

機関番号：10101

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2008～2010

課題番号：20570080

研究課題名（和文） スーパー系統樹解析によるショウジョウバエ属の系統推定と分類体系の改訂

研究課題名（英文） Phylogeny reconstruction and taxonomic revision of the genus *Drosophila* by super-tree and -matrix analyses

研究代表者

胡 耀光 (HU YAO-GUANG)

北海道大学・低温科学研究所・研究員

研究者番号：20466436

研究成果の概要（和文）：代表的なモデル生物であるキイロショウジョウバエを含むショウジョウバエ属全体の分類体系の改訂を視野に入れて、問題となるいくつかの分類群について、主に DNA 分子情報を用いて系統解析を行った。また、将来ゲノムサイズの巨大 DNA 塩基配列データベース情報を使って系統解析を効率的に行うことをめざして、複数の遺伝子の異なる進化パターンを考慮した分節的解析法を近隣接合法に導入するための新しいプログラムを開発した。

研究成果の概要（英文）：With a perspective of revising the classification system of the whole genus *Drosophila*, which includes a famous model organism, *D. melanogaster*, some unsolved problems in its phylogeny were addressed using DNA molecular information. In addition, we developed a novel, sequence-partitioning procedure for phylogenetic tree construction by the Neighbor Joining (NJ) method, to cope with heterogeneous evolutionary processes in different gene regions. Our novel method for NJ tree construction will be useful in saving time of computation, in comparison to other methods, from a huge dataset based on genome-scale sequences, which are now becoming available but include many regions under heterogeneous evolutionary processes.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	1,000,000	300,000	1,300,000
2009年度	900,000	270,000	1,170,000
2010年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
総計	2,700,000	810,000	3,510,000

研究分野：昆虫系統分類学

科研費の分科・細目：基礎生物学 生物多様性・分類

キーワード：ショウジョウバエ、分子系統、分類学、分類体系、生物地理学、中国：インドネシア：マレーシア

## 1. 研究開始当初の背景

(1) ショウジョウバエ属は、約 1,500 種からなる大きな属であり、キイロショウジョウ

バエを代表としていくつかのモデル生物種を含んでいる。この特徴を生かして、いち早く 12 種について全ゲノム配列が解読・公開

され、比較ゲノム解析の中核を担うモデル生物群となりつつある。

(2) 比較ゲノム解析を体系的、効果的に行うためには、系統情報が必須となるが、ショウジョウバエ科の系統関係は、最大のショウジョウバエ属をはじめとしていくつかの重要な分類群について未解明な点が残されていた。

(3) また、生物の分類体系は、その生物の系統進化などの自然特性を反映したものが望ましい。しかし、ショウジョウバエ属の単系統性は、古くから疑問視され、近年行われた多くの分子系統学的研究でもこのことが指摘されてきた。

## 2. 研究の目的

ショウジョウバエ分類体系の大枠改訂を想定し、それに伴って生じる問題を解決することを目的とした。具体的には、問題となりうる種の系統的位置を、形態形質と複数の遺伝子の DNA 塩基配列情報を用いて明らかにすること、そのために必要となる新しい分子系統解析法の開発をめざした。

## 3. 研究の方法

(1) アジア産の種を中心に、系統情報（形態形質、DNA 塩基配列）を得るための網羅的サンプル収集・保存に努めた。

(2) 将来ゲノムサイズの巨大 DNA 塩基配列データベース情報を使って系統解析を効率的に行うことを視野に入れて、複数の遺伝子の複雑な塩基置換パターンを考慮した解析法を開発することをめざした。

(3) 上記の材料と解析法を使って、いくつかの系統群に着目して、分子系統解析を行った。

## 4. 研究成果

(1) 日本、中国、マレーシア、インドネシアなどから、合計 518 サンプル、175 種（61 新種を含む）、9,230 個体のショウジョウバエ科の DNA 解析用標本を収集し、そのうちの一部を本研究に使用するとともに世界のショウジョウバエ分子系統研究者に提供した。

(2) ゲノム規模の巨大配列データセットに基づく系統推定をする場合、膨大な計算量（時間）と遺伝子による進化パターンの違いをどのように克服するかが問題となる。近隣接合法による系統樹作成は、他の方法（最尤法、ベイズ法など）と比べて計算量が少なく済む一方、解析に複数の塩基置換モデルを組み込む方法が開発されていなかった。この

