

# ミトコンドリア DNA の配列情報に基づく タラバガニとアブラガニの判別法

○宇山博人・池田 実・谷口順彦（東北大院農）

キーワード: タラバガニ・アブラガニ・種判別・RFLP 分析

**【目的】**タラバガニ(*Paralithodes camtschatica*)、アブラガニ(*P. platypus*)は背甲の心域における刺の数で区別されるが、他の形態形質は類似している。アブラガニの市場価値はタラバガニに比べて低い、その形態的類似性から「タラバガニ」と偽って販売されることが少なくない。そのような偽表示を検証するためには簡便な種判別法を確立することが望ましい。DNA レベルでの種判別法には PCR-RFLP 分析がよく用いられるが、判別に有効な制限サイトを効率的に探索するためには、まず対象種の系統関係を検討する必要がある。本研究は、ミトコンドリア(mt)DNA の CO I 遺伝子領域の配列情報を用いて上記 2 種の系統関係を調べ、これらの系統関係を与える情報サイトから制限酵素認識配列を特定し、PCR-RFLP 分析による種判別法を確立することを目的とした。

**【材料と方法】**タラバガニ(以下タラバ)19 個体、アブラガニ(以下アブラ)12 個体、アウトグループとして同じタラバガニ属のハナサキガニ(*P. brevipes*, 以下ハナサキ)6 個体、イバラガニ属のイバラガニモドキ(*Lithodes aequispina*, 以下イバラ)3 個体をサンプルとして用いた。mtDNA の CO I 領域の一部(約 500bp)を PCR で増幅し、ダイレクトシーケンスにより 332bp の塩基配列を決定した。その情報を元に系統樹を作成して上記 4 種の系統関係を調べ、これらの系統関係を与える情報サイトから複数の制限酵素認識配列を選出した。RFLP 分析は、増幅した CO I 断片を選出した制限酵素で消化し、2%アガロースゲルにより電気泳動を行った。

**【結果と考察】**塩基配列のアライメントにより決定できたハプロタイプ数は、タラバで 5 個、アブラで 9 個、ハナサキで 3 個、イバラで 2 個であった。Kimura の二変数法によりハプロタイプ間の塩基置換率を算出し、近隣結合法により系統樹を作成した結果、各種のハプロタイプはそれぞれ単一のクレードを形成した。このことから、この領域の塩基配列はタラバとアブラを判別する上で有効な情報を有していることが示された。一方で、アブラは最初にハナサキと結びつき、タラバとアブラは形態的に類似しているものの、姉妹関係にはないことが示唆された。また、別属のイバラはタラバガニ属の内群に含まれ、分類学上の位置に問題があることも示唆された。タラバとアブラの配列を直接比較し、情報サイトを調べたところ、23 サイトが得られた。これらのサイトを含んだ制限酵素認識配列を検索したところ、*Rsa* I、*Hinf* I、*Acc* I の 3 酵素が候補として挙げられた。RFLP 分析の結果、種特異的なバンドパターンが確認され、これらの制限酵素を用いた PCR-RFLP 分析がタラバガニとアブラガニの種判別に対して非常に有効であると考えられた。