

レバノンシーダーの *rbcL* 遺伝子の塩基配列

九州大学農学部 渡辺 敦史・白石 進

## 1. はじめに

ヒマラヤスギ属 (genus *Cedrus*) は、ヒマラヤ西部にヒマラヤスギ (*C. deodra*)、西アジアにレバノンシーダー (*C. libani*)、キプロス島にキプロスシーダー (*C. brevifolia*)、アフリカ北部にアトラスシーダー (*C. atlantica*) の4種が分布している<sup>1)</sup>。このうち、レバノンシーダーは古来より宮殿や船の建築材として利用され、メソポタミア文明やエジプト文明の繁栄を支えた<sup>2)</sup>。現在では、庭園木として日本だけでなくヨーロッパ、アメリカ等の世界各地で植栽されている。

かつては西アジアで広大な森林を形成したレバノンシーダーも、文明の繁栄に伴う伐採のため天然林が非常に少なくなり、現在ではレバノン山、タウルス山でわずかに自生しているのみである<sup>3)</sup>。

最近、DNA レベルから系統進化や分類を研究する DNA 分類学・系統学が盛んである。特に、葉緑体 DNA 上にコードされている *rbcL* 遺伝子は多くの植物種で塩基配列が決定されてきた<sup>4)</sup>。現在までに蓄積されたデータベースは植物の系統進化を考察する上で多大な貢献をしている<sup>5)</sup>。

本研究では、レバノンシーダーの *rbcL* 遺伝子の塩基配列を決定し、すでに報告されているヒマラヤスギの *rbcL* 遺伝子の塩基配列と比較した。

## 2. 材料と方法

供試個体として、京都府立植物園の植栽木を用いた。

全 DNA 抽出は既に報告している方法に従って行った<sup>6)</sup>。得られた全 DNA を鋳型として *rbcL* 遺伝子の一部 (1,309bps) の PCR 増幅を行った。用いたプライマー組合せ、PCR 反応液組成および反応条件については既に報告している方法に従った<sup>7)</sup>。この PCR 増幅産物は GENECLEAN III (Bio101) で精製後、0.5 $\mu$ g/ml に調製した。この DNA を鋳型として、さらに nested PCR を行った<sup>8)</sup>。nested PCR 後、各増幅産物は 1.5% アガロースゲルで電気泳動した。電気泳動を 1 時間行った後、各断片をゲル

から回収し、QIAEX II (QIAGEN) で精製した。各断片は 10  $\mu$ g/ml に調整した。この 3 断片を鋳型 DNA として、Auto Sequencer Core Kit (東洋紡) を用いてシーケンシング反応を行い、自動蛍光シーケンサー (ALF red DNA Sequencer, Pharmacia) により塩基配列を決定した。

すでに報告されているヒマラヤスギの *rbcL* 塩基配列は GENBANK から検索し、利用した (Accession number: X63662)。

## 3. 結果と考察

レバノンシーダーの *rbcL* 遺伝子の塩基配列 (1,309 bps) と同属のヒマラヤスギの塩基配列を比較した結果を図 1 に示した。2 種の配列間で観察された塩基置換は 2 塩基であった。2 塩基の置換のうち、コドンの第 1 ポジション、第 2 ポジションでそれぞれ 1 塩基の塩基置換が観察された。しかし、最も中立突然変異に近いと考えられる第 3 ポジションでは 2 種間で差異は認められなかった。

2 種間で観察された塩基置換はいずれも非同義置換であった。レバノンシーダーでは 234 番目の塩基が C であるのに対しヒマラヤスギでは G であることから、対応するアミノ酸がレバノンシーダーではトレオニン、ヒマラヤスギではセリンであった。また、743 番目の塩基が変化することで、レバノンシーダーではイソロイシンをコードするのに対し、ヒマラヤスギではバリンとなる。

これまでヒマラヤスギ属内の種を分類する上で指標となってきた最も有用な形態形質の一つは球果である。例えば、ヒマラヤスギの球果は卵形または長卵形で大型であるのに対し、レバノンシーダーでは卵球形または楕円形でやや小型である<sup>9)</sup>。本研究の結果から、レバノンシーダーとヒマラヤスギの 2 種間には *rbcL* 遺伝子の塩基配列上に差異が存在し、両種の分類または識別を行う上で、有効な領域であることが明らかとなった。

