter Genes in Transgenic Medaka Under Two Tissue Specific Zebrafish Promoters	Zhiqiang Zeng, Xingjun Liu, Shalin Saebach, Zhiyuan Gong (University of Singapore)	メダカ	遺伝子発現方法開発、鑑賞魚	GFPタンパク質	異なる魚類間におけるプロモーター発現の組織特異性を調べるために、メダカにゼブラフィッシュ由来の2種のプロモーターとレポーター遺伝子(GFP遺伝子)を導入した。骨格筋特異的プロモーター(myf2)、上皮特異的プロモーター(krt8)の両方とも、メダカ体内で組織特異的な発現を示した。この結果から、魚種を超えても組織特異的な発現のメカニズムはある程度保存されていると考えられた。			△		Developmental Dynamics Vol.234, 387-392, 2005	2005
4	In Vivo Visual Reporter System for Detection of Estrogen-like Substances by Transgenic Medaka	Kanta Kurauchi et al (京都大学、名古屋大学、静岡大学ほか)	メダカ	環境モニタリング	GFPタンパク質	短時間でエストロゲン様物質の総量を測定できる技術の開発を目指し、エストロゲン濃度に応じた量のGFPを肝臓で発現させる組換えメダカを作製した。排水中のエストロゲン濃度と蛍光発色の相関関係、他のアッセイ方法との比較などを行った結果、組換えメダカによる測定方法は、環境中のエストロゲン様物質の測定に利用できると考えられた。					Environmental Sci. Technol. Vol.39, 2762-2769, 2005	2005
5	Viral resistance in shrimp that express an antisense Taura syndrome virus coat protein gene	Yuanan Lu (University of Hawaii-Manoa) et al.	エビ	ウイルス抵抗性の付与	ウイルスコートをタンパク質遺伝子	アメリカ養殖エビの主な死因・病因は、Taura syndrome virus (TSV) による感染である。この問題の解決を目指し、本研究では、エビにTSVのコートタンパク質(TSV-CP)遺伝子を導入し、それによるTSV抵抗性の変化を観察した。			○		Antiviral Research Vol.67, 141-146, 2005	2005
6	トランスジェニック魚生産のための誘導可能な遺伝子ターゲティング戦略の応用総説	A. Rochaほか(スペイン国立農業研究所、ミゲル・エルナンデス大学)	全般	遺伝子導入法開発		魚類の形質転換方法(マイクロインジェクション)の現状と課題について紹介するとともに、相同組換えにもとづいて、発現時期と発現部位をコントロールできるような誘導可能なベクター系の利用について述べた。あわせて組換え魚類による有用物質生産の研究状況についても紹介した。	○				Mar Biotechnol. VOL. 6 NO. 2, PAGE, 118-127; (2004/03-2004/04)	2004
7	GH遺伝子組換えアマゴにおける研究 I、II (サブトラクションによる発現遺伝子解析)	平賀育英、森司、小田切正典、内田直行(日大生物資源)、名古屋博之、荒木和夫(養殖研)	アマゴ	成長促進	成長ホルモン(GH)	GH組換えアマゴの臓器でどのような遺伝子が発現し、どのような遺伝子が抑制されているのか、そしてこれらの遺伝子と生物の成長の関係をGH遺伝子組換えアマゴをモデルとして紹介した。		○			2004(平成16)年度日本水産学会大会講演要旨集 PAGE147	2004
8	1年で成熟する成長ホルモン遺伝子導入組換え体アマゴ雄について	名古屋博之、正岡哲治、岡本裕之、荒木和夫(日大生物資源)、R.H.Davlin(Fisheries and Oceans Canada)	アマゴ	成長促進	成長ホルモン(GH)	組換え体魚類の作出は多くの魚種で報告されているが、食品としての組換え体魚類に関する報告はほとんど行われていないのが現状である。一方、成長という現象は養殖産業にとっても非常に重要な形質であるにも関わらず、分子生物学的な研究はあまり行われていない。本研究はこれら2つの問題に対する実験材料を提供する目的で、組換えアマゴを作出した。今回、異なるF2家系でどの程度、0+で成熟する個体が出現するか調べたので報告する。		○			2004(平成16)年度日本水産学会大会講演要旨集 PAGE147	2004
9	バイオリアクタとしての魚類・魚の胚によるヒト凝固因子VIIの遺伝子導入発現	HWANG G, MUELLER F, RAHMAN M A, WILLIAMS D W, FARAHMAND H, MACLEAN N. (Univ. Southampton, Southampton, GBR), MURDOCK P J, PASI K J, GOLDSPIK G. (Royal Free and UCL Medical School, London, GBR)	ゼブラフィッシュ、アフリカナマズ、ティラピア	バイオリアクタ	ヒト凝固因子	サイトメガロウイルスプロモーターにより調節されたヒト凝固因子VII(hFVII)cDNAを含むプラスミドをゼブラフィッシュ、アフリカナマズ及びティラピアの受精卵へ接種した。hFVIIの活性型を魚はいで検出した。魚はいにおけるヒト治療用蛋白質の陽性発現はバイオリアクタとしてトランスジェニック魚の開発の可能性を示した。				○	Mar Biotechnol. VOL. 6 NO. 5, PAGE, 485-492; (2004/09-2004/10)	2004

表 1 - 1 組換え魚類の開発等に関する最近の文献例 (2)

No.	論文名	著者	対象魚	研究目的	導入遺伝子	概要	食品	飼料	その他	出版	出版年
10	トランスジェニックテクノロジーを用いた魚類の肉質改善への試み	豊原治彦、高木雅也、細井公室、木下政人(京大院農)、安藤正史(近大農)、鈴木徹(養殖研)、廣野育生、青木宙(東京海洋大)、久保田賢(高知大農)	メダカ	食品	マトリックスメタロプロテアーゼ(MMP)の内因性阻害タンパク質 TIMP	ヒラメTIMP-2bのmRNAをすべての筋細胞に発現させ、in situ hybridizationや免疫組織学的な検討から導入の確認を行った。一方、トランスジェニック魚から切り出した筋肉を4℃で24時間冷蔵し、同様に冷蔵した非導入魚の筋肉と微細構造を比較した。その結果、トランスジェニック魚、非導入魚ともに即殺直後には筋細胞どうしが強く結合している様子が確認されたが、非導入魚の筋肉では冷蔵後に筋細胞の分離が観察されたのに対し、形質転換魚の筋肉では冷蔵による影響は認められなかった。				2004(平成16)年度日本水産学会大会講演要旨集 PAGE216	2004
11	ニワトリリゾチーム産生トランスジェニックゼブラフィッシュの作出	矢澤良朝、大平剛、廣野育生、青木宙(海洋大)	ゼブラフィッシュ	有用物質生産	ニワトリリゾチーム	抗微生物タンパク質であるリゾチームを産生するトランスジェニック魚を作出し、その耐病性について調べた。			○	2004(平成16)年度日本水産学会大会講演要旨集 PAGE117	2004
12	ニジマス生原細胞移植技術を用いた次世代におけるドナー由来固体の作出	奥津智之、竹内裕(海洋大)、吉崎吉朗(海洋大)、ささがけ研(研究21)、竹内俊郎(海洋大)	ニジマス	遺伝子導入法開発		培養細胞を介した遺伝子導入魚作出には、遺伝子導入細胞由来の配偶子を得る技術が不可欠である。そこで本研究では、既に開発済みのニジマス胎原生細胞移植技術、魚類精巣内に生着を通じて豊富に存在し、無限増殖能を保持すると考えられる精原幹細胞に適用し、簡便で効率の良い生体系列キメラ作出技術の開発を試みた。				2004(平成16)年度日本水産学会大会講演要旨集 PAGE96	2004
13	Production of transgenic tilapia with Brookmann bodies secreting [des(1-30)] human insulin.	Pohajdak B, Mansour M, Hrytsenko O, Conlon JM, Dymond LG, Wright JR Jr.	ティラピア	有用物質生産		広大なキャラクターゼーションの後では、遺伝子組換えティラピアは臨床の小島異種間移植のために簡単に大量培養ができる適切で安価な方法である。ティラピアの小島は哺乳類の低酸素症に対して非常に多くの耐性があるので、遺伝子組換えティラピアは遺伝子隔離技術をつつた異種間移植に対して適切であろう。				Department of Biology, Dalhousie University, Nova Scotia, Canada, Transgenic Res. 2004 Aug;13(4):313-23.	2004
14	Growth hormone transgenic salmon pay for growth potential with increased predation mortality.	Sundstrom LF, Lohmug M, Johnsson JI, Devlin RH.	ギンザケ	環境影響評価		最近の進歩した遺伝子技術によって早く成長する遺伝子組換え魚類が生み出されている。しかしながら、成長ホルモン(GH)遺伝子組換え魚を自然環境中に放出してしまうことへの関心や懸念がある。これらの危険を予測するために、遺伝子組換え魚と非遺伝子組換え魚を自然に近い環境下での適正についてのデータから立証を得ることは重要である。食べ物と捕食者が共存させた水槽内での実験により、GH組換えギンザケの稚魚の捕食による死亡が遺伝子組換えしていないものより高く、食料が不足するとその関係が増幅されることを示した。		○		Department of Zoology, Göteborg University, SE-405 30 Göteborg, Sweden. Proc Biol Sci. 2004 Aug 7;271 Suppl-5:S350-2.	2004
15	The threats and benefits of GM fish.	William M. Muir	全般			遺伝子組換え(GM)魚類の安全性と利点についての総説。		○		Purdue University in West Lafayette, Indiana, USA. bmuir@purdue.edu EMBO Rep. 2004 Jul 5(7):654-6.	2004
16	Population effects of growth hormone transgenic coho salmon depend on food availability and genotype by environment interactions.	Devlin RH, D'Andrade M, Uh M, Blag CA.	ギンザケ	成長促進		遺伝子組換え生物の環境リスクアセスメントは同種の場合も他種の生体系と共存している場合も、適応性、優越性の評価が必要である。遺伝子組換えをしたサケは遺伝子組換えをしていないサケと比較して餌の利用効率が高く、成長速度も速い。しかし、自然界では餌を獲得する能力がその環境に適應するための鍵となる能力である。そこで、遺伝子組換えをしたサケと遺伝子組換えをしていないサケを共同生活させることによって餌の獲得能力や生存率などを調べた。		○		Fisheries and Oceans Canada, 4160 Marine Drive, West Vancouver, BC, Canada V7V 1N6. devlinr@dfo-mpo.gc.ca Proc Natl Acad Sci U S A. 2004 Jun 22;101(25):9303-8. Epub 2004 Jun 10	2004
17	Sleeping Beautyトランスポゾンを用いたゼブラフィッシュにおける効率的な遺伝子導入と遺伝子発現	DAVIDSON A E, BALCIUNAS D, MOHN D, SHAFFER J, HERMANSON S, SIVASUBBU S, PAT CLIFF M, HACKETT P B, EKKER S C, (Univ. Minnesota, MN)	ゼブラフィッシュ	遺伝子導入法開発		ゼブラフィッシュにおける遺伝子導入および長期発現のため、To1/marinerファミリーの転座因子、Sleeping Beauty(SB)を用いた。				Dev Biol VOL. 263 NO. 2; PAGE. 191-202; (2003/11/15)	2003
18	コイへの成長ホルモン遺伝子の導入	WU G, SUN Y, ZHU Z, (Inst. Hydrobiology, Chinese Acad. Sci., Wuhan, CHN)	コイ	成長促進	ヒト成長ホルモン	三倍体の純粋系統株も作成。中国健康省の新薬安全基準によりこの魚の食品としての安全性を確認。市販のための認可を持っている。		○		Aquat Living Resour VOL. 16 NO. 5; PAGE. 416-420; (2003/10)	2003
19	骨格筋の蛍光蛋白質の強い発現による鑑賞およびバイオリアクターを目的としたトランスジェニックサカナの開発	GONG Z, WAN H, TAY T L, WANG H, CHEN M, YAN T, (National Univ. Singapore, Singapore.)	ゼブラフィッシュ	鑑賞、バイオリアクター	緑色蛍光蛋白質(GFP)、黄色蛍光蛋白質(YFP)、赤色蛍光蛋白質(RFP)あるいはDsRed	ゼブラフィッシュの筋肉細胞中のタンパク質にGFPなどの蛍光タンパクを付け、バイオリアクターとして利用できるかを評価している。			○	Biochem Biophys Res Commun VOL. 308 NO. 1; PAGE. 58-63; (2003/08/15)	2003

表1-1 組換え魚類の開発等に関する最近の文献例(3)

No.	論文名	著者	対象魚	研究目的	導入遺伝子	概要	成長促進	食品添加	その他	出典	出版年
20	Recombinant collagen and gelatin for drug delivery.	Olsen D, Yang C, Bodo M, Chang R, Leigh S, Baez J, Garmichael D, Perala M, Hamalainen ER, Jarvinen M, Polarek J.	全般	有用物質生産	コラーゲン	遺伝子組換え動物を使ったコラーゲンとゼラチンの生産について述べている。魚類に関しては簡潔に述べられている。		○		Adv Drug Deliv Rev. 2003 Nov 28;55(12):1547-67. FibroGen, Inc., 225 Gateway Boulevard, South San Francisco, CA 94080, USA. dolsen@fibrogen.com	2003
21	Fish can be first—advances in fish transgenesis for commercial applications.	zbikowska HM.	全般	成長促進、耐寒性導入		遺伝子組換え魚類の成長ホルモン導入と凍結耐性遺伝子の導入、さらに遺伝子組換え技術を用いた実験の問題点について述べている。発現する割合、成長ホルモンの存在量、凍結耐性遺伝子の最小値など。安全性についても議論している。	○			Transgenic Res. 2003 Aug;12(4):379-89. Clearant Inc., 401 Professional Drive, Gaithersburg, MD 20879, USA. zbikow@biol.uni.lodz.pl	2003
22	環境および生物医学研究に用いるトランスジェニックメダカモデルの開発	WINN R N. (Univ. Georgia, GA, USA)	メダカ	環境モニタリング		in vivo変異誘発の研究に有用なバクテリオファージベクターを担持したトランスジェニック・メダカモデルに注目して調べた。過去の研究成果を見るとトランスジェニックマウスモデルにおける変異誘発には魚モデルにおける場合と共通する現象が多く、動物モデルに匹敵することを示している。新種のトランスジェニック魚モデルを創出する目標は動物モデルの場合と概ね同じだが、魚の場合には他にも多数の利点があり、動物実験が困難な場面において効果を発揮できると期待できる。		○		Environ Sci (Tokyo) VOL. 9 NO. 6; PAGE. 427-438; (2002)	2002
23	魚類への外来遺伝子導入による新たな育種に関する研究	吉崎信朗, (東京水産大)	ニジマス等の大型食用魚	遺伝子導入法開発		新たに始原生殖細胞を介した遺伝子導入を試みた結果、同細胞を生体内で可視化し、これを単離後、再び宿主個体の生殖腺内に戻し、増殖分化させることを腎臓動物で初めて可能にした。			○	日本水産学会誌 VOL. 68 NO. 4; PAGE. 500-503; (2002/07/15)	2002
24	複製欠失ウイルスレトロウイルスベクターによるトランスジェニック胎生魚及び甲殻類の生産	SARMASIK A, GHUN C Z, JANG I-K, LU J K, CHEN T T. (Univ. Connecticut, CT, USA)	胎生魚 (Poeciliopsis lucida)	遺伝子導入法開発		ホオマイシンホストトランスフェラーゼ遺伝子(neo)をレポーター遺伝子とする複製レトロウイルスベクター(LSRNL又はGeo4.8)を直接注入するトランスジェニック動物作製法を開発した。PCR法により約50%のふ化魚がneoを所有していた。非導入魚との交雑によるF1世代でもneoが引き継がれていることを確認した。本法で別のレポーター遺伝子を利用することにより、魚類及び甲殻類の品種改良や毒性試験又は発癌試験用実験動物の構築も可能であると考えた。			○	Mar Biotechnol VOL. 3 NO. Supplement 1; PAGE. S177-S184; (2001)	2001
25	サケ科魚類における遺伝子導入 水産養殖への応用に向けて	YOSHIZAKI G. (Tokyo Univ. Fisheries, Tokyo, JPN)	養殖対象魚種	成長促進		本総説では、サケ科魚類における遺伝子導入技法の最近の進展および今後の展開について紹介する。	○		○	水産増殖 VOL. 49 NO. 2; PAGE. 137-142. (2001/06/20)	2001
26	Changes in tissue cellularity are associated with growth enhancement in genetically modified arctic char (Salvelinus alpinus L.) carrying recombinant growth hormone gene.	Pitkanen TL, Xia SQ, Krasnov A, Mason PS, Molsa H, Stickland NC.	チャー、イワナやカワマスの類	成長促進		チャーという魚の細胞に成長ホルモンを過剰発現させて生化学的、組織学的に解析した。		○		Mar Biotechnol (NY). 2001 Mar;3(2):188-97. University of Kuopio, Institute of Applied Biotechnology, P.O. Box 1627, 70211 Kuopio, Finland.	2001
27	Transgenic zebrafish reveal stage-specific roles for Bmp signaling in ventral and posterior mesoderm development	Pyati LJ, Webb AE, Kimmel D.	ゼブラフィッシュ	成長促進	骨形態形成タンパク(Bmp)	Bmpシグナルはゼブラフィッシュの腹、腎管形成にとって非常に重要である。その遺伝子にGFPを複合させることによって、Bmpの役割について報告した。		○		Department of Biochemistry, University of Washington, Seattle, WA 98195-7350, USA.	1999
28	Fish eggs as bioreactors: the production of bioactive luteinizing hormone in transgenic trout embryos.	Morita T, Yoshizaki G, Kobayashi M, Watabe S, Takeuchi T.	マス	成長促進	金魚黄体形成ホルモン	金魚黄体形成ホルモンをニジマスの4日後の胚に導入した。この発現システムは、ターゲットタンパクが低いコストで迅速に発現できる、組換えタンパクが低温で合成される、そして翻訳後修飾を行うことができる、などのメリットを持つ。		○	○	Department of Marine Biosciences, Tokyo University of Marine Science and Technology, Minato-ku, Tokyo 108-8477, Japan.	1999
29	Growth enhancement and food conversion efficiency of transgenic fish Labeo rohita.	Venugopal T, Ananth V, Kirankumar S, Pandian TJ.	Labeo rohita(インドゴイ)	成長促進	CMVプロモーター、beta-actinプロモーター	Labeo rohita(インドゴイ)にelectroporated-sperms mediated transferによってCMVプロモーター、beta-actinプロモーターを導入することで3つの家系で早く成長させることができた。CMVプロモーターを入れたトランスジェニックLabeo rohitaはコントロールと比較して4倍の大きさとなり、beta-actinプロモーターを入れたものでは4.5と5.8倍の成長速度であった。		○		Department of Genetics, Center for Advanced Studies in Functional Genomics, School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625 021 India.	1999
30	Production of transgenic silver sea bream (Sparus sarba) by different gene transfer methods.	Lu JK, Fu BH, Wu JL, Chen TT.	silver sea bream (Sparus sarba)(鯛の一種)	成長促進、遺伝子導入法	reimbow trout growth hormone(rtGH)	養殖漁業のために優れた遺伝形質があるsilver sea bream(Sparus sarba)の品種を生産するために便利な大規模遺伝子転写法を開発した。いくつかのP1GHトランスジェニックsilver sea bream(トランスジェニックしていないものと比較して顕著な成長促進が観測された。		○		Department of Aquaculture, National Taiwan Ocean University, Keelung 202, Taiwan, Republic of China. F0008@mail.ntou.edu.tw	1999

