

[成果情報名] 同一水系のドジョウを対象とする遺伝的な個体群構造の分析手法

[要約] マイクロサテライト DNA マーカーを利用して、対立遺伝子頻度による遺伝的分化尺度 (F_{st}) からドジョウの遺伝的構造を確認することができる。本手法により谷津田域における同一水系のドジョウは遺伝的に 3 群に大別される。

[キーワード] ドジョウ、マイクロサテライト DNA、同一水系

[担当] 農工研・農村環境部・生態工学研究室

[代表連絡先] 電話 029-838-7686、電子メール koizumin@affrc.go.jp

[区分] 農村工学

[分類] 研究 普及

[背景・ねらい]

近年、DNA 等の分子マーカーによる生物個体群の遺伝的解析が注目されている。中でもゲノム上に点在するマイクロサテライト DNA は、CA、CTA 等の 2 ～ 5 塩基の繰り返し配列からなり、その繰り返し数は個体レベルで異なることが知られている（多型と呼ばれる）。ここでは、マイクロサテライト DNA における多型特性を利用して、同一水系のドジョウを対象とする遺伝的な個体群構造の分析手法を提案する。

[成果の内容・特徴]

1. 日本 DNA データバンクにおける登録塩基配列から、ドジョウのマイクロサテライト DNA マーカー（以下、遺伝子座）を検索し、遺伝子座に固有の PCR プライマーを設計する。ここでは表 1 に示す遺伝子座及びそのプライマーを利用する。
2. 千葉県下田川流域の農業排水路 7 本から（図 1）、2004 年 9 月に各水路の 3 ～ 8 地点で採捕したドジョウを合計 24 個体ずつ（標準体長平均 ± 標準偏差：7.1 ± 2.2 cm）使用する。
3. 採捕個体の尾鰭組織（約 2 mm 四方）から DNA を抽出後、PCR プライマーを用いて DNA を増幅し、各遺伝子座における繰り返し配列の長さ（以下、対立遺伝子）を個体別に決定する。
4. 各水路の個体群には、すべての遺伝子座で複数の対立遺伝子（2 ～ 19 個）があることを確認し（表 2）、これらの対立遺伝子頻度から推定されるヘテロ接合度（遺伝的多様度）はハーディー・ワインベルグ平衡（交配の任意性）から逸脱していないことを検証する（ $p > 0.05$ ）。
5. 対立遺伝子頻度から個体群間の遺伝的分化尺度（ F_{st} ）を算出し（表 3）、その値について平均距離法による樹形図を作成する（図 2）。個体群間の分化はほとんど認められず、樹形図の構造からドジョウは 3 群に大別される。

[成果の活用面・留意点]

1. 同じマイクロサテライトマーカーでも対象個体群によって複数の対立遺伝子が見られない場合がある。少数個体を用いた予備分析を行うことが望ましい。
2. マイクロサテライトを用いて個体群の遺伝的構造を分析することにより、その成果は水路ネットワークの再生を図るための基礎情報として、利用が期待される。

[具体的データ]

表1 分析に用いた3つのマイクロサテライトDNAマーカー（遺伝子座）及びPCRプライマー

遺伝子座	繰り返し配列	プライマー配列(5'-3') F: 前方、R: 後方	GenBank
Mac23	(CT) ³⁶ (CA) ²⁸	F: CACCAAAGCA-TCCAAAAT R: ACAGCCTGTG-TCCTCTGA	AB081621
Mac43	(CA) ⁸	F: CGTCTGCCTC-AGACTTTG R: TTGTGCAACA-TCAGCGTA	AB081624
Mac48	(CT) ¹⁹ (CA) ²¹	F: CTTCAGCTGT-TGGGTGTC R: TTACATGAAA-TCGGTTCACA	AB081626

