

出國報告（出國類別：研習）

赴日本筑波「食品總和研究所」研習基因 改造食品之檢驗及蒐集業務相關資訊

服務機關：行政院衛生署藥物食品檢驗局

姓名職稱：林澤揚

派赴國家：日 本

出國期間：九十五年八月一日至八月十三日

報告日期：九十五年十一月九日

目次

壹、摘要	2
貳、過程	3
參、心得與建議	27
肆、附件	32
附件一	33
附件二	34
附件三	44
附件四	45

壹、摘要

為瞭解基因改造食品檢驗技術的發展趨勢，藥檢局指派林澤揚技士赴日本筑波「食品總合研究所」考察基因改造食品之檢驗技術，此次考察之重點項目係著重在stack 品系基改玉米檢驗技術之發展。截至目前為止，國際上對於stack 品系基改玉米的檢測技術，尤其是定量檢測技術，仍舊處於瓶頸階段，但筆者所造訪之實驗室，已研發完成一套利用multiplex real time PCR原理同時檢測 96 顆玉米粒，從而推測其中所含stack品系玉米含量的初步定量推估技術。筆者除實際操作該項技術，並學習到該實驗室中另一套利用multiplex PCR原理快速定性鑑別單顆玉米粒中之stack 基因，對於該實驗室成熟而深厚的技術研發實力留下深刻印象。

筆者在考察期間，廣泛收集與本局業務相關的資訊，除基因改造食品檢驗方面訊息外，亦收集食品過敏原檢驗及營養保健食品分析之資訊，進一步瞭解日本方面目前重視的食品衛生相關課題，也可作為本局未來選定技術研發走向的參考依據。

滯日期間，筆者設法與日本方面的衛生領域特定業務相關人士進行接觸，例如轉任食品安全委員會的日野明寬先生以及專供營養保健研究領域的津志田藤二郎先生進行接洽聯繫，期望藉由筆者禮貌性拜訪，建立順暢的資訊互惠交流管道，作為本局掌握國際資訊的橋樑。這些跨國關係的維護，對於台灣目前所處險惡之外交局勢而言，在食品衛生領域資訊的取得上實有莫大的實質助益。

最後，筆者並前往東京都，以中大型食品賣場為主進行市售食品的標示調查，調查重點則偏重於日方已推行有年的過敏原標示制度，試圖瞭解目前日本執行食品過敏原標示制度的成效，以做為台灣未來推動食品過敏原標示制度的參考範例。

貳、過程

八月一日【星期二】

筆者本次啣命赴日本「食品總和研究所」考察，主要的目的為期望藉由日方在基因改造食品檢驗領域的深厚研發經驗，尋求解決本局目前研發基改作物檢驗方法所遭遇到之待解難題，例如某些基改作物定量檢驗方法中之濃度換算係數（CV 值）會變動，以及部分品系基改作物的定量分析結果會出現測定結果數值偏高或偏低的現象。此外，也希望藉由筆者此次的考察行程，持續維護與日方「食品總和研究所」良好之資訊互惠管道，進一步瞭解到該所目前基改作物檢驗的發展現況，同時並可藉此機會蒐集其他食品安全領域的相關議題資訊，作為本局日後制訂方法開法研發方向時的參考依據。筆者事前與「食品總和研究所」接洽考察行程及事宜，即已知悉該所在體制上已有頗大之改革，且先前數度造訪的基因改造食品相關之檢驗實驗室，亦在此次體制變革中有重大之轉變，原本實驗室之主持人”日野明寬”先生已轉調他職，變動後的實驗室主持人改為該所中原本主持“食品中過敏原”研究室的“橘田和美”女士擔任，筆者猜測，經過如此重大的調整，原本實驗室中的研究成員，應該也有蠻大的異動才是，因此此次考察行程雖然地點與筆者三年前造訪之地相同，但所要面對的困難，所要瞭解的課題，以及所要建立的資訊溝通管道，與造訪一全然陌生的新實驗室其實是一樣的，因此一點也沒有舊地重遊的輕鬆感，反倒有更深更重的壓力加諸在自己的肩上。

早上搭乘中華航空 CI-100 九點多的班機出發，順利於日本時間一點半抵達東京成田機場，隨即搭乘轉運巴士前往筑波市。筆者出發前即與實驗室成員”古井聰”先生聯絡好，約定在筑波市中心的交通轉運站等待其前來接運筆者前往研究所的訪問學者旅館辦理下榻住宿手續。一路上與古井聰先生大至聊了一下實驗室目前的情況。他提到實驗室先前的主持人日野明寬先生已轉調至位於東京都的日本內閣府的食品安全委員會任職，而今日正好是日野先生前往述職的第一天，因此我是確定無法見到日野先生的面了，由於日野先生為日本基因改造食品檢驗領域的第一把交椅，先前筆者多次考察，皆獲其提供許多寶貴的知識及經驗，對於本局一手建立國內基因改造食品檢驗系統，助益極大。此行得知其獲重用高昇，一方面固然為他感到欣慰，但另一方面卻也為無法繼續獲其所提供的資訊而趕到惋惜。至於重新編組的實驗室，則依然維持”基因改造食品”

之檢驗研究領域，新加入另一研究項目則為橘田和美女士原本即已負責的”食品過敏原”之檢驗研究領域。關於食品過敏原的研究，由前些年局內同仁考察日本”國立醫藥品食品衛生研究所”時所攜回的資訊，瞭解到日本食品衛生界對於食品過敏原的重視，且已開始推行食品中過敏原的標示制度，因此本局也於今年著手進行國內重要食品過敏原之調查計畫，以利瞭解並建立台灣地區民眾的主要過敏原資料庫，作為日後衛生署推行國內自己的食品中過敏原標示制度的參考品項依據，使制度本身更能貼近我國的國情。而橘田和美女士致力於過敏原之研究已有多年的經驗累積，藉此機會，筆者亦可多加請益，獲取相關資訊，並與其建立溝通管道及繼續維持友好關係，或可作為日後局內同仁前來其實驗室研習過敏原相關檢驗技術的聯繫橋樑。

由於抵達時間已晚，匆匆完成住宿手續並安頓完自己的行李之後，古井聰先生引領筆者前往實驗室，介紹實驗室的部分成員並互換名片後，即貼心的帶筆者前往附近的餐館用晚餐，隨行的尚有一位來自”泰國”某大學的講師，交談後得知該講師名為 Preprame，來此實驗室的目的是要學習基因改造食品的相關檢驗技術，Preprame 女士預定停留的時間為兩個月，筆者來訪前，她已研習了一個月，因此未來將有一個月的時間與筆者共事。Preprame 女士並非首次拜訪日本，聽其敘述，去年此時當日野先生還主持實驗室時，她就已經到訪一次，同樣也是停留兩個月，而今年則為接續去年未盡之研究課題，繼續相關的研究工作，至於她考察日本的經費，則是來自於其於泰國學校內所提的研究計畫支持，機會極為寶貴。但她有感而發的提到，未來恐怕難再有來訪的機會，因為他所申請的研究計畫將於今年結束，除非能有更好的研究點子及計畫獲得評審的青睞，如此才可能再獲補助出國研修。而她眼前重要的事即把握剩下的一個月時間，好好吸取該實驗室的研究經驗。

此行，筆者亦發現一有趣的現象，三、四年前筆者來訪並住宿於相同的訪問學者旅館中，期間很難遇見來自於中國大陸的訪問學者，但此次來訪，由旅館中擦肩而過的人士、旅館的房間信箱上的名字，或者是大廳中不時傳來的中文交談聲音等現象發現，竟有約達 30%的投宿人士是來自於中國，這種情況，不免令我感到中國大陸在學術領域急起直追的決心，廣派學者前往國外吸取各領域的新知，並將技術及經驗傳遞回國內以建立並強化自己的基礎研究實力。這種我消彼長的情況，實在是值得台灣各界重視與正視的變化趨勢。現今台灣

之所以能在世界佔有一席之地，所依靠的正是深厚的經濟實力及技術的研究開發能力，在未來，台灣若不能持續在這些方面保有領先，假以時日恐有被彼岸超越的可能。至於如何在技術的研究開發能力保持領先呢，筆者此次在食品總和研究所訪問學者宿舍中所觀察到的中國訪問學者數量，或可作為台灣各界思考此一問題的線索。

八月二日【星期三】

早上正式到實驗室座位報到，除了持續與認識實驗室研究人員之外，還需與他們商談筆者此行的研習重點項目。前述，本實驗室經改組之後仍維持兩大領域的研究領域，古井聰先生的頭銜為該實驗室的”主任研究員”，負責統整基因改造食品檢驗研究領域的所有工作，至於實驗室主持人（單元主持人）橘田和美女士則是負責統整過敏原研究領域的相關業務，而權責上，古井聰先生仍須對單元主持人橘田和美女士負責，整個實驗室的業務及責任分工大致是這樣。

至於食品總和研究所的體制本身仍舊維持“獨立行政法人”的運作方式，唯實驗室的人員已非具備”公務員”身份，而是採用一般民間企業的聘僱制度，其目的應為方便延攬各界研究人才，不至於受限於法令上的公務人員任用相關條例。而古井聰先生正是在這樣的新制下被日野明寬先生延攬回來的業界人才，古井聰先生原本是服務於 NIPPON-GENE 公司的研究專員，長期以來與此實驗室維持良好交流互惠關係，正因為他傑出的研究表現，日野先生才將其延攬回來，並擔任基改研究領域的負責人，正可謂適才專用。此外笠原正輝先生則是來自於獨立行政法人農林水產消費技術中心的交流研究員，與筆者舊識栗原秀夫先生為同事，都是在該中心負責”調查研究業務”的公務員，也與基改食品檢驗業務相關。

古井聰先生首先引領我了解改組之後實驗室的空間分佈。有關空間的使用，目前區隔成兩個空間，其一即之前日野先生所使用的白色建築，另有兩個實驗室空間則分別位於新建大樓的 1 樓及 2 樓。新建大樓 2 樓的空間只用來進行基改玉米及黃豆的實驗，至於其他的基改作物實驗，則在白色建築的實驗室中進行，為何要這樣區分呢？原因仍是因為基改作物品系太多，為避免不同種類作物間的交叉污染，故做此區別。

有關基改的研究，除持續各種檢驗方法開發之外，實驗室的另一項工作是

“研究生產基改作物的 reference material”，就是不同含量比例的基改玉米或基改黃豆的標準品粉末。為了推行此一研究工作，他們在一獨立房間內設立了四個獨立的密閉式實驗室，內部壓力設置為正壓。內行人也許會問為何要設置為正壓？難道不怕污染外面空間嗎？古井聰表示，密閉式實驗室外面的空間不夠潔淨是沒有太大影響的，能夠確保密閉室內空間的乾淨才是最重要，反正外面還有一扇房間的門阻隔，不至於污染整棟大樓的空調即可。四個實驗室分別用來作為 non GM crop 磨粉、GM crop 磨粉、GM crop 與 non GM crop 的粉末調配，以及分析調配後粉末的濃度使用，不同房間不同用途，各自獨立，以避免交叉污染，當然溫度、濕度、壓力的控制是密閉式實驗室必備的基本設備。密閉室的外觀，見下圖：



關於 GM crop 的 reference material 配製研究是該實驗室與民間企業合作的計畫，未來的規劃方向的確是想要商業化生產並販售，但此間還需克服一些跟種子公司有關的專利問題。

此後又與古井聰先生討論筆者所要見習的實驗項目，鎖定在混合品系基改玉米（stack GM maize）的定性檢驗，及利用 multiplex real time PCR 方式快速篩選 48 顆玉米粒中是否含有 stack GM maize，這兩個實驗項目皆鎖定在 stack GM maize 的判別。雖然目前國際上對於 stack GM 作物的定量分析的研究發展仍舊處於瓶頸階段，但日本方面所研發的定性檢驗方法或可提供我們一條在研發摸索階段時的參考指引。至於負責帶我進行實驗的人員，原本是指派實驗室的”特別研究員”小口太一先生，只是之後的時間小口先生忙於其私人家務，一

直無法騰出適當時間指導我，因此最後實驗操作的指導則落到了大西真理小姐及真野潤一先生身上，也幸好有他們兩位的幫忙，讓筆者得以完成見學的任务。

八月三日【星期四】

由於實驗室的例行研究工作極為繁重，因此來訪的學者若要見習相關實驗，實則必須配合指導人員的時間及實驗安排，並不可能特別撥出人力專門指導來訪學者，且實驗材料的準備，使用儀器的安排皆有其實驗室規則需遵守，故空檔時間筆者即四處討教並收集有益本局業務推行的相關資訊。

關於基改作物檢驗方面，由於筆者赴日之前，美國先正達公司未經核准的基改米LLRICE601外流，造成美國出口米遭受污染已經鬧得沸沸揚揚，故特別詢問他們目前日本對於美國基改米的檢驗技術研發。獲得的資訊為目前已經有GM米的檢測方法，但並非PCR的方法，據古井聰先生的敘述，這個檢測技術是由任職於國立醫藥品食品衛生研究所的 Akiyama 實驗室所開發！

基改甜菜也是目前研究的主題之一，因為甜菜可被用來製作食用糖，因此有些生產製造糖的公司便詢問是否可以證明所用的甜菜原料並非源自於基改甜菜，因此才會進行該品項的檢驗方法開發。目前的研發成果，仍是以設計可用於測定甜菜 internal control gene 的 PCR 方法為主，對於檢測食品中是否含有甜菜成分已是可行，但由於糖乃是屬於甜菜成分的純化萃取物，本身並不含有DNA，所以縱使研發 GM 甜菜的專一性 PCR 檢驗方法，仍無法用於鑑別糖類本身是否源於基改作物。但在北海道地區，有些甜菜則被用來製作成“天婦羅”，因此演變成“天婦羅”需標示 GM 或 non-GM，若是以甜菜植物本身作為食材，則可適用於 PCR 的鑑別檢驗技術了。而目前日本所核准的基改甜菜品系約為三種之多。至於日本的 Bt10 基改玉米的檢測方法方法，為其自行開發的 event-specific 的專一性 PCR 方法，雖然與美國的方法不同，但因為同屬 event-specific 等級，因此所採用的基因序列應該會有相同之處！有關基改木瓜，目前官方法仍是採用 Akiyama 實驗室所發展的方法，古井聰先生表示，在最近，夏威夷的基改木瓜應可被日本核准通過上市。下表即為目前日本厚生勞動省所核准上市可供作食用的基改作物品項，達七十五種之多，其中還包括為數不少的 stack GM 玉米品項。

