

Application News

MultiNA IIを用いたPCR-RFLP法によるマグロ属魚類の品種判別

小林 慎一郎

ユーザーベネフィット

- ◆ 電気泳動の操作は全自動であるため準備から検出まで大幅に省力化できます。
- ◆ サンプルに応じた最適な分離バッファを選択し、内部マーカと一緒に泳動することで高い分析性能と再現性を実現します。
- ◆ フィンガープリンティング解析を行うことで、サンプル中の各DNA断片の有無を自動判定できます。

■はじめに

国内で流通している魚介類は、[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）により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。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。そのため、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（FAMIC）で実施されているPCR-RFLP（Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism）法を用いた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 α および β（*T. obsus*）、キハダマグロ（*T. albacares*）、ビンナガマグロ（*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システム MultiNA II MCE-301（図1）を使用しました。

■前処理および分析条件

DNAの抽出方法とPCRの条件は参考文献^{1)~5)}に従いました（図2）。大西洋産クロマグロ、ミナミマグロ、メバチマグロ α および β、キハダマグロ、ビンナガマグロの魚肉片からそれぞれ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、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てPCRを行いました。得られたPCR産物を制限酵素（*Alu I*、*Mse I*、*Tsp 509 I*）で処理しました。それぞれの制限酵素で得られた消化断片をMultiNA II（図1）で電気泳動し、断片の泳動パターンの違いにより魚種の判別を行いました。

■PCR-RFLP産物分析条件

分析装置：MultiNA™ II MCE-301
分析モード：DNA-500オンチップモード



図1 マイクロチップ電気泳動システム MultiNA™ II MCE-301

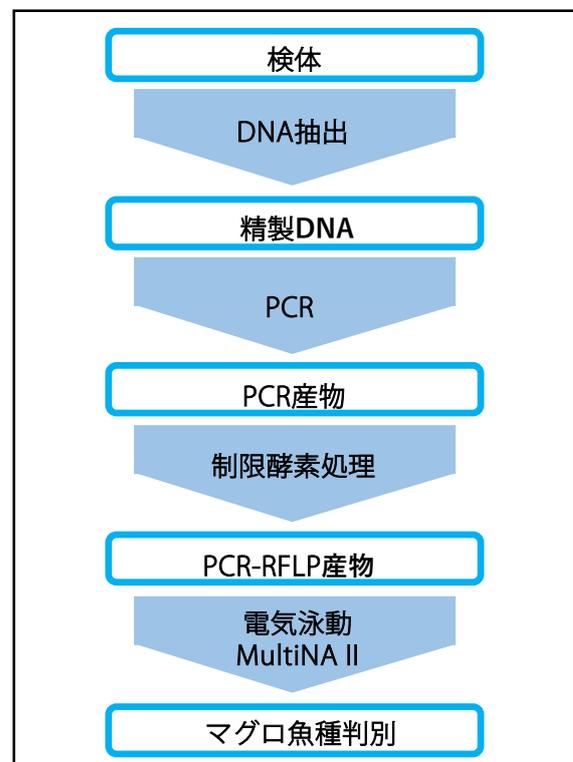


図2 PCR-RFLP法によるマグロ属魚類の品種判別手順

■結果

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 α および β（*T. obsus*）、キハダマグロ（*T. albacares*）、ビンナガマグロ（*T. alalunga*）からの PCR-RFLP産物をMultiNA IIで分析した結果を図3に示しました。大西洋産クロマグロ、メバチマグロ β、ビンナガマグロは *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（図3 *Alu I* 処理★印）。しかしながら、ミナミマグロ、メバチマグロ α、キハダマグロは同一の切断パターンを示します。次に *Mse II* による制限酵素処理を行いました。ミナミマグロは *Mse II* 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（図3 *Mse I* 処理★印）。残るメバチマグロ α、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（図3 *Tsp 509 I* 処理★印）。またポジティブコントロールが存在する場合、フィンガープリンティング解析することで、サンプル中の各DNA断片の有無を自動判定できます。解析後は、結果の一覧表示ができ、未知サンプルの *Alu I* 処理と *Mse I* 処理のPCR-RFLP産物はパターンからミナミマグロと判別されました（図3、表1）。

