

モズク消費拡大に向けた機能性高含有品種育成と加工技術開発^{*1} (機能性成分高含有加工技術の開発 I)

須藤裕介^{*2}, 松尾和彦, 渡嘉敷唯章^{*3}, 吉野敦^{*3}, 池端真美^{*3}

本事業は、本県の特産品であるオキナワモズクの付加価値強化と消費拡大のため、機能性成分（フコイダン、フコキサンチン：以下、各々Fc、Fx）に着目した品種育成と加工技術の開発を行うことを目的とし、本サブテーマでは下記の目的で分析を実施した。

オキナワモズクは、本県の地理的・気候の優位性を活かした特産種で、その養殖生産量は、全国生産の9割以上をしめている。しかし、その生産量のほとんどは本土に出荷、加工され、本県は原料供給が主体となっていることから、県内漁業関係者からは、地元独自の加工品開発が強く求められている。一方、本県では主産地の優位性を活かした鮮度の高いモズクを利用できることから、機能性成分高含有原料を用いた付加価値の高い商品開発が期待できる。そこで、本サブテーマでは、機能性成分高含有モズク製品の原料としての有望株の検討に向け、H24年度に実施した養殖試験サンプルの機能性成分量の分析を行った。

材料と方法

分析のための供試株は、県内3海域（恩納、本部、久米島）で養殖試験を実施した3株(O, K, S)と、恩納村で養殖試験を実施した新規育成株の2株(S², K²)を用いた。分析用サンプルは収穫直前の養殖網一枚の数

カ所から無作為に約200g採集した。採集後は直ちに水技センターに搬入し、-30度の低温冷蔵庫で保存した後、適宜分析に供した。採集期間はO, K, Sが4～5月、2株S², K²が6月であった。

機能性成分はフコイダン（全糖量、ウロン酸、フコース）およびフコキサンチン（以下、FX）含量を分析し、湿重量当りの値を示した（n=3）。

結果

全サンプルのフコイタン量（当事業概要では全糖量で示す）は、10.4～20.0 mg/gwwの範囲であった（図1）。O, K, S株の養殖試験サンプルで10.4～18.3 mg/gwwの範囲を示し、S²株は20.0 mg/g wwと、供試サンプル中で最も高い値を示した。また、海域別に見るとO株の含量が高い傾向が示された。

全サンプルのFx含量は、9.5～161.8 μg/gwwの範囲であった（図2）。その内、O, K, S株の養殖試験サンプルは9.5～50.7 μg/gwwの範囲で、各海域における株間の明瞭な差異は認められなかった。一方、S2株はFx含量161.8 μg/gwwと供試サンプル中で顕著に高く、次いでK2株が103.9 μg/gwwであった。

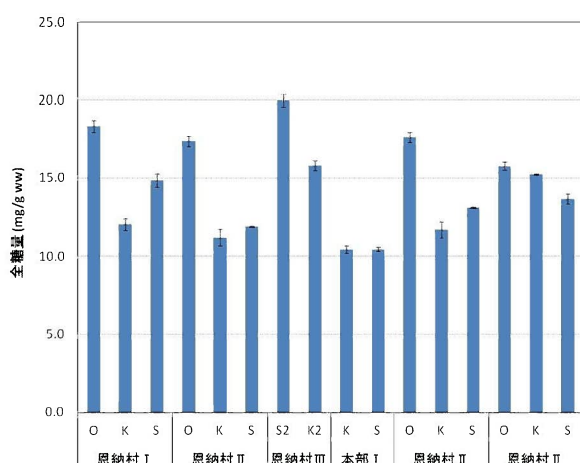


図1. 養殖試験サンプルの全糖量 (n=3)

