

DNA多型の分析：魚類生態研究への応用

遠洋水産研究所・浮魚資源部

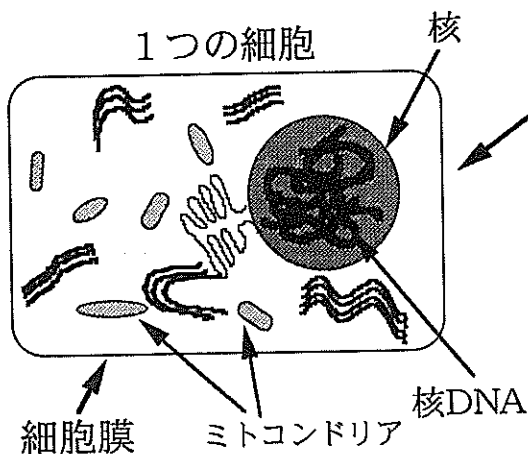
張 成年

マグロ類に限らず、魚類の資源評価を行うにあたって、その集団構造を明らかにすることが重要です。例えば、太平洋の南北で漁獲されるキハダは大きな一つのコミュニティー（人間でいえばひとつの国家、民族等）に属しているのか、それともお互いに嗜好が違ったり、生態的に重複しないとかの理由でいくつかの小さな集団に分かれているのかを明らかにすることは、資源管理上、重要な情報をもたらすわけです。ある一つの種のなかに、遺伝的に交流のない集団がいくつか存在するとき、それらを系群と呼ぶことができます。この系群ということばはかなり定義があやふやです。水産上、同じコミュニティーに属し、そのメンバーと自由な交配をしていますが、季節によっては個体の分布に偏りがある場合も考えられます。この場合、それぞれの偏った分布をする群を系群と呼ぶこともあります。本研究では、遺伝的に異なる集団を系群とみなし、最終的には異なる集団が混合していても判別できるようにすることを目的としています。このような同種内での系群判別はある意味ではやっかいな問題です。一方、種を判別するというのははるかに容易なことです。大きな成魚であれば殆どだれでも何という種であるかは区別できるでしょう。しかし、卵や微小な仔魚、稚魚になると、かなり訓練された科学者でも難しい場合があります。マグロ類の卵稚仔はいずれの種もよく似ているのでなおさらやっかいです。卵稚仔期での正確な種の同定は加入量、初期減耗を推定するにあたって重要な基礎資料ですので、遺伝子レベルでの種判別法の検討も行っています。

ここでは、遺伝子DNAを用いた系群判別、種判別法を簡単に説明し、実際の応用例について述べたいと思います。

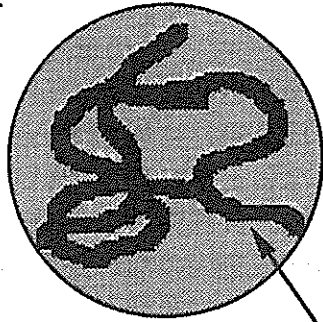
DNA解析の一例

動物細胞について



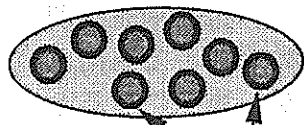
我々人間も魚もクラゲもどんな動物でも細胞の構造は左の図に示したように同じです。ほとんどの遺伝情報は核内の線状DNAにあります。ごく一部は核外のミトコンドリアという小器官にもあり、ここにあるDNAは環状をしています。

核



核DNA

ミトコンドリア



ミトコンドリアDNA

核でもミトコンドリアでもそのDNAを拡大してみると、2本のDNA繊維がらせん状にからまった構造をしています。それぞれの繊維はアデニン(A)、グアニン(G)、チロシン(T)、シトシン(C)という4種類の塩基が数珠つなぎに横に並んだものです。遺伝子が異なると、この4種の塩基の並び方が非常に違います。また、異なった生物の間では同じ遺伝子でもこれら塩基の並び方がある程度違います。さらに、同じ種でも個体間で違う場合もあります。このようなケースを遺伝的多型と呼びます。

