

論文の内容の要旨

水圏生物科学専攻

平成 10 年度博士課程 進学

氏名 井上 潤

指導教官 塚本勝巳

論文題目 ミトコンドリアゲノム分析に基づくカライワシ類 (Elopomorpha) の系統に関する研究

カライワシ類(Elopomorpha)は、仔魚期にレプトケファルスと呼ばれる柳葉状の幼生をもつことによってまとめられた真骨類の一分類群である。現在、オステオグロッサム類(Osteoglossomorpha)、ニシン類(Clupeomorpha)、正真骨類(Euteleostei)と並んで亜区の階級に位置づけられており、真骨類における四大系統の一つとなっている。一方、カライワシ類の内部にはカライワシ目、ソトイワシ目、ウナギ目、フウセンウナギ目など、成魚の形態や生態が大きく異なる原始的な真骨類が含まれている。そのため、レプトケファルス幼生をもつこと以外に有力な共有派生形質は見あたらず、その単系統性を疑問視する研究者も多かった。また、その系統的位罫については、下位真骨類の一角を占めるという共通認識は得られているものの、他の分類群とどのような系統関係をもつのか、未だに定説と呼べるものはない。

そこで本研究では、近年急速に発達してきた分子系統学的手法を用いてカライワシ類の単系統性を検証するとともに、下位真骨類におけるその系統的位罫とカライワシ類内部の系統関係を解明することを大きな目的とした。これまで核 DNA やミトコンドリア DNA の部分塩基配列に基づくカライワシ類の系統学的研究はいくつか行われてきたが、解析に用いる塩基配列の長さや分類群の数が不十分であったため、問題解決には至っていない。本研究では、ロング PCR と魚類汎用プライマーに基づく手法(Miya and Nishida 1999)を用いることにより、カライワシ類を中心とした下位真骨類 17 種(図)のミトコンドリアゲノム(ミトゲノム)全塩基配列(計 286,277 塩基対 [bp])を新たに決定し、これを用いてカライワシ類の高次系統関係を解析した。

カライワシ類ミトゲノムの特性

カライワシ類を中心とした下位真骨類 17 種のミトゲノム全塩基配列を、ロング PCR の技術と 150 個あまりの魚類汎用プライマーを用いて直接法により決定した。ミトゲノムの全長は 16,649 – 18,978 bp の範囲にあり、他の脊椎動物と同様 13 個のタンパク質遺伝子、2 個のリボゾーム RNA 遺伝子、22 個の転移 RNA (tRNA) 遺伝子、ならびに 1 個の調節領域から構成されていた。多くの種では、遺伝子の配置も他の脊椎動物と同じであったが、4 種において通常とは異なる配置が見いだされた。これら、ウナギ目のダイナンウミヘビとマアナゴにみられた調節領域周辺の遺伝子配置の変動(図の A) と、フウセンウナギ目のフウセンウナギとフクロウナギにみられたミトゲノム全域にわたる大規模な遺伝子配置の変動(図の B) は、これまでどの脊椎動物からも報告されていない特異なものであった。他の脊椎動物にみられる一般的な遺伝子配置を祖先的なものと仮定すると、これら 2 種類の特異な遺伝子配置は、1 回の縦列重複とそれに引き続く遺伝子の欠失という、きわめて単純な過程を経て生じたものと推測された。