安全性審査の経た遺伝子組換え食品及び添加物一覧

厚生労働省医薬食品局食品安全部
平成18年2月14日現在

1. 食品（75品種）

対象品種	名称	性質	申請者／開発者等		官報掲載日 (年.月.日)	
じゃがいも (8品種)	ニューリーフ・ジャガイモ BT-6系統	害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30	
	馬鈴薯	ニューリーフ・ジャガイモ SPBT02-05系統	害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		ニューリーフ・プラス・ジャガイモ RBMT21-129系統	害虫抵抗性 ウイルス抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.9.14
		ニューリーフ・プラス・ジャガイモ RBMT21-350系統	害虫抵抗性 ウイルス抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.9.14
		ニューリーフ・プラス・ジャガイモ RBMT22-82系統	害虫抵抗性 ウイルス抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.9.14
		ニューリーフY・ジャガイモ RBMT15-101系統	害虫抵抗性 ウイルス抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.5.6
		ニューリーフY・ジャガイモ SEMT15-15系統	害虫抵抗性 ウイルス抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.5.6
		ニューリーフY・ジャガイモ SEMT15-02系統	害虫抵抗性 ウイルス抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.6.30
大豆 (4品種)	ラウンドアップ・レディー・大豆 40-3-2系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30	
	260-05系統	高オレイン酸 形質	デュポン株式会社	Optimum Quality G rains LLC(米国)	2001.3.30	
	A2704-12	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス 株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2002.7.8	
	A5547-127	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス 株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2002.7.8	
てんさい (3品種)	T120-7	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス 株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30.	
	甜菜	ラウンドアップ・レディー・テン サイ 77系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国) Syngenta Seeds AG (スイス)	2003.5.6
		ラウンドアップ・レディー・テン サイ H7-1系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.6.30

安全性審査の経た遺伝子組換え食品及び添加物一覧

厚生労働省医薬食品局食品安全部
平成18年2月14日現在

対象品種	名称	性質	申請者／開発者等		官報掲載日 (年.月.日)	
とうもろこし (25品種)	玉 米	Bt11	害虫抵抗性 除草剤耐性	シンジェンタシード株式会社	Syngenta Seeds AG (スイス)	2001.3.30
		Event 176	害虫抵抗性	シンジェンタシード株式会社	Syngenta Seeds AG (スイス)	2001.3.30
		Mon810	害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		T25	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス 株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
		DLL25	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		DBT418	害虫抵抗性 除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		ラウンドアップ・レディー・トウモ ロコシGA21系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		ラウンドアップ・レディー・トウモ ロコシNK603系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		T14	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス 株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
		Bt11スイートコーン	害虫抵抗性 除草剤耐性	シンジェンタシード株式会社	Syngenta Seeds AG (スイス)	2001.3.30
		鞘翅目害虫抵抗性トウモロ コシMON863系統	害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2002.2.21
		トウモロコシ1507系統	害虫抵抗性 除草剤耐性	ダウ・ケミカル日本株式会社	Pioneer Hi-Bred Int ernational, Inc., Myc ogen Seeds / Dow AgroSciences LLC (米国)	2002.7.8
		鞘翅目害虫抵抗性トウモロコシ MON863系統とラウンドアッ プ・レディー・トウモロコシNK60 3系統を掛け合わせた品種	害虫抵抗性 除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.6.30
		ラウンドアップ・レディー・トウモ ロコシGA21系統とMON810を 掛け合わせた品種	除草剤耐性 害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.6.30
		ラウンドアップ・レディー・トウモ ロコシNK603系統とMON810 を掛け合わせた品種	除草剤耐性 害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.6.30
T25とMON810を掛け合わ せた品種	除草剤耐性 害虫抵抗性	デュポン株式会社	Optimum Quality Grains LLC(米国)	2003.6.30		
トウモロコシ1507系統とラウンド アップ・レディー・トウモロコシ NK603系統を掛け合わせた品 種	害虫抵抗性 除草剤耐性	デュポン株式会社	Daw AgroScience LLC、Pioneer Hi- Bred International, Inc.(米国)	2004.3.3		
MON810と鞘翅目害虫抵抗性 トウモロコシMON863系統を掛 け合わせた品種	害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2004.3.3		

未商業化、不知
道拜耳為何要
申請！

stack

stack

stack

stack

stack

stack

対象品種	名称	性質	申請者／開発者等		官報掲載日 (年.月.日)
とうもろこし (25品種) stack	鞘翅目害虫抵抗性トウモロコシ MON863系統と鱗翅目害虫抵抗性トウモロコシMON810系統とラウンドアップ・レディー・トウモロコシNK603系統を掛け合わせた品種	害虫抵抗性 除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2004.10.5
	コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ B.t. Cry34/35Ab1 EventDAS-59122-7	害虫抵抗性 除草剤耐性	デュポン株式会社	Daw AgroScience LLC, Pioneer Hi-Bred International, Inc. (米国)	2005.10.25
	除草剤グリホサート耐性及びコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON88017系統	除草剤耐性 害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2005.10.25
	除草剤グリホサート耐性及びコウチュウ目害虫抵抗性トウモロコシMON88017系統とチョウ目害虫抵抗性トウモロコシMON810系統を掛け合わせた品種	除草剤耐性 害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2005.11.10
	トウモロコシ1507系統とコウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ B.t. Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7を掛け合わせた品種	害虫抵抗性 除草剤耐性	デュポン株式会社	Daw AgroScience LLC / Pioneer Hi-Bred International, Inc. (米国)	2005.12.15
	コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ B.t.Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7とラウンドアップ・レディー・トウモロコシNK603系統を掛け合わせた品種	害虫抵抗性 除草剤耐性	デュポン株式会社	Daw AgroScience LLC / Pioneer Hi-Bred International, Inc. (米国)	2005.12.15
	コウチュウ目害虫抵抗性及び除草剤グルホシネート耐性トウモロコシ B.t.Cry34/35Ab1 Event DAS-59122-7とトウモロコシ1507系統とラウンドアップ・レディー・トウモロコシNK603系統を掛け合わせた品種	害虫抵抗性 除草剤耐性	デュポン株式会社	Daw AgroScience LLC / Pioneer Hi-Bred International, Inc. (米国)	2005.12.15
	なたね (15品種)	ラウンドアップ・レディー・カノーラ RT73系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)
油菜	HCN92	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
	PGS1	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
	PHY14	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
	PHY35	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
	PGS2	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
	PHY36	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
	T45	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30

可能是有 2 性状的品系，非 stack。為了雜交生產 3 性状的 stack 用。據說已研發成功！

対象品種	名称	性質	申請者／開発者等		官報 掲載日 (年.月.日)	
なたね (15品種)	油 菜	MSSRF3	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
		HCN10	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
		MSS	除草剤耐性 雄性不稔性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
		RF3	除草剤耐性 稔性回復性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
		WESTAR Oxy-235	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
		PHY23	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2001.3.30
		ラウンドアップ・レディー・カノーラ RT200系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.9.14
わた (17品種)	棉 花	ラウンドアップ・レディー・ワタ 1445系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		BXN cotton 10211系統	除草剤耐性	ストーンビルペディグリードシード社	Stoneville Pedigreed Seed (米国)	2001.3.30
		BXN cotton 10222系統	除草剤耐性	ストーンビルペディグリードシード社	Stoneville Pedigreed Seed (米国)	2001.3.30
		インガード・ワタ 531系統	害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		インガード・ワタ 757系統	害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2001.3.30
		BXN cotton 10215系統	除草剤耐性	ストーンビルペディグリードシード社	Stoneville Pedigreed Seed (米国)	2001.3.30
		鱗翅目害虫抵抗性ワタ 15985系統	害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2002.10.1
		ラウンドアップ・レディー・ワタ1445系統とインガード・ワタ531系統を掛け合わせた品種	除草剤耐性 害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.6.30
		鱗翅目害虫抵抗性ワタ15985系統とラウンドアップ・レディー・ワタ1445系統を掛け合わせた品種	害虫抵抗性 除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2003.6.30
		LLCotton25	除草剤耐性	バイエルクロップサイエンス株式会社	Bayer CropScience (ドイツ)	2004.6.28
除草剤グリホサート耐性ワタ MON88913系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2005.4.7		

対象品種	名称	性質	申請者／開発者等		官報 掲載日 (年.月.日)
わた (17品種)	除草剤グリホサート耐性ワタ MON88913系統とチョウ目害虫 抵抗性ワタ15985系統を掛け 合わせた品種	除草剤耐性 害虫抵抗性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国)	2005.4.7
	ワタ281系統	害虫抵抗性 除草剤耐性	ダウ・ケミカル日本株式会社	Mycogen Seeds / Dow AgroSciences LLC (米国)	2005.9.5
	ワタ3006系統	害虫抵抗性 除草剤耐性	ダウ・ケミカル日本株式会社	Mycogen Seeds / Dow AgroSciences LLC (米国)	2005.9.5
	ワタ281系統とワタ3006系統を 掛け合わせた品種	害虫抵抗性 除草剤耐性	ダウ・ケミカル日本株式会社	Mycogen Seeds / Dow AgroSciences LLC (米国)	2005.10.6
	ワタ281系統とワタ3006系統と ラウンドアップ・レディー・ワタ14 45系統を掛け合わせた品種	害虫抵抗性 除草剤耐性	ダウ・ケミカル日本株式会社	Mycogen Seeds / Dow AgroSciences L LC (米国)	2006.1.11
	ワタ281系統とワタ3006系統と 除草剤耐性ワタMON88913品 種	害虫抵抗性 除草剤耐性	ダウ・ケミカル日本株式会社	Mycogen Seeds / Dow AgroSciences L LC (米国)	2006.2.14
アルファル ファ (3品種)	ラウンドアップ・レディー・アル ファルファJ101系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国) Forage Genetics Inc. (米国)	2005.10.14
	ラウンドアップ・レディー・アル ファルファJ163系統	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国) Forage Genetics Inc. (米国)	2005.10.14
	ラウンドアップ・レディー・アル ファルファJ101系統とラウンドア ップ・レディー・アルファルファJ1 63系統を掛け合わせた品種	除草剤耐性	日本モンサント株式会社	Monsanto Company (米国) Forage Genetics Inc. (米国)	2005.10.14

※「鱗翅目害虫」と「チョウ目害虫」、「鞘翅目害虫」と「コウチュウ目害虫」は同義です。

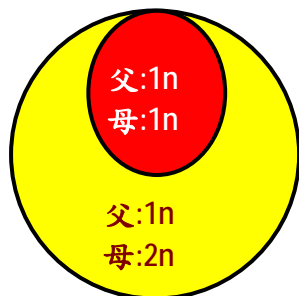
※ ノバルティスシード(株)は、平成13年7月からシンジェンタシード(株)となりました。

※ アベンティスクロップサイエンスジャパン(株)は、平成13年10月からアベンティスクロップサイエンスシオノギ(株)となり、さらに平成14年12月からバイエルクロップサイエンス(株)となりました。

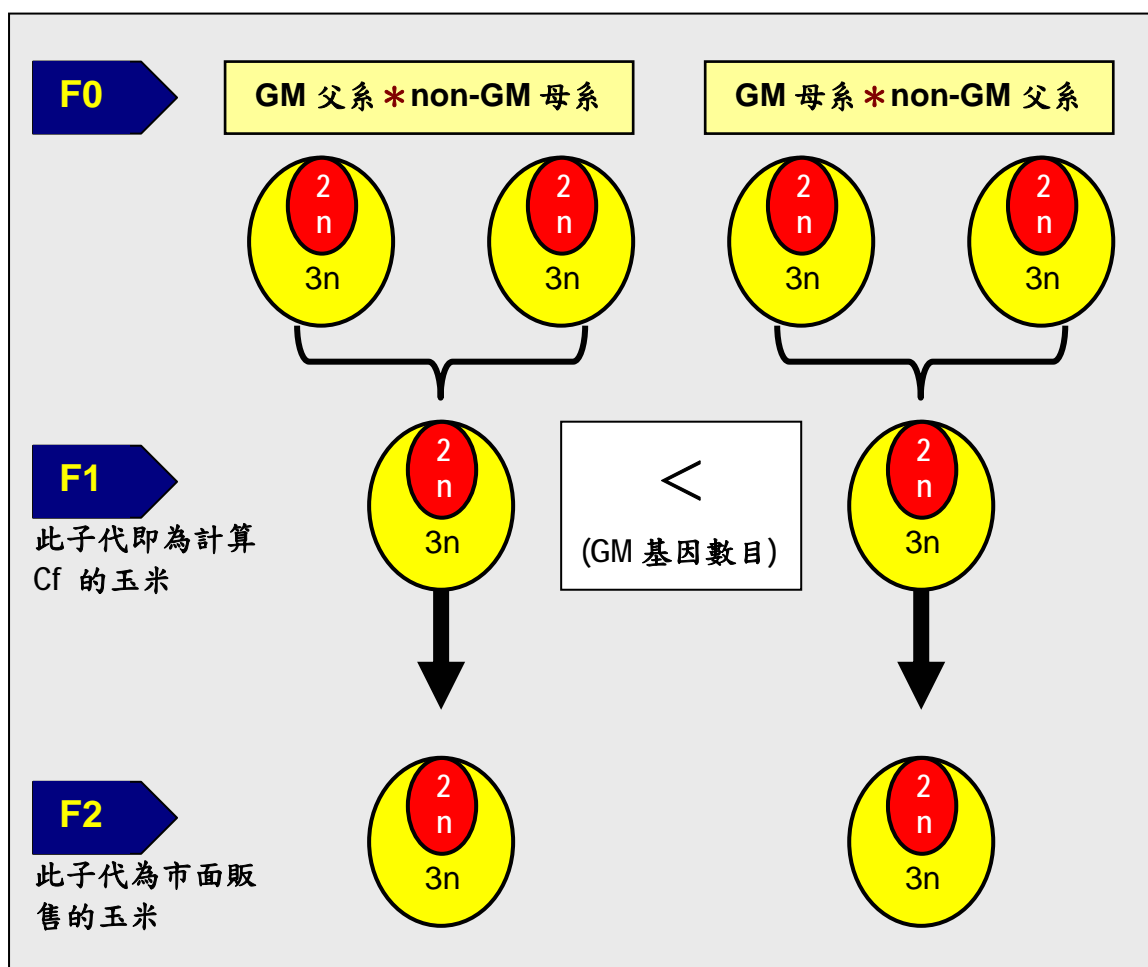
關於本局所發展之 Event 176 品系基改玉米定量分析方法，其檢測之結果容易出現濃度偏低的問題，筆者是請教小口太一先生，小口先生是目前實驗室中主要負責定量方法研發的人員之一。他提到當初日本方面發現類似問題是發生在 GA21 品系，該品系的定量分析結果會隨著不同時間進行實驗，時間間隔越久，得到的濃度分析值會越來越高的情形。

他解釋，問題徵節所在恐怕還是回歸到“胚乳”及“胚芽”上頭，現今在市面上銷售的玉米都是 F2 子代的，F1 子代主要用來種植或為種子，真正商業化販售的則是 F2 子代。而 F2 子代又因為 F0 親代何者為 GM 何者為 non-GM 而可分為兩

種，分別為（GM 父系 * non GM 母系）及（GM 母系 * non GM 父系），這兩種 F0 親代的雜交結果所產生的 F1 種子作為標準品來計算 Cf 值，將會獲得不同的結果。見下圖說明：



