

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 8 日現在

機関番号：82617

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24770082

研究課題名(和文)カレイ目魚類のミトコンドリアゲノミクス：高次系統解析とゲノム構造の進化

研究課題名(英文) Mitochondrial genomics of flatfishes: Comprehensive molecular phylogeny and genome structural evolution

研究代表者

佐藤 崇 (SATO, Takashi)

独立行政法人国立科学博物館・標本資料センター・特定非常勤研究員

研究者番号：60436516

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、ミトコンドリアゲノム全塩基配列をもちいて、カレイ目魚類の全体を網羅する頑健な系統樹を構築することを目指して解析を進めた。最終的に、既知のカレイ目のほぼ全科と半数以上の属、15%の種数をカバーする13科72属100種の新規データを決定し、外群や既登録データを加えた総計180種を網羅する系統樹を構築することができた。その結果、カレイ目の単系統性は弱いながらも支持され、現行の分類体系に即した目内の2亜目や3上科の単系統性も支持された。また、ヒラメ科が大きく2つに分かれる非単系統群であることを明瞭に示すことができた。さらに本目魚類から、4科で8パターンの遺伝子配置変動が発見された。

研究成果の概要(英文)：Using whole mitochondrial genome sequences, we aimed at construction of a robust phylogenetic tree which covered all major lineages of flatfishes. Finally, new data of 100 flatfishes were determined, and a comprehensive phylogenetic tree on a total of 180 species including outgroups and existing data was constructed. As a result, monophyly of the flatfish was supported with a weak value, and monophyly of 2 suborders and 3 superfamilies which accorded with the latest classification system was also supported. The Paralichthidae (Large-tooth flounders) was clearly shown to be paraphyletic group divided into two groups. Furthermore, 8 patterns of gene rearrangements were found in 4 families of flatfishes.

研究分野：分子系統進化

キーワード：カレイ目 ミトコンドリアゲノム 分子系統 分子進化 遺伝子配置

1. 研究開始当初の背景

カレイ目魚類は2亜目14科134属678種で構成され(Nelson, 2006),カレイ・ヒラメ・ウシノシタなど水産資源として重要な食用魚を多数含む。また,海水はもちろん純淡水性の種も含まれ,浅海・深海・冷水・熱水とあらゆる水域に生息する非常に多様性に富んだグループである。本目の分類体系は,Regan (1910) が形態データに基づいてまとめたものが始まりで,その後細部は幾度となく変更されてきたが,大枠は維持されてきた。しかしNelson (2006) により,新たに3上科が設けられ,またカレイ科内の3亜科が科に引き上げられるなど体系が大きく変更された。一方,分子データをもちいたカレイ目全体の系統解析は,Berendzen and Dimmick (2002), Pardo et al. (2005), Azevedo et al. (2008) など複数存在するが,どれもミトコンドリアゲノム(ミトゲノム)の12S rRNA・16S rRNA 遺伝子からの約1500塩基ほどしかもっていない。そのため情報量が不足しており,確固たる系統関係は得られていないのが現状であり,合理的な自然保全・管理を考える上での基盤ともなる包括的かつ頑健な系統樹の構築が急務であった。

2. 研究の目的

申請者は,これまで100種以上の魚類ミトゲノム全塩基配列データを決定し,そのデータをもちて魚類の目内・科内など高次グループの系統進化的研究に携わってきた(Satoh et al., 2006; Miya et al., 2010)。その過程で,カレイ目ダルマガレイ科の一種,ザラガレイ *Chascanopsetta lugubris* のミトゲノムに,これまで全く報告のない大規模な遺伝子配置変動が生じていることを発見した。このような特徴的なゲノム構造が,目内にどの程度広がっているのか,どのような進化を辿ってきたのかを研究するにあたり,高次分子系統樹が必要不可欠であるが,これまでに確かなものは全く得られていない。そこでカレイ目を対象にし,これまでの高次解析の実績をふまえ,ミトゲノム全長配列という十分なデータ量でより充実した系統樹を作り,それを基礎にミトゲノム構造の進化解析を実施した。

