

第 18 回冷凍技士研修会

「DNA 情報を用いた アレルギー表示食材の検出」実技研修会

主 催：(社)日本冷凍空調学会 冷凍技士運営委員会
日 時：平成21年3月10日(火) 12:00~17:00
場 所：東京農業大学(東京都世田谷区桜丘 1-1-1)

昨年6月、食品衛生法の一部改正により、表示を必要とするアレルギー物質を含む食品に「えび」「かに」が追加され、特定原材料は従来の5品目から7品目に増えました。

冷凍食品関係者から、この機会にアレルギー表示食材の検査方法についてわかりやすく学びたいとの声がありましたので、表記の研修会を企画しました。

東京農業大学応用生物化学部学部長 高野克己教授および同学部生物応用科学科 内野昌孝准教授のご厚意により、最近、同大学公開講座で好評を博した内容を、冷凍技士向けに再構成、平易性、迅速性を指向しています。穀類を中心としたPCRによる判定を実体験し、理解を高めてもらいます。興味のある方、これから試験を行う方を対象としています。

募集人数： 20名(冷凍空調技士、食品冷凍技士の有資格者)定員になり次第締め切ります。

参加費： 無 料(代理出席可。但し、技士優先)

CPDポイント 7.5

なお実験の際カメラ撮影は可能です。

集合時間： 12:00(時間厳守)

* 各自昼食をとった後、集合願います。なお18号館入口にある学生食堂を利用することも可能です。同学食堂は美味・安価で定評があります。

集合場所： 東京農業大学18号館1Fロビー

申込方法： 下記申込書に必要事項ご記入の上、学会へFAXまたは郵送でお申し込み下さい。
参加券・集合場所の地図をお送りします。

申込先： 〒160-0008 東京都新宿区三栄町8番地 三栄ビル

(社)日本冷凍空調学会 冷凍技士研修会係

TEL 03-3359-5231 FAX 03-3359-5233

切 取 線

NO. 「DNA 情報を用いたアレルギー表示食材の検出」 技士研修会 申込書

氏 名			
	技士登録 NO.()	★継続教育(CPD)登録者は番号をご記入願います NO.()	
会社名			
住 所			
TEL	()	FAX	()

第18回冷凍技士研修会

「DNA情報を用いたアレルギー表示食材の検出」実技研修会

竹埜 正敏 * Masatoshi TAKENO

1. はじめに

2008年6月の食品衛生法の一部改正により、表示を必要とするアレルギー物質を含む食品に「えび」と「かに」が追加され、特定原材料は従来の5品目から7品目に増えた。

この機会に、アレルギー表示食材の検査方法についてわかりやすく学ぶことを目的とし、東京農業大学応用生物科学部生物応用化学科 高野克己教授および同学科 内野昌孝准教授のご厚意により、同大学において冷凍技士向けに実技研修会を実施いただいた。研修会は、穀物のDNAを抽出・精製し、DNAの定量と純度検定、さらにPCR反応を行い、電気泳動による原材料の予測を行う実習である。

日時は平成21年3月10日(火)12時から17時、参加者9名。実技研修は、内野昌孝准教授と大学院の院生諸氏のサポートの元で行われた。

ここで改めて、高野克己教授および内野昌孝准教授、大学院院生の皆さまには、厚く御礼申し上げます。

2. 実技研修会の内容

講習会は、下記の流れで行われた。

- (1) 全体の概要説明
- (2) DNAの抽出、精製およびPCR反応と電気泳動
- (3) 実験の原理についての解説



図1 小泉委員挨拶と内野准教授説明

(4) 実験結果の確認と解説

(1) 全体の概要説明

DNAの抽出、精製、およびPCR反応と電気泳動を行う実験には、それぞれのステップで、たとえば電気泳動は100V40分を要するなど、時間がかかる。このため、実験の手順が記載されたテキストに基づき実験を進めながら、原理を教えていただいた。

