

遺伝子組み換え食品の品質と安全性

橋本 渉*

(Wataru Hashimoto)

小澤祥子*

(Sachiko Ogawa)

門間敬子*

(Keiko Momma)

村田幸作*

(Kousaku Murata)

遺伝子組み換え大豆、ジャガイモ、トウモロコシなど様々な遺伝子組み換え食品（作物）が実用化され始めた。遺伝子組み換え食品は、除草剤や病虫害に抵抗性を示す微生物の遺伝子や作物の特定遺伝子の発現を抑制する設計遺伝子を既存の作物に導入して作出されている。本稿では、遺伝子組み換え食品を必要とする社会的背景、及び筆者らが検討している遺伝子組み換え作物の品質と安全性、並びにそれらの検出法についてまとめた。

はじめに

現在、アフリカなどの発展途上国では人口の増加に伴う食糧不足が深刻化し、飢餓と低栄養に起因する各種疾病により多くの生命が失われている。一方、我が国など飽食状態にある先進諸国では、過食や偏食などのライフスタイル或いは食品の質に起因し糖尿病・高血圧・肥満などの生活習慣病疾患が増大し、特に長寿社会に突入した我が国では大きな社会問題になってきている。しかし、地球環境の悪化の中で食糧の増産には困難が予測され、人類は将来の食糧を如何に確保するかという重大な局面にさしかかっている。このような現在と将来の食糧問題に対処するためには、食糧の大幅な質的・量的改変が必要であり、それを可能にする新たな技術の開発が望まれる。

このような中で、遺伝子操作を主体としたバイオテクノロジーは、生物の特定の形質を正確に他生物に移入することを可能にするため、この技術を用いて病虫害抵抗性作物やニュートラシューティカル（疾病予防性や栄養性を強化した食品）の開発が盛んに検討されている。既に、数種の遺伝子組み換え作物の安全性が確認され、食品として利用されている。

1. 遺伝子組み換え作物の作製と効果

遺伝子組み換え作物の作製法

有用な形質を付与したい場合、その形質を担っている遺伝子をマーカー遺伝子（抗生物質耐性遺伝子）と共にベクターに連結し、目的作物の細胞に導入する。遺伝子の導入には、遺伝子銃、エレクトロポレーション法或いは細菌アグロバクテリウムを用いる方法が採用されている。遺伝子が導入された細胞は、抗生物質耐性を指標に選抜される。このようにして、有用な形質を発現する新たな作物が作出される（図1）。

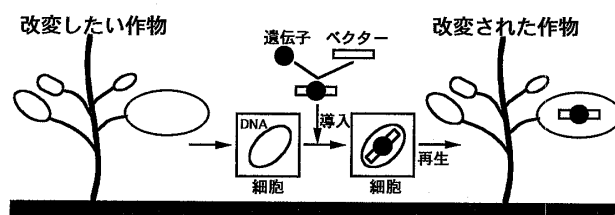


図1. 遺伝子組み換え作物の作製

遺伝子組み換え作物の効果

現在、6種20品目の遺伝子組み換え作物の食品としての輸入が認可されている（表1）。それらの組み換え作物には、除草剤耐性、害虫抵抗性及び日持ち性の向上といった性質が付与されている。除草剤耐性・害虫抵抗性作物は、農薬の散布量を減らし、環境に優しく、また不耕起栽培などを可能とするため労働量の軽減にもつながる。また、日持ち性の向上は、保蔵期間の延長と輸送コストの低減をもたらす。これらの遺伝子組み換え作物は、主に生産性の向上を目指したものであるが、これら以外に、低アレルゲン性、高栄養性や疾病予防効果を持つ作物も作出されている。このように、遺伝子組み換え作物は、食糧の生産性の向上、加工性や嗜好性の改善、安全性の確保及び健康保全性（健康の維持・増進と生活習慣病疾患などの予防）の向上などを可能にすることが考えられ、将来の食環境の改善

