

出國報告（出國類別：研究）

最新基因改造食品檢測技術研習

服務機關：衛生福利部食品藥物管理署

姓名職稱：陳育志 聘用副研究員

派赴國家：日本

出國期間：104年8月31日至104年9月12日

報告日期：104年12月10日

目 次

摘 要.....	2
壹、目的.....	3
貳、過程.....	5
參、心得及建議.....	29
肆、參考文獻.....	31
伍、附件	
附件一、食品總合研究所英文簡介.....	32
附件二、Regulatory and Analysis of Genetically Modified Food in Taiwan (台灣基因改造食品的法規與檢驗) 簡報內容.....	34

最新基因改造食品檢測技術研習

摘 要

基因改造食品的議題近年來備受國人關注，為持續精進我國基因改造食品的檢驗技術與能力，建立國際基因改造食品檢驗技術交流管道，接軌國際新型檢驗技術，並配合本署業務需求與研究方向，筆者奉派赴日本筑波「食品總合研究所」研習基因改造食品新興檢測技術，包括 Real-time PCR array 分析未知基因改造玉米樣本、玉米粒群組檢測（group testing）、基因改造黃豆 LAMP（Loop-mediated isothermal amplification）方法之檢驗、基因改造黃豆定量 PCR 檢驗，以及基因改造黃豆數位（Digital）PCR 技術之檢驗等。本次研習除了筆者之外，尚有來自馬來西亞、孟加拉、泰國及日本實驗室的科學家一同參與，除了學習基因改造食品檢驗技術之外，筆者亦分享我國的基因改造食品法規及檢驗技術，並針對日本基因改造食品管理、法規、檢驗技術、國際基因改造新技術以及非法基因改造食品和其他食品生物檢驗技術等議題與日方專家進行交流。赴日研習期間，筆者學習到日方現有及最新研發中的基因改造檢驗技術，也與食品總合研究所 GMO 實驗室成員建立友誼，期望維持資訊交流管道，以因應國際間任何突發之基改議題，並協助本署檢驗技術接軌國際之最新趨勢。

壹、目的

目前全球已商業化種植的基因改造作物主要為黃豆、玉米、棉花和油菜，這四大類基因改造作物為目前常見的基因改造食品原料，從 1996 年最早開始商業化種植的耐除草劑基因改造黃豆，全球基因改造作物發展至今已超過一百種基因改造轉殖品系，這些基因改造特性包括耐除草劑、抗蟲、營養成分改良與環境逆境耐受…等，隨著基因改造技術與傳統育種技術的相互配合，基因改造作物也從單一性狀擴展至多重性狀，像是混合型(Stack)基因改造黃豆、玉米…等。我國自民國 92 年 1 月 1 日起規定基因改造黃豆及玉米需查驗登記許可後才能做為食用，基因改造食品的強制標示制度也從 92 年起依產品加工程度分三年三階段施行，94 年起含基因改造黃豆及玉米的食品皆強制標示。近年來黑心食安事件頻繁，基因改造食品議題亦持續受到國內各界及立法委員之關注，103 年 2 月 5 日修訂之食品衛生安全管理法，將「基因改造食品查驗登記」、「基因改造食品標示」及「基因改造食品追溯追蹤」納入食安法的母法條文，故黃豆及玉米以外可供作食品用途的基因改造作物(食品)，皆應依法進行查驗登記與食品安全性審查。在「基因改造食品標示」方面也進行修訂，含基因改造食品原料的散裝食品，於 104 年 7 月 1 日起分階段強制標示，而所有的包裝食品、食品添加物以及散裝食品含基因改造食品原料，則於 104 年 12 月 31 日開始全面標示。然而「非基因改造食品」因為採收、儲運或其他因素等「非有意摻入

基因改造食品原料」，原規定其非刻意混充的含量低於該項原料的 5%視為非基因改造，也跟著強制標示制度一併調整，非刻意混充的容許值也自 104 年 12 月 31 日開始全面調降至 3%。另外，近年來國際間曾發生數起未核准上市基因改造作物的發現事件，像是 2013 年美國奧勒岡州田間發現耐嘉磷賽基因改造小麥，曾造成日本、韓國及我國採取暫時停止進口或是加強檢驗等措施防止基因改造小麥流入，所以積極建構「非法」基因改造食品新型篩檢技術、國際檢驗資訊交流等顯得非常重要。

為持續精進我國基因改造食品的檢驗技術與能力，建立國際基因改造食品檢驗技術交流管道，接軌國際新型檢驗技術，以配合本署業務需求與研究方向，因應基因改造食品法規修訂及突發事件的諸多挑戰，本「參加食品生物檢測技術研習」出國計畫選定日本茨城縣國立研究開發法人農業・食品產業技術總合研究機構（NARO）轄下食品總合研究所（NFRI）食品分析研究組的「GMO 檢知解析單元實驗室」，本實驗室為國際基因改造作物檢驗研究領域的權威，亦為日本基因改造檢驗技術之核心實驗室，為各國學習參訪的重點實驗室。經聯繫食品總合研究所 GMO 檢知解析單元實驗室負責人橘田和美博士，得知該實驗室於今（104）年將有馬來西亞及日本國內 2 位科學家於 9 月 1 日起一同開始分別為期 10 天及 2.5 個月的研究訓練工作，橘田博士非常歡迎筆者一同參與完整的訓練課程，學習及交流最新分子生物技術應用於基因改造食品檢驗。

貳、過程

8月31日（星期一）

很榮幸能有機會代表本署出國赴日本參加食品生物檢測技術研習，研習最新基因改造食品檢測技術。筆者於8月31日從松山機場搭乘早上7:45長榮航空班機，於中午抵達日本羽田機場，通關後搭乘單軌電車及JR鐵路火車至秋葉原站，再轉乘行駛於秋葉原至筑波之間的「筑波快線」前往筑波市中心。很感激食品總合研究所 GMO 檢知解析單元實驗室負責人橘田和美（Kazumi Kitta）博士親自至筑波站接我，途中除了誠摯向橘田博士同意我的到訪及參與研習表達感謝，也簡單的談及台灣基因改造食品的檢驗與法規，當橘田博士知道台灣正實施剛修訂後的基因改造食品法規與標示，並得知我有準備相關的投影片資料，便邀請我翌日向實驗室成員進行演講。車程約20分鐘即抵達位於筑波市中心東南方的觀音台，又稱筑波農林研究團地。



圖一、周邊研究單位分布圖

此地區聚集許多研究機構皆隸屬於國立研究開發法人農業・食品產業技術總合研究機構（National Agriculture and Food Research Organization, NARO），簡稱一農研機構。農研機構轄下共有 14 個研究所，食品總合研究所（National Food Research Institute, NFRI）為其中之一。



圖二、食品總合研究所入口

食品總合研究所的組織架構（研究體制），包括企劃管理部、放射性物質影響研究協調員、食品機能研究領域、食品安全研究領域、食品分析研究領域、食品素材科學研究領域、食品工學研究領域、應用微生物研究領域及食品生技研究領域[1]，附件一為食品總合研究所的英文簡介。筆者參與研習的 GMO 檢知解析單元實驗室隸屬食品分析研究領域。



圖三、GMO 檢知解析單元實驗室建築物外觀

實驗室位於食品總合研究所主建築物的後方，為獨立區域的單層建築物，入口處清楚標示著「GMO 實驗棟」的日文漢字及英文，抵達實驗室後，橘田博士親切的將我介紹給實驗室成員認識，主任研究員真野潤一（Junichi Mano）博士及主任研究員高畠令王奈（Reona Takabatake）博士，為實驗室資深科學家，本次研習課程由兩位專家負責規劃，真野博士負責第一週課程，檢驗標的為基因改造玉米；第二週課程由高畠博士負責，檢驗標的為基因改造黃豆，並提供實驗室最新發展檢驗技術進行訓練。除了向日本實驗室成員打招呼，本次參與研習課程的學員也都抵達實驗室，有來自馬來西亞 Department of Chemistry 的 Dr. Sharizah Alimat 女士、日本農林水產省橫濱植物防疫所的井上佳美小姐，以及就讀於八戶工業高等專門學校的

泰國籍學生 Sirisukhodom Supanut 先生。實驗室辦公區域的範圍雖不大，但已安排座位供我們使用，基於食品總合研究所資訊安全的規定，實驗室無法提供公用電腦，即使是使用自行攜帶的筆記型電腦，也不得連接食品總合研究所網路，使用隨身碟等儲存裝置傳輸資料，橘田博士向我們說明規定並對此不便致上歉意，所以資訊安全的維持已廣泛被國際機構重視及實行。之後橘田博士帶我們去拜訪她的長官—食品分析研究領域長龜山真由美(Mayumi Kameyama)博士，龜山博士非常歡迎我們的到訪，也期許我們能有所收穫。

回到實驗室已接近下班時間，由秘書倉嶋女士協助我與 Dr. Alimat 辦理住宿事宜。橘田博士來信邀請我於明日早上 10 點於 GMO 實驗棟會議室發表演說，講題為：Regulatory and Analysis of Genetically Modified Food in Taiwan，晚間利用時間整理演講資料後即休息，準備開始為期兩週的研習訓練。

9 月 1 日（星期二）

早上 9 點抵達實驗室，大家很熱情的打招呼互道早安。由於早上 10 點安排由我來進行演講，研習課程則調整至下午開始。演講開始時，先向實驗室所有成員表達非常榮幸能來到這個國際知名的基因改造食品檢驗研發實驗室參與研習，也謝謝橘田博士能給我機會在日本的專家面前呈現「台灣基因改造食品的法規與檢驗」的過去及現況，演講內容包括台灣基因改

造的行政管理、基因改造食品法規制訂的歷史沿革、基因改造食品的標示、新修訂的基因改造食品法規與標示制度、基因改造食品的檢驗研究發展、非法基因改造食品的檢驗以及新型檢驗方法開發之展望（詳附件二）。演說後的討論時間，大家也非常踴躍的發問，像是台灣目前核准哪些 GM 作物及品系、螢光魚的管理、進口種子的檢查、基因改造食品查驗登記的內容、台灣如何定量檢驗基因改造食品、使用參考質體的權利議題、以及非刻意摻雜的閾值為什麼要從 5% 降低到 3%…等。而後續的研習課程中也因為有這樣的交流讓彼此更為瞭解，更容易針對實驗技術、檢驗方式與檢驗結果進行溝通討論。