問題を解決するために、長大な塩基配列を、進化パターンの異なる部位に分割し、それぞれの部位ごとに最も相応しい塩基置換モデル、補正法を適用して、遺伝距離行列を計算し、それらの遺伝距離行列を融合する分節的解析法（ブートストラップ解析を含む）のプログラム MultiGeneNJ を開発した。この方法は、現在普及しつつある次世代シーケンサーから生み出されるであろう莫大なゲノム配列情報に基づく系統推定を効率的に進めるのに役立つと期待される。

(3) 以上の解析法を、モデル生物であるキイロショウジョウバエ (*Drosophila melanogaster*) を含むシマショウジョウバエ亜属 (*Sophophora*) と類縁が推定されているニセヒメショウジョウバエ属 (*Lordiphosa*) の系統関係解析に適用した。その結果、ニセヒメショウジョウバエ属は、新熱帯区に分布するシマショウジョウバエ亜属の *saltans* 種群 + *willistoni* 種群の姉妹群であり、シマショウジョウバエ亜属は側系統群であることが判明した (図 1)。

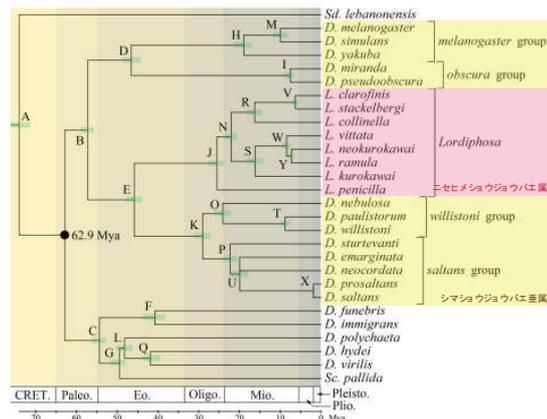


図 1 シマショウジョウバエ亜属とニセヒメショウジョウバエ属を中心とした分子系統樹と分岐年代推定 (ND2, COII, Adh, 28S 遺伝子による)

また、この 2 系統（ニセヒメショウジョウバエ属と *saltans* 種群 + *willistoni* 種群）の旧世界/新世界の分離は、第三紀始新世中期（約 4,600 万年前）にヨーロッパ大陸と北米大陸の生物地理学的分離によって起こったと推定され、Throckmorton (1975) が提唱したショウジョウバエ科の旧世界熱帯/新世界熱帯系統の分離仮説に、系統地理学的・地史的新知見を与えた。

(4) Grimaldi (1990) が提唱したトゲアシショウジョウバエ (*Zaprionus*) 属群の単系統性を検証するために、それに含まれるトゲアシショウジョウバエ属、ギンガシショウジョウバエ (*Phorticella*) 属、*Samoaia* 属とこれらと強い類縁が示唆されているオオショウジ

ヨウバエ (*Drosophila immigrans*) 種群などの系統関係を, *COII* 遺伝子と *Amyrel* 遺伝子の塩基配列情報に基づいて解析した. その結果, トゲアシショウジョウバエ属群のみならず, トゲアシショウジョウバエ属, ギンガショウジョウバエ属も多系統群であること, オオショウジョウバエ種群のダイダイショウジョウバエ (*Drosophila quadrilineata*) 亜群が *Samoaia* 属の姉妹群であることが判明した (図 2). この結果は, ショウジョウバエ亜科全体の分類体系を改訂する必要があることを強く示唆している.

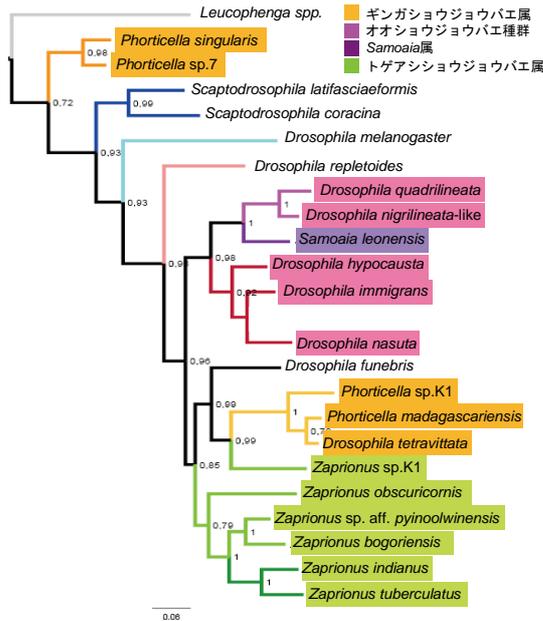


図 2 トゲアシショウジョウバエ属群を中心とした分子系統樹 (*COII*, *Amyrel* 遺伝子による)

