【資料】

ダイズ及びダイズ加工食品を対象とした遺伝子組換え食品の実態調査 (平成29年度)

Monitoring Results of Genetically Modified Ingredients in Soybeans and their Products (FY2017)

北村雅美,赤木正章,肥塚加奈江,金子英史,難波順子(衛生化学科) Masami Kitamura, Masaaki Akaki, Kanae Koeduka, Hidefumi Kaneko, Junko Namba (Food and Drug Chemical Research Section)

[キーワード: Roundup Ready Soybean(RRS), Liberty Link Soybean(LLS), Roundup Ready 2 Yield(RRS2), 定性PCR, 定量PCR]
[Key words: Roundup Ready Soybean(RRS), Liberty Link Soybean(LLS), Roundup Ready 2 Yield(RRS2), Qualitative PCR, Quantitative PCR]

1 はじめに

遺伝子組換え作物の栽培は、世界的には増加の一途を たどっているが、日本国内では食品としての商業栽培は 行われておらず、国内で流通する遺伝子組換え作物は全 て輸入されたものである¹⁾。

日本においては、遺伝子組換え作物を流通させようとする場合には、生物多様性への影響や、食品や飼料としての安全性について、最新の科学的知見により評価を行い、安全性が確認されなければならない(安全性審査)。よって、遺伝子組換え食品の検査を行う意義としては、「安全性未審査の遺伝子組換え作物が国内流通することのないよう監視を行う」ことと、「遺伝子組換えではない作物が分別流通により、安全性審査済みの遺伝子組換え作物と混ざらないよう、適切に管理されているかを確認する」ことの2点が挙げられる。

岡山県では、遺伝子組換え食品の表示が義務化された 翌年の平成14年度から遺伝子組換え食品の検査を行って きたが、今回、平成28年度に消費者庁次長通知で一部改 正された新しい検査法²⁾を導入し、大豆穀粒の定量検査 及び大豆加工食品の定性検査を実施したので、その成果 を報告する。

2 実験方法

2.1 試料

岡山市及び倉敷市を除く県内のダイズ加工食品製造施設から試買された,ダイズ穀粒(22検体),豆腐(13検体),油揚げ(6検体)について試験検査を行った。

なお, ダイズ穀粒の原産国については, 保健所が試買 時に分別生産流通管理を証明する書類・表示等の写しや 画像等で確認した。

2.2 試薬等

QIAGEN製: Genomic-Tip 20/G, RNaseA (100mg/mL), Proteinase K, G2緩衝液, QBT緩衝液, QC緩衝液, QF緩衝液, DNeasy Plant Mini Kit, AP1緩衝液, P3緩衝液, AW1緩衝液, AW2緩衝液

滅菌水 (超純水を滅菌)

ナカライテスク製:エタノール (99.5%), イソプロピ ルアルコール (99.5%)

ニッポンジーン製:GMダイズ (RRS) プラスミドセット -ColE1/TE-

GMダイズ (LLS) プラスミドセット-ColE1/TE-

GMダイズ(RR2)プラスミドセット-ColE1/TE-

ダイズ内在性DNA Lelオリゴヌクレ オチドセット

GMダイズ (RRS) 系統別DNA RRS オリゴヌクレオチドセット

GMダイズ(LLS)系統別DNA LLS オリゴヌクレオチドセット

GMダイズ(RR2)系統別DNA RR2 オリゴヌクレオチドセット

Thermo Fisher Scientific製: TaqMan Universal PCR
Master Mix.

MicroAmp Optical 96-Well Reaction Plate, MicroAmp Optical Adhesive Film, MicroAmp Optical Film Compression Pad

Roche Diagnostics製:Eagle Taq Master Mix (Rox)

LightCycler480 Multiwell Plate

96

LightCycler480 Sealing Foil

2.3 測定

2.3.1 測定条件等

定性及び定量PCRともに,消費者庁次長通知²⁾(以下「通知法」という。)に従った。

2.3.1.1 ダイズ加工食品(定性)

