

令和 2 年 6 月 11 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K07531

研究課題名(和文) タラ目魚類の進化史解明：ミトコンドリアゲノミクスによる網羅的アプローチ

研究課題名(英文) Elucidation of evolutionary history of Gadiform fishes: comprehensive approach based on mitochondrial genomics

研究代表者

佐藤 崇 (Takashi, Satoh)

京都大学・総合博物館・研究員

研究者番号：60436516

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、既知のタラ目の全科と半数以上の属、約10%の種数をカバーする13科47属62種のミトコンドリア(mt)ゲノム全塩基配列と複数の核遺伝子配列を新規に決定し、外群や既登録データを加えた計244種を網羅する系統樹を得ることができた。その結果、タラ目および各科の単系統性が強く支持された。科間の系統関係の精度を上げるためには、核遺伝子配列を増やす必要があることが示唆された。

また本研究で扱ったタラ目魚類のmtゲノムからは、目全体や特定の科もしくは属内で共有される8パターンの遺伝子配置変動が発見された。これらの変動は、それぞれのグループの単系統性を支持するマーカーとなることが明らかとなった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、新しくタラ目62種に関するミトゲノム全長配列と核遺伝子配列を決定した。これらはDNAデータベースに登録され、国内外での生態学や分類学などの基礎研究から、保全や水産などの応用分野に至るまで広く活用が可能である。この大規模データをもちいて、タラ目の高次系統樹を構築できた。これは分類体系や目内系統関係に諸説があった本目魚類にとって、合理的な資源管理を考える上での基盤ともなる包括的な系統枠が得られたという点で重要な意義がある。

さらに、この充実した系統樹を基に、複数のミトゲノム遺伝子配置変動の進化パターンを明らかにした。これはミトゲノムの構造進化にとって重要な知見となるものである。

研究成果の概要(英文)：In this study, we newly determined the whole mitochondrial (mt) genome and multiple nuclear gene sequences of 13 families (100%), 47 genera (approximately 50%), and 62 species (approximately 10%) of the Gadiform fishes. A comprehensive phylogenetic tree consisting of a total of 244 species was obtained by combining the new mt genome data with the outgroups and registered data in the database. The results strongly supported the monophyly of the Gadiformes and each family within the order. It was suggested that more nuclear gene sequences are required to improve the accuracy of phylogenetic relationships among families.

In addition, eight patterns of mt genomic gene rearrangement, which are shared throughout the Gadiformes fishes and within the specific family or genus, were discovered. It was revealed that these variations serve as markers that support the monophyly of each group.

研究分野：分子系統進化

キーワード：タラ目 ミトコンドリアゲノム 核ゲノム 分子系統 分子進化 遺伝子配置

1. 研究開始当初の背景















タラ目魚類は 13 科 75 属 555 種で構成され、マダラ、スケトウダラ、メルルーサなど水産資源として重要な食用魚を多数含む。海水はもちろん純淡水性の種も含まれ、浅海・深海・極海とあらゆる水域に生息し、形態的にも非常に多様性に富んだグループである。本目の分類体系は、Goodrich (1909) により形態データに基づいてまとめられたものが始まりで、その後多くの変遷を経ている。特に目内の科数は研究者ごとに見解が大きく異なり、4~14 科までの相違がある。近年でも、魚類学の国際的基本書『Fishes of the World』4th ed. (Nelson, 2006) では 9 科にまとめられていたが、Iwamoto et al. (2015) により既存の 1 科が新たに 4 科へ分科され、さらに最新の文献となる『Fishes of the World』5th ed. (Nelson et al., 2016) では、3 亜科が科に引き上げられ 2 科が亜科にされるなど、分類体系の大きな変更と混乱が続いていた。