* 京都大学食糧科学研究所

表1. 厚生省が認可した遺伝子組み換え食品

作物	性質	使用遺伝子	販売国
ダイズ (1 品目)	除草剤耐性	微生物 (細菌)	日本, 米国, 英国
ナタネ (9 品目)	除草剤耐性	微生物 (細菌)	日本, 米国, 英国, カナダ, ベルギー
ジャガイモ (2 品目)	害虫抵抗性	微生物 (細菌)	日本, 米国
トウモロコシ (3 品目)	害虫抵抗性	微生物 (細菌)	日本, 米国
トウモロコシ (1 品目)	除草剤耐性	微生物 (細菌)	日本, 米国, カナダ
ワタ (1 品目)	害虫抵抗性	微生物 (細菌)	日本, 米国, カナダ, オーストラリア
ワタ (2 品目)	除草剤耐性	微生物 (細菌)	日本, 米国, 英国, カナダ
トマト (1 品目)	日持ち性		日本, 米国, 英国, カナダ, メキシコ
6 品種 (20 品目)			厚生省資料

に大きな効果が期待される。

2. 遺伝子組み換え食品の安全性 安全性の評価指針

遺伝子組み換え食品の安全性評価は、「実質的同等性」という科学的概念に基づいて行われる¹⁾。この概念では、導入する遺伝子の起源と性質がはっきりしており、その遺伝子の導入によって作物の成分（分子種や量）に顕著な変動が認められない場合、遺伝子組み換え作物は非組み換え作物と実質的に同等であり、安全とみなされる。この判断は、以下の①～③の根拠に基づいている。①従来の育種法は、交配や突然変異といった偶然性に頼ったものが殆どであり、無計画で制御しにくい内容を含んでいる。人間は、これらの方法で育種された作物を長期間かつ大量に摂取してきた歴史を持っている。しかし、これまでに有害性や危険性が指摘されたことはない。②交配や突然変異法（点変異以外に欠失、逆位或いは挿入など大きな変化も伴う場合がある）も遺伝子組み換えの範疇に入る。また、これらの現象は、自然環境下でも起こり得るものである。それに対し、バイオテクノロジーによる遺伝子組み換えは計画性があり、目的の遺伝子のみを正確に導入することができる。従って、遺伝子組み換え作物は、自然界で生じている低頻度の遺伝子交換を人為的に促進させるに過ぎず、従来の育種法の延長線上に位置づけることができる。③遺伝子が導入された細胞が行われる反応は、物理化学的・生化学的に従来の細胞で行われている反応と基本的に同じである。この「実質的同等性」の概念により、遺伝子組み換え作物に関して、新規生物、新薬、食品添加物とは異なった「組み換え DNA 技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針」

が厚生省により作成されている²⁾。この指針には、導入作物の成分組成、導入遺伝子産物（マーカーも含む）の安全性（発現量、有害性、アレルギー性、加熱・酸・消化酵素に対する感受性）など細かな検査項目が設定されている。さらに、実験動物を用いた急性及び亜急性毒性試験を行っている場合が多い。また、環境に対する影響を調べる「農林水産分野等における組み換え体の利用のための指針」が農林水産省により策定されており、遺伝子組み換え作物を飼料として使用する場合は、同じく農林水産省が作成した「組み換え体利用飼料の安全性評価指針」に基づき、その安全性が検討される³⁾。これらの指針に基づいて、筆者らが検討している大豆遺伝子組み換え作物の品質と安全性評価の一端を以下に述べる。

3. 遺伝子組み換え作物（コメ・ジャガイモ）の品質と安全性

大豆グリシニン発現コメとジャガイモの意義

日本を始めアジア諸国では、コメは重要な主食用穀物である。しかし、コメには2つの改良すべき問題がある。アレルギー性と低栄養性である。アレルギー性に関しては、主要なアレルギーであるグロブリンをタンパク質分解酵素で除去した低アレルギーコメが開発されている⁴⁾。また、アンチセンス RNA を用いて、アレルギーの発現を抑制した遺伝子組み換えコメも作出されている⁵⁾。栄養価の低い原因は、必須アミノ酸であるリジンが少ないことにある。ジャガイモは、優良なデンプン源であり、最近では、ビタミン B や C あるいはカリウムの供給源としても重要視されている。しかし、ジャガイモの貯蔵タンパク質には、5歳以下の幼児に必要な3種のアミノ酸（ロイシン、リジン、スレオ

