

米加工品における遺伝子組換えコメの混入実態調査

福崎睦美・林原亜樹

福岡市保健環境研究所保健科学部門

Survey of Genetically Modified Rice in Processed-rice Food

Mutsumi FUKUZAKI and Aki HAYASHIBARA

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

要旨

福岡市内に流通しているアジア諸国の米加工品 23 検体について、安全性が未審査である遺伝子組換えコメ混入の実態調査を実施した。その結果、安全性未審査の遺伝子組換えコメ（Bt コメ）は、いずれの検体からも検知されなかった。

Key Words : 米加工品 Processed-rice food, 遺伝子組換えコメ Genetically modified rice
安全性未審査 Unsecured, DNA, PCR

はじめに

平成 13 年 4 月より、組換え DNA 技術応用食品（遺伝子組換え食品）の安全性審査が義務づけられるとともに^{1),2)}、表示についても法的に義務化された^{3),4)}。これにより、平成 18 年 8 月現在、日本では遺伝子組換え 7 作物 76 品種の安全性審査が既に終了し、食品として商品化が可能となっている。

これに関連し、厚生労働省は「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」⁵⁾によって遺伝子組換え食品の検査方法を定め、安全性審査の進捗状況および検知技術の改良にあわせて順次改訂している。平成 18 年 8 月現在、安全性審査の終了していない遺伝子組換え食品として 3 品目（トウモロコシ：CBH351, Bt10, パパイア：55-1）、審査の終了した食品として 6 品目（トウモロコシ 5 系統：Mon810, GA21, Bt11, T25, Event176, 大豆 1 系統：ラウンドアップレディ大豆）を対象とした検査方法が規定されている。

本市では、平成 14 年から遺伝子組換え食品の検査を実施している。

平成 18 年 9 月、環境保護団体（グリーンピース等）が EU において中国産米加工品（ビーフン、はるさめ）から遺伝子組換えコメの混入を確認したと公表した。

（<http://www.greenpeace.org/international/news/>

contaminated-chinese-rice090506）この事例を機に、輸入時の遺伝子組換えコメの検査が強化されている。

平成 19 年 1 月、日本においても輸入時検査で、中国から輸入される米を主原料とする加工品について、ビーフン 5 件、もち米の粉 1 件から、安全性未審査の遺伝子組換えコメの混入が確認され、廃棄及び積み戻しの措置がとられた。

これに関連し、厚生労働省は「安全性未審査の中国産米加工品の検知法について」（以下、通知法とする）⁶⁾によって、遺伝子組換えコメの検査方法を定め、検知技術の改良にあわせて順次改正している。

今回、福岡市内で入手した中国をはじめとするアジア諸国の米加工品について、安全性未審査の組換え遺伝子（Bt コメ）の検査を実施したので、その結果について報告する。

実験方法

1. 試料

平成 15 ~ 17 年に福岡市内の百貨店、量販店などで入手した米加工品の 23 検体を用いた。

米加工品として、ビーフン 12 検体、ライスペーパー 7 検体、フォー、米サラダ麺、おこげ、米スナック菓子については各 1 検体を試料とした。詳細を表 1 に示す。

表 1 試料

No.	種 類	検体数
1 ~ 12	ビーフン	12
13 ~ 19	ライスペーパー	7
20	フォー	1
21	米サラダ麺	1
22	おこげ	1
23	米スナック菓子	1
計		23

2.使用機器

インキュベーター：IWAKI 社製 ALB-221，(株)アステック製 BI-525，マイクロ冷却遠心機：(株)久保田製作所製 KUBOTA3700，分光光度計：日本分光(株)製 V-530，PCR 増幅装置：バイオラッド社製 iCycler，電気泳動装置：コスモバイオ社製 Mupid-21，画像解析装置：UVP 社製 BioDoc-It System

3.試薬

DNA 抽出キットは、ニッポンジーン社製 GM quicker2，緩衝液はキットに付属のもの、Protenase-K，RNase は(株)キアゲン製，イソプロピルアルコール，エタノールは和光純薬工業(株)製を使用した。

陽性対照用プライマー対，Cry1Ac 検出用プライマー対，Bt コメ検出用プライマー対及び Bt コメ確認用プライマー対，陽性対照コントロールプラスミドは、ニッポンジーン社製の遺伝子組換え食品検査用試薬を使用した。プライマーの詳細については、表 2 に示す。

PCR 緩衝液，dNTP，MgCl₂，Taq DNA ポリメラーゼは，アプライドバイオシステムズ社製を使用した。100bp DNA Ladder，Loading Buffer は宝酒造(株)製，エチジウムブロミド，アガロース，TE 緩衝液，TAE 緩衝液は(株)ニッポンジーン製を使用した。

