

輸入パパイアの組換え遺伝子検査について

宮崎 悦子¹・真子 俊博¹・藤本 喬¹

Detection of Recombinant DNA from Imported Papaya

Etsuko MIYAZAKI, Toshihiro MAKO and Takashi FUJIMOTO

要 旨

平成 13 年 4 月から食品衛生法の一部改正により、遺伝子組換え食品の安全審査が義務化された。福岡市内で入手可能な輸入パパイア 9 検体(うちハワイ産 8 検体)を用い、厚生労働省通知の PCR 法で組換え遺伝子の検査法を検討した。

CTAB 法とキットで抽出したパパイア DNA を比較したところ、CTAB 法は純度と収量が優れており、キットは操作性と省力化の点で優れていた。また PCR の結果、いずれも遺伝子組換えパパイアではなかった。

Key Words: 輸入パパイア imported papaya, パパイアリングスポットウイルス Papaya ring spot virus, ポリメラーゼ連鎖反応 Polymerase Chain Reaction (PCR), 遺伝子組換え作物 Genetically modified organism

はじめに

平成 13 年 4 月 1 日付食品衛生法の一部改正により、組換え DNA 技術応用食品(遺伝子組換え食品)の安全性審査と表示が義務化された。平成 14 年 5 月末現在、安全性審査済みの遺伝子組換え作物は大豆²、とうもろこし¹¹、ばれいしょ⁵、なたね¹⁵、わた⁶、てんさい¹ 種の計 40 種であり、遺伝子組換えパパイアは安全性未審査である¹⁾。

食品中から安全性未審査の遺伝子組換え食品が発見された例として、平成 12 年度のとうもろこし CBH351(商品名:スターリンク)²⁾、平成 13 年度には、ばれいしょニューリーフプラスポテト(現在審査済み)³⁾、およびパパイア 55-1 系統⁴⁾、⁵⁾などがある。

パパイアには感染すると多大な被害を及ぼすパパイアリングスポットウイルス(PRSV)による病気がある。

コーネル大学、ハワイ大学を中心に開発された遺伝子組換えパパイアは、PRSV の遺伝子の一部をパパイアに導入することで同ウイルスに抵抗性を有している⁶⁾。

遺伝子組換えパパイアは非組換えパパイアに比べて大きい、表面がきれい、糖度が高いなど品質が良好であるという評価があり、ハワイでのパパイア耕地面積の約半

分で栽培されている⁷⁾。

今回、厚生労働省通知⁸⁾に基づき、福岡市内で入手した輸入パパイアについて、組換え遺伝子の検査を行ったので結果を報告する。

実 験 方 法

1. 検体

平成 14 年 2 月～5 月に福岡市内で入手した輸入パパイア 9 検体について検査を実施した(表 1)。

表 1 被検パパイア

| 検体No. | 品種またはブランド名 | 原産地 |
|-------|----------------|-------|
| | Diamond Star | ハワイ |
| | Hawaiian Queen | ハワイ |
| | Hawaiian Queen | ハワイ |
| | Hawaiian Sob | ハワイ |
| | Will | ハワイ |
| | Jeanette's | ハワイ |
| | COLE | ハワイ |
| | Dole | フィリピン |
| | 不明 | ハワイ |

2. 検査方法

検査は各検体につき 2 回の繰り返し試験を行った。

1.福岡市保健環境研究所 衛生化学部門

1)DNA 抽出

DNA 抽出は検体 ① ~ ⑦ は CTAB 法, ⑧ ~ ⑩ の 7 検体はシリカゲル膜タイプキット (以下キット) を用いた.

2)DNA のアガロースゲル電気泳動

DNA 試料原液 5 μ L を 1% アガロースゲルを用いて電気泳動し, 純度および濃度を確認した.

3)PCR 反応

PCR は 25 μ L の系で行った. 用いたプライマーは表 2 に示した.

4)PCR 産物のアガロースゲル電気泳動

PCR 産物の 8 μ L を濃度 3% のアガロースゲルを用いて電気泳動を行った.

5)結果の判定

組換え遺伝子の検査は組換え・非組換えに関わらず, 本来パパイヤに含まれる内在性遺伝子 (パパイン) と組換え遺伝子 (55-1) の 2 つの検知の結果によって判定した (表 2).

表2 PCRによる内在遺伝子および組換え遺伝子の検知

| 標的遺伝子 | プライマー対 | 増幅断片 |
|------------------|------------------------|--------|
| 内在遺伝子 (パパイン) | Papain-5' Papain-3' | 211 bp |
| 組換え遺伝子 (55-1) | NosC-5' CaM VN-3' | 207 bp |

結果及び考察

今回, 厚生労働省通知に基づき, 福岡市内で入手した輸入パパイヤ 9 検体について, 遺伝子組換えか否かを検査するとともに, CTAB 法とキットを用いて抽出されたそれぞれのパパイヤ DNA を比較した.

