平成 25 年度・衛生研究所研究費事業報告

各種食品から遺伝子組換え体を検知するスクリーニング法の確立に関する研究

(計画年度:平成24年度~平成25年度)

研究代表者

水·食品担当 大坂 郁恵

共同研究者

水・食品担当 善光寺なおみ 尾上恵子 今井浩一 松本隆二 長島典夫 石井里枝 髙野真理子

薬品担当高橋邦彦食品微生物担当米田 葵

目的

遺伝子組換え(以下 GM)食品の検査法は、厚生労働省、消費者庁及び JAS 分析試験ハンドブックによって示されている。しかしながら、その方法は作物ごとに異なる DNA 抽出キットを用い、系統ごとに異なるプライマー及び反応温度による PCR 法を指定しており、一度にスクリーニング的に検査を行えるものでは無く、多くの時間と費用を要する。さらに加工食品では、製造工程において DNA が断片化され、抽出遺伝子が十分に増幅できずに検査結果が無効になる事例がしばしば見受けられ、このことが GM 食品の検査をますます煩雑なものにしている。そこで、広範囲な作物及び加工食品に適用可能な DNA 抽出キットの比較及び内在性遺伝子及び組換え体検知用プライマーの検討を行い、簡便かつ迅速な GM 農産物検知方法の確立を試みた。また、本法を用いて市販食品への実態調査を行った。

成果概要

平成24年度は、農産物10種類を用いてDNA抽出キット及び内在性遺伝子の比較を行い、GM農産物の簡便かつ迅速な検知方法の検討を行った.

平成25年度は、加工食品に対するGM農産物の簡便かつ迅速な検知方法の検討を行った.さらに、この方法を用いて埼玉県内に流通する加工食品に対して実態調査を行った.

1 試料

検討試料には、DNAの分解が激しく粘性が高いため抽出が 困難な納豆を用いた. 原材料に「大豆(遺伝子組換え)」の 表示がある納豆を用い、系統は RoundupReady Soybean (以 下 RRS)であった.

実態調査は、表示義務のある 10 種(きな粉、豆乳、豆腐、とうもろこし缶詰、コーンスナック菓子、乾燥ばれいしょ、ポテトスナック菓子、ドライパパイヤ、パパイヤキムチ、納豆)、表示義務が無い 5 種(小麦粉、醤油、ジャム、なたね油、亜麻仁油)の合計 15 種の加工食品に対して行った.

2 DNA 抽出方法

農産物において良好な結果が得られた DNA すいすい PF を 用いて納豆からの DNA 抽出 (n=10) を試みた. その結果, 全て A260nm/A280nm が 1.2~2.5 の範囲に入っており, 良好 な結果であった. 吸光度から算出した濃度は 14.4~ 22. $\ln g/\mu$ L と, PCR を行うに十分な濃度が得られた.

3 内在性遺伝子検知

農産物で良好な結果が得られた CP03 及び, 18SrRNA を検 討した. いずれの内在性遺伝子も増幅し, 農産物と同様に良 好な結果が得られた.

4 遺伝子組換え体検知

反応液の調製及び反応温度条件を、特定原材料検査法通知の植物 DNA 検出用の方法で定性 PCR 法を行ったところ、増幅すべき組換えセグメントである P35S、TNOS の増幅バンドは認められなかった。これは、組み換え体が内在性遺伝子よりも原材料農産物に含まれる遺伝子の含有量(コピー数)が少ないことが理由と考えられた。そこでサイクル数を 40から 45 へ増やし、PCR 試薬を AmpliTaq Gold® DNA Polymerase with Buffer II and $MgCl_2$ から Amplitaq Gold® 360 Master Mix へ変更したところ、両方とも増幅し、良好な結果が得られた。

5 実態調査の結果

表示義務のある加工食品は全て、「遺伝子組換えでない」 旨の表示であった.検討した方法で実態調査を行ったところ、いずれの検体からも遺伝子組換え体は検知されず、表示 どおりの結果であった.

自己評価

予定していた検討内容については、すべて終了した.

展望

確立した方法を用いて、県内に流通する輸入食品を中心にモニタリング調査を実施していきたい、また、組換え体の検知には P358 及び NOST の他にも多くの組換えセグメントが報告されている。これらの組換えセグメントに対する検討を行い、当方法をスクリーニング方法として、より有効な方法としていきたい。

公表等

日本食品化学学会 第19回学術大会(名古屋) 日本食品化学学会 第20回学術大会(東京)