

平成 31 年 4 月 30 日

海外特別研究員最終報告書

独立行政法人 日本学術振興会 理事長 殿

採用年度 平成 29 年度

受付番号 317 宮野哲史

氏 名

(氏名は必ず自署すること)

海外特別研究員としての派遣期間を終了しましたので、下記のとおり報告いたします。

なお、下記及び別紙記載の内容については相違ありません。

記

1. 用務地（派遣先国名）用務地：カリフォルニア州ロサンゼルス市（国名：アメリカ合衆国）
2. 研究課題名（和文）※研究課題名は申請時のものと変わらないように記載すること。
生物ホットスポット帯におけるアオリイカ属をモデルとした種間・種内集団ゲノム学
3. 派遣期間：平成 29 年 11 月 1 日 ～ 平成 31 年 3 月 31 日
4. 受入機関名及び部局名
カリフォルニア大学ロサンゼルス校 生態進化生物学部
5. 所期の目的の遂行状況及び成果…書式任意 **書式任意 (A4 判相当 3 ページ以上、英語で記入も可)**
(研究・調査実施状況及びその成果の発表・関係学会への参加状況等)
(注)「6. 研究発表」以降については様式 10－別紙 1～4 に記入の上、併せて提出すること。

生物ホットスポット帯におけるアオリイカ属をモデルとした種間・種内集団ゲノム学**【最終報告の概要】**

初期の目的は 2 つあり、一つ目は生物ホットスポットと呼ばれる東アジアやインド洋に生息するアオリイカ属から DNA 情報、特にミトコンドリア DNA を取得し、種間関係を明らかにすることである。報告者は計画通りに生物ホットスポット産アオリイカ属からミトコンドリア DNA を取得し、種間関係を明らかにした。さらに、国際的なネットワークで知り合った研究者と協力し、ハワイに生息するアオリイカの DNA 情報も入手し、当初の目的を超えた大規模解析を行った。これらの成果は日本イカタコ研究会や国際学会で報告し、他の研究者から活発な議論を得るなど、遂行状況は順調といえよう。二つ目は、核 DNA の一塩基多型をマーカーに用い、遺伝的多様性の地理的な分布を明らかにすることである。こちらについては、計画からやや遅れている。日本から持参したサンプルの保存状態が悪く、質が高い DNA を抽出できなかった。その問題に対処すべく実験を中断し、サンプルの再採集や DNA 抽出方法の改善によって対処した。現在は実験と解析をすすめている。さらに、報告者の派遣期間短縮も重なり、研究の進捗は、当初の目的より遅れているといえる。しかしながら、報告者は派遣先との共同研究を引き続き行う予定であり、本研究の当初の目的は達成されると期待できる。得られる成果は学会や論文等のしかるべき形で公表する予定である。

【研究の背景】

インドネシア、パプアニューギニアおよびフィリピンで囲まれたコーラルトライアングルは、海洋生物の約 30%が生息する地球上で最も高い生物多様性を誇る海域であり、生物ホットスポットと呼ばれている (Roberts et al. 2002)。そのため、コーラルトライアングルにおける海洋生物の遺伝的分化メカニズムを解明することは、海洋生態系における生物多様性の形成メカニズムの解明に繋がる意義がある。本研究では、コーラルトライアングルから日本までの「生物ホットスポット帯」にてアオリイカ属アカイカとシロイカの集団を広範囲に調べ、「アオリイカ属画持つ遺伝的多様性は、種間および種内ともに生物ホットスポットで高く、日本で低い」という仮説を検証することを目的とした。

【初期の目的】

1. ～種間の比較～：種間比較に有用なミトコンドリア DNA マーカーを用いて、アオリイカ属種（系統グループ）の数を生物ホットスポットと日本で比較する。
2. ～種内の比較～：種内比較に有用なミトコンドリア DNA と核 DNA マーカーを用いて、アオリイカ属シロイカとアカイカが持つ種内遺伝変異の多寡を、生物ホットスポットと日本で比較する。

【研究・調査実施状況】

1. 日本から 6 地点、生物ホットスポットから 8 地点（フィリピンとインドネシア）、さらにベトナムやインドに生息する約 650 個体のアオリイカ属から DNA 情報を取得した（表①）。次に種判別に有効なミトコンドリア DNA のバーコーディング領域の塩基配列を解読し、全個体の遺伝子型（ハプロタイプ）を決定した。