因出國臨行前有準備本署致贈外賓的公務禮品，用以感謝食品總合研究所同意提供本署研習訓練的機會，經向橘田博士說明，橘田博士聯繫後親自帶領我拜訪食品總合研究所所長大谷敏郎博士與食品分析研究領域長龜山博士並致贈本署公務禮品，再次抵達龜山博士辦公室表達由衷的感謝後，橘田博士引領我至大谷敏郎所長辦公室，恰巧大谷所長剛結束會議隨即接見我，他非常歡迎我的到訪，也希望有機會能跟國際研究機構建立關係並交流。大谷所長除了擔任食品總合研究所所長之外，亦是上級農研機構的理事，工作非常的忙碌，能夠見面至為難得。橘田博士亦向我說明，大谷所長曾擔任食品安全委員會事務局次長，所以對於台灣食品安全的管理也很有興趣。有鑑於此，筆者希望未來有機會能持續建立交流管道保持

關係，相互學習以提升我國的食品安全的管理制度。

本次的研習課程從下午正式開始，第一週的訓練課程由真野博士負責，下午 1 點真野博士為我們上課，介紹全球基因改造作物現況、日本基因改造作物（食品）管理法規、查驗登記程序、安全性評估與定量檢驗，截至 2015 年 9 月日本已核准 181 個轉殖品系的基因改造玉米，分別有 26 個單一品系及 155 個混合型品系（stack）。在基因改造食品的標示方面，日本將非刻意摻雜率訂在 5%，真野博士以美國玉米從種植、收割、倉儲、運輸到出口的過程，說明日本政府因考量大宗穀物運輸儲運過程中，極可能會產生基因改造穀物非刻意摻雜到非基因改造穀物的情況，當時參與制訂法規的科學家依據倉儲轉換後殘留的比例，經過專家討論後，才訂定非刻意摻雜率為 5%。真野博士也簡述各國非刻意摻雜率的標準，像是韓國的 3%，歐盟的 0.9%，也很高興從我早上的演說知道台灣正將非刻意摻雜率從 5% 調整至 3% 的訊息。

介紹完日本基因改造作物（食品）的背景資料，真野博士接著講述研習課程中的實驗技術，像是基因改造食品定量 PCR 原理與分析計算方式，如何檢驗未知的基因改造作物，如何利用玉米粒群組檢測及統計方式來估算樣本中的基因改造玉米含量。第一週研習課程涵蓋兩大主題，分別為：

（一）Real-time PCR array 檢測未知基因改造作物，以及（二）玉米粒群組檢測。

未知物的檢驗技術一直是世界各國為確保食品安全和解決食品攙偽議題而積極努力的開展與研究，在基因改造作物與基因改造食品的檢驗研究中，如何來檢測非法與未知的基因改造食品（作物），全球的基因改造檢驗實驗室也都積極地研發方法來為食品安全把關。真野博士在 2009 年發表了一篇文章，由日本的食物總合研究所、FASMAC 公司與國立醫藥品食品衛生研究所共同合作，開發了 Real-time PCR array(即時聚合酶連鎖反應陣列)的平台來檢測樣本中含有哪些基因改造作物及轉殖品系，並可進一步分析是否可能有未核准的基因改造作物或基因[2]。

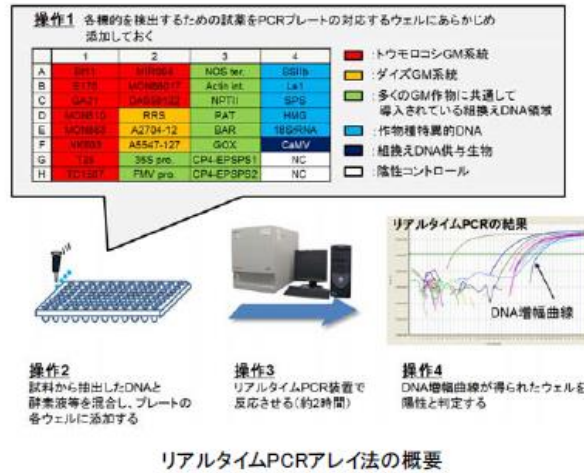
由於 Real-time PCR array 是使用制式的 96 孔 PCR 反應盤，檢測各基因改造作物的特定基因或各基因改造作物轉殖品系的特異性或篩選性的引子對（primers）與螢光探針(TaqMan probe)，可以視檢驗需要而彈性地配置在反應盤內。本次研習使用的是尚未發表的 Real-time PCR array 版本，故擷取實驗室放置在食物總合研究所官方網站的資料做為例子來說明[3]。

下圖的操作 1 為事先配置在 96 孔 PCR 反應盤的反應試劑（引子對與螢光探針），可鑑別 14 種基因改造玉米和黃豆之轉殖品系、篩檢 10 種轉殖基因以及 5 種作物特異性內部對照基因做為正控制組。操作 2 則是將含有 QPCR master mix（定量 PCR 反應試劑）與樣本的混合液加至反應盤。操作 3 則是將反應盤放入即時 PCR 儀器進行反應與檢測。操作 4 為檢測完成後進行檢驗數據分析，分析各轉殖品系及轉殖基因的螢光增幅曲線，來判

定有哪些基因改造作物轉殖品系與轉殖基因。

3) 遺伝子組換え農作物網羅的検知技術の開発と未承認系統混入の推定

安全性審査が終了した承認GM系統の種類が年々増加していることから、多数のGM系統を効率よく検知する技術が求められています。当ユニットでは、多種類のPCR分析を一齐に行うことができるリアルタイムPCRアレイ技術を土台として、GM農作物の網羅的検知法を開発しています。リアルタイムPCRアレイには新たな検知対象を容易に追加することができるため、GM農作物の流通状況に応じて必要な検査法を提供することが可能です。また、この分析法は、網羅的にGM農作物を検出することで、誤って混入した安全性未承認のGM農作物の混入を見出す技術としても応用が可能です。



圖四、使用 Real-time PCR array 檢測未知基因改造作物[3]

圖片來源：食品總合研究所 GMO 檢知解析單元實驗室網頁

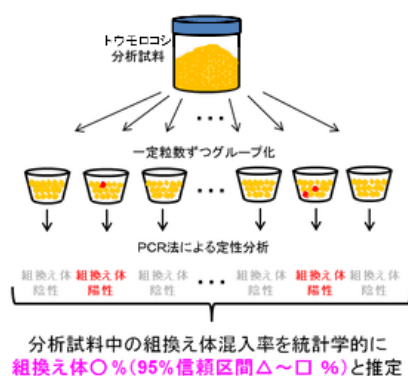
<http://www.naro.affrc.go.jp/nfri/introduction/chart/0507/index.html>

玉米粒群組檢測技術為真野博士所開發的一種快速估算玉米穀粒中含有基因改造玉米穀粒重量比（weight/weight）之檢驗方法。由於日本基因改造食品標示制度係規定基因改造作物原料為食品的前三大主要原料之一，且原料重量百分比占總原料比例的5%以上，非刻意摻雜率重量百分比超過5%以上才需要標示。然而現行的基因改造玉米大多屬於混合型，再加上日本的規定屬於重量百分比，基因檢測的結果將有可能高估基因改造玉米在樣本原料中所占的重量百分比含量。為了能夠快速準確的估算樣本中含有基因改造玉米的重量百分比，橘田博士的實驗室研發了此玉米粒群組檢測技術[3,4]，將每20粒玉米穀粒分成一組，粉碎後直接加入 lysis buffer 萃取

DNA，取上清液稀釋後進行即時 PCR 反應，使用檢測基因包括：基因改造作物篩檢基因 P35S 與 TNOS、玉米內部對照基因 SSI**II**b 以及 PCR 反應正控制對照 IPC，分析即時 PCR 螢光擴增曲線來判別各組玉米篩檢基因的正負反應結果。下圖分別為玉米粒群組檢測技術的原理[3]與實驗步驟[4]。

4) スタック品種の混入に影響を受けない組換えトウモロコシの混入率評価技術

近年、トウモロコシを中心として組換え体を複数掛け合わせたスタック品種の栽培・流通が拡大しています。しかし、従来から利用されている定量PCR法ではスタック品種の混入率を正確に評価することができない場合があります。そこで、検査の正確性を向上させるため、スタック品種の混入に影響を受けない新しい組換え体混入率評価技術としてグループテスト法を開発を行っています。



グループテスト法の原理

圖五、玉米粒群組檢測技術的原理 [3]

圖片來源：食品總合研究所 GMO 檢知解析單元實驗室網頁

<http://www.naro.affrc.go.jp/nfri/introduction/chart/0507/index.html>



圖六、玉米粒群組檢測實驗步驟 [4]

圖片來源：美國化學學會 Journal of Agricultural and Food Chemistry 期刊網頁

<http://pubs.acs.org/doi/abs/10.1021/jf200212v>

真野博士結束課程後便帶領我們參觀實驗室熟悉環境，從 GMO 實驗室棟的大門進入後，需在玄關更換室內鞋，走道兩側分別有各自獨立的實驗室房間，前端區域的一側為辦公室、會議室與盥洗室，另一側為一般實驗室。後端區域為進行 GMO 檢驗的實驗室，在走道設有門禁管制，為避免交叉污染，不同的實驗步驟需在不同的獨立實驗房間進行，空調系統也是獨立設置。像是種子（原料）粉碎設置有 GM 粉碎室與 NonGM 粉碎室，需依樣本種類在獨立房間進行。獨立的秤粉室又設置前室予以區隔，秤粉室內有獨立空調控制溫濕度與監測，另為避免日本頻繁地震而對秤重的精準度造成影響，本室區域的地面到地底特別採用混凝土結構，並設置避震設施，另有獨立的 DNA 萃取室、PCR 反應配置室、儀器室以降低污染的可能，洗滌室設置在建築物尾端的最外側房間，電泳分析室也遠離上述實驗室位置有獨立區隔，以避免交叉污染。本署 GMO 分生實驗室的配置亦採取此概念，但礙於空間的限制與任務需求的不同，無法做出完全的區隔，只能因地制宜。

9月2日（星期三）至9月3日（星期四）

第一週的實驗由波田野修子小姐指導我們，波田野小姐為 FASMAC 公司派駐在此的研究人員，波田野小姐將我們 4 個人分成 2 組，筆者與馬來西亞的 Dr. Sharizah Alimat 一組，日本的井上小姐與泰國的 Supanut 先生一

組。另外，來自孟加拉達卡大學在實驗室參與研究的 Dr. Sabina Yeasmin，也研究的空檔時間也一起加入我們，由於 Supanut 和 Sabina 都會日文，在實驗過程或是結果討論當有疑問時，藉由他們日英翻譯的協助，釐清細部的問題與答案，使得大家的討論能更為深入。9月2日（星期三）至9月4日（星期五）的研習主題依序如下：

