

# 遺伝子から見たゲンジボタルの地理的分布

武部 寛\*・吉川貴浩・井出幸介\*・窪田康男\*・草桶秀夫（福井県福井市）

## 1. はじめに

近年、自然環境が破壊され、ゲンジボタルの棲みかである小川のせせらぎや暗闇が少なくなり、ゲンジボタルは次第に減少している。の異なった集団の遺伝子の混入も心配される。ゲンジボタルの地域間による遺伝的変異を調べることは、ゲンジボタルの保護活動を行うとともに、地域固有のゲンジボタルの遺伝子また、人為的な放流などにより、他地域からを保存するためにも欠かせないものであると考える。DNA（遺伝子）の塩基配列から遺伝的な分化を探る場合、ミトコンドリア内のDNAは、母系遺伝をするので系統的に先祖をたどることが可能であり、核内のDNAに比べて突然変異率が数倍高いことなどの特徴もっている。

そこで、本研究では全日本の地域間のゲンジボタルの遺伝的変異を調べるため、ミトコンドリアDNAにコードされているND5（NADH脱水素酵素サブユニット5）遺伝子の塩基配列を解析し、それに基づく地理的分布図を作成した。

## 2. 実験方法

全国84ヶ所のゲンジボタルは、ホテル研究会会員の方々から提供され、99.5%エタノール中に保存した。ゲンジボタルからのTotal DNAの単離は、DNeasy Tissue Kit(QIAGEN社製)を用いて行った。単離したTotal DNAを鋳型として、PCR法によってND5遺伝子を増幅したのち、得られたPCR産物をPEG沈殿によって精製した(中山, 1998)。次に、PCR産物を鋳型としてシーケンス反応後、反応物を精製し、ABI PRISM 310 Genetic Analyzer(PE Biosystems社製)を用いて、塩基配列を決定した。決定した配列は遺伝子タイプ別に分類し(Mukai *et al.*, 1997)、系統樹作成ソフトMEGA(Molecular Evolutionary

Genetics Analysis)を用いて系統樹を作成した(根井, 1996; 宮田, 1998; 木村, 1984)。作成した系統樹に基づき、全日本地域における遺伝子群の分布図を作成した。

## 3. 結果および考察

北海道を除く84ヶ所の地域から、248個体のサンプルのTotal DNAを単離した。基本的に、一ヶ所で3個体のTotal DNAを単離した。単離したTotal DNAはアガロースゲル電気泳動分析によって20Kbp付にDNAに基づくバンドが確認された。単離したTotal DNAを鋳型としてPCR法によってND5領域を増幅した結果、約1000bp付近に、ND5遺伝子に基づく単一のバンドが確認された。

精製したPCR産物を用いてシーケンス反応を行い、Genetic Analyzerによって塩基配列を909塩基の配列を決定した。決定した配列を遺伝子タイプ別に分類したところ、88タイプに分かれた。

分類した配列から、系統樹作成ソフトMEGAを用いて系統樹を作成した。さらに系統樹を基にして、全日本地域における遺伝子群の分布図を作成した(Fig.1)。その結果、ND5遺伝子に基づく遺伝子タイプは、3つの遺伝子群に分けられることがわかった。すなわち、I群は東北・関東地域、II群は甲信越、東海、北陸、近畿、中国、四国地域、III群は九州全地域であった。これらの3つの遺伝子群は、本州のフォッサ・マグナを境にI群とII群に分かれ、さらに下関を境に本州のII群と九州のIII群に分かれた。本州における遺伝子群の区分は、フォッサ・マグナを境に、発光間隔が、2秒間隔の西日本タイプと4秒間隔の東日本タイプに分けられることと一致した。

3つの遺伝子群の分布は、さらに7つのタイプに分けられた。まず、I群の遺伝子群はさらに2つに分類することができる。すなわ

ち、東北および北関東に分布しているAタイプと、関東のBタイプである。

Ⅱ群の遺伝子群は、新潟から中央構造線を挟んで東海、近畿、中国地方にかけての太平洋側に分布しているCタイプ、甲信越の一部地域にのみ分布しているDタイプ、および、東海、中央構造線を挟んで北陸から近畿中国地方の日本海側に分布しているEタイプの3つに分けられた。甲信越の一部地域で見られるCタイプの遺伝子は、フォッサ・マグナのベルト地帯上にあり、周囲を赤石山脈、八ヶ岳、関東山地で囲まれ、他の地域から隔離されていたため、独自の遺伝子として保存されたものと考えられる。Ⅱ群の中で最も広く分布している東海の一部、北陸、近畿、中国地方のEタイプは、系統樹では3つに分かれたが、他の地域と比較すると遺伝的な距離は近く、分布図では1つのタイプとして示された。

下関を境に本州のⅡ群と九州のⅢ群に分かれたが、境界上にある山口県豊田町からの遺伝子は、Ⅱ群とⅢ群両方のタイプが混在していた。

Ⅲ群の遺伝子群は、九州全域に分布しているFタイプと宮崎県北川町と熊本県下益城郡豊野村上郷地域にのみ分布しているGタイプに分けられた。このⅢ群のGタイプは、中央構造線上に分布した。このようにⅡ群のCタイプとⅢ群のGタイプの遺伝子は、それぞれ

