ノート

トウモロコシ加工食品からのイオン交換樹脂タイプキットを用いた DNA 抽出精製法の検討

(平成 19 年 5 月 23 日受理)

大森清美^{1,*} 土屋久世¹ 渡邊敬浩² 穂山 浩²
米谷民雄² 山田利治¹ 伊藤伸一¹ 佐藤修二¹

Method for DNA Extraction and Purification from Corn-processed Food Using an Ion-exchange Resin Type Kit

Kiyomi OHMORI*, Hisayo TSUCHIYA, Takahiro WATANABE, Hiroshi AKIYAMA,
Tamio MAITANI, Toshiharu YAMADA, Shin-ichi ITOH and Shuji SATOH¹ Chemistry Division, Kanagawa Prefectural Institute of Public Health:
1-3-1 Shimomachiya, Chigasaki, Kanagawa 253-0087, Japan;² National Institute of Health Sciences: 1-18-1 Kamiyoga, Setagaya-ku,
Tokyo 158-8501, Japan; * Corresponding author

The yield of genomic DNA extracted from corn-processed foods, such as corn flake and one of the corn snack what is called “Jumbo corn”, using an ion-exchange resin type kit (Gtip) has been reported to be very low, and it is thought to be difficult to detect the intrinsic corn gene “*Zein*” in the foods. Therefore, we developed a new method using Gtip, which we called the “KNG-Gtip method,” by modification of the Ministry of Health, Labour and Welfare (MHLW) method using Gtip (MHLW-Gtip method). We compared the KNG-Gtip method, MHLW-Gtip method, the Gtip method for detection of allergen (ALG-Gtip method), and the Gtip method according to the Ministry of Agriculture, Forestry and Fisheries (MAFF) (JAS-Gtip method) in terms of the yield and quality of genomic DNA and the detection probabilities of the PCR-amplified *Zein* gene. The concentrations of DNA and the detection probabilities of the PCR-amplified *Zein* gene of genomic DNA extracted from 4 g corn flake and 4 g Jumbo corn by the KNG-Gtip method were larger than those by using the conventional methods. In addition, the PCR-amplified *Zein* gene from 4 g of corn starch could be detected by the KNG-Gtip method. We propose that the KNG-Gtip method, in which requires sample weight of four grams, is practical and useful to extract genomic DNA from corn flake and Jumbo corn.

(Received May 23, 2007)

Key words: トウモロコシ加工食品 corn-processed food; コーンフレーク corn flake; コーンスナック菓子 corn snack; コーンスターチ corn starch; DNA 抽出 DNA extraction; DNA 精製 DNA purification; イオン交換樹脂 ion-exchange resin

緒言

組換え DNA 技術応用食品の検査方法に関する厚生労働省通知(厚労通知)*¹には、安全性未承認の遺伝子組換え(GM)トウモロコシの試験法として、定性 PCR 法を用いた組換え DNA の検知法が記載されている。同試験法にお

いて、トウモロコシ内在性遺伝子(*Zein* 遺伝子)が検出されることが組換え DNA 検知の前提となっており、PCR 増幅の結果 *Zein* 遺伝子が 3 回の抽出すべてで検出されない場合には、その試験は無効、すなわち「検知不能」の判定結果となる。

トウモロコシ加工食品のうち、コーンフレークについては DNA の抽出が困難であるとして、農林水産省は GM 検査の対象食品から除外している。一方、厚生労働省はコーンフレークを GM 食品検査の対象とし、厚労通知に「タコス、トルティーヤ、コーンチップおよびコーンフレーク」を対象としたイオン交換樹脂タイプの DNA 抽出精製キット(QIAGEN Genomic-tip)を用いた DNA 抽出

* 連絡先

¹ 神奈川県衛生研究所理化学部: 〒253-0087 神奈川県茅ヶ崎市下町屋 1-3-1² 国立医薬品食品衛生研究所: 〒158-8501 東京都世田谷区上用賀 1-18-1*¹ 厚生労働省通知(平成 18 年 6 月 29 日, 食安発第 0629002 号)「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」, 厚生労働省