玉米粒的染色體套數



由於，F1 子代有兩種樣式，且這兩種樣式的 GM 基因數目又不相同，將造成這兩種 GM 種子所求出來的 Cf 值會有所差異。加上市面上販售的 F2 子代到底是衍生自上圖左邊形式的，還是右邊形式的，根本無從考證，當然也有可能是這兩種樣式的 F2 子代都有，因此造成了不論是哪一種 F1 子代所求得的 Cf 值，在計算 F2 子代的含量，都會可能引發定量誤差。

筆者追問，他們目前的定量分析結果是否依然很準確，小口太一先生表示，其實他們的Cf值也會隨時間而有所變異，只是據了解變異情形不會太嚴重，所以就沒再管它，也沒再持續針對舊有研發的基改作物品系來監測其定量方法中Cf值的變化了。至於是否有什麼較好的建議來改善定量分析不准的問題，他則建議我們可以先行採用IRMM的CRM來進行測試，但據了解IRMM所販售的CRM僅侷限少數幾種品系，是否販售Event176的標準品，則有待確認。而日本雖然已經核准了幾種stack品系的GM玉米上市，但並沒有正式的官方檢驗方法釋出，這也是國際間所面臨的共同問題了！

八月四日【星期五】

為了進行 stack 品系基改玉米之鑑別實驗，古井聰先生提供兩篇該實驗室所發表的學術論文供筆者參考，分別為 **J. Agric. Food Chem., Vol. 53, No. 25, 2005. pp. 9713-9721.**，這一篇內容是講述關於該實驗室所發展的 multiplex PCR 方法，可以同時偵測八種品系 GM 玉米 (Nk603/E176/T25/GA21/MON863/MON810/ssIIb/TC1507/Bt11)，可惜，仍只適用於測試單一品項的基改玉米混雜，無法分辨是否為 stack 玉米。另一篇 **Anal. Chem. 2005,77,7421-7428.**，為 Akiyama 實驗室所發展的 multiplex real time PCR 方法，在此篇文章中提到使用一種獨特的磨粉機，可在同一批操作中同時粉碎 48 顆玉米粒，且不會造成交叉污染，對於如此高效率的粉碎機筆者甚感興趣！至於 competitive-PCR 部分，從實驗室中所張貼的海報上也可以看到關於此類實驗技術的發展成果，在判讀電泳膠片時是使用 ATTA 這家日本公司的影像判讀系統，它似乎可以藉由光學掃瞄的方式進行膠片上電泳產物的濃度的判讀，將結果呈現在螢幕上，並以 peak 的大小高低呈現產物濃度，類似 HPLC 的圖譜，以便正確判讀兩條 band 亮度相同的濃度。這比起原本只能藉由肉眼判讀的方式要科學多了。隨後在筆者的要求下，大西真理小姐引領我前往參觀前述“磨單顆玉米用的磨粉機”，為了能夠一次處理 48 顆玉米，該機器必須使用特製的磨粉用 tube，聽說磨粉的效果相當好，不輸本局先前所購置的鋼製磨粉機！塑膠製的磨粉用 tube 採可拋棄式以杜絕污染，但內部磨碎用的不鏽鋼子彈則必須在使用後清洗乾淨，程序為先以洗潔劑清洗乾淨之後，以 5% 的 NaClO 配合超音波震盪器清洗，操作人員表示，為比較不同化學試劑對殘留 DNA 的水解效果，研究人員試過用

NaClO 及 H₂O₂ 兩種溶液清洗，並比較 DNA 降解程度，發現 NaClO 效果較好，所以該實驗室目前已全面改用此溶液清洗。筆者覺得這是不錯的方法，可省卻使用 NaOH 強鹼，是比較安全而有效的方式，亦將建議作為本局日後清洗磨粉罐之用！清洗之後的不鏽鋼子彈再以 200 度的高溫烘箱烘烤 6 小時即完成所有清洗程序！關於這台磨粉機的價格，日本國內的販售價格為 2,500,000 日幣，未來本局若有需求，可作為採購的參考資訊。該儀器的外貌及不鏽鋼子彈如下圖所示：



另外，今天早上也在實驗室中遇到日野明寬先生，這是他到東京接任新執以來首度回到食品總和研究所來拜會，新頭銜為內閣府- 食品安全委員會- 事務局- 次長，由於「食品安全委員會」與「食品總和研究所」在業務上的關連性上互動極為密切，因此敘職後即刻回來此拜會並發放名片。據說，他的新工作內容將包括所有跟食品安全議題相關的事務，包括 BSE。不過，由於他的拜會行程極為緊湊，忙筆者也僅能跟他索取名片，無暇閒聊。正當筆者感到惋惜之際，當日

下午即接獲日野先生的來電，表示將會找一適當時間與筆者見面並詳談轉變後的業務概況，另筆者感到欣喜。由於其負責業務已擴及至所有與食品安全相關之議題，若能與其持續維持良好關係，對於與本局業務相關的資訊，不啻為是一極好的交流管道。

另外，實驗室中所有的RT-PCR機器都已移置白色獨立棟實驗室，除原本有的ABI-7700，亦添購了7900（2004/12 買的）及7500，至於ABI-7000 已經被移到地上了（可能已經少在使用了）！奇特的是他們進了一台澳洲公司Rotor-Gene RG-3000（CORBETT RESEARCH）的機型，且聽說下週還要進一台同公司更新的機型RG-6000。據大西真理小姐表示，此公司的儀器使用ABI-7700 的條件進行實驗，不論是反應性、PCR的反應效率，以及結果的正確性都很好，為了擴大該實驗室方法的應用機型，故透過FASMAC公司老闆的介紹引進此款機器！但它所使用的PCR反應管為特製的0.1 或 0.2 ml的tube，所有tube放置在一轉動的圓盤上反應！筆者猶記得曾在台灣某展覽會場看過儀器代理商代理此款機型。大西真理小姐表示，未來此機型可能也會納入基改食品檢驗方法的實驗室共同試驗中！該款儀器的外貌，如下圖所示：



八月七日【星期一】

今天是星期一，早上九點整只見辦公室成員突然在辦公室內站成一圈，筆者一時間因不明就裡而感到不知所措！原來每星期一的一早上班，單元主持人橘田和美女士就會集合大家並藉此聚會宣布所有實驗室的相關事務及所要注意的事情，即所謂的group-meeting吧！今天還宣布了一則喜訊，即實驗室的研究員小口太一先生昨日當了爸爸了，這是屬於實驗室的喜訊。

筆者撥空將前述古井聰先生所提供的兩篇論文加以詳讀，並將疑問處提出請教相關人員，尋求解答。首先由文章中得知該實驗室一直以來用來做為方法開發的玉米都是"顆粒狀"的並無使用"粉碎狀"的樣品，由於本局所取得的基改作物標準品中不少是粉碎狀的玉米，粉碎狀玉米是否可能存有純度方面的疑慮，或是含有兩種 F1 種子的混雜，值得深思。其二，該實驗室在研發定量方法時所用的 non GM 對照品，據文章中所載乃是採用 QC9651 這品系的玉米(為美國方面 2001 及 2002 所收割的玉米，此為 Quality-Traders, Inc. 簡稱 QTI 公司所提供的 non GM 玉米)。據轉述，日野先生表示此品系是目前美國目前主要的 non-GM 玉米品種，故以之作為調配不同濃度比例的樣品較為貼近實際狀況。而本局目前並無法取得 QC9651 這品系的 non GM 玉米。其三，所有實驗用之 GM 玉米粒皆上了顏色，必須先加以清洗過，清洗程序為先以 1% SDS 清洗，再以清水清洗，然後放於吸水紙上室溫陰乾 3-4 天，再以肉眼判定是否已經完全乾燥。之後再進行磨粉。上述程序，本局並未如此採行。筆者所發覺的問題，或可作為本局日後改進實驗程序的參考。

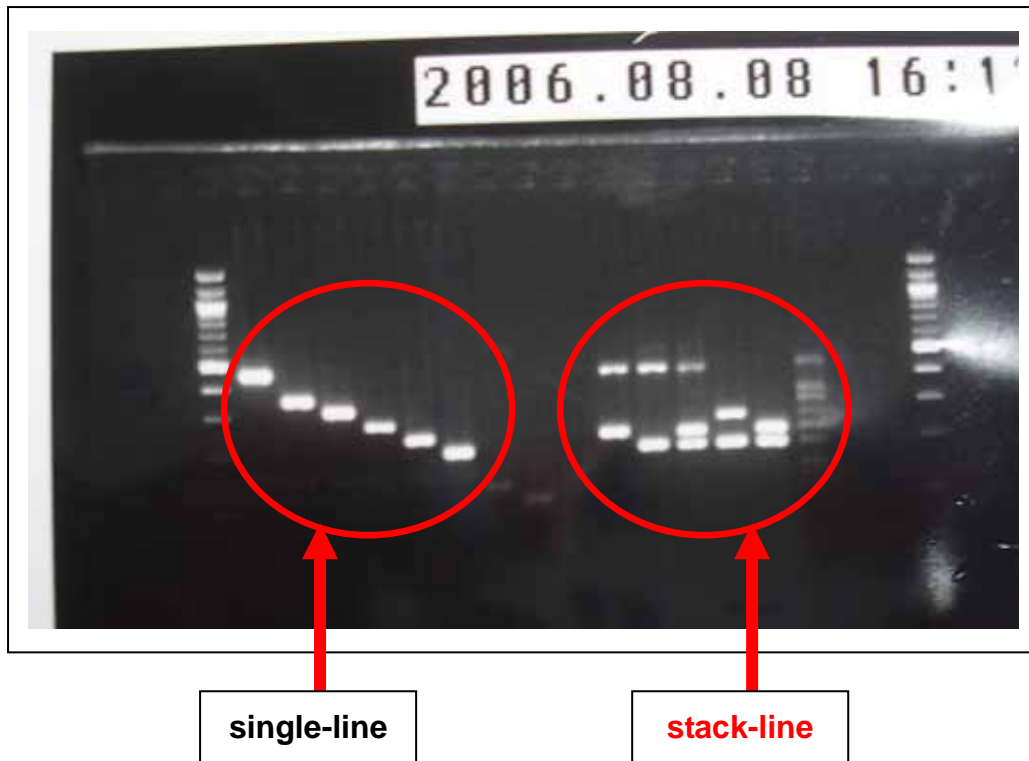
關於前述澳洲公司的那台 real time PCR 儀器 Rotor-Gene RG-3000，據說價格約為 4 百萬日幣，跟 ABI7500 的價格相近，基本配備的樣品環是 for 72 個樣品，但有 optional 的樣品環是 for 100 個樣品(目錄上特別註明是可以進行 96 個 sample 及 4 個 blank)的。新機型為 Rotor-Gene RG-6000，可以進行 6 色的判讀，舊機型則進行 4 色的判讀。大西真理強調，此部儀器套用 ABI7700 的條件以及 threshold-line 即可，結果與 ABI-7700 所獲得的數據相仿。

有關"過敏原"方面的研究，為橘田女士接手日野先生實驗室之前的研究領域，目前實驗室也分為兩大研究群，但在整個實驗室的人力配置方面，基改作物檢驗領域仍占大多數，約為 19 人左右，而過敏原方面的研究人員則僅約有 3 人。由於仍未有機會與過敏原研究的成員接觸，故無法瞭解到底從事哪些食品過敏原

之研究，但側面瞭解應是以進行 2-dimension PAGE 的蛋白質實驗為主軸。下午時段，大西真理小姐與筆者討論實驗事宜，預計於星期二進行 multiplex PCR 定性分析實驗，星期三及星期四則進行 multiplex real time PCR 實驗，並將明日所要進行的 PCR 實驗溶液配製表交給我，以利我先行瞭解實驗步驟及操作程序！

八月八日【星期二】

早上筆者與大西真理小姐再次確認所有實驗內容以及相關溶液的配製方式之後，即交由筆者自行操作實驗，今日進行的實驗為該實驗室所研發的八種品系基改玉米的 multi-plex PCR 定性分析方法，這八種作物為 NK603，E176，T25，M863，M810，TC1507，Bt11，GA21，都是屬於基改玉米。原理為藉由同時添加八種基改玉米專一性的引子對於同一反應溶液中，即可達到在一個 PCR 反應中偵測八種基改玉米的目的，上午完成所有反應溶液的配製，下午則進行 PCR 反應後產物的 gel electrophoresis。筆者實驗用的 DNA sample 除了單一品系的基改玉米品種，還包括屬於 stack 品系的 M863×NK603，M810×NK603，M810×NK603×M863，M810×GA21，M810×M863，這些 stack 品系在日本國內皆已被厚生勞動省核准上市，可藉此確認八種品系基改玉米的 multi-plex PCR 定性分析方法是否適用於 stack 品系玉米的分析。至於 positive control 的 DNA 則是採用八種單一品系基改玉米的 plasmid 混合溶液。大西小姐強調，此定性分析用的 plasmid 跟之前定量分析用的 plasmid 有所不同，除了所含的各品系基改玉米序列不同之外，也改成一個 plasmid 中僅含有一種品系基改玉米的專一性基因片段，之所以做此更動的原因乃是遷就於 multiplex PCR 如果要在同一個 plasmid 上同時進行，將會造成 PCR 反應的窒礙，為此原因，故須另行設計單一品系的 plasmid 作為標準品之用！經過約兩小時的電泳操作之後，結果已明顯的呈現在所拍攝下來的電泳膠片照片之中，如下圖所示。其中左半邊為六種單一品系的基改玉米，右半邊則為五種 stack 品系基改玉米。無論是兩種或三種雜交的 stack 品系玉米，皆可明顯的呈現出所對應的專一性 DNA 片段大小，對於實驗的結果，實驗室人員亦感到滿意。目前該分析方法仍無法區別 stack 玉米或是多種單一品系混合的情形，這是 multiplex PCR 定性分析方法目前的無法突破的缺點所在。



筆者觀察實驗室所購買的 ABI 7900 定量儀器是不具備機器手臂的系統，未來 ABI-7700 退役之後，將由 ABI 7900 接替，並擔任基改作物分析工作的主力機種。至於 ABI 7900 的定量 PCR 反應條件，是跟 ABI 7700 大致相同，唯一不同之處在於 ABI 7700 的 PCR 反應 cycle 數為 40，而 ABI 7900 的 PCR 反應 cycle 數則為 45，多了 5 個 cycle。

關於”過敏原標示”的資訊，目前日本政府僅要求”五大類”食品成分需要強制標示”，這五大類成分分別為乳類（奶），蛋類，花生，小麥，蕎麥，目前有官方方法，而且已經有公司商業化生產檢測套組，日本國內主要是下述兩家公司--其一為”森永食品公司”，另一個是”Nippon Ham 肉品公司”。而且古井聰先生強調”Nippon Ham 肉品公司”是一家很大的公司喔！因為筆者觀察目前市售產品關於過敏原的標示並不僅限於此 5 類，故詢問何故？古井聰先生先生表示，目前法令僅限此 5 類需強制標示，至於其他成分項目則為建議標示，日本現在也沒有標準檢測方法，唯政府的態度傾向於鼓勵食品公司盡量將具引發人體過敏反應的成分標示出來，因此有些較具規模的食品公司就會進行”自願性的標示”，因此才看得到各種的過敏成分的標示，譬如”魚介類”就是其中之一。有關日本的食物過敏原強制標示品項及自願標示品項，如附件一所示。建議標示的成分項目共有二十

