

シダ植物標本を用いた DNA バーコーディング

猪瀬礼璃菜 (福島大学大学院共生システム理工学研究科)

黒沢高秀・兼子伸吾 (福島大学共生システム理工学類)

名前を知らない種の種名を調べる方法として、形態や生態的な特徴からではなく、生物が持つ DNA の塩基配列から種名を調べる方法が DNA バーコーディングです。植物では葉緑体 DNA の *trnH-psbA* 遺伝子間領域が利用されますが、この領域には種内変異が存在することが知られています。種内変異のデータを蓄積し、多くの種において変異を明らかにすることで DNA バーコーディングの有効性や遺伝的な多様性を明らかにすることが期待されます。

福島大学共生システム理工学類生物標本室 FKSE (以下、FKSE) には、古い標本や近年採集されていない標本も多数収蔵されています。DNA 解析に標本を使用することで多数のデータを蓄積することが可能と考えられますが、古い標本からは DNA 情報はどのくらい得ることが可能でしょうか。本研究では、FKSE に収蔵されている、1927 年から 2015 年までに採集されたシダ植物標本 294 種 3,585 枚から、会津地方北部で採集されたシダ植物標本 98 種 515 枚を選び出し、標本の作製年と PCR 成功率の関係を明らかにするとともに、遺伝的な多様性を把握することを目的として DNA 解析を行いました。

選び出したシダ植物標本 98 種 515 枚から *trnH-psbA* 遺伝子間領域の解析を行った結果、76 種 (77.6%)、355 枚 (68.9%) の PCR 増幅が確認されました (図 1)。30 年以内に作製された標本の PCR 成功率は平均 86.6% であり、ほとんどのサンプルで PCR 増幅が確認されました。その一方で、30 年より前に作製された標本の PCR 成功率は平均 20.4% となりました。30 年以内に作製された標本においては塩基配列を取得できる可能性が高いと考えられます。

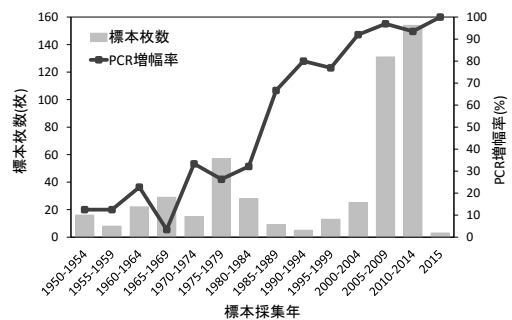


図 1. FKSE に収蔵されている会津地方北部で採集されたシダ植物標本枚数と、PCR 成功率の推移。

種内変異を把握するために、本研究で得られた配列と多くの DNA 情報が登録されている DDBJ (DNA Data Bank of Japan) に登録されている配列データが 10 サンプルを超える 12 種について種内変異の有無を確認したところ、11 種において種内変異が確認されました。1 種あたりの配列のパターンの数は、1~5 確認されました。ヒカゲノカズラ (*Lycopodium clavatum* L.) (図 2) においては、明確に異なる複数の配列が存在することが明らかとなり、会津地方北部には少なくとも 2 種存在する可能性があります。今回用いた *trnH-psbA* 遺伝子間領域では多くの種で種内変異が存在し、データを蓄積することで種内変異を明らかにできるばかりでなく、*trnH-psbA* 遺伝子間領域は遺伝的な多様性を把握するうえで有用な領域であると考えられます。



図 2. ヒカゲノカズラの標本 (FKSE 66011)