

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 山内 視嗣

十脚甲殻類は、重要な水圏資源生物であると同時に、その形態・生態が著しく多様であることから、甲殻類の中でも特に注目されるグループである。しかしその系統関係は、形態形質に基づく様々な系統仮説が提唱されてはいるものの、安定した結論が出ていないのが現状である。近年、系統関係の解明に DNA に刻まれた遺伝情報の解析が有用であることが明らかになり、十脚類の分子系統解析の試みも始まっているが、分析分類群数、分析塩基数のいずれの点からもまだ十分とは言えない。そうした中で、魚類などにおける高次分類群の系統関係の解明に有効であることが示されたミトコンドリア DNA (mtDNA) の全塩基配列データを用いた系統解析に着目し、多くの分類群を分析対象にして、十脚類の系統関係の解明を目指したのが、本研究である。

論文は6章から成る。緒言を述べた第1章に続く第2章では、十脚類ミトコンドリアゲノムに対する約 80 個の汎用プライマーを作成し、これらとロング PCR 法やネステッド PCR などを用いて、迅速かつ簡便に十脚類の mtDNA 全塩基配列を決定する手法を確立した。この手法により、新たに 33 種の十脚類 mtDNA 全塩基配列を決定した。第3章では、新たに調べられた 33 種についてのデータを基礎に、十脚類のミトコンドリアゲノムの特徴について整理した。すなわち、それは全長が 15,271~17,119 bp の範囲にあり、後生動物全般に見られるのと同じ 13 個のタンパク質遺伝子、22 個の tRNA 遺伝子、および 2 個の rRNA 遺伝子をもっていることを明らかにした。その上で、個々の遺伝子の特徴などを検討している。

続く第4章では、上記 mtDNA 塩基配列データを基にした系統解析を行っている。この解析には、十脚類の既存の系統仮説や、各グループの単系統性を可能な限り検討できるように選定した全 35 種の mtDNA データ (各 9,172 bp) を用いた。系統解析方法には、GTR+I+ Γ モデルを用いた最尤法を採用し、系統樹の内部枝の信頼性はベイズ法から算出される事後確率で評価した。その結果、センジュエビとアンフィオニデス *Amphionides reynaudii* がこれまでの分類と整合性のない系統関係を示したことを除くと、これまでに設定されている各目、亜目、下目はそれぞれ単系統群を形成し、(オキアミ類(クルマエビ類((コエビ類+オトヒメエビ類)+ (イセエビ類(ザリガニ類(アナジャコ類(カニ類+ヤドカリ類))))))という系統関係が得られた。

この系統樹では、これまで十脚類の外に位置すると考えられていた *A. reynaudii* は、十脚類のなかのコエビ下目に含まれた。十脚類内の系統関係では、形態学的な証拠から従来その存在が認められてきた根鰓亜目(クルマエビ類)と抱卵亜目はそれぞれ単系統群であり、姉妹群関係にあることが示された。抱卵亜目内では、オトヒメエビ下目とコエビ下目が姉妹群を形成し、そのクレードは本研究で単系統群であることが示された「歩行類」(上記のイセエビ類からカニ類+ヤドカリ類までを含むグループ)と姉妹群となることが明らかとなった。歩行類の単

系統性という点は、Burkenroad(1981)の提唱と整合的であり、歩行類内部の関係については、Scholtz and Richter(1995)が形態形質を基に推定したところとかなり一致した。

mtDNA 全塩基配列決定からは、塩基配列データだけでなく、遺伝子配置に関する貴重な情報も得られる。第5章ではこの側面を検討した。その結果、オキアミ目、オトヒメエビ下目、アナジャコ下目、カニ下目、ならびにヤドカリ下目は、塩基配列を用いた系統解析から単系統群であることが明らかとなったが、これらのグループについてはそれに加えて、共有派生形質とみなせる mtDNA 遺伝子のユニークな配置がみられることを明らかにした。さらに、上記各群に属する 12 種の tRNA^{Leu(CUN)} 遺伝子は、甲殻類に典型的な mt ゲノムとは逆の鎖にコードされているのみならず、その鎖上にある別の tRNA^{Leu(UUR)} とよく似た塩基配列を有しているという現象のあることを指摘した。これは、tRNA^{Leu(UUR)} 遺伝子が縦列重複し、その片方が tRNA^{Leu(CUN)} 遺伝子の機能をもつに至る一方、元の tRNA^{Leu(CUN)} 遺伝子が消失するといった過程を経て生じたと推察している。最後に第6章の「総合考察」では、以上の研究結果を総括するとともに、今後の研究の展望を論じている。

以上のように、本論文は、大量の mtDNA 塩基配列データを自ら提出し、それに基づいて知見の不足していた十脚甲殻類のミトコンドリアゲノムの特徴を明らかにするとともに、十分に信頼できる分子系統関係を提示した。そしてこれを基礎に、これまで包括的に論じられることがなかった十脚類の系統関係について多くの重要な議論を行った。こうした知見と議論は、水圏の重要な生物群のひとつであるこの類の多様性の理解に向けての重要な貢献であると判断された。よって、審査委員一同は、本論文が博士(農学)の学位論文としてふさわしいものと認めた。