ミトコンドリア 16S rRNA 遺伝子解析による未処理ふぐの鑑別について

生活衛生部門

Identification of Pufferfish by mitochondrial 16S rRNA gene analysis

Division of Food and Environmental Hygiene

Abstract

Puffer fish contain tetrodotoxin, a powerful neurotoxin in skin, ovaries, intestines, and liver. Since poison of puffer fish can kill diners, handling of puffer fish is strictly controlled by law in Japan. Only chefs qualified through rigorous training are allowed to prepare the fish by removing toxic organs. In December 2010, it was revealed that small puffer fish had been sold illegally without removing toxic parts at supermarket in Nishikyo Ward Kyoto City. Since poisonous parts vary among different kind of puffer fish, we identified the species of the puffer fish to avoid food poisoning incident. Species identification was carried out for three puffer fish sold at supermarket based on comparison of characteristic components and nucleotide sequence of the mitochondrial 16S rRNA genes. Polymerase chain reaction (PCR) with a template of total DNA from muscle tissues of puffer fish successfully amplified DNA fragments of 615bp in the 16S rRNA gene, which were identified as *Takifugu poeclionotus* ("Komonfugu ") and *Takifugu vermicular* ("Nashifugu ").

Key Words

16S rRNA , PCR , ミトコンドリア DNA mt DNA , フグ Puffer Fish , シークエンス sequence

1 はじめに

フグによる食中毒は,有毒部位に強力な神経毒であるテトロ ドトキシン(TTX)を含むため,発生件数こそ少ないが,症状が 重く,死亡率が高いことが特徴である。そのため,フグについ ては厚生労働省通知「フグの衛生確保について」により,食し てよい種,部位,漁獲地域が定められている。また,京都府で は「ふぐの取扱及び販売に関する条例」により,内臓などの有 毒部位の除去処理を行ったものでなければ,食品としての販売, 調理,加工を禁じている。

平成22年12月 京都市西京区内のスーパーで,内臓などを 取り除いていない未処理のフグを小フグとして食用に販売さ れていることが,購入した男性からの相談で明らかになった。

このような事例において,販売していた魚種を鑑別し同定することは,健康被害の防止,原因の究明及び再発の防止の観点からも非常に重要である。

フグは種類が非常に多いことが特徴であり,フグ科の魚は世 界に約160種,日本近海には約50種が分布している。そのうち 日本で食用と認められているフグは22種類である。従来,その 鑑別にあたっては,体色(皮の模様,斑紋),鰭の色及び棘の有 無等による形態学的鑑別がとられてきた。しかし,切り身や汁 等の加工,調理済みの状態では,鰭,皮等が除去されているた め,目視による形態学的鑑別は困難である場合が多い。 近年,中国産のカワハギやアンコウの乾製品にフグが混入する事件が発生しており,外部形態によらない鑑別法として PCR 法により魚介類加工品中フグの混入を検査する方法が厚生労働省より通知されている。¹⁾

今回,スーパーの店頭に陳列されていたフグ2種類と購入者 が保管していたフグ1種類について,形態学的鑑別に加えて, PCR 法を用いてミトコンドリア DNA の 16SrRNA 遺伝子部分領域 の塩基配列を決定する遺伝子解析による鑑別を試みたので報 告する。

- 2 方法
- (1) 試料

スーパーに陳列されていたふぐ2種類(以下フグA, Bと表記する。) 購入者が調理し保管していたフグ1種類, (以下フグCと表記する。)について鑑別を行った。

(2) 使用装置

- ア 分光光度計 島津製作所 UV-1600
- イ サーマルサイクラー ASTEC PC-818
- ゥ 電気泳動装置 Advance Mupid-Ex
- エ ゲルイメージ撮影装置 BioRad GelDoc1000
- オ シークエンサー ABI 3130GeneticAnalyzer
- (3) 試薬
 - ア DNA 抽出試薬 QIAGEN DNeasy Blood & TissueKit
 - イ ProtenaseK QIAGEN
 - ウ RNaseA QIAGEN

- エ TaqDNA ポリメラーゼ Takara ExTaq
- オ TBE 緩衝液 Promega
- 工 PCR 産物精製試薬 GEhealthcare ExoSAP-IT GEhealthcare AutoSep G-50
- カ ラベリング試薬 ABI BigDyeTerminatorV3.1 Cycle Sequencing kit
- (4) DNA の抽出

フグの筋肉部分を細切,均一化し25mg 採取し,厚生労働省 の通知法に基づき,DNeasy Blood&TissueKit を用いて,DNA を抽出し,得られた溶液をDNA 試料原液とした。分光光度計 を用い200nm-320nm の範囲でDNA 試料原液の紫外部吸収スペ クトルを測定した。260nm の吸光度の値1を50ng/µLDNAと してDNA 試料原液のDNA 濃度を算出した。DNA 試料原液を滅 菌超純水で希釈し5ng/µLとしたものをDNA 試料液としPCR の鋳型に用いた。

(5) PCR プライマー²⁾

Forward primer(16SarL)5 '-CGCCTGTTTATCAAAAACAT-3 ' Reverse primer(16SbrH)5 '-CCGGTCTGAACTCAGATCACGT-3 '

(6) PCR 反応液組成 滅菌水 14.3 µL,10 × PCRbuf fer2.5 µL,
25mM MgCl₂ 2 µL, 2.5mM each dNTPmix2 µL,
10 µM each primer mix 1.5 µL,
DNApolymerase(ExTaq) 0.2 µL,
鋳型 DNA(5ng/µL)2.5 µL,総量 25 µLの反応系で行った。

(7) PCR 温度条件 (mtDNA 16SrRNA 遺伝子部分領域の増幅)30cycle(98 20sec 53 30sec 72 60sec)

(8) PCR 増幅産物の精製

PCR 増幅後の DNA 産物の塩基配列の決定を行うため,過剰 な PCR プライマー及び dNTP を除去する目的で PCR 産物 12.5 µL に ExoSAP-IT 原液を 5 µL を加え,37 1hr で酵素処理し た後,85 15min 加熱して酵素を不活性化させた。

(9) シークエンシング反応

BigDyeTerminatorv3.1CyclesequencingKit を用いて, ExoSAP-IT 処理した PCR 産物を鋳型として Forward 側, Reverse 側の両側でシークエンシング反応を行った。

反応は,滅菌蒸留水3.0µL,

```
シークエンスキットプレミックス1.0µL,
```

 $2\,\mu\text{M}$ forward or reverse primers $1.0\,\mu\text{L}$

 $5 \times Sequencing Buffer 1.5 \mu L$

DNA(PCR 産物)3.5 µL , 総量 10 µL の反応系で行った。

(10) PCR 温度条件 (シークエンシング反応)

