

# 秋田県における豆腐類および原料大豆の遺伝子組換え体の検知状況

松淵亜希子 小林 淑子 武藤 倫子

秋田県における遺伝子組換え食品の流通実態を把握する一環として、県内で製造・販売されている豆腐類、その原料である大豆穀粒の遺伝子組換え体について調査した。

はじめに、秋田県内で製造・販売されている豆腐類48検体を購入し、定性 PCR 法によるスクリーニング試験を行った。その結果48検体中42検体が陽性であった。次に豆腐製造業者から大豆穀粒38検体の提供を受け、遺伝子組換え体の混入率を求めたところ、すべて5%以下であった。また IP ハンドリングも適切に行われており、表示に関する問題はなかった。

キーワード：遺伝子組換え食品、豆腐類、大豆穀粒、混入率、IP ハンドリング

## I はじめに

近年、組換え DNA 技術を応用した農作物とその加工食品（以下遺伝子組換え食品と略す）の開発や実用化が、国際的に広がっている。日本においても研究・開発が行われているが、食用作物の商業栽培までには至っていない。したがって、遺伝子組換え作物は国産品ではなく輸入品にみられるのが現状である。

遺伝子組換え作物は、厚生労働省による安全性審査が行われ認可されないと国内で流通することはできない。現在、安全性審査を終了した遺伝子組換え作物は6作物61品種にのぼる<sup>1)</sup>。安全性審査が義務化された平成13年度当初の6作物35品種に比べて約2倍の品種数であり、今後も増加すると予想される。認可された作物（じゃがいも、大豆、てんさい、とうもろこし、なたね、わた）のうち、大豆、とうもろこし等は国内の自給率が非常に低く、大部分が輸入に依存している。主要な輸入先はアメリカ、カナダ等であり、これらの国々では遺伝子組換え品種の作付け面積が増加傾向にある<sup>2)</sup>。これらの状況から、遺伝子組換え食品は確実に身近なものになりつつあり、今後、より国民の食生活に浸透していくと考えられる。

大豆は日本型の食生活には欠かせない加工食品の原料であり、伝統的になじみが深い。日本での大豆の用途は食用油用が全体の8割を占め、残りの2割が食品用で豆腐類の用途が最も多い<sup>3)</sup>。

そこで、県内における遺伝子組換え食品の流通実態を把握する一環として、県内で製造されている大豆加工食品（主に豆腐類）とその原料である大豆穀粒について、遺伝子組換え体の含有状況を調査した。調査は、安全性審査が義務化された当時にいち早く認可され、現在、流

通の大半を占めているラウンドアップ・レディー大豆（Roundup Ready Soybean 40-3-2系統、以下 RRS と略す）について行った。

## II 方法

### 1. 豆腐類の定性 PCR 法によるスクリーニング試験

#### 1) 試料

秋田県内で製造された大豆加工食品48検体について調査した。内訳は、豆腐40検体（もめん豆腐33、絹ごし豆腐4、充填豆腐1、寄せ豆腐2）、油揚げ類1検体、豆腐カステラ6検体、おから1検体の計48検体である。

検体は平成15年1月から3月にかけて、秋田県内の百貨店、スーパーマーケット等で購入した。購入した検体の製造業者数は37業者で、同じ業者から複数の検体を購入している場合がある。

#### 2) 試験方法

試験方法は 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」<sup>4)</sup> 及び厚生労働省通知「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」<sup>5)</sup> に準拠し、定性 PCR 法を用いて RRS の検知を行った。

#### (1) 試薬

用いた試薬は、特級イソプロピルアルコール、特級エタノール、50xTAE 緩衝液（以上和光純薬）、DNA 抽出キット QIAGEN Genomic-tip、ProteinaseK、RNase（以上 QIAGEN）、AmpliTaq Gold & 10xPCR Gold Buffer/MgCl<sub>2</sub> with dNTP（Applied Biosystems）、内在性遺伝子 Le1用プライマー・Le1-n02、組換え遺伝子 RRS 用プライマー・RRS-01、

陽性対象コントロールプラスミド（以上 NIPPON GENE）、AgaroseL03、100bp DNA Ladder（以上 Takara）、エチジウムブロミド（フナコシ）である。水は超純水をオートクレーブ処理したものを使用した。

