

# 神戸市近辺に生息するハナダカダンゴムシの DNA 解析

兵庫県立神戸高等学校 総合理学科 2年 阿南梨紗 越智航 河合嘉亮 松原羽矢 野柳優記 柳口弥生

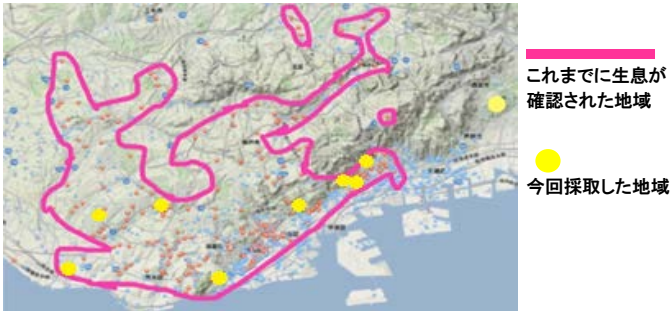
ハナダカダンゴムシは1998年に神戸市、横浜市で発見され、他に富山県、群馬県、大津市でしか発見されていない希少な種である。当時詳しく研究されなかったため侵入経路が判明していない。我々は神戸市とその周辺のダンゴムシを採集し、ハナダカダンゴムシの生息分布について調べた。また、ミトコンドリア DNA の16S領域についてオカダンゴムシと同様に、ハナダカダンゴムシにも違いが見られるのではないかと考え、PCR法で増幅し、シーケンスによりその塩基配列の一部を明らかにするとともに、それらを遺伝子バンクにある世界のハナダカダンゴムシとオカダンゴムシの塩基配列と比較し近縁関係を示す分子系統樹を作成し、侵入したハナダカダンゴムシの系統上の位置を明らかにすることを試みる。

## 方法

1. 個体の採取(灘区、中央区、長田区、西区、明石市、西宮市、芦屋市、宝塚市)
  2. 種の同定及び雌雄の判断
- |          | オカダンゴムシ | ハナダカダンゴムシ       |
|----------|---------|-----------------|
| 頭部中央尾の発達 | していない   | している<br>前方に突き出る |
| 尾節       | 短い      | 長い              |
| 艶        | あり      | 無し<br>白っぽい斑点を持つ |
| 体        | 丸い      | 平べったい           |
| 丸まったとき   | 綺麗な球状   | 楕円形             |
3. 足からの DNA 抽出  
アルコール(70%)で固定後、抽出・単離した。
  4. PCR法による16S領域の増幅  
プライマーに16SAR(CGCCTGTTTAACAAAACAT)と16SBR(CCGGTCTGAACTCAGATCATGT)を用いた。(480bp)
  5. 塩基配列の同定  
増幅した DNA を精製し、塩基配列を確定した。
  6. 系統樹の作成(neighbor-joining method 法)

## 結果

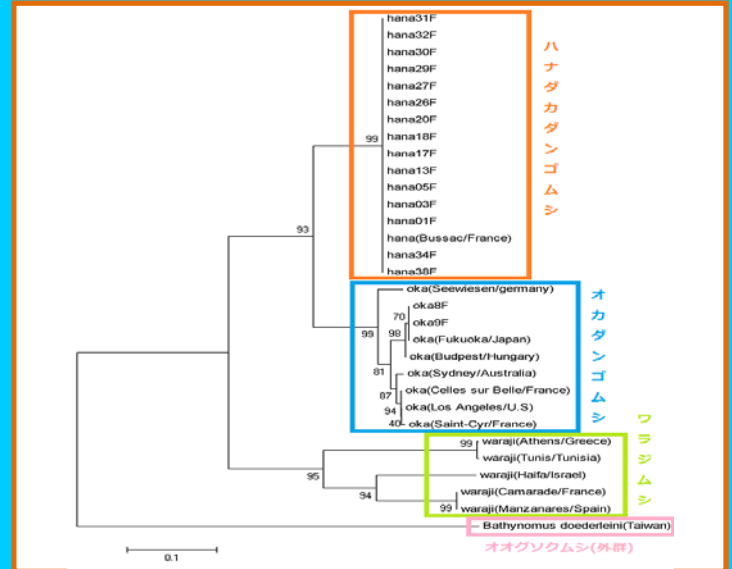
今回我々は9地点でハナダカダンゴムシを発見した。兵庫県内では神戸市東灘区以西にのみ生息しているとされていたが、西宮市の甲山森林公園でもハナダカダンゴムシの採取に成功した。



また、シーケンスの結果それらのハナダカダンゴムシ全ての塩基配列が一致し、Genbank の塩基配列と比較したところフランス(Poitiers)のハナダカダンゴムシの塩基配列と同一のものであると判明した。これらと Genbank に報告されていたオカダンゴムシ、ワラジムシ、外群としてオオグソクムシの塩基配列を使用して系統樹を作成した。

## 参考文献

1. Tang YW, Ellis NM, Hopkins MK, Smith DH, Dodge DE, Persing DH.: Comparison of phenotypic and genotypic techniques for identification of unusual aerobic pathogenic gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol.* ;36(12): 3674~3679, 1998
2. Hall L, Doerr KA, Wohlfiel SL, Roberts GD.: Evaluation of the MicroSeq system for identification of mycobacteria by 16S ribosomal DNA sequencing and its integration into a routine clinical mycobacteriology laboratory. *J Clin Microbiol.* 41(4): 1447~1453, 2003.
3. 種生物学会 2010 「外来生物の生態学」
4. 宮田 隆 2010 新しい分子進化学入門



## 考察

我々は以下のような二つの前提を挙げ、ハナダカダンゴムシの神戸への侵入経路と分化の過程について考察した。

前提 1. ハナダカダンゴムシの16S領域について、世界各地に生息している全ての集団で塩基配列が同一である場合。

それぞれの地域に広まってから塩基置換が起こるほど十分に時間が経過していないと考えられるので、最近、特定の地域に生息していたハナダカダンゴムシが世界中に急速に生息域を広げたと考察した。

前提 2. ハナダカダンゴムシの16S領域について、世界各地に生息している集団ごとに塩基配列が異なる場合。

ハナダカダンゴムシの塩基配列が全て一致していたことから、フランスや日本、それと同じ系統のハナダカダンゴムシが生息している地域のみから神戸に侵入してきて、神戸に侵入してからそれほど時間がたっていないと考察した。

前提 2 が正しいとすると、ハナダカダンゴムシはフランスや日本、フランスと同じ系統のダンゴムシが生息している地域からのみ神戸に侵入したことになる。しかし、日本への侵入経路は貿易などの人為的なものとしか考えにくく、現在船や飛行機などの交通手段の発達により、国際的に交易が盛んになっており、神戸には神戸港という貿易港があるので、ある一定の地域以外から全く侵入していないということは考えにくい。よって私たちは前提 1 が有力だと考えた。

ここで我々が作成した系統樹から、ハナダカダンゴムシはオカダンゴムシと近縁な種であると分かる。よって我々は前提 1 に基づいて、ハナダカダンゴムシはオカダンゴムシから最近分化した種であり、一つの地域で留まった後、交通手段の発達のためにフランスと日本を含む世界中の各地域に急速に広まったのではないかと考えた。

今後世界のより多くの地域で塩基配列が明らかになれば、ハナダカダンゴムシについてより詳しい事実が分かるようになるだろう。

