

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 （人間文化学部健康科学科）	連絡先（E-mail 等）： fujii@pu-hiroshima.ac.jp
共同研究者（職氏名）：人間文化学部健康科学科 教授・菅原芳明， 広島大学大学院理学研究科 教授・住田正幸，助教・倉林敦，同総合科学研究科准教授 浮穴和義， 奄美市農林課 技術員・大海昌平	

イシカワガエル (*Odorrana ishikawae*) は奄美大島と沖縄本島の固有種で，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（図 1）。従来の研究から，両島の個体群間で，形態・核型・生態的特徴に相違があることが示唆されている。また最近，奄美大島内における，普通個体と区別できる大型個体（以下，「普通」と「大型」と略記）の存在が示唆されている。

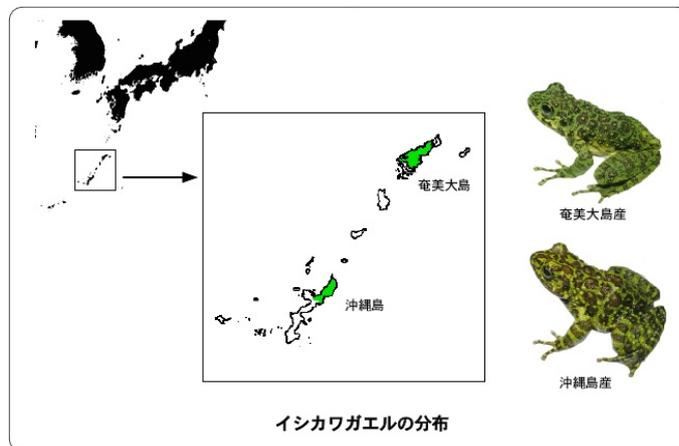


図 1. イシカワガエルの分布

本研究では先ず，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島の計 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 (mtDNA) 分析を行った。その結果，奄美産の普通と大型及び沖縄産には，頭胴長などの外部形態形質に明瞭な差があることが分かった。また，交配後隔離を確認するため，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，奄美産雌と沖縄産雄の雑種は正常に発育し，成熟期に達して繁殖能力をもつが，精子形成がやや異常となること，沖縄産雌と奄美産雄との雑種はすべて発生初期で致死になることが分った。アロザイム及び mtDNA 分析でも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みられ，mtDNA 分析でも奄美産は 2 つのタイプに分かれ，その一方には主に大型が対応したが，もう一方には大型と普通の両方が含まれた（図 2）。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，分類学的に別種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た。

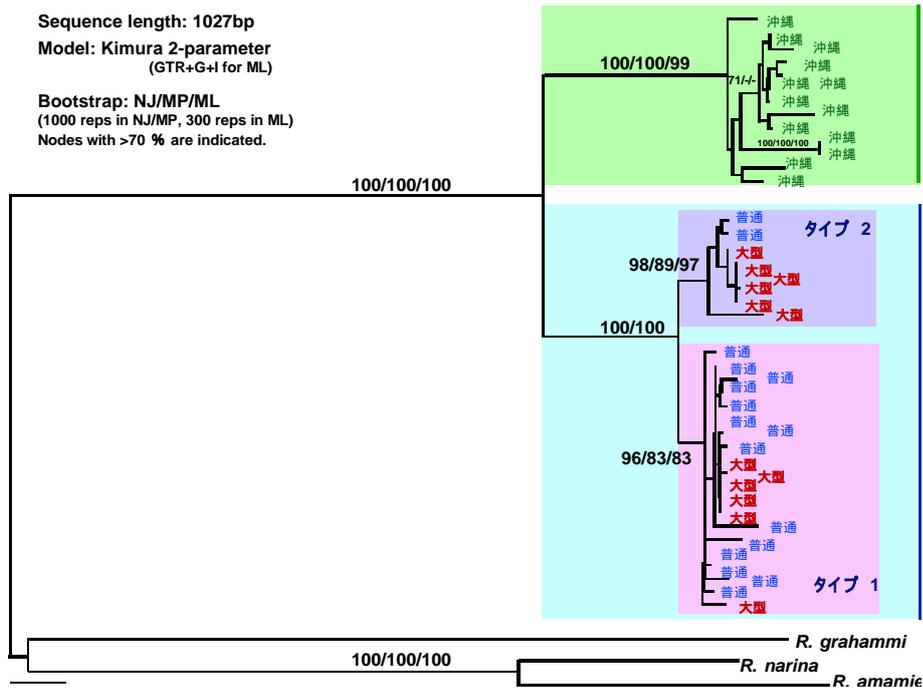


図 2. ND2 遺伝子全長(1,027bp)に基づく最尤系統樹

一方,これまでの本重点研究により,イシカワガエルの皮膚から 10 種類の抗菌ペプチドを生化学的手法により同定している(図 3)。そこで,これら抗菌ペプチドの一次構造に注目し,同構造を人工的に改変した合成ペプチドを作成し抗菌活性の異同を調べた。その結果,天然の配列よりもさらに強い活性を示す合成物の存在を確認した。また,同定している 10 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,前駆体遺伝子の開始コドン及び終止コドン付近の塩基配列において高い保存性を示した。

B: GIFSKFAGKGIKLLVKGVKNIGKEVGM DVIRTGIDIAG CKIKGEC

C: RIFSKIGGKAIAKLNILKGIK NIGKEVGM DVIRTGIDVAG CKIKGEC

E: GLWNSIKIAGKKL FVNVLDKIR CKVAGGCKKSPDVV

F: GFMDTAKNVAKNVAVTLLDKLK CKITGGC

I: SLLDTFKNLAVNAAKSAGVSVLNALS CKISRTC

L: SFLTTFKDLAIIKAASAGQSVLSTLS CKLSNTC

N: GIFSLIKGAAKLITKTVAKEAGKTGLELMA CKVTNQ C

P: SVLGTVKDLLIGAGKSAAQSVLTTLS CKLSNSC

S: GIFSTVFKAGKGIV CGLTGLC

Z: GILGTVFKAGKGIV CGLTGLC

図 3. 本研究で同定した 10 種類の抗菌ペプチドの構造