

缶詰等の水産加工食品の原料魚種判別

浪越 充司
Atsushi Namikoshi

要 約

サバ属及びサケ科魚類を原料とした缶詰等の加熱・加圧された加工食品の原料魚種判別を可能とするため、既存の報告を参考にして設計した新たな PCR プライマーセットによる判別法の検討を行った。サバ属 3 種の魚種判別法については、DNA シークエンス法及び PCR-RFLP 法による判別法を設計し、収集した市販の加工食品 26 点で魚種判別を実施したところ、すべて判別可能であった。サケ科魚類 8 種の魚種判別法については、DNA シークエンス法による判別法を設計し、収集した市販の加工食品 23 点で魚種判別を実施したところ、一部の試料で PCR 産物が得られず種判別が不能であった。サバ属魚類の判別法は、加熱・加圧された加工食品の原料魚種判別に有効であると考えられた。また、サケ科魚類の判別法を加熱・加圧された加工食品へ適用するには、更なる改良が必要であることが示唆された。

1. はじめに

我が国における水産加工食品の品質に関する表示は、農林物資の規格化及び品質表示の適正化に関する法律（JAS 法）に基づき制定された加工食品品質表示基準によって、「名称」及び「原材料名」等を記載することとなっている。さらに、加工食品品質表示基準の別表 2 に該当する塩干品等の加工食品は主な原材料の原産地名を記載しなければならない。

国内で流通するサバ属魚類はマサバ (*Scomber japonicus*)、ゴマサバ (*S. australasicus*) 及びタイセイヨウサバ (*S. scombrus*) の 3 種が知られており、ヨーロッパから輸入されるサバ類の大部分はタイセイヨウサバが占めている。また、マサバはゴマサバよりも味が良いといわれ、原材料の強調表示としてマサバ使用と表示される場合がある。一方、食品として流通するサケ科魚類は、サケ属のサケ（シロサケ）(*Oncorhynchus keta*)、ギンザケ (*O. kisutch*)、ベニサケ (*O. nerka*)、カラフトマス (*O. gorbusha*)、サクラマス・サツキマス (*O. masou*)、マスノスケ（キングサーモン）(*O. tshawysha*) 及びニジマス (*O. mykiss*)、さらに、タイセイヨウサケ属のタイセイヨウサケ（アトランティックサーモン）(*Salmo salar*) がある。一般的にサケ科魚類を原料とした加工食品にはベニサケ、ニジマス、サケ、カラフトマス等が使用され、その中でもベニサケは味が良く高価である。

(独) 農林水産消費安全技術センター 神戸センター

農林水産消費安全技術センター（以下「FAMIC」という。）では、サバ属及びサケ科魚類等の加工食品について、これが加工食品品質表示基準の別表2に該当する場合、DNA分析により原料魚種判別を行い、表示の真正性を検証してきたところである^{1), 2), 3), 4)}。これらの判別法は、DNA シークエンサーやリアルタイム PCR 等の高価な装置が必要なく、比較的ランニングコストが低い PCR-RFLP 法で用いている。これらの判別法の PCR で増幅する目的 DNA 長（PCR 産物長）は、制限酵素処理後の DNA 断片長パターンの識別を容易にするために400 bp以上としている。しかし、缶詰等の加工食品は、加圧・加熱されることにより DNA が400 bp以下に断片化されるため、既存の判別法を適用することが困難であった⁵⁾。

近年、加熱された畜肉等の試料において、PCR で検出する目的 DNA 長を200 bp程度にした種判別法の報告がある^{6), 7)}。したがって、検出する目的 DNA 長を200 bp程度にし、得られた PCR 産物の塩基配列を DNA シークエンス法等により解析することで加圧・加熱された加工食品でも種判別が可能となると示唆される。

本調査研究では加熱・加圧されたサバ属及びサケ科魚類の加工食品の原料魚種判別について、上記の手法が適用可能か検討したので報告する。更に、サバ属魚類の種判別では、DNA シークエンス法よりランニングコストが低い PCR-RFLP 法での種判別法で成果が得られたので報告する。なお、魚種の判別基準はサバ属の種判別では FAMIC が公表しているサバ属魚類の魚種判別マニュアル、サケ科魚類の種判別では Russell ら（2000）の報告で判別基準とされている各種制限酵素認識配列の有無を参考とした。