表 1 - 1 組換え魚類の開発等に関する最近の文献例 (4)

No.	論文名	著者	対象魚	研究目的	導入遺伝子	要旨	安全性評価	食品衛生	環境影響	その他	出版	出版年
31	Effect of rainbow trout growth hormone complementary DNA on body shape, carcass yield, and carcass composition of F1 and F2 transgenic common carp (<i>Cyprinus carpio</i>).	Dunham RA, Ohatakond N, Nichols AJ, Kuoktas H, Chen TT, Powers DA, Weete JD, Cummins K, Lovell RT.	コイ	成長促進	ニジマス成長ホルモン	形質転換した一般的なコイを用いてニジマス成長ホルモンの体の形成、体外生産、体の構成への影響についてF1,F2世代で調べた。体重と体長に関しては高く相関していた(P<0.01)。頭部の形成形態は体重、体長に対して負の相関があった(P<0.05)。遺伝子導入した筋肉の胴体構成成分は水分や脂肪が少なく(P<0.01)、タンパク質が高い比率で含まれていた(P<0.01)。	○				Department of Fisheries & Allied Aquacultures, University of Maryland, Baltimore, MD, USA, rdunham@acesag.auburn.edu	1999
32	Specific gene silencing using small interfering RNAs in fish embryos.	Bonnanuntanasarn S, Yoshizaki G, Takeuchi T.	ニジマス	遺伝子発現抑制		small interfering RNAs(siRNA)技術は哺乳類の培養細胞の遺伝子を制御するために使われてきたが、魚類に関してはまだ調査されていない部分がある。私たちはニジマスの発生初期段階において、エビソームに位置する外来GFPの発現を短期的に抑制すること、また安定した状態の遺伝子導入ニジマス胚のGFPの発現を抑制した。				○	Department of Aquatic Biosciences, Tokyo University of Fisheries, Konan, Minato, Tokyo 108-8477, Japan.	1999
33	In vivo visual reporter system for detection of estrogen-like substances by transgenic medaka.	Kurauchi K, Nakaguchi Y, Tsutsumi M, Hori H, Kurihara R, Hashimoto S, Ohnuma R, Yamamoto Y, Matsuoka S, Kawai S, Hirata T, Kinoshita M.	メダカ	環境モニタリング		外因性内分泌攪乱物質、特に環境エストロゲンの生体を使った探索は化学的な解析と比較しても多くの利点を持っている。しかし、生体試験の欠点は感受性が低いことや、根拠が必要なこと、時間が必要なことである。これを克服するためにメダカのクロリゲンH遺伝子にGFPを導入した。				○	Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo, Kyoto 606-8502, Japan.	1999
34	Antimutagenicity of green tea polyphenols in the liver of transgenic medaka.	Winn RN, Kling H, Norris MB.	メダカ	耐病性		ベンゾ[a]ピレン(B[a]P)による変異メダカのII遺伝子変異を減少させるために有力な緑茶ポリフェノール性物質(GTP)の能力に関する研究を行った。この研究によって変異メダカが生体内変異解析に対して有効であり、この魚は化学的予防研究に対して価値があるものであることを提案した。				○	Aquatic Biotechnology and Environmental Laboratory, Warnell School of Forest Resources, University of Georgia, Athens, Georgia.	1999
35	Transgenic medaka overexpressing a melanin-concentrating hormone exhibit lightened body color but no remarkable abnormality.	Kinoshita M, Morita T, Toyohara H, Hirata T, Sakaguchi M, Ono M, Inoue K, Wakamatsu Y, Ozato K.	メダカ	鑑賞用		メラニン蓄積ホルモン(MCH)はメラニン保有細胞にメラニン顆粒を蓄積する環境へブタデカベプチドで、このペプチドを生産することで魚の体色が明るくなる。MCHのレポーター遺伝子としての有効性を調査するためにMCHを過剰発現したメダカを開発し、発現系の特長を吟味した。				○	Division of Applied Biosciences, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Kyoto 606-8502, Japan, kinoshita@kais.kyoto-u.ac.jp	1999
36	Production of transgenic medaka with increased resistance to bacterial pathogens.	Sarmasik A, Warr G, Chen T.	メダカ	耐病性		蚕で最初に見つかったセクロピンは、幅広い微生物に活性のある抗微生物ペプチドである。本研究では1、抗微生物ペプチドグループが魚の病原微生物に対して活性を示すか、2、トランスジェニックメダカの中のセクロピン遺伝子の発現が魚の病原微生物による感染の耐性を増加させるか、についての調査を行った。				○	Biotechnology Center and Department of Molecular and Cell Biology, University of Connecticut, 184 Auditorium Road, U-149, Storrs, CT 06269, USA.	1999
37	Developments in transgenic fish in the People's Republic of China	C. Fu, W. Hu, Z. Zhu	全般	成長促進		中国では遺伝子組換え(GM)魚類は、主に、好ましい成長速度に変えるため、効率的に餌を変換させるため開発されてきた。現在に至るまで、遺伝子導入魚は人間が消費するための商業的認可はされていない。このレビューにおいて中国の遺伝子組換え研究の進歩、早く成長するGM魚類の生物学的研究における安全性、GM魚類の規定を紹介する。	○			○	State Key Laboratory of Freshwater and biotechnology, Institute of Hydrobiology, Chinese Academy of Sciences, Wuhan, Hubei 430072, People's Republic of China	1999
38	Transgenic salmon overexpressing growth hormone exhibit decreased myostatin transcript and protein expression.	Roberts SB, McCauley LA, Devlin RH, Goetz FW.	ギンザケ	成長促進		動物の成長に関してのミオスタチン(MSTN)の役割の特徴とMSTNと成長ホルモン(GH)の関係の吟味するために、GHを過剰発現させたギンザケと野生株のMSTN転写とタンパク質の発現を測定した。この研究の結果、GMの同化効果はMSTNによって媒介されていることが提案された。	○				Marine Biological Laboratory, 7 MBL Street, Woods Hole, MA 02543, USA, sroberts@mbledu J Exp Biol. 2004 Oct;207(Pt 21):3741-8.	
39	Safety evaluation of food from transgenic fish and the molecular biological mechanism	Zhang X, Yang X.	全般	環境影響評価		陸上の植物や動物と比較して魚類は、動きをコントロールすることは困難であり、たくさんの稚魚が生まれるため、遺伝子組換え魚類については環境的なリスクや危険性が他種より大きい。また、キメラ現象による安全性の問題も考えられる。この二つの問題の解決には遺伝子組換え魚類の基礎的な安全性の評価や食べ物の探索が必要である。	○			○	Institute of Nutrition and Food Safety, Chinese Center for Disease Control and Prevention, Beijing 100060, China. Wei Sheng Yan Jiu. 2004 Mar;33(2):233-6.	
40	Growth enhancement and food conversion efficiency of transgenic fish <i>Labeo rohita</i> .	Venugopal T, Ananth V, Kirankumar S, Pandian TJ.	rohu(コイ、フナに似た東南アジアの魚)	成長促進		成長促進のための遺伝子導入と、餌と成長の関係を調べた。	○				Department of Genetics, Center for Advanced Studies in Functional Genomics, School of Biological Sciences, Madurai Kamaraj University, Madurai 625 021 India. J Exp Zool A Comp Exp Biol. 2004 Jun 1;301(6):477-90.	

(b) 関連学会の情報

さらに、国内での組換え魚類の開発動向について、平成17年3月31日～4月4日に開催された日本水産学会大会における関連する発表を調べた。

分子レベルの研究は、フグのゲノム解析、マーカー選抜育種に関する研究のほか、DNA鑑定による魚種の判別に関する研究などがある。将来的な食品利用を見据えた組換え魚類の研究としては表1-2のような発表があった。

表1-2 遺伝子組換え魚類の開発に関する報告例（日本水産学会）

演題 No.	発表題目	研究主体
440	マダイの遺伝子導入用発現ベクターの構築とマイクロインジェクションによる導入	近畿大学水産研究所、京都大学
441	成長ホルモン遺伝子を導入した組換え体アマゴホモ個体の作出	水産研究センター養殖研究所
442	遺伝子導入技法を用いた窒素汚濁防除法の開発-1 成長ホルモン遺伝子の導入による魚類からの窒素排泄量の削減	東京海洋大学
444	3' 非翻訳領域の改変による高発現ベクターの開発 (ニジマス卵産出系における組換えタンパク質生産量の増加に関する研究)	東京海洋大学
447	組換え体混入の検出に向けたサケ科魚類発眼卵からのDNA抽出法の開発	水産研究センター養殖研究所

(出所：日本水産学会年次大会講演集、2005より作成)

(2) 文献調査結果のまとめ

文献調査の結果を整理すると、遺伝子組換え魚類の開発経緯と最近の動向は以下のよう整理できる。

(a) 魚類での形質転換法

魚類は、産卵数が多く、胚の発生が母体外で行われること、ヒトの病原体のキャリアーの可能性が低いことなどから、形質転換を行う上で有利と考えられている。

魚類の形質転換は1980年代中頃からマイクロインジェクション法を用いて行われるようになり、これまでにマス、サケ、コイ、ティラピア、メダカ、ゼブラフィッシュ、金魚、ドジョウ、ナマズなどで成功している。

マイクロインジェクション法では、DNAを注入した胚の1～5%が形質転換体になることがあると言われているが、形質転換体の作成効率が低くなる場合があることや、得られた形質転換体もほとんどがモザイクになるため、他の形質転換法（エレクトロポレーションや精子にDNAをインキュベーションする方法）も試みられている。また、マイ

クロインジェクション法では、導入遺伝子のコピー数の制御が難しく、しばしばタンデムに遺伝子が導入されることが知られている。

(b) 開発内容

○対象魚類と遺伝子の導入目的

遺伝子組換え魚類の研究開発は、実験動物として用いられる小型魚類（ゼブラフィッシュ、メダカ等）と養殖対象となる大型魚類（サケ、ティラピア等）に大別される。ゼブラフィッシュなどの小型魚類は分子生物学的研究が進んでおり、極めて多くの組換え体が作出されている。基礎研究目的が大部分だが、環境中の化学物質の検出（バイオモニタリング）用や観賞魚として蛍光灯下で蛍光性の鮮やかな体色を示すような組換え魚が海外（台湾等）で販売されている。

サケ等の大型魚類は、成熟するまでの期間が長く、通常の選抜等による育種が困難なことから、組換え DNA 技術による分子育種が活発に行われている。外来の成長ホルモンを組み込んで成長を促進させたり、低水温への耐性、耐病性を付与する試みが多い。また、養殖下での体サイズを大きくするための不妊魚の作出（アンチセンス法による性ホルモン関連遺伝子の発現抑制等）の試みも多い。

代謝経路の変更（炭水化物の利用効率向上）の研究も行われている。サケ科の養殖魚の餌には海産魚類の肉が使用されるが、これは水産資源の乱獲等の面で問題があるといわれている。そこで、養殖魚が炭水化物をベースにした植物性のエサを利用できるように、炭水化物の代謝効率を高めるアイデアがある。具体的には、グルコース・トランスポーター、グルコースヘキソキナーゼの活性を向上させる試みがある。

Fishpharming（魚類による医薬品等の有用物質生産）の研究もあり、血液凝固因子等の生産が試みられている（表 1-3）。このような方向の研究の展開として、将来はビタミン、長鎖不飽和脂肪酸などの栄養成分が改変（追加）された食用魚も開発される可能性がある。

実用化の動向に関して、成長ホルモン導入サケについては、北米に本拠をおく Aqua Bounty 社が開発したものが FDA に申請されているが、まだ認可されていない状況である。この他、抗凍結タンパク質については、A/P プロテイン社などが開発を進めているようである。

表 1-3 魚類による有用タンパク質生産の研究例

目的タンパク質	魚 種	開発主体	標的臓器
血液凝固因子 Factor VII	ティラピア	Aquagene (米)	粘膜
インスリン	ティラピア	フィリピン水産会議 Marine Research & Development (米、加)	不明
コラーゲン	不明	信田缶詰	不明
ヒトカルシトニン	サケ	DiverDrugs (スペイン)	粘膜
Pleurocidine (抗菌ペプチド)	サケ	DiverDrugs (スペイン)	粘膜
ヒトディフェンシ ン	サケ	DiverDrugs (スペイン)	粘膜

(出典: Fish as Bioreactors: Transgene Expression of Human Coagulation Factor VII in Fish Embryos Gyulin Hwang et al. Mar Biotechnol VOL. 6, 485-492, 2004)

○その他

実用化はされていないが、水産動物では貝類、エビ等でも遺伝子導入の実験が行われている。これらはいずれも食用（養殖）を目的としたもので、ウイルス抵抗性の付与に関する研究などがある。実用化までは時間を要すると考えられるが、将来は魚類以外の水産動物の組換え体が実用化される可能性がある。

(3) 組換え魚類の研究開発に関する最近のトピックス

組換え魚類の開発は、成長促進に関わるものを中心に進んでおり、最近出された文献でもその傾向はあまり変化していない。食品安全性に関する文献や 2005 年以降のトピックスとしては、表 1-1 に示した文献のうち以下のようなものがある。

- Effect of Rainbow Trout Growth Hormone Complementary DNA on Body Shape, Carcass Yield, and Carcass Composition of F1 and F2 Transgenic Common Carp (*Cyprinus carpio*)
(ニジマスの成長ホルモン遺伝子を導入したコイの F1、F2 世代の形態、肉量、肉質の変化)
- Fish as Bioreactors: Transgene Expression of Human Coagulation Factor VII in Fish Embryos (魚のバイオリクター利用: 魚類の胚に導入した hFVII の発現)
- In Vivo Visual Reporter System for Detection of Estrogen-Like Substance by Transgenic Medaka (遺伝子組換えメダカを用いたエストロゲン様物質検出システム)
- Viral resistance in shrimp that express an antisense Taura syndrome virus coat

protein gene (TSV-CP 遺伝子導入による、エビのウイルス耐性の強化)

これらの文献の概要を、次ページより個票にとりまとめた。整理した項目は以下の通りである。

○整理対象項目一覧

- ・ 研究テーマ（文献のタイトル）
- ・ 実施機関・実施者
- ・ キーワード
- ・ 研究の背景と目的
- ・ 研究内容と結果
実験方法、実験結果
- ・ 結論

遺伝子組換え魚類等の開発動向に関する研究事例（１）

研究テーマ	Effect of Rainbow Trout Growth Hormone Complementary DNA on Body Shape, Carcass Yield, and Carcass Composition of F1 and F2 Transgenic Common Carp (<i>Cyprinus carpio</i>) (ニジマスの成長ホルモン遺伝子を導入したコイの F1、F2 世代の形態、肉量、肉質組成の変化)
実施機関・実施者	R. A. Dunham (University of Maryland, USA)
キーワード	遺伝子組換え、コイ、成長ホルモン、
背景・目的	背景：魚の遺伝子組換えは、比較的簡単でコストが安く、人類の魚肉消費量も増加傾向にあるため、近年注目されている。だが、成長ホルモン遺伝子の導入が形態や肉質に及ぼす影響について詳しく研究された例は少ない。 目的：遺伝子導入技術の後代への影響を調べるために、ニジマスの成長ホルモン(rtGH)遺伝子を導入したコイ(<i>Cyprinus carpio</i>)の F1 世代と F2 世代を作製した。そして、形態、肉質、肉量について、それらを野生型と比較した。
研究内容・結果	■実験方法 ○遺伝子導入コイの F1・F2 世代の作成 ラウス肉腫ウイルス long terminal repeat プロモーター(pRSV)のもとでニジマスの成長ホルモンを発現させるベクターを、コイ(<i>Cyprinus carpio</i>)の胚に注入した。得られた魚体に遺伝子が導入されているかどうかは、PCR により確認した。 ○F1・F2 世代と野生型の比較 F1・F2 世代と野生型を、以下の項目においてラインごとに比較した。 形態：体長 / 頭部の長さ・高さ・幅 / 尾の付け根の幅・高さ 肉量：「頭部・うろこ・内臓・骨」を除く部分の重さ÷全体重 を比較 肉質：背骨及びアバラ周辺筋肉の水分含量、タンパク質、脂質を解析した。 ■結果 ○遺伝子導入による F1・F2 世代への影響 ・F1、F2 の成長速度は、野生型より約 40% 増加した。 ・F1、F2 は基本的に野生型よりも大きく成長したが、頭部の大きさは変わらなかった。 ・全体重に対する肉の割合は、F1、F2 の方が大きかった。 ・F1、F2 の身は野生型に比べて水分と脂質が少なく、タンパク質が多く、引き締まっていた。 ■結論 本研究で作製した遺伝子組換えコイは、見た目の悪さが無く、身が多くて引き締まっている点で野生型よりも優れていた。導入遺伝子も F2 世代で問題なく機能していた。本技術は今後コイ養殖に応用できる可能性がある。
出典	・ Marine Biotechnology 2002

遺伝子組換え魚類等の開発動向に関する研究事例（２）

研究テーマ	Fish as Bioreactors: Transgene Expression of Human Coagulation Factor VII in Fish Embryos (魚のバイオリアクターとしての利用：魚の胚に導入した hFVII の発現)
実施機関・実施者	Gyulin Hwang (University of Southampton, UK)
キーワード	導入遺伝子発現、血液凝固因子、ゼブラフィッシュ、ナマズ、ティラピア
背景・目的	背景：血友病患者等に投与される血液凝固因子の生産方法は、ヒトの血液から精製する方法や、遺伝子組換え微生物に生産させる方法が考えられている。だが既存の方法はウイルス感染、生産量が少ない、コスト、できたタンパク質に活性がない等の面で問題がある。 目的：魚の胚を血液凝固因子生産のためのリアクターとして利用することで、上記の問題を解決できる可能性を示すため、ゼブラフィッシュ、ナマズ、ティラピアの胚でヒトの血液凝固因子を生産させた。
研究内容・結果	■実験方法 <u>魚卵のバイオリアクターとしての利用</u> ・サイトメガロウイルスプロモーター (pCMV) のもとでヒトの血液凝固因子 (hFVII) を発現するベクターを、ゼブラフィッシュ、ナマズ、ティラピアの受精卵に導入した。 （ゼブラフィッシュのみ、ネズミの myosin heavy chain プロモーター (pMyHC) のもとで hFVII を発現するベクターを導入した受精卵も用意した。） <u>hFVII 生産量の測定</u> ・各魚種の胚で生産された hFVII の量を ELISA 法 や光度測定分析法により測定した。 <u>生産された hFVII の活性の検定</u> ・ナマズの胚で生産された hFVII の血液凝固能を、ヒトの hFVII と比較した。 ■結果 <u>魚卵のバイオリアクターとしての利用</u> ・pCMV を用いると、各魚種の胚は hFVII を生産できたが、pMyHC では生産できなかった。 <u>hFVII 生産量の測定</u> ・魚種ごとに生産量は異なり、本研究ではティラピアの胚での生産量が最も多かった。 ・同種内でも、胚ごとに生産量かなりバラついた。 <u>生産された hFVII の活性の検定</u> ・ナマズの胚で生産された hFVII は、ヒトの hFVII の約 25% の血液凝固能があった。 ■結論 ・魚卵を医療用タンパク質製造のためのリアクターとして利用できることが示された。特にナマズやティラピアは、体サイズも大きめなので有力な候補になる。 ・ただし、プロモーターの選択によって生産量は大きく変動するため、適切なプロモーターを用いることが重要である。
出典	・ Marine Biotechnology (2004)

遺伝子組換え魚類等の開発動向に関する研究事例 (3)

