

氏名	深沢 佑樹
博士の専攻分野の名称	博士（学術）
学位記番号	医工博甲 第398号
学位授与年月日	平成29年3月23日
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当
専攻名	環境社会創生工学専攻
学位論文題目	Population Genetic Analysis and Molecular Phylogenetic Analysis of Chemosymbiotic Bivalves Inhabiting Whale Bones (鯨骨遺骸に生息する化学共生系二枚貝類の集団遺伝学的解析及び分子系統解析)
論文審査委員	主査 教授 宮崎 淳一 教授 御園生 拓 教授 風間 ふたば 准教授 岩田 智也 准教授 森 一博 准教授 野田 悟子

学位論文内容の要旨

地球表面の70%は海であり、その体積の95%は水深200m以深と定義される深海である。そのため、地球の大部分は深海であるといえる。また、深海には多くの謎が残されており、深海の謎の解明は、地球を理解することに繋がる。本研究では、地球の理解をより一層深めるため、深海の謎を解明することを目指した。

1977年に深海の熱水噴出孔で高密度に生物が生息する化学合成生物群集が発見された。この発見により、太陽光が届かず、光合成産物に乏しい深海では、生物はまばらにしか存在しないという従来の考え方が覆されることになった。その後、1980年代に、深海の湧水域、鯨骨遺骸にも化学合成生物群集が発見された。化学合成生物群集は、メタンや硫化水素を酸化することでエネルギーを生産する化学合成細菌を一次生産者としている。化学合成生物群集の発見以後、熱水域、湧水域、沈降有機物（鯨骨遺骸、沈木）の3種類の生息地の関連性が研究され、「地理的ステップストーン仮説」と「進化的ステップストーン仮説」の2つの仮説が提唱された。前者はSmithら（1989）により提唱され、3種類の生息地が、互いに化学合成生物群集を構成する生物の分散の中継地点となっているとす

る仮説である。後者は Distel ら (2000) により提唱され、浅海生の生物が、沈降有機物を利用することで深海の環境に適応する能力を獲得したとする仮説である。本研究では、イガイ科二枚貝類を用いて、「地理的ステッピングストーン仮説」の検証を行い、キヌタレガイ科とハナシガイ科二枚貝類を用いて、「進化的ステッピングストーン仮説」の検証を行った。

「地理的ステッピングストーン仮説」を検証するため、イガイ類のヒラノマクラ *Adipicola pacifica* とゲイコツマユイガイ *Benthomodiolus geikotsucola* のミトコンドリア NADH デヒドロゲナーゼサブユニット 4 (ND4) 遺伝子の塩基配列 (それぞれ、491bp、402bp) を基に、集団遺伝学的解析を行った。野間岬沖、南西諸島海溝、相模湾の 3 地点間から採取されたヒラノマクラの個体群の遺伝的分化 (F_{st}) の値はほぼ 0 となり、遺伝子流動 (Nm) の値は無限大となった。この結果から、ヒラノマクラがこれら 3 地点を行き来していることが示され、ヒラノマクラの高い分散能力が示唆された。

野間岬沖のヒラノマクラは 2003 年、2004 年、2005 年、2007 年、2010 年で高いハプロタイプの共有性がみられ、また、2003 年と 2010 年のヒラノマクラの個体群間で有意差が見られたものの、他のどの年度のヒラノマクラの個体群同士の組み合わせでも、 F_{st} の値はほぼ 0 となった。鳥島海山から採取されたゲイコツマユイガイにおいても、1993 年と 2005 年で高いハプロタイプの共有性がみられ、1993 年と 2005 年間のヒラノマクラの個体群間の F_{st} の値はほぼ 0 となった。この結果から、野間岬沖のヒラノマクラと鳥島海山のゲイコツマユイガイの遺伝的構造には経年変化がほとんど見られないことが示された。このことは最初に侵入してきた個体から成立した集団が、同系交配によって、遺伝的構造を保持してきた、あるいは未知の大きな集団から安定した遺伝的構造をもつ個体が繰り返し侵入してきたことを示唆する。後者の場合、ヒラノマクラとゲイコツマユイガイが高い分散能力をもつことを示唆している可能性がある。