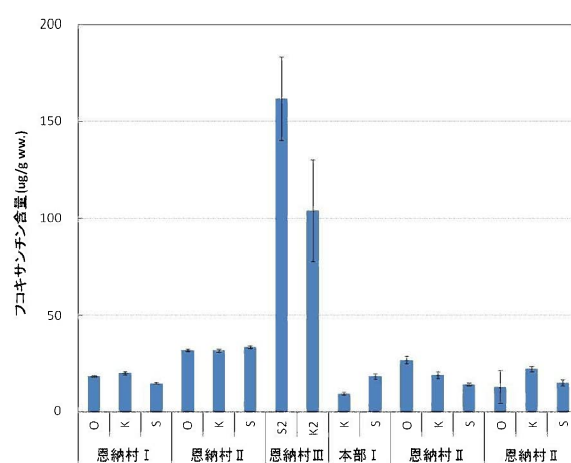


図2. 養殖試験サンプルのフコキサンチン量 (n=3)

^{*1} 学術誌投稿予定のため本事業の詳細については掲載を保留。

^{*2} E-mail: sudouysk@pref.okinawa.lg.jp 本所、^{*3} 株式会社トロピカルテクノセンター

モズク消費拡大に向けた機能性高含有品種育成と加工技術開発^{*1} (機能性高含有および高生産性品種の育成)

須藤裕介^{*2}, 松尾和彦

本事業は本県の特産品であるオキナワモズクの付加価値強化と消費拡大のため、高機能性成分(フコイダン、フコキサンチン)・高生産性品種育成と加工技術の開発を行うことを目的とし、本サブテーマでは下記の目的で品種育成に関する研究を実施した。

オキナワモズクの生産量は、特に過去3年間において天候不良等の影響により不作状況が続いており、県内養殖関係者からは生産安定と品質向上が強く求められている。これまでの研究では、KT-21株や、S-20株などの生産性の高い有望品種を選抜した。しかし、今後の多様な養殖時期や環境に対応する優良株を選抜すると共に、それらの株を用いた交雑育種を進める上では、多くの優良株を選抜していく必要がある。一方、去年までの漁場調査の結果、低日照期に生育の良かったCh-24株、小型で枝の強度の高い(硬い)AK-23株、本部を中心に普及しているG-12株等の3株優良株候補を得た。そこで本研究課題について、平成24年度は、新規優良株候補の選抜に向け養殖試験を開始した。

材料と方法

供試株は、寒天培地で保存していたCh-24, AK-23, G-12およびKT-21の4株の胞子体を用いた(図1)。4株胞子体を液体培地で大量培養し、養殖試験に供した。養殖試験は、本部および伊是

名で実施した。養殖試験の採苗には、1tのパンライト水槽4基を使用した。水槽毎に養殖網10枚を収容し、塩素消毒海水で満たした後、培養した胞子体と確認板(9×23cm)を投入し採苗を行った。約2週間採苗期間をおいた後、養殖網を苗床漁場に移動し、中間育成を開始した。この時、確認板には盤状体が10個/mm²以上着生している事を確認した。中間育成後の養殖作業工程は各海域の手法に従い進め、3株の養殖藻体が"熟"したのを見計らってから、形質および収穫重量を測定する。形質は、藻体長、主軸と側枝の太さ、側枝と小枝の密度、そして主軸と側枝の破断強度の計7形質を計測する。また収穫重量は、各株の養殖網5枚ずつ収穫し、養殖網一枚当りの平均値を調べる。

結果(中間)

平成24年度は、養殖試験の播種を実施した。また、3月末における観察の結果、Ch-24、AK-23、G-12の外部形態は、母藻と同様の特徴を引き継いでいる事を視認した。一方、本試験におけるKT-21は初期の芽出しが遅い傾向が認められた。引き続き経過を観察し、平成25年度には形質および収穫量の測定を行う。