研究テーマ	In Vivo Visual Reporter System for Detection of Estrogen-Like Substance by Transgenic Medaka (遺伝子組換えメダカを用いたエストロゲン様物質検出システム)
実施機関・実施者	Kanta Kurauchi (University of Kyoto, Japan)
キーワード	遺伝子組換え、メダカ、エストロゲン様物質(環境ホルモン)、濃度測定
背景・目的	背景：排水中のエストロゲン様物質(環境ホルモン)の濃度測定には、YES アッセイ、ELISA 法、GC/MS 等の化学的な方法や、指標生物を用いた形態変化の観察やバイオマーカーによる方法がある。しかしどの方法も、研究室での時間のかかる作業を必要とし、特定の物質しか検出できない等の欠点がある。 目的：短時間でエストロゲン様物質の総量を測定できる技術の開発を目指し、エストロゲン濃度に応じた量の GFP を肝臓で発現させる組換えメダカを作製した。その実用性について検討する。
研究内容・結果	■実験方法 <u>遺伝子組換えメダカの作製</u> choriogenin H プロモーター(pChgH)の制御で GFP を発現するベクターを、メダカの受精卵に組み込んだ。 <u>GFP 蛍光とエストロゲン濃度の関係</u> 24 時間、様々な濃度のエストロゲン溶液にさらした組み換えメダカの幼生を、氷処理で麻痺させ、蛍光立体顕微鏡で観察した。 <u>他の測定方法との比較</u> 同一の排水試料中のエストロゲン濃度をメダカを用いたバイオアッセイと化学的な方法で測定し、比較した。 ■結果 <u>GFP 蛍光とエストロゲン濃度の関係</u> 組換えメダカの肝臓で発現した GFP 蛍光の強さと、エストロゲン濃度(～10nM)の間には、比例関係が見られた。 <u>他の測定方法との比較</u> 組換えメダカによる測定法、YES アッセイ、GC/MS において、排水中エストロゲン様物質の全合計濃度は一致した。 結論 ChgH-GFP 導入メダカを用いると、 ・測定に時間がかからないので、排水中のエストロゲン濃度の時間変化を観察できる ・体外への排出や代謝変換を加味した、エストロゲン様物質の総合的な影響の指標を測定できる。 以上のことから、本技術は環境中のエストロゲン様物質を測定する上で、非常に有効な技術である。
出典	・ Environmental Science and Technology, Vol.39, 2005

遺伝子組換え魚類等の開発動向に関する研究事例（４）

研究テーマ	Viral resistance in shrimp that express an antisense Taura syndrome virus coat protein gene (TSV-CP 遺伝子導入によるエビのウイルス抵抗性の強化)
実施機関・実施者	Yuanan Lu (University of Hawaii-Manoa, USA)
キーワード	遺伝子導入、エビ、ウイルス耐性
背景・目的	・アメリカ養殖エビの主な死因・病因は、Taura syndrome virus (TSV) による感染である。この問題の解決を目指し、本研究では、エビに TSV のコートタンパク質 (TSV-CP) 遺伝子を導入し、それによる TSV 抵抗性の変化を観察した。
研究内容・結果	■実験方法 <u>TSV-CP 遺伝子のエビへの導入</u> ・ shrimp-β-actin プロモーターのもとで TSV-CP を発現するベクターを、jetPEI 試薬を用いて、エビの受精卵に導入した。 ・得られた遺伝子組換え体は、TSV-CP の発現を RT-PCR により確認した。 <u>TSV 感染による致死率の比較</u> ・約 10 個体ずつの遺伝子組換え体と野生型の TSV 感染による致死率を比較した。 ・TSV への感染は、ウイルスの経口投与と体筋への注射の二通りで行なった。 <u>TSV 耐性以外の、性質の比較</u> ・体重の増加率、外観、遊泳行動、採餌行動について組換え体と野生型の比較を行なった。 ■結果 <u>TSV-CP 遺伝子のエビへの導入</u> ・遺伝子組換え体では、胃、血リンパ、体筋、眼柄等で TSV-CP の発現が観察された <u>TSV 感染による致死率の比較</u> ・感染方法に関わらず、野生型の致死率は 50%程度であったのに対して、組換え体の致死率は 15%程度であった。 <u>TSV 耐性以外の、性質の比較</u> ・外観、遊泳行動、採餌行動での差は見られなかった。 ・体重の増加率は、組換え体の方が平均して若干低かった。 (スクリーニングにより野生型と同じサイズのものを選抜する必要がある) ■結論 遺伝子導入によるウイルス抵抗性エビの作出は可能であり、その技術はエビ養殖産業に応用できる可能性がある。
出典	・ Antiviral Research 67 (2005) 141-146

1.2 遺伝子組換え魚類に関する個別研究開発事例

前節の文献調査に加えて、遺伝子組換え魚類の開発動向と今後の展望について、さらに詳細な情報を得るために、検討会委員に対して組換え魚類に関する近年の研究状況等について発表を依頼した。さらに、水産分野の代表的研究者に対しても聞き取り調査を行った。

○委員による資料提供

原稿を提供頂いた委員とテーマは以下の通り。必要に応じて食品以外のトピックスについても含めていただくよう依頼した。

- ・豊原委員：遺伝子組換え技術を用いた養殖魚の肉質の改良
- ・中山委員：遺伝子組換え魚介類実用化へ向けての動向について
- ・青木委員：魚類の耐病性向上に向けた研究について

○ヒアリング調査

ヒアリング調査の実施要領は以下の通り。

- ▶対象者：東京海洋大学、東京大学の研究者（各1名）
- ▶ヒアリング内容
 - ・組換え魚類に関する研究内容（自分自身及び国内外の他の研究者）
 - ・組換え魚類の開発見通し
 - ・組換え魚類の食品安全性評価に関する留意点 等

(1) 検討会委員からの提供資料

遺伝子組換え技術を用いた養殖魚の肉質の改良

京都大学 農学研究科 豊原治彦

【背景】農業や畜産業と異なり、漁業は自然の再生産力に対する依存性が高い。1960年代からわが国で盛んになった養殖業は、自然に頼らずに人為的に魚介類を育成させるという点において画期的な技術開発であったがまだその歴史は浅く、長い時間をかけて品種改良を行ってきた農産物や畜産物と比べて、養殖魚の品種改良はほとんどなされていないのが現状である。

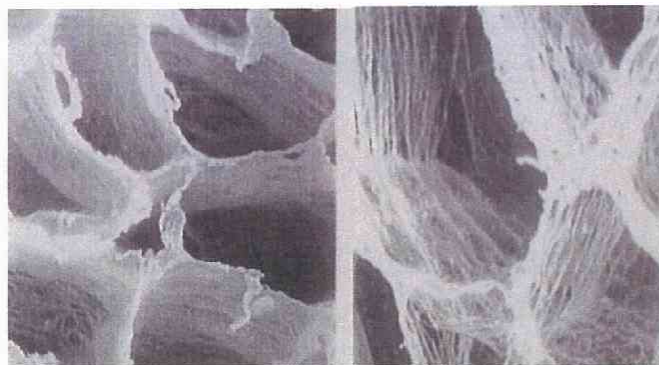
一方、遺伝子組換え技術は長い時間を要する交配による品種改良とくらべ、きわめて短時間に優良な形質を導入した品種を作出することが可能であることから、養殖魚の品種改良への応用が期待される。すでにサケ科魚類、コイ科魚類において成長促進などを目的に成長ホルモン遺伝子を導入した遺伝子組換え魚が作出されているが、海産魚においてはまだ実用化レベルに至っていない。

【目的と結果】魚肉は一般に畜肉に比べて貯蔵性が劣る。たとえ無菌的に冷蔵しても、魚肉は速やかに軟化する(図1)。この現象は、「自己消化」として古くから知られていたが、その生化学的メカニズムは不明のままであった。私たちは、この魚肉特有の軟化現象が、ガン細胞の転移と同様のメカニズムで起こることを明らかにした。つまり魚が死ぬとガン細胞の転移を誘導するコラーゲン分解酵素 MMP が活性化され、コラーゲンからなる結合組織を分解するために肉が軟らかくなるのである。

一方、私たちは MMP の阻害タンパク質である TIMP というタンパク質も魚の筋肉に存在していることを見出した。TIMP は MMP と複合体を形成することによりその活性を抑制することができる。そこで個体レベルの遺伝子組換えであるトランスジェニック技術を用いることで、TIMP を筋肉中に過剰に発現させた魚を作り出せば保存性を高めることができると予想した。

トランスジェニック実験においては、研究室レベルでは小型で短期間に成熟するメダカやゼブラフィッシュが用いられる。私たちはメダカを使って筋肉に TIMP を過剰に発現させたトランスジェニック魚を作出し、その筋肉の保存性を検討した。その結果、予想通り、筋肉の保存性が向上した(図2)。

つぎにこのアイデアを実用化するために、重要養殖魚であるマダイを用いて実験を行った(近畿大学との共同研究)。図3はマダイの筋肉に特異的に遺伝子を発現させるために、マダイ筋肉アクチンの遺伝子を利用したベクターを開発し、その性能を見たものである。現在、このベクターを用いてマダイ由来の TIMP を筋肉に過剰発現させたトランスジェニック魚を作製中である。



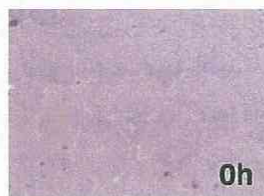
0 h

24 h

図 1. ヒラメ筋肉の結合組織を走査型電子顕微鏡で観察したもの。左は即殺直後、右は冷蔵庫で 24 時間おいたもの。24 時間後には結合組織が分解され、その構造が薄くなっている。



0h



0h



24h



24h

TIMP 導入メダカの筋肉

通常のメダカの筋肉

図 2. TIMP を過剰発現させたトランスジェニックメダカ(左)と通常のメダカ(右)の筋肉の貯蔵性の比較。トランスジェニック魚では TIMP の過剰発現により結合組織の分解が抑制され、24 時間後も筋肉組織が脆弱化していないことがわかる。

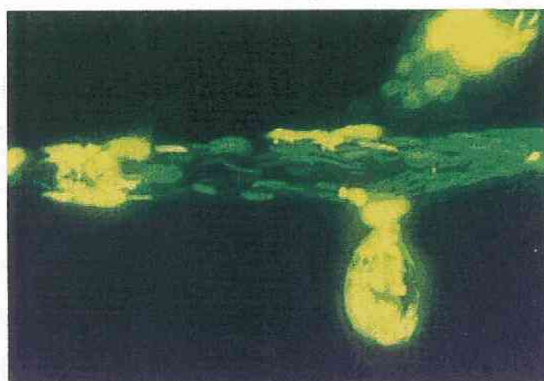


図 3. 筋肉アクチン遺伝子を利用した発現ベクターを用いて筋肉細胞においてのみ緑色タンパク質を発現させたマダイ。このベクターを用いることで、TIMP をマダイ筋肉細胞においてのみ発現させることが可能となった。

カナダにおける「成長ホルモン遺伝子導入サーモン」の審査状況について（2005 年国際マリンバイオテクノロジー学会の発表より）

Governmental Regulatory Bodies

- FDA-Center for Veterinary Medicine
 - The transgene and GH Product considered as a new animal drug
- Health Canada
 - Transgenic fish considered as novel foods
- Environment Canada
 - All aspects considered to have potential environmental impact
- Department of Fisheries and Oceans
 - Permit to culture

FDA Requirements

- Manufacturing
- Effectiveness
- Animal safety
- Food safety
- Environment

Documented Evidence (FDA)

- Manufacture of construct
- Copy number, base sequence, integration site
- Stable inheritance over multiple generations
- Transgene efficacy – rapid growth
- Equivalence to standard salmon (composition of edible tissues, GH level)
- Salmon health
- Environmental safety

遺伝子組換え魚介類実用化へ向けての動向について

H.18.2.27

(独) 水産総合研究センター中央水産研究所

中山一郎

遺伝子組換え魚介類の実用化に向けて

1. 食品としてのもの

- ・米・加において開発中の大西洋サケ (成長ホルモン遺伝子) Aquabounty 社
- ・米・加において開発中のティラピア (成長ホルモン遺伝子) Aquabounty 社
- ・キューバのティラピア (成長ホルモン遺伝子)

FDAに上記、大西洋サケは申請中であるが、いまだ未認可。

キューバについては動向不明。中国も高成長組換え魚を開発。

2. 観賞魚

- ・台湾において開発・販売のメダカ (TK-1)
(GFP, RFP, YFP) Taikong 社
- ・台湾において開発・販売のゼブラフィッシュ (TK-2)
(GFP, RFP, YFP) Taikong 社
- ・米国において開発・販売のゼブラフィッシュ (Glofish)
(DsRed1)

TK-1 及び TK-2 は3倍体にしてあり、不妊と言っている。

Glofish は、2倍体で妊性を持つ。

本年1月に、上記TK-1の緑タイプ(GFP)と考えられるものが、違法に輸入されていたことが発覚。農水省・環境省が立入検査。水研センターにて組換え体と確認。

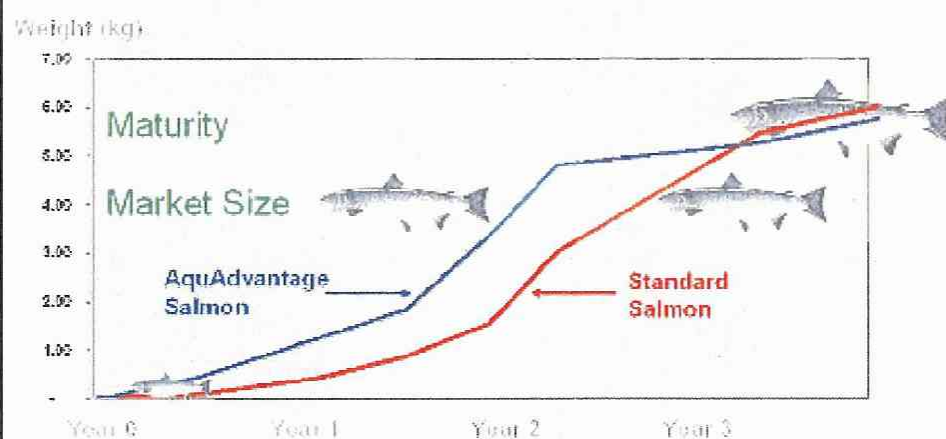
我が国には、カルタヘナ法施行前のH. 15年5月にTK-1緑タイプが輸入・販売された事例あり。カルタヘナ法施行(H. 16年2月)後は、本件が初の輸入組換え魚である。

以上のように、観賞魚ではすでに組換え体が販売されていること、高成長性の魚は、切り身等加工品で輸入されることも想定される。



飼育6ヶ月の大西洋サケ
全面がGM, 後ろが通常魚

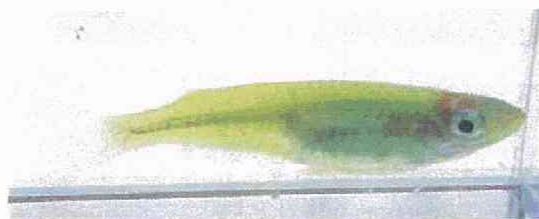
Aquabounty社 HPより



Aquabounty社HPより



(写真：アズージャパン株式会社提供)



(写真：国立環境研究所提供)

○我が国では、光るメダカ、ナイトハール（商品名）として販売された。

観賞用蛍光熱帯魚



蛍光ゼブラ赤色

(2005年3月発売開始)



蛍光ゼブラ紫色

(2005年5月発売開始)



蛍光ゼブラ緑

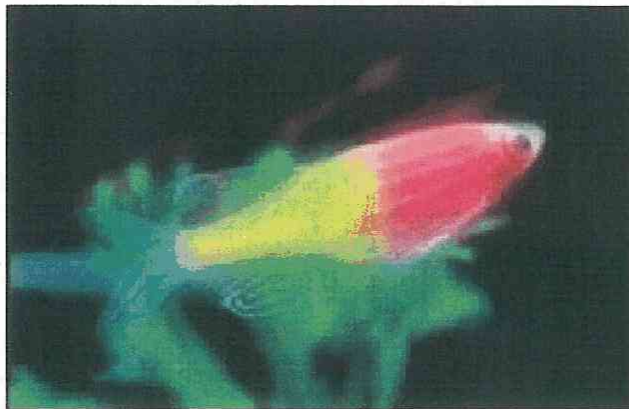
(2006年上半期発売開始予定)



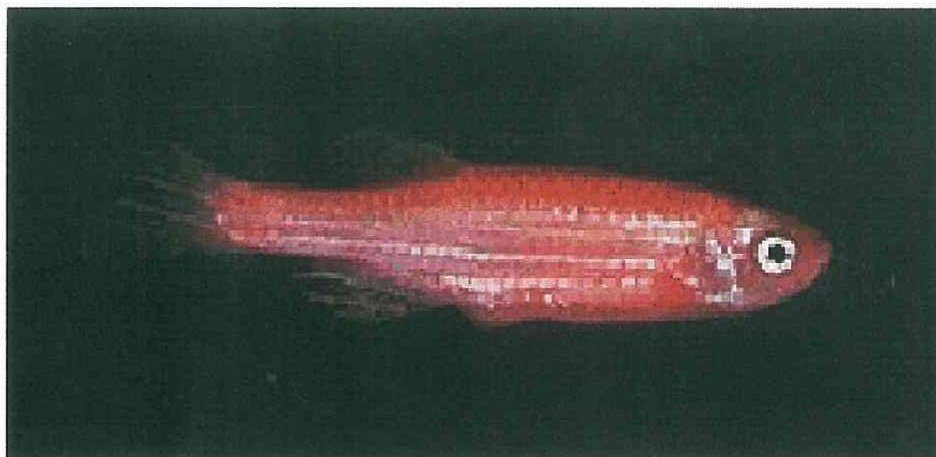
蛍光ゼブラオレンジ色

(2006年上半期発売開始予定)

Taikong社 HPより



TK-3
Taikong社 HPより



Glofish
Yorktown Technologies社 HPより

魚類の耐病性向上にむけた研究について

東京海洋大学大学院 海洋科学技術研究科ゲノム科学講座 青木 宙

- ニワトリリゾチーム遺伝子を導入した組換えゼブラフィッシュにおける耐病性向上
- ・ヒラメケラチン遺伝子プロモーターの調節のもとニワトリリゾチーム遺伝子を発現する組換えゼブラフィッシュの系統を確立し、病原性細菌の感染に対する抵抗性を調べた。

◆実験方法と結果

- ・ヒラメのケラチン遺伝子プロモーターにニワトリ卵白（HEW）リゾチーム遺伝子と選択マーカーである GFP 遺伝子を連結したプラスミドを構築した。
- ・プラスミドをゼブラフィッシュの受精卵にマイクロインジェクションで注入した。F2 世代における GFP の発現は、胚から成魚のステージにかけて、表皮、肝臓、エラで顕著であった。
- ・肝臓と体表における HEW リゾチームと GFP の mRNA の発現を RT-PCR によって確認した。
- ・ウェスタンブロッティングの結果、HEW リゾチーム、GFP の両方とも肝臓からのタンパク質抽出物に検出されたが、筋肉からのタンパク質抽出物には検出されなかった。
- ・肝臓のタンパク質抽出物の溶菌活性（*Micrococcus lysodeikticus* を基質に使用）は F2 ゼブラフィッシュにおいて野生型より 1.75 倍高かった。
- ・F2 ゼブラフィッシュの 65%は *Flavobacterium columnare* に感染しても生存し、60%は *Edwardsiella tarda* に感染しても生存した。一方、対照群はどちらの細菌に感染しても 100%死亡した。
- ・しかし、細菌の濃度を上げた場合、組換え魚の生存率はさほど有意には高くならなかった。