2. 実験方法

2. 1 試料

加熱・加圧したモデル試料作製用として生鮮のマサバ及びサケを購入し、サバ属魚類の魚種判別マニュアル又は Russell ら（2000）の報告を基に種判別したものを用いた。

市販の缶詰等の加工食品として、サバ属魚類については27点（缶詰18点、加熱真空パック8点及び新含気調理1点）、サケ科魚類については23点（缶詰10点、レトルトパウチ4点、加熱真空パック8点及び新含気調理1点）を収集した。

2. 2 モデル試料の調製

加熱・加圧した試料において、設計したプライマーセット及び PCR 条件で目的の PCR 産物が得られることを確認するため、オートクレーブ処理したモデル試料を作製した。マサバ及びシロサケを各々約10 g採取し、アルミホイルに包んで121℃、2気圧、15分間及び121℃、2気圧、30分間の処理をした。なお、各肉片の厚さは2～3 cmとした。

2. 3 プライマーの設計

サバ属魚類についてはマサバ（DDBJ/EMBL/GenBank: Accession No. AB488405）、ゴマサバ（Accession No. AB488407）及びタイセイヨウサバ（Accession No. AB120717）の塩基配列を参考にプライマーを設計した。なお、魚種の判別基準である2カ所の制限酵素認識配

列を含み 200 bp 程度の PCR 産物が検出可能な一対のプライマーセットが設計できなかったため、各制限酵素認識配列を含む二対のプライマーセット (*saba-HaeIII* 及び *saba-HinfI*) を設計した。各プライマーの塩基配列は *saba-HaeIII* のフォワードプライマー SabaF4 (5'-CTGGCATTTCGTYAGCYTMCTCCCC-3') 及びリバープライマー SabaR3 (5'-GGAGTAAAAATAATCGAGTAGTGGTC-3')、*saba-HinfI* のフォワードプライマー SabaF3 (5'-TACYCCWATTGCACTCTACGTGAC-3') 及びリバープライマー SabaR1 (5'-TGCTGTGACTAGAATAATCATRGC-3') とした。サバ属魚類の魚種判別マニュアルで、サバ属 3 種の判別対象としているミトコンドリア DNA の一部の塩基配列上での設計した 4 種のプライマーの位置を図 1 に示す。