沈降有機物、深海の熱水域や湧水域に生息する生物は、時として互いに数百 km 離れることもある生息地間を移動・分散する必要があるため、高い分散能力は「地理的ステッピングストーン仮説」を支持する前提条件である。それゆえ、沈降有機物上に生息するイガイ類が高い分散能力をもつことを示した本研究は、この仮説を支持した。

「進化的ステッピングストーン仮説」を検証するため、キヌタレガイ類とハナシガイ類を用いて、核 18S リボソーム RNA (18S rRNA) とミトコンドリアチトクローム c オキシダーゼサブユニット I (COI) 遺伝子を用いた系統解析を行った。18S rRNA 遺伝子、COI 遺伝子、18S rRNA+ COI 遺伝子の塩基配列を基にした 3 種類の系統樹を、近隣結合法、最大節約法、ベイズ法を用いて構築した。キヌタレガイ類では、18S rRNA+ COI

(1300+300bp) の結合系統樹で、*Acharax* 属と *Solemya* 属が各々単系統群を形成し、*Acharax* 属は Subgroup 1、2、3 の 3 つの単系統群に分割された。*Solemya* 属と *Acharax* 属の Subgroup 3 は浅海に生息する種、鯨骨遺骸に生息する種、深海の熱水域・湧水域に生息する種の順番で分岐し、「進化的ステッピングストーン仮説」を支持した。

ハナシガイ類では、18S rRNA+ COI (793+317bp) の結合系統樹で、*Thyasira* 属+*Maorithyas* 属が、*Axinopsis* 属+*Mendicula* 属の単系統群に対して側系統群を形成した。18S rRNA (793bp) の系統樹では、*Adontorhina* 属、*Axinulus* 属、*Leptaxinus* 属が、*Axinopsis* 属と *Mendicula* 属とともに単系統群を形成した。*Thyasira* 属+*Maorithyas* 属の側系統群は、共生細菌と 2 枚の鰓葉をもち、*Adontorhina* 属+*Axinopsis* 属+*Axinulus* 属+*Leptaxinus* 属+*Mendicula* 属の単系統群は、共生細菌をもたず、1 枚の鰓葉をもつ。本研究の結果では、ハナシガイ類は浅海に生息する種、鯨骨遺骸に生息する種、深海の熱水域・湧水域に生息する種の順番で分岐せず、「進化的ステッピングストーン仮説」は支持されなかったが、鯨骨遺骸に生息するハナシガイ類は 1 個体しか用いることができなかったため、この仮説を否定するには至らなかった。

本研究に基づいて、我々は 2 つの新たな仮説を提唱する。1 つ目は、「進化的分散能獲得仮説」であり、これは生物が高い分散能力を化学共生、メタンや硫化水素の毒性への耐性、高水圧への耐性、低水温への耐性と同様に、沈降有機物上で進化的に獲得したとする仮説である。先行研究 (Kyuno ら 2009) で、深海生イガイ類は高い分散能力をもつことが示されている。この仮説を検証するため、浅海のイガイ類の分散能力を調査する必要がある。浅海生イガイ類の分散能力が低ければ、高い分散能力は沈降有機物上で獲得されたことになり、この仮説が支持される。2 つ目は、「南極大陸仮説」であり、これは南極の大陸棚に生息する生物が、棚氷に押し出されることによって深海へ侵入し、その中で深海の環境に適応できたものが、世界中へ広まったとする仮説である。この仮説は、「進化的ステッピングストーン仮説」以外で、生物が深海の環境へどのように進化し、適応していったのかを説明することができる唯一の仮説である。この仮説を検証するため、南極周辺の高緯度地域から採取されたキヌタレガイ類とハナシガイ類を用いた系統解析を行う必要がある。