（一）Real-time PCR array 檢測未知基因改造作物

真野博士準備給我們進行未知基因改造作物檢驗的樣本，來自於英國 FAPAS 所舉辦基因改造精準度試驗[5]，這批試驗樣本的編號為 GeM MU43，共有兩包 100% 玉米粉末，為今（2015）年 8 月 20 日舉辦的基因改造精準度試驗測試樣本，說明書上載明的檢測項目包括 35S 啟動子、NOS 終結子、Bt176、Bt11、MON810、GA21、NK603、TC1507、MON863、MIR604、MON88017 以及（and/or）MON89034 等品系的基因改造玉米。

在實驗開始之前，波田野小姐先指導我們清理實驗檯面與微量吸管的清潔，由於 Real-time PCR 檢測方法的靈敏度非常高，任何的微量污染都有可能影響檢驗結果的正確性。首先使用 2% 次氯酸鈉（NaOCl）清潔桌面，接著噴灑 70% 酒精進行清潔擦拭，再噴少量的 70% 酒精於桌面，再以適當面積的保鮮膜平整覆蓋，波田野小姐以熟練的技巧示範，保鮮膜毫無皺紋的平貼在實驗桌上，令我們非常佩服。微量吸管也依序拆解零件以 2% 次氯酸鈉與 70% 酒精擦拭，準備完成後即進行玉米 DNA 的抽取。

波田野小姐事先已將 GeM MU43 的兩包玉米粉末分裝在 50 ml 離心管，代號為 A 與 B，每組 2 重複（2 管），Sharizah 和我負責 B 組，我拿到的是 B1 樣本。抽取玉米 DNA 使用的是 QIAGEN DNeasy Plant Maxi 套組，實驗室有將原廠手冊的操作程序最佳化，波田野小姐發給我們每人 1 張實驗室內部制訂的 DNA 抽取流程紀錄表，我們就依波田野小姐的指導來操作並紀錄。而本署實驗室使用的是 QIAGEN DNeasy Plant Mini 或其他套組進行 DNA 抽取，或許回國後可參考日本實驗室最佳化的流程來使用 QIAGEN DNeasy Plant Maxi 套組，以提升單次反應中 DNA 的抽取量。DNA 抽取完成後便將 DNA 抽取液靜置於 4°C 冰箱至隔日。

9 月 3 日早上，將 4°C 靜置的 DNA 抽取液離心，取出上清液分離雜質，使用 2 µl 抽取 DNA 原液進行 DNA 濃度的測定，使用 NanoDrop 微量分光光度計來測定 DNA 濃度，我們 4 個人 DNA 抽出的濃度從 183.7 至 266.5 ng/µl 不等，則分別取出 10 或 12 µl 體積的原液，最後稀釋成 20 ng/µl 的濃度來進行 Real-time PCR array 的檢測。

檢測 A 與 B 兩組的 GeM MU43 精準度試驗樣本中究竟含有哪些基改玉米轉殖品系，波田野小姐準備了 Real-time PCR array version 3 與 version 7 兩個版本的 Real-time PCR array 供我們檢測，礙於這兩個版本 Real-time PCR array 的研究尚未發表，完整的資料無法公開，不過，Real-time PCR array version 3 的配置與圖四相同，可以鑑別 11 種轉殖品系的基因改造玉

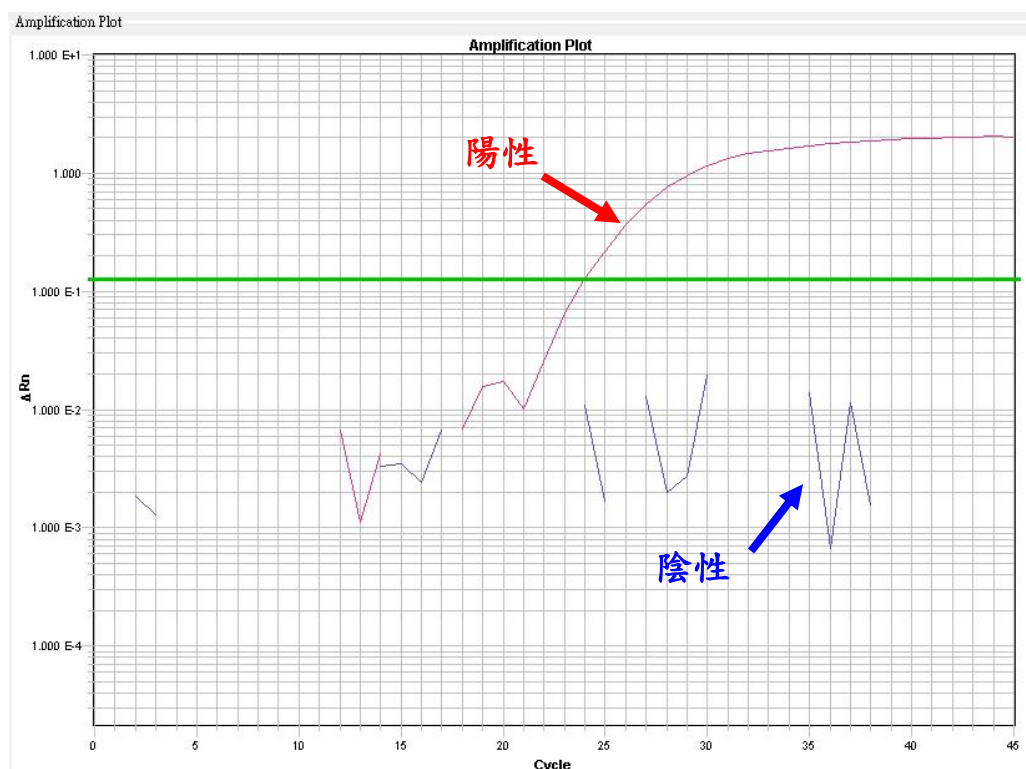
米和 3 種轉殖品系的黃豆，10 種轉殖基因的篩檢和 5 種作物特異性內部對照基因的檢測。而 Real-time PCR array version 7 則專門檢測基因改造玉米，可鑑別 14 種轉殖品系及玉米內部對照基因。

依照 Real-time PCR array version 3 的反應試劑配方，分別將 GeM MU43 A-1、GeM MU43 B-1 與 0.1% MON810 玉米 3 種樣本的 DNA 溶液，個別與 Universal master mix 及無菌水混合，0.1% MON810 玉米 DNA 為實驗室事先準備好當作為 Real-time PCR array 反應的正對照組。將含有樣本 DNA 的反應試劑混合液依序注入含有引子 (primers) 與螢光探針 (TaqMan probe) 的 Real-time PCR array 反應盤，使用光學膠膜封住後離心，再拿至儀器室使用 ABI7900 即時 PCR 儀器進行檢測。GeM MU43 A-2、GeM MU43 B-2 樣本也如同上述步驟配置，使用 ABI7500 即時 PCR 儀器進行檢測。

由於 Real-time PCR array version 7 可檢測 6 個樣本，所以可同時檢測 A-1、A-2、B-1、B-2 四個樣本，同樣也放入兩個 0.1% MON810 玉米 DNA 作為正對照組。除了反應試劑混合液的配置體積因樣本數而有所不同，其餘的步驟皆與 version 3 一致。這個 Real-time PCR array version 7 的反應盤則放置到實驗室另一台 ABI7900 即時 PCR 儀器上進行檢測。

當這 3 盤 Real-time PCR array 完成在 3 台即時 PCR 儀器完成檢測後，波田野小姐即帶領我們進行檢驗結果的分析。依照檢驗方法設定分析反應的基準值 (Baseline) 與閾值 (Threshold) 後，分析即時 PCR 的螢光擴增

曲線圖。下圖為螢光擴增曲線分析示意圖（圖七），非本研習 Real-time PCR array 的檢驗結果，僅代表說明如何判定反應結果呈陽性或陰性，如圖箭頭所示，而綠色線條則代表閾值的設定值。



圖七、即時 PCR 螢光擴增曲線分析判別示意圖

兩個版本 Real-time PCR array 檢測 GeM MU43 玉米的初步結果，GeM MU43 A 樣本含有 GA21、MON88017 與 MON810 基因改造玉米，甚至測到極微量的基因改造黃豆 RRS。GeM MU43 B 樣本則判定為非基因改造玉米，但同樣也測到極微量的基因改造黃豆 RRS。我們將結果與真野博士討論，由於這是最新的盲樣測試，真野博士也不知道正確的答案，但根據我們實驗的結果，應該可以確定這些樣本所含有的基因改造玉米品系，但是 Ct 值較大的螢光曲線（表示濃度極低），實驗室會再進行檢驗來確認。至

於 100% 玉米粉檢體中竟能檢測到黃豆的問題，精準度試驗說明書也載明不能排除沒有其他濃度極低 GM 品系污染的可能。

9 月 4 日（星期五）

（二）玉米粒群組檢測。

利用玉米粒群組檢測方法來快速篩檢並推估基因改造玉米的含量，係因應日本法規與混合型基因改造玉米原料所建立的原料快篩方法。真野博士和波田野小姐準備了 A~H 共 8 組的玉米穀粒，每組有 20 顆，其中只有 2 組的玉米穀粒含有 1 顆基因改造玉米穀粒。將玉米穀粒分別倒入磨粉杯，加入 SENT 溶液（lysis buffer）後使用磨粉機粉碎玉米粒以打破細胞溶出 DNA，經靜置搖勻和再靜置，取上清液再加等體積的無菌水離心，稀釋後即可進行即時 PCR 檢測（圖六）。

本實驗同樣是使用 ABI7900 即時 PCR 儀器進行檢測，基因檢測標的分為 A 與 B 兩組，引子與螢光探針混合液（Primer/Probe A）為檢測 P35S 及 TNOS 基因改造轉殖篩檢基因，而 Primer/Probe A 內含的 2 個螢光探針都是標記 FAM 螢光（5'端）。Primer/Probe B 為檢測 IPC（FAM 螢光）及 SSIib（HEX 螢光），IPC 為檢測即時 PCR 反應的正控制組，確認這種快篩法每一次 DNA 抽取的過程是否有抑制物影響即時 PCR 反應，SSIib 為玉米內部對照基因，用以確認檢測反應中是否含有玉米 DNA，並可進一步粗略估計玉米 DNA 的抽出量。玉米粒群組檢測所使用的反應試劑配方[4]較為

