

魚から吸血する蚊 血液由来の DNA から血を吸われた魚種を特定

岐阜大学教育学部の三宅崇准教授、同学部卒業生相原夏樹さん、琉球大学熱帯生物圏研究センターの山平寿智教授、同大学院生小林大純さん、沖縄科学技術大学院大学の前田健研究員、同小柳亮技術員、東京大学大気海洋研究所の新里宙也准教授は、魚から吸血することは知られていたものの、野外でどのような魚種から吸血しているか不明だったカニアナヤブカの吸血源を、分子生物学的な手法により明らかにしました。

本研究成果は、英国の国際誌「Scientific Reports」（電子版）2019年3月8日付（日本時間午後7時）に掲載されました。

【発表のポイント】

- ・ 分子生物学的な手法を用いて、魚から吸血する蚊であるカニアナヤブカの野外での吸血源の多様性を世界で初めて明らかにした。
- ・ カニアナヤブカの生息地周辺に住む魚類のミトコンドリア DNA の塩基配列を解読し、吸血源を特定するためのデータベースを構築した。
- ・ 吸血後蚊の腹部に貯まっている吸血源の血に含まれる DNA を鋳型に、ミトコンドリア DNA のシトクロームオキシダーゼ I 遺伝子や 12S rRNA 遺伝子領域を PCR 増幅し、得られた塩基配列情報から相同性検索により吸血源を特定した。
- ・ 吸血源として利用する魚は琉球列島内の島により異なっていたが、ほとんどの魚は両生魚、あるいは空気呼吸魚として知られる種であった。
- ・ 本研究成果は、マングローブ生態系の食物網の一端を明らかにしたと同時に、カニアナヤブカが野外でどのように吸血源を探索し定位するかを調べる上で重要な情報となる。

【概要】

カニアナヤブカは亜熱帯のマングローブ林などのオカガニ類やオキナワアナジャコの穴に生息しており、夜間に穴から出て魚から吸血することが知られていましたが、野外でどのような魚を吸血源にしているかは不明でした。そこで琉球列島の奄美大島、沖縄島、石垣島、西表島で本種を採集し、雌の腹部でまだ消化されていない吸血源の血に含まれる DNA から PCR により特定の領域を増幅し、塩基配列情報から吸血源を特定しました。230 匹の吸血雌から吸血源由来の DNA の配列決定をし、4 目 8 科 15 種の魚を同定しました。先行研究では、水槽内でトビハゼ類からの吸血が観察されていたため、陸上で過ごす時間の長いトビハゼ類から主に吸血すると推測されていました。しかし予想と異なり、トビハゼ類の血が検出された蚊は 230 匹中 7 匹（3%）に過ぎず、西表島ではジャノメハゼ（ハゼ目ノコギリハゼ科）、沖縄島と奄美大島ではゴマホタテウミヘビ（ウナギ目ウミヘビ科）が主要な吸血源であることが明らかになりました。吸血源の多くは空気呼吸魚・両生魚と呼ばれる魚で、カニアナヤブカの雌は生息地付近で吸血源を見つけ、空中に露出した体表面に止まって吸血することが示唆されます。

