### 農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業(実用技術開発ステージ)/研究紹介2016

昆虫同定検査のための低コストで簡便・迅速・精確な DNA分析システムの開発

分 野 道応地域

[研究グループ]

[研究タイプ] 現場ニーズ対応型A [研究期間]

25076C <sub>食品一検査・評価</sub>

全国

農研機構食品総合研究所、大阪大学、コニカミノルタ 株式会社、国際衛生株式会社、株式会社ニッポンジーン [研究総括者] 農研機構食品総合研究所 古井 聡

平成25年~27年(3年間)

キーワード 穀類、害虫、検査、DNA、PCR

### 1 研究の背景・目的・目標

顕微鏡などによる昆虫の目視検査は、熟練(経験・訓練・専門知識)が必要で時間や手間が掛かるが、 DNA検査は単純作業なので熟練は不要、かつハイスループットが可能という利点がある。本研究では、植物 防疫や食品衛生管理に重要な貯穀害虫についてDNAによる低コストで簡便・迅速・正確な昆虫の分類手法 (同定法)および装置の実用化を目的として、貯穀害虫を1時間以内で特定(DNA抽出→PCR →判定まで)可 能な小型検出システムの試作機開発を目指す。

### 2 研究の内容・主要な成果

- ① 主要な貯穀害虫12種のミトコンドリアDNAを網羅的に解読し、得られた配列情報から高い特異性・迅速検知を 実現する試薬を作成した。
- ② 従来のDNA抽出法を見直し、昆虫を試料とした際にDNAのクオリティが高く、所要時間の少ない抽出法を開発
- ③ 流路チップPCR装置のうち、チップについては、成形技術、流路断面積、試料導入法、専用試薬等を最適化し、 飛躍的に性能が向上した成形型チップを開発した。また、PCR装置については、研究開始時に比べ検出法の 最適化等で大幅なサイズダウンに成功し、小型・高性能化を達成した。
- ④ 貯穀害虫を1時間以内で特定可能な小型分析システムのプロトタイプを試作し、基礎技術を確立した。

#### 公表した主な特許・品種・論文

- ① 特願2014-216494 食品害虫検出用オリゴヌクレオチド (農研機構 食品総合研究所、株式会社ニッポンジーン)
- ② 特願2015-207627 食品害虫検出用オリゴヌクレオチド (農研機構 食品総合研究所、株式会社ニッポンジーン)

#### 3 開発した技術・成果の実用化・普及の実績及び取り組み状況

- ①食品害虫検査用のプライマー・プローブは、社会のニーズを踏まえて普及や製品化を進める。
- ② 簡便・迅速・精確なチップPCR装置については、引き続き技術的深化を図り、製品化を進める。
- ③ 開発された技術の移転・普及にあたっては、食品関連の学会、セミナー、展示会等において引き続き本事 業の成果を紹介し、活用をサポートする。

### 4 開発した技術・成果が普及することによる国民生活への貢献

- ① わが国で日常消費される食材の安全・安心に関する検査の効率化が達成され、国民生活に資する。
- ② 開発された迅速チップPCR装置は安価で簡便・迅速・正確な同定システムであるため、食品へ貯穀害虫が混 入した現場で、経験や能力を必要としない同定ワークフローが実現されるだけでなく、昆虫同定以外のDNA 検査産業分野への技術的波及効果も期待できる。

# (25076C)昆虫同定検査のための低コストで簡便・迅速・精確な DNA分析システムの開発

### 研究の達成目標

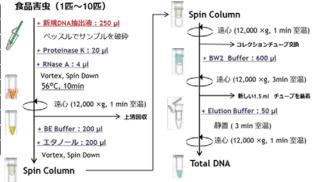
繁殖力が強い等の理由で世界の侵略的外来種ワースト100および我が国の検疫対象害虫のポジティブリストに選定されているヒメアカカツオブシムシとグラナリアコクゾウムシ等の貯穀害虫類を同定できる検出試薬を開発する。これと並行して、従来品に比べ格段に小型・低コストで、迅速な解析が可能な小型PCR検査装置を開発することを目的とする。

### 主要な成果

### 【開発された貯穀害虫同定用試薬】



### 【開発された貯穀害虫DNA抽出用試薬】



### 【開発されたチップPCR装置】



試作したチップ、チップPCR装置

#### 〇 回転中心 【原理】 ・ヒートブロックによ る昇温降温で熱対流が サンプル注入口 生じ、溶液がリング状 流路内を循環 遠心促進熱対流 による送液と ・遠心によって循環が 加速 マイクロ流路 ヒートブロック (90℃) → 高速PCRを実現 ※ 特願2012-183504 ヒートブロック (60°C) 回転方向 陽性



陰性 検体1 検体2

### 実用化・普及の実績及び取り組み状況

食品害虫検査用のプライマー・プローブについては、学会、食品関連セミナー、展示会等において技術の普及に努めると共に、製品化を検討する。また、本事業では、実用化に必要な基本性能を備えた簡便・迅速・精確な検査システムのプロトタイプを開発できたので、細部機能を含めた市場ニーズを取込んだ実用化システムの開発を目指していく。

## 国民生活への貢献

わが国で日常消費される食材の安全・安心に資する流通検査の効率化が達成され、国民生活に資する。また、開発された迅速チップPCR装置は安価で簡便・迅速・正確な同定システムであるため、食品検査や感染検査などのDNA検査全般への応用が可能であり、国民生活に貢献しうる。

問い合わせ先: 農研機構 食品研究部門(古井 聡) TEL 029-838-8081