

博士論文審査の結果の要旨

氏名 成 田 貴 則

本研究は、EST 解析によるメダカゲノムリソースの構築、メダカゲノム情報を用いたメダカ集団の遺伝的多様性の解析、近縁種の系統関係の解析の 3 部よりなる。

第 1 部の研究は 2000 年当時まだ十分ではなかったメダカゲノム情報を発現遺伝子と言う側面から解析し、メダカゲノム情報の網羅的取得と解析に先鞭をつけた。この研究で作られた EST リソースはその後おこなわれたメダカゲノム塩基配列決定とともにメダカゲノムリソースとして最も多くの研究者に使用されている。この研究では 132,082 クローンの両端配列を決定し、12,429 種類の転写産物をカタログ化した。この情報を持ちいて初期発現で発現する遺伝子を中心に 8000 種以上の転写産物の発現量を解析できるマイクロアレイを開発し、その有用性を検証した。これはメダカでは初めての実用的なマイクロアレイであり、突然変異体での遺伝子発現変化の解析にも応用されている。

申請者は 2002 年から開始されたメダカゲノム解析プロジェクトにその初期段階から参加した。この研究では南日本集団由来の近交系である Hd-rR 系統と北日本集団由来の近交系である HNI 系統が用いられた。両者の比較から 1,600 万の SNPs と 280 万の挿入／欠失の多型を見つけることができた。この SNPs 情報を用いて全ゲノム領域をカバーする 2,500 以上の DNA マーカーをもつ高密度遺伝地図を作成し、塩基配列決定と組み合わせることでドラフトレベルのゲノム解析を完了することができた。第 2 部の研究として申請者はこのようにして得られた大量の Hd-rR (南日本集団) と HNI (北日本集団) のゲノム情報を持ちいて、メダカの種内変異を更に解析した。ミトコンドリア DNA の塩基配列を持ちいたこれまでの研究からメダカ自然集団は 4 つの地域集団 (北日本集団、南日本集団、東韓集団、中国—西韓集団) に分けられることが知られていた。ゲノム解析によって南日本集団由来の Hd-rR と北日本集団由来の HNI 間のゲノム配列には平均 3.4%の相違があることは分かったが、その他の集団間の比較は行われていなかった。そこでメダカのもつ 24 対の染色体から 4 ヶ所ずつ、合計 96 の領域を増幅することができるプライマーを作成し、4 つの地域集団を代表する 12 個体 (4 系統のメダカ近交系を含む) をもちいて、地域集団内及び集団間での核遺伝子塩基配列の多様性を解析し、系統樹を作成した。この結果、ミトコンドリア遺伝子の多様性から分類された 4 つの地域集団は核遺伝子によっても同様なクレードに分けることができた。この研究の中で特に興味深いのは中国—西韓集団内の系統関係である。この集団では核遺伝子の塩基配列を用いた系統樹とミトコンドリア遺伝子の塩基配列を持ちいた系統樹が、それぞれ高い統

計的信頼度をもちながら相互に異なった樹型を示した。これはこの集団で過去にミトコンドリアの移入が起こったことを示唆しており、自然集団の形成史を考える上で興味深い。また、核とミトコンドリアを共に解析することの重要性を示している。この研究から比較的大きな遺伝的多様性をもつ南日本集団と中国—西韓集団及び遺伝的変異をあまりもたない北日本集団と東韓集団という姿が核遺伝子を通して明らかとなった。この研究は自然集団の形成史だけではなく、メダカ突然変異体の原因遺伝子をポジショナルクローニングによって同定する際にどのような交配を用いれば最も効果的かという点にでも重要な情報となる。

第3部では第2部の結果をうけて核遺伝子による系統解析法を近縁種に応用した。その結果、メダカ種内変異を解析するために作成したプライマーでも、その5割程度は近縁種でも相同な領域を増幅できることが明らかとなった。これにより20-30K bpというかなり大きなデータを用いて系統解析をおこなうことが可能となった。これを利用して遺伝的分化が小さいために不明であったセレベス島に分布するメダカ属の系統関係をはじめ明瞭に示すことが出来た。この解析から *X. oophorus* と *X. sarasinorum* は単系統ではなく偽系統であること、両者に共通の形態や生殖様式が沖合を回遊するという生態への適応という平行進化の産物であることが明らかとなった。

申請者はEST解析による発現遺伝子の網羅的解析、メダカ種内変異に関するゲノムワイドな多型情報収集、メダカ近縁種をもちいたモデルシステム構築のための基礎的系統情報の収集など広い分野にわたる研究をおこなった。

なお、本論文の第1部分は、木村哲晃、神藤智子、成瀬清、小林大介、北川忠生、新井理、小原雄治、嶋昭紘、坂口拓也、三谷啓志、武田洋幸との共同研究、第2部及び第3部は竹花佑介、James Albert、笠原雅弘、佐々木伸、山田智之、相馬温彦、森下真一、小原雄治、武田洋幸、成瀬清との共同研究であるが論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。従って、博士(理学)の学位を授与できると認める。