

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	ヴィクトリア湖シクリッドにおける種多様性創出機構の解明
Title(English)	
著者(和文)	中村遥奈
Author(English)	Haruna Nakamura
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11715号, 授与年月日:2022年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:二階堂 雅人,本郷 裕一,増田 真二,立花 和則,田中 幹子
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11715号, Conferred date:2022/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

令和3年度

博士論文

ヴィクトリア湖シクリッドにおける
種多様性創出機構の解明

東京工業大学 生命理工学院

生命理工学専攻

中村遥奈

指導教官 二階堂雅人准教授

目次

第1章 序論	4
1.1 種分化と集団遺伝学	4
1.2 東アフリカンシクリッドの種多様化	6
1.3 ヴィクトリア湖シクリッドの進化史	9
第2章 ヴィクトリア湖シクリッド3種のゲノム比較解析による適 応放散をもたらした遺伝的基盤の解明	11
2.1 背景	11
2.2 材料・方法	13
2.2.1 対象種およびそのサンプリング	13
2.2.2 ゲノムデータの抽出	14
2.2.3 遺伝的統計量の計算	15
2.2.4 集団構造解析	15
2.2.5 集団サイズ変動パターンの推定	16
2.2.6 種間で遺伝的に大きく分化している領域の特定	17
2.2.7 適応候補遺伝子が持つ分化アリの起源の推定	18
2.2.8 分化アリの配列決定	19
2.2.9 広範な魚類における <i>col6a6</i> 遺伝子の分子系統解析	20
2.3 結果	21
2.3.1 統計量の計算	21
2.3.2 集団構造推定	21
2.3.3 集団史推定	22
2.3.4 種間で遺伝的に大きく分化した領域の特定	23
2.3.5 検出された適応候補遺伝子	24
2.3.6 起源の古い分化アリを持つ遺伝子の探索	26

2.4 考察	27
2.4.1 生態学的背景に基づく種特有の集団史	28
2.4.2 ヴィクトリア湖シクリッドの適応に寄与した可能性のある遺伝子	30
2.4.3 <i>L. rufus</i> の適応に寄与する遺伝的基盤	34

第3章 ヴィクトリア湖シクリッド *Haplochromis chilotes* の集団遺

伝解析 35

3.1 背景	35
3.2 材料・方法	37
3.2.1 対象種およびそのサンプリング	37
3.2.2 多型データの入手	37
3.2.3 <i>H. chilotes</i> および <i>H. sp. 'short head chilotes'</i> の集団構造解析	39
3.2.4 広範なヴィクトリア湖シクリッドと比較した <i>H. chilotes</i> および <i>H. sp. 'short head chilotes'</i> の進化系統解析	40
3.2.5 <i>H. chilotes</i> と <i>H. sp. 'short head chilotes'</i> の集団史推定	42
3.2.6 <i>H. chilotes</i> 分集団間で自然選択の影響を受けている領域の探索	42
3.2.7 適応候補遺伝子の探索	44
3.2.8 種ごとの形態のばらつきの評価	45
3.3 結果	45
3.3.1 <i>H. chilotes</i> と <i>H. sp. 'short head chilotes'</i> の遺伝構造	45
3.3.2 ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散における唇の厚いシクリッドの進化過程	47
3.3.3 <i>H. chilotes</i> と <i>H. sp. 'short head chilotes'</i> の適応過程	49
3.3.4 <i>H. chilotes</i> の局所適応に関与した候補遺伝子の探索	51
3.4 考察	53
3.4.1 ヴィクトリア湖における唇の厚いシクリッドの進化	53
3.4.2 <i>H. chilotes</i> の適応と形態学的多様性	55
3.4.3 <i>H. chilotes</i> の急速な集団分化	58

第4章 総論 61

図表	63
参考文献	120
謝辞	131
報文目録	132

第1章 序論

1.1 種分化と集団遺伝学

どのようにしてこの地球上に多種多様な種が誕生したのか、この種多様性創出機構の解明は進化生物学ひいては生物学の根幹をなす課題の一つである。種多様性をもたらす種分化という機構は「進化生物学の祖」チャールズ・ダーウィンによる自然選択説の提唱(Darwin 1859)に端を発し、現在まで生態学的調査、数学的な理論研究および実際の生物ゲノムを用いた実証研究など幅広い手法による解明が進められてきた。生物学的種概念では、種は「自然条件下の個体群において実際または潜在的に交配可能であり、かつ類似した他集団から生殖的に隔離されている生物集団」であると定義される(Mayr 1942)。種分化はある集団から何らかの要因によって分岐した集団が元の集団を含めた近縁な集団に対し生殖的隔離に至るまでの過程を経て完了するものであり、その一連の種分化の段階は *speciation continuum* と呼ばれる(Stankowski and Ravinet 2021)。種分化の初期段階ではそれぞれの集団において集団間での生殖的隔離は完了していないが、その遺伝構造にはある程度の違いが観察される。この集団分化は生態的あるいは地理的な隔離障壁の出現により引き起こされ、同じ生態学的地位(ニッチ)にある個体群内の交配の頻度が高くなることで強化される(Stankowski and Ravinet 2021)。それに伴い、遺伝的な分化の程度も大きくなることでニッチごとに遺伝的に異なる分集団が形成され、最終的には種分化・種形成に至る。

集団遺伝学とは生物集団の遺伝構造の変化に着目し、生物の進化過程を明らかにすることを目的とする進化生物学の一分野である。種分化過程を明らかにする上で、集団遺伝学はその初期段階の遺伝構造の変化にアプローチすることができる。例えば、分岐した集団が突然変異により元の集団とは異なる変異アリルを獲得することがある。多くの場合、この変異アリルは集団から消失するが、変異アリルが個体の生存率を上昇させたり、より多くの子孫を残すことにつながったりする(適応度を高める)場合には変異アリルは集団内に広ま

り、固定する。このような集団内のアレル頻度を変化させる主な機構は遺伝的浮動と自然選択である。遺伝的浮動とは子世代の集団を構成するアレルが親世代のものから無作為抽出されることによりアレル頻度がランダムに増減することである(Wright 1931)。集団遺伝学の中核をなす中立説やほぼ中立説では、突然変異が起きても個体の適応度は変化しない(中立)か僅かに低下する場合がほとんどであり、ごく一部の有利な変異のみが実際の適応進化に寄与すると考えられている(Kimura 1968; Ohta 1973)。また、アレル頻度の変化は次世代に子孫を残す個体数(集団サイズ)にも依存する(Ohta 1972)。集団サイズが大きい場合は遺伝的浮動によるアレル頻度の変化の幅が小さいため、相対的に自然選択がアレル頻度の変化に与える影響が大きくなるが、集団サイズが小さい場合には遺伝的浮動によるアレル頻度の変化の幅が大きくなるため、相対的に自然選択がアレル頻度の変化に与える影響が小さくなり、たとえ適応度の低いアレルでも集団に固定する可能性があることが理論研究により明らかになっている(Ohta 1972)。すなわち、集団サイズが小さい時期を経験した集団であれば、変異アレルが環境に対して適応的であるかにかかわらず集団に固定する確率が高いために、元の集団に対する遺伝的分化の程度が高くなる。そのため、配列比較から適応的な変異アレルと適応的でない変異アレルを区別できなくなることが想定される。このように、集団サイズの変化や分岐年代といった過去の集団の歴史(集団史)もまた種分化を考える上で重要である。

集団が持つ遺伝的多様性は遺伝構造を評価する上で重要な指標である。集団遺伝学では、現在の集団全体の遺伝的多様性から過去の集団動態や集団間の遺伝的分化の程度を推定できる。その方法の一つとして塩基多様度(π)や集団分化の指標である F_{ST} をはじめとする遺伝的統計量を用いる方法がある。塩基多様度は同一集団に属する複数個体が持つ同じゲノム領域の塩基の多様性を示し、集団縮小を経験した集団では他の集団に比べ小さい値をとる。絶滅の恐れがある種を遺伝的に評価することができるため、塩基多様度は保全生物学の面からも重要視されている(Lande 1988)。また、正または負の自然選択を受けてい

る領域は他の中立な領域に対し塩基多様度が低下するため、塩基多様度は自然選択の影響を受けている領域の検出にも用いられる。 F_{ST} は集団内と集団間でその遺伝的多様性を比較することで求められる集団分化の指標である(Holsinger and Weir 2009)。集団間が遺伝的に大きく分化していれば、集団内の塩基多様度に比べ集団間の塩基多様度が大きい値をとり、 F_{ST} は1に近い値をとる。一方で、集団間が遺伝的に極めて近縁であれば、集団内の塩基多様度と集団間の塩基多様度の差がないため、 F_{ST} は0に近い値をとる。よって、 F_{ST} は種分化(speciation continuum)の進行の程度の評価に有効である。また、領域ごとの F_{ST} の算出は集団間で異なるアレルに自然選択が働いた領域の検出につながる(Holsinger and Weir 2009)。このように、集団遺伝学に根ざした解析手法は種分化の、特に初期段階の適応機構の解明に適している。

1.2 東アフリカンシクリッドの種多様化

種分化機構の一つ、生態的種分化では個体が示す形質に対して正の自然選択が働くことにより生息環境への適応が促進される。例えば、*Heliconius*属のドクチョウが持つ鮮やかな翅の模様は捕食者への警告シグナルであり、かつ同種認知のシグナルとしての役割を持つためにその種分化を促進した(Jiggins et al. 2001)。種分化が進むペースはその種分化を促進する機構に応じて様々であるが、時に単一の祖先から生じた複数の集団が急速に多様な生息環境へ適応し、結果として爆発的な種多様化が起こる場合がある。例えば、ガラパゴス諸島に生息する14種のダーウィンフィンチは嘴のサイズや体長といった形態的特徴の多様性が観察されており、これらの種は約150万年前に共通祖先から分岐し、離島ごとに入手可能な食物資源に適応した結果、種多様化が起こった(Petren et al. 2005; Lamichhaney et al. 2015)。この現象は適応放散と名付けられ、種多様性創出機構の理解につながるとして進化生物学研究において注目を集めている。