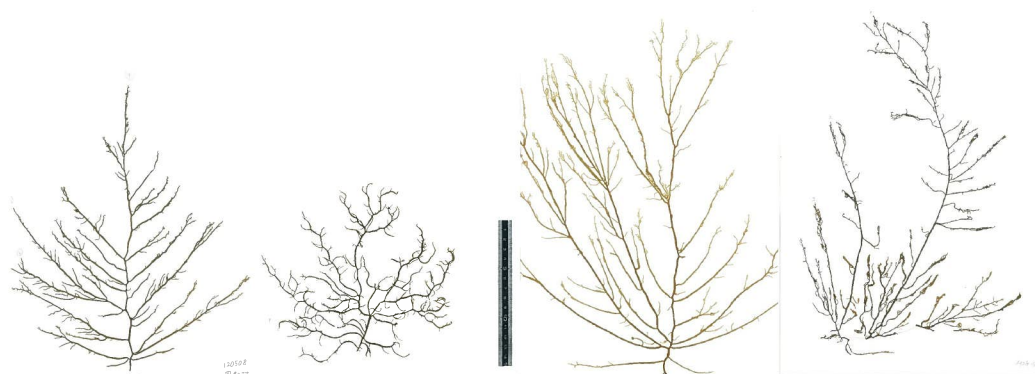


図1. 供試株の母藻の外観 左から KT-21、AK-23、Ch-24、G-12

^{*1} 学術誌投稿予定のため本事業の詳細については掲載を保留。

^{*2} E-mail: sudouysk@pref.okinawa.lg.jp 本所

モズク消費拡大に向けた機能性高含有品種育成と加工技術開発*1 (遺伝子解析を用いた品種判別技術開発)

須藤裕介*2, 松尾和彦, 四ツ倉典滋*3, 谷昌也*3, 前田高志*3

本事業は、本県の特産品であるオキナワモズクの付加価値強化と消費拡大のため、機能性成分（フコイダン、フコキサンチン）に着目した品種育成と加工技術の開発を行うことを目的とし、本サブテーマでは下記の目的で品種判別に関する研究を実施した。

これまでの研究で、オキナワモズクの養殖株には様々な形質の差異があることが明らかとなっている。県内外には他にも様々な有望株が分布すると考えられ、今後はそれらの系統群や株を幅広く迅速かつ定量的に系統分類し選抜する必要がある。また、今後交雑育種技術を開発する上で、親株から次世代株へ親子判定等も必要となる。しかし、現在モズク品種の識別は外部形態のみで行っており、養殖環境や生育段階によっては中間的な形態が出現した場合に分類が困難である。そこで本研究課題では、遺伝子解析による定量的な品種判別技術開発に取り組む。本年度は、遺伝子解析の基盤技術としてオキナワモズクからの高純度 DNA 抽出法の確立を行った。

材料と方法

供試試料は、オキナワモズク 3 株（O, K, S 株）からの盤状体または胞子体をシリカゲルで乾燥させて用いた。DNA 抽出は、カラフトコンブ属で用いられる抽

出法（Maeda et al. 2013）を改変し、蒸留水でインキュベートと液層廃棄を繰り返した後、SDS and CTAB 複合法を行い、阻害物質となる多糖類を取り除き、高純度 DNA を精製し、それらの DNA 濃度測定を行った（図 1）。

さらに、抽出した高純度 DNA を用い、コンブの品種判別で利用される 5s spacer 領域の配列解析および多型解析 AFLP による予備的な分析を行った。

結果

胞子体では多糖類の含有量が多く、遺伝子解析に供する品質にはならなかったものの、多糖類の含有量が少ない盤状体からは、DNA 量 9.0–21.7 μ g、純度（260/280 比）1.24–1.45 の DNA を得ることができた。本 DNA を用い 5s spacer 領域の遺伝子解析を行った結果、オキナワモズクでも増幅が認められた（図 2）。さらに、AFLP 多型解析では、再現性のある解析結果が得られた。