一方、分子データをもちいたタラ目全体の系統解析は、Bakke and Johansen (2005), Roa-Varón and Ortí (2009) など複数存在していたが、どれもミトコンドリアゲノム(ミトゲノム)の部分配列、そして核の 1 遺伝子という最長でも 2,700 塩基ほどしかもちいていない。そのため情報量が不足しており、確固たる系統関係は得られておらず、合理的な資源保全・管理を考える上での基盤ともなる包括的かつ頑健な系統樹の構築が急務であった。

2. 研究の目的

研究代表者は、これまで 200 種以上の魚類ミトゲノム全塩基配列データを決定し、そのデータをもちいて、魚類の目内・科内など高次グループの系統進化的研究に携わってきた。その過程で、タラ目ソコダラ科の複数種のミトゲノムに、これまで全く報告のない複数タイプの遺伝子の並び順の変化(遺伝子配置変動)が生じていることを発見した。このような特徴的なゲノム構造が、目内にどの程度広がり、またどのような進化を遂げてきたかを研究するにあたり、高次分子系統樹が必要不可欠であるが、これまでに確かなものは得られていなかった。

そこで本研究では、まず第 1 にタラ目の新分類体系にあわせた全 13 科(図 1)を網羅した包括的系統樹の構築を目的とした。第 2 に、得られた包括的系統樹を元に、遺伝子配置変動などのミトゲノム構造や特徴的な形質の進化パターンを解析することとした。これらの解析結果を統合し考察することで、本目魚類の多様化の過程を総合的に解明することを目指した。

Gadiformes	既知種*		解析使用種数			
			MTG Full SQ ●	本研究 ○	MTG COI SQ	
Melanonidae メランノイダ科	1 属	2 種	1 種	1 種	2 種	
Steindachneriidae ヒカシダラ科	1 属	1 種	1 種	1 種	1 種	
Bathygadidae アタダラ科	2 属	26 種	2 種	2 種	4 種	
Macrouridae マクラウラ科	29 属	364 種	24 種	24 種	78 種	
Trachirincidae イッコクダラ科	4 属	9 種	2 種	2 種	4 種	
Euclichthyidae アソナダラ科	1 属	1 種	1 種	1 種	1 種	
Moridae モロイダ科	18 属	108 種	9 種	9 種	32 種	
Merlucciidae メルルーサ科	1 属	16 種	2 種	2 種	12 種	
Macruronidae マクロロスズメ科	3 属	7 種	1 種	1 種	2 種	
Ranicipitidae ランニピタ科	1 属	1 種	1 種	1 種	1 種	
Bregmacerotidae ブレグマセロタ科	1 属	14 種	1 種	1 種	7 種	
Muraenolepididae ウナギダラ科	2 属	9 種	1 種	1 種	2 種	
Gadidae ダラ科	20 属	56 種	22 種	14 種	32 種	

* Nelson et al. (2016) より

Picture: Fishes of Australia, FishBase, Goode and Bean, (1896)

図 1 タラ目の構成とミトゲノム解析使用種

3. 研究の方法

(1) 標本収集ならびにミトゲノム・核遺伝子の配列データ決定

これまでの経験上、系統解析の結果を安定させるには各科から少なくとも 2 種を解析に加えることが望ましいことを把握しているため、単一種からなる科以外は各科から 2 種を、種数が多いソコダラ科・チゴダラ科・タラ科からは属の半数、種数の 1/10 を解析に含めることを目標として標本を収集し、ミトゲノム全長配列データを決定した。より精度の高い系統樹を得るため、別の分類群で網羅的系統解析にもちいられた実績のある 8 種類の非連鎖核遺伝子 (ENC1, Glyt, myh6, plagl2, Ptr, rag1, SH3-PX3, zic1; Thacker et al., 2015) を決定し(約 8 Kbp)、ミトゲノム配列(約 13 Kbp)とともに解析にもちいた。

