

PCR キットを用いたコシヒカリ 100 %表示米の品種鑑別

宮崎 悦子・真子 俊博

福岡市保健環境研究所保健科学部門

Identification of Rice labeling 100% Koshihikari with PCR kit

Etsuko MIYAZAKI and Toshihiro MAKU

Health Science Division, Fukuoka City Institute for Hygiene and the Environment

要約

市販のコシヒカリ品種鑑別用 PCR キットを用いて、コシヒカリ 100 %表示の米を対象として鑑別を行った。キットに記載された DNA 抽出法である CTAB 法は手順が煩雑で熟練を要し、収量が少ないなど問題点が多かったため、シリカゲル膜タイプキット法を用いた。鑑別した 13 検体中 3 検体からコシヒカリ以外の品種が検出され、表示が適正でないことがわかった。またコシヒカリに他品種が混入した場合の検出限界は 2%程度であった。

Key Word : 米 rice, コシヒカリ Koshihikari, ポリメラーゼ連鎖反応 PCR

はじめに

米は我が国の主食であり、主要な農産物である。中でもコシヒカリは人気の高い銘柄米で、産地によっては価格が非常に高いため表示偽装が問題となっている。今回市販の PCR キットを用いてコシヒカリの品種鑑別を行った。

実験方法

1. 検体

平成 16 年度に市販のコシヒカリ 100 %表示の玄米と夢つくしの玄米。

2. 使用機器

バイオラッド iCycler

3. 試薬

DNeasy Plant Mini Kit, QIAGEN 社製 (以下シリカゲル膜タイプキット), コメ判別用 PCRKit (以下キット), コメ判別用 PCRKit コシヒカリネガキット (以下キット) とともにタカラバイオ社製。その他の試薬等は特級品を使用した。

4. 検査方法

粉碎試料 2g に AP1buffer10mL, RNaseA20μL を加え激しく混合し 65℃ で 15 分間加温後, AP2buffer3.25mL を加え氷上に 10 分間静置後遠心し, 上清を QIAshredder spin column に通し, ろ液を mini spin column に負荷し, 洗浄後, DNA を溶出させた。得られた DNA 溶液の 260nm の吸光度から収量を算出し, 20ng/μL となるように調製したものを PCR の鋳型とした。キット 及び II はそれぞれ 4 種のプライマー対を含むマルチプレックス PCR であり, コシヒカリは, キット I では 0.65, 0.77, 0.87kb の 3 本のバンドのみが検出され, またキット I においては 0.8, 1.2, 1.6, 1.8kb のいずれのバンドも検出されないことから, キット I 及び II の結果を合わせて鑑別を行った。

結果及び考察

1. DNAの抽出

キット 及び II に記載された DNA 抽出法の CTAB 法は, 調製すべき試薬が多く, 手順が煩雑で熟練を要するなどの問題点があったため, 操作が簡便で十分な純度と収量の DNA が得られる組換え DNA 技術応用食品の検

表1 コシヒカリ100表示米の鑑別結果

No.	種類	キットI				キットII				鑑別結果
		0.65kb	0.77kb	0.87kb	1.6kb	0.8kb	1.2kb	1.6kb	1.8kb	
1	玄米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
2	玄米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
3	玄米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
4	玄米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
5	玄米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
6	精米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
7	精米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
8	精米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
9	精米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
10	精米	+	+	+	-	-	-	-	-	○
11	精米	+	+	+	+	-	+	+	+	×
12	精米	+	+	+	+	-	+	+	+	×
13	精米	+	+	+	+	+	-	+	+	×

○；コシヒカリ以外の混入なし，×；コシヒカリ以外の混入有り

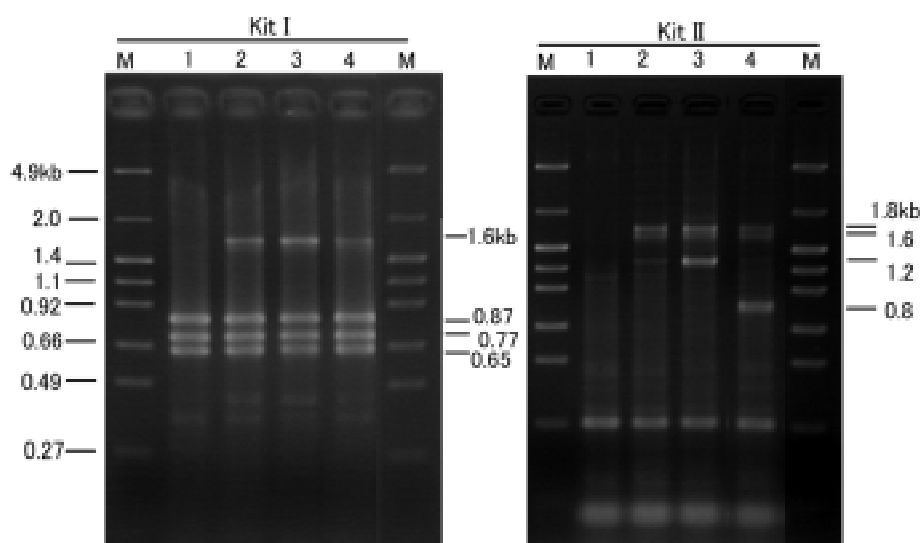


図1 No.11～13のアガロースゲル電気泳動パターン

M: pHYマーカー, 1: No.1, 2: No.11, 3: No.12, 4: No.13

査法に準拠しシリカゲル膜タイプキット法¹⁾によりDNAを抽出した。

2. 市販米の鑑別結果

市販のコシヒカリ100%表示の玄米5検体及び精米8検体について鑑別した結果を表1に示す。キットIでは玄米5検体(No.1～5)と精米5検体(No.6～10)の計10検体からはコシヒカリに特有のパターンである3本のバンドが検出された。しかし残りの精米3検体(No.11～