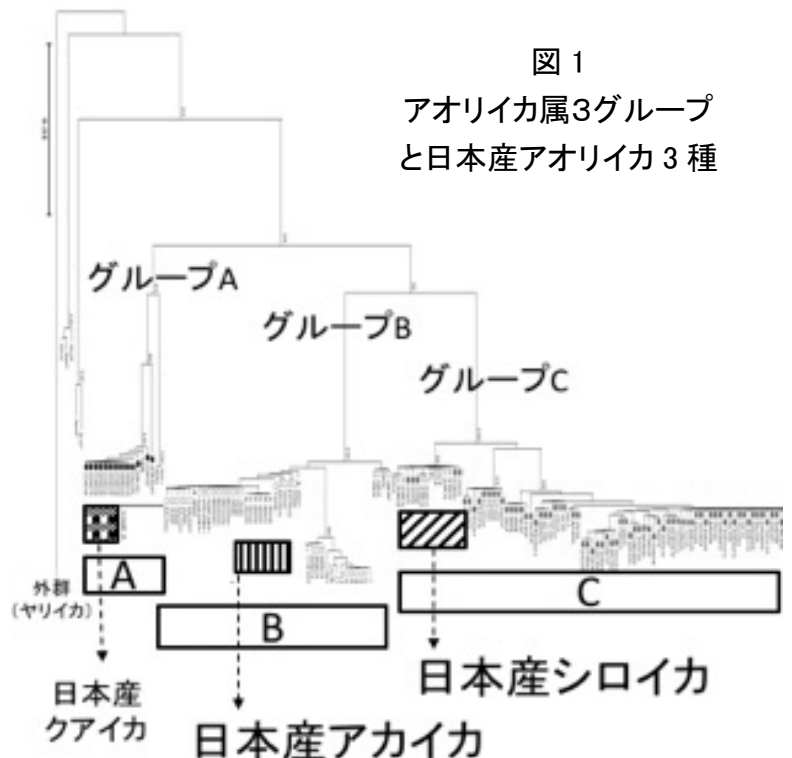
次にハプロタイプ間の違いを比較そして数値化することで個体のグルーピングを行い、樹形図として図示した。その結果、解析したアオリイカ属は大きく 3 つのグループに分かれる事が示された（図 1）。3 つのグループをそれぞれ A、B、C と名付け、各地点における 3 グループの出現頻度を調べた（図 2）。

報告者の研究によって、すでに日本近海におけるアオリイカ属 3 種（アカイカ、シロイカ、クアイカ）が報告されており、生物ホットスポットにおいても同様にアオリイカ 3 種類が生息する事が示された。これは、「種多様性は生物ホットスポットで高く日本で低くなる」という当初の仮説を支持しない結果となった。

2. 上記 1 と同様のサンプルを用いて、地点ごとに出現したハプロタイプの頻度からハプロタイプ多様度（Hap. Div.）を、グループ B および C にて算出した。サンプル数が少ないグループ A（クアイカ）は解析から除外した。その結果、集団が持つハプロタイプ多様度は、同じグループ B（アカイカ）同士で比較すると、日本よりも生物ホットスポットの方が高い遺伝的多様性を持つことが明らかとなった（図 3）。これはグループ C（シロイカ）でも同様の傾向であった。同様に、アオリイカ属シロイカの遺伝的多様性は日本で低く、台湾やベトナムで高いという報告があり、その研究チームはミトコンドリア DNA の他領域をマーカーとしていた。これは、仮説を支持する結果となった。

アオリイカ属のミトコンドリア DNA 遺伝変異が示した結果では、生物ホットスポットと日本で種数（種間変異）は同じである一方、種内変異は生物ホットスポットの方が高かった。これにはどのような進化的意味があり、なぜこのような結果となったのか。

2 年目はこの問いに答える事を目的とする。問いに対する解の質を高めるため、高感度な DNA マーカーを使用し、種間および種内変異を調べる。具体的には、数千個におよぶ一塩基多型を核ゲノム中から広く探索し、個体間で比較する。この解析には 2 b-RADseq と呼ばれる制限酵素と次世代シーケンサーを用いた方法を使用する。ただし、質が高い DNA を必要とするため、保存状態が悪い検