種，分別為：烏賊，鮭魚卵，蝦，蟹，柳橙，奇異果，牛肉，胡桃，鮑魚，鮭魚，鯖魚，黃豆，雞肉，豬肉，松茸，桃子，山藥，蘋果，明膠，香蕉。

至於該實驗室正在進行的食品過敏原研究項目，包括米，黃豆，蝦子及魚介類等，其中，黃豆為一重點研究項目，因為日本人所食用的食品中有太多是以黃豆為加工原料！至於米的研究方面，古井聰先生表示就如同”蕎麥”一樣，雖然大多數日本人都在吃，但就是有一小部分的民眾會引發過敏而不適合食用。這對於同是以米為主食的台灣人而言真是太意思的資訊了！

筆者提到關於本局最新調查結果發現，”芒果”是台灣民眾的主要過敏原之一，這可讓來自泰國的 Preprame 女士感到意外了，因為芒果是泰國的重要作物，產量及加工產品都很多！這正是不同國情，不同食品衛生安全情況，也必須因地制宜的進行正確管控的最佳範例。筆者也從其中瞭解到 international communication 的重要性了。至於該實驗所致力發展的檢驗方法，仍以蛋白質電泳為主，畢竟引起過敏反應的物質仍以蛋白質為大宗，其他種類之檢驗方法研發還包括 wester blot 及 PCR 法。筆者問及數年前本局曾派員前往”醫藥品食品衛生研究所”考察時，該研究所的 Akiyama 實驗室也從事食品過敏原的檢驗方法開發，古井聰表示，目前 Akiyama（第三室）已經不再負責過敏原研究，相關業務已移轉至另一個實驗室（第四室）了，唯筆者對於該部分資訊持保留態度，需再謹慎確認！

八月九日【星期三】

今天筆者預計進行 multiplex realtime PCR 實驗，快速篩選 96 顆玉米粒並區別是否含有 stack GMO 玉米。今日的實驗必須先由 96 顆玉米粒磨粉開始一直進行到 DNA 抽取完畢，需耗費極大的勞力與精神，因此大西小姐從解說實驗開始便不斷對筆者進行心理建設，同時也安排實驗室另一位研究人員真野潤一先生協助進行實驗，以分擔勞力。今日所要抽取的樣品為 Bt11 抗蟲玉米粒，乾燥的玉米粒先以 1%SDS 溶液清洗之後，以紙巾吸附水分後隨即置入烘箱中以低溫進行烘乾，接著即以磨粉機進行粉碎，該磨粉機一次可以處理 48 顆玉米粒，每顆玉米粒各自置放於獨立的塑膠製粉碎管中，故不會有交叉污染的情形，粉碎的效果也極佳，粉末極為細緻，令筆者大表激賞。抽取 DNA 的套組是使用 QIAGEN 公司的產品，唯實驗步驟已經過修改，以符合實驗的需求。由於抽取 DNA 的過

程必須一氣呵成，期間除短暫休息喘息之外，並無其他空閒時間。筆者與其他兩位研究人員完成今日所有實驗時已是晚上八點過後，大家都已經飢腸轆轆。迅速將實驗物品整理完畢後準備出發祭五臟廟了。大西小姐所提供的一些實驗相關資料如附件二所示。

八月十日【星期四】

今天的實驗，即是以昨天所抽取的 96 顆玉米的 DNA 進行 multiplex realtime PCR，大西小姐先行解說實驗試劑的配製以及操作流程後，隨即進行相關實驗。此項實驗需使用三種引子及探針，分別是針對 CaMV 35S promoter、GA21 及 SSIIB 反應的引子及探針組，將上述三種加以混合之後，分裝至 96 孔反應盤，再將 96 顆玉米的 DNA 分別注入個別的反应 well 中即可上機進行 real-time PCR 反應，ABI 7900 之激發光源係與 ABI 7700 相同，皆採雷射光源，然 ABI 7700 將於 2 年後全面停止維修，日後 ABI 7900 將成為該實驗室進行 RT-PCR 的主要機型。筆者去年前往韓國植物檢疫政府單位 NAQS 考察時，該單位亦已經採購並使用 ABI 7900 做為技術研發平台，其考量的重點應該都是顧慮到 ABI 7700 即將除役之故。從日本及韓國考察的心得，筆者認為，本局若以長遠的角度考量，理應考量添購 ABI-7900 機型，以因應日後檢驗及研發業務所需！

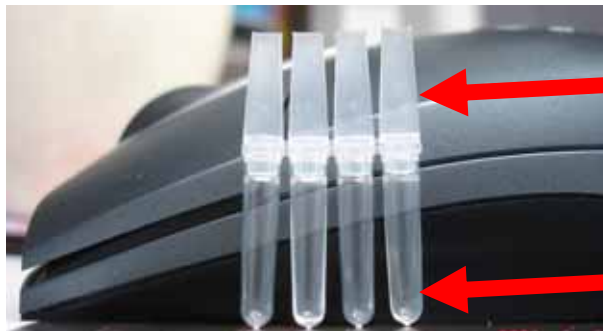
至於 ABI-7900 所用的反應盤、反應盤墊片等皆與 ABI-7000 相同，大西小姐特別強調，反應盤墊片屬於耗材，依據使用手冊所載，此墊片只能使用 20 次，之後即應更新，這讓筆者感到訝異，因為筆者在操作 ABI-7000 時並不曾接受過類似訊息。但大西小姐亦表示這是使用手冊所記載，他們有時也會有使用超過 20 次以上的情況。該反應盤墊片如下圖所示。



筆者這兩天以來所進行的利用 multiplex PCR 判定玉米粒是否為 stack 品系的檢驗方法其實並非該實驗室所研發，而是由國立醫藥品食品衛生研究所的 AKIYAMA 實驗室所研發。該方法因為要從粉碎 96 顆玉米，抽 DNA，到配製試劑到上機分析，工程浩大而繁瑣，該實驗室裡人人都望之卻步。依據大西小姐及其他同事表示，凡是 AKIYAMA 實驗室所研發的方法，基本上步驟都很繁瑣且需耗費極大心力！因此都不太願意實際操作，目前這個實驗室裡也僅 3 人做過，筆者是第 4 個！正因為熟悉該項實驗的人員很少，缺乏實際經驗，因此，實驗進行期間若遇到不知原因的操作步驟，大家往往會面面相覷不知其原理依據何在，此時大家就會都笑說唯一原理依據就是"因為它是 AKIYAMA 實驗室所發明的方法"，不禁讓筆者薛為之語塞！

即使實驗過程很累，但分析所得的結果卻頗另筆者驚豔，依據電腦呈現之結果，可將 96 顆玉米區分為四區，如附件三所示，即「stack-GM」、「non-GM」、「positive control」、「negative control」，從螢幕所區分的顏色即可判定是否為 stack-GM 玉米，一目了然。筆者在經驗不足的情況下仍能得到滿意的結果，這兩天來的勞心勞力總算有所回饋。

今天下午該實驗室新購置的 RT-PCR 機器也已經裝機完成，機型為 Corbett Rotor-Gene RG-6000，整機採大紅色塗裝(有 3 色可供選擇)，很像法拉利跑車，內環樣品座是 for 72 個 sample 的，所使用的塑膠反應管為特製的 4 連排管，見下圖所示。該機型尚有 for 100 個 sample 的內環樣品座可供選購，但並未連同此次採購一起購買。至於為何不選用 100 個反應的樣品座呢？大西真理小姐解釋，代理商說，100 個反應的樣品座很奇特，是採用環狀 100 連排的塑膠特製反應管，也就是說一次一定要用一個 100 連排反應管，即使只進行一個 RT-PCR 反應也是如此。而且 100 連排反應管的密封方式並非使用 cap，而是像 ABI-7000 一樣是用一片薄膜來密封的！後續大西真理小姐將會針對 Corbett 公司所生產的新舊機型，進行 GM RT-PCR 反應條件之比較工作，以便進一步評估該機型的適用性。



CAP

Micro-tube
for 100 uL

八月十一日【星期五】

今日，筆者將結束在橘田和美女士實驗室實習考察的行程，預計於下午搭乘電車前往東京都，進行此行最後任務「食品標示市場調查」。在離開之前筆者把握所剩不多的時間，再詢問實驗室同事有關 GM 檢驗及過敏原相關研究的資訊。

關於 GM 的定量，其實此地的研究同仁似乎也對於 Cf 偏差問題感到棘手，為此，他們曾經發表了乙篇 paper 探討關於不同 F1 及胚乳及胚芽問題所引發之

Cf 差異！有趣的是，我秀了一下本局進行 GIPSA 精度試驗時 Event176 濃度偏差的實驗結果，古井聰先生特別指出在他們所發表的 paper 中分析數種品系 GM 玉米之胚乳、胚芽及全顆玉米 3 種 Cf 值，就屬 Event176 變異最大，似乎在暗示對於本局 GIPSA 實驗結果 Event176 的濃度偏差情形並不感到意外。

筆者追問是否還有其他原因會引發 Cf 差異，古井聰先生反問筆者是用什麼方法抽取 GM 樣品 DNA？筆者表示是採用各實驗室廣為使用的 Qiagen kit，但他認為 Qiagen 公司的 mini-kit 抽取效果不佳，不建議使用，目前日本官方方法採用 4 種 DNA 抽取 kit，分別為 Qiagen-maxi；modified-Qiagen-mini；NIPPON-GENE GM-quicker 及 genomic-tip，其中 NIPPON-GENE GM-quicker 是 NIPPON-GENE 這家公司於該實驗室合作開發的產品，抽取一個 sample 只需耗時 40 min，效率極佳，但他不知道 NIPPON-GENE 公司是否在台灣販售此套組。古井聰先生表示可以協助筆者取得試用品。因此，總結來說，古井聰先生認為 GM 定量分析結果的偏差，乃是肇因於"DNA 品質不佳"及"F1 子代混雜"。但他進一步表示，目前日本政府也不管這麼多，就只指定"這一種 F1 子代"要該實驗室進行定量方法開發，並採用"這一種 FI 子代"所計算得到的 Cf 值作為此種 GM 玉米的定量分析的計算標準。之所以忽略某些影響因素，乃是因為 GM 玉米核准種類越來越多，不可能針對每一種 GM 玉米的 Cf 變異一直探討，那是極為耗時費力且困難重重的任務。而且，只要是經過厚生勞動省核准的 GM 玉米，基本上不會有健康上的疑慮，言下之意就是既然安全無虞，就不必事事苛求吧。

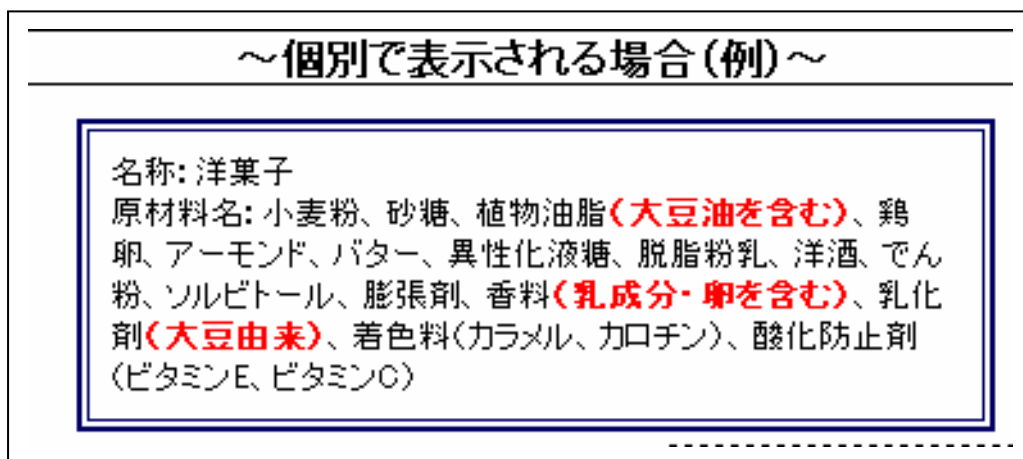
關於"過敏原之研究"部分，古井聰先生表示該實驗室是著重在分離及判定"黃豆中之過敏原成分"，並非發展檢驗方法，至於目前日本方面有關過敏原成分的檢驗方法研究共有四類，牛乳及蛋是採用 ELISA 及 western blot，小麥、蕎麥及花生是採用 ELISA，其他有些則是採用 PCR 方法，最後一種則是管柱層析法！但他強調管柱層析法所用的 colume（筆者猜測是親和性管柱），其中所 coating 的抗體是和 ELISA 的一樣，所以結果應該類似 ELISA，且目前管柱層析法並非 official method 方法之一！

下午約四點左右，與實驗室同仁一一道別，感謝所有同事兩週以來的幫忙及協助，在依依不捨的氣氛下，筆者帶著滿行囊得來不易的資訊離開食品總和研究所，出發前往下一站「東京都」，進行最後任務"食品標示市場調查"。

八月十二日【星期六】

考量中大型食品百貨賣場多數集中於人口稠密處，為利進行食品標示調查，筆者選擇位於鬧區的”涉谷”作為此行最後兩天的落腳處。涉谷地區為東京地區重要之交通樞紐，人口稠密，觀光及商業活動頻繁，因此有不少百貨公司座落於此，其所附設的開架式超級市場正好提供筆者良好的考察場合。基於幾次日本考察經驗，瞭解到日本在 GM 食品標示方面已頗為成熟，眾多商品的包裝上皆可見到”非基因改造”的標示字樣，至於正面標示的產品，幾乎不可能出現在”反 GM 成分”情節極重的日本市場。因此筆者將調查重點放在”食品過敏原成分”的標示。此部分的強制標示制度，日本政府是在 2001 年四月一日起開始強制實施，截至目前，強制標示的過敏成分有五種，為蛋、牛乳、小麥、蕎麥、花生，至於建議標示的品項，則有二十種，分別為：烏賊，鮭魚卵，蝦，蟹，柳橙，奇異果，牛肉，胡桃，鮑魚，鮭魚，鯖魚，黃豆，雞肉，豬肉，松栂，桃子，山藥，蘋果，明膠，香蕉。以政府衛生單位的立場當然是鼓勵食品廠商多多針對建議項目進成份份標示，以維消費者權益。筆者即依據這些資料，尋找食品包裝上的標示字樣或圖案。

依據日本網站相關資訊所載，現行標示方法可區分為「個別成分標示法」及「成分總括標示法」，下圖即為「個別成分標示法」的範例，如紅字所示，廠商將過敏原成分標示於個別原料成分之後。



