

平成16年3月26日

サッポロビール株式会社
サッポロ飲料株式会社
栄研化学株式会社

サッポロビール、サッポロ飲料、栄研化学が

LAMP法を用いた3タイプの有害菌検出方法を共同開発

サッポロビール株式会社（社長：福田 貞男、本社：東京都渋谷区、以下 サッポロビール）、サッポロ飲料株式会社（社長：岡 俊明、本社：東京都渋谷区、以下 サッポロ飲料）と栄研化学株式会社（社長：黒住 忠夫、本社：東京都文京区、以下 栄研化学）は、栄研化学が開発した遺伝子増幅技術『LAMP法*1』を用いた共同研究を行ない、「ビール増殖菌」、「穀物等の赤カビ病菌」、「果汁飲料等の耐熱性好酸性菌」という3タイプの有害菌を検出する方法を開発しました。

日本農芸化学会2004年度大会（3月28日～31日：於広島）で下記内容について発表します。

食品の安全の重要性がますます高まる中で、最終製品のみならず製造工程の検査にも高い技術が求められています。

サッポロビールでは、昨年7月に栄研化学と共同研究を開始し、迅速簡便なビール増殖菌検出法を研究してきました。あわせて、ビール原料となる大麦における赤カビ病菌の検出、また、サッポロ飲料が研究に参加した果汁飲料等の耐熱性好酸性菌の検出、についても成果を挙げることができました。

これらにより、従来にも増して、原料・製造工程から市場までのトータルな品質・鮮度保証体制の構築を目指していきます。

栄研化学では、今回開発した方法をもとに、製造工程現場等で簡易に検査ができるよう、更なる研究を進め、食品企業等に向けて販売する予定です。

記

< LAMP法を用いた有害菌検出について >

1. ビール増殖菌簡易同定システムの開発（サッポロビール、栄研化学）

- 【目的】生ビールは熱処理による殺菌工程を経ないために、ビールの品質を劣化させるビール増殖菌の迅速な検出・同定は、品質管理上重要な意味を持つ。一方、LAMP法は従来法に代わる簡易、迅速、精確、安価な増幅法であるため、これを用いたビール増殖菌簡易同定システムの開発を試みた。
- 【方法と結果】ビール増殖菌11種に対するプライマー*2を作製し、同法を行なったところ、副生成物であるピロリン酸マグネシウムの白濁により、ビール増殖菌のみに標的遺伝子の増幅が起こることが確認できた。ビール増殖性を示す株のみの検出や、下面ビール酵母と野生酵母の識別も可能であった。また、開発したプライマーを一つの反応系に組込んだビール増殖菌簡易同定キットを作製した。本キットでは、ヒートブロックと卓上遠心機程度の装置で、約2時間でビール増殖菌か否かの判定が可能である。
- 【今後の可能性】サッポロビールでは、これにより製造工程上の品質管理が容易となり、従来以上の品質鮮度保証体制の構築が望める。本プライマーセットは、国内外のビール会社、地ビール会社等への販売が期待できる。

2. 赤カビ病菌の検出・識別（サッポロビール、栄研化学）

【目的】小麦、大麦、トウモロコシ等の穀物への赤カビ病菌（Fusarium 属）汚染は、マイコトキシン（カビ毒）により世界的に大きな問題である。ビール会社では赤カビ汚染による「噴き（開栓時にビールが一気に発泡噴出する）」も問題となる。そこで赤カビ汚染の簡便迅速な検出・識別法の開発を行なった。

【方法と結果】赤カビ病菌汚染の主要な菌種を対象菌種として、LAMP法のグループ特異的プライマーの設計を行なった。その結果、1種類のプライマーセットで上記グループに属する菌株を識別することが可能であった。また、非汚染大麦20g（約500粒）に赤カビ病菌が汚染した1粒を添加した場合（混入率0.2%）でも、汚染検出が可能であった。検出に必要な全ての時間は2時間以内であった。

【今後の可能性】サッポロビールでは、これにより原料からの品質管理が容易となり、従来以上の品質鮮度保証体制の構築が望める。大麦ばかりでなく、小麦、トウモロコシ等でも赤カビ病菌汚染は深刻な問題となっているため、世界的に幅広い分野で需要があるものと考えられる。

3. 果汁飲料中の耐熱性好酸性菌の判定方法（サッポロビール、サッポロ飲料、栄研化学）

【目的】果汁飲料中で増殖する耐熱性好酸性菌（Alicyclobacillus属）は、品質劣化や異臭の原因になることもある。従来法での判定は7日以上かかるため、簡易、迅速、正確、安価な耐熱性好酸性菌の判定方法の開発・検証を行なった。

【方法と結果】対象菌種を特異的に増幅するプライマーを設計した。果汁をサッポロ飲料が開発した培地で培養し、出現した菌株について特異性を試験した。その結果、培地に出現した全菌株が今回設計した専用プライマーで陽性となった。今回開発した判定方法は、簡便、迅速かつ正確であり、従来の方法に比べて格段の時間短縮（本法では2日：従来法は7日）が期待できる。

【今後の可能性】サッポロ飲料では、これにより製造工程上の品質管理が容易となり、従来以上の品質鮮度保証体制の構築が望める。（社）日本果汁協会の耐熱性好酸性菌統一検査法との比較により、迅速性をアピールして広く国内企業への需要を喚起できるものと期待される。

以上

【参考】

* 1: LAMP法

LAMP法は、医療、食品、環境、農業、畜産、植物といった幅広い分野においてDNA配列の存在を増幅産物の有無で判定できるなど「簡易、迅速、精確、安価」を特長とする遺伝子増幅法です。LAMP法の詳細および製品に関しては、下記ゲノムサイトをご参照ください。 <http://loopamp.eiken.co.jp/>

* 2: プライマー

DNAを増幅させる際に、鋳型となるDNAと結合して、複製を造る出発点となるヌクレオチド鎖。

【この件に関するお問合せ先】

| | | | |
|-------------|----------|-------|--------------|
| サッポロビール株式会社 | 広報室 | 小川、木下 | 03-5423-7204 |
| サッポロ飲料株式会社 | マーケティング部 | 古林、小山 | 03-5795-1164 |
| 栄研化学株式会社 | 広報部 | 山崎、渡辺 | 03-3813-5405 |