CTAB 法では抽出したパパイヤ DNA の分解は認められず, 十分な純度と収量が得られた (図 1). それに対し, キットでは抽出した DNA は若干の分解が認められたが (図 1), PCR の鋳型として用いるには十分な純度であり, 操作の簡便性と省力化の点では優れていた.

PCR の結果, すべての検体から内在遺伝子のパパインを検出した. (図 2)

また, すべての検体から組換え遺伝子 (55-1) は検出されなかった. (図 2)

これらの結果から, すべての検体は遺伝子組換えではないと判定された (表 3)

2 つの抽出法による DNA を比較をした結果, CTAB 法は操作が煩雑で熟練を要し, 有害な有機溶媒を使用するなどの問題点があるが, 抽出した DNA は純度が高く,

収量が多い. 一方, キットは CTAB 法に比べ抽出時間の 8 割程度削減が可能であり, 迅速な検査を実施するのに適している. 両法の特徴を生かし, スクリーニング検査はキット, 確認検査には CTAB 法と使い分けのが適当だと思われた.

安全性未審査の遺伝子組換え食品の混入は相次いでおり, 輸入パパイヤに遺伝子組換えパパイヤが混入するおそれがあるため, 今後パパイヤの検査を実施していく必要があると考えている.

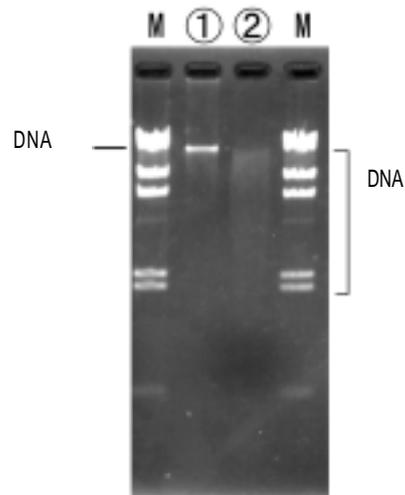


図1 パパイヤDNAのアガロースゲル電気泳動パターン
M :100 bp Ladder DNA, ①:パパイヤDNA (CTAB法)
②:パパイヤDNA (キット)

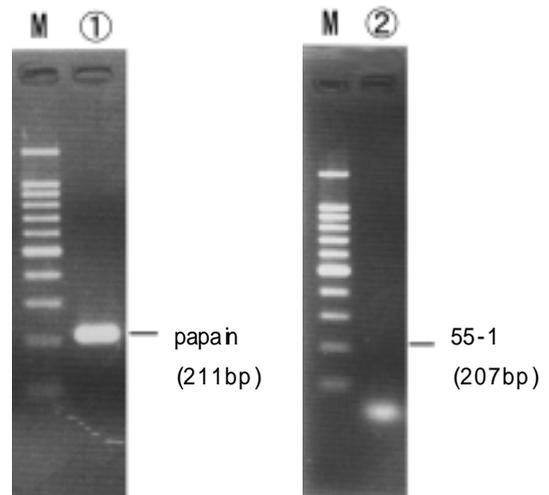


図2 PCR産物のアガロースゲル電気泳動パターン
M :100 bp Ladder DNA, ①:パパイン, ②:55-1

表3 パパイヤ組換え遺伝子検出結果

| 検体No. | 内在遺伝子 (パパイン) | 組換え遺伝子 (55-1) | 判定 |
|-------|-----------------|------------------|-----|
| | + | - | 非検出 |

文 献

- 1) 厚生労働省記者発表：2001年12月17日
- 2) 厚生労働省記者発表：2000年10月～2001年3月

- 3) 厚生労働省記者発表：2001年5月24日
- 4) 高橋邦彦，竹上晴美，菊池好則：遺伝子組換え食品の実態調査について，(社)日本食品衛生学会第83回学術講演会講演要旨集，2002
- 5) 埼玉県政ニュースリリース：平成13年度遺伝子組換え食品の実態調査検査結果について，2002
- 6) Dennis.Gonsalves *et al.*：Transgenic Virus Resistant Papaya：New Hope for Controlling Papaya Ring Spot Virus in Hawaii，Plant Health Reviews-21 June 2000
- 7) 六鹿元雄，太田久恵，豊田正武，合田幸広：遺伝子組換え及び非組換えパパイヤ中のカロテノイド成分の比較，食衛誌，42，367-373，2001
- 8) 厚生労働省通知食発第0430001号：組換えDNA応用食品の検査方法について（一部改正），2002
- 9) JAS 分析試験ハンドブック，遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル：農林水産消費技術センター，2001