

研究テーマ：DNA 情報に基づく絶滅危惧生物の効率的な系統保存と資源活用	
研究代表者（職氏名）：教授・藤井 保	連絡先：県立広島大学 人間文化学部 健康科学科 E-mail：fujii@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者（職氏名）：教授・菅原 芳明（県立広島大学人間文化学部健康科学科） 教授・住田 正幸（広島大学大学院理学研究科） 助教・倉林 敦（広島大学大学院理学研究科） 准教授・浮穴和義（広島大学大学院総合科学研究科） 技術員・大海昌平（奄美市農林課）	

日本で最も美しいと言われるイシカワガエル (*Odorrana ishikawae*) は、奄美大島と沖縄本島の固有種で個体数が年々減少しており、鹿児島県と沖縄県で天然記念物に、環境省レッドリストで絶滅危惧種 IB 類に指定されている。従来の研究から、両島の個体群の間には、形態・核型・生態的特徴における差異が示唆されている (図 1)。



奄美大島産「普通」



沖縄本島産

図 1. イシカワガエル成体（野外雌個体）

最近、奄美大島内において、普通個体とこれと区別できる大型個体（以下、「普通」及び「大型」と略記）の存在が示唆されている。本重点研究では、主要な目標の 1 つとして本種の効率的な保全を目指しているが、本年度は、その一環として、本種の種内分化の実態を解明するため、奄美大島の「大型」と「普通」及び沖縄本島産の計 48 個体を用いて、形態観察、交雑実験、アロザイム及びミトコンドリア DNA 分析を行った。その結果、奄美産の「普通」と「大型」及び沖縄産との間には、頭胴長などの外部形態形質において明瞭な差の存在が判明した。

次に、交配後隔離の有無を確認するため、奄美産の「普通」と「大型」、及び沖縄産との間で交雑実験を行ったところ、奄美産と沖縄産との雑種は正常に発育する一方、奄美産の「大型」雌と「普通」雄との雑種では致死になる場合があった。また、アロザイム及びミトコンドリア DNA 分析では奄美産と沖縄産とは大きく分化しており、

奄美産の「大型」と「普通」の間にはアロザイム分析で僅かな相違が認められた。ミトコンドリア DNA の分析でも奄美産は 2 つのタイプに分かれ、その一方は主に「大型」に対応し、もう一方には「大型」と「普通」の双方が含まれていた (図 2)。

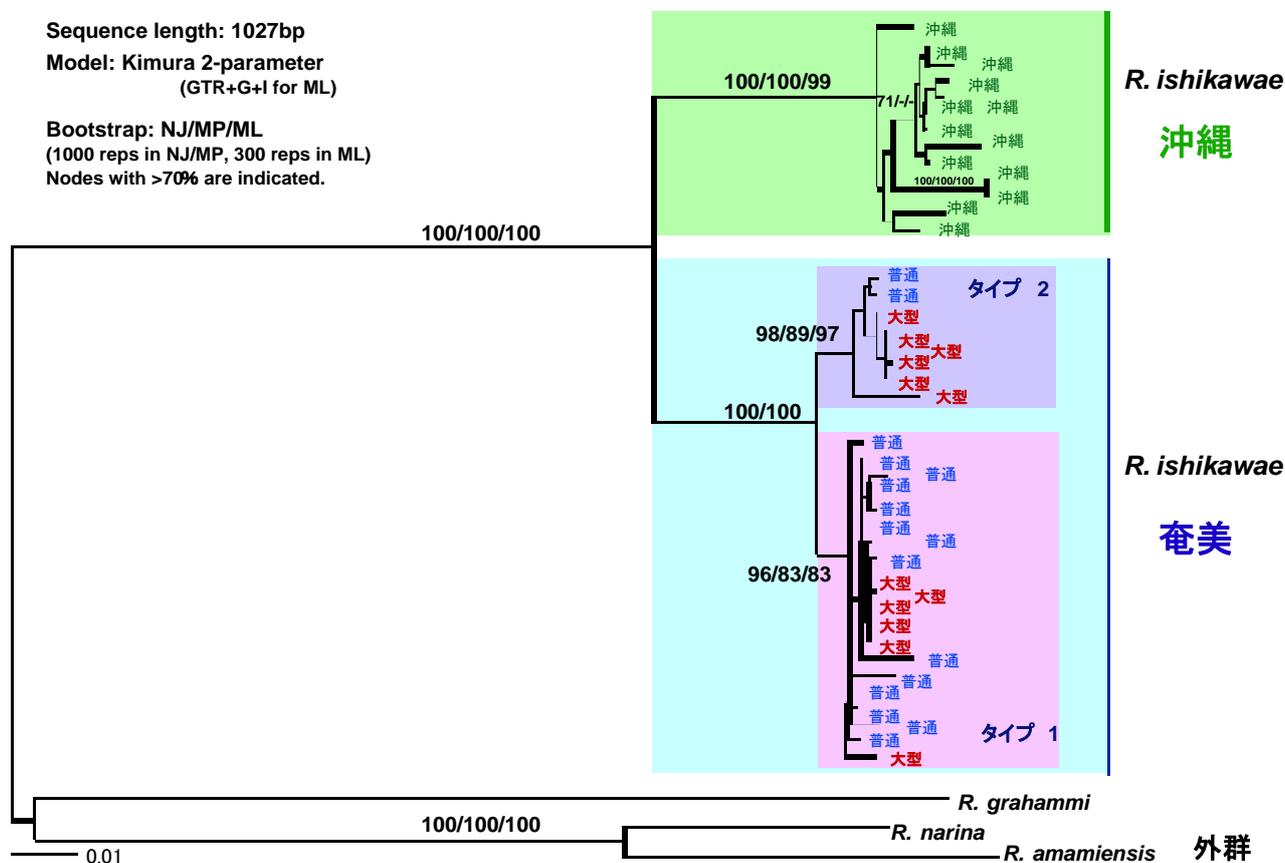


図 2. ND2 遺伝子全長 (1,027bp) に基づく最尤系統樹 (スケールバーはサイト当りの塩基置換数)

以上の結果から、(1) 沖縄産と奄美産は明瞭に分化しており、分類学的に別亜種以上に位置づけられること、(2) 奄美産の「大型」と「普通」は種分化の途上か、あるいはかつてある程度分化した後、二次的接触により遺伝的交流が再開された状態にあること、が考えられる。奄美産の「大型」と「普通」については今後、交配後隔離や分化の程度を解明し、その分化プロセスを検討する必要がある。

一方、我々は、昨年度までの研究により、本種成体の皮膚から 11 種類の抗菌ペプチドを生化学的手法で同定している。同抗菌ペプチド情報に基づいて、一次構造を人工的に改変した合成ペプチドを作成したところ、天然の配列よりもさらに抗菌力が強い合成物を得ることができた。また、11 種類の抗菌ペプチドの前駆体遺伝子の同定を行ったところ、推定される前駆体タンパク質は、シグナルペプチド・酸性スパーサー・プロセッシングサイト・抗菌ペプチドという 4 つの共通構造を有し、さらに前駆体遺伝子の開始及び終止コドン付近における、塩基配列の高い保存性が明らかになった。