サケ科魚類についてはサケ (Accession No. AJ314561)、ギンザケ (Accession No. EF126369)、ベニサケ (Accession No. EF055889)、カラフトマス (Accession No. AJ314562)、サクラマス (Accession No. DQ864465)、マスノスケ (Accession No. AF392054)、ニジマス (Accession No. L29771) 及びタイセイヨウサケ (Accession No. U12143) の塩基配列を参考に、各制限酵素認識配列をすべて含むプライマーセットを設計した。各プライマーの塩基配列はフォワードプライマー SakeF1 (5'-CCTAAAAATYGCYAATGACGCACTARTC-3') 及びリバープライマー SakeR1 (5'-GCRTGRATRTTHCGRATDAGTCAGCC-3') とした。プライマーセットを用いた PCR 産物の塩基配列を図 2 に示す。

```

Scomber japonicus      1 : ATCCGC TGGTCT TAGGAACCAGAACTCTTGGTGCAAATCCAAGTAGCAG
Scomber australasicus 1 : -----
Scomber scombrus      1 : -----
LsS1-Leu primer        1 : ATCCGC TGGTCT TAGGAACC →

Scomber japonicus      51 : CTAATGACTTCCACCTCCGTAACAATAACAACAAGCCTAATCATTATCTT
Scomber australasicus 51 : -----
Scomber scombrus      51 : -----

Scomber japonicus     101 : CTCCCTGCTTGCCTACCCCGTATT CACAACCCCTC CCCCCAGCCCCAAG
Scomber australasicus 101 : -----A-----
Scomber scombrus      101 : -----A-C-----T-----A-----

Scomber japonicus     151 : CCCCTAACTGAGCAGTCGCGCAAGTCAAGACCGCAGTTAAACTGGCATTT
Scomber australasicus 151 : -----
Scomber scombrus      151 : -----TA-A-----A-T-G-----
SabaF4 primer          1 : CTGGCATTT

                                                                    HaeIII

Scomber japonicus     201 : TTCGTTAGCTTACTCCCCTTATTTCTCTTTATAAACGAAGGGCCGAAAC
Scomber australasicus 201 : -----C-----A-----
Scomber scombrus      201 : -----C-C-C-----C-C-----A-----G-----
SabaF4 primer          10 : TTCGTYAGCYTMCTCCCC →

Scomber japonicus     251 : AATTAT TACCAACTGAAACTGAATAAATACGCTTACTTTCGACGTTAATA
Scomber australasicus 251 : -----C-C-----
Scomber scombrus      251 : A-----T-----G-----C-C-----T-----C-----

Scomber japonicus     301 : TCAGCC TTAATTTGACCACTACTCGATTATTTTACTCCAATTGCACCTC
Scomber australasicus 301 : -----C-----
Scomber scombrus      301 : -----C-T-----
SabaR3 primer          1 : GACCACTACTCGATTATTTTACTCC ←
SabaF3 primer          1 : TACTCCAATTGCACCTC

Scomber japonicus     351 : TACGTGACATGATCAATCCTTGAGTTTGCTTCATGATACATGCACGCTGA
Scomber australasicus 351 : -----G-----
Scomber scombrus      351 : -----T-T-----A-----T-----T-C--
SabaF3 primer          17 : TACGTGAC →

Scomber japonicus     401 : CCCCTACATGAACCGCTTCTTTAAATACCTCCTGGTCTTCTTATTGCCA
Scomber australasicus 401 : -----A-----
Scomber scombrus      401 : -----T-A-----A-A-----C-C-C-T-
SabaR1 primer          1 : GCYA ←

                                                                    HinfI

Scomber japonicus     451 : TGATTATTCTAGTCACAGCAAACAACATGTTTCAACTATTTATCGGCTGA
Scomber australasicus 451 : -----
Scomber scombrus      451 : -----
saba-seq R1 primer     5 : TGATTATTCTAGTCACAGCA
HSs1-ND5 primer        1 : AACTATTTATCGGCTGA ←

Scomber japonicus     501 : GAAGG
Scomber australasicus 501 : -----
Scomber scombrus      501 : -----
HSs1-ND5 primer        18 : GAAGG
    
```