遺伝子組み換え食品の品質と安全性

ニン)が不足している。コメとジャガイモのこのようなアミノ酸に関連した欠点を、大豆のグリシニンを発現させることによって改善することができる。

グリシニンは大豆の主要な貯蔵タンパク質であり、分子サイズ 53kDa の前駆体から 33kDa の酸性サブユニットと 20kDa の塩基性サブユニットに転換され成熟体となる。グリシニンは、ゲル化性や乳化性などの優れた加工特性以外に血圧及び血清コレステロールの低下にも関与していると考えられている^{6,7)}。従って、グリシニンをコメやジャガイモで発現させることによって、これらの作物に欠けているアミノ酸を補うことができ、同時に加工性と医薬的な生理機能性も付与することができる^{8,9)}。特に、コメは主食として用いられているため、大豆タンパク質を常時、多量に摂取できることになり、生活習慣病疾患の予防や病状の改善に効果が期待される。さらに、グリシニンに含硫アミノ酸(メチオニン)やリジンを付加したグリシニン遺伝子が分子設計され、これら設計遺伝子をコメやジャガイモに導入した遺伝子組み換え作物も作出されている。ここでは、グリシニン遺伝子組み換えコメとジャガイモの品質と安全性について紹介する^{10,11)}。

遺伝子組み換えコメとジャガイモの品質評価

(i) 遺伝子組み換えコメ

コメの1品種である松山三井に、エレクトロポレーション法で大豆グリシニン遺伝子を導入することにより、遺伝子組み換えコメが作出された⁹⁾。グリシニン遺伝子組み換えコメと非組み換えコメとの間に、形態的な変化は認められなかった。組み換え体のコメには、グリシニンが全タンパク質当たり4%程度発現しており、その主体は、前駆体(53kDa)がプロセスされて生じる2種のサブユニット(33kDaと20kDaのサブユニット)であった。発現グリシニンは、人工消化液(胃液、腸液)で速やかに分解された(図2)。

組み換え体と非組み換え体の各成分について調べた結果、組み換え体ではタンパク質含量が約20%増大しており、各アミノ酸量も非組み換え体と比較して有意に上昇していた(図3A)。他の主要成分(脂質、繊維、灰分、糖質)には変化がなかった。組み換えコメではリジン含量が20%増えており、栄養性の改善が期待できる。コメに含まれる代表的な脂肪酸12種、ビタミン4種、ミネラル6種では、ビタミンB₆を除いて変化は認められなかった。ビタミンB₆含量が、組み換え体で50%増大していた。しかし、この増大による健康への影響は殆ど考えられないため、組み換え体は、組成成分的に安全であると判断された。

