

## 二国間交流事業 共同研究報告書

令和5年4月28日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]

滋賀県立大学環境科学部

[職・氏名]

教授 浦部 美佐子

[課題番号]

JPJSBP 120204812

1. 事業名 相手国: ロシア (振興会対応機関: RFBR) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 湿地生態系における寄生虫動態の長期変動解析: 環境 DNA によるモニタリング法の確立

(英文) The influence of climate change on parasite dynamics in the wetland ecosystem of Western Siberia: Application of environmental DNA analysis for the trematode monitoring

3. 共同研究実施期間 2020年4月1日 ~ 2023年3月31日 (3年0ヶ月)【延長前】 2020年4月1日 ~ 2022年3月31日 (2年0ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Russian Academy of Sciences, Siberian Branch, Institute of Systematic and Ecology of Animals, Leading researcher, Natalia Il'inishna Yurlova

5. 委託費総額(返還額を除く)

本事業により執行した委託費総額		4,749,710 円
内訳	1年度目執行経費	2,375,000 円
	2年度目執行経費	2,374,710 円
	3年度目執行経費	円

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

日本側参加者等	7名
相手国側参加者等	6名

\* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

	派遣		受入
	相手国	第三国	
1年度目			( )
2年度目			( )
3年度目			( )

\* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

## 8. 研究交流の概要・成果等

### (1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

吸虫セルカリアは淡水域の生態系における物質循環において重要な役割をもつ可能性が指摘されているが、外部形態による種同定が困難なため、種ごとの正確な定量がきわめて困難である。そこで環境 DNA の手法を用い、定量 PCR を用いて環境水中のセルカリアの生物量測定を目指した。しかし、2020～2021 年度の新型コロナウイルス症蔓延による渡航制限、および 2022 年のロシアによるウクライナ侵攻に伴う渡航中止勧告により、残念ながら一度も渡航調査を実施することができず、大幅な研究計画の変更を余儀なくされた。

ロシア側共同研究者により、西シベリア・チャニー湖の沿岸域に生息する巻貝から得られた主要なセルカリアの同定済み固定標本が日本に送付された。これらのうち、主要な7種に関して次世代シーケンサーを用いた全ミトゲノム解析を行い、塩基配列を決定した。うち6種について、Cox2 および Cox3 領域をターゲットとした種特異的プライマーを設計し、湖水の濾過サンプルを用いてこれらが有効であることを確認した。現在、検量線の作成のため新たなサンプルの送付をロシア側に依頼中であるが、航空便が利用できないことにより受け取り日は未定である。

また、主要6種の定量により、現地のセルカリアのどのくらいの割合を捕捉できているのか推定するため、湖水の濾過サンプルを用いて吸虫の網羅的メタゲノム解析を試みた。しかし、サンプルの保存状態が不良であったため、セルカリア本体として含まれる以外の環境 DNA を検出することができず、失敗に終わった。

また、当初の計画を全部実行することが不可能となったため、代替の研究として、チャニー湖に産するセルカリアの一種である *Australapatemon* sp. の系統解析を行った。本種が含まれる吸虫綱ディプロストマ亜綱には、通常のサンガーシーケンスでは系統学的位置が不明瞭な種がいくつか含まれる。そこで、*Australapatemon* sp. を含むロシアおよび日本産のディプロストマ亜綱5種について、NGS を用いて 50GB/サンプルの全ゲノムデータを得た。このデータは現在解析中である。

### (2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

本研究により、7種の吸虫の全ミトゲノム配列が得られた。うち2種については論文として公表され、吸虫の進化系統を論ずる材料として遺伝子データベースに登録された。残りの種に関しても順次公表予定である。

Gacad, J. L. J., Tanabe-Hosoi, S., Yurlova, N. I., and Urabe, M. (2022) The complete mitogenome of *Echinoparyphium aconiatum* (Digenea: Echinostomatidae) and a comparison with other digenean species. *Parasitology International* 92:10268292

Gacad, J. L. J., Ponomareva, N. M., Yurlova, N. I., Urabe, M. Characterization of the complete mitochondrial genome of *Plagiorchis multiglandularis* (Digenea, Plagiorchidae): Comparison with the members of Xiphidiatan species and phylogenetic implications. *Parasitology Research* (in press)

有効性の確認されたプライマーセットについては今後論文発表し、主にユーラシア西部地域に生息する吸虫6種を環境中から検出する方法として公開する。

ディプロストマ亜綱の系統関係については、解析が完了し次第、論文を執筆し公表する。

### (3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

チャニー湖は相手側研究代表者により30年におよぶ吸虫セルカリア感染動態のデータが得られている。今回、日本側により作成された定量 PCR プライマーを用いることにより、湖水内のセルカリアの分布・日周変動・水

温との関連等について精度の高いデータを得ることができるようになった。今後、再び渡航が可能な状態になれば、今回得ることのできなかった各種環境パラメーター計測と共に湖水の濾過サンプルを得て、環境要因とセルカリア生物量の関係を把握することにより、過去の感染動態データを用いてセルカリア生物量の年次変動を見積り、それによって淡水生態系においてセルカリアが物質循環にどのくらい貢献しているかを判定したい。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

吸虫の中には人畜の病原体となる種も多く知られている。本研究で取り扱った種の中に人畜に有害なものは含まれていないが、今後各種吸虫に特異的なプライマーが開発されれば、環境DNA的手法を用いて発生源や発生時期の特定をすることが容易になると考えられる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

今回、ミトコンドリアゲノム解析およびプライマーの設計と検証は博士課程の大学院生が中心となって実施し、既に2本の論文を発表した。また、メンバーの指導によりメタゲノム解析の手法も身につけることができ、今後は自ら環境DNAの研究を進めていくことができる研究手法を一式学ぶことができた。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

セルカリアの放出量には一般的に水温の影響が非常に大きいため、陸水の物質循環におけるセルカリアの重要性は地球上の地域、特に緯度によって大きく異なると考えられる。ユーラシア内陸部に位置するチャニー湖では水温の時間的・空間的变化がきわめて大きく、セルカリアの発生はパッチ状になると予測されるが、気温変化の少ない熱帯域では年間を通じてセルカリアが発生し、年間の生産量はさらに大きくなると予測される。そのような気候環境の違いと生産量とを比較することにより、物質循環へのセルカリアの貢献度を地球規模のスケールで評価できるようになると考えられる。

(7)その他(上記(2)~(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

例:大学間協定の締結、他事業への展開、受賞など