

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 5 月 18 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570092

研究課題名(和文) Scaptomyza 属ショウジョウバエの系統進化

研究課題名(英文) Origin and phylogeny of Scaptomyza (Diptera: Drosophilidae)

研究代表者

加藤 徹 (KATO, Toru)

北海道大学・理学(系)研究科(研究院)・助教

研究者番号：80374198

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,300,000円

研究成果の概要(和文)：Scaptomyza属のショウジョウバエは約6割の種がハワイ固有で、残りが大陸に分布する。これらがハワイ起源でその一部が大陸に分散したのか、逆に大陸起源で一部がハワイで適応放散したのかが疑問である。本研究は、この問題を検証することを目的に、Scaptomyza属の5亜属11種について、11遺伝子の塩基配列を新たに決定した。そして、これに既知79種の配列情報を加えて分子系統樹を構築し、祖先系統の分布域と分岐年代を推定した。その結果、本属はハワイ起源ではなく、大陸種の一部がハワイに移住したという大陸起源説が支持された。さらに、大陸からハワイへの移住は1回のみならず、2回独立に生じたと推定された。

研究成果の概要(英文)：The genus Scaptomyza is one of the incredibly diversified groups in the family Drosophilidae, in which about 60% species are endemic to Hawaiian Islands while the remaining species are distributed in continents. There have been two alternative hypotheses for the origin of Scaptomyza. One is that the genus originated in Hawaii and subsequently diversified in continents, another is that these species originated in continents and subsequently colonized in Hawaii. In order to verify this problem, we determined the nucleotide sequences of 11 genes for the 11 species of Scaptomyza. Together with the homologous sequences for 79 species, we reconstructed the phylogenetic trees and then inferred the ancestral distributions and divergence times. Our results revealed that Scaptomyza would have originated outside Hawaii, supporting the continental origin hypothesis. In addition, our results revealed that the migration of Scaptomyza from continents to Hawaii would have occurred twice independently.

研究分野：分子系統学

キーワード：分子系統 ショウジョウバエ 分岐年代 祖先分布

1. 研究開始当初の背景

(1) ショウジョウバエは、ショウジョウバエ科 (Family Drosophilidae) に属する双翅目昆虫の総称を指し、これまでさまざまな種が、遺伝学、行動学、および生態学などの研究分野で広く用いられている。そして、その多様性に着目して研究を拡大する際、ショウジョウバエの系統進化に関する情報は、それ自身が興味深い知見であるのみならず、ショウジョウバエを用いたあらゆる研究の基盤となる点で重要である。

(2) ショウジョウバエの系統学的研究は古くから注目され、これまでにいくつかの古典的な研究が知られている。中でも、Throckmorton は内部形態や地理的分布などに基づいたショウジョウバエ科の系統に関する仮説を提唱し (文献1)、多くの研究者に広く受け入れられてきた。しかし、その後、Grimaldi は数多くの外部形態を用いて分岐学的解析を行い、Throckmorton の説と大きく異なる仮説を提唱した (文献2)。それ以来、ショウジョウバエ科の系統関係を分子系統学的見地から再検討しようとする試みが、これまで数多くなされている。

(3) 興味深いことに、分子系統解析に基づく最近の研究結果は、後から提唱された Grimaldi の仮説よりも、むしろ古典的な Throckmorton の仮説に近い傾向にあるが、いくつかの重要な分類群の系統関係については未だに不明な点が多い。そして、その中の注目すべき課題の一つとして、*Scaptomyza* 属ショウジョウバエの起源と適応放散に関する問題が残されている。

(4) *Scaptomyza* 属のショウジョウバエは、これまで 260 種以上が記載されている比較的大きな分類群である。本属は約 6 割の種がハワイ固有で、残りが世界中に広く分布するが、これらがハワイに起源を持ち、その一部が各大陸へ分散したのか、あるいはハワイを除いた大陸のどこかに起源を持ち、そこからハワイへ渡り適応放散したのかが疑問である。さらに、本属の放散にともなうハワイ - 大陸間の移動回数についても、それが 1 回で済んだイベントなのか、あるいは複数回生じたかが疑問となる。そして、上記の問題を検証するための分子系統学的研究がこれまでいくつか行なわれてきたが、タクソンサンプリングが不十分である、もしくは少数遺伝子座の配列情報しか解析に用いていない等の理由から、未だに決定的な解答が得られていない。

