

論文 / 著書情報  
Article / Book Information

題目(和文)	レトロポゾンの挿入比較に基づく水鳥類の系統解析
Title(English)	
著者(和文)	蔵本多恵
Author(English)	Tae Kuramoto
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第10084号, 授与年月日:2016年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:梶川 正樹,木村 宏,本郷 裕一,田中 幹子,二階堂 雅人,岡田 典弘
Citation(English)	Degree:., Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第10084号, Conferred date:2016/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	論文要旨
Type(English)	Summary

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻： Department of	生体システム	専攻	申請学位 (専攻分野)： 博士 ( 理学 ) Academic Degree Requested Doctor of
学生氏名： Student's Name	藏本 多恵		指導教員 (主)： Academic Advisor(main) 梶川 正樹 講師
			指導教員 (副)： Academic Advisor(sub)

### 要旨 (和文 2000 字程度)

Thesis Summary (approx.2000 Japanese Characters )

鳥類の系統関係はここ数年で多くの部分が明らかになりつつあるが、未だ不明瞭な系統群も存在する。その中の一つである水鳥類の内部の系統関係は、長い間議論の的となってきた。特にコウノトリ科の系統的位置については形態学及びミトコンドリアゲノムや核遺伝子を用いた研究の間で全く異なる結果が得られており、その解決が望まれていた。ここで、他の系統解析法と比べて極めて信頼性が高い手法として、レトロポゾン法が挙げられる。レトロポゾン法は、転移因子の一種であるレトロポゾンの挿入を種間比較することで行う系統解析法である。レトロポゾンは自らの配列を複製し、宿主ゲノムの任意の座位に挿入させることで増幅する。一度配列が挿入されるとその配列のみ正確に抜け落ちることはなく、また、別種のゲノム中で全く同じ座位に独立に挿入される可能性も極めて低い。これらの特徴は逆転・収斂現象(ホモプラシー)の可能性を排除するものである。分子系統解析においてはホモプラシーや不完全な系統ソーティング(ILS)、もしくは種間交雑の影響で、遺伝子毎に推定される系統関係に矛盾が生じることがある。ILS は急速な種分化に起因するため、正確に検出できれば種分化速度の推定も可能である。レトロポゾン法においてはホモプラシーの影響を考慮する必要が無いため、各挿入座位から推定される系統樹が矛盾する時、原因はほとんどの場合 ILS によるものと考えられる。ここから、レトロポゾン法では種の分岐速度も読み解くことが可能である。このように、レトロポゾンは有用な系統解析の指標である。本研究では鳥類ゲノム中で最も豊富なレトロポゾンである CR1 について、その挿入の有無を鳥類種間で比較することで水鳥類の系統解析を行った。また、CR1 を網羅的に探索するために NGS(Next Generation Sequencer)を活用した新しい手法を導入した。この手法により、従来のハイブリダイゼーション法による探索と比較してより多量の CR1 配列が単離されることが期待できる。

実際に NGS を活用した探索からは水鳥類の系統関係を示す CR1 挿入遺伝子座が計 30 座位得られた。これらの内 12 座位によってコウノトリ科の系統的位置が確定された。また、系統情報を持つ 30 遺伝子座の内、他の 28 座位の示す結果とは矛盾する挿入パターンを持つ CR1 が 2 つ見出された。このような矛盾の原因は ILS であると考えられる。

NGS を利用した解析に加えて、ペリカン科、サギ科、トキ科およびカツオドリ上科についてはゲノムデータに基づく CR1 挿入比較によって系統推定を行った。ゲノムデータから得られた系統情報を持つ CR1 挿入は計 96 であり、それらの内 63 はペリカン科+サギ科+トキ科の単系統性を強く支持した。その一方でそれと矛盾する挿入遺伝子座も 19 座位見出された。ここで観察された矛盾も ILS によるものと考えられる。これら矛盾した挿入の数は系統情報を持つ総 CR1 数からすると高い割合ではなく、統計的に有意な CR1 挿入によって水鳥類の系統関係を確立することができた。ここから、水鳥類の系統においては目および科が分岐する過程で、中程度の速さの種分化が起きた可能性が示唆される。ま