まずは、実験器具の使用方法、試薬の説明、実験の要領の説明を受ける(図1~3)。

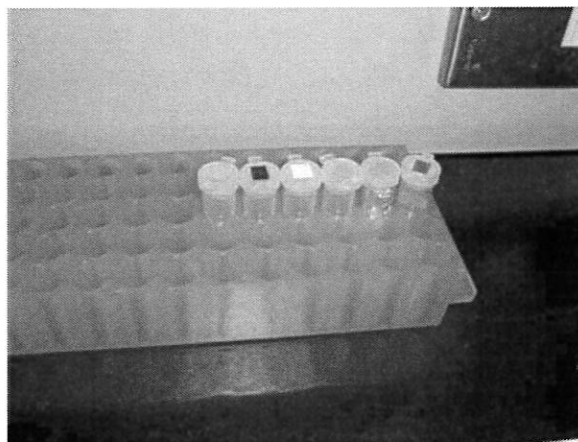


図2 使用する試薬(色分けして配布)

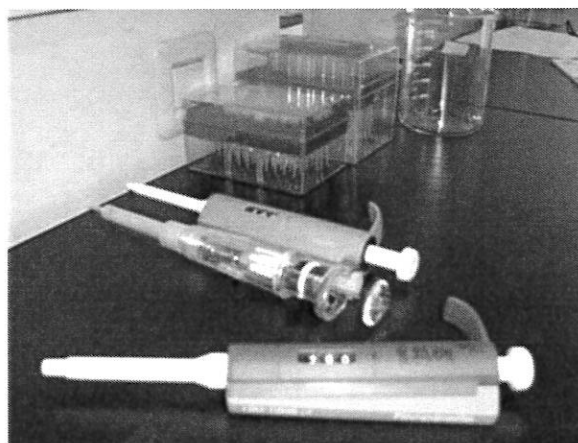


図3 試薬添加用ピペット

*富士通商機
原稿受理 2009年3月25日

実験の流れは以下のとおり。検体は、小麦と蕎麦の粉体を使用。参加者には、小麦か蕎麦かどちらかの検体が渡され、この粉体のDNAを抽出し、精製、PCRによりDNAの一部の領域を短時間で100万倍まで増幅、これを電気泳動、染色してDNAのバンドを確認し、各自の検体が小麦か蕎麦かの推定を行う。

(2) DNAの抽出、精製およびPCR反応と電気泳動実験は、以下の手順で行われた。

- ① 粉体をDNA溶解溶液に入れ、混合する。界面活性剤の作用により細胞膜を破壊、中のDNAを溶液中に溶解させる。
- ② 遠心分離した上澄液にフェノール溶液を加えてタンパク質を変性させる。
- ③ これを遠心分離し、上澄液を取る。この段階で、上層にDNA溶液、中層に変性したタンパク質、下層にフェノール液と分離される。
- ④ 上層のDNA溶液を取り、クロロホルム溶液でフェノールを除去(図4)。
- ⑤ 酢酸ナトリウム溶液を加えて、DNA回収効果を高める。
- ⑥ エタノールを加えDNAを析出させ、他の水溶液成分から分離。
- ⑦ TE溶液を加え、DNAを溶解させ、加温する。TE溶液は、DNAを溶解させるための一般的な緩衝液。
- ⑧ DNAの濃度測定と精製度の確認(図5, 6)。この作業は院生の皆さんが、我々が先生の講義を伺っている間に実施いただいた。
- ⑨ PCR装置(図7)で、DNAポリメラーゼを使用し抽出したDNAを100万倍程度まで増幅させる。

このPCR反応をさせるためには、各種の試薬を混合し、実験を行う(図8)。これには、数時間を要するため、我々のDNA抽出液は、⑧の濃度測定と精製度の確認に使用。前日にPCR反応を済ませた液をいただき、次のステップに進む。