図1 サバ属魚類の魚種判別マニュアルのプライマーセットLSs1-Leu及びHSs1-ND5を用いたPCR産物の塩基配列上での設計した4種のプライマーの位置

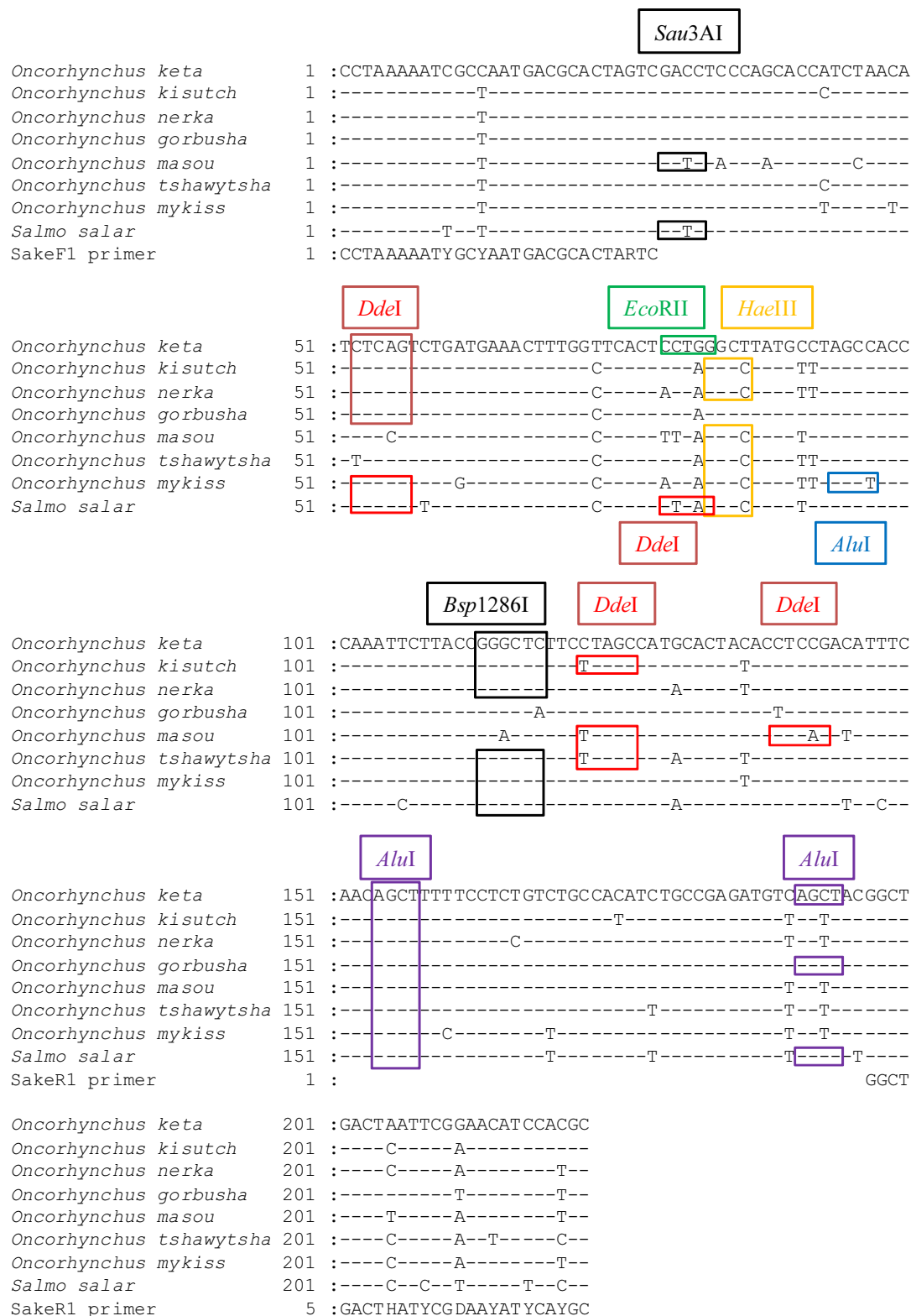


図2 サケ科魚類8種のプライマーセット (SakeF1及びSakeR1) を用いたPCR産物の塩基配列

2. 4 DNA抽出、PCR、PCR後のアガロースゲル電気泳動

サバ属魚類の判別及びサケ科魚類の判別において DNA 抽出、PCR、アガロースゲル電気泳動の試験条件は同一とした。

DNA 抽出は DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN, Hilden, Germany) 又は Blood & Cell Culture DNA Maxi Kit (QIAGEN) を用いた。DNeasy Blood & Tissue Kit では試料 25 ± 5 mg を採取し、QIAGEN 社の標準プロトコルに従って DNA を抽出した。なお、DNA の溶出には Buffer AE を $100 \mu\text{L}$ 加え、室温で 1 分間静置後、室温にて $6,000 \times g$ で 1 分間遠心し、もう一度同様の操作を行い、1 回目の溶出液と合わせて DNA 溶液とした。Blood & Cell Culture DNA Maxi Kit による抽出は DNeasy Blood & Tissue Kit で PCR 産物が得られない場合のみに行った。試料 400 ± 50 mg を採取し、QIAGEN 社の標準プロトコルに従って DNA を抽出した。なお、DNA の溶解は滅菌超純水 $400 \mu\text{L}$ で行った。

PCR はプライマーセットごとに行い、PCR 反応液の組成は、0.5 units の TaKaRa Ex Taq HS (Takara Bio, Shiga, Japan)、 $1 \times$ Ex Taq buffer、0.2 mmol/L dNTP Mixture、 $0.5 \mu\text{mol/L}$ の各プライマーセットのプライマーを含む反応液に $2.0 \mu\text{L}$ の DNA 溶液を加え、滅菌超純水で全量を $20 \mu\text{L}$ とした。PCR 反応条件は最初の熱変性として 94°C で 1 分、次に 94°C で 20 秒、 60°C で 20 秒、 72°C で 20 秒を 1 サイクルとして 35 サイクル、最後に伸長反応の延長として 72°C で 2 分を GeneAmp PCR System 9700 (Life Technologies, Carlsbad, CA, USA) を用いて行った。