論文審査結果の要旨

1970年代に細菌の生産するエネルギーを拠り所とする化学合成生物群集が深海に発見されて以来、深海の研究は活性化し、多くの事実が明らかになってきたが、まだ数々の謎が残されている。その一つに「深海生物はどこから来て、どこに行くのか」という謎がある。本論文では、それ自体は光合成生物群集でありながら、生命を全うして深海に沈むと化学合成生物群集を養う鯨に注目し、鯨遺骸を介した深海生物の生き様を解明しようと試みている。具体的には、鯨遺骸が深海の化学合成生物群集の移動の中継地点となりうるという、現在の鯨遺骸の生態的な役割に注目した「地理的ステップストーン仮説」と生物が浅海から深海に進出する過程で鯨遺骸が中継地点となったという、過去の鯨遺骸の進化的な役割に注目した「進化的ステップストーン仮説」の検証を行った。

まず、「地理的ステップストーン仮説」が成立するための前提条件である、鯨遺骸に生息する生物の高い分散能力を明らかにするため、イガイ類二枚貝を用いてミトコンドリア遺伝子の塩基配列に基づく集団遺伝学的な解析を行った。既に深海の熱水域や湧水域のイガイ類の分散能力は高いことは示されているが、本研究によって初めて鯨遺骸に生息するイガイ類が高い分散能力をもつことが明らかとなり、仮説の前提条件が証明された。

次に、「進化的ステップストーン仮説」が成立することが示されているイガイ類とは異なる生物においてもこの仮説が追証されるのかを明らかにするため、キヌタレガイ類二枚貝とハナシガイ類二枚貝を用いてミトコンドリアと核の遺伝子の塩基配列に基づいて系統解析を行った。キヌタレガイ類とハナシガイ類はイガイ類と異なり、浅海種でも化学合成細菌と共生しているが、本研究によってキヌタレガイ類の一部でもこの仮説が成り立つことが証明された。

将来この研究成果を発展させるために、深海生物の採取は困難ではあるが、より多くのサンプルを用いての検証が必要なこと、さらに洗練された方法を用いてデータを分析することが必要なこと等の指摘があったが、本論文は2つの仮説を検証し、「深海生物はどこから来て、どこに行くのか」という謎の一端を解明しており、これまでに報告の無い新規の科学的知見を表しているため、博士論文として十分な内容を含んでいると判断される。

また、深沢佑樹氏は、欧文論文2報 (Open Journal of Marine Science 5, 295-305, 2015; Open Journal of Marine Science 7, 124-141, 2017) を筆頭著者として発表しており、博士取得のための基準を満たしている。これに加え、欧文論文2報 (New Entomology 65, 81-89, 2016; Journal of Water Resource and Protection 9, 238-253, 2017) の共著者となっている。また、日本動物学会第83回及び85回大会、平成24年度日本動物学会中部支部大会

で研究発表を行い、学会ではないが深海研究の分野では学会に匹敵する重要性がある Blue Earth にて 2014 年から 2016 年まで 3 回の研究発表を行っている。さらに、平成 27 年度山梨県衛生環境研究所研究成果発表会において地域貢献型研究の発表を行っている。これらの発表は全て筆頭演者として行っている。したがって、深沢佑樹氏は、優れた内容の学位論文を完成させていること、博士課程の学生としては申し分ない業績をあげているとともに、研究成果の広報活動も積極的に行っていることから、博士号を所得する資質は十分にあると判断される。

学位論文の最終審査（公聴会）において深沢佑樹氏による約 40 分間の学位論文の内容の紹介の後、参加者全体で約 20 分間質疑応答を行い、全ての質問に対しほぼ適切な応答が深沢佑樹氏から得られた。その後、審査員と深沢佑樹氏でさらに約 30 分間最終試験として質疑応答を行い、方法の妥当性、結果の信憑性、博士論文の 2 つの内容の関連性、本研究の意義や貢献等詳細な質疑応答が行われた。さらに研究成果を発展させるために今後の課題として位置づけられる内容もあったが、概ね適切な応答が深沢佑樹氏より得られたため、審査員全員によって合格と判定された。