精製法 (MHLW-Gtip 法) を記載している。しかし MHLW-Gtip 法を用いてコーンフレークから DNA を抽出した場合には、DNA 試料原液の多くは、定性 PCR 法に用いる DNA 濃度の目安とされている 10 ng/mL 未満であり、PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子も 3 回の抽出のすべてで不検出となることが多い^{1), 2)}。

そのほか、トウモロコシを原料として、いわゆる「ポン菓子」の製法により作られるジャンボコーンについても、厚労通知^{*1}の記載に従い、JAS 分析試験ハンドブック (JAS ハンドブック) の遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル^{*2}に準じて DNA の抽出精製を行った場合には、検知不能となる事例があった¹⁾。

そこで、これらの DNA 抽出および *Zein* 遺伝子の検出が困難なトウモロコシ加工食品について、抽出 DNA 濃度の増大および *Zein* 遺伝子の検出率を向上させ、検知不能の判定となる試料の減少を目的として、DNA 抽出精製法の検討を行った。また、確立した DNA 抽出精製法について、コーンスターチへの適用を試みた。

実験方法

1. 試料

試料として用いたトウモロコシ加工食品は、コーンフレーク、ジャンボコーン (コーンスナック菓子) およびコーンスターチであり、いずれも神奈川県内の食料品店で購入した。

2. DNA 抽出精製

検討を行った 4 種の DNA 抽出精製法を Fig. 1 に示した。

MHLW-Gtip 法: 厚労通知, 2.2.3.1. 「タコス, トルティーヤ, コーンチップおよびコーンフレークからの DNA 抽出精製」に従った (Fig. 1-A)。

KNG-Gtip 法: ラボミルサー LM-2 (大阪ケミカル (株) 製) で粉碎した試料 2~4 g を 50 mL 遠沈管に採取し、G2 緩衝液 15 mL, 20 mg/mL Proteinase K 200 μ L および RNase 20 μ L を加えた。以後の操作は MHLW-Gtip 法に従い、DNA の抽出精製を行った (Fig. 1-B)。

ALG-Gtip 法: アレルギー物質を含む食品に関する厚労通知^{*3} 2.2.3.2.2. 「イオン交換樹脂タイプキット法」に従った。ただし、試料採取量については、2 g または 4 g で検討を行った (Fig. 1-C)。

JAS-Gtip 法: 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^{*2}, 「個別品目編 (定性試験)」および「基本操作編, 3.2 QIAGEN Genomic-tip 20/G による DNA の抽出」に従った (Fig. 1-D)。

なお、いずれの DNA 抽出精製法についても、1 試料に

つき 3 回 ($n=3$) の抽出を行った。

3. 抽出 DNA の評価

各試料から得られた DNA 試料原液の一部について、水を用いて適宜希釈した。分光器 (アマシャムファルマシア社製, Gene Quant Pro) を用いて 230 nm, 260 nm, 280 nm での吸光度測定を行い、260 nm における吸光度から DNA 濃度を算出した。また、260 nm/230 nm の吸光度比 (A_{260}/A_{230}) および 260 nm/280 nm の吸光度比 (A_{260}/A_{280}) を純度の指標とした。

4. PCR 増幅および PCR 増幅産物の電気泳動

CBH351 系統組換えトウモロコシの加工食品は入手が不可能であることから、*Zein* 遺伝子の PCR 増幅を指標として、DNA 抽出精製法の妥当性を評価した。試薬は、トウモロコシ内在性 DNA *Zein* オリゴヌクレオチド、組換え (GM) トウモロコシ系統別 DNA CBH351 陽性コントロールプラスミド、AmpliTaq Gold DNA ポリメラーゼ、dNTP, 25 mmol MgCl₂, 10 $\times$ PCR 緩衝液 (ニッポンジーン (株)) を用い、PCR Thermal Cycler SP (タカラバイオ (株)) により厚労通知の PCR 条件に従い DNA の増幅を行った。増幅後の各反応試料溶液は、100 bp 分子量マーカー (ニッポンジーン (株)) とともに、アガロース LO3 [TAKARA] (タカラバイオ (株)) および TAE 緩衝液^{*1}を用いて調製した 3% アガロースゲルで電気泳動を行った。電気泳動後のゲルは、エチジウムブロミドの TAE 緩衝液溶液 (0.1 mg/L) で 15 分間染色し、次いで TAE 緩衝液で 15 分間脱色した。紫外線 312 nm を照射し、画像撮影装置 AE-6905H Image Saver HR (アトー (株)) を用いて DNA の電気泳動像を撮影した。