下圖則為「成分總括標示法」的範例，如紅字所示，廠商可將食品中所有過敏原成分統一標示所有原料成分之後。

～一括で表示される場合(例)～

名称:めんつゆ
原材料名:しょうゆ、風味原料(かつおぶし、かつおエキス、さばぶし、煮干し、昆布)、糖類(砂糖、果糖ぶどう糖液糖)、発酵調味料、みりん、食塩、たんぱく加水分解物、酵母エキス、調味料(アミノ酸等)、酸味料、**(原材料の一部に小麦、牛肉、豚肉、ゼラチンを含む)**

筆者觀察市售產品，發現日本國內推行過敏原標示已經深具成效，標示產品包羅萬象，舉凡餅乾、泡麵、麵包、麵類、調味料、飲料、生鮮製品、即時食品、冰品甜食等等各類食品都可輕易發現相關標示，而過敏原的標示種類，除五大類屬強制標示的項目外，其他 20 種的建議標示項目，也都可以很容易的在各類食品包裝上發現，顯見廠商對於政府推行的政策都很配合，而食品廠也都能落實保障消費者權益的觀念。筆者也觀察到雖然日本目前所推行的是屬於「正面」標示制度，即廠商需標示出食品中所含的指定過敏原成分，但有些廠商為凸顯其產品的健康性，會加以標示「不含」特定之過敏原，這是很有趣的現象。至於標示的方法，「個別成分標示法」及「成分總括標示法」都有不少廠商採用，除以規定的文字進行標示外，也有廠商別出心裁，針對各種過敏原成分設計可愛造型的小圖示來加強印象，一方面能夠讓消費者一見即知，淺顯易懂，另一方面也可增加產品的美觀，一舉數得，讓筆者對於日本人的用心及專注的精神印象深刻。部分產品上則可清楚辨識「不含基因改造成分」的標示以及「食品過敏原」的標示，提供消費大眾明確的產品資訊。筆者特地將部分標示產品拍照或將包裝袋攜回，可作為衛生署日後推行「食品過敏原」標示時的參考資料。部分產品標示，如附件四所示。

八月十三日【星期日】

順利完成此次考察任務，收拾隨身行李，踏上歸國之路。

參、心得與建議

一、日本已建立八種 GM 玉米之 multiplex PCR 定性篩選方法，並建立 multiplex realtime PCR 方法，初步可進行 stack 品系玉米之定量估算。

長久以來，世界各國在基因改造作物定量檢驗所遭遇的最大難題就是無法正確估算含有 stack 品系玉米的樣品濃度值，即使時至今日，這問題依然沒有較好的解決分析方法。由於 stack 品系的基改玉米同時含有兩種單一品系基改玉米之基因，因此若以目前的技術計算，將會造成濃度高估的現象，其後續效應將會引發跨國間的貿易糾紛，問題的急迫性不言可喻。目前日本方面對此一問題所思考得到的解決之道可分為兩方向，即先以 multiplex PCR 定性篩選方法判定樣品中是否含有 stack 品系的基改玉米粒，一旦確認之後，再配合以 multiplex realtime PCR 方法篩選 96 顆玉米粒中所含有的 stack 玉米粒，從而估算 96 顆玉米粒中所含的 GM 玉米百分比濃度。經筆者實際操作實驗後，對於日方所建立的方法印象深刻，此種檢驗程序雖然耗時耗力，從玉米粒磨粉，抽取 DNA，定性篩選到定量估算，完成一批實驗約需耗時兩天，但所得到的分析結果確是頗見成效。在目前國際上對於 stack 玉米定量分析仍無突破性的檢驗技術出現之前，日本所研發的單顆玉米粒 multiplex realtime PCR 定量估算技術，不失為一種可行的過渡型定量檢驗技術。

二、我國應積極規劃食品過敏原標示制度，以提升消費者的食用安全權益。

關於日本的過敏原標示制度，日本厚生勞動省於 2001 年 3 月 15 日修定食品衛生法規，制訂所謂的食品過敏原強制標示制度，該法令中並規定於同年的 4 月 1 日起開始執行此項標示制度。法令中明訂食品中五種日本國民的主要過敏原成份，業者必須進行強制性標示，分別為蛋、牛乳、小麥、蕎麥、花生，另訂定其他二十種次要過敏原成分屬於建議標示項目，分別為：烏賊，鮭魚卵，蝦，蟹，柳橙，奇異果，牛肉，胡桃，鮑魚，鮭魚，鯖魚，黃豆，雞肉，豬肉，松栢，桃子，山藥，蘋果，明膠，香蕉。具相關資料顯示，已

經實施食品過敏原標示的國家，除日本之外，尚有美國及歐盟，由此可知食品過敏原標示制度，已是先進國家不可不推動的政策。

我國目前尚未規劃相關制度，但近年來民眾對於健康飲食的觀念越來越重視，且肇因於食品所引發的醫療案例更是屢見不鮮，據此推測，在不久的將來，食品過敏原的議題必定會成為衛生政策中一項重要的討論議題。

本局自 2005 年起，已經連續兩年委託教學醫療單位進行「台灣地區食物過敏原因之調查」，期望透過醫療院所民眾就診的醫療記錄，釐清我國民眾特有的食品過敏原種類。藉由這些本土資訊的累積，配合本局同仁多次國外考察所得知資訊，供作本署未來制訂及推動「台灣之食品過敏原標示制度」的參考資訊，將可進一步保障全國國民的飲食安全。

三、積極研發食品中過敏原成分的檢測技術，作為落實標示制度的依據。

依據本署推動基因改造食品標示制度的經驗，若要落實一種特定的食品標示制度，就必須依賴準確的檢驗技術。同樣的，執行食品過敏原標示制度也是相同情況。目前，日本官方已經針對蛋、牛乳、小麥、蕎麥、花生等五種主要的過敏成分制訂並公布官方檢驗方法，其中有蛋白質的檢測技術，亦有 PCR 的檢測技術等。透過這些檢驗技術，日本國內各級衛生單位已可針對管轄區內之食品過敏原標示執行稽核，確認標示內容是否屬實，並公布相關調查結果供民眾瞭解。為持續精進相關檢測技術，筆者所造訪的食品總和研究所亦投入了大量的人員與經費進行過敏原成分的分析及檢驗研究，顯見日本對於此研究領域的重視。

須瞭解，政策制度層面的決策工作，較容易在短時間內集合專家學者之力，集思廣益討論共同制訂，但檢驗技術的研發，則需研究人員一步一腳印，在不斷的錯誤中學習經驗，改進錯誤之後始可制訂，故往往耗時甚具始可建立一種檢驗方法或技術。因此筆者認為，在國內食品過敏原標示制度尚未建立之前，政府方面即應先行投入相關檢驗技術的研發工作，在研究經費及人員方面持續挹注，務求縮短研發時程，唯有如此，則日後標示制度一旦落實執行之後，檢驗業務才能在第一時間推行展開，輔助標示業務的政策執行及推動，使其相輔相成。

四、食品廠商應有維護消費大眾飲食權益的基本體認，配合政府標示政策，誠實標示，政府也需負起教育及宣導之責，使業者與消費者得以互利共榮。

筆者在進行標示調查時，觀察到無論是「基因改造食品」的標示，或者「食品過敏原」的標示，日本的食物業者都很能接受並配合政府的相關規定，無論是標示的項目，標示的內容，標示的方式，標示的地方，甚至標示字體的清晰度等無一不是與規定相符，而且幾乎是從包裝食品，檯面販售的生鮮食品到即時食品都可見到相同的標示，讓筆者印象深刻。其實要達到業者全面配合的目標，當然需要強而有力的施政作為及檢驗制度把關，但筆者以為，業者本身是否”有心”，才是主要的成敗關鍵。因此筆者特別強調食品業者應該要具備身為食品業者該有的基本認知，那就是”健康、衛生、安全”為第一要務的觀念，一旦業者都有相同的概念，則推行各種標示自然不會成為負擔，反倒成為是一種推銷自家優良食品品質保證。至於在推動標示之初，政府相關部門理應善盡宣導”教育”之責，”教育”並不僅侷限於針對食品業者，而是必須同時針對業者及一般消費大眾進行宣教，不僅讓業者知道如何正確標示，知所依循，也讓民眾得以瞭解食品標示的意義為何、功用為何、與自己的健康安全有何關連性。如此才能發揮食品標示的真正效果。否則，政府做了一堆努力，業者也投入更多成本，結果換來民眾一知半解，豈不成為另一形式的浪費。

五、持續維係良好的國際關係，有助於資訊取得，使我國食品衛生政策得以與世界潮流同步。

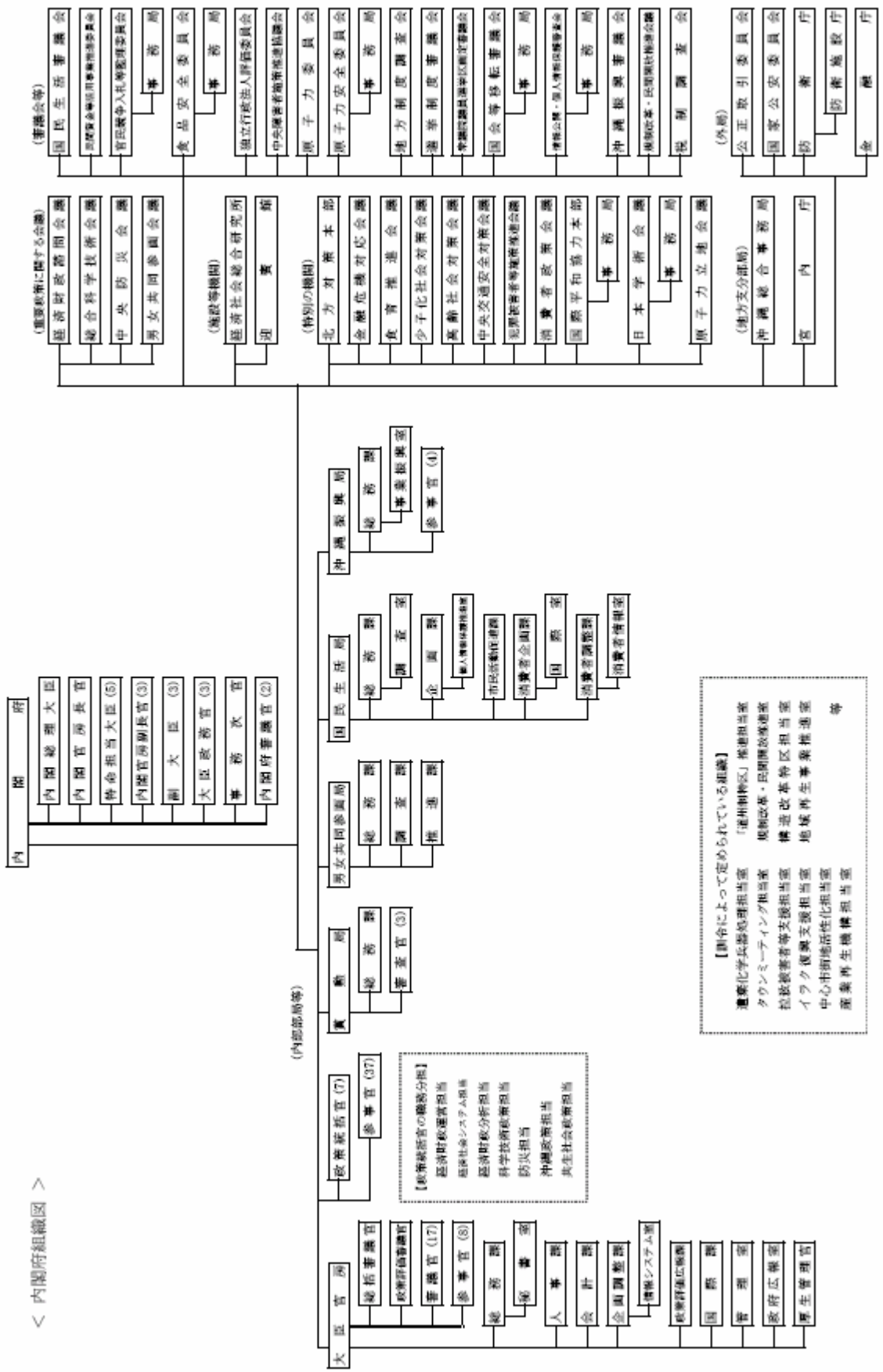
台灣因為受限於中共在國際間無情政治打壓，使得我國在取得各種國際資訊上往往慢其他國家許多，在食品衛生安全方面也是如此，台灣遲遲無法加入世界衛生組織（WHO），無法參與聯合國食品法典委員會（codex），影響所及使得許多食品安全方面的最新訊息、各種食品衛生標準及規範訊息就無法與世界各國同步。

若要突破此種封鎖的困境，另一種可行的方式就是透過非官方性的技術性參訪及交流，建立並維持非正式的國與國之間的資訊交流管道，使我國得

以在不至落後國際太多的情況下取得各種食品相關重要資訊。

本局近年來持續派員赴各國衛生相關單位拜訪，實已取得良好的功效。以本組為例，多次派員赴「日本食品總和研究所」及「國立醫藥品食品衛生研究所」進行交流考察，得以將日本完整的基因改造食品檢驗技術及食品過敏原檢驗及標示制度的訊息傳遞回台灣，對於我國在上述領域的政策擬定及檢驗方法開發，貢獻良多，在在顯示出維護國際間邦誼的重要幸。

筆者此次再度造訪日本食品總和研究所，行前已獲知先前實驗室的主持人已經更動，故此行須與新的實驗室主持人橘田和美博士重新建立關係，以為日後資訊交流之所用，另一方面筆者亦與舊的實驗室主持人日野明寬先生取得聯繫並進行拜會。日野明寬先生因在「基因改造食品檢驗」領域的卓越表現而被擢升為「內閣府食品安全委員會」的事務局次長，由原本的研究單位晉升至中央機關食品安全政策的最高機關，日野先生所任職的「內閣府食品安全委員會」組織圖如下圖所示。依據食品安全委員會的任務性質，其負責各種食品安全的評估工作、制訂各種食品安全危害事件的緊急應變對策等，故需隨時掌握國內及國外各種食品相關之訊息，領域包涵微生物、化學、污染、基改食品、農藥、動物用藥、添加物、病毒、飼料等各方面。而藉由筆者與日野明寬先生先前多次的拜會所建立起的友誼，日野先生表示將很樂意與筆者持續維持資訊互惠的管道，且未來本局如有其他拜會日本政府衛生相關部門的計畫，他也願意代為幫忙連繫與接洽。正所謂山不轉路轉，透過日野先生的協助，將有助於本局未來在食品安全領域訊息的取得，這也印證筆者所強調維護國際友誼的重要所在，故建請本署長官持續支持同仁出國考察之相關計畫，建立遍及各國的資訊互惠網絡，以突破台灣目前持續被封鎖的外交困境。