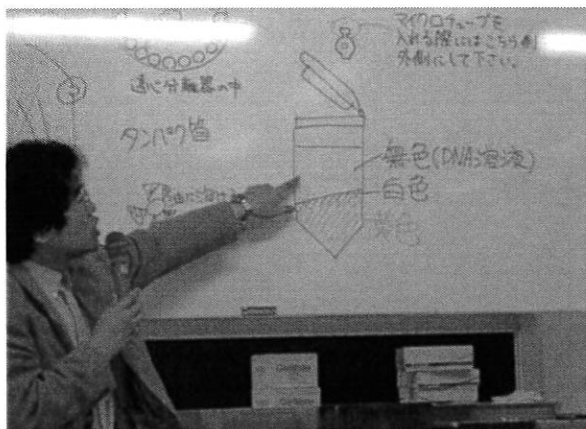


図4 ④の実験要領の説明

⑩ PCR反応液に泳動マーカを加え、混合。電気泳動槽(図9)のアガロースゲルの穴に入れる。

⑪ 電気泳動後、アガロースゲルの染色を行い、バンドの確認を行い(図10)、検体を推定。

(3) 実験の原理についての説明

実験を進めている間に、DNA抽出・精製方法、植物の細胞の構造、PCRの原理、電気泳動の原理、などについて説明を受ける。

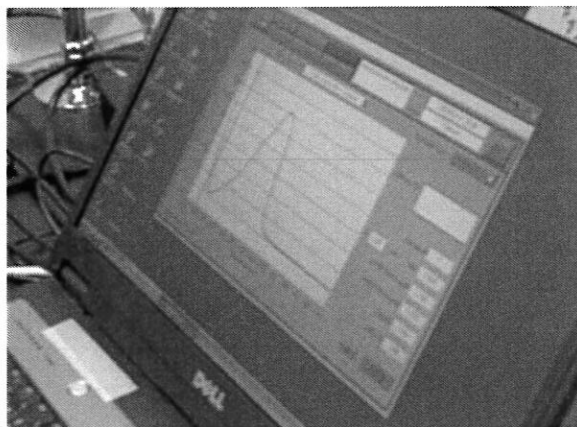


図5 DNA精製度と濃度測定

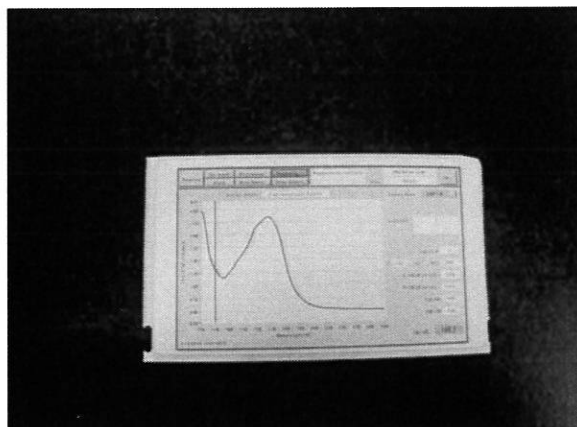


図6 DNAの濃度測定結果

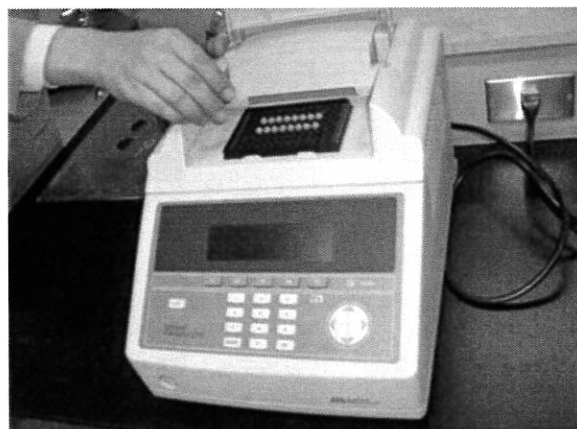


図7 PCR装置

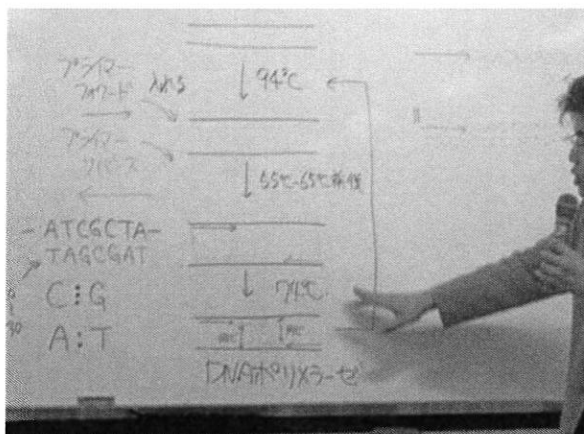


図8 PCR反応の説明

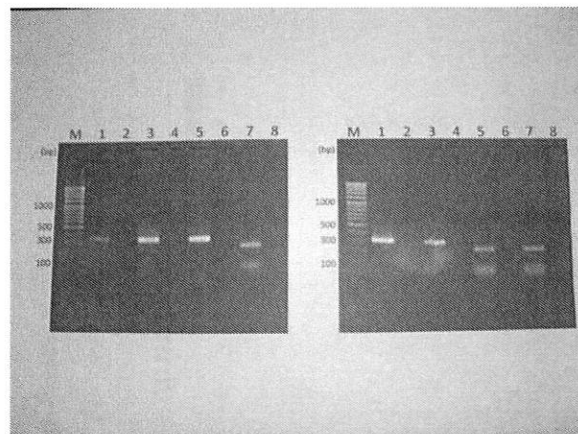


図10 電気泳動のバンド確認

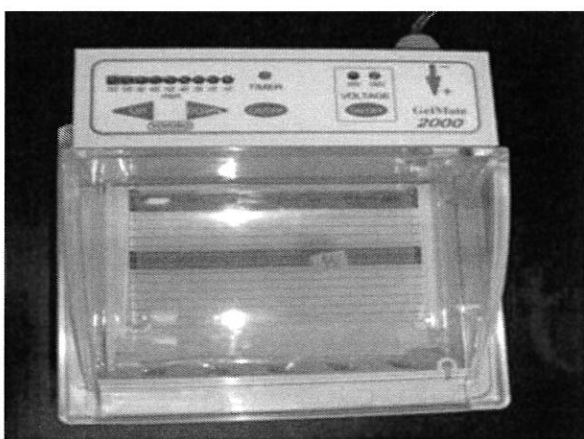


図9 電気泳動槽

(4) 実験結果の確認と解説

