

## DNA解析を用いた微生物の同定試験について

### 1. はじめに

食品工業技術センターでは県内企業に対する技術支援の一環として、DNA解析を用いた微生物の同定試験を行っています。本試験で得られた微生物の種名を基に論文やデータベースなど既知の情報を参照することで、様々な情報が得られます。例えば、微生物による汚染問題発生時には有効な再発防止対策を調べたり、新たに分離した有用微生物を使った新製品開発時にはその微生物が食経験のある種かどうかを調べ、安全性を確認したりといったことができます。

### 2. 試験方法

当センターでは、細菌の同定は16SrDNAの部分塩基配列(約800塩基)を、カビおよび酵母の同定は28SrDNAのD1/D2ドメインの部分塩基配列(約600塩基)を、増幅・配列決定して行っています。分析手順は、①微生物試料からDNAを抽出する、②16SrDNAまたは28SrDNAをPCRにより増幅する、③DNAシーケンスにより塩基配列データを取得する、④得られた塩基配列についてデータベース検索し相同性により種を特定する、の4段階です(図1)。

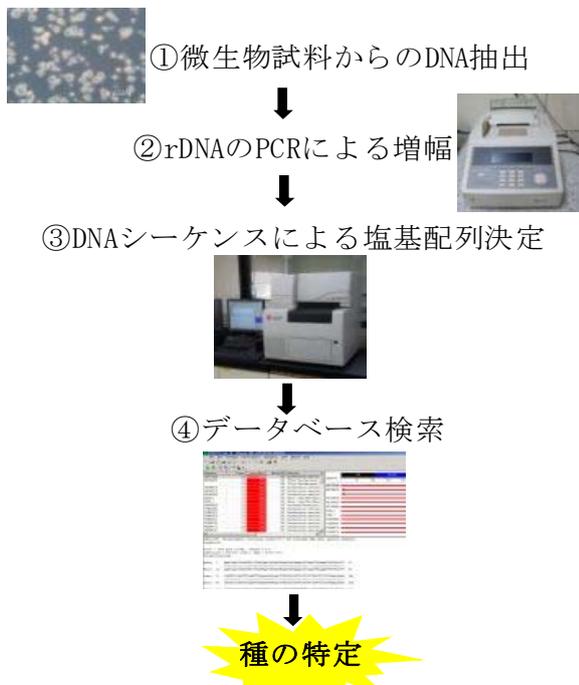


図1 DNA解析による微生物同定フロー

当センターで扱う微生物試料はシャーレ上に単離された微生物コロニーでない場合が多いため、DNA解析と併用して顕微鏡による形態観察等を行い、慎重に判断することに努めています。

### 3. 適用事例

当センターが本試験を適用した技術支援事例を2つ紹介します。

#### 3-1. 農産物粉末加工品の部分変色の原因究明

変色した部分を顕微鏡観察したところ、多数の細菌の存在が認められたため、変色部分から直接DNAを抽出して16SrDNAの部分領域を増幅し、塩基配列を決定しました。その結果、*Pseudomonas fluorescens*の配列と100%一致しました。本細菌の生育可能な最低水分活性が0.97であること、変色した部分と正常な部分の水分測定値に差があることから、製造工程中に水分が混入したことが原因であると推定されました。

#### 3-2. 清酒酵母「五条川桜」の開発と純米酒「おぐち」の商品化

本県の地域産業資源である「五条川の桜並木」の花からアルコール耐性の高い2株の酵母が分離されたため、酵母のコロニーから直接



図2 五条川の桜並木と開発商品「おぐち」

DNAを抽出して28SrDNAの部分領域を増幅し、塩基配列を決定しました。その結果、2株とも、清酒、ビール、ワイン及びパンなどの食品製造に用いられる*Saccharomyces cerevisiae*の配列と100%一致しました。本酵母を育種改良により香味を改良して清酒酵母「五条川桜」を開発し、この酵母を用いて醸造した純米酒「おぐち」が商品化されました(図2)。

### 4. おわりに

このように、DNA解析を用いた微生物の同定試験は、衛生管理や微生物を使った新製品開発などの一助となります。ぜひご利用ください。



食品工業技術センター 発酵バイオ技術室 小野奈津子 (052-521-9316)  
 研究テーマ：花酵母の迅速なアルコール飲料適性評価法の確立  
 担当分野：発酵調味食品の製造技術、遺伝子解析技術