HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Evolutionary ecological study on lineage longevity of Hexagrammos hemiclonal hybrids: two-way backcrossing, recombination through occasional generation changes and synthesis of renewed hemiclone [an abstract of dissertation and a summary of dissertation review]
Author(s)	鈴木, 将太
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(環境科学)
Dissertation Number	甲第13312号
Issue Date	2018-09-25
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/71952
Rights(URL)	https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/
Type	doctoral thesis
File Information	Shota_SUZUKI_abstract.pdf, 論文内容の要旨

Hokkaido University Collection of Scholarly and Academic Papers : HUSCAP

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士（環境科学）　　氏 名 鈴木 将太

学 位 論 文 題 名

Evolutionary ecological study on lineage longevity of *Hexagrammos* hemiclonal hybrids: two-way backcrossing, recombination through occasional generation changes and synthesis of renewed hemiclone

（アイナメ属半クローン雑種の系統寿命に関する進化生態学的研究：二方向の戻し交配、間欠的組換え世代の出現と半クローン世代の更新）

アイナメ属野外雑種は、スジアイナメ（*Hexagrammos octogrammus*）を母種ゲノムとした半クローンで、アイナメ(*H. otakii*)もしくはクジメ(*H. agrammus*)と交配することが知られている。クローンあるいは半クローン生物は、有害遺伝子の蓄積（Muller's ratchet）や寄生生物からの攻撃に対処できず（Red Queen hypothesis）、系統寿命は短いと考えられてきたが、近年の研究では想定を超える系統寿命が提示されている。しかし、（半）クローン生物の寿命が予測よりも長命である機構を解明した研究はなかった。

これまでの研究でアイナメ属雑種の半クローン性は、親種間の不和合性（遺伝的距離）だけでなく、分子的基盤の存在によって発現することが明らかにされた。そこで本研究では、半クローンの長命性の機構を解明することを目的として以下の観察と実験を行い、半クローンが母種とも交配し、組換え世代を介して、有害変異が蓄積した半クローンゲノムを更新することで、長く系統を維持できることを実証した。

1）野外雑種及び飼育系統の核型

アイナメ属野外雑種は半クローン生殖を行うが、人工的に作出したF_1は組換えであることから、遺伝様式の差が核型に表れていることが考えられた。そこで交雑に関わる3種と、野外雑種及び人為的に作出した様々な雑種について染色体を観察し、それらの相違を検索するとともに、遺伝様式と核型との相関を調べた。F_1の核型は両親種の中間を示した一方で、野外雑種には2～4本の大型m染色体の出現、st~t型染色体の4～8本不足及び1～2本の微小染色体が観察された。これらの大型m染色体は、2本の染色体が接合するロバートソン型転座によるものと判断された。ロバートソン型転座は野外雑種とスジアイナメ雄とを交配した、スジアイナメゲノムを2対持つ個体（戻しスジアイナメと呼び、BC-*Hoc*と略記する。）でも確認され、半クローンゲノムを検出する染色体マーカーになり得ることが示された。しかし、ロバートソン型転座は、戻しスジアイナメをスジアイナメとの交配させた子および孫世代では、分析したすべての個体で確認されなかった。このことから、同種のゲノム間では配偶子形成の際、相同染色体が対合し、ロバートソン型転座を解消することが示唆された。

2）染色体マーカーを用いた野外における戻しスジアイナメの検出

戻しスジアイナメは、半クローンゲノムをスジアイナメの遺伝子プールに戻す、最初の組換え世代である。そこで、スジアイナメ縄張りから採集された卵塊から染色体標本を作成し、ロバートソン型転座を野外雑種が産出した卵塊のマーカーとして用い、戻しスジアイナメを検出した。その結果、約5パーセントの卵塊が雑種由来の卵であることが分かった。クジメ縄張りにおける雑種率が約7%であったことを考慮すると、野外雑種の雄選択はほとんど行われておらず、双方向戻し交配が起こっていることが示された。

3) F_2 BC-*Hoc*を用いた有害変異の蓄積状態の推定

戻しスジアイナメを同系交配し、半クローンゲノム由来の遺伝子をホモに持つ個体（F_2 BC-*Hoc*）を作出し、成熟後採卵および採精した。それぞれに純粋種の精子および半クローンの卵と人工授精を施し、卵の受精率を調べた。また精子については、DNA量も測定し純粋種及びF1と比較することで減数分裂を検証した。F_2 BC-*Hoc*の卵と純粋種精子の受精率は12卵塊中8卵塊で90%を超え、残りも80%以上あったが、すべての卵塊で奇形が発生し、数個体の孵化稚魚が得られたのみであった。F_2 BC-*Hoc*の精子と半クローン卵の受精率は12卵塊中5卵塊で90%を超えたが、最も低い卵塊では56%であった。精子のDNA量は、20個体中15個体で二倍性の精子が検出された。雄個体や両性個体の出現が確認されているF_1の精子では、四倍性精子が検出された。これらの異型精子の出現は、ゲノム倍加後に核分裂が行われない減数分裂不全を示唆する。以上から、半クローンゲノム由来の遺伝子をホモに持つ個体から、正常な子を作ることが困難であることが示され、アイナメ属雑種の半クローンゲノムで有害変異の蓄積が進行していることが示された。

4) 新規半クローン系統の作出

戻しスジアイナメ雄をもとに、半クローンを新規に作出する交雑実験を行った。先ず、戻しスジアイナメ雄にスジアイナメ雌を交配させ、半クローンゲノムを組換えた系統（*Hoc* × BC-*Hoc*）を作出した。この系統をクジメと交雑させた雑種（*Hoc* × BC-*Hoc*）×*Hag*の遺伝様式を、その子孫の遺伝型から決定した。遺伝様式の分析には、マイクロサテライトマーカー7遺伝子座を用いた。

（*Hoc* × BC-*Hoc*）×*Hag* 22個体の遺伝様式を調べるため、クジメまたはスジアイナメを用いた人工授精を行った。その結果、5個体7卵塊が孵化したが、残り17個体の卵はすべて発生途中で死滅した。死滅した卵塊では、不等卵割や胚の発育不全といった異常が見られた。孵化稚魚が得られた5個体の遺伝様式は、3個体が組み換え、2個体が半クローンであった。以上より、組み換え系統から異なるmtDNAハプロタイプを持った半クローン雑種を作出できた。また、一腹すべての個体が半クローンとならないことは、半クローンの遺伝的基盤が1遺伝子座に全てあるのではなく、複数の遺伝子座にまたがることを示唆する。このことは、スジアイナメが半クローンの遺伝子を全て保有した時、クジメと交雑し、その遺伝子をセットで持った卵から、有害変異の蓄積量を減らした新規の雑種系統が出現することを示唆する。

半クローンのポエキリオプシス雑種などでは、想定された系統寿命より遥かに長い期間存在していることが示されているが、本研究によって半クローン集団であっても、1)雑種は両親種のどちらとも戻し交配を行う双方向戻し交配で、2)組換え世代を経由し、3)再び交雑することで新たな半クローン系統を生み出すことができることが示された。この結果は、アイナメ属雑種において、複数のmtDNAハプロタイプの半クローン系統が存在し、半クローンゲノムにも多型があることなど、野外の集団構造と一致しており、本研究により、半クローン生物の長命性の機構の一つが実証できた。