

平成 17 年（ワ）第 87 号、平成 18 年（ワ）第 16 号

平成 18 年 9 月 29 日

新潟地方裁判所高田支部合議係 御中

原告ら代理人弁護士光前幸一先生

本件GMイネからのカラシナ・ディフェンシン流出の有無  
に関する被告提案実験内容について

被告訴訟代理人弁護士 畑 中 鐵 丸



同 弁護士 山 岸 純



1 はじめに

本件GMイネからのカラシナ・ディフェンシン流出の有無に関する鑑定（以下、「再実験」という）につき、被告は、本件訴訟を解決するために必要且つ十分な範囲について被告研究者との間で検討した結果、以下の内容に基づく鑑定を提案する。

2 本件GMイネからのカラシナ・ディフェンシン流出の有無を調査する鑑定（再実験）内容について

(1) 再実験に供試する遺伝子組換えイネ

再実験に供試する遺伝子組換えイネは、AD48系統とする。

(2) 再実験内容

ア 水田水中のカラシナ・ディフェンシン有無の調査実験

平成18年9月19日、貴庁立会いの下、被告北陸研究センター隔離圃場において採取し、現在、同センター内冷凍庫において-30℃で保管中の本件GMイネ株元の水田水（以下、単に「水田水」という）を遠心分離後、フィルターで濾過し、泥、プランクトン、藻、浮遊の枯葉などのゴミを除去する。この水田水をサンプルバッファーと混ぜたのち、SDS-PAGE にかけて、抗体測定法でディフェンシンの有無を調査する。

ポジティブコントロールとして、精製カラシナ・ディフェンシンを水田水で希釈・調整したサンプルをサンプルバッファーとよく混ぜた後、SDS-PAGE にかけて、抗体測定法でディフェンシンを確認する（検知下限の測定）。

（なお、9月19日現在、一般イネは刈り取り時期を迎えているため、水田水は既に落としてあるため、非組換えイネ株元の水田水の採取は不可能であった。従って、比較対照水がないため、採取した水田水のカラシナ・

ディフェンシンの有無の調査のみとした。)

#### イ 茎葉の浸せき実験

水田水 40ml を入れた 50ml のファルコンチューブに組換えイネの茎葉約 1g(注1)を2日間、浸せきし、25℃の状態、明期 14 時間、暗期 10 時間で緩やかに振とうする。振とう中に出たゴミを除くためにフィルター濾過する。浸せき水を 1  $\mu$ l (マイクロリットル。以下同じ) を取り、サンプルバッファーと混ぜて、SDS-PAGE 後、抗体測定法を行う。残りの浸せき水 5 ml (ミリリットル。以下同じ) を用いて、遠心・濃縮(注2)し、内容物を 5  $\mu$ l の蒸留水によく溶かし、サンプルバッファーと混ぜて、1  $\mu$ l 相当分を SDS-PAGE 後、抗体測定法を行う。(原告準備書面(6)の提案実験区 A に相当)

同様のことを非組換えイネについても行う。(原告準備書面(6)の提案実験区 B に相当)

(注1) 水田でのイネの成熟期において、1 株(約 80 g)当たり水田水量は約 4,500ml (条間 30cm×株間 15cm×水深 10cm) であり、1 株が全て水田水中に浸せきしたとして、40ml 中では茎葉 0.7 g となることから約 1 g とする。

(注2) 濃縮操作については、凍結乾燥はディフェンシンの回収に高度な技術を要し、ディフェンシンのロスが多くなる可能性が高いことから、遠心・濃縮法が妥当する。

#### ウ 磨りつぶし実験(注3)

本件 GM イネの茎葉 0.5g を水田水 0.5ml で磨りつぶし、これに水田水 9.0ml を加え、25℃で1時間緩やかに振とう後、遠心して上澄みを回収し、以降は上記浸せき実験と同様の方法で SDS-PAGE 後、抗体測定法を行う。(原告準備書面(6)の提案実験区 C に相当)。

原告提案実験区 D については、組換えイネの茎葉 0.5g を 0.5M NaCl の水田水で磨りつぶした後、本溶液を 9.0ml 加え 25℃で1時間緩やか振とうし、遠心して上澄みを回収し、その溶液 1  $\mu$ l を SDS-PAGE 後、抗体測定法を行うのみとする。

(注3) 原告提案の実験区 D については、大量の NaCl を使用しているため、特に濃縮した場合、大量の NaCl が析出することになり、電気泳動を行い且つ抗体測定法を行うことは不可能である。

#### エ 供試サンプルの確認実験

実験に供試する本件 GM イネ (AD 48 系統) が、カラシナ・ディフェンシンを発現していることをあらかじめ常法にて確認しておく。方法としては、以下のとおり既提出の乙 30 号証とほぼ同じ方法にて行う。

本件GMイネの茎葉 0.5g を鉢に入れ、液体窒素で凍結し、粉碎する。抽出バッファー 1ml を加え、よく磨りつぶし、1.5ml の遠心チューブに全量回収し、遠心分離する。その後、上澄みをフィルターを使って濾過して、濃縮する。濃縮サンプル 5 $\mu$ l をサンプルバッファーと混ぜて、SDS-PAGE 後、抗体測定法を行う。