○その他の研究課題

- ・この他、魚類の耐病性向上にむけて、魚類の免疫応答に関する遺伝子とその発現調節機構、情報伝達経路等について研究を進めている。

○関連文献リスト

- ・関連文献リストを 1.23、1.24 ページに示す。

表 1-4 関連文献リスト (1)

Author	Title	Publication	Year	Vol.	Page
Yazawa R., Hirono I., and Aoki T.	Transgenic zebrafish expressing chicken lysozyme show resistance against bacterial diseases. (ニワトリリゾチーム遺伝子導入による耐病性「エドワジェラ症・滑走細菌症」ゼブラフィッシュを作出した)	Transgenic Res.	2006	15	385-391
Yazawa R., Hirono I., Ohira T., and Aoki T.	Functional analysis of tumor necrosis factor gene promoter from Japanese flounder, <i>Paralichthys olivaceus</i> , using fish cell lines. (魚類の培養細胞を用いたヒラメ由来腫瘍壊死因子遺伝子プロモーターの機能を解析した)	Dev. Comp. Immunol.	2005	29	73-81
Yazawa R., Hirono I., Ohira T., and Aoki T.	Induction of Japanese flounder TNF promoter activity by lipopolysaccharide in zebrafish embryo. (ヒラメ由来腫瘍壊死因子遺伝子プロモーターと緑色蛍光タンパク質遺伝子を導入したゼブラフィッシュ胚において、リポ多糖体の誘導により緑色蛍光タンパク質遺伝子を発現させた)	Mar. Biotechnol.	2005	7	231-235
Yazawa R., Hirono I., and Aoki T.	Characterization of promoter activities of four different Japanese flounder promoters in transgenic zebrafish. (トランスジェニックゼブラフィッシュにおけるヒラメ由来の4種類の異なったプロモーター活性の特徴を調べた)	Mar. Biotechnol.	2005	7	625-633
Yazawa R., Hirono I., Yamamoto E., and Aoki T.	Gene transfer for Japanese flounder fertilized eggs by particle gun bombardment. (遺伝子銃を用いてヒラメ受精卵への遺伝子導入に成功した)	Fisheries Science	2005	71	869-874

表 1 - 4 関連文献リスト (2)

Author	Title	Publication	Year	Vol.	Page
Yazawa R., Watanabe K., Koyama T., Ruangpan L., Tassanakajon A., Hirono I., and Aoki T.	Development of gene transfer technology for black tiger shrimp <i>Penaeus monodon</i> . (ウシエビの受精卵への遺伝子導入法を確立した)	J. Exp. Zool.	2005	303	1104-1109
Yazawa R., Hirono I., Yamashita M., and Aoki T.	Promoter analysis of several tissue-specific and inducible Japanese flounder genes. (ヒラメ由来の組織に特異的に発現する遺伝子および誘導遺伝子の上流にあるプロモーターの発現について解析した)	Fisheries Science	2002	68	1287-1288

(2) 有識者へのヒアリング内容

○組換え魚類の開発ニーズと現在の研究内容

- ・ 組換え魚類の開発の大半が、成長促進、耐病性向上を目指したものである。成長を促進させることで、病気リスクが下がり、また短い養殖期間で済むというメリットがある。
- ・ 養殖では、1つの魚が病気にかかると同じいけすの魚が全滅する可能性もあるので、耐病性向上のニーズは高い。
- ・ 脂肪酸の代謝経路の変更 (EPA/DHA) に関する研究は、高付加価値の魚類の育種という目的だけでなく、餌由来のダイオキシンの蓄積量が少ない養殖魚を開発することも念頭においている。EPA/DHA 含有量の多い魚を餌とすることにより、現在の魚油 (ダイオキシン汚染あり) を代替し、汚染の少ない飼料を養殖に用いることを目指している。この研究に関して、ゼブラフィッシュで予備実験を実施し、現在はニジマスで研究を行っている。
- ・ このほか、水域の窒素汚濁を防止するため、窒素の排出源である魚類を遺伝子改変 (成長ホルモン遺伝子をティラピアの個体に導入) することで、窒素排出量を低減させた品種の作出を行っている。

○今後の組換え魚類開発の見通し

- ・ 組換え食品への抵抗が強いこともあり、実用化については具体的な目標はない。農作物では GM 作成のための基本技術がほとんど欧米企業に抑えられているが、日本で基本技術を確認しておくことを目標にしている。
- ・ 今後、予想される組換え魚類は、既に開発されているものも含め次の通り。
- ・ 成長促進 (成長ホルモン遺伝子) : 今後も組換え魚類開発の大半は成長促進を目的としたものになると考えられる。
- ・ 耐病性 (抗微生物ペプチド) 向上
- ・ 低酸素耐性の向上
- ・ 脂肪酸組成の改変
- ・ 餌利用効率の改良 (炭水化物の利用)
- ・ 抗凍結タンパク質の導入
- ・ 機能性食品 (抗がん、血糖値低下などの作用を持つペプチド) 等

○魚類安全性評価について

- ・ 組換え魚類の場合、食品安全性はそれほど問題が生じにくいのではないかと。むしろ環境影響が重要であり、隔離した環境下で養殖できるシステム (陸上閉鎖系養殖システムなど) の確立が必要。
- ・ 魚類は世代時間が長い (ニジマスの場合は2~3年程度) ので、開発時間がかか

ることが問題である。FDA では、安全性確認のためのデータを 3 世代分要求しているそうだが、サケでは 3 世代というと 10 年間かかってしまい、世の中のニーズが変わる可能性がある。

- 餌成分によってアレルゲンが変動する可能性はあるかもしれない。
- ベクターにウイルスベクターを利用する場合は、安全性に問題が出る可能性があるかもしれない。
- 魚の体内で生産される物質でヒトへのアレルゲンとしての影響が懸念されるものとしては、トロポミオシン、コラーゲン、パルプアルブミンが挙げられる。トランスジェニックで成長促進など肉質を改善した際に、これらの物質が増加する可能性はあるが、安全性上問題にはならないと考えられる。これらの物質の生産量を調べるには従来のタンパク質定量法に従えばよい。
- また、魚の体内のヒスチジンは魚が死んだあとに微生物によりヒスタミンに変化するが、トランスジェニックによりこのヒスタミン量が 10～20 倍になるようなことはない。

2. 遺伝子組換え魚類等の安全性評価に 関する考え方の整理

2. 遺伝子組換え魚類等の食品安全性評価に関する考え方の整理

本章では国内外で出された遺伝子組換え食品の食品安全性評価に関する文献を調査し、遺伝子組換え魚類の食品安全性評価に関する一般的な考え方や安全性評価の上での主要な論点、課題等について整理する。

2.1 遺伝子組換え魚類等の食品安全性評価に関する検討状況

(1) 安全性評価基準に関する文献

FAO/WHO、OECD等の国際機関や米国 National Research Council等が発表した報告書、学術雑誌に書かれた総説などから、魚類を含む遺伝子組換え食品の食品安全性評価に関する文献を整理した。その結果を下表に示す。

ただし、これらの既存資料の中は、必ずしも遺伝子組換え魚類の食品安全性について詳しく記述しているとは限らず、組換え食品（動物）一般の安全性に関する記述であったり、文献によっては組換え農作物の食品安全性が主要テーマとなっている場合もある。そこで、表の右側の欄に各文献の記述内容についても示した。全般的に見ると、組換え魚類の食品安全性について具体的に検討している文献は少なく、組換え動物由来食品の1つとして記述しているものが多い。

表 2 - 1 魚類を含めた遺伝子組換え食品の食品安全性評価に関する既存文献

文献N	発行主体	題 名	備 考
1	ILSI (2004)	Nutritional and Safety Assessments of Foods and Feeds Nutritionally Improved through Biotechnology (バイオテクノロジーで栄養改変された食品、飼料の栄養および安全性評価)	・栄養改変など新しい種類の組換え農作物に関する記述が中心。 ・魚類に関する記述はないが、栄養組成の変化や予期せぬ影響の解析、評価方法は原理的には魚類にも適用可能。
2	National Research Council (2004)	Safety of Genetically Engineered Foods: Approaches to Assessing Unintended Effects (遺伝子組換え食品の安全性：予期せぬ影響の評価のためのアプローチ)	・ILSI 報告書と同様の視点から、組換え食品の予期せぬ安全面の影響について記述。
3	FAO/WHO (2003, Rome)	FAO Food and Nutrition Paper No. 79, Safety assessment of food derived from genetically modified animals, including fish (魚類を含む遺伝子組換え動物由来食料の安全性評価)	・2003 年 11 月 17～21 日にローマで開催された FAO/CODEX の専門家諮問会議報告
4	FDA (2003)	Animal cloning : a risk assessment, draft executive summary (動物のクローニング：リスク評価に関するエグゼクティブサマリー)	・米国 FDA における動物のクローニングにおけるリスク評価手続き (ドラフト)
5	U.S. Government (2005)	Code of Federal Regulations Title 21 — Food and Drugs Part 511 New Animal Drugs for Investigational use (新たな動物医薬の試験的利用について)	・動物医薬の試験的利用に関する連邦規制
6	Rev.Sci.tech.Off.int. Epiz., 2005, 24(1), 61-74	The safety assessment of foods from transgenic and cloned animals using the comparative approach (遺伝子組換え動物及びクローン動物由来の食物に関する、比較手法による安全性評価)	・2005 年に入って出版された学術文献
7	FAO (2001)	FAO Ethics Series2 Genetically modified organisms, consumers, food safety and the environment (遺伝子改変生物、消費者、食品安全と環境)	・組換え魚類については環境影響に関する記述が主体で、食品安全面からの検討はなされていない。
8	OECD (1994)	Aquatic Biotechnology and Food Safety (水産バイオテクノロジーと食品安全)	・1992 年にノルウェーで開催された OECD のシンポジウムのレポート

(2) 海外における検討状況

前述の通り、表1-1に掲げた文献を見ても組換え魚類に特化した記述は少ない。そこで、代表的な文献の内容を整理し、組換え魚類の安全性に関連があると考えられる記述を抽出・整理した。その結果を以下に示す。

【文献 No. 1】 Nutritional and Safety Assessments of Foods and Feeds Nutritionally Improved through Biotechnology

(バイオテクノロジーで栄養改変された食品、飼料の栄養および安全性評価)

◆概要

国際生命科学協会 (International Life Sciences Institute, ILSI) は、1978年にアメリカで設立された非営利団体で、科学的な視点から、健康・栄養・安全・環境に関わる問題の解決と正しい理解を推進することを目指している。WHO や FAO 等の国際機関とも密接な関係にあり、食品安全に関する様々な国際会議にも参加し、科学的な情報提供を行ってきた実績がある。

本文献は、2004年4月に ILSI のタスクフォースによって作成されたもので、全文は以下の URL でも参照できる。

<http://www.ill.org/pdfs/crfsfs/crfsfsv3n2p0035-0104ms20040106.pdf>

この文献では組換え魚類は検討対象外であるが、栄養改変された組換え食品（農作物由来）の安全性評価に関する最も包括的かつ新しい情報の盛り込まれた資料の1つとなっている。

◆栄養改変された遺伝子組換え食品の安全性評価の考え方

以下、報告書の中から、栄養改変された遺伝子組換え食品の安全性評価に関する主な記述内容を示す。

植物の栄養成分、機能性成分で今後組換え技術による改変（増量、含有量低下等）が予想されるものは、以下のような成分である。具体的な栄養成分としては、カロテノイド、フラボノイド、フェノールなどが想定される。

<遺伝子組換えによる改変が予想される成分>

- ・ タンパク質／アミノ酸、炭水化物
- ・ 植物繊維、リグナン
- ・ 油／脂質
- ・ ビタミン、ミネラル
- ・ 抗疾患因子（ニュートラシューティカル）
- ・ 抗栄養素、アレルゲンおよび食物不耐性に関する物質、毒素

○栄養改変された遺伝子組換え食品の安全性評価

遺伝子組換え技術により作られた栄養改変食品・飼料は安全性に関する新しい懸念を何ら提起するものではない。安全性評価のアプローチは、農業上有利な形質を付与された組換え食品・飼料の評価のアプローチと多くの点で類似している。この中には、遺伝的改変の詳しい内容の検討や、挿入 DNA によって作られたタンパク質等の安全性評価がある。また、組成分析によって固有の成分が、意図した栄養成分の変化を除いて適当な比較対象あるいは文献値と変化がないことを確認することも含まれる。

栄養成分の変化をとまなう組換え食品・飼料の安全性評価は、当該製品が人や動物の食物中に含まれる程度と当該栄養素の安全性についての既存の知見に依存する。多くの栄養素について文献から安全な摂取レベルの上限が設定されている。栄養素が植物から分離され、食品・飼料の原料として利用されるケースでは、既存の規制により安全性評価とその利用が管理されるものと期待される。

○栄養改変された作物の栄養評価のプロセス

栄養改善された組換え食品は既に各国で上市されている。通常の育種方法によって開発された新規食品の評価に以前利用されていた枠組みは、バイオテクノロジーによって開発された新規食品にも適用できると考えられる。包括的でデータのしっかりした組成と摂取量についてのデータベースがあれば、栄養改変された食品の評価に大いに役立つ。栄養改変された食品の評価にあたっては、次のように考えられる。

提言 1

すべての栄養改善された新規食品は、その開発した技術の種類によらず、栄養と健康に対する潜在的影響の可能性にもとづいて評価すべきである。

提言 2

摂取量の変化につながる組成変化は、食品又は食品原料が開発された目的にかかわらず評価すべきである。

提言 3

上市前評価では、新規食品の導入によって大規模な消費者集団の栄養素摂取量に対する有意かつ悪影響のある変化がないことを証明すべきである。

提言 4

新規食品のすべての想定利用者とリスクを受ける集団に対して、食品摂取量データと摂取量予測モデルを開発すべきである。

○予期しない影響を特定するための分析技術の役割

これらの予期しない影響を検出するためのアプローチとしては、ゲノムの分析による DNA 挿入位置の解析や組成分析によって比較対象との違いを検出する方法とがある。このうち、組成分析については、栄養学的/毒性学的に重要な特定の化合物に着目し、そ

の変化を調べる方法 (targeted approach) と最近開発が進んでいるプロファイリング技術を用いた非特異的比較方法 (nontargeted approach) とがある。

特定の物質に着目しない網羅的な「プロファイリング」法は、将来、GM 作物の意図しない影響の検知のための特異的 (特定の物質を対象とした) 分析用法を補完できるかもしれない。プロファイリング法の例には、遺伝子発現 (例: mRNA)、タンパク質、および代謝生成物の分析のための機能ゲノミクス、プロテオミクス、およびメタボロミクスがある。これらの方法は、植物成分あるいは代謝経路における変化についての特定の予備知識を必要としない、複雑な代謝回路の広い見解を提供する。これらの技術は、伝統的な栽培法および遺伝子組換え技術の双方について、代謝経路および生体内の相互作用が受けた影響を解析することができる。

○結論

以上のことを踏まえると、栄養改善された組換え食品・飼料の安全性評価にあたっては、以下の結論が導ける。

栄養改善された食品・飼料は、世界的な食料安全保障の上でも大いに貢献することが期待される。栄養面のレベル変化から生じる潜在的な人の健康影響を評価するためのいくつかの付加的な研究が必要とされるかもしれないが、既に実用化されている組換え食品・飼料の安全性評価に用いられている現行の包括的な安全性および栄養評価の手順は、栄養改変された作物にも適用できる。

比較にもとづく評価プロセスは、安全な暴露の歴史をもつ通常の作物と新規食品・飼料の類似点および相違点を特定する方法を提供する。このプロセスによって明らかにされる類似点は、新しい作物が安全に消費されてきた歴史を持つ作物と同程度に安全であるという証拠を提供するので、さらなる評価を必要としない。その際に特定される相違点は、付加的な科学研究および評価の対象となる。今後予想される栄養改変のタイプは様々である。したがって、個々の新しい製品の安全性および栄養面の評価は、ケース・バイ・ケースのアプローチで行うことが必要である。多くの栄養改善された作物は、生合成経路または分解経路が改変されており、改変したことが当該代謝経路や関連の代謝経路の代謝産物に与える影響について、詳細かつ慎重に検討しなくてはならない。

意図しない影響を検知するためのプロファイリング技術の使用は、製品特有の変化を品種や生育段階、環境因子による自然変動と区別することが難しいために未だ限られており、それゆえ、自然変動に関する情報を収載したデータベースの構築が最優先事項となる。これらのプロファイリング法は、栄養改善されたそれぞれの製品において評価する必要のある化学成分を特定することによって、安全性評価プロセスの焦点を絞るためのプレスクリーニングとして役立つかもしれない。

栄養改変の種類によっては、動物実験によって栄養素の生物学的利用可能性を評価することが重要になるかもしれない。動物試験は、意図された変化 (導入された形質の栄

養価など)の栄養面の影響を評価し、安全性評価の他の部分の結果を確認し、それによって安全性に対する確証をさらに深める上で重要な役割を果たす。

上市後のモニタリングは、人間および動物の安全や健康に影響を及ぼす可能性のあるエンドポイントに関連する科学的な仮説に基づかななくてはならない。リスクが特定されていない場合、栄養改変された(あるいはその他の)作物を原料とする食品の不明確な悪影響に対する上市後モニタリングの実施は事実上不可能かつ不必要で、上市前の安全性評価プロセスと首尾一貫せず、その結果を損なうことになるかもしれない。

- 提言 1. 栄養改変されたすべての食品・飼料は、これらの食品・飼料を開発するために使用された技術に関わらず、人間および動物の栄養面並びに健康上起こりうる影響について評価されるべきである。
- 提言 2. 栄養改変された食品・飼料の安全性評価は、安全に使用されてきた歴史をもつ適切な比較対象と新しい食品・飼料との比較にもとづく評価から始められるべきである。
- 提言 3. 栄養改変された作物の安全性および栄養面の評価は、成分分析を含むべきである。適切な比較対象が全く特定できない程度まで栄養成分が変更される場合には、アセスメントは食品あるいは飼料の提案された使用および摂取の状況において栄養素の変化レベルの安全性に焦点を合わせるべきである。
- 提言 4. 栄養改変された食品および飼料の安全性ならびに栄養面の影響を評価するために、製品の用途における食事およびその結果として生じる食事からの暴露にてらして、ケース・バイ・ケースの原則に基づいたデータを明らかにする必要がある。
- 提言 5. 特定の物質に着目した (targeted) 成分分析の現行のアプローチは、栄養改変された作物の成分変化を検出するためにも推奨される。新しいプロファイリング技術は、複雑な代謝経路およびその相互関係を明らかにするために利用できるであろう。これらのプロファイリング技術も、特定の栄養素あるいはその他の代謝物に関する情報を取得するために特定物質に着目したやり方 (targeted fashion) で使用することができる。しかし、プロファイリング法を使用する前に、ベースラインのデータを集める必要があり、その方法は検証されかつ世界的に調和したものでなくてはならない。
- 提言 6. 実験動物による試験は、安全性評価の他の部分の結果を確認する上で有益な役割を果たし、それによって安全性に対する確証を深める。しかし、実験動物や家畜の試験は、適切な感度を欠いているため、特定物質に着目した分析によって検出されなかった意図しない微細な成分変化を明らかにすることはできない。
- 提言 7. 動物供餌試験は、対象とされる動物種において行われ、改変された作物や作物成分、副産物の使用から想定される栄養面の特性を実証すべきである。
- 提言 8. 上市前評価によって、製品が販売される前の安全性および栄養面の問題が特定される。健康への悪影響を有することが科学的に確認された新製品が市場に出さ