スズキ目カワスズメ科に属するシクリッドはその形態や生態において非常に大き

な多様性を示す熱帯魚で、世界中の湖や河川に約 3,000 種以上が生息している(Kocher 2004)。中でも、東アフリカの三大湖には合わせて約 2,000 種が生息し、それぞれの湖で少数の種から短期間で爆発的に生じる適応放散を経験している(Kocher 2004)。タンガニーカ湖シクリッドは適応放散の時期が最も古く、約 1,000 万年から 500 万年前にかけて約 240 種の種が生じた(Ronco et al. 2020)、次いでマラウィ湖では約 80 万年前に約 850 種近くの種が生じた。そして、ヴィクトリア湖では約 15,000 年前に適応放散が起こり、周辺の湖や河川を含めて Lake Victoria Region Superflock (LVRS)と呼ばれる 700 種以上のシクリッドが生じた(Verheyen et al. 2003)。ヴィクトリア湖シクリッドは種分化してからの期間が東アフリカンシクリッドの中で最も短く、種間の遺伝的多様性が低いため、ミトコンドリア DNA を用いた分子系統解析では種ごとに遺伝的クレードを形成せず、種の区別ができないほど近縁であることが明らかになっている(Samonte et al. 2007)。ゲノム全体での種間の遺伝的分化の程度が低ければ、種間で遺伝的に大きく分化しているアレルを持つ遺伝子は種分化に寄与している可能性が高い。よって、ヴィクトリア湖シクリッドは他の湖のシクリッドと比べ種多様性を生み出す遺伝的基盤にアプローチしやすく、生物進化のモデル生物として主に分子進化学的側面から研究が進められてきた。

同種認知の強化による種分化の促進、すなわち sensory drive を介した生態的種分化はシクリッドの種多様性創出機構の議論の中心にある。視覚に関連する長波長光を受容するオプシン遺伝子(LWS)はシクリッドにおいてアレル多様性が確認されている遺伝子の一つである(Terai et al. 2002)。水中に届く光の波長は水深や透明度によって異なり、濁度の高いヴィクトリア湖では透明度が低い場所には長波長光が届きやすく、透明度が高い場所には短波長光が届きやすい。異なる光環境に生息するシクリッドの LWS 遺伝子の配列比較から、透明度が低い環境に生息するシクリッドは透明度が高い環境に生息するシクリッドに比べ、長波長光を感受しやすいアレルを持っている個体が多く、異なる光環境に対する視覚の適応が示唆されている(Terai et al. 2006)。さらに、この分化アレルの存在が異なる水深に

生息するヴィクトリア湖シクリッドの種分化に寄与したとする先行研究がある。赤い婚姻色を呈する *Pundamilia nyererei* と青い婚姻色を呈する *P. pundamilia* はそれぞれ深場と浅場に生息する近縁種である。これら2種の LWS 遺伝子において、*P. nyererei* は長波長光を感受しやすいアリル、*P. pundamilia* は短波長光を感受しやすいアリルを多く持っており、それぞれの婚姻色を認識しやすいアリルが種内に広まっていることが明らかになっている (Seehausen et al. 2008)。また、これら2種は濁度が非常に高く、視覚による認知が難しい環境において一度種間交雑し、濁度が比較的低い環境で生息水深に応じて再び赤い婚姻色を持つ *P. sp.* ‘nyererei-like’ と青い婚姻色を持つ *P. sp.* ‘pundamilia-like’ に分岐した (Meier, Sousa, et al. 2017)。これら2未記載種においても婚姻色に応じた LWS 遺伝子のアリルタイプが集団内に広がっていることが明らかになっている (Meier et al. 2018)。このように、LWS 遺伝子では近縁な種間においても生息環境に伴うアリルの分化が確認されており、シクリッドの適応における視覚の重要性を提示している。

嗅覚もシクリッドの同種認知システムにおいて重要である。シクリッドでは、メスのオスに対する選択行動実験において、視覚のみを用いた同種認知の精度は嗅覚のみの場合や視覚と嗅覚どちらも用いた場合に比べ低くなることが示されている (Plenderleith et al. 2005)。また、シクリッドは口内保育を行なうが、メスは交配時に稚魚期に育てられた種のオスをより選択しやすいことから、嗅覚による刷り込みが生じていると議論されている (Verzijden and Ten Cate 2007)。さらに、嗅覚に関連するフェロモン受容体の一つである 1 型鋤鼻受容体 (V1R) のいくつかの遺伝子コピーはシクリッドにおいてアリルの多様化を経験している。その一つである V1R2 遺伝子にはヴィクトリア湖シクリッドにおいて遺伝的に大きく分化した2つのアリルが存在することが確認され、そのアリル多様性は最も適応放散の時期が古いタンガニーカ湖シクリッドから長期間維持されていることが明らかになった (Nikaido et al. 2014)。加えて、V1R3 遺伝子や V1R6 遺伝子もタンガニーカ湖シクリッドの一部の系統においてアリル多様化が確認されており、V1R が東アフリカンシクリッドにおけ

る同種認知システムひいては種分化に対して重要な役割を担っている可能性がある (Nikaido et al. 2014)。

1.3 ヴィクトリア湖シクリッドの進化史

地質学的にヴィクトリア湖は 40 万年前に形成され、現在に至るまで大規模な水位の変動を繰り返してきた (Johnson et al. 2000)。約 14,600 年前にヴィクトリア湖は一度干上がったため、現在ヴィクトリア湖で観察される種の多くはその後の水位上昇に伴い誕生したと考えられる (Johnson et al. 2000)。一方で、ヴィクトリア湖シクリッドの種分化に寄与したと考えられる遺伝子のアレル多様性がいつどのようにして獲得されたかは地質学的解析や形態学的記述だけでは説明できない。そこで、ヴィクトリア湖シクリッドの進化的起源の探索を介して、その種多様性をもたらした遺伝的基盤の獲得メカニズムの解明が進められている。ミトコンドリア DNA の配列解析により、ヴィクトリア湖シクリッドは三大湖の中で最も古いタンガニーカ湖シクリッドの中で、本湖に定着した後に河川に進出した族である Haplochromini にその起源を持つことが分かっている (Salzburger et al. 2005)。Haplochromini はタンガニーカ湖の水位が上昇した 300 万～200 万年前に周辺河川へ進出し、その後、マラウィ湖やヴィクトリア湖で独立に適応放散を遂げた (Salzburger et al. 2005)。特に、ヴィクトリア湖シクリッドの直接の祖先は近傍にある小規模な湖に生息するキブ湖シクリッドであると考えられていた (Verheyen et al. 2003; Salzburger et al. 2005)。しかし、近年のゲノムワイド解析により、キブ湖に生息する種を含むナイル水系シクリッドとコンゴ水系シクリッドの 2 つの祖先系統が約 10 万～20 万年前に交雑し、現在のヴィクトリア湖シクリッドの種多様性をもたらした遺伝的基盤が獲得されたという説が提唱された (Meier, Marques, et al. 2017)。急速な種分化において祖先系統間での交雑の重要性はヴィクトリア湖シクリッド以外の東アフリカンシクリッドにおいても議論されている。例えば、タンガニーカ湖シクリッドでは、“melting pot Tanganyika” 仮説と呼ばれるタンガニーカ湖の lake basin 形成前に存在していた複数の祖先

系統の交雑がその後の種分化を促進したのではないかという説が提唱されている(Weiss et al. 2015)。また、マラウィ湖シクリッドはタンガニーカ湖の河川系統 *Haplochromini* の中でも Ruaha 川に生息するシクリッドとその適応放散前に交雑を経験している(Svardal et al. 2019)。一方で、ヴィクトリア湖シクリッドで見られるアレル多様性の獲得はその祖先系統間の交雑より古くに起こったことが示唆された。ヴィクトリア湖シクリッド種間で大きく分化している一塩基多型 (SNP) の起源はその適応放散の時期より古く、マラウィ湖シクリッドやタンガニーカ湖シクリッドまでさかのぼるものがあることが示されている(Brawand et al. 2014; Takuno et al. 2019)。したがって、ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散は祖先多型が交雑により新たな組み合わせに再構成され、その結果獲得された複雑な遺伝的基盤によって引き起こされたと考えられている(Marques et al. 2019)。

本研究では以上の序論を踏まえ、ヴィクトリア湖シクリッドの種多様性創出機構の解明を目的として、全ゲノム配列を用いた集団遺伝解析を行なった。第2章では、3種のヴィクトリア湖シクリッドのゲノム比較解析により祖先多型由来の分化アレルを有する遺伝子の網羅的探索を行なった結果について記述する。第3章では、より遺伝的に近縁な同一種内の分集団の存在に着目し、種分化の萌芽段階における分集団形成過程と表現型の多様性をもたらす遺伝的基盤について記述する。

第2章 ヴィクトリア湖シクリッド3種のゲノム比較解析による適応放散をもたらした遺伝的基盤の解明

2.1 背景

約 15,000 年前に少数の種から短期間で爆発的な種分化を経験したヴィクトリア湖シクリッドは 700 以上の形態や生態において多様な種から構成され、進化のモデル生物として注目されている(Brawand et al. 2014; Salzburger 2018)。ヴィクトリア湖シクリッドをはじめとする適応放散を経験した種の大規模ゲノム解析により、適応放散を可能にした進化的要因が明らかになりつつある(Marques et al. 2019)。その一つとして集団内にある程度の頻度で維持されている塩基多型 (Standing Genetic Variation, SGV) に対する正の自然選択が挙げられる (Hermisson and Pennings 2005; Barrett and Schluter 2008)。集団が環境の変化に晒されると、集団を構成する個体ごとにその環境に対する生存率、すなわち適応度の変化が起こる。この時、環境に適応的な変異を持つ個体は次世代に子孫を多く残すことになるため、集団内に適応的な変異が広まり、最終的には固定する。適応的な変異が SGV として集団内に維持されていた場合、突然変異による適応的な変異の出現を待つ必要がなく、環境の変化に対して急速な適応が可能となる(Matuszewski et al. 2015)。適応放散では祖先種が急速に生息地を拡大し、生息地ごとに異なる環境への適応に伴って遺伝的な分化が起きた結果、多数の種が形成される。そのため、祖先集団が SGV を獲得していることが適応放散を促進させる要因の一つとして重要視されている。

種内で確認される SGV はその獲得プロセスにより二分できる。一つは祖先集団からそのまま集団中に維持されてきた祖先多型であり、もう一つは過去の種間交雑により獲得された多型である。東アフリカの三大湖、タンガニーカ湖、マラウイ湖、ヴィクトリア湖

