



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on Mitochondrial Genome for Phylogenetic Inference and Species Identification in Pectinidae [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	Marin Guerrero, Alan Hertz
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(水産科学)
Dissertation Number	甲第11782号
Issue Date	2015-03-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/58640
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/2.1/jp/
Type	doctoral thesis
File Information	Alan_Marin_Guerrero_Hertz_review.pdf, 審査の要旨



学位論文審査の要旨

博士の専攻分野の名称：博士（水産科学）

氏名：Alan Hertz Marin Guerrero

(アラン ヘルツ マリン グレーロ)

主査	教授	都	木	靖	彰	
審査委員	副査	教授	荒	井	克	俊
	副査	准教授	藤	本	貴	史

学 位 論 文 題 目

Studies on Mitochondrial Genome for Phylogenetic Inference and
Species Identification in Pectinidae

(イタヤガイ科貝類の系統推定と種判別に向けた
ミトコンドリアゲノムに関する研究)

水産有用種であるホタテガイ等を含むイタヤガイ科貝類は約350の現生種をもち、4つのグループ、すなわち、Chramydinae、Palliolinae、Pectininaeの3亜科とAequipectiniの1族にまとめられる。これらではミトコンドリアゲノム上の遺伝子の配置順序が種間で大きく異なり、それらの進化研究は興味深い。また、豊富な化石が報告されているにもかかわらず、系統には不明な点が多く、議論が尽きない。本研究は、イタヤガイ科貝類のミトコンドリアゲノム情報を明らかにし、それらに既報の情報を加えて系統推定を行うとともに、迅速かつ正確な種判別方法を開発したものである。

本学位論文の内容は三章から構成され、まず、第一章で申請者は、*Argopecten purpuratus*、*Pecten maximus*、*Pecten albicans*の三種について、新たにミトコンドリアゲノムを明らかにした。*A. purpuratus*については完全長（16,266bp）が明らかになったが、他2種については調節領域における長い反復配列の存在のため完全長を明らかにすることはできなかった。しかし、これらはおよそ22.6kb、24.8kbの長さをもち、他の種に比べて長かった。以上の3種においてタンパク質をコードする領域はすべて明らかになり、その結果、他の海産二枚貝類と同様にタンパク質をコードする遺伝子は12あるが、*apt 8*遺伝子を欠くこと、また、全長も大きく違うことが判明した。本研究から、Pectininae亜科における特異な遺伝子の配置順序が判明し、それらの情報はイタヤガイ科の亜科間の関係のみなら

ず亜科内の種間の類縁関係を反映した。塩基配列およびアミノ酸配列の情報から最尤法により推定した系統樹により、上記4グループ間の関係が明らかにされた。また、貝殻の形態と分布から、現在同じ *Amusium* 属とされる2種は遺伝的に大きく異なり、本属の分類に問題があることが示された。

第二章では、ミトコンドリアの16S rRNA 遺伝子の5'末端側塩基配列に基づくDNA バーコーディング解析法を検討した。従来、DNA バーコーディングにはCOI 遺伝子5'側の部分配列に基づく、いわゆるFolmer領域が広く用いられてきたが、ホタテガイを含む水産無脊椎動物では、うまく増幅できないことが多く知られている。そこで、新たなDNA バーコーディング法を開発するため、15種のイタヤガイ科貝類について、16S rRNA 遺伝子全長を明らかにした。その結果、5'末端側は3'末端側の二倍以上の種間変異を有することが明らかになった。そこで、イタヤガイ科特異的なプライマーを設計した。この領域の近隣結合法による分析から、検討した本科貝類はすべてDNA バーコーディングによる種判別が可能となった。

第三章では、第二章で明らかになったミトコンドリア16S rRNA 遺伝子の塩基配列から、種特異的なPCRプライマーを設計し、マルチプレックスPCR法により、迅速かつ正確に種判別をする方法を開発した。3'末端側の種間変異は低いので、この領域を用いた種判別は *Mizuhopecten yessoensis*、*Argopecten purpuratus*、*A. irradians* の少数種に限られた。しかし、5'側の高い変異性を用いた新規のPCR法により、産業的に有用な9種のイタヤガイ科貝類を一回のPCR反応のみで、種判別する方法を開発した。*Pecten maximus* と *P. albicans* は増幅断片に1塩基しか差が見られず、一回のPCRで判別できなかったが、制限酵素 *Hae*III を用いて消化することにより、前者では654bpの、後者では286bpと369bpの断片が生じ、明確に種判別することが可能となった。また、以上の手法は生鮮試料や適切に処理されたDNA保存標本についてのみならず、冷凍品、乾燥品、調理品、缶詰等の加工食品においても、応用可能であった。

以上の結果のように、本学位論文はホタテガイ、イタヤガイ、ヒオウギなどの水産重要種を含むイタヤガイ貝類の系統推定法のみならず、正確なDNA バーコーディング、迅速、正確かつ簡便な種判別への応用を提案しており、基礎生物学上重要な知見を提供するばかりか、食品偽装防止等への水産科学技術の応用に寄与するものである。よって、審査員一同は申請者が博士（水産科学）の学位を授与される資格のあるものと判定した。