れることはまずあり得ない。栄養改変された食品の上市後モニタリングは、上市前の暴露評価結果を確認したり、食事摂取量パターンの変化を確認するために役立つかもしれない。上市後のモニタリングは、科学的に有効な検証可能な仮説が存在する場合、あるいは上市前の暴露評価結果を確認する目的のみに行われるべきである。

【文献 No. 3】

○FAO/WHO の専門家諮問会議（2003 年 11 月 17-21 日、ローマ）¹

◆概況

魚を含む遺伝子組換え動物由来食料の安全性評価に関する FAO/WHO 共同の専門家諮問会議が、ローマ FAO 本部で 2003 年 11 月 17 日から 21 日まで開催された。この会議では、遺伝子組換え動物由来の食品の安全性についての一般的な議論が行われた。

◆遺伝子組換え動物由来食品の安全性に関する主要な論点

ローマ会議における主要な論点と内容は次の通り。

- ・ 2003 年の CODEX 食品委員会では、GM 動物とそれに由来する生産物の食料安全性評価の大部分は、GM 植物とそれに由来する生産物について確立した評価方法に従うことが出来るとし、ローマ会議においても、この考え方のもと検討が行われた。
- ・ 伝統的な食料生産物は歴史的に安全に使用されてきたことから、GM 食料の安全性評価のための比較のベースラインに成り得るということが一般に認められている。これは、実質的同等性の概念としてとらえられているが、最近ではより広範な比較安全性評価（CSA、Comparative Safety Assessment）によるアプローチが GM 動物にも適用できることが諮問会議で同意された。
- ・ CSA は基本的には 2 段階のアプローチから成り、第 1 段階は、消費者にとっての安全性に関わる違いを同定するための密接に関連した伝統的な対応物との完全な比較を行う。そして、第 2 段階は、GM 動物とその伝統的な対応物との間に認められた違いを毒物学的、栄養学的に評価を行う。
- ・ CSA の第一段階では、危害の特定と特性付けを行うべきとしており、具体的には以下の通りである。

¹ 本会議の概要については、「世界の農林水産」2005 年 6 月、7 月号「魚を含む遺伝子組換え動物由来食料の安全性評価」①、②（塩谷康生訳）を参考にした。

①遺伝子コンストラクトの挿入前後で起こり得る広範囲な分子的特性付け

- ・意図しない影響を同定するため、コピー数の解析、挿入部の両側隣接領域の配列解析も含めて行うべきである。

②遺伝子産物の安全性

- ・遺伝子産物の安全性は個々の事例に応じて評価されるべきである。
- ・評価は、発現産物の知識に基づきながら、アミノ酸配列や発現したタンパク質に関するデータで評価する場合もあれば、未知のタンパクなどでは動物実験などの毒性評価が必要な場合もある。

③アレルギー性

- ・遺伝子組換えにより新規発現タンパクがある場合、アレルゲンとしての可能性を評価する必要がある。
- ・GM 動物のアレルギー性については GM 植物の評価方法と基本的には同様である。
- ・2001 年の FAO/WHO や 2003 年の CODEX 食品委員会において、アレルギー性を評価する方法が示された。具体的には、遺伝子の起源、配列の相同性、起源元の生物あるいは遠縁の起源元生物にアレルギーを示す患者の血清検査、ペプシン抵抗性、その形質の普及性、動物モデルによる評価など、複数のパラメーターにより評価する方法である。

④遺伝子導入

- ・挿入遺伝子やそのプロモーターがウイルス起源の場合は水平伝播や組換えが起こる可能性があるため、検証すべきである。
- ・また、細菌性宿主由来のものでは標的遺伝子に関係のないフラグメント配列が含まれる可能性があり、意図しない遺伝的損傷、組換えにより新しい感染性ウイルスが作り出される可能性も考慮する必要がある。

⑤意図しない影響

- ・意図しない影響は、遺伝子挿入部位に関する挿入の影響と、導入遺伝子の発現産物の特性による二次的影響の 2 つに分けられる。
- ・GM 動物における意図しない影響を検出するための主なアプローチは、GM 動物と従来の対応物の表現型（成分解析を含む）により比較する方法があげられる。
- ・CSA の第 2 段階目では、第 1 段階目の結果をもとに、人が消費する食料やその成分の総量で暴露評価を実施する「食料摂取評価」、続いて、栄養学的・毒物学的総合評価を行い、それを統合してリスクの特性付けを行うべきである。
- ・さらに、出荷後の監視を行うための生産物トレースシステムができるとよい。一般に、安全性については市場出荷前の評価を適切に行うことで担保すべきである。GM 動物由来食料の摂取や栄養的な因果関係の情報を蓄積していくためには、出荷後の監視システムの研究を進め、役立てるべきである。

(2) その他の海外での動向

前節で取り上げた文献以外の海外機関の動向について以下に整理した。具体的には OECD における太平洋サケのコンセンサスドキュメントの作成、CODEX のワーキンググループ（2006 年 2 月、東京）並びに組換え魚類をめぐる海外の動向を整理した。

(a) 太平洋サケのコンセンサスドキュメントの作成

OECD のバイオテクノロジー規制の調和に関するワーキンググループ（Working Group on Harmonization of Regulatory Oversight in Biotechnology）では、主に遺伝子組換え作物の環境影響評価に関する検討を行っている。これまでに 27 種類の作物等に関するコンセンサスドキュメントを作成しているが、2004 年 11 月から 12 月にかけて、モスクワで太平洋サケの生物学に関するワークショップを開催した。会議には、チリ、中国、インド、ロシア、タンザニアといった組換え魚類の開発経験のある OECD 非加盟国も参加した。

さらに 2005 年 10 月にはノルウェーのトロントハイムで太平洋サケのコンセンサスドキュメント作成にむけた実施計画案立案のための第 2 回ワークショップを開催した。

(b) CODEX ワーキンググループにおける組換え動物の安全性評価に関する議論

2006 年 2 月に、日本で組換え食品に関する CODEX のワーキンググループが開催された。このワーキンググループでは組換え動物の食品としての利用に関する議論が行われることとなっており、日本とオーストラリアが議長をする予定である。具体的には以下のような事項について今後議論されていく予定となっている。

- ・ ウイルスベクターの安全性、conventional counterpart の決め方、比較評価を実施する部位の範囲の 3 点が議題となる予定である。
- ・ 多くの動物は交雑 (outbreeding) で継代させるので、conventional counterpart については、自家受粉な植物とは異なる考え方をとる必要がある。
- ・ 比較評価を実施する部位の範囲については、全体を調べる必要があるのか、部分的に調べればよいのか、という点が議論になると考えられる。例えば魚類を摂取する場合、胴体部分だけでなく頭やその他の部分を摂取することがあり得る。
- ・ また、組換え食品の混入についても論点の 1 つになると考えられる。発展途上国でも組換え技術が利用されはじめており、発展途上国からの輸入品による混入問題が問題になるであろう。混入問題に関しては、EU も米国もプロポーザルを出したが、内容が折り合わず現在決裂したままとなっている。
- ・ CODEX で日本が発表する組換え動物を利用した食品の安全性に関する提案書の概要については、CODEX のウェブサイト上で公表されている。

(c) 海外における組換え魚類の安全性に関する議論

食用の遺伝子組換え魚類については、北米の Aqua Bounty 社（組換えサケ）のほか、キューバ（ティラピア）、中国でも開発が進んでいると言われている。キューバ政府の情報によれば、キューバでは組換えティラピアの閉鎖系実験が 2001 年に認可されている。

表 2-2 組換え魚類の開発経緯（キューバ、その他）

年 月	
1985	・ 成長ホルモン遺伝子を導入した組換え魚類の開発
1990	・ 成長ホルモン遺伝子導入ティラピアの開発（キューバ）
2000.1.20	・ 環境団体が報告書を発表し、組換え魚類の環境影響とキューバでの実用化の可能性について警告
2000	・ 米国魚類・両生爬虫類学会 (ASIH) が組換え大西洋サケの実用化について公式に警告
2001.5.9	・ 消費者団体が組換え魚類の実用化と米国内への輸入に対するモラトリウムを呼びかけ
2001.6.6	・ キューバが組換え魚類の認可を行ったことを明確に否定。ただし、研究が進行中であることは認める。
2001.6.8	・ 大西洋サケ保全機構 (NASCO) が組換えサケを天然の水系に放出することについて異議を表明。

注) ASIH: American Society of Ichthyologists and Herpetologists

GEFA: Genetically Engineered Food Alert

NASCO: North Atlantic Salmon Conservation Organization

(出典: www.infogm.org)

キューバで認可された組換えティラピアの閉鎖系実験の概要

実験題目: 成長が促進されたティラピア

- ・ 学名: *Oreochromis hornorum* × *Oreochromis aureus* のハイブリッド
- ・ 一般名: ティラピア
- ・ 形質転換法: 成長ホルモン遺伝子をマイクロインジェクションにより注入
- ・ 遺伝子改変を実施した機関: 遺伝子工学バイオテクノロジーセンター
- ・ 遺伝子改変の結果: 低レベルの成長ホルモン遺伝子のエクトピックな発現により、組換えティラピア系統 IG-91/03F70 において成長促進が見られた。
- ・ 認可の種類: 水槽内での組換えティラピアの繁殖実験
- ・ 認可日: 2001 年 5 月 17 日
- ・ 評価機関: 2001 年～2003 年、水槽内実験
- ・ 認可当局: 国家バイオセイフティーセンター (Centro Nacional de Seguridad Biologica, CITMA)

(出典: バイオセイフティクリアリングハウス)

中国ではコイ科の魚類を対象に研究が行われているようであるが、断片的な文献しかこれまでに発表されていない。

組換えサケやキューバの組換えティラピアの商業利用については、科学者やNGOを中心に反対意見も多く出されている。ただし、食品安全性についての具体的な議論はあまり行われておらず、むしろ環境影響の方に懸念が強いと考えられる。

2.2 遺伝子組換え魚類の食品安全性評価における論点

(1) 遺伝子組換え農作物の食品安全性評価における基本的かつ重要な考え方

前節で紹介した通り、遺伝子組換え魚類の食品としての安全性評価の基礎となるのは、遺伝子組換え農作物の食品安全性評価の考え方である。遺伝子組換え農作物については1990年代から本格的実用化が始まり、既に国内外で多数の安全性評価が行われている。その際の基本的かつ重要な考え方は以下のようにまとめられる。

<遺伝子組換え農作物の食品としての安全性評価における基本的かつ重要な考え方>

重要な視点

- ・ 導入遺伝子およびその転写・翻訳産物自身の安全性（毒性・（食品）アレルギー性等）
 - ・ 導入遺伝子による代謝への影響
 - ・ 選抜マーカー遺伝子とその産物
 - ・ 実際に導入されている塩基配列
 - ・ 導入位置周辺の遺伝子情報（予期せぬ融合タンパク質生産の可能性）（通常の品種改良で起こりうることとの区別）
- ・ 比較すべき対象物の決定（実質的同等性の適用の可否）
 - ・ 宿主を対象とする場合（宿主およびその近縁種等が有する毒物や（食物）アレルギー等）
 - ・ 食品全体を対象とする場合（栄養組成表）
- ・ 比較検討すべき内容（栄養素・抗栄養素・毒物等）
 - ・ 比較データを利用した品種や栽培条件等
 - ・ 生物（農作物）毎の基本データ
- ・ 認定するイベント（系統）
- ・ 後代交配種（亜種間あるいは種間の交配）
- ・ 表示に対応するための情報
- ・ その他

（出典：本資料は検討会メンバーである鎌田委員の提供による。）

組換え魚類の食品安全性評価においては、これらの考え方をベースに植物と魚類の違い、魚類固有の事項を考慮していくことが有効と考えられる。

(2) 遺伝子組換え魚類の食品安全性に関する論点

前節までのことを踏まえて本報告書では遺伝子組換え魚類の食品安全性に関する以下の論点について検討を行っていくこととした。

I. 検討範囲

- ・遺伝子組換え魚類（食用）を対象として検討を進める。ただし、必要に応じて観賞魚のように直接食用を意図しない組換え魚類についても情報収集を行う。
- ・食品安全に係わる事項を扱い、環境影響は原則対象としない。フードチェーンへの混入など食品安全に影響を与えうるものは補足的に留意事項として取り上げるにとどめる。

II. 組換え魚類の食品安全性評価に関する論点

1. 組換え魚類の開発動向

- ・養殖用のサケ、ティラピアなどを中心に組換え体が開発されているが、世界的に商業化されているものはない。今後どのように組換え魚類の実用化が進んでいくか。
- ・今後どのような新しい組換え魚類の開発が予想されるか。（食品分野、非食品分野）
- ・組換え体開発に利用できる技術は今後どのように進歩していくか。
（多重遺伝子導入法、細胞融合等）
- ・各国での開発状況と規制状況は、どのようになっているのか。

2. 組換え魚類の安全性についての基本的考え方

- ・組換え魚類の安全性評価手法についてどのような研究が行なわれているか。
- ・CODEXをはじめとする公的機関、FDAなどの海外の政府機関での検討状況はどうなっているか。

3. 組換え魚類の安全性評価基準のあり方

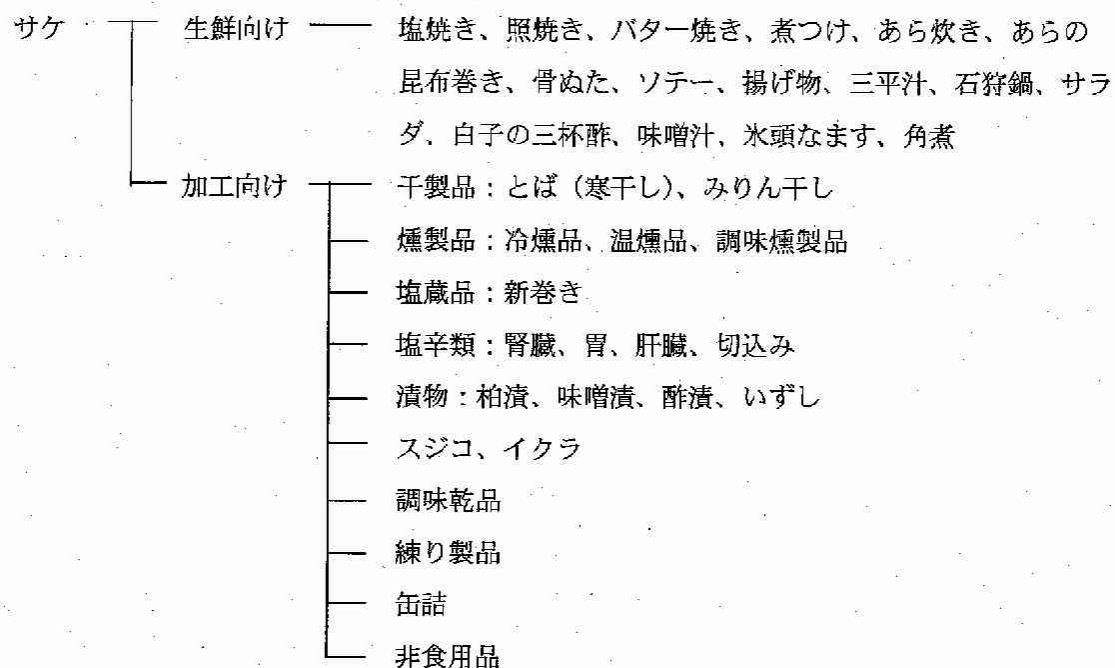
- ・種子植物と魚類を比較して、安全性評価においてどのような点に留意が必要か（表2-3）。
- ・魚類では評価が難しい事項やデータ取得に当たっての留意事項など、魚類特有の問題点、課題はあるか。
- ・魚類の安全性評価において、比較の対象（comparator）をどのように選定するか。
- ・個別の導入遺伝子産物（成長ホルモン、抗凍結タンパク質等）の安全性評価における問題点はないか。

表 2-3 組換え農作物（種子植物）と魚類の比較

項目	種子植物	魚類
遺伝子導入の対象	トウモロコシ、ナタネ、ダイズ、イネ等の主要穀物・油糧植物、 その他、果実・野菜等約 40 種以上	サケ、ティラピア等数種
組換え体の種類	第一世代：除草剤耐性、病虫害抵抗性遺伝子 第二世代：高オレイン酸ダイズ、ビタミンA強化米、花粉症緩和米、 その他栄養組成の改良等 その他：分子農業（医薬品等の有用物質生産に係る遺伝子）	・成長ホルモン遺伝子、抗凍結タンパク遺伝子、病虫害抵抗性遺伝子 ・脂肪酸組成の改良 ・その他：fishpharming（医薬品等の生産）
生物学的特性	・ほとんどが一年性 ・一般に品種が確立されており、遺伝的バックグラウンドが均一	・通常、成熟まで複数年を要する ・食用の歴史は長いが、農作物のような品種は必ずしも確立されていない
遺伝子導入法	アグロバクテリウム法 直接注入法（パーティクルガン等）	直接注入法（マイクロインジェクション、パーティクルガン等）
摂食形態	利用部位：種子（油）、葉、茎等 摂食形態：生食、調理加工	利用部位：魚卵、稚魚、成魚 摂食形態：生食、調理加工 ・肉だけでなく、内臓、骨など多くの部位が食品として利用される（図2-1）。
毒性物質の存在	・アルカロイドをはじめ多くの植物毒が存在	・フグ毒など主として餌由来の毒物が存在 ・その他、アレルギーなどの中毒例も知られている（表2-4）。

（注）意図せざる混入等の具体例

- ・海外で組換え魚類が実用化された場合の日本のフードチェーンへの影響
- ・医薬品製造用魚類（魚卵）等のフードチェーンへの混入
- ・非組換え養殖魚と遺伝子組換え養殖魚の交雑



身肉のほか、卵、白子、内臓、骨など多様に利用できる。

図2-1 サケの利用加工方法

（出典：「地域資源活用 食品加工総覧」第6巻 乳製品、肉製品、水産製品 農林漁村文化協会）

表 2-4 魚類のもつ有毒成分・汚染物質等の事例

項 目	暴露(摂取) 経路	由来		備 考
		餌	魚体	
食物アレルギー	経口		○	・魚介類中のアレルゲンタンパク質が原因となる(パルプアルブミン、コラーゲン等)。 ・甲殻類のアレルゲンとしては、トロポミオシンが知られる。
アレルギー様食中毒 (ヒスタミン)	経口		○	・サバ、サンマ、マグロなどの赤身魚に多量に含まれる遊離ヒスチジンから、微生物の脱炭酸酵素作用で生成するヒスタミンが原因となる。化学性食中毒の一種。
フグ毒	経口	○		・テトロドトキシンによる食中毒 ・この他、シガテラ毒による中毒も知られている。
胆のう(コイ)	経口		○	・コイの胆のうに含まれる5 α -キプリノール硫酸エステルによる中毒例あり。 ・この物質はコイの体内でコレステロールより生合成されるらしい料) ・また、筋肉(こいこく又はみそ煮)の摂取による中毒事例もある(宮崎県等)が、原因物質は不明
汚染物質 (有機水銀、重金属、DXN等)	経口	○		・餌由来の化学物質の生物濃縮が原因であるものが多い。
ビタミンA	経口			・有毒物質ではないが、サメ、イシナギ、マグロなどの大型魚の肝臓にはビタミンAが大量に含まれており、摂食により頭痛、皮膚の剥離といったビタミンA急性過剰症に似た症状を起こした例が報告されている。
脂質	経口			・ギンダラ科のアブラボウズ(体長1mの深海性の魚)の筋肉は極めて脂質(主にトリグリセリド)含量が高く50%に達する。食べると必ず下痢を起こすと言われている。

