

GMトウモロコシ3272検知法開発

— 系統特異的定量分析法の開発と試験室間共同試験 —

開発の背景

遺伝子組換え(GM)トウモロコシ3272系統は、エタノール生産の効率化を図るため、耐熱性 α -アミラーゼを産生するように作出されたトウモロコシである。食品としての安全性審査は経ているものの、エタノール生産に特化したGMトウモロコシであるため、当該系統の流通管理および食品表示の観点から、定量検知法を整備することが望ましい。

研究の内容

3272の系統特異的定量検知法を開発し、室間共同試験により性能指標の評価を行った。わが国のGM食品の標準分析法に採用されているDNA抽出キットのうち、DNeasy Plant Maxi kitおよびDNeasy Plant Mini kitでは、non-GMトウモロコシと比較し3272の抽出DNA量に著しい減少が観察されたことから(表1)、GM quickerを用いて検討を行った。検知領域はゲノムDNAとのジャンクション領域とした(図1)。開発した検知法の特異性確認を行った(図2)。3272系統特異的DNAおよび内在性DNAのコピー数比から重量比によるGMトウモロコシ混入率を算出するために必要となる内標比を決定した(表2)。最後に、国際的にハーモナイズされたガイドラインに従って試験室間共同試験を実施し(表3)、開発した分析法が実際の定量検査に適していることを確認した。

表1. 異なる抽出キットによるnon-GMと3272とのDNA抽出量の比較

	Non-GM		3272		P-value (comparison with non-GM)
	Mean (ng/ μ L)	SD	Mean (ng/ μ L)	SD	
Maxi kit	333.34	98.14	39.98	31.62	7.5×10^{-8}
Mini kit	121.90	17.24	85.88	12.11	5.7×10^{-6}
GM quicker	79.90	5.14	80.99	8.48	0.35
Genomic tip 20/G	1332.44	179.08	1308.21	135.76	0.36

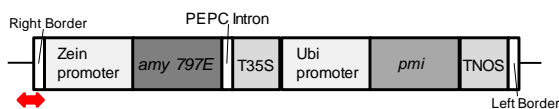


図1. 3272系統組換えDNAの構造

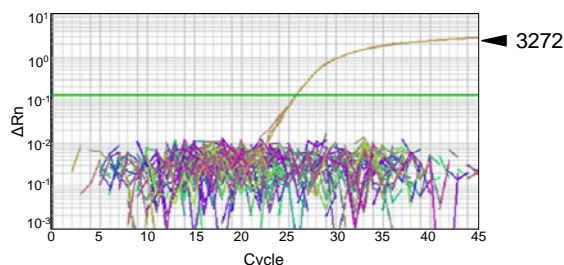


図2. 特異性の確認(3272)

表2. 内標比(Cf値)の算出

	Mean	SD	RSD(%)
7900	0.601	0.045	7.49
7500	0.590	0.018	3.05

SD: Standard deviation
RSD: Relative standard deviation

表3. 試験室間共同試験の結果

% (w/w)	Retained labs	Trueness		Precision		Detection limit
		Mean GMO amount, %	Bias True value, %	RSD _r ^a , %	RSD _R ^b , %	Below 20 copies ^c
1.0	9	1.07	6.6	11.5	17.5	0/18
5.0	10	5.35	7.1	10.8	11.3	0/20
10.0	10	9.72	-2.9	13.6	16.0	0/20

^aRSD_r: Repeatability relative standard deviation

^bRSD_R: Reproducibility relative standard deviation

^cBelow 20 copies are expressed as the ratio of the number of retained data below 20 copies/the total number of retained data

今後の展開

公定法として利用可能となるよう関係部署への働きかけを行う。

参 考

- 1) Takabatake, *et al.* (2016) Food Hyg. Saf. Sci., **57**(1), 1-6
- 2) Horwitz. (1995) Pure Appl. Chem., **67**, 331-343
- 3) Appendix D: Guidelines for collaborative study procedures to validate characteristics of a Method of Analysis. In Official Methods of Analysis of AOAC Int. 17th ed. vol. II, Gaithersburg, MD, USA



農研機構
食品研究部門

代表研究者: 橘田 和美
所 属: 食品分析研究領域
信頼性評価ユニット

問い合わせ先: 029-838-7369