

令和 6 年 6 月 28 日現在

機関番号：35404

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05632

研究課題名（和文）博物館標本DNAに基づく海産無脊椎動物ニシキクモヒトデの保全学的研究

研究課題名（英文）Conservation study of the marine invertebrate brittle star, *Ophiothela danae*, based on museum specimen DNA

研究代表者

岡西 政典 (Okanishi, Masanori)

広島修道大学・人間環境学部・助教

研究者番号：70639278

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究では、1975～2021年に日本各地と東南アジアから収集された313個体のニシキクモヒトデの標本を対象に、MIG seq解析を用いて集団遺伝学的研究を行った。エタノール保存の標本からはホルマリン保存の標本よりも多くの遺伝情報が得られ、新しい標本ほどその傾向が強いことが判明した。解析結果よりから、生息地が北東に位置するほど遺伝的多様度が高く、ニシキクモヒトデの分布の中心が温帯域であることが認められた。本研究から、MIG seqにおける博物館のクモヒトデ標本析の有用性が確認された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

温暖化やそれに伴う気候変動は、生物の地理分布とその遺伝構造の關係に影響を与えていると考えられる。このような遺伝構造の変遷の解明は、生物多様性の維持に直結する重要な課題といえるが、地球の生命圏の約9割（面積）を占める潮下帯以深の生物に関するこのような研究は少ない。本研究では、これまでにモニタリングが難しかった潮下帯以深に生息する生物の標本を用いることにより、過去から現在までの海洋生物の遺伝構造の変化の理解を進めることに貢献した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we conducted a population genetic study on 313 specimens of *Ophiothela danae* (Ophiuroidea: Echinodermata) collected from various regions of Japan and Southeast Asia between 1975 and 2021, by using MIG seq analysis. We found that ethanol-preserved specimens provided more genetic information than formalin-preserved ones, with this trend being more pronounced in newer specimens. Our analysis indicated that genetic diversity increases in populations located further northeast, suggesting that the distribution center of the *O. danae* is in temperate regions. This study confirmed the usefulness of museum specimens for MIG seq analysis.

研究分野：動物系統分類学

キーワード：系統 分類 集団遺伝 MIG seq クモヒトデ類 博物館標本 古標本 ニシキクモヒトデ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属します。

様式 C - 19、F - 19 - 1 (共通)

1. 研究開始当初の背景

温暖化やそれに伴う気候変動によって 2020 年に絶滅危惧種に認定された種の数は 32,441 種に上り、その保護や生息環境の保全は、生物多様性の維持に直結する重要な課題となっている (WWF レッドリスト 2020)。環境省 (2017, 2020) によれば、本邦の絶滅危惧種に指定されている多細胞動物 1,558 種はそのほとんどが陸上～潮間帯の種であり (海洋生物レッドリスト 2017; 環境省レッドリスト 2020)、地球の生命圏の約 9 割を占める潮下帯以深に生息する種は極めて少ない。また、多細胞動物を基本的な体の造りで分けた分類単位の「動物門」に注目すると、この 1,558 種には、既知の約 34 門 (Dunn et al., 2014) の 1/4 の 8 門しか含まれず、現在の絶滅評価には偏りがある状況である。この要因には、潮下帯以深に生息する海産動物、特に全動物門の 95% を含む無脊椎動物の生活史や分散能力の把握と、網羅的かつ定期的な生態調査が極めて困難であり、その保全の必要性の評価が難しいという問題がある。また、例えばサンゴでは、海水の酸性化により炭酸カルシウム性の骨格が維持できなくなることが室内実験により検証されているが (例えば, Sekizawa et al., 2017)、実際の海洋で、生物がどのような環境変化の影響をどのように受けているかについてはほぼ未解明な状態であり (河野, 2010)、その保全戦略の策定は進んでいない。

このような海産生物の保全研究の難しさを、DNA 解析技術が解決しつつある。近年、次世代シーケンサー (NGS) の解析技術の向上によって、従来は DNA の劣化が激しく、解析が困難であった数十年前の博物館標本の DNA 解析が可能になった。これにより、過去と現在の集団の遺伝的多様性や遺伝構造を比較し、「保存すべきその種本来の遺伝的多様性」とそれに影響を与えた環境要因を明らかにできる。実際に陸上生物 (昆虫など) では、三十年前に採集された標本と近年採集された生物の DNA 配列を比較することで、過去の個体数変動や遺伝的多様性の減少が推定され、その要因となった草原面積の減少などに対する保全戦略が提唱されている (Nakahama et al., 2018 など)。この方法は海産動物に適用可能と期待できる。

