

MCE-202“MultiNA”を用いたトウモロコシ加工食品中の組換え遺伝子の定性分析

Qualitative Analysis of Recombinant Gene in Corn Processed Food with MCE-202“MultiNA”

遺伝子組換え食品の分析には組換え遺伝子の有無を確認する定性分析、非遺伝子組換え体に対する遺伝子組換え体の混合率を求める定量分析があります。定性分析には定性PCR法、ラテラルフロー法、定量分析には定量PCR法、ELISA（Enzyme Linked Immuno Sorbent Assay）法が採用されています。定性PCR法には検出対象となるDNAの高い熱安定性により加工食品と農産物の両方に適

用できる利点があり、多くの食品の定性分析には定性PCR法が用いられています。ラテラルフロー法、ELISAは抗原抗体反応をベースとするため、加熱により抗原性が失われる加工食品の分析には適用できません。

今回、トウモロコシ加工食品中の組換え遺伝子（GA21）の定性PCR法による定性分析の例をご紹介します。

Y. Harada

■分析手順

Experimental Procedure

サンプルとして4種のトウモロコシ加工食品（缶詰コーン2種、ポップコーン1種、コーンスターチ1種）を用いました。これらの加工食品サンプルからDNeasy Plant Mini KitによりDNAを抽出し、抽出DNA溶液のDNA濃度をライフサイエンス紫外可視分光光度計BioSpec-nanoにより決定しました。各サンプルの抽出DNA 5 ngを鋳型として、トウモロコシ内在性遺伝子*SSI**b***検出用および組換え遺伝子GA21検出用プライマーでそれぞれPCRを行いました。得られたPCR産物の分析をMultiNAにより実施し、トウモロコシ内在性遺伝子*SSI**b***ならびに組換え遺伝子GA21の検出を行いました。Fig. 1に分析手順を示します。PCRの条件は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」（農林水産技術センター）に従いました。

■試薬 / キット

Reagents / Kits

- ・ DNeasy Plant Mini Kit(50)
(キアゲン) 69104
- ・ DNA-500 キット
(島津製作所) P/N 292-27910-91
- ・ SYBR® Gold nucleic acid gel stain
(インビトロジェン) S11494
- ・ 25 bp DNAラダー
(インビトロジェン) 10597-011

■PCR産物分析条件

Analytical Condition of PCR Products

分析装置 : MultiNA
分析モード : DNA-500オンチップモード

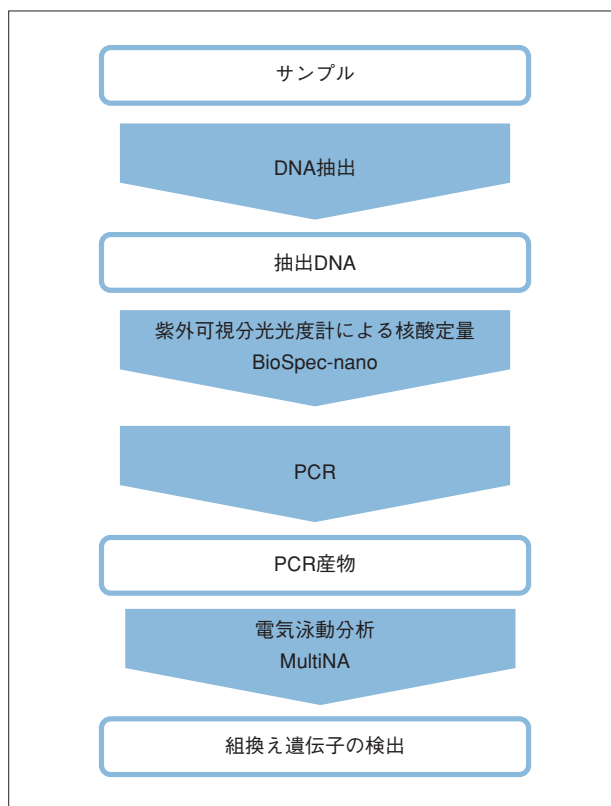


Fig. 1 食品中の組換え遺伝子の定性PCR分析の手順
Qualitative PCR Analysis Procedure of Recombinant Gene in Food

結果

Results

4種類のトウモロコシ加工食品由来PCR産物のMultiNAによる分析結果をFig. 2に示します。内在性遺伝子*SSI1b*検出用プライマーを用いた場合、すべてのトウモロコシ加工食品サンプルならびに陽性コントロールプラスミドにおいて*SSI1b*プライマーに対応するPCR産物（151 bp）が検出されています。内在性遺伝子*SSI1b*はトウモロコシ固有の遺伝子であり、内在性遺伝子が検出されたサンプルは定性PCR分析による組換え遺伝子の検出が有効であると見なされます。加熱などによりDNAは損傷を受けるため、加工食品サンプルのなかには内在性遺伝子が検出されないサンプルも存在します。このようなサンプルは組換え遺伝子検出不能と判定します。

