

令和元年6月21日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07187

研究課題名(和文) ゲノムスケール多数遺伝子配列データを用いた種の系統関係の推定

研究課題名(英文) Phylogenetic inference using genome-scale sequence data

研究代表者

竹崎 直子 (Takezaki, Naoko)

香川大学・総合生命科学研究センター・教授

研究者番号：30398036

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,600,000円

研究成果の概要(和文)：多数遺伝子配列データを用いて、シーラカンス、肺魚、四足動物の関係を調べた。outgroupとして軟骨魚類を用いるか硬骨魚類を用いるかが、3つのグループの推定される関係に大きく影響し、これは硬骨魚類の配列の分化の程度が軟骨魚類よりも高く、間違った樹形が得られるからであることを示した。用いたデータセットの硬骨魚類はteleost fishであったが、garなどの分化の程度が低い硬骨魚類を用いると、肺魚が四足動物に近いという結果が強く支持された。多数遺伝子配列データを用いて、硬骨脊椎動物のアミノ酸置換速度の変化を調べた。置換速度は祖先で高く系統樹の末端では低下する傾向があることを示した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

シーラカンス、肺魚、四足動物の系統関係を決定することは四足動物の進化を考える上で重要である。本研究では肺魚がシーラカンスよりも四足動物に近縁であることを確立した。塩基やアミノ酸の置換速度は、生物の寿命、代謝、環境など様々な要因に影響を受ける。また、分子時計を用いた分岐時間推定でも置換速度の変化についての仮定が推定値に影響することが知られている。置換速度の長期的変化を調べた研究は少ないが、本研究では硬骨脊椎動物では祖先系統でアミノ酸置換速度が高く、末端の系統で置換速度が低下する傾向があることを示した。これは、生物のlife historyの変化や分子分岐時間推定方法に示唆を与えるものである。

研究成果の概要(英文)：Using genome-scale gene data sets, the phylogenetic relationships of coelacanths, lungfishes, and tetrapods were investigated. The results showed that incorrect tree topologies were generated by using ray-finned fish with high divergence level as outgroup, even though the ray-finned fish is taxonomically more closely related to the three groups than the cartilaginous fish. By using slowly evolving ray-finned fish the sister relationship of lungfishes and tetrapods was strongly supported.

Using the genome-scale data, variation of amino acid substitution rate in different time periods was investigated. The result suggested that the rate in the ancestral lineage was higher than those in peripheral lineages.

研究分野：分子系統学

キーワード：分子系統樹 分子時計 多数遺伝子 四足動物

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

ゲノム配列データの取得が容易になり、数百数千の多数の遺伝子データが生物種の系統関係の推定に用いられるようになった。しかし、多くの遺伝子データを用いることは、遺伝子重複や水平移動の影響でオーソログが得られていないことや、missing data の多さの問題とともに、異なる進化パターンをもつ遺伝子データを一括して解析することによって生じるバイアスにより間違った系統関係に高い統計支持が与えられる可能性がある。特に少数の遺伝子データでは解決の困難であった系統関係は、系統間の進化速度の違い、含める系統の数などによっても影響を受け、多数遺伝子データを用いても必ずしも正しい系統関係の推定が容易になるものではない。また、遺伝子ごとの系統樹作成を行った後にその結果をまとめる方法もあるが、個々の遺伝子ごとの解析では sampling error の効果が大きく必ずしも正しい結果が得られるとは限らない。

2. 研究の目的

本研究では多数遺伝子データを用いて、上記の問題点の系統樹作成にどのような影響を与えるかを複数のデータを用いて、整理し、よりよい解析方法を提案する。

3. 研究の方法

シーラカンス、肺魚、四足動物の系統関係についての3つのデータセット「Amemiya et al. 2013 (251 遺伝子、20 種); Liang et al. 2013 (1290 遺伝子、10 種); Nishihara unpublished (831 遺伝子、25 種)」を用いて、missing data の程度、異なる系統樹作成方法(最尤法、ベイズ法、多数遺伝子データの一括解析または個々の遺伝子データの解析)、異なる置換モデルを用いて、系統関係推定に影響を与える要因を調べた。また、配列データの分化の程度やアミノ酸の頻度の種ごとの違いなどの影響などについて調べた。