特別，與 Real-time PCR array 使用的試劑品牌與反應體積皆有所不同，8 組玉米粒群組樣本經即時 PCR 檢測後，旋即進行結果的分析。

首先設定即時 PCR 檢測的基準值與閾值[4]，分析後判別 A~H 共 8 組樣本的螢光曲線，檢驗結果為 A 組與 F 組呈現 P35S 及 TNOS 基因陽性，與正確答案相符，波田野小姐繼續教導我們如何使用真野博士自己設計的 Excel 表格，來估算這批玉米粒群組樣本中含有 GMO 的比例（%）。輸入本次檢測每組玉米的顆粒數：20 顆；輸入本次檢測的組數：8 組；最後輸入判別反應為陽性的組數：2 組。表格內含有生物統計的計算公式，經計算後預估基因改造玉米的含量為 1.43 %。在 95 % 的信賴區間內，估算基因改造玉米的含量約在 0.16 % 至 5.13 % 之間。有關計算公式與 Excel 表格的設計，真野博士係依據 ISTA 網頁 Statistical Tools for Seed Testing 的文獻資料與 Seedcalc 程式[6]而研發出他們實驗室自己的計算表格，由於使用這個 Excel 表格的基因改造玉米檢測研究尚未發表，他建議我們可參考 ISTA 網頁的資料做為引用與參考的依據。真野博士亦舉例說明該如何決定檢測的組數，倘若每組有 20 個玉米穀粒，若 10 組檢測有 6 組或 6 組以下呈陽性反應，這樣的檢測組數是可以被接受並計算的。若有 7 組以上呈陽性反應，則需在增添 10 組樣本，以此類推。在結果分析與討論的過程中，由於 Supanut 先生才剛修習完生物統計方面的課程，則更增添我們討論的深度，使得大家對於這個檢測方式的數據分析細節更為明瞭。

9月5日（星期六）至9月6日（星期日）

假日

9月7日（星期一）

每週一的早上9點為實驗室的例行會議時間，所有實驗室成員準時聚集於會議室內，橘田博士禮貌地先以英文說明本週實驗室的重要事務，並詢問我們4位參與研習的學員是否還有需要特別協助的地方，之後便以日文簡短的向實驗室成員交代其他事項。會後是實驗室的打掃時間，實驗室全體動員打掃整棟實驗室，我和井上小姐加入真野博士的打掃小組，負責清掃前側的一般實驗室和移置實驗垃圾，實驗室的生活垃圾每日會有食品總合研究所的清潔人員會來清理，實驗所產生的可燃與不可燃垃圾則是在星期一打掃時間後，移到離GMO實驗棟不遠外觀像是車庫的密閉集中區，令人驚訝的是裡面毫無異味，看起來也很乾淨。

早上10點繼續研習的課程，第二週的研習課程由高畠博士負責，首先由高畠博士為我們上課介紹日本基因改造檢驗的技術，講述的內容包括日本食品的基因改造標示制度，基因改造檢驗技術與即時PCR檢驗的原理，基因改造玉米和黃豆基因體的特性，定量檢驗方法的研發與參考質體的使用，以及檢驗方法在實驗室間的比對研究等項目。高畠博士也對於我上週介紹台灣基因改造的檢驗與法規印象深刻，在課程講述時也被提及來對照，

我也利用機會請教高畠博士並討論。

本週的研習課程以基因改造黃豆為檢驗材料，涵蓋三種檢驗技術，為本次研習課程的第（三）到（五）個主題，分別為：（三）基因改造黃豆 LAMP（Loop-mediated isothermal amplification）方法之檢驗，（四）基因改造黃豆定量 PCR 檢驗，以及（五）基因改造黃豆數位（digital）PCR 技術之檢驗，分別由鍵屋小姐與大西真理小姐指導我們實驗。

下午進行基因改造黃豆 DNA 的抽取，鍵屋小姐已準備 4 個 50 ml 離心管，裡面分別裝有 1 g 不同濃度（0%、0.5%、1%、5%）的基因改造黃豆粉末，使用日本基因公司（Nippon Gene）生產的 GM quicker 套組抽取黃豆 DNA，1% 基因改造黃豆的樣本我負責，接著依照原廠操作說明書進行。黃豆 DNA 抽取完成後，取出 6 μ l 原液測定 DNA 濃度，至儀器室使用 NanoDrop 微量分光光度計測定 DNA 濃度後，稀釋成 2 組各 30 μ l 的稀釋液，其最終濃度為 50 ng/ μ l，保存於 4°C 做為明後天 LAMP 與定量 PCR 檢測之用。

9 月 8 日（星期二）

在進行 LAMP 方法檢測之前，我們使用另一種 DNA 快速抽取法進行黃豆 DNA 的抽取，鍵屋小姐在 4 個 2 ml 微量離心管內準備了 20 mg 黃豆粉末，粉末內含有 0.5% 基因改造黃豆，加入日本 FASMAC 公司生產的 DNA 萃取試劑（GenCheck[®] DNA Extraction Reagent），混勻後經 100°C 加熱 10

分鐘，冰上冷卻後高速離心取上清液，即完成樣本黃豆 DNA 的快速抽取。

接下來則開始進行基因改造黃豆 LAMP 方法之檢驗。

(三) 基因改造黃豆 LAMP 方法之檢驗

Loop-mediated isothermal amplification 簡稱 LAMP，中文名稱可翻譯為「環型恆溫核酸增幅法」，此方法為日本榮研化學公司 (Eiken Chemical Co., Ltd) 所研發[7,8]，可在恆溫下使用特異性引子擴增目標基因核酸，藉由特殊環形結構的設計，產生沈澱物造成吸光值的改變，可用肉眼直視或儀器測定，為快速的定性檢測方法。

本次檢測的目標基因為 PAT，將 isothermal amplification mix、10 倍的 Primer mix 與無菌水混合後的反應試劑分裝至兩組 8 連排反應管，含有反應試劑反應管需先放置於保冷座 (Black A and B)，分別在 Black A 加入以 GM quicker 套組抽取含有 0%、0.5%、1%、5% 基因改造黃豆的 DNA，在 Black B 加入含有 0% 及 4 個 0.5% 以 GenCheck[®] DNA 萃取試劑抽取的 DNA，配置完成後立刻上機反應並檢測，使用的是 OptiGene Genie[®] II 儀器，儀器可即時顯示擴增曲線，擴增反應結束後再進行解離曲線 (Annealing Curves) 的檢測。下午除了進行 LAMP 檢測結果的分析，再將這兩組 LAMP 反應後的核酸擴增產物，使用 3% 洋菜膠 (agarose gel) 電泳與 EtBr 染色，分析電泳膠圖，來確認 LAMP 方法擴增核酸的情況。

9月9日(星期三)

(四) 基因改造黃豆定量 PCR 檢驗

基因改造黃豆的定量檢驗由大西小姐指導我們實驗，檢測的樣本為 GM quicker 套組抽取的黃豆 DNA，分別含有 0%、0.5%、1%、5% 的基因改造黃豆，依步驟將 TaqMan Universal master mix 與 Primer/Probe mix 混合後分裝成 10 小管，分別加入 5 個不同拷貝數 (copy numbers) 的參考質體、4 個樣本及空白控制 (NTC)，混勻後所有樣本三重複分裝至 96 孔反應盤，反應盤離心後即置於 ABI7900 即時 PCR 儀器進行基因改造黃豆定量檢驗。

基因改造黃豆定量 PCR 檢驗結果的分析則分為兩部份，第一個部份為分析閾值數據的決定；第二個部份為基因改造黃豆樣本定量分析的結果。在 ABI7900 即時 PCR 的分析軟體中，從 0.001 開始，依 2 的倍數逐一輸入閾值的數值，再將所得到的回歸係數、標準曲線斜率、Y 軸截距數值，輸入到實驗室制訂的閾值分析 Excel 表格，即可找出做為最佳閾值的數據。本次實驗結果 Le 基因的閾值為 0.128，基因改造黃豆的閾值為 0.256。而基因改造黃豆樣本的定量計算，則是由分析軟體將各樣本在即時 PCR 反應所得到的 Ct 值 (螢光擴增曲線與閾值交叉點所對應的 PCR 反應循環數值) 帶入標準曲線換算成基因拷貝數，將 Le 基因與基改基因的拷貝數套用基因改造定量公式，計算出的結果分別為 0%、0.66%、1.40% 與 6.44%。

9月10日（星期四）

早上筑波當地下起了大豪雨，係18號颱風過境後減弱成低氣壓引發的，還沒走到實驗室，筆者的褲管及背包就已經被大雨淋濕。早上持續進行基因改造黃豆定量檢驗的計算教學。另外，橘田博士在幾天前通知我今日將有台灣的研究人員來參觀，橘田博士邀請我一同會面。9點30分，日本種苗管理中心（NCSS）品種保護對策課長木村鉄也博士帶領我國農委會種苗改良繁殖場生物技術課的陳哲仁助理研究員來拜訪參觀橘田博士的實驗室，在木村博士向橘田博士聯繫參訪時，橘田博士亦提及筆者刻正在此研習。很高興在國外遇到自己家鄉的同胞，陳研究員此行主要目的係至日本種苗管理中心研習品種鑑定工作，由於種苗改良繁殖場也有進行基因改造的相關檢測，木村博士便協助安排過來食品總合研究所GMO檢知解析單元實驗室參訪。除了參觀實驗室之外，橘田博士、真野博士和我一同與來訪的木村博士及陳哲仁研究員在會議室進行座談，就基因改造食品的檢測進行討論。陳哲仁研究員亦提出基因改造木瓜的檢測結果與日本檢驗方法的問題跟與會者討論，不過橘田博士的實驗室並不負責基因改造木瓜的檢驗，對日本政府過去曾公布發現台灣基因改造木瓜種子的詳細檢驗過程並不清楚，僅能提供日本最新公布的相關資料供參考。

中午過後實驗室附近區域的大雨逐漸停歇，但日本實驗室同仁的手機則不定時的同時傳出國家防災單位所發出的警報鈴聲，提醒附近居民做好

避難的準備。

(五) 基因改造黃豆數位 (digital) PCR 技術之檢驗

下午的課程為特別加入的數位 (digital) PCR 技術研習，所使用的是實驗室近年新購的 QuantStudio[®] 3D Digital PCR System，同樣的是由大西小姐來指導我們。使用的檢測樣本包括 0%、0.5%、1%、5% 的基因改造黃豆 DNA 以及 1.5 K 拷貝數的參考質體做對照。依照操作手冊準備反應試劑與樣本混合，將 18 μ l 混合液注入到晶片上樣機 (QuantStudio[®] 3D Digital PCR Chip Loader) 的上樣槽內，Digital PCR 晶片放置於上樣機，機器會將混合液均勻的塗布在晶片上，接著蓋上晶片的上蓋，加入隔絕液，確認無氣泡後封住注入孔，以鋁箔紙包覆隔絕光線，即可拿至配備晶片型加熱槽的 ABI9700 儀器進行 PCR 反應，需用特殊架子將 ABI9700 機器架高以防止氣泡堆積影響檢測。