た、ゲノムデータから得られたペリカン科+サギ科+トキ科の系統関係を示す 15 の CR1 挿入については興味深い結果が得られた。ペリカン科+サギ科の単系統性を支持する CR1 は 9 であり、最も多かった。この系統関係と矛盾するサギ科+トキ科の単系統性を示す CR1 も 6 見いだされたが、一方で、ペリカン科+トキ科に共通する CR1 挿入は見いだされなかった。ILS によって矛盾が生じる場合、各矛盾を支持する挿入 CR1 数は理論上同じ割合で観察される。しかし、上記 3 科の系統関係を示す挿入では、2 つの矛盾を支持する CR1 挿入数は統計的に不均一であった。このように挿入パターンに偏りがある場合、最もあり得る仮説は種の分岐の後に種間交雑が起きたということである。本解析においては、ペリカン科+サギ科が単系統である仮定と、加えてペリカン科とトキ科に共有される CR1 挿入が無かったことから、トキ科、ペリカン科、サギ科の成立の後、サギ科とトキ科の祖先集団間で種間交雑が起きた可能性が考えられる。

以上の通り、本研究では NGS やデータベースを活用して多量の CR1 をレトロポゾン挿入解析に用いることで、水鳥類の系統関係を確立した。特に、今まで不明瞭だったコウノトリ科の系統的位置を確定させたことで、形態学的手法についての再検討の可能性も示された。さらに、種間交雑や種分化の速度といった複雑な水鳥類の進化史を示唆することができた。挿入座位毎に系統推定が矛盾する場合、矛盾原因が ILS と種間交雑のどちらによるかは矛盾する挿入の割合から判断する。この時、系統関係を示すレトロポゾンの総数が多い方が判断はより容易である。そのため、本研究のように豊富なレトロポゾンを利用することで、生物の系統推定や進化史の解明がより容易になることが期待される。

備考：論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note：Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意：論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).

(博士課程)  
Doctoral Program

## 論文要旨

THESIS SUMMARY

専攻 : Department of	生体システム	専攻	申請学位 (専攻分野) : Academic Degree Requested	博士 (理学)
学生氏名 : Student's Name	藏本 多恵		指導教員 (主) : Academic Advisor(main)	梶川 正樹 講師
			指導教員 (副) : Academic Advisor(sub)	

要旨 (英文 300 語程度)

Thesis Summary (approx.300 English Words)

Despite many studies on avian phylogenetics in recent decades that used morphology, mitochondrial genomes, and/or nuclear genes, the phylogenetic positions of several birds, e.g., storks, remain unsettled. In addition to the aforementioned approaches, analysis of retroposon insertions, which are nearly homoplasy-free phylogenetic markers, has also been used in avian phylogenetics. However, the first step in the analysis of retroposon insertions, i.e., isolation of retroposons from genomic libraries, is a costly and time-consuming procedure. Therefore, in this study, a high-throughput and cost-effective protocol was developed to collect retroposon-insertion information based on next-generation sequencing technology and applied it to three waterbird species, for which I identified 35,470 loci containing chicken repeat 1 retroposons (CR1). The presence/absence analysis of 30 CR1 insertions demonstrated the intra- and interordinal phylogenetic relationships in the waterbird assemblage, namely 1) waterbirds form a monophyletic group, 2) loons (Gaviiformes) diverged first among the waterbirds, 3) penguins (Sphenisciformes) and petrels (Procellariiformes) diverged next, and 4) among the remaining families of waterbirds traditionally classified in Ciconiiformes/Pelecaniformes, storks (Ciconiidae) diverged first. Isolation of two inconsistent CR1 insertions among the 30 loci suggests rapid radiation in waterbirds divergence.

Furthermore, the genome-scale, *in silico* retroposon analysis uncovered a complex divergence history among pelican, heron, and ibis lineages, presumably involving ancient interspecies hybridization between the heron and ibis lineages. Thus, the retroposon-based waterbird phylogeny and the established phylogenetic position of storks will help us understand the evolutionary processes of aquatic adaptation and related morphological convergent evolution. In addition, I isolated dozens of taxon-specific CR1 insertions. These loci have a potential to be used for phylogenetic analyses of intra- and interfamilial relationships. Therefore, I expect that complex evolution of birds will be clarified by more extensive retroposon analysis using next-generation sequencing and genomic data.

備考 : 論文要旨は、和文 2000 字と英文 300 語を 1 部ずつ提出するか、もしくは英文 800 語を 1 部提出してください。

Note : Thesis Summary should be submitted in either a copy of 2000 Japanese Characters and 300 Words (English) or 1 copy of 800 Words (English).

注意 : 論文要旨は、東工大リサーチリポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。

Attention: Thesis Summary will be published on Tokyo Tech Research Repository Website (T2R2).