

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 9 月 15 日現在

機関番号：62603

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440219

研究課題名(和文) 分岐年代推定に関わる諸問題

研究課題名(英文) Problems in Estimating Divergence Times

研究代表者

長谷川 政美 (Hasegawa, Masami)

統計数理研究所・統計思考院・名誉教授

研究者番号：60011657

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：ダチョウなど古顎類鳥類は Gondwana 大陸起源だと考えられてきた。われわれはマダガスカルに巨大絶滅鳥類エピオルニス(Epiornis)の古代DNA解析を行い、これまで蓄積されてきた古顎類のDNAデータとあわせて系統・分岐年代解析をした結果、従来とは違った仮説を得た。リトルニスという古顎類の古い化石が北半球で見つかっているが、われわれの分子系統樹の枠組みに当てはめると、古顎類系統樹の根元に位置づけられる。このことから、北半球で進化した古顎類が、北米から南米に渡り、当時陸続きであった南極、オーストラリアに渡ったと考えられる。その後、これらの大陸とは分離していたマダガスカルやニュージーランドにも海を越えて渡った。

研究成果の概要(英文)：Palaeognathae including ostiches, emus, rheas and tinamous is believed to have originated in Gondwana-derived continents. We recovered nuclear genome fragments as well as mitochondrial genomes from extinct elephant birds of Madagascar, and reconstructed a robust phylogenomic time-tree for Palaeognathae. In contrast to the prevailing theories, our tree based on morphological characters free from convergence placed the fossil paleognths from the Northern Hemisphere as the basal lineage. Such molecular and morphological evidence strongly suggests the Northern Hemisphere origin of Palaeognathae. They were probably flying birds, as estimated by the mitochondrial substitution rate, and migrated to the Southern Hemisphere and explosively speciated around the Cretaceous-Paleogene boundary. They then extended their distribution to the Gondwana-derived landmasses by the overseas dispersal, and gigantism subsequently occurred independently on each landmass.

研究分野：分子系統学

キーワード：分岐年代推定 分子系統学 古顎類 エピオルニス 古代DNA解析

### 1. 研究開始当初の背景

系統樹は生物進化に関するあらゆる議論の出発点であり、分子系統樹推定法は系統樹を再構築するための基本的な技術である。系統樹推定の問題は大きく2つに分けられる。1つは分岐の順番(系統樹のトポロジー)を決める問題、もう1つは分岐の年代推定の問題である。前者にくらべて後者の分岐年代推定の問題は大きく立ち遅れていた。この問題では、一般にベイズ法が用いられるが、この方法ではあらかじめパラメータの事前分布を与えなければならない。ところが、多くの場合において、事前分布の与えかたは恣意的であり、結果(事後分布)がそれに大きく左右されることが多い。恣意的に与えた前提によって結果が大きく左右されるようでは、解析法の信頼は得られないので、このことが大きな問題であった。

### 2. 研究の目的

進化生物学における実際の問題に取り組むことを通じて、問題解決に役立つ分岐年代推定のための解析方法を確立することを目指す。

### 3. 研究の方法

ベイズ法による年代推定法を進化生物学の様々な問題に適用して、実用的な方法を確立する。特に事前分布の与えかたが事後分布にどのように影響するかを、さまざまな条件(種サンプリング密度、配列データの長さ、Partitionのとり方など)のもとで調べることにより、最適な方法を探る。

### 4. 研究成果

#### (1) 方法論に関する成果

ベイズ法による年代推定では、化石証拠などから分岐年代の事前分布を与えた上で、尤度を介して事後分布を計算する。その際、事前分布にはそれほど強い根拠がないことが多い。明確な化石証拠から強い根拠がある場合はよいが、恣意的に与えられた事前分布が、事後分布に強く影響するようでは困る。本研究で、種のサンプリング密度を高めていくと、事後分布があまり事前分布に依らなくなることが明確に示された。

哺乳動物のミトコンドリアゲノムによる系統樹推定には、明らかに misleading な推定の偏りがあって、核 DNA のデータから得られるものと矛盾した系統樹が得られる場合があることが以前から指摘されていた。われわれは種サンプリングの密度を高くすることによってこの問題が回避できることを示した(Wu et al., 2014)。463種の真獣類ミトコンドリアゲノムのデータを最尤法で解析すると、核 DNA のデータから得られると一致することが示されたのである。ただしその際、Partitionのとり方が重要であり、たんぱく質をコードする遺伝子のコ

