

[成果情報名]大麦加工食品原料麦の皮/裸性判別技術

[要約]大麦の皮/裸性を判別する低分子長増幅プライマーセット（皮/裸：153/85bp）を開発した。これにより、迅速・簡便な PCR 操作で、大麦加工食品の原料大麦の皮/裸性を判別することができる。

[キーワード]品種判別、大麦、皮麦、裸麦、加工食品、PCR

[担当]愛媛農水研・作物育種室

[代表連絡先]電話 089-993-2020

[区分]近畿中国四国農業・作物生産

[分類]技術・参考

[背景・ねらい]

愛媛県は日本一の裸麦の産地であり、生産物は県内外の食品加工業者に出荷されている。国内で食用・焼耐用に流通している裸麦は、全て国内産であるが、平成 17 年以降、需要量が生産量を大きく上回る状態が続いており、代用品として皮麦が使用されることが多い。裸麦を原料とした加工食品では、「裸麦（国内産、県産）」と表示し、差別化を図ることがある。そこで、遺伝情報を利用して、国内で流通する主要な大麦品種に適用可能で、加工食品にも利用できる皮/裸性の判別技術を検討する。

[成果の内容・特徴]

1. Taketa ら（PNAS 2008 ;105:4062-4067）のプライマーセット（皮/裸：835/785bp）のフォワードプライマー（wF2）を、新たにプライマー（wF10）に改変し、PCR 条件の最初の熱変性時間を 4 分にすることで、低分子長（同：153/85bp）の PCR 増幅ができ、DNA が断片化した加工食品に適用可能である（図 1）。
2. 新プライマーセットを用いて増幅された PCR 産物は、大麦 56 品種・2 系統（二条皮麦：23 品種、六条皮麦：10 品種、外国産皮麦：16 品種、六条裸麦：6 品種、二条裸麦：1 品種・2 系統）で皮/裸性の判別に適合する（図 2）。
3. 新プライマーセットは、加工食品（市販の押麦、はったい粉、味噌）における原料大麦の皮/裸性の判別が可能である（図 3）。
4. 任意の比率で混合した麦粉の皮/裸性の判別では、混入率 3 % 以上で検出が可能である（図 4）。

[成果の活用面・留意点]

1. 新プライマーセットは、ほとんどの皮麦と裸麦を区別できるが、六条皮麦「ファイバースノウ」の突然変異系である六条裸麦「東山裸 112 号」では、皮麦の位置でバンドが確認されるため、皮麦の突然変異を由来とする裸麦では判別できない。
2. 新プライマーセットは、加工度が高く DNA の断片化が更に進んでいると考えられる麦茶（焙煎した麦粒）では PCR 増幅産物が得られず、皮/裸性の判別に適用できない。
3. 大麦の他に大豆・米等が原料として使用される加工食品では、大麦遺伝子の内標比算出の基準となる大麦特異的な内在性遺伝子を用いた皮麦・裸麦の混合比率の推定が必要である。

[具体的データ]

プライマー (皮/裸:153/85bp) の塩基配列

名称	塩基配列	原報
kR1	CCTCACCACCTTAACCATGTCTG	Taketaら 1
tR2	GCGGTCCCTTCTTTCCAGT	Taketaら 1
wF10	CGTACCAGCAGCACGGCGTAACTGCC	本稿

1 PNAS 2008 ;105:4062-4067

PCR反応液の組成		温度条件	時間
1tube(μl)		94	- 4min
10 x PCR Buffer	2.5	35 回	94 - 30sec
2mM dNTPs	2.5		
Rv1 Primer (kR1)	0.6		
Rv2 Primer (tR2)	0.6		
Fw Primer (wF10)	0.6		
polimeraze(5U/μl)	0.13	57	- 30sec
Template(25ng/μl)	1.6	72	- 30sec
ddH2O	16.47	72	- 5min
Total	25.0		

図1 皮/裸性同時判別のためのPCR条件

植物体 (芽生え) 及び原麦粉からのDNA抽出には、DNeasy Plant Maxi Kit(QIAGEN)、加工食品 (破砕物) からはPureLink Plant Total DNA Purification Kit(invitrogen)を使用する。
PCR反応には、AmpliAq Gold(ABI)を用いる。

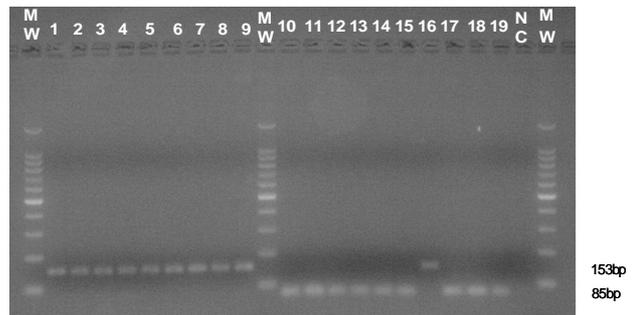


図2 皮/裸性判別プライマーの適合性の確認 (一部データ)

- | | | |
|-------------|------------|------------------|
| 1: ニシノチカラ | 2: ニシノホシ | 3: ミハルゴールド |
| 4: あまぎ二条 | 5: おうみゆたか | 6: ボーデン |
| | | (以上、二条皮麦6品種) |
| 7: ファイバースノウ | 8: シュンライ | 9: カシマムギ |
| | | (以上、六条皮麦3品種) |
| 10: イチバンボシ | 11: マンネンボシ | 12: ヒノデハダカ |
| 13: 御島裸 | 14: サヌキハダカ | 15: ユナギハダカ |
| 16: 東山裸112号 | 17: コメサキボシ | 18: 四国裸115号 |
| | | 19: 四国裸124号 |
| | | (以上、二条裸麦1品種、2系統) |
- NC: 水 MW: 100bpラダー

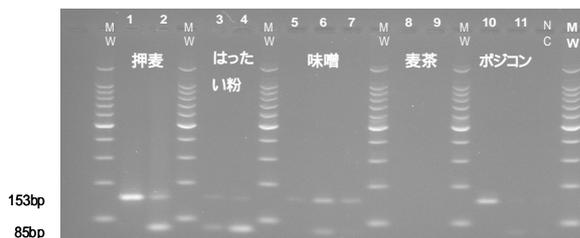


図3 大麦加工食品からの皮/裸性の判別例

ポジコン 10: ミリムギ(皮麦) 11: マンネンボシ(裸麦)
NC: 水 MW: 100bpラダー (皮/裸: 153/85bp)
1, 5, 10は皮麦、2, 3, 4, 6, 7は皮麦、裸麦の双方、11は裸麦のバンドが確認できる。



図4 任意に混合した麦粉からの皮/裸性の検出例

(皮/裸: 153/85bp, 皮麦: あまぎ二条、裸麦: マンネンボシ)
1: 100-0 2: 99-1 3: 97-3 4: 95-5 5: 90-10
6: 80-20 7: 70-30 8: 60-40 9: 50-50 10: 40-60
11: 30-70 12: 20-80 13: 10-90 14: 5-95 15: 3-97
16: 1-99 17: 0-100 (以上、皮麦 - 裸麦混合比)
NC: 水 MW: 100bpラダー
1, 2は皮麦、3~15は皮麦、裸麦の双方、16, 17は裸麦のバンドが確認できる。

(田中美奈)

[その他]

研究課題名: 裸麦・大麦及び加工製品品種判別技術開発試験

予算区分: 委託プロ(食品・農産物の信頼性確保と機能性解析のための基盤技術の開発)

研究期間: 2006~2010年度

研究担当者: 田中美奈、岡本充智、兼頭明宏