

海産動物 rDNA -ITS1 領域の特徴と 複数種同時検出への応用

張 成年（中央水研）・鈴木健之・竹山春子（東京農工大）

【目的】食用に供される水産動物種は畜肉に較べてはるかに多く、食品中の生物種を特定するためには、従来のような分類群別の特異的手法は高コストである。また、形態判別の指標が残されておらず複数の生物種が混在している胃内容物等の分析にはさらに手間を要する。本研究では、rDNA-ITS1 領域の塩基配列を海産無脊椎動物から魚類にわたる広い分類群間で比較し、DNA チップの応用による種判別への有効性と複数種の同時検出手法について検討した。

【方法】18S rDNA の 3' 末端と 5.8S rDNA の 5' 末端にデザインされたユニバーサルプライマーを用いて魚類 86 種、無脊椎動物 135 種の rITS1 領域を増幅し、全領域及び部分塩基配列を決定した。データベースからの情報も加えて分類群ごとの配列の特徴とチップを用いた判別法について検討した。

【結果】ITS1 領域の長さは、無脊椎動物で全般的に短く平均で 300-400bp であるが頭足類や十脚類では 1000bp を超えるものも見られた。魚類では平均 500-700bp であり、板鰓類では長く 1200bp を超えるものも多く見られた。GC 含量については、魚類のほとんどが 60% を超え、マグロでは 70% と高かった。一方、GC 含量が 60% を超える無脊椎動物は少なかった。配列の種間差については、同科異属間でアライメントが困難になる領域が多く見られるようになり、同目異科間では全領域でアライメントが困難になった。高次分類群から 50 種類を選択し、それらの PCR 産物をチップ上に固定した。蛍光標識した PCR 産物とのハイブリダイゼーション効率と諸条件の関係、および単一から複数種の PCR 産物を混合した場合のハイブリダイゼーションについて検討した結果について報告する。