

遺伝子組換え農産物の食品原材料とその加工食品実態調査

【保健衛生室 食品衛生部門】

小川美緒・若林沙織・森田晃祥・前田めぐみ・林田博通・石田 茂

Investigation of the genetic modified organisms and their processed foods

Mio OGAWA, Saori WAKABAYASHI, Akiyoshi MORITA, Megumi MAETA, Hiromichi HAYASIDA, Shigeru ISIDA

Abstract

Recently, the improvement of crops has been developing by using the technology of the genetic modification. We examined the circulation of the genetic modified organisms (GMO) in Tottori Prefecture. At first, we tried to detect the recombinant DNA (RRS, Round up Ready Soy) in soybean and its processed foods.

DNA was extracted using DNeasy Maxi Kit (QIAGEN). RRS in soybean and its processed foods was analyzed by the polymerase chain reaction (PCR) method. For soybean, the quantity of RRS was estimated using the method of the enzyme linked immuno solvent assay (ELISA).

As a result of the PCR, RRS was detected 12 samples of 40. These samples had no label, which contained GMO. The 12 samples are soybean, tofu, fried bean curd and soybean flour and soymilk. RRS was contained 0.3~1.0% in soybean from a result of ELISA. It was below the standard (5%) of non-intentional mixture.

Four samples of soybean were produced in America and Canada. The processed foods made from their soybean were positive. One of the tofu in positive was a product of Japan. It was considered to contaminate in the factory. It seemed necessary to be careful about contamination in the factory.

1 はじめに

近年、バイオテクノロジーの進歩にともない、遺伝子組換え食品の開発が進んでいる。有用遺伝子を導入することにより、除草剤耐性、害虫抵抗性、ウイルス抵抗性、大豆ではオレイン酸高生産性などの性質をもつ農作物が開発され、商品化されている。

世界の遺伝子組み換え作物の栽培状況は、1996年に栽培が行われて以来年々増加し、各国の栽培面積はアメリカがいちばん多く次いでアルゼンチン、カナダ、中国となっている。

わが国においても、大豆、とうもろこし、ばれいしょ、菜種及び綿実の5種類の農産物とこれらの加工品について安全性が審査され、流通することとなった。

平成13年4月1日から「平成13年厚生労働省令第

23号」の施行により、「遺伝子組換え農産物の安全性審査の義務化」及び「未審査食品の輸入販売等の禁止及び表示の義務化」が実施された。

遺伝子組換え技術をもちいた食品の場合、「遺伝子組換えである」旨、あるいは「遺伝子組換え不分別」の表示が必要となる。また、「遺伝子組換えでない」の表示は任意表示であり、非意図的混入の場合、5%未満であれば表示の必要はない。

食の安全性確保の観点から検査体制を整え、今回安全性審査済みの遺伝子組換え食品（大豆及びその加工品）について実態調査を行った。

2 方法

1) 試料

原料大豆およびその加工品40検体（大豆17件、豆

腐10件、油揚げ8件、きなこ2件、豆乳1件、納豆1件、みそ1件)を鳥取県内の豆腐製造業者及び販売店から買い上げ試料とした。原料大豆については、輸入品が11件、国産品が6件であり、「遺伝子組換え大豆を使用」と表示しているものではなく、16品目について「遺伝子組換えでない」という任意表示が行われていた。

2) DNA溶液の調製

原料大豆については、約300gを粉碎し、そのうち1.0gを50mlポリプロピレンチューブに採取した。豆腐については、1丁、油揚げは2枚の重量を測定し、試料重量と等量の滅菌水を加え、粉碎した。その他の大豆加工品については、納豆は15分間流水でぬめりをとった後、滅菌水ですすぎ水をきって粉碎した。みそは試料と等量の滅菌水を加え粉碎した。豆乳およびきな粉についてはそのまま用いた。

粉碎後の試料からDNeasy Plant Maxi Kit (QIAGEN) を用いて、JAS分析試験ハンドブック¹⁾にしたがってDNAを抽出した。

抽出後のDNA溶液の吸光度 (A230、A260、A280) を測定することにより、濃度及び純度の確認を行い、PCR (Polymerase Chain Reaction) に供した。