謝辞

供試材料の収集に当たり、京都府立植物園にご便

宜を図って頂きました。この場をお借りして厚く御礼申し上げます。

引用文献

(1) 朝日新聞社:朝日百科 世界の植物, 9巻, 1978  
 (2) CHASE, M. W. et al:Ann. Missouri Bot. Gard. 80: 528-580, 1993  
 (3) GIELLY, L. and TABELLET, P.: Mol. Biol. Evol. 11(5),

769-777, 1994

(4) 杉本順一:世界の針葉樹, pp.302, 井上書店, 東京, 1986  
 (5) 白石進ほか:日林誌, 78, 175-182, 1996  
 (6) 白石進・渡辺敦史:日林誌, 77, 429-436, 1995  
 (8) 朝日新聞社:週間朝日百科 植物の世界, 129号, 1996

<i>C. libani</i>	TAAAGATTAC	AGATTAACCT	ATTATACTCC	TGAATATCAG	ACCAAAGATA	CGGATATCTT	GGCAGCATTC	CGAGTAACTC	80
<i>C. deodra</i>	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	CTCAACCTGG	GGTGCCACCC	GAGGAAGCGG	GAGCAGCAGT	AGCTGCTGAA	TCTTCCACCG	GTACATGGAC	CACTGTTTGG	170
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	TTACTAGTCT	TGATCGTTAC	AAGGGGCGAT	GCTATGACAT	CGAGCCCCTT	CCTGGAGAGG	AGACTCAATT	TATTGCCTAT	260
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	CCTTAGACCT	TTTCGAAGAA	GGTCTGTTA	CTAACTTGTT	CACTTCCATT	GTAGGTAATG	TATTTGGATT	CAAGGCCCTA	350
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	GTTTGGAGA	TTTGGGATT	CCCCTGCTT	ATTCCAAAAC	ATTTCAAGGT	CGGCCTCATG	GTATCCAAGT	TGAAAGAGAT	440
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	AATATGGCCG	TCCTTTGTTG	GGATGACTA	TCAAACCAA	ATTGGGTCTA	TCGGCTAAAA	ACTATGGTAG	AGCAGTTTAC	530
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	GTGGTGGACT	TGATTTTACC	AAGGATGATG	AGAACGTAAA	TTCCCAACCA	TTCATGCGCT	GGAGAGATCG	TTTTGTCTTT	620
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	CAATTTATAA	GGCTCAGGCT	GAGACGGGTG	AAATTAAGGG	GCATTACTTG	AATGCTACTG	CAGGTACATG	TGAAGAAATG	710
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	CAGTCTTTGC	AAGAGAATTG	GGAGTTCCTA	TCATCATGCA	TGACTATTTG	ACGGGAGGTT	TTACCGCAA	TACTAGTTTG	800
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	GCCGAGACAA	CGGCCTACTT	CTTCACATTC	ACCGCGCGAT	GCATGCAGTT	ATTGACAGAC	AAAGAATFCA	TGGTATGCAT	890
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	TGGCTAAAGC	ATTCCCGATG	TCCGGTGGAG	ATCATAITCA	CGCCGCTACT	GTAGTAGGTA	AACTTGAAGG	GGAACGAGAT	980
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	GATTTGTGAT	CTACTGCGT	GATGATTTTA	TCGAAAAAGA	TCGAAGTCGT	GGTATTTACT	TCACTCAAGA	TTGGGTATCT	1070
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	TTTGGCCCGT	AGCTTCAGGA	GGTATTCACG	TTTGGCATAT	GCCTGCTCTG	ACCGAGATCT	TTGGGGATGA	TTCCGFACTA	1160
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	GGGGAACCTT	GGGACACCCT	TGGGGAATG	CACCTGGTGC	AGTAGCTAAT	CGGTTGCTC	TAGAAGCTTG	TGTACAAGCT	1250
	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	.....	
	GACGTGATCT	TGCTCGTGAA	GGTAATGAAG	TGATCCGTGA	AGCTAGTAAA	TGGAGTCCT			1309
	.....	.....	.....	.....	.....	.....			

図-1 レバノンシーダーとヒマラヤスギの *rbcl* 遺伝子塩基配列における比較