

ズワイガニ属 3 種のスクリーニング判別法の開発

足立 静香¹, 西川 加寿子¹, 中山 祐輔¹, 藤原 守¹, 松岡 猛¹, 高嶋 康晴²
 Adachi Shizuka, Kazuko Nishikawa, Yusuke Nakayama, Mamoru Fujihara, Takeshi Matsuoka,
 Yasuharu Takashima

要 約

農林水産消費安全技術センター（FAMIC）では、ズワイガニ属の名称（種名）表示の真正性の確認のため、ミトコンドリアDNAのCO I 領域内の約560塩基の配列を解析するDNAシークエンス法により種を判別している。DNAシークエンス法は、得られたDNA塩基配列とDNAデータバンクに登録されているDNA塩基配列情報との相同性を検索することにより、広範な種の判定が可能であるが、分析操作が煩雑であり試薬も高額であることから、多検体の検査を短時間で行うには不向きである。そのため、ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対、及びオオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対を作製し、PCR産物の有無により国内で流通している主要なズワイガニ属であるズワイガニ、オオズワイガニ及びベニズワイガニの3種を判別する安価で簡便なスクリーニング判別法を確立した。

1. はじめに

食品に関する表示は、食品表示法（平成 25 年法律第 70 号）に基づく食品表示基準（平成 27 年内閣府令第 10 号）において、一般用生鮮食品にあつては「名称」及び「原産地」を、一般用加工食品にあつては、「名称」、「原材料名」等を表示することが義務付けられている。

国内で主に流通するズワイガニ属の種には、ズワイガニ（*Chionoecetes opilio*）、オオズワイガニ（*C. bairdi*）、ベニズワイガニ（*C. japonicus*）の 3 種があり、一般に学名からズワイガニはオピリオ種、オオズワイガニはバルダイ種と称されることもある。ズワイガニは、日本海、鮭子以北の太平洋、オホーツク海、ベーリング海、アラスカ沿岸、北アメリカ沿岸に生息し、雄は松葉ガニ、越前ガニ、雌はセイコガニ、コウバコガニ等の地域ブランド、地方名が多くみられる¹⁾³⁾。オオズワイガニは、北海道の一部でも漁獲されるが、主にベーリング海で漁獲され、*C. opilio* とともに「ズワイガニ」として市場流通していることが多い。そして、ベニズワイガニは、ズワイガニの約 4 倍の国内漁獲量があり⁴⁾、安価であることからグラタン、コロッケ等の加工原料となることが多い。魚介類は、種により品質や価格に違いがある場合が多く、種名は消費者の商品選択に重要な情報であることから、平成 19 年に水産庁より「魚介類の名称のガイドライン」（現 食品表示基準 Q&A 別添（消費者庁 平成 27 年 3 月））⁵⁾が示され、魚介類の正確な名称の表記が求められることとなった。この中で、ズワイガニとベニズワイガニについては、それぞれ標準和名での記載が示されている。しかし、ズワイガニ属 3 種はそれぞれ形態的に近似している上、脚部・腹部などの部位単位やむき身で販売される、あるいは、グラタン・、コロッケ等の加工原料として使用される場合には、目視で種を判別することは容易ではない。過去には、ベニズワイガニを使用しているにもかかわらず、「ズワイガニ使用」

¹ 独立行政法人農林水産消費安全技術センター神戸センター

² 独立行政法人農林水産消費安全技術センター本部（現）神戸センター

と記載された事例が報告されている。このため、名称（種名）表示の真正性の確認を行う科学的な判別分析法が必要とされ、FAMIC では現在、ミトコンドリア DNA の cytochrome *c* oxidase subunit I (CO I) の遺伝子領域内の約 560 塩基の配列を解析する DNA シークエンス法により種を判別している。しかし、DNA シークエンス法は、分析操作が煩雑であり試薬も高額であることから、多検体の検査を簡便、かつ安価に行うスクリーニング法の開発が望まれた。FAMIC では、甲殻類（タラバガニ、アブラガニ、ハナサキガニ及びイバラガニモドキ）のスクリーニング判別法として、ミトコンドリア DNA の 16S ribosomal RNA (16S rRNA) 遺伝子領域の一部をポリメラーゼ連鎖反応 (Polymerase Chain Reaction ; PCR) により増幅し、当該 PCR 産物を制限酵素により種間で異なる長さの DNA 断片に切断する制限酵素断片長多型法 (Restriction Fragment Length Polymorphism ; RFLP) により行っている。今回、さらに短時間で判別するために制限酵素による処理を要さない、異なる 2 種のプライマー対による PCR の結果からズワイガニ属 3 種を判別するスクリーニング判別法の検討を行った。