3) プライマー

今回、除草剤耐性のラウンドアップレディー大豆 (RRS) を対象に検査を行った。RRSに特異的なプライマーを用いた。(Fig. 1 (a), specific target

sequence) コントロールとして、大豆内在性レクチン遺伝子に相補的なプライマーを用いた。

4) PCR条件

最終濃度が0.2mM dNTPs、1.5mM MgCl₂、Ampli Taq Gold 0.0025U/μl、プライマー各0.5μMとなるようにし、DNAは1チューブあたり0.3pg加え、総量は25μlとした。

PCRプログラムは、95℃ 10分加熱した後、95℃で30秒、60℃で30秒、72℃で30秒を1サイクルとし、40サイクル行い、72℃で7分間伸長反応した後、4℃に保持した。

ポジティブコントロールには、組換え体特有あるいは内在性のプライマー対の増幅領域をつなぎ合わせて1分子内に導入したプラスミドを用いた。(Fig. 1 (b)) ネガティブコントロールは、DNAを入れないものとプライマーを入れないものを用い

Table1 The result of PCR and ELISA

No	name	Producing area (No.)	ELISA	label
2	fried bean curd	USA (No.3)	—	○
		USA (No.4)		
5	tofu	USA (No.3)	—	○
		China (No.6)		
11	fried bean curd	USA (No.13)	—	×
12	tofu		—	○
13	soybean	USA	0.30%	×
25	soybean	Canada	0.40%	×
26	tofu	Japan (Fukuoka) (No.24)	—	○
27	tofu	Canada (No.25)	—	○
32	soybean	USA	1.00%	×
33	tofu		—	×
36	Soybean flour	—	—	○
39	soymilk	—	—	○

Only positive samples were showed. RRS was detected from Non-GMO samples.

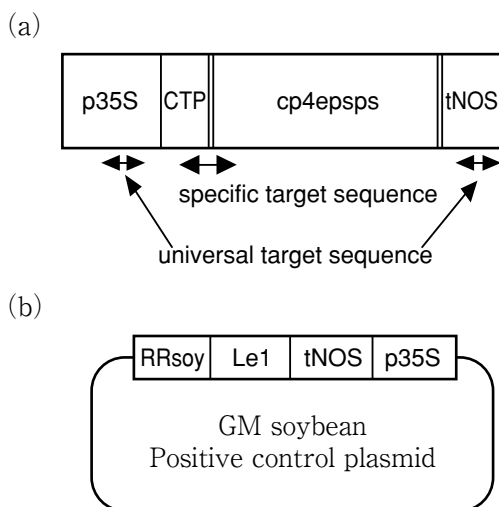


Fig.1 (a) Round up Ready Soybean (RRS) (b) Positive control plasmid

た。

5) 検知方法

PCR反応液の5 μ lを3%アガロースゲルで、TAE泳動バッファーを用いて電気泳動を行い、エチジウムブロミドで染色した。トランスイルミネーターで確認し、写真撮影した。