以上のことから、5s spacer 領域の解析及び AFLP 多型解析が可能な良質なオキナワモズク DNA を抽出できた。

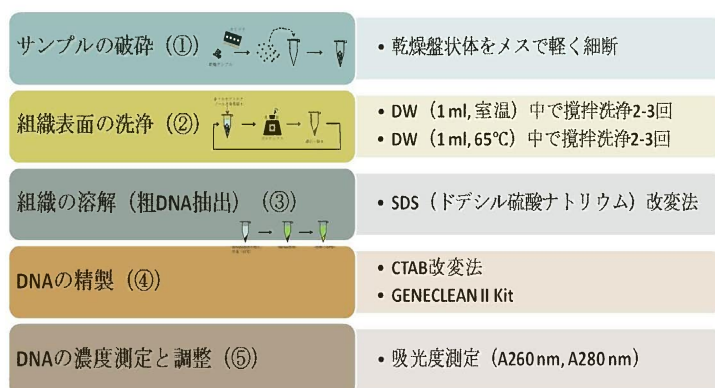


図1. オキナワモズクからの DNA 抽出過程

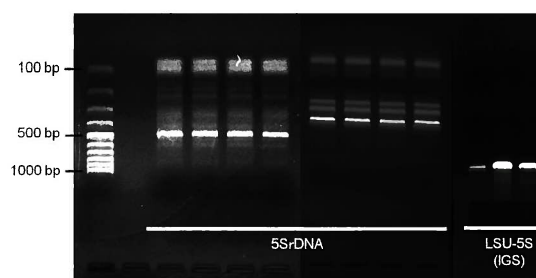


図2 オキナワモズク盤状体から抽出した DNA を鋳型に増幅した産物の泳動像

*1 共同研究として学術誌投稿予定のため、本事業の詳細については掲載を保留。

*2 E-mail: sudouysk@pref.okinawa.lg.jp 本所、*3 北海道大学北方生物圏フィールドセンター

モズク消費拡大に向けた機能性高含有品種育成と加工技術開発^{*1} (機能性成分高含有加工技術の開発Ⅱ)

松尾和彦^{*2}, 須藤裕介, 渡嘉敷唯章^{*3}, 吉野敦^{*3}, 池端真美^{*3}

オキナワモズクは、本県の地理的・気候的優位性を活かした特産種で、その養殖生産量は、全国生産の9割以上をしめている。しかし、その生産量のほとんどは本土に出荷、加工され、本県は原料供給が主体となっていることから、県内漁業関係者からは、地元独自の加工品開発が強く求められている。一方、本県では主産地の優位性を活かした鮮度の高いモズクを利用できることから、機能性成分高含有原料を用いた付加価値の高い商品開発が期待できる。そこで、本事業の中で、モズク製品の包材及び保存温度について、その機能性成分（フコイダン、フコキサンチン：以下各々Fc、Fx）量を分析し、適正な保存条件を検討する。

材料と方法

1) 適正な包材とその保存期間の検討

透明ビニール、ガスバリア、遮光素材等を用い、機能性成分含量の変化（0日から42日）を調べる。

2) 適正な保存温度とその期間の検討

保存温度を変え（冷凍：-30℃、-20℃、冷蔵：5℃）、機能性成分含量の変化（0日から42日）を調べるため、以下の実験を設定した。

前処理：凍結乾燥後サンプルミルで粉碎

糖類の定量法

全糖量：フェノール硫酸法

ウロン酸含有量：カルバゾール硫酸法

フコース含有量：イオンクロマト法（検出器：パルスドアンペロメトリ）

フコキサンチンの定量法

前処理：図1参照

測定：HPLCにて450nmの吸光度で測定

カラム：Shim-pack XR-ODS(4.6×100mm, 2.2 μm)、分離液：70%アセトニトリル 流量1ml/min、

結果

1) 包材別の保存試験では、フコース含量に関しては初期で若干のばらつきはあるものの、期間全般にわたっては大きな差はなかった（図2）。Fx含量に関しては透明ビニール及びガスバリアの包材で低下が見られた。

