

(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 2 年～令和 4 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考えらる。

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

(1) PCR-CAPS 法による産地識別技術の加熱加工食品への適応性

昨年度に構築した函館産及び海外産（カナダ産、アイスランド産）のダルスを識別する技術（PCR-CAPS 法）について、本年度は加熱加工食品への適応性を調査した。加熱加工食品のモデルとして、函館産ダルスを原料にした佃煮（市販冷蔵品）及び当センターのレトルト殺菌機を使用して異なる殺菌強度（ F_0 値 4.1、 F_0 値 6.1、 F_0 値 8.1）で処理した佃煮（レトルト佃煮）を試料として。各試料から抽出した DNA について、昨年度に設計したプライマーを用いて PCR を行った後、函館産の PCR 産物を切断するが、カナダ産及びアイスランド産の PCR 産物を切断しない制限酵素（*Bcl*I）で反応させた後、アガロースゲル電気泳動により PCR 産物の切断の有無を確認した。

(2) 特異的 PCR 法を利用した産地識別技術の構築と加熱加工食品への適応性

PCR-CAPS 法と異なる識別技術として、PCR 産物の有無を指標に識別する方法（特異的 PCR 法）の構築について検討した。昨年度までに取得した函館産及び海外産ダルスの塩基配列情報を基に、函館産のみの DNA を増幅する特異的プライマー及び函館産と海外産の両方を増幅するユニバーサルプライマーを設計し、生及び乾燥のダルスを用いて PCR 条件の適正化を行った。さらに加熱加工食品のモデル試料（佃煮及びレトルト佃煮）から抽出した DNA を用い、特異的 PCR 法による識別技術の適応性を評価した。

3. 研究成果の概要

(1) 制限酵素切断部位の解析

PCR-CAPS 法による産地識別技術の加熱加工食品への適応性

函館産ダルスを原料とした佃煮及び 3 種類のレトルト佃煮から抽出した各 DNA について、PCR-CAPS 法を行った結果、全ての試料で約 200 塩基の PCR 産物を確認し、さらに制限酵素 *Bcl*I により約 140 塩基に切断され、函館産を示す結果が得られた。また PCR 産物の増幅性から、本識別技術を適応できる食品は、殺菌強度が F_0 値 8 程度までであることが分かった。

(2) 特異的 PCR 法を利用した産地識別技術の構築

PCR 条件を検討した結果、特異的プライマーによる PCR 産物は函館産のみで増幅し、ユニバーサルプライマーによる PCR 産物は全ての試料で増幅する技術を構築できた。また殺菌強

度 F_0 値 8.1 のレトルト佃煮の PCR 産物も明瞭に確認できたことから (図 2)、加熱加工食品への適応性は、先に構築した PCR-CAPS 法よりも高いことが分かった。本研究で構築した識別技術を利用することで、地域資源を使用した加工食品の産地証明が可能なものと期待している。

担当者 清水健志、大坪雅史、鳥海滋