結果および考察

1. コーンフレーク

現行の厚労通知法 (MHLW-Gtip 法) を用いてコーンフレークから DNA を抽出精製した場合には、得られた DNA 試料原液の濃度は数 ng/ μ L にも満たないことが多く、PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子は 3 回の抽出すべてで不検出、すなわち「検知不能」の判定結果となることが多い^{1), 2)}。そこで、*Zein* 遺伝子の検出率を増大させ、検知不能の判定結果となる試料を減少させることを目的として、DNA 抽出精製法の検討を行った。

はじめに、試料 No. 1-1 のコーンフレークについて、現行の厚労通知法である MHLW-Gtip 法を用いて、粉碎試料 1 g から DNA の抽出精製を行った。その結果、抽出 DNA 濃度は 1 ng/ μ L と極めて低濃度であり (Table 1), PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子は、3 回の抽出中 1 回のみの検出であった (Fig. 2, 1-1 MHLW)。

そこで、アレルギー物質を含む食品検査に用いられている Gtip 法 (ALG-Gtip 法) および KNG-Gtip 法を用いて DNA の抽出精製を行い、MHLW-Gtip 法により得られた DNA 試料原液との比較を行った。ALG-Gtip 法では、Proteinase によるタンパク質の分解処理に加え、Amylase に