2. 実験方法

2.1 試料

ズワイガニ属カニ加工品は、ほぐし身、むき身、寿司、缶詰、かに玉、お茶漬、スープ類、サンドイッチ、天井、冷凍食品（コロケ、グラタン・ドリア及びカニチャーハン）を国内各地の一般小売店で購入した。試料は、ほぐし身（フレック状）のものは 1 商品につき 1 点、棒肉のものは 1 商品から 3 点を上限に無作為に選出し、85 商品 174 点を実験に供した。

スクリーニング判別用プライマー対の確認のために、ズワイガニ属 3 種以外の甲殻類として、国立研究開発法人 水産研究・教育機構 中央水産研究所から入手したタラバガニ 3 点、アブラガニ 3 点、ハナサキガニ 3 点、イバラガニモドキ 2 点、ケガニ 3 点、クリガニ 3 点、トゲクリガニ 3 点を実験に供した。

2.2 DNA 抽出

DNA シークエンス法には、カニ肉片の表面を避けた内部の組織から 10~25 mg を採取し、DNA を抽出した。スクリーニング判別法には、通常は試料を洗浄せずに DNA シークエンス法と同様に操作し DNA を抽出した。試料を洗浄する場合は、カニ肉片の表面を避けた内部の組織を採取し、組織に含まれる水分を産業用ワイパーで吸水後、滅菌水中で洗浄する工程を 1 回又は 2 回行った後、再度水分を産業用ワイパーで吸水したものから 10~25 mg を採取し、DNA を抽出した。DNA 抽出には、DNeasy Blood & Tissue Kit (QIAGEN) を用い、製品プロトコールに従った。

2.3 塩基配列解析

塩基配列決定は、ダイレクトシークエンス法によって行った。PCR 反応液は、0.5 Units DNA ポリメラーゼ *TaKaRa Ex Taq*[®] Hot Start Version (以下「*Ex Taq*[®] HS」; タカラバイオ) を含み、最終濃度が 1× *Ex Taq* Buffer (*Ex Taq*[®] HS 添付試薬)、0.2 mmol/L dNTP Mixture (*Ex Taq*[®] HS 添付試薬)、各 0.25 μmol/L プライマー対 (フォワードプライマー LCO1490 : GGTCAACAAATCATAA AGATATTGG 及びリバースプライマー HCO2198 : TAAACTTCAGGGTGACCAAAAAATCA)⁶⁾ となるように混合し、2.0 μL の抽出 DNA 溶液を加え、滅菌水で全量を 20 μL とした。PCR の温度条件は、最初の熱変性として 94 °C・1 分の後、熱変性 94 °C・20 秒、アニーリング 50 °C・20 秒、伸長反応 72 °C・40 秒を 1 サイクルとして 35 サイクル後、最後の伸長反応を 72 °C・7 分で行った。

PCR 産物の精製には、illustra™ ExoProStar™ (GE Healthcare UK) を用いた。1.0 μL の ExonucleaseI、1.0 μL の Alkaline Phosphatase 及び 3.0 μL の滅菌水を混合後に、PCR 後の反応液 5.0 μL を加え、37 °C で 15 分間処理した後、80 °C で 15 分間加熱し、酵素を不活性化した。

サイクルシーケンシング反応には、BigDye™ Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit (Thermo Fisher Scientific) を用いた。反応液は、BigDye™ Terminator v3.1 Ready Reaction Mix 2.0 μL、BigDye™ sequencing buffer (5×) 3.0 μL に、最終濃度が 3.0 pmol/L となるように LCO1490 プライマー又は HCO2198 プライマーを混合し、これに精製後に約 2.5 ng/μL に調製した PCR 産物 2.0 μL を加え、滅菌水で全量を 20 μL とした。PCR の温度条件は、最初の熱変性として 94 °C・1 分の後、熱変性 94 °C・20 秒、アニーリング 50 °C・15 秒、伸長反応 60 °C・4 分を 1 サイクルとして 25 サイクルで行った。

塩基配列決定にかかる PCR は、サーマルサイクラー GeneAmp® PCR System 9700 (Thermo Fisher Scientific) を用いた。

