

【調査研究】

岡山県における遺伝子組換え食品の実態調査

武 志保, 難波順子, 山辺真一, 今中雅章 (衛生化学科)

要 旨

輸入大豆7検体及び岡山県内で流通する豆腐25検体, 油あげ13検体, トウモロコシ半加工品6検体について定量検査を行い, トウモロコシ半加工品6検体については安全性未審査のCBH351の混入の有無も調べた。輸入大豆について5検体からRRS遺伝子が検知された。5%以上遺伝子組換え体が含まれるものは3検体であったが, 全て搾油用であった。豆腐, 油あげについては8割からRRS遺伝子が検出され, 混入率は(0.01)~0.34%であった。トウモロコシ半加工品については1検体からCaMV35Sプロモーター遺伝子が検出され, 1.12%であった。いずれも混入率は5%以下であり, 分別生産流通管理が適切に行われていたと考えられた。

[キーワード: 遺伝子組換え食品, 定量PCR, 定性PCR]

1 はじめに

遺伝子組換え食品については食品衛生法の規格基準(厚生省告示)が改正され, 平成13年4月から安全性審査が法的に義務付けられた。これにより, 安全性審査を受けていない遺伝子組換え食品は輸入, 販売等が法的に禁止された。平成16年6月現在, 安全性が確認された遺伝子組換え食品はジャガイモ8品種, 大豆4品種, テンサイ3品種, トウモロコシ18品種, ナタネ16品種, ワタ9品種の合計58品種, 添加物は12品目である。また, 平成13年4月より食品衛生法及びJAS法による表示が義務化された。それに伴い, 厚生労働省, 農林水産省は遺伝子組換え食品の検査法を示した^{1,2)}。

EUでは1997年に遺伝子組換え食品の表示を義務付けられ, さらに2000年には表示義務発生の下限値として1%以下とすることも定められた^{3,4)}。また, 2003年には意図せざる混入については, 混入が0.9%以下と厳しくなった⁵⁾。一方, 日本では安全性審査済の農作物の意図せざる混入は5%とされている。

岡山県では食の安全・安心事業の一環として平成14年度より遺伝子組換え食品の検査体制の整備とともに, 県内に安全性未審査の遺伝子組換え食品が流通していないか, 遺伝子組換え食品に係る表示は適切になされているかを監視する目的で検査を開始した。

本論文では岡山県全体(津山市, 玉野市等)で幅広く流通している大豆加工品及びトウモロコシ半加工品について定性検査, 定量検査を行い, その実態の一部

を明らかにしたので報告する。

2 実験方法

2.1 試料

平成15年10月, 11月に岡山県内で購入した豆腐25検体, 油あげ13検体, トウモロコシ半加工品6検体を分析した。また, 表示が義務化される以前の平成9年度及び平成12年度に残留農薬検査用として搬入, 保存されていた外国産大豆5検体及び平成15年度に購入した搾油用の外国産大豆2検体を分析した。

2.2 試薬等

DNA抽出精製キット: QIAGEN社製 DNeasy Plant Maxi Kit

クロロホルム, イソアミルアルコール, イソプロピルアルコール: 和光製特級

フェノール: 和光製核酸抽出用

AmpliTaq™ Gold, TaqMan Universal PCR Master Mix : アプライドバイオシステムズ社製

GMダイズ(RRS)系統別DNA RRSオリゴヌクレオチドセット, ダイズ内在性DNA Le1オリゴヌクレオチドセット, GMダイズ(RRS)プラスミドセット, トウモロコシ内在性DNA SS bオリゴヌクレオチドセット, GMトウモロコシ系統別DNA GA21オリゴヌクレオチドセット, 組換えDNA P35Sオリゴヌクレオチドセット, GMトウモロコシプラスミドセット, GMダイズ(RRS)系統別DNA RRS-01オリゴヌクレオチド, ダイ

ズ内在性 DNA Le1n02オリゴヌクレオチド, GM
 サイズ (RRS) 陽性コントロールプラスミド:
 ニッポンジーン社製

アガロース L03「TAKARA」, マーカー100bp

DNA Ladder: 宝酒造(株)製

TAE 緩衝液, TE 緩衝液: ニッポンジーン社製遺伝子
 工学研究用

ラテラルフローキット: Strategic Diagnostics 社製
 < Trait > PUR 大豆バルクテスト

2.3 装置

アプライドバイオシステムズ社製 ABI PRISM7900

Sequence Detection System

アプライドバイオシステムズ社製 GeneAmp PCR
 System 9700

2.4 検査方法

厚生労働省通知の「組換え DNA 技術応用食品の検
 査方法について」¹⁾に準拠して行った。

農林水産消費技術センターの JAS 分析試験ハンド
 ブック遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル改定第
 2 版²⁾を参照した。