(2) 系統解析

全種のミトゲノム全長配列を 1 つのデータセットにまとめ、RAxML version 8 をもちいた最尤法解析によってタラ目全体の系統樹を構築した。また、MrBayes 3.2.6 によるベイズ解析も行った。核遺伝子の配列に関しても同様に解析を進めた。これらに加えて、データベースに登録されている部分配列を解析に取り込める Super matrix 法によって大規模系統樹を求めた。これらの解析には、研究代表者らの先行研究の成果を参考とし (Miya et al., 2003; 2007)、マトウダイ目とアカマンボウ目を中心とした周辺分類群を外群として含めた。

(3) ミトコンドリアゲノムの構造比較

研究代表者らの先行研究に基づき (Sato et al., 2016), 決定したミトゲノム全長配列を詳細に比較し, 各遺伝子の構造的特徴や遺伝子配置変動データを洗い出した. これらの情報を, 上述の解析によって得られたタラ目系統樹にマッピングすることで, 特徴的なミトゲノムの構造が目内での程度共有されるものなのか, いつ頃生じた変異なのかなどの進化パターンを考察した.

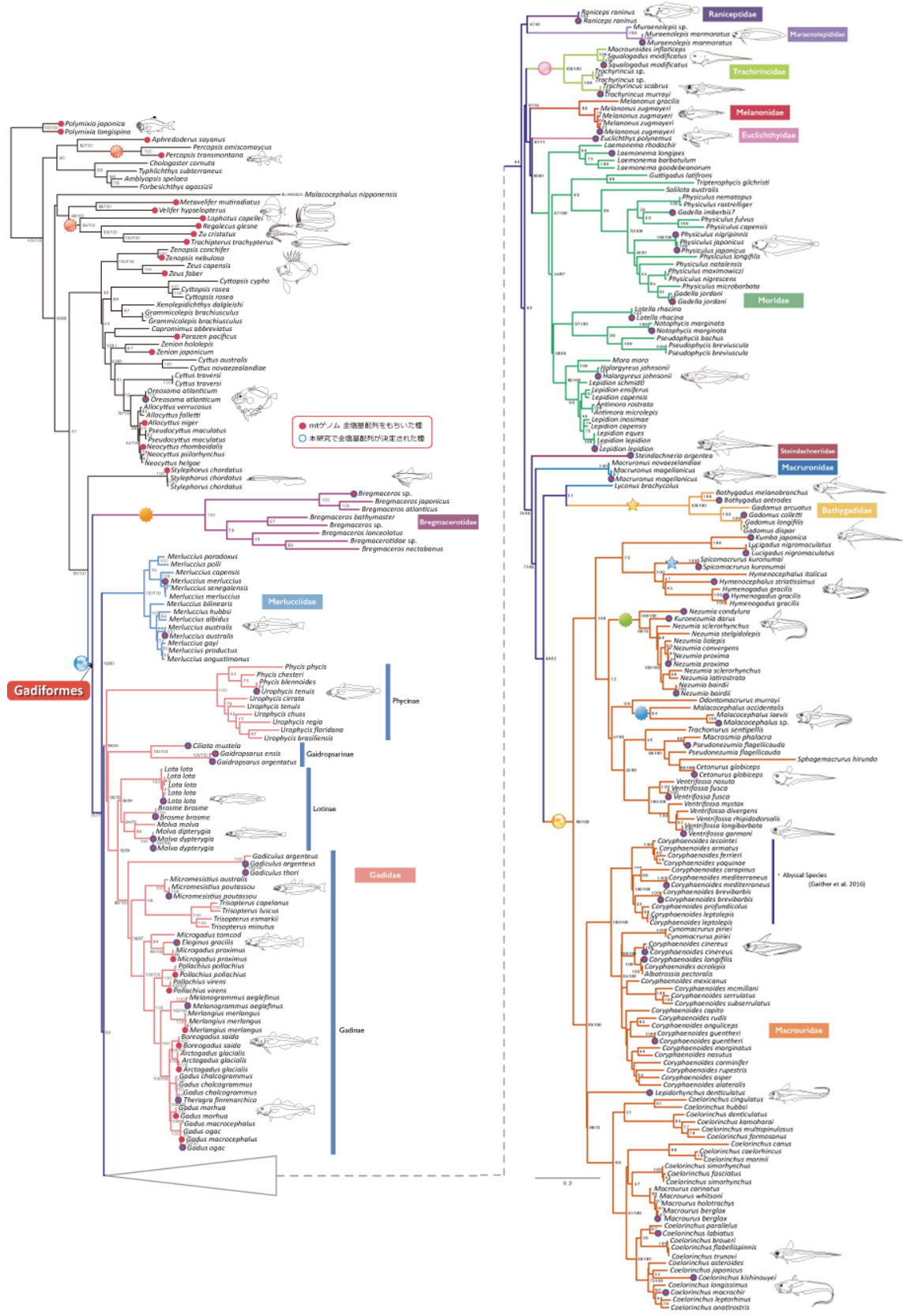


図2 87種のミトゲノム全長配列と178種の部分配列をもちいた Supermatrix tree. 樹上の数値は, 1,000回のブートストラップ値 (SM/ML) を示す.

4. 研究成果

(1) タラ目の網羅的系統解析

網羅的サンプリングの結果、既知のタラ目 13 科 84 属 613 種中の全科と半数以上の属、そして約 10% の種数をカバーする 13 科 47 属 60 種の新規ミトゲノム全長配列を決定した。これに外群やデータベース上の既登録データを加えた 86 種の全塩基配列データに基づいて系統解析を行った(図2 Magenta)。さらにデータベースに登録されている部分配列データを加え、Supermatrix 法による包括的系統解析を行い、全 244 種 307 個体を網羅した大系統樹を構築することができた(図2)。