サイクルシーケンシング後の余剰な蛍光色素の除去は、エタノール沈殿により行い、エタノールが完全に気化してから、Hi-Di Formamide (Thermo Fisher Scientific) を 20 μL 添加し、95 °C で 2 分間加熱後、4 °C に冷却した溶液から、DNA シークエンサーにより塩基配列を決定した。DNA シークエンサーは、Applied Biosystems™ 3130xl ジェネティックアナライザ (Thermo Fisher Scientific) を用いた。DNA 塩基配列の解析には、遺伝子情報処理システム Genetix ver.12.1 (ゼネティックス) を用いた。解析した DNA 塩基配列は、プライマー部分と DNA Data Bank of Japan (DDBJ) に登録されているズワイガニ (Accession No. AB211151)、オオズワイガニ (Accession No. AB211155 又は DQ882047)、ベニズワイガニ (Accession No. AB211160) と比較し、相同性の高いものを当該種と判定した。

2.4 ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対、及びオオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対の設計並びに PCR 条件

プライマーは、DDBJ に登録されているズワイガニ (Accession No. AB211151)、オオズワイガニ (Accession No. AB211155)、ベニズワイガニ (Accession No. AB211160) の CO I 遺伝子領域を比較して設計した (表 1、図 1)。プライマーは、National Center for Biotechnology Information (NCBI) が提供している Primer-BLAST を用いて設計し、脱塩処理したオリゴ DNA をユーロフィンジェノミクス株式会社で合成した。PCR 反応液は、0.5 Units の DNA ポリメラーゼ HiDi Taq DNA polymerase (マイポルス バイオテック) を含み、最終濃度が 1× HiDi reaction buffer (DNA ポリメラーゼ添付品)、0.2 mmol/L dNTP Mixture (東洋紡又は Thermo Fisher Scientific)、ズワイガニ・オオズワイガニ検出

表 1 スクリーニング判別用プライマーの配列

プライマー対	プライマー名	向き	配列(5'→3')*	増幅長	増幅部分
ズワイガニ・ オオズワイガニ 検出用プライマー	COI-F215G	F	ACTGCCTCCTTCTTTAACACT <u>G</u> CTA	171 bp	ミトコンドリアDNAの COI遺伝子領域の一部
	COI-R385A	R	GCTCCTAAAATAGAGGAAACT <u>A</u> CA		
オオズワイガニ・ ベニズワイガニ 検出用プライマー	COI-F270	F	GGAAGTGGATGGACTGTTTACCC	263 bp	
	COI-R532G	R	AAAAGTATGGTGATTGCT <u>G</u> CG		

