

ニホンザリガニのPCRプライマーの検討と環境DNAの調査

○河田晃和, 佐藤朱玖, 浅利快音, 柏木太智, 阿部梨紅, 乳井千恵, 巻心優, †肥田宗友
(秋田県立大館鳳鳴生物部)

【目的】

近年、水棲生物の分布把握に環境DNA分析が活用されている。しかし、Kousukeら(2016)⁽¹⁾の調査では、生息地でのDNA検出率は12.5~50%であった。そこで私たちは環境DNAの検出率を上げ、環境DNAの分析を行うことを目的に研究を行った。

【材料および方法】

ニホンザリガニの組織、及び飼育水から抽出したDNAを鋳型とし、表1のプライマーを用いてPCR法を行った。その後、最も目的サイズのDNA断片を増幅できたプライマーで、生息地、及び生息が確認されていない水系で環境DNAの分析を行った。

【結果】

組織、飼育水ともに図1のように先行研究のプライマー(1)より私たちが設計したプライマーの方が明瞭なDNAバンドが検出された。プライマー(2)では最も明瞭なバンドが確認された。それを用いて大館市内の生息地で採水し、PCR法を行った結果、DNA断片の増幅が確認された。さらに、青森県で採水し、同様に分析したところ、生息未確認地でもDNA断片の増幅が確認できた。

【考察】

結果より、調査回数は少ないが、検出率が100%であったことから、先行研究より増幅効率の良いプライマーを設計できたと考えられた。また、青森県の生息未確認地でDNA断片が増幅されたことから新生息地発見が示唆された。しかし本当にニホンザリガニのDNA断片が増幅したかは判断できなかったため、採集を通し確認する必要がある。

表1 プライマー一覧

| プライマー名 | 概要 |
|----------|----------------------------|
| プライマー(1) | 先行研究で利用 ⁽¹⁾ |
| プライマー(2) | 自作プライマー |
| プライマー(3) | |
| プライマー(4) | |
| プライマー(5) | |
| プライマー(6) | 十脚甲殻類のプライマー ⁽²⁾ |

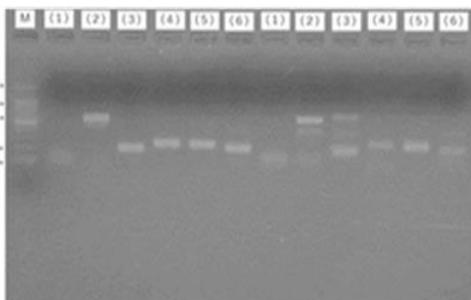


図1 電気泳動の結果

左半分は組織、右半分は飼育水から抽出したDNAを鋳型とした。(1)~(6)までは表1のプライマーと対応している。

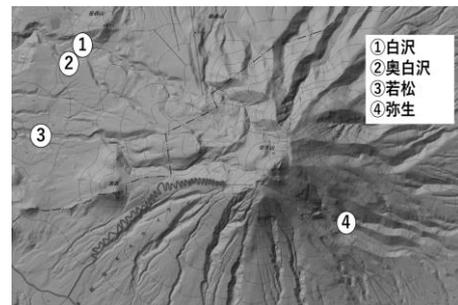


図2 青森県の調査場所

岩木山付近で実施した。①白沢④弥生で新生息地発見が示唆された。

【参考文献】

- (1) *Conservation Genet Resour.*8, 231-234, 2016.
- (2) *Metabarcoding and Metagenomics*, 3 : p 1-19, 2019