ドン(3番目)も重要な情報をもっていることが示された。

#### (2) 古顎類の進化

現生の鳥類は古顎類と新顎類に大別される。このうち古顎類の現在の分布をみると、ダチョウはアフリカ、レアとシギダチョウは南アメリカ、エミューはオーストラリア、ヒクイドリはオーストラリアとニューギニア、キーウィはニュージーランドである。また1万年前以降の完新世になってから絶滅したモアはニュージーランド、エピオルニス(エピオルニス)はマダガスカルである。このように、現生種と最近になって絶滅した古顎類はすべて、 Gondwana 超大陸由来の大陸や島に分布している。このことから、古顎類はもともと白亜紀に Gondwana 超大陸で進化し、超大陸の分断にあわせて種分化してきたという考えられていた。一方、化石種としては6,200万年前から4,000万年前のリトルニスという古顎類がユーラシアと北アメリカで見つかっている。この鳥はシギダチョウのように小さな飛べる鳥だった。リトルニスは形態からシギダチョウと近縁であると考えられてきたが、シギダチョウの系統的な位置が見直されたこともあり、リトルニス(リトルニス)が古顎類進化のどこに位置づけられるかは不明であった。

古顎類進化の詳細を明らかにするためには、現生種と化石種の間(間)の系統関係の解明と、進化の時間スケールを知ることが必要である。進化の時間スケールとは、種分化が大陸分断の時期と一致するかどうかということである。これらの問題を解決する第一歩は、古顎類のなかで可能な限り幅広い種の DNA 解析を行なって、分岐の順番と分岐した年代を明らかにすることである。われわれは、絶滅したマダガスカルのエピオルニス科2種、エピオルニス・マキシマスとムレロルニスのミトコンドリアゲノムと核遺伝子配列(74,000~34,000塩基)を決定し、これまでに公表されている古顎類データとあわせて解析した結果、古顎類進化に関するこれまでの定説をくつがえす結果を得た。

古顎類のなかで最初にほかから分かれたのが、アフリカのダチョウであり、その分岐はおよそ7,900万年前と推定された。その後、古顎類の残りのグループのなかで最初に分かれたのが南アメリカのレアで、およそ7,000万年前。残りがシギダチョウ+モアとエミュー+ヒクイドリ+キーウィ+象鳥の2つのグループに分かれたのがおよそ6,900万年前と推定された。さらに、南アメリカのシギダチョウとニュージーランドのモアが分かれたのは5,400万年前、残りのグループのなかからオーストラリア走鳥類(エミューとヒクイドリ)が分かれたのが6,600万年前、ニュージーランドのキーウィとマダガスカルの象鳥が分かれたのがおよそ6,200万年前であった。アフリカが南アメリカから分断さ

れたのは、およそ1億500万年前だから、ダチョウの分岐はこれよりもはるかに新しく、これを Gondwana 超大陸の分裂と結びつけることはできないことが明らかになった。

さらに北半球の化石種リトルニスの系統的な位置づけを行なった。これまでの形態学的な解析からは、リトルニスとシギダチョウの近縁性が示唆されている。これまで現生の古顎類のなかで最初にほかから分かれたのがシギダチョウだったと考えられていたが、これが間違いであることが分かったのであるから、リトルニスを含めた系統関係を再検討しなければならない。ただし、4,000万年前に絶滅したリトルニスのDNA解析は不可能であり、一方、形態だけに基づいた系統樹推定は収斂進化の可能性が高いために危うい。そこで形態データのうち、分子系統樹と矛盾する関係を与える形質は、収斂などの影響を受けているものとみなして解析から取り除く。収斂の影響を受けていないと考えられる形態データだけを用いて解析した結果、リトルニスはダチョウとともに古顎類のなかで最初にほかから分かれたことが明らかになった。