注) この他一部の魚類には、卵巣毒(ヤツメウナギ)、血清毒(ウナギ)、体表粘液毒(ウナギ、フグ等)をもつものも知られている。

注2) 本表は下記の参考資料を参考にして作成した。

(参考文献)

- ・ 魚介類とアレルギー 塩見一雄著、成山堂書店
- ・ 海洋動物の毒 塩見一雄、長島裕二、成山堂書店
- ・ 水産食品の安全・安心対策—現状と課題 阿部宏喜、内田直行、恒星社恒望閣
- ・ 動物成分利用集成 水産・蛇・昆虫・漢方薬篇 伏谷仲宏ほか編、R&D プランニング

(3) 主要な論点に関する有識者への調査

遺伝子組換え魚類の食品安全性に関しては前節に述べたような一般的な論点があるが、個々の組換え体について詳細に安全性評価を行うためには、さらに具体的な検討が必要になる。

そこで、検討会委員および有識者に対してアンケートとヒアリングを実施し、個別の問題点について意見を聴取した。調査項目と調査方法は以下の通りである。

■調査項目

組換え魚類の安全性評価において論点となる以下の項目

設問 1. 食用魚（天然魚、養殖魚）および貝類について、下記のような具体例はあるか。

- 1) 魚毒（魚の染色体がコードするもの）
- 2) 異常代謝産物の蓄積
- 3) 栄養成分の劣化
- 4) 毒性物質を出す微生物との共生状況の変化
- 5) 毒性物質又はその代謝産物の蓄積

設問 2. 設問 1 で回答した変化を起し得ると考えられる遺伝子改変の例があるか。

設問 3. 現在、成長ホルモンを使用した組換え魚が作出されているが、食用として出回った場合に、どのようなリスクが考えられるか。

設問 4. 現在、成長ホルモンを使用した組換え魚が作出されているが、養殖場で利用された場合に、どのようなリスクが考えられるか。

設問 5. 魚の組換え技術による栄養改変として、どのような種類を想定すればよいか。
例：栄養の量的変化や体サイズの変化、質的变化（脂質成分変化など）

設問 6. 魚はどの程度の体成分改変に耐えられるか。あるいは、ホメオスタシスを考慮した上で、どの程度有意な体成分変化が可能であるか。

設問 7. 魚類の遺伝的安定性について、どのようにモニターすれば良いか。また、組換え魚の遺伝的安定性に関して既存情報があるか。

設問 8. 魚について、食品としての安全性評価を行う場合に、魚の健康状態を指標として利用できるか。また、現時点において、魚の健康状態に関する指標はあるか。

設問 9. 養殖における発生異常（頻度を含む）とその外的要因に関するデータはあるか。
また、組換えによる発生異常の頻度の質的あるいは量的変化に関するデータはあるか。

設問 10. 魚類のアレルギー物質や antinutrient の具体例にはどんなものがあるか。

設問 11. 魚を保存する際に細菌の作用でアミン類が作られるが、天然魚と比較し養殖によってこのアミン類のリスクが増えた事例はあるか。

設問 12. 魚の肉質に影響する要因として、どのようなものが考えられるか。

（例：遺伝形質、餌、環境条件など）

■調査対象者と調査方法

- ・検討会委員および外部有識者（東京海洋大学、専門分野：海洋動物の毒性学）1名
- ・調査方法：検討会委員に対しては電子メールで調査票を送付し、回収後、委員会でさらに議論を行った。外部有識者には聞き取り調査を実施した。

調査結果の一覧を表2-5に示す。一部の設問では回答者によって見解に若干の違いがあるものの、全般的に見ると、組換え魚類の食品としての安全性については特に大きな懸案事項となるリスクは少ないと考えられた。これらの設問を踏まえた、組換え魚類の食品安全性評価の考え方については3章を参照されたい。

表 2 - 5 組換え魚類の安全性評価の個別論点についての調査結果

設問	回答
設問 1. 食用魚（天然魚、養殖魚）および貝類について、下記のような事例はあるか（具体例）。	・ 染色体遺伝子がコードする毒はタンパク毒である。 ・ 食用魚の中では以下のとおりである。刺毒は刺されて被害を受けたり、ウナギ血清毒は血液が調理人の目などに入っ て障害を受けたりすることはあるが、いずれも食べて問題はない。
1) 魚毒（魚の染色体がコードするもの）	・ 一般に、毒成分の分析（アッセイ）は、マウスやカニへの注入試験、溶血試験などの手法により評価が行われる。 ○カサゴ、オコゼ（食用） ・ 食用の魚の毒として、カサゴ、オコゼの刺毒がある。この毒はタンパク毒である。 ・ 毒は背びれや胸びれにあり、食べる時にはこれらを除き加熱するので、通常問題にはならない。 ・ 毒成分の分析は、細胞から毒を抽出・精製して行われている。抽出精製過程で毒の活性が急激に落ちるため、毒成分の分析の研究はあまり進展していない。 ○ウナギ、アナゴ、ウツボ（食用） ・ ウナギ、アナゴ、ウツボなどは、体表毒、血清毒を持っており、いずれもタンパク毒である。毒成分が弱いので、食べても問題ない。 ・ 現在、当研究室ではこれらの毒の構造解析を実施している。 ○イソギンチャク（一般に非食用、一部の地域で食用） ・ イソギンチャクは、タンパク毒（分子サイズ 20,000 程度）、ペプチド毒（分子サイズ数千程度）を持っている。この毒は、ナトリウムチャンネル、カリウムチャンネルに働きかける毒である。 ・ イソギンチャクは通常は食べないが、九州や島根などの一部の地域でイソギンチャクご飯として食用とされている例がある。 ○オンドルマオコゼ（非食用） ・ 日本の奄美地方や沖縄などの南方に生息するオンドルマオコゼは、強い毒を持っており、死亡例がある。非食用なので問題ないと思う。 ○エイ（一般に非食用） ・ エイの尾びれに毒があり、死亡例がある。 ○巻貝（食用） ・ つぶ貝などのほとんどの巻貝は、だ液腺に毒液を溜めている。この毒は、巻貝自身で作っているものであり、タンパクよりも低分子からなる構造である。巻貝はこの毒液を注入することで餌（二枚貝）を採っている。 ・ カコボラ（大型の巻貝）は、だ液腺に強力な毒を持っていることで有名である。この毒の構造については解析済みである。 ○シジミ（食用）

設問	回答
	・ 筋肉にタンパク毒がある。加熱して食べる分には特に問題にはならない。 ○オニヒトデ（非食用） ・ オニヒトデのトゲに刺毒（タンパク毒）がある。非食用のため問題はない。
2) 異常代謝産物の蓄積	・ ヒスタミンやトリメチルアミンなどのアミン類がバクテリアなどの作用で二次的に生じ、以下の通り食中毒の原因になることがある。詳細は以下の通りである。 ○赤味魚（サバ、サンマ、マグロ、カツオ、イワシなど） ・ 筋肉に含まれているヒスチジンは、流通過程での貯蔵方法が悪いと大量のヒスタミンに変化し、これにより食中毒が起こることがある。 ・ ヒスチジン（アミノ酸）による食中毒は、誰でも起こる可能性があり、アレルギーとは違うので注意を要する。 ・ 自身の魚やエビ・カニなどにはヒスチジンがないため、食中毒は起こらない。
3) 栄養成分の劣化	・ 特に養殖魚で、餌由来の脂肪酸が酸化し、過酸化脂質を生じることがある。
4) 毒性物質を出す微生物との共生状況の変化	・ 魚貝毒の多くは微生物由来であるが、共生ではないと考えられる。 ・ 毒性物質を出す微生物との共生状況に関する研究例はほとんどない。
5) 毒性物質又はその代謝産物の蓄積	○フグ毒 ・ フグ毒の詳細な仕組みは分かっていないが、毒性のあるバクテリアを腸管に吸収し溜めることでフグ毒が合成されている、もしくは、フグ毒のあるバクテリアを食べたゴカイをフグが食べることで毒成分を溜めていると考えられている。 ○二枚貝（食用）の毒 ・ カキなどの二枚貝はプランクトンを餌にしているため、毒性のプランクトンを取り込んだ場合、その毒成分を中腸腺に溜めることがある。 ○その他 ・ 軟体動物や貝類は、カドミウムを溜めやすい性質がある。食品中のカドミウム濃度の基準は米については存在するが、その他の食物はないため安全性確認の基準がない。 ・ 魚介類の毒成分としてヒ素が挙げられる。食物連鎖により濃縮され、上位の生物になるにつれてヒ素の濃度が高くなる。

設問	回答
設問2. 設問1で回答した変化を起し得ると考えられる遺伝子改変の例があるか。	・ 遺伝子組換えによる毒成分の変化や、毒性分等の蓄積機構が変化する可能性はないと考えてよい。 ・ また、そのような報告および研究例はない。
設問3. 現在、成長ホルモンを使用した組換え魚が作出されているが、食用として出回った場合に、どのようなリスクが考えられるか。	・ 成長ホルモンの強制発現により二次的に抗原性の強い成分が発現誘導され、いわゆるアレルゲンとなる可能性が完全にはないとはいいきれないが、リスクはほとんどないと言ってよい。 ・ 仮に組換え魚が多量に成長ホルモンを産生していたとしても、魚類の成長ホルモンはヒトの成長ホルモンとは構造が異なるため、ヒトが摂取してもホルモンとして作用しないと考えられる。 ・ また、加熱等の加工によりホルモンとしての機能はなくなる。 ・ 成長ホルモンを本来の組織以外で産生させることによる体成分の変化は、栄養学的な成分検査で把握できるが、飼育環境や成長段階、季節等によって体成分は大きく変化するため、これを考慮した評価が必要となる。 ・ また毒性試験については、可食部の経口投与によるマウスの急性毒性試験で評価できる。
設問4. 現在、成長ホルモンを使用した組換え魚が作出されているが、養殖場で利用された場合に、どのようなリスクが考えられるか。	・ 大腸菌由来ベクターが残存している場合、環境中に存在する微生物への水平移行が起こる可能性が考えられる。 ・ 閉鎖系の養殖場で飼育するなどして逸出しない措置をとれば、特に問題にはならない。 ・ 万一逸出した場合について、同じ養殖場で普通の魚も出荷していれば、この中に組換え魚が混入して市場に出回るリスクがある。 ・ また、養殖場からの周辺環境に逸出した場合は、周辺環境で漁がされていれば、水揚げした魚の中に組換え魚が混入して市場に出回るリスクがある。 ・ 逸出した組換え魚が妊性を持つ場合は、後代が混入するリスクも考えられる。
設問5. 魚の組換え技術による栄養改変として、どのような種類を想定すればよいか。 例：栄養の量的変化や体サイズの変化、質的変化（脂質成分変化など）	・ 味の変化 ・ 栄養の変化（健康食として） ・ 大型化 ・ ヘルシー志向（高たんぱく低脂質） ・ グルメ志向（高脂質） ・ 肉質改善（いわゆるシェルフライフの延長）など
設問6. 魚はどの程度の体成分改変に耐え	・ 体成分の改変は難しいと考えられるが、脂質については家畜などにくらべてかなり耐性は大きいと考えられる。魚で

設問	回答
られるか。あるいは、ホメオスタシスを考慮した上で、どの程度有意な体成分変化が可能であるか。	は産卵期に体重の半分かくらいが卵で占められるものもあり、脂質含量も大幅に変動するが（天然と養殖でも10倍程度異なるものがある）、生きる上で問題はないようである。
設問7. 魚類の遺伝的安定性について、どのようにモニターすれば良いか。また、組換え魚の遺伝的安定性に関して既存情報があるか。	・ 遺伝子DNAの検出あるいは抗体反応などによる導入部位の情報、コピー数の把握 ・ 一度染色体上に組み込まれても、数代のうちに消える（“サイレンシング”と呼ばれる）ことがあるようである。最近では、特定の配列（インシュレーター）で挟み込むことで、継代中の抜け落ちを防ぐ工夫がなされているようである。 ・ 成長ホルモン遺伝子を導入した組換え魚で世代を重ねるに従って成長促進効果が低下したという論文はある。しかし、それが発現量が落ちたのかコピー数が少なくなったのかというような研究結果は報告はないため、長期間、同条件で飼育しモニター方法を検討するしかないのではないか。
設問8. 魚について、食品としての安全性評価を行う場合に、魚の健康状態を指標として利用できるか。また、現時点において、魚の健康状態に関する指標はあるか。	○魚の健康状態を安全性評価の指標に使えるか： ・ 可能性はある。ただし、あらかじめ、それぞれの養殖魚での正常値を決める必要がある。 ・ 魚は飼育条件（水温、飼育密度など）によって健康状態はすぐに影響される。また、ハンドリングによってもその後の結果が大きく異なる、といった報告もある。指標を用いるのは条件を同じにした場合のみ可能と考えられる。 ・ 一時期、ヒト用の臨床検査キットを使って、養殖魚の健康診断した研究例があったが、最近は減少してきている。 ○健康状態の指標： ・ 血液性状 ・ 遊泳指標 ・ 体色 など
設問9. 養殖における発生異常（頻度を含む）とその外的要因に関するデータはあるか。また、組換えによる発生異常の頻度の質的あるいは量的変化に関するデータはあるか。	○養殖における発生異常と外的要因に関するデータ ・ ニジマスのアルビノ（種苗生産時に飼料が良くないと発生） ・ マダイの脊椎骨数の減少（溶存酸素量の低下や水温の低下により生じる） ・ ヒラメの体色異常溶存酸素量の低下や水温の低下により生じる） ・ サケ・マス類の養殖ではかなりの頻度で異常個体が見つかるため、発生頻度のデータはあると考えられる。 ・ ヒラメやブリなどの海産魚などで餌成分と発生異常の関係を調べた例がある可能性がある。 ・ そのほか栄養条件や過密飼育などの飼育環境により発生異常が発生する可能性がある。 ○組換えによる発生異常の頻度の質的あるいは量的変化に関

設問	回答
	するデータ ・ データなし、定量的なデータはとっていない。 ・ ただし、発生異常が出てもそのような個体は淘汰され、最終的には生存しなくなると考えられる。
設問 10. 魚類のアレルギ ー 物 質 や antinutrient の具体例にはどんなものがあるか。	○魚のアレルギー物質 ・ パルブアルブミン：比較的 low molecular weight のカルシウム結合タンパク質であり筋肉にある。魚類だけでなく脊椎動物であれば持っている。パルブアルブミンの構造解析については研究途上であるが、mRNA の配列はわかっている。 ・ コラーゲン：魚の筋肉に存在するタンパク質であり、無脊椎動物、脊椎動物に限らず持っている。 ○甲殻類（エビ・カニ）のアレルギー物質 ・ トロポミオシン：筋肉に含まれるタンパク質である。トロポミオシンの構造解析については研究途上であるが、mRNA の配列はわかっている。 ○ヒトの antinutrient ・ ヒトの antinutrient については魚ではあまり研究例はないと考えられるが、猫では魚のチアミナーゼによるチアミン分解（ビタミンB不足）が知られている。養殖魚でもかってカタクチイワシを餌として用いたときに、チアミナーゼが問題になったことがある。
設問 11. 魚を保存する際に細菌の作用でアミン類が作られるが、天然魚と比較し養殖によってこのアミン類のリスクが増えた事例はあるか。	・ 事例はないと考えられる。
設問 12. 魚の肉質に影響する要因として、どのようなものが考えられるか。 （例：遺伝形質、餌、環境条件など）	・ 飼料（特に脂肪酸組成は餌の影響が大きいと考えられる） ・ 飼育環境（水温、水流等） ・ 遺伝形質 ・ 季節（産卵期前後の肉質変化は大きい） ・ 性（産卵と関連し雄と雌とで肉質変化が異なる） ・ 成長段階（幼魚や若魚よりも成魚の方が脂がのっている等） ・ ストレス など

3. 遺伝子組換え魚類の安全性確保・評価に 関する検討

3. 遺伝子組換え魚類の安全性確保・評価に関する検討

1章、2章の結果を受け、3章では組換え魚類の研究開発の見通しを整理するとともに、今後、組換え魚類の安全性確保・評価を行う上での課題等をまとめた。

具体的には、種子植物の安全性評価項目と照らし合わせながら、魚類には当てはまりにくい事項、魚類固有の留意点、足りないデータ等について整理した。

3.1 遺伝子組換え魚類の研究開発の見通し

現在、北米を中心に国内外で遺伝子組換え魚類の開発が行われている。その現状と今後の展望は表3-1の通りである。

組換えが成功し、実用化段階に達しているのは成長ホルモン遺伝子を導入して成長を促進させたサケなどが中心で、当面は成長促進を中心に組換え魚類の実用化が進むと考えられる。これ以外には耐病性の向上を目指した研究も進められており、将来的な実用化が期待される。

栄養改変についての研究も進められているが、基礎研究段階である。また、後述するように魚体の成分組成は餌や養殖条件等の影響を強く受けるため、組換えによる栄養改変がどこまで可能なのかについても今後の研究の推移を見守る必要がある。

表3-1 今後の組換え魚類の開発展望

No.	組換え体の種類・開発目的	導入遺伝子	開発によるメリット			開発段階				備考
			生産者メリット	消費者メリット	その他	研究例なし	基礎研究	応用研究	実用化段階 審査中	
1	成長促進	成長ホルモン遺伝子	・養殖期間の短縮、コスト低減	・安価で大型の魚類の食利用					◎	魚類の組換え体開発の大部分を占める
2	低温耐性の向上	抗凍結タンパク	・養殖における低水温への適応性の向上					○		最近はまだ研究例なし?
3	低酸素耐性の向上	ヘモグロビン遺伝子	・養殖における低酸素濃度への適応性の向上			×				アイデアレベル
4	脂肪酸代謝の改変	Δ5, Δ6-desaturase等	・魚類中の残留DXNの低下	・DHA/EPAリッチな魚類の食利用			○			直接の食用ではなく、飼料としても利用可能
		その他脂肪酸代謝酵素(鎖長の延長等)		・栄養特性の向上			○			
5	肉質の改良	コラーゲン分解酵素インヒビター(TIMP)	・魚肉の保存性向上	・魚肉の保存性向上			○			
6	窒素排出量の削減	成長ホルモン遺伝子			・養殖による環境負荷低減		○			
7	炭水化物の代謝経路改変	グルコーストランスポーター グルコヘキシキナーゼ等	・養殖における餌利用効率の向上		・養殖による環境負荷低減		○			
8	リンの代謝改変	リン代謝関連遺伝子	・養殖時の環境負荷低減		・養殖による環境負荷低減	×				フィターゼ遺伝子導入ブタの例がある
9	耐病性の向上	抗微生物ペプチド遺伝子等	・魚病による損失の削減	・魚類の価格安定化			○			
10	機能性食品	機能成分に係る代謝経路遺伝子		・食品中の健康機能性成分の増強		×				魚類由来の各種機能性成分の向上?
		機能性ペプチド、その他		同上		×				例)海藻由来の有用成分をもった魚
11	光る観賞魚	GFP等		新奇の観賞魚					◎	非食用
12	環境モニタリング用組換え魚類	環境汚染物質感受性遺伝子+レポーター遺伝子(GFP等)			・環境モニタリングの簡素化				◎	非食用
13	魚卵による医薬品等製造	生理活性物質関連遺伝子	・医薬品の製造コスト低下 (大量生産、低温での生産、糖鎖のプロセスニング等)	・医薬品の価格低下			○			原則として非食用 卵を機能性食品として利用する可能性あり?

