



ESCO News Letter

第2巻 第9号

発行日 2013年5月20日

虫の遺伝子同定業務

夏場は50検体を超える

虫の混入クレーム！

食品をはじめ医薬品や化粧品などを製造する多くの事業所では、製品への異物混入防止に積極的に取り組んでいます。しかし、虫や毛髪、植物片、プラスチック片、金属片あるいは微生物の悪変も含め異物の混入クレームはなかなかならないのが現状であり、弊社にも毎日のように異物検定の依頼が寄せられています。依然として、その中でも虫の検定依頼はとくに多く、1日20-30検体ほどを対応しており、夏場には50検体を超えることもあります。そのような状況から、弊社でも、事業所での異物混入防止への取組みを

支援すべく、迅速かつ効果的な対策を講じるための分析技術の開発や活用にも積極的に取り組んでいます。

「もっと詳細に」の声にお応えします。

これまで、虫の検定といえば、デジタルマイクロスコープによる外部形態観察が主であり、「科レベル」での同定が中心でした。そのような中、最近では「属レベルや種レベル」まで調べてほしいとの要望が増えてきており、弊社ではその要望に応えるべく、依頼されました虫について遺伝子同定による検定の受入れ準備を進め、この度、微生物(ウイルスを除く)に加えて、虫の遺伝子同定の受入れを開始することになりました。

- 加圧、加熱、乾燥、発酵等によりDNAが著しく劣化していた場合、複数種の異物が混在し分離が不可能な場合、または付着物が多い場合などには同定が困難となる可能性があります。
- DNA塩基配列が得られてもデータベースに登録が無い種の場合、明確な結果が得られない事があります。
- 良好な結果が得られない場合、最大2回まで検査を行います。上記の原因を含め良好な結果が得られない場合は同定作業を中止させていただきます。
- 同定作業が途中で終了した場合はそれまでに掛かった実費(10,000円)を申し受けます。

分析内容

- 虫異物よりDNAを抽出し、ミトコンドリアDNA内のCO1領域のDNA塩基配列解析を行います。
- 得られたDNA塩基配列を既知のデータベースと同一性検索を行い、同定および推定された動物種を報告致します。

分析方法

- 日本バーコードオブライフ・イニシアチブ(JBOLI)のプロトコルに準じた方法を用いて、迅速で精度の高い同定を行います。

注意事項

- 検査には通常50mg以上が必要です。検体量が少ない場合(約10mgを目安)、十分な量のDNAが得られない事がありますので事前にご相談下さい。

スタート
しました！



この号の内容

虫の遺伝子同定業務 スタートしました。	1
遺伝子分析検査の流れ	2

■ バイオフィーム形成に注意を！！

バイオフィームとは、細菌が集まって作る膜のことで、細菌と、細菌が分泌する粘着性の強い物質でできており、都合の良い生息条件を獲得して仲間を増やす。通常、数種類の細菌が集まっている場合が多いとされている。厚さは数10μm~1mm程度で、ヌルヌルしており、身近では台所や風呂場のタイルや排水口など水を介する場所によく見られる。

食品の腐敗の原因となることも多く、生ハムなど食肉加工品ではリステリア菌によるバイオフィームが問題となる。製造工程では長い配管やデッドエンド部、製品移送配管、ホールディングタンク、ホース類など、環境では床、壁、天井、排水溝、コンベア、装置の下面部やラフな表面など、クーリングタワーや熱交換機などにも見られる。

バイオフィーム中では微生物は殺菌剤に非常に抵抗性が強く、乏しい栄養下でも水さえあれば形成され、悪い環境から身を守るため、必要な栄養分を取り込みバイオフィームを形成するという特徴をもつ。バイオフィームを形成する主な細菌にはサルモネラ、リステリア、黄色ブドウ球菌、エルシニア、大腸菌などの食中毒起因菌やパチルス、エンテロバクター、セラチア、シュードモナスなどの腐敗微生物がある。

バイオフィーム防止対策としては、洗浄しにくい、あるいはできない、表面が粗い箇所はどこかを確認すること、適切な洗浄剤の選択や洗浄法など効果的な洗浄、殺菌が重要であるが、大きな割れ目、深いクラックやポケットをなくすこと、そのための点検やメンテナンスを徹底することなどがある。さらに、洗浄効果の評価法も重要である。目視観察やATP法、洗浄液のpHモニター、微生物の拭き取り検査などがある。とくに、拭き取り検査では滅菌ガーゼとピンセットを用いた方法をお勧めする。固着したバイオフィームをうまくはがすことが重要で、綿棒などでは一部しか拭き取れない可能性があり、洗浄評価を間違えることにもつながるから。

検査価格	納期*1
30,000円/試料	4~7営業日

*1：弊社総合分析センターに検体が午前中に到着した場合の納期となります。午後に検体が到着した場合は更に1営業日を頂きます。

遺伝子分析検査の流れ

[概要]

日本バーコードオブライフ・イニシアチブ（JBOLI）のプロトコルに準じた下記の方法で同定を行い、動物種を推定します。

[試験方法]

■ DNA抽出

DNA 抽出キット「DNeasy Blood & Tissue Kit(QIAGEN 社製)」を用いてDNA を抽出する。

■ PCR

下記のプライマーを用いて目的領域を増幅する。

目的の遺伝子領域	プライマー	塩基配列
CO1領域	LCO1490	5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'
	HCO2198	5'-TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA-3'

・使用機材

Mx3000P QPCR System (Agilent Technologies 社製)

■ PCR産物の検出

PCR 後、アガロース電気泳動により目的領域（約650bp）の増幅を確認する。

・使用機材

サブマリンゲル電気泳動装置 (ISEP-1010) (アズワン社製)

サブマージ・アガロース電気泳動装置 (AE-6100) (ATTO 社製)

■ 塩基配列の解析・判定

PCR 産物を蛍光標識し、シーケンサーでDNA 塩基配列を決定する。得られたDNA 塩基配列について公共のデータベース*と照合する。相同性の高い上位10 種をリストアップする。

※ NCBI (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/guide/>)

BOLDSYSTEMS (<http://www.boldsystems.org/>)

・使用機材

3730xl DNA Analyzer (ライフテクノロジーズジャパン社製)

■ 検定報告書

検定報告書には、以下の項目が含まれます。

- ・ 検体写真
- ・ ご依頼の内容
- ・ 検定方法
- ・ 結果
所見
近縁上位10種の同一性 (%)



アース環境

無断複写・複製はご遠慮下さい。

本件に関してのお問合せは、
03-3253-0640

ホームページもご覧ください
<http://www.earth-kankyo.co.jp/>