

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：82708

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17H03629

研究課題名(和文) 遺伝的多様性は種の存続のために必要か？ - 長生きのヘビースモーカーのゲノム分析

研究課題名(英文) Is genetic diversity needed for species survival? Genomic analysis of a "long-lived heavy smoker"

研究代表者

高橋 洋 (Takahashi, Hiroshi)

国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産大学校・准教授

研究者番号：90399650

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,900,000円

研究成果の概要(和文)：種内の遺伝的多様性は種の存続に不可欠と考えられている。本研究は、その遺伝的多様性が脊椎動物中最も低いレベルであるにもかかわらず、長期間絶滅せずに存続してきた魚類の一種“アカメ”のゲノム分析を行った。ゲノムデータからもアカメの遺伝的多様性が現時点でゲノムが解読されている脊椎動物の中で最も低いことが示されたが、一部の領域が高いヘテロ接合度を示すことが明らかになり、選択圧によって一部の領域に遺伝的多様性が維持されている可能性が示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、アカメのゲノム全体の遺伝的多様性は現在ゲノムが解読されている脊椎動物種中最も低いこと、その一方で一部のゲノム領域において選択圧により遺伝的多様性が維持されていることが示され、遺伝的多様性が低いにもかかわらず長期間存続できたメカニズムの一端が解明された。遺伝的多様性は種の存続に必要なか？という進化生物学や保全遺伝学の本質的問いに対して、中立的遺伝マーカーで捉えられるゲノム全体の遺伝的多様性がほぼ失われた種の詳細な全ゲノム分析から一定の答えを導き出した。

研究成果の概要(英文)：Genetic diversity within a species is considered essential for species survival. In this study, we performed a genome analysis of a teleost fish (*Lateolabrax japonicus*) that has survived for a long period of time, despite having the lowest level of genetic diversity. Although genomic data showed that the genetic diversity of this species is the lowest among the vertebrates whose whole genome sequences are available at present, it became clear that some genome regions show high heterozygosity. The presence of such regions we examined suggests that it has been maintained by natural selection.

研究分野：集団遺伝学

キーワード：保全生物 遺伝的多様性 保全遺伝学 ゲノム分析

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物多様性は、種内の遺伝的多様性、種の多様性、生態系の多様性という3つの階層的な要素から成り立っている。このうち最も基礎的な階層である種内の遺伝的多様性は、種が環境の変化に適応して速やかに進化することを可能にすることから、種の存続における重要な要素と考えられている。そのため、種レベルの生物資源保全においては、種内の遺伝的多様性を最大限維持し、進化の可能性を最大に保つことが、絶滅を回避する上での目標とされる。

「遺伝的多様性が低くても長期間存続している種がいるから、遺伝的多様性と絶滅とは関係がないと考えることは、長生きのヘビースモーカーがいるから、喫煙には健康リスクが無いと考えることと同じである」という保全生物学における戒めがある。本研究は、そのような種が本当に確率的要因による絶滅を運良く免れてきた長生きのヘビースモーカーなのか？あるいは、そのゲノムに長期間の存続を可能にしたメカニズムが隠されているのか？という問いを通して、遺伝的多様性は種の存続に必要なのか？という、進化生物学や保全遺伝学における本質的問いに光を当てようと試みた。

2. 研究の目的

種内の遺伝的多様性は、生物多様性の基本的な構成要素のひとつであり、種が環境の変化に応じて進化し存続するために必要であると考えられている。一方、研究代表者らは、種全体の遺伝的多様性が脊椎動物中最も低いレベルであるにもかかわらず、長期間存続してきた魚類の一種、アカメを「発見」した(図1)。本研究は、ゲノム分析と高精度の人口統計学的解析を組み合わせ、アカメが遺伝的多様性を失ったにもかかわらず、運良く絶滅を免れてきた長生きのヘビースモーカーなのか、あるいは、そのゲノムに長期間の存続を可能にした特異なメカニズムが隠されているのかを解明し、遺伝的多様性は種の存続に必要なのか？という、進化生物学や保全遺伝学における本質的問いに光を当てることを目的とした。