【研究内容】

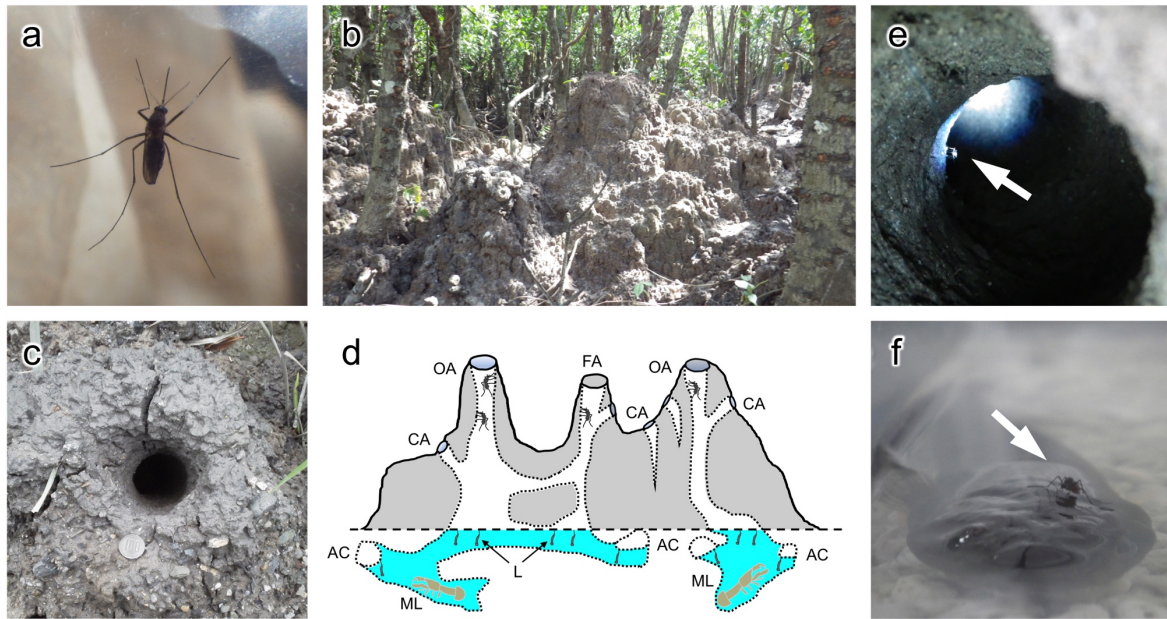


図1 カニアナヤブカの生活史. a: カニアナヤブカ成虫. b: マングローブ林内のオキナワアナジャコの塚. c: 塚の開口部. d: オキナワアナジャコの塚の内部構造の模式図. 宮城・當間 (2017) を元に描いた. 塚にはcのような開口部 (OA) 以外に、開口部が塞がれた部分 (FA) や、カニが作った入り口 (CA) もみられる. 下部は汽水で満たされ、所々に空気溜まり (AC) も存在する. 汽水部分にはオキナワアナジャコ (ML) とともにカニアナヤブカ幼虫 (L) が生育している. e: 開口部付近の壁面に止まっているカニアナヤブカ成虫. f: 予備的な観察により、水槽内で空中に露出したジャノメハゼの体表面に止まって吸血の様子が観察された. 図は当該論文 Miyake et al. (2019)より.

カニアナヤブカは亜熱帯のマングローブ林などのオカガニ類やオキナワアナジャコの穴に生息しています (図1)。汽水域への適応進出に伴い、魚から吸血するようになったと考えられています。成虫は、昼間は穴の中に留まり、夜間に穴から出て活動します。先行研究では、水槽内でトビハゼ類からの吸血が観察されたため、陸上で過ごす時間の長いトビハゼ類から主に吸血すると考えられていました。しかしながら、野外でどのような魚を吸血源にしているかは明らかにされていませんでした。そこで琉球列島の奄美大島、沖縄島、石垣島、西表島でカニアナヤブカを採集し、吸血源に由来するDNAの塩基配列情報から、吸血源を同定することにしました。

腹部にまだ消化されていない血を含んでいる雌成虫からDNAを抽出し、吸血源と想定される脊椎動物のDNAのみが増幅されるよう工夫されたPCRにより、ミトコンドリアDNAのシトクロームオキシダーゼI遺伝子や12S rRNA遺伝子、シトクロームb遺伝子領域といった、様々な動物の塩基配列情報に富んだ領域を増幅しました。それらの領域の塩基配列情報に対し、バイオインフォマティクス手法の1つであるBLASTという解析方法を用いて、インターネット上のデータベースから一致する (あるいは相同性の高い配列を持つ) 生物を探索しました。さらに、インターネット上のデータベースに相同性の高い配列が見つからないものについては、マングローブ林に生息する魚のミトコンドリアDNAの全塩基配列情報からデータベースを独自に構築し、同様の手法で塩基配列の一致する (あるいは相同性の高い配列を持つ) 生物を探索しました。

その結果、230匹の吸血雌から吸血源由来のDNAの配列決定をし、4目8科15種の魚を同定しました (図2)。1例を除き、それぞれ蚊1匹から各1種の魚の血が検出され、予想と異なり、トビハゼ類の血が検出された蚊は230匹中7匹 (3%) に過ぎませんでした。優占種は西表島ではジャノメハゼ (ハゼ目ノコギリハゼ科)、沖縄島と奄美大島ではゴマホタテウミヘビ (ウナギ目ウミヘビ科) でした (図3)。南の方が吸血源の多様性が高く、奄美大島ではゴマホタテウミヘビ (36、以下カッコ内の数字は吸血していた蚊の個体数)、ジャノメハゼ (9)、イズミハゼ (9) の3種のみでしたが、西表島では、ウナギ目のハリガネウミヘビ (17)、アセウツボ (1)、コゲウツボ (1)、ゴマホタテウミヘビ (5)、ハゼ目のジャノメハゼ (60)、ミナミトビハ

