食品汚染微生物の迅速同定技術

食品を汚染する微生物の種を明らかに同定することは、病原性の有無が確認できるばかりでなく、汚染原因を解明するうえでも重要です。このように、安全な食品の効率よい生産につながるため、食品汚染微生物の同定が行われてきました。

微生物の同定は、形態学的性状（コロニーの色や形、細胞や胞子の大きさや形等）や生理・生化学的性状（生育条件、代謝活性等）に基づいて従来行われていました。しかし、形態学的性状や生理・生化学的性状に基づく同定法には、①熟練した技術が必要であり（専門的）、②微生物依存的あるいは人為的誤差が生じる可能性があり（不正確）、③試験の種類が多く（煩雑）、④結果を得るまでに時間がかかるという問題点があります。そのため、最近、リボゾーム RNA 遺伝子の塩基配列の相同性検索による簡便、迅速かつ正確な微生物同定法が着目されるようになりました。

リボゾーム RNA はリボゾームを構成する分子の１つで、細菌では 23SrRNA、16SrRNA、5SrRNA、糸状菌・酵母では 26SrRNA、18SrRNA、5.8SrRNA、5SrRNA からそれぞれ構成されています。細菌の分類・同定には主に 16SrRNA 遺伝子（約 1,500 塩基）が、糸状菌・酵母の分類・同定では主に 18SrRNA 遺伝子（約 1,800 塩基）と 26SrRNA 遺伝子の D1/D2 ドメイン（約 600 塩基）が一般に用いられています。リボゾーム RNA 遺伝子の塩基配列が微生物の分類の重要な指標として用いられている理由は、①全ての生物に共通に存在していること、②遺伝子中に適度に保存されている領域があり、系統間で比較することができること、③結果に主観が入らないこと、④情報量が他の遺伝子と比べて圧倒的に多いこと、⑤迅速かつ容易に解析を行うことができること、⑥微生物依存的な誤差を考慮しなくてもよいこと等が挙げられます。

通常行われている具体的な実験手法を**図**に示しますが、純化されたコロニーまたは菌体から染色体 DNA を最初に抽出し、PCR（Polymerase Chain Reaction）反応によりリボゾーム RNA 遺伝子を増幅します。次に増幅されたリボゾーム RNA 遺伝子を精製し、その塩基配列を DNA シーケンサーで決定します。そして、得られた塩基配列とデータベースに登録されているリボゾーム RNA 遺伝子の塩基配列との相同性解析を行い、最も相同性の高い微生物を食品汚染微生物と同一（あるいは近縁）とします。

当センターでは、食品汚染微生物からの染色体 DNA 抽出方法を工夫したことによって、食品汚染微生物の同定を最短３日間で行うことができます。これまでに、この方法で 50 株以上の食品汚染微生物や土壌から分離した未知の微生物の同定に成功しています。食品汚染微生物の詳細な同定にはリボゾーム RNA 遺伝子の塩基配列の相同性検索による方法が最適ですが、属までの同定であればそこまでは必要がありません。今後、属までの同定を前提として、より簡便で、より安価に、より短時間で解析できる技術の開発に取り組んでいきたいと考えています。

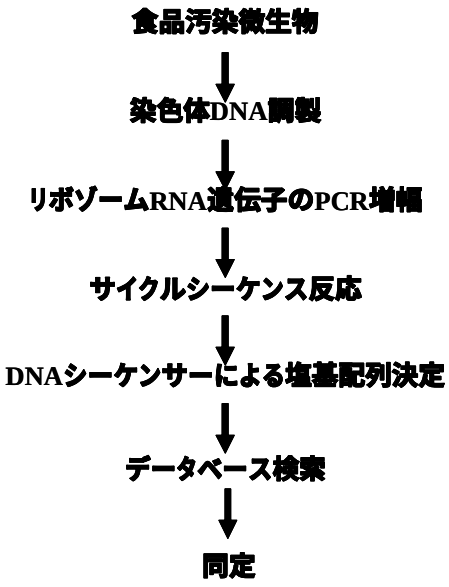

図　食品汚染微生物同定フロー

食品工業技術センター　北本則行（noriyuki_kitamoto@pref.aichi.lg.jp）
研究テーマ：醸造微生物のゲノム育種によるバイオマスの高度利用技術の開発
指導分野：遺伝子組換え利用技術、微生物・酵素利用技術