これらの解析結果からわれわれが得た古顎類進化の新しいシナリオは以下のようなものであった。古顎類の祖先は、もともと北半球の大陸で進化したものであり、リトルニスのように飛行能力をもった比較的小さな鳥であった。そのような鳥がおよそ7,900万年前に2つの系統に分かれ、一方の系統は巨大化してダチョウへと進化した。ダチョウはその後アフリカにも進出したが、ユーラシアに残った系統は最近になって絶滅した。ダチョウから分かれたもう一方の系統は、7,000万年前までには北アメリカから海を越えて南アメリカに進出した。飛行能力をもった当時の祖先種にとって、その頃存在したパナマ海峡を越えるこの移住にはそれほどの困難はなかったであろう。この南アメリカに渡った古顎類の祖先から、ダチョウ以外の現生古顎類がすべて進化したのである。その当時、南アメリカは南極大陸を経由してオーストラリアともつながっていたので、古顎類の祖先は各地に広がり、それぞれの場所で多様な進化を遂げた。

この研究は、古顎類進化について多くのことを明らかにしたが、分岐年代推定の方法論に関しても大きな成果が得られた。絶滅種を解析に取り入れることによって、種のサンプリング密度を高め、さらにミトコンドリアゲノムだけでなく、核ゲノムのデータも含めることによって、事後分布があまり事前分布に依らなくなり、頑健な推定が可能になることが明確に示されたのである。これらの成果は現在投稿中の論文にまとめられた(Yonezawa et al., 投稿中)。

## 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 9 件)

- (1) Yali Li, Zhumei Ren, Andrew M Shedlock, Jiaqi Wu, Luo Sang, Tashi Tersing, Masami Hasegawa, Takahiro Yonezawa, Yang Zhong (2013) High altitude adaptation of the schizothoracine fishes (Cyprinidae) revealed by the mitochondrial genome analyses. *Gene* 517 (2), 169-178.
- (2) Koh Nomura, Takahiro Yonezawa, Shuhei Mano, Shigehisa Kawakami, Andrew M Shedlock, Masami Hasegawa, Takashi Amano (2013) Domestication process of the goat revealed by an analysis of the nearly complete mitochondrial protein-encoding genes. *PLoS One* 8 (8), e67775.
- (3) S. Nakagome, S. Mano, M. Hasegawa (2013) Ancestral polymorphisms and sex-biased migration shaped the demographic history of brown bears and polar bears. *PLoS One* 8(11), e78813.
- (4) T. Yonezawa, M. Hasegawa, Y. Zhong (2014) Polyphyletic origins of schizothoracine fish (Cyprinidae, Osteichthyes) and adaptive evolution in their mitochondrial genomes. *Genes Genet. Syst.* 89(4), 187-191
- (5) T. Yonezawa, M. Hasegawa (2014) Extreme nearly neutral evolution in mitochondrial genomes of laboratory mouse strains. *Gene* 534 (2), 444-448.
- (6) J. Wu, M. Hasegawa, Y. Zhong, T. Yonezawa (2014) Importance of synonymous substitutions under dense taxon sampling and appropriate modeling in reconstructing the mitogenomic tree of Eutheria. *Genes Genet. Syst.* 89 (5) 237-251.
- (7) J. Xu, Y. Xu, T. Yonezawa, L. Li, M. Hasegawa, F. Lu, J. Chen, W. Zhang (2015) Polymorphism and evolution of ribosomal DNA in tea (*Camellia sinensis*, Theaceae). *Mol. Phylogenet. Evol.* 89, 63-72.

(8) J. Wu, N. Kohno, S. Mano, Y. Fukumoto, H. Tanabe, M. Hasegawa, T. Yonezawa (2015) Phylogeographic and demographic analysis of the Asian black bear (*Ursus thibetanus*) based on mitochondrial DNA. *PloS One* 10 (9), e0136398.

(9) H. Jin, T. Yonezawa, Y. Zhong, H. Kishino, M. Hasegawa (2016) Cretaceous origin of the giant rhinoceros beetles (Dynastini; Coleoptera) and the correlation of their evolution with Pangean breakup. *Gene & Genet. Syst.* (in press).

〔学会発表〕 (計 0 件)

〔図書〕 (計 1 件)

長谷川政美 (2014)「系統樹をさかのぼって見えてくる進化の歴史 - 僕たちの祖先を探す15億年の旅」ベレ出版.

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

長谷川政美 (HASEGAWA MASAMI)  
統計数理研究所・名誉教授

研究者番号：60011657

### (2) 研究分担者

足立淳 (ADACHI JUN)  
統計数理研究所・データ科学研究系・准教授

研究者番号：30370092

### (3) 連携研究者

米澤隆弘 (YONEZAWA TAKAHIRO)  
復旦大学・生命科学学院・副教授

研究者番号：90508566