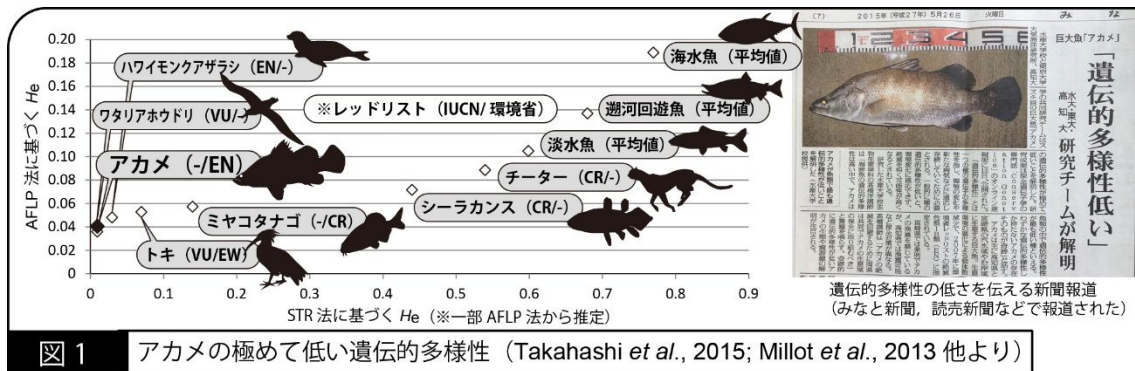


図1 アカメの極めて低い遺伝的多様性 (Takahashi et al., 2015; Millot et al., 2013 他より)

3. 研究の方法

- (1) ゲノム分析用に、アカメの主要な分布域である高知県および宮崎県から、稚魚を1個体ずつ採集し、アカメを殺さず、なるべく傷つけない低侵襲的な手法で高分子ゲノム DNA を得る方法を開発する。得られた2個体分の高品質なゲノムシーケンスに基づきゲノムワイドに遺伝的多様性の低さを確認し、領域によるヘテロ接合度の変化をスライディングウィンドウ分析などにより検証する。また、高知県産アカメ1個体より得られた全 RNA より RNAseq データ取得し、遺伝子予測などのゲノム構造分析を行う。
- (2) 人口統計学的解析用に、高知県と宮崎県で当歳魚の集団レベルのサンプリングを実施する。また、ゲノム分析によって得られた高品質なゲノムシーケンスに基づき、PSMC 分析を行い、過去の有効集団サイズの変遷を推定する。定量的 DNA 試料に基づき、RAD-seq マーカーによる血縁推定を行い、詳細な集団構造および現在の有効集団サイズの推定を行う。

4. 研究成果

- (1) ゲノム分析用に採集したアカメ2個体の DNA 試料より、相同染色体間の変異を検出することができるハプロタイプフェージング解析に必要な、高分子ゲノム DNA (断片化の指標である DIN 値が9.5以上)を得て、次世代シーケンサー解析用ライブラリ (GenCode 技術を用いたバーコーディング済み DNA 断片) を作製した。得られた2個体の高品質なアカメゲノムシーケンスに基づき、ゲノム全体の遺伝的多様性を推定し、スライディングウィンドウ分析により高い遺伝的多様性を示すゲノム領域の探索を行った。その結果、アカメのゲノム全体の遺伝的多様性は、現在までに全ゲノムシーケンスが得られている脊椎動物の中で最も低いことが明らかになった(図2)。また、高知・宮崎両県でともに高いヘテロ接合度を示

