



研究の背景と目的

ミトコンドリアDNA(mtDNA)は細胞小器官であるミトコンドリアに存在し、母系遺伝の特徴を有する。ニホンジカの群れは一般的にメスが中心となって生活する傾向にあり、生まれた場所から離れることは少ない。よって、mtDNAを調べることによって個体間の母系系統の違いや集団構造、さらには地域ごとの遺伝的多様性を明らかにすることができる。特にニホンジカのようにメスが生まれた場所にとどまりやすい種では、mtDNAの解析を通じて、各地域に定着した母系系統の分布や過去の分散パターンを推定することが可能である。これにより、生息地間の遺伝的な隔たりや集団の成立史を把握し、種の保全や管理方針の立案にも役立てることができる。

研究・調査方法

本研究では、群馬自然史博物館から提供してもらったニホンジカの肉片サンプルからDNA抽出・PCR解析を行った。DNA抽出では、鹿の筋繊維を切り取った後、筋繊維を溶解し分解、専用の加圧機を用いて純DNAを抽出した。PCR解析では、抽出したDNAにPCR反応溶液を添加し、サーマルサイクラーにてDNAを増幅した。さらに、電気泳動によって各サンプルのPCR産物の大きさを決定した。大きさを決定した後、サンプルが捕獲された場所を明らかにし、場所・地形による変化があるかを調べた。今回は計48サンプルのニホンジカを調べ、VM18-32,61は欠番であったため計46サンプルの捕獲場所を地図に示した。また、本研究ではミトコンドリアの中で進化速度が早く、個体差を検出しやすいD-loopという領域を用いて解析を行った。PCR解析の際、LD5とHD2のプライマーを使用し約700bpのDNAを検出した。D-loopには、39bpまたは38bpを一つの単位とした「繰り返し配列(tandemly repeated units)」がある。シカは、39bpを一つの単位とする6~9繰り返し配列を持ち、繰り返し配列の数の違いはPCR産物の大きさの差を示す。よって、PCR解析した48サンプルのPCR産物の大きさの差を知ることができた。

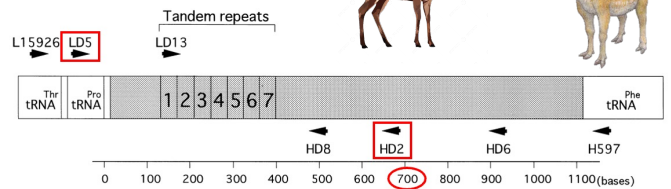
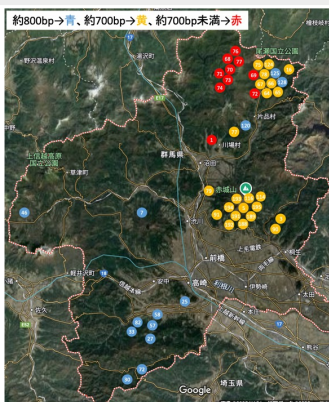


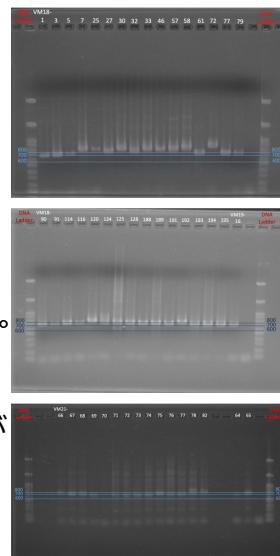
Fig. 1 Schematic diagram of the mitochondrial DNA D-loop region (shaded boxes) of the sika deer. Numbers 1-7 indicate tandemly repeated units (38 or 39 bp each). Arrows show the positions of primers used for amplification and/or sequencing.
1~7の番号は、タンデムリピートユニット(38または39bp)を示す

結果と考察



これから

約800bp(青)の個体は群馬県の西部に多くみられ、約700bp、700未満bp(黄・赤)は東部にみられ、西部では確認できなかった。これは、西の関東山地と東の日光、赤城山との間にある平野を境にPCR産物の大きさに変化があると考えられる。特に、赤城山や尾瀬付近のサンプル(黄)と群馬南西のサンプル(青)では約120bpの差がある。これは $120\text{bp} \div 39\text{bp} \div 3$ により、3個分の繰り返し配列の差があるとも言える。よって、同じ県でも地域によって、ミトコンドリアDNAには明らかな違いがあり、母系統は大きく違うという結果が得られた。東部で約800bp(青)の個体が確認されているが、これは集団同士で交流があったもしくは、西部で確認された個体とは塩基配列が違う可能性がある。



今回の研究では、PCR産物の大きさまで調べることができた。今後、塩基配列を調べ系統樹を作成することでさらに細かい集団遺伝の違いを明らかにすることができる。また、群馬県に隣接している地域に調査を拡大することで、近年増加傾向である都市・住宅街に出没したニホンジカの生息地、移動経路を知ることができると考えられる。これにより、ニホンジカによる農作物などへの被害・人との事故を軽減することに繋がる。