

学 位 論 文 題 名

Population History and Mechanisms of
Population Genetic Structuring of
the Large Japanese Wood Mouse (*Apodemus speciosus*)

(アカネズミの集団史と集団遺伝学的構造の創出メカニズムに関する研究)

学位論文内容の要旨

遺伝的多様性は生物多様性の源である。従ってその創出維持過程を解明することは生物多様性の保全や生物の進化を考える上で重要である。しかしながら野生集団で遺伝的多様性がどのように生まれ、維持されているのかについては未解明のプロセスが多く、十分に理解されていない。本研究では日本固有の哺乳類であるアカネズミの野生集団において様々な遺伝子マーカーを用いて遺伝的多様性を精査することにより、進化的タイムスケールにおける遺伝的多様性の創出・維持に関わる機構を解明することを目的とした。遺伝的多様性には過去・現在における様々な要因が影響すると考えられるが、本研究では第四紀の環境変動・島嶼間遺伝子流動・染色体変異の3つの要因に特に着目し、解析を行った。

まず、第四紀の環境変動がアカネズミの遺伝的多様性に与えた影響を把握するため、日本全国から採集したアカネズミのミトコンドリア遺伝子(*Cyt b*)の全塩基配列(1140 bp)を決定し、系統樹作製および各種系統地理学的解析により過去の集団史の推定を行った。その結果アカネズミには島嶼グループごとに固有の5つのミトコンドリア系統(本州四国九州・北海道・伊豆・佐渡・薩南)が存在することが判明した。それぞれの周辺の島嶼の系統(北海道・伊豆・佐渡・薩南)は最終氷期以前にほぼ同時に分岐していることから、この時期に急激に日本列島全体にアカネズミが分布を広げたことが伺える。また、中央の島嶼に広く存在する系統はその後(約13万年前)に広まったことが示唆された。これらの結果より、アカネズミの集団史モデルを構築することができる。つまり「一つ前の氷期間氷期サイクルに対応して、1回目の系統の拡散が起こり、その際周辺島嶼にも移入した。その後の環境変動に伴って、現在の中央島嶼の系統が既に拡散している系統を置き換えながら2回目の拡散をした結果、現在の系統分布にいたった」とするものである(2段階拡散モデル)。

従来ミトコンドリア系統の分布パターンは現在の遺伝的多様性から過去の集団史を推定する上で重要視されてきたが、近年ミトコンドリア系統の分布は必ずしも集団史を反映しないことが指摘されるなど、その信頼性は疑問視されている。そこで複数の核遺伝子(*Irbp*: 1152 bp, *Ragl*: 1016 bp, *Ghr*: 664 bp)の系統分布パターンを明らかにすること

で上記の集団史仮説の検証を行った。その結果、島嶼間の系統関係はミトコンドリア系統のそれとは異なるものであったものの、周辺の島嶼集団に独自の系統が存在するという傾向は共通していた。この結果は周辺島嶼集団が本土集団からほぼいっせいに分岐したという、上記のモデルを支持するものである。このような遺伝子間の不一致は、選択や組み換えといった核ゲノムの特徴によっても説明できるが、その影響は*Rag1*遺伝子を除きいずれの遺伝子においても弱かった。上記のようなマーカー間の不一致を生み出す主な要因は祖先多型の維持か、集団分岐後の遺伝子交流であると考えられる。

次に島嶼分断化による遺伝的多様化の影響を調べるため、マイクロサテライトマーカー5遺伝子座を用いて詳細な集団遺伝学的構造を推定した。その結果、アカネズミには7つの遺伝集団が存在することが判明し、それらはミトコンドリア系統の分布とほぼ一致した。ミトコンドリア系統の分岐年代推定によると周辺島嶼集団は少なくとも最終氷期以前に分岐している可能性が高いため、最終氷期に再度遺伝的交流が起きた可能性が高い。この仮説をコンピュータシミュレーションを用いて検証した結果、薩南諸島においてのみ最終氷期における交流の可能性が示唆された。一方北海道ではその可能性は低いことが判明した。これらの結果は地質学的な証拠からも支持される。