DNA 2重らせんの一部

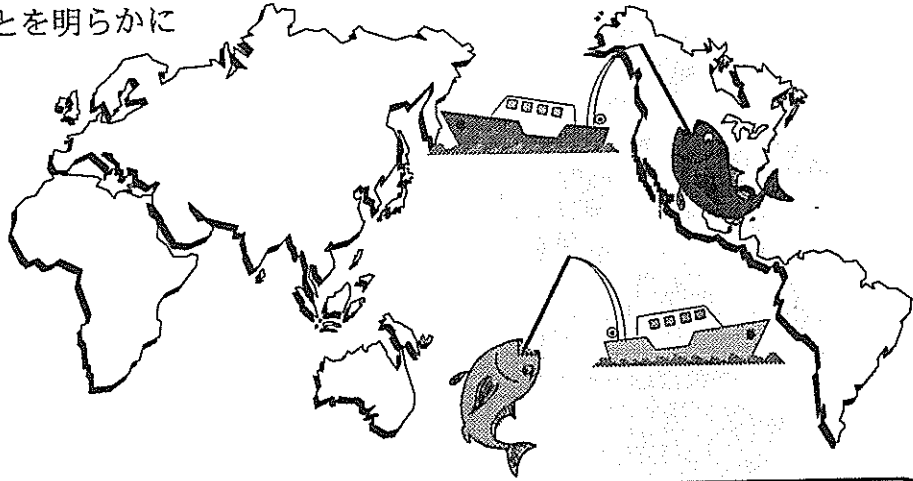


-A-T-C-G-G-T-A-C-A-A-T-G-C- ヒト
 -*-*-T-*-A-C-*-**-*-**-*-**-*- マグロ
 -*-C-T-A-A-*-**-*-T-*-C-*-T- クラゲ

このような遺伝的多型をマーカー（指標）にして、種の判別や系群研究に応用することが可能です。

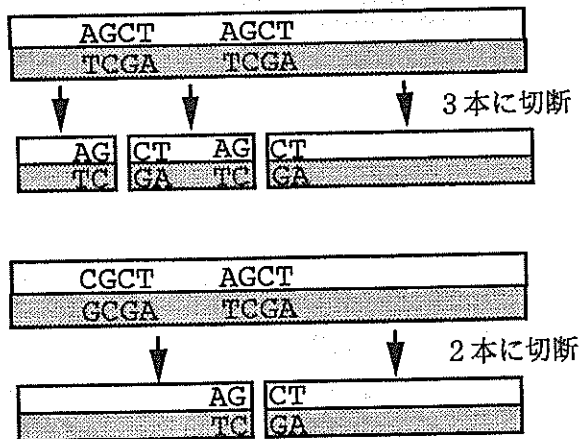
系群研究への応用

例えば、ビンナガは全大洋に生息しますが太平洋の北と南半球で漁獲されるものはたして同じ系群なのでしょうか、それとも異なる系群に属するのでしょうか。このようなことを明らかにできれば今後の資源管理対策のひとつの指針になるものと考えられます。



まず、細胞から取り出したDNAから適当なマーカーになり得る可能性のある遺伝子を検索します。一般的によく使われるのはミトコンドリアDNAです。いろいろな海域から得たマグロ標本についてある特定の遺伝子領域における塩基配列を調べてゆくわけですが、おおざっぱに差異を検出する方法として、制限酵素というものを使うやり方と、詳しく差異をしらべるために塩基の配列を調べてゆくやり方があります。

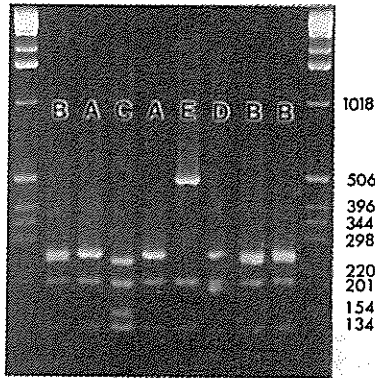
例えば、AGCTという配列を認識してそこで切断する酵素を使うと右上のDNAは3つの断片に切断されます。右下の個体では左のAGCTがCGCTになっていたとすると酵素はもはやこの配列を認識できないため、断片は2つになってしまいます。このように制限酵素を使うことによってDNA塩基配列の一部で生じた差異を簡便に検出できます。



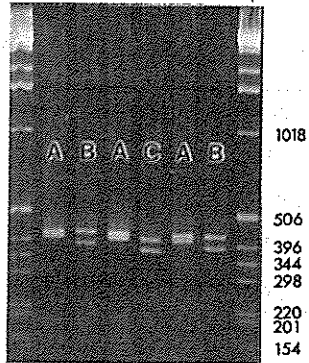
このように、遺伝的多型をマーカーにして、個体をタイプ分けしてゆきます。そしていろいろな海域の標本でどのタイプがどれくらい存在するかを算出し、標本間でその頻度に差異があるのかないのかを検討します。