* 下線部は、ミスマッチ配列

ズワイガニ属 3 種のスクリーニング判別法の開発

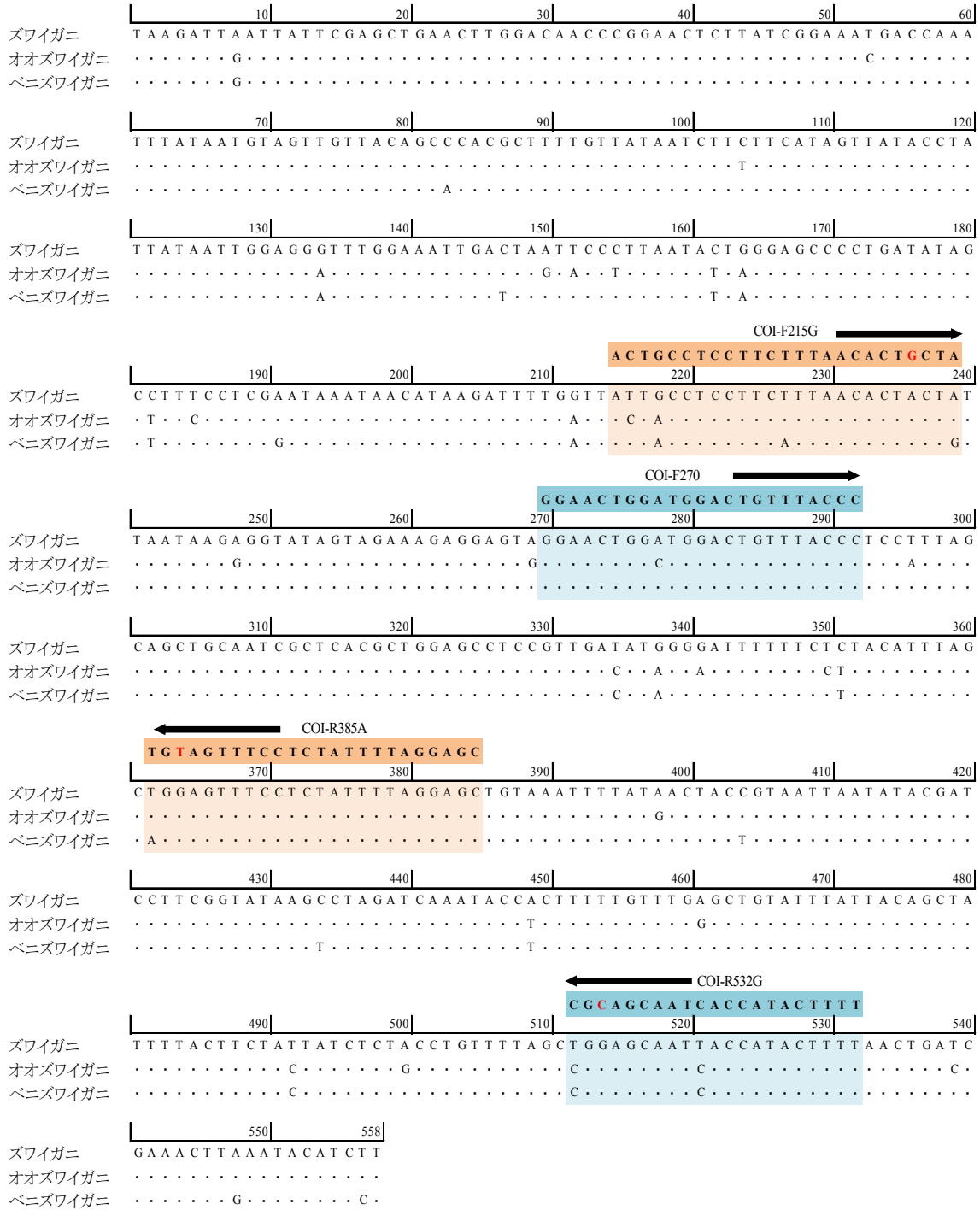


図 1 ズワイガニ属 3 種の CO I 遺伝子領域の塩基配列

ズワイガニ属 3 種（ズワイガニ (Accession No. AB211151)、オオズワイガニ (Accession No. AB211155) 及びベニズワイガニ (Accession No. AB211160)）における CO I プライマー対 (LCO1490 及び HCO2198) に対応した PCR 産物の塩基配列 (558 塩基) である。

オオズワイガニ及びベニズワイガニについては、ズワイガニと共通の塩基は「・」で示し、異なる部分はその塩基名を記載した。また、ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対 (CO I -F215G 及び CO I -R385A) の領域を朱色で、オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対 (CO I -F270 及び CO I -R532G) の領域を青色で囲んで示した。なお、各プライマー領域の上部にプライマー配列を記し、赤文字はミスマッチ配列を示す。

用プライマー対においては各 0.2 $\mu\text{mol/L}$ 、オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対においては各 0.1 $\mu\text{mol/L}$ となるように混合し、1.0 μL の抽出 DNA 溶液を加え、滅菌水で全量を 10.0 μL とした。PCR の温度条件は、最初の熱変性として 95 $^{\circ}\text{C}$ で 2 分の後、熱変性 95 $^{\circ}\text{C}$ ・15 秒、アニーリング 59 $^{\circ}\text{C}$ ・10 秒、伸長反応 72 $^{\circ}\text{C}$ ・30 秒を 1 サイクルとして 35 サイクルで行った。PCR は、サーマルサイクラー GeneAmp[®] PCR System 9700、Applied Biosystems Veriti Thermal Cycler (Thermo Fisher Scientific) 及び TaKaRa PCR Thermal Cycler Dice[®] Gradient (タカラバイオ) を用いた。

ゲル電気泳動は、エチジウムブロマイド (10 mg/mL) (ニッポンジーン) を 0.5 $\mu\text{g/mL}$ 含む 2.0 % (w/v) アガロースゲル (Agarose S (ニッポンジーン)) を用い、泳動緩衝液は、1× TAE 緩衝液 (ニッポンジーン) を用いた。PCR 反応液のアガロールゲルへの添加量は、2.5 μL とした。

