

【資 料】

## 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28年度)

Monitoring Results of Genetically Modified Organisms in Soyproducts  
(FY2016)

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 Koezuka, Hidefumi Kaneko, Junko Namba  
(Food and Drug Chemical Research Section)

[キーワード: 遺伝子組換え作物, Roundup Ready Soybean (RRS), Liberty Link Soybean (LLS), Roundup Ready 2 Yield (RRS2), 定量PCR]

[Key words: Genetically modified organisms, Roundup Ready Soybean (RRS), Liberty Link Soybean (LLS), Roundup Ready 2 Yield (RRS2), Quantitative PCR]

### 1 はじめに

全世界における遺伝子組換え作物の栽培面積は、平成8年の170万ヘクタールから平成28年の1億8510万ヘクタールまで、21年間の商業栽培を通じて実に約110倍にまで増加している<sup>1)</sup>。このように、世界的には遺伝子組換え作物の栽培が増加しているが、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。具体的には、平成28年にはダイズ及びトウモロコシ約2,000万トンを輸入しているが、そのうちの1,500万トン程度が遺伝子組換え品種と推定され<sup>1) 2)</sup>、もはや遺伝子組換え作物は日常生活の中で欠かせないものとなってきている。

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、「安全性審査済みの遺伝子組換え作物を食品原料として使用している場合に原材料表示が正しいかどうかを確認する(5%を超える含有率ならば、原料作物は『遺伝子組換えである』と表示する義務がある。)」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おり、平成24年度からはダイズ加工食品である豆腐や油揚げについて、「安全性審査済みの組換えDNA技術応用食品の検査方法」(平成24年11月16日付け消食表第201号

消費者庁次長通知)別添「安全性審査済みの組換えDNA技術応用食品の検査方法」2.1.2 定量PCR法に従い、食品衛生法に基づく収去検査(検査項目:安全性審査済の遺伝子組換え大豆であるRoundup Ready Soybean(以下RRS))を行ってきた。ダイズ加工食品については前出の通知では定量試験の対象外であるが、当県では通知法に準じて定量試験を行い、5%以上の混入が疑われる場合には原料のダイズ穀粒について定量試験を実施することとしている。このたび、岡山市内及び倉敷市内の小売店舗から試買したダイズ加工食品34検体から抽出したDNAの吸光度を測定して、その吸光度比によりリアルタイムPCRに供する検体としての適否を推定した。ついで前出の通知で検査法が示された遺伝子組換えダイズであるLiberty Link Soybean(以下LLS)及びRoundup Ready 2 Yield(以下RRS2)の2種類と従来から検査を行っていたRRSを加えた3項目について、リアルタイムPCRを行い、遺伝子組換えダイズの混入率の算出を行ったので、その結果を報告する。

### 2 実験方法

#### 2.1 試料

岡山市内及び倉敷市内の小売店舗から、豆腐(11検体)、油揚げ(11検体)、きなこ(5検体)、おから(3検体)、豆乳(2検体)及びゆば(2検体)を試買し、分析試料に供した。

#### 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

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-ColEI/TE-  
 GMダイズ（LLS）プラスミドセット-ColEI/TE-  
 GMダイズ（RR2）プラスミドセット-ColEI/TE-  
 ダイズ内在性DNA LeI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

## 2.3 測定

### 2.3.1 測定条件等

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抽出法及びリアルタイムPCR測定条件

平成24年11月16日付け消食表第201号消費者庁次長通知準拠及び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3版（2012）一部参照

変更点：試料量1.0g, G2 buffer 8mL, ProteinaseK 100  $\mu$ L, RNaseA 10  $\mu$ L, 50°Cで2時間保温

### 2.3.2 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

「安全性審査済みの組換えDNA技術応用食品の検査方

法」(平成24年11月16日付け消食表第201号消費者庁次長通知)別添「安全性審査済みの組換えDNA技術応用食品の検査方法」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、コピー数を算出した。具体的には、TaqMan Chemistryを応用した定量PCR法を行う。同法では、プライマー対及び蛍光オリゴヌクレオチドプローブを使用する。遺伝子組換え食品の定量は、非組換え体、組換え体を問わず普遍的に存在する遺伝子（内在性遺伝子）を内標として用い、内在性遺伝子のコピー数に対する組換え遺伝子を求めることで行う。ダイズの内在性遺伝子はLeI遺伝子であり、このコピー数を元にした組換え遺伝子のコピー数との比率で、混入率を算出する。（なお、混入率の定量下限値0.1%を担保するためには、LeI遺伝子のコピー数は20,000コピー数得られなければならない。）