(5) 昨今の DNA 解析技術の急速な発展に伴い、ゲノムベースでの解析が生物進化研究の新たな潮流を生み出している。実際、ショウジョウバエ科では 12 種の全ゲノム配列が既に決定され、ゲノム配列に基づく系統樹が発表されている (文献3)。また、これと前後し

て、核ゲノム以外にも、ミトコンドリアゲノム配列に基づくショウジョウバエの系統樹も発表されている (文献4)。従って、タクソンサンプリングを十分に行ない、これらのゲノム情報を活用することで、*Scaptomyza* 属の系統に関する上記の諸問題が解決できると期待される。

2. 研究の目的

(1) ショウジョウバエ科における *Scaptomyza* 属の系統学的位置を明らかにする：これまでの系統学的研究から、*Scaptomyza* 属はハワイ固有の Hawaiian *Drosophila* に最も近縁であることが示唆されているが、これらの祖先種が一体どの大陸に由来するかという問題に対して、決定的な解答が得られてない。そこで、ショウジョウバエ科内における *Scaptomyza* 属全体の系統学的位置を調べることで、上記問題の解決を試みる。

(2) *Scaptomyza* 属における大陸産種とハワイ固有種間の系統関係を明らかにする：*Scaptomyza* 属は約 6 割の種がハワイ固有で、残りが世界中に分布するが、これらの系統関係については不明な点が多い。そこで、*Scaptomyza* 属内における詳細な系統関係を明らかにすることで、本属がハワイに起源を持ち、その一部が各大陸に分散したのか、あるいは大陸のどこかに起源を持ち、その一部がハワイで適応放散したのかという問題を解決する。

(3) *Scaptomyza* 属における種間の分岐年代をそれぞれ推定する：ハワイ固有の生物群を系統解析に含めると、ハワイ列島を構成する島々の地質学的形成年代から、系統樹の各枝が分岐した絶対年代を測定することが可能となる。そこで、ハワイ産 *Scaptomyza* 属におけるゲノムの進化速度を、ハワイ列島の地質年代情報と照らし合わせることで、本属における種間の分岐年代をそれぞれ推定する。

3. 研究の方法

(1) 試料収集：野外にてスウィーピング法によりショウジョウバエ複数種をまとめて採集し、70%あるいは100%エタノールに入れて液浸標本とする。これらの標本をそのまま実験室に持ち帰り、実体顕微鏡下で種を同定し、目的の種を以後の解析用の試料に用いる。

(2) DNA 抽出：シリカゲルを用いた抽出法により、それぞれ1個体のショウジョウバエから DNA を抽出する。DNA は塩存在下でシリカゲルに特異的に吸着するので、この性質を利用することで、DNA を他の物質から分離精製することが可能である。この方法は、エタノール沈殿の必要がないため、微量の DNA でも回収できることに加え、市販のキットを使う場合に比べて、コストパフォーマンスの面で

非常に優れているという利点がある。

(3) DNA塩基配列の決定：標的遺伝子のそれぞれについてPCR反応を行ない、DNA増幅の有無を確認する。その後、増幅が確認されたサンプルについては、ダイレクトシーケンシングを行なって塩基配列を決定する。この際、核遺伝子においてヘテロ接合のサイトが確認された場合には、クローニングによりヘテロサイトの塩基を確認してDNAハプロタイプを決定する。

(4) 分子系統樹の構築：アライメントした塩基配列のデータを基に、最尤法およびベイズ法を用いて分子系統樹を構築し、ブートストラップ値あるいは事後確率を算出することで系統樹の各枝の信頼性を評価する。そして、得られた分子系統樹における各枝の分岐関係から、*Scaptomyza* 属内における大陸産種とハワイ固有種間の系統関係を推定する。

(5) 祖先種の分布域の推定：解析に用いた種の分布情報、および分子系統解析により得られた系統樹の樹形に基づき、系統樹の各ノード(祖先種)の分布域が、大陸とハワイのどちらにあったかを、ベイズ法を適用した解析プログラムを用いて推定する。

(6) 分岐年代の推定：*Scaptomyza* 属のショウジョウバエにおけるゲノム全体の塩基置換数を、ハワイ列島の地質年代情報と照らし合わせることで、年あたりの塩基置換率を計算し、これを基準として系統樹の各枝が分岐した絶対年代をそれぞれ推定する。