(5) ショウジョウバエ亜属 (*Drosophila*) は, 大きく “*virilis-repleta* 系統” と “*immigrans-tripunctata* 系統” とよばれる 2 つの群に分けられる. *virilis-repleta* 系統は, 多くの分子系統解析によって, 単系統群であることが明らかとなっているが, “*immigrans-tripunctata* 系統” の系統関係については, 未解明な部分が多く残されている. そこで, “*immigrans-tripunctata* 系統” のショウジョウバエ亜科内の系統的位と, それに含まれるいくつかの種群 (*immigrans*, *funebris*, *histrion*, *quinaria*, *testacea*, *bizonata*, *tripunctata* 種群) の系統関係を明らかにするために, *Adh*, *Gpdh* 遺伝子の塩基配列情報を用いて系統解析した. その結果, “*immigrans-tripunctata* 系統” は大きく 2 つの系統群にわかれ, 1 つは *quadrilineata* 亜群を除く *immigrans* 種群によって, もう 1 つはそれ以外の種群によって構成されることが明らかとなった (図 3). また, *quadrilineata* 亜群に属すダイダイショウジョウバエ (*D. quadrilineata*) は, *COII*,

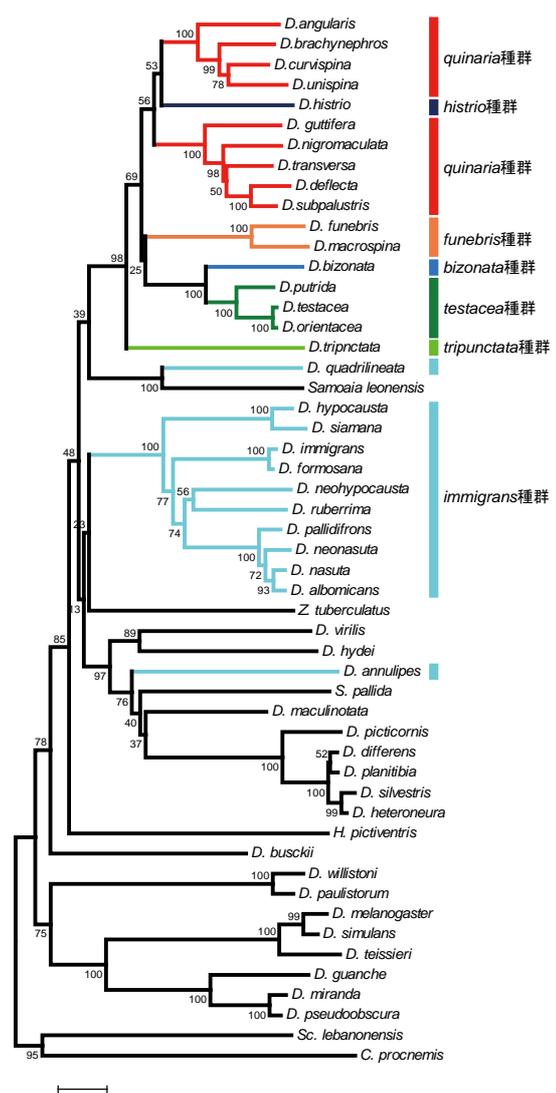


図 3 *immigrans-tripunctata* 系統を中心とした分子系統樹 (*Adh*, *Gpdh* 遺伝子による)

*Amyrel* 遺伝子による解析結果と同様に, *Samoaia* 属の姉妹群になったが, ダンダラショウジョウバエ (*D. annulipes*) は Hawaiian *Drosophila* やヒメショウジョウバエ (*Scaptomyza*) 属が含まれる系統群の中に位置づけられた. このことは, ハワイ諸島で一大放散したショウジョウバエ類の起源を考える上で, 大変興味深い.