^{*2} 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 個別品目編」, 農林水産省

^{*3} 厚生労働省通知 (平成 18 年 6 月 22 日, 食安発第 0622003 号)「アレルギー物質を含む食品の検査方法について」, 厚生労働省

Fig. 1. Present methods for DNA extraction using ion-exchange resin type kit

*: JAS G-tip method

Table 1. Quality and yield of DNA extracted from corn-processed foods

Sample No.	Maize processed food	Gtip method	Weight of water for homogenization of sample	Sampling weight after pre-treatment (g)	Ratio of absorbance (260 nm/230 nm)	Ratio of absorbance (260 nm/280 nm)	Concentration of DNA measured by O.D. 260 nm (ng/mL)	Amount of DNA extracted from 1 g sample (μ g)	Detection frequency of <i>Zein</i> gene (per 3 times)
					ave. $\pm$ S.D.	ave. $\pm$ S.D.	ave. $\pm$ S.D.	ave. $\pm$ S.D.	
1-1	Corn flake	MHLW-Gtip	—	1	0.36 $\pm$ 0.04	1.59 $\pm$ 0.35	1.0 $\pm$ 0.7	1.0 $\pm$ 0.7	1
		ALG-Gtip	—	2	0.16 $\pm$ 0.01	0.94 $\pm$ 0.05	5.8 $\pm$ 0.6	2.9 $\pm$ 0.3	0
		ALG-Gtip	—	4	0.22 $\pm$ 0.02	1.19 $\pm$ 0.14	4.4 $\pm$ 0.7	1.1 $\pm$ 0.2	3
		KNG-Gtip	—	2	0.47 $\pm$ 0.06	1.52 $\pm$ 0.20	1.6 $\pm$ 0.8	0.8 $\pm$ 0.4	3
		KNG-Gtip	—	3	0.49 $\pm$ 0.02	1.52 $\pm$ 0.02	2.6 $\pm$ 0.3	0.9 $\pm$ 0.1	3
		KNG-Gtip	—	4	0.45 $\pm$ 0.03	1.48 $\pm$ 0.02	4.2 $\pm$ 0.7	1.1 $\pm$ 0.2	3
1-2	Corn flake	KNG-Gtip	—	4	0.58 $\pm$ 0.01	1.19 $\pm$ 0.03	2.9 $\pm$ 2.1	0.7 $\pm$ 0.5	0
1-3	Corn flake	KNG-Gtip	—	4	0.41 $\pm$ 0.02	1.29 $\pm$ 0.37	4.5 $\pm$ 2.6	1.1 $\pm$ 0.6	3
1-4	Corn flake	KNG-Gtip	—	4	0.62 $\pm$ 0.01	1.18 $\pm$ 0.02	3.9 $\pm$ 1.6	1.0 $\pm$ 0.4	2
1-5	Corn flake	KNG-Gtip	—	4	0.66 $\pm$ 0.01	1.21 $\pm$ 0.02	4.0 $\pm$ 2.1	1.0 $\pm$ 0.5	3
2-1	Jumbo corn	JAS-Gtip	x3	2	0.54 $\pm$ 0.02	1.21 $\pm$ 0.06	2.0 $\pm$ 0.9	3.9 $\pm$ 1.8	0
		ALG-Gtip	—	2	0.51 $\pm$ 0.10	1.33 $\pm$ 0.10	1.2 $\pm$ 0.2	0.6 $\pm$ 0.1	2
		ALG-Gtip	—	4	0.33 $\pm$ 0.02	1.30 $\pm$ 0.03	8.2 $\pm$ 2.6	2.1 $\pm$ 0.7	2
		KNG-Gtip	—	2	0.60 $\pm$ 0.06	1.14 $\pm$ 0.02	15.3 $\pm$ 3.9	7.7 $\pm$ 1.9	2
		KNG-Gtip	—	3	0.63 $\pm$ 0.08	1.15 $\pm$ 0.04	14.2 $\pm$ 1.8	4.7 $\pm$ 0.6	2
		KNG-Gtip	—	4	0.60 $\pm$ 0.02	1.17 $\pm$ 0.03	17.5 $\pm$ 3.0	4.4 $\pm$ 0.8	3
2-2	Jumbo corn	KNG-Gtip	—	4	0.44 $\pm$ 0.02	1.43 $\pm$ 0.03	12.6 $\pm$ 1.7	3.1 $\pm$ 0.4	3
2-3	Jumbo corn	KNG-Gtip	—	4	0.32 $\pm$ 0.05	1.33 $\pm$ 0.07	4.8 $\pm$ 2.2	1.2 $\pm$ 0.5	3
2-4	Jumbo corn	KNG-Gtip	—	4	0.46 $\pm$ 0.03	1.43 $\pm$ 0.01	15.4 $\pm$ 0.9	3.9 $\pm$ 0.2	3
3	Corn starch	KNG-Gtip	—	4	1.32 $\pm$ 0.41	1.45 $\pm$ 0.09	1.3 $\pm$ 1.0	0.03 $\pm$ 0.03	3

よる糖質の分解も行われるため (Fig. 1), 加工程度の高い食品に適した DNA 抽出精製法であるとされている*³.

その ALG-Gtip 法を用いて, 試料 No. 1-1 のコーンフレークから DNA を抽出精製した結果, 試料採取量が 2 g の場合には, 抽出精製された DNA 試料原液の濃度は 5.8 ng/ μ L に増大し, 試料 1 g あたりの抽出 DNA 濃度 (DNA 抽出効率) も, MHLW-Gtip 法の約 3 倍に増大した (Table 1). しかし, PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子は, 3 回の抽出すべてで不検出であった (Fig. 2, 1-1 ALG 2 g). 一方, 試料採取量 4 g の ALG-Gtip 法では, DNA 試料原液の濃度は 4.4 ng/ μ L であり, 試料採取量 2 g の ALG-Gtip 法よりも低濃度であったが (Table 1), PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子は, 3 回の抽出すべてで検出された (Fig. 2, No. 1 Corn serial, 1-1 ALG 4 g). それら DNA 試料原液の A_{260}/A_{230} および A_{260}/A_{280} については, 試料採取量 2 g および 4 g のいずれの ALG-Gtip 法も, MHLW-Gtip 法と比べて低値であった.