さらに、アカネズミの遺伝的多様性を特徴付けている要素のひとつに染色体変異がある。従来、染色体変異は遺伝的分化に重要な役割を果たすと考えられてきた。特に近年、染色体変異に関わった染色体上の遺伝子が分化することで種分化が生じる可能性が論じられている。しかしながらそれを実際に野生集団で示した例は少ない。アカネズミは2本の染色体の融合により本州中央の境界を境に東で $2n=48$ 、西で $2n=46$ と染色体数が異なるため、染色体融合の遺伝的分化への影響を把握するのに適している。まず、染色体標本上で特定の遺伝子配列のみを特異的に染色するFISH法を用いて、アカネズミにおいて融合した染色体上にあると予想される遺伝子(*Bmpr2*, *F5*, *Irf6*, *Pbxna2*)の染色体上の位置を特定し、それらの情報を手掛かりにして融合染色体上に6遺伝子座のマーカー(*Cdh20*, *Rnf152*, *Phlpp*, *Tsn*, *Dpp10*, *Myog*)を設定した。それらのマーカーおよびその他の染色体上の遺伝子を用いて、東西集団間で遺伝子流動量を計った結果、融合した染色体上の遺伝子とその他の染色体上の遺伝子の流動量には大きな差が見られなかった。この結果より染色体融合は融合した染色体上の遺伝子においてもほとんど遺伝的分化に貢献していないことが判明した。これはハイブリッド個体($2n=47$)において融合した染色体上で組み換えが起こることによってほぼ滞りなく流動が起きているためと考えられる。さらにこの結果はアカネズミの染色体変異が、ミトコンドリア系統の地理的分布パターンができるより以前にほぼ中立的に西日本全体に広まったことを示している。これらの知見は、染色体構造の進化を理解する上で有用である。

以上より、アカネズミの野生集団の遺伝的多様性には過去の2度の系統の拡散と島嶼への移入・隔離の歴史および島嶼間での制限された遺伝子流動が大きな影響を与えており、染色体変異はほとんど影響していないことが明らかになった。これら一連の結果はアカネズミの集団史を明らかにしたというだけでなく、ミトコンドリアの系統分散は必ずしも集団の拡散を意味しないこと、日本列島のように比較的浅い海峡で隔てられた島嶼は海水準の変動に伴う隔離と接続によってそこに生息する種の遺伝的多様性を保つ働きを持つこと、染色体融合は融合染色体上の遺伝子においても障壁とならないことなど

を示したという点で重要である。さらにこれらの知見は今後種内の集団間に見られる様々な表現型の違いの遺伝的基盤を解明していく上でも有用である。

学位論文審査の要旨

主 査 准教授 鈴 木 仁
副 査 教 授 木 村 正 人
副 査 教 授 齊 藤 隆

学 位 論 文 題 名

Population History and Mechanisms of Population Genetic Structuring of the Large Japanese Wood Mouse (*Apodemus speciosus*)

(アカネズミの集団史と集団遺伝学的構造の創出メカニズムに関する研究)

遺伝的多様性は生物多様性の源である。従ってその創出維持過程を解明することは生物多様性の保全や生物の進化を考える上で重要である。しかしながら野生集団で遺伝的多様性がどのように生まれ、維持されているのかについては未解明のプロセスが多く、十分に理解されていない。本研究では日本固有の哺乳類であるアカネズミの野生集団において様々な遺伝子マーカーを用いて遺伝的多様性を精査することにより、進化的タイムスケールにおける遺伝的多様性の創出・維持に関わる機構を解明することを目的とした。遺伝的多様性には過去・現在における様々な要因が影響すると考えられるが、本研究では第四紀の環境変動・島嶼間遺伝子流動・染色体変異の3つの要因に特に着目し、解析を行った。

まず、第四紀の環境変動がアカネズミの遺伝的多様性に与えた影響を把握するため、日本全国から採集したアカネズミのミトコンドリア遺伝子(*Cyt b*)の全塩基配列(1140 bp)を決定し、系統樹作製および各種系統地理学的解析により過去の集団史の推定を行った。その結果アカネズミには島嶼グループごとに固有の5つのミトコンドリア系統(本州・四国・九州・北海道・伊豆・佐渡・薩南)が存在することが判明した。それぞれの周辺の島嶼の系統(北海道・伊豆・佐渡・薩南)は最終氷期以前にはほぼ同時に分岐していることから、この時期に急激に日本列島全体にアカネズミが分布を広げたことが伺える。