(6) ハワイ諸島のショウジョウバエ類は, 既知種約 600 種, 未記載種を含めると推定約 900 種の固有種から成り, 海洋島における生物の一大放散の例として有名である. これらのショウジョウバエ類は, Hawaiian *Drosophila* とよばれるグループとヒメショウジョウバエ属の 2 つの系統群に分かれ, これまでの多くの系統学的研究でこの 2 つの系統群が姉妹群を形成することから, 単一起源説が有力とされてきた. Hawaiian *Drosophila* は全てハワイ諸島固有で単系統

であるので、それらが単一の共通祖先種から分化したことは確実であるが、ハワイ固有のヒメショウジョウバエ属の起源については、まだ十分に解明されていない。ヒメショウジョウバエ属はこれまでに約 270 種が知られ、その内の約 55% がハワイ固有、残りの約 45% はハワイ以外の世界各地に分布している。ハワイのショウジョウバエ単一起源説を採ると、ヒメショウジョウバエ属はハワイで起源し、その後一部が世界に分散したということになる。しかし、これまでに系統解析に含まれたハワイ以外の地域に分布するヒメショウジョウバエ属の種数は極めて少なく、上記の仮説が十分に検証されたとは言えない。そこで、ハワイ以外の地域に分布する全ての亜属 (*Boninoscapteromyza*, *Bunostoma*, *Hemiscapteromyza*, *Parascapteromyza*, *Scapteromyza*) を代表する 7 種を解析に含め、*Adh*, *COII* 遺伝子の塩基配列情報による系統解析を行った。その結果、ヒメショウジョウバエ属全体は単系統群であるが、ハワイ固有種は其中で 2 つの系統群に分かれ、多系統群であることが判明した (図 4)。

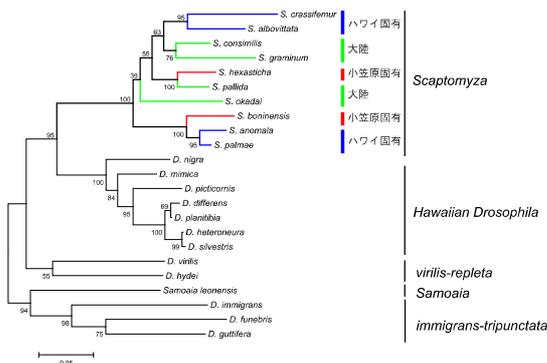


図 4 ヒメショウジョウバエ属を中心とした分子系統樹 (*Adh*, *COII* 遺伝子による)

得られた分子系統樹 (図 4) に基づいて、ハワイのショウジョウバエの起源に関する 2 つの仮説、単一起源説 (図 5A) と複数起源説 (図 5B) を検討してみた。これまで有力とされてきた単一起源説に従うと、*Hawaiian Drosophila* とヒメショウジョウバエ属の共通祖先種が 1 回ハワイに移入し、ヒメショウジョウバエ属はハワイで分化して、その後少なくとも 4 回ハワイの外に分散したということになる。一方、複数起源説では、*Hawaiian Drosophila* とヒメショウジョウバエ属の分化はハワイの外で起こり、前者の祖先種が 1 回、後者では少なくとも 2 回のハワイへの移入が起こったと解釈できる。移出入の頻度の最節約原理に従うと、後者の説の方が有力ということになるが、解析に含めたヒメショウジョウバエ属の種数が少ないこと、それらの産地が一部の地域 (日本) に限られていること、*Adh*, *Gpdh* 遺伝子による解析でヒメショウジョウバエ属以外にもハ