水は、すべて超純水をオートクレーブ処理したものを使用した。

表2 各プライマー

用途	プライマー対	増幅断片
陽性対照用	SPSF & SPSR	81 bp
Cry1Ac検出用	AC-3F & AC-3R	90 bp
Btコメ検出用	OsCry1Ac-F & OsNOS-R2	147 bp
Btコメ確認用	actACS3F & actACS3R	120 bp

4.検査方法

1) DNA 溶液の調製

通知法に従って、シリカゲル膜タイプの DNA 抽出キット法（NIPPON GENE GM quicker2 変法）を用い、DNA を抽出精製した。次に DNA 試料原液中の DNA の純度を確認し、TE 緩衝液を用い適宜希釈し、20ng/mL DNA 試料液を調製した。抽出した DNA の濃度が 20ng/mL 以下の場合には抽出液をそのまま DNA 試料液とした。

なお、DNA が全く抽出できなかった試料については、イオン交換樹脂タイプキット法（QIAGEN Genomic-tip），シリカゲル膜タイプキット法（QIAGEN DNeasy Plant Mini Kit）及び C T A B 法にて抽出精製を試みた。

2) P C R の条件と組換え遺伝子の検知

(1)スクリーニング（Cry1Ac の検知）

通知法に従って PCR 増幅を行った。PCR 反応液は PCR 緩衝液，0.16mmol/L dNTP，1.5mmol/L 塩化マグネシウム，0.6μmol/L5'及び 3'プライマー並びに 0.8units Taq DNA ポリメラーゼを含む液に，10ng/mL DNA 試料液 5.0μL を加え，全量を 25μL とした。

Cry1Ac 検出用プライマー対を用いた PCR 反応条件は，95 で 10 分間保持後，95 30 秒，60 30 秒，72 30 秒を 1 サイクルとして 45 サイクルの PCR 増幅を行い，終了反応として 72 で 7 分間保持後，4 で保存し得られた反応液を PCR 増幅反応液とした。

PCR のブランク反応液として，プライマー対を加えないもの及び DNA 試料液を加えないものについても同時に調製した。また，試料から DNA が抽出されていることの確認として，DNA 試料液ごとに陽性対照用プライマー対を用い，同様に PCR 増幅を行った。

なお，陽性対照用プライマー対を用いた場合の PCR 反応条件は，94 で 10 分間保持後，94 30 秒，56 30 秒，72 30 秒を 1 サイクルとして 45 サイクルの PCR 増幅を行い，終了反応として 72 で 7 分間保持後，4 で保存し得られた反応液を PCR 増幅反応液とした。

PCR 反応液 8μL をローディング緩衝液 2μL と混合し，3.0%アガロースゲルのウェルに注入後，TAE 緩衝液中で電気泳動（100V 定電圧）を行った。泳動後エチジウムブロミドでゲルを染色した。

次いで，ゲルに紫外線を照射し，ゲルイメージ解析装置により，コメに本来含まれる内在性遺伝子（SPS）の検出バンドと組換え遺伝子（Cry1Ac）の検出バンドによって結果を判定した。

(2) B t コメの検知

スクリーニング検査で陽性の試料については，同一の DNA 抽出液を，Bt コメ検出用プライマー対及び Bt コ

メ確認用プライマー対を用い、PCR 反応液を調製し PCR 増幅を行った。

Bt コメ検出用プライマー対を用いた PCR 反応条件は、Cry1Ac 検出用プライマー対を用いた PCR 反応と同じ条件で PCR 増幅を行った。

Bt コメ確認用プライマー対を用いた場合の PCR 反応条件は、94 で 10 分間保持後、94 30 秒、56 30 秒、72 10 秒を 1 サイクルとして 45 サイクルの PCR 増幅を行い、終了反応として 72 で 7 分間保持後、4 で保存し得られた反応液を PCR 増幅反応液とした。

得られた各 PCR 増幅反応液について、スクリーニング検査と同様に、電気泳動、ゲルイメージ解析を行い結果を判定した。

結 果 及 び 考 察

1. DNA の抽出

試料とした 23 検体のうち、ピーフン 4 検体、ライスパーパー 1 検体、フォー 1 検体については、通知法で示された NIPPON GENE GM quicker2 変法による DNA が抽出できなかった。

それらの検体については、「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」で示されているイオン交換樹脂タイプキット法等で抽出精製を試みた。DNA の抽出が困難であった検体は、いずれも原材料として米粉以外にコーンスターチ、タピオカでんぷん等を多く含む試料であった。

2. スクリーニング (Cry1Ac の検知)