## (2) 検体の前処理と DNA 溶液の調製

検体を乳鉢・乳棒で磨りつぶして均一にした後、DNA 抽出キット QIAGEN Genomic-tip により DNA を抽出した。得られた DNA 原液を滅菌水で希釈し、260nm、280nm の各吸光度を測定した。280nm に対する260nm の吸光度の比（A260/A280）から、DNA の純度を求め、PCR に使用できる質であることを確認した。260nm の吸光度から DNA 濃度を求め、10ng/ $\mu$ L に調製し、PCR の鋳型として用いた。調製した DNA 溶液は PCR に用いるまでは、 $-20^{\circ}\text{C}$  で保存した。

## (3) PCR 条件と RRS の検知

PCR 反応液は1反応あたり、各終濃度（1xPCR 緩衝液、dNTP 0.2mmol/L、MgCl<sub>2</sub> 1.5mmol/L、プライマー0.5  $\mu$ mol/L、TaqDNA ポリメラーゼ 0.625units、鋳型 DNA 1ng/ $\mu$ L）になるよう混合して全量25  $\mu$ L とし、PCR を行った。

反応条件は95 $^{\circ}\text{C}$ で10分間反応後、95 $^{\circ}\text{C}$ 30秒、60 $^{\circ}\text{C}$ 30秒、72 $^{\circ}\text{C}$ 30秒を1サイクルとして40サイクルを繰り返し、次いで72 $^{\circ}\text{C}$ で7分間反応後、4 $^{\circ}\text{C}$ で冷却保持した。使用した装置は PROGRAM TEMP CONTROL SYSTEMS PC-700（アクテック）である。

PCR 反応後、4%アガロースゲルに PCR 反応液を付加し、TAE 緩衝液中、100V 定電圧で電気泳動を行った。次に、泳動後のゲルをエチジウムブロミドで染色し、UV 照射装置上で観察し、写真撮影を行った。陽性コントロールと同じ121bp の断片が観察された場合に、RRS を含有していると推察した。

また、内在性遺伝子 Le1 の検知も行い、DNA 抽出や PCR 反応に支障のないことを確認した。48検体すべてに Le1 が検知された。

## 2. 大豆穀粒の定量 PCR 法による RRS 混入率の算出

### 1) 試料

秋田県内の豆腐製造業33業者から提供された大豆穀粒38検体を調査した。複数の種類の大豆を配合している業者もあり、その場合はすべての種類の大豆、または配合済みの混ざった状態の大豆を提供してもらった。33業者のうち、29業者がスクリーニング試験を実施した検体の業者と重複した。

平成15年6月、11~12月の2期にわたり検体を受けた。

### 2) 試験方法

試験方法は 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」<sup>4)</sup>、厚生労働省通知「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」<sup>6)</sup>、<sup>7)</sup> に準拠した。

#### (1) 試薬

用いた試薬は、特級イソプロピルアルコール、特級エタノール（以上和光純薬）、DNA 抽出キット DNeasy Plant Maxi kit、ProteinaseK、RNase（以上 QIAGEN）、TaqMan<sup>TM</sup> Universal PCR Master Mix（Applied Biosystems）、内在性遺伝子 Le1 用プライマー・プローブ、組換え遺伝子 RRS 用プライマー・プローブ、ダイズ用標準プラスミドセット（以上 NIPPON GENE）である。水は超純水をオートクレーブ処理したものを使用した。また TE 緩衝液を調製し、オートクレーブ処理して使用した。

#### (2) 検体の前処理と DNA 溶液の調製

検体を粉砕器で粉砕して均一にした後、DNA 抽出キット DNeasy Plant Maxi kit で DNA を抽出した。抽出して得た DNA 原液を滅菌水で希釈し、260nm、280nm の各吸光度を測定した。280nm に対する260nm の吸光度の比（A260/A280）から DNA の純度を求め、PCR に使用できる質であることを確認した。260nm の吸光度から DNA 濃度を求め、20ng/ $\mu$ L に調製し、PCR の鋳型として用いた。調製した DNA 溶液は PCR に用いるまでは、 $-20^{\circ}\text{C}$  で保存した。

#### (3) PCR 条件と混入率の算出

PCR 反応液は1反応あたり、TaqMan<sup>TM</sup> Universal PCR Master Mix 12.5  $\mu$ L を加え、その他の試薬は各終濃度（プライマー0.5  $\mu$ mol/L、プローブ0.2  $\mu$ mol/L、鋳型 DNA 2ng/ $\mu$ L）になるように混合して全量25  $\mu$ L とし、リアルタイム定量 PCR を行った。

反応条件は50 $^{\circ}\text{C}$ で2分間反応後、95 $^{\circ}\text{C}$ で10分間保持した。次いで95 $^{\circ}\text{C}$ 30秒、59 $^{\circ}\text{C}$ 1分間を1サイクルとして40サイクルの増幅反応を行った。装置は ABI PRISM 7000（Applied Biosystems）を用いた。