に生息するシクリッドはそれぞれ単系統であるが、湖間で共有している一塩基多型 (SNP) があることが報告されている(Loh et al. 2013; Brawand et al. 2014; Svardal et al. 2021)。東アフリカンシクリッドの突然変異率は 3.5×10^{-9} mutations (サイト・世代あたり) であり、ヒトの 2.5×10^{-8} mutations (サイト・世代あたり) に比べて小さいことが分かっている(Malinsky et al. 2018; Marques et al. 2019)。ゲノム中の同一サイトに何度も突然変異が起こったとは考えにくく、湖間での明らかな遺伝子流動の痕跡も確認されていない。したがって、何らかの維持機構により祖先多型がタンガニーカ湖からヴィクトリア湖シクリッドまで受け継がれたと推察される(Svardal et al. 2021)。さらに、一塩基レベルの祖先多型だけでなく、より長い領域の分化アレルが SGV として維持された例もある。嗅覚関連遺伝子の V1R2 では、ヴィクトリア湖シクリッドで最大 14 アミノ酸の違いがある主に 2 つの分化アレルが確認されているが、この分化アレルはタンガニーカ湖シクリッドやマラウィ湖シクリッドでも観察されている(Nikaido et al. 2014)。また、広範なヴィクトリア湖シクリッド 92 種を用いた全ゲノム解析により、ヴィクトリア湖シクリッドで食性の違いに関与していると考えられる配列挿入や欠失を含む大規模な分化アレルがタンガニーカ湖シクリッドまで共有されていることが明らかになった(McGee et al. 2020)。

このように、東アフリカンシクリッドにおいて適応放散における祖先多型の重要性は議論されているが、実際に祖先多型由来のアレルを持つ遺伝子を示した例は少ない。そこで本研究では、生息環境が異なり、異なる適応過程を経験したと考えられるヴィクトリア湖シクリッド 3 種の全ゲノム解析により種分化・種形成に寄与した祖先多型、特に V1R2 の分化アレルに代表される大規模な祖先多型アレルを持つ遺伝子の探索を行なった。まず、集団遺伝解析による 3 種の集団史推定を行ない、種間の交雑の有無や種ごとの適応過程を明らかにした。次に、種間のゲノム比較から遺伝的に大きく分化したアレルを持つ適応候補遺伝子を単離した。最後に、適応候補遺伝子の中から分子系統解析により祖先多型由来の分化アレルを持つ遺伝子を同定した。

2.2 材料・方法

2.2.1 対象種およびそのサンプリング

本研究を行なうにあたり、ヴィクトリア湖において異なる環境に生息している *Haplochromis chilotes* (Boulenger 1911)、*H. sauvagei* (Pfeffer 1896, *sensu* Seegers 2008)、そして *Lithochromis rufus* (Seehausen et al. 1998)の3種を選択した (Fig. 1)。*H. chilotes* はヴィクトリア湖の広域分布種で浅場から岩場の砂地近くの岩場に生息する。*H. chilotes* の食性は雑食であり、特徴的な厚い唇を岩の隙間に押しつけエビや幼虫を捕食する。*H. sauvagei* もヴィクトリア湖の広域分布種であり、主に水深の浅い岩場に生息している。*H. sauvagei* の食性も雑食であるが、*H. chilotes* と異なり、岩の表面の幼虫や藻を捕食する。*H. sauvagei* は適応放散を経験した他のヴィクトリア湖シクリッドに比べて種形成の年代が古い祖先的な種である (Samonte et al. 2007; Takeda et al. 2013)。これら2種はどちらも主な生息環境が岩場に限定され、体表面に格子状模様を呈する種である。*L. rufus* はヴィクトリア湖の中でもムワンザ湾にのみ生息が確認されている種の一つであり、特にオスでは極めて赤い婚姻色を示すことで知られている (Seehausen et al. 1998)。*L. rufus* は岩場種として種記載されているが、所属研究室の現地調査では砂地や植生帯でも生息が確認されており、幅広い環境に生息できるジェネラリストであると考えられる。食性は雑食で、幼虫や小さい貝が胃内容物として観察されている (Seehausen et al. 1998)。

個体は全てヴィクトリア湖のムワンザ湾とその周辺から所属研究室の研究者および現地の研究者が採取し、種同定を行なった (Fig. 1)。*H. chilotes* はムワンザ湾内の Nyegezi ($n=1$)、Kilimo Island ($n=1$)、ムワンザ湾外の Makobe Island ($n=1$)、Chamagati Island ($n=1$) で採取された。*H. sauvagei* はムワンザ湾内の Nyegezi ($n=1$)、ムワンザ湾外の Bwiru Peninsula (n

= 1)、Chamagati Island ($n = 4$) で採取された。*L. rufus* はムワンザ湾内の Nyegezi ($n = 1$)、Kilimo Island ($n = 2$)、Nyaruwambu ($n = 3$) で採取された。DNA は TruSeq DNA PCR-Free LT sample Prep Kit のプロトコルに則り、鰭から抽出した。続いて、国立遺伝学研究所の豊田敦特任教授の協力のもと Illumina HiSeq 2500 を用いたシーケンシングが行なわれ、150bp からなるペアエンドリードが得られた。以上のサンプル採集、ゲノム抽出および配列決定は所属研究室の研究者や他の学生により行なわれた。

2.2.2 ゲノムデータの抽出

まず、FastQC(Andrews 2010)により得られたリードの精度を確認し、続いて、参照配列に対し、bwa-mem(version 0.7.17-r1188)(Li 2013)を用いて個体ごとにマッピングを行なった。参照配列には東京工業大学・生命理工学院・伊藤研究室で決定された *H. chilotes* の *de novo* アセンブリゲノム (N50 = 1,540,223 bp) を用いた。シクリッドにはゲノム中に多くの繰り返し配列が存在することが知られており(Brawand et al. 2014)、これによりマッピングの精度が低下する可能性がある。よって、マッピングに際し、参照配列の繰り返し配列を RepeatMasker(Churakov et al. 2005)を用いて N で置き換え、マッピングができない状態にした。マッピングの結果得られた bam 形式の配列データに対し、samtools (version 1.8)(Li et al. 2009)のオプション“-f 2 -F 2052”を用いてゲノム上の複数の場所にマッピングされたリードを取り除き、forward read と reverse read が同じ位置に適切にマッピングされたリードのみを抽出した。同時にオプション“-q 30”を用いて精度が低いリードを除外した。samtools のオプション“-depth”を用いてゲノム領域あたりマップされたリードの数、mapping coverage を計算した。その平均は最小で 19.2、最大で 30.8 となった(Table 1)。次に、参照配列に対する変異抽出を bcftools (version 1.8)(Li 2011)を用いて行なった。繰り返し配列がある領域にマップされたサイトは変異抽出後の depth が大きくなることが予想されるため、vcflib(Garrison et al. 2021)のツールである vcf-filter を用いて minimum depth = 10、maximum depth = 60 を満たす

SNP を抽出し、さらに mapping quality が 60 以上の SNP を vcftools(Danecek et al. 2011)により抽出した。個体ごとの SNP のフィルタリング後、全個体の変異データを samtools(Li et al. 2009)を用いて結合し、vcftools (Danecek et al. 2011)により、オプション”--max-missing 1”で欠損データがある変異サイトを全て取り除き、”--remove-indels” および”--max-alleles 2 --min-alleles 2”で biallelic SNP のみを抽出した。また、ヘテロ接合度が非常に高い変異サイトを除外するために”--hwe 0.001”でハーディー・ワインベルグ平衡 (HWE) から有意に逸脱している SNP(p 値<0.001)も取り除いた。最終的に 1,879,895 biallelic SNP を入手し、その後の解析に用いた。

2.2.3 遺伝的統計量の計算

集団遺伝解析における統計量は集団の遺伝構造の評価や自然選択が働いた可能性のある領域を検出する上で重要な指標となる。本研究では、ゲノム領域を scaffold の始点から終点まで 2kb ずつずらしながら (step_size = 2kb)、10kb からなる領域 (window_size = 10kb) に分け、vcftools(Danecek et al. 2011)を用いて種ごとの遺伝的多様性を評価する塩基多様度(π)を計算した。また、集団分化の相対的な指標である F_{ST} (Weir and Cockerham 1984)についても種のペアごとに同様の方法で計算した。集団間の塩基の違いの絶対的な指標である d_{XY} は PopGenome(Pfeifer et al. 2014)を用いて同じく 10kb からなる領域に区切り、2kb ずつずらして計算した。最近の種間交雑の有無を確認するために、vcftools を用いた近交係数の計算により、個体ごとにヘテロ接合度を評価した。

2.2.4 集団構造解析

集団構造解析には自然選択の影響を受けていない中立な SNP のみを用いた。全 1,879,895 biallelic SNPs のうちマイナーアレル頻度が 5%以上のものを vcftools により抽出し、さらに連鎖不平衡状態にある SNP を plink(version 1.9)(Purcell et al. 2007)のオプション”--indep-

pairwise 50 5 0.1”により取り除くことで、61,461 SNP を入手した。得られた中立 SNP データに対し、主成分分析(PCA)を smartpca プログラムに含まれる EIGENSOFT(Patterson et al. 2006)により行なった。PCA では個体ごとの SNP のアレルタイプを変数として、個体間の遺伝的な違いを表す。EIGENSOFT 専用のファイル形式への変更には PGDSpider(version 2.1.1.5)(Lischer and Excoffier 2012)を用いた。また、個体を構成する遺伝的要素を最尤法により推定する ADMIXTURE 解析を実行した(Alexander et al. 2009)。ADMIXTURE 解析では全個体が K 個の遺伝的要素から構成されていると仮定し、そのアレル頻度から個体ごとの遺伝子型が観察される確率が最も高くなるように、構成する遺伝的要素の割合を個体ごとに最尤法を用いて推定する(Alexander et al. 2009)。本解析では全 18 個体が $K=1\sim 6$ 個の遺伝的要素で構成されることを仮定し、それぞれで error rate を算出した。