実際の応用例

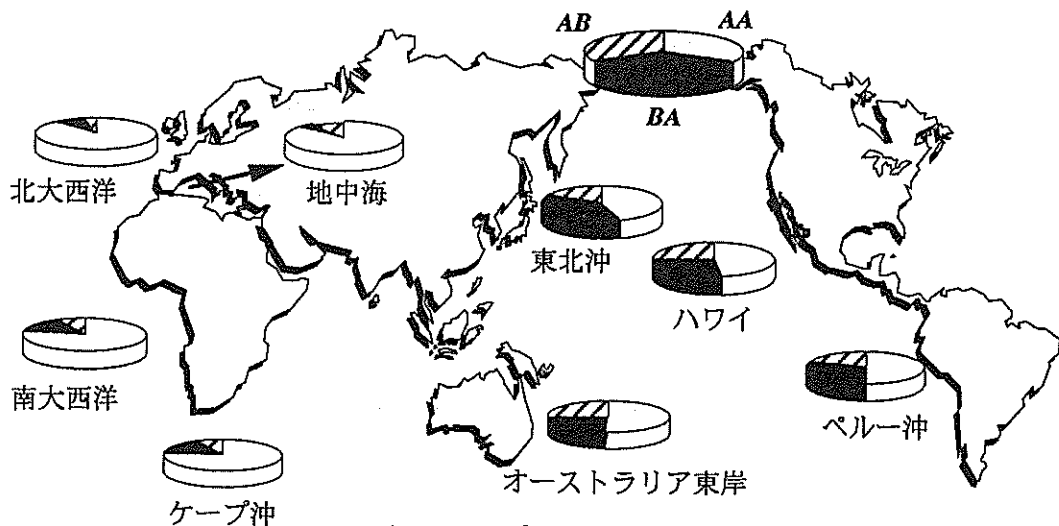
系群解析



ピンナガのミトコンドリアDNAの一部を2種類の制限酵素で切断したパターンを左図に示しました。2種類の制限酵素を用いたところ7種類のタイプに分けることができました。そのうち主要な3つのタイプ(AA, BA, AB)の頻度について各海域標本の比較検討を行いました。

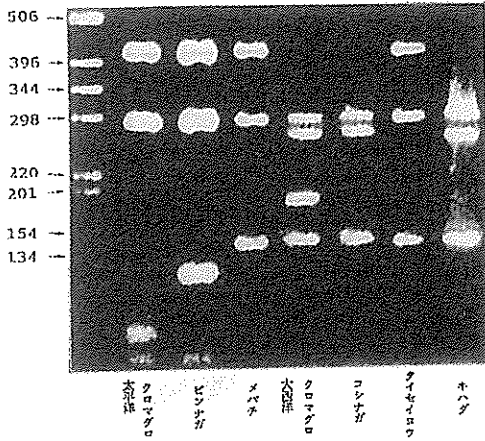


太平洋では実際には11標本の調査をしましたが簡単に4標本をここには示しました。黒で示されるBAタイプが太平洋では多い一方、大西洋では少ないことがわかります。白で示したAAタイプは大西洋で多いことも特徴的な差異です。このように太平洋と大西洋間で大きな差が見られ、これら大洋の個体群間には遺伝的交流がないものと考えられます。しかし、大洋内では南北差が検出できませんでした。これが本当なのかあるいは検出能力の問題なのかは、今後の検討課題です。