従来ミトコンドリア系統の分布パターンは現在の遺伝的多様性から過去の集団史を推定する上で重要視されてきたが、近年ミトコンドリア系統の分布は必ずしも集団史を反映しないことが指摘されるなど、その信頼性は疑問視されている。そこで複数の核遺伝子(*Irbp*: 1152 bp, *Ragl1*: 1016 bp, *Ghr*: 664 bp)の系統分布パターンを明らかにすることで上記の集団史仮説の検証を行った。その結果、島嶼間の系統関係はミトコンドリア系統のそれとは異なるものであったものの、周辺の島嶼集団に独自の系統が存在するという傾向は共通していた。この結果は周辺島嶼集団が本土集団からほぼいっせいに分岐したと

いう、上記のモデルを支持するものである。このような遺伝子間の不一致は、選択や組み換えといった核ゲノムの特徴によっても説明できるが、その影響は*Rag1*遺伝子を除きいずれの遺伝子においても弱かった。上記のようなマーカー間の不一致を生み出す要因は祖先多型の遺伝的浮動による固定か、集団分岐後の遺伝子交流であると考えられる。

次に島嶼分断化による遺伝的多様化の影響を調べるため、マイクロサテライトマーカー5遺伝子座を用いて詳細な集団遺伝学的構造を推定した。その結果、アカネズミには7つの遺伝集団が存在することが判明し、それらはミトコンドリア系統の分布とほぼ一致した。ミトコンドリア系統の分岐年代推定によると周辺島嶼集団は少なくとも最終氷期以前に分岐している可能性が高いため、最終氷期に再度遺伝的交流が起きた可能性が高い。この仮説をコンピュータシミュレーションを用いて検証した結果、薩南諸島においてのみ最終氷期における交流の可能性が示唆された。一方北海道ではその可能性は低いことが判明した。これらの結果は地質学的な証拠からも支持される。

さらに、アカネズミの遺伝的多様性を特徴付けている要素のひとつに染色体変異がある。従来、染色体変異は遺伝的分化に重要な役割を果たすと考えられてきた。特に近年、染色体変異に関わった染色体上の遺伝子が分化することで種分化が生じる可能性が論じられている。しかしながらそれを実際に野生集団で示した例は少ない。アカネズミは2本の染色体の融合により本州中央の境界を境に東で $2n=48$ 、西で $2n=46$ と染色体数が異なるため、染色体融合の遺伝的分化への影響を把握するのに適している。まず、染色体標本上で特定の遺伝子配列のみを特異的に染色するFISH法を用いて、アカネズミにおいて融合した染色体上にあると予想される遺伝子(*Bmpr2*, *F5*, *Irf6*, *Pbxna2*)の染色体上の位置を特定し、それらの情報を手掛かりにして融合染色体上に6遺伝子座のマーカー(*Cdh20*, *Rnf152*, *Phlpp*, *Tsn*, *Dpp10*, *Myog*)を設定した。それらのマーカーおよびその他の染色体上の遺伝子を用いて、東西集団間で遺伝子流動量を計った結果、融合した染色体上の遺伝子とその他の染色体上の遺伝子の流動量には大きな差が見られなかった。この結果より染色体融合は融合した染色体上の遺伝子においてもほとんど遺伝的分化に貢献していないことが判明した。これはハイブリッド個体($2n=47$)において融合した染色体上で組み換えが起こることによってほぼ滞りなく流動が起きているためと考えられる。さらにこの結果はアカネズミの染色体変異が、ミトコンドリア系統の地理的分布パターンができるより以前にほぼ中立的に西日本全体に広まったことを示している。これらの知見は、染色体構造の進化を理解する上で有用である。

以上より、アカネズミの野生集団の遺伝的多様性には島嶼への移入・隔離に伴う遺伝的浮動および島嶼間での制限された遺伝子流動が大きな影響を与えており、染色体変異はほとんど影響していないことが明らかになった。これら一連の結果はアカネズミの集団史を明らかにしたというだけでなく、ミトコンドリアの系統分散は必ずしも集団の拡散を意味しないこと、日本列島のように比較的浅い海峡で隔てられた島嶼は海水準の変動に伴う隔離と接続によってそこに生息する種の遺伝的多様性を保つ働きを持つこと、染色体融合は融合染色体上の遺伝子においても障壁とならないことなどを示したという点で重要である。さらにこれらの知見は今後種内の集団間に見られる様々な表現型の違いの遺伝的基盤を解明していく上でも有用である。

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修得単位などもあわせ、申請者が博士（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した。