2.2.5 集団サイズ変動パターンの推定

Sequentially Markovian coalescent (SMC)とは recombination が起こる状態を想定して現在の個体が持つ連鎖不平衡ブロックにおける多型情報から遺伝子系図を推定するアルゴリズムである(Schiffels and Durbin 2014; Schiffels and Wang 2020)。Coalescent とは現在から過去に遡ったとき、2つのアレルが共通祖先に辿り着く事象を指す(Hudson 1990)。Coalescent 理論では遺伝子系図上の coalescent が起こるまでの枝の長さをもとに集団サイズを算出できる。SMC を元にした解析手法ではこれを利用し、推定した遺伝子系図の分布および突然変異率と組換え率の情報をを用いて過去の集団サイズの変動パターンを推定する。自然選択の影響を受けている多型が解析に含まれることが推定精度の低下につながる事が報告されている(Ewing and Jensen 2016)ため、本解析では集団分化の指標である F_{ST} と d_{XY} の両方の分布で上位 0.5%の値を示す領域を持つ scaffold を含まない全長 500kb 以上の 383 個の scaffold を解析に用いた。入力ファイルはフィルタリングした bam 形式の配列データから <http://github.com/stschiff/msmc-tools> で示されている手順に従い、作成した。まず、反復配

列由来ではない多型データを用いるために、最小で scaffold 全体の depth の半分、最大で2倍の depth を示す SNP を抽出した。次に、アレルがどちらの親に由来するか推定するハプロタイプフェージングを BEAGLE 4(version 4.1)(Browning and Browning 2007)で行なった。さらに、SNPable(<http://lh3lh3.users.sourceforge.net/snpable.shtml>)を用いて、参照配列を overlapping 50 k-mers に分け、BWA で再びマップし直すことに成功した、すなわち繰り返し配列にマップされていない精度の高い SNP のみを用いた mappability データを scaffold ごとに作成した。最後に、各種において2個体(4ハプロタイプ)の組み合わせごとに msmc2(Schiffels and Durbin 2014; Malaspina et al. 2016)を 100 iterations で実行した。また、SMC にサイトごとの変異アレルの数の分布 (SFS)の情報を加味して集団動態や集団間の分岐年代を推定する smc++(Terhorst et al. 2017)を用いた解析も行なった。smc++はその計算コストの削減により msmc に比べて非常に多くのハプロタイプデータを扱うことができ、より最近の集団サイズの変動を正確に検出しやすいという特徴を持つ(Terhorst et al. 2017)。まず、msmc2 解析で用いた scaffold ごとに各種全6個体(12ハプロタイプ)の unphased data に対し vcf2smc プログラムを実行し、入力データを作成した。さらに、ブートストラップ解析のために 500kb からなる配列データに細分し、それぞれで 100 回 smc++を実行した。両方の解析において突然変異率として 3.5×10^{-9} mutations (サイト・世代あたり)を用いた(Malinsky et al. 2018)。

2.2.6 種間で遺伝的に大きく分化している領域の特定

自然選択を受けている領域を特定するために、種のペアごとに算出した F_{ST} の分布から上位 0.5%の値を示すゲノム領域を遺伝的に大きく分化している領域 (Highly Differentiated Region, HDR) であるとした。次に、参照配列として用いた *H. chilotes* では遺伝子アノテーションが行なわれていないため、HDR 上にどのような遺伝子が含まれているか調べた。まず、Ensembl(Cunningham et al. 2019)で HDR をクエリとした blastn 検索を行なった。このとき、

東アフリカの河川に生息するシクリッド *Oreochromis niloticus* (Orenil1.0 または O_niloticus_UMD_NMBU) とマラウィ湖シクリッド *Maylandia zebra* (M_zebra_UMD2a) のアセンブリ配列において同定された遺伝子を検索先のデータベースとして指定した。次に、取得した候補遺伝子のアミノ酸配列をクエリとしてNCBIデータベース(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)で tblastn 検索し、遺伝子のアミノ酸配列、UTR 領域の塩基配列を改めて取得した。続いて、参照配列に対し、取得した配列をそれぞれ tblastn 検索あるいは blastn 検索することで候補遺伝子のゲノム上の位置を特定した。最後に、参照配列から候補遺伝子のコーディング領域の配列を単離し、EMBL-EBI (<https://www.ebi.ac.uk>)の GeneWise(Birney et al. 2004)によりエクソン・イントロン構造を予測し、得られた遺伝子配列の質を踏まえて候補遺伝子を同定した。ゲノムデータの抽出の際は HWE から有意に逸脱しているかどうかで SNP のフィルタリングを行なったが、この方法では種間で異なるアレルがそれぞれ固定している SNP が取り除かれてしまう可能性がある。よって、HWE によるフィルタリングを実施した多型データとフィルタリング無しの多型データの両方で同様の方法で HDR の特定を行なった。

GO enrichment 解析は WebGestalt(Liao et al. 2019)により行なった。全ての種間の HDR 上に位置する適応候補遺伝子に対し、functional database として”gene ontology”と”pathway”カテゴリーを選択し、ヒトの”protein-coding data”をもとに適応候補遺伝子の機能を調べた。

2.2.7 適応候補遺伝子が持つ分化アレルの起源の推定

アレル多様性がヴィクトリア湖以外の東アフリカンシクリッドで観察されるかを分子系統解析により調べることで、ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より古い SGV 由来の分化アレルを探索した。解析に用いた9種を Table 2 に示す。河川種である *O. niloticus* (Orenil1.0)、タンガニーカ湖に生息する *Neolamprologus brichardi* (NeoBri1.0)、タンガニーカ湖周辺の河川に生息する *H. burtoni* (AstBur1.0)、マラウィ湖に生息する *Astatotilapia calliptera* (fAstCal1.2)

および *M. zebra* (M_zebra_UMD2a)、ヴィクトリア湖に生息する *P. nyererei* (PunNye1.0) は Ensembl に公開されているアセンブリ配列を用いた(Brawand et al. 2014; Malinsky et al. 2018)。さらに、参照配列として用いた *H. chilotes* とともに東京工業大学・生命理工学院・伊藤研究室において新規にアセンブリ配列が決定されたヴィクトリア湖に生息する *H. sauvagei* および *L. rufus* を用いた。これらのアセンブリ配列に対し、候補遺伝子のアミノ酸配列と UTR 配列をクエリとして `tblastn` 検索および `blastn` 検索を行なった。それぞれのアセンブリゲノムから適応候補遺伝子の塩基配列を単離し、GeneWise(Birney et al. 2004) でエキソン・イントロン構造を推定することでコーディング領域を特定した。続いて、得られたコーディング領域の配列に対して、MEGA7(Kumar et al. 2016)に内蔵されているアラインメントソフトウェア ClustalW または MUSCLE で候補遺伝子ごとにアミノ酸レベルで多重配列アラインメントを実行した。イントロンや UTR を含む遺伝子領域の塩基配列に対しても同様の操作を行なった。最後に、1)コーディング領域のアミノ酸配列、2)コーディング領域の塩基配列、3)イントロンや UTR を含めた塩基配列、これら 3 パターンで、候補遺伝子ごとに MEGA7(Kumar et al. 2016)によりブートストラップ 100 回で最尤法による分子系統解析を行なった。このとき、多重配列アラインメント後に欠失が確認されたサイトは解析から除外した。また、アセンブリ配列の精度が低く、解析結果の信頼性を低下させると判断した種は遺伝子ごとに解析から除外した。東アフリカに生息する河川種である *O. niloticus* をアウトグループとし、ブートストラップ値が 60 以上でヴィクトリア湖シクリッド種のみで単系統とならなかった遺伝子についてのみ SGV 由来の分化アレルを持つとした。

2.2.8 分化アレルの配列決定

多型データに対し、bcftools(Li 2011)の”consensus”を用いてハプロタイプごとの配列を抽出し、EMBL-EBI (<https://www.ebi.ac.uk>)の GeneWise(Birney et al. 2004)を用いてエキソン・イントロン構造を推定することで、LWS 遺伝子と RH1 遺伝子の配列決定を行なった。分化アレルが

確認された LWS 遺伝子では先行研究において triallelic site を持つことが確認されているため(Terai et al. 2006; Miyagi et al. 2012; Terai et al. 2017)、HWE や欠損データによるフィルタリングをしていない triallelic 以上の変異アリルを含めた多型データを用いた。

2.2.9 広範な魚類における *col6a6* 遺伝子の分子系統解析

シクリッドで観察される 2 つの *col6a6* 遺伝子が進化過程でいつ獲得されたかを調べるために、軟骨魚類から棘鱗上目までの広範な魚類での遺伝子の分子系統解析を行なった。本解析には NCBI データベース(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)に登録されたハナカケトラザメ

(*Scyliorhinus canicala*)、シーラカンス (*Latimeria chalumnae*)、アミメウナギ (*Erpetoichthys calabaricus*)、スポッテッドガー (*Lepisosteus ocalatus*)、アジアアロワナ (*Scleropuges formosus*)、イセゴイ (*Megalops cyprinoides*)、ヨーロツパウナギ (*Anguilla anguilla*)、タイセイヨウニシン (*Clupea harengus*)、アフリカ淡水ニシン (*Denticepts clupeoides*)、ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*)、コイ (*Cyprinus carpio*)、コロソマ (*Colosoma macropmum*)、メキシカンテトラ (*Astynax mexicanus*)、アメリカナマズ (*Ictalurus punctatus*)、カイヤン (*Pangasianodon hypophthalmus*)、デンキウナギ (*Electrophorus electricus*)、ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)、ノーザンパイク (*Esox lucius*)、タイセイヨウダラ (*Gadus morhua*)、ストーンフィッシュ (*Thalassophryne amazonica*)、イトヨ (*Pungitius pungitius*)、キノボリウオ (*Anabas testudineus*)、ヒラマサ (*Seriola lalandi dorsalis*)、アカメ (*Lates calcarifer*)、シクリッド (*Oreochromis niloticus*)、キリフィッシュ (*Nothobranchius furzeri*) の全 26 種のアミノ酸配列を用いた分子系統解析を行なった。配列は全てシクリッドである *O. niloticus* における *col6a6_a* 遺伝子のアミノ配列 (XP_019219953.1 collagen alpha-6(VI) chain isoform X1 [Oreochromis niloticus])および zebrafish における *col6a4a* 遺伝子(Ramanoudjame et al. 2015)のアミノ酸配列(XP_017207020.1 collagen alpha-6(VI) chain [Danio rerio])をクエリとし、NCBI データベース(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)で tblastn 検索し、取得した。得られた配列に対して、mafft によるアラインメントを実行し、