凡例) ◎: 遺伝子導入が成功し、実用化段階に入っているもの。 ○: 遺伝子導入に成功したが、実用化にはなお時間を要すると考えられるもの。 ×: アイデア段階

※これ以外には、魚類の遺伝子組換えではないが、魚類の腸内細菌にセルラーゼの遺伝子を導入し、セルロースを餌として利用するアイデアがある。

※網掛けは非食用分野における組換え体の開発

3. 2 遺伝子組換え魚類の安全性確保・評価についての課題

(1) 遺伝子組換え魚類の安全性についての基本的考え方

魚類は、植物におけるアルカロイドのような二次代謝産物を持たないことから、魚類固有の成分で健康影響に直接的な危害を与えるような物質は少ないと予想される。

ただし、フグ毒のようなエサ由来の有毒成分や重金属、ダイオキシンなど、食物連鎖の過程で生物濃縮される有害物質が多数知られていることから、それらに対する十分な検討が必要である。

そもそも魚類は農作物のような品種が確立しておらず、養殖魚と言っても天然魚と特に変わるものではなく、また個体間の遺伝的な変異も大きい。

上記のことも含め、餌、養殖条件が魚類の体成分組成に影響を与えることが知られているが、それに関するデータは十分ではない。

(2) 組換え魚類の安全性評価の枠組み

基本的には遺伝子組換え植物（種子植物）の評価の枠組みを利用して評価を行うことになるが、魚類の組換え体に付随する以下の点について十分な検討が必要である。

- 植物ではアグロバクテリウム法により目的遺伝子をシングルコピーのみ導入した組換え体が主流となっている。一方、魚類の遺伝子導入法はマイクロインジェクションが主流であるが、この方法では、細胞質に大量の遺伝子を注入するため、遺伝子が染色体の複数個所にマルチコピーで導入されることが多い。また、導入された遺伝子の後代での安定性について十分なデータが蓄積されていない。
- 品種が確立していないため、組換え魚類との比較対象となる conventional counterpart についてのデータの蓄積が必ずしも進んでいない。ただし、この点については、strain毎に同じ条件で比較することにより問題を解決できる。
- 上記に関連して、生息環境（水温、水流等）、餌、季節（産卵期前後の肉質変化は大）、性（産卵と関連し、雄と雌とで肉質変化が異なる）、成長段階（幼魚や若魚よりも成魚の方が脂がのっている等）、遺伝形質、ストレスにより体成分が大きく変動する点
- 筋肉だけでなく、内臓、骨を含めて魚体の様々な部位が食用に供される点

その他、安全性評価においては以下の項目について留意が必要である。

- 意図した改変と直接関係する問題
 - 導入遺伝子の性質に付随して起こる問題
- 意図しない変化
 - 代謝の変化による有害成分の吸収と蓄積

- アレルギー物質の量的質的变化
- 病気になりやすいか
- 毒性物質を産生する細菌との共生関係の変化
- 飼育方法が変化した場合にこれに伴う問題
 - 使用する餌の変化
- 調理方法が変化した場合にこれに伴う問題

平成16年1月29日に食品安全委員会が決定した遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準と対応させて、魚類の安全性評価における留意点・参考事項を表3-2に整理した。

（3）今後必要なデータと研究

遺伝子組換え魚類の実用化が迫っていることから、以下の点について研究を行い、データを蓄積することが必要である。

- 魚類の成分組成等と遺伝形質、養殖条件等による変化についてのさらなる研究データの蓄積
- 魚類固有の毒性成分（特に遺伝子改変により影響を受ける可能性のあるもの）についての研究

表3-2 遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準の概要と魚類の安全性評価との関連（1）

評価項目	概要	魚類の評価における留意点・参考事項
第1 安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項		
1. 宿主及び導入DNAに関する事項	(1) 宿主の種名（必要に応じて亜種名、品種名、系統名）及び由来 (2) DNA供与体の種名（必要に応じて亜種名、品種名、系統名）及び由来 (3) 挿入DNAの性質及び導入方法	・魚類の場合、品種が確立しておらず、養殖でも天然魚との違いは少なく、遺伝的なバリエーションが大きい。 ・成長段階の違い、養殖条件による生育の違い等も勘案した上で、どのように比較対象を設定するか。
2. 宿主の食経験に関する事項		
3. 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項	(1) 宿主の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要 (2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質等の種類及びその量の概要	・魚類の場合、農作物とは異なり、成分組成等についてのデータベース作成が遅れている。また、養殖条件（pH、温度等）により、肉質なども異なり得る。
4. 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項	(1) 収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法 (2) 摂取（可食）部位 (3) 摂取量 (4) 調理及び加工方法	
5. 宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項		
6. 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項		
第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項		
第3 宿主に関する事項		
1. 分類学上の位置付け等（学名、品質名及び系統名等）に関する事項	学名、品種名及び系統名が明らかであり、その植物が食用に利用されてきた歴史（食文化）及び広範囲なヒトでの安全な食経験があること。	・魚類の場合、品種が確立していない。
2. 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項	宿主の遺伝的先祖が、毒性物質及び栄養阻害物質等の有害生理活性物質を産生する植物であるか否かが明らかであること。	・魚類の毒は餌由来の化学物質が蓄積された結果によるものが多い。
3. 有害生理活性物質の生産に関する事項 → 有害生理活性物質の吸収・蓄積に関する事項	宿主が有害生理活性物質を産出する場合、その種類、作用及び量が明らかであること。	・魚類の場合、有害生理活性物質の吸収・蓄積に読み替える。 ・魚類の毒は餌由来の化学物質が蓄積されたものが多く、組換えたことによる影響はさほど生じないと考えられる。ただし、有害物質（水銀、ダイオキシン等）の蓄積量の変化、部位別の存在量の変化については確認が必要。
4. アレルギー誘発性に関する事項	当該組換え体の開発に用いた宿主のアレルギー誘発性に関する知見が明らかであること。	・魚類のアレルギーは最近かなり報告されており、バルブアルブミン、コラーゲン等がアレルゲンとして知られている。
5. 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項	当該遺伝子組換え食品（種子植物）の開発に用いた宿主に感染する病原体が知られている場合は、当該病原体はヒトに対する病原性が知られていないか又はヒトに対する病原性を担う遺伝子が含まれていないこと。	
6. 安全な摂取に関する事項	当該組換え体の開発に用いた宿主に、安全な摂取のために用いられた加工・技術的な経緯がある場合、それが明らかであること。	
7. 近縁の植物種に関する事項	有害生理活性物質を産生するものがある場合、その有害生理活性物質が当該組換え体においても産生されているか否かが明らかであること。	・魚類の毒は餌由来の化学物質が蓄積されたものが多く、組換えたことによる影響はさほど生じないと考えられる。ただし、有害物質（水銀、ダイオキシン等）の蓄積量の変化、部位別の存在量の変化については確認が必要。
第4 ベクターに関する事項		
1. 名称及び由来に関する事項	遺伝子導入のために利用されたプラスミド等のベクターの名称及び由来が明らかであること。	
2. 性質に関する事項	(1) DNAの塩基数及びその塩基配列を示す事項 (2) 制限酵素による切断地図に関する事項 (3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項 (4) ベクター中に、薬剤耐性遺伝子が含まれている場合は、その遺伝子の性質が明らかであること。 (5) 伝達性に関する事項	・魚類の組換え体開発の場合、薬剤耐性遺伝子をマーカーに用いることは少ない。
第5 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項		
1. 挿入DNAの供与体に関する事項	(1) 名称、由来及び分類に関する事項 (2) 安全性に関する事項	・最近ではall-fishの遺伝子で組換え体を作製することが主流になりつつある。
2. 挿入DNA又は遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む）及びその遺伝子産物の性質に関する事項	(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項 (2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項 (3) 挿入遺伝子の機能に関する事項 (4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項	・魚類の組換え体開発の場合、薬剤耐性遺伝子をマーカーに用いることは少ない。
3. 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項	(1) プロモーターに関する事項 (2) ターミネーターに関する事項 (3) その他、挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかであること。	

表3-2 遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準の概要と魚類の安全性評価との関連（2）

評価項目	概要	魚類の評価における留意点・参考事項
4. ベクターへの挿入DNAの組込方法に関する事項	ベクターへの挿入DNAの組込方法が明らかであること。	
5. 構築された発現ベクターに関する事項	(1)塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項 (2)原則として、最終的に宿主に導入されたと考えられる発現ベクター内の配列には、目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと。 (3)宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域が発現ベクター上で明らかであること。 (4)導入しようとする発現ベクターは、目的外の遺伝子の混入がないよう鈍化されていること。	
6. DNAの宿主への導入方法及び交配に関する事項	DNAの宿主（植物体）への導入方法が明らかであること。	魚類への遺伝子導入法はマイクロインジェクションが主流
第6 組換え体に関する事項		
1. 遺伝子導入に関する事項	(1)コピー数及び挿入近傍配列に関する事項 (2)オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項	魚類の場合、マイクロインジェクションが主流であり、導入遺伝子の安定性のデータも少ないことから、記述内容について検討が必要。
2. 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項	導入された遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む）由来の遺伝子産物の定量方法があり、発現部位、発現時期及び発現量が明らかであること。	
3. 遺伝子産物（タンパク質）が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項	遺伝子産物がヒトのタンパク質一日摂取量の有意な量を占めるかについて推計されており、原則として、当該摂取量の有意な量を占めていないこと。有意な量を占めている場合は、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。	魚類の場合、主食ではないため、この項目に必要性についてはさらに検討が必要。
4. 遺伝子産物（タンパク質）のアレルギー誘発性に関する事項（抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いている場合にはその遺伝子産物（抗生物質代謝酵素）についても評価すること）	(1)導入遺伝子の供与体（抗生物質耐性マーカー遺伝子供与体を含む）のアレルギー誘発性（グルテン過敏性腸炎誘発性を含む、以下同じ）に関する知見が明らかにされていること。 (2)遺伝子産物（タンパク質）についてそのアレルギー誘発性に関する知見が明らかにされていること。 (3)遺伝子産物（タンパク質）の物理化学的処理に対する感受性に関する事項 (4)遺伝子産物（タンパク質）と既知のアレルゲン（グルテン過敏性腸疾患に関与するタンパク質を含む、以下アレルゲン等）との構造相同性に関する事項 (5)遺伝子産物（タンパク質）のIgE結合能の検討	魚類の場合、グルテン過敏性腸炎誘発性に関する記述は該当しない。
5. 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項	安定性を判断するに足る複数の後代世代において、栽培試験の結果、サザンブロットイング法及びウェスタンブロットイング法等により、導入された遺伝子の構造、発現部位及び発現量が変化せず、安定性を確認することができること。	魚類は選作物よりも一般に世代時間が長い。何世代までのデータを提出すれば良いか（3世代×〇年？）
6. 遺伝子産物（タンパク質）の代謝経路への影響に関する事項（在来種中の基質と反応する可能性に関する事項を含む）	導入した遺伝子から生産されるタンパク質が酵素である場合は、その基質特異性が明らかにされており、原則として基質特異性が高いこと。また遺伝子導入によって結果的に基質特異性に变化が生じていないことを合理的に示す理由を提示すること。	毒素（フグ毒等）や有機水銀等の蓄積に関するデータの必要性について検討が必要
7. 宿主との差異に関する事項	組換え体に存在する栄養素や、毒性物質、栄養阻害物質等の有害生理活性物質等について、宿主を含めた既知の非組換え体と比較したデータにより、有意な差があるかどうか明らかにされており、原則として有意差がないこと。	魚類の成分組成については、農作物のようなデータベースがまだ構築されていない。 品種が確立しておらず、魚体間の変動も非常に大きくなることが予想される。
8. 諸外国における認可、食用等に関する事項	諸外国における認可状況に関する情報が明らかにされていること。また、食用として利用されているか否かに関する情報が明らかにされていること。	
9. 栽培方法に関する事項		
10. 種子の製法及び管理方法に関する事項		
第7 第2から第6までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要事項		

参 考 資 料

遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価基準

第1章 総則

第1 評価基準作成に至る背景

厚生省（当時）の「組換えDNA技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針（平成3年策定）」に基づき、平成6年に初めて遺伝子組換え技術を利用して作製された食品添加物の安全性の確認がなされ、平成8年には、種子植物に由来する遺伝子組換え食品の安全性の確認がなされた。以来、多くの遺伝子組換え食品及び食品添加物の安全性確認が行われてきた。さらに、食品衛生法の規定に基づく食品、添加物の規格基準の改正により、平成13年4月より、遺伝子組換え食品等の安全性審査が法的に義務付けられることとなった。一方、国際的にも、コーデックス委員会において遺伝子組換え食品の安全性評価の実施に関するガイドライン等が作成されるに至った。平成15年7月、食品安全委員会の新設とともに、遺伝子組換え食品及び食品添加物の安全性評価が、厚生労働省の意見の求めに応じて、食品安全委員会においてなされることとなった。本基準は、食品安全委員会における遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性を評価するために必要とされる原則等を国内外のガイドラインなどを基本に、評価基準としてまとめたものである。

第2 定義

1 組換えDNA技術

酵素等を用いた切断及び再結合の操作によって、DNAをつなぎ合わせた組換えDNA分子を作製し、それを生細胞に移入し、かつ、増殖させる技術（自然界における生理学上の生殖又は組換えの障壁を克服する技術であって伝統的な育種及び選抜において用いられない技術に限る。）

2 宿主

組換えDNA技術において、DNAが移入される生細胞及び個体

3 ベクター

目的とする遺伝子又はDNAを宿主に移入し、増殖させ、又は発現させるため当該遺伝子を運搬するDNA

4 挿入遺伝子

ベクターに挿入される遺伝子

5 挿入DNA

ベクターに挿入されるDNA

6 供与体

挿入DNAを提供する微生物又は動植物等

7 発現ベクター

新たな形質を賦与させるために構築された挿入遺伝子又はDNAを含むベクター

8 組換え体

組換えDNAを含む宿主

9 遺伝子産物

挿入遺伝子の塩基配列から予想されるRNA又はタンパク質

10 遺伝子組換え食品（種子植物）

組換えDNA技術を応用して得られた種子植物に由来する食品

第3 対象となる食品及び目的

本基準は、遺伝子組換え食品（種子植物）を対象とし、当該食品の安全性評価を行うに当たって必要とされる評価の基準を定めることを目的とする。また、遺伝子組換え食品（種子植物）の研究開発・製造及び上市における環境、倫理、道徳、社会経済に係る事項の審査を目的とするものではない。

第4 遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価の原則と基本的な考え方

遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価に当たっては、その食品がヒトの健康に及ぼす直接的な有害性の他に、その食品を長期摂取した場合の栄養学的な悪影響も考慮する必要がある。しかし、現在摂取されている多くの食品は、長期にわたる食経験に基づきその有害性がないか、又は限られている、あるいは調理・加工により許容し得るものとなっていることが明らかとされてきたものである。また、従来の育種の結果得られた食品に関しても、毒性学的又は栄養学的な安全性試験が課せられてきた訳ではなく、殆どの場合、育種の結果が安全性に係る重大な形質の変化を伴わないという経験に基づき使用されてきたものである。一般的に、食品の安全性を食品そのままの形で、従来の動物を用いる毒性試験によって評価することには、大きな技術的困難が伴い、通常は用いられない。また、当該食品の個別の構成成分の全てに関して、安全性が科学的に証明されているものではない。即ち、これらの食品の多くは、食品の個々の構成成分としてではなく、食品全体として、経験的にその安全性が確認されたものであるか、重大な健康被害を及ぼさないことが知られたものである。

遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性評価においても、個別の成分の全てに関して、安全性を科学的に評価することは困難である。従って、現時点では、既存の食品との比較において、意図的又は非意図的に新たに加えられ又は失われる形質に関して、安全性評価を行うことが合理的である。非意図的に新たな変化が生じる可能性は、必ずしも、組換えDNA技術の使用に限ったことではなく、従来の育種においても発生しうる。しかし、組換え植物（組換え体）の食品としての安全性を評価する上で、非意図的な変化の評価及びその可能性の予測は重要と

されよう。それは、その安全性に係る長期にわたる経験のない新しい技術に関しては、その技術により非意図的にもたらされた形質の変化に基づき、有害成分が劇的に変化したり、新たな毒性タンパク質が生成する可能性がより高まることを可能な限り予め排除する必要があるからである。

安全性評価は、遺伝子組換え食品（種子植物）の性質の変化が、導入されたDNA（遺伝子）の性質又はそれが挿入されたゲノムにおける変化に基づき、科学的に十分に予測することが可能であり、新たな遺伝子を導入する前の種子植物（宿主）等と導入後の種子植物（組換え体）の相違を十分に比較しうる時に、初めて可能となるものである。

以上のような原則に立って、以下の基本的な考え方に従って、安全性の評価を行う。

- 1 遺伝子組換え食品（種子植物）の食品としての安全性評価が可能とされる範囲は、食経験のある宿主又は従来品種並びに食品（既存の宿主等）との比較が可能である場合とする。その理由は、組換え体において新たに变化した形質以外の性質については、既にその安全性が広く受け入れられており、改めて考慮する必要がないか、又は、その安全性の評価を行う上で必要とされる知見等の蓄積が十分になされていると考えられるためである。
- 2 安全性評価に当たって考慮されるべき最も主要な点は、組換えDNA技術の応用に伴い、新たに意図的に付加・改変・欠失された形質、新たに生じ得る有害成分の増大などのリスク及び主要栄養成分などの変化が及ぼすヒトへの健康影響である。さらに、組換えDNA技術によって栄養素、機能性成分、あるいは有害成分の含量変化を意図して作出された組換え体においては、これらの栄養素等のその他の食品における含量と摂取量を勘案し、ヒトの健康に安全性面での問題がないことを評価する必要がある。
- 3 遺伝子組換え食品（種子植物）の安全性に関しては、組換えDNA技術によって種子植物に付加されることが予想される全ての性質の変化について、その可能性を含めて安全性評価を行う。例えば、DNA配列の挿入により植物に特定の形質（意図的な影響）が賦与されると同時に、余分な形質が賦与されたり、既存の形質が失われたり、又は修飾される場合がありうる（非意図的な影響）。非意図的な影響は、植物の健全性又は植物由来食品の安全性について有害であったり、有益であったり、又はどちらでもない可能性があるが、意図的及び非意図的な形質の賦与又は変化によってもたらされる事象に関して、毒性学的及び栄養学的観点から個別に評価し、さらに、食品としての安全性を総合的に判断することが必要とされる。このような安全性評価に当たっては、遺伝子組換え食品（種子植物）がヒトの健康に対し予期せぬ有害影響を与える可能性を最小限とするための十分なデータ又は情報が必要とされる。
- 4 遺伝子組換え食品（種子植物）については、家庭での調理を含め、食品加工の

性評価を行う上で必要とされる比較対象として、既存の宿主等が存在すること、並びに、6における組換え体と宿主等の相違点が明確であることが必要とされる。

1 宿主及び導入DNAに関する事項

- (1) 宿主の種名（必要に応じて亜種名、品種名、系統名）及び由来
- (2) DNA供与体の種名（必要に応じて亜種名、品種名、系統名）及び由来
- (3) 挿入DNAの性質及び導入方法

2 宿主の食経験に関する事項

3 宿主由来の食品の構成成分等に関する事項

- (1) 宿主の可食部分の主要栄養素等（タンパク質、脂質等）の種類及びその量の概要
- (2) 宿主に含まれる毒性物質・栄養阻害物質（栄養素の消化・吸収等を阻害する物質。例えば、トリプシンインヒビター、フィチン酸等）等の種類及びその量の概要

