

トウモロコシ加工品におけるCBH351の検査について

宮崎 悦子¹・真子 俊博¹・藤本 喬¹

Detection of Recombinant DNA of CBH351 from Processed Food Containing Maize

Etsuko MIYAZAKI, Toshihiro MAKO and Takashi FUJIMOTO

要 旨

市販のトウモロコシ加工品における安全性未審査の遺伝子組換えトウモロコシ CBH351 (商品名: スターリンク) の混入の有無を調べた。スイートコーン缶詰以外のトウモロコシ加工品からの DNA 抽出は、大豆やパパイアの場合ではキットより優れていた CTAB 法では不可能だった。そこでイオン交換膜タイプのキットを使用したところ、得られた DNA の純度や収量はともに PCR に適したものであった。PCR の結果、いずれの検体からも CBH351 は検出されなかった。

Key Words: 遺伝子組換えトウモロコシ genetically modified maize, スターリンク StarLink
グルホシネート glufosinate, ポリメラーゼ連鎖反応 PCR

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 15 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 4, トウモロコシ 12, ばれいしょ 8, なたね 14, わた 8, てんさい 3 種の計 49 種である¹⁾。審査継続中であったトウモロコシ CBH351 は平成 14 年に安全性審査の諮問が取り下げられた²⁾。

トウモロコシの大規模栽培においては害虫 (European corn borer) と雑草の駆除に莫大なコストがかかるので、それらの軽減のために遺伝子組換えトウモロコシが開発された。CBH351 は土壌細菌 *Bacillus thuringensis* 由来の殺虫性のタンパク質 Cry9C の発現による害虫抵抗性と、*Streptomyces hygroscopicus* 由来タンパク質 PAT (phosphinothrin *N*-acetyltransferase) の発現による除草剤グリホシネートに耐性の 2 つの特性を有している。また Cry9C は熱に安定で、難消化性であることから、アレルギー性が示唆されている³⁾。

輸出及び輸入の際に検査が実施されているものの、安全性未審査の遺伝子組換え作物が食品に混入するおそれ

があるため、今回厚生労働省通知に基づき、福岡市内で入手したトウモロコシ加工品について CBH351 の混入の有無について検査したので結果を報告する。

実 験 方 法

1. 検体

平成 14 年度に福岡市内で入手したトウモロコシ加工品 7 検体について検査を実施した (表 1)。

表 1 検体

検体No.	品名	原産国
	スイートコーン缶詰	カナダ
	ポップコーン	アメリカ
	ポップコーン	日本
	ポップコーン	アメリカ
	スナック菓子	日本
	スナック菓子	オーストラリア
	スナック菓子	タイ

2. 検査方法

各検体につき 2 回の繰り返し試験を行った。

1) DNA 抽出

CTAB 法による DNA 抽出を試みたが缶詰以外の加工

1.福岡市保健環境研究所 衛生化学部門 (現 保健科学部門)

品では DNA が回収できなかつたので、通知法によるイオン交換樹脂タイプキット（QIAGEN 製 Genomic-tip20/G、以下 G-tip と略）を用いた。

2) DNA の吸光度を測定

DNA 試料原液 10 μ L を滅菌超純水を用いて 20 倍希釈後 260, 280nm の各吸光度を測定した。280nm の吸光度に対する 260nm の吸光度 (A260/A280) で DNA の純度を確認し、260nm の吸光度から DNA 濃度を求めた (1A260=50ng/ μ L)。その結果 A260/A280 が 1.7 ~ 2.0 の範囲に入らない検体もあったが、それぞれ 10ng/ μ L となるように DNA 溶液を希釈し、PCR の鋳型として用いた (表 2)。

表2 抽出DNAの吸光度

No.	A260	A280	A260/A280	DNA濃度(ng/ μ L)
	0.244	0.132	1.8	244
	0.073	0.052	1.4	73
	0.214	0.108	2.0	214
	0.369	0.210	1.8	369
	0.221	0.141	1.6	221
	0.252	0.146	1.7	252
	0.106	0.081	1.3	106