3 結果及び考察

3.1 大豆加工品の「遺伝子組換え食品に関する表 示」について

大豆加工品38検体中「国産」と表示されているもの
 が6検体(16%),「遺伝子組換え不使用」と表示され
 ているものが29検体(76%), 遺伝子組換えに関する
 表示がないものが3検体(8%)であった(表1)。
 また,大豆と油あげの「国産」,「遺伝子組換え不使
 用」,表示なしの割合も同程度であった。「遺伝子組
 換え」である表示や「遺伝子組換え不分別」である表示
 は皆無であった。

表1 ダイズ加工品の遺伝子組換えに関する表示

	豆腐	油あげ	計
国産	4(16%)	2(15%)	6(16%)
遺伝子組換え 不使用	19(76%)	10(77%)	29(76%)
表示なし	2(8%)	1(8%)	3(8%)
計	25	13	38

3.2 輸入大豆について

日本で遺伝子組換え表示が始まる以前の日本への輸

入大豆の分別生産流通管理の状況等がどのようであっ
 たかを調べるために平成9年度及び平成12年度に輸入
 された大豆について検査した。また,アメリカでは遺
 伝子組換え大豆が多く栽培され,日本は大豆をアメリ
 カから大部分を輸入していることを考えると搾油用の
 大豆は遺伝子組換え体のものであるのではないかと考
 え,搾油用の大豆の状況を調べるための検査も行っ
 た。

輸入大豆7検体について定量 PCR 検査を行ったと
 ころ0%の大豆が2検体,5%以下のものが2検体
 (0.16%,0.27%),5%以上のものが3検体
 (55.5%,80.3%,88.1%)であった(表2)。5%
 を超える検体の用途は遺伝子組換えの表示が不必要な
 搾油用であった。さらに7検体のうち5検体について
 定性 PCR 検査を行った。

表2 輸入大豆の検査結果

輸入年	輸入国	用途	定量値	定性 PCR (RRS)	ラテラル フロー
1 平成9年	アメリカ	食品用	0%	-	
2 平成9年	アメリカ	搾油用	0.16%	-	
3 平成9年	中国	食品用	0%	-	
4 平成12年	アメリカ	食品用	0.27%	-	+
5 平成12年	アメリカ	搾油用	55.5%	+	+
6 平成15年	アメリカ	搾油用	80.3%		
7 平成15年	アメリカ	搾油用	88.1%		

その結果,4検体が陰性でその内訳は0%のもの2
 検体と0.16%,0.27%の検体であった。定性 PCR の
 検出限界が0.05%程度である³⁾にもかかわらず検出で
 きなかったのは,PCR 妨害物質が微量混入したか RRS
 遺伝子の量が少ないことなどが関係し,遺伝子の増幅
 ができなかったのではないかと推察している。

平成12年度の2検体(0.27%,55.5%)についてラ
 テラルフロー法を行った。2検体とも陽性であった。
 ラテラルフロー法は検査単価が安く,迅速に検査でき
 るメリットがある。ラテラルフローの検出限界が0.1%
 であり,定性 PCR で検出できなかった検体も検出で
 きたことから,大豆穀粒についてはラテラルフロー法
 がスクリーニング検査として有用であると考えられ
 た。

3.3 大豆加工品について

大豆加工品38検体(豆腐25検体,油あげ13検体)に
 ついて RRS 遺伝子の定量 PCR 検査を行った。RRS 遺

伝子が検出されたのは30検体（検出率79%）であった（表3）。その内訳はもめん豆腐15検体中12検体（80%）、きぬ豆腐6検体中4検体（67%）、その他豆腐4検体中3検体（75%）、油あげ11検体中10検体（91%）、厚あげ2検体中1検体（50%）であった（表4）。混入率の最大値は0.34%であり、分別生産流通管理が適切に行われていると考えられる。また、どの検体も混入率は微量であることから製造過程での混入の可能性も考えられる。