96 60sec 25×(96 10sec 50 5sec 60 120sec) 4 (11) シークエンシング反応後の精製

未反応のダイターミネーターを除去する目的でシークエンス反応産物を核酸精製用マイクロスピンカラム AutoSeq G-50 を用いて精製した。

- 3 結果及び考察
 - (1) 形態学的鑑別

フグA(図1)については体長約19cmであった。表面は小棘 がありざらざらしていた。胸鰭後方に境界が不明瞭な黒紋 (図 8)が見られた。表面の模様(図 4)には小白点が見られ, 背鰭後方のものが円形に近かった。また尻鰭(図 6)は淡黄色 であった。以上の特徴からフグAはコモンフグであると考え られた。

フグ B(図 2)については体長約 17cm であった。表面(図 5) には小棘はなくつるつるしていた。胸鰭のそばにまわりが白 く菊花状にふちどられた黒紋(図 9)が見られた。また尻鰭(図 7)は白色であった。尾鰭の下方は白かった。以上の特徴から フグ B はナシフグであると考えられた。

フグ C(図 3)については,購入者により調理され内臓や皮 などが分離された状態で搬入されたが,残っていた皮の模様 の特徴が一致することから,フグAと同じコモンフグである と考えられた。

(2) 遺伝子解析による鑑別

フグ A,B,C から DNeasy Blood&TissueKit を用いて DNA を 抽出し, ミトコンドリア DNA16SrRNA 遺伝子領域に設計され たプライマー(Forward 側:16SarL, Reverse 側:16SbrH)を用 いて PCR 増幅した。PCR 増幅産物を2%アガロースゲルで電気 泳動を行った。電気泳動用のマーカーに 100bpladder を使用 し目的サイズ(615bp)の PCR 増幅パンドを確認した。(図10) PCR 増幅産物を精製後, Forward 側と Reverse 側の両側でシ ークエンシング反応を行い,塩基配列を決定した。決定した 塩基配列の結果を図11,図12 に示す。

決定した塩基配列と GenBank/EMBL/DDBJ データベースに登録されている遺伝子配列との相同性を BLAST により検索した。

フグAとフグCの塩基配列(図11)は,同一であり,コモン フグ Takifugu poeclionotus の16SrRNA 遺伝子領域の配列 (accession number AP009539)と最も相同性が高かった。(配 列相同性 100%)

フグBの塩基配列(図12)は ナシフグ Taki fugu vermi cular の 16SrRNA 遺伝子領域の配列(accession number AP009532) と最も相同性が高かった。(配列相同性 99.8%)

遺伝子解析による鑑別でも形態学的鑑別結果と一致する結果が得られた。

4 まとめ

今回鑑別したコモンフグ,ナシフグともに有毒部位を有して いる。コモンフグは,皮及び精巣は食用不可であり筋肉部分の み食用可とされている。ただし,岩手県越喜来湾及び釜石湾並 びに宮城県雄勝湾で漁獲されたものについては食用不可とさ れる。ナシフグは,原則食用不可であるが,有明海,橘湾,香 川県及び岡山県の瀬戸内海域で漁獲されたものの筋肉ならび に、有明海及び橘湾で漁獲され、長崎県が定める要領に基づ き処理されたものの精巣に限り食用可とされる。ともに全体的 な大きさ,形はよく似ており,地方によっては通称「ナゴヤフ グ」として区別せずに取り扱われている。専門家でなければ形 態学的鑑別は困難な場合があり,今回 PCR を用いた遺伝子解析 による鑑別を併せて行うことで確実な同定が可能であった。

また,今回検体 25mg から DNA 抽出することにより遺伝子解 析による鑑別が可能であったことから種類不明フグによる食 中毒で残品が少なく形態学的鑑別が困難な場合も検体が数 10mg 残存していれば, DNA を抽出しフグ種が同定できる可能性 があると考えられた。

16SrRNA 遺伝子は原核生物から真核生物まで広く存在してお

り,様々な生物の系統解析に使用されている。

今回使用したミトコンドリア DNA16SrRNA 遺伝子部分領域のプ

ライマー(16SarL,16SbrH)は,脊椎動物,節足動物,軟体動 物等でも使用可能であり,PCR で増幅した DNA 断片の塩基配列 をデータベースに登録されている配列と比較することにより 他の生物種の鑑別にも応用可能であると考えられた。

5 謝辞

シークエンサーの使用及び遺伝子解析についてご協力いた だきました当所微生物部門の方々に感謝いたします。

6 参考文献

- (1) 厚生労働省医薬食品局食品安全部長通知,「輸入魚類加工品のフグ種鑑別検査法について」(食安発第 0330003 号,平成21年3月30日)
- (2) Palumbi S, Martin A, Romano S, McMillan WO, Stice L, GrabowskiG (1991).

