

(様式第4号)

## 調査研究完了報告書

調査研究 課 題	ダイズ加工食品からの遺伝子組換え体(GMO)検知法の検討
研究期間	平成18年度～19年度 2年間
目的	現在、遺伝子組換え食品の検査はPCR法、ELISA法等により行われている。しかし、加工食品では検知対象であるDNA及びタンパク質の分解が生じると考えられ、検出感度、定量精度の低下が懸念される。そこで、遺伝子組換え作物の中で最も多く栽培されているダイズの加工食品についての試験法を検討して確実な検知を可能とし、食の安全・安心確保に寄与することを目的とする。
得られた 成果	<p>ダイズ加工食品からのDNA抽出法について、通知法にある2種のDNA抽出法を比較した結果、食品の物性によって適否があることが分かり、食品の物性によって抽出法を選択することで簡便に高収率のDNAが回収できた。抽出DNAを用いて定性PCRを行ったところ、納豆以外の品目について対照であるダイズ内在性遺伝子を検知することができた。通知法で検知できなかった納豆について電気泳動を利用したDNA抽出法を検討した。すなわち、等倍の滅菌水を加え粉碎、遠心分離した上清をそのまま電気泳動にかけ、DNA回収キットを用い、全DNAを回収しDNA抽出液を得た。このDNA抽出液を用い大豆内在性遺伝子検知およびGMO遺伝子検知PCRを行った結果、それぞれ予想される位置に薄いバンドが見られた。このPCR反応液を鋳型DNAとし、再度PCRを行った結果それぞれの予想される位置にバンドが見られた。このバンドをシーケンサーにかけ5'側および3'側からの塩基配列をATGCで比較し全塩基配列を決定した。DDBJ(DNA Data Bank of Japan)のデータベース検索ソフトである相同性検索FASTAにより相同性塩基配列を持つものを抽出し目的の遺伝子増幅によるバンドであることを確認した。これらの結果により納豆においても、電気泳動によるDNA抽出、PCRを2回行うことにより、大豆内在性遺伝子検知およびGMO遺伝子検知が可能であった。</p> <p>Roche LightCycler Systemによる定量PCRで測定された納豆DNA抽出液中の内在性遺伝子(Lectin)のコピー数は190～19,000とばらつきが見られた。検量線用標準プラスミドのコピー数が40～500,000であることから、遺伝子組換え大豆の定量限界を0.1%とすると内在性遺伝子のコピー数は40,000以上必要であり、コピー数が不足していた。しかし、豆腐抽出DNA中の内在性遺伝子のコピー数については、67,000～100,000であり、リアルタイムPCRによる定量が可能であった。</p>
成果の普 及・活 用 方 法	平成18年度の結果は年報に掲載した。 平成19年度の結果は本年度の年報に掲載予定である。 これらの結果を行政検査の遺伝子組換え食品検査に応用していきたい。
残された 課題・問 題	