また、RRS 遺伝子が検出された検体について定性PCRを行ったところ、すべての検体からRRS 遺伝子

表3 大豆加工品検査結果

品目	製造業者	定性検査結果 (RRS)	定量検査結果 (RRS)	表示
1もめん豆腐	A	検出	(0.01)	国産
2もめん豆腐	A	検出	0.18	遺伝子組換え不使用
3もめん豆腐	B	検出	0.12	遺伝子組換え不使用, 国産
4もめん豆腐	C	検出	(0.02)	遺伝子組換え不使用
5もめん豆腐	D	-	不検出	国産
6もめん豆腐	I	検出	(0.08)	遺伝子組換え不使用
7もめん豆腐	K	検出	0.13	遺伝子組換え不使用
8もめん豆腐	L	検出	(0.09)	表示なし
9もめん豆腐	M	-	不検出	遺伝子組換え不使用, 国産
10もめん豆腐	N	-	不検出	遺伝子組換え不使用
11もめん豆腐	O	検出	0.15	遺伝子組換え不使用
12もめん豆腐	P	検出	(0.06)	遺伝子組換え不使用
13もめん豆腐	Q	検出	0.34	遺伝子組換え不使用
14もめん豆腐	R	検出	0.21	遺伝子組換え不使用
15もめん豆腐	S	検出	(0.02)	遺伝子組換え不使用
16きぬ豆腐	A	検出	(0.03)	国産
17きぬ豆腐	B	-	不検出	遺伝子組換え不使用, 国産
18きぬ豆腐	E	-	不検出	遺伝子組換え不使用, 国産
19きぬ豆腐	H	検出	0.13	遺伝子組換え不使用
20きぬ豆腐	R	検出	0.12	遺伝子組換え不使用
21きぬ豆腐	S	検出	(0.04)	遺伝子組換え不使用
22焼き豆腐	A	検出	0.17	表示なし
23焼き豆腐	B	検出	(0.09)	国産
24充てん豆腐	F	-	不検出	遺伝子組換え不使用
25寄せ豆腐	G	検出	(0.06)	遺伝子組換え不使用
26油あげ	A	検出	(0.01)	国産
27油あげ	A	検出	(0.01)	国産
28油あげ	B	検出	0.10	遺伝子組換え不使用
29油あげ	G	検出	(0.08)	遺伝子組換え不使用
30油あげ	I	検出	(0.06)	遺伝子組換え不使用
31油あげ	J	-	不検出	表示なし
32油あげ	N	検出	(0.01)	遺伝子組換え不使用
33油あげ	P	検出	(0.09)	遺伝子組換え不使用
34油あげ	Q	検出	(0.06)	遺伝子組換え不使用
35油あげ	R	検出	(0.07)	遺伝子組換え不使用
36油あげ	S	検出	(0.06)	遺伝子組換え不使用
37厚あげ	S	-	不検出	遺伝子組換え不使用
38厚あげ	S	検出	(0.04)	遺伝子組換え不使用

定量検査結果の()の数値は定量下限値(0.1%)以下

表4 ダイズ加工品の内訳検出率

	検体数	検出数	検出率(%)
もめん豆腐	15	12	80
きぬ豆腐	6	4	67
その他豆腐	4	3	75
油あげ	11	10	91
厚あげ	2	1	50
大豆加工品 (total)	38	30	79

が検出された。定量下限値以下の0.01%（参考値）の検体でも検出できたことから、定性PCRの感度は非常に高いと考えられる。大豆穀粒の場合より定性PCRの感度が上がっているが、原因の一つとしてはDNA抽出法が異なっていたことが考えられる。大豆の場合はDNeasy Plant Maxi Kitを用い、大豆加工品の場合はCTAB法を採用したが、大豆や豆腐では前者の方法において定量値が低い^{7,8)}ことと関係し、定性PCRの感度に差ができた大きな要因と推定している。

大豆加工品のDNA抽出は同じ種類の加工品でも個々によって精製度の低いものやDNA濃度の足りないものがあったが、PCRを行うのに支障のない精製度のDNAを抽出する必要がある。今後、他の種類の抽出法を検討し、抽出に供する試料量を増やすなどDNA抽出法の最適化条件を調査する予定である。