その結果、タラ目の単系統性は強く支持され、現行の分類体系に即した目内各科の単系統性も強く支持された。科内の系統関係も形態データによる過去の系統仮説を補強するような確固たる系統枠を構築することができた。目内は大まかに、タラ科、チゴダラ科、ソコダラ科を中心とした3つのグループに分かれることが示され、最も基底に位置するグループとしては、過去の研究例では指摘されたことのないサイウオ科が位置する結果となった。しかし、このサイウオ科も含めて科内に1-2属しか含まれないような多様性が低いグループ(ラニケプス科、ヒカリダラ科など)は、ミトゲノムの進化速度が他のグループより非常に速く、系統位置を定めるには至らなかった。

(2) 核遺伝子に基づく系統解析

より精度の高い科間の系統関係を得るために、ミトゲノムより進化速度が遅く、古い分岐に対する解像度が高いと考えられる核遺伝子の配列をもちいて系統樹を構築した(図3)。

8種類の核遺伝子配列から得られた系統樹は、基底となる種がサイウオ科となること、大きく3つのグループに分かれることなどが、ミトゲノムの結果と一致していた。また、以前の形態データに基づく研究では、最も基底に位置するとされてきたカワリヒレダラ科が、アシナガダラ科とともにチゴダラ科の近傍に位置することがミトゲノムと核遺伝子の両面から支持された。

しかし、前述の多様性が低い科の系統位置については、ミトゲノムの樹形とは異なるものとなった。使用した8つの遺伝子は進化速度が異なり、それぞれを単体でもちいた時の解析結果も大きく異なるが、それらをまとめたデータセットとして扱う場合、8種類の中でも最長(約1500 bp)のRAG1遺伝子の結果を強く反映していることが明らかになった。科間の系統関係の精度を高めるには、進化速度の差が少ない非連鎖核遺伝子の配列を増やす必要があることが示唆された。

