

## PNAによる特異的増幅阻害を利用した 消化管内容物解析

張 成年（中央水研）・鈴木明香・横内裕子・竹山春子・  
松永 是（東京農工大）

【目的】種々の動物において消化管内容物や排泄物中の DNA を PCR で増幅し解析することにより食性の調査が行われている。特定の餌生物が想定できる場合にはその生物特異的プライマーをデザインすることが可能であるが、餌生物が不明な場合にはユニバーサルプライマーを使用することになる。その場合には異種生物分子を大量の宿主 DNA から分離しなければならない。本研究では宿主特異的配列を持つプロテイン核酸（PNA）を用いて宿主 DNA の増幅を特異的に阻害する手法を開発することを目的とした。

【方法】真核生物 ITS1 領域を対象として、18S rDNA の 3'部分と 5.8S rDNA の 5'部分の保存領域に対し、それぞれ forward primer と reverse primer を設計した。イセエビとウナギに特異的な ITS1 配列を参考にして、18S rDNA 領域と ITS1 領域の境界付近とそれ以外の部分で PNA probe をいくつか設計した。設計した primer および PNA probe を用いて、イセエビとウナギ DNA 及びそれらの混合標本を鋳型として PCR を行った。

【結果】18S rDNA 領域と ITS1 領域の境界に設計した PNA probe によって、イセエビとウナギ ITS1 領域の増幅を特異的に阻害できた。ITS1 領域内に設計した probe では増幅阻害ができなかった。さらに、消化管内容物 DNA を用いて PCR を行ったところ宿主以外の真核生物のものと考えられる増幅断片がいくつか得られた。これらをクローニングし、塩基配列解析による生物種同定を試みた。