

PCR 法による羊毛とカシミヤの鑑別

家庭用品品質表示法が改正され、繊維製品品質表示規程の中で、従来は、毛の表示しかできなかったものが獣毛の種類を表示することができるようになり、獣毛の鑑別および混用率の測定が増加している。また、羊毛の延伸加工や脱スケール加工などの開発や獣毛の多様化により、よりいっそう高度な鑑別技術が求められてきている。

現在実用化されている獣毛の鑑別は、熟練者による光学顕微鏡を用いた外観観察で行われている。その他、電子顕微鏡を用いた画像処理による方法、アミノ酸分析による方法などの研究も行われているが、どちらも実用化には至っていない。従って、特殊な技能を持つ者以外は鑑別が不可能であり、ここに一般的な分析技術を使用することができれば、熟練者でなくとも獣毛の鑑別および混用率の測定が可能となる。

近年の分子生物学の進歩はめざましく、DNA の解析は医学・農学の分野での研究に用いられているだけでなく、食品の分野では加工食品中に使用される食肉種類の鑑別、遺伝子組み替え大豆やトウモロコシ等の鑑別および定量に既に実用化され、広い分野で一般的に用いられている。また、獣毛の鑑別についても一部報告がある。

そこで、遺伝子増幅技術の一つである PCR 法を用い、それぞれの DNA の違いを分析することにより、羊毛とカシミヤを鑑別する手法を研究した。

まず、市販の食肉検定用キットでの実験を行った。PCR 反応後、電気泳動で確認した結果、羊毛から抽出した DNA およびカシミヤから抽出した DNA を鋳型として、ともに約 359bp の DNA 断片が増幅されたことがわかった。増幅した DNA 断片サンプルを制限酵素で処理した結果、羊毛とカシミヤはそれぞれ異なる長さの断片に切断されていることがわかった(図1)。

羊毛、カシミヤともに抽出した DNA を鋳型として、それぞれに特異的なプライマーを設計して実験を行った。この結果、増幅の有無により鑑別が可能であることがわかった。さらに羊毛とカシミヤから抽出した DNA を

鋳型として増幅する PCR 生成物の断片を異なる長さになるようにプライマーを設計することにより、1 反応液で双方を一度に判定することが可能であることがわかった(図2)。

そこで、羊毛とカシミヤ混の製品から抽出した DNA を鋳型として PCR 反応を行った。その結果、羊毛を含む製品から増幅されると予測できる、約 100bp の断片と、カシミヤを含む製品から増幅されると予測できる約 300bp の断片をともに確認することができた。

食肉検定用キットの共通プライマーを用いて増幅させ、制限酵素で切断しその断片で判定する方法、羊毛・カシミヤにそれぞれ特異的なプライマーを用いて、増幅の有無で判定する方法、ともに鑑別の手法としては可能であることがわかった。しかし、食肉検定用キットを用いる場合、獣毛数種類が混ざり合った試料では、操作としては複雑になる。一方、特異的なプライマーを用いる方法のほうが制限酵素による処理を必要としないため、より簡便である。従って、PCR 法を用いた羊毛とカシミヤの鑑別には、種に特異的なプライマーを用いて行う方法がより適していると考えられる。

また、羊毛とカシミヤそれぞれに特異的なプライマーを、PCR 生成物の断片長さが異なるよう設計することにより、2 種類以上の DNA が混在していても、1 反応液中で一度に2種類以上の獣毛の鑑別ができることもわかった。

(尾張繊維技術センター 福田ゆか)



図1. 食肉検定用キットによる鑑別

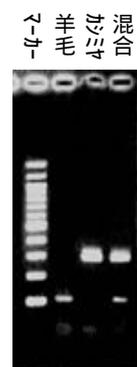


図2. 種に特異的なプライマーによる鑑別