3. 研究の方法

(1) 標本収集ならびにミトゲノム全長配列データ決定

標本に関しては,深海底曳き漁が盛んで,カレイ目魚類の採集実績がある高知県御置瀬や宮崎県土々呂,海外では台湾北部の南方澳漁港などで採集を行った。容易に採集できないものに関しては,解析用試料の提供を外部の研究者に依頼するなど,様々なネットワークを駆使し入手を図った。入手済みの試料

からは,ミトゲノム全長配列の決定を進めた。収集した voucher 標本や組織の一部は,申請者の勤める国立科学博物館へ,決定した塩基配列の全ては国際 DNA データベースに登録し,国内・国外での活用に広く供した。

(2) 目内低次解析

ダルマガレイ科の魚種で見つかった大規模な遺伝子配置変動は,ミトゲノムの構造進化を理解する上で重要な情報を潜在している。そのため,本科魚類に焦点をあて,この特異な変動の科内での出現頻度を明らかにするべく,重点的に全長配列を決定し遺伝子配置の比較解析をすすめた。さらに科内を網羅した系統解析を行い,遺伝子配置の進化パターンを考察した。

(3) カレイ目全体の高次系統解析

全種の塩基配列を1つのデータセットにまとめ,カレイ目全体の包括的な系統樹を構築した。解析には,Miya et al. (2003) による魚類100種の系統解析の結果を参考にし,アジ科を中心に周辺分類群の塩基配列を外群として含めた。得られた包括的系統樹を元に,本目魚類が持つ様々な形質や遺伝子配置変動等の特徴的なミトゲノム構造の進化パターンを解析した。

4. 研究成果

(1) ダルマガレイ科の系統解析

ダルマガレイ科魚類は,これまでに20属160種ほどが知られており,カレイ目の中でも最大の種数が属している。分布域は広く,世界中の熱帯から温帯にかけての温暖な海域で,浅海から深海にまで生息する多様性に富んだグループである。本研究では,科内を網羅する16属35種のミトゲノム全塩基配列を決定した。これに,データベース上に登録されている部分配列や外群のデータを含めて系統解析を行なった(図1)。その結果,本科の単系統性は強く支持された。また,*Arnoglossus*, *Psettina* の両属は単系統性が支持されず,多系統であることが示唆された。特に5つのグループに分かれた前者に関しては,形態的に識別が困難なグループであり,今後分類形質の再検討を要する。

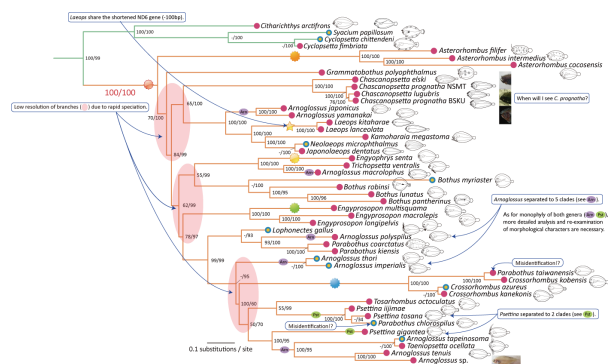


図1 ダルマガレイ科43種の系統関係

系統解析に使用した 43 種のミトゲノム全長配列から、簡易的な分岐年代推定を行なった(図 2)．解析結果から、本科魚種は他の魚種と比較すると比較的最近に、しかも短期間のうちに急速な分化を遂げたことが示唆された．

