

学 位 論 文 題 名

Molecular Phylogeny, Phylogeography
and Gene Evolution in the Subgenus *Mus*

(ハツカネズミ亜属における分子系統・系統地理および遺伝子進化)

学位論文内容の要旨

ハツカネズミ (*Mus musculus*) は農業作物被害や伝染病媒介の害獣としてだけでなく、実験動物用マウスとして、農学・医学・遺伝学など様々な分野で重要な研究対象となっている。ハツカネズミ (*Mus*) 亜属において、ハツカネズミとその近縁種との系統関係や進化的背景が徐々に明らかにされているが、2003 年以降 3 つの新種が報告されるなど、その種数、系統関係ともに、未解明な部分がある。ゲノム解読以降、マウスの利用価値がますます高まっているものの、ハツカネズミ亜属を活用したポストゲノムの潜在的な学問的価値や有用性については見落とされている。

本研究では、ハツカネズミ亜属の今後の有効的な活用において、その土台となる系統学的背景を明らかにすることを目的とした。まず、ハツカネズミ亜属について、ミトコンドリアと核の中立的遺伝マーカーを用いて包括的な分子系統学的解析を行なった。インドシナ半島を中心に東南アジアに広く生息しているオキナワハツカネズミ (*Mus caroli*) において、ミトコンドリアの遺伝子を用いて系統地理学解析を行なった。さらに、ハツカネズミ亜属での毛色変化に関連している遺伝子である MC1R (melanocortin-1-receptor) の進化の傾向についてイタチ類と比較し解明を試みた。

分子系統学的解析の結果、ハツカネズミ亜属が 4 つの主な系統からなっていることがわかった。これら 4 系統は、概ね生息地域ごとの近縁種からなっていた。現在インドシナ半島のみで生息が確認されている 1 種 (*M. fragilicauda*) はインド亜大陸の種と同一の系統であった。また、ミャンマー産の個体のうち 1 つ (*M. lepidoides*) は、他の 3 系統とは別の独自の系統であることがわかった。もう 1 つのミャンマー産個体 (*M. nitidulus*) は東南アジアではなくインド亜大陸の系統に属することも示された。これらのことはミャンマー産の 2 種は「再発見種」として新たにハツカネズミ亜属に加わる可能性を示唆している。また、分岐年代の推定から、これら 4 つの系統は今から約 200–300 万年前のほぼ同時期に形成されたことがわかった。このことから鮮新世前期における地球的規模での寒冷化と乾燥化という環境変動が 4 つの系統を確立するための大きな要因であったと推察される。また、インドと東南アジアの境界に位置するミャンマーは、ハツカネズミ亜属の多様化の中心的な舞台となっている可能性も示唆している。

東南アジアのほぼ全域に生息するオキナワハツカネズミ (*Mus caroli*) において、東南アジア大陸での陸生小型哺乳類の系統地理学的パターンとその要因並びに島嶼でのヒトによる分散された集団と昔からの残存集団を区別するために、ミトコンドリアのチトクローム遺伝子を用いて解析を行なった。その結果、オキナワハツカネズミは 5 つの主な系統からなることからわかり、その分化の程度はハツカネズミ (*Mus musculus*) における亜種間のレベルに匹敵するものであった。また、これらの系統の分岐は更新世中期と推定された。台湾とジャワ島の明確な 2 系統の形成については、海面や気候の変動などの古地理学的要因によるものと考えられる。系統の分岐が比較的短時間であることから東南アジア大陸内の系統については分断ではなく、分散後、地域ごとに系統分化していったものと推察される。また、沖縄とラオスの系統が遺伝的に近いことから、沖縄の系統についてはヒトによる導入によるものであることが示唆された。

ネズミ類 10 種とイタチ類 12 種の MC1R 遺伝子のエクソン領域前半部分 (498bp) において塩基置換の非同義置換率と同義置換率の比 (dN/dS) およびコドンバイアスを比較検討した。コドン頻度を考慮した塩基置換モデルでは非同義置換と同義置換の比率はネズミ類で 0.23、イタチ類で 0.35 であった。これに対してコドン頻度の偏りを考慮しないモデルでは、ネズミ類では 0.35 であったのに対し、イタチ類では 1.02 であった。このことはイタチ類の MC1R 遺伝子では、ネズミ類に比べて強いコドンバイアスがあることを示唆している。この結果は、さらにイタチ類では有効なコドンの数 (effective number of codon) がイタチ類 (30) では、ネズミ類 (40) よりも低いことから裏付けられた。また、ネズミ類 (G/C から A/T) およびイタチ類 (A/T から G/C) でみられた塩基置換の方向性が、コドンバイアスの強さとの関連も示唆された。さらにネズミ類では膜貫通領域の非同義置換と同義置換の比率 (0.13) が、それ以外の領域 (0.30) よりも低く、この領域では負の淘汰圧が強くかかっている可能性が推察された。また、*Mus musculus* と *Mus caroli* においては、塩基置換の方向性に種特異性が認められた。

以上のように、ハツカネズミ亜属は種間および種内ともに過去の気候変動と関連しながら適応的な進化をしてきたと考えられ、今回得られた材料および知見は機能的遺伝子の進化様式を把握する研究において今後大いに貢献できるものと思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 助 教 授 鈴 木 仁

副 査 教 授 木 村 正 人

副 査 教 授 東 正 剛

学 位 論 文 題 名

Molecular Phylogeny, Phylogeography and Gene Evolution in the Subgenus *Mus*

(ハツカネズミ亜属における分子系統・系統地理および遺伝子進化)