なお、「不検出」とは、組換え遺伝子を標的としたリアルタイムPCRにおいて、組換え遺伝子が増幅されなかった（組換え遺伝子のコピー数が0）場合を表し、「0.1%未満の混入率」とは、43未満のCt値で組換え遺伝子の増幅が確認されたが、組換え遺伝子混入率の計算結果が0.1%未満のものを表す。

## 3 結果および考察

### 3.1 検体からのDNA収量及び吸光度比

試買検体から得られたDNA収量及び吸光度比を表1に示す。検体番号29のおからはDNA収量が極端に少なかった。このおからは豆腐工場のできるおからを乾燥させ、パウダー状にした製品であったので、高温磨砕処理によりDNAの断片化が進んだ<sup>3)</sup>ためDNA収量が少なくなったと推察された。また、検体番号31～34のきなこは、A260/A230<1であったため、糖の混入が多く、このことがPCR反応を阻害した<sup>4)</sup>可能性があると考えられた。（なお、A260/A230<1で糖の混入が疑われた場合は再抽出することとしており、再抽出を行ったが同様の結果になっ

表1 DNA収量及び吸光度比 (Ratio)

No.	品目	DNA収量 ( $\mu$ g)	Ratio		No.	品目	DNA収量 ( $\mu$ g)	Ratio		No.	品目	DNA収量 ( $\mu$ g)	Ratio	
			A260/A230	A260/A280				A260/A230	A260/A280				A260/A230	A260/A280
1	豆腐	11.6	2.36	1.98	13	油揚げ	46.7	2.02	1.89	25	ゆば	13.0	2.21	1.95
2	豆腐	13.1	2.02	1.91	14	油揚げ	29.0	1.85	1.88	26	ゆば	36.9	2.19	1.95
3	豆腐	17.3	2.38	1.97	15	油揚げ	30.4	1.99	1.91	27	おから	6.0	2.20	2.06
4	豆腐	17.8	2.19	1.94	16	油揚げ	31.5	1.91	1.92	28	おから	1.5	2.41	1.84
5	豆腐	12.6	2.37	1.96	17	油揚げ	4.0	2.05	1.92	29	おから	0.9	2.18	1.93
6	豆腐	3.2	2.53	2.04	18	油揚げ	41.8	2.39	1.97	30	きなこ	106.2	1.70	1.88
7	豆腐	13.0	2.30	1.99	19	油揚げ	21.2	2.31	1.97	31	きなこ	30.1	0.51	1.38
8	豆腐	15.9	2.25	1.90	20	油揚げ	26.6	2.89	1.95	32	きなこ	10.8	0.73	1.60
9	豆腐	16.4	3.53	1.96	21	油揚げ	15.2	2.98	1.95	33	きなこ	49.9	0.63	1.50
10	豆腐	25.5	2.26	1.97	22	油揚げ	71.0	2.34	1.97	34	きなこ	20.1	0.32	1.10
11	豆腐	19.8	2.27	1.96	23	豆乳	26.2	2.38	1.98					
12	油揚げ	40.6	2.03	1.91	24	豆乳	29.8	2.32	1.95					

注：A260/A230<1の場合、糖の混入が多く、A260/A280<1.1の場合、タンパクの混入が多い。

表2 ダイズ内在性遺伝子 (Le1) コピー数

No.	品目	Le1コピー数	No.	品目	Le1コピー数	No.	品目	Le1コピー数
1	豆腐	48,000±14,000	13	油揚げ	37,000±12,000	23	豆乳	37,000±4,900
2	豆腐	40,000±12,000	14	油揚げ	40,000±15,000	24	豆乳	32,000±3,700
3	豆腐	34,000±8,000	15	油揚げ	33,000±4,200	25	ゆば	40,000±5,800
4	豆腐	40,000±3,700	16	油揚げ	55,000±14,000	26	ゆば	30,000±3,600
5	豆腐	41,000±7,800	17	油揚げ	42,000±12,000	27	おから	28,000±5,300
6	豆腐	55,000±7,000	18	油揚げ	43,000±10,000	28	おから	31,000±1,400
7	豆腐	36,000±3,500	19	油揚げ	36,000±4,300	29	おから	5,000±3,100
8	豆腐	39,000±2,700	20	油揚げ	46,000±13,000	30	きなこ	10,000±3,800
9	豆腐	43,000±6,000	19	油揚げ	36,000±4,300	31	きなこ	3,100±700
10	豆腐	36,000±2,000	20	油揚げ	46,000±13,000	32	きなこ	2,500±200
11	豆腐	42,000±3,500	21	油揚げ	52,000±2,500	33	きなこ	2,300±400
12	油揚げ	41,000±13,000	22	油揚げ	39,000±3,900	34	きなこ	2,000±300