2) 保存温度別の保存試験では、フコース含量に関しては期間全般にわたっては大きな差はなかった。Fx含量に関しては5℃及び-20℃の温度帯で低下が見られた。

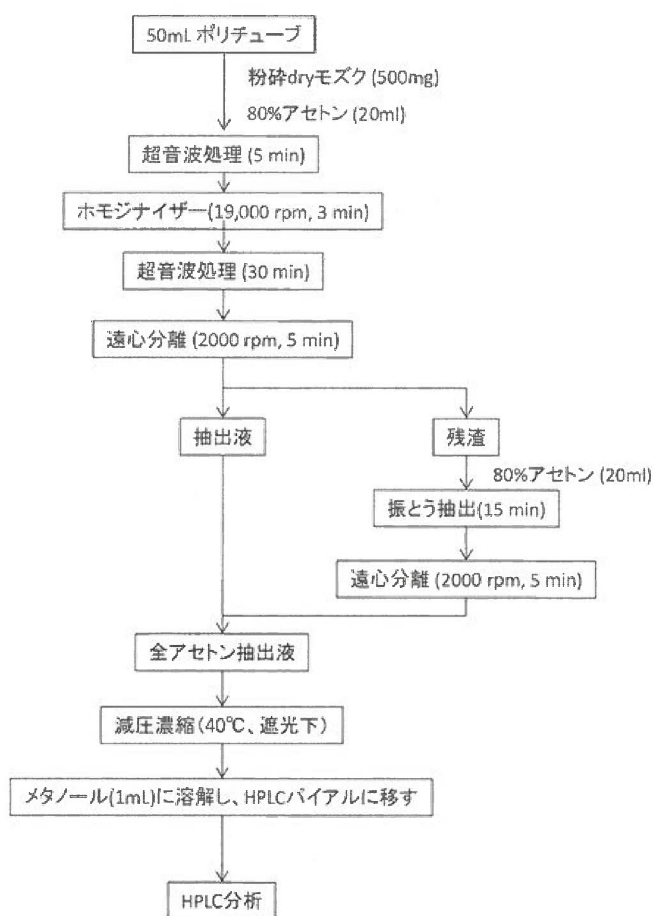


図1 フコキサンチン前処理方法

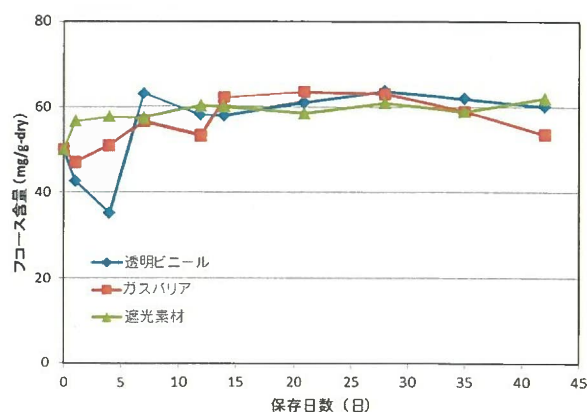


図2 包材別のフコース含量の経時変化 (n=3)

^{*1} 学術誌投稿予定のため本事業の詳細については掲載を保留。

^{*2} E-mail: matsuo kz@pref.okinawa.lg.jp 本所、^{*3} 株式会社トロピカルテクノセンター

モズク消費拡大に向けた機能性高含有品種育成と加工技術開発^{*1} (機能性成分の生合成遺伝子マーカーの探索)

松尾和彦^{*2}, 須藤裕介, 久城哲夫^{*3}

オキナワモズクは、本県の地理的・気候的優位性を活かした特産種で、その養殖生産量は、全国生産の9割以上をしめている。しかし、その生産量のほとんどは本土に出荷、加工され、本県は原料供給が主体となっていることから、県内漁業関係者からは、地元独自の加工品開発が強く求められている。一方、本県では主産地の優位性を活かした鮮度の高いモズクを利用できることから、機能性成分高含有原料を用いた付加価値の高い商品開発が期待できる。