3) PCR 反応

PCR に用いたプライマーを表 3 に示した。各反応液は PCR 緩衝液 (Applied Biosystems 製 PCR Buffer II), 0.20mM dNTP, 3mM MgCl₂, 0.2mM 5'および 3'プライマー, 0.625units Taq ポリメラーゼ (Applied Biosystems 製 AmpliTaq Gold DNA polymerase) そして鋳型 DNA 25ng を加え全量を 25 μ L とした。

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 TAE バッファーで 100V 定電圧でアガロースゲル電気泳動を行った。

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、本来トウモロコシに含まれる内在性遺伝子 (Zein) と組換え遺伝子 (CBH351) の 2 つの検知の結果によって判定した。

表3 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 Zein	Zein n-5' Zein n-3'	157 bp
組換え遺伝子 CBH351	CaM03--5' CBH02-3'	170 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トウモロコシ加工品 7 検体について、DNA 抽出法の検討と安全性未審査の CBH351 が混入していないかを検査した。

CTAB 法は大豆穀粒や豆腐、パパイアなどではキットより優れた抽出法であったが、缶詰以外のトウモロコシ加工品には適さなかつた。その理由としてスナック菓子などの加工食品は加工段階で DNA の断片が小さくなってしまふからではないかと考えられた。ある程度大きな断片が残っている状態でない CTAB 法では DNA が回収できないと思われた。それに対し、G-tip では抽出した DNA は PCR の鋳型として用いるには十分な純度と収量であり、操作の簡便性と省力化の点でも CTAB 法より優れていた。

PCR の結果、すべての検体から内在遺伝子の Zein を検出した。(図 1) また、すべての検体から組換え遺伝子 (CBH351) は検出されなかつた。(図 1)

これらの結果から、すべての検体には CBH351 は混入していないと判定された (表 4)

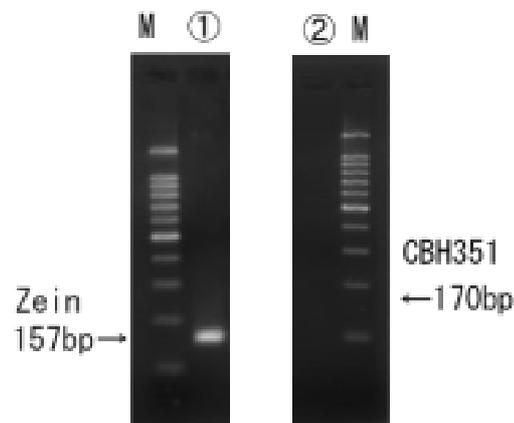


図1 PCR産物のアガロースゲル電気泳動パターン

M: 100 bp Ladder DNA, ①: Zein, ②: CBH351

表4 トウモロコシからの組換え遺伝子 (CBH351) 検出結果

検体No.	内在遺伝子 (Zein)	組換え遺伝子 (CBH351)	判定
	+	-	不検出

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、今後もパパイアやジャガイモも含め同様の検査を実施していく必要があると考えている。

文 献

- 1) 厚生労働省通知薬食審第 0516001 号：組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査に関する部会報告について，2003
- 2) 厚生労働省医薬局食品保健部，審査中の遺伝子組換え食品及び添加物一覧，2003
- 3) agbios GM data base，<http://www.agbios.com/>
- 4) 厚生労働省通知食発第 0506002 号：組換え DNA 応用食品の検査方法について（一部改正），2003
- 5) 農林水産消費技術センター：JAS 分析試験ハンドブック遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル改訂第 2 版，2002
- 6) 第 2 回組換え DNA 技術応用食品の検査に関わる実地技術研修会実験マニュアル，2002
- 7) 松岡 猛他：遺伝子組換えトウモロコシ CBH351 系統からの組換え遺伝子の検知法，食衛誌，42，197-201，2001