

# 食品汚染カビの分子レベルにおける識別・同定システム開発に関する 研究基盤構築

県立広島大学 生命環境学部・助教 有馬 寿英

## ■ 目的

カビの同定はその形態を礎としている。一般的には、形態学的観察による同定法ではその指標が多数あるため、最短でも 14 日程度を必要とする。このため、迅速なリスク評価やその対策、そして商品の出荷判断の妨げとなっている。そこで、DNA 塩基配列が着目され、これが非常に優れた分類・同定指標であることが認められた。DNA レベルにおける代表的な同定指標 (DNA barcode) であり、その汎用性の高さからリボソーム RNA 遺伝子が隆盛を極めているが、近年その特異性の無さが問題視されている。本研究ではモデルカビの一つである黄麹菌 *Aspergillus oryzae* を始めとする *Aspergillus* 属 (有性世代 *Neosartorya* 属など) などが保持する交配型遺伝子をその中枢に置き、交配型遺伝子が保有する高い特異性を利用した新たな DNA barcode による分子レベルにおける属および種レベルでの識別・同定システムの構築を目的とする。

## ■ 方法

本研究における使用菌株 (黄麹菌 *A. oryzae*、黒麹菌 *A. kawachii*、*A. awamori* など) は、主に独立行政法人 酒類総合研究所より分譲していただいた。これらの菌株の培養については、完全培地 (DP 培地、PD 培地など) と最小培地 (CD 培地) を用いた。これらの菌株を培養後、DNA・RNA 抽出、PCR 法などによって交配型遺伝子領域をクローニング、そしてシーケンス解析などによりその解析を行い、Multiplex PCR 法に対応可能なプライマーを設計した。

## ■ 結果および考察

清酒、醤油などの製造に使用されている黄麹菌 *A. oryzae* は交配型遺伝子 (*MAT1-1*、*MAT1-2*) を保持する菌株が存在すること、そしてこれらの交配型遺伝子が発現していることが明らかとなった。さらに、Multiplex PCR 法による交配型遺伝子検定において使用したプライマーは、他の黄麹菌 *A. sojae*、*A. tamarii* などにおいても有効であることが示唆されたが、焼酎などの製造に使用される黒麹菌 *A. kawachii*、*A. awamori* などについてはその有効性が認められなかった。この交配型遺伝子検定に関する結果より、このプライマーを利用した Multiplex PCR 法は黄麹菌と黒麹菌が識別可能であることが示唆される。黒麹菌 *A. kawachii*、*A. awamori* における交配型遺伝子に関する部分塩基配列より、Multiplex PCR 法を利用した交配型遺伝子検定が可能なプライマーを設計、その検証を試みた結果、他の黒麹菌 *A. ficuum*、*A. niger*、*A. usamii* などにおいては適応可能であること、そして黄麹菌 *A. oryzae*、*A. sojae* には適応不可であることが示唆された。このプライマーを利用した Multiplex PCR 法によっても、上述の黄麹菌の場合と同様、黒麹菌と黄麹菌が識別可能であると考えられる。

## ■ 結語

食品・飲料流通のグローバル化により、日本人が消費した経験のない食品・飲料が現在は入手可能となってきている。これらの食品・飲料についての安全性の確保は重要な課題であるため、より高度かつ精密なカビの識別・同定システムの開発が強く求められている状況を鑑みた場合、本研究はそのシステム開発に寄与できると考えられる。