つぎに, 試料採取量を 2~4 g, 抽出試薬を MHLW-Gtip 法の約 2 倍量とした KNG-Gtip 法を用いて検討を行った結果, DNA 試料原液の濃度は 1.6~4.2 ng/ μ L に増大し, A_{260}/A_{230} および A_{260}/A_{280} は MHLW-Gtip 法と同等以上であった (Table 1). そして, PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子は, いずれの試料採取量の KNG-Gtip 法についても, 3 回の抽出すべてで検出された (Fig. 2, 1-1 KNG 2 g, 1-1 KNG 3 g, 1-1 KNG 4 g).

これらの検討結果から, DNA 試料原液濃度および *Zein*

遺伝子の検出率がともに高い試料採取量 4 g の ALG-Gtip 法および KNG-Gtip 法が, No. 1-1 のコーンフレークの DNA 抽出精製法として適していると考えられた. さらに, それら 2 法の抽出時間および経費の比較においては, KNG-Gtip 法は ALG-Gtip 法よりも抽出時間が短く経済的であることから, 試料 No. 1-1 のコーンフレークにおける DNA 抽出精製法の検討では, 試料採取量 4 g の KNG-Gtip 法が最も適していると考えられた.

そこで, この方法を用いて, 他のコーンフレーク (試料 No. 1-2, 1-3, 1-4 および 1-5) の DNA 抽出精製を行った. その結果, 得られた DNA 試料原液の濃度は, おおむね 3~5 ng/ μ L であり, A_{260}/A_{230} は 0.4~0.7, A_{260}/A_{280} は 1.1~1.3 であった (Table 1). PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子については, 試料 No. 1-4 では 2 回 (Fig. 2, 1-4 KNG 4 g), 試料 No. 1-3 および 1-5 では 3 回の抽出すべてで検出された (Fig. 2, 1-3 KNG 4 g, 1-5 KNG 4 g), 試料 No. 1-2 のみについては, 3 回の抽出すべてで *Zein* 遺伝子は不検出であった (Fig. 2, 1-2 KNG 4 g). コーンフレークは, コーングリッツを蒸気加熱した後, ローラーでつぶしフレーク状にしたものを焼き上げて製造されている. 試料 No. 1-2 については, いずれかの製造工程において, 加圧もしくは加熱処理されることにより, *Zein* 遺伝子が PCR 増幅しえない状態にまで DNA が損傷を受けていることが推測された. しかしながら, 試料採取量 4 g の KNG-Gtip 法は, *Zein* の検出率において 5 試料中 4 試料で良好な結果が得られていることから, コーンフレークからの DNA 抽出精

No.1 Corn flake

L	P	1-1 MHLW			1-1 KNG2g			1-1 KNG3g			1-1 KNG4g			L
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
		-	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+

1-1 ALG2g			1-1 ALG4g			P	L
1	2	3	4	5	6		
-	-	-	+	+	+

L	P	1-2 KNG4g			1-3 KNG4g			1-4 KNG4g			1-5 KNG4g			L
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
		-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+	+	

No.2 Jumbo corn

L	P	2-1 JAS			2-1 KNG2g			2-1 KNG3g			2-1 KNG4g			L
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
		-	-	-	-	+	+	+	+	-	+	+	+

L	P	2-1 ALG2g			2-1 ALG4g		
		1	2	3	4	5	6
		+	+	-	+	-	+

L	P	2-2 KNG4g			2-3 KNG4g			2-4 KNG4g			L
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	
		+	+	+	+	+	+	+	+	+	

No.3 Corn starch

L	P	KNG4g		
		1	2	3
		+	+	+

Fig. 2. Agarose gel electrophoresis of PCR products amplified from genomic DNA extracted from corn flake, Jumbo corn and corn starch