3. 結果及び考察

3.1 ミトコンドリア DNA の CO I 遺伝子領域の DNA 塩基配列比較によるズワイガニ属カニ加工品の種の判定

試料 174 点全てにおいて、CO I プライマー対 (LCO1490-HCO2198) を用いた PCR で約 700 bp の増幅産物が得られた。得られた産物から、プライマー配列及びそれに続く約 50 bp の DNA 塩基配列を除いた CO I 遺伝子領域 558 bp の配列を決定した。この配列と、ズワイガニ (Accession No. AB211151)、オオズワイガニ (Accession No. AB211155)、ベニズワイガニ (Accession No. AB211160) との相同性を比較し、種の判定を行った結果、試料 174 点は、ズワイガニ 129 点、オオズワイガニ 13 点、及びベニズワイガニ 32 点であった。図 1 に種の判定に使用した領域の DNA 塩基配列を示す。このうち判定した種の配列と相違が認められた試料は、ズワイガニ 129 点中 17 点、オオズワイガニ 13 点中 7 点、ベニズワイガニ 32 点中 9 点であり、いずれも 1 塩基の相違であった。それ以外の試料は、判定した種の配列と 100% 一致した。なお、ズワイガニ (Accession No. AB211151)、オオズワイガニ (Accession No. AB211155) 及びベニズワイガニ (Accession No. AB211160) の相同性は、それぞれズワイガニ/オオズワイガニで 94.4 % (527 bp/558 bp)、ズワイガニ/ベニズワイガニで 95.7 % (534 bp/558 bp)、オオズワイガニ/ベニズワイガニで 95.2 % (531 bp/558 bp) である。表 2 にズワイガニ属カニ加工品の判別結果及び判別した種の DNA 塩基配列と相違の見られた試料数、相違の見られた塩基及び当該変異のあった試料数を示した。

3.2 スクリーニング判別用プライマーの設計

ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対 (CO I -F215G-CO I -R385A) は、3' 末端においてズワイガニ (Accession No. AB211151) 及びオオズワイガニ (Accession No. AB211155) の塩基が同一であり、ベニズワイガニに対して変異の認められる領域に設計した (表 1)。このとき、目的外の種の鋳型 DNA とのミスアニーリングを減ずるために、フォワードプライマー CO I -F215G は、3' 末端から 4 番目の塩基を本来の「A」と異なる配列「G」に置換した mismatch プライマーとした。同様に、リバープライマー CO I -R385A は、3' 末端から 3 番目の塩基を本来の「C」と異なる配列「A」に置換した mismatch プライマーとした。

オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対 (CO I -F270-CO I -R532G) は、リバープライマーについて、3' 末端がオオズワイガニ (Accession No. AB211155) 及びベニズワイガニ (Accession No. AB211160) の塩基が同一であり、ズワイガニに対して変異の認められる領域に設計した (表 1)。また、リバープライマー CO I -R532G は、3' 末端から 3 番目の塩基を本来の「C」と異なる配列「G」に置換した mismatch プライマーとした。

表 2 ズワイガニ属カニ加工品 174 点の判別結果及び判別した種の DNA 塩基配列と相違の見られた試料数、その塩基及び変異のあった試料数

種名 (Accession No.) /試料	判別結果	相違の見られた試料数	相違の見られた位置*									
			11	17	77	117	125	137	152	164	185	
ズワイガニ (AB211151)			T	A	T	A	A	T	T	G	T	
オオズワイガニ (AB211155)			T	A	T	A	A	T	A	A	C	
ベニズワイガニ (AB211160)			T	A	T	A	A	T	T	A	T	
ズワイガニ加工品	129	17		G(2)	C(1)		G(1)		C(1)	A(3)		
オオズワイガニ加工品	13	7										
ベニズワイガニ加工品	32	9	C(2)	G(1)		G(1)		C(1)			C(1)	

種名 (Accession No.) /試料	相違の見られた位置*											
	236**	239**	287***	296	302	335	359	398	494	500	549	
ズワイガニ (AB211151)	A	A	T	T	A	T	A	A	A	A	A	
オオズワイガニ (AB211155)	A	A	T	A	A	C	A	G	A	G	A	
ベニズワイガニ (AB211160)	A	G	T	T	A	C	A	A	A	A	A	
ズワイガニ加工品	G(1)		C(1)		G(1)		G(3)		G(1)	G(2)		
オオズワイガニ加工品						T(2)		A(4)			T(1)	
ベニズワイガニ加工品		A(1)		A(1)						T(1)		

