

「貯水ダムによる流域分断がヒメヒラタカゲロウの遺伝的交流に及ぼす影響：DNA多型マーカーによる解析」

所 属：大阪府立大学大学院理学系研究科

氏 名：加藤 幹男

1. 目的

本研究では、日本各地の河川上流域から中流域にかけて広く生息する代表的な水生昆虫としてヒメヒラタカゲロウ *Rhithrogena japonica* を材料に選び、そのゲノムDNAから集団遺伝学マーカーを確立することによって、地域個体群内の移動分散や個体群間の遺伝的交流の様式を調べることを目的とする。また、本研究の結果に基づき各地域個体群の遺伝的構造を特徴づけることによって、自然の地形やダム等の横断工作物による流域分断の影響を水生昆虫の移動障壁という視点から検出することを目標としている。また、個体群の遺伝的構成を解析するためには、多数の試料個体が必要であるが、各地から多数の試料個体を採集した場合に、ヒメヒラタカゲロウ属のように分類学的に未整理の分類群においては、どうしても試料個体の異種混合の可能性を否定しきれない。そこで、DNA試料から種同定を可能とするための種判別マーカーを確立するための遺伝子解析も並行して行うこととした。

2. 方法

本研究で用いる集団遺伝学マーカーとしてマイクロサテライト繰返し数多型を想定した。ヒメヒラタカゲロウ全ゲノムDNAから構築したプラスミドライブラリーを全ゲノムDNAの標識断片によってスクリーニングすることで、多コピー配列を含むクローン化DNA断片を候補クローンとして選び出した。

3. 成果

スクリーニングで得たクローン化DNAを網羅的に配列決定し、単純繰返し配列を含むDNA領域を得た。全ゲノムDNAを標識プローブとして用いることで、マイクロサテライト座位の他に、ミニサテライト等の縦列繰返し配列や、ヒメヒラタカゲロウに特徴的な様々な多コピー配列が得られた。現在、配列データを元にしてマイクロサテライト領域をはさむプライマー配列を設計し、個々のマイクロサテライト座位について多型マーカーとして特徴づけを進めている。これらの多型マーカーが揃えば、当初の目標である個体群間の遺伝的関係の定量化を進めることが可能である。

種判別マーカー確立のための遺伝子解析に関しては、配列決定が容易な鎖長のうちに十分な情報量を保持するものとして、ヒストンH3遺伝子、チトクロム酸化酵素サブユニットI(COI)、18S rRNA遺伝子のそれぞれ部分配列を対象として行った。カゲロウ類では、H3に関して10種12個体、COIは4種4個体、18S rRNA遺伝子は17種21個体について遺伝子配列を決定した。これらの遺伝子領域は従来から分子系統解析に用いられている標準的な遺伝子であるので、近縁種群の配列もすでに多くがデータベースに記録されており、種判別マーカーとして有効であると思われる。今後も、調査地周辺において採集されるカゲロウ類を網羅的に解析していく予定である。

4. 今後の展望

これまでに、個々の座位について試料個体群における集団遺伝学パラメータを求めていくことで、集団間の遺伝的関係の定量化が可能な段階まで達した。今回、マイクロサテライト座位の他に、多種類の多コピー配列（ミニサテライトやその他の反復配列を含む）を得ているので、これらを用いた多型検出法を確立することで簡便な集団遺伝学マーカーの作出を進めたい。本研究によって確立した遺伝マーカーを用いて、試料群間の差異を解析することで、地域個体群内の移動分散や個体群間の遺伝的交流の様式を示すことが可能である。また、貯水ダムや高標高の尾根などの地形要因も加えて、地域個体群内や個体群間の違いをもたらす要因を定量的に考察する予定である。ただし、当地のヒメヒラタカゲロウは、年一化であり、翌年次の個体はすべて子世代のものに置き換わる。したがって、集団の遺伝的構造の解析は単年のみでは不十分であり、継続して調査を続けることによって流域分断のような進化遺伝学的イベントが集団構造に及ぼす効果を検出することが可能になるとと思われる。