The simple fools guide to PCR, version II. University of Hawaii, Honolulu

	16SarL	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
1	CGCCTGTT	TTATCAAA	AACATCGCCT	CTTGCTTC	AGTGAATAAGAG	GTCACGCC	GCCCTGTGACT	TATATGTTT	ACGGCCGCGG	TATTTTGACCGT	GCA
-[00001011										COT
	GCGGACAA	AAIAGIII	IIGIAGCGGA	GAACGAAG.	ICACITATICIC	CAGIGCGGA	ACGGGACACIGA	ATATACAAAT	IGCCGGCGCC	AIAAAACIGGCA	.001
		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
101	AAGGTAGC	'GCAATCAC'	TTGTCCTTTA	AATGTGGAG	CCTGTATGAATG	GCATAACGA	AGGGCTTAGCT	TCTCCTTTC	TCAAGTCAAT	GAACTTGATCTC	CCC
	TTCCATCG	CGTTAGTG	AACAGGAAAT	TTACACCT	GACATACTTAC	CGTATTGC	CCCGAATCGA	CAGAGGAAAA	AGTTCAGTTA	CTTGAACTAGAG	GGG
		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
201	GIGCAGAA	GCGGGGGAT	AAAACCATAA	GACGAGAA	JACCCTATGGAG	CTTTAGACA	AAAAAACAGCCC	CTGTCAATA	AACCCTAAAT	'AAAGGAAA'I'AAA	CC.L
	CACGTCTT	CGCCCCTA	TTTTGGTATT	CTGCTCTT	CTGGGATACCTC	GAAATCTG	TTTTTTGTCGGC	GACAGTTAT	TTTGGGATTTF	ATTTCCTTTATTT	GGA
		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
301	AGTGAACC	ידקידידיםמי	TGTCTTTGGT	TGGGGCGA	CGCGGGGGTAAC		CCATGTGGAAT	GAAAACACC	°CTTTTTTAAA2	CCAAGAGTCACC	ACT
	TCACTTCC	10 C 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0 0		ACCCCCC					יידידי איז איז איז איז איז איז איז איז איז אי		TC 7
	ICACIIGO		nchonnacca	ACCCCGCIC	JGCGCCCCAIIG		-			.001101040100	ADI
		×	*	*	*	*	*	*	*	*	*
401	CTAAGTTA	CAGAACAT	CTGACCAGTA	ATGATCCG	JCTTAAGCCGAT	TAACGAACC	CGAGTTACCCT	AGGGATAACA	AGCGCAATCCI	CTTTTAGAGTCC	ATA
	GATTCAAT	GTCTTGTA	GACTGGTCAT	TACTAGGC	CGAATTCGGCTA	ATTGCTTGC	GCTCAATGGGAT	CCCTATTG	CGCGTTAGGA	AGAAAATCTCAGG	TAT
		*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
501	TCGACAAG		CGACCTCGAT	GTTCCATC		таатаалаа	ירפרידאיידאאאמ			n a a concorra com	CAT
201	1 COACAAC		COACCICOAI	GIIGGAICA					JIICAACGAII		
	AGCTGTTC	TCCCAAAT	GCTGGAGCTA	CAACCTAG.	ICCIGIAGGGI'I	ACCACGTCC	GCGATAATTT'	CAAGCAAAC	CAAGTTGCTAA	ATTTCAGGACGCA	CTA
		*									
601	CTGAGTTC	CAGACCGG									
-	GACTCAAG	TCTGGCC									
		16SbrH	SVI 4		コビックット				171		
			凶	I JYA	、ノクしのMtL	JNA 165 rrina	退伍士部万领	リック温幸智	591		
	160										
	16SarL	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*
1[16SarL CGCCTGTT	*	*	* TTGCTTCA(* GTGAATAAGAGG	*	* SCCCTGTGACT?	* ATATGTTTA	* ACGGCCGCGG	* FATTTTGACCGTG	* CAA
1[16SarL CGCCTGTT GCGGACAA	*	*	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* GTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC	* TCACGCCTC	* GCCCTGTGACTA	* ATATGTTTA PATACAAATT		* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC	* CAA
1	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA	* TATCAAAA ATAGTTTT	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG	* TTGCTTCA(AACGAAGT(*	* GTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC	* TCACGCCTC AGTGCGGAC	* GCCCTGTGACTA CGGGACACTGAT	* ATATGTTTAA FATACAAATT	* ACGGCCGCGGI IGCCGGCGCCZ	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC	* CAA GTT
1[16SarL CGCCTGTT GCGGACAA	* <u>TATCAAAA</u> ATAGTTTT *	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG *	* TTGCTTCA(AACGAAGT(*	* GTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC *	* TCACGCCTC AGTGCGGAC *	* GCCCTGTGACTA CGGGACACTGAT *	* ATATGTTTA# FATACAAATT *	* ACGGCCGCGGG IGCCGGCGCCZ *	* FATTTTGACCGTG \TAAAACTGGCAC *	* CAA CTT
1[101	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG	* ATAGTTTT * CAATCACT	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* ATGTGGAC(* JTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG	* TCACGCCTC AGTGCGGAC * CATAACGAC	* GCCCTGTGACT/ CGGGACACTGAT * GGGCTTAGCTGT	* ATATGTTTAA FATACAAATT * FCTCCTTTCT	* ACGGCCGCGGT IGCCGGCGCCZ * ICCAAGTCAATC	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * GAACTTGATCTCC	* CAA CTT *
1[101	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC	* ATAGTTTT * CAATCACT GTTAGTGA	* IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* ATGTGGAC(TACACCTG(* GTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC	* TCACGCCTC AGTGCGGA(* CATAACGA(GTATTGCTC	* GCCCTGTGACTA CGGGACACTGAT * GGGCTTAGCTG CCCGAATCGACA	* ATATGTTTAA FATACAAATT * FCTCCTTTCT AGAGGAAAGA	* ACGGCCGCGCGT IGCCGGCGCCZ * ICCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * BAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG	* CAA CGTT * CCCG
1[101	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC	* TATCAAAA ATAGTTTTT * CCAATCACT GTTAGTGA	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* ATGTGGAC(TACACCTG(*	* GTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC *	* TCACGCCTC AGTGCGGAC * CATAACGAC GTATTGCTC *	* GCCCTGTGACT/ CGGGACACTGAT * GCCCGAATCGAC/ *	* ATATGTTTAA FATACAAATT * FCTCCTTTCT AGAGGAAAGA *	* ACGGCCGCGGT IGCCGGCGCCZ * ICCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC *	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGAACTAGAGG *	* CAA CGTT * CCCG GGCC *
1[101	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC	* TATCAAAA ATAGTTTTT * CCAATCACT GTTAGTGA	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT *	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* ATGTGGAC(TACACCTG(*	* TGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC *	* TCACGCCTC CAGTGCGGAC * CATAACGAC CGTATTGCTC *	* CCCTGTGACT7 CGGGACACTGA: * SGGCTTAGCTG CCCGAATCGAC2 *	* ATATGTTTA/ FATACAAATT * FCTCCTTTCT AGAGGAAAG/ *	* ACGGCCGCGGT rGCCGGCGCCZ * rCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC *	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * GAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG *	* GTT * CCG GGC