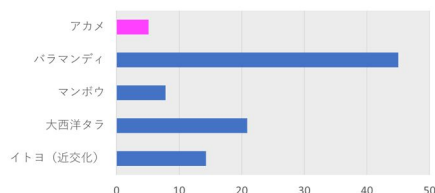


図2.他の魚類とのヘテロ接合度(10⁴/bp)の比較

す領域が 14 領域見つかった（図 3）。それらの領域には免疫系の遺伝子が多く含まれ、その他に嗅覚関連遺伝子、性決定関連遺伝子などが含まれることが明らかになった。加えて、遺伝子の機能に関わる部位に多型が存在することから、選択圧によって一部の領域に遺伝的多様性が維持されている可能性が示唆され、これらが長期間の存続を可能にしたメカニズムであることが示唆された。

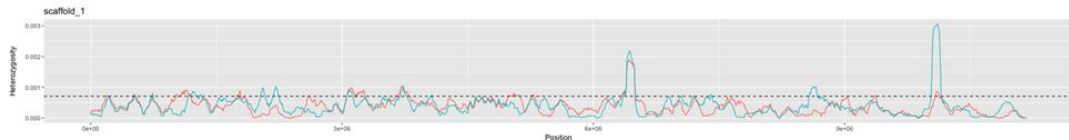


図 3. ヘテロ接合度の高いゲノム領域の検出例

- (2) アカメ当歳魚の定量的 DNA 試料に基づく血縁推定により、高知県と宮崎県の間で明瞭な集団構造が示されるとともに、一部の高知県産当歳魚が宮崎県に移送されている可能性が示唆された（図 4）。また、PSMC 分析の結果、アカメの種全体の有効集団サイズは、約 1 万年前より約 3000 個体から 1000 個体まで減少し、数千年前より約 1000 個体という非常に小さな集団で存続してきたことが推定された。また、約 1000 年前より現在までの有効集団サイズの変遷に関する推定精度は低く、現在の有効集団サイズに基づく保全策策定には、別のアプローチが必要なことがわかった。COLONY 解析に基づく当歳魚の血縁推定より、半兄弟および全兄弟が検出されたことから、アカメの現在の親魚数は海水魚としては極めて小さいことが示唆された。

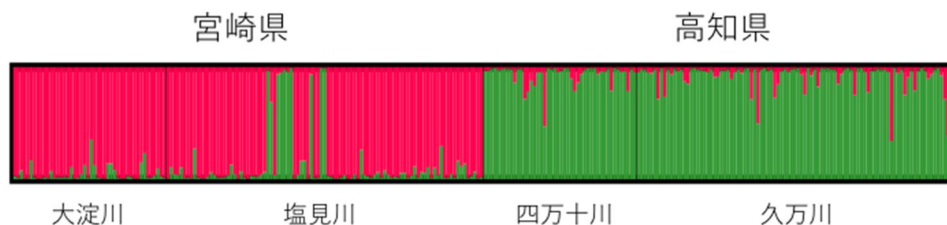


図 4. STRUCTURE 分析結果．縦棒の 1 本ずつが各個体であり、赤色は宮崎県、緑色は高知県の遺伝的特徴を示す。宮崎県の一部の個体が高知県の遺伝的特徴を示していることから、高知県より宮崎県に当歳魚の移送があったと推定される。