肆、附 件

附件一

アレルギー物質の検査

1 食物アレルギーとは？

食物を摂取した際、身体が食物を異物として認識し、自分の身体を防御するために過敏な反応を起こすことです。

2 アレルギー物質を含む食品の表示

特定のアレルギー体質を持つ方の健康危害の発生を防止するため、アレルギー物質を含む食品の表示について、食品衛生法で義務化されました。

3 表示が義務化または推奨されているアレルギー物質

<p>表示が義務化されている5品目 (特定原材料)</p>	<p>卵、乳、小麦、そば、落花生</p> 	<p>義務 標示</p>
<p>表示が推奨されている20品目 (特定原材料に準ずるもの)</p>	<p>あわび、いか、いくら、えび、オレンジ、かに、 キウイフルーツ、牛肉、くるみ、さけ、さば、 大豆、鶏肉、豚肉、まつたけ、もも、やまいも、 りんご、ゼラチン、バナナ</p>	<p>自願 標示</p>

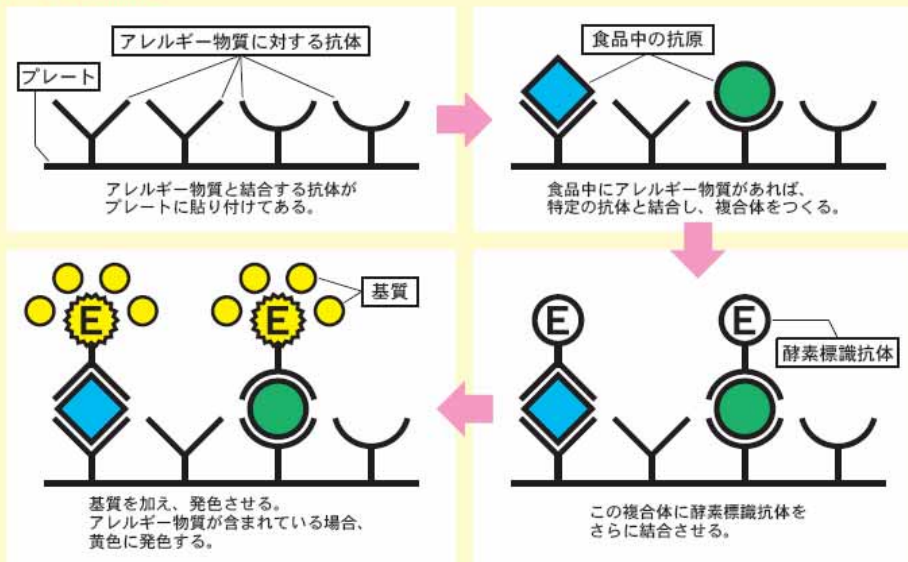
五項

二十項

4 検査方法

特定原材料については、市販のアレルギー物質検査キット（ELISA法）を用いて検査をしています。ELISA法は、抗原抗体反応を利用して微量の物質を測定する方法で、食品中の特定原材料由来のタンパク質を検出することができます。

5 検査の原理



附件二

2006.08.09

Bt11 seed.

試料調製、核酸抽出の方法

準備

- ・ トウモロコシ種子：100粒（約30～32g）
- ・ メタルコーンは乾熱滅菌（200℃、6h）しておく。
- ・ 洗浄に使用する器具（洗浄用プレート、ピュレット、ピンセット等）は次亜塩素酸につけた後、洗浄・乾燥しておく。
- ・ 1%SDSを調製する。（雑菌の繁殖を防ぐため、ストックは10%濃度で作成しておく。）
- ・ 吸引ポンプの準備をする。
- ・ 恒温槽を65℃に温める。（同時にAP1を加熱しておく。）

手順

- 1、サンプル中の異物、破砕粒、夾雑物を取り除く。
- 2、約100粒を50ml容チューブに入れ蒸留水で洗浄する。（粒の大きさにより、2回に分けて洗浄してもよい。）
- 3、種子を96穴プレート洗浄器に広げ、1%SDSで洗浄する。（150～200ml程度を全体にむら無くかける。）
- 4、蒸留水で泡がなくなるまですすぐ。（400～600ml程度を全体にむら無くかける。）
- 5、キムタオル等で水滴を十分にふき取る。
- 6、乾燥（40℃、40min）させる。（翌日粉碎を行う場合は、40min乾燥した後、室温で放置する。）
- 7、粉碎（2,500rpm、60sec）する。トレーを移動させ再度粉碎（2,500rpm、60sec）する。
※ トレーは内側にあったチューブが外側に、外側にあったチューブが内側にくるように移動させる。（詳細は別紙参照）
- 8、Pre mixを調製する。（1検体あたりAP1:1ml、RNaseA:1μl・・・90検体に必要な量はAP1:100ml、RNaseA:100μl）なお、AP1は予め65℃に加熱しておく。
- 9、Pre mixを1mlずつ入れ、再度粉碎機で混合（2000rpm、15sec）する。
- 10、恒温槽で保温（65℃、30min）する。なお、10min毎に反転攪拌する。
- 11、遠心（1000rpm程度、数秒）する。
- 12、AP2を170μlずつ分注する。
- 13、静置（-20℃、30min）する。
- 14、遠心（room temperature、3000rpm、20min）する。
- 15、新しい1.5ml容チューブに上清を600μl採取する。
- 16、遠心（room temperature、12000rpm、5min）する。
- 17、新しい1.5ml容チューブに上清を400μl採取する。
- 18、AP3を600μl分注し、十分に攪拌する。
- 19、軽く遠心（room temperature、数秒）

附件二

- 20、 DNeasy 96 Plate に試料溶液を全量 (約 1ml) 分注する。 (目盛値により沈殿が生じた場合は、シーラテイングにより封固したものをアブライする。)
- 21、 Plate に Tape Sheet を貼り、吸引する。(700hPa、溶液が落ちきるまで)
- 22、 Plate に Tape Sheet を貼り、吸引する。(700hPa、溶液が落ちきるまで)
- 23、 AW を 800 μ l 分注する。
- 24、 Plate に Tape Sheet を貼り、吸引する。(700hPa、溶液が落ちきるまで)
- 25、 100%エタノールを 800 μ l 分注する。
- 26、 Plate に Tape Sheet を貼り、吸引する。(700hPa、溶液が落ちきって 15min 間)
- 27、 廃液トレーをはずし、コレクションチューブをセットする。
- 28、 65°C に加熱した DW を 75 μ l 加え、室温で 5min 静置する。
- 29、 Plate に Tape Sheet を貼り、吸引する。(700hPa、溶液が落ちきるまで)
- 30、 65°C に加熱した DW を 75 μ l 加え、室温で 5min 静置する。
- 31、 Plate に Tape Sheet を貼り、吸引する。(700hPa、溶液が落ちきるまで)
- 32、 得られた溶出液を DNA 試料原液とする。


注意事項

- ・ 種子の乾燥具合は粉碎に影響を与えるため、水滴をしっかりふき取り乾燥させる。
- ・ 手順 13、及び 15、の操作では、沈殿物を吸い取らないように十分に注意する。(カラムへのアブライ以降 well 間のばらつきが生じる。)
- ・ ポンプ (吸引力) が安定し始めたら、溶液がほぼ落ちきった目安となる。
- ・ 溶出用の DW は量が少ないため、吸引力が 700hPa になる前に落ちきってしまう。だいたい、900hPa 程度で安定する。

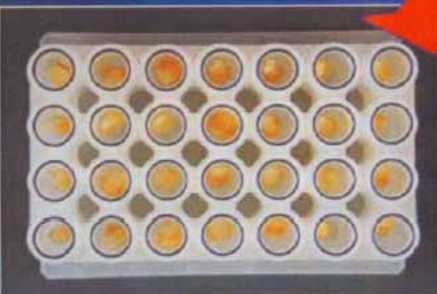
附件二

1. Preparation of ground sample (1)


Wash kernels with 1% SDS Rinse each kernels with water



After drying



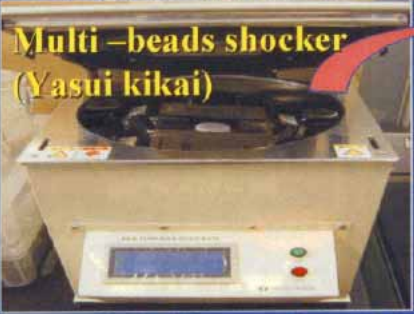
24 tubes were set on the tube holder




Metal corn
The improved tube

1. Preparation of ground sample (2)



The grinding machine Set the apparatus on the machine



Multi-beads shocker
(Yasui kikai)



Grinding each maize kernel (2500 rpm, 60 sec x 2)



The grinding machine and the tube are improved to grind each kernel simultaneously for two minutes.

A ground sample for DNA extraction

附件二

2. Simultaneous DNA-extraction from 96 kernels (1)

The method for DNA extraction

Ground samples (each grain)

↓ + AP1 (preheated to 65°C) (1mL) including RNase A (100 µg /mL)

Incubate for 30 min at 65°C

↓ + AP2 (160 µL)

Incubate for 20 min at -20°C

↻ centrifuge for 20 min at 3000 rpm

Supernatant (400 µL)

↓ + AP3/EtOH (600 µL)

Transfer the solution to the DNeasy 96 Plate

Aspiration

↓ + AW (800 µL), aspiration, 3 times

↓ + 100% EtOH (800 µL), aspiration

Aspiration (Drying the plate)

Add 65°C DW (75 µL), incubate for 5 min

Elute the DNA with 65°C DW, 2 times

↓

DNA solution



3. Screening detection of GM maize with multiplex real-time PCR (MRT-PCR) method (1)

Composition of sample solution (25 µL)

Universal master mix	12.5 µL
P. P. mix *	10 µL
template DNA (eluted soln.)	2.5 µL

*) P.P. mix (final conc. in sample soln.)

SSIIb	primer	1.25 µM	(0.5 µM)
	probe	0.50 µM	(0.2 µM)
CaM and GA	primer	0.625 µM	(0.25 µM)
	probe	0.25 µM	(0.1 µM)

Screening detection of GM maize



To confirm the validity of the DNA



Sample solution contain the three primer pairs (CaM, GA21-1 and SSIIb-3) and the three probes* (CaM-Taq, GA21-Taq and SSIIb-Taq).

*CaM-Taq and GA21-Taq are labeled with FAM dye.

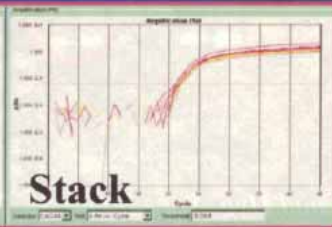
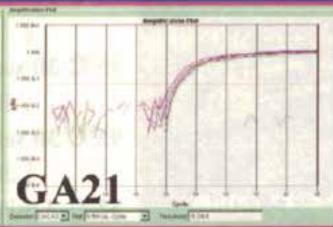
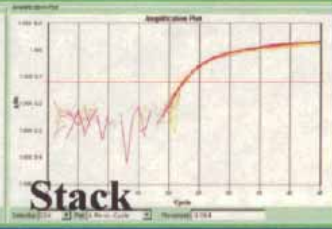
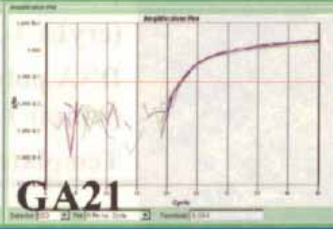
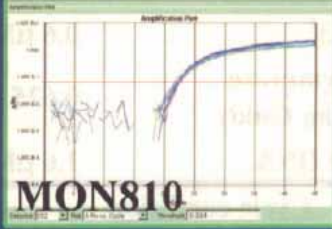
*SSIIb-Taq is labeled with VIC dye.

附件二

3a. Results of MRT-PCR (1)

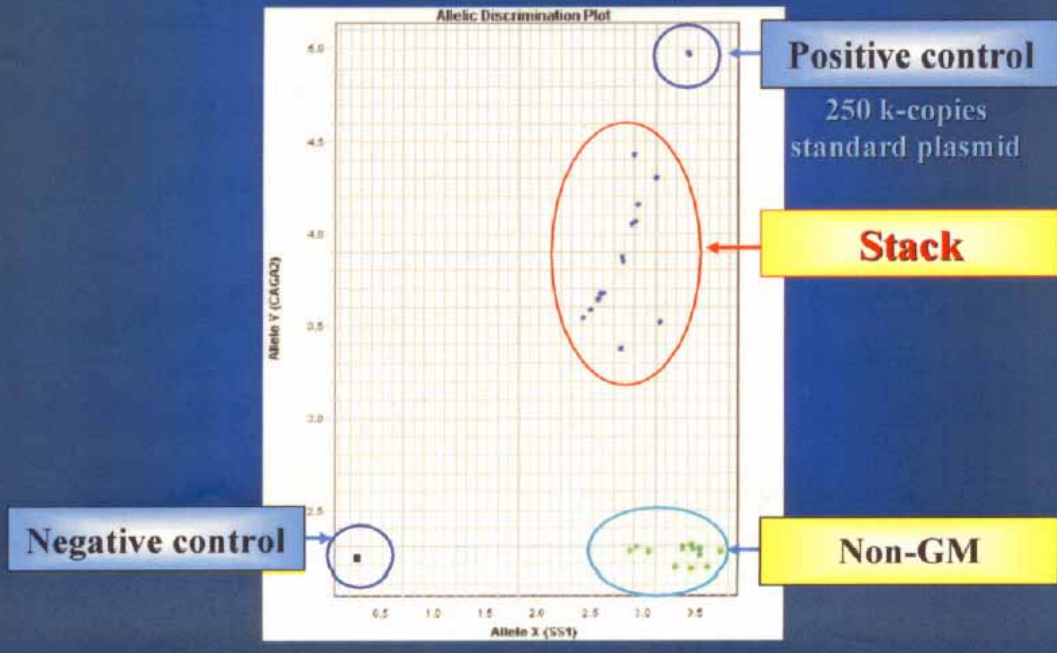


Twelve DNA solutions per one kind of maize (total 48 test solutions) were tested by MRT-PCR method.