ハツカネズミ (*Mus musculus*) は農業作物被害や伝染病媒介の害獣としてだけでなく、実験動物用マウスとして、農学・医学・遺伝学など様々な分野で重要な研究対象となっている。ハツカネズミ (*Mus*) 亜属において、ハツカネズミとその近縁種との系統関係や進化的背景が徐々に明らかにされているが、その種数・系統関係ともに、未解明な部分がある。ゲノム解読以降、マウスの利用価値がますます高まっているものの、ハツカネズミ亜属を活用したポストゲノムの潜在的な学問的価値や有用性については見落とされている。本研究では、ハツカネズミ亜属の今後の有効的な活用において、その土台となる系統学的背景を明らかにすることを目的とした。まず、ハツカネズミ亜属について、ミトコンドリアと核の中立的遺伝マーカーを用いて包括的な分子系統学的解析を行なった。インドシナ半島を中心に東南アジアに広く生息しているオキナワハツカネズミ (*M. caroli*) において、ミトコンドリアの遺伝子を用いて系統地理学解析を行なった。さらに、ハツカネズミ亜属での毛色変化に関連している遺伝子である MC1R (melanocortin-1-receptor) の進化の傾向についてイタチ類と比較し解明を試みた。

第 1 章では核遺伝子を含めた 3 つのマーカーを用いて分子系統学的解析を行い、ハツカネズミ亜属が 4 つの主な系統からなることを明らかにした。4 系統は、概ね生息地域ごとの近縁種グループからなることがわかった。現在インドシナ半島のみで生息が確認されている *M. fragilicauda* はインド亜大陸の種と同一の系統であった。また、ミャンマー産種 *M. lepidoides* は、他の 3 系統とは別の独自の系統であることがわかった。もう 1 つのミャンマー産個体 *M. nitidulus* は東南アジアではなくインド亜大陸の系統に属することも示された。これらのことはミャンマー産の 2 種は「再発見種」として新たにハツカネズミ亜属に加わる可能性を示唆している。また、分岐年代の推定から、5 つの系統分化は地球的規模での寒冷化と乾燥化が進んだ鮮新

世（約 200–300 万年前）のほぼ同時期に起きたことが示唆された。また、東南アジアは、ハツカネズミ亜属の多様化の中心的な役割を担っている可能性を示唆した。

第 2 章では、東南アジアのほぼ全域に生息するオキナワハツカネズミ (*M. caroli*) において、東南アジア大陸での陸生小型哺乳類の系統地理学的関係を明らかにするために、ミトコンドリアのシトクローム遺伝子を用いて解析を行なった。その結果、オキナワハツカネズミは 5 つの主な系統からなることから分かり、その分化の程度はハツカネズミ (*M. musculus*) における亜種間のレベルに匹敵するものであった。また、これらの系統の分岐は更新世中期と推定された。系統の分岐が比較的短時間であることから東南アジア大陸内の系統については分断ではなく、分散後、地域ごとに系統分化していったものと推察された。

第 3 章では、ネズミ類 10 種とイタチ類 12 種の MC1R 遺伝子のエキソン領域前半部分 (498bp) において塩基置換の非同義置換率と同義置換率の比 (dN/dS) および codon bias のレベルを比較検討した。コドン頻度を考慮した塩基置換モデルでは非同義置換と同義置換の比率はネズミ類で 0.23、イタチ類で 0.35 であった。これに対してコドン頻度の偏りを考慮しないモデルでは、ネズミ類では 0.35 であったのに対し、イタチ類では 1.02 であった。このことはイタチ類の MC1R 遺伝子では、ネズミ類に比べて強い codon bias があることを示唆している。この結果は、さらにイタチ類では有効なコドンの数 (effective number of codon) がイタチ類は約 30 で、ネズミ類の約 40 よりも低いことから裏付けられた。また、ネズミ類 (G/C から A/T) およびイタチ類 (A/T から G/C) でみられた塩基置換の方向性が、codon bias の強さとの関連も示唆された。さらにネズミ類では膜貫通領域の dN/dS は 0.13 であり、それ以外の領域では 0.30 と低く、膜貫通領域では負の淘汰圧が強くかかっている可能性が示された。

第 1 章で得られた、新発見種 1 種、再発見種 2 種を含むハツカネズミ亜属の系統関係及び分岐年代の結果は、ユーラシア大陸における哺乳類の進化史、過去の気候変動や生態系の変遷を知るうえで重要な手がかりとなる知見である。第 2 章で明らかにされたオキナワハツカネズミ系統地理学的結果から、東南アジアは、種内レベルにおいても、多様性を生み出す機構を備えていることが示唆された。第 1 章と第 2 章の知見は、異なる時間的スケールにおいて、東南アジアが小型哺乳類の多様性創出の中心的地域であることを強く支持するものである。第 3 章の知見は、マウスゲノム情報の有効活用という点で、ハツカネズミとその近縁種を用いることの有用性を示すものであり、今後の機能的遺伝子の進化及びその歴史的背景を解明していく上で、この分類群の貢献が大いに期待できることを示している。

審査委員一同は、これらの成果を高く評価し、また研究者として誠実かつ熱心であり、大学院博士課程における研鑽や習得単位などもあわせ、申請者は、博士（地球環境科学）の学位を受けるのに十分な資格を有するものと判定された。