

論文審査の結果の要旨

氏名 野本 泰寛

本論文は2章からなり、第1章ではテロメアをプローブとした蛍光 *in situ* hybridization (FISH) 法により、*Biwamelania* 属の1種であるハベカワニナの微細な染色体構造変化を明らかにし、第2章では*Biwamelania* 属のカワニナ類の分子系統解析を行い、その結果をもとに本属の種分化、染色体進化についての著者の仮説が述べられている。

Biwamelania 属は琵琶湖に固有の淡水貝類で、染色体に著しい変異のあることが知られている。まず、第一章では、本属における染色体の微細な変異を明らかにするための手法を開発した。本章では、*Biwamelania* 属の1種であるハベカワニナを材料として、テロメアDNAの単離に成功し、その構造は真核生物に広く保存されている(TTAGGG) n 反復配列であることを明らかにした。これは、軟体動物においてテロメア構造を明らかにした最初の研究であり、(TTAGGG) n 反復配列が無脊椎動物にも存在することを示した最初の報告である。次に得られた(TTAGGG) n 配列をプローブとしたFISH 法を行い、この配列が染色体の末端だけでなく、染色体腕内にも存在することを示した。一部の大型メタ染色体の動原体付近からテロメアのシグナルを検出し、この染色体で動原体融合が起きたことを立証した。また、この他にも、染色体腕内のテロメアシグナルを多数観察し、本属における染色体の構造変化が予想以上に複雑で、かつ最近になっても頻繁に生じていることを示した。

第二章では、性質の異なる3種類の分子マーカーを用いて*Biwamelania* 属11種と*Semisulcospira* 属3種の系統解析を行った。分子マーカーとしては核DNAからEF-1 α 遺伝子のイントロンとITS-1、mt DNAから12Sおよび16S rDNAを用いている。核DNAの系統解析から、*Biwamelania* 属が単系統群であること、*Semisulcospira* 属がその側系統群であることを明らかにした。また、*Biwamelania* 属は二つのクレイド（ハベカワニナ種群とタテヒダカワニナ種群）から成り、前者にはハベカワニナ、ヤマトカワニナ、カゴメカワニナ、クロカワニナ、クロダカワニナの5種が、そして後者には、タテヒダカワニナ、イボカワニナ、ナカセコカワニナ、モリカワニナ、シライシカワニナ、タケシマカワニナ、ホソマキカワニナの7種が含まれることを見い出した。各種群内では貝殻の形態や染色体が著しく異なるが、種間の遺伝的分化は著しく小さく、複数の対立遺伝子が多くの種に共有されていた。このことから、染色体の構造変化や形態の分化を伴う著しい種分化が急速に、かつ各種群で独立に起きたことが分かった。また、これまで*Semisulcospira* 属に分類されていたクロダカワニナは、*Biwamelania* 属のハベカワニナ種群の一員であることを初めて示した。さらに、種群間および別属間で交雑が起きていることを見い出した。

mt DNA の系統解析では*Biwamelania* 属が単系統になり、*Semisulcospira* 属がその側系統群となることが支持された。また、別属の遺伝子を持つ個体を多数見出し、これら2属間で交雑が繰り返し起きたことが分かった。なお、mt DNA の系統解析では*Biwamelania* 属内の種間の遺伝的分化は不明瞭で、二つの種群も明確に区別できなかつ

た。また、主にどちらかの種群から成るクラスターが多数存在するが、それらは系統樹上ではモザイク状に分布していた。これらの結果から、過去に種群間で大規模な交雑が頻繁に起きたと推定した。

Biwamelania 属では染色体数に $2n=17\sim 32$ と変異があるが、*Semisulcospira* 属ではいずれの種も $2n=36$ である。これまで、染色体数の減少および核型の著しい変化は *Biwamelania* 属の共通祖先で一度だけ起きたと考えられていたが、核DNAの系統系統解析から、染色体数の変化はハベカワニナ種群とタテヒダカワニナ種群の二つの系統で独立に起きたと結論した。

核DNA、mt DNAのデータを総合すると、*Biwamelania* 属では2種群が分岐し、大規模な種群間交雑が頻繁に起きた後に爆発的種分化が起きたと考えられた。また、ヤマトカワニナでは多景島の集団にのみ別種群からの顕著な遺伝子流入が認められ、この集団でのみ核型の急激な変化による染色体種分化が起きている。これらの結果から、種群間および別属間で過去に起きた大規模な交雑が染色体の劇的な変化を生じ、染色体の構造変化が小集団に固定することによって著しい種分化を引き起こしたという仮説を提唱した。

本研究は、*Biwamelania* 属の染色体進化と種分化について分子遺伝学的手法を用いて解析した初めて研究であり、古代湖における適応放散の新しいモデルとして高く評価できる。

なお、本論文第一章は平井百樹、上島励との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析および検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

従って博士（理学）の学位を授与できると認める。