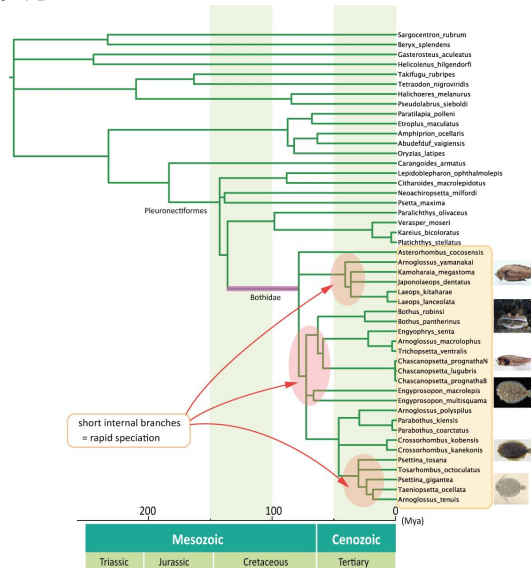


図 2 ダルマガレイ科の主要系統の分岐年代推定

(2) カレイ目の網羅的系統解析と遺伝子配置の進化

本研究では、既知のカレイ目 14 科 134 属約 670 種中のほぼ全科と半数以上の属、そして約 15%の種数を網羅する 13 科 72 属 100 種のミトゲノム全長配列を新規に決定した．これに外群やデータベースへの既登録データを加えて、総計 180 種におよぶ系統樹を構築することができた(図 3A,3B)．

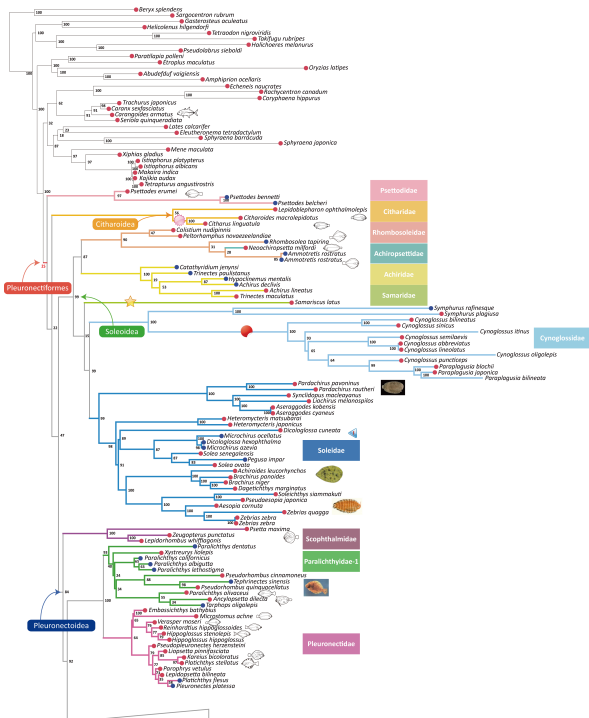


図 3A カレイ目の包括的系統樹

その結果、今現在も議論百出であるカレイ目の単系統性が微弱ながらも支持された．過去の研究でも指摘されているように、ボウズガレイ科が本目の最も basal なグループとなった．現行の分類体系に即した目内の 2 亜目ならびに 3 上科の単系統性も支持する結果が得られた．ヒラメ科は 2 つに大きく分かれる非単系統群であり、カレイ科と姉妹群を形成し、主に北方の寒冷な海域に分布するグループ、そしてダルマガレイ科と姉妹群を形成し、大西洋西岸を中心とする温暖な海域に分布するグループとなることを明瞭に示すことができた．

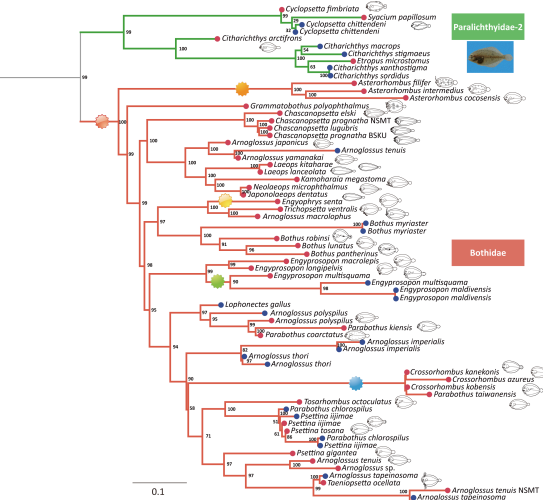


図 3B カレイ目の包括的系統樹

本研究で扱ったカレイ目魚類では、これまでに申請者等がダルマガレイ科ザラガレイで発見したものに以外に、ウシノシタ科、コケビラメ科、ペロガレイ科の 3 科で脊椎動物一般とは異なる特異な遺伝子配置を 3 パターン発見した．また、ダルマガレイ科内にも新たな配置が見つかり、合計で 8 パターンの遺伝子配置変動を特定した(図 4)．