9 月 11 日 (星期五)

今天是待在日本實驗室的最後一天，天氣也放晴一掃昨日的陰霾。本次研習的實驗課程皆接近尾聲，大西小姐帶領我們進行 Digital PCR 檢測結果的分析，將晶片放入 QuantStudio[®] 3D Digital PCR System 儀器後，約一分鐘內即可分析出晶片內探針的螢光，藉此分析樣本基因的拷貝數。詳細的檢測數據會直接存取到機器上的 USB 隨身碟，再使用電腦上傳至廠商建

置的雲端分析軟體進行檢測數據的分析。目前基因改造作物數位 PCR 檢測方法的技術仍在研發中，後續將與日本實驗室保持聯繫，關注此一技術的應用。食品分析研究領域長龜山博士也到實驗室與我們這些將返國的研習學員道別，我也向她表示謝意，感謝食品總合研究所給予我的協助。下午實驗室充滿歡樂及依依不捨的氣氛，大家把握時間進行最後的交流與討論，實驗室所有成員也與我們四位研習學員一同在 GMO 實驗棟前合影。

稍後橘田博士親自開車載 Dr. Sharizah 與筆者前往筑波市中心搭車，Sharizah 搭乘巴士前往成田機場，搭乘夜間的班機返回馬來西亞，筆者則搭乘筑波快線至東京，再轉乘電車至鄰近羽田機場的下榻旅館。車上再次向橘田博士表達由衷的感謝，希望她有機會能來台灣訪問，也希望實驗室間持續保持交流互通研究資訊。

9月12日（星期六）

清晨近 6 點時發生大地震，筆者也被地震搖醒，震央在東京灣內，東京地區為震度 5，幸好東京地區無重大災情，鐵路交通則有部份路線延誤及暫停。前往羽田機場的途中一路順利，平安地搭乘長榮航空班機返回松山機場，結束此次成果豐碩的研習任務。

叁、心得及建議

全球在基因改造作物的種植仍是逐年增加，生技公司也依據農民種植需求開發新品系基因改造作物，現行全球核准的基因改造作物已逾兩百種以上，我國每年持續有新轉殖品系基因改造作物獲得基因改造食品查驗登記的許可。基因改造玉米、黃豆、棉花及油菜為四種主要的基因改造作物，棉花和油菜絕大部分使用於製油，玉米和黃豆則為我國常見的基因改造食品，為製造各類食品的主要原料。國人對於基因改造食品議題非常的重視，基因改造鮭魚新聞和基因改造食品退出校園為近來的發燒議題，消費者亦非常重視選擇基因改造食品的標示正確性。本次赴日本食品總合研究所 GMO 檢知解析單元實驗室研習，有助於我國基因改造食品檢驗技術的持續精進，協助我國檢驗技術接軌國際，增加國際交流管道。

一、持續創新基因改造食品檢驗技術

基因改造的技術日新月異，每年持續有新轉殖品系的基因改造作物上市，持續建立新品系的檢驗方法已是本署必要的工作之一，而基因改造新興檢驗技術的研發，則有助於讓檢驗能更有效率，檢驗精密度更提升，檢驗廣度更增加。另外，本次研習的最大亮點為數位（Digital）PCR 技術的學習，近三年來數位 PCR 儀器發展漸漸成熟，輔助現有定量 PCR 進行更微量的檢測，很高興日本實驗室願意分享此一新技術供我們學習，日本亦

非常重視新興技術研究來精進基因改造食品的檢驗，我們應學習這樣的研究投資態度以爭取經費建置新儀器與技術來維護食品安全。

二、培養檢驗研發人才與擴增檢驗研究經費

食品總合研究所 GMO 實驗室為日本官方專責研發基因改造作物檢驗方法的實驗室，研究人力為我們的 2 倍以上，相對於本署在基因改造食品檢驗與研究的任務執掌，需負責檢驗方法開發、基因改造食品查驗登記檢驗、市售食品基因改造檢驗和協助進口原料邊境抽驗與監測，由於任務相對繁重，需積極培養熟練基因改造食品的專業檢驗研發人才，增加人力以因應業務所需，挹注更多的研究檢驗經費來提升檢驗的技術與能力。

三、加強國際基因改造檢驗技術交流與資訊傳遞

在國際交流方面，日本官方實驗室長期與歐盟、美國的官方機構、頂尖檢驗公司實驗室和研發基因改造產品的生技公司建立良好關係與資訊交換管道，並參與國際間基因改造檢驗方法的調和與相關規範的草擬。相較於我國除了透過申請查驗登記的基改生技公司獲得資訊外，交流的管道較為薄弱，很難第一手獲取世界各國官方的基改相關資訊。因此我國在參與國際基因改造相關議題的交流活動，無論是法規制訂、行政管理與食品性安全評估等主題，檢驗研究人員或許也能一併參與，既可協助檢驗單位增進國際能見度和人脈，也能把握第一時間參與討論來增加交流機會。

本次研習汲取的研究經驗，將有助於本署在基因改造檢驗技術的再提升，若往後能不定期的持續派員參與日本實驗室的研習，建立更為深厚的情誼，將更有助於我國基因改造檢驗技術的精進與檢驗人才的培養，協助我國能擁有頂尖的基因改造檢驗技術與人才，維持基因改造食品檢驗領域的領先地位。

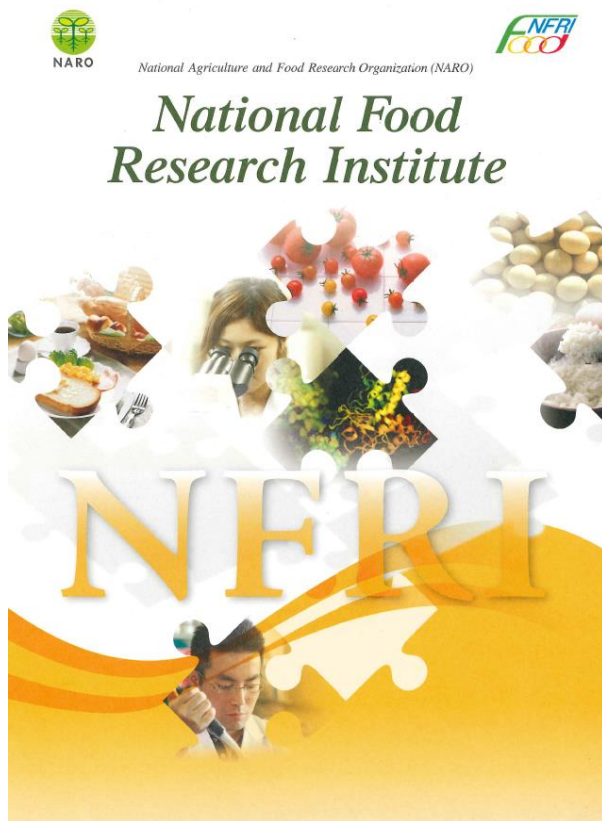
筆者能有機會赴日研習並學習最新研發的技術和獲得寶貴的經驗，要感謝衛生福利部及本署各級長官的支持，科技部與衛生福利部在科技計畫經費提供，也謝謝研究檢驗組及食品生物科長官與同仁們的協助，並提供相關資訊。最後要感謝日本食品總合研究所、橘田和美博士、真野潤一博士、高畠令王奈博士與 GMO 檢知解析單元實驗室所有成員在研習期間的教導、技術經驗的傳授與生活上的照顧，Dr. Sharizah Alimat、井上佳美小姐、Sirisukhodom Supanut 先生與 Dr. Sabina Yeasmin 在研習期間的一起努力。

肆、参考文献

- [1] <http://www.naro.affrc.go.jp/nfri/introduction/chart/index.html>
- [2] Mano, J., Shigemitsu, N., Futo, S., Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A., Furui, S. and Kitta, K. Real-time PCR array as a universal platform for the detection of genetically modified crops and its application in identifying unapproved genetically modified crops in Japan. *J Agric. Food Chem.* 2009 57:26-37.
- [3] <http://www.naro.affrc.go.jp/nfri/introduction/chart/0507/index.html>
- [4] Mano, J., Yanaka, Y., Ikezu, Y., Onishi, M., Futo, S., Minegishi, Y., Ninomiya, K., Yotsuyanagi, Y., Spiegelhalter, F., Akiyama, H., Teshima, R., Hino, A., Naito, S., Koiwa, T., Takabatake, R., Furui, S. and Kitta, K. Practicable group testing method to evaluate weight/weight GMO content in maize grains. *J. Agric. Food Chem.* 2011. 59:6856-6863.
- [5] <http://fapas.com/proficiency-testing-schemes/gemma/>
- [6] Statistical Tools for Seed Testing (ISTA Website)
http://www.seedtest.org/en/statistical-tools-for-seed-testing-_content---1--1143--279.html
- [7] The principle of LAMP method (Eiken Genome Website)
<http://loopamp.eiken.co.jp/e/lamp/index.html>
- [8] Notomi, T., Okayama, H., Masubuchi, H., Yonekawa, T., Watanabe, K., Amino, N. and Hase, T. Loop-mediated isothermal amplification of DNA. *Nucleic Acids Res.* 2000. 28(12):E63.

附件一、食品總合研究所英文簡介

http://www.naro.affrc.go.jp/publicity_report/publication/files/nfri_outline-e2014.pdf



Roles and responsibilities

In order to promote a healthy and rich diet for consumers and to address the country's food supply issues, the National Food Research Institute (NFRI) carries out innovative research. Specifically, NFRI aims to:

1. Develop technology that maximizes the value of food and agricultural products.
2. Develop technology that provides a wide variety of safe food.
3. Offer accurate information about food products based on scientific evidence.

NFRI is the only research organization under the auspices of the Ministry of Agriculture, Forestry, and Fisheries, which conducts research specifically in the area of food related science and technology. The work of NFRI is extensive and includes the scientific analysis of food and health, the development of technology to ensure the safety of food, and the development of innovative distribution and processing technologies. While implementing the most advanced technology, NFRI makes every effort to work on the most relevant topics affecting the country and to support on-going research projects. NFRI also conducts diverse research in relation to agricultural products, ranging from the distribution and processing stages to the cooking and eating stages of the food chain.