ゼ (6)、ハゴロモハゼ (1)、ギンポ目のスジギンポ (1)、ヤエヤマギンポ (2)、シマギンポ (2)、さらにはフグ目のクラカケモンガラ (1) までみられ、計 11 種の利用が明らかになりました。興味深いことに、ハリガネウミヘビは見つかっただけでもちょっとしたニュースになるくらい稀にしか確認されない魚であるにも関わらず、西表島、石垣島、沖縄島で複数の蚊から血が検出されました。

吸血源の多くは空気呼吸魚・両生魚と呼ばれる魚であったことから、カニアナヤブカの雌は生息地付近で吸血源を見つけ、空中に露出した体表面に止まって吸血することが示唆されます。一方で、一例のみではありますがクラカケモンガラのように空中に出ることはほぼ想像できない魚も検出され、どこでどのように吸血行動をするのかの解明が今後の課題です。

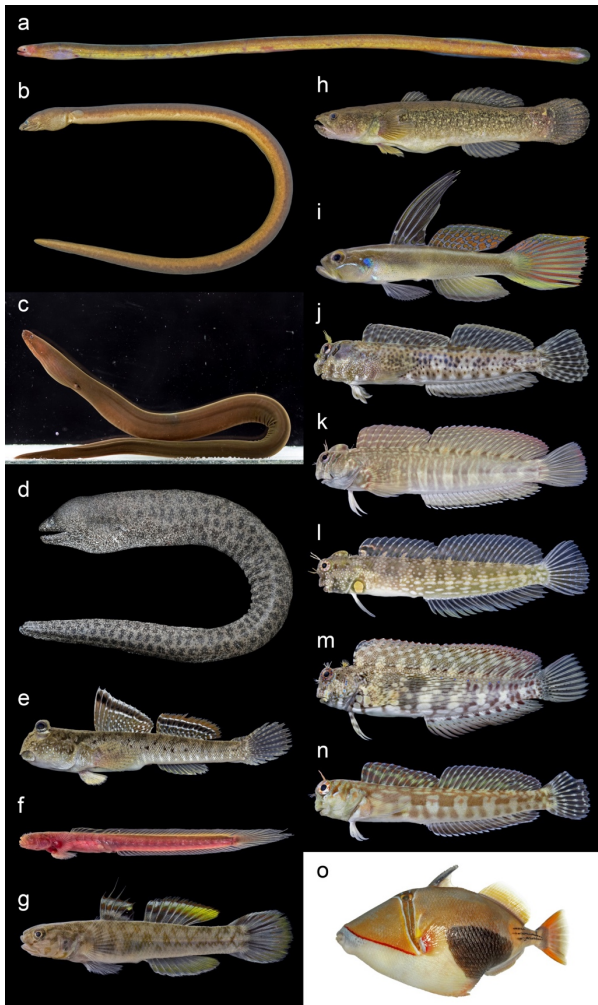


図2 今回の研究でみられた吸血源の魚. a: ハリガネウミヘビ、b: ゴマホタテウミヘビ、c: コゲウツボ、d: アセウツボ、e: ミナミトビハゼ、f: ヒゲワラスボ、g: イズミハゼ、h: ジャノメハゼ、i: ハゴロモハゼ、j: スジギンポ、k: ニセカエルウオ、l: シマギンポ、m: ヤエヤマギンポ、n: ホホグロギンポ、o: クラカケモンガラ. 図は当該論文 Miyake et al. (2019)より.