1 101 201	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT GTTAGTGA * CGGGGGATA	* TGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAAACCATAAG	* TTGCTTCAG AACGAAGTG * ATGTGGACG TACACCTGG * ACGAGAAGA	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG BACATACTTACC * ACCCTATGGAGC	* TCACGCCT('AGTGCGGA(* CATAACGA(GTATTGCT(* TTTAGACA/	* GGGACACTGA CGGGACACTGA * GGGCTTAGCTG CCCGAATCGAC * AAAAACAGCCCC	* ATATGTTTAZ FATACAAATT * FCTCCTTTCT AGAGGAAAGZ * CTGTCAATAZ	* ACGGCCGCGGGT IGCCGGCGCCZ * ICCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * GAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC	* CCAA CGTT * CCCG GGCC * CTA
1 101 201	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC	* TATCAAAA ATAGTTTTT * CCAATCACT GCTTAGTGA * CCGGGGGATAA CGCCCCTAT	* ACATCGCCTC TGTAGCGGAG IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG TTTGGTATTC	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* ATGTGGAC(TACACCTG(* ACGAGAAGA TGCTCTTC	* GTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG JACATACTTACC * ACCCTATGGAGC IGGGATACCTCG	* CATGCGCTC CATGCGGAO CATAACGAO CATAACGAO CATAACGAO CATACGACAO CATACGACAO CATACACAO CACACACA	* CGGGACACTGAT CGGGACACTGAT * CCCGAATCGACZ * AAAAACAGCCCC TTTTTGTCGGGG	* TATGTTTAA FATACAAATT * FCTCCTTTCT AGAGGAAAG * CTGTCAATAA SACAGTTATT	* ACGGCCGCGGGT IGCCGGCGCCZ * ICCAAGTCAATCA AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ TTGGGATTTAT	* TATTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG	* CAA CGTT * CCG GGC * CTA GAT
1[101 201	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC	* TATCAAAAA ATAGTTTT * CAATCACTT GTTAGTGAA * CGGGGGATAA GCCCCTATT *	* IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC *	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* ATGTGACCTG(* ACGAGAAGA TGCTCTTC: *	* GTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCTATGGAGC (GGGATACCTCG *	* TCACGCCTG AGTGCGGAG * CATAACGAG GTATTGGCGC * TTTTAGACAA AAATCTGTT *	* GGGACACTGA: * GGGCTTAGCTGA: CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCC TTTTGTCGGGGC *	* ATATGTTTAA FATACAAATT * TCCCTTTCT AGAGGAAAG7 * CTGTCAATAA SACAGTTATT *	* ACGGCCGCGGG TGCCGGCGCCZ * TCAAGTCAATA AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATA TTGGGATTTAT *	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG *	* CAA CGTT * CCG GGC * CTA GAT *
1[101 201 301	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT CGTTAGTGA * CCGGGGATAA CCCCCTAT *	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC *	* TTGCTTCAG AACGAAGTO * ATGTGGGACG TACACCTGG * ACGAGAAGJ TGCTCTTCC *	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG SACATACTTACC * ACCCTATGGAGC rGGGATACCTCG * CGCGGGGTAACA	* CACGCCCTC CAGTGCGGAC * CATAACGAC CGTATTGCTC * TTTTAGACAA CAAAACCCCC	* GGGACACTGA * GGGCTTAGCTGA CCCGAATCGACA * NAAAACAGCCCC TTTTGTCGGGG *	* ATATGTTTAA FATACAAATT * TCTCCTTTCT AGAGGAAAGA * TTGTCAATAA GACAGTTATT *	* ACGGCCGCGGGT IGCCGGCGCCZ * FCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ ITGGGATTTAT *	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA	* CCAA CGTT * CCCG GGCC * CTA GGAT *
1[101 201 301	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCC TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT CGTTAGTGA * CGGGGGATAJ CGCCCCTAT * CGTTTTTAAT	* IGTAGCGGAG IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTCG STCTTTGGTT	* TTGCTTCA(AACGAAGTO * ATGTGGAC(TACACCTG(* ACGAGAAGA TGCTCTTC: * GGGGCGAC(* GACTTATTAAGAGG CACTTATTATCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCCTATGGAGC IGGGATACCTCG * CGCGGGGGTAACA	* CAGTGCGGAC CATAACGAC CGTATTGCTC C CGTATTGCTC C CGTATTGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAA CGTATTGGCGGACAAA CGTATTGGCGGACAAA CGTATTGGCGGACAAAAAAAAAA	* CGGGACACTGA CGGGACACTGA CCCGAATCGAC2 * AAAAACAGCCCC TTTTGTCGGGC * CCATGTGGAATC	* ATATGTTTAA FATACAAATT * CTCCCTTTCT AGAGGAAAGA * CTGTCAATAA 3ACAGTTATT * 3AAAACACCC	* ACGGCCGCGGGT IGCCGGCGCCZ * CCAAGTCAATCA GTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ TTGGGATTTAT * CTTTTTAAAAC	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA	* CCAA CGTT * CCCG GGC * CCTA GGAT * CCTC
1[101 201 301	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA	* TATCAAAA AATAGTTTT * CGAATCACT GTTAGTGA * CGGGGGATAA GGCCCCTAT * CGCCCCTAT *	* ACATCGCCTC TGTAGCGGAG * TGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG TTTGGTATTC * GTCTTTGGTT CAGAAACCAA	* TTGCTTCAG AACGAAGT * ATGTGGACC TACACCTGG * ACGAGAAGA TGCTCTTC: * GGGGCGACG CCCCGCTGG	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCTATGGAGC CGGGATACCTCG * CGCCGCGGGTAACA CGCCCCATTGT	* TCACGCCTG AGTGCGGAG * CATAACGAC GTATTGCTG * TTTAGACAA * AAAACCTG TTTTTGGGG	* GGGACACTGA: * GGGCTTAGCTGA: * CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCC * CCATGTGGGAATC GGTACACCTTAC	* ATATGTTTAA IATACAAATT * ICTCCCTTTCT AGAGGAAAGA * TTGTCAATAA 3ACAGTTATT * 3AAAACACCC CTTTTGTGGG	* ACGGCCGCGCG TGCCGGCGCCZ * TCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ TTGGGATTTAT * CTTTTTAAAAG GAAAAATTTTC	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT	* GTT * CCG GGC * CTA GAT * CTC GAG
