

フタバガキ科植物における葉緑体遺伝子 *petA* の塩基配列

九州大学農学部 西山 和美・白石 進

1. はじめに

フタバガキ亜科 (*Dipterocarpoideae*) は 13 属約 470 種で構成されており、大部分のフタバガキ科植物が含まれている。このフタバガキ科は東南アジアを中心に分布しており、1種のみインド洋のセーシェル諸島に分布している¹⁾。このフタバガキ科の系統進化については形態学・木材解剖学・DNA分類学といった諸分野から検討されている^{2,3,4)}が、現在までに定説は得られていない。

本研究では、フタバガキ科植物の系統関係を解明するための情報の一つとして、葉緑体 DNA 上にコードされている *petA*(protein cytochrome *f*) 遺伝子の塩基配列を決定した。

2. 材料と方法

供試樹種は東南アジアに分布するフタバガキ科のうち *Anisoptera costata*, *Cotylelobium burckii*, *Dryobalanops beccarii*, *Hopea dyeri*, *Shorea laxa* の 5 属 5 種である。

全 DNA は改良 CTAB 法⁵⁾により抽出した。得られた全 DNA を鋳型として、*petA*(561bps) 遺伝子を PCR 増幅した。用いたプライマーの配列は、

5' - CTTCCCGATACCGTATTTGAAGCA - 3' と

5' - TCTGCATCTCCTTGACCAAATCC - 3' である。

PCR 反応溶液組成及び反応条件については既に報告してある方法⁶⁾に従った。この PCR 産物は 2.0% アガロースゲルで 1 時間電気泳動を行い、各断片をゲルから回収し、QIAEX II (QIAGEN) を用いて精製した。この断片を鋳型 DNA として、Dye Terminator Cycle Sequencing kit (Applied Biosystem) を用いてシーケンズ反応を行い、自動蛍光シーケンズ (Applied Biosystem 373A) で塩基配列を決定した。

3. 結果と考察

フタバガキ科植物 5 属 5 種について *petA* 遺伝子の塩基配列を決定した結果、挿入・欠失はなく、全て同一の塩基配列長 (561bps) であった。5 種の *petA* 遺伝子の塩基

配列を図-1に示した。

塩基置換数や塩基置換率は二つの配列間の違い(進化的距離)を表す尺度となり、分子進化速度の推定や分子系統樹作成の基礎データとなるなど、分子進化的解析において重要なパラメーターである⁷⁾。表-1に *petA* 遺伝子の各樹種間で観察された塩基置換数および 2-パラメーター法⁸⁾により求めたサイトあたりの塩基置換率を示した。各樹種間で観察された塩基置換数の最小値は、*Anisoptera costata* と *Cotylelobium burckii* 間の 1 サイトであり、最高値は *Cotylelobium burckii* と *Hopea dyeri* 間の 11 サイトであった。また、各樹種間の平均塩基置換数は 8.0 サイトであった。各樹種間の平均塩基置換率は、最高値が 2.00、最低値が 0.18、平均値が 1.45 であった。

表-2は、5種の塩基配列上で観察されたコドンの座位別および塩基置換型別の塩基置換数を示している。5種の配列上で観察された塩基置換サイトは 17ヶ所であった。17サイトの塩基置換のうち、コドンの第 1 塩基座位では 5 サイト、第 2 塩基座位では 3 サイト、第 3 塩基座位では 9 サイトが観察され、第 3 塩基座位で最も多くの塩基置換が認められた。さらに塩基置換を転位型・転換型に分けた結果、第 1 および第 3 塩基座位では転位型に比べて転換型の塩基置換が多く観察された。*petA* 遺伝子のアミノ酸置換率は高く、全塩基置換 17 サイトのうち非同義置換は 9 サイトであった。最も中立突然変異に近いと考えられる第 3 塩基座位でも非同義置換は 3 サイトあり、これらはすべて転換型であった。

本研究の結果から、フタバガキ科 5 属 5 種の *petA* 遺伝子の塩基配列について、樹種間の配列上に差異が認められた。*petA* 遺伝子はフタバガキ科植物の系統進化を解明するための情報にできる可能性が示された。

引用文献

- (1) 緒方 健: 週刊朝日百科植物の世界, 78, 181-185, 朝日新聞社, 1995
- (2) ASHTON, P. S.: In Flora Malesiana, ed. C. G. G. J. van Steenis, 9: 237-552, 1982

- (3) SYMINGTON, C. F. : Mal. For. Records 16, 1941
- (4) TUMURA, Y. *et al.* : Theor. Appl. Genet, 93, 22-29, 1996
- (5) 白石進・渡辺敦史 : 日林誌, 77, 429-436, 1995
- (6) 日本生化学編 : 新化学実験講座 16 分子進化実験法, 343-355, 1993
- (7) KIMURA, M : J. Mol. Evol. 16, 111-120, 1980

```

1. Anisoptera costata
2. Cotylelobium burckii
3. Dryobalanops beccarii
4. Hopea dyeri
5. Shorea laxa

```

1100

GTGTTAGAAATTCCTTATGATATGCAACTGAAACAAGTCTTCTTAACGG TAAGAAGGGGGGTTTGAATGTGGGGCAGTCTTATTTTACCGGAGGGGT
.....G.....

101200

TTGAATTAGTCCACCCGATCGCAITTCGCCCGAGATGAAAGAAAAGATA GGCAATCTGTCTTCAGAGCTATCGCCCTACTAAAAAAAATATCTTGT
.....T.....A.....T.....T.....
.....T.....C.....T.....A.....
.....G.....T.....T.....

201300

GATAGGCCCTGTCTCCGTCAGAAATATAGTAAATCACCTTTCCTATTC TTCCCCGAGCCCTGCTACTAATAAGGATGTTTATTTCTTAAATATCCC
.....C.....
.....C.....

301400

ATATACGTAGCCGAAACAGAGGAAGGGTCCAGATTTATCCCGACGGAG CAAAAGTAATAATACAGTTTATATGCTACGTCAGCAGGTATAGTAAGCA
.....C.....
.....C.....

401500

AAATCATACGAAAAGAAAAGGCGGTACGAAATAACCATACGGATGCA GCGGAAGCCCGTCAAGTAGTTGATATTATCCCTCCAGGACCAGACTTCT
.....G.....A.....C.....
.....A.....C.....
.....A.....C.....

501561

CGTTTCGAGGGTGAATCTATCAAACTCGATCAACCATTAAACGAGTAATC CTAATGTAGGT
.....
.....C.....
.....C.....A.....

図-1 フタバガキ科植物の petA 遺伝子の塩基配列

表-1 各樹種間の塩基置換数およびサイトあたりの塩基置換

	1	2	3	4	5
1. <i>Anisoptera costata</i>	-	1	9	10	7
2. <i>Cotylelobium burckii</i>	0.18	-	10	11	8
3. <i>Dryobalanops beccarii</i>	1.63	1.81	-	9	8
4. <i>Hopea dyeri</i>	1.81	2.00	1.63	-	7
5. <i>Shorea laxa</i>	1.26	1.44	1.44	1.26	-

表-2 コドン座位あたりの塩基置換数および塩基置換

コドンの座位	塩基置換数	転位型	転換型
1	5/17	2/5	3/5
2	3/17	2/3	1/3
3	9/17	4/9	5/9

右上段：塩基置換数
 左下段：サイトあたりの塩基置換率（但し数値は×10⁻²を表す。）