L: 100 bp ladder; P: control plasmid; MHLW: MHLW G-tip method; KNG: KNG G-tip method; ALG: ALG G-tip method; JAS: JAS G-tip method

製法として有用であると考えられた。

2. ジャンボコーン

ジャンボコーンは、トウモロコシ穀粒を加圧し製造したスナック菓子であり、GM 食品検査においては *Zein* 遺伝子の PCR 増幅が困難であることから、「検知不能」の判定

結果となる頻度が高い食品である¹⁾。

コーンスナック菓子の試料調製法および DNA 抽出精製法については、厚労通知法には JAS ハンドブックを準用することが記載されている。JAS ハンドブックに記載されている試料調製法の多くは、試料に水を加えてホモジネート処理を行う方法であり、それらの操作は、MHLW-Gtip 法および ALG-Gtip 法で行われている試料調製法、すなわち乾燥状態のまま粉碎処理を行う方法に比べ煩雑である。また、DNA 抽出精製法についても、JAS ハンドブックに記載されている Gtip 法 (JAS-Gtip 法)、は DNA 精製過程においてチューブを 2 本に分けて DNA の沈殿を行うなどの煩雑な操作を伴ううえ、JAS-Gtip 法を用いてジャンボコーンから DNA を抽出精製した場合には、抽出 DNA 濃度は低く、*Zein* 遺伝子も不検出となることが多かった。そこで、操作を簡略化し、ジャンボコーンから抽出される DNA 濃度および *Zein* 遺伝子の検出率を増大させることを目的として検討を行った。

はじめに、試料 No. 2-1 のジャンボコーンについて、現行法である JAS-Gtip 法を用いて DNA の抽出精製を行った。試料調製はポップコーンの試料調製法を適用し、試料の 3 倍重量の水を加えてホモジネート処理を行った。その調製試料 2 g を採取し、DNA の抽出精製を行った結果、得られた DNA 試料原液の濃度は 2 ng/μL と低濃度であり (Table 1)、PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子は 3 回の抽出すべてで不検出であった (Fig. 2, 2-1 JAS)。

そこで、ALG-Gtip 法および KNG-Gtip 法を用いて DNA 抽出精製法の検討を行った。試料調製は、コーンフレークの場合と同様、乾燥状態のまま粉碎処理を行った。その結果、試料採取量 2 g の ALG-Gtip 法を用いた場合には、 A_{260}/A_{230} および A_{260}/A_{280} は JAS-Gtip 法とほぼ同等であったが、DNA 試料原液の濃度は 1.2 ng/μL であり、JAS-Gtip 法を用いた場合よりもさらに低濃度であった (Table 1)。一方、試料採取量が 4 g の ALG-Gtip 法を用いた場合には、 A_{260}/A_{230} は JAS-Gtip 法よりも低値であったが、DNA 試料原液の濃度は 8.2 ng/μL となり、JAS-Gtip 法の 4 倍以上に増大した (Table 1)。また、KNG-Gtip 法を用いて DNA の抽出精製を行った場合には、2 g、3 g または 4 g の試料から 14.2~17.5 ng/μL の DNA 試料原液が得られ、その濃度は JAS-Gtip 法の 7~8.5 倍であった。 A_{260}/A_{230} および A_{260}/A_{280} については、JAS-Gtip 法と同等以上であった (Table 1)。

これらの ALG-Gtip 法および KNG-Gtip 法を用いて抽出精製した DNA 試料原液について、*Zein* 遺伝子を PCR 増幅した結果、試料採取量 4 g の KNG-Gtip 法のみで、3 回の抽出すべてにおいて *Zein* 遺伝子が検出された (Fig. 2, 2-1 KNG 4 g)。その他の ALG-Gtip 法および KNG-Gtip 法では *Zein* 遺伝子は 3 回の抽出中 2 回で検出された (Fig. 2, 2-1 ALG 2 g, 2-1 ALG 4 g, 2-1 KNG 2 g, 2-1 KNG3 g)。これらの試料 No. 2-1 のジャンボコーンにおける DNA 抽出精製法の検討結果から、DNA 試料原液濃度