表3 検体別遺伝子組換えダイズ混入率結果

No.	品目	組換え遺伝子混入率(%)			原産国	表示
		RRS	LLS	RRS2		
1	豆腐	<0.1	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
2	豆腐	<0.1	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
3	豆腐	<0.1	<0.1	<0.1	アメリカ	遺伝子組換えでない
4	豆腐	<0.1	<0.1	<0.1	アメリカ・日本	遺伝子組換えでない
5	豆腐	<0.1	不検出	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
6	豆腐	不検出	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
7	豆腐	<0.1	不検出	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
8	豆腐	<0.1	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
9	豆腐	<0.1	不検出	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
10	豆腐	<0.1	不検出	<0.1	アメリカ・カナダ	遺伝子組換えでない
11	豆腐	<0.1	不検出	<0.1	日本	遺伝子組換えでない
12	油揚げ	不検出	不検出	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
13	油揚げ	<0.1	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
14	油揚げ	<0.1	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
15	油揚げ	<0.1	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
16	油揚げ	<0.1	<0.1	<0.1	アメリカ・カナダ	記載なし
17	油揚げ	<0.1	<0.1	<0.1	カナダ	遺伝子組換えでない
18	油揚げ	不検出	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
19	油揚げ	<0.1	<0.1	<0.1	不明	記載なし
20	油揚げ	<0.1	不検出	<0.1	アメリカ・カナダ	記載なし
21	油揚げ	<0.1	<0.1	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
22	油揚げ	<0.1	不検出	<0.1	不明	遺伝子組換えでない
23	豆乳	<0.1	不検出	<0.1	不明	記載なし
24	豆乳	不検出	不検出	不検出	日本	遺伝子組換えでない
25	ゆば	不検出	不検出	不検出	日本	遺伝子組換えでない
26	ゆば	不検出	不検出	不検出	日本	遺伝子組換えでない
27	おから	不検出	不検出	不検出	アメリカ・カナダ	遺伝子組換えでない
28	おから	不検出	不検出	不検出	日本	遺伝子組換えでない
29	おから	検知不能	検知不能	検知不能	日本	遺伝子組換えでない
30	きなこ	検知不能	検知不能	検知不能	カナダ	遺伝子組換えでない
31	きなこ	検知不能	検知不能	検知不能	不明	遺伝子組換えでない
32	きなこ	検知不能	検知不能	検知不能	カナダ	遺伝子組換えでない
33	きなこ	検知不能	検知不能	検知不能	日本	遺伝子組換えでない
34	きなこ	検知不能	検知不能	検知不能	不明	遺伝子組換えでない

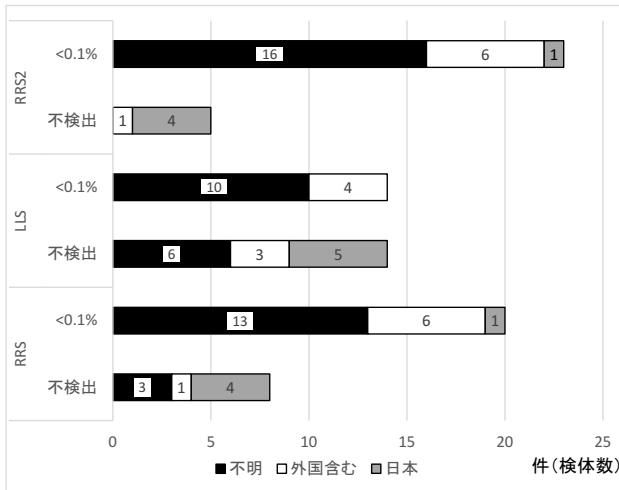


図1 混入率別の原産国表示

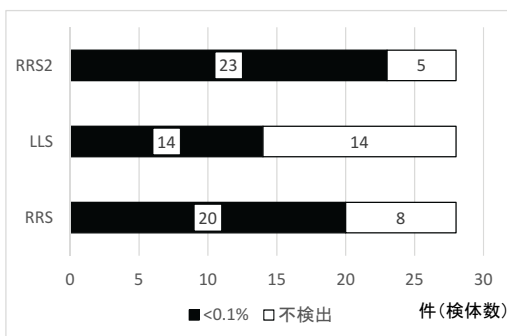


図2 組換え遺伝子系統別の混入率

た。)

