[成 果 情 報 名] 食品・農産物の遺伝子検査に利用できるサンプルダイレクト DNA 分析試薬

[要 約] 開発したリアルタイム PCR 用分析試薬を用いることで、食品や農産物の粗抽出液から DNA を精製することなく直接 PCR 分析を行うことができる。この試薬は、食品や農産物の分析に幅広く利用できるため、今後、様々な遺伝子検査の簡易化が期待される。

[キーワード] サンプルダイレクト、DNA 分析、リアルタイム PCR、簡易化

[担 **当**] 食品安全信頼・信頼性確保

[代表連絡先] 電話 029-838-7991

[研 究 所] 食品総合研究所·食品分析研究領域

[分 類] 普及成果情報

[背景・ねらい]

食品や農産物の遺伝子検査は、ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法を用いて行われることが一般的であるが、食品や農産物には PCR を阻害する物質が多量に含まれているため、分析試料から DNA を精製することが必須となっている。 DNA の精製には煩雑な作業を要するため、DNA の精製操作が遺伝子検査の律速作業になっている。 そこで、DNA を精製せず、試料の粗抽出液の状態から直接分析を行うサンプルダイレクト DNA 分析の実現を図る。近年、PCR の結果判定に電気泳動を必要としないリアルタイム PCR が普及しつつあることから、サンプルダイレクト DNA 分析を可能にするリアルタイム PCR 用の試薬を開発し、DNA の精製と電気泳動の両方を必要としない極めて簡易な遺伝子検査を可能にする。

[成果の内容・特徴]

- 1. 本成果は、株式会社島津製作所、株式会社ニッポンジーンとの共同研究によるものである。開発した試薬は、株式会社ニッポンジーンから「DirectAce qPCR Mix plus ROX tube」として商品化されている(図 1)。
- 2. 開発した試薬は、食品や農産物試料に含まれる PCR 阻害物質の影響を受けにくく、かつ、蛍光プローブアッセイ型リアルタイム PCR に最適な反応液組成になっている。この試薬は、DNA ポリメラーゼ、ヌクレオチドモノマー、緩衝液等が混合された溶液状態になっており、検査試料から得た粗抽出液および検査の目的に応じて合成したプライマーDNA、蛍光プローブ DNA を混合するだけでリアルタイム PCR 装置による分析を実施することが可能である(図 2)。
- 3. 各種試料に極微量の人工鋳型 DNA を添加して PCR の成否を確認する評価試験を実施し、様々な食品・農産物試料のサンプルダイレクト DNA 分析が可能であることを確認している(表 1)。
- 4. 開発した試薬は、標的遺伝子の定性分析・定量分析、いずれの用途にも使用することができる。遺伝子組換え農産物を含む試料のサンプルダイレクト DNA 分析を実施し、精製 DNA を用いる従来の検査と同等の検出感度・定量精度が得られることを確認している。
- 5. 開発した試薬を利用することで、今後、様々な検査機関で従来よりも簡易に遺伝子検査を行うことができる。同じコストでより多くの検体を分析することができるため、食品の安全性・信頼性がこれまでよりも高いレベルで保証可能になるものと期待される。

[普及のための参考情報]

- 1. 普及対象:食品・農産物の流通事業者及び分析機関
- 2. 普及予定地域・普及予定面積・普及台数等:全国
- 3. その他:従来の DNA 精製操作は通常 2 時間程度の作業を要するが、本分析試薬を使用した場合には 10~20 分程度で済むため、人件費等コスト面でも有利である。また、開発した試薬は、PCR 阻害物質の影響を受けにくい性質があるため、精製 DNA を用いた遺伝子検査においても、既存の試薬に比べて信頼性の高い分析結果を得ることができる。

[具体的データ]



図 1 開発・実用化した分析試薬 DirectAce qPCR Mix plus ROX tube

表1 試薬の適用性が確認された食品や農産物

穀類・種子	コメ、トウモロコシ種子、ダイズ種子、ナタ
	ネ種子、ワタ種子、アルファルファ種子、ベ
	ントグラス種子、アマ種子、 テンサイ種子、
	メロン種子、カボチャ種子
果物類	キウイ果肉、パパイヤ果肉、イチゴ果肉、バ
	ナナ果肉、メロン果肉、ブドウ果実
野菜類	ホウレンソウ、トマト、ナス、カボチャ、ニ
	ンジン、ブロッコリー、ジャガイモ、サツマ
	イモ、ナガイモ、シイタケ、ダイコン、ネギ
肉類	牛肉、豚肉
魚介類	マグロ切り身、サケ切り身、アジ切り身、タ
	イ切り身、エビ、イカ、アサリ
加工食品	小麦粉、そば粉、上新粉、ポテトチップス、
	チョコレート、ビスケット、食パン、牛乳、
	魚肉ソーセージ、ウインナー、かまぼこ、豆
	腐

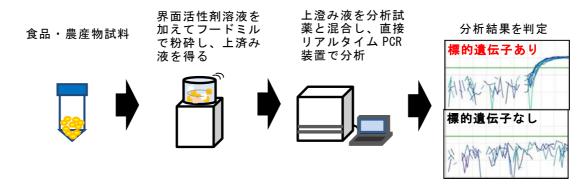


図2 開発した試薬の利用方法

(真野潤一、高畠令王奈、橘田和美)

[その他]

中課題名:信頼性確保のための原材料・生産履歴判別等の技術開発と標準化

中課題番号:180d0

予算区分: 委託プロ (新農業展開ゲノム、次世代ゲノム基盤)

研究期間: 2011~2013年度

研究担当者:真野潤一、高畠令王奈、橘田和美

発表論文等: Mano J. et al. (2014) Food Hyg. Saf. Sci. 55 (1): 25-33