

浮遊性カイアシ類 *Neocalanus cristatus* の
分子生物学的手法を用いた地理的変異の解析(群集遺伝学的解析)

(仮題)

(卒業研究中間発表)

Neocalanus cristatus は主に北太平洋亜寒帯域と、隣接するベーリング海、オホーツク海、日本海に出現する大型植食性カイアシ類の一種である。*N. cristatus* は、*N. plumchrus/flemingeri*及び*Eucalanus bungii*と共に表層における動物プランクトンバイオマスの80~90%を占めることが知られ、表層性浮魚類、鯨類、海鳥類の重要な餌資源として、これらの海域の海洋生態系での一次生産とこれら高次栄養段階生物の生産を繋ぐ重要な役割を担っていると考えられている。本種は分布海域により、頭胸長に変異が見られることが報告され、その要因としては水温、餌濃度あるいは遺伝的形質が考えられている。近年、体サイズが遺伝的に決定されているという仮説を検証する目的で、本種の18S rRNA領域、及び16S mtDNAの塩基配列の解析がなされたが、解析した個体数が十分ではなく、顕著な地理的変異を充分検証するには至っていない。本研究では16S mtDNAを用いて本種の地理的変異を詳細に解析するための基礎として、各海域ごと10個体について16S mtDNAの部分塩基配列を解析し、個体群内における変化を調べることを目的に行った。

分析にもちいた*N. cristatus* (すべてC5期)は1996年6月から9月にかけて北太平洋、オホーツク海で双子型ノルパックネットによる水深0-150mからの鉛直曳きにより採集し、95%エタノールで保存したものである。試料は蒸留水に一晩保存し脱エタノールした後、1.5mlエッペンチューブに移した。これに蒸留水100µlを加えすりつぶした後、5% chelexを加え、56、100℃下でDNAを抽出した。このDNA溶液を鋳型としプライマー16S arLと16S CBを用いて16S rRNA遺伝子の410bp領域をPCR反応により増幅した。その増幅産物をDNA Purification Systemを用いて精製し、アガロースゲル電気泳動でDNA断片の定量を行った。DNA量を10ngに調整しシーケンス反応を行い精製後ABI Prism 310 Genetic Analyzerで塩基配列の決定を行った。

現在までに、8定点から39個体について225~304bpの塩基配列を決定した。それに以前の研究(谷口2002;阪本2003)で決定されている57個体の塩基配列データを加え、ハプロタイプ(遺伝的変異型)について解析を行った。供試個体の88%はHaplotype Aを示した。また、ベーリング海で2個体、アラスカ湾のStation. PではHaplotype Bが存在した。オホーツク海、中部北太平洋亜寒帯北部で1個体ずつHaplotype Cが存在した。また、変異の割合は最大で0.8%だった。今後はすべてのサンプルの解析を終了させるとともに、ハプロタイプの地理的変異と頭胸長の関係などを考察する予定である。

立花 静華

次回(11/28)金沢さんと横倉さんをお願いしています。