### 3.2 Le1遺伝子コピー数

リアルタイムPCR結果のうち、Le1遺伝子のコピー数を表2に示す。検体番号29～34は、Le1遺伝子のコピー数が2,000～10,000コピー数と少なく、検知不能となったが、その他の検体については20,000コピー数以上と良好なコピー数が得られた。Le1遺伝子のコピー数が少なかった原因としては、元々のDNAの断片化が進んでいたことと、糖の混入が考えられた。ただし、検体番号30のきなこは、DNA収量が106.2μgと全34検体の中で一番多い計算結果となり、A260/A230が1.7で、糖の混入も少ないと推察されるにも関わらず、Le1遺伝子のコピー数が10,000コピー数程度と少なくなった。このことについては、検体番号30のきなこのDNA収量が、使用したDNA抽出キットのDNA収量の規格(<20μg)を大幅に超えていることから、吸光度測定でDNA以外の、波長260nm付近に極大吸収を持つ何らかの物質の混入が考えられた。

### 3.3 遺伝子組換えダイズ混入率

検体別遺伝子組換えダイズ混入率算出結果を表3に示す。検体番号1～28について、遺伝子組換えダイズの混入率は5%未満であったが、定量下限値である0.1%未満

の混入率のものが多くあった。不検出及び0.1%未満の混入率の原産国別の検体数のグラフを図1に示す。0.1%未満混入検体の原産国は、産地表示のない「原産国不明」がRRSで13件、LLSで10件、RRS2で16件であり、「外国、外国+日本(図1の「外国含む」)(RRS 6件、LLS 4件、RRS2 6件)、「日本」(RRS 1件、LLS 0件、RRS2 1件)に比べて多かった。一方、原産国表示が「日本」である5検体中4検体はいずれの組換え遺伝子系統でも不検出であった。現在、国内では遺伝子組換えダイズの商業栽培は行われていないため、0.1%未満混入検体の多くを占めた「原産国不明」の検体は外国産であろうと推察された。

また、0.1%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20件、LLSで14件、RRS2で23件であり(図2)、この傾向は他自治体からの報告<sup>5)6)</sup>と同様であった。

前述のとおり国内では遺伝子組換えダイズの商業栽培は行われていない<sup>7)</sup>ため、国内各地の同様の状況は、国外の遺伝子組換えダイズの栽培状況を反映していると考えられる。RRS2は、RRSの収量を増加させた改良品種<sup>8)</sup>で、RRSと同じ農薬(グリホサート)耐性であるため、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ものと推察された。

## 4 まとめ

平成28年度に岡山市内及び倉敷市内の小売店舗で試買した34検体のダイズ加工食品について遺伝子組換え食品実態調査を行った。1種類のおからと5種類のきなこについて検知不能となったが、RRS、LLS及びRRS2の3項目について定量検査が可能で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。

今後は、平成28年11月17日付けで一部改正された「食品表示基準について」(消食表第706号、消費者庁次長通知)で示された検査法で対応できるよう体制を整え、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。

## 文 献

- 1) 国際アグリバイオ事業団 (ISAAA) : Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops : 2016
- 2) 農林水産省ホームページ : 農林水産物輸出入統計、農林水産物輸出入概況 (2016年) 公表資料  
[http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kokusai/attach/pdf/houkoku\\_gaikyou-1.pdf](http://www.maff.go.jp/j/tokei/kouhyou/kokusai/attach/pdf/houkoku_gaikyou-1.pdf)

- 3) 荒平正緒美, 深澤親房: PCR法による植物遺伝子の検出方法, 特許公報, 特許第3131633号
- 4) 板宮裕実, 吉川ひとみ: 植物の法科学的検査に適したPCRキットの比較, 分析化学, Vol.65 (2016)
- 5) 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
- 6) 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)
- 7) 農林水産省ホームページ「遺伝子組換え農作物をめぐる国内外の状況」遺伝子組換え農作物の管理について-生物多様性を確保する観点から- (平成29年9月) <http://www.maff.go.jp/j/syouan/nouan/carta/zyoukyou/attach/pdf/index-15.pdf>
- 8) 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](http://www.monsantoglobal.com/global/jp/newsviews/pages/favorable-harvest-results.aspx)