4 宿主と組換え体との食品としての利用方法及びその相違に関する事項

- (1) 収穫時期（成熟程度）と貯蔵方法
- (2) 摂取（可食）部位
- (3) 摂取量
- (4) 調理及び加工方法

5 宿主以外のものを比較対象に追加して用いる場合、その根拠及び食品としての性質に関する事項

6 安全性評価において検討が必要とされる相違点に関する事項

当該遺伝子組換え食品（種子植物）と比較対象となり得る既存の宿主等があると判断されれば、それとの比較において、第2以下の各事項に掲げられた項目に沿って審査を行う。

第2 組換え体の利用目的及び利用方法に関する事項

組換え体の利用目的及び利用方法が明らかであること。

第3 宿主に関する事項

1 分類学上の位置付け等（学名、品種名及び系統名等）に関する事項

学名、品種名及び系統名が明らかであり、その植物が食用に利用されてきた歴史（食文化）及び広範囲なヒトでの安全な食経験があること。

2 遺伝的先祖並びに育種開発の経緯に関する事項

宿主の遺伝的先祖が、毒性物質及び栄養阻害物質等の有害生理活性物質を産生する植物であるか否かが明らかであること。有害生理活性物質を産生する植物であった場合、可能な限り、育種開発過程においてどのようにしてこれら毒素及び栄養阻害物質等の有害生理活性物質の生産を低下・消失させてきたのかを明らかにすること。

影響も検討する必要がある。例えば、加工後に内因性毒素の熱安定性や重要な栄養素等の生体利用率に変化が起きる可能性もある。従って、製造における加工条件及び食品成分の変化を示す情報も提供される必要がある。例えば、植物油であれば、抽出過程やその後の精製段階に関する情報が必要とされる。

- 5 組換え体が、残留農薬及びその代謝産物、毒性代謝産物、汚染物質、その他ヒトの健康に影響を与えるおそれのある物質を間接的に蓄積させる可能性を生じる形質（除草剤耐性など）を示す場合もありうる。安全性評価ではこのような可能性も考慮すべきである。
- 6 安全性の評価においては、当該種子植物の食品として利用される可能性がある部位について検討する。例えば、菜種油のように、一般に組換え体からの抽出物のみを食する場合であっても、抽出物以外のものを食する可能性がある場合には、その点も考慮して、組換え体の安全性評価を行う必要がある。
- 7 安全性評価のために行う試験は、科学的に信頼できる概念と原則に従うと共に、必要に応じGLPに従って計画・実施されるべきである。また、原データは要求に応じて提出されるべきである。安全性評価に必要とされるデータ又は情報としては、開発者等が作成する実験データの他に、既に公開された科学論文や、第三者からの情報等があるが、それらのデータは科学的に信頼できる方法を用いて入手し、適切な統計学的技術を用いて解析されている必要がある。また、分析方法には可能な限り定量下限値が示されるべきである。
- 8 安全性評価では、遺伝子組換え食品（種子植物）に新たに発現される物質の試験に際し、その物質の製法又は起源が異なるものの利用が必要となる場合もある。その際は、試験に用いられる物質が、生化学的、構造的及び機能的に組換え体で生成されたものと同等であることが示されるべきである。
- 9 現在、抗生物質耐性マーカーとして使われているカナマイシン耐性遺伝子等は、適切に安全性の評価がなされたものであり、直ちに安全性上問題となるものではない。なお、今後の遺伝子組換え食品（種子植物）の開発においては、安全性が十分に評価され、かつ抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いない形質転換技術を容易に利用できる場合には、その技術を用いることも考慮されるべきである。
- 10 組換えDNA技術については、日々進歩しているものであり、本安全性評価基準に関しても、技術の進歩に伴って、必要に応じた見直しを行っていく必要がある。

第2章 遺伝子組換え食品（種子植物）の全部又は一部を食品として用いる場合の安全性評価基準

第1 安全性評価において比較対象として用いる宿主等の性質及び組換え体との相違に関する事項

次の1から5までの事項の概略を示し、遺伝子組換え食品（種子植物）の安全

3 有害生理活性物質の生産に関する事項

宿主が有害生理活性物質を産生する場合、その種類、作用及び量が明らかであること。

4 アレルギー誘発性に関する事項

当該組換え体の開発に用いた宿主のアレルギー誘発性（グルテン過敏性腸疾患誘発性を含む。）に関する知見が明らかであること。

5 病原性の外来因子（ウイルス等）に汚染されていないことに関する事項

当該遺伝子組換え食品（種子植物）の開発に用いた宿主に感染する病原体が知られている場合は、当該病原体はヒトに対する病原性が知られていないか又はヒトに対する病原性を担う遺伝子が含まれていないこと。

6 安全な摂取に関する事項

当該組換え体の開発に用いた宿主に、安全な摂取のために用いられた加工・技術的な経緯がある場合、それが明らかであること。（そのような例としては、シアン含有雑豆がある。）

7 近縁の植物種に関する事項

当該組換え体の開発に用いられた宿主の近縁種において、有害生理活性物質を産生するものがある場合、その有害生理活性物質が当該組換え体においても産生されているか否かが明らかであること。なお、当該組換え体にその有害生理活性物質が産生されている場合は、その摂取量等を基に安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

第4 ベクターに関する事項

1 名称及び由来に関する事項

遺伝子導入のために利用されたプラスミド等のベクターの名称及び由来が明らかであること。

2 性質に関する事項

(1) DNAの塩基数及びその塩基配列を示す事項

DNAの塩基数及び塩基配列が明らかであること。さらにその塩基配列が公開されている場合には、公開データベースにおける登録番号が明らかであること。

(2) 制限酵素による切断地図に関する事項

ベクターの切断地図が明らかにされていること。この場合、用いた制限酵素の名称の他、断片の数、サイズなどが明らかにされていること。

(3) 既知の有害塩基配列を含まないことに関する事項

既知の有害なタンパク質を産生する塩基配列が含まれていないこと。

(4) ベクター中に、薬剤耐性遺伝子が含まれている場合は、その遺伝子の性質が明らかであること。

(5) 伝達性に関する事項

原則として、伝達性（ベクターが宿主から他の生物へ自ら移動できる性質）がないこと。伝達性がある場合は、伝達域が明らかであること。

第5 挿入DNA、遺伝子産物、並びに発現ベクターの構築に関する事項

1 挿入DNAの供与体に関する事項

(1) 名称、由来及び分類に関する事項

名称、由来及び分類が明らかであること。

(2) 安全性に関する事項

- ・挿入DNAの供与体は、ヒトに対する病原性及び毒素産生性が知られていないものであること。また、大腸菌 (*E. coli*) のように病原性がある株が知られている場合、病原性がない株に由来することが明らかであること。
- ・供与体に病原性又は毒素産生性があることが知られている場合、挿入DNA自身に毒素産生性がなく、挿入DNA由来のタンパク質に病原性がないことが明らかであること。
- ・挿入遺伝子の供与体に関して、安全な摂取の経験の有無が明らかにされていること。

2 挿入DNA又は遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。）及びその遺伝子産物の性質に関する事項

(1) 挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法に関する事項

挿入遺伝子のクローニング若しくは合成方法が明らかであること。

(2) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

宿主に導入しようとするDNA断片について、塩基数及び塩基配列が明らかであること。また切断地図が明らかにされ、制限酵素の名称、断片の数、サイズなどが明らかにされていること。

(3) 挿入遺伝子の機能に関する事項

挿入遺伝子の機能及び挿入遺伝子から産生される遺伝子産物（RNA及びタンパク質）の性質、機能等が明らかであり、そのタンパク質が有害作用をもたないと判断できる合理的な理由があること。なお、挿入遺伝子の転写・翻訳の後、生成されるタンパク質が植物細胞内で切断・消化される場合には、それらの生成物に関しても上記が明らかであること。挿入遺伝子から産生されるタンパク質と既知の毒性タンパク質との構造相同性に関する検索方法及び検索結果が明らかにされており、原則として、構造相同性がないこと。仮に構造相同性がある場合は、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

(4) 抗生物質耐性マーカー遺伝子に関する事項

- ・抗生物質の使用法（経口、静注等）が明らかであること。
- ・耐性発現の機序が明らかであること。

- ・耐性発現に関連する代謝物質が安全性に問題のないものであると判断できる合理的な理由があること。
- ・耐性の対象となる抗生物質の使用状況（使用方法、使用量、使用目的等）が明らかであること。

3 挿入遺伝子及び薬剤耐性遺伝子の発現に関わる領域に関する事項

(1) プロモーターに関する事項

用いたプロモーターの由来、性質等が明らかであること。

(2) ターミネーターに関する事項

用いたターミネーターの由来、性質等が明らかであること。

(3) その他、挿入遺伝子の発現制御に関わる塩基配列を組み込んだ場合には、その由来、性質等が明らかであること。

4 ベクターへの挿入DNAの組込方法に関する事項

ベクターへの挿入DNAの組込方法が明らかであること。具体的には、

- ・宿主植物へ導入する発現ベクターの作製方法。特に複数の遺伝子及び遺伝子断片を結合しようとする場合には、その作製方法も記載すること。
- ・ベクターにプロモーター、オープンリーディングフレーム、ターミネーター、ならびに薬剤耐性遺伝子を導入した順序及び方法が明らかであること。

5 構築された発現ベクターに関する事項

(1) 塩基数及び塩基配列と制限酵素による切断地図に関する事項

構築された発現ベクターについて、挿入DNAの塩基数及び塩基配列が明らかであること。また切断地図が明らかにされ、制限酵素の名称、断片の数、サイズなどが明らかにされていること。

(2) 原則として、最終的に宿主に導入されると考えられる発現ベクター内の配列には、目的以外のタンパク質を組換え体内で発現するオープンリーディングフレームが含まれていないこと。

仮に、目的以外のタンパク質を発現する可能性のある遺伝子が含まれている場合は、当該遺伝子及びその遺伝子が発現するタンパク質は安全性に問題のないと判断できる合理的な理由があること。

(3) 宿主に対して用いる導入方法において、意図する挿入領域が発現ベクター上で明らかであること。

(4) 導入しようとする発現ベクターは、目的外の遺伝子の混入がないよう純化されていること。

6 DNAの宿主への導入方法及び交配に関する事項

DNAの宿主（植物体）への導入方法が明らかであること。具体的には、

- ・DNAの宿主への導入方法
- ・選抜方法（DNAが導入された宿主を選抜する方法）
- ・植物体としての再生方法

が明らかであること。また、育種過程を示す樹形図等により、安全性評価を受けようとしている系統を特定すること。

第6 組換え体に関する事項

1 遺伝子導入に関する事項

(1) コピー数及び挿入近傍配列に関する事項

宿主に導入された遺伝子の塩基配列、大きさ及び由来が明らかであること。

宿主に導入されたDNAの構造とコピー数（遺伝子はどのように挿入されたのか、導入された遺伝子はどのような構造になっているのか、導入遺伝子は1個だけかそれとも重複して入っているか、導入遺伝子に欠失があるか等）が明らかであること。

宿主に挿入されたDNAの近傍のDNA配列を明らかにするとともに、その挿入によって宿主の遺伝子配列の変化が生じる可能性がないことを可能な限り明らかにすること。また、その結果、遺伝子配列の変化が生じていた場合には、安全性に問題がないことを明らかにすること。

(2) オープンリーディングフレームの有無並びにその転写及び発現の可能性に関する事項

・原則として、宿主に導入されたDNAにおいても、目的以外のタンパク質を発現するオープンリーディングフレームが含まれていないと判断できる合理的な理由があること。特に遺伝子導入の際に突然変異、欠失やリアレンジメントが生じた場合、それによってオープンリーディングフレームがどのように変化したかが明らかであること。なお、その確認に当たっては、目的のタンパク質以外のタンパク質を発現する可能性がないことがノーザンブロットティング法、RT-PCR法等を用いて確認できていること。

・仮に、目的以外のタンパク質を発現する可能性のあるオープンリーディングフレームが含まれている場合は、当該遺伝子及びその遺伝子が発現するタンパク質の安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

2 遺伝子産物の組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量に関する事項

導入された遺伝子（抗生物質耐性マーカー遺伝子を含む。）由来の遺伝子産物の定量方法があり、発現部位、発現時期及び発現量が明らかであること。

組換え体内における発現部位、発現時期及び発現量の変化等に関する考察が行われており、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

3 遺伝子産物(タンパク質)が一日蛋白摂取量の有意な量を占めるか否かに関する事項

遺伝子産物がヒトのタンパク質一日摂取量の有意な量を占めるかについて推計されており、原則として、当該摂取量の有意な量を占めていないこと。有意な量を占めている場合は、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。

・抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いている場合には、その発現タンパク質(抗生物質代謝酵素)の摂取量、さらに、第6 4 (3)の項で明らかにされている人工胃液・腸液による分解及び加熱などの調理過程における分解量、抗生物質の使用状況等から検討した抗生物質の不活化に伴う問題がないと判断できる合理的な理由があること。

4 遺伝子産物(タンパク質)のアレルギー誘発性に関する事項(抗生物質耐性マーカー遺伝子を用いている場合にはその遺伝子産物(抗生物質代謝酵素)についても評価すること。)

次の(1)から(4)までの事項から総合的に判断して安全性が確認されること。なお、(1)から(4)までの事項で判断できない場合には、(5)の事項を含め、総合的に判断して安全性が確認されることが必要である。また、合理的な理由がある場合には、一部を省略することができる。

(1) 挿入遺伝子の供与体(抗生物質耐性マーカー遺伝子供与体を含む。)のアレルギー誘発性(グルテン過敏性腸炎誘発性を含む。以下同じ。)に関する知見が明らかにされていること。

(2) 遺伝子産物(タンパク質)についてそのアレルギー誘発性に関する知見が明らかにされていること。

(3) 遺伝子産物(タンパク質)の物理化学的処理に対する感受性に関する事項

以下の①から③の処理によって、遺伝子産物(タンパク質)の分子量、酵素活性、免疫反応性等が変化するかどうか明らかにされていること。分子量はSDS ポリアクリルアミドゲル電気泳動によって示されていること。免疫反応性は処理前の遺伝子産物(タンパク質)に対するポリクローナル抗体を用いてウェスタンブロッティング法及びELISA法あるいはこれらと同等の方法によって示されていること。

① 人工胃液による酸処理及び酵素(ペプシン)処理

② 人工腸液によるアルカリ処理及び酵素(パンクレアチン)処理

③ 加熱処理;加熱条件はヒトが経口摂取する際に処理される場合と同等の条件で行う。

(4) 遺伝子産物(タンパク質)と既知のアレルゲン(グルテン過敏性腸疾患に関与するタンパク質を含む。以下アレルゲン等。)との構造相同性に関する事項

遺伝子産物(タンパク質)について、既知のアレルゲン等と一次構造を比較し、

既知のアレルゲン等と構造相同性を有しないこと（抗原決定基（エピトープ）を示す可能性のある配列を明らかにするためには、アミノ酸配列に関する相同性検索などを実施する必要がある。）。その際、用いたアレルゲンデータベースの名称、検索条件、検索方法、検索結果を明らかにすること。

(5) 遺伝子産物（タンパク質）のIgE結合能の検討

(1) から (4) までの事項等により、ヒトの健康を損なう恐れがないと判断できない時は、遺伝子産物（タンパク質）のIgE結合能を検討すること。

使用するアレルギー患者血清の選択は、下記の①から④のいずれかで行う。

- ① 挿入遺伝子の供与体がアレルギー誘発性を持つ場合はその供与体に対する特異的IgE抗体価が高値な血清、
- ② 既知アレルゲンとの構造相同性が認められた場合は当該アレルゲンを含む生物に対する特異的IgE抗体価が高値な血清、
- ③ 既知のアレルゲンとの構造相同性が示されないが、上記(1)～(3)の項目で、アレルギー誘発性を否定しきれない場合は、遺伝子供与体の近縁種生物に対して特異的IgE抗体価が高値な血清、
- ④ ①から③で適切な血清が得られない場合は、主要なアレルゲン(卵、ミルク、大豆、米、小麦、そば、たら、えび及びピーナッツ)に対して特異的IgE抗体価が高値な血清を用いる。

挿入遺伝子の供与体がアレルギー誘発性を持つ場合で、遺伝子産物（タンパク質）に対するアレルギー患者血清を用いたIgE結合能の検討で陰性結果が得られたものの、なお安全性の証明が十分ではないと考えられた場合は、皮膚テストや経口負荷試験などの臨床試験データが必要とされる。

5 組換え体に導入された遺伝子の安定性に関する事項

- ・安定性を判断するに足る複数の後代世代において、栽培試験の結果、サザンブロッティング法及びウエスタンブロッティング法等により、導入された遺伝子の構造、発現部位及び発現量が変化せず、安定性を確認することができること。
- ・なお、この場合、第5の「6 DNAの宿主への導入方法及び交配に関する事項」に記載した育種過程のどの系統の何世代目の組換え体についてこれらの試験を行ったかが明らかであること。
- ・導入された遺伝子により植物に導入された形質や当該遺伝子の発現量が、世代を経るとともに変化するかどうかを観察されており、その結果、導入された遺伝子の構造及びコピー数が安定していることが確認されていること。

6 遺伝子産物（タンパク質）の代謝経路への影響に関する事項（在来種中の基質と反応する可能性に関する事項を含む。）

導入した遺伝子から生産されるタンパク質が酵素である場合は、その基質特異性が明らかにされており、原則として基質特異性が高いこと。また遺伝子導入によって結果的に基質特異性に变化が生じていないことを合理的に示す理由を提示すること。その基質特異性に变化が生じた場合、あるいはもともと基質特異性が低い場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。

また、遺伝子産物が酵素として組換え体内の代謝系に働き、関連成分が变化した場合は、その変化等に関する考察が行われており、安全性に問題ないと認める合理的な理由があること

7 宿主との差異に関する事項

組換え体に存在する栄養素や、毒性物質、栄養阻害物質等の有害生理活性物質等について、宿主を含めた既知の非組換え体と比較したデータにより、有意な差があるかどうか明らかにされており、原則として有意差がないこと。有意差がある場合は、安全性に問題がないと判断できる合理的な理由があること。宿主のアレルギー誘発性等に係るタンパク質の構成成分において、宿主と比べて変化が生じている場合、アレルギー誘発性等にどのように影響するかが明らかにされていること。

8 諸外国における認可、食用等に関する事項

諸外国における認可状況に関する情報が明らかにされていること。また、食用として利用されているか否かに関する情報が明らかにされていること。

9 栽培方法に関する事項

- ・栽培方法について、宿主と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違ないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。
- ・農薬の使用方法について明らかであること。
- ・農薬を代謝することで農薬耐性を示す場合は、代謝物が調べられるとともに、主な代謝物の安全性が確認されていること。

10 種子の製法及び管理方法に関する事項

種子の製法及び管理方法について、宿主と組換え体がどの程度相違するかの情報が明らかにされており、原則として、相違のないものであること。相違がある場合は、安全性に問題がないことを示す合理的な理由があること。なお、組換え前の宿主の種子とともに、組換え後の各世代における種子を保存すること。

第7 第2から第6までの事項により安全性の知見が得られていない場合に必要事項

次のうち、必要と考えられる試験成績に基づき、食品としての安全性が確認できること。

- (1) 急性毒性に関する試験
- (2) 亜急性毒性に関する試験
- (3) 慢性毒性に関する試験
- (4) 生殖に及ぼす影響に関する試験
- (5) 変異原性に関する試験
- (6) がん原性に関する試験
- (7) その他必要な試験（腸管毒性試験、免疫毒性試験、神経毒性試験、栄養試験等）