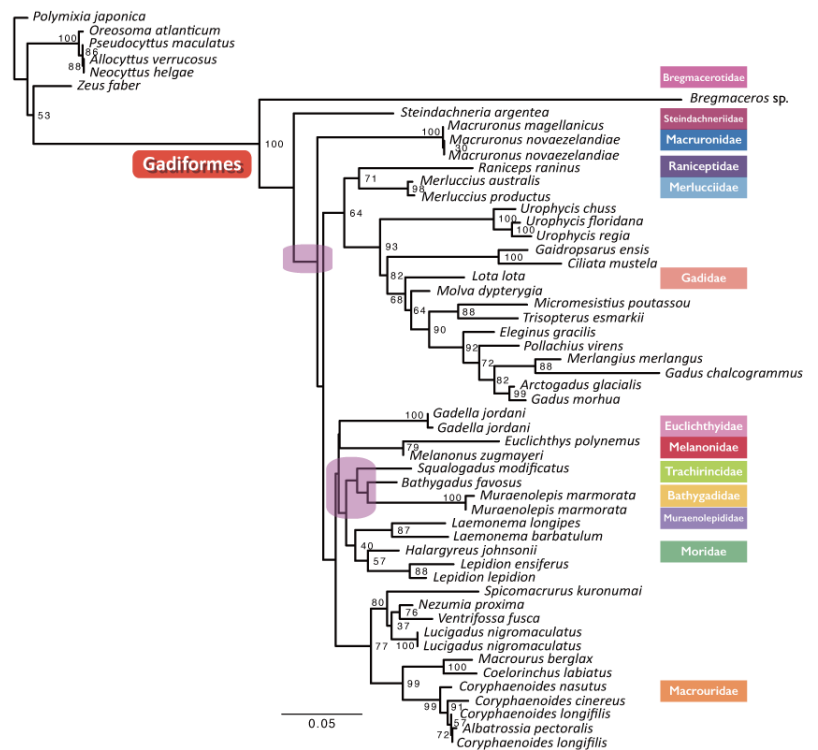


図3 8核遺伝子の配列をもちいた最尤法による解析結果

(3) ミトコンドリアゲノムの構造比較

本研究で扱ったタラ目魚類のミトゲノムには、目全体で共有されるものや、特定の科もしくは属内で共有されるものなど、8パターンの遺伝子配置変動が発見された(図4)。目内で見つかった全ての遺伝子配置変動は、それぞれの科もしくは属に分化した際に生じたものと考えられ、単系統性を支持する分子マーカーとなることが示唆された。本目のように、科、属内で複数タイプの遺伝子配置変動が生じている例は少ないため、これらのデータを精査することで、ミトゲノムの遺伝子構造に関する進化プロセス解明につながると期待できる。

