

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 11 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23380107

研究課題名(和文)海産魚で初めて見つかった半クローン集団の起源と維持に関する遺伝生態学的研究

研究課題名(英文)Genetic and ecological studies of the origin and reproduction about hemi-clonal hybrids that were first found from marine fishes

研究代表者

宗原 弘幸 (MUNEHARA, HIROYUKI)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学センター・准教授

研究者番号：80212249

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,700,000円、(間接経費) 4,410,000円

研究成果の概要(和文)：父種の違いにより区別される2系統の雑種の系統解析を行った。次に、生態調査と交配実験から、雑種集団が毎世代の交雑で出現するのではなく独立した集団であること、半クローンの分子基盤が存在することなどを明らかにした。半クローンは動原体融合した染色体を持ち、この変異箇所に半クローン誘導因子が存在すると考えられた。

以上の結果から、半クローンの長期的な存続について考察した。雑種とスジアイナメとの交配が起こると、半クローン因子を持ったキャリアのスジアイナメができる。この系統は組み替えし雄も出現するので、再び交雑すれば半クローンになる。またキャリアの間にゲノムシャッフルするので、遺伝的多様性が高められる。

研究成果の概要(英文)：Hexagrammos populations including the hemi-clone strains were analyzed with genetic markers. Ecological researches and artificial cross breeding suggested that hemiclinal strains were different from F1 hybrids between pure species and possess certain genetic materials to hemi-clonally reproduce. In addition one or two sets of chromosomes of hemi-clonal strains fused as the Robertson translocation. The crossbreeding experiments suggested that the translocation may be inducing factors of hemiclone reproduction.

A hypothesis concerning the longevity of hemiclinal strains was proposed based on these findings. Hemiclone hybrids usually mate with males of paternal ancestors, but the hybrid would possess the same genome composition as the hemiclone origin species if the hybrids mate with males of maternal ancestors. This type produces recombined gametes, so hemiclinal genome can produce renewal genetical diversity. Thus, the longevity of hemiclinal reproduction will be guaranteed.

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：遺伝学 核型分析 動原体融合 アイナメ 半クローン 雑種発生 スジアイナメ

## 1. 研究開始当初の背景

50年前にメキシコの小河川で、雌しかいない胎生メダカの集団が見つかった (Miller & Schultz, 1959 in Science)。その後20年かけて、シュルツ教授らがこのメダカが雑種起源であることを突き止め、生殖様式や生態を調べた。その結果、二倍体で正常な受精により発生し、父親の遺伝子は子に受け継がれるが、子を作る卵子は母親の遺伝子しか含まない (=父親の遺伝子は孫に受け継がれない)、雌性発生とも異なる、それまでどの生物からも知られていなかった生殖様式 (半クローン雑種生殖) であることを明らかにした (Schultz, 1979 in Evolutionary Biology など)。

その後、カエルやナナフシ、魚類4例が発見されたが、いずれも小川や池など閉鎖的環境に生息する種のみである。性は、種の長期的な存続の上で必要な遺伝的多様性を作り出す。一方、クローンおよび半クローン生物は、全雌集団である。そのため繁殖速度が早く、競合する種を駆逐し、狭い生息域では一時的に大集団となるが、環境変動や寄生生物の襲来に耐えられず多くは絶滅に向かう。北太平洋に広く生息するアイナメ属魚類は、広域な生息域で見つかった初めての半クローン集団であるため、その起源と集団構造の解明が待たれた。

## 2. 研究の目的

これまでの研究から、アイナメ属の半クローンは、スジアイナメ型 mtDNA を持ち、アイナメ雄およびクジメ雄と交配する妊性を持った雑種集団であることが明らかになった。

そこで、本研究では、(1) 雑種集団の分岐 (発生) 年代推定を行い、海産魚で初めて見つかった半クローン生殖集団の起源と維持機構を明らかにする。(2) 次に縄張りの雑種卵塊の調べ、野外における交雑頻度を明らかにする。(3) 半クローン生殖の至近要因となる配偶子形成過程で父親由来ゲノムが除去されるメカニズムの解明を目的に野外採集される各集団と人為交配による種々の雑種の核型分析を行う。

## 3. 研究の方法

(1) 雑種の集団解析---アイナメ系及びクジメ系雑種とスジアイナメの3集団について、mtDNA を遺伝マーカーに集団解析を行い、雑種集団の分岐 (発生) 年代推定を行う。

(2) 雑種の繁殖生態調査---雄が保護する卵塊を採集し、mtDNA を遺伝マーカーに雑種を検出し、その卵塊を msDNA 多型分析することで、半クローン生殖 (戻し交配) を確認する。