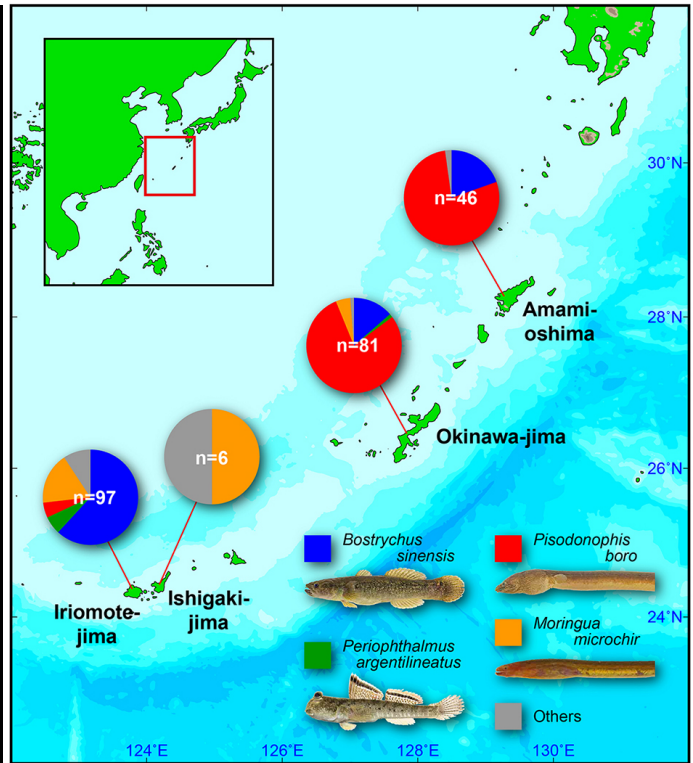


図3 調査地と各地点での吸血源の構成割合. 青: ジャノメハゼ、緑: ミナミトビハゼ、赤: ゴマホタテウミヘビ、オレンジ: ハリガネウミヘビ、灰色: その他. 図は当該論文 Miyake et al. (2019)より.

【今後の展開】

吸血源となる魚の多くは空気呼吸魚・両生魚とよばれるもので、水がない状況下でもしばらくの間は生きられます。しかし、それらではトビハゼ類のように自ら陸の上に出てきて静止する習性は報告されておらず、西表島で夜間に観察した際にも、ジャノメハゼが陸上に上がっている様子は見られませんでした。それでは、浅瀬で体の一部が露出しているところをすかさず吸血しているのでしょうか。だとしたら、何を手がかりに探索するのでしょうか？ 沖縄の蚊の中にはカエルから吸血するものもあり、なんとカエルの鳴き声を手掛かりに探索することが知られています。魚の探索でも思わぬ方法を利用しているかも知れないと期待しています。一方トビハゼ類は陸上でじっとしている時間が長く、吸血しやすいターゲットに見えますが、カニアナヤブカによる利用は多くありませんでした。蚊から身を守る未知の手段を持っているのかもしれない。魚の生態や生理についても多くの興味深い課題が提供されています。

【論文情報】

雑誌名 : Scientific Reports

タイトル : Bloodmeal host identification with inferences to feeding habits of a fish-fed mosquito, *Aedes baisasi*.

著者 : Takashi Miyake, Natsuki Aihara, Ken Maeda, Chuya Shinzato, Ryo Koyanagi, Hirozumi Kobayashi & Kazunori Yamahira

DOI 番号 : 10.1038/s41598-019-40509-6

論文公開URL : <http://www.nature.com/articles/s41598-019-40509-6>

【研究支援】

本研究は、琉球大学熱帯生物圏研究センター共同利用・共同研究の支援を受けました。

【用語解説】

- 1) **PCR** : ポリメラーゼ連鎖反応ともいう。両側を既知の DNA 塩基配列ではさんだ間の部分を、好熱菌に由来する DNA ポリメラーゼという酵素によって大量に増幅させる方法で、高校の生物学実験でも取り入れられている。
- 2) **シトクロームオキシダーゼ I** : 細胞内呼吸の電子伝達系で働いている酵素のサブユニットの遺伝子で、ミトコンドリア DNA 上に存在する。この領域の塩基配列がその動物が何かを同定する「バーコード」として利用されている。
- 3) **12S rRNA** : ミトコンドリア DNA 上に存在するリボソーム RNA の1つ。この遺伝子の高度可変部位は魚種の同定に有効であり、環境 DNA (水に含まれる DNA 断片からその水域に生息する生物を特定する) の研究などで利用されている。
- 4) **両生魚** : 一定の時間を水から出て過ごすことのできる魚のことで、ハゼ目のトビハゼ類やムツゴロウ、ギンポ目のヨダレカケなどがよく知られている。