

令和 2 年 6 月 9 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19280

研究課題名(和文)日本列島のアワビ類における種分化遺伝子の探索

研究課題名(英文)Population genomics of western Pacific abalones

研究代表者

平瀬 祥太郎(Hirase, Shotaro)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・助教

研究者番号：90635559

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文):日本の水産重要種であるエゾアワビ(エゾ)、クロアワビ(クロ)、マダカアワビ(マダカ)、メガイアワビ(メガイ)は近縁な関係にあり、分布域が重複するものの、それぞれが独自の表現型を示す。これらのアワビ類の進化的関係と種分化プロセス、種分化に関与するゲノム基盤の解明に挑戦することを目的とし、ゲノムワイドSNPマーカーを用いた集団ゲノミクス解析を行った。エゾ・クロとマダカ、メガイ間では明確な遺伝的分化が生じており、基本的に生殖隔離が成立していると考えられた。一方、集団動態モデリングは、アワビ類が交雑を伴いながら種分化してきたことを示唆した。また、種分化に関与した可能性のあるゲノム領域も抽出した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近縁であるにも関わらず、種の独自性を生みだしている遺伝基盤を明らかにすることは、対象となる生物種の増殖及び保全戦略を考える上で重要であり、種分化のプロセスを考える上でも興味深い。本研究の成果は、日本の水産重要種であるエゾアワビ、クロアワビ、マダカアワビ、メガイアワビの保全方策を立案するための重要な遺伝情報を提供する。また、本研究をさらに深化させることで、海洋における種分化プロセスのモデルケースを提示できると考えている。

研究成果の概要(英文):A species complex of western Pacific abalones is classified into three putative species including two subspecies: *H. discus discus* (Kuro), *H. d. hannai* (Ezo), *H. madaka* (Madaka), and *H. gigantia* (Megai), and the Kuro, Madaka, and Megai show same distribution. Morphological and ecological characteristics suggested that Kuro/Ezo, Madaka, and Megai are distinct species, respectively, but they are genetically close and can produce viable F1 hybrids. We performed population genomic analyses for these species by whole genome resequencing and GRAS-Di. Phylogenetic and clustering analyses demonstrated clear genetic divergences among Ezo/Kuro, Madaka, Megai. Our analyses also detected allele sharing of nuclear genomes among species, and demographic modeling estimated that the evolution of their reproductive isolation has proceeded with gene flow. We identified genomic regions showing the signals of divergent selection between Ezo/Kuro and Madaka, which may be associated with speciation.

研究分野：水圏分子生態学

キーワード：アワビ 種分化 集団ゲノミクス ゲノムシーケンス GRAS-Di 保全 生殖隔離

## 様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

近縁な種群の資源管理において保全すべき単位を見極めるためには、形態的な類似性だけではなく、現在の生息環境、進化的関係を考慮することが望ましい。また、近縁であるにも関わらず、種の独自性を生みだしている遺伝基盤を明らかにすることは、対象となる生物種の増養殖及び保全戦略を考える上で重要であり、シクリッドを用いた一連の研究が示すように、種分化を考える上でも興味深い。

日本の水産重要種であるエゾアワビ (エゾ)、クロアワビ (クロ)、マダカアワビ (マダカ)、メガイアワビ (メガイ) は非常に近縁な関係にあり交雑しつつも、それぞれ独自の表現型を示す。例えば、エゾとクロは、別のグループにすることに議論が起こるほど近縁だが、それぞれ寒流系と暖流系の亜種と考えられており、分布域は北日本と南日本で分かれている。また、分布域が重複するクロとマダカ、メガイは異なる形態的特徴と生息深度を示し、マダカは非常に大型化する。このような近縁な種の進化的関係およびバリエーションを生むゲノム基盤は、海洋における種分化の初期プロセスを考える上で興味深いだけではなく、漁獲量の減少が続くアワビ資源の増養殖を行うにあたっての重要な情報となる。

アワビ類の進化的関係を捉えるため、ミトコンドリア (mt) DNA、マイクロサテライト (ms) DNA などの分子マーカーによる解析が行われてきた。しかし、msDNA マーカーでは全てのアワビ類が分かれる一方、mtDNA ではエゾアワビ、クロアワビ、マダカアワビが一つのグループになるなど、限られた分子マーカーによる解析を行うと、誤った類縁関係や種判別を導き出す恐れがある。また、これまでの分子マーカーの多くは進化的に中立であり、アワビ類の種分化をもたらしたゲノム基盤も明らかではない。