(3) 半クローン雑種とスジアイナメのゲノム和合性検証---人工授精により半クローン雑種とスジアイナメゲノムを持った雑種を作り、その個体の遺伝様式を調べる。

(4) 半クローン生殖の細胞学的比較---半クローン集団を継代飼育し、父親由来の染色体

の挙動を観察する。

## 4. 研究成果

(1) 雑種の系統解析---父種の違いによりクジメ系とアイナメ系雑種に区別される2系統の雑種と母種であるスジアイナメは mtDNA 系統解析で一つの集団であることを示した。クジメ系雑種は、複数の系統を示した。一方、アイナメ系雑種はクジメ系雑種の一つとクラスターを形成し、アイナメ系の起源がクジメ系のホストスイッチであることを示唆した。

(2) 野外雑種の繁殖---卵黄色で識別できるアイナメのなわばりから雑種卵を採集し、その遺伝様式を調べた。その結果、分析した全ての卵塊で、半クローンを示す結果となり、スジアイナメがアイナメと交雑するのではないことを示した。

(3) 野外雑種と F1 の遺伝様式の比較---純粋種間の人為交配で作出した F1 雑種を成育し成熟させて、その遺伝様式を調べた。その結果、野外雑種とは異なり、組み替えすることが分かった。このことは、上記の結果と合わせて、雑種集団が毎世代の交雑で出現するのではなく、独立した集団であることが示唆された。また、半クローンを遺伝する野外雑種は、F1 にない半クローンを誘導する分子基盤を持つことが示唆された。さらに、野外雑種に母種をかけてゲノム組成がスジアイナメで半クローン遺伝子を持つ個体は、半クローンにならなかった。つまり、半クローンは遺伝的があるが、ゲノム組成が雑種の時に発現することが示された。

(4) 雑種の核型---F1 雑種は、親種の間型的な型を示したが、半クローン雑種は2系統とも、ロバートソン型動原体融合した染色体を2~3本持っていた。半クローンをスジアイナメと交配させたゲノム組成がスジアイナメとなった個体は、体細胞は動原体融合を持つが、配偶子はスジアイナメに戻っていた。以上のことから、動原体融合の変異箇所に半クローンを誘導する因子が存在する可能性が示唆された。

(5) 雑種の集団構造---以上の結果に基づき、雑種の集団構造を考察する。雑種とスジアイナメとの交配を野外で確認していないが、雑種の半分はスジアイナメなので、この交配が起こると、半クローン因子を持ったキャリアのスジアイナメができる。この系統は組み替えする。雄も出現するので、再び交雑してクジメ系雑種となれば、半クローンになる。mtDNA 系統解析の結果は、こうした過程でクジメ系雑種が多系統になることを示唆する。またキャリアの間にゲノムシャッフルする。したがって、半クローンを持つゲノムは半クローンが母種と共存することで遺伝的多様性を高められる。

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計9件)

Kimura, M., Horita, M., Abe, S., Arai, K., Kawata, M. & Munehara, H. Identification of hemi-clonal reproduction in three species of *Hexagrammos* marine reef fishes. J. Fish Biol. Accepted (査読有り)

荒井克俊・古丸明・宗原弘幸:「はじめに」ミニシンポジウム「水圏におけるハイブリッドとクローン--生態系における役割と応用可能性」日本水産学会誌 79(5):900(2013)(査読なし)

荒井克俊:「淡水魚における雌性発生クローンとその交雑起源」ミニシンポジウム「水圏におけるハイブリッドとクローン--生態系における役割と応用可能性」日本水産学会誌 79(5):904(2013)(査読なし)

宗原弘幸:「海産魚で初めて見つかったハイブリッドジェネシス(半クローン)とその集団構造」ミニシンポジウム「水圏におけるハイブリッドとクローン--生態系における役割と応用可能性」日本水産学会誌 79(5):905(2013)(査読なし)

Yamazaki, A., Markevich, A. and H. Munehara. Molecular phylogeny and zoogeography of marine sculpins in the *Gymnocanthus* (Teleostei; Cottidae) based on mitochondrial DNA sequences. Marine Biology, 160: 2581-2589 (2013) (査読有り)

Kagayaki Morishima, Hiroyuki Yoshikawa, Katsutoshi Arai: Diploid clone produces unreduced diploid gametes but tetraploid clone generates reduced diploid gametes in the *Misgurnus loach*. Biology of Reproduction 86(2):33, 1-7 (2012) (査読有り)

Zhao Y, Psenicka M, Fujimoto T, Saito T, Yasui GS, Yamaha E, Arai K.: Motility, morphology, mitochondria and ATP content of diploid spermatozoa from sex-reversed clonal diploid and neo-tetraploid loaches, *Misgurnus anguillicaudatus*. Journal of Applied Ichthyology, 28:1006-1012 (2012) (査読有り)

Kimura, R.M. and H. Munehara: Spawning substrata are important for breeding habitat selection but do not determine premating reproductive isolation in three sympatric *Hexagrammos* species. Journal of Fish Biol. 78: 112-126 (2011) (査読有り)

Koya, Y., Y. Hayakawa, A. Markevich and H. Munehara: Comparative studies of testicular structure and sperm morphology among copulatory and

non-copulatory sculpins (Cottidae: Scorpaeniformes: Teleostei). Ichthyological Research, 58: 109-125 (2011). (査読有り)