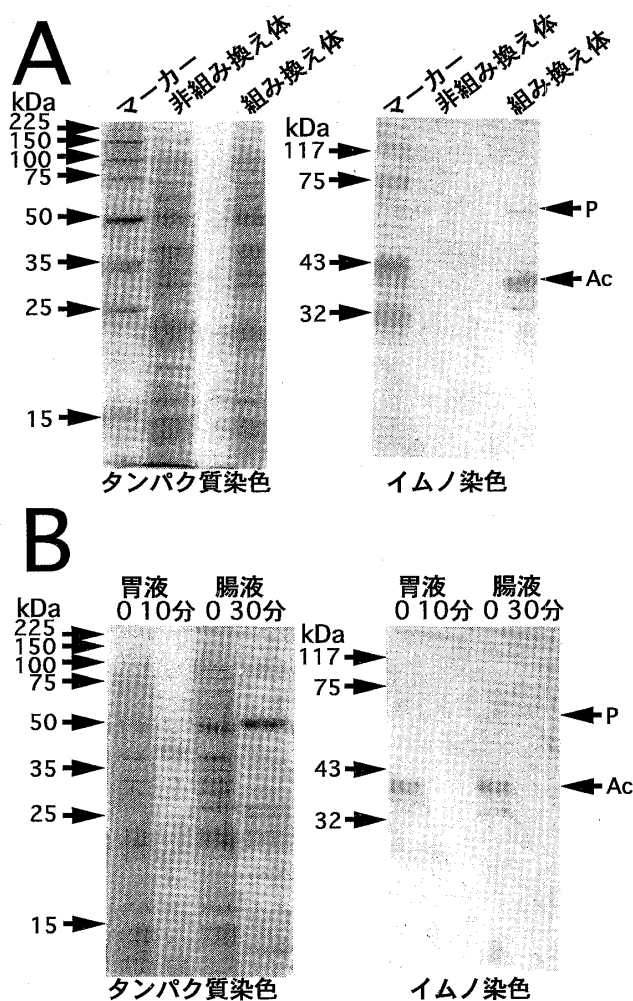


図2. 遺伝子組み換えコメにおけるグリシニンの発現と消化性

A, グリシニンの発現(左側, タンパク質染色; 右側, 抗グリシニン抗体によるイムノ染色); B, 人工消化(胃・腸)液による発現グリシニンの消化性(左側, タンパク質染色; 右側, 抗グリシニン抗体によるイムノ染色); P, 前駆体; Ac, 酸性サブユニット

(ii) 遺伝子組み換えジャガイモ

市販ジャガイモであるメイクイーンは、アグロバクテリウム形質転換法で大豆グリシニン遺伝子(天然型のグリシニン遺伝子と含硫アミノ酸であるメチオニンを4残基付与するように分子設計したグリシニン遺伝子)を導入することにより、遺伝子組み換えジャガイモが作出された⁹⁾。組み換え体ジャガイモの外観は、メイクイーンのそれと同様であった。組み換え体ジャガイモにはグリシニンの発現(1~3%)が認められたが、その主体は、コメの場合と異なり殆どが前駆体(53kDa)であった。発現グリシニンは、人工消化液(腸液)により速やかに分解された。