4. 研究成果

(1) 塩基配列の決定：本研究課題では、これまで、大陸産の *Scaptomyza* 属ショウジョウバエ 5 亜属 11 種について(表1) ミトコンドリアゲノムから 4 遺伝子(16S, COI, COII, ND2)、および核ゲノムから 7 遺伝子(28S, Adh, Cad-r, Gpdh, Gstd-1, Marf, N(1)tdi)についてPCR反応を行ない、延べ約7kbpの塩基配列を新たに決定した。

(2) *Scaptomyza* 属の単系統性と系統学的位置：上記の配列に、ハワイ産 *Scaptomyza* を含む既知の 79 種の塩基配列を併せてアライメントし、最尤法、ベイズ法を用いて分子系統樹を再構築した。その結果、系統樹において、*Scaptomyza* 属のショウジョウバエは単系統となり、外群に用いた 2 つの系統のうち、*Idiomysia* 属(Hawaiian *Drosophila*) からなる系統と姉妹群を形成した。

(3) *Scaptomyza* 属内における亜属間の関係：*Scaptomyza* 属内においては、最初に *Hemiscaptomyza* 亜属からなるクレード(図1-A)が分岐し、引き続き、*Scaptomyza* 亜属からなるクレード(図1-B)が分岐した。

表1. 本研究で新たに塩基配列を決定した *Scaptomyza* 属ショウジョウバエ 11 種

属	亜属	種
<i>Scaptomyza</i>	<i>Boninoscaptomyza</i>	<i>hexasticha</i>
	<i>Bunostoma</i>	<i>boninensis</i>
	<i>Hemiscaptomyza</i>	<i>hennigi</i>
		<i>okadai</i>
	<i>Parascaptomyza</i>	<i>elmoi</i>
<i>himalayana</i>		
<i>pallida</i>		
<i>Scaptomyza</i>	<i>baechlii</i>	
	<i>consimilis</i>	
	<i>graminum</i>	
		<i>polygonia</i>

その後、*Bunostoma* 亜属と *Exalloscaptomyza* 亜属からなるクレード(図1-C)、さらには *Scaptomyza* 亜属の *S. consimilis*(図1-D)が順次分岐し、*Boninoscaptomyza* と *Parascaptomyza* 亜属からなるクレード(図1-E)は、ハワイ産の 7 亜属(*Alloscaptomyza*, *Elmomyza*, *Engiscaptomyza*, *Grimshawomyia*, *Rosenwaldia*, *Tantalia*, および *Titanochaeta*) からなる大きなクレード(図1-F)と姉妹群を形成するという樹形を示した。

(4) ハワイ産および大陸産 *Scaptomyza* の関係：ハワイ産および大陸産の *Scaptomyza* 属の分岐関係に注目すると、ハワイ産の *Scaptomyza* 属は *Bunostoma* 亜属と *Exalloscaptomyza* 亜属からなる系統(図1-G)、および上記 7 亜属からなる系統(図1-F)の 2 つにわかれ、それぞれ独立にクレードを形成した(図1-青色)。一方、大陸産の *Scaptomyza* 属はハワイ産 2 系統のそれぞれに対して、側系統的に枝分かれするという分岐関係を示した(図1-緑色)。これらの分岐関係は、*Scaptomyza* 属がハワイに起源を持ち、その一部が各大陸へ分散したのではなく、大陸のどこかに起源を持ち、ハワイへ渡り適応放散したという大陸起源説を支持する。

(5) 祖先分布の推定：ベイズ法を適用した解析プログラムを用いて、系統樹の各ノードを祖先種とみなして分布域を推定した結果、*Scaptomyza* 属全体の祖先種(図1-H)の分布域は大陸である可能性が 99.8%の割合で示された。そして、ハワイ産 *Scaptomyza* 属 2 系統(図1-F,G)の祖先種は別系統で、何れも大陸に分布していた可能性が 95%以上の割合で示された。従って、*Scaptomyza* 属の起源はハワイではなく大陸であることが、この解析からも支持された。また、祖先種の大陸から