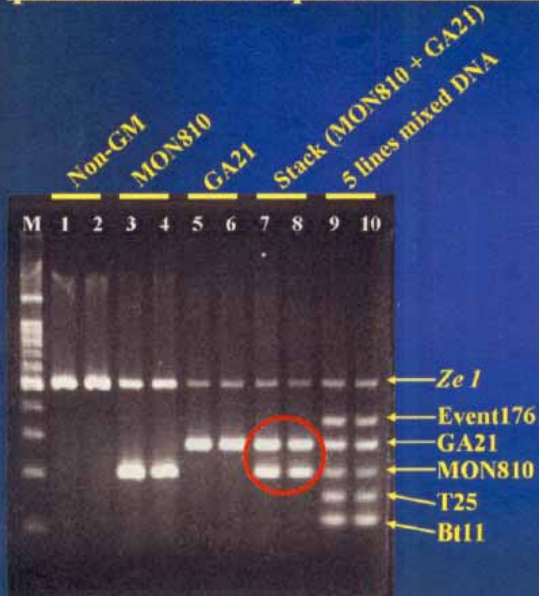
3a. Results of MRT-PCR (2)

Endpoint analysis



附件二

4. Identification of a stack-trait GM maize with the qualitative multiplex-PCR method



J. Food Hyg. Soc. Japan 42, 24-32 (2001)

Composition of the solution (25 μ L)

1X PCR buffer	dNTP mix	0.2 mM
MgCl ₂		1.5 mM
primers	each	0.2 μ M
(cryIA 1-3')		0.6 μ M
DNA polymerase (Ampli Taq Gold)		0.625 U
Template DNA		1.0 μ L

Cycle condition

95°C 10 min
 ↓
 95°C 30 sec → 63°C 1 min → 72°C 1 min
 ↓ 10 cycles
 95°C 30 sec → 60°C 1 min → 72°C 1 min
 ↓ 30 cycles
 72°C 7 min

附件二

96検体DNA抽出法

1. 予め65°Cに温めておいたAP1バッファー 1mLに対してRNaseA 1 μ Lを加え、premixを必要量調製する。
2. 粉碎試料にpremix 1mLを分注し、粉碎機を用いて(2000rpm, 15sec)十分に混合する。
3. 65°Cで30min保温する。保温中、10min毎に試料チューブを反転させて攪拌する。
4. AP2バッファー 170 μ Lを加え、5回反転して混合した後-20°C下30min静置する。
5. 4°C下3000rpm, 20minの遠心の後、上清約600 μ Lを1.5 μ L容チューブに移し取り再度4°C下12000rpm, 5minの遠心し、400 μ Lの上清を分取する。
6. 1.5倍量(600 μ L)のAP3エタノール混液を加え、ボルテックスにて十分に混合する。
7. 吸引器にDNeasy96Plateをとりつけ、試料溶液をそれぞれ1mLずつ各ウェルに加え、シールふたで密封する。
8. 吸引により試料溶液がカラムを通り終わったら、逆流を防ぐため端からゆっくりシールふたをはがし、吸引を止める。
9. 各ウェルにAWバッファー 800 μ Lを加え、シールして吸引する。次いで100%エタノール800 μ Lを加え吸引する。
10. 溶液が落ちきった後、さらに15min吸引してplateを乾燥させる。
11. DNeasy96plateをコレクションチューブ上に取り付け、各ウェルに予め65°Cに温めておいたDW 75 μ Lを加えてシールする。
12. 室温で5min静置した後、吸引により溶出液を回収する。
13. 2回繰り返し(11)(12)の操作を行い、得られた溶出液を合わせてDNA試料原液とする。

Multiplex real-time PCR (MRT-PCR)による定性検知

1. プライマー・プローブミックス(p.p.mix)を調製する。
それぞれSSIIbプライマー1.25each、CaMプライマー及びGA21プライマー0.625each、そしてSSIIbプローブ0.5、CaM及びGA21プローブ0.25(μ M)となるようプライマーとプローブを混合する。
2. マスターミックス(M.M.)を調製する。
1検体当たりp.p.mix 10 μ L、TaqMan Universal PCR Master Mix(UMM) 12.5 μ Lを混合する。
1試験90粒の検知を行う場合は、過剰量(100検体分)調製する。
3. 96穴PCR反応プレートの各ウェルにM.M.を22.5 μ Lずつ分注する。
4. DNA試料原液 2.5 μ Lをそれぞれウェルに分注し、シールタイプのふたをする。
5. ABI PRISM 7900 Sequence Detectorを用いてPCR増幅反応を行う。
6. 反応終了後、Multi Layerでリアルタイム解析及びエンドポイント解析の両法による解析を行う。
7. GMTウモロコシと判定された検体については、Multiplex PCR法を用いた定性試験を行う。

附件二

Multiplex real-time PCR (MRT-PCR)によるスクリーニング

プライマー・プローブミックス(p.p.mix)を調製する。SSIIbプライマー1.25、CaMプライマー及びGA21プライマー0.625 (μM each)、そしてSSIIbプローブ0.5、CaM及びGA21プローブ0.25(μM)となるようプライマーとプローブを混合する。

	Primer (μM each)	Probe(μM)
SSIIb	1.250	0.50
CaM	0.625	0.25
GA21	0.625	0.25

p.p.mix 組成

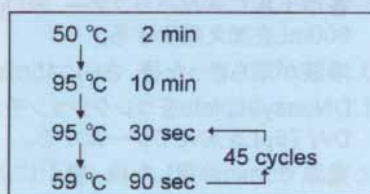
マスターミックス(M.M.)を調製する。p.p.mix と TaqMan Universal PCR Master Mix(UMM) を必要量*混ぜ合わせる。96穴PCR反応プレートの各ウェルにM.M.を分注し、次いでDNA試料原液をそれぞれ加える**。シールでふたをする。

UMM	12.5	x96+α	1250
p.p.mix	10.0		1000
M.M.	22.5		2250 (μL)
			↓
M.M.分注			22.5
DNA分注			2.5 (μL)

**自動分注機、連続分注器を用いた方が迅速。

*1検体当たり必要量と1試験での調製量

ABI PRISM 7900 Sequence Detectorを用いてPCR増幅反応***を行い、Multi Layerでリアルタイム増幅曲線解析およびエンドポイント解析の2方法で解析する。ダラダラ増える曲線が観察された場合はマルチコンポーネント解析により、ロックドロップピングが生じている可能性があるのを確認する。



***PCR反応条件

GMトウモロコシと判定された検体についてはMultiplex PCR法を用いた定性試験を行う。

水洗済みの検体試料90粒

- ↓ 洗浄 蒸留水
- ↓ 1% SDS水溶液
- ↓ 蒸留水、3回
- ↓ 乾燥 (40°C, 40 min)
- ↓ 粉碎用チューブ
- ↓ 粉碎 (2500 rpm, 60 sec) 2回
- ↓ premix調製
 - AP1 (65°C) 100 mL
 - RNaseA 100 μL
 - premix 1 mL (2000 rpm, 15 sec)
 - 保温 (65°C, 30min)
 - 分注 AP2 170 μL
 - 静置 (-20°C, 30 min)
 - 遠心 (4°C, 3000 rpm, 20min)
- ↓ 1.5mL容チューブ
- ↓ 分取 上清 600 μL
- ↓ 再遠心 (4°C, 12000 rpm, 5 min)
- ↓ 分取 上清 400 μL
- ↓ 混合 AP3 600 μL
- ↓ DNeasy96Plate
- ↓ 分注 試料溶液 1 mL
- ↓ 洗浄 AW 800 μL
- ↓ エタノール 800 μL
- ↓ 乾燥 吸引15min
- ↓ 溶出 DW(65°C) 75 μL, 2回
- ↓ DNA試料原液
- ↓ PCR反応液調製
- ↓ 調製 p.p.mix, M.M.
- ↓ 分注 M.M. 22.5 μL
- ↓ DNA試料溶液 2.5 μL
- ↓ MRT-PCR
- ↓ 解析 Realtime解析、Endpoint解析

附件二

抽出(1)

予め65°Cに温めておいたAP1バッファー 1mLに対してRNaseA 1 μ Lを加え、premixを必要量調製する。
粉碎試料にpremix 1mLを分注*し、粉碎機を用いて(2000rpm, 15sec)十分に混合する。

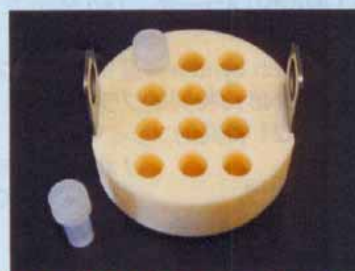


*連続分注器を用いて分注する。

65°Cで30min保温する。保温中、10min毎に試料チューブを反転させて攪拌する。

AP2バッファー 170 μ L*を加え、5回反転して混合した後、-20°C下30min静置する。

4°C下3000rpm, 20minの遠心**の後、上清約600 μ Lを1.5mL容チューブに移し取り、再度4°C下12000rpmにて5min遠心し、400 μ Lの上清を分取する。



**遠心機用粉碎チューブ専用ラック

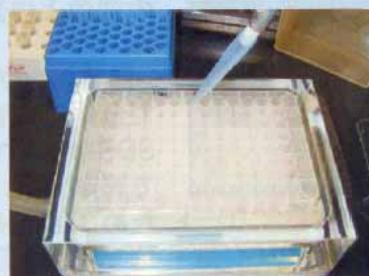
現在、Multi-beads shocker用専用ラックを用いることが可能な遠心機がヤスイ機械より販売されている。こちらを使う方が便利(定価39万円)

抽出(2)

1.5倍量(600mL)のAP3エタノール混液*を加え、ボルテックスにて十分に混合する。吸引器にDNeasy96Plateをとりつけ、試料溶液をそれぞれ1mLずつ各ウェルに加え、シールで密封する。

吸引により試料溶液がカラムを通り終わったら、逆流を防ぐため端からゆっくりシールをはがし、吸引を止める。

各ウェルにAWバッファー 800 μ L*を加え、シールして再び吸引する。次いで100%エタノール 800 μ L*を加え吸引する。溶液が落ちきった後、さらに15min吸引してカラムを乾燥させる。



DNeasy96Plateをセットした吸引器

DNeasy96plateをコレクションチューブ上に取り付けて吸引器にセットする。各ウェルに予め65°Cに温めておいたDW 75 μ Lを加えてシールし、室温で5min静置した後、吸引により溶出液を回収する。吸引により試料溶液がカラムを通り終わったら、逆流を防ぐため端からゆっくりシールをはがす。

繰り返し、DW 75 μ Lを加えてシールし、室温5min静置した後、吸引による溶出液の回収を行い、得られた溶出液を合わせてDNA試料原液とする。

附件二

使用機器・試薬

- 粉碎機 MB601NIHS /ヤスイ機械
- 恒温槽 CTO-10A /島津製作所
- 洗浄器 簡易型96穴プレート洗浄器 /Fasmac
- 定温乾燥機 DO-300A /アズワン
- 遠心機 /日立
- タッチミキサー MT51 /ヤマト
- 吸引器 NVC-1100 /EYELA
- 分光光度計 ND-1000 /スクラム
- PCR機器 ABI PRISM 7900 Sequence Detector / Applied Biosystems
- DNA抽出キット DNeasy96 Plant kit /QIAGEN
- DNAポリメラーゼ Taq Man™ Universal PCR Master Mix / Applied Biosystems
- プライマー
 - starch synthase遺伝子検知プライマー対 SS II b 1-5' 及び SS II b 1-3'
 - MON810特異的プライマー対 P35S 1-5' 及び P35S 1-3'
 - GA21 特異的プライマー対 GA21 1-5' 及び GA21 1-3'
 - /北海道システム・サイエンス /ニッポンジーン /FASMAC
- プローブ CaM-Taq, GA21-Taq, SSIIb-Taq / Applied Biosystems
- その他特級試薬
- 96穴プレート用シールふた /エムポア
- 96穴プレート用マニホールド /エムポア
- 1.5mL容マイクロチューブ /サイメディア

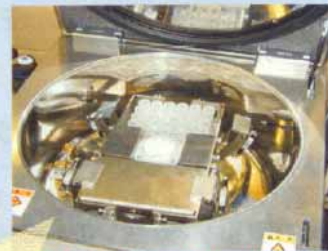
洗浄～粉碎



簡易型96穴プレート
洗浄器、96穴ブロック

予めまとめて水洗しておいた検体試料90粒を、一粒ずつ96穴ブロックの穴の上に重ならないように配置する。

簡易型96穴プレート洗浄器を用いて全体に蒸留水をかけ、次いで1% SDS水溶液で洗浄する。再び蒸留水で洗浄する。SDSを完全に洗い流すため3回繰り返し行う。40℃の恒温槽で40min乾燥させる。



Multi-beads shocker

粉碎用チューブに試料一粒とメタルコーンを順に入れ、しっかりふたをして専用ラックにのせ、粉碎機を用いて粉碎(2500rpm, 60sec)する。均一に粉碎するために専用ラックを反転させて再度粉碎操作を行い、粉碎試料とする。