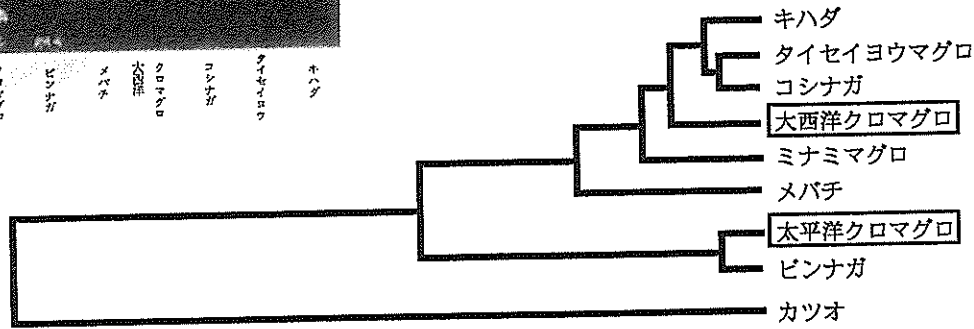


ピンナガの各海域標本におけるミトコンドリア遺伝子型頻度の比較

種判別への応用

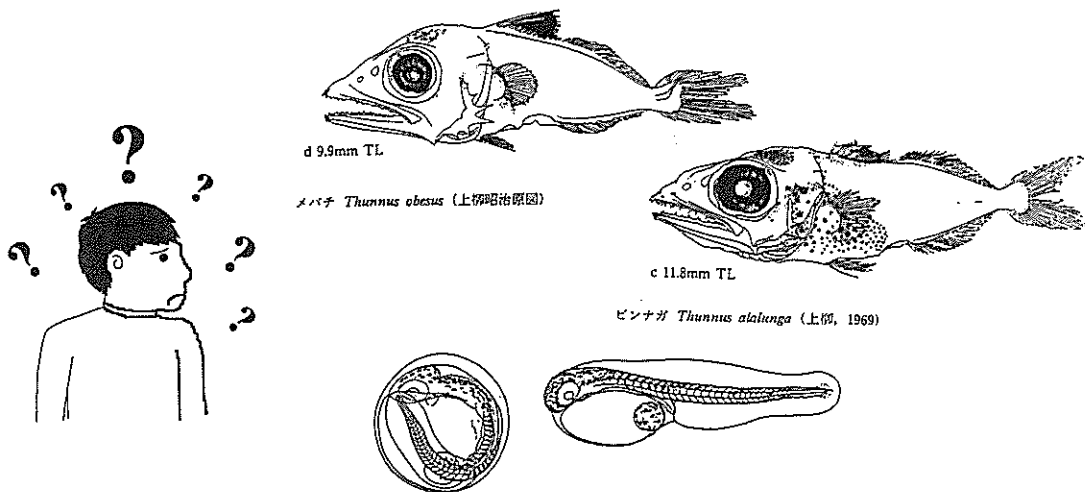


同じように制限酵素を利用して種間の差異も検出できます。左にその一例を示しました。これはある1種の制限酵素によって検出された種間での差異ですが、3種類の制限酵素を使うことにより、マグロ全種の判別が可能になりました。