使用機器 分光光度計:Thermo Fisher Scientific

NanoDrop 2000

リアルタイムPCR: ABI PRISM 7900HT

96well

DNA抽出法の変更点:試料量1.0g, G2 buffer 8mL,

Proteinase
K $100\,\mu\,\mathrm{L},~\mathrm{RNaseA}~10$

μL, 50℃で2時間保温

検査法の詳細:ダイズ内在性(Le1)遺伝子を検知するダイ

ズ陽性対照試験,並びにCauliflowermosaic virus 由来の35S promoter (P35S) 及び

RRS2を検知する遺伝子組換えダイズ検知

試験2試験を行う。

2.3.1.2 ダイズ穀粒 (定量)

使用機器 分光光度計: Thermo Fisher Scientific NanoDrop 2000

リアルタイムPCR: Roche LightCycler 96
DNA抽出法及びリアルタイムPCR測定条件の変更点:
なし

2.3.2 定性PCRにおける判定法及び定量PCRにおける混 入率算出法

2.3.2.1 ダイズ加工食品における定性PCRの判定法

通知法2.3.2.5. 「測定結果の解析と判定 (ABI PRISM 7900HT 96 well 及び 384 well)」に従った。

2.3.2.2 PCR標的DNA及び内在性(Le1)遺伝子のコピー数と組換え遺伝子混入率の算出

通知法 2.1.2.「定量PCR法」に規定されている標準プラスミドDNA溶液を標準物質として用い、ダイズの内在性遺伝子であるLe1遺伝子と各組換え遺伝子(RRS、LLS及びRRS2)のコピー数をそれぞれ算出した。次に、Le1遺伝子と各組換え遺伝子(RRS、LLS及びRRS2)の比率から、各組換え遺伝子の混入率をそれぞれ算出した。なお、各組換え遺伝子の混入率の定量下限値は0.5%とし、各組

換え遺伝子の合計の定量下限値を1.5%とした。

3 結果および考察

3.1 検体からのDNA収量及び吸光度比

ダイズ穀粒及びダイズ加工食品から得られたDNA収量及び吸光度比をそれぞれ表1及び2に示す。

一般的に、DNAの吸収極大波長は260nm、糖質やペプチド等は230nm、タンパク質は280nmであるが、ダイズ穀粒及びダイズ加工食品から抽出したDNA溶液については、その吸光度比(A260/A230及びA260/A280)から、糖やタンパクの混入は少ないと推測された。

3.2 ダイズ加工食品の定性PCR結果

ダイズ加工食品の定性PCR結果を表3に示す。

国産ダイズを原料とする豆腐の陽性率は豆腐0/5と低かったのに対し、外国産ダイズを原料とする豆腐の陽性率は豆腐7/8と高かった。なお、油揚げについては国産陽性率1/1、外国産陽性率4/5であった。

3.3 遺伝子組換えダイズ混入率 (定量PCR結果)

ダイズ穀粒の、検体別遺伝子組換えダイズ混入率算出結果を表4に示す。検体番号8~11, 15, 19, 21及び22(8検体)については、遺伝子組換えダイズの混入率の合計は5%未満であったが、RRS、LLS及びRRS2それぞれを見ると、定量下限値である「0.5%未満の混入」となるものがあった。この0.5%未満混入検体の内訳を組換え遺伝子系統別に見ると、RRSで6件、LLSで2件、RRS2で7件であり、この傾向は他自治体からの報告³⁾⁴⁾と同様であった。

3.4 定性PCR結果と定量PCR結果の相関について

ダイズ加工食品及びダイズ穀粒の検査結果対応表を表5に示す。ダイズ加工食品で、定性PCRの結果が陽性となった検体(12検体)のうち11検体の原料ダイズは、0.5%未満の遺伝子組換えダイズの混入があった。しかし、陽性判定となった油揚げ1検体の原料ダイズ(国産)は、RRS、LLS及びRRS2すべてが不検出であったことから、製造工程で遺伝子組換えダイズの混入があるかどうか確認する必要がある。

ダイズ穀粒において、LLSと比較してRRS2で「0.5%未満の混入」が多くみられた原因として、RRS2は、RRSの収量を増加させた改良品種⁵⁾で、RRSと同じ農薬(グリホサート)耐性であることから、RRSの栽培経験がある生産者の場合は、異なる農薬(グルホシネート)耐性のLLSよりもRRS2栽培に切り替えるケースが多いためと推察された。

