

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】土地生産性の向上、農業経営の大規模化を目指し、多くの圃場整備が行われている。農業用水路の用排分離、水路のコンクリート化などは生物の自由な移動を妨げ、生態系に影響を及ぼしているとされている。このような現状に対し、環境配慮型工法も行われているが、どの程度有効であるのかは明らかではない。そこで遺伝的観点から多様性の評価を行う手法である、マイクロサテライト DNA マーカーを分析の手段として用いた。調査地のミナミメダカ（以下メダカ）の生息実態を解明するため、有効なマイクロサテライト DNA マーカーの選定を目的とする。

【実験方法】岐阜県輪之内町の農業用水路系（図 1 ①～⑤地点）に生息する 191 個体と愛知県あま市の排水路系（図 2 ①～⑥地点）に生息する 94 個体のメダカを対象とした。尾びれから DNA を抽出し、それぞれの個体に対してプライマーを用いて PCR を行い、ポリアクリルアミド電気泳動を行った。利用するプライマーは M.Spivakov が開発した 24 対のプライマーのうち国立遺伝学研究所が公表したメダカの全塩基配列の一部と一致する、21 対のプライマーを用いた。

【まとめ】各地点、ほぼ全ての個体においてバンドが検出されたプライマーを有効なプライマーであると考えた。その結果 21 対中、5 対のプライマー（表 1）が有効であると考えられた。これまでの研究により有効とされているプライマーの選定で用いたサンプルは、今回使用したサンプルとは異なるものである。したがって今回用いたサンプルでは有効と判断できない可能性も考えられる。今後、それらのプライマーと今回のサンプルを用いて実験を行い、それらのプライマーの有効性を確認する。



図 1 輪之内町調査地

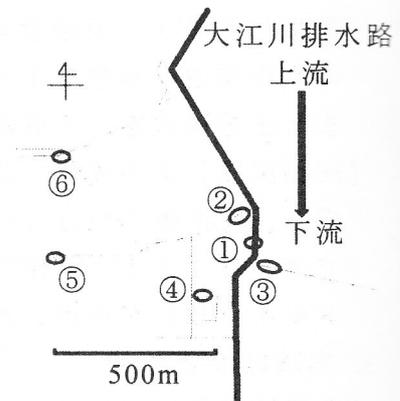


図 2 あま市調査地

表 1 有効と考えられるプライマー

Forward Primer	Reverse Primer
TTAGGCTCAATCTGTTATTTACAGATTAC	ATCCACAGGCTCAGCATCTT
GGATTGCTGCTGAGTGTAATTC	CAATTTCCAGTTTCACTGACTGG
AGCTTAGCAGACCGTTTTAGG	CCTGCCGTGGATCTCAG
AAAAGCTGTATGAACAGATTTGC	TGAGAGCCTGTTGCCTTC
AGTTTTGGCTACATTCATAGTCAG	GGAGAGGGTTTCTAGGGA