続いて RAxML (Stamatakis 2014) を用いてブートストラップ 1,000 回で分子系統推定を行なった。

2.3 結果

2.3.1 統計量の計算

ヴィクトリア湖の異なる環境に生息するシクリッド 3 種各 6 個体の全ゲノム配列データから抽出した 1,879,895 biallelic SNP データに対し、種ごとのゲノム全体の遺伝的特徴を調べるために統計量を計算した (Fig. 2)。種内の塩基多様度 (π) のサイトあたりの平均は *L. rufus* で最も大きく ($p = 5.63 \times 10^{-4}$)、次いで *H. chilotes* ($p = 5.01 \times 10^{-4}$)、*H. sauvagei* ($p = 4.03 \times 10^{-4}$) で最も小さかった (Fig. 2a)。また、同類交配の傾向を調べるため、近交係数を個体ごとに算出した結果、*L. rufus* 個体のみが負の値を示し、種全体としてヘテロ接合頻度が高いことが分かった (Fig. 2b)。集団分化の指標である F_{ST} は集団間の遺伝的な距離を評価し、その値が 1 のとき完全に遺伝的に分化していることを意味する。3 種のペアで算出したその加重平均は *H. chilotes* と *H. sauvagei* 間で最も大きく ($F_{ST} = 0.21848$)、次いで *H. sauvagei* と *L. rufus* 間 ($F_{ST} = 0.16926$)、*H. chilotes* と *L. rufus* 間 ($F_{ST} = 0.09060$) で最も小さかった。

2.3.2 集団構造推定

ヴィクトリア湖シクリッドは種間の遺伝的分化の程度が低いことが示唆されており (Samonte et al. 2007; Takeda et al. 2013)、本研究で用いる *H. chilotes*、*H. sauvagei*、*L. rufus* の 3 種においても種間交雑を最近経験している可能性を無視できない。そこで、変異アレル頻度 5% 以上で連鎖不平衡の関係にない 61,461 biallelic SNPs を用いた集団構造推定を行なった。PCA の結果、第一主成分 (PC1) と第二主成分 (PC2) の両方で全ての個体はその種ご

とに遺伝的クラスターを形成した (Fig. 3a)。特に PC1 の結果は *H. sauvagei* が他の 2 種と遺伝的に大きく異なることを示した。第三主成分 (PC3) では、*H. chilotes* が生息場所ごとに異なる遺伝的クラスターに分かれ、これは *H. chilotes* が生息場所ごとに遺伝的に異なる分集団から構成されていることを示唆している (Fig. 3b)。ADMIXTURE 解析においても同様の結果が得られた (Fig. 4)。 $K = 2$ では、*H. chilotes* と *H. sauvagei* は種特異的な遺伝的要素から構成され、*L. rufus* がその遺伝的要素が混在した遺伝構造を持つことが示唆された。 $K = 3$ では、主に 3 種がそれぞれ種特異的な遺伝的要素のみで構成されていた。さらに、 $K = 4$ では、*H. chilotes* のそれぞれの個体はサンプリングポイントに応じて異なる遺伝的要素から構成されることが推定された。中でも、Makobe Island からサンプリングされた個体 (03) は他の個体と異なり、*L. rufus* の遺伝的要素を約 15% 有していた。本解析における error rate は全個体が同じ遺伝的要素から構成されると仮定した $K = 1$ での値が最も低かった (Fig. 4b)。 K の値が大きくなるにつれて、error rate も高くなったことはヴィクトリア湖シクリッドが遺伝的に極めて近縁であることを暗示している。PCA と ADMIXTURE 解析の両方で *H. sauvagei* は他の 2 種と異なる遺伝的要素を持つことが示された。 F_{ST} の結果を考慮すると、*H. sauvagei* が 3 種の中で最も古くに分岐した祖先種である可能性が示唆され、これは先行研究での結果とも一致していた (Samonte et al. 2007; Takeda et al. 2013)。

2.3.3 集団史推定

smc++による種の分岐年代推定の結果、世代時間 2 年を仮定すると、*H. sauvagei* は *L. rufus* とは約 15,600 年前に分岐し、*H. chilotes* とは約 14,700 年前に分岐したと推定された (Fig. 5)。*H. sauvagei* が他の 2 種より早くに分岐したという推定結果は F_{ST} の結果や先行研究とも一致していた (Samonte et al. 2007; Takeda et al. 2013)。*H. chilotes* と *L. rufus* は約 8,800 年前に分岐したと推定された (Fig. 5)。集団サイズの変動パターンの推定は msmc2 (Malaspinas et al. 2016) と smc++ (Terhorst et al. 2017) の両方で行なった。msmc2 は 4 個体以下の少数個体のデー

タから連鎖不平衡ブロックにおける多型情報から遺伝子系図を推定し、そのパターンから集団サイズの推定を行なう (Schiffels and Durbin 2014; Schiffels and Wang 2020)。一方で、smc++では連鎖不平衡ブロックにおける多型情報にサイトごとの変異アレルの数の分布 (SFS) の情報を加味して遺伝子系図を推定することで大量の個体の多型データを扱うことができる (Terhorst et al. 2017)。4ハプロタイプを用いた msmc2 での解析の結果、集団サイズの変動パターンは生息環境の違いに応じて大きく違っていた (Fig. 6a)。主に岩場に生息する *H. chilotes* と *H. sauvagei* は約 20,000 年前からの集団サイズの縮小と約 4,000 年前からの拡大を経験しているのに対し、*L. rufus* は約 8,000 年前から大規模な集団拡大を経験し、集団サイズが大きいまま維持されていた。6 個体 (12 ハプロタイプ) を用いた smc++での解析結果は msmc2 を用いた推定結果と類似しており、生息環境に応じて最近の集団サイズに差が確認された (Fig. 6b)。主に岩場に生息する *H. chilotes* と *H. sauvagei* 間にも集団サイズの変動パターンに違いがあり、*H. chilotes* に比べ *H. sauvagei* の集団サイズの縮小は速く進行していた (Fig. 6)。これは *H. sauvagei* がヴィクトリア湖シクリッドの中で早くに種分化したことを反映している可能性がある。本研究に用いたヴィクトリア湖シクリッド3種において、それぞれ種特異的な集団サイズの変動パターンが推定されたことは3種が種ごとに異なる適応過程を経て種分化したことを示唆している。

2.3.4 種間で遺伝的に大きく分化した領域の特定

適応候補遺伝子の探索を行なうために、まず、10kb のゲノム領域に対し種のペアごとに F_{ST} の加重平均を計算することで、種間で遺伝的に大きく分化している領域を特定した (Fig. 7)。それぞれの F_{ST} の分布において上位 0.5% の値を示すゲノム領域を種間で遺伝的に大きく分化している領域 (HDR) とみなした。この閾値は厳密には種ごとの分岐年代や集団サイズの変動パターンを含めた集団史を推定し、中立条件下で得られる F_{ST} との比較において設定する必要があるが、*H. chilotes* が分集団を持つ可能性があることや *L. rufus* が未知の集団との

種間交雑を経験した可能性があるために精度の高い集団史の推定が厳しく、本研究では恣意的に決定した。種のペアごとの F_{ST} の閾値は *H. chilotes* と *H. sauvagei* 間で 0.754386、*H. chilotes* と *L. rufus* 間で 0.584615、*H. sauvagei* と *L. rufus* 間で 0.671233 であった。また、HDR では種特有に分化していると考えられる領域が確認された。例えば、*H. chilotes* と *H. sauvagei* 間と *H. chilotes* と *L. rufus* 間の両方で HDR となった領域に関しては”*chilotes-specific*”な領域とみなした。さらに、強い正の自然選択が働いている領域を検出するため、 F_{ST} に加え、同一の site window に対して d_{XY} を計算した (Fig. 8)。 F_{ST} は種間の遺伝的な分化の程度を種内の塩基多様度との比較で相対的に評価するが、 d_{XY} は種間の塩基サイトの違いを数えることで遺伝的な分化の程度を評価する。 d_{XY} は領域内の SNP 数との正の相関があり、 F_{ST} の値が小さい場合でも SNP 数が多ければ高い d_{XY} の値を示すことがある。そのため、 F_{ST} および d_{XY} が高い値を示すゲノム領域は種間でアレル頻度が大きく異なる SNP を多く持つことを意味する。興味深いことに、*L. rufus* と他の 2 種間での比較において、HDR に極めて高い d_{XY} の値を示す領域が多いことが確認された (Fig. 8b-c)。したがって、*L. rufus* に対して強い正の自然選択が働いている可能性がある。

2.3.5 検出された適応候補遺伝子

HDR 上の候補遺伝子を探索したところ、計 679 個の遺伝子が検出された (Fig. 9)。このうち *chilotes-specific* な遺伝子が 43 個、*sauvagei-specific* な遺伝子が 54 個、*rufus-specific* な遺伝子が 63 個含まれていた。適応候補遺伝子において、種間でアレル頻度の差が 0.5 以上の SNP は 401 個の遺伝子においてコーディング領域ではなくイントロン領域や非翻訳領域 (UTRs) のみに位置していた。例えば、*chilotes-specific* HDR に存在する inhibin beta B chain (*inhbb*) 遺伝子は多くの分化 SNP がイントロン領域に存在していた (Fig. 10a)。*rufus-specific* な HDR に位置する 4-aminobutyrate aminotransferase (*abat*) 遺伝子では、分化した SNP が非翻訳領域を含めた遺伝子領域に集中して存在していた (Fig. 10b)。シクリッド研究において機

能の解明が進められている遺伝子も本解析により検出された。*rufus*-specific HDR に存在する agouti-signaling protein 2 (*asip2b*) 遺伝子は、そのイントロン領域への変異が *asip2b* の発現量を低下させ、ヴィクトリア湖シクリッドの縦縞模様の有無を決定づける遺伝子である (Kratochwil et al. 2018; Urban et al. 2020)。本研究で用いた 3 種のうち *L. rufus* のみが縦縞模様が観察されない種であり、HDR のゲノム上の位置は先行研究で報告されたイントロン領域を含んでいた (Fig. 10c)。また、*H. chilotes* と *H. sauvagei* 間での HDR に存在する Cathepsin L (*ctsl*) 遺伝子 (Fig. 10d) は *H. chilotes* と *H. sauvagei* でその発現量が大きく異なる (Kobayashi et al. 2006)。したがって、本ゲノム解析の結果はこれまでのシクリッド研究で得られた知見と一致しており、解析の信頼性が保証されるものである。