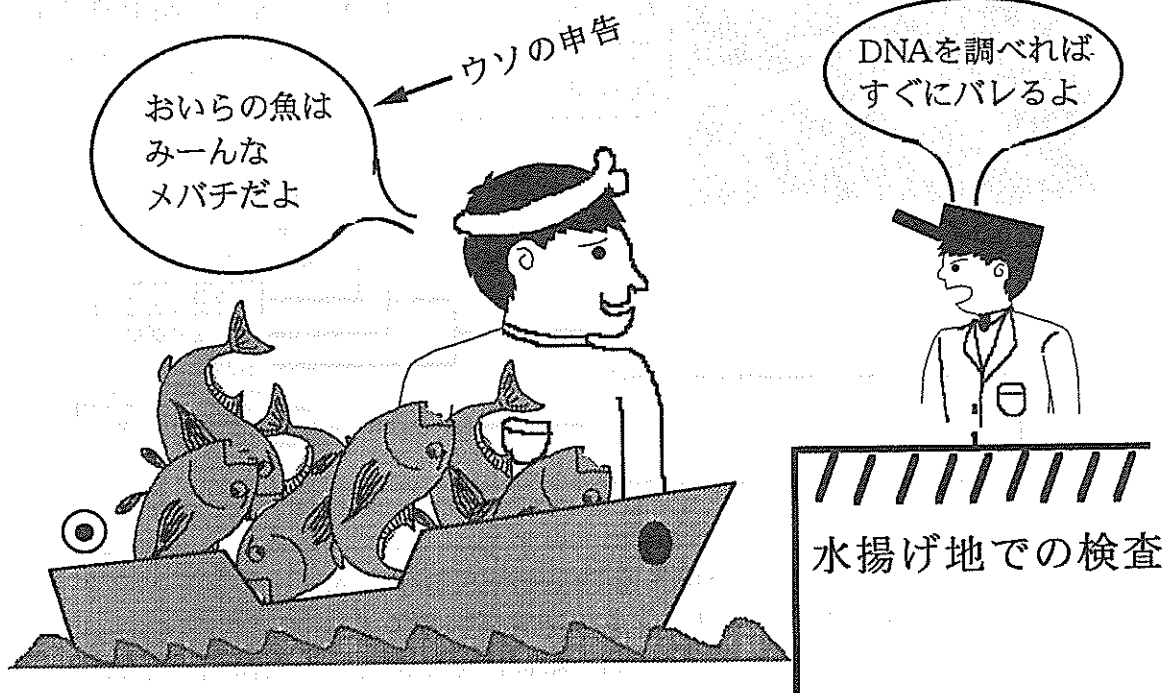


面白いことに、同種あるいは亜種とされている大西洋と太平洋のクロマグロはミトコンドリアDNAでは亜種どころか完全に別種であるという結果が得られました。もっと詳しく検討するために塩基配列を決定して類縁関係を調べて見ると、上図に見られるように大西洋クロマグロは太平洋クロマグロよりもむしろキハダやミナミマグロに近いという結果が得られました。この問題は今後、核遺伝子をさらに調査し決着をつけなければいけません。

形態では区別の難しい段階、例えば卵稚仔期でもDNA分析によって、種を判別することが可能になりました。

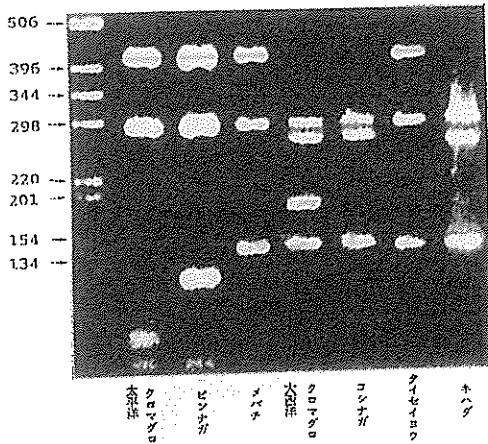


以上のような資源生態研究のためばかりでなく、最近では高価なクロマグロを別種と偽って違法に持ち込むケースも出てきました。このような不法行為を防ぐためにも簡便な種判別法としてDNA分析が応用されようとしています。

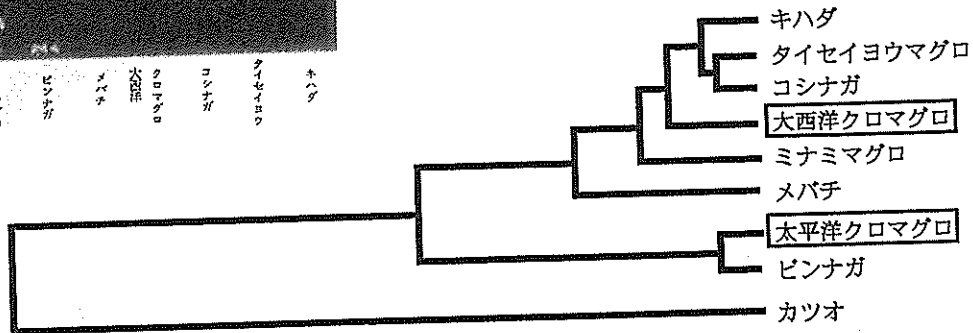


ここではごくオーソドックスな手法を紹介しましたが、分析手法にはまだまだ沢山ありしかも日進月歩の速さで進歩しています。マグロ類では今のところ大洋間での差異が検出されていますが、大洋内で系群の存在が証明されたものはありません。しかし、分析手法の進歩によって以前には検出できなかったような微妙な差異が今後明らかにされてゆくケースも多くなってゆくものと考えています。

種判別への応用



同じように制限酵素を利用して種間の差異も検出できます。左にその一例を示しました。これはある1種の制限酵素によって検出された種間での差異ですが、3種類の制限酵素を使うことにより、マグロ全種の判別が可能になりました。



面白いことに、同種あるいは亜種とされている大西洋と太平洋のクロマグロはミトコンドリアDNAでは亜種どころか完全に別種であるという結果が得られました。もっと詳しく検討するために塩基配列を決定して類縁関係を調べて見ると、上図に見られるように大西洋クロマグロは太平洋クロマグロよりもむしろキハダやミナミマグロに近いという結果が得られました。この問題は今後、核遺伝子をさらに調査し決着をつけなければいけません。

形態では区別の難しい段階、例えば卵稚仔期でもDNA分析によって、種を判別することが可能になりました。

