

平成17年(ワ)第87号、平成18年(ワ)第16号

遺伝子組換え稲の作付け禁止等請求事件

原告 山田稔 外22名

被告 独立行政法人 農業・食品産業技術総合研究機構

準備書面 (35)

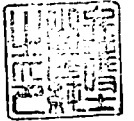
鑑定嘱託命令発令にあたって添付すべき被告提案についての意見

平成19年3月22日

新潟地方裁判所高田支部合議係 御中

被告訴訟代理人弁護士 畑 中 鐵 丸

同 弁護士 山 岸 純



- 一、 被告が求める最終的な鑑定嘱託内容としては、平成18年10月10日付「平成18年8月18日付原告ら鑑定嘱託の申立てに対する意見書」、及びこれを再整理したものとして平成19年1月22日付「準備書面(26)～本鑑定嘱託内容に関する被告意見～」をそれぞれ貴庁に提出しているところである。そして、原告らが求める最終的な鑑定嘱託内容については、平成18年12月31日付原告ら準備書面(17)により提出済みであると考ええる。
- 二、 ところで、前回期日において、貴庁は、原被告が求める鑑定内容はすでに明らかであるとして、どのような内容の文書を嘱託先機関に提出すべきかについては特段最終的な確認をすることなく貴庁において適宜処理する旨のご判断が示されたと理解している。しかしながら、被告としては、被告準備書面(26)に加え、以下の書面(本書添付の別紙1及び別紙2(あるいは別紙2に代えて別紙3))を鑑定嘱託先に送付すべきと考ええる。
 1. まず、本書に別紙1として添付した平成18年10月10日付被告提出にかかる「平成18年8月18日付原告ら鑑定嘱託の申立てに対する意見書」第4、1ないし3である。これは、被告準備書面(26)別紙「遺

伝子組換え実験実施条件」、「2 その他の条件」①で引用された箇所であり、本箇所を送付しないと、鑑定嘱託先において被告の具体的協力内容がわからず、実験設計ができないからである。

2. 次に、本書に別紙2として添付した平成19年1月31日付被告提出にかかる「準備書面(27)～原告ら準備書面(17)に対する反論～」第3ないし6、第8及び第9の2、3である。すなわち、原告の平成18年12月31日付準備書面(17)においては、被告提案に対する反論が記載されている。これに対し、平成19年1月22日付被告準備書面(26)では、原告提案に対する被告反論が記載されていない。このままでは、鑑定嘱託先がバランスを取れた判断を行い得ず、公平を欠くこととなる。このため、原告提案に対する被告反論を展開している被告準備書面(27)該当部分を送付する必要がある。なお、別紙2に代えて、被告準備書面(27)を原告準備書面(17)と平仄を合わせた形で再整理した別紙3を送付する形でも差し支えない(別紙3は、これまで被告が提出した意見を再整理したものに過ぎず、新たな主張や証拠は一切含まれていない)。

以上

(別紙1：平成18年10月10日付被告提出にかかる「平成18年8月18日付原告ら鑑定嘱託の申立てに対する意見書」第4、1ないし3)

第4 被告提案実験に要する試料について

- 1 別紙被告提案実験に要する試料及び当該試料の具体的数量は以下のとおりである。

記

- | | |
|---|----------------|
| ①遺伝子組換えイネの種子 | 10粒 |
| ②水田水(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) | 500ml×2本 |
| ③ポアサイズ0.45μmフィルター | 2個 |
| ④遺伝子非組換えイネの種子 | 10粒 |
| ⑤ウエスタン検出キット | 1式 |
| ⑥精製カラシナ・ディフェンシン | 5μl(10ng/μl程度) |
| ⑦カラシナ・ディフェンシンの抗体 | 5μl |
| ⑧サンプルバッファー | 250μl |
| ⑨抽出バッファー | 2.5ml |
| ⑩マイクロコンYM-30フィルター、マイクロコンYM-3フィルター各2個 | |

- 2 被告は、そもそも、本件解決にはすでに提出した被告実験で十分との立場である。そして、本件鑑定については、裁判所の指導の下、原告の主観的不満感を払拭するため、科学的合理性を有する再実験であることを前提に協力するものである。かかる経緯や被告の立場からすれば、再実験実施に関する協力としては最低限に留めたいとの被告の考えは貴庁においても十分ご理解いただけるものと確信する。

- 3 かような観点からは、本来、被告としては、鑑定実施にあたり、前記①

及び②について実施機関に提供すれば足りるというべきである。

(別紙2：平成19年1月31日付被告提出にかかる「準備書面(27)～原告ら準備書面(17)に対する反論～」第3ないし6、第8及び第9の2、3)

第3 原告ら準備書面(17)記載の免疫測定法に関する原告ら提案に対する被告意見(原告ら準備書面(17)第3の3①「水の条件」について)