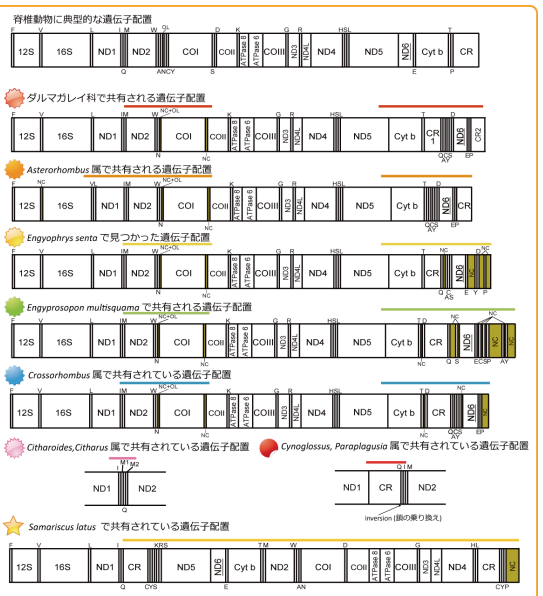


図 4 カレイ目魚類で発見された特異なミトゲノム遺伝子配置

目内で見つかった全ての遺伝子配置変動は、それぞれの科もしくは属に分化した際に生じたものと考えられ、単系統性を支持するマーカーとなることが示唆された。本目のように、科、属内で複数タイプの遺伝子配置変動が生じている例は少ないため、これらのデータを精査することで、ミトゲノムの遺伝子構造に関する進化プロセス解明につながると期待できる。

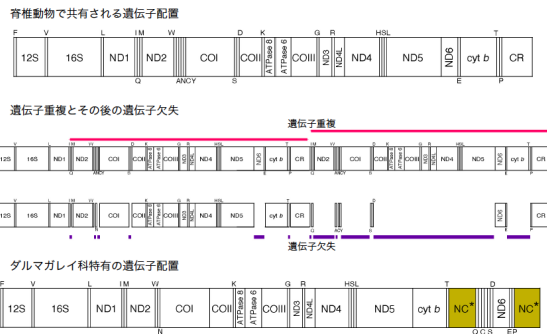


図5 ダルマガレイ科の遺伝子配置生成の推定メカニズム

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 7 件: 全て査読あり)

Katayama, E., Satoh, T. P. & Matsuura, K. First record of the longlure flatfish, *Asterorhombus filifer* (Pleuronectiformes: Bothidae), from Japan. *Species Diversity*, 19: 85-89, 2014.

Campbell M. A., López, J. A., Satoh, T. P., Chen, W. J. & Miya, M. Mitochondrial genomic investigation of flatfish monophyly. *Gene*, 551: 176-182, 2014.

Song H. Y., Mabuchi, K., Satoh, T. P., Moore, J. A., Yamanoue, Y., Miya M. & Nishida, M. Mitogenomic circumscription of a novel percomorph fish clade mainly comprising "Syngnathoidei" (Teleostei). *Gene*, 542(2): 146-155, 2014.

Miya, M., Friedman, M., Satoh, T. P., Takeshima, H., Sado, T., Iwasaki, W., Yamanoue, Y., Nakatani, M., Mabuchi, K., Inoue, J. G., Poulsen, J. Y., Fukunaga, T., Sato, Y. & Nishida, M. Evolutionary origin of the scombridae (tunas and mackerels): members of a paleogene adaptive radiation with 14 other pelagic fish families. *PLoS ONE*, 8(9): e73535, 2013.

Iwasaki W, Fukunaga, T., Isagozawa, R., Yamada, K., Maeda, Y., Satoh, T. P., Sado, T., Mabuchi, K., Takeshima, H., Miya, M. & Nishida, M. MitoFish and MitoAnnotator: A

mitochondrial genome database of fish with an accurate and automatic annotation pipeline. *Molecular Biology and Evolution* 30 (11): 2531-2540, 2013.