[学会発表](計18件)

宗原弘幸:「海産魚で初めて見つかったハイブリッドジェネシス その集団構造と遺伝様式」育種遺伝学会(北大水産学部,2014.3.28)

風間香澄・宗原弘幸:「人為交雑によるアイナメ属雑種発生の再現と遺伝様式」日本水産学会(北大水産学部,2014.3.30)

鈴木将太・荒井克俊・宗原弘幸:「アイナメ属半クローン系統における核型とその遺伝様式」日本水産学会(北大水産学部,2014.3.28)

宗原弘幸・入江雄一郎・鈴木将太・三宅翔太:「アイナメの産卵生態 -なわばり雄の回帰」日本水産学会(北大水産学部,2014.3.28)

入江雄一郎・鈴木将太・宗原弘幸:「臼尻漁港におけるアイナメの繁殖生態」日本水産学会(北大水産学部,2014.3.28)

入江雄一郎・鈴木将太・三宅翔太・宗原弘幸:「アイナメは水温降下で産卵が誘発される」日本水産学会(三重大学,2013.9.21)

荒井克俊・古丸明・宗原弘幸:「はじめに」ミニシンポジウム「水圏におけるハイブリッドとクローン--生態系における役割と応用可能性」日本水産学会(東京海洋大学,2013.3.30)

荒井克俊:「淡水魚における雌性発生クローンとその交雑起源」ミニシンポジウム「水圏におけるハイブリッドとクローン--生態系における役割と応用可能性」日本水産学会(東京海洋大学,2013.3.30)

宗原弘幸:「海産魚で初めて見つかったハイブリッドジェネシス(半クローン)とその集団構造」ミニシンポジウム「水圏におけるハイブリッドとクローン--生態系における役割と応用可能性」日本水産学会(東京海洋大学,2013.3.30)

鈴木将太・荒井克俊・宗原弘幸:「アイナメ属3種およびこれらの雑種の染色体」日本水産学会(東京海洋大学,2013.3.29)

堀田海帆・鈴木将太・風間香澄・木村幹子・宗原弘幸:「ここまで分かった雑種生殖」日本魚類学会(水産大学校,2012.9.24)

安房田智司 魚類の多様な繁殖戦略のさらなる理解に向けて:進化・行動生態学的アプローチ. 日本魚類学会奨励賞 受賞記念講演 日本魚類学会年会,(水産大学校,2012.9.24)

宗原弘幸・堀田海帆:「雑種生殖遺伝子の存在と発現条件」日本進化学会(首都大学2012.8.22)

堀田海帆・入江雄一郎・宗原弘幸:「戻し交配で元通り?アイナメ属雑種生殖系統の母種との交配実験」日本水産学会北海道

支部会(北大水産学部,2011.11.26)

山田綾・神門幸大・村上賢・荒井克俊：  
「核DNAから見たクロノドジョウの  
識別法」日本水産学会北海道支部大会(北  
大水産学部,2011.11.26)

五十嵐理人・堀田海帆・植松孝昌・宗原  
弘幸:「アイナメ系雑種の正体は、雑種生  
殖集団による戻し交配でした」日本魚類学  
会(弘前大学,2011.10.1)

堀田海帆・木村幹子・宗原弘幸:「アイナ  
メ属雑種2系統の起源と形成過程」日本魚  
類学会(弘前大学,2011.10.1)

ZHAO Yan, PSENICKA Martin, FUJIMOTO  
Takafumi, SAITO Taiju, YASUI George  
Shigueki, YAMAHA Etsuro, ARAI  
Katsutoshi: Motility, morphology,  
mitochondria and ATP content of diploid  
spermatozoa from sex-reversed clonal  
diploid and neo-tetraploid loach,  
*Misgurnus anguillicaudatus*. P-203,  
September 8<sup>th</sup> 2011, Budapest, Hungary.  
Abstract book page 140-141 (2011.9.2 ハ  
ンガリー、ブダペスト)

〔図書〕(計2件)

桑村哲生・安房田智司共編 「魚類行動生  
態学入門」2013年11月20日 東海大学出版  
会,1-265

宗原弘幸・後藤晃・矢部衛共編 「カジカ  
類の多様性」2011年12月20日 東海大学出  
版会,1-276

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

宗原 弘幸 (MUNEHARA HIROYUKI)

北海道大学・北方生物圏フィールド科学セ  
ンター・准教授

研究者番号：80212249

### (2)研究分担者

荒井 克俊 (ARAI KATSUTOSHI)

北海道大学・大学院水産科学研究院・教授  
研究者番号：00137902

安房田 智司(AWATA SATOSHI)

新潟大学・自然科学系・助教

研究者番号：60569002

早川 洋一(HAYAKAWA YOUICHI)

国際基督教大学・教養学部・研究員

研究者番号：50384011