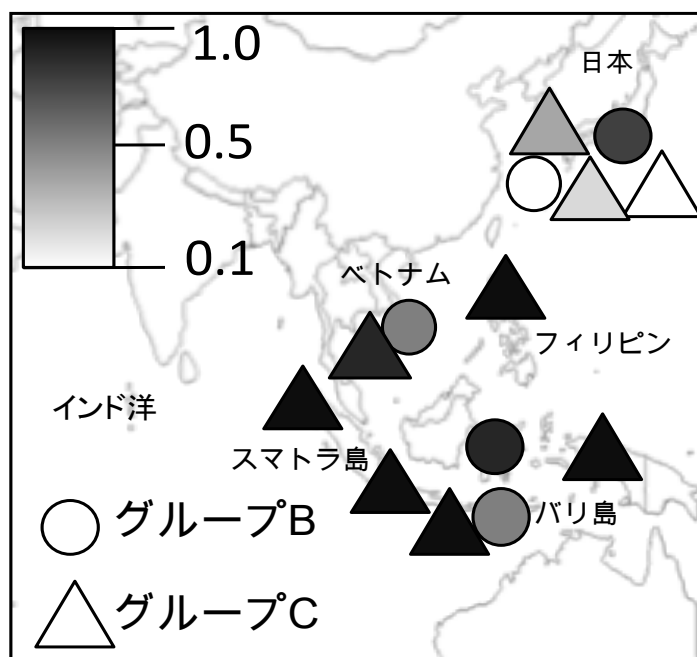


図3 遺伝的多様性の比較
(ハプロタイプ多様度の多寡)

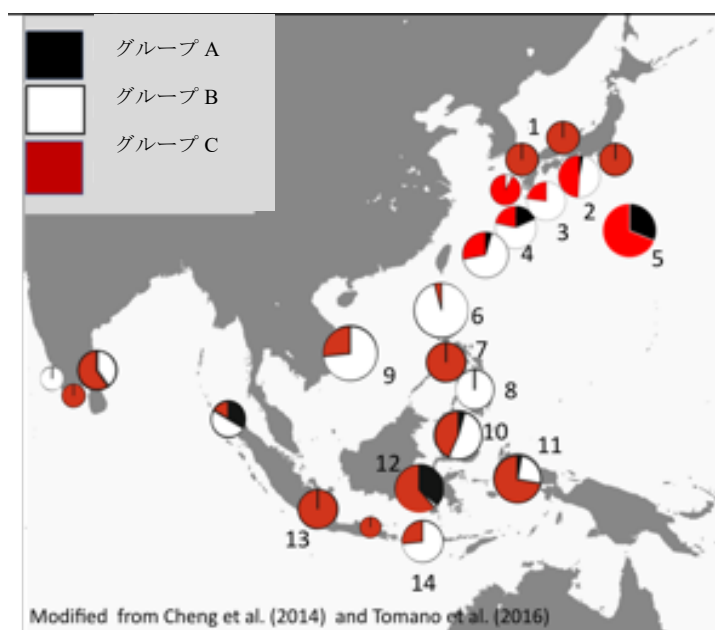


図2 アオリイカ3グループの分布とその割合

でなく、地球規模における沿岸海洋生物の多様性形成および維持メカニズム解明へ貢献することが期待出来る。

本研究の成果は学会だけでなく、しかるべき論文として国際誌へ投稿する予定であり、現在は執筆および解析を勧めている。

体から得た DNA は使用することが出来ない。

現在、報告者は 2 b-RADseq の実験を行っているが、質が高い DNA を得ることが困難であった。そこで、一時帰国に際して追加のアオリイカサンプルを入手することで対処した。

【成果の発表・関係学会への参加状況】

これらの成果は、島根大学で行われた日本イカタコ研究会での口頭発表および米国フロリダ州の南フロリダ大学にて行われた国際イカタコ類諮問研究集会のポスター発表にて報告した。いずれの学会もイカタコ研究に特化しており、非常に有意義な議論となった。ただし、専門に特化しすぎて視野が狭くことを防ぐ事にも努めた。特に、米国で開催されたワークショップにも参加し、保全遺伝学、分子進化学、集団遺伝学への理解も深めている。また、報告者が所属する UCLA の生態進化学部のセミナーでも発表を行い、鋭いアドバイスを受けた。これらの活動は採用終了後も継続していく予定である。

報告者は国際的なネットワーキングも積極的に進めており、学会やワークショップで知り合った研究者、特に興味に近い方とは頻繁に情報交換を行っている。共同研究や協力体制も進めており、ニュージーランド、オーストラリア、ハワイ、紅海および地中海のアオリイカの DNA 情報を入手予定である。すでにハワイ大学の先生と共同研究を開始し、そのせいかの一部は学会にて発表した、これによって当初の目的を大きく超えた大規模な解析が可能となり、アオリイカ属の遺伝的多様性に見られる生物ホットスポットから東西南北への地理的パターンを調べることが可能となる。これは、アオリイカ属の進化生態研究を大きく進めるだけ

図4 今後の共同研究予定地