PCR 後のアガロースゲル電気泳動でのアガロースは Agarose S (NIPPON GENE, Tokyo, Japan) を用い、ゲルの濃度は 2 % (w/v) とし、電気泳動緩衝液は TAE 又は TBE を用いた。PCR 反応液 $2.5 \mu\text{L}$ を電気泳動に供し、エチジウムブロミドで染色した。

2. 5 DNAシーケンス

得られた PCR 産物の塩基配列決定はダイレクトシーケンシングによって行った。まず、PCR 産物の精製は、PCR 産物精製キットの ExoSAP-IT (GE Healthcare, Buckinghamshire, UK) を用い、GE ヘルスケア社の標準プロトコルに従った。サイクルシーケンス反応は BigDye Terminator v1.1 Cycle Sequencing Kit (Life Technologies) を用い、Life Technologies 社の標準プロトコルに従い、GeneAmp PCR System 9700 (Life Technologies) を用いて行った。シーケンス反応物の精製は AutoSeq G-50 (GE Healthcare) を用い、GE ヘルスケア・ジャパン社の標準プロトコルに従った。塩基配列データの解析は Applied Biosystems 3130xl ジェネティックアナライザ (Life Technologies) を用い、Life Technologies 社の標準プロトコルに従って配列データを取得した。得られた配列データは、GENETYX ver.9 (GENETYX, Tokyo, Japan) を用いて解析した。

2. 6 制限酵素処理、制限酵素処理後のアガロースゲル電気泳動 (サバ属魚類の判別)

saba-*Hae*III 及び saba-*Hin*fl のプライマーセットごとに制限酵素処理を行った。制限酵素処理反応液の組成は、8 units の制限酵素 (saba-*Hae*III では *Hae*III (Fermentas, Ontario, Canada)、saba-*Hin*fl では *Hin*fl (Fermentas))、 $1 \times$ 制限酵素用緩衝液を含む反応液に $5.0 \mu\text{L}$ の PCR 反応液を加え、滅菌超純水で全量を $15 \mu\text{L}$ とした。

制限酵素処理後のアガロースゲル電気泳動でのアガロースは Agarose S (NIPPON GENE)

を用い、ゲルの濃度は3% (w/v) とし、電気泳動緩衝液はTAE又はTBEを用いた。PCR反応液6 µLを電気泳動に供し、エチジウムブロミドで染色した。

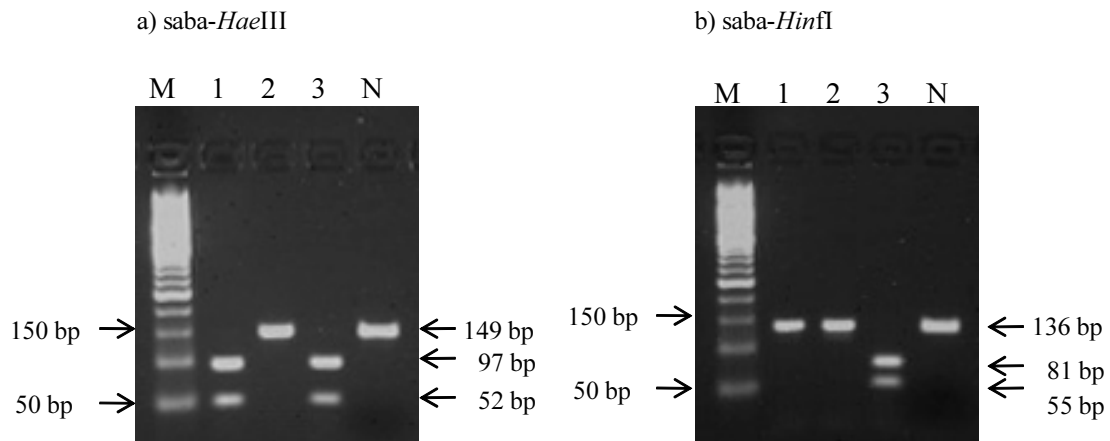
3. 結果及び考察

3. 1 サバ属魚類の種判別

設計した2種のプライマーセットで2種のモデル試料からPCRを行ったところ、121℃、2気圧、30分間のオートクレーブ処理をした試料からも目的長のPCR産物が得られた。さらに、得られた2種のPCR産物はダイレクトシーケンス法で塩基配列の決定が可能であった。