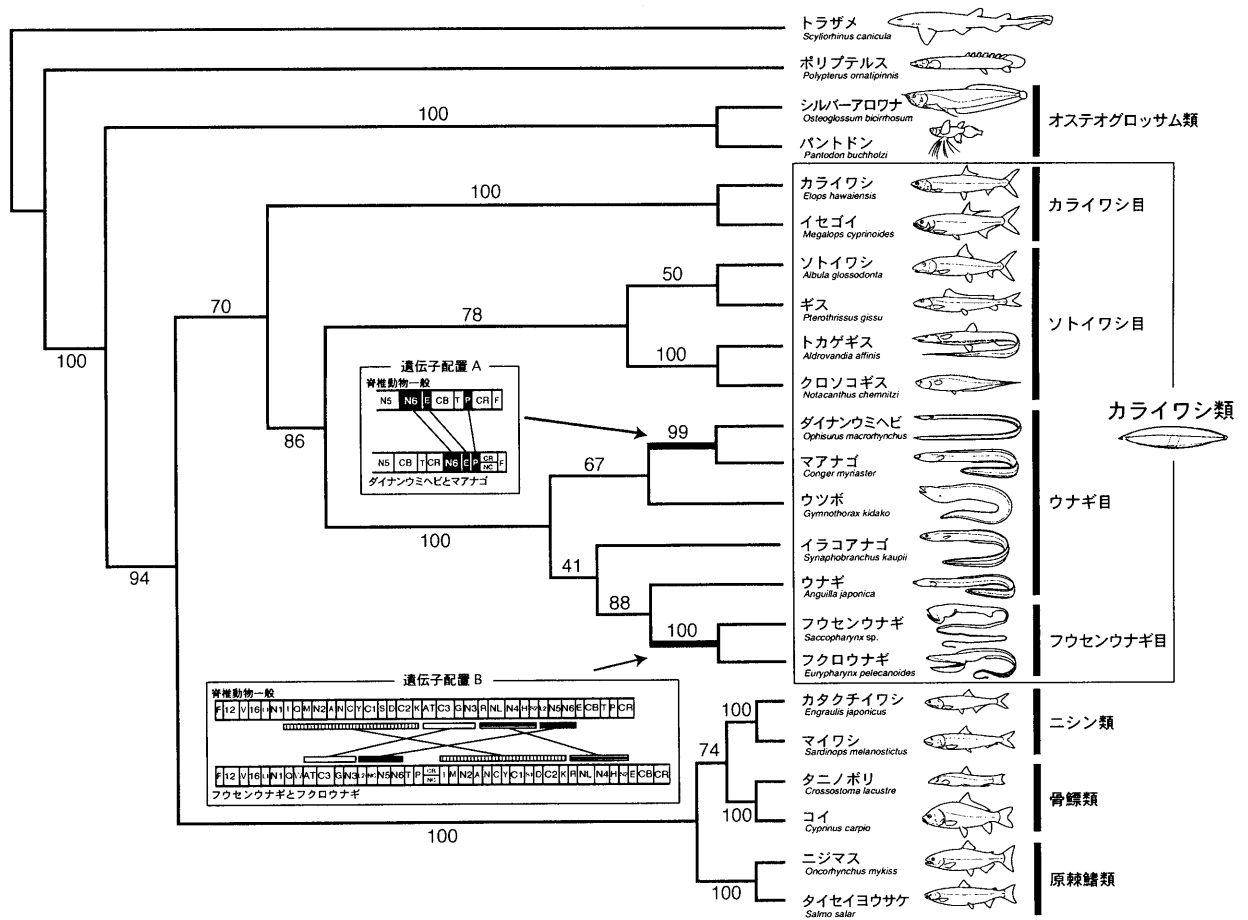
特異な遺伝子配置の系統学的意義

ウナギ目内部の 2 種にみられた特異な遺伝子配置が系統マーカーとして有用かどうか、すなわち共有されていた特異な遺伝子配置が単一の祖先種に由来するかどうか検討を行った。ミトゲノム全配列を決定した種の他に、ウナギ目に含まれる 7 科 7 種(ハリガネウミヘビ、イワアナゴ、ヘラアナゴ、スズハモ、シギウナギ、クズアナゴ、ヒメノコバウナギ)の ND5 – cyt *b* 遺伝子領域の塩基配列を決定し、この領域に含まれる遺伝子の配置を比較するとともに、cyt *b* と 12S rRNA 遺伝子の部分塩基配列に基づく系統樹を作成し、配置変動の進化パターンを推定した。

解析した 7 種のうち、ダイナンウミヘビとマアナゴでみられた特異な遺伝子配置をもつものはアナゴ亜目に属する 3 種(ヘラアナゴ、スズハモ、クズアナゴ)であった。これら特異な遺伝子配置を共有する 5 種は、部分塩基配列に基づく系統樹において単系統群を形成し、このミトゲノムの構造的特性が単一の祖先種に由来することが示唆された。これまで、これら 5 種に代表される 5 科がウナギ目における亜目や上科などの高次分類群として認められた例はなく、今回の結果は遺伝子配置の変動がウナギ目内部の高次系統を解析するうえで一つの有力な系統マーカーになりうることを示している。

ミトゲノムデータに基づくカライワシ類の系統解析

カライワシ類の単系統性を検証し、その系統的位置とカライワシ類内部の系統関係を推定するために、下位真骨類における 4 つの主要分類群からそれぞれ 2 種を選定し、カライワシ類内部からは 4 つの目を幅広く代表するように各目から 2 – 5 種の計 13 種を選定した。外群にはトラザメ属とポリプテルス属の一種を用いた。以上の結果選ばれた計 23 種の魚類のミトゲノム(本研究で決定した 17 種を含む)から、12 個のタンパク質遺伝子(ND6 遺伝子とコドンの第三座位を除く)と 22 個の tRNA 遺伝子(ステム領域のみ)を抜き出し、計 8115 塩基を解析に用いた。系統解析には最大節約法と最尤法を用い、系統樹の内部枝の信頼性を統計的に評価した。



