

北里大学大学院水産学研究科
水圏生物科学専攻博士後期課程

研究論文要旨

水生無脊椎動物における
ゲノムサイズの分布と多様化機構に関する研究

指導教員 奥村 誠一 准教授

平成 23 年度 水圏生物科学専攻博士後期課程入学

足立 賢太

平成 26 年 1 月

水生無脊椎動物におけるゲノムサイズの分布と多様化機構に関する研究

DF-11001 足立 賢太

ゲノムサイズ (C 値) とは、半数性の染色体が持つ DNA の総量である。C 値は、次世代シーケンサと全ゲノム解読の戦略策定に必要な基礎情報であり、分子進化学、分子遺伝学などの多様な学問分野に共通する重要な基礎的知見である。しかしながら動物界における C 値の知見は、これまで各分類群を網羅するものではなく、断片的な情報に留まっている。特に水生無脊椎動物の C 値に関する知見は極めて乏しい。動物界における C 値の範囲は、線虫 *Hemicyclophora conida* の 0.02 pg から肺魚 *Protopterus aethiopicus* の 132.83 pg まで、6,500 倍もの相違がある。動物界においては C 値の多様性が著しい動物門がある一方、C 値がほぼ一定の値を示す動物門も存在する。

近年、次世代型シーケンサの発展と普及に伴い、多くの生物に関してゲノム解読が行われているが、特定の分類群における C 値の分布範囲は、ゲノム解読を行う際の種選択に重要な指標となる。一方、生物の基本的特徴である C 値の多様性がこういった要因で生じ、またその相違が分類階級のどのレベルで生じるか等の大きな疑問が存在する。このことは、生物の系統関係に沿って、種分化機構とも関連させて検討する必要があるが、一方では、生息環境および生活様式の違いが直接の原因となって C 値を変異させ得るか否か、すなわち C 値の変異が、系統関係より環境要因と主に関係を持つ場合があるか否かについても検討する必要がある。

そこで本研究では、第一章において、水生無脊椎動物の C 値を幅広い分類群で分析すると同時に、蓄積されてきたデータを整理・統合することで、将来のゲノム解読に資するべく、C 値とその分布を検討した。第二章では、C 値の多様化・変異を生んだ要因について、動物門内の各分類階級毎にそれらを検証した。そして第三章において、深海生物などを用いて、生息環境の違いが C 値に及ぼす影響について検討した。

第一章 水生無脊椎動物における C 値の分布

C 値とその多様度を報告することは、今後のゲノム解読とそれらの情報を用いた応用研究に対して重要である。そこで本研究では、将来のゲノム解読に資するため、最も C 値を正確に測定できる Flow cytometry 法を用いて、各分類群における C 値の分布を検討した。本章では、特に系統進化上重要な分類群であるにも関わらず、C 値に関する知見が極めて乏しい動物門を中心に、刺胞動物門、有櫛動物門、紐形動物門、軟体動物門、環形動物門、ユムシ動物門、星口動物門、節足動物門、腕足動物門、棘皮動物門および脊索動物門 計 11 動物門 304 種の C 値を測定した。

本研究結果および既報の結果を総合して、各分類群における C 値のばらつきを検討した。また、主に軟体動物門および節足動物門において、過去に倍数性進化を起こした可能性が考えられた。本研究で得られた C 値の結果は、将来のゲノム解読に大いに資するものである。

第二章 軟体動物門における C 値多様化の要因

第一章において、C 値に大きなばらつきを示した軟体動物門（頭足綱、二枚貝綱および腹足綱）に焦点を絞り、C 値多様化の要因を検討した。

頭足綱: ツツイカ目およびコウイカ目の中には、オウムガイ *Nautilus pompilius* の染色体数 ($2n = 52$) の約 2 倍の染色体数をもつ種（コウイカ *Sepia esculenta* ($2n = 92$), アオリイカ *Sepioteuthis lessoniana* ($2n = 92$) 等）が報告されており、このことから頭足類内で倍数性進化が生じた可能性が示唆されている。一方、第一章の結果よりタコ目においても、倍数化を起こしたと考えられる種（ヨツメダコ *Octopus areolatus*）が存在した。

本研究は、本種の染色体核型 ($2n = 60, 24 m + 4 m / sm + 2 sm$) の新知見を得て、既報のマダコ *Octopus vulgaris* の染色体核型 ($2n = 60, 7 m + 1 sm + 4st + 18 t$) と比較した。ヨツメダコにおいて、染色体数の倍加を伴わずに C 値が倍加する Cryptopolyploidy（隠蔽倍数性）の関与が示唆された。頭足類においては、倍数化および隠蔽倍数性が C 値の多様化に関与したことが示された。