設計したプライマーセットは2種あるため、それぞれのPCR産物をDNAシーケンスすることはランニングコストが高くなる。そのため、よりランニングコストが低いPCR-RFLP法による種判別法を検討したところ、アガロースゲル電気泳動でDNA断片長パターン(遺伝子型)の判定が可能であった(図3)。

図3 各プライマーセット制限酵素処理後の電気泳動写真



1 : マサバ、2 : ゴマサバ、タイセイヨウサバ
 N : 制限酵素未処理、M : 50 bp DNA Ladder marker

収集した試料にこの方法を適用した結果を表1に示す。缶詰1点において、DNeasy Blood & Tissue KitによるDNA抽出液ではPCR産物が得られなかったが、他の26点の試料は魚種判別が可能であった。PCR産物が得られなかった試料をBlood & Cell Culture DNA Maxi Kitを用いてDNA抽出し、PCRを行ったところ、PCR産物が得られ、魚種判別が可能であった。Blood & Cell Culture DNA Maxi Kitを用いたDNA抽出はDNeasy Blood & Tissue Kitよりも作業工程が煩雑で作業時間が長く、ランニングコストもかかるが、高純度及び高濃度のDNAが得られる。厚生労働省通知の「魚類乾製品等のフグ混入検査について」におけるフグの種判別法においても、DNeasy Blood & Tissue KitでDNAが抽出されない検査試料については、Blood & Cell Culture DNA Maxi Kitと同類のQIAGEN Genomic-tip 20/Gを用いた抽出を試みることとなっている⁸⁾。今後、本判別法を

検査に活用するに当たっては、まず DNeasy Blood & Tissue Kit を用いて検査を行い、PCR 産物が得られなければ、Blood & Cell Culture DNA Maxi Kit を用いて行うことで、効率的に多くの加工食品で魚種判別が可能となると考えられた。

表 1 サバ属魚類の加工品における判別可能数

| 加工品の種類 | 試料数 | 魚種判別可能数 (DNeasy Blood & Tissue Kit) |
|---------|-----|--|
| 缶詰 | 18 | 17 |
| 加熱真空パック | 8 | 8 |
| 新含気調理 | 1 | 1 |

収集した試料では、想定される DNA 断片長パターン以外のパターンであったものではなく、すべて種判別が可能であった。しかし、個体変異により魚種の判別基準である制限酵素認識配列が変異し、想定される DNA 断片長パターン以外のパターンとなり、魚種判別不能となる可能性も示唆される。「魚類乾製品等のフグ混入検査について」では、得られた PCR 産物のミトコンドリア DNA 中の 16S rRNA 遺伝子部分領域（約 600 bp）の塩基配列を決定し、そのデータが指定されたフグ各種の塩基配列データに対して 99.0 %以上の配列相同性を有した場合のみ同一生物種と判定している。設計したプライマーセットで得られる PCR 産物は上記の遺伝子領域でもなく、比較する塩基配列数も異なり、サバ属 3 種の多くの塩基配列データで検証してはいないため、配列相同性が 99.0 %以上で同一生物種と判定（同定）とはいえないが、配列相同性が 99.0 %以上であれば種を推定することは可能と考えられる。マサバ、ゴマサバ及びタイセイヨウサバについて設計した 2 種のプライマーセットで得られる PCR 産物の塩基配列の配列相同性を比較したものを表 2 に示す。近縁種のマサバとゴマサバでも配列相同性が 96.7 %であり、184 塩基中 6 塩基が異なる。よって、判別基準である制限酵素認識配列の 1 塩基のみが変異していても 3 種のうち 1 種と配列相同性が 99.0 %以上となり、他の 2 種の魚種とは配列相同性が 99.0 %未満となるため、魚種が推定可能となる。