- 1 「超純水にNaイオン、Caイオンを添加する」との提案について
 - (1) 原告らは、原告ら準備書面(17)4頁図(1)において、「最もカラシナ・ディフェンシンが溶出する危険が高いときを想定すること」を目的として、「超純水にNaイオン、Caイオンを添加」する旨の提案をしているようである。
 - (2) しかしながら、被告は、前回の本件GMイネ栽培実験(平成18年)において、田植え実施以降、施肥を実施していない。
 - (3) したがって、水田水中のイオン濃度に大きな変動がないことは明らかであり、また、原告らも自然状態に近い条件で実験を行うことに異議がないはずであることから(原告ら準備書面(15)3頁等)、端的に、「自然条件に最も近い」水田水(なお、この水田水は、昨年9月に、裁判所の指揮に基づき、裁判所の立ち会いの下で採取し、現在、被告北陸研究センターにて適正に保管中である)を用いて使用することに、異議はないものと思料する。
- 2 「10ml」との提案について
 - (1) 次に、原告らは、原告ら準備書面(17)4頁図(2)において、何らの科学的根拠もなく、ただ「水量が多ければ多いほど、DFの濃度が薄くなり、検出限界以下になるおそれがある」との主観的危惧をもって、使用する水の量を「10ml」としているようである。
 - (2) しかしながら、平成18年9月29日付「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」2の(2)のイ(注1)、「平成18年8月18日付原告ら鑑定嘱託の申立てに対する意見書」別紙被告提案実験内容の2の(注1)及び被告準備書面(26)別紙被告提案実験2の1(注1)において、既に詳述したとおり、免疫測定法において使用する試料の割合を「本件GMイネ茎葉1gに対し、水田水40ml」にすることは、自然状態に最も近似する設定であることは明らかである。
 - (3) 仮に、原告ら提案のとおり、「10ml」という水量に「7葉齢のイネの成苗3個体」を入れた場合、自然界ではあり得ない「超密植

状態」となり、原告らが求める「自然状態に近似する条件下での実験」はおよそ不可能となる。

- (4) 以上のとおり、使用する水の量を「10ml」とする原告ら提案は、その科学的根拠が全く不明であり、被告としては原告らの意図を理解しかねる。なお、カラシナ・ディフェンシンは水溶性であり、水中に溶出した場合に直ちに拡散することは、植物学における常識であるところ、「カラシナ・ディフェンシン耐性菌が（カラシナ・ディフェンシンが多く滞留する）イネの近傍で出現する」といった原告らの主観的危惧が全くの的外れであることを付言する。

第4 原告ら準備書面（17）記載の免疫測定法に関する原告ら提案に対する被告意見（原告ら準備書面（17）第3の3②「供試サンプル（本GMイネ）の条件」について）

1 「キズを付ける」との提案について

- (1) 原告らは、原告ら準備書面（17）5頁上図(1)において、「自然条件の中でも、イネの茎葉にキズがつくのは不可避」であることを理由に、「ノコギリ歯状の切れ込みを入れる」などといった提案をしているようである。
- (2) しかしながら、そもそも、本件GMイネをファルコンチューブに収まるよう細かく裁断する（5cm程度）こと自体、自然界では想定できない大きな「キズ」であるところ、さらに、「ノコギリ歯状の切れ込みを入れる」作業を提案する理由は、全く不明である。

2 「7葉齢のイネの成苗3個体」との提案について

- (1) 原告らは、原告ら準備書面（17）5頁上図(2)において、「確実にカラシナ・ディフェンシンの溶出を検出させる」ことを目的として、免疫測定法に使用する本件GMイネの量を、「多量のイネ（原告ら提案によれば、グラム数は不明であるがイネの成苗3個体）」と提案しているようである。
- (2) しかしながら、免疫測定法において使用する試料の比率を「本件GMイネ茎葉1gに対し、水田水40ml」にすることが、自然状態に近似することは前記のとおりであり（なお、被告準備書面（26）別紙被告提案実験2「茎葉の浸せき実験等（免疫測定法）」1（注1）記載のとおり、当該比率は、本件GMイネ全体が倒伏し、その全体が浸せきしたことを前提とした比率であり、この点において、「カラシナ・ディフェンシンを溶出しやすくする」という原告らの意図に適った比率となっている）、何ら科学的根拠に基づかないかような提案を行う原告らの意図は不明である。

- (3) 原告ら準備書面(17)記載のこれまでの原告ら提案を振り返るに、原告らは、「如何なる方法を採用すれば本件GMイネからカラシナ・ディフェンシンを溶出させることができるか」について逐一検討しているようにも思われる。しかしながら、そもそも本鑑定における鑑定事項は、「本件GMイネからのカラシナ・ディフェンシン常時多量溶出の有無」であり、決して、「カラシナ・ディフェンシンを溶出させる方法」を検討するものではないので、この点、念のため付言する。

