

## 平成 24 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 米田葵 野崎なおみ 今井浩一 松本隆二 長島典夫 石井里枝 戸谷和男 高野真理子  
薬品担当 高橋邦彦

### 目的

2012 年現在, 世界で商業的に栽培されている遺伝子組換え作物は, 28 ヶ国で面積 1 億 7000 ヘクタール, 15 作物におよび, 増加の一途である。

一方, 近年では 2011 年に沖縄県でカルタヘナ法(遺伝子組換え生物等の使用等の規制による生物多様性の確保に関する法律)で未承認かつ, 食品衛生法に基づく安全性の審査手続きを経していないパパイヤが栽培され, 果実が流通するなど, 法違反の遺伝子組換え食品が国内に流通する事例が発生した。

現在, 国内では組換え DNA 技術応用食品の検査方法は, 厚生労働省, 消費者庁及び JAS ハンドブックから示されている。しかしながら, その数は 6 種の作物 17 系統のみで, その方法は作物ごとに異なる DNA 抽出方法を採用し, 系統ごとに異なる鋳型 DNA 及び反応温度による PCR を行うものである。そのため, これらの通知法は, 一度でスクリーニング的に複数の作物種及び複数系統の検査を行えるものではなく, 多くの時間と費用を要する。

そこで, 農作物全般を対象とした遺伝子組換え体の網羅的かつ迅速なスクリーニング法の確立を目的として, 複数の作物に適用が可能な DNA 抽出方法と, 鋳型 DNA 及び増幅条件の検討を行い, 遺伝子組換え食品の不法な流通の監視に役立てる。また, 確立した方法を用いて, 市場に出回っている作物に対するモニタリング調査を行う。

### 成果概要

対象農産物は, 埼玉県内で市販していた 10 種類(ダイズ, アスパラガス, パプリカ, バナナ, カボチャ, ブロッコリー, レモン, コメ, イチゴ, ニンジン)とした。

DNA 抽出は, シリカスピンカラム法(GMQuicker, DNeasy MiniKit, FastID), イオン交換カラム法(Genomic-tip), 磁気ビーズ法(Wizard Magnetic), フェノール・クロロホルム抽出法(DNA すいすい)のキットを用いた。キット付属のプロトコルに従い抽出を行い, A260nm/A280nm, 所要時間及び費用の比較を行った。その結果, DNA 抽出に要する時間は, 20 検体で DNA すいすいが 4 時間 30 分と最も短く, 最も時間を要したのは, Genomic-tip で 2 日間であった。1

検体あたりのキット費用は, 最も安価であったものが DNA すいすいで 150 円, 最も高価であったものが Genomic-tip で 2,960 円であった。A260nm/A280nm がすべての農産物で 1.2~2.5 の範囲に入ったのは, Genomic-tip 及び DNA すいすいのみであった。

定性 PCR 法における内在性遺伝子として, 特定原材料検査方法で用いている植物 DNA 検出用プライマー-CP03 及び, 植物の 18SrRNA 遺伝子の共通配列部分で設計したプライマー(以下 18SrRNA)を検討した。反応液の調製及び反応条件は, 特定原材料検査法通知で示されている方法に従った。その結果, CP03 が Genomic-tip ですべての農産物が増幅したが, DNA すいすい, FastID, WizardMagnetic ではイチゴ, GMQuicker ではイチゴとニンジン, DNeasy MiniKit ではブロッコリーが増幅しなかった。これに対して 18SrRNA は, WizardMagnetic のイチゴを除く全キットで全農産物が増幅した。

DNA すいすいはフェノール・クロロホルムを使用するが, 1 検体あたり 600  $\mu$ L と少量である。最も所要時間が短く安価であることを考えると, 簡易かつ迅速な検査を行うには, 優れた DNA 抽出キットであると考えられた。定性 PCR 法においては, 18SrRNA は全ての農産物で増幅したことから, スクリーニング用内在性遺伝子検知試験用プライマーとして, 使用できる可能性が示唆された。

### 自己評価

平成 24 年度に予定していた研究はすべて終了した。

### 展望

加工食品の場合, 組換え DNA 等が残存しない場合は, 組み換えの有無の表示義務は無い。今後は, 加工食品からの DNA 抽出方法を検討し, 組換え遺伝子の検知が可能かどうかの検討を行う。また, 検討した方法を用いて市販加工食品に対するモニタリング調査を行う。

### 公表等

なし