表1 ダイズ穀粒におけるDNA収量及び吸光度比(Ratio)

No.	DNA収量	Ra	tio	No.	DNA収量	Ratio		
INO.	(μg)	A260/A230	A260/A280	INO.	(μg)	A260/A230	A260/A280	
1	7.7	1.77	1.89	12	9.1	2.4	1.89	
2	6.6	1.86	1.89	13	9.0	2.7	1.93	
3	8.3	2.07	1.91	14	9.8	2.6	1.95	
4	8.4	1.68	1.88	15	7.3	2.9	1.96	
5	6.7	2.03	1.98	16	6.1	2.6	1.90	
6	6.8	2.05	1.96	17	6.6	2.6	1.90	
7	6.7	2.05	2.01	18	5.9	2.8	1.90	
8	13.8	2.36	1.88	19	6.5	4.2	1.87	
9	15.2	2.43	1.91	20	7.0	4.1	1.90	
10	10.8	2.42	1.98	21	7.1	3.9	1.87	
11	8.3	2.37	1.90	22	8.1	3.6	1.90	

表2 ダイズ加工食品におけるDNA収量及び吸光度比(Ratio)

No.	品目	抽出	DNA収量	Ra	tio	No.	品目	抽出	DNA収量	Ratio	
INO.	四日		(μg)	A260/A230	A260/A280	140.		油山	(μg)	A260/A230	A260/A280
1	豆腐	1	15.8	2.29	1.91	11	豆腐	1	14.1	1.98	1.89
	立胸	2	10.9	2.37	1.96			2	5.8	2.62	2.01
2	函数	1	14.0	2.34	1.97	12	豆腐	1	7.6	1.51	1.78
	立溪	2	14.7	2.37	1.95			2	7.5	1.71	1.83
3	函数	1	13.1	2.40	1.89	13	豆腐	1	23.5	2.56	1.91
3	並屬	2	14.9	2.14	1.92			2	24.0	2.08	1.89
4	國	1	18.2	2.42	1.91	14	油揚げ	1	31.3	2.16	1.95
4	立胸	2	20.0	2.37	1.91	14		2	22.7	1.67	1.86
5	豆腐	1	13.9	2.40	1.94	15	油揚げ	1	42.1	2.39	1.94
3		2	12.5	1.87	1.85			2	42.3	2.37	1.94
6	豆腐	1	10.8	2.30	1.91	16	油揚げ	1	22.6	2.03	1.87
0		2	10.8	2.32	1.89			2	28.0	2.45	1.90
7	豆腐	1	23.6	2.42	1.92	17	油揚げ	1	24.3	2.15	1.84
/		2	23.2	2.38	1.92			2	28.0	1.69	1.78
8	豆腐	1	18.2	2.22	1.93	18	油揚げ	1	23.5	1.50	1.78
ō	显凑	2	21.8	2.38	1.90			2	21.3	1.06	1.67
9	豆腐	1	11.7	2.30	1.90	19	油揚げ	1	34.1	1.85	1.82
ษ		2	14.2	2.26	1.93		一一個の	2	34.8	1.82	1.90
10	百府	1	15.3	2.46	1.87						
10	豆腐	2 16.6 2.34	2.34	1.89							

表3 ダイズ加工食品の定性PCR結果

No.	品目	産地	定性検査結果	No.	品目	産地	定性検査結果
1	豆腐	国産	-	11	豆腐	アメリカ	+
2	豆腐	国産	_	12	豆腐	カナダ	-
3	豆腐	アメリカ	+	13	豆腐	カナダ	+
4	豆腐	アメリカ	+	14	油揚げ	カナダ	+
5	豆腐	アメリカ	+	15	油揚げ	国産	+
6	豆腐	アメリカ	+	16	油揚げ	カナダ	+
7	豆腐	アメリカ	+	17	油揚げ	アメリカ	+
8	豆腐	国産	_	18	油揚げ	カナダ	_
9	豆腐	国産	_	19	油揚げ	カナダ	+
10	豆腐	国産	_				