そこで、モズク盤状体の培養中に光や温度の条件を変えた時の機能性成分生合成遺伝子の発現量を分析することで、モズクの成長を待たずに品種の機能性成分生合成に関する特性を確かめることができる技術の確立に向け、本研究では機能性成分（フコステロール、フコキサンチン、フコイダン）の生合成遺伝子マーカーの探索を行う。24年度は、フコステロールの生合成遺伝子の探索を行った。

材料と方法

- 1) 高等動植物由来の OSC 遺伝子を何カ所か選抜した PCR 用の縮重入りプライマーで培養中のオキナワモズク盤状体より抽出した total RNA を逆転写して得た cDNA を鋳型とし、4 種類のプライマーを用いて 2 回の PCR を行い、アガロース電気泳動で遺伝子断片の増幅を確認する。本断片の塩基配列を決定する。
- 2) 1) で得られた遺伝子のコア配列に特異的なプライマーを設計し、mRNA 末端に存在する poly A tail に対応する poly T プライマーを用いた RACE 法による PCR を行い、塩基配列を決定する。

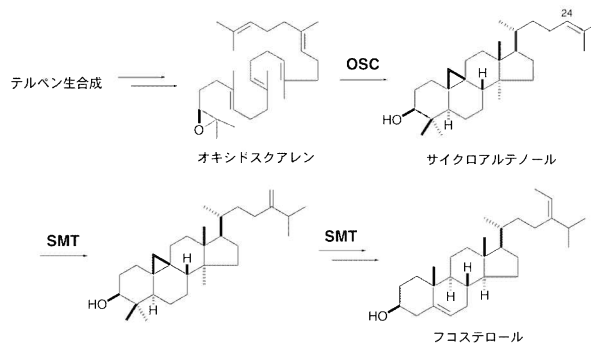


図 1. フコステロールの生合成経路

- 3) 既存の SMT 遺伝子配列を参考に PCR プライマーを設計し、OSC と同様にモズク盤状体より抽出した total RNA を逆転写して得た cDNA を鋳型として PCR を行い、塩基配列を決定する。
- 4) フコキサンチンの生合成遺伝子としてゼアキサンチンエポキシダーゼ (ZEP) に注目し、1) 及び 2) と同様の方法で遺伝子解析を行った。

結果

- 1) アガロース電気泳動にて約 500 bp の遺伝子断片の増幅が確認された (図 2)。塩基配列を決定したところ、既存の OSC 遺伝子と相同性を有する配列が得られた。
- 2) 約 800 bp の遺伝子断片が増幅された。OSC の終止コドンを含む 3' 末端の配列が得られた。得られたコア配列と 3' 末端の配列をつなぎ合わせたところ、OSC 遺伝子全長の後ろ半分約 400 アミノ酸残基に相当する配列を明らかにすることができた。シオミドロ (*Ectocarpus siliculosus*) 由来の OSC と 84% の配列同一性を有していた。

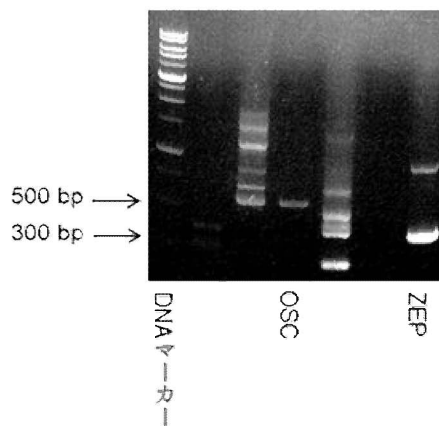


図 2. 包材別のコア配列の経時変化 (n=3)

^{*1} 学術誌投稿予定のため本事業の詳細については掲載を保留。

^{*2} E-mail: matsuo kz@pref.okinawa.lg.jp 本所、^{*3} 明治大学農学部農芸化学科