1[101 201 301	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTCC GTGAACCT CACTTGGA	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT CGTTAGTGAJ * CCGGGGATAJ CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCAAAATTAATCA CCAAAAATTAA *	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC GTCTTGGTATTC CAGAAACCAA *	* TTGCTTCAG AACGAAGTG * ATGTGGACG TACACCTGG * ACGAGAAGJ TGCTCTTCC * GGGGCGACG CCCCGCGACG CCCCGCGCGCG	* GTGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCTATGGAGC TGGGATACCTCG * CGCGGGGTAACA GCGCCCCATTGT *	* CACGCCCTC CACTACCGAC CATAACCGAC CATAACCGAC CATATTGCACA CATATTAGACAA CATATTAGACAA CATATTAGACA CATATTAGACCCC TTTTTGGGC *	* GGGGACACTGA * GGGCTTAGCTGA CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCC TTTTGTCGGGC * CCATGTGGAATC GGTACACCTTAC *	* ATATGTTTAA FATACAAATT * TCTCCTTTCT AGAGGAAAGZ * TTTGTCAATAA BACAGTTATT * SAAAACACCC TTTTTGTGGC *	* ACGGCCGCGCGC * TCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ TTGGGATTAT * CTTTTTAAAAC GAAAAATTTC	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * BAACTTGATCTCC TTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT *	* GTT * CCG GGC * CTA GAT * CTC GAG *
1[101 201 301 401	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT CGTTAGTGAI * CGGGGGATAI CGCCCCTAT * CGTTATAATU CAAAATTAATU	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC * GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * IGACCAATTA	* TTGCTTCA(AACGAAGAC * ATGTGGACC * ACGAGAAGA TGCTCTTC: * GGGGCGACC CCCCGCTGC * ATGATCCG	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCCTATGGAGC CGCGGGGTAACA SCGCCCCATTGT * CCTAAGCCCAT	* CACGCCCTC CACGCCCCCC CACACACCAC CCATAACCAC CCATAACCACC CCATAACCCCC CCACCCCCCCC	* GGGACACTGA CGGGACACTGA * GGGCTTAGCTG3 CCCGAATCGAC2 * AAAAACAGCCCC TTTTGTCGGGC * CCATGTGGAATC GGTACACCTTAC *	* ATATGTTTA/ FATACAAATT * ICTCCTTTCT AGAGGAAAG/ * TTGTCAATA/ SACAGTTATT * SAAAACACCC TTTTGTGGC *	* ACGGCCGCGGGT IGCCGGCGCCZ * CCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ ITGGGATTTAT * ZTTTTTAAAAA SGCGCAATCCT	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC FTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA SGTTCCACGAGTCCC	* CCG GGC * CCG GGC * CCA CCG GGC * CCA * CCG GGC * CCA * CCG CCG
1[101 201 301 401	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA TAAGTTAC	* TATCAAAA AATAGTTTT * CGAATCACT GTTAGTGAI * CGGGGGATAA GGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGAAAAATTA * CAGAACATC	* TGTAGCGGAG * TGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG TTTGGTATTC * GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * TGACCAATTAA	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* ATGTGGACC TACACCTG(* ACGAGAAGA TGCTCTTC: * GGGGCGACC CCCCGCTGC * ATGATCCGC	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG SACATACTTACC * ACCCTATGGAGC CGCGGGGTAACA SCGCCCCATTGT * SCTAAAGCCGAT	* TCACGCCTC CATACGAC CATAACGAC CATATGCTC * TTAGACAA * NAAAACCCC TTTTTTGGGC * TTAACGAACC	* GGGACACTGA: * GGGCTTAGCTGA: * CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCC * CCATGTGGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCTA	* ATATGTTTAA IATACAAATT * ICTCCCTTTCT AGAGGAAAGA * TTGTCAATAA 3ACAGTTATT * SAAAACACCC CTTTTGTGGC * AGGGATAACA	* ACCGCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCCC	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA SGTTCTCAGTGGT * CCTTTTAGAGTCC	* CCG GGC * CCG GGC * CTA GGAT * CTC 'GAG * CTC
1 101 201 301 401	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA TAAGTTAC ATTCAATG	* TATCAAAA AATAGTTTT * CCAATCACT CGTTAGTGAJ * CCGGGGATAJ CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGAAAATTAAT CCAAAAATTAA * CGAAACATC TCTTGTAGJ	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * IGACCAATTA ACTGGTTAAT	* TTGCTTCAG AACGAAGTG * ATGTGGACG TACACCTGG * ACGAGAAGJ TGCTCTTC? * GGGGCGACG CCCCGCTGG * ATGATCCGG TACTAGGCO	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCCTATGGAGC TGGGATACCTCG * CGCGGGGGTAACA GCGCCCCATTGT * GCTAAAGCCGAT CGATTTCGGCTA	* TCACGCCTC AGTGCGGAC * CATAACGAC GTATTGCTC * TTTAGACAA * AAAAACCCC TTTTTGGGC * TTAACGAACC ATTGCTTGC	* GGGACACTGA * GGGCTTAGCTGA CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCC * CATGTGGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCTA GCTCAATGGGA	* ATATGTTTAA FATACAAATT * CTCCCTTTCT AGAGGAAAGA * TTGTCAATAA BACAGTAATT * SAAAACACCCC TTTTGTGGC * AGGGATAACA FCCCTATTGT	* ACCGCCCGCCGCC * TCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ TTGGGATTAT * CTTTTTAAAAC SAAAAATTTC * AGCGCAATCCT TCGCGTTAGGZ	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * BAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTAGAGGC GGTTCTCAGGGGT * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGGGGT CTTTTTAGAGTCC AGAAAATCTCAGG	* CCA CGTT * CCG GGC * CTA GAT * CTC CGAG * CTC CGAG * CTC CGAG *