反応終了後、Le1 及び RRS のコピー数を求め、そのコピー数を検査法に示されている計算式に代入し、混入率（%）を算出した。

定量限界は0.1%であった。0.1%未満の場合を定量限界以下とし、RRS の増幅曲線が得られない場合を不検出とした。また混入率は、少数点第2位を

四捨五入した。

### Ⅲ 結果および考察

#### 1. 豆腐類の定性 PCR 法によるスクリーニング試験

はじめに、豆腐類の遺伝子組換え体の含有状況を知るため、定性 PCR 法により RRS の有無を調査した。

遺伝子組換え体の有無を把握するためには、DNA の分解が少ない未加工のサンプルで調べるのが望ましい。しかし定量分析には適さないものの、定性分析で DNA の検出が可能な品目に、豆腐類、煮豆、大豆缶詰、大豆粉等があり<sup>8), 9)</sup>、今回、状況を知る上では豆腐類を用いても差し支えないと判断した。

豆腐類の RRS の検知結果を表 1 に示した。豆腐類 48 検体中 42 検体から RRS が検知され、検知率は 87.5% であった。この結果から、RRS を含む豆腐類が流通していること、輸入大豆を原料とした製品が多いことが示唆された。

また遺伝子組換え食品の表示は、JAS 法と食品衛生法により定められており<sup>10), 11)</sup>、この両法の表示方法によると、本検体の表示は 48 検体すべて任意表示に該当した。

分別された遺伝子組換え作物や組換え・非組換えが不分別の作物を原材料とした食品には「遺伝子組換え」「遺伝子組換え不分別」の表示が義務づけられている。分別された非遺伝子組換え作物を原材料とした食品は、「遺伝子組換えでない」と任意での表示ができる(図)。

分別された遺伝子組換え作物と非遺伝子組換え作物は、生産・流通の各段階で、組換え・非組換え品種が互いに混入することを防ぎ、その状況を書類等で証明する管理方法である分別生産流通管理 (Identity Preserved Handling: 以下 IP ハンドリングと略す) を受けていなければならない<sup>12)</sup>。

生産国の生産・流通実態から、適切に IP ハンドリングが行われた非遺伝子組換え作物であっても、遺伝子組換え作物の意図しない混入の可能性は否定できないのが実状である。日本では、その混入の許容範囲の上限を「混入率 5%」と設定している。混入率 5% 以下におい

表 1 豆腐類の定性 PCR 法によるスクリーニング試験

品目	検体数	陽性	陰性
もめん豆腐	33(4)	29(2)	4(2)
絹ごし豆腐	4	4	0
充填豆腐	1	1	0
寄せ豆腐	2(1)	1(0)	1(1)
油揚げ類	1	1	0
豆腐カステラ	6	5	1
おから	1	1	0
計	48(5)	42(2)	6(3)

\* ( ) 内は「国産大豆 100% という趣旨の表示のあったものの検体数

### 図 遺伝子組換え食品の表示制度の概要

1. 従来のもとの組成、栄養価が同等のもの  
(除草剤耐性大豆、害虫抵抗性とうもろこし等)

◆農産物及びこれを原材料とする加工食品であり、加工後も組み換えられた DNA またはこれによって生じたタンパク質が残存するもの (豆腐類、コーンスターチ等)

① IP ハンドリングが行われた遺伝子組換え作物を原材料とする場合

義務表示 例: 大豆 (遺伝子組換え)

② 遺伝子組換え作物と非遺伝子組換え作物が分別されていないものを原材料とする場合

義務表示 例: 大豆 (遺伝子組換え不分別)

③ IP ハンドリングが行われた非遺伝子組換え作物を原材料とする場合

任意表示 例: 大豆 (遺伝子組換えでない)

◆組み換えられた DNA 及びこれらによって生じたタンパク質が、加工後に残存しない加工食品 (大豆油、醤油、コーン油、異性化液糖等)

任意表示 例: 大豆 (遺伝子組換えでない)  
大豆 (遺伝子組換え不分別)

2. 従来のもとの組成、栄養価が著しく異なるもの  
(高オレイン酸大豆)

義務表示 例: 大豆 (オレイン酸遺伝子組換え)

て任意表示となるが、適切に IP ハンドリングが行われていなかったり、混入が故意にあったりした場合は、不分別の扱いとなる。

したがって、この定性 PCR 法によるスクリーニング試験からは混入率がわからないので、48 検体の表示が適切か否かはこの時点での判断はできない。今回の結果では、検体の約 9 割で遺伝子組換え体が検知されたことから、生産・流通全段階においての原料大豆の取り扱い等では、完全な IP ハンドリングの実施の徹底が困難であることが推察された。