ハワイへの移住は一度きりではなく、独立に2回生じたと推定された。

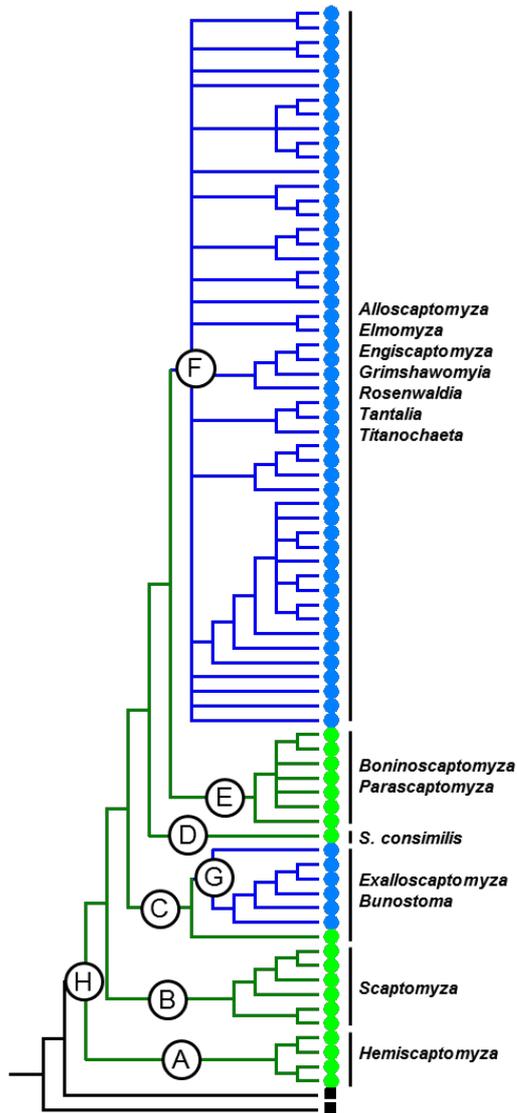


図1 .11 遺伝子の塩基配列を用いて最尤法で構築した系統樹の樹形。青色はハワイ産、緑色は大陸産の *Scaptomyza* 属の系統をそれぞれ示す。なお、外群2系統のクレード内における種の分枝はここでは省略している。

(6) 分岐年代の推定：ベイズ法を用いて、各ノードにおける分岐年代の推定を行なった結果、ハワイ産 *Scaptomyza* 属2系統のうち、一方の祖先(図1-F)の分岐年代は約1500万年前で、これはかつて Gardner 島が、現在のハワイ列島が存在する場所にあった時期に相当する。また、もう一方の祖先(図1-G)の分岐年代は約930万年前と推定され、これはかつて Necker 島が、現在のハワイ列島が存在する場所にあった時期に相当する。従って、*Scaptomyza* 属の祖先種における大陸からハワイへの移住は、それぞれ異なる時期に別の島へと生じたであろうことが示唆された。

<引用文献>

Throckmorton (1975) In " *Handbook of*

Genetics" Ed. by RC King, Plenum Press, pp421-469.
 Grimaldi (1990) *Bull. Am. Mus. Nat. Hist.* 197: 1-139.
 Drosophila 12 genomes consortium (2007) *Nature* 450: 203-218.
 O'Grady and DeSalle (2008) *Biology Letters* 4: 195-199.

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 1件)

Fartyal RS, Gao JJ, Toda MJ, Hu YG, Takano KT, Suwito A, Katoh T, Takigahira T, Yin JT (2013) *Colocasiomyia* (Diptera: Drosophilidae) revised phylogenetically, with a new species group having peculiar lifecycles on monsteroideid (Araceae) host plants. *Systematic Entomology* 38: 763-782. DOI: 10.1111/syen.12027 (査読あり)

[学会発表](計 3件)

加藤 徹、福田洋之、越川滋行. *Drosophila* 亜属の系統と進化 - *quinaria* section のショウジョウバエを中心に-. 日本進化学会第14回大会. 2012年08月21日. 首都大学東京(東京都・八王子市).
加藤 徹、山下伸志、和多田正義. *Scaptomyza* 属ショウジョウバエの起源と系統関係. 日本遺伝学会第84回大会. 2012年09月24日. 九州大学(福岡県・福岡市).
加藤 徹、山下伸志、福田洋之、Matthew H. Dick、和多田正義. *Scaptomyza* 属ショウジョウバエの系統進化. 日本昆虫学会第74回大会. 2014年09月15日. 広島大学(広島県・東広島市).

[その他]

ホームページ等
<http://www.sci.hokudai.ac.jp/~tkatoh/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

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

(2) 研究分担者

ディック マシュー・ヒル (DICK, Matthew. H.)
 北海道大学・大学院理学研究院・非常勤講師
 研究者番号: 80374205