表 2 サバ属3種における2種のプライマーセットで得られるPCR産物の配列（184塩基）から算出した配列相同性

| | マサバ AB488405 | ゴマサバ AB488407 | タイセイヨウサバ AB120717 |
|----------------------|-----------------|------------------|----------------------|
| マサバ AB488405 | - | 96.7 % | 87.0 % |
| ゴマサバ AB488407 | 96.7 % | - | 87.0 % |
| タイセイヨウサバ AB120717 | 87.0 % | 87.0 % | - |

本研究で設計した判別法は 2 種のプライマーセットで 1 種ずつの制限酵素を使用する PCR-RFLP 法であり、現行のマニュアルより PCR を 1 回多く行わなければならないため、ランニングコストや作業時間が多くなる。しかし、缶詰等の試料でも判別が可能であるため、現行のマニュアルでは対応できない加工食品について有効な判別法であると考えられた。今後、室間再現性を確認することで、食品表示の監視のための検査に活用可能であると考えられた。

3. 2 サケ科魚類の種判別

設計したプライマーセットで 2 種のモデル試料から PCR を行ったところ、121 °C、2 気圧、30 分間のオートクレーブ処理をした試料からも目的長の PCR 産物が得られた。さらに、得られた PCR 産物はダイレクトシーケンス法で塩基配列の決定が可能であった。

収集した試料にこの方法を適用した結果を表 3 に示す。缶詰 1 点及び加熱真空パック 2 点で PCR 産物が得られなかったが、他の 20 点は魚種判別が可能であった。PCR 産物が得られなかった試料を Blood & Cell Culture DNA Maxi Kit を用いて DNA 抽出し、PCR を行ったが PCR 産物は得られなかった。

表 3 サケ科魚類の加工品における判別可能数

| 加工品の種類 | 試料数 | 魚種判別可能数 (DNeasy Blood & Tissue Kit) |
|---------|-----|--|
| 缶詰 | 10 | 9 |
| レトルトパウチ | 4 | 4 |
| 加熱真空パック | 8 | 6 |
| 新含気調理 | 1 | 1 |

収集した試料で魚種判別可能であったものは、判別基準である制限酵素認識配列に変異がなかった。しかし、個体変異により魚種の判別基準である制限酵素認識配列が変異し、魚種判別不能となる可能性も示唆される。サケ科魚類 8 種について設計した 2 種のプライマーセットで得られる PCR 産物の塩基配列の配列相同性を比較したところ、配列相同性が一番高いサケとカラフトマスやギンザケとマスノスケで 97.6 %であり、168 塩基中 4 塩基が異なる (表 4)。よって、本調査研究でのサバ属魚類の種判別法と同様に、判別基準である制限酵素認識配列の 1 塩基のみが変異していても 8 種のうち 1 種と配列相同性が 99.0 %以上となり、他の 7 種の魚種とは配列相同性が 99.0 %未満となるため、魚種が推定可能となる。

表4 サケ科魚類8種におけるプライマーセットで得られるPCR産物の配列(168塩基)から算出した配列相同性

| | サケ AJ314561 | ギンザケ EF126369 | ベニサケ EF055889 | カラフトマス AJ314562 | サクラマス DQ864465 | マスノスケ AF392054 | ニジマス L29771 | タイセイヨウサケ U12143 |
|--------------------|----------------|------------------|------------------|--------------------|-------------------|-------------------|----------------|--------------------|
| サケ AJ314561 | - | 93.5 % | 93.5 % | 97.6 % | 89.9 % | 92.3 % | 91.1 % | 90.5 % |
| ギンザケ EF126369 | 93.5 % | - | 96.4 % | 93.5 % | 91.7 % | 97.6 % | 94.6 % | 89.9 % |
| ベニサケ EF055889 | 93.5 % | 96.4 % | - | 93.5 % | 91.1 % | 96.4 % | 95.2 % | 91.1 % |
| カラフトマス AJ314562 | 97.6 % | 93.5 % | 93.5 % | - | 89.9 % | 92.3 % | 91.1 % | 90.5 % |
| サクラマス DQ864465 | 89.9 % | 91.7 % | 91.1 % | 89.9 % | - | 90.5 % | 88.7 % | 89.9 % |
| マスノスケ AF392054 | 92.3 % | 97.6 % | 96.4 % | 92.3 % | 90.5 % | - | 93.5 % | 91.1 % |
| ニジマス L29771 | 91.1 % | 94.6 % | 95.2 % | 91.1 % | 88.7 % | 93.5 % | - | 88.7 % |
| タイセイヨウサケ U12143 | 90.5 % | 89.9 % | 91.1 % | 90.5 % | 89.9 % | 91.1 % | 88.7 % | - |