フォッサ・マグナおよび中央構造線上で何らかの遺伝的隔離、もしくは環境の変化があったものと推定される。今後、さらにこの点を明らかにするため、両方の構造線上の遺伝子を詳しく調べることが望まれる。

以上、本研究の遂行によってゲンジボタルの遺伝子分布は地理的環境や生態と密接に関わっていることが明らかとなった。

#### 4. 参考文献

- 中山広樹 1998, バイオ実験イラストレイテッド, 3. pp.13-59. 秀潤社.
- Mukai, T. *et al.* 1997, Multiregional introgressions inferred from the mitochondrial DNA phylogeny of a hybridizing species complex of gobiid fishes, genus *Tridentiger*, *Mo. Biol. Evol.*, 14(12):1258-1265.
- 根井正利 1990, 分子進化遺伝学, pp.247-287. 培風館.
- 宮田 隆 1998, 分子進化. 共立出版.
- 木村 資生 1984, 分子進化学入門. 培風館.

#### 謝 辞

ゲンジボタルをご提供いただいた全国ホタル研究会会員の方々に感謝いたします。

---

\* 福井工業大学大学院工学研究科応用理化学専攻バイオテクノロジー研究室

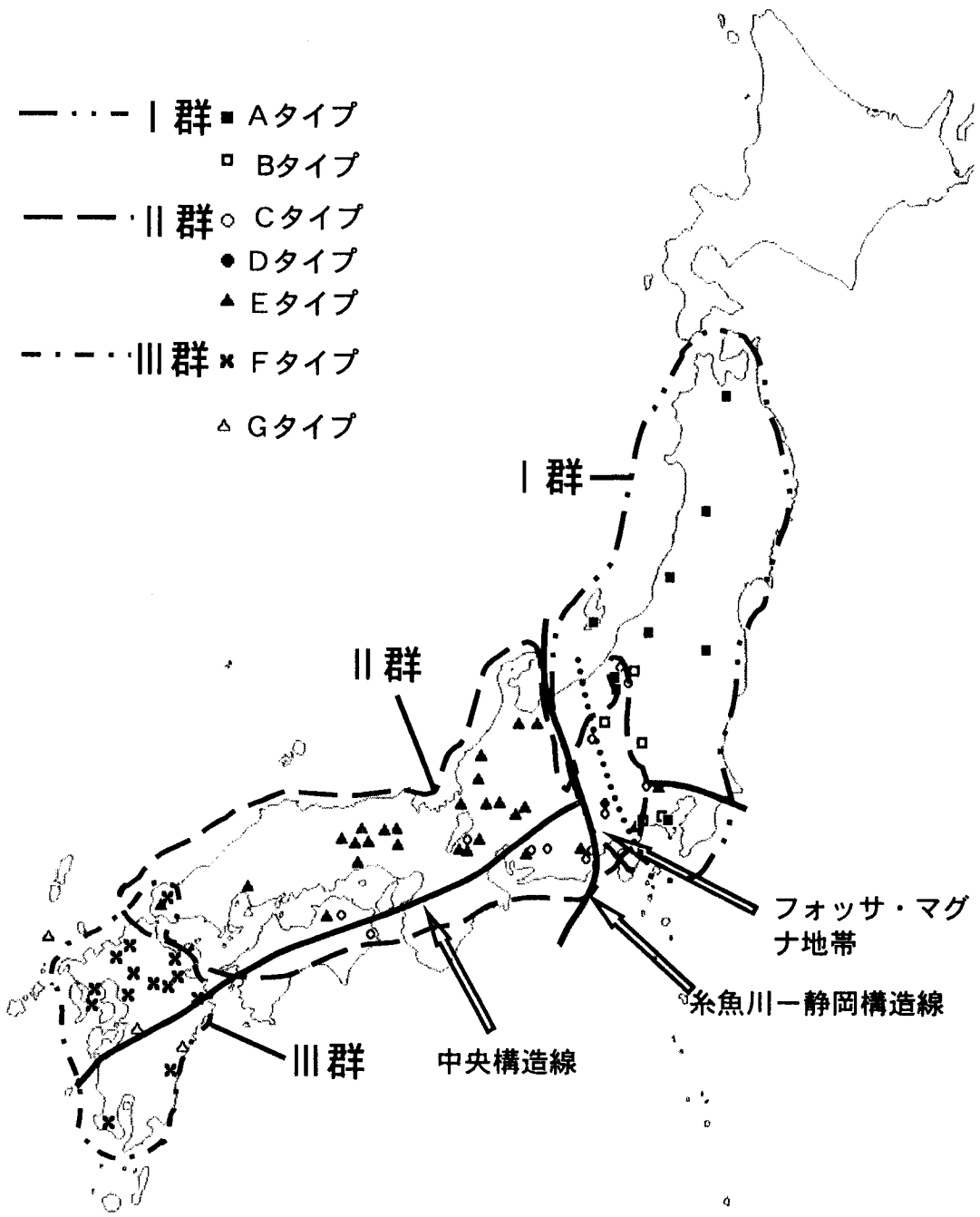


Fig. 1 ゲンジボタルの遺伝子群の地理的分布