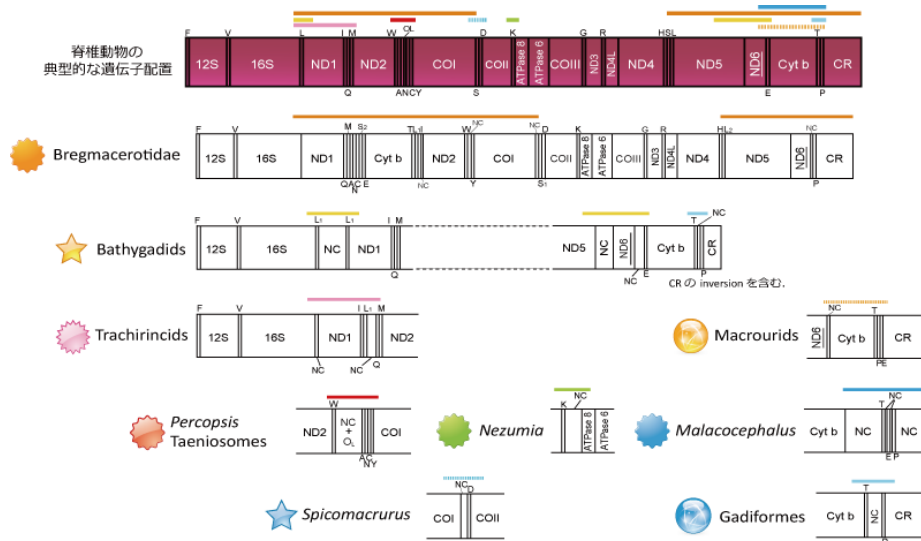


図4 タラ目魚類で発見された特異なミトゲノム遺伝子配置

引用文献

- Bakke I and S. D. Johansen. 2005. *Mar Biotechnol* (NY)., 7 (1):61-9.
- Goodrich E. S. 1909. *The Vertebrata Craniata (Cyclostomes and Fishes)*. Volume IX of Lankester E. Ray (ed) *Treatise on Zoology*, London.
- Miya, M., H. Takeshima, H. Endo, N. B. Ishiguro, J. G. Inoue, T. Mukai, T. P. Satoh, M. Yamaguchi, A. Kawaguchi, K. Mabuchi, S. M. Shirai and M. Nishida. 2003. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 26(1), 121-38.
- Miya, M., N. I. Holcroft, T. P. Satoh, M. Yamaguchi, M. Nishida and E. O. Wiley. 2007. *Ichthyological Research*, 54, 323-332.
- Nelson, J. S. 2006. *Fishes of the World*, 4th ed., John Wiley & Sons, Inc.
- Nelson, J. S., T. C. Grande and M.V.H. Wilson. 2016. *Fishes of the World*, 5th ed., John Wiley & Sons, Inc.
- Roa-Varón A, and G. Ortí. 2009. *Mol Phylogenet Evol.*, 52 (3): 688-704.
- Satoh, T. P., M. Miya, H. Endo and M. Nishida. 2006. *Mol. Phylogenet. Evol.*, 40, 129-138.
- Satoh, T. P., M. Miya, K. Mabuchi and M. Nishida. 2016. *BMC Genomics*, 17, 719.
- Thacker C. E., T. P. Satoh, E. Katayama, R. C. Harrington, R. I. Eytan, and T. J. Near. 2015. *Mol Phylogenet Evol.* 93:172-9.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Sato, Takashi P.	4. 巻 3(1)
2. 論文標題 Complete mitochondrial genome sequence of <i>Glaucosoma buergeri</i> (Pempheriformes: Glaucosomatidae) with implications based on the phylogenetic position	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Mitochondrial DNA Part B Resources	6. 最初と最後の頁 107-109
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） https://doi.org/10.1080/23802359.2018.1424583	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 -

〔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 佐藤 崇
2. 発表標題 タラ目魚類の網羅的分子系統解析とミトゲノムの構造進化
3. 学会等名 日本魚類学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 昆 健志・佐土 哲也・Lukas Ruber・佐藤 崇・吉野 哲夫・西田 睦・宮 正樹
2. 発表標題 ハゼ亜目魚類における地球規模的な分布域拡大過程の再構築
3. 学会等名 日本魚類学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Takashi P. Sato, Yoshiaki Kai
2. 発表標題 Collection of fish tissue specimens for molecular analysis in museums and examples of utilization.
3. 学会等名 The Union of Japanese Societies for Natural History (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 佐藤 崇
2. 発表標題 タラ目魚類の系統進化学的研究：ミトゲノミクスによる網羅的解析
3. 学会等名 第51回日本魚類学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 山内洋己, 佐藤 崇
2. 発表標題 和歌山県におけるハゼ亜目仔稚魚の出現様式
3. 学会等名 第51回日本魚類学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 佐藤 崇
2. 発表標題 アカマンボウ目魚類の系統進化と潜在的種数の推定
3. 学会等名 第50回日本魚類学会年会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Kon, Takeshi; Sado, Tetsuya; Ruber, Lucas; Satoh, Takashi P. ; Yoshino, Tetsuo; Nishida, Mutsumi; Miya, Masaki
2. 発表標題 Molecular phylogenetics and the diversification of the gobioid fishes.
3. 学会等名 The 10th Indo-Pacific Fish Conference (国際学会)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1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 (9章遺伝 ミトコンドリアゲノム pp444-445)	

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----