このような研究対象の候補に棘皮動物門クモヒトデ綱が挙げられる。本綱は様々な海洋環境に生息する無脊椎動物で、2,196 個体/m² に群生することもあり (Warner, 1971)、個体数を必要とする集団間の遺伝構造の比較解析に適している。研究者が少なく、系統・分類などの基礎的な研究以外に進展がない。研究代表者らにより、10 年以上前に収集された標本にも 1,000 bp 程度の DNA 断片が残っており、サンガー法、NGS を用いた MIG-seq 法による DNA 解析が可能である事が示されている (Okanishi & Fujita, 2013; Hiruta, Fujita et al., 2018 年国際棘皮動物会議 [IEC])。

ニシキクモヒトデ (*Ophiothela danae*) はインド～西太平洋域温帯の潮下帯以深に生息する体長数 cm ほどの小型種である (A. M. Clark & Rowe, 1971)。本邦では相模湾以南より知られ、サンゴなどに絡んで生活するため移動力に乏しいが、6 腕で分裂生殖を行うためしばしば高密度で群生する。一方でそのホストのサンゴは海洋酸性化による個体群の減少が指摘されているため (Carpenter et al., 2009)、サンゴに強く依存し、自らも炭酸カルシウムの骨格を持つ本種もその影響を受けていると考えられる。科博には 50 年以上前から継続的に日本各地で収集された本種の博物館標本が所蔵されている。また研究代表者らの東南アジアと日本の標本を用いた DNA 解析によって、和歌山と高知を境とする 2 つの系統群が認められている。以上の事から、ニシキクモヒトデについて「過去と現在の標本の遺伝構造と固有な遺伝子数と頻度 (遺伝的多様性) を各地域・時代で比較し、その変化を検出できるか？」という問いが浮かび上がる。

2. 研究の目的

そこで本申請テーマでは、本邦のニシキクモヒトデを研究対象とし、50 年前から収集されている科博の標本と、新規に収集する標本の DNA 情報の比較解析を行う。本種の個体群の遺伝的境界と、各生息域内の遺伝的多様性の変化を評価し、本種を保全する上で注目すべき各集団の遺伝構造を特定する事を目的とした。

3. 研究の方法

上記の目的を達成するため、1) 標本の収集・同定と DNA の抽出、2) 分子系統解析、3) 遺伝的多様性の検出を行った。詳しい方法は以下の通りである。

標本収集と DNA の断片化検出: 科博と三崎臨海実験所に所蔵されていた 1962～2014 年に日本各地 (三崎, 鳥羽, 白浜, 串本, 大月, 防津, 奄美, 西表, 八丈島, 小笠原諸島, パラオ, タイ, ミャンマー) より収集された 1,475 個体の本種の標本のうち、10 年代ごとに各地点から 10 個体以上を含むように選んだ計 156 個体より DNA を抽出し、断片化検出を行った。

分子系統解析: 上記の標本について、断片化を考慮し、NGS を用いた MIG seq により数百～数千座の一塩基多型情報を得た。

遺传的多様性や遺伝子頻度の検出：得られた配列について、各地域ごとの遺伝情報を比較し、地域ごとの遺传的多様性の変化を解析した。

4．研究成果

上記の東南アジアを含む沿岸を網羅的にカバーした標本から DNA の抽出、濃縮、断片度の測定、並びに次世代シーケンサーによる MIG-seq 解析を行ったところ、全ての標本から目的配列が得られた。

これらの断片化を測定したところ、年代が古くなるにつれ断片化が進んでいる傾向が確認された。これは、海産無脊椎動物においては初めての成果となる。同時にこの傾向に合わない標本も見られることから、海産無脊椎動物の DNA 解析用の標本の作成のためには、標本液に漬けている時間ではなく、採集から標本化までの時間が重要であることを示していると考えられた。

また、これらの配列の解析結果から、上記の東南アジアから日本沿岸の地域においては、北東ほど遺传的多様性が高いという結果が得られた。このことから、ニシクモヒトデの分布の中心は熱帯域ではなく温帯域であるということが考えられる。この成果も海産無脊椎動物では前例がほとんどなく、かつ他の生物における先行研究とは異なる貴重なものとなり、今後、本種の保全を考える上で重要な知見である。

本研究成果は、2023 年の日本動物学会山形大会にて発表し、現在投稿論文を執筆中である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 岡西政典・三井翔太・CHEN Chong・川端美千代・小森いづみ・幸塚久典
2. 発表標題 現生・化石の研究から見えてきた相模湾産クモヒトデ類の自然史と環境指標生物としての応用の可能性
3. 学会等名 日本動物学会第92回オンライン大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 岡西政典・三井翔太・川端美千代・小森いづみ・幸塚久典
2. 発表標題 相模湾周辺の現生・化石クモヒトデ類の検討～自然史の解明にむけて～
3. 学会等名 第17回棘皮動物研究集会オンライン大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

チームてづるもづる http://www.tezuru-mozuru.com/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	藤田 敏彦 (Fujita Toshihiko) (70222263)	独立行政法人国立科学博物館・動物研究部・部長 (82617)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------