設計したプライマーセットで得られる PCR 産物を Russell ら (2000) の報告と同様の PCR-RFLP 法で行うと、一部の制限酵素で DNA 断片長の差が 20 bp 以下となる魚種があり、アガロースゲル電気泳動では遺伝子型の判定が困難となる。また、6 種の制限酵素を使用しなければならず、魚種の判別が複雑である。そのため、PCR-RFLP 法よりランニングコストは高いが、より塩基配列の情報が得られる DNA シークエンス法を行うことは利点がある。

収集した試料の一部で PCR 産物が得られなかった原因の一つとしては、得られる PCR 産物長が 222 bp であり、サバ属魚類の種判別で得られる PCR 産物より約 80 bp 長いだけだと考えられた。これは、最小回数の DNA シークエンスで魚種判別し、ランニングコストを抑えるため、1 つの PCR 産物にすべての判別基準である各制限酵素認識配列を含むように設計したためである。今後の課題として、すべての判定基準である各制限酵素認識配列を含む 150 bp 程度の PCR 産物が得られるような 2 種のプライマーセットを設計し、魚種判別が可能か検討する必要があると考えられた。

4. まとめ

新たに設計した PCR-RFLP 法を用いたサバ属 3 種の判別法については、収集した試料 26 点すべて判別可能であった。今後、室間再現性を確認することで、缶詰等の加熱・加圧された加工食品の食品表示の監視のための検査に活用可能であると考えられた。

新たに設計した DNA シークエンス法を用いたサケ科魚類 8 種の判別法については、収集した試料の一部で PCR 産物が得られず、魚種判別不能となった。ランニングコストの問題があるが、判別基準である各制限酵素認識配列をすべて含むように、より短い PCR

産物が得られるような2種のプライマーセットを設計し、魚種判別が可能か検討する必要があると考えられた。

5. 文 献

- 1) 中央水産研究所編、マサバ・ゴマサバ判別マニュアル (1990)
- 2) (独) 農林水産消費技術センター及び(独) 水産総合研究センター、サバ属魚類の魚種判別マニュアル、平成 19 年 11 月 19 日
- 3) Russell J. V., Hold G. L., Pryde S. E., Rehbein H., Quinteiro J., Rey-Mendez M., Sotelo C. G., Pérez-Martin R. I., Santos A. T. and Rosa C. Use of restriction fragment length polymorphism to distinguish between salmon species, *J. Agric. Food Chem.* 2000; **48** 2184-2188
- 4) 高嶋康晴及び山下倫明、先端技術を活用した農林水産研究高度化事業「近縁魚類等の種判別および漁獲地域判別技術の開発」報告書 (2004)
- 5) 高嶋康晴、森田貴己及び山下倫明、ミトコンドリア DNA および成分分析による加工食品の原料原産地判別、水産物の原産地判別、日本水産学会編、恒星社厚生閣、東京、2006; 54-66
- 6) Kusama, T., Nomura, T. and Kadowaki K. Development of primer for detection of meat and bone meal in ruminant feed and identification of the animal of origin, *J. Food Prot.* 2004; **67** 1289-1292
- 7) Fumiére O., Dubois M., Baeten V., von Holst C. and Berben G. Effective PCR detection of animal species in highly processed animal byproducts and compound feeds, *Anal. Bioanal. Chem.* 2006; **385** 1045-1054
- 8) 厚生労働省通知食安輸発第 0425005 号、魚類乾製品等のフグ混入検査について、平成 20 年 4 月 25 日