どのような機能を持っている遺伝子が HDR 上に多いかを GO enrichment 解析により調べた。その結果、概日リズムや運動行動、感覚システムといった生物の行動に関わる遺伝子が含まれていることが分かった (Fig. 11)。*chilotes*-specific HDR に位置する SLIT and NTRK Like Family Member 6 (*slitrk6*) 遺伝子 (Fig. 10e) はヒトやマウスでは神経の発達を制御し、視覚や聴覚といった感覚認知に関与している (Tekin et al. 2013)。嗅覚受容体遺伝子ファミリーの一つである trace amine-associated receptors (*TAARs*) のいくつかの遺伝子コピーは *H. sauvagei* と *L. rufus* 間での HDR 上に位置し、特に *H. sauvagei* で強い正の自然選択 (選択的一掃) を受けた痕跡が確認された (Fig. 10f)。これは、種特異的な適応に化学物質の受容が役割を担っていた可能性を示している。また、免疫系に関わる遺伝子も検出された。fibrinogen alpha chain (*fga*) 遺伝子や fibrinogen beta chain (*fgb*) 遺伝子は血液凝固に関わる遺伝子であり、どちらも *rufus*-specific HDR 上に位置していた (Fig. 10g)。transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 (*trpm4*) 遺伝子は *H. chilotes* と *H. sauvagei* 間の HDR 上に位置しており (Fig. 10h)、この遺伝子は嗅覚神経を介し検出された化学刺激に対する免疫反応に関与していることが分かっている (Kastenhuber et al. 2013; Ellison et al. 2018; Sepahi et al. 2019)。また、生体防御機構に関わる粘液の主成分であるムチンをコードする複

数の遺伝子(Rose and Voynow 2006; Pérez-Sánchez et al. 2013; Yamashita and Melo 2018)も検出された (Fig. 10i)。さらに、ヴィクトリア湖シクリッドでアレル多様性が確認されている視覚関連遺伝子 *LWS (opn1lw1)* および rhodopsin (*rho*) 遺伝子も検出された (Fig. 10j-k)。

2.3.6 起源の古い分化アレルを持つ遺伝子の探索

集団内に維持されてきた多型 (SGV) を持つ遺伝子のアレルが強い正の自然選択により集団に広がる場合、アレルが生じてからの時間が長く、変異が蓄積しているため、分化アレルを構成する SNP も多くなることが期待される。さらに、SGV 由来の分化アレルを有する遺伝子ではその系統樹が種系統樹と一致しないことが確認される(Barrett and Schluter 2008)。したがって、起源がヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より古い分化アレルを持つ遺伝子を探索するために、まず種間でアレル頻度が大きく異なる SNP を多く蓄積している分化アレルを持つ遺伝子を F_{ST} と d_{XY} の 2 種類の統計量の値から精査し、東アフリカに生息する広範なシクリッド 9 種の遺伝子配列を用いた分子系統解析によりヴィクトリア湖シクリッドで確認されたアレルが他の河川や湖のシクリッドと共有されているかどうか調べた。その結果、解析した 304 遺伝子のうち、99 遺伝子で遺伝子系統樹と種系統樹が一致せず、ヴィクトリア湖の適応放散より前に生じた SGV 由来の分化アレルを持つことが分かった (Fig. 12a; Table 3)。また、ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より起源が古い SGV 由来の分化アレルを持つ遺伝子が存在する HDR は適応放散後に生じた new mutation 由来の分化アレルを持つ遺伝子が存在する HDR に比べてその d_{XY} の値が有意に高く、 F_{ST} と d_{XY} の統計量に基づいた本手法の有用性が示された (Fig. 12b)。

SGV 由来の分化アレルが確認された遺伝子について述べる。シクリッドではパラログな関係にある 2 つの Collagen alpha-6 (VI) chain (*COL6A6*) 遺伝子がタンデムに並んでおり、本研究では上流にある *COL6A6* 遺伝子を *col6a6_a* 遺伝子、下流にある *COL6A6* 遺伝子を *col6a6_b* 遺伝子とした。分子系統解析の結果、両方の *COL6A6* 遺伝子でそれぞれ SGV 由

来の 50kb 以上に及ぶ大規模な分化アリルを持つことが確認された (Fig. 10l)。col6a6_b 遺伝子が持つアリルは *H. chilotes* と *H. sauvagei* が主に持つアリルタイプと *L. rufus* が持つアリルタイプに二分できる。対して、col6a6_a 遺伝子では *H. chilotes* と *L. rufus* の個体のほとんどがそれぞれ異なるアリルタイプをホモ接合で持つが、*H. sauvagei* ではそれぞれのアリルタイプをホモ接合で持つ個体とヘテロ接合で持つ個体が混在していた。これは *H. sauvagei* でアリル多様性を維持している可能性を示唆する。分化アリルの起源に関して、col6a6_a ではタンガニーカ湖シクリッドの適応放散より前にさかのぼり、col6a6_b ではタンガニーカ湖シクリッドの中で河川進出したシクリッドより前にさかのぼることが分かった。そのため、2つの COL6A6 遺伝子のアリル多様性は協調して維持されてきたのではなく、個々の遺伝子が持つアリルタイプの適応度に対して独立して自然選択が働いたと考えられる。免疫系に関与するムチン(Rose and Voynow 2006; Pérez-Sánchez et al. 2013; Yamashita and Melo 2018)をコードする適応候補遺伝子の中で mucin-2 (ENSONIG00000034479)遺伝子、mucin-5AC-like (ENSONIG00000015606)遺伝子は同じ遺伝子クラスターに属しており、両方の遺伝子ともが SGV 由来の分化アリルを持つことが確認された (Fig. 10i)。免疫系に関わる遺伝子では他にも transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 (*trpm4*) 遺伝子の 2 コピーで SGV 由来の分化アリルを持つことが分かった (Fig. 10h)。

2.4 考察

本研究では、主に岩場に生息する *H. chilotes*、*H. sauvagei* および岩場から砂地、植生帯まで幅広い環境で観察される *L. rufus* という異なる環境に生息する 3 種のヴィクトリア湖シクリッドに着目し、その種特有な進化史の推定と適応に寄与した候補遺伝子の同定に取り組んだ。さらに、適応候補遺伝子の中で、古くから維持されてきた多型 (SGV) に対して正の自

然選択が働いた結果得られた分化アレルを有する遺伝子を特定し、少なくとも 99 個の遺伝子がヴィクトリア湖シクリッドの種分化および生息環境への急速な適応に寄与していた可能性を示した。

2.4.1 生態学的背景に基づく種特有の集団史

ヴィクトリア湖シクリッドの祖先集団は約 20 万年～10 万年前のナイル水系とコンゴ水系シクリッドの交雑によって形成された(Meier, Marques, et al. 2017)。ヴィクトリア湖が約 14,600 年前に一度干上がっていることから、現在確認されるヴィクトリア湖シクリッドはその後の急激な水位の上昇に伴いヴィクトリア湖に侵入したもしくはヴィクトリア湖で生存したシクリッドが生息域を広げ環境に適応した結果生じたと考えられる(Johnson et al. 2000)。水位低下による生息域の分断化後の水位上昇は地理的に細分化された集団間の遺伝的交雑を引き起こすため、交雑集団は新しい分化アレルを獲得しやすくなる。このような新規アレルの獲得は新規の環境に対する適応を促進し、適応放散の引き金となりうる(Salzbürger 2018)。また、交雑した種からの新規アレルの獲得により種分化が促進された可能性がマラウイ湖シクリッド研究により示されている(Malinsky et al. 2018)。ヴィクトリア湖シクリッドは極めて遺伝的に近縁であり、種多様化後の種間交雑を経験している可能性が予想されたが、本研究で用いた 3 種では少なくとも適応放散後の introgression の明白な痕跡は確認されなかった (Fig. 2b, Fig. 3)。集団構造推定により、主に岩場に生息する *H. chilotes* では種内で集団構造を持つ可能性が示唆された (Fig. 3, Fig. 4)。*H. chilotes* では体色に関する地理的多様性が報告されている(Seehausen 1996)。岩場種の集団分化はミトコンドリアやマイクロサテライトを用いた解析でも確認されており、地理的距離に応じて遺伝的距離が大きくなることが示されている(Takeda et al. 2013)。*H. chilotes* と同様に岩場種である *H. sauvagei* においても *H. chilotes* と比較してその程度は小さいが、生息場所に応じた集団間での遺伝的分化が確認されており (Fig. 4)、また、この傾向は Takeda et al. (2013)でも報告され

ている。したがって、岩場種の *H. chilotes* と *H. sauvagei* は生息場所に応じたいくつかの遺伝的分集団を持つと考えられる。また、2つの岩場種が集団縮小を経験しているのに対し、*L. rufus* は集団サイズが大きいままであった (Fig. 6)。これらの結果は生息範囲の広さといった種の生態学的特徴を反映した結果であると考えられる。

ヴィクトリア湖シクリッドの種分化の時期の推定は過去の種間交雑による遺伝的分化の程度の低さからシクリッドの進化史を明らかにする上で困難な課題の一つである。本研究では *H. sauvagei* が他の2種と最初に分岐したことが示され、この結果は Samonte et al. (2007) や Takeda et al. (2013) と一致していた。その推定分岐年代は世代時間2年を仮定した場合、約15,000年前であり、Samonte et al. (2007) で推定された41,300年前に比べてより最近の年代を示していた。この不一致は仮定した世代時間や突然変異率の違い、あるいは本研究で用いた種が集団構造を持つことが原因として考えられる。集団構造とは地理的あるいは生態学的に異なる個体群内での同類交配によって異なる遺伝的基盤を獲得した個体群(分集団)が種内に含まれることを意味する。異なる遺伝的基盤を持つ複数個体を同一集団とみなすことで、集団内で算出される遺伝的多様度が実際より高くなるため、集団間比較においてその遺伝的分化の程度が小さくなり、分岐年代の過小評価につながる。本研究において、種内での集団構造は *H. chilotes* と *H. sauvagei* で確認されている。したがって、*H. sauvagei* はヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より前に分岐した可能性が高いと推察する。smc++による推定では、世代時間を2年と仮定すると、*H. chilotes* は約15,000年前から集団サイズの大きな減少を経験しており、msmc2を用いた推定でも同様の傾向が確認された。この集団サイズの減少が始まった時期は *H. chilotes* と *H. sauvagei* の分岐年代と近いことから、*H. chilotes* は水位の変化に伴う新たな生息域を獲得したことが、地理的に分断された少数個体から構成される創始者集団の形成につながり、局所適応が促進された可能性がある (Salzburger 2009)。したがって、2つの岩場種 *H. chilotes* および *H. sauvagei* のそれぞれの祖先集団は小集団からの適応を遂げた例であるかもしれない。本研究の集団史推定では、生息

