

LAMP法によるGM検知の簡易迅速化

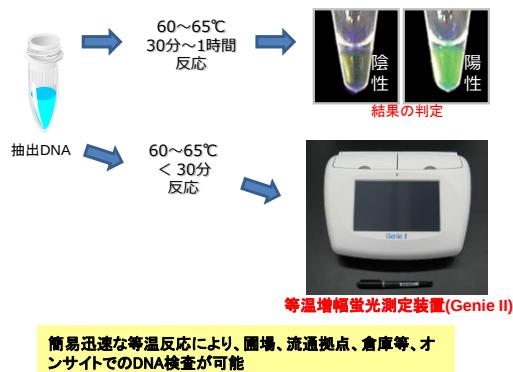
—前処理から検出までに1時間以内—

技術の特徴

- ・遺伝子組換え(GM)作物の種類は年々増え続けており、その全てを個別に検知することは実質的に困難になってきている。
- ・Loop-mediated isothermal amplification (LAMP) 法は、等温反応で、反応開始から極めて短い時間(30分以内)で標的DNAの存在の有無を判定可能な技術である。
- ・安全性審査済みGMダイズおよびトウモロコシを効率的に、かつ網羅的に検知するために、複数のGM系統に共通に導入されている遺伝子等に由来する塩基配列を標的とした定性的スクリーニング検査法を開発した(1および2)。
- ・GenCheck[®] DNA Extraction Reagent ((株)ファスマック)を用いることにより、試料の前処理から検出結果が得られるまでに1時間以内という系を確立した(3)。

研究の内容

LAMP (Loop-mediated Isothermal Amplification)法



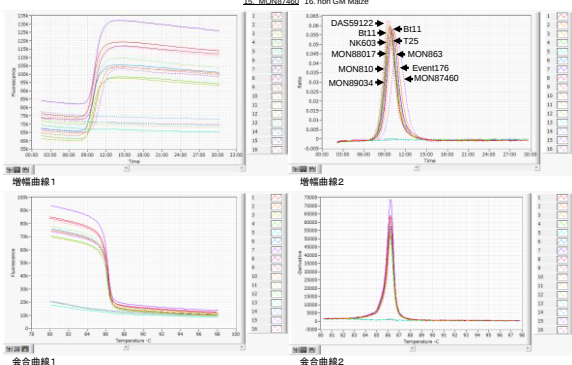
1 複数のGM標的配列を認識するプライマーの設計および特異性の確認

標的配列	PAT	EPSPS	P35S	pmi	tE9	Cry1Ac	GA21
GM系統							
トウモロコシ							
Bt11	○	×	○	×	×	○	×
Event176	×	×	○	×	×	×	×
MON810	×	×	○	×	×	×	×
T25	○	×	○	×	×	×	×
GA21	×	×	×	×	×	×	○
NK603	×	○	○	×	×	×	×
MON863	×	×	○	×	×	×	×
TC1507	○	×	○	×	×	×	×
DAS59122	○	×	○	×	×	×	×
MON88017	×	○	○	×	×	×	×
MIR604	×	×	×	○	×	×	×
MON89034	×	×	○	×	×	×	×
MIR162	×	×	×	○	×	×	×
3272	×	×	×	○	×	×	×
MON87460	×	×	○	×	×	×	×
ダイズ							
RRS	×	○	○	×	×	×	×
MON89788	×	×	×	×	○	×	×
A2704-12	○	×	○	×	×	×	×
MON87701	×	×	×	×	×	○	×
MON87705	×	×	×	×	○	×	×

2 解析結果例

GMトウモロコシ P35S

1. Bt11 2. Event176 3. MON810 4. T25 5. GA21 6. NK603 7. MON863 8. TC1507
9. DAS59122 10. MON88017 11. MIR604 12. MON89034 13. MIR162 14. 3272
15. MON87460 16. non GM Maize



3 簡易抽出法の検討

Sample 20 or 40mg(2.0mL Tube) + Buffer 400μl → vortex → 100℃, 10min. → 1min. On ice → 20℃ 15000 × g 5min. → 上清を回収

ダイズ (20 mg)

P35S	RRS
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
tE9	MON89788
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
Cry1A/bc	MON87701
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
EPSPS	RRS
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
PAT	A2704-12
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%

トウモロコシ (40 mg)

P35S	MON810
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
pmi	3272
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
pmi	MIR604
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
GA21	GA21
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
EPSPS	MON88017
0.5% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%

PAT	Bt11
0.4% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%
Cry1A/bc	Bt11
0.4% Positive/Total	21/21
Positive rate	100%



GenCheck[®] DNA Extraction Reagent

今後の展開

LAMP法によるGM検知のさらなる簡易迅速化を追求する。