メタル
コーン

改良粉碎チューブ



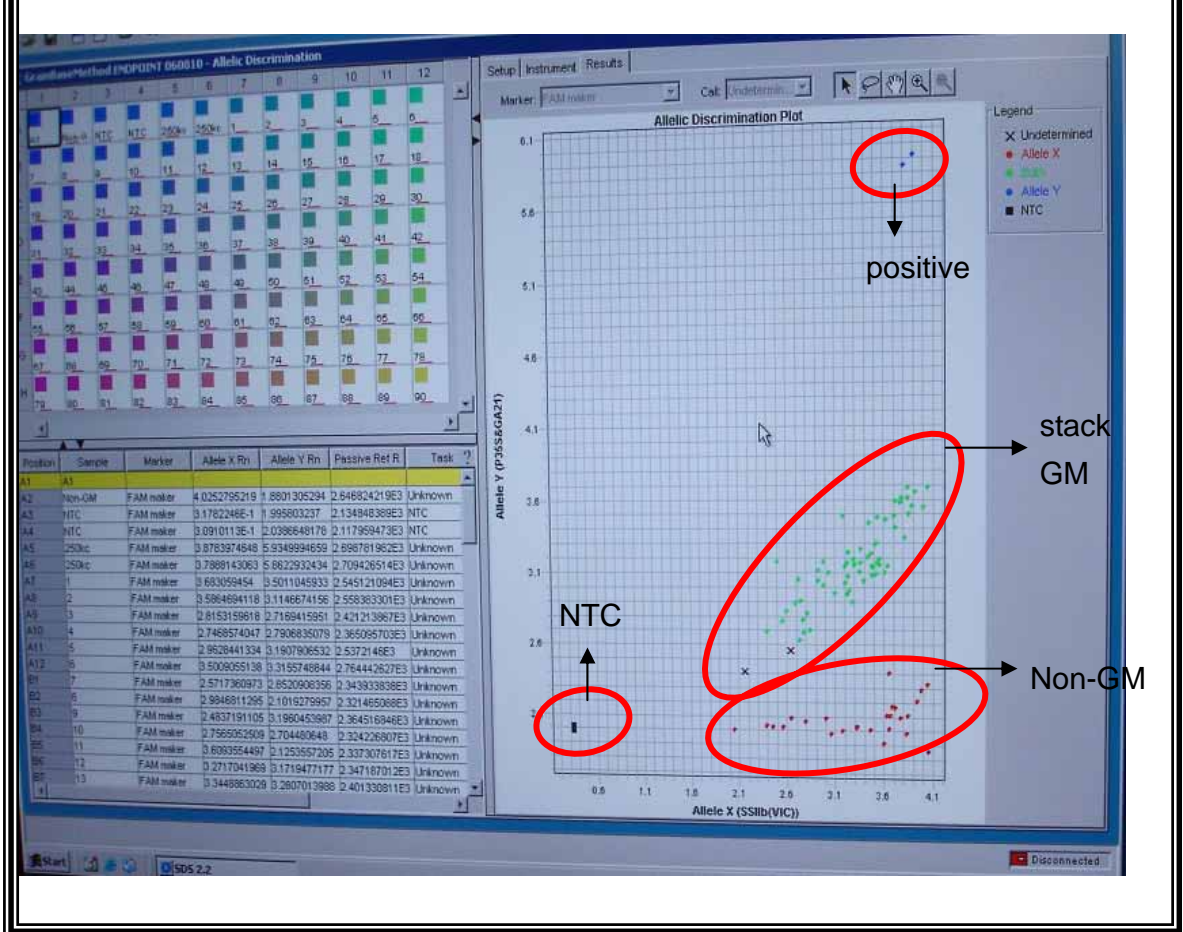
Multi-beads shocker用
専用ラック

附件三

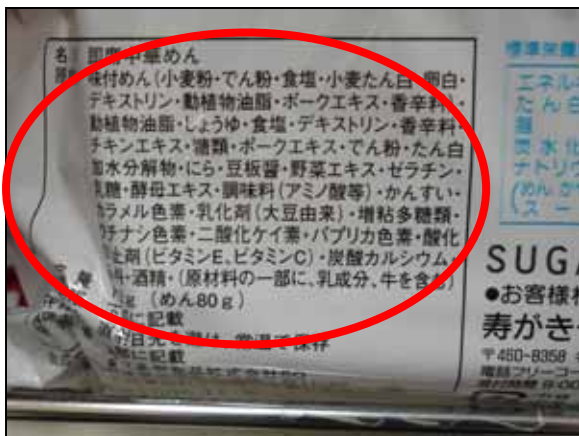
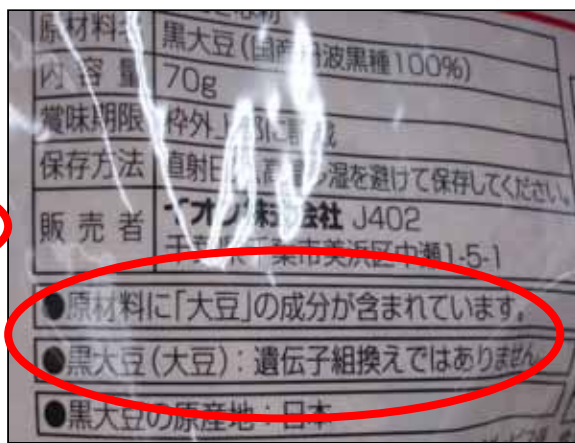
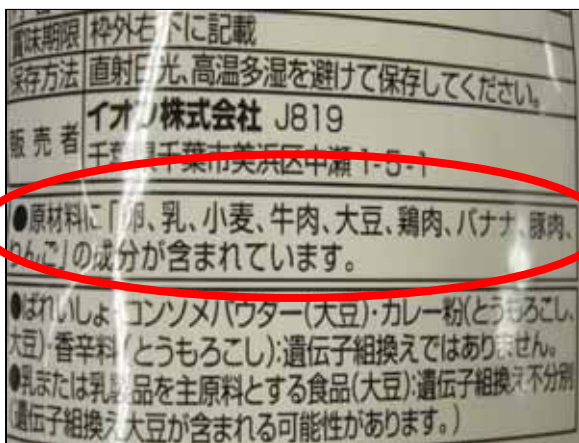
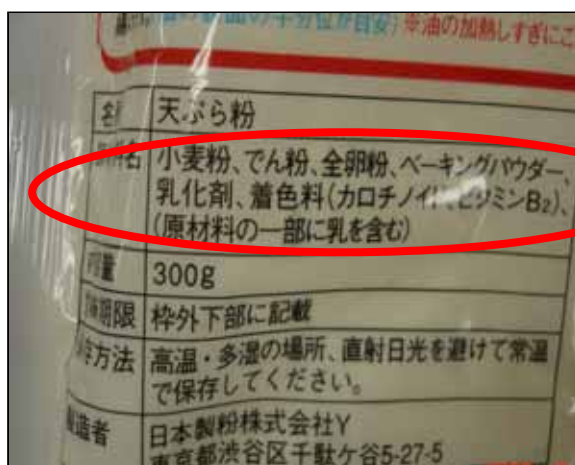
※Sample種類：90顆不純的BT11玉米粒

※T-35S及GA21 專一性探針 lable **FAM** 螢光

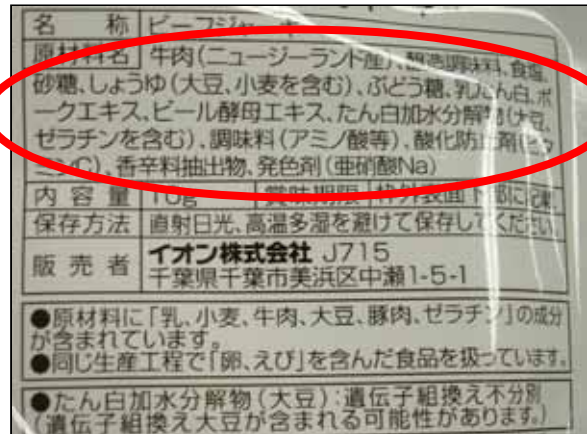
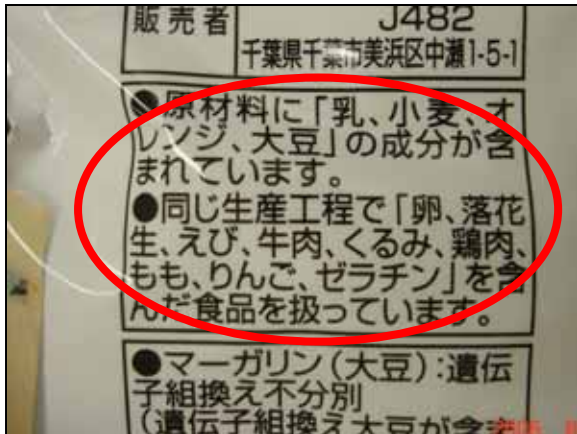
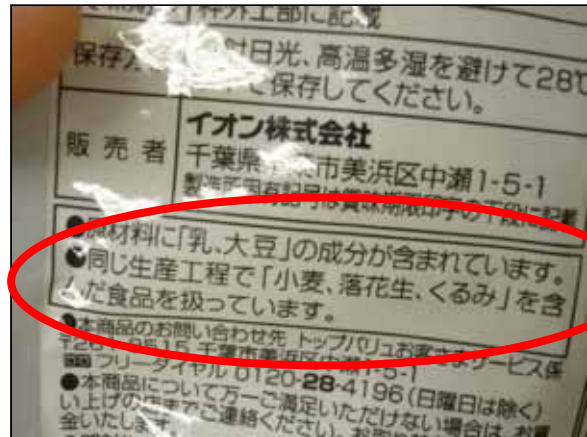
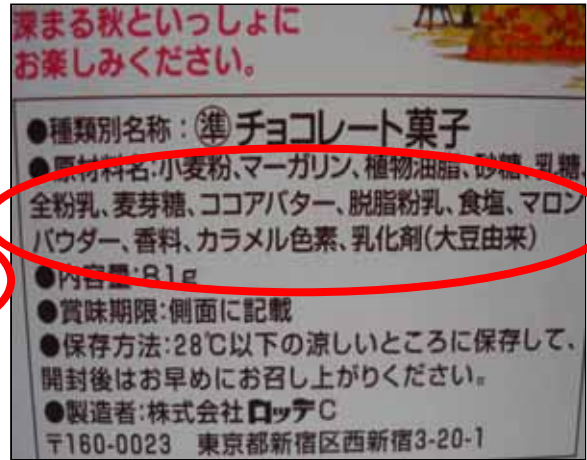
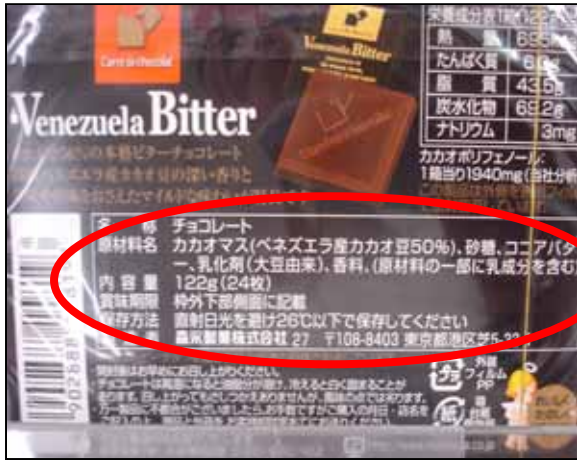
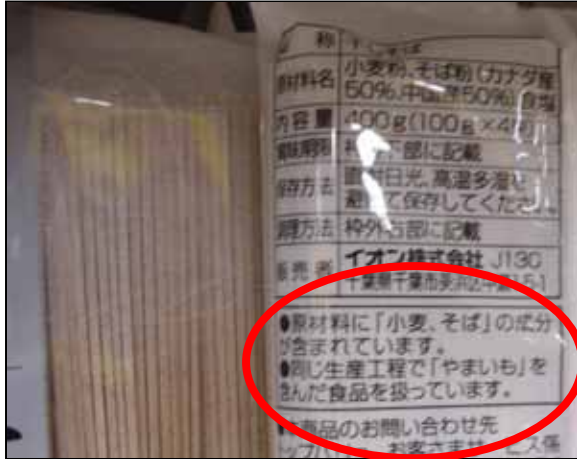
※SSIIB 專一性探針 lable **VIC** 螢光



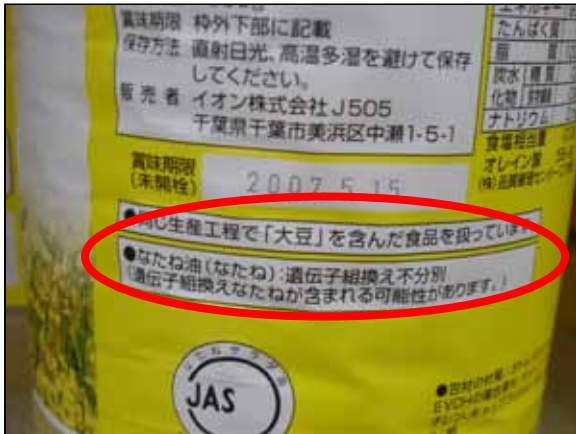
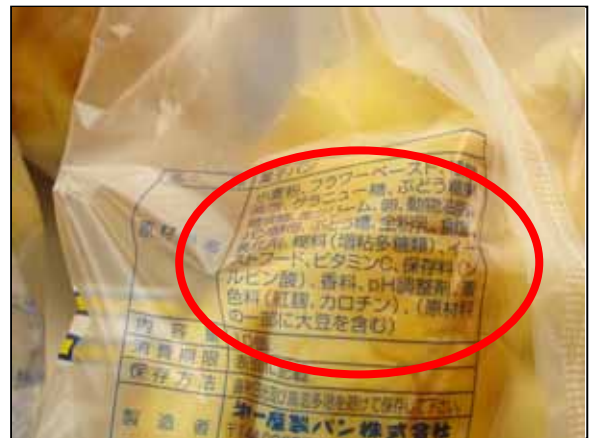
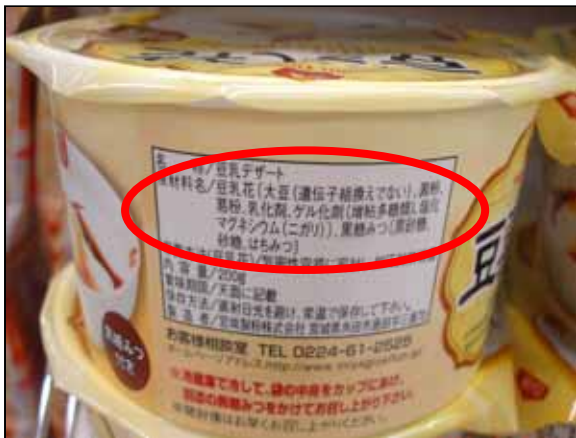
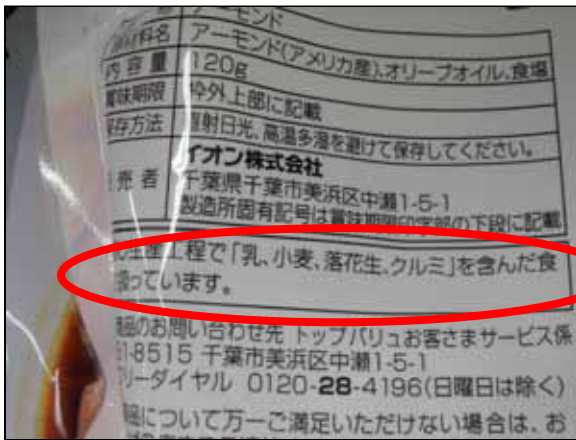
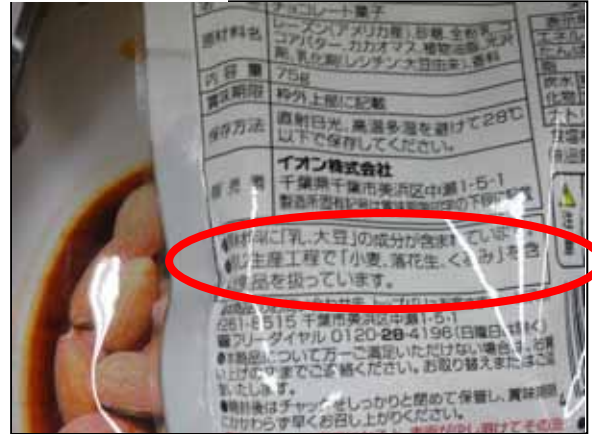
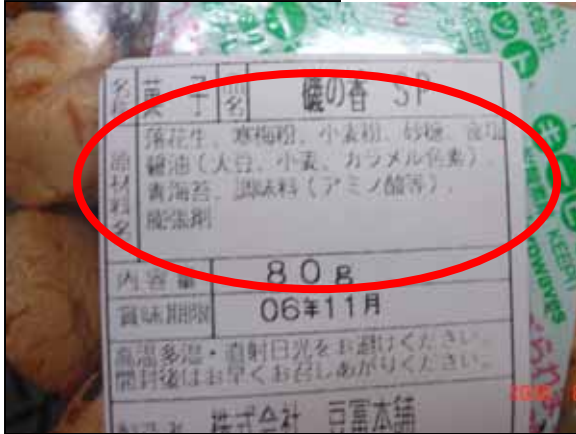
附件四



附件四



附件三



仕あげました。

品名	菓子（コーンスナック）
原材料名	どつもち、植物油、砂糖、食塩、 粉末しょう油、香辛料、調味料（無機塩等）、重曹、カラメル色素、酸化防止剤（ビタミンE）、 （原材料の一部に小麦を含む）
内容量	80g
賞味期限	底面に別記
保存方法	直射日光を避け、湿気が少なく涼しい場所で保存してください。
製造者	ハウス食品株式会社SF 〒577-8520