各自のDNAの抽出液の精製度と濃度のデータから、電気泳動のバンドを確認して、各自の試料が小麦か蕎麦かを確認。

3. ま と め

実際に、穀物のDNAを抽出し実技を学びながら、非常に丁寧でわかりやすい講義により、DNAによるアレルギー食材の検査方法と原理についての理解を十分に深めることができた。

また、食の安全を担保するための検査方法の確立、安い費用で正確に把握検証できる手法の開発をされていることを知ることができたことも成果の一つである。また近いうちに、未知材料を対象とした検出法について発表されとのこと。今後の様々な研究に期待したい。

「サロン」への投稿歓迎！

随想・国際交流・海外の様子・思い出話・冷凍空調の先覚者・生いたち・苦心談・趣味・雑学・俳句・和歌など、読者各位に気軽にお読みいただけるものをご投稿を歓迎いたします。奮ってご送付下さい。

記

1. 記事は本文1～2ページ程度として下さい。1ページは約2,400字になります。
2. 採用は学会誌編集委員会にお任せ願います。
採用分に薄謝をさしあげます。

送付先 社団法人 日本冷凍空調学会「冷凍」編集部

〒160-0008 東京都新宿区三栄町8 TEL 03(3359)5231 FAX 03(3359)5233

E-mail: reito@nifty.com