

散在性反復配列を用いた 飼料中の動物由来DNAの検出

TAJIMA Kiyoshi

田島 清

家畜生理栄養部 消化管微生物研究室

飼料中に混入した肉骨粉は牛海綿状脳症の原因のひとつとして疑われており、牛用飼料としての使用が禁止されています。そのため、平成14年度から行われている農林水産研究高度化事業では、飼料中への動物性蛋白質の混入を把握するための実用的な検査システムの確立にむけて、異常プリオンや肉骨粉を検出する技術開発が進められています。その一環として、本事業の中では飼料中に存在する動物由来DNAの検出のために、散在性反復配列であるSINEおよびLINEの塩基配列を用いたPCR法による検出を試みています。散在性反復配列とはゲノムのあちこちに散らばっている短い繰り返し因子で、クジラ等の進化研究のツールとして用いられています。散在

性反復配列は全ゲノム中に30万から50万コピーあると考えられ、動物種に特異的な配列も報告されていることから、この配列を利用すれば、より高感度な検出法が確立できると考えました。

今回は反芻動物の検出にArt2(SINE)、ブタの検出にはPRE-1(SINE)、ニワトリの検出にはCR1(LINE)の塩基配列を用いています。本プライマーを用いて検出をおこなった場合、飼料中に0.01%の市販の肉骨粉が含まれている場合でも可能であることが確認され(図1)、さらに実験的に加熱処理を施した場合でも問題なく検出することができました(図2)。今後、より実用的な技術の確立をめざしていきたいと考えています。

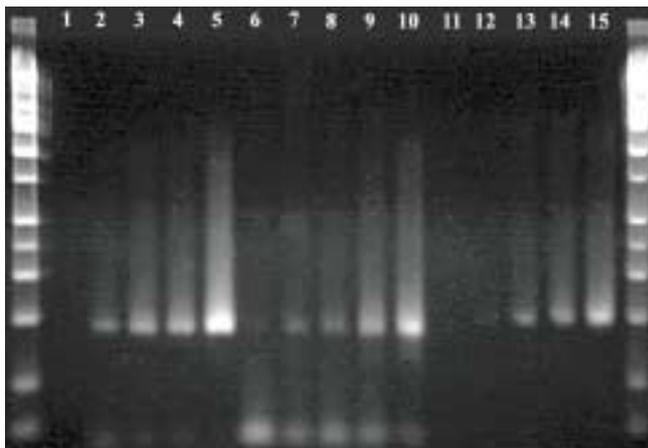


図1 飼料中からの動物由来DNAの検出

両端：DNAサイズマーカー、レーン1から5は飼料中に肉骨粉を0、0.001、0.01、0.1および1.0%混合したサンプルから反すう動物由来のDNAを検出した結果。同様にレーン6から10はブタ、レーン11から15はニワトリでの結果。

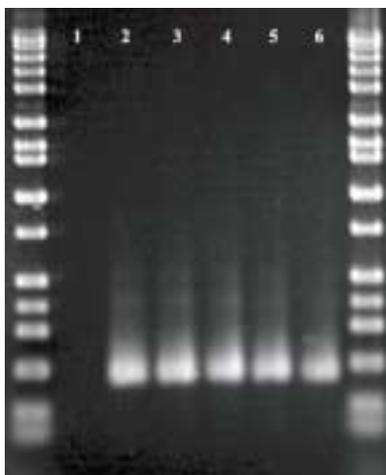


図2 検出におよぼす加熱処理の影響

加熱処理後、反すう動物を検出するプライマーを用いて検出を行った。
両端：DNAサイズマーカー。レーン1は対照(水)、レーン2:120°C、レーン3:130°C、レーン4:140°C、レーン5:150°C、レーン6:160°Cでの検出結果。