1 101 201 301 401	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA TAAGTTAC ATTCAATG	* TATCAAAA TATAGTTTT * CGATCACT GTTAGTGAI * CGGGGGATAI GCCCCTAT * * GTTTTAATC CCAAAATTAATC * CGAAAATTAATC * CGAACATCC *	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC GTCTTGGTT CAGAAACCAA IGACCAATTA ACTGGTTAAT *	* TTGCTTCAC AACGAAGTO * ATGTGGACC * ACGAGAAGA TGCTCTTC * GGGGCGACC CCCCGCGCC * ATGATCCGC TACTAGGCC *	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCCTATGGAGC IGGGATACCTCG * CGCGGGGGTAACA SCGCCCCATTGT * GCTAAAGCCGAT CGATTTCGGCTA *	* CACGCCCTCC CATAACGAC CATAACGAC CATAACGAC CATAACCCCC TTTTAGGCC * TAACGAACCC ATTGCTTGC *	* GGGACACTGA * GGGCTTAGCTGA CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCC TTTTGTCGGGC * CCATGTGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCTA GCTCAATGGGA *	* ATATGTTTA/ FATACAAATT * TCTCCTTTCT AGAGGAAAG/ * TTGTCAATAA 3ACAGTTATT * SAAAACACCCC TTTTGTGGC * AGGGATAAC/ TCCCTATTGT *	* ACGGCCGCGCGCC * TCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATA TTGGGATTTAT * CTTTTTAAAAC SAAAAATTTC * AGCGCAATCC7 TCGCGTTAGG3 *	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * BAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT * CTTTTTAGAGTCC AGAAAATCTCAGG *	* CCG GGC * CCG GGC * CTA GAT * CTC GAG * CTC GAG * CTC CAA
1 101 201 301 401 501	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA TAAGTTAC ATTCAATG	* TATCAAAA AATAGTTTT * CGAATCACT GTTAGTGAI * CGCGCGGATAA CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCAAAATTAA * CAAAAATTAA * CAAAACATC *	* ACATCGCCTC TGTAGCGGAG * TGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG TTTGGTATTC * GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * TGACCAATTA * CGACCTCGAT	* TTGCTTCA(AACGAAGT(* ATGTGGACCTG(* ACGAGAAGA TGCTCTTC: * GGGGCGACC CCCCGCTGC * ATGATCCGC TACTAGCC * GTTGGATC2	* STGAATAAGAGG CACTTATTATCTCC * CTGTATGAATGG SACATACTTACC * ACCCTATGGAGC CGGGGGGTAACA SCGCCCCATTGT * SCTAAAGCCGAT CGATTCCGCTA * AGGACATCCCAA	* TCACGCCTC 'AGTGCGGAC 'CTATACGAC 'CTATACGACA 'AAATCTGT' 'AAAACCCC 'TTTTTGGGC 'TTTTTGGGC 'ATGGAACC 'ATGGTGCAGG	* GGGACACTGAC CGGGACACTGAC * GGGCTTAGCTGC CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCC CATGTGGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCT7 CGGCTATCACACCTTACACCCT7 * CGGCTATTAAAC	* ATATGTTTAA IATACAAATT * ICTCCTTTCT AGAGGAAAGA * CTGTCAATAA 3ACAGTTAT * SAAAACACCC CTTTTGTGGC * AGGGATAACA FCCCTATTGT * 3GTCCGTTTC	* ACCGCCGCGCGC * ICCAGTCAGTTAC * AACCCTAAATA TTGGGATTAA * CTTTTTAAAAC GAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT ICCCCCAATCCT * TCCGCCAATCCT	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT * CCATTTTAGAGTCC AGAAATCCTACGG *	* CCAA CGTT * CCCG GGC * CCTA GGAT * CCTC GAG * CCTC GAG * CTCC GAG * CTCC * CCTA
1 101 201 301 401 501	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA ATCAATG TCGACAAG	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT CGTTAGTGAJ * CGCGCGGGATAA CGCCCCTAT * CGCGCGGGATAA CGCCCCTAT * CGAAAATTAA * CGAAACATC * CGGGACATC * CGGGGTTTAA	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * IGACCAATTA ACTGGTTAAT * CGACCTCGAT	* TTGCTTCAG AACGAAGTG * ATGTGGAAGJ TGCTCTTC? * GGGGCGACG CCCCGCTGG * ATGATCCGG TACTAGGATCJ GTTGGATCJ	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCCTATGGAGC CGCGGGGTAACA CGCGGGGGTAACA CGCCCCATTGT * CGCCCCATGT CGATTTCGGCTA * AGGACATCCCAA	* TCACGCCTC AGTGCGGAC * CATAACGAC GTATTGCTC * TTTTAGACAA AAAAACCCC TTTTTGGGC * TAACGAACC ATTGCTTGC * TGGTGCAGC	* GGGACACTGA * GGGCTTAGCTGA CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCCC * CATGTGGGAATC GTACACCTTAC * CGAGTTACCCTA GCTCAATGGGA * CCGCTATTAAAC	* ATATGTTTA/ FATACAAAT * CTCCCTTTC7 AGAGGAAAG/ * TTGTCAATA/ BAAACACCC TTTTGTGGC * AGGGATAAC/ FCCCTATTG7 * SGTTCGTTTC	* ACCGCCCGCGCG * TCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATA TTGGGATTAT * CTTTTTAAAAC SAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT TCGCGTTAGGA * TTCAACGAT	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * BAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCAGGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT * TCTTTTAGAGTCC AGAAAATCTCAGG *	* CCG CCG CCG CCG CCA CCA CCA CCA CCA CCA
1 101 201 301 401 501	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA ATTCAAGTAC ATTCAACG AGCTGTTC	* TATCAAAA ATAGTTTT * CGATCACT GTTAGTGA CGGGGGATAA GGCCCCTAT * CGAGAGACATC CAAAATTAA * CGAAACATC CAAAATTAA * CGAAACATC * CGAAACATC * CGAACATC * CGAACATCAC * CGACCCTAT * * CGGGGGATAA * CGGGGGATAA * CGGGGGATAA * CGGGGGATAA * CGGGGGATAA * CGAACACC * * CGGGGGATAA * CGGGGGATAA * CGGGGGATAA * CGGGGGATAA * CGGGGGATAA * CGAACACC * * CGGGGGATAA * CGAACACC * * * CGGGGGATAA * * * CGAACACC * * * CGAACACC * * * CGGGGGATAA * * * * * * * CGAACCCCAA * * * * * * * * * * * * *	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC GTCTTGGTT CAGAAACCAA IGACCAATTA ACTGGTTAAT * CGACCTCGAT GCTGGAGCTA	* TTGCTTCAC AACGAAGTO * ATGTGGACC TACAACCTGG * GGGGCGAACC CCCCGCTGG * ATGATCCGC TACTAGGCC CCCGGTCG CCCCGCTGG CACCTAG	* STGAATAAGAGG CACTTATTATCCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCTATGGAGC CGCGGGGTAACA GCGCCCCATTGT * CGCCGCATTGT CGATTCCGCCA * AGGACATCCCAA CCCTGTAGGGTT	* TCACGCCTG AGTGCGGAG * CATAACGAC GTATTGCTG * TTATAGACAI * AAAAACCCC TTTTTGGGG * TAACGAACC ATTGCTTGG * TGGTGCAGC	* GGGACACTGAC GGGACACTGAC * GGGCTTAGCTGC CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCCC TTTTGTGTGGGAAT GGTACACCTTAC GGTACACCTTAC CGAGTTACCCTA * CCGCTATTAAAC GGCGATAATTC	* ATATGTTTAA PATACAAATT * CTCCCTTTCT AGAGGAAAGA * CTGTCAATAA AGAGATAACA CTTTTGTGGG * AGGGATAACA FCCCTATTGT * GGTTCGTTTC CCAAGCAAAG	* ACCGCCGCGCG FGCCGGCGCCZ * CCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATZ TTGGGATTTAT * CTTTTTAAAAC SAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT CGCGTTAGGZ * STTCAACGATT CAAGTTGCTAZ	* TATTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC TTGAACTAGAGG AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT * CCATTTAGAGTCCCAGG GAAAATCTCAGGATCCA TTTCCAGGATCCA	* CCAA CCTA CCGGC * CCTA CCTA CCTA CCTA CCTA CCTA CCTA C