主要成分(水分、タンパク質、脂質、繊維、灰分、

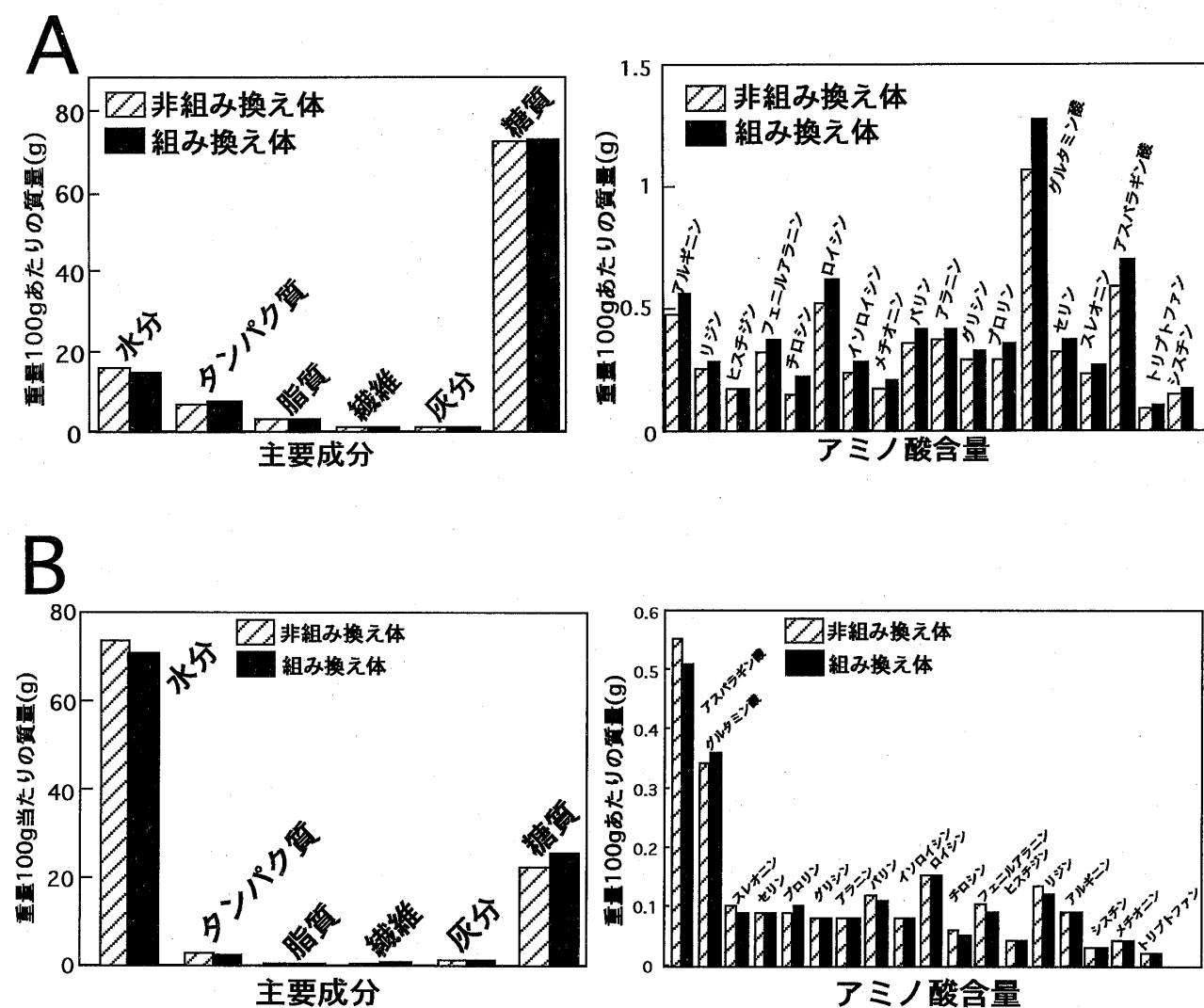


図3. 遺伝子組み換え作物の品質 (主要成分とアミノ酸含量)

A, グリシニン発現コメ; B, グリシニン発現ジャガイモ

糖質), アミノ酸 18 種及びジャガイモに含まれる代表的な脂肪酸 12 種, ビタミン 5 種, ミネラル 5 種の含量は, 組み換え体と非組み換え体との間で有意な差は認めなかった (図 3 B)。ジャガイモには, 有害物質であるアルカロイド (ソラニン, チャコニン) が存在する。組み換え体のアルカロイド量は, 非組み換え体より約 50% 上昇していた。グリシニン遺伝子を含まないベクターのみでの形質転換体でも同様の現象が認められたことより, グリシニン遺伝子が代謝変動を引き起こし, アルカロイド量を増大させている訳ではない。増大したアルカロイド量は, 食中毒を起こさない許容範囲内であり, 健康に悪影響を与えることはないと判断された。現在, グリシニン発現コメ及びジャガイモに関して実験動物を用いた毒性試験を行っている。

4. 遺伝子組み換え作物のモニタリング

遺伝子組み換え作物に関しては, 健康への直接的な影響以外に自然環境への影響も考慮しなければならない。長期にわたる導入遺伝子の安定性や環境に対する影響を調べるには, 遺伝子組み換え作物を容易に判別できることが必要である。遺伝子組み換え作物の検出法は, 次の 3 種類に大別される。

- I. 導入遺伝子産物を免疫学的あるいは形質学的に検出
- II. 導入遺伝子を DNA プローブで検出
- III. マーカーの性質を利用した検出

この中で, II の導入遺伝子を検出する方法は特異性が高く, 他の遺伝子組み換え作物の検出にも応用できる。

現在, 我が国は大豆の 98% を輸入に依存しており,

遺伝子組み換え食品の品質と安全性

その内 86% を北アメリカから輸入している。アメリカでは 1996 年から除草剤耐性大豆が栽培され始め、その作付面積は増加の一途である。1996 年の作付面積は、約 1.6%、97 年は 12%、98 年は 35~40% と見積もられている。アメリカの代表的な大豆は、IOM 大豆（インディアナ、オハイオ、ミシガン州産）であり、日本への輸入大豆の 80% 以上を占めている。IOM 大豆は、大豆油や豆腐に使用されており、納豆や味噌には使用されていない。筆者らは、遺伝子組み換え作物のモニタリング系を確立するため、96 年産の IOM 大豆について遺伝子組み換え大豆（除草剤耐性大豆）の検出法を検討した¹²⁾。