* 比較したミトコンドリア DNA の CO I 遺伝子領域 (558 bp) の最初の塩基を 1 とした場合の位置 (図 1 に対応)
 ** ズワイガニ・オオズワイガニ検出用フォワードプライマー CO I -F215G の配列内の置換
 *** オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用フォワードプライマー CO I -F270 の配列内の置換

試料 174 点の決定した 558 bp の塩基配列について、設計したプライマー配列部分を比較したところ、ズワイガニ・オオズワイガニ検出用フォワードプライマーCO I -F215G 内に 2 点 (ズワイガニ及びベニズワイガニ)、オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用フォワードプライマーCO I -F270 内に 1 点 (ズワイガニ) において、塩基配列の相違が見られた (表 2)。

3.3 スクリーニング判別用プライマーによる増幅及び判別

設計したスクリーニング判別用プライマーを用いて、種の判定を行った試料 174 点の PCR を行った。PCR 結果の典型的なゲル電気泳動写真を図 2 に、また、PCR 増幅の組合せによるズワイガニ属 3 種の判別を表 3 に示す。ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対において、プライマー配列部分に塩基配列の相違が見られた試料を含む全てのズワイガニ、及び全てのオオズワイガニ試料で増幅が認められた。また、オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対において、全てのオオズワイガニ及びベニズワイガニ試料で増幅が見られた。一方、ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対において、ベニズワイガニ試料 32 点中 29 点 (プライマー配

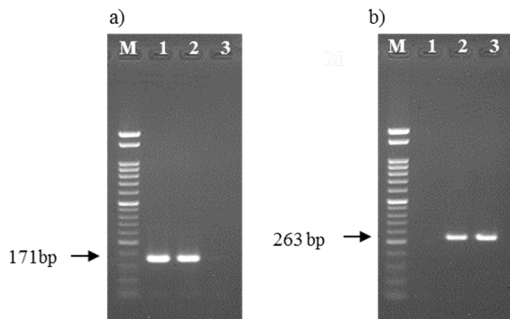


図 2 スクリーニング判別用プライマーによる PCR の結果

a) ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対による PCR の結果 b)オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対による PCR の結果 1: ズワイガニ、2: オオズワイガニ、3: ベニズワイガニ、M: One STEP Ladder50

表 3 スクリーニング判別用プライマーによるズワイガニ属 3 種の判別

種名 (学名)	ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対*	オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対*
ズワイガニ (<i>Chionoecetes opilio</i>)	+	-
オオズワイガニ (<i>C. bairdi</i>)	+	+
ベニズワイガニ (<i>C. japonicus</i>)	-	+
増幅長	171 bp	263 bp

* +; 検出、-; 非検出

表4 ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対による PCR の結果

種名	試料の洗浄なし		
	分析数	増幅	増幅せず
ズワイガニ	129	129	0
オオズワイガニ	13	13	0
ベニズワイガニ	32	3(3)*	29

* 括弧内は、増幅した試料のうち、極薄い増幅であった試料数。

表5 オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対による PCR の結果

種名	試料の洗浄なし			試料の洗浄あり		
	分析数	増幅	増幅せず	分析数	増幅	増幅せず
ズワイガニ	129	57(40)*	72	9**	4(3)*	5
オオズワイガニ	13	13	0	—	—	—
ベニズワイガニ	32	32	0	—	—	—

* 括弧内は、増幅した試料のうち、極薄い増幅であった試料数

** 試料の洗浄なしで増幅した 57 点のうち、極薄い増幅であった 40 点以外から抜き出した試料を供試した。

列部分に塩基配列の相違が見られた試料を含む) で増幅が見られず、3 点で増幅が見られた。この 3 点は、オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対での増幅バンドの強度に比べて、通常増幅バンドの強度の 1/10 以下程度の薄さであった。また、オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対において、ズワイガニ試料 129 点中 72 点 (プライマー配列部分に塩基配列の相違が見られた試料を含む) において増幅が見られず、57 点において増幅が見られた。この 57 点中 40 点は、ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対での増幅バンドの強度に比べて極めて薄かったが、17 点は同等のバンド強度であり、判別に支障があった。表 4 にズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対による PCR の結果を、表 5 にオオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対による PCR の結果を示す。