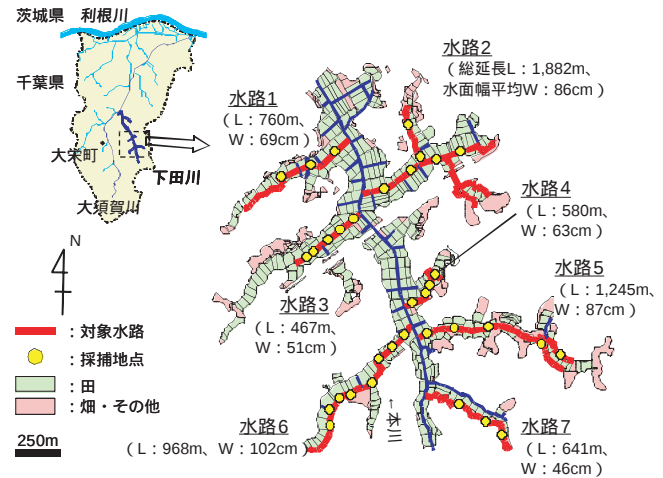


図1 下田川流域における対象水路の配置

表2 3つの遺伝子座で見られたドジョウ個体群の対立遺伝子数、ヘテロ接合度の理論値と観測値

遺伝子座		水路1	水路2	水路3	水路4	水路5	水路6	水路7
Mac23	対立遺伝子数	14	17	19	13	18	18	16
	理論値/観測値	0.90/0.87	0.94/0.96	0.92/1.00	0.90/1.00	0.95/0.92	0.91/0.90	0.90/0.78
Mac43	対立遺伝子数	2	4	3	5	4	3	5
	理論値/観測値	0.12/0.08	0.30/0.29	0.28/0.26	0.31/0.25	0.36/0.29	0.18/0.19	0.33/0.23
Mac48	対立遺伝子数	3	4	4	5	4	6	5
	理論値/観測値	0.30/0.29	0.30/0.29	0.41/0.43	0.32/0.26	0.36/0.29	0.38/0.33	0.33/0.23
全体	平均対立遺伝子数	6.3	8.3	8.7	7.7	9.0	9.0	9.0
	理論値/観測値	0.41/0.41	0.49/0.51	0.51/0.57	0.48/0.50	0.56/0.50	0.49/0.48	0.49/0.41
	P値	0.98	0.99	1.00	0.40	0.08	0.02	0.06

P値：ハーディ・ワインベルグ平衡に関する有意確率（ボンフェロニの補正値 $\alpha_{p=0.05}=0.0071$ と比較）

表3 対立遺伝子頻度による個体群間の相関係数 Fst

水路	1	2	3	4	5	6
2	0.03*					
3	0.00	0.01				
4	0.01	0.01	0.01			
5	0.02*	0.01	0.00	0.01		
6	0.00	0.01	0.00	0.00	0.01	
7	0.01	0.02	0.00	0.01	0.00	0.00

Fst: 0 ~ 1の値をとり、0は分化なし（遺伝的に差がない）

1は完全に分化している状態を表す。

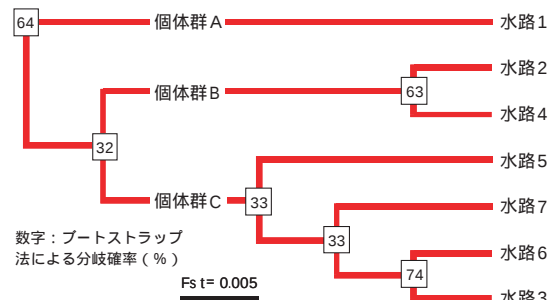
*: $p < 0.05$ （ボンフェロニの補正値 $\alpha_{p=0.05}=0.0024$ と比較）

図2 平均距離法によるドジョウ個体群の樹形図

[その他]

研究中課題名：地域資源を活用した豊かな農村環境の形成・管理技術の開発

実施課題名：遺伝的にみた農業水路における魚類個体群ネットワークの実態解明

実施課題 ID：421-d-00-004-00-I-06-9405

予算区分：科研費

研究期間：2006 ~ 2007 年度

研究担当者：小出水規行

発表論文等：小出水規行・竹村武士・奥島修二・森 淳・蛭原 周（2005），DNA 標識を利用した農業水路系における魚類個体群の交流実態の検討 - 千葉県谷津田域のドジョウ個体群を事例として - ，河川技術論文集 12，pp.365-370