第5 原告ら準備書面(17)記載の免疫測定法に関する原告ら提案に対する被告意見(原告ら準備書面(17)第3の3③「浸せきの条件」について)

1 「浸せきのさせ方」について

- (4) 原告らは、原告ら準備書面(17)5頁下図(1)において、「水没した茎葉が数日間で枯死すること」を危惧し、「イネの成苗の下部10cm水没させる」との提案をしているようである。
- (5) しかしながら、実験実施時間は、被告準備書面(26)別紙被告提案実験2の1記載のとおり、48時間にすぎず、「枯死」を懸念する必要はない。

2 「終了時刻」について

- (1) 原告らは、原告ら準備書面(17)6頁上図(2)において、「カラシナ・ディフェンシンを最も溶出する時刻が不明である」ことを理由に、「実験の終了時期を明期及び暗期に分ける」との提案をしているようである。
- (2) しかしながら、明期及び暗期毎のカラシナ・ディフェンシン溶出量の差を調査することは、本鑑定の目的ではないことから、かような「実験の終了時期を明期及び暗期に分ける」との提案自体、全く意味がない。

第6 原告ら準備書面(17)記載の免疫測定法に関する原告ら提案に対する被告意見(原告ら準備書面(17)第3の4「検出実験の実験方法」のうち、「濃縮操作」について)

- 1 原告らは、原告ら準備書面(17)6頁下図(1)において、「免疫沈降法やアフィニティー・クロマトグラフィーだと、濃縮及び精製を同時に実現でき、また、大きな濃縮効率が実現できること」を理由に、「免疫沈降法あるいはアフィニティー・クロマトグラフィーによる濃縮操作」を提案しているようである。
- 2 しかしながら、免疫沈降法あるいはアフィニティー・クロマトグラフィーを実施するためには、大量の抗体を準備する必要があるところ、現在、

- 被告は、当該方法を実施するために必要な量の抗体を保有していない。
- 3 仮に、被告において、前記方法に必要な量の抗体を新たに作製する場合、カラシナ・ディフェンシンの精製及び抗体作製に約6ヶ月の期間と費用を要することになる。さらに、前記方法に用いる抗体は、性能の優れた抗体が要求されるところ、現在の科学技術では、かような抗体を確実に作製できる保証は全くなく、万が一、約6カ月の期間を要して作製した抗体の性能が不十分な場合は、さらに約6カ月の期間と費用を要することになる。
 - 4 また、免疫沈降法及びアフィニティー・クロマトグラフィーも、共に抗原抗体反応を利用した手法であるところ、被告提案にかかる遠心・濃縮法と異なり、ポリクローナルという抗体を使用するため、カラシナ・ディフェンシン以外にも、カラシナ・ディフェンシンに構造的に類似した蛋白質も濃縮してしまう可能性が生じる。この結果、当該蛋白質のみを検出してしまい、仮に、極微量のカラシナ・ディフェンシンが存在していたとしても、検出できないといった結果が生じる場合がある。
 - 5 かように、原告ら提案にかかる免疫沈降法及びアフィニティー・クロマトグラフィーには、準備にかかる障害、時間的障害、技術的障害といった問題が存在する。

(中略)

第8 原告ら準備書面(17)記載の免疫測定法に関する原告ら提案に対する被告意見(原告ら準備書面(17)第4「ポジティブコントロール実験」について)

- 1 原告らは、原告ら準備書面(17)第4において、「ポジティブコントロールには、精製カラシナ・ディフェンシンを加えた茎葉の浸せき水田水を用いる」旨の提案を行っているようである。
- 2 しかしながら、被告準備書面(19)において詳述したとおり、単に、水田水に精製カラシナ・ディフェンシンを加えて実験を行うことで、ポジティブコントロールの目的を十分に達成することが明らかである以上、「精製カラシナ・ディフェンシンを加えた茎葉の浸せき水田水」を用いる合理的理由はない。

第9 まとめ

(中略)

- 2 さらに言うなれば、これまで、「本鑑定は自然状態に近似した条件にて実

施すべきである」旨の主張を繰り返してきているところ、実験に使用する水のイオン濃度に関する提案、キズを付けるとの提案、実験に使用する水と本件GMイネとの割合に関する提案からは、理由は不明であるが、原告らは、自然状態とかけ離れた条件での実験内容を、あえて提案しているかのような印象すら感じられる。

3 仮に、原告らが、「本鑑定は自然状態に近似した条件にて実施すべきである」とするのであれば、かような原告らの当該意図を最も反映させた実験である被告準備書面（26）別紙被告提案実験1記載の「水田水中のカラシナ・ディフェンシン有無の調査実験」を実施することで足りる。