カライワシ類を中心とする下位真骨類の最節約樹。トポロジーは最尤樹とほぼ一致した。内部枝の数字は500回の試行に基づくブーツストラップ確率を示す。国際DNAバンクから得た骨鰈類、原棘鱸類、および外群としたトラザメとポリプテルスの計6種以外の計17種のミトゲノム全塩基配列(計286,277 bp)を本研究で決定した。遺伝子配置Aでは、変動したと推定される遺伝子を黒で示し、Bでは脊椎動物一般の配置が保存されている4領域を4種類の帯で示した。

カライワシ類の単系統性: Greenwood et al. (1966) がカライワシ類を設立するまでは、現在カライワシ類を構成する諸分類群は相互関係が不明なさまざまな原始的真骨類のグループに含まれていた。Greenwood et al. (1966) 以降も、カライワシ類の単系統性を疑問視する研究者は少なからずいたが、この問題はいまだかつて系統樹を用いた検証を受けていない。また、カライワシ類の単系統性は、レプトケファルス幼生の存在、すなわち仔魚期の特性が高次分類群の共有派生形質になるか否かという魚類系統学上重要な問題もはらんでいた。

最節約法と最尤法で得られた2本の系統樹のトポロジーはほぼ一致し、双方ともにカライワシ類の単系統性を支持した(図)。また、カライワシ類の単系統性を否定する代替仮説(Gosline 1971)は、高い統計的有意性をもって棄却された。ミトゲノムデータは、カライワシ類の単系統性をめぐる問題に決着をつけただけでなく、レプトケファルス幼生の存在が単一の共通祖先種に由来するカライワシ類の共有派生形質となることを実証したことになる。

カライワシ類の系統的位置: カライワシ類が下位真骨類の一群であることに異論を唱える研究者はいなかったが、その系統的位置については形態ならびに分子データに基づきさまざまな仮説が発表され、この20数年間にわたって激しい議論が戦わされてきた。

本研究で得られた系統樹(図)では、オステオグロッサム類が真骨類の最も原始的な位置を占め、カライワシ類は他のより上位の真骨類(ニシン類+ 骨鰈類+ 原棘鱗類)の姉妹群となった。また、これら上位の真骨類の中ではニシン類と骨鰈類が姉妹群を形成した。

この系統関係は、これまでに発表された下位真骨類の系統に関する5つの仮説(Patterson and Rosen 1977; Arratia 1997など)のいずれとも完全に一致しなかったが、オステオグロッサム類とカライワシ類の系統的位置についてはこれまでに広く受け入れられてきた仮説と一致し、またそれより上位のニシン類、骨鰈類、原棘鱗類の相互関係については、近年形態と分子データに基づき提出された仮説と一致した。したがって、今回得られた系統仮説は、これまで提唱されていた関係を総括する形となった。また本研究は、これまで骨鰈類+ 原棘鱗類+ それより上位の真骨類から構成されていた正真骨類が、ニシン類を新たに含めたうえで再検討されなければならないという、近年提出された見解を支持する。

カライワシ類内部の系統関係: 成魚の形態があまりにもかけ離れているため、カライワシ類内部の系統関係を解析した例はこれまでほとんどなかった。わずかに、いくつかの比較解剖学的データを用いて個々の目内に亜目や上科レベルの分類群を設けた事例があるが、これらが系統を反映したものかどうか厳密な検証が行われたわけではない。

本研究では、カライワシ類を代表する4つの目、すなわちカライワシ目、ソトイワシ目、ウナギ目、ならびにフウセンウナギ目間の関係を明瞭に描き出すことができた。カライワシ類の中で最も原始的な位置を占めたのはカライワシ目であり、彼らがより上位のカライワシ類の姉妹群となった。ソトイワシ目は、ソトイワシ亜目とソコギス亜目という形態的・生態的にかげ離れた2つの亜目を含むにもかかわらず明瞭な単系統群を形成し、ウナギ目+ フウセンウナギ目の姉妹群となった。ウナギ目は、その内部から単系統群であるフウセンウナギ目が派生しているため、側系統群となった。ウナギ目の単系統性は高い有意性をもって統計的に棄却されたため、ウナギ目とフウセンウナギ目を合わせた新たな分類群の設立が必要になると考えられた。

以上、本研究では長年にわたって魚類系統学の大きな問題となってきたカライワシ類の単系統性と、下位真骨類におけるカライワシ類の系統的位置について明確な結論を得ることができた。また、カライワシ類内部の系統関係については、その大枠が明らかになっただけでなく、遺伝子配置の変動というこれまで魚類系統学で用いられてこなかった有力な系統マーカーを見いだすことができた。今後、解析対象分類群の数を増やすとともに、形態や生態を初めとする比較生物学的データを充実させ、さらに分子時計を用いて系統樹に時間軸を入れることにより、脊椎動物最大の多様性を有する真骨類の初期進化の実態を明らかにすることができると思われる。