環境におけるスペシャリスト（岩場種）が集団縮小を経験しているのに対し、ジェネラリストは集団サイズが大きいまま維持されているという明らかな適応過程の違いが示唆された。しかし、この解釈が他の種にも当てはまるかどうかは、今後の分析において、さらにスペシャリストとジェネラリストの種を加えたデータで確認する必要がある。

2.4.2 ヴィクトリア湖シクリッドの適応に寄与した可能性のある遺伝子

本研究では、計 679 個の適応候補遺伝子を同定した。そのうち議論すべき興味深い機能を持つ遺伝子について述べる。Cathepsin L (*ctsl*) 遺伝子は *H. chilotes* と *H. sauvagei* 間での HDR に位置し、*H. chilotes* は *H. sauvagei* に対して孵化 15 日目の顎での発現レベルが高いことが分かっている(Kobayashi et al. 2006)。Cathepsin L がコラーゲンやエラスチンなどの細胞外マトリックスタンパク質の分解に関与していることを考えると(Kirschke 1998; Mort 1998)、*H. chilotes* と *H. sauvagei* 間で観察される顎や唇の大きな形態差において重要な役割を持つことが期待される。特に、*H. chilotes* の発生段階における Cathepsin L の発現量の多さがその肥厚した唇の形成に関与している可能性がある。視覚関連遺伝子 LWS のヴィクトリア湖シクリッドにおけるアレル多様性はその種多様化の基盤となったとされる(Terai et al. 2002)。ヴィクトリア湖シクリッドにおいて多様なアレルが存在することで、種・集団は生息地の濁度に応じた光環境への適応が可能になり、雄の婚姻色の多様化が生じた(Terai et al. 2006)。本研究では、*L. rufus* が LWS 遺伝子と RH1 遺伝子において他の 2 種とは大きく異なる分化アレルを持つことが明らかになり(Fig. 13)、これはヴィクトリア湖シクリッドで報告されていない新規のアレルタイプだった(Terai et al. 2006; Miyagi et al. 2012; Terai et al. 2017)。*L. rufus* は雄の婚姻色が極めて赤いことが知られており、分化アレルが *L. rufus* の同種認知に重要な役割を担っている可能性がある。また、*H. sauvagei* と *L. rufus* 間の HDR 上にある TAAR 遺伝子も興味深い。これまで視覚に比べて嗅覚による種分化はあまり注目されていなかったが、近年の研究ではシクリッドの繁殖コミュニケーションに嗅覚が大きく寄与しているこ

とが示唆されている(Plenderleith et al. 2005; Cole and Stacey 2006)。さらに、Keller-Costa et al. (2014) はティラピアの雄が放出する尿中フェロモンが雌の繁殖を誘発することを明らかにしている。嗅覚受容体ファミリーの一つである TAAR にアレル多様性が存在することは、特定の化学物質を感知する能力の違いによる種分化や適応の可能性を示唆している。

本研究の主要な目的の一つである、古くから維持されてきた多型 (SGV) 由来の分化アレルを有する適応候補遺伝子の探索により、ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散前にアレル多様性を獲得した 99 遺伝子が提示された。ヴィクトリア湖シクリッドではこれまで 1 SNP レベルで他の湖とのアレルの共有が確認されていたが(Loh et al. 2013; Brawand et al. 2014)、本研究はより他の湖と共有される長いゲノム領域を網羅的に探索・同定した点において新規性がある。これまでのシクリッド研究において確認されていた同様の遺伝子としては、タンガニーカ湖に起源を持つ嗅覚に関わる V1R2 遺伝子(Nikaido et al. 2014)、ヴィクトリア湖周辺の河川に起源を持つ縦縞模様形成に関わる *asip2b* 遺伝子(Kratochwil et al. 2018; Urban et al. 2020)や視覚に関わる LWS 遺伝子(Meier, Marques, et al. 2017)が有名である。また、Takuno et al. (2019)はヴィクトリア湖の砂地に生息する近縁種 *H. pyrrhocephalus* と *H. sp.* ‘macula’間のゲノム比較解析を行ない、ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より前に変異を獲得した 16 HDRs 上に位置する遺伝子を特定した。このうち、intestinal mucin-like protein (*ENSMZEG00005001611*) 遺伝子と general transcription factor IIF subunit2 (*gtf2f2a*) 遺伝子の 2 つは、本研究においても SGV に由来する分化アレルが確認された。

本研究で発見された SGV 由来の分化アレルを持つ適応候補遺伝子はその多くが魚類における詳細な機能の解明が行なわれていないが、ヒトでは感覚システムや概日リズムの制御を含む生物の行動や免疫システム、神経発達といった幅広い機能に関わる可能性が示された。さらに、注目すべき結果は適応候補遺伝子の中に数 kb から数十 kb にわたる長い分化ハプロタイプを持つ遺伝子が含まれていたことである。例えば、2 つの *COL6A6* 遺伝子領域では約 50kb にわたって強い選択的一掃の痕跡が検出された。VI 型コラーゲンは主

要な細胞外マトリックスタンパク質の一つで、骨格筋や神経系の発達、皮膚統合性の維持や免疫システムなど幅広い機能を持つ(Cescon et al. 2015)。ゼブラフィッシュ研究では骨格筋の発達に *col6a6* 遺伝子が関与している可能性が示唆されているが、ゼブラフィッシュが異なる染色体上に2つの *col6a6* 遺伝子が別々に存在しているのに対し、シクリッドでは同じ染色体にタンデムに位置していることから、進化的な遺伝子獲得プロセスは異なり、その機能も一致しない可能性が考えられる(Ramanoudjame et al. 2015; Tonelotto et al. 2019)。*col6a6* 遺伝子に関し、広範な魚類を用いた分子系統解析を改めて実行した結果、魚類の進化過程において *col6a6* 遺伝子は獲得と欠失を繰り返し経験しており、シクリッドで確認される *col6a6_a* と *col6a6_b* はタラ目との分岐後に獲得したことが分かった (Fig. 14)。重要なことは、*col6a6_a* と *col6a6_b* の両方が SGV 由来の分化アリルを持っていることである。これは、*col6a6_a* と *col6a6_b* の分化アリルが、生物的・非生物的要因による環境の変化に応じて自然選択を受け、シクリッドの適応において繰り返し使われてきた可能性を示している。一方で、その機能については未解明であり、発現組織の探索等を通して各アリルの役割を調べる必要がある。

700 種以上のシクリッドがヴィクトリア湖シクリッドを構成しているが、本研究ではそのうち3種のみを用いた。これは全ゲノムレベルでの集団遺伝解析を行なうために一定以上の個体数が必要であったためである。用いる種や個体数が増えるほど、本研究で同定された 99 個以上に SGV 由来の分化アリルを持つ遺伝子の検出数は増えると予測される。例えば、縦縞模様形成遺伝子の *asip2b* 遺伝子では本研究において SGV 由来の分化アリルの存在が確認されなかったが、Urban et al. (2021)は 22 種 36 個体の LVRS に属するシクリッドの全ゲノム解析に取り組み、ヴィクトリア湖シクリッドでの分化アリルの起源がその適応放散の時期より古いことを確かめた。また、本研究では、 d_{XY} の値が低い HDR 上の遺伝子の起源については、蓄積された情報量の多い SNP の数が十分でないため、信頼性の高い系統樹の解明が困難であることから、検討しなかった。これらの遺伝子の多くは、ヴィクトリ

ア湖シクリッドの適応放散後に新たに生じた突然変異に由来する分化アリルを持つと考えられるが、適応放散前に起源を持つ少数の変異のみに対して自然選択が働いた場合、これらの遺伝子においても、多くが SGV 由来の分化アリルを持つ可能性があると考えられる。また、本研究では分化アリルの起源の推定に東アフリカンシクリッド9種のアセンブリ配列を用いたが、特にヴィクトリア湖シクリッドではその分岐年代が最近であるために種ごとにアリルが固定していないことが想定される。また、ヴィクトリア湖シクリッドである *H. chilotes*、*H. sauvagei*、*L. rufus* では各種内の個体間でのアリル多様性が確認されている。そのため、実際にはマラウィ湖やタンガニーカ湖とアリルを共有している場合であっても、アセンブリ配列の構築に用いた個体が有するアリルタイプの違いによって SGV 由来の分化アリルを持つ遺伝子が見逃されている可能性がある。さらに、種内でのアリル頻度の偏りが確認されなかったゲノム領域は大規模な分化アリルが存在している場合でも F_{ST} が小さく推定されるため、HDR として検出されていない可能性が高い。加えて、 d_{XY} の値が低い HDR 上の遺伝子の発現パターンが SGV 由来の分化アリルを持つ long non-coding RNA をはじめとするシスまたはトランス領域によって制御されている可能性もある。したがって、本研究で見つかった起源の古いアリル多様性を持つ遺伝子はヴィクトリア湖シクリッドの急速な適応を促進した遺伝的要因のごく一部であり、実際にはさらに多くの起源の古いアリル多様性を持つ遺伝子により適応が駆動されたと考えられる。このような大規模な遺伝的に大きく分化した領域において維持されていたアリル多様性 (SGV) を基盤として、環境の変化に応じて種・集団ごとに適したアリルが選択され、全体的にモザイクのような種ごとに異なるゲノムパターンを構成していると考えられる (Salzburger 2018)。本研究で得られた知見は、ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散に関わる遺伝的基盤の複雑さを改めて強調するとともに、今後のシクリッド研究の礎となるといえる。