一方、組換え遺伝子GA21検出用プライマーを用いた場合、陽性コントロールプラスミドのみでGA21に対応するPCR産物（133 bp）が検出されました。今回使用した加工食品サンプルはいずれも「遺伝子組換えでない」と表示されており、すべての加工食品サンプルから組換え遺伝子GA21は検出されませんでした。

陰性ならびに陽性コントロールのエレクトロフェログラムをFig. 2に合わせて示しました。鋳型として使用した陽性コントロールプラスミドの量は20コピーとごく僅かですが、内在性遺伝子*SSI1b*（151 bp）ならびに組換え遺伝子GA21（133 bp）に対応するPCR産物が明確に確認できます。

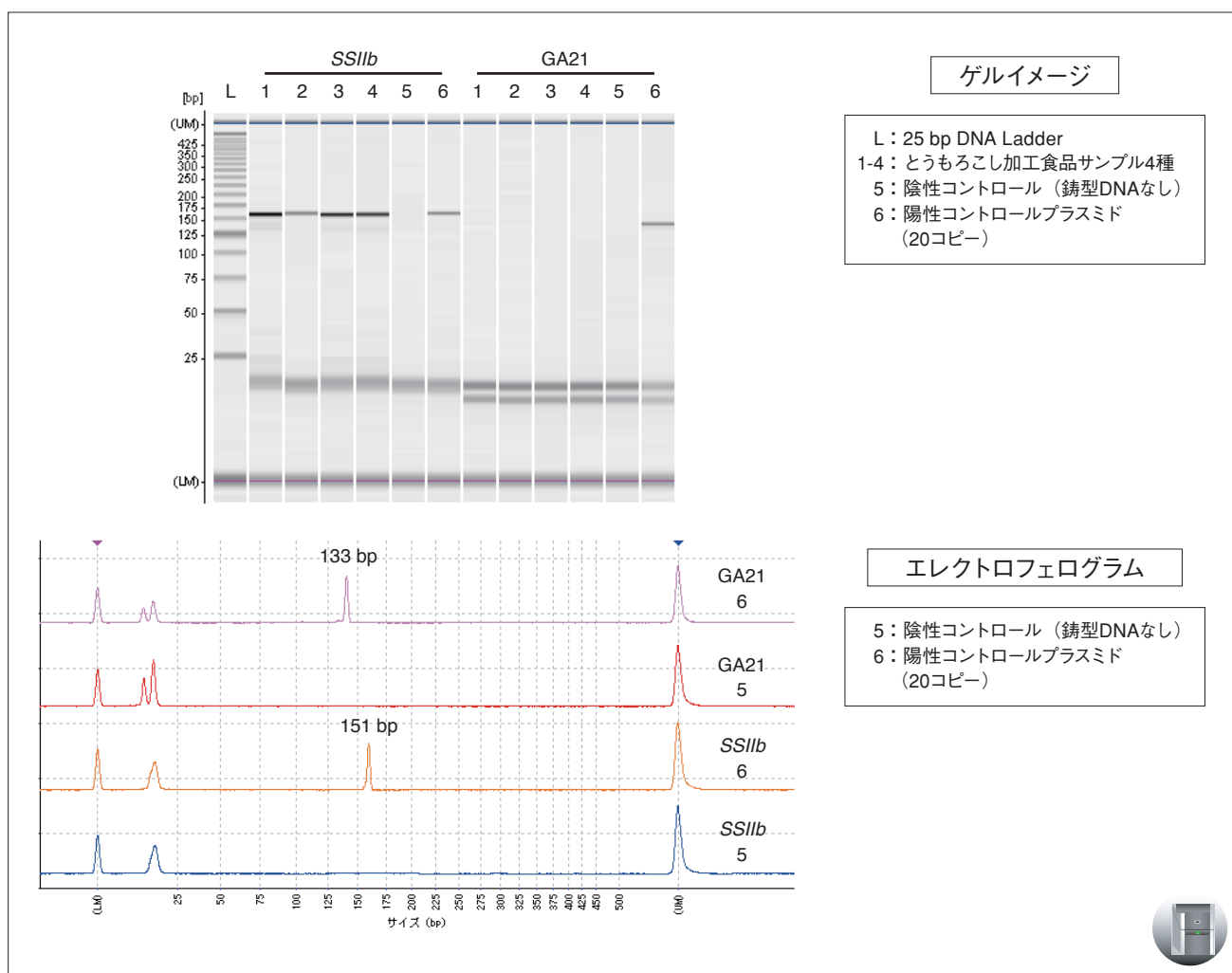


Fig. 2 MultiNAによるトウモロコシ加工食品由来PCR産物の分析結果
 Analytical Results of PCR Products from Corn Processed Food with MultiNA

初版発行：2010年10月

島津製作所 分析計測事業部
 応用技術部

島津分析コールセンター

☎ 0120-131691（携帯電話不可）
 ● 携帯電話専用番号（075）813-1691

※本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制 Web Solutions Navigator で閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
 会員制 Web の閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。