1 101 201 301 401 501	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA ATCAATG TCGACAAG AGTGTTC	* TATCAAAA AATAGTTTT * CGAATCACT GTTAGTGAI * CGGGGGATAI GGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCAAAATTAI * CGAAACATC * CGAAACATC * CGGGGGTTAI * CGGGGGTTAI * CCCCAAAT *	* TGTAGCGGAG * TGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG TTTGGTATTC * GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * TGACCAATTAA * TGACCAATTAA * CGACCTCGAT GCTGGAGCTA	* TTGCTTCAG AACGAAGT * ATGTGGACC TACACCTGG * ACGAGAAGA TGCTCTTC: * GGGGCGACG CCCCGCTGG * ATGATCCGG TACTAGATC2G CAACCTAGT	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG SACATACTTACC * ACCCTATGGAGCC * CGCGGGGTAACA SCGCCCCATTGT * SCTAAAGCCGAT CGATTCCGCAT CGATTCCGAT CCTGTAGGGTT	* TCACGCCTCC AGTGCGGAC * CATAACGAC * TTAGACAA * AAAATCTGT * AAAAACCCCC * TTATTGGGC * TTAACGAACC * ATGGCGCAGGCCCC	* GGGACACTGAC CCGGAATCGAC * CCCGAATCGAC * AAAAACAGCCCC CTTTTGTCGGGGC * CCATGTGGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCT7 CGGCTATTAAAC GCCGATAATTTC	* ATATGTTTAA IATACAAATT * CTCCCTTTCT AGAGGAAAGA * CTGTCAATAA 3ACAGTTAT * SAAAACACCC CTTTTGTGGC * AGGGATAACA * CCCCTATTGT * GGTCGTTTC CCAAGCAAAC	* ACCGCCGCGCGCZ * ICAAGTCAATA AGCCTAAATA TTGGGATTTAA * CTTTTTTAAAAG SAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT ICGCGCAATCCT TCGCGCAATCCT * STTCAACGATT CAAGTTGCTAA	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT * CCATTTTAGAGTCC AGAAATCTCAGG * TAAAGTCCTACGT	* CCGG GGCC CCTA GGAT * CCTCC CGAG * CCTCC CGAG * * CCTCC CGAG * * CCTCC CGAG * * CCCCCCCC * * CCCCCCCCCCCCCCC
1[101 201 301 401 501	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTCC GTGAACCT CACTTGGA TAAGTTAC ATCCACAG AGCTGTTCC CTGAGTTCC	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT CGTTAGTGAJ * CGGGGGATAJ CGCCCCTAT * CGAAAATTAAT CCAAAATTAA * CCAAAAATTAA * CGAACATCC * CGGGGTTTAA * CGGGGTTTAA * CCCCAAAT * CCCGAATA	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG TGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG TTTGGTATTC * GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * IGACCAATTA ACTGGTTAAT * CGACCTCGAT GCTGGAGCTA	* TTGCTTCAG AACGAAGT * ATGTGGACCTGG * ACGAGAAGJ TGCTCTCTC * GGGGCGACC CCCCGCTGG * ATGATCCGG TACTAGGCC * GTTGGATCJ CAACCTAGT	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCTATGGAGC CGGGGGTACCTGG * CGCGGGGGTAACA GCCCCCATTGT * GCTAAAGCCGAT CGATTCGGCTA * AGGACATCCCAA FCCTGTAGGGTT	* TCACGCCTC AGTGCGGAC * CATAACGAC GTATTGCTC * TTAGACAA CCTTTTTGGGC * TTAACGAACC ATTGCTGC * TGGTGCAGC	* GGGACACTGA: * GGGCTTAGCTG? CCCGAATCGAC? * AAAAACAGCCCC * CATGTGGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCT? GCTCAATGGGA: * CCGCTATTAAAC GGCGATAATTC	* ATATGTTTA/ FATACAAATT * CTCCCTTTCT AGAGGAAAG/ * CTGTCAATA/ SACAGTTATT * SAAAACACCC CTTTTGTGGC * AGGGATAAC/ FCCCTATTGT * GGTTCGTTTC CCAAGCAAAC	* ACCGCCCGCGCCZ * TCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATA TTGGGATTAT * CTTTTTTAAAAC SAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT TCGCGTTAGGZ * STTCAACGATT CAAGTTGCTAA	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * BAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCAGGGGT * CCAAGAGTCCCAGTGGT * CCAAGAGTCCCAGGG * TAAAGTCCTACGT ATTTCAGGATCCA	* CGAT GGTT CCG GGCC * CCTA GGAT * CCTC GGAG * * CCTC * * CCTC * * * CCTC * * * * *
1[101 201 301 401 501	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA ATTCAATG AGCTGTTC CTGAGTTCC GACTCAAG	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT GTTAGTGAI * CCGGGGGATAI GCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGAAAATTAI * CGAAACATC * CGGGGTTAI * CCCCAAAT * CCCCAAAT * CCCCAAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCAATCAC * CCCCCCACCCAC * CCCCCCACCCCACCAC * CCCCCCACCCCA	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC GTCTTTGGTATTC CAGAAACCAA * IGACCAATTA ACTGGTTAAT * CGACCTCGAT GCTGGAGCTA	* TTGCTTCAG AACGAAGTO * ATGTGGACC TACAACCTGC * GGGGCGAACC CCCCGCTGC * ATGATCCGC TACTAGGCC * GTTGGATCZ CAACCTAGT	* STGAATAAGAGG CACTTATTATCTCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCTATGGAGC CGCGGGGTAACA CGCCGCATTGT * CGCGCGCCATTGT CGATTCCGCTA * AGGACATCCCAA CCTGTAGGGTT	* CACGCCCCC CACTACCGAC CATAACCGAC CATAACCGAC CATAACCAC CATAACCCCC CATTTTTGGGC CATTGCTGCC CATTGCTGCCACCGCCCC	* GGGACACTGA * GGGCTTAGCTGA CCCGAATCGACA * AAAAACAGCCCC TTTTTGTCGGGG GGTACACCTTAG GGTACACCTTAG GGTACACCTTA CGGGTATCCCTA * CCGCTATTAAAC GCGATAATTTC	* ATATGTTTAA IATACAAATT * ICTCCTTTCT GAGGAAAGA * CTGTCAATAA GAAAACACCC TTTTGTGGC * AGGGATAACA ICCCTATTGT SGTTCGTTTC CCAAGCAAAC	* ACCGCCGCGCG FGCCGGCGCCZ * CCAAGTCAGTTAC * AGCCCTAAATZ TTGGGATTTAT * CTTTTTTAAAAG SAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT * AGCGCAATCCT * CGCGTTAGGZ * STTCAACGATT CAAGTTGCTAZ	* TATTTGACCGTG ATAAAACTGGACC * SAACTTGATCTCC TTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT * CCAAGAGTCACCA GGTAAAATCTCAGG AAAAGTCCTACGT ATTTCAGGATCCA	* CCG GGC GGC CCG GGC CTA GAT CTC GAG * CTA CTA * CATA * CATA