3.4 トウモロコシ半加工品について

コーングリッツ3検体、コーンフラワー2検体、コーンミール1検体について安全性未審査のCBH351が混入していないかを検査した。遺伝子組換えの使用に関する表示は「遺伝子組換え不使用」表示3検体（50%）、表示なし3検体（50%）で、遺伝子組換えを使用している表示や遺伝子組換え不分別である表示はなかった（表5）。ラテラルフロー法を行った結果、コントロールバンドは全て確認され検査は有効に

表5 トウモロコシ半加工品検査結果

品目	製造業者	定性検査結果 (CBH351)	定量検査結果 (35S, GA21)	表示
1コーングリッツ	T	不検出	不検出	遺伝子組換え不使用
2コーングリッツ	U	不検出	不検出	遺伝子組換え不使用
3コーングリッツ	V	不検出	1.12	表示なし
4コーンフラワー	T	不検出	(0.23)	遺伝子組換え不使用
5コーンフラワー	V	不検出	(0.22)	表示なし
6コーンミール	V	不検出	(0.16)	表示なし

定量検査結果の()の数値は定量下限値(0.5%)以下

行っていた。また、どの検体からも陽性バンドは検出されなかったため、全ての検体に CBH351 は混入していないと判定した。

また、同一の検体について GA21 由来遺伝子と CaMV35S プロモーター遺伝子について定量 PCR 検査を行った。遺伝子組換えトウモロコシが検出されたのは 4 検体で 0.16~1.12% であった。そのうち CaMV35S プロモーターは 4 検体から検出されたが、定量用プラスミドの最小コピー数 20 コピーを超えたものは 1 検体だけであった。GA21 由来遺伝子が検出された検体はなかった。食品衛生法で規定する 5% を超える検体はなく、適切に分別生産流通管理が行われていると考えられた。

今後、流通量の多いスナック菓子等について分析法の検討・実態調査を実施する必要があると考えられる。

4 まとめ

- 1) 大豆加工品 38 検体中 RRS 遺伝子が検出されたのは 30 検体 (79%) であり、そのうちの 20 検体が定量下限値以下であった。抽出法等に関して、今後検討を進める予定である。
- 2) 大豆穀粒のスクリーニング検査としてラテラルフロー法が有用であることが分かった。
- 3) トウモロコシ半加工品 6 検体すべて安全性未審査の CBH351 は検出されなかった。また、GA21 由来遺伝子と CaMV35S プロモーター遺伝子について定量検査を行ったところ 4 検体 [(0.16) ~ 1.12%] で検出された。5% を超える検体はなく、適切な分別生産流通管理がなされていると考えられた。

謝 辞

本検査の実施において助言を頂き、検体採取に協力

して頂いた生活衛生課、県下各保健所及び倉敷市保健所の関係者の方々、有限会社白神商店白神社長に深謝いたします。

文 献

- 1) 厚生労働省通知食発第 1113001 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 15 年 11 月 13 日
- 2) 農林水産消費技術センター：JAS 分析試験ハンドブック 遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル改定第 2 版，平成 14 年 6 月 20 日
- 3) 松岡 猛他：ダイズ及びダイズ加工食品からの組換え遺伝子の検知法 (第 1 報)，食衛誌，40(2)，149 - 157，1999
- 4) Broadmann, P. D., Ilg, E. C., Berthoud, H., and Herrmann, A.: Real-Time Quantitative Polymerase Chain Reaction Methods for Four Genetically Modified Maize Varieties and Maize DNA Content in Food, JAOAC Int., 85 (3), 646-653, 2002
- 5) Hird, H., Powell, J., Johnson, M., and Oehlschlager, S.: Determination of Percentage of RoundUp Ready[®] Soya in Soya Flour Using Real-Time Polymerase Chain Reaction: Interlaboratory Study, JAOAC Int., 86 (1), 66-71, 2003
- 6) Official Journal of the European Communities EC 1139/98 (1998) L159, 0004-0007, Brussels, Belgium
- 7) 杉田隆博：健康危機管理のために試験検査の開発と標準化に関する研究 遺伝子組換え食品の検査体制の強化，厚生科学研究費補助金 (健康科学総合研究事業) 分担研究報告書，27 - 40，2002
- 8) 渡邊敬浩他：遺伝子組換え大豆定量検査法の外部精度管理について，第 40 回全国科学技術協議会年会講演集，88 - 89，2003