

MCE-202 "MultiNA" 用いたPCR-RFLP法によるマグロ属魚類の品種判別

Identification of Thunnus using PCR-RFLP Method with MCE-202 "MultiNA"

近年、食品の安全、健康に対する消費者の関心が高まっています。これをうけて、JAS法（農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律）が改訂されました。このなかで品質表示基準制度が定められ、食品の名称や原産地等を正確に表示するよう義務づけられています。製造者または販売業者は商品の選択の目安になる情報を消費者に正確に伝える必要があります。

なかでも、日本人が多く食するマグロ属魚類は生鮮・加工の状態では外観からの種の判別が困難です。それゆえ、流通の過程での取り違え、不正表示、偽装が社会的問題として取り上げられており、迅速簡便かつ正確な品種判

別技術が求められています。

ここでは農林水産消費安全技術センターと水産総合研究センター中央水産研究所がマニュアル化したPCR-RFLP (Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism)法を用いて大西洋産クロマグロ(*Thunnus thynnus*)、ミナミマグロ(*T. maccoyii*)、メバチマグロ および (*T. obsus*)、キハダマグロ(*T. albacares*)、ピンナガマグロ (*T. alalunga*)の魚種判別例をご紹介します。魚種判別に用いるPCR-RFLP産物の分離パターンを検出にはマイクロチップ電気泳動装置MCE-202 “ MultiNA ” を使用しました。

Y.Sogabe

分析手順

Experimental Procedure

DNAの抽出方法とPCRの条件は農林水産消費安全技術センターと水産総合研究センター中央水産研究所が作成した「マグロ属魚類の魚種判別マニュアル」()に従いました。大西洋産クロマグロ、ミナミマグロ、メバチマグロ および 、キハダマグロ、ピンナガマグロの魚肉片からDNAを抽出しました。

抽出した各種マグロのDNAを鋳型としてPCRを行いました。PCR にはマグロのミトコンドリアDNAに特異的なプライマーを用いました。得られたPCR産物を制限酵素 (*Alu I* , *Mse I* , *Tsp509 I*) で処理しました。得られた酵素消化断片をMultiNAで電気泳動し、断片のパターンの違いにより魚種の判別を行いました。

() マグロ属魚類の魚種判別マニュアル
(独立行政法人農林水産消費安全技術センター、独立行政法人水産総合研究センター)
http://www.famic.go.jp/technical_information/hinpyou/pdf/maguro_manual.pdf

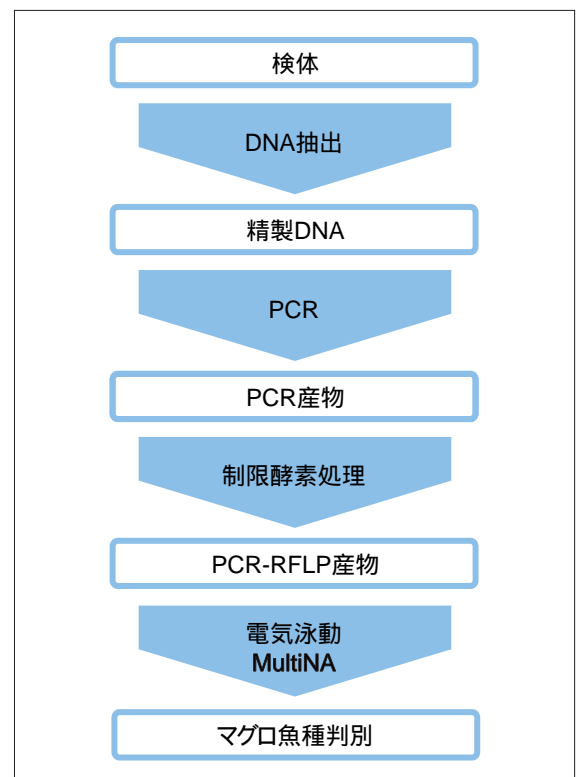


Fig. 1 PCR-RFLP法によるマグロ属魚類の品種判別手順
Experimental Procedure of Identification of Thunnus using PCR-RFLP Method.

試薬 / キット

Reagents / Kits

- DNA-500キット
(島津製作所) P/N 292-27910-91
- SYBR® GOLD nucleic acid gel stain
(インビトロジェン) S11494
- 25bp DNAラダー
(インビトロジェン) 10597-011
- DNeasy Blood & Tissue Kit
(キアゲン) 69504
- *Alu* I
(ニュー・イングランド・バイオラボ・ジャパン)
R0137S
- *Mse* I
(ニュー・イングランド・バイオラボ・ジャパン)
R0525S
- *Tsp*509 I
(ニュー・イングランド・バイオラボ・ジャパン)
R0576S

PCR-RFLP産物分析条件

Analytical Condition of PCR-RFLP Products

分析装置 : MCE-202"MultiNA"

分析モード: DNA-500オンチップモード

結果

Results

大西洋産クロマグロ(*Thunnus thynnus*), ミナミマグロ(*T. maccoyii*), メバチマグロ および (*T. obsus*), キハダマグロ(*T. albacares*), ピンナガマグロ(*T. alalunga*)からのPCR-RFLP産物をMultiNAで分析した結果をFig. 2に示します。