試料とした 23 検体のうち、ライスパーパー 1 検体、フォー 1 検体からは、陽性対照用プライマー対で PCR 増幅バンドが検出されず検査を行うことができなかった。

陽性対照用プライマー対で PCR 増幅バンドが検出された試料 21 検体のうち、ピーフン 3 検体、ライスパーパー 1 検体から、Cry1Ac 検出用プライマー対で予定長付近の PCR 増幅バンドが検出された。

電気泳動ゲルイメージは、その代表例について示す。図 1 は、試料 No.1 ~ 12 の Cry1Ac 検出用プライマーを使用した PCR 増幅結果を示した。

なお、すべての検体から 100bp 未満の部分にエキストラバンドが検出された。PCR のブランク反応液として調製したプライマー対を加えないものには、このエキストラバンドが検出されなかったため、プライマー由来のバンドと考えられた。

図 1 電気泳動ゲルイメージ (Cry1Ac, 試料No1-12)



1 ~ 12 : 試料No1 ~ 12

M : 100bp Ladder Marker

P : Bt コメ陽性コントロール

N : PCR ブランク (DNA 未添加)

Nn : PCR ブランク (プライマー未添加)

3. Bt コメの検知

スクリーニングで陽性と判定した 4 検体 (試料 No.3, 8, 9, 18) について、Bt コメ検出用プライマー対及び Bt コメ確認用プライマー対を用い PCR 増幅を行ったところ、すべて予定長付近に PCR 増幅バンドは検出されなかった。

電気泳動ゲルイメージについては、図 2 に、Bt コメ検出用プライマー対を使用した PCR 増幅結果を、図 3 に、Bt コメ確認用プライマー対を使用した PCR 増幅結果を示した。

図 2 電気泳動ゲルイメージ (Bt コメ検出用)



3 ~ 18 : 試料No3,8,9,18

M : 100bp Ladder Marker

P : Bt コメ陽性コントロール

N : PCR ブランク (DNA 未添加)

Nn : PCR ブランク (プライマー未添加)

図3 電気泳動ゲルイメージ (Btコメ確認用)



3 ~ 18 : 試料No3,8,9,18

M : 100bp Ladder Marker

P : Btコメ陽性コントロール

N : PCRブランク (DNA未添加)

Nn : PCRブランク (プライマー未添加)

表3. 組換え遺伝子 (Btコメ) の検知結果

No	種 類	生産国	組換え遺伝子 (Btコメ)
1	ビーフン	中国	(-)
2	ビーフン	中国	(-)
3	ビーフン	中国	(-)
4	ビーフン	中国	(-)
5	ビーフン	中国	(-)
6	ビーフン	台湾	(-)
7	ビーフン	タイ	(-)
8	ビーフン	タイ	(-)
9	ビーフン	タイ	(-)
10	ビーフン	タイ	(-)
11	ビーフン	タイ	(-)
12	ビーフン	タイ	(-)
13	ライスペーパー	タイ	(-)
14	ライスペーパー	タイ	(-)
15	ライスペーパー	ベトナム	(-)
16	ライスペーパー	ベトナム	(-)
17	ライスペーパー	ベトナム	(-)
18	ライスペーパー	ベトナム	(-)
19	ライスペーパー	ベトナム	検査不能
20	フォー	ベトナム	検査不能
21	米サラダ麺	タイ	(-)
22	おこげ	台湾	(-)
23	スナック菓子	タイ	(-)

(-) : 検出せず

これらの結果, いずれの検体にも組換え遺伝子 (Bt コメ) は混入していないものと判定した. 結果を表3に示す.

安全性未審査の組換え遺伝子の食品への混入は相次いで発見されており, 特に中国に関しては遺伝子組換え作物の栽培状況が明らかにされていないため, 今後もあらゆる食品について組換え遺伝子の混入実態の調査を実施する必要があると考える.

文 献

- 1) 厚生省告示第 232 号 : 食品, 添加物の規格基準の一部改正, 平成 12 年 5 月 1 日
- 2) 厚生省告示第 233 号 : 組換え DNA 技術応用食品及び添加物の安全性審査の手続きに関する告示, 平成 12 年 5 月 1 日
- 3) 厚生労働省通知食発第 79 号 : 食品衛生法施行規則及び乳及び乳製品の成分規格等に関する省令を一部改正する省令等の施行について, 平成 13 年 3 月 15 日
- 4) 農林水産省通知 12 食流第 599 号 : 加工食品品質表示基準等の設定について, 平成 12 年 4 月 4 日
- 5) 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), 平成 17 年 5 月 17 日
- 6) 厚生労働省通知食安監発第 0126006 号 : 安全性未審査の中国産米加工品の検知法について, 平成 19 年 1 月 26 日