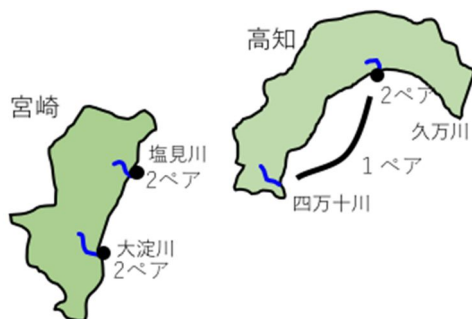


図 5. 全兄弟ペアの分布。宮崎県と高知県で全兄弟が検出され、繁殖に参加しているアカメの親魚数が極めて少ないこと、また高知県と宮崎県でそれぞれ異なる地域集団を形成していることが示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計11件（うち査読付論文 11件 / うち国際共著 4件 / うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Kuwahara Masayuki, Takahashi Hiroshi, Kikko Takeshi, Kurumi Seiji, Iguchi Kei'ichiro	4. 巻 66
2. 論文標題 Trace of outbreeding between Biwa salmon (<i>Oncorhynchus masou</i> subsp.) and amago (<i>O. m. ishikawae</i>) detected from the upper reaches of inlet streams within Lake Biwa water system, Japan	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Ichthyological Research	6. 最初と最後の頁 67~78
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10228-018-0650-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Tatsuno Ryohei, Miyata Yumi, Yoshikawa Hiroyuki, Ino Yasuko, Fukuda Tsubasa, Furushita Manabu, Takahashi Hiroshi	4. 巻 85
2. 論文標題 Tetrodotoxin distribution in natural hybrids between the pufferfish species <i>Takifugu rubripes</i> and <i>Takifugu porphyreus</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Fisheries Science	6. 最初と最後の頁 237~245
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s12562-018-1265-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Awata Satoshi, Sasaki Haruka, Goto Tomohito, Koya Yasunori, Takeshima Hirohiko, Yamazaki Aya, Munehara Hiroyuki	4. 巻 166
2. 論文標題 Host selection and ovipositor length in eight sympatric species of sculpins that deposit their eggs into tunicates or sponges	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Marine Biology	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00227-019-3506-4	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Sakao Miho, Takeshima Hirohiko, Inoue Koji, Sato Katsufumi	4. 巻 160
2. 論文標題 Extra-pair paternity in socially monogamous Streaked Shearwaters: forced copulation or female solicitation?	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Ornithology	6. 最初と最後の頁 137~144
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10336-018-1587-3	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Okayama Tatsushi, Hashiguchi Yasuyuki, Kikuyama Hiroki, Yoneda Hiroshi, Kanazawa Tetsufumi	4. 巻 8
2. 論文標題 Next-generation sequencing analysis of multiplex families with atypical psychosis	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Translational Psychiatry	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41398-018-0272-x	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Mokodongan Daniel F., Montenegro Javier, Mochida Koji, Fujimoto Shingo, Ishikawa Asano, Kakioka Ryo, Yong Lengxob, Mulis, Hadiaty Renny K., Mandagi Ixchel F., Masengi Kawilarang W.A., Wachi Nakatada, Hashiguchi Yasuyuki, Kitano Jun, Yamahira Kazunori	4. 巻 118
2. 論文標題 Phylogenomics reveals habitat-associated body shape divergence in <i>Oryzias woworae</i> species group (Teleostei: Adrianichthyidae)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Phylogenetics and Evolution	6. 最初と最後の頁 194 ~ 203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ympev.2017.10.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Takahashi Hiroshi, Toyoda Airi, Yamazaki Taku, Narita Shusaku, Mashiko Tsuyoshi, Yamazaki Yukio	4. 巻 164
2. 論文標題 Asymmetric hybridization and introgression between sibling species of the pufferfish <i>Takifugu</i> that have undergone explosive speciation	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Marine Biology	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00227-017-3120-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Hata Hiroki, Sogabe Atsushi, Tada Shinya, Nishimoto Ryohei, Nakano Reina, Kohya Nobuhiko, Takeshima Hirohiko, Kawanishi Ryota	4. 巻 164