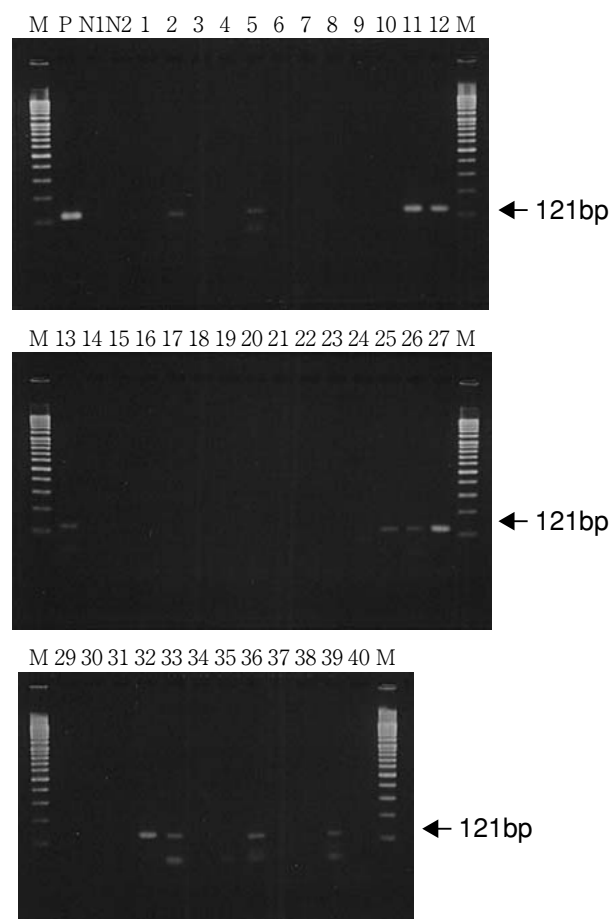


Fig.2 Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified from DNA of soybean and its processed foods. Arrowheads indicate the expected PCR amplification products.

No 2: fried bean curd, No 5: tofu,
 No11: fried bean curd, No12: tofu,
 No13: soybean, No25: soybean,
 No26: tofu, No27: tofu,
 No32: soybean, No33: tofu,
 No36: soybean flour, No39: soymilk
 No28 (fermented soybeans) and No30 (fried bean curd) were detected no DNA.
 M: 100bp ladder, P: positive control
 N1: negative control (no DNA)
 N2: negative control (no primer)

6) ELISA (Enzyme Linked Immno Solvent Assay)

原料大豆について、Soya RUR Kit (Strategic Diagnostics) を用いて測定した。これは、組換えタンパク質であるCP4EPSPSと特異的に結合する抗体を利用して、定量的に検知するものである。

3 結果及び考察

大豆および加工品40品目から、定性PCRで陽性反応を検出したものは12品目あった。(Fig. 2) 豆腐及び原料大豆の産地は、アメリカ、カナダ及び中国であった。

さらに、福岡県産の大豆を用いて製造した豆腐からも検出された。これは、同施設内で遺伝子組換え陽性の豆腐も製造しているため、その混入があったためと予想される。

No.33の豆腐、No.36のきなこ及びNo.39の豆乳については、100bp以下のバンドが検出されているが、これはプライマーダイマーの可能性が高い。²⁾

みそ、豆乳及び納豆ではタンパク不純物が多く、十分な精製が困難であった。しかしながら、みそ及び豆乳ではPCRは可能であった。

原料大豆の陽性の品目について、定量ELISAの結果、混入率は0.3~1.0%であった。(Table 2) 非意図的混入率5%を下回っているため、「遺伝子組換え使用」の表示は必要ない。しかしながら、IPハンドリング (分別生産流通管理) が適切に行われているかの確認を行っておらず、今後は行政との連携をとり行っていく必要がある。

また、納豆1件及び油揚げ1件については、DNAを検出することができなかった。これらの食品は、製造工程でのDNAの分解が進み、特に発酵食品は発酵過程でさらに分解が進むため検査不能の例は多い。製造過程のDNAの断片化を調べ、短いプライマーを用いれば検知可能であると考えられる。³⁾

4 まとめ

今回、除草剤耐性RRSの検出を行った。試料40検体のうち、陽性反応を示したものは、12検体あった。そのうち定量できたものは、原料大豆で0.3~1.0%の混入率であった。これらの大豆はアメリカ産及び

カナダ産であり、これらを原料とする加工品も陽性であった。また、福岡産の大豆を使用した豆腐からもRRSが検出された。

これは、製造所での混入の可能性が高く、製造所における管理についても、いっそうの注意が必要であることを再認識した。

原料大豆については定量も行えたが、加工品については定性の結果しかなく、今後は加工品についても定量を行っていきたい。また、大豆以外の食品についても検査を進めていく予定である。

参考文献

- 1) (独)農林水産省消費技術センター：JAS分析試験ハンドブック
- 2) 柿原芳輝, 合田幸広, 穂山 浩, 松藤 寛, 千野 誠, 豊田正武, 武田明治：市販豆腐からの組換え遺伝子の検知並びに原料ダイズ中の組換え体比率の推定, 日本食品化学学会誌 Vol.9 (2), 60-66(2002).
- 3) Takeshi Ogasawara, Fumihiko Arakawa, Hiroshi Akiyama, Yukihiro Goda, Yoshihiro Ozeki ; Fragmentation of DNAs of Processed Foods Made from Genetically Modified Soybeans Japanese Journal of Food Chemistry. Vol.10(3), 155-160(2003).