

標的を特定しない汎用型遺伝子組換え農作物検知 — 多重化リガーゼ連鎖反応を利用した定性検知法の開発 —

技術の特徴

・多重化リガーゼ連鎖反応法を利用して、多くの遺伝子組換え(GM)農作物に導入されている3つの組換えDNAセグメント(カリフラワーモザイクウイルス由来35Sプロモーター、リゾビウム属細菌由来NOSターミネーター、イネ由来アクチンプロモーター)を同時に検出可能とした。

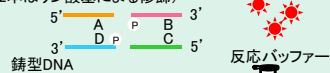
研究の内容

・現在、遺伝子組換え農作物検知法として、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)を利用したものが一般的に用いられている。一方、リガーゼ連鎖反応(LCR)はPCRに比べ、より標的配列特異性の高いDNA増幅反応であることが報告されている。このため、LCRの遺伝子組換え農作物検知への利用を検討した。さらに、LCRの多重化により、上記3つのDNA領域の同時検出法を開発した。

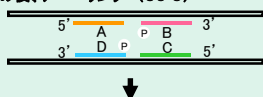
LCRのDNA増幅メカニズム

① 反応液の調製

LCRプローブ(オリゴDNA4本、内2本はリン酸基による修飾)



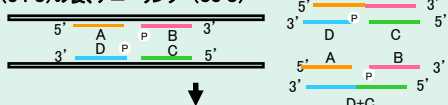
② 熱変性(94℃)の後、アニーリング(60℃)



③ 耐熱性リガーゼによるライゲーション(60℃)



④ 熱変性(94℃)の後、アニーリング(60℃)



⑤ 耐熱性リガーゼによるライゲーション(60℃) (1サイクル目の2倍のライゲーション産物が得られる)



⑥ 熱サイクルを重ねることにライゲーション産物は指数関数的に増幅する



分析操作

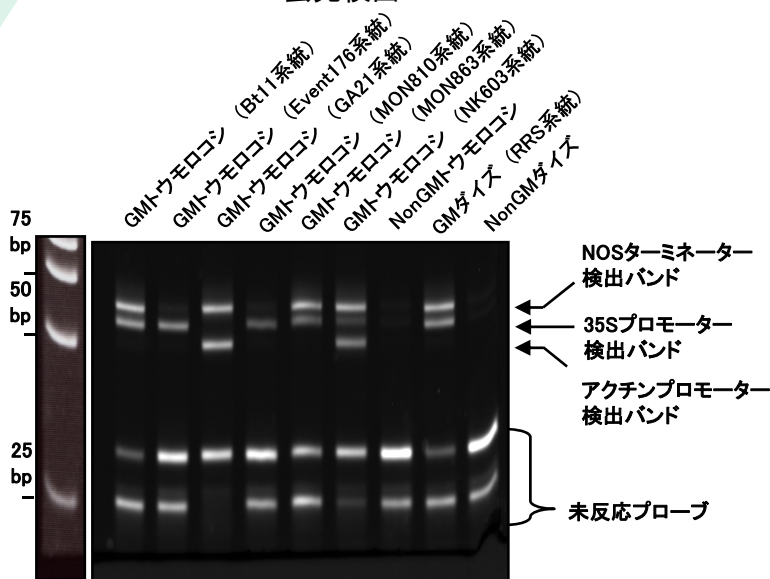
トウモロコシ、ダイズからDNA抽出

抽出DNAを鋳型とするLCR反応液を調製

LCR反応

ポリアクリルアミドゲル電気泳動

蛍光検出



各種GM系統の組換えDNA情報と一致したDNA増幅が確認できる

今後の展開

・LCRのさらなる多重化を検討し、より広範囲のGM農作物を検出可能とする。
・今後、網羅的にGM農作物を検出可能にすることで、GM農作物の環境放出及び未承認GM農作物混入のモニタリング手法としての利用が期待される。