コストのかからない判別法として、ジャーミングテストがある。これは、大豆を栽培し発芽後除草剤を散布することにより、除草剤耐性を示す大豆を選別する方法であり、検出法 I に分類される。IOM 大豆を栽培すると通常約 3 日後に発芽し、2 週間くらいで子葉期を経て 3 葉期に達する。その後、ラウンドアップ（除草剤）を散布し、非枯死体をモニタリングする。筆者らの実験では、96 年産の IOM 大豆の約 1.1% が除草

剤耐性大豆であった。このようにして検出された除草剤耐性大豆について、PCR を用いた導入遺伝子の検出（検出法 II に分類）を試みた。除草剤耐性遺伝子のプロモーター（カリフラワーモザイクウィルス 35 S プロモーター）とターミネーター（ノパリンシンターゼターミネーター）を特異的に認識する合成オリゴ DNA をプライマーとし、大豆の葉より抽出した染色体 DNA を鋳型とする PCR 反応を行った結果、プロモーター及びターミネーター遺伝子断片が特異的に増幅された。ジャーミングテスト及び PCR とも、正確に除草剤耐性大豆の判別が可能であった。この PCR 法は、先に述べた大豆グリシニン遺伝子組み換えジャガイモのモニタリングにも適用可能であった（図 4）¹³⁾。現在、ここに確立した方法に従って、様々な遺伝子組み換え作物のモニタリングを行っている。

終わりに

遺伝子組み換え、組織培養、三倍体の作製、細胞融合などバイオテクノロジーの進歩には目覚ましいものがあり、将来の食糧不足の問題を解決する一つの手段となることが期待される。現在認可されている遺伝子組み換え作物は、生産性を上げる（生産コストを下げる）ものが主流であるが、これとは別に、付加価値の高い作物や極限環境に強い（耐寒、耐塩、耐乾など）作物の作出も行われている。これらの場合、用いられる遺伝子は生物由来のものである。しかし、意図した効果を持つ遺伝子を生物界に求めることはそれほどたやすいことではない。作物に意図した性質を自由に付与するために、生物の遺伝子の再設計、最終的には人工合成遺伝子の利用が考えられる。今後、遺伝子組み換え作物はますます複雑化、高度化することが考えられ、より詳細な安全性評価基準が求められるであろう。筆者らは遺伝子組み換え作物以外に、遺伝子組み換え微生物（酵母）の安全性も検討している。解糖系を強化した遺伝子組み換え酵母（実験用半数体）の場合には、糖過剰存在下で有害物質であるメチルグリオキサールの蓄積量が微増するが^{14,15)}、発酵工業に使われる酵母（倍数体）は強力なメチルグリオキサール分解系を有しており、遺伝子組み換えで解糖系を強化してもメチルグリオキサールの蓄積量は非組み換え体と同程度であり、安全であると判断された¹⁶⁾。遺伝子組み換え微生物の実用化を図るため、その安全性評価基準の作成に関する研究も進めている。