### 2. 研究の目的

本研究では、日本列島のアワビ類の進化的関係と種分化プロセス、種分化に関与するゲノム基盤 (種分化遺伝子) の解明に挑戦することを目的とし、ゲノムワイド SNP マーカーを用いた大型アワビ類の集団ゲノミクス解析を行った。

### 3. 研究の方法

クロ・エゾは北海道、青森、福島、宮城、神奈川、静岡、鹿児島、長崎で採集した10標本集団、マダカは新潟、徳島、神奈川で採集した3標本集団、メガイは新潟、大分、長崎で採集した3標本集団を対象とした。また、外群として使用するため、近縁な北アメリカのアカネアワビも標本として用いた。これらを GRAS-Di 分析と全ゲノムシーケンス分析に供し、エゾアワビのリファレンスゲノムにアラインメントすることで SNP 情報を取得した。

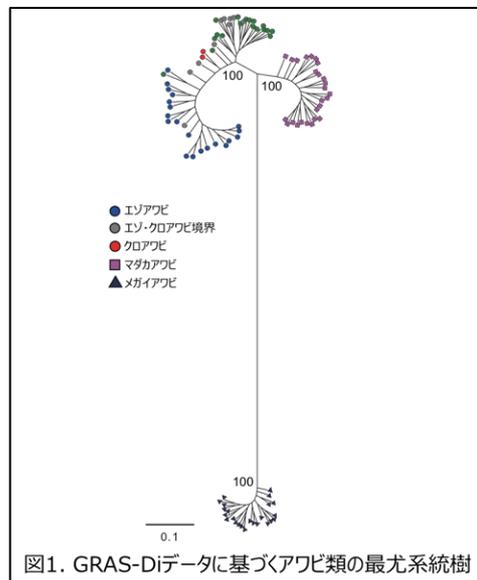
得られた SNP 情報を用いて分子系統解析、各種の集団遺伝学的解析を行った。Allele Frequency Spectrum (AFS) 解析で集団動態モデリングを行い、ABBABABA 解析で種間の交雑の可能性を検討した。また、近年、適応進化の分子基盤として再注目されている遺伝子コピー数の違い (GCNV) が、種間に生じている可能性についても検討するため、各種の各遺伝子にアラインメントされたリード数 (被覆深度) の違いと、ハプロタイプ探索によって GCNV を検出した。

### 4. 研究成果

#### (1) 遺伝的類縁関係

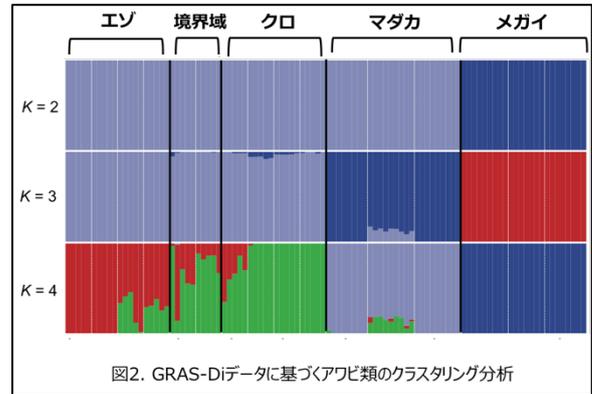
GRAS-Di 分析の結果、SNP マーカーとして利用可能な約 20,000 個の SNP を取得できた。最尤法に基づく分子系統樹を RAxML で作成した結果、それぞれ高いブートストラップ値 (BP = 100%) によって支持されるメガイのクレードとクロ・エゾ・マダカのクレードが示され、メガイが比較的に分化しているという従来の報告と一致した (図 1)。さらに、クロ・エゾ・マダカのクレード内には、マダカの個体だけで構成される BP=100% のクレードが存在し、基本的にマダカがクロ・エゾとは生殖隔離されていることが示唆された (図 1)。

ADMIXTURE によるクラスタリング分析も、種間における明確な遺伝的分化を示した一方で、新潟のマダカにはクロのゲノムを一部保有する個体も見られた (図 2)。したがって、クロ・エゾとマダカ間には生殖隔離機構が存在するものの、その強度は地域によって異なっている可能性が示された。



