OUKA
The University of Osaka
Institutional Knowledge Archive

Title	Molecular phylogenetic analysis of cuttlefishes (Sepiidae, Cephalopoda, Mollusca) based on mitochondrial genes
Author(s)	Yoshida, Masa-aki
Citation	大阪大学, 2009, 博士論文
Version Type	VoR
URL	https://hdl.handle.net/11094/23463
rights	
Note	

The University of Osaka Institutional Knowledge Archive : OUKA

https://ir.library.osaka-u.ac.jp/

The University of Osaka

【58】

氏名	吉田真明（よしだまさあき）
博士の専攻分野の名称	博士（理学）
学位記番号	第２２６９２号
学位授与年月日	平成21年３月24日
学位授与の要件	学位規則第４条第１項該当 理学研究科生物科学専攻
学位論文名	Molecular phylogenetic analysis of cuttlefishes (Sepiidae, Cephalopoda, Mollusca) based on mitochondrial genes （ミトコンドリア遺伝子を用いたコウイカ類の分子系統解析）
論文審査委員	（主査） 教授 常木和日子 （副査） 教授 西田 宏記　准教授 古屋 秀隆

論文内容の要旨

コウイカ類は現生の頭足類の中で唯一、炭酸カルシウムでできた内甲をもつことで特徴づけられる一群である。現生種は主に内甲の形をもとに、コウイカ科３属（*Sepia*、*Sepiella*、および *Metasepia*）に分類されている。本研究では日本産コウイカ類 11 種を各地の漁港や市場で入手し、これらの標本からミトコンドリアゲノムの 16S、12S rRNA、および cytochrome *c* oxidase subunit I (COI)遺伝子の部分配列（1,573bp）を決定した。これらを外群であるヤリイカ *Loligo bleekeri* と共にひとつのデータセットにまとめ、近隣結合法、最節約法、および最尤法を用いて分子系統解析を行った。その結果、（１）コウイカ類は従来の分類とは異なる４つのクレードに分けられること、（２）これまで単一のグループとされた *Sepia* 属の単系統性を支持しないこと、（３）炭酸カルシウムでできた内甲という堅固な形態が系統分類において鍵形質とならずコウイカ類の進化の過程で容易に変化したことが明らかになった。

日本産コウイカ類に見られた上記の結果が、海外の種を含めたコウイカ類一般にあてはまるかどうかを調べるため、さらにアジア近海から１０種、東大西洋・紅海産３種のコウイカ類を入手した。また、新たな遺伝マーカーとして cytochrome *b* (Cyt*b*)および NADH dehydrogenase subunit 5 (ND5)の部分配列を決定した。COI、Cyt*b* および ND5 の配列(2,200bp)を一つのデータセットにまとめ最節約法、最尤法、およびベイズ法を用いて分子系統樹を作成した結果、コウイカ類は４つのクレードに分けられ、先の解析より高い解像度でグループ間の関係が示された。*Sepiella* 属のシリヤケイカは *Sepia* 属のヨーロッパコウイカと姉妹群をつくった。*Sepia* 属のコブシメはヨーロッパコウイカに近縁であると考えられてきたが、この解析では *Metasepia* 属のハナイカと姉妹群をつくった。本系統解析から、*Sepia* 属は単一のグループではなく、少なくとも４つのクレードを含む側系統群であることが示唆された。また本研究は、*Sepia*、*Sepiella*、および *Metasepia* の３属を分けるのに用いられた内甲の形態の違いは系統関係を反映していないことを示しており、分類の見直しを迫るものである。

コウイカ類の系統分類において、Khromov らは形態形質にもとに *Sepia* 属を 6 つの種群に分けた。このうち *Doratosepion* 種群に分類された種は、本研究の分子系統解析とよく一致し単一のクレードを形成した。*Acanthosepion* 種群も同様に単一のクレードに含まれた。しかし、Khromov らの重視した触腕の吸盤の列数やサイズの違いは、分子系統の結果と一致しなかった。本研究で走査型電子顕微鏡を用い甲の横断面の構造を観察した結果、*Doratosepion* 種群にのみ膜状の支持構造が見られないことを発見した。この形質は甲の耐圧性と関連していることが考えられ、*Doratosepion* 種群は生態的にも他のコウイカ類とは異なった系統群であることを支持する。これらの特徴をもとに *Doratosepion* Rochebrune, 1884 を有効属として提唱する。

また、本研究で、世代時間が短く飼育が容易であるヒメイカを用いて、頭足類の形態進化に関与したと推測される遺伝的メカニズムについても解析を行った。ヒメイカ胚において、形成中の血管に血管内皮細胞増殖因子レセプター(VEGFR)が発現することを見いだした。内皮細胞をもつ閉鎖血管系は他の軟体動物には見られない頭足類の派生的な特徴であり、VEGFR の発現は頭足類の血管が脊椎動物と似たメカニズムで形成されることを示唆している。

論文審査の結果の要旨

本論文は軟体動物頭足類の進化発生を扱っている。まずコウイカ類について、その系統進化を分子系統学的に明らかにした。ついでヒメイカを用いて、頭足類の血管形成に係る分子機構を解析した。

コウイカ類はイカ類の中の大きな１グループであり、水産上も重要なグループである。その系統進化に関しては、これまで主に甲の形態や、触腕上の吸盤のサイズや数などをもとに推定されてきた。本研究ではインド西太平洋種を中心に、

多くのコウイカ類において、複数のミトコンドリヤ遺伝子の塩基配列をもとに、分子系統学的解析を行った。解析手法、信頼度の検定には、特に注意が払われている。その結果、コウイカ類は４群に分けられることが明らかになった。しかし、これら４群は、これまで認められてきた３属（*Sepia, Metasepia, Sepiella*）との明瞭な対応関係を示さなかった。本研究での分子系統解析は十分に吟味されたものであり、コウイカ類の分類体系の再検討を要請するものであろう。しかし、*Sepia* 属の中の *Doratosepion* 群は、分子系統学的にも単系統性を示しており、また本論文であわせ行われた甲の微細構造の研究でも、内部に膜状構造がみられないという共通の特徴を持っていた。このグループに対して古く使われていた属名 *Doratosepion* が有効であることを示す結果である。

頭足類は極めて発達した体制を示す無脊椎動物であり、軟体動物中では唯一の閉鎖血管系を持つグループでもある。どのような分子機構を背景として閉鎖血管系が形成されたのか、同じく閉鎖血管系を有する脊椎動物との対比において興味が持たれるが、本論文では実験動物として適当な小形種ヒメイカを材料として、脊椎動物で血管形成に係っている血管内皮細胞増殖因子レセプター（VEGFR）を見出し、またヒメイカ胚においてその発現パターンを明らかにした。

以上は、頭足類、とりわけイカ類における進化発生に関する研究として高く評価されるものである。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分価値あるものと認める。