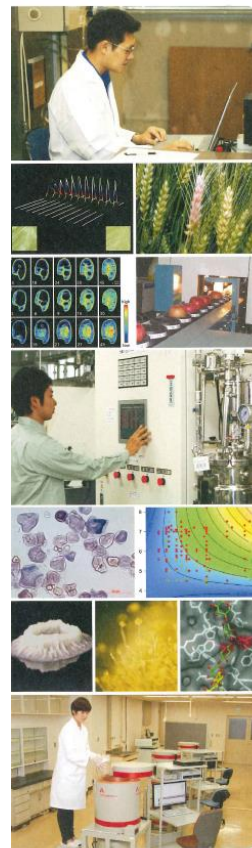
Major research subjects

- Studying the three functions of agricultural products and foods: nutritional function, palatability and biological function, and the development of technology for their effective utilization.
- Development of technology to ensure the safety and credibility of agricultural products and foods.
- Development of distribution and processing technologies with an aim to conserve and improve the qualities and functionalities of agricultural products.

In addition to basic research and development of advanced technologies, NFRI carries out research that meets the rapidly changing needs of society. Through the channels of the food industry as well as the agriculture, forestry, and fisheries industry, the research results obtained at NFRI have contributed to building a technical system to support a healthy and rich diet for consumers, and to secure a safe and stable food supply.

History

- 1934 : Established as the Rice Utilization Research Institute under the Agricultural Bureau of Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries in Tokyo.
- 1944 : Reorganized as the Office of Food Administration Research Institute.
- 1947 : Reorganized as the Food Research Institute.
- 1972 : Reorganized as the National Food Research Institute.
- 1979 : Moved to Tsukuba Science City from Tokyo.
- 2001 : Reorganized as the Independent Administrative Agency, National Food Research Institute.
- 2006 : Merged with the Independent Administrative Agency, National Agriculture and Food Research Organization (NARO).



Food Function Division

To aim for the proposal that contribute to maintenance and improvement of health in super-aging society, we are working on evaluation and elucidation of three food functions including nutritional function, quality and sensory properties, and health-promoting function.

- Development and standardization of an analytical method for functional compounds in food.
- Comprehensive evaluation and analysis of food functionality using nutrigenomics.
- Elucidation of the action of nutrients, food components, combination of nutrients and food components on lipids and energy metabolism and functional expression mechanism.
- Screening and evaluation of anti-allergic or lifestyle diseases related compounds in food and analysis for their expression.
- Elucidation of the mechanisms for the taste sensation and the food preference by multiple approaches such as molecular physiological, ethological, and psychological methods.
- Texture evaluation by means of instrumental measurement, sensory evaluation and human physiological measurement and elucidation of relation between physical and functional properties of food.

Development of a validated method for measuring the antioxidant capacities of agricultural products.

- Reactive oxygen species are thought to be involved in disease development.
- The relationship between the consumption of agricultural products rich in antioxidants and disease prevention is an important research topic.
- We developed a validated H-ORAC method for measuring the antioxidant capacities of agricultural products. This method can be applied to the breeding of novel cultivars with enhanced antioxidant capacities.

Texture evaluation by mastication measurement of humans.

Food texture greatly contributes to palatability

- Sensory evaluation by trained panel
- Physiological methods such as electromyography and multiple-point strain sensor
- Rheology and other instrumental techniques

Processing properties of agro-products

- Relationships between instrumental, physiological and organoleptic properties of food
- Change during processing

Key technology for new food development in aging society with fewer children

Analytical Science Division

We are developing analytical techniques for quality assurance, safety, and labeling of food. We are also performing chemical structure elucidation and state analysis of food related compounds using instrumental analyses.

- Study of sampling strategy, method validation, and statistical data analysis for improvement of reliability of analytical values and supply of reference materials and proficiency testing for quality control of analysis.
- Analyses of structure and molecular interaction of compounds related to agriculture and food by instrumental analyses such as mass spectrometry (MS) and nuclear magnetic resonance (NMR) spectroscopy.
- Development of non-destructive analytical methods for food components and chemical hazards in food.
- Development of technique for detection and quantification of chemical hazards and study of their fate during processing and cooking.
- Development of technique for detection of genetically modified (GM) agricultural products and distribution of their certified reference material.

Techniques for Determining the Geographical Origins of Blanched and Salted Wakame Seaweed by Elemental and Light Element Isotopic Compositions.

Analysis based on the stable isotope ratios of carbon and nitrogen and the composition of inorganic elements helps differentiate the geographical origins of agricultural products. By using this technique, the wakame grown at Naruto, Japan, was correctly predicted, even after it was blanched and salted.

An Artificial Receptor Recognizing Amino Acids in Water.

Poorly water-soluble scandium complexes with both Lewis acidic and basic properties were synthesized as artificial receptors. One of the receptor molecules bound basic amino acids selectively in aqueous solutions of amino acids. Only a few artificial receptors are available that use electrostatic interactions as the main intermolecular binding force in water.

Chemical Structural Analysis of a Glycoside Compound in Ungerminated Barley Grain.

Horadine A β-D-glucopyranoside localized in the aleurone layer was isolated from ungerminated barley grains for the first time and its chemical structure was determined by mass spectrometry and NMR spectroscopy.

Food Safety Division

To ensure food safety, we are working on developing technologies to reduce chemical and biological hazards from farm to table.

- Development of control technology for foodborne pathogens from farm to table.
- Development of rapid detection and simple identification methods for foodborne pathogens.
- Characterization of chemical hazards such as mycotoxins and toxic elements, and development of their analytical methods.
- Development of detection and control technology for insect pests and the elucidation of their physiology and ecology.
- Development of detection technology for irradiated food.
- Elucidation of the dynamics of radioactive cesium in food processing and cooking.

Technology for rapid simultaneous detection of multiple foodborne pathogens in food samples.

For each pathogen, this method could detect three foodborne pathogens such as O157 within one day, whereas more than five to seven days are required to detect the pathogen by conventional culture methods.

Distribution of radioactive cesium in the milling of wheat grains and the cooking of Udon noodles.

Assuming the radioactive cesium concentration of wheat grain before milling to be 100%, the concentration was found to be reduced to about 40% and 6% in the wheat flour and the boiled noodles, respectively. Therefore, when the radioactive cesium concentration of wheat grain is 50Bq/kg, the concentration of the boiled noodles becomes about 4Bq/kg.

Processing factor (PF): Ratio of activity concentrations in the product after and before processing.

Food Resource Division

Food Resource Division studies on clarification of quality of food materials and components, and development of their utilization methods, for increase in food value leading to demand expansion of agricultural products.

- Clarification of structure, property and functionality in carbohydrate, protein, lipid and related compounds, and development of evaluation methods.
- Development of methods for utilization of rice to rice bread and so on, and development of identification technology of rice cultivars.
- Development of conversion technologies of herbaceous biomass to bioethanol and biomaterials.
- Development of basic technologies for the production of novel food by modification of food components.

Development of bread made from wheat flour and cooked rice.

The bread that contains cooked rice has high volume and sticky texture.

Development of gluten-free rice bread with glutathione.

Expanded bread can be made from only rice flour with glutathione.

Development of methods for high production of saccharifying enzymes.

We developed methods to efficiently produce various saccharifying enzymes which are essential to convert rice straw into bioethanol.

Analysis of metabolic conversion of dietary carotenoids.

Metabolic conversion of lutein in mouse liver.



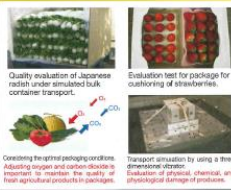
Food Engineering Division

Based on a food engineering approach, new food technologies are being studied as unit operations by analyzing the processes, improving the system, and incorporating cutting-edge technologies such as nanotechnology and IT (information technology). Some successful technologies are using our research and have already contributed to your daily life through safe and high quality foods.

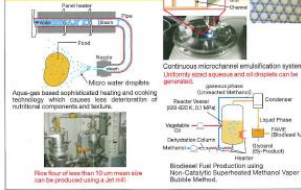
Development of advance technologies for distribution and processing and its application.

- Development of a high quality and efficient distribution system by using three dimensional transport simulator (Vibrator), etc., and development of packaging technologies for agriculture products and food, and quality control during distribution.
- Development of food technologies such as membrane separation, Aqua-gas® superheated steam with hot water droplets) heating, and high hydrostatic pressure processing for high quality foods. Process analysis and optimization of food processing/cooking for improved food quality and high functionality. Development and applications of *in vitro* gastric digestion model for foods.
- Development of pasteurization by high electric field AC and radio frequency flash heating. Development of micro-channel emulsification technology for producing mono-disperse emulsions. Development of ultra-fine grinding method of food materials using a jet mill etc. and its application.
- Development of biodiesel fuel production process using Non-Catalytic Superheated Methanol Vapor Bubble Method. Development of advanced conversion processing with by-products from agro and food industry.

Tools for developing an advanced food distribution system



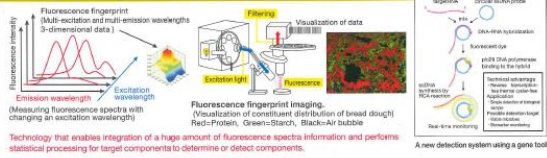
Tools for developing processing technologies



Development of advance analysis, evaluation and prediction technology for high quality and confidence and information and communication technology.

- Development of the technology of distinction and food quantity with fluorescence fingerprinting and imaging applications. Development of quality analysis with detection of weak intensity light signal data.
- Development of an analytical technology to observe nano-scale structure and function using scanning probe microscope and a new bio-tool to detect targets in biological material.
- Development of a predictive model for microorganism growth and death in its database. Development of the evaluation tool of environmental load of food transportation by LCA and its application.
- Development of On-Line Food Traceability System for addition to useful information about agriculture products and foods and technologies to communicate research information to the public.

Developing tools for analysis and evaluation technologies

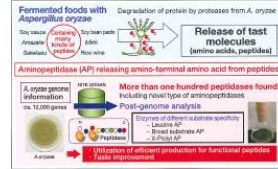


Applied Microbiology Division

For the improvement of the utilization technology on food-brewing microorganisms and enzymes useful in the food industries, we study elucidation of the physiology of yeasts, natto-forming bacilli, and koji mold (*Aspergillus oryzae*), search for new useful strains and enzymes, and their evaluation and utilization.