1[101 201 301 401 501	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC ACGTCTTCC GTGAACCT CACTTGGA ATCAATG TCGACAAG AGCTGTTC CCGACGAG CTGAGTTC GACTCAAG	* TATCAAAA ATAGTTTT * CGAATCACT GTTAGTGAI * CGGGGGATAI CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCCCCTAT * CGCAAAATTAI * CGCAAAAATTAI * CGCAAAAATTAI * CGCAAAAATTAI * CGCGGGTTTAI * CGCAAACATC * CGCCCCAAATC * CGCCCCAAATC * CGCCCCAAATC * CGCCCCAAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATC * CGCCCCCAATCC * CGCCCCCAATCC * CGCCCCCCAATCC	* TGTAGCGGAG * TGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG TTTGGTATTC * GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * TGACCAATTA ACTGGTTAAT * CGACCTCGAT GCTGGAGCTA	* TTGCTTCAG AACGAAGT * ATGTGGACC TACACCTGG * ACGAGAAGA TGCTCTTC: * GGGGCGACG CCCCGCTGG * ATGATCCGG TACTAGATC2G CAACCTAG:	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG SACATACTTACC * ACCCTATGGAGCC * CGCGGGGTAACA SCGCCCCATTGT * SCTAAAGCCGAT CGATTCCGCTA * AGGACATCCCAA FCCTGTAGGGTT	* TCACGCCTCC AGTGCGGAC * CATAACGAC CATATGCTC * TTAGACAA * NAAAAACCCCC * TTATTGGGC * TTAACGAACC * ATGCTGCAGC CACCACGTCC	* GGGACACTGAC CCGGAATCGAC * AAAAACAGCCCC TTTTGTCGGGGC * CCATGTGGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCT7 CGGCTATTAAAC GGCGATAATTTC	* ATATGTTTAA IATACAAATT * CTCCCTTTCT AGAGGAAAGA * CTGTCAATAA 3ACAGTTAT * SAAAACACCC CTTTTGTGGC * AGGGATAACA CCCTATTGT * GCCCTATTGT CCCAAGCAAAC	* ACCGCCCGCCGCC * ICCAGTCAGTTAC * AACCCTAAATA TTGGGATTTAT * CTTTTTTAAAAC SAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT ICGCGCAATCCT TCGCGCAATCCT TCGCGCAATCCT CAGGTTGCTAA	* FATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT * FAAAGTCCTACGT ATTTCAGGATCCA	* CAA GGTT * CCCG GGCC * * CTA GGAT * CCTA CCTA * * CCTA * * * * * * * * * *
1 101 201 301 401 501 601	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA TAAGTTAC ATTCAATG AGCTGACAAG AGCTGATCC GACTCAAG	* TATCAAAA ATAGTTTT * CCAATCACT CGTTAGTGAJ * CGGCGCCTAT * CGCCCCCAATCA * CGCCCCCGC TCCCGCAATCA	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC * GTCTTTGGTT CAGAAACCAA * IGACCAATTA ACTGGTTAAT * CGACCTCGAT GCTGGAGCTA	* TTGCTTCAG AACGAAGT * ATGTGGACCTGG * ACGAGAAGJ TGCTCTCTC * GGGGCGACC CCCCGCTGG * ATGATCCGG TACTAGGCC * GTTGGATCJ CAACCTAGT	* STGAATAAGAGG CACTTATTCTCC * CTGTATGAATGG SACATACTTACC * ACCCTATGGAGC TGGGATACCTCG * CGCGGGGGTAACA SCGCCCCATTGT * SCTAAAGCCGAT CGATTCCGCTA AGGACATCCCAA FCCTGTAGGGTT	* TCACGCCTC AGTGCGGAC * CATAACGAC GTATTGCTC * TTAGACAA CCTTTTTGGGC * TTAACGAACC ATTGCTGC * TCACGAGCAGC	* GGGACACTGA * GGGCTTAGCTG CCCGAATCGAC * AAAAACAGCCCC * CATGTGGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCTA GCTCAATGGGA * CCGCTATTAAAC GGCGATAATTTC	* ATATGTTTA/ FATACAAATT * CTCCCTTTCT AGAGGAAAG/ * CTGTCAATA/ SACAGTTATT * SAAAACACCC CTTTTGTGGC * AGGGATAAC/ FCCCTATTGT * GGTTCGTTTC CCAAGCAAAC	* ACCGCCCGCGCCZ * TCAAGTCAATC AGTTCAGTTAC * AACCCTAAATA TTGGGATTAT * CTTTTTTAAAAC SAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT TCGCGTTAGGZ * STTCAACGATT CAAGTTGCTAA	* TATTTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * BAACTTGATCTCC CTTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCAGGGT CCAAGAGTCCCAGTGGT * CCAAGAGTCCCAGGG AAAAATCTCAGGGT * TAAAGTCCTACGT ATTTCAGGATCCA	* CAA GGTT * CCCG GGCC * CTA GGAT * CCTC CCCG * CCCC * CCCC * CCCC * CCCC * CCCCC * CCCCC * CCCCC * CCCCCCCC
1 101 201 301 501 601	16SarL CGCCTGTT GCGGACAA AGGTAGCG TCCATCGC TGCAGAAG ACGTCTTC GTGAACCT CACTTGGA ATTCAATG AGCTGTTC CTGAGATCC GACTCAAG	* TATCAAAA ATAGTTTT * CGATCACT GTTAGTGAI * CGGGGGATAI GGCCCTAT * CGAAAATTAI CAAAAATTAI * CAGAACATC * CAGAACATC * CCCAAATCAC * CGGGGTTAI * CCCAAATCAC * CCCAAATTAI * CAGACCGG * CCGGGCC 16SbrH	* ACATCGCCTC IGTAGCGGAG * IGTCCTTTAA ACAGGAAATT * AAACCATAAG ITTGGTATTC GTCTTGGTATTC CAGAAACCAA * IGACCAATTA ACTGGTTAAT * CGACCTCGAT GCTGGAGCTA	* TTGCTTCAC AACGAAGTC * ATGTGGACC TACAACCTGC * GGGGCGACC CCCCGCTGC * ATGATCCGC TACTAGGCC * GTTGGATCC CAACCTAG	* STGAATAAGAGG CACTTATTATCCC * CTGTATGAATGG GACATACTTACC * ACCCTATGGAGC CGCGGGGTAACA GCGCCCCATTGT * CGATTCCGCTA AGGACATCCCAA CCTGTAGGGTT	* TCACGCCTC AGTGCGGAC * CATAACGAC GTATTGCTC * TTTTAGACAI * AAAAACCCC TTTTTGGGC * TTAACGAACC ATTGCTTGC * TGGGTGCAGC	* GGGACACTGAC * GGGCTTAGCTGC * CCCGAATCGACZ * AAAAACAGCCCCC * CCATGTGGGAATC GGTACACCTTAC * CGAGTTACCCTZ * CGAGTTACCCTZ * CCGCTATTAAAC GGCGATAATTTC	* ATATGTTTAA IATACAAATT * ICTCCTTTCT AGAGGAAAGA * ICTCTCTATATA * SAAAACACCC ITTTTGTGGC * AGGGATAACA ICCCTATTGT SGTTCGTTTC ICCCAAGCAAAC	* ACCGCCGCGCG FGCCGGCGCCZ * CCAAGTCAGTTAC * AGCCCTAAATZ TTGGGATTTAT * CTTTTTTAAAAG SAAAAATTTTC * AGCGCAATCCT CGCGTTAGGZ * STTCAACGATT CAAGTTGCTAZ	* TATTTGACCGTG ATAAAACTGGCAC * SAACTTGATCTCC TTGAACTAGAGG * AAAGGAAATAAAC TTTCCTTTATTTG * CCAAGAGTCACCA GGTTCTCAGTGGT * CCATTTCAGGATCCA GAAAATCTCAGGATCCA	* CAA GGTT * CCCG GGGC * CTA GGAT CCTA * CCTA * CCTA * CCTA



図1 フグA (コモンフグと鑑別)全体写真



図2 フグB (ナシフグと鑑別)全体写真



図3 フグC 全体写真



図4 フグA 表面模様



図5 フグB 表面模様



図6 フグA 尻鰭



図7 フグB 尻鰭



図8 フグA 胸鰭後方の黒紋



図9 フグB 胸鰭後方の黒紋

M 1 2 3



図10 mtDNA16SrRNA 遺伝子部分領域の PCR 増幅 M:100bp ladder 1:フグA ,2:フグB ,3:フグC