4. 研究成果

用いた3つのデータセットでは、missing data の程度、異なる系統樹作成方法、異なる置換モデルなどは推定された系統関係への影響は小さかった。しかし、共通した傾向として用いた outgroup の分化の程度の影響が大きいことがわかった。分化の程度の低い軟骨魚類を outgroup として用いると、肺魚の方がシーラカンスよりも四足動物に近いことが強く支持されるのに対して、分化の程度の高い硬骨魚類(ray-finned fish)を outgroup として用いると、シーラカンスと四足動物の姉妹関係が統計的支持は弱い推定される傾向があった。実際の枝長を用いたモデル系統樹に基づく、コンピューターシミュレーションを行ったが、分化の程度の高い outgroup を用いた場合に誤った系統樹の樹形が支持される傾向があることが検証された。

しかし、ray-finned fish は軟骨魚類よりもシーラカンス、肺魚、四足動物(lobe-finned vertebrate)に系統分類上は近縁である。本当に、分化の程度の高い ray-finned fish を outgroup として用いることによって誤った系統樹が作成されるのか、また系統分類学的に遠い関係にある軟骨魚類を outgroup に用いたとき、肺魚の方がシーラカンスよりも四足動物に近いことが強く支持されたが、これが正しいのかが疑問として残った。

用いたデータセットに含まれる ray-finned fish は全て teleost fish であった。ray-finned fish のなかでも分化の程度が低い holostean (gar や bowfin) のデータは研究当初は使用することができなかったが、これまでの outgroup の分化の程度の影響の研究結果発表後、使用可能になったので、これらのデータを Nishihara unpublished (831 遺伝子、25 種) のデータセットに加えて、検証を試みた。Holostean を outgroup として用いると、実際に肺魚がシーラカンスよりも四足動物に近いという結果が統計的に強く支持された。このことにより、outgroup の系統分類学上の遠さ・近さよりも、outgroup の分化の程度が系統関係の推定に強く影響しており、肺魚の方がシーラカンスよりも四足動物に近いことが正しいものであることが確認された。

上記のように teleost fish の分化の程度は holostean よりも高いが、このような分化の程度の違いが生まれる原因となる進化速度の変化について検証する必要があると考え、上記の Nishihara unpublished の 25 種のデータセットに gar と bowfin を加え(625 遺伝子)、

(1) ray-finned fish と lobe-finned vertebrate の分岐(420.7 - 444.9 Ma)、(2) mammal と sarcopterygian の分岐(318 - 332.9 Ma)、(3) teleost fish と holostean の分岐(250 - 331 Ma) を calibration point として、最尤法により推定した枝の長さの平均を用いて異なる時期におけるアミノ酸置換速度の変化を調べた。このような硬骨脊椎動物全体に渡る進化速度の変化について、多数遺伝子データを用いて研究されていない。また、異なる系統間の進化速度の違いは系統樹上の枝の長さの違いとして、容易に調べることができるが、異なる進化上の時期における進化速度は、このような信頼性の高い化石データに基づいて調べられた研究は少ない。さらにこのデータセットには哺乳類や鳥類の種も含まれており、これらのグループでは、白亜紀から第3期への移行(約 6500 万年前)以後に多くの化石データが発見されているが、配列データを用いた研究による推定では、真獣類の異なる属や鳥類のグループの分岐時間が白亜紀から第3期への移行以前の時期を示す場合が多く、分岐時間についての論争が続いている。多くの研究では、哺乳類や鳥類のなかに calibration point を設けているが、この信頼性が確かでない場合も指摘されている。本研究のように、外部の少数の信頼性の高い calibration point を用い、進化速度の時間的