また、検査対象のズワイガニ属 3 種以外による増幅の有無を確認するために、タラバガニ 3 点、アブラガニ 3 点、ハナサキガニ 3 点、イバラガニモドキ 2 点、ケガニ 3 点、クリガニ 3 点、トゲクリガニ 3 点を供試した。全ての試料において、ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対、オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対ともに増幅は認められず、ズワイガニ属 3 種に特異的なプライマー対であることが分かった (データ未掲載)。以上から、DNA シークエンス法により判別した種と作製したスクリーニング判別用プライマーを用いて判別した結果を比較すると、ズワイガニ 129 点に対して 72 点、オオズワイガニ 13 点に対して 13 点、ベニズワイガニ 32 点に対して 29 点において判別種が一致した。

3.4 スクリーニング判別におけるサンプリング試料の洗浄の影響

カニ加工品は、漁獲直後に種の選別を行わず、同一の釜等で茹でる場合がある、という実態がある。そのため、試料自体に他種ズワイガニ属のコンタミネーションが疑われ、今回作製したスクリーニング判別用プライマーにおいて異種を検出することが考えられた。オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対におけるズワイガニ試料で増幅の見られた 57 点のうち、判別に影響のあった 17 点から 9 点を任意に抽出し、その試料肉片を 1 回又は 2 回洗浄した後 DNA を抽出し、スクリーニング判別に供した。その結果を図 3 に示す。9 点中 8 点において洗浄前、洗浄後で増幅バンドの強度に差が認められ、そのうち 3 点は極めて薄く、5 点は増幅が認められなかった。1 点については、増幅バンドの強度に差が見られなかった (表 5)。以上から、スクリーニ

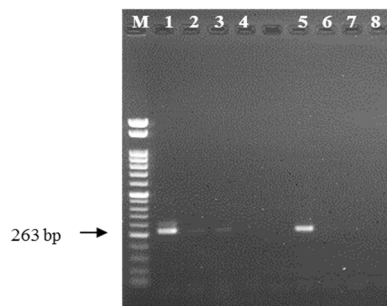


図3 DNA抽出における試料洗浄工程による比較

プライマー：オオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対

1：ズワイガニ加工品A（未洗浄） 2：ズワイガニ加工品A（試料中の水分を吸水） 3：ズワイガニ加工品A（1回洗浄）
4：ズワイガニ加工品A（2回洗浄） 5：ズワイガニ加工品B（未洗浄） 6：ズワイガニ加工品B（試料中の水分を吸水）
7：ズワイガニ加工品B（1回洗浄） 8：ズワイガニ加工品B（2回洗浄） M：One STEP Ladder50

ング判別には、試料由来の他種ズワイガニ属のコンタミネーションの可能性を排除するため、試料の肉片を1回程度洗浄することが有効であると示唆された。

4. まとめ

国内で流通している主要なズワイガニ属であるズワイガニ、オオズワイガニ及びベニズワイガニを使用した加工品の原材料に使用されている種を迅速・簡便にスクリーニング判別するために、ズワイガニ・オオズワイガニ検出用プライマー対、及びオオズワイガニ・ベニズワイガニ検出用プライマー対を作製した。DNA シークエンス法により判別した種と作製したスクリーニング判別プライマーを用いて判別した結果を比較すると、ズワイガニ 129 点に対して 72 点、オオズワイガニ 13 点に対して 13 点、ベニズワイガニ 32 点に対して 29 点において判別種が一致した。また、サンプリング時に試料の肉片を1回程度洗浄することにより、試料に含まれる他種ズワイガニ属のコンタミネーションを排除できることが示唆され、さらに DNA シークエンス法による種判別結果と本スクリーニング判別法による種判別の結果が一致するものと考えられた。

謝 辞

本研究を実施するにあたり、試料をご提供くださいました国立研究開発法人 水産研究・教育機構 中央水産研究所 柳本 卓氏に深く感謝いたします。

文 献

- 1) 社団法人 日本水産資源保護協会「わが国の水産業 かに」
- 2) 和英英和総合水産辞典 四訂初版（株式会社成山堂書店）
- 3) 食品総合事典（丸善株式会社）
- 4) 農林水産省「平成28年漁業・養殖業生産統計」
- 5) 消費者庁 食品表示基準Q&A別添「魚介類の名称のガイドライン」（平成27年3月）
- 6) Folmer, O.; Black, M.; Hoeh, W.; Lutz, R.; Vrijenhoek, R.: DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Mol. Mar. Biol. Biotechnol.*, **3**, 294-299(1994).