表4 検体別遺伝子組換えダイズ混入率結果 (ダイズ穀粒)

No.	原産国	6)	表示			
INO.	- 原生国	RRS	LLS	RRS2	合計	衣小
1	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
2	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
3	カナダ	不検出	不検出	不検出	<1.5	「NON-GMO」の記載あり
4	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
5	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
6	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
7	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
8	アメリカ	不検出	定量下限値 未満検出	定量下限値 未満検出	<1.5	表示なし
9	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
10	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
11	アメリカ	定量下限値 未満検出	定量下限値 未満検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
12	アメリカ	不検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
13	カナダ	不検出	不検出	不検出	<1.5	「NON-GMO」の記載あり
14	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
15	カナダ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	表示なし
16	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
17	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
18	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
19	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
20	カナダ	不検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
21	カナダ	不検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
22	カナダ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり

表5 ダイズ加工食品及び原料ダイズ穀粒の検査結果対応表

加工食品	加工食品	定性検査	原料ダイズ	原産国	糸	換え遺伝	± -		
No.	品目	結果	No.	表示	RRS	LLS	RRS2	合計	表示
1	豆腐	_	1	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
'	五溪		2	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
2	2 豆腐		4	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
2			5	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
3	豆腐	+	8	アメリカ	不検出	定量下限値 未満検出	定量下限値 未満検出	<1.5	表示なし
4	豆腐	+	9	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
4	立胸	Т	10	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
5	豆腐	+	9	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
J	立勝	Т	10	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
6	豆腐	+	11	アメリカ	定量下限値 未満検出	定量下限値 未満検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
	Ĩ		12	アメリカ	不検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
7	豆腐	+	11	アメリカ	定量下限値 未満検出	定量下限値 未満検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
,	立勝		12	アメリカ	不検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
8	豆腐	-	14	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
9	豆腐	-	16	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
10	豆腐	-	17	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
11	豆腐	+	19	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
12	豆腐	-	20	カナダ	不検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
13	豆腐	+	22	カナダ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
14	油揚げ	+	3	カナダ	不検出	不検出	不検出	<1.5	「NON-GMO」の記載あり
15	油揚げ	+	6	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
15	田物り こうしん		7	国産	不検出	不検出	不検出	<1.5	表示なし
16	油揚げ	+	15	カナダ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	表示なし
17	油揚げ	+	19	アメリカ	定量下限値 未満検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
18	油揚げ	-	20	カナダ	不検出	不検出	不検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり
19	油揚げ	+	22	カナダ	定量下限値 未満検出	不検出	定量下限値 未満検出	<1.5	IPハンドリング証明書あり

4 まとめ

平成29年度に岡山市及び倉敷市を除く県内のダイズ加工食品製造施設から試買された,ダイズ穀粒(22検体),豆腐(13検体),油揚げ(6検体)について試験検査を行った。ダイズ加工食品については,19検体中12検体が定性PCR結果で陽性判定となり,ダイズ穀粒についてはRRS,LLS及びRRS2の3項目について組換え遺伝子混入率を算出した結果,混入率はいずれも意図せざる混入率である5%未満であった。

世界的に遺伝子組換え作物の栽培量が増加していく中で、日本国内への輸入量も増加傾向が続いている。今後も適切な食品表示の監視のために、遺伝子組換え食品の検査を継続していくことが必要であると考える。

文 献

- 1) 国際アグリバイオ事業団 (ISAAA): Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops: 2016
- 2) 食品表示基準について (平成27年3月30日付け消食表 第139号消費者庁次長通知) 別添「安全性審査済みの 遺伝子組換え食品の検査方法」
- 3) 大森清美,清水碧ら:遺伝子組換え食品の分析結果(平成25年度),神奈川県衛生研究所研究報告,No.44,35-37,2014
- 4) 沖嶋直子,小林亜里沙ら:長野県松本地域で販売されたダイズ製品における組換えダイズ混入状況の網羅的調査結果,日本食品化学学会誌,vol.22(2),123-132,2015
- 5) 日本モンサントホームページ http://www.monsantoglobal.com/global/jp/ newsviews/pages/favorable-harvest -results.aspx