変化を考慮した推定を試みることは、これまでの分岐時間の推定の結果を補完する上でも意義のあるものである。

(1)と(2)の間の置換速度は(2)以降の置換速度の2-3倍高く、(1)-(3)の置換速度は(3)以降の holostean の5倍、teleost fish の置換速度とは同じくらいかやや高いことがわかった。(1)-(2)間の高い置換速度を用いて、シーラカンス、肺魚の分岐時間を推定するとそれぞれ 408 - 427 Ma、399 - 414 Ma となり、化石のデータとよく一致したものとなる。(2)以降 mammal では真獣類の置換速度が有袋類の1.25倍高い、(2)以降真獣類と有袋類の分岐前の時期が有袋類の置換速度であったと仮定すると、真獣類内の分岐時間が化石データよりも小さいものが出てくる。このため、真獣類と有袋類の分岐前の時期の置換速度は真獣類の置換速度と同じくらい速く、有袋類で低下したと考えるのが化石データと矛盾しない。この場合、真獣類内の異なる属の分岐 90 Ma よりも最近となり、これまでの研究の推定値よりもやや小さいものとなった。Sauropsid ではトカゲの置換速度が鳥の1.2倍、カメの1.5倍となっている。(2)以降、トカゲ、鳥、カメが分岐する以前の時期に鳥やカメの置換速度を仮定すると、トカゲやカメの分岐が化石データよりも最近のものとなってしまふ。したがって、トカゲ、鳥、カメが分岐する以前の時期の置換速度はトカゲと同じくらい高く、鳥やカメで低下したと考えるのが化石データと矛盾しない。この置換速度を仮定して、鳥類の中の Galliformes と Neoaves の分岐時間、Galliformes と Anseriformes の分岐時間を推定するとそれぞれ約 110 Ma と 80 Ma となり、従来の研究の推定値よりも大きなものとなった。

(1)と(2)間の置換速度は(2)以降の置換速度よりも2-3倍高いだけでなく、シーラカンスや肺魚、カエルなどの系統の置換速度よりもずっと高く、これら分岐した系統で置換速度が低下したことを示唆する。また、上記の通り mammal や sauropsid、ray-finned fish でも系統樹上の祖先の枝では置換速度が高く、分岐した系統で低下する傾向が見られた。近年では生物種の寿命、代謝活性、体の大きさなどの life history trait と進化速度の関連を調べた研究が多く見られるが、本研究で観察された祖先での高い置換速度が分岐した系統で低下する傾向と life history trait の変化との関係についての今後の研究が待たれる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 3件)

Takezaki N, Nishihara H. Resolving the phylogenetic position of coelacanth: the closest relative is not always the most appropriate outgroup, 2016, *Genome Biol Evol*, 査読有、Vol 8、pp.1208-1221

DOI: 10.1093/gbe/evw071

Takezaki N, Nishihara H. Support for lungfish as the closest relative of tetrapods by using slowly evolving ray-finned fish as the outgroup. 2017, *Genome Biol Evol*, 査読有、Vol 9、pp.93-101

DOI: 10.1093/gbe/evw288

Takezaki N. 2018. Global Rate Variation in Bony Vertebrates. 2018, *Genome Biol Evol*, 査読有、Vol 10、pp.1803-1815

DOI: 10.1093/gbe/evy125

〔学会発表〕(計 8件)

Takezaki N, Nishihara H. Phylogenetic relationship of coelacanths, lungfishes, and tetrapods: Closest extant relative of tetrapods. 日本遺伝学会第 87 回大会、札幌

Takezaki N, Nishihara H. Phylogenetic relationship of coelacanths, lungfishes, and tetrapods: Closest extant relative of tetrapods. SMBE2015, Vienna, Austria.

Takezaki N, Nishihara H. Resolving the phylogenetic position of coelacanth: the closest relative is not always the most appropriate outgroup. 2016, SMBE 2016, Gold Coast, Australia.

Takezaki N, Nishihara H. Support for lungfish as the closest relative of tetrapods using slowly evolving ray-finned fish as the outgroup. 2016. 日本遺伝学会第 88 回大会、三島

Takezaki N, Nishihara H. Support for lungfish as the closest relative of tetrapods using slowly evolving ray-finned fish as the outgroup. 2017. SMBE2017, Austin, Texas, USA.

竹崎直子、西原秀典、シーラカンスの系統位置、2017、日本進化学会第 19 回大会、京都

Takezaki N, Global rate variation in bony vertebrates, 2018, SMBE2018, 横浜

竹崎直子、Global rate variation in bony vertebrates, 2018, 日本進化学会第20回大会、東京

〔図書〕（計 0件）

〔産業財産権〕
出願状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況（計 0件）

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：
ローマ字氏名：
所属研究機関名：
部局名：
職名：
研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：
ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。