

アサクサノリ製品の品質管理・評価のための技術開発

岩出将英・畑 直亜・羽生和弘・柿沼 誠¹⁾

1) 三重大学大学院 生物資源学研究所

目的

本県では、平成 25 年度漁期よりアサクサノリ養殖の取組みを開始している。

アサクサノリ養殖には、スサビノリ養殖と同様の養殖設備が適用できるが、両種は育苗段階で葉状体の一部から単胞子を放出する生長特性を有するため、アサクサノリとスサビノリを同漁場で混養殖した場合、両種の単胞子がそれぞれの養殖網に付着することにより、アサクサノリ漁場から生産される板ノリ製品にスサビノリが混入してしまうことが懸念される。

本研究では、アサクサノリ製品の品質向上にかかる技術開発を目標として、アサクサノリ漁場から生産される板ノリ製品中のアサクサノリ含量を簡易に測定できる品質管理・評価のための DNA 検査技術の開発に取り組む。

方法

1. リアルタイム PCR プライマー・プローブセットの検証

保有株アサクサノリ (MA-1) , スサビノリ基準品種 (U51) , 一般養殖網由来スサビノリ (MIX) 葉状体から ISOPLANT II (ニポンジーン) によって抽出した全 DNA を鋳型として、昨年度までに設計したアサクサノリとスサビノリのミトコンドリア DNA (mtDNA) 塩基配列の間に大きな差が認められた領域 III および IV で両種を DNA レベルで特異的に検出・定量するためのリアルタイム PCR 用プライマー・プローブセットを用いてリアルタイム PCR を行い、その特異性を調べた。

2. モデル板ノリおよびアサクサ板ノリのリアルタイム PCR による絶対定量アッセイ

室内培養で大量調製した MA-1 および U51 葉状体を混合して MA-1 含量 (湿重量) 20, 40, 60, 80% 葉状体を調製した。各混合葉状体を凍結乾燥したものをモデル板ノリとし、各モデル板ノリから全 DNA 溶液 (20, 40, 60, 80% MA-1-Y 溶液) を調製した。また、MA-1 および U51 葉状体から抽出した全 DNA を混合し、DNA 量で MA-1 含量が 20, 40, 60, 80% の全 DNA 溶液 (20, 40, 60, 80% MA-1-D 溶液) を調製した。各全 DNA 溶液を鋳型とし、設計したプライマー・プローブセットを用いて

リアルタイム PCR 解析を行い、MA-1 含量の絶対定量を行った。

結果および考察

1. リアルタイム PCR プライマー・プローブセットの検証

アサクサノリ領域 III および領域 IV, スサビノリ領域 IV を標的としたプライマー・プローブセットでは、予想されたアンプリコンの指数関数的増幅が認められ、これらプライマー・プローブセットを絶対定量アッセイに利用できることが分かった。しかし、スサビノリ領域 III を標的としたプライマー・プローブセットでは、予想されたアンプリコンが増幅されたものの、指数関数的な増幅は認められなかった。そこでスサビノリ領域 III 検出のための改良型リアルタイム PCR 用プライマー・プローブセットを設計し、再度リアルタイム PCR 解析を行ったところ、予想されるアンプリコンの指数関数的増幅が認められたため、改良型プライマー・プローブセットは絶対定量アッセイに利用できることが分かった。また、アサクサノリとスサビノリ両種間の mtDNA コピー数が大きく異なることも明らかとなった。

2. モデル板ノリおよびアサクサ板ノリのリアルタイム PCR による絶対定量アッセイ

リアルタイム PCR 解析により MA-1 含量の絶対定量を行った結果、補正值 3.84~4.83 (領域 III) または 3.66~3.84 (領域 IV) を用いることで、アサクサノリ含量を推定可能であることが明らかとなった。今後は、過去に製造された生産者毎や漁場毎の三重県産アサクサノリ製品を試料とし、葉状体片の種判別法 (岩出ら 2015) による簡易定量法の結果と合わせて本技術の十分な検証実験を行い現場で活用できる精度の高い技術を開発し、本技術の現場活用を見据え、業界および生産者に対しても成果を広く周知していく必要がある。

本研究は、一般財団法人海苔増殖振興会の平成 27 年度海苔養殖の長期的・基礎的な研究に関する研究助成により行われた。

関連報文

岩出将英・林茂幸・羽生和弘 (2015) 平成 26 年度三重県水産研究所 事業報告 5-6