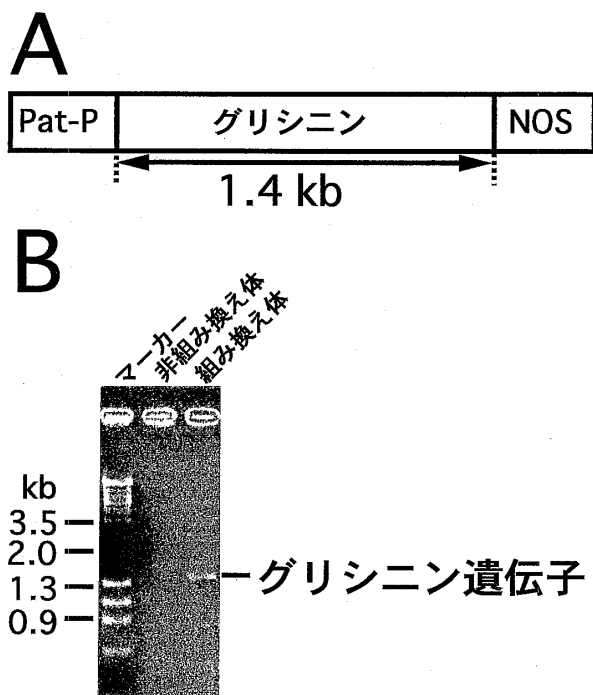


図 4. グリシニン遺伝子組み換えジャガイモの遺伝子構成とグリシニン遺伝子の検出

A, 組み換えジャガイモの遺伝子構成 (Pat-P, プロモーター; NOS, ターミネーター); B, PCR 法によるグリシニン遺伝子の検出 (レーン左から、分子量マーカー; 市販ジャガイモ DNA を用いた PCR 産物; 組み換えジャガイモ DNA を用いた PCR 産物)

文 献

- 1) 橋本 渉, 村田幸作 (1997) 21 世紀の農業の期待と社会的受容, デイリーフード, 春季号, 14-19
- 2) 厚生省「組み換え DNA 技術応用食品・食品添加物の安全性評価指針」
- 3) 農林水産省農林水産技術会議事務局「組み換え農作物早わかり Q&A」
- 4) 伊東祐四 (1996) 食物アレルギーの対応型食品開発の現状, *BIO INDUSTRY*, **13**, 36-43
- 5) 中村良, 松田幹 (1994) 低アレルギー米の分子育種, バイオサイエンスとインダストリー, **52**, 728-730
- 6) M. Kito, T. Moriyama, Y. Kimura & H. Kambara (1993) Changes in plasma lipid levels in young healthy volunteers by adding an extruder-cooked soy protein to conventional meals, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **57**, 354-355
- 7) M. Sugano, S. Goto, Y. Yamada, K. Yoshida, Y. Hashimoto, T. Matsuo & M. Kimoto (1990) Cholesterol-lowering activity of various undigested fractions of soybean protein in rats, *J. Nutr.*, **120**, 977-985
- 8) 勝部朋之, 栗坂信之, 高岩文雄, 内海 成 (1998) 大豆グリシニンを産生するイネの開発: コメ種子における発現と蓄積挙動, 日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 164
- 9) S. Utsumi, S. Kitagawa, T. Katsube, T. Higasa, M. Kito, F. Takaiwa & T. Ishige (1994) Expression and accumulation of normal and modified soybean glycinins in potato tubers, *Plant Sci.*, **102**, 181-188
- 10) W. Hashimoto, K. Momma, T. Katsube, Y. Ohkawa, T. Ishige, M. Kito, S. Utsumi & K. Murata (1998) Safety assessment of genetically engineered potatoes with designed soybean glycinin: compositional analyses of the potato tubers and digestibility of the newly expressed protein in transgenic potatoes, *J. Sci. Food Agric.*, Submitted for publication
- 11) 門間敬子, 橋本 渉, 勝部朋之, 高岩文雄, 鬼頭 誠, 内海 成, 村田幸作 (1998) 遺伝子転換食糧の品質と安全性評価: ダイズ遺伝子導入コメにおける成分変動, 日本農芸化学会大会講演要旨集, p. 128
- 12) N. Shirai, K. Momma, S. Ozawa, W. Hashimoto, M. Kito, S. Utsumi & K. Murata (1998) Safety assessment of genetically engineered food: detection and monitoring of glyphosate-tolerant soybean, *Biosci. Biotech. Biochem.*, **62**, 1461-1464
- 13) W. Hashimoto, S. Ozawa, K. Momma, & K. Murata (未発表)
- 14) T. Inose & K. Murata (1995) Enhanced accumulation of toxic compound in yeast cells having glycolytic activity: a case study on the safety of genetically engineered yeast, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **30**, 141-146
- 15) W. Hashimoto, T. Inose, K. Masuda & K. Murata (1997) Safety assessment of genetically engineered yeast: elimination of mutagenicity of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* by decreasing the activity of methylglyoxal synthase, *Int. J. Food Sci. Technol.*, **32**, 521-526
- 16) T. Inose & K. Murata (未発表)