マイマイ（柄眼目）の分類にはどの遺伝子領域が有効か？

～神戸を模式産地とする 3 種を中心とした分子系統樹の作成～

兵庫県立神戸高校総合理学科 2 年　飛鳥未歩　桐谷茉那　桐谷有香　土田仁美　前田聖和

＜背景＞

・従来の表現型によるマイマイの分類は基準があいまいである。
・本校 66 回生の研究における mtDNA の COI 領域の系統樹で、形質の大きく異なる二種が同じクレードに位置していた。

マイマイの種間関係を調べるのに COI は適していないのでは？？

＜目的＞

・COI 及び 16S 領域についての系統樹を作成し、正確な種の系統解析方法を提案する。
・神戸を模式産地とするマイマイの遺伝的位置づけを明らかにする。

＜実験方法＞

・軟体部断片から DNA を抽出し、COI 及び 16S の遺伝子を PCR 法を用いて増幅した。
・シーケンス後、COI は解析可能であった 39 個体と 66 回生の研究より引用した 87 個体、16S は解析可能であった 32 個体と Genbank より引用したクチベニの塩基配列について近隣結合法、最大節約法を用いて系統樹を作成した。

表 1　種内の置換数

	ハリマ	ナミ	クチベニ	オオケ	コウベ	ニッポン
COI(塩基)	2	22	25	46	11	6
COI(アミノ酸)	1	1	3	3	3	0
16S（塩基）	6	29	―	13	50	74

表 2　種間の COI におけるアミノ酸置換数(右上)
16S における塩基置換数(左下)

	ハリマ	ナミ	クチベニ	オオケ	コウベ	ニッポン
ハリマ		8	11	21	10	7
ナミ	112		9	20	4	1
ベニ	144	153		21	11	8
オオケ	194	199	186		21	19
コウベ	239	241	240	209		3
ニッポン	266	264	273	239	272	

＜系統樹の信頼性の検討＞

COI … アミノ酸を指定し、保存性が高い領域

→変異の起きやすい範囲が限られ、科や属の異なる種の比較では正確な結果が得られなかった。
近縁な種であれば精度の高い系統解析が可能。

16S …塩基配列の変化が起きやすい領域

→変異が蓄積されやすく、大きく形質の異なる種が同じクレードに位置することはなかった。
科や属の異なる種の系統解析において有効。

マイマイにおいて属を超えた種の系統解析を行う際は、COI、16S の異なる 2 つの領域の併用が有効！！

＜参考文献＞

・Inoue et al.2013「神戸周辺に生息するマイマイ属のミトコンドリア DNA 系統解析いまだ知られざるカタツムリの近縁関係を解明する」
・ Hirotaka Nishi and Teiji Sota et al. 2005 “Phylogeographic Study of the Land Snail *Euhadra* in Chugoku District Based on Analysis of Mitochondrial DNA Sequences”

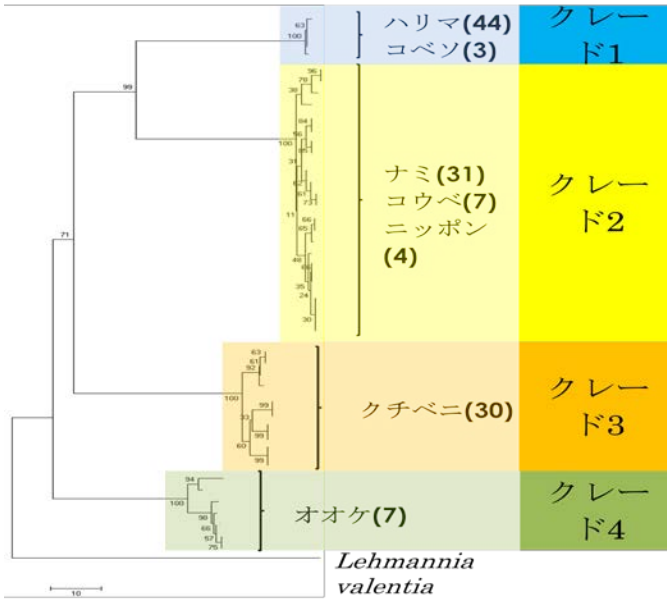

図 1　COI 系統樹　近隣結合法

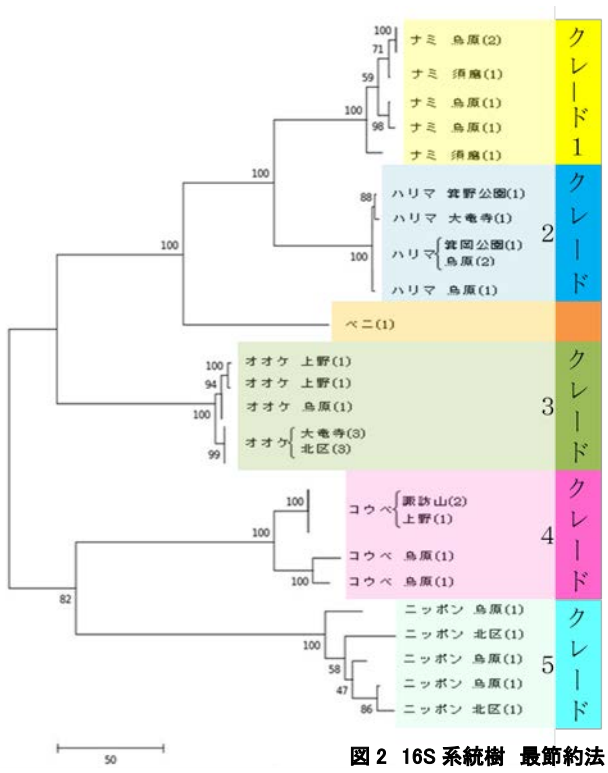

図 2　16S 系統樹　最節約法

神戸を模式産地とする 3 種について

《オナジマイマイ科オオベソマイマイ属》

オオケマイマイ

オオケマイマイ

外部形態もコウベマイマイよりマイマイ属に類似
種間 16S 塩基置換数　マイマイ属＜コウベマイマイ
同属のコウベマイマイよりマイマイ属に遺伝的に近いのではないか

コウベマイマイ

コウベマイマイ

オナジマイマイ科の中で最も早く分化
地域ごとに分化が進む
殻が厚く、小型で同属他種と大きく異なる外部形態
オオベソマイマイ属他種から遺伝的に離れている

《オナジマイマイ科マイマイ属》

ハリママイマイ

種内塩基置換数 6 種内で最小　最近分化した種ではないか