## (2) 精子 *Lysin* 遺伝子における非同義置換の探索

北アメリカのアワビ類では、種間において精子の *Lysin* 遺伝子に非同義置換が生じ、この変異が異種間の受精を妨げ、生殖隔離をもたらすことが示唆されている。一方、日本列島のアワビ類については、メガイにおいては *Lysin* の非同義置換が検出されているが、マダカとエゾ・クロ間では検出されていない。マダカとエゾ・クロ間に *Lysin* の変異がないのかどうかを確かめるため、クロ、マダカ、メガイの全ゲノムリシーケンスデータから *Lysin* の塩基配列を構築した。その結果、やはり *Lysin* の非同義置換は検出されず、他の遺伝基盤がエゾ・クロとマダカ間の生殖隔離に関与していると考えられた。

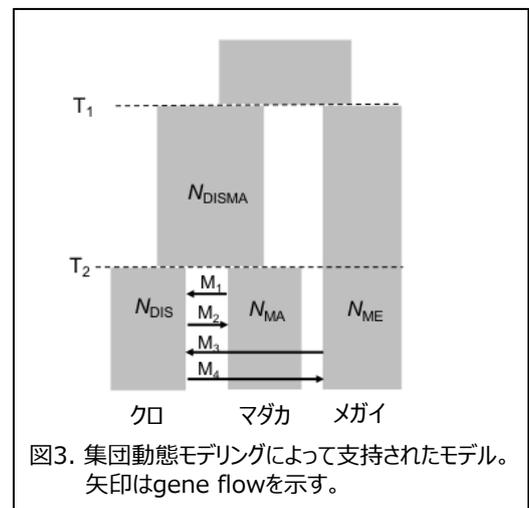


## (3) 集団動態モデリング

AFS 解析では、種間の生殖隔離とクロとマダカ間、クロとメガイの遺伝子流動を想定したモデルの尤度が最も高くなった(図 3)。また、種間における交雑の有無を推定する ABBABABA 解析では、クロとマダカ間の交雑に加え、クロとメガイ、マダカとメガイ間の交雑も示唆された。したがって、日本列島のアワビ類は交雑を伴いながら種分化してきたと考えられた。

## (4) 種分化に関与するゲノム領域の探索

遺伝的に近いエゾ・クロとマダカ間で大きな遺伝的分化が生じている Outlier SNP 座を調べれば、生殖隔離機構に関与する責任領域を捉えられる可能性が高い。そこで、GRAS-Di データを用いた 3 つの解析手法 (*pcadapt*, *Fdist*, *BayeScan*) で Outlier SNP 座を探索した。これらの手法で共通して検出されたのは 148 SNP 座であった。ゲノム領域をさらに絞りこむため、全ゲノムリシーケンスデータに基づき、エゾ・クロとマダカの Sliding window  $F_{ST}$  値 (20,000 bp window) を算出し、その上位 1% の領域に含まれる Outlier SNP 座を探索した。その結果、19 個の Outlier SNP 座が抽出され、この SNP 座の周辺にエゾ・クロとマダカ間の生殖隔離に関与する遺伝子が存在すると考えられた。



## (5) 種間における遺伝子コピー数多型 (GCNV) の探索

クロとマダカ間で被覆深度の異なる遺伝子を探索した結果、有意に多く存在することが示され、非常に近縁なクロとマダカ間において GCNV が生じていることが示唆された。実際に、これらの遺伝子の一部では遺伝子重複を強く示唆する 3 つ以上のハプロタイプが検出されたが、両種で共通ではなく常にとどちらか一方であった。3 つ以上のハプロタイプはメガイでも検出されたため、これらの GCNV は、メガイとの低頻度の交雑によってもたらされたか、メガイとの共通祖先から引き継がれたと考えられた。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 平瀬祥太郎, 山崎 曜, 關野正志, 池田 実, 原 素之, 菊池 潔
2. 発表標題 日本産大型アワビ類3種の種分化プロセスの推定と遺伝子コピー数多型の検出
3. 学会等名 令和2年度 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shotaro Hirase, Masashi Sekino, Minoru Ikeda, Motoyuki Hara, Kiyoshi Kikuchi
2. 発表標題 Population genomics of Pacific abalone species complex in early phase of marine speciation
3. 学会等名 Evolution2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平瀬祥太郎, 關野正志, 池田 実, 原 素之, 菊池 潔
2. 発表標題 ゲノムワイドSNP解析による日本産大型アワビ類3種の遺伝的類縁関係
3. 学会等名 平成31年度 日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 平瀬祥太郎, 手塚 あゆみ, 永野 惇, 菊池 潔, 岩崎 渉
2. 発表標題 主成分分析による地域適応遺伝子の探索
3. 学会等名 平成30年日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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	關野 正志  (Sekino Masashi)  (90371799)	国立研究開発法人水産研究・教育機構・中央水産研究所・グループ長    (82708)	