

## (9) 地域資源に特異な DNA 塩基配列の探索・利用技術の開発研究

(令和元年～令和3年度)

### 1. 研究のねらい

塩基配列を指標にした DNA 分析技術により、種、個体、地域集団の識別が可能である。食産業分野では、外観で識別できない原料の種・産地の証明や産生機能の優れた新品種の作出等に DNA 分析技術が利用されている。函館地域では、健康機能成分を多く含む海藻や発酵食品スターターに利用可能な新規な微生物など、ブランド価値を有する新たな地域資源が発掘されており、地域企業が求める加工食品の高付加価値化が図れる資源として期待されている。地域資源に特異な塩基配列を探索・利用できる DNA 分析技術の開発は、地域資源であることの証明や新品種の作出に繋がるものとする。

現在の課題は、函館地域で機能性成分が多く含まれるダルスやアカモク等の海藻やチーズの風味改良に有用な乳酸菌が見出されているが、特異的な塩基配列に関する情報は、ほとんど得られていない。

そこで本研究では、地域資源から DNA を抽出し、塩基配列の解読、他地域産との比較解析により、地域資源に特異な塩基配列を探索し、産地識別等が可能な DNA 分析技術の開発を検討する。また加工食品に適応可能な DNA 分析技術の開発を検討し、地域海藻であるダルスをモデルに適応性を図る。

### 2. 研究の方法

これまでに当センターでは、地域褐藻類のコンブについて、多糖分解酵素を利用した DNA 抽出法とミトコンドリア DNA を利用した地域特異的な塩基配列探索法を構築し、これを基に DNA 分析による原産国判別技術を開発している。そこで今年度は、地域紅藻類であるダルスをモデルに、コンブで構築した DNA 抽出法や地域に特徴的な塩基配列の探索法の適応性について検討した。

#### (1) コンブ DNA 抽出法の適応性

試料には、函館市で採取したダルス3個体の他、海外製品2種類（アイスランド製、カナダ製）の乾燥ダルスを用いた。DNA 抽出は、コンブ DNA 抽出法（既存法）の他、既存法から多糖分解工程を除いた抽出法（改変法）について検討した。各抽出法で調製した DNA の精製度は、ミトコンドリア DNA 上の COX1 遺伝子の一部（約 650 塩基）を増幅するように設計したプライマーを用いた PCR を行い、DNA の増幅性により評価した。

#### (2) ミトコンドリア DNA 利用した地域特異的な塩基配列の探索法の適応性

各産地のダルス DNA から増幅した COX1 遺伝子（約 650 塩基）について、DNA シーケンサーにより塩基配列を解読後、比較解析により産地に特徴的な塩基配列を探索した。

### 3. 研究成果の概要

#### (1) コンブ DNA 抽出法の適応性

ダルスから抽出した DNA を PCR による増幅性で評価した結果、全ての試料で DNA が増幅しており、また既存法と改変法の増幅量に差が見られないことを確認した。この結果から、ダルスにおいても既存法と改変法は適応でき、改変法により簡略化も可能となることが分かった。

#### (2) ミトコンドリア DNA 利用した地域特異的な塩基配列の探索法の適応性

COX1 遺伝子の 609 塩基を解析してダルス試料間の差異を調べた結果、函館産の個体間は 0.2 - 0.3%、

カナダ・アイスランド間は0.5%の違いが見られた。一方、函館・アイスランド間及び函館・カナダ間は、それぞれ9.5 - 9.9%、9.7 - 10.0%の違いが見られ、函館産の遺伝子には海外産と異なる塩基が多く存在することを確認した。

本研究で得られた塩基の差異に関する情報を利用し、次年度は、函館産と海外産を簡便に識別するための技術開発を検討する予定である。

担当者：清水健志、大坪雅史、青木央