

メダカの判別における有効なマイクロサテライト DNA マーカーの開発

【目的】近年、土地生産性の向上や農業経営の大規模化を目指すために、圃場整備事業が進められている。その中で、水門の設置や農業用水路の用排分離などにより生物の自由な移動が妨げられていることが考えられる。このことは、地域の生態系に対し何かしら影響を与えていると懸念されるが、外見だけでは判断できないため遺伝子による解析が行われている。DNA マイクロサテライト領域は、変異性が高く個体識別や親子鑑定などで広く用いられている。このマイクロサテライト多型を利用してメダカを判別し、その移動範囲の推定と地域の多様性の評価が試みられている。メダカは、全塩基配列が解読されており実験動物としての歴史も古い。しかしながら、メダカのマイクロサテライト DNA マーカーは数が少なく、より詳細な評価が難しい現状がある。そこで、本研究ではメダカの判別における新たなマイクロサテライト DNA マーカーを開発し、その有効性を検討した。

【方法】岐阜県安八郡輪之内町、大阪府茨木市玉島台、石川県河北郡津幡町の 3 集団のメダカを対象とし、それぞれ 30 個体、30 個体、17 個体の計 77 個体について DNA を抽出した。マイクロサテライト領域の検索は、国際塩基配列データベースに登録されているメダカの塩基配列データを用い、作成したプログラムにより行った。検索した領域を PCR により増幅させるためのプライマーを設計し、アガロースゲルで電気泳動を行った。その中で、DNA 断片の増幅が見られたものに対しシーケンスを調べ、目的配列が増幅されているかを確認した。その後、アクリルアミドゲルで電気泳動を行い、泳動パターンによって遺伝子型を決定した。

【結果及び考察】設計したプライマーのうち、9 対のプライマーで目的配列の増幅が確認できた。そのうち、ハーディー・ワインベルグ平衡からの有意なずれが確認されなかったプライマーは 5 対であった。これら 5 対のプライマーを用いて分散分析 (AMOVA ; Analysis of Molecular Variance) を行い、標本集団間の遺伝的分化の程度を示す遺伝的分化指数 (F_{ST}) を算出した。計算は、統計ソフト Arlequin ver.3.1 により行った。 F_{ST} は、値が大きいほど遺伝的分化の程度が大きいことを示す。その結果、岐阜—大阪間、岐阜—石川間、大阪—石川間の F_{ST} 値は、それぞれ 0.119、0.287、0.360 となり全ての標本集団間の組み合わせにおいて 0 から有意に離れていたため ($P < 0.0001$)、遺伝的分化の存在が示された。日本のメダカは遺伝的な違いから北日本集団と南日本集団の大きく 2 つに分けられており、本研究で解析した 3 集団では石川のメダカのみが北日本集団に分類されている。したがって、岐阜—石川間と大阪—石川間の F_{ST} 値が岐阜—大阪間の F_{ST} 値よりも大きくなったのは、この北日本集団と南日本集団における分化の程度が大きいためであると考えられる。以上の結果から、この 5 対のマイクロサテライト DNA マーカーはメダカの判別と集団解析に有効であると考えられた。今後も、さらに有効なマーカーを開発していくことで、メダカや生態系の保全へ役立てていくことが必要である。