大西洋産クロマグロ, メバチマグロ, ピンナガマグロは*Alu* Iによる制限酵素処理によって特有の切断パターンを示すため判別が可能です (Fig. 2 *Alu* I処理 印)。

しかしながら, ミナミマグロ, メバチマグロ, キハダマグロは同一の切断パターンを示します。従って, 次に*Mse* Iによる制限酵素処理を行いました。ミナミマグロは*Mse* Iによる制限酵素処理において特有の切断パターンを示すため判別が可能です (Fig. 2 *Mse* I処理 印)。

残るメバチマグロ, キハダマグロについては*Tsp* 509 Iによる制限酵素処理を行いその切断パターンで二種を判別しました (Fig. 2 *Tsp* 509 I処理 印)。

MultiNAから得られる分析データは感度, 分離, 再現性に優れていますのでこれらの判別に大きな威力を発揮します。

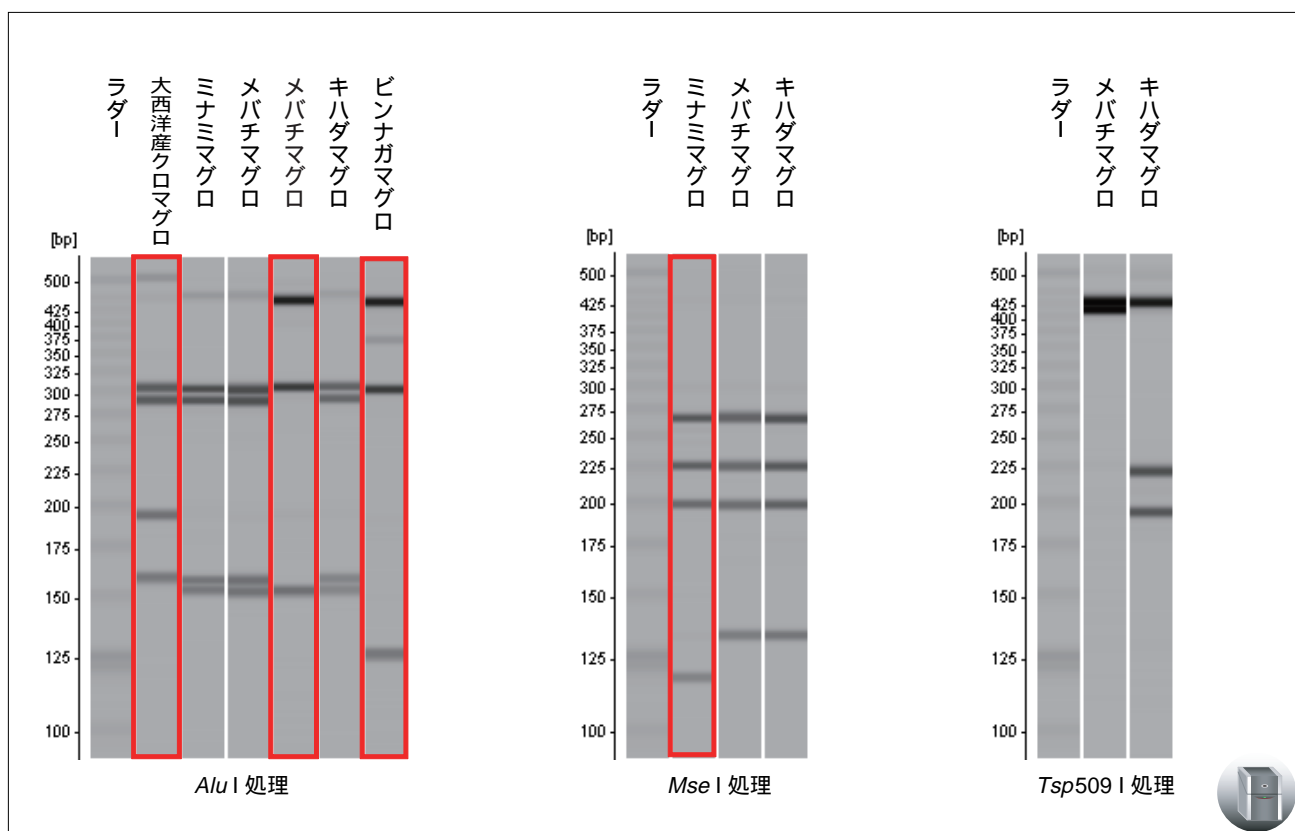


Fig. 2 マグロ属PCR-RFLPの分析結果
Analytical Results of PCR-RFLP Products from Thunnus

初版発行: 2010年4月

島津製作所 分析計測事業部
応用技術部

島津分析コールセンター

- 0120-131691(携帯電話不可)
- 携帯電話専用番号(075)813-1691

本資料は発行時の情報に基づいて作成されており、予告なく改訂することがあります。改訂版は下記の会員制Web Solutions Navigatorで閲覧できます。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/solnavi/solnavi.htm>

会員制情報サービス「Shim-Solutions Club」にご登録ください。
<https://solutions.shimadzu.co.jp/>
会員制Webの閲覧だけでなく、いろいろな情報サービスが受けられます。