13)からはコシヒカリ以外のパターンである4本のバンドが検出された。キットIIでは10検体(No.1～10)からはコシヒカリ以外のバンド(0.8～1.8kb)は検出されなかったが、残りの3検体(No.11～13)から検出された。

これらの結果より、No.1～10はコシヒカリであると鑑別されたが、No.11～13はコシヒカリ以外の品種が混入している可能性が示された。これら3検体にはコシヒ

表1 コシヒカリに夢つくしを混入させた場合の鑑別結果

No.	夢つくし (%)	コシヒカリ (%)	キットⅠ				キットⅡ				鑑別結果
			0.65kb	0.77kb	0.87kb	1.6kb	0.8kb	1.2kb	1.6kb	1.8kb	
1	0	100	+	+	+	-	-	-	-	-	○
2	1	99	+	+	+	-	-	-	-	-	○
3	2	98	+	+	+	+	-	-	-	+	×
4	5	95	+	+	+	+	-	-	-	+	×
5	10	90	+	+	+	+	-	-	-	+	×
6	50	50	+	+	+	+	-	-	-	+	×
7	100	0	+	+	+	+	-	-	-	+	×

○；コシヒカリ以外の混入なし，×；コシヒカリ以外の混入有り

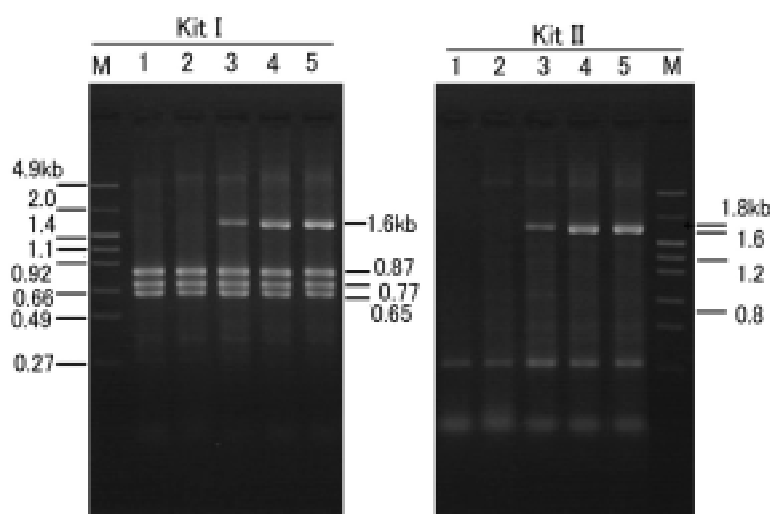


図2 混入サンプルのアガロースゲル電気泳動パターン

M: pHYマーカー, 1: コシヒカリ100%, 2: 夢つくし1%混入コシヒカリ, 3: 夢つくし10%混入コシヒカリ, 4: 夢つくし50%混入コシヒカリ, 5: 夢つくし100%

カリ 100 % 表示がなされていたので，表示が適正でないと思われた．図 1 にはコシヒカリと No1, 11 ~ 13 の電気泳動パターンを示す．

3. 混入サンプルによる検出限界

他品種がどのくらいの割合で混入した場合に鑑別可能であるかを調べるために 2 の実験結果でコシヒカリ 100 % と鑑別された試料 (No.1) に，重量比 1, 2, 5, 10, 50 % 夢つくしが混入した試料を作成し，同様に試験を行った．

表 2 に示すとおり，1%混入したサンプルでは，キット 及び においてコシヒカリ特有のパターンが検出された．2, 5, 10, 50 及び 100%の混入サンプルではキット 及び においてコシヒカリ以外のバンドが検出され，混入率の増大に比例してコシヒカリ以外のバンドの蛍光強度が増した．これらの結果より，コシヒカリに他品種が混入した場合の検出限界は 2 % 程度であり，表示

の妥当性を判断するには十分であると考えられた．図 2 に電気泳動パターンの例を示す．

今回鑑別を行った 13 検体中 3 検体からコシヒカリ以外のバンドが検出されており，市販米では比較的高い確率でコシヒカリに他品種が混入している可能性が考えられるため，これからも実態調査を続けていきたい．

今回の PCR キットではコシヒカリ以外の品種鑑別はできないが，他の銘柄米でも表示偽装は問題になっており，各品種に対応した鑑別用プライマー対の早急な開発が望まれる．

文 献

- 1) 厚生労働省通知食安発第 0517001 号：組換え DNA 技術応用食品の検査方法について（一部改正），2005