陽性だった検体のうち、2 検体に「国産大豆 100% 使用」という主旨の表示がされていた。現在国内では組換え品種は生産されていないため、国産作物は IP ハンドリングの対象にはならない。ただし、原料大豆の流過程において輸入品も取り扱う業者が加わる場合は、その業者から後の流通段階で、IP ハンドリングが必要となる。したがって、「国産大豆 100% 使用」の検体が陽性であっても、混入率、IP ハンドリング証明書を確認しなければ、表示が適切か否かは判断できない。

このスクリーニング試験結果の段階で、「国産大豆 100% 使用」の検体から組換え体が検出された理由を推察してみると、①流通および加工の段階で、故意または不注意で組換え大豆や不分別大豆が混入していたこと、②混入率 5% 以下の意図しない混入であったこと、③国産・輸入大豆の両方を取り扱っている場合、同じ製造ラインを使用したため混入してしまったことが挙げられる。

③の同一製造ラインの併用からの混入については、平成14年度の農林水産省の調査において、「有機」とうたった豆腐・納豆製品から遺伝子組換え体が検出された問題で、製造ラインの併用で残留物が混入したことが原因となった事例がある<sup>13)</sup>。

このような結果から、意図しない混入であっても、その混入割合を少なくするために、流通過程に加えて製造過程においても、より厳しい管理が求められてきていることが示唆された。また、遺伝子組換え食品の流通状況や表示内容を調べたりする上で、混入率、IPハンドリング証明書に加えて、製造工程の調査も重要であると考えられた。

その後の県の調査により、「国産大豆100%使用」の検体が陽性となった原因は、輸入大豆と同じラインで製造したためであり、国産大豆への混入が原因ではないことが確認された。またIPハンドリングや表示も適正であることも確認された。

## 2. 大豆穀粒の定量PCR試験によるRRS混入率の算出

スクリーニング試験の結果からRRSの存在が示唆されたので、今度は未加工である大豆穀粒の段階における遺伝子組換え体の検知状況を把握するために、混入率を調査した。試料の大豆穀粒は、豆腐製造業者から提供を受けた38検体で、輸入品が36検体、国産品が2検体であった。

検査の結果、算出された混入率を表2に示す。混入率が算出できたのは26検体、定量限界以下は6検体、不検出は6検体であった(表3)。混入率の範囲は0.1~1.1%であり、平均値は0.38%(26検体分)であった。38検体について、すべてRRSの含有量が5%以下であったことから、適切にIPハンドリングが行われていたものと推察された。また、不検出の6検体のうち、国産品2

表2 原料大豆の混入率(1)

検体No.	混入率	検体No.	混入率
1	<0.1%	20	ND
2	<0.1%	21	<0.1%
3	0.4%	22	ND
4	<0.1%	23	ND
5	0.7%	24	0.9%
6	0.5%	25	0.2%
7	0.6%	26	0.2%
8	0.6%	27	0.2%
9	0.3%	28	0.5%
10	0.3%	29	ND
11	0.1%	30	0.6%
12	0.1%	31	0.2%
13	0.4%	32	0.1%
14	0.4%	33	0.2%
15	0.1%	34	<0.1%
16	0.3%	35	0.1%
17	0.1%	36	1.1%
18	ND	37	<0.1%
19	ND	38	0.8%

ND：不検出

表3 原料大豆の混入率(2)

項目	検体数	混入率	
		範囲	平均
1%以上	1		
0.5%以上1%未満	8	0.1-1.1%	0.38%
0.5%未満	17		
定量限界以下	6		
不検出	6		
計	38		

検体が含まれたが、現在国内では遺伝子組換え大豆は生産されておらず、この事実を支持するものであると考えられた。

実際、県で行った大豆の流通ルートや製造施設、記録・書類等の調査の結果、すべての事業所においてIPハンドリングに関する問題はなかった。また、これらの事業所の製品の表示は任意表示に該当しており、この調査で適正な表示であることが確認できた。

日本の「意図せざる混入率5%」は、混入率を設定している他国(EU、ロシア:0.9%、韓国:3%等)に比べて、比較的高い値である<sup>14)</sup>。本結果のRRS混入率は0.1~1.1%で、2%以下の範囲である。他の調査でもサンプリング方法は異なるものの、分別された非遺伝子組換え大豆の場合の混入率は同様の傾向であり<sup>15)</sup>、5%に近い値はみられない。このことから、日本と各国の諸事情や各流通段階での輸送規模等を考慮に入れる必要があるが、混入率の値を5%よりも低く設定し、維持管理することは不可能ではないと思われる。