- Elucidation of an environmental stress tolerance mechanism for advanced utilization of baker's yeast, and improvement of the yeast for bioethanol production.
- Elucidation of mechanisms for material production and metabolism in *Bacillus subtilis* (natto), analysis and improvement of enzymes for the production of useful oligosaccharides, and advancement of the technology for fermentation by bacteria.
- Development of the utilization technology of food brewing koji mold (*Aspergillus oryzae*) and its enzymes using genomic information.
- Development of the technology for the evaluation and reduction of toxicity of mycotoxin using cells of microorganisms.

Post-genome analysis of koji mold (*Aspergillus oryzae*) peptidase. The useful enzymes which were not known until now are found one after another using the koji mold genome information. The development and novel utilization of additional superior abilities of koji mold can be expected.



Public presentation of a baker's yeast gene database. We analyzed genomic information of the baker's yeast and constructed a database to help the study on yeasts. It can be helpful for all the researchers widely from fundamental research to application or development sections such as universities or companies.

DGBY バン酵母遺伝子データベース

Database for Gene Function and Expression of Baker's Yeasts

Baker's yeast is exposed to severe stresses during yeast production and bread baking

all-drying 30-40% sucrose
4-8% alcohol
High osmolarity
High-sugar dough
freeze-draw
Bread dough

We have a lot of data regarding genes that may be involved in stress tolerance by using two post-genomic approaches

11 genome-wide gene expression analysis using DNA microarrays (transcriptome), and 21 genome-wide screening of Saccharomyces cerevisiae deletion mutant collection (knock-out phenomics), and then uploading the data on the web-site. <http://www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/english/Useful/yeast/index.html>

Food Biotechnology Division

We are working on basic research to reveal, to utilize, and to improve biological functions for effective utilization of biological and food resources by employing high technologies such as biotechnology.

- Exploration for useful enzymes and substances, improvement for their functions, and development of their industrial uses.
- Unveiling molecular mechanisms that underlie unique biochemical reactions and strict ligand recognition exerted by certain receptor proteins.
- Elucidation and utilization of unknown microbial functions, and development of new microbial breeding technology.
- Development of novel methods to determine and evaluate the structure of biopolymers in solution.
- Elucidation of mechanism on differentiation and metabolic regulation for application on plant breeding.
- Characterization of enzymes useful for the utilization of agricultural waste and food processing waste.

Structure function analysis of β -L-arabinopyranosidase. A new enzyme named β -L-arabinopyranosidase was discovered. The enzyme is involved in the degradation of aspartic gums and is expected to be used for the improvement (modification) of the properties of the gum.

Elucidation of fruit-ripening mechanisms in tomatoes. Molecular mechanisms for ripening and abscission of tomato fruits are under investigation.

Development of a method for the automated synthesis of oligosaccharides. We have developed a method for the automated synthesis of oligosaccharides by coupling various kinds of mono-saccharide donors after another. We have synthesized trisaccharide successfully by using this method.

The core-structural disaccharide of human milk oligosaccharide produced in kg-scale by our novel enzymatic method. We have revealed that bifidobacteria secrete the enzyme to liberate the particular disaccharide that acts as the bifidus factor from human milk oligosaccharides. We have also developed a practical enzymatic method to produce the disaccharide.

Hyperproduction of a blue-pigmented antibiotic by certain drug resistant mutants of a soil bacterium. We have demonstrated that introduction of certain drug-resistance mutations that alter ribosomal functions is effective for improvement of bacterial capabilities. Our approach opens up new avenues for efficient strain improvement.

Organization



Access

Map showing access routes to NFRI from Tokyo, Utsunomiya, and other cities. Includes a table of bus services:

Route	Service	Duration
Tsukuba Center - NFRI	Tsukuba shuttle bus service	15 min or TAXI
	Tokyo - Tsukuba Center	Tokyo-Akihabara-Tsukuba (Tokyo-Akihabara, JR Line, 5 min; Akihabara-Tsukuba, Tsukuba Express Line, 45-55 min)
Tokyo-Tsukuba Center	Highway bus service	65 min
	Airport - Tsukuba Center	Tokyo International Airport (Haneda) - Tsukuba Center Highway bus service
Airport - Tsukuba Center	Narita International Airport-Tsukuba Center	Bus service, 100 min
	Ibaraki Airport-Tsukuba Center	Bus service, 60 min
Tokyo-Utsunomiya-NFRI	Tokyo-Utsunomiya, JR Line	15min
	Utsunomiya-Utsunomiya, JR Joban Line	55 min
Utsunomiya-NFRI	Bus service	30 min or TAXI

For more information, please see "Access to NARO" on the following website. <http://www.naro.affrc.go.jp/english/>

Collaborators with NFRI

- Overseas Organization and Universities**
 - University of Dhaka (the People's Republic of Bangladesh)
 - China Agricultural University (the People's Republic of China)
 - Institute of Agro-Food Science & Technology, Chinese Academy of Agricultural Sciences (the People's Republic of China)
 - Central Food Technological Research Institute (the Republic of India)
 - Korea Food Research Institute (the Republic of Korea)
 - Kasetsart University (the Kingdom of Thailand)
 - National Food Institute (the Kingdom of Thailand)
 - Rajamangala University of Technology (the Kingdom of Thailand)
 - United States Department of Agriculture (United States of America)
 - United Nations University
- Domestic Organization and Universities**
 - National Institute of Health and Nutrition
 - National Institute of Advanced Industrial Science and Technology
 - Food and Agricultural Materials Inspection Center
 - Japan Association for Techno-Innovation in Agriculture, Forestry and Fisheries
 - Ibaraki University
 - Ochanomizu University
 - Shizuoka University
 - Seitoku University
 - University of Tsukuba
 - The University of Tokyo
 - Tokyo University of Agriculture
 - Tokyo University of Agriculture and Technology
 - Tokyo University of Science
 - Tohoku University
 - The University of Tokushima

NFRI National Food Research Institute (NFRI), National Agriculture and Food Research Organization (NARO)

Address : 2-1-12 Kannondai, Tsukuba, Ibaraki 305-8642, Japan

TEL : +81-29-838-7971 FAX : +81-29-838-7996 E-mail : www.nfri@naro.affrc.go.jp

URL : <http://www.naro.affrc.go.jp/org/nfri/english/>


2014.12

附件二、簡報內容

GMO

Regulatory and Analysis of Genetically Modified Food in Taiwan

Yu-Chih Chen Ph.D.
陳育志 (Oliver)
Associate Researcher
Section of Food Biology
Division of Research and Analysis
FDA, MOHW, Taiwan



1

GMO

Outlines


- Global GM crop status
- Administration of GM Food in Taiwan
- Legislation of GM Food in Taiwan
- Surveillance for labeling on GM Foods
- GMO Detection Technology Performance

2

GMO

Background


Global GM crop status



3

GMO

Global GM crop in 2014



Biotech Mega Countries
50,000 hectares (125,000 acres), or more

Rank	Country	Million Hectares
1.	USA	73.1
2.	Brazil*	42.2
3.	Argentina*	24.3
4.	India*	11.6
5.	Canada	11.6
6.	China*	3.9
7.	Paraguay*	3.9
8.	Pakistan*	2.9
9.	South Africa*	2.7
10.	Uruguay*	1.6
11.	Bolivia*	1.0
12.	Philippines*	0.8
13.	Australia	0.5
14.	Burkina Faso*	0.5
15.	Myanmar*	0.3
16.	Mexico*	0.2
17.	Spain	0.1
18.	Colombia*	0.1
19.	Sudan*	0.1

Less than 50,000 hectares

Honduras*	Romania
Chile*	Slovakia
Portugal	Costa Rica*
Cuba*	Bangladesh*
Czech Republic	

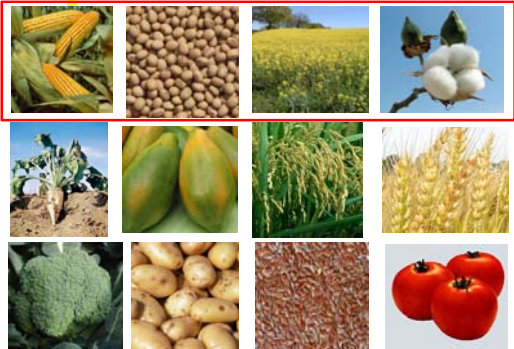
* Developing countries

Source: Clive James, 2014.

4

GMO


Specifics of GM Crop



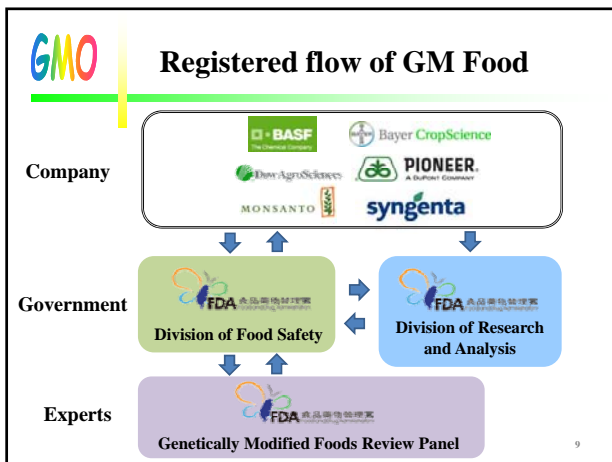
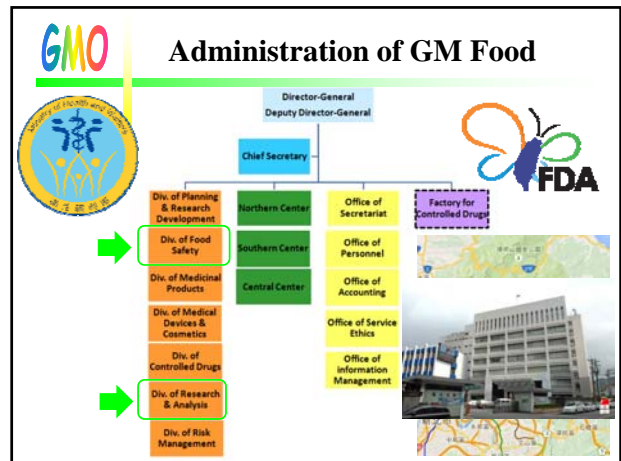
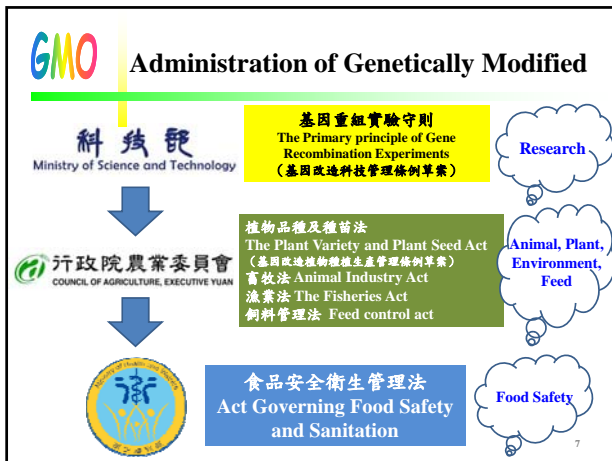
5

GMO

Administration of GM Food in Taiwan



6



GMO Taiwan GM Food Act

GMO Definition of Genetically Modified Food

GMO What is Genetically Modified

In Act Governing Food Safety and Sanitation

Article 3:
The term “genetic modification” shall mean the **transferring of genetic materials** or **implant of live cells or organisms via genetic engineering, molecular biotechnology**, or other related technologies to produce genetic recombination, exogenous genetic characteristics, or to suppress certain genes of the recipient. However, this **does not include** traditional breeding methods or techniques such as the merging, hybridization, mutation, in-vitro fertilization, somaclonal variation, and chromosome doubling of plants of the same species and protoplasts.