2. 論文標題 Molecular phylogeny of obligate fish parasites of the family Cymothoidae (Isopoda, Crustacea): evolution of the attachment mode to host fish and the habitat shift from saline water to freshwater	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Marine Biology	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00227-017-3138-5	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kakioka Ryo, Muto Nozomu, Takeshima Hirohiko et al.	4. 巻 65
2. 論文標題 Cryptic genetic divergence in <i>Scolopsis taenioptera</i> (Perciformes: Nemipteridae) in the western Pacific Ocean	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Ichthyological Research	6. 最初と最後の頁 92 ~ 100
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10228-017-0596-1	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Mokodongan Daniel F., Montenegro Javier, Mochida Koji, Fujimoto Shingo, Ishikawa Asano, Kakioka Ryo, Yong Lengxob, Mulis, Hadiaty Renny K., Mandagi Ixchel F., Masengi Kawilarang W.A., Wachi Nakatada, Hashiguchi Yasuyuki, Kitano Jun, Yamahira Kazunori	4. 巻 118
2. 論文標題 Phylogenomics reveals habitat-associated body shape divergence in <i>Oryzias woworae</i> species group (Teleostei: Adrianichthyidae)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Molecular Phylogenetics and Evolution	6. 最初と最後の頁 194 ~ 203
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ympev.2017.10.005	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 Sun Yao, Kurisaki Masaki, Hashiguchi Yasuyuki, Kumazawa Yoshinori	4. 巻 18
2. 論文標題 Variation and evolution of polyadenylation profiles in sauropsid mitochondrial mRNAs as deduced from the high-throughput RNA sequencing	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Genomics	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12864-017-4080-0	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 高橋 洋・三品達平・橋口康之・武島弘彦・中山耕至・田上英明・竹下直彦
2. 発表標題 極めて低い遺伝的多様性をもつアカメ <i>Lates japonicus</i> の全ゲノム分析
3. 学会等名 2018年度日本魚類学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 北西 滋・近藤卓哉・高橋 洋・竹下直彦・星野和夫・永田新悟・宮村栄一・岩永純二・大倉鉄也・江戸謙顕
2. 発表標題 大野川水系神原川におけるイワメおよびアマゴ個体群の遺伝的構造
3. 学会等名 2018年度日本魚類学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Yumi Miyata, Ryohei Tatsuno, Hiroshi Takahashi, Hiroyuki Yoshikawa, Yasuko Ino, Tsubasa Fukuda, Manabu Furushita
2. 発表標題 Tetrodotoxin distribution in natural hybrids between Takifugu rubripes and Takifugu porphyreus
3. 学会等名 24th Joint International Symposium between National Fisheries University and Pukyong National University (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Gonzalvo Sara, Tanoue Hideaki, Komatsu Teruhisa
2. 発表標題 Acoustic tracking of the Japanese endemic fish (<i>Lates japonicas</i>) during the spawning season
3. 学会等名 日仏海洋学会術研究発表会 (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高橋洋・黒厚子大輝・下山諒
2. 発表標題 山口県沿岸の日本海におけるヒラマサとブリの自然種間交雑現象
3. 学会等名 2017年度日本魚類学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 三品達平・武島弘彦・高田未来美・井口恵一朗・川原玲香・橋口康之・田畑諒一・佐々木剛・西田睦・渡辺勝敏
2. 発表標題 “稀な性”と倍数性を越えた遺伝子流動がもたらす3倍体フナの進化と多様性
3. 学会等名 2017年度日本魚類学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 伊藤僚祐・三品達平・武島弘彦・渡辺勝敏
2. 発表標題 ゲノムワイドに探る種間交雑に伴う淡水カジカの適応進化
3. 学会等名 第65回日本生態学会大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 一般社団法人日本魚類学会	4. 発行年 2018年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 756
3. 書名 魚類学の百科事典	

1. 著者名 中坊 徹次、松沢 陽士	4. 発行年 2018年
2. 出版社 小学館	5. 総ページ数 544
3. 書名 小学館の図鑑Z 日本魚類館	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	中山 耕至 (Nakayama Kouji) (50324661)	京都大学・農学研究科・助教 (14301)	
研究分担者	竹下 直彦 (Takeshita Naohiko) (50399664)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産大学校・教授 (82708)	
研究分担者	武島 弘彦 (Takeshima Hirohiko) (50573086)	総合地球環境学研究所・研究部・外来研究員 (64303)	
研究分担者	橋口 康之 (Hashiguchi Yasuyuki) (70436517)	大阪医科大学・医学部・講師 (34401)	
研究分担者	田上 英明 (Tanoue Hideaki) (40601084)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・水産大学校・助教 (82708)	