（以下、略）

鑑定項目	鑑定内容	鑑定理由
1. 水田水中のカラシナ・ディフェンシンの有無(水田水の確認実験)	<p>(1)平成18年9月19日に、北陸研究センター隔離圃場において組換えイネの株元から採取した水田水を供試。水田水を遠心分離後、フィルター(ポアサイズ0.45μ)で濾過し、サンプルバッファーと混ぜたのち、SDS-PAGEにかけ抗体測定法でディフェンシンの有無を調査する。</p> <p>(2)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・調製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にかけ抗体測定法でディフェンシンの有無を調査する。</p>	<p>隔離圃場で栽培された組換えイネは、水没部分と水没していない部分とが存在し、枯死することなく栽培されるなど、原告が求める最も自然な条件の下で栽培されたものである。したがって、組換えイネを栽培中の水田水のカラシナ・ディフェンシンの有無を確認することが、最も鑑定目的に即している。(なお、9月19日当時、一般イネ(非組換えイネ)は刈り取り時期を迎えているため、水田水は既に落水させており、一般イネ(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。)</p> <p>精製カラシナ・ディフェンシンを水田水で順次希釈し、調製したサンプルを用いることで、ポジティブコントロールと共に用いた実験系の検知下限も明確になる。</p>
2. 組換えイネからのカラシナ・ディフェンシン多量溶出の有無(茎葉の浸せき実験)	<p>(1)本件組換えイネの茎葉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20μlをSDS-PAGE後、抗体測定法で、組換えイネのディフェンシン産生を確認する。</p> <p>(2)水田水40mlを入れた50mlのファルコンチューブに育成した組換えイネの茎葉約1gを2日間、浸せきし、25$^{\circ}$C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1μl(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、抗体測定法でディフェンシンの有無を調査する。残りの浸せき水5ml(ミリリットル)を用いて、遠心・濃縮(注1)(遠心濃縮と凍結乾燥の両方)し、内容物を5μlの蒸留水によく溶かし、サンプルバッファーと混ぜて、1μl相当分をSDS-PAGE後、抗体測定法を行う。</p>	<p>①組換えイネ(AD48系統)が、カラシナ・ディフェンシンを産生していることをあらかじめ確認する目的で行うものである。</p> <p>②浸せき水に水田水を用いる理由としては、採取した水田水は実際に組換えイネが栽培された圃場の水田水であり、最も本鑑定実験に即したものである。原告は超純水にNaイオン、Caイオンなどを添加したものをを用いるよう提案しているが、隔離圃場では平成18年の栽培実験において、田植え以降、施肥は実施していないので、イオン濃度の大きな変動はない。また、水田水は、自然条件に最も近いので、原告も異議はないと思料する。</p> <p>②水量40mlに対し、茎葉1gを浸せきする理由としては、水田でのイネの成熟期において、1株(約80g)当たり水田水量は約4500ml(条間30cm×株間15cm×水深10cm)であり、1株がすべて水田水中に浸せきしたとしても40ml中では茎葉0.7gとなることから約1gとする。これ以上の密度で茎葉が浸せきすることは自然界ではあり得ない。</p> <p>③浸せきの状態については、1gの茎葉を40mlの水が入ったファルコンチューブに浸せきさせる際、チューブに収まるよう裁断することになるが、この裁断によるキズ自体、自然界で想定できないほどのキズであり、さらにこれ以上のキズをつける必要はない。</p>

(差控)

④また、48時間の短時間の実験であり、枯死を懸念する必要はなく、茎葉をそのまま浸せきすればよい。(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ことについては、原告、被告両者が合意)

⑤浸せき水のサンプリング時刻については、実験により、ディフェンシンの溶出があったかどうかを判定するのが本鑑定目的であり、実験の終了時刻にサンプルを取れば十分である。

⑥ポジティブコントロールは、実験により、ディフェンシンの溶出があったかどうかを判定すればよいので、精製ディフェンシン浸せき水に加え、カラシナ・ディフェンシンの存在と電気泳動上の位置を確認すれば十分である。

⑦遠心・濃縮法が最も簡便に、かつ、効率よく濃縮が可能である。原告は、濃縮方法について、免疫沈降法やアフィニティークロマトグラフィーだと、濃縮だけではなく精製(水田水の微小の混入物や塩を除く)を同時に実現できると述べているようだが、いずれの方法も、遠心濃縮法に比べて遥かに大量の抗体が必要であり、仮に機構が対応するとすればその作製には数ヶ月を要し、機構の業務にとって大きな支障であり、対応困難である。

(3) 上記(2)と同様のことを非組換えイネについても行う。

上記(2)において、抗体の非特異的吸着が考えられるので、ネガティブコントロールとして実施する必要がある。