ワイのショウジョウバエに類縁がある種が示唆されていることから、さらに研究対象種を拡げて、この仮説を検証する必要がある。

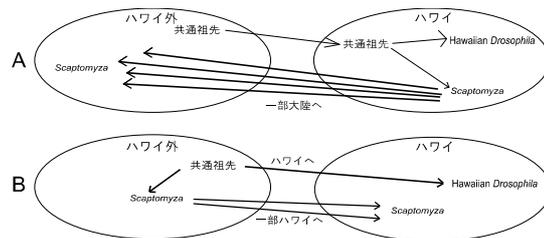


図 5 ハワイのショウジョウバエの起源に関する 2 つの仮説 (A: 単一起源説, B: 複数起源説) と移出入の推定

## 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 6 件)

- ① Gao, J.-j., Hu, Y.-g., Toda, M. J., Katoh, T., Tamura, K. Phylogenetic relationships between *Sophophora* and *Lordiphosa*, with proposition of a hypothesis on the vicariant divergences of tropical lineages between the Old and New Worlds in the family Drosophilidae. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 査読有, (in press)
- ② 加藤徹 ショウジョウバエ分子系統学研究の最前線. *低温科学*, 査読有, 69 巻, 2011, pp.1-9, <http://hdl.handle.net/2115/45183>
- ③ Yassin, A., Da Lage, J.-L., David, J. R., Kondo, M., Madi-Ravazzi, L., Prigent, S. R., Toda, M. J. Polyphyly of the *Zaprionus* genus group (Diptera: Drosophilidae). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 査読有, Vol.55, No.1, 2010, pp.335-339
- ④ Gao, J.-j., Tanabe, S., Toda, M. J. Discovery of three new species of *Drosophila obscura* species group (Diptera: Drosophilidae) from Mount Kinabalu in Borneo. *Entomological Science*, 査読有, Vol.12, No.3, 2009, pp.270-283
- ⑤ Yafuso, M., Toda, M. J., Sembel, D. T. *Arengomyia*, new genus for the *Colocasiomyia arenga* species group (Diptera: Drosophilidae), with description of a new species. *Entomological Science*, 査読有, Vol.11, No.4, 2008, pp.391-400
- ⑥ Kumar, S., Nei, M., Dudley, J., Tamura, K. MEGA: A biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and

protein sequences. Brief Bioinform, 査読有, Vol.9, 2008, pp.299-306

〔学会発表〕(計14件)

- ① Tamura, K. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis using Likelihood, Distance, and Parsimony methods. Penn State SMBE Symposium on Molecular and Genomic Evolution, University Park, Pennsylvania, 2011年3月19日
- ② Tamura, K. Introduction to MEGA. CEMI's Molecular Phylogenetics Analysis Workshop, Tempe, Arizona, 2011年3月16日
- ③ 戸田正憲 ゲノムベースの分子系統学に向けたささやかな試みと系統に基づく分類体系改訂の問題: ショウジョウバエ科の場合. 第10回日本分類学会連合公開シンポジウム, 国立科学博物館新宿分館, 東京, 2011年1月8日
- ④ 加藤徹 ショウジョウバエ分子系統学の歴史. 北海道大学低温科学研究所共同研究集会, 北海道大学, 札幌, 2010年9月23日
- ⑤ 田村浩一郎 Other species の研究における12種ゲノムの有用性. 日本遺伝学会第82回大会, 北海道大学, 札幌, 2010年9月22日
- ⑥ 田村浩一郎 MEGA5 による分子進化・分子系統解析. 日本進化学会第12回大会, 東京工業大学, 東京, 2010年8月2日
- ⑦ Tamura, K. MEGA5: Molecular Evolutionary Genetics Analysis version 5.0. Society for the Study of Evolution Annual Meeting 2010, Portland, Oregon, 2010年7月25日
- ⑧ 田村浩一郎 MEGA5 を用いた分子系統解析. 第141回農林交流センターワークショップ, 農林水産省農林水産技術会議事務局筑波事務所情報通信共同利用館, 筑波, 2009年11月5日
- ⑨ 戸田正憲 学名を変更すべきか, すべきでないか? : *Drosophila melanogaster* を例に. 日本昆虫学会第69回大会, 三重大学, 津, 2009年10月10日
- ⑩ Toda, M. J. To be changed or not to be changed: *Drosophila melanogaster* or *Sophophora melanogaster*? *Drosophila* taxonomy, systematics and phylogenetics and their implications for *Drosophila* biology, University California San Diego Drosophila Stock Center, San Diego, USA, 2008年11月23日
- ⑪ 田村浩一郎 MEGA4 を用いた分子系統解析. 第131回農林交流センターワーク

ショップ, 農林水産省農林水産技術会議事務局筑波事務所情報通信共同利用館, 筑波, 2008年10月8日

- ⑫ 田村浩一郎 巨大系統樹推定のための最尤法の適用. 日本進化学会第10回大会, 東京大学, 東京, 2008年8月22日
- ⑬ 戸田正憲 学名を変更すべきか, すべきでないか? : *Drosophila melanogaster* を例に. 分類学の帰還, 北海道大学総合博物館, 札幌, 2008年6月28日
- ⑭ 田村浩一郎 MEGA による生物学者のためのソフトウェア開発. 科学技術政策研究所シンポジウム, 文部科学省, 東京, 2008年4月11日

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

胡 耀光 (HU YAO-GUANG)  
北海道大学・低温科学研究所・研究員  
研究者番号: 20466436

### (2) 研究分担者

戸田 正憲 (TODA MASANORI)  
北海道大学・低温科学研究所・教授  
研究者番号: 40113592

### (3) 連携研究者

田村 浩一郎 (TAMURA KOICHIRO)  
首都大学東京・大学院理工学研究科・教授  
研究者番号: 00254144

加藤 徹 (KATOH TORU)  
北海道大学・大学院理学研究院・助教  
研究者番号: 80374198