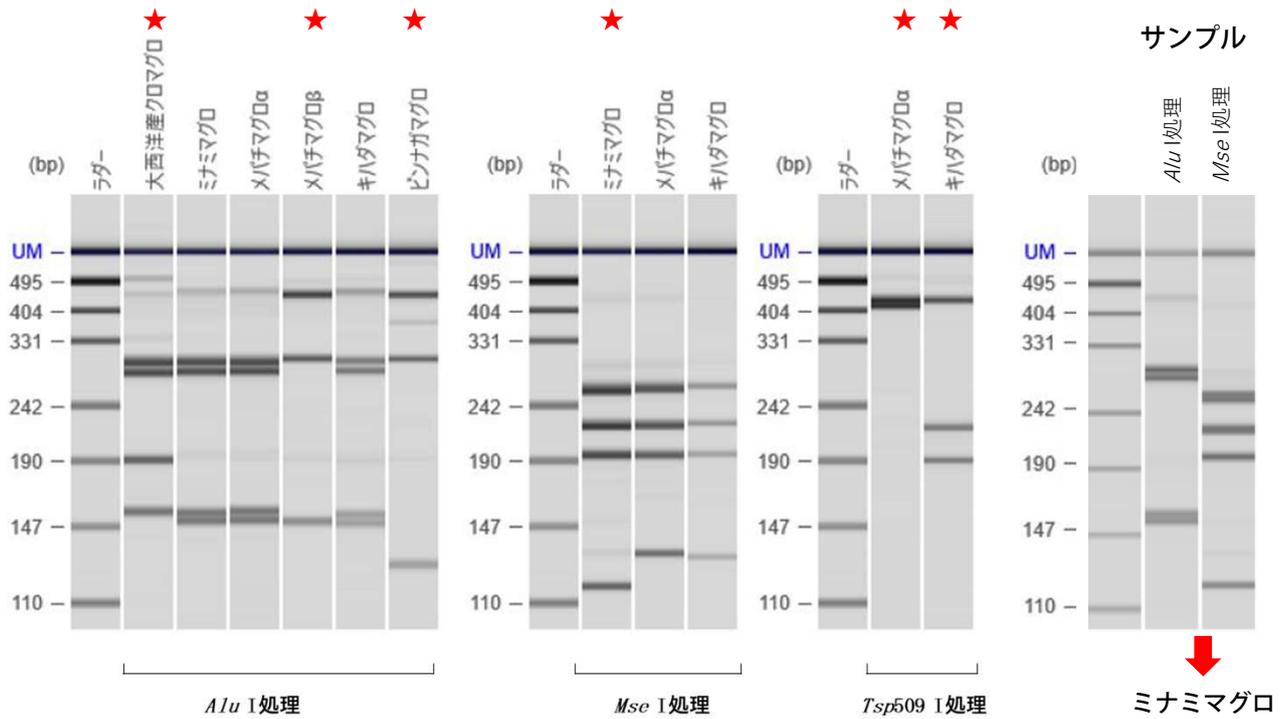


図3 マグロのPCR-RFLPパターン

表1 マグロの判別パターン

品種	Alu I処理						サンプル	品種	Mse I処理				品種	Tsp509 I処理	
	大西洋産クロマグロ	ミナミマグロ	メバチマグロ α	メバチマグロ β	キハダマグロ	ビンナガマグロ			ミナミマグロ	メバチマグロ α	キハダマグロ	サンプル		メバチマグロ α	キハダマグロ
298 bp	+	+	+	+	+	+	+	268 bp	+	+	+	+	429 bp	+	+
284 bp	+	+	+	-	+	-	+	220 bp	+	+	+	+	413 bp	+	-
190 bp	+	-	-	-	-	-	-	194 bp	+	+	+	+	218 bp	-	+
155 bp	+	+	+	-	+	-	+	133 bp	-	+	+	-	190 bp	-	+
148 bp	-	+	+	+	+	-	+	118 bp	+	-	-	+			

<参考文献>

- 1) Chow S.: Bull. Natl. Res. Inst. Far Seas Fish., 30, 619-627 (1993)
- 2) Chow S.: J. Mol. Evol., 41,741-748 (1995)
- 3) Chow S.: Mol. Eco., 9,221-227 (2000)
- 4) Takeyama H.: J. Fish Biology, 58, 1646-1657(2001)
- 5) Chow S.: Bull. Fish. Res. Agen., 8, 1-14 (2003)

■まとめ

MultiNA IIを用いたPCR-RFLP法により6種類のマグロを品種判別することができました。MultiNA IIはアガロースゲル電気泳動と比較して、分離度、再現性に優れており、PCR-RFLP産物の泳動パターンによる品種判別に大きな威力を発揮します。

MultiNAは、株式会社島津製作所またはその関係会社の日本およびその他の国における商標です。

▶ アンケート

関連製品 一部の製品は新しいモデルにアップデートされている場合があります。



▶ MultiNA II MCE-301

マイクロチップ電気泳動システム

関連分野

▶ ライフサイエンス

▶ ゲノミクス

▶ 価格お問い合わせ

▶ 製品お問い合わせ

▶ 技術お問い合わせ

▶ その他お問い合わせ