Poulsen J. Y., Byrkjedal, I., Willassen, E., Rees, D., Takeshima, H., Satoh, T. P., Shinohara, G., Nishida, M. & Miya, M. Mitogenomic sequences and evidence from unique gene rearrangements corroborate evolutionary relationships of myctophiformes (Neoteleostei). *BMC Evolutionary Biology* 13:111, 2013.

Song H. Y., Satoh, T. P. & Mabuchi, K. Complete mitochondrial genome sequence of the dragonet *Callionymus curvicornis* (Perciformes: Callionymoidei: Callionymidae). *Mitochondrial DNA*, 23(4): 290-292, 2012.

[学会発表](計 10 件)

佐藤 崇・宮 正樹・西田 睦. ミトコンドリアゲノム全長配列によるカレイ目魚類の網羅的系統解析. 第 47 会日本魚類学会年会. 神奈川県立生命の星・地球博物館, 神奈川, 2014 年 11 月 15-16 日.

片山英里・佐藤 崇・松浦啓一. 標本に基づく日本初記録のダルマガレイ科セイテンピラメ属魚類 *Asterorhombus filifer*. 第 50 回日本動物分類学会. 国立科学博物館, 茨城, 2014 年 6 月 14-15 日.

西田 睦・福永津嵩・砂子澤遼太・山田浩一郎・佐藤 崇・佐土哲也・宮 正樹・武島弘彦・馬淵浩司・前田泰伸・岩崎 渉. 高性能自動アノテーションパイプライン MitoAnnotator の実装による魚類ミトコンドリアゲノムデータベース MitoFish の充実. 第 46 会日本魚類学会年会. 宮崎観光ホテル, 宮崎, 2013 年 10 月 4-5 日.

武藤望生・高木 映・本村浩之・緒方悠香・Somnuk, P.・Ricardo, B.・佐藤 崇・武島弘彦・武藤文人・石川智士. 南シナ海沿岸魚類の多様性形成史に関する比較系統地理学的研究(予報). 第 46 会日本魚類学会年会. 宮崎観光ホテル, 宮崎, 2013 年 10 月 4-5 日.

佐藤 崇. 公開講演会「自然史標本がつかなく歴史と未来」自然史標本からわかること～標本を利用した研究例の紹介～. 日本進化学会第 15 回大会. 筑波大学, 茨城, 2013 年 8 月 31 日.(招待講演)

Miya, M., Satoh, T. P., Sado, T. & Nishida, M. Undetected evolutionary radiation in the pelagic realm: A novel clade in the percomorph fishes as revealed by bioinformatic and mitogenomic analyses. Joint Meeting of Ichthyologists and Herpetologists, Vancouver, Canada, 30 July-02 Aug., 2013.

Satoh T. P., M. Miya & M. Nishida. Phylogeny

of the lefteye flounders (family Bothidae): a mitogenomic perspective. The 9th Indo-Pacific Fish Conference. Okinawa, Japan, 24-28 June 2013.

篠原現人・中江雅典・佐藤 崇・Kenaley, C. P.・Pietsch, T. W.・松浦啓一. 国立科学博物館に所蔵する四国海盆や小笠原諸島近海で採集された深海魚標本. 第 45 会日本魚類学会年会. 水産大学校, 山口, 2012 年 9 月 22-23 日.

佐藤 崇・宮 正樹・西田 睦. ミトコンドリアゲノム全長配列から推定されたダルマガレイ科魚類の系統関係. 第 45 会日本魚類学会年会. 水産大学校, 山口, 2012 年 9 月 22-23 日.

Miya, M., Satoh, T. P., Sado, T. & Nishida, M. Undetected evolutionary radiation in the pelagic realm: A novel clade in the percomorph fishes as revealed by bioinformatic and mitogenomic analyses. European Congress of Ichthyology, Liège, Belgium, 3-8 July 2012.

〔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：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

MitoFish
<<http://mitofish.aori.u-tokyo.ac.jp/>>
魚類のミトコンドリアゲノム配列データを集約したデータベース.

6. 研究組織

(1) 研究代表者
佐藤 崇 (SATO, Takashi)

独立行政法人国立科学博物館・標本資料センター・特定非常勤研究員
研究者番号：60436516

(2) 研究分担者
なし ()

研究者番号：

(3) 連携研究者
なし ()

研究者番号：