および *Zein* 遺伝子の検出率が、JAS-Gtip 法および ALG-Gtip 法と比較して高かった試料採取量 4 g の KNG-Gtip 法が、DNA 抽出精製法として最も適していると考えられた。

そこで、試料採取量 4 g の KNG-Gtip 法を用いて、他のジャンボコーン（試料 No. 2-2, 2-3 および 2-4）について、DNA の抽出精製を行った。その結果、DNA 試料原液濃度は 5~15 ng/ μ L、 A_{260}/A_{230} は 0.3~0.5、 A_{260}/A_{280} は 1.3~1.4 であった (Table 1)。また、PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子は、いずれのジャンボコーンから得られた DNA 試料液についても 3 回の抽出すべてで検出された (Fig. 2, 2-2 KNG 4 g, 2-3 KNG 4 g, 2-4 KNG 4 g)。

以上の結果から、試料採取量 4 g の KNG-Gtip 法は、ジャンボコーンの DNA 抽出精製法としても有用であることが確認された。

3. コーンスターチ

厚生労働省は、コーンスターチを DNA の抽出が困難な食品であるとし、GM 食品検査の対象から除外している。これまでの検討結果により、試料 4 g 採取の KNG-Gtip 法は、DNA 抽出が困難なコーンフレークおよびジャンボコーンからの DNA 抽出精製法として、有用であることが明らかになった。そこで、同試験法についてコーンスターチへの適用を試みた。その結果、抽出 DNA 濃度は 1.3 ng/ μ L と極めて低濃度であったが (Table 1)、PCR 増幅後の *Zein* 遺伝子は、3 回の抽出すべてにおいて明瞭なバンドが検出され (Fig. 2, KNG 4 g)、今回試料とした No. 3 のコーンスターチについては、試料採取量 4 g の KNG-Gtip 法は、適用可能であることが確認された。しかしながら、コーンスターチはトウモロコシデンプンを精製した食品であることから、コーンスターチにおける *Zein* 遺伝子の検出率は、トウモロコシ組織等の混入量に依存することが考えられる。したがって、今後、さらに多製品のコーンスターチについて、検討することが必要であると考え

ま と め

DNA 抽出が困難なトウモロコシ加工食品（コーンフレークおよびジャンボコーン）の DNA 抽出精製法として、イオン交換樹脂タイプキットを用いた DNA 抽出精製法を検討した。その結果、乾燥状態のまま粉碎処理を行った試料（または試料粉末）4 g を採取し、KNG-Gtip 法を用いて DNA の抽出精製を行う方法は、現行法である厚労通知法または JAS ハンドブック法に比べ、抽出 DNA 濃度および *Zein* 遺伝子の検出率ともに高かった。また、DNA 回収が極めて困難とされるコーンスターチについても、本検討に用いた試料においては、本法が適用可能であった。以上の検討結果より、DNA 抽出が困難なトウモロコシ加工食品の DNA 抽出精製法として、試料 4 g 採取の KNG-Gtip 法は有用であると考え

本研究の一部は、神奈川県衛生研究所経常研究費および平成 18 年度厚生労働科学研究費（食品・安全確保研究事業費）により実施した。

文 献

- 1) Ohmori, K., Tsuchiya, H., Kishi, H., Yamada, T., Hirayama, K., Satoh, S. Investigation on the qualitative and quantitative analysis of genetically modified foods in Kanagawa Prefecture (2002). Kanagawaken Eiseikenkyusho Kenkyuhoukoku (Bulletin of Kanagawa Prefectural Institute of Public Health), **33**, 111-113 (2003).
- 2) Ohmori, K., Tsuchiya, H., Vronbunyapad, P., Kishi, H., Yamada, T., Hirayama, K., Satoh, S. Investigation on the qualitative and quantitative analysis of genetically modified foods in Kanagawa Prefecture (2003). Kanagawaken Eiseikenkyusho Kenkyuhoukoku (Bulletin of Kanagawa Prefectural Institute of Public Health), **34**, 56-58 (2004).