今回は表示との関連も調査するために製造業者段階からの大豆穀粒を調査した。製品の品質を維持するため、原料の品種を変えたり、配合比率を調整したり等の業者側の事情や検査自体の効率性を考慮すると、問屋等の上流の段階における混入率を求めるとも、遺伝子組換え食品の流通実態の把握に寄与すると考えられた。このことは末端の混入率の推測にも有用な手がかりになると思われる。

遺伝子組換え食品の検査は、IPハンドリング証明書の確認と混入率算出が大きな枠組であるが、実際に本調査を実施してみて、作物毎の輸入形態や流通形態、またどのような商品になるのか等の情報も、遺伝子組換え体の検知状況を知る上で重要であった。

科学技術の発展や国際化の進展で食生活をとりまく環境が大きく変化する中、ここ数年、BSE問題や輸入野菜の残留農薬問題等が相次いで発生し、食品の安全性に対する消費者の関心は非常に高まっている。国においても、食品安全基本法を平成15年に制定し、食品の安全性の確保に関する施策を総合的に推進することを掲げている。このような背景をふまえて、本調査の結果が、消費

者にとって、食品の安全性に関する理解を深めたり、知識を広げるための一助になれば幸いである。

#### IV まとめ

1. 豆腐類でのスクリーニング試験の結果、48検体中42検体から RRS が検知され、検知率は87.5%であった。この結果から、RRS を含む豆腐類が流通していること、輸入大豆を原料とした製品が多いことが示唆された。
2. 秋田県内の豆腐業者から集めた大豆穀粒38検体（輸入品が36検体、国産品が2検体）について、遺伝子組換え大豆の混入率を求めた。結果、混入率5%を超える検体は無かった。
3. 県による大豆の流通ルートの確認や製造施設への聞き取り、IP ハンドリング状況の調査から、検査対象となったすべての事業所で IP ハンドリングが適切に行われていた。また製品の原材料に関する表示についても適切であることが確認された。

#### 謝 辞

本稿を終えるにあたり、検体の収集や情報提供などに御助言、御協力いただいた農林水産部流通経済課及び秋田市保健所の方々、また快く検体を提供して下さいました豆腐製造業者の関係者の方々に、深く感謝いたします。

#### 参考文献

- 1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部. 安全性審査の手続を経た遺伝子組換え食品及び添加物一覧（平成17年4月7日現在）
- 2) James, C. 2004. Preview : Global Status of Commercialized Biotech/GM Crops:2004. ISAAA Briefs No.32.
- 3) 農林水産省. 大豆関連データファイル  
<http://www.maff.go.jp/soshiki/nousan/hatashin/>

[daizu/tisiki/kakou.html](http://daizu/tisiki/kakou.html)

- 4) 独立行政法人農林水産消費技術センター. JAS 分析ハンドブック「遺伝子組換え食品検査・分析マニュアル第2版」
- 5) 厚生労働省食品保健部長通知. 「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」平成14年4月30日付食発第0430001号
- 6) 厚生労働省食品保健部長通知. 「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」平成15年6月18日付食発第0618001号
- 7) 厚生労働省食品保健部長通知. 「組換え DNA 技術応用食品の検査方法について」平成15年11月13日付食発第1113001号
- 8) 農林水産省. 遺伝子組換え食品部会における技術的検討のための小委員会報告資料（平成11年7月13日）
- 9) 森田正晶, 他. 遺伝子組換え体に関する調査研究（第1報）農林水産消費技術センター調査研究報告, 1999; 23: 9-16.
- 10) 農林水産省告示第517号 遺伝子組換えに関する表示に係る加工食品品質表示基準第7条第1項及び生鮮食品品質表示基準第7条第1項の規定に基づく農林水産大臣の定める基準 平成12年3月31日
- 11) 厚生省告示第232号 食品、添加物などの規格基準の一部改正 平成12年5月1日
- 12) 農林水産省総合食料局品質課、財団法人食料産業センター. アメリカ及びカナダ産のバルク輸送非遺伝子組換え原料（大豆・とうもろこし）確保のための流通マニュアル
- 13) 農林水産省総合食品局. プレスリリース有機大豆使用食品緊急調査の結果について 平成14年10月30日
- 14) 農林水産省国際政策課. 海外農業情報  
<http://www.maff.go.jp/kaigai/index.htm>
- 15) 門間公夫, 他. 食品からの遺伝子組換え体の検知状況 食衛誌, 2004; 45(4): 184-190.