二枚貝綱: ミノガイ目において、最も祖先的な形態的特徴を残すオオハネガイ *Acesta goliath* を含む 4 属 6 種の C 値、およびそれらの染色体数（ミノガイ *Lima vulgaris* $2n = 34$, ウコンハネガイ *Ctenoides ales* $2n = 32$, ウスユキミノ *Limaria hirasei* $2n = 28$, *Limaria cumingii* $2n = 26$, *Limaria* sp. $2n = 28$ ）を明らかにした。オオハネガイの染色体数は、翼形亜綱内で最も多く $2n = 40$ と報告されており、本研究は、オオハネガイから他の 5 種への染色体数の減少傾向を明らかにした。C 値においては、オオハネガイ (1.88 pg) からミノガイ (2.80 pg) およびウコンハネガイ (2.85 pg) にかけて C 値の増加が見られた。しかし、これら 2 種から *Limaria* 属 3 種（ウスユキミノ 1.74 pg, *L. cumingii* 1.79 pg, *Limaria* sp. 1.20 pg）にかけて C 値は、減少していることが分かった。本分類群において、ロバートソン型融合とその後生じたと考えられる染色体腕の欠失等が C 値多様化の要因となったことが示された。

腹足綱: 新腹足目の染色体数が一様に多いことから、倍数性進化を起こしたことが示されており、第一章における結果もその可能性を支持するものであった。本章では、倍数化後に生じる核型進化に伴うゲノム構成 (AT 含量比) の変異について検討した。倍数化を起こした種に関して、ゲノムの構成比は変化することなく C 値のみが変化すると予想されたが、カサガイ目から新腹足目にかけて C 値の増加に伴う AT 比の減少が見られた。この現象は倍数化のみでは説明がつかず、倍数化後に GC リッチな配列がゲノム中に拡大した可能性が考えられる。腹足類において、過去の倍数化と GC リッチな配列の増加が本分類群の C 値多様化の要因であると考えられる。

さらに、より下位の分類群における C 値の多様化を検討するため、ミミガイ属 8 種の C 値をテチスモデルに基づき検討した。異なる地域に生息するミミガイ属内の種間において、種分化の方向と一致する C 値の変遷が見られたことから、C 値は、地理的な生殖隔離に伴う種分化によっても系統的な変遷にしたがって漸進的に変化することが示された。

第三章 生息環境の違いが C 値に及ぼす影響

近年、生物の生息環境や代謝等、各種パラメータと C 値の間に関連性があることが一部で報告されているが、それらの知見はいまだ乏しい。そこで本章では、環境的・生態的要因が C 値の変異に影響を及ぼすか否かについて、沿岸域と環境が異なり、C 値多様性に何らかの影響を与えていることが予想される深海域に生息する種、および代謝率に影響を及ぼすと予想される共生関係にある種を用いて検討した。シボグリナム科 7 種、オトヒメハマグリ科 3 種およびシンカイヒバリガイ亜科 5 種の深海種と、それらと近縁な沿岸種とを比較検討した結果、これらの C 値に環境的要因の関与を示す傾向は見られなかった。さらに、共生関係が C 値に影響を及ぼす可能性について検討するために、共生藻を有する刺胞動物 7 種と共生藻を有さない刺胞動物 (4 綱 10 目 24 種) の C 値を分析・比較したところ、共生の有無と C 値の間に関連性は見られなかった。したがって本章は、既報のデータも含め、「異なる環境であっても、C 値は系統的に近い分類群に類似する傾向を示す」という見解を示した。

総合考察

第一章より節足動物門および軟体動物門において、過去に倍数性進化を起こした可能性が考えられた。第二章では、倍数性進化の可能性を踏まえ、軟体動物門において C 値多様化を引き起こした要因について検討した結果、軟体動物における C 値多様化の要因は、1) 頭足綱における倍数性進化および染色体数の増加を伴わない隠蔽倍数性による C 値の増加、2) 二枚貝綱における系統進化に伴う染色体数の減少とそれに伴う C 値の減少、3) 腹足綱 前鰓亜綱における倍数化とゲノム中における特定の配列の拡大、および 4) 腹足綱ミミガイ属における地理的生殖隔離に伴う種分化であり、これらのことによって C 値に多様性が生じたことが明らかとなった。以上の結果は、すべて C 値と系統関係との密接な関係を示すものである。

本研究で明らかにした C 値多様化に関する要因は、他の無脊椎動物でも生じていると考えられた。また第二章において示した、系統進化と一致して起こる C 値の変化の度合いは、突発的かつ大幅なもの、もしくは漸進的なものというように近縁種間においても異なっていた。さらに、その変化の方向性 (C 値における増加もしくは減少) は、それぞれの分類群によって異なっていることが明らかとなった。さらに第三章において、C 値は異なる環境であっても系統的に近い分類群で類似した傾向を示すことが判明した。このことは、C 値に起こる変異が、環境的・生態的影響を受けない中立的なものであると言える。以上、本研究は上記の各要因が C 値の多様化に深く関わっていることを明らかにした。

水産学分野において、ほとんど研究報告のない水生無脊椎動物の C 値に着目し、極めて広範囲かつ多種の C 値を明らかにした本研究は、細胞遺伝学をはじめ、将来のゲノム解読の基礎研究に大いに資するものである。