### 3 再実験に関する条件について

- (1) 仮に、被告において精製カラシナ・ディフェンシン、カラシナ・ディフェンシンの抗体等、本件GMイネ及び水田水以外のもので、且つ、再実験に必要な試薬等を提供することとなった場合、再実験終了後、残りの精製カラシナ・ディフェンシン、カラシナ・ディフェンシンの抗体等の試薬は全量返却すること。
- (2) 育成した本件GMイネから産出される物（花粉、種子、水分を当然に含むがこれに限らない）は採取しないこと。
- (3) 本件GMイネは再実験以外の目的で使用しないこと。
- (4) 「研究開発等に係る遺伝子組換え生物等の第2種使用等に当たって執るべき拡散防止措置等を定める省令」等に基づき、再実験終了後、育成した本件GMイネ等を廃棄する前に、オートクレーブ処理するなど不活化するための措置を講ずるとともに、残渣を処分すること。
- (5) 以上の作業について、実際に実行されたか否かを裁判所立会いの下で確認すること。

### 4 再実験に必要な試料について

- (1) 再実験において必要とされる試料等のうち、被告以外の機関、研究者等で準備することが不可能な試料等は本件GMイネ（種子）及び前記水田水であるものと思料する。
- (2) したがって、被告としては、①本件GMイネ（種子）及び②前記水田水については、貴庁の指示があり次第、再実験実施機関に対し提供する所存である。
- (3) しかしながら、それ以外の例えば精製カラシナ・ディフェンシン、カラシナ・ディフェンシンの抗体等については、被告以外の機関、研究者等において準備することも十分可能なものであり、仮に、被告において準備するとなると、当該試料等を準備するための人員、材料、施設等を確保したり、当該試料等を準備するためのするために別途予算を計上したりする必要に迫られる等、被告本来の業務に支障を来すことになる。
- (4) ところで、民事訴訟費用等に関する法律第12条によると、「鑑定人に支給する費用等は、鑑定の申出をした当事者から予納された金額により賄われる」とされ、最終的に訴訟費用として計上され、訴訟の敗訴者にお

いて負担することとされている（民事訴訟法第61条）。

- (5) そこで、被告としては、前記準備（本件GMイネ及び前記水田水の準備以外）に要した費用についても鑑定費用に計上の上、最終的に訴訟費用として敗訴者負担とされるのであれば、「被告以外の機関、研究者等においても準備可能な試料等」についても、貴庁の指示を受けて、被告において準備することはやぶさかではない。
- (6) なお、前記被告提案の再実験に関して必要な試料等については、以下のとおりである。（なお、被告から提供可能な数量、個数等については、精査の上、おって詳述する。また、末尾の番号は、当該試料等を使用する実験番号を指す）

#### 記

ア 被告以外の機関、研究者等で準備することが不可能な試料等

- ・ 本件GMイネの種子 ②③④
- ・ 水田水（前記のとおり、平成18年9月19日、貴庁立会いの下、被告北陸研究センター隔離圃場において採取し、現在、同センター内冷凍庫において-30℃で保管中の水田水。但し、実験においては、（遠心処理後、ポアサイズ0.45μmフィルターをかけたものを使用する）  
①②③

イ 被告以外の機関、研究者等においても準備することが可能な試料等

- ・ 遺伝子非組換えイネ ②③④
- ・ ウェスタン検出キット ①②③④
- ・ 精製カラシナ・ディフェンシン ①②③④
- ・ カラシナ・ディフェンシンの抗体 ①②③④
- ・ サンプルバッファー ①②③④
- ・ ポアサイズ0.45μmフィルター②
- ・ 抽出バッファー ④
- ・ マイクロンYM-30 フィルター、マイクロンYM-3 フィルター ④

5 原告らが提案するいわゆる「生物検定法」について

- (1) 原告らが提案するいわゆる「生物検定法」が、再実験において不要であることについては、被告準備書面（9）において既述したとおりであるが、以下、改めて詳述する。
- (2) そもそも生物検定法とは、ある物質を生物に与えて、生物反応から、その物質の含有量、構成成分および効力を推定する方法である。抗体測定法も抗原抗体反応という生物学的反応を用いた点で、広い意味で捉えれば生物検定法とすることができるが、直接生物に物質を与えることがないので、厳密な意味では免疫化学的測定法である。

- (3) ここで、原告らの提案するようないわゆる「生物検定法」は、ある物質の存在を推定する場合、あるいは、化学的な分析がいくつかの要因により実施不可能である場合とか、検体数が多く手間、時間、コストがかかる場合において簡易的な手法として用いられるが、その精度は定かでない。最終的には免疫化学的分析が必要となる。
- (4) 再実験の目的はカラシナ・ディフェンシンの溶出があるかどうかである。抗体測定法という免疫化学的手法が確立されており、実施可能な状況にある以上、この方法を用いるのが妥当であり、ましてや、原告提案の生物検定法を行う必要性は見いだせず、当該実験は不要である。

以上