短 報

DNA フィンガープリント法による
クローンヒラメの解析^{*1}原 素 之, 出羽厚二, 山本栄一
(1992 年 11 月 9 日受付)DNA-Fingerprinting with non-Radioactive
Probe in Clonal Flounder
*Paralichthys olivaceus*Motoyuki Hara,^{*2} Koji Dewa,^{*3}
and Eiichi Yamamoto^{*4}

Jeffreys ら¹⁾によって開発された DNA フィンガープリント法は、魚類のクローン解析や遺伝的均一性の検討に有効であることが報告されている。^{*5,*6} これらの報告では、特定の DNA 配列を検出するとき放射性同位元素³²P でラベルした標識プローブを用いるため、特別の施設や管理が必要であり、汎用性に欠けるという難点があった。そこで、最近開発された放射性物質を使用しない cold 法の DNA フィンガープリント法²⁾を用いてヒラメで作出されたクローンについて遺伝的均一性の検討を行った。

分析に用いたヒラメは、1 個体の通常雌に由来し、第 1 卵割阻止により雌性発生した 2 倍体雌から得られた雌と雄の交配によって作出したヒラメ (クローンヒラメ) 4 個体である。また、対照として通常雌雄を親魚とする通常発生 2 倍体の人工種苗ヒラメ 5 個体を用いた。クローンヒラメの作出の詳細については別途報告の予定である。既報の方法^{*7}に従い、ヒラメの血液からゲノム DNA を抽出し、制限酵素 *Hae*III で DNA を切断した。DNA 断片を 1.3% アガロースゲル電気泳動により分離し、メンブランフィルターにブロットした。Myo プローブをペルオキシターゼで標識した後、標識プローブをメンブランフィルター上の DNA にハイブリダイズさせた。標識プローブのルミノール反応により高感度フィルムに感光させ、DNA フィンガープリントを得た。

Fig. 1 にクローンヒラメと人工種苗ヒラメの DNA フィンガープリントを示した。クローンヒラメでは分析した 4 個体すべてで 2.3 Kb より長い DNA バンドが 20 本認められた。人工種苗ヒラメ 5 個体では 25 本から 28 本と個体によってバンド数が異なっていた。さらに、人工種苗ヒラメの個体間ではどの個体においても同一の電気泳動パターンを示さなかった。しかし、クローンヒラメ 4 個体では 20 本全てのバンドの電気泳動の位置が同一であった。このことは、クローンヒラメでは DNA の塩基配列が非常に高い確率で同じであることを示している。韓ら^{*5}が報告している DNA フィンガープリントの遺伝的類似度指数を求めた結果、人工種苗ヒラメが 0.11 から 0.30、平均で 0.24 であったのに対してクローンヒラメが 1.0 であった。すなわち、人工種苗ヒラメはクロー

Fig. 1. DNA fingerprints of clonal and artificial seeds of flounders *Paralichthys olivaceus*. Genomic DNA was digested by *Hae* III and was hybridized with non-radioactive myo-probe labelled peroxidase complex.

ンヒラメより明らかに遺伝的類似度が低かった。

以上のことから、DNA フィンガープリント法は個体間の遺伝的識別やクローン解析に有効であることが示された。さらに、今回の DNA フィンガープリント法は標識として放射性同位元素を使用しないことから、汎用性の高い方法であり、ヒラメに限らずいろいろの魚類への応用が極めて高いと考えられる。

文 献

- 1) A. J. Jeffreys, V. Wilson, and S. C. Thein: *Nature*, **314**, 67-73 (1985).
- 2) 内藤美美子: 実験医学増刊, **9**, 1092-1097 (1991).

*1 日本海区水産研究所業績第 9203 号。

*2 日本海区水産研究所 (Japan Sea National Fisheries Research Institute, Niigata 951, Japan).

*3 新潟大学医学部 (School of Medicine, Niigata University, Niigata 951, Japan).

*4 鳥取県水産試験場 (Tottori Experimental Fisheries Station, Tomari, Tottori 688-06, Japan).

*5 韓 炫燮, 万年英之, 谷口順彦: 平成 4 年度日水会春季大会要旨集, 176 (1992).

*6 藤川真規, 中山一郎, 中西照幸, 小野里直: 平成 4 年度日水会中部支部大会要旨集, 3 (1992).

*7 原 素之, 出羽厚二: 日水研報 42 (投稿中).