GMO **History of GM Food Act in Taiwan**

2001/2/22 DOH Bulletin

Registration Requirement for Genetically Modified Soybean and Genetically Modified Corn (DOH Food No. 0900011745)

Labeling Requirements for Food Containing Ingredient of Genetically Modified Soybean or Genetically Modified Corn (DOH Food No. 0900011746) **5%**

行政院衛生署公報

13


GMO **Labeling Requirements for GM Food (2001~2015)**

1. Voluntary Labeling (2001~)

2. Effective dates for mandatory labeling :

2003.1.1 **2004.1.1** **2005.1.1**

Agricultural form Primarily processed Advanced processed



14

GMO **Act Governing Food Safety and Sanitation**

總統令 中華民國 103 年 2 月 5 日 總 統 馬 英九
 華總一義字第 10300017801 號 行政院院長 江宜樺
 Presidential Decree No. 10300017801 Amended Date: 2014/2/5

Definition the term of "genetic modification"
 (Article 3, No.11)

Establishment of the food risk assessment advisory committee
Advisory Committee in Genetically Modified Foods
 (Article 4)

Genetically modified food raw materials:
Health Risk Assessment
Registration Permit
 (Article 21)

15

GMO **Act Governing Food Safety and Sanitation**

Presidential Decree No. 10300017801 Amended Date: 2014/2/5

Genetically Modified Food Labeling:
 (Containing genetically modified food raw materials)

- The **container** or **external packaging** of **food** and food raw materials (Article 22)
- The **container** or **external packaging** of **food additives** and their raw materials (Article 24)
- Specific **food products** supplied & specific **bulk food vendors** at **food vending locations** (Article 25)

16

GMO **Act Governing Food Safety and Sanitation**

Presidential Decree No. 10300017801 Amended Date: 2014/2/5


Genetically Modified Food Tracing/Tracking:

- **Importers** of genetically modified food raw materials shall establish a **traceability system** for **tracing the source** and **tracking the flow** (Article 9 and 21)
- Shall be in accordance with the **customs commodity code** and **classification** when **importing** genetically modified food raw materials (Article 30)
- The food businesses shall retain the related records, documents, electronic files, or database of **imported genetically modified food raw materials** mentioned in the preceding paragraph for **5 years** (Article 32)

17

GMO

GM Food Labeling in Taiwan



18

GMO | **GM Food Labeling in Taiwan**

2001/2/22 DOH Bulletin

Labeling Requirements for Food Containing Ingredient of Genetically Modified Soybean or Genetically Modified Corn (DOH Food No. 0900011746)

Prepackaged foods

5% → **3%**

(2003/1/1~2015/12/30) (2015/12/31~)

19

GMO | **New Labeling Requirements for GM Foods (2015/7/1~)**

Bulk Foods	Vendors	Effective Date	Vendors	Prepackaged foods Food additives
Agricultural form 	Have Business Registration	2015/7/1	All Vendors	5%
	without Business Registration	2015/10/1		
Primarily processed 	Have Business Registration	2015/12/31	All Vendors	3% All need label
	Other Vendors			

20

GMO | **GM Food Labeling in Taiwan**

21

GMO | **Most Issues in GM Food Labeling**

- Incorrect labeling**
- Without labeling**
- Misleading labeling**
- Not exactly correct labeling**

non-compliance (Incorrect, Without, Misleading)

incomplete compliance (Not exactly correct)

GMO | **Incorrect labeling**

Label: Soybean (Non-GM)

GM >5%

23

GMO | **Without labeling**

Label: Soybean

GM >5%

24

GMO **Misleading labeling**

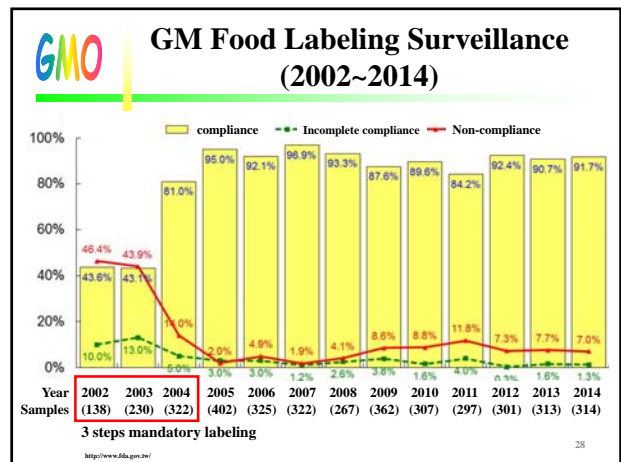
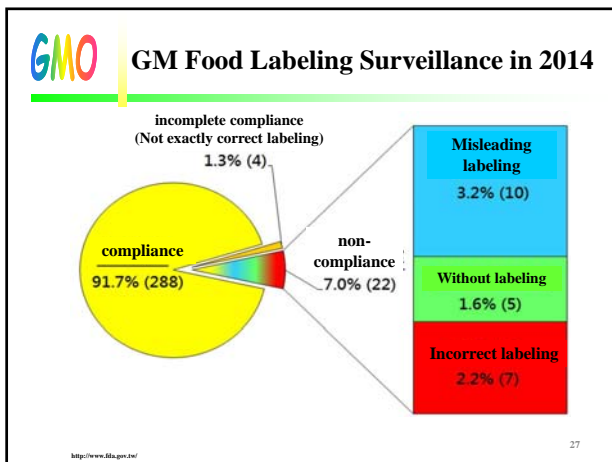
**Label: NON-GMO raisin
Non-GM pineapple**

25

GMO **Not exactly correct labeling**

Label: Soybean (Non-Gene)

26



GMO

Taiwan Border Inspection of Genetically Modified Food Raw Materials

29

GMO **Genetically Modified Food Raw Materials Customs Commodity Code** 2014.11.01

CCC code	Description of Goods	Import Regulation
1005.90.00.91-4	其他基因改造玉蜀黍	F01
1005.90.00.92-3	其他非基因改造玉蜀黍 Other non-genetically modified maize(corn)	F01
1102.20.00.10-9	基因改造玉米粉	F02
1102.20.00.20-7	非基因改造玉米粉 Non-genetically modified maize(corn) flour	F02
1103.13.00.10-7	碾碎去殼之基因改造玉米及其細粒	F01
1103.13.00.20-5	碾碎去殼之非基因改造玉米及其細粒 Groats and meal of genetically modified corn (maize)	F01
1104.23.00.10-4	其他加工之基因改造玉米	F01
1104.23.00.20-2	其他加工之非基因改造玉米 Other worked non-genetically modified maize (corn)	F01
1201.90.00.91-6	其他基因改造大豆，不論是否破碎	F01
1201.90.00.92-5	其他非基因改造大豆，不論是否破碎 Other non-genetically modified soybeans, whether or not broken	F01
1208.10.00.10-4	基因改造大豆(黃豆)粉及細粒	F01
1208.10.00.20-2	非基因改造大豆(黃豆)粉及細粒 Flours and meals of non-genetically modified soya beans	F01

30

GMO

Imported GM food materials monitoring

31

GMO

Imported GM food materials monitoring

32

GMO

TFDA GMO Detection Technology Performance

33

GMO

USDA-GIPSA Proficiency Programs

Proficiency program time	Testing event	Participants	Submit results participants	Submit qualitative results participants	Submit quantitative results participants	Submit qualitative & quantitative results participants
2002.02	8 events	22	18	18	—	—
2002.05	8 events	27	26	26	—	—
2002.08	9 events	33	31	31	—	—
2002.11	8 events	41	35	35	—	—
2003.02	7 events	54	26	26	26	2
2003.05	7 events	58	49	27	21	1
2003.09	9 events	59	52	30	21	1
2004.01	9 events	76	67	29	9	29
2004.04	9 events	50	50	21	5	24
2004.10	9 events	69	60	26	3	31
2005.04	9 events	60	60	25	12	23
2005.10	9 events	50	50	24	3	23
2006.04	9 events	56	56	15	6	35
2006.10	9 events	57	57	19	8	30
2007.04	9 events	52	52	18	6	28
2007.10	10 events	52	49	15	5	29
2008.04	12 events	47	63	17	18	28
2008.11	12 events	53	53	17	15	21
2009.05	14 events	58	42	16	11	15
2009.11	14 events	51	42	16	9	17
2010.04	14 events	62	58	23	13	22
2010.10	15 events	62	57	23	6	28
2011.04	16 events	68	65	24	7	30
2011.10	16 events	69	65	22	9	31
2012.04	17 events	60	54	14	7	31
2013.04	18 events	79	69	28	7	29
2014.04	18 events (14+4)	77	69	27	5	31
2015.04	18 events					

GMO

Illegal GM Crop issues

35

GMO

Development of GM Detection in New Platforms

36

GMO | **Development of GM Detection in New Platforms**

The diagram illustrates the development of GM detection platforms. It starts with the **ABI 7900 Real-time PCR** system, which is a desktop computer with a monitor. An arrow points to the **Roche LC480**, a larger, more integrated system. A second arrow points to the **Fluidigm Biomark HD**, which is a compact, benchtop system. A dashed arrow also points from the ABI 7900 to the Fluidigm Biomark HD. The Fluidigm Biomark HD is associated with the following specifications:

- 1. Digital PCR
- 2. 48x48 Array (2304 Rxn)
- 48,48 Dynamic Array IFC

QuantStudio 12K (2016 later)

37

GMO | **thanks for your attention**

38