

ミナミメダカの判別における
有効なマイクロサテライト DNA マーカーの選定

【目的】水門の設置や用排分離などの圃場設備により生物の自由な移動が妨げられ、生態系に対し何らかの影響を与えていると考えられる。また、魚道などの環境との調和に配慮された工法もあるが、これらの整備がどの程度有効であるかを見かけで判断することは難しい。そこで遺伝的観点からの解析・評価が有効である。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、遺伝的多様性の評価に適している。本研究室ではゲノム解析が完了しているミナミメダカ(以下メダカ)を対象とし、マイクロサテライト DNA マーカーを用いた遺伝的多様性の評価を試みる研究がなされており、メダカについては 24 対のマーカーが開発されている。しかし、メダカにより正確な移動の推定や遺伝的分化の解析を行うためには、連鎖不平衡の推定を行う必要がある。よって本研究では、メダカにより正確な移動の推定や遺伝的分化の解析を行うために必要となる DNA マーカーの選定を行うことを目的とする。

【実験方法】岐阜県安八郡輪之内町、愛知県あま市二ツ寺西、大阪府茨木市玉島台の 3 集団のメダカを対象とし、それぞれ 17 個体ずつの計 51 個体から DNA を抽出した。それぞれの個体に対して 24 対のプライマーを用いて PCR を行い DNA 断片を増幅させ、ポリアクリルアミド電気泳動を行った。得られた結果の解析を行い、有効なマーカーを選定し、遺伝的分化を評価した。

【結果および考察】24 対のプライマーのうち、アニーリングする箇所を調べた結果、3 対のプライマーが複数の箇所でアニーリングする可能性があるため除外した。残り 21 対のプライマーで連鎖不平衡の推定を行った結果、1 対のプライマーを除く、20 対のプライマーを使った場合では連鎖平衡となった。このうち、3 集団全てにおいて Hardy-Weinberg 平衡が成立する ($p < 0.0025$) ものは 16 対であった。これら 16 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。 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—愛知間、岐阜—大阪間、愛知—大阪間の F_{ST} 値は、それぞれ 0.130、0.233、0.226 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。メダカは遺伝的な違いから、東日本型や東瀬戸内型など大きく 9 つの型に分けられており、本研究で解析した 3 集団では大阪集団のみ東瀬戸内型であり、岐阜・愛知集団は東日本型に分類される。求めた F_{ST} 値から岐阜—愛知間よりも岐阜—大阪間と愛知—大阪間の方が分化の程度が大きいことがわかり、解析結果は正しいと言える。以上の結果から、選定した 16 対の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る。