2.4.3 *L. rufus* の適応に寄与する遺伝的基盤

Lithochromis rufus は種内で集団構造を持つ他の2つの岩場種と比較して種内の遺伝的多様性の程度が大きかった。その理由の一つとして *L. rufus* では生息場所ごとに小集団が存在しており、その集団間で個体の移入と流出が起こる metapopulation が形成されている可能性がある。metapopulation では遺伝的に離れた集団間での遺伝子流動が起こるため、遺伝的な集団サイズが大きく維持されると考えられる。加えて、*L. rufus* はヘテロ接合度が高いことが示されており、未知の集団や種との交雑を経験している可能性もある。実際、先行研究では *L. rufus* はヴィクトリア湖の沖合性の砂地に生息する種と遺伝的に近いことが示されている (Takeda et al. 2013)。 *L. rufus* では、他の2種に比べて SNP の数が多い HDR が多く、位置する遺伝子の多くが SGV に由来する分化アレルを持っていた (Fig. 8)。シクリッドの適応放散に関して、これまで種間での introgression の重要性が示唆されており (Meier, Marques, et al. 2017; Malinsky et al. 2018; Svardal et al. 2019)、 *L. rufus* もヴィクトリア湖の沖合性の砂地種やヴィクトリア湖周辺の河川種から大規模に分化したアレルを獲得した可能性が考えられる。 *L. rufus* の適応過程をより詳細に明らかにするためには、 *L. rufus* の適応に際して遺伝的資源を提供した未知の集団を調査・特定する必要がある。また、数十個体のゲノムデータを用いて、モデルベースの手法で集団史を推定することも必要である。 *L. rufus* の渾然とした集団史はヴィクトリア湖シクリッドの進化を象徴するものであり、その複雑なゲノム基盤の解明がシクリッドひいては生物の種多様性創出・維持機構の理解の一端を担うと考える。

第3章 ヴィクトリア湖シクリッド *Haplochromis chilotes* の集団遺伝解析

3.1 背景

種分化とは地理的あるいは生態的障壁の構築に伴い区分された集団が集団の遺伝的分化と生殖的隔離の強化を経て種として分岐する過程である(Stankowski and Ravinet 2021)。東アフリカンシクリッドは様々な種分化段階を表す進化のモデル生物であり、種・集団間比較による適応過程の解明が進められてきた。タンガニーカ湖シクリッドである *Astatotilapia burtoni* はタンガニーカ湖広域に生息地が点在しており、それぞれの分集団から河川へ進出したことが推定されている(Theis et al. 2014; Pauquet et al. 2018)。さらに、湖個体と河川個体間には明確な形態的差異が確認されており、湖から河川への適応過程が注目されている(Theis et al. 2014)。Weber et al. (2021)は *A. burtoni* が一種で種分化段階を包括的に調べられる種であることに着目し、全ゲノム解析と交配実験により、ゲノム分化の程度が大きくなるにつれ生殖的隔離が強化されること、湖と河川間の遺伝的分化が創始者効果に付随した遺伝的浮動と分化選択の両方で促進されることを示した。ヴィクトリア湖シクリッドは種分化してからの期間が短いため、種間比較が種分化の初期段階の遺伝的機構の解明に相当する(Salzburger 2018)。ヴィクトリア湖の広範な岩場に生息する近縁な2種 *Pundamilia pundamilia* と *P. nyererei* はヴィクトリア湖シクリッドの中でも適応過程の解明が最も進んでいる種である。この2種はオスの婚姻色が異なることから視覚を介してそれぞれ同種を認知していると考えられているが、濁度の大きい生息環境では種間で交雑することが確認されている(Meier et al. 2019)。したがって、2種は視覚による交配前隔離の段階にあるといえる。

このように、ヴィクトリア湖シクリッドでは種間比較による種分化過程の解明が進められてきたが、同一種内の分集団間の遺伝的分化、すなわち種分化の萌芽段階を調べた

研究はまだ報告されていない。ヴィクトリア湖シクリッドでは形態において地理的多様性を示す種が報告されており、種分化の萌芽段階と考えられる集団分化が進んでいると推察される。ヴィクトリア湖の広域分布種である *Haplochromis chilotes* は肥厚した唇が特徴的な種である一方で、生息場所に応じた形態の多様性が観察されている (Boulenger 1911; Seehausen 1996)。例えば、メスの体色に関して、Chamagati Island に生息する個体は深い黄色を示す傾向にあり、Miandere Island に生息する個体では橙色、さらに Senga Point に生息する個体では灰色を帯びている個体が集団の多くを占めることが報告されている (Seehausen 1996)。また、ヴィクトリア湖のムワンザ湾に生息する個体はその外に生息する個体に比べて有意に体長が小さく、これは他種に比べても顕著な差である (Fig. 15)。加えて、ヴィクトリア湖には *H. sp.* ‘short head chilotes’ と呼ばれる未記載種が報告されており、本種は *H. chilotes* と比較してその程度は小さいが肥厚した唇と短い頭長が特徴的である (Seehausen 1996)。*H. chilotes* と *H. sp.* ‘short head chilotes’ は肥厚した唇という共有した形態学的特徴を持つにもかかわらず、*H. chilotes* と *H. sp.* ‘short head chilotes’ の系統関係はまだ明らかになっていない。*H. chilotes* と *H. sp.* ‘short head chilotes’ の生息範囲は重なっている (Seehausen 1996) が、*H. sp.* ‘short head chilotes’ の報告数は極めて少なく、*H. chilotes* の分集団の一つである可能性や *H. chilotes* と他種の交雑の結果生じた個体である可能性が考えられる。したがって、唇の厚いヴィクトリア湖シクリッドグループの多様化を考える上で、*H. sp.* ‘short head chilotes’ がどの種と遺伝的に近いのか、いつ種分岐したのかを調べる必要がある。

本研究では、形態学的多様性を示す *H. chilotes* の分集団ごとの適応過程の解明を通してゲノムから表現型までの進化の歴史を理解することを目的として、集団遺伝解析を行なった。まず、唇の肥厚したシクリッド、*H. chilotes* と *H. sp.* ‘short head chilotes’ の遺伝構造を評価し、その系統関係を明らかにした。次に、*H. chilotes* の分集団形成に至った進化過程を明らかにするために各分集団の集団史を推定した。最後に、分集団間のゲノム比較により、分集団ごとの適応候補遺伝子の網羅的探索を行なった。本研究はこれまでの種間レベルの

比較ではなく、さらに近縁な分集団間の比較を行なうため、より生息環境への適応に寄与し、表現型の違いを引き起こす遺伝的要因の特定が期待できる。

3.2 材料・方法

3.2.1 対象種およびそのサンプリング

本研究では、ヴィクトリア湖のムワンザ湾周辺から採取された *Haplochromis chilotes* 23 個体、*H. sp.* ‘short head chilotes’ 4 個体、*H. sauvagei* 11 個体を用いた (Fig. 16; Table 4)。*H. chilotes* はムワンザ湾内の Kilimo Island ($n = 6$)、Nyegezi ($n = 3$)、Nyameruguyu Island ($n = 1$)、ムワンザ湾外の Chamagati Island ($n = 3$)、Juma Island ($n = 3$)、Makobe Island ($n = 5$)、Mabibi Island ($n = 1$)で採取し、さらに McGee et al. (2020)で配列決定されたサンプリング地点不明の 1 個体を用いた。このうち 6 個体は本論文の第 2 章(Nakamura et al. 2021)ですでに配列決定されている。*H. sp.* ‘short head chilotes’はムワンザ湾内の Nyegezi ($n = 1$)、ムワンザ湾外の Chamagati Island ($n = 3$)から採取された。*H. sauvagei* は *H. chilotes* と同様にヴィクトリア湖の広域分布種であるが、ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散前に種分岐した祖先的な種である (Samonte et al. 2007; Takeda et al. 2013)。*H. sauvagei* はムワンザ湾内の Kilimo Island ($n = 2$)、Nyegezi ($n = 3$)、ムワンザ湾外の Bwiru Peninsula ($n = 1$)、Chamagati Island ($n = 3$)から採取した計 10 個体および McGee et al. (2020)で配列決定されたサンプリング地点不明の 1 個体を用いた。このうち 6 個体は本論文の第 2 章(Nakamura et al. 2021)で配列決定された個体である。以上の個体の採取や種同定は所属研究室の研究者によって行なわれた。

3.2.2 多型データの入手

新規に配列決定した 24 個体の DNA は DNeasy Blood and Tissue Kit のプロトコルに従い

finclip または筋肉から抽出した。抽出された gDNA の配列決定に関しては国立遺伝学研究所またはマクロジェンに外部委託し、Illumina Hiseq 2500 または HiseqX による全ゲノムシーケンシングによりペアエンドショートリードデータを入手した。公開済みのショートリードデータは NCBI データベース (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>) から入手した。

まず、個体ごとのショートリードに対して fastp(Chen et al. 2018)によるクオリティコントロールを行ない、質の悪いリードやアダプター配列を除去した。続いて、参照配列に対し、bwa-mem (version 0.7.17-r1188) (Li 2013)を用いて個体ごとにショートリードのマッピングを行なった。参照配列には第 2 章と同様に繰り返し配列を RepeatMasker (Churakov et al. 2005)によりマスクした *H. chilotes* の *de novo* アセンブリゲノム (N50 = 1,540,223 bp) を用いた。マッピングの結果得られた bam 形式の配列データに対し、samtools (version 1.7) (Li et al. 2009)のオプション“-f 2 -F 2052”を用いてゲノム上の複数の場所にマッピングされたリードを取り除き、forward read と reverse read が同じ位置に適切にマッピングされたリードのみを抽出した。同時にオプション“-q 30”を用いて精度が低いリードを除外した。samtools のオプション“-depth”を用いてゲノム領域あたりマップされたリードの数、mapping coverage を個体ごとに計算した (Fig. 17)。Juma Island で採取された 1 個体 (HC37) はショートリード数が他の個体に比べて極めて少なく、coverage も小さかったため、以降の解析からは除外した。次に、参照配列に対する変異抽出を bcftools(version 1.8) (Li 2011)を用いて行なった。繰り返し配列がある領域にマップされたサイトは変異抽出後の depth が大きくなることが予想されるため、vcflib(Garrison et al. 2021)のツールである vcfilter を用いて minimum depth = 10、maximum depth = 上位 75%の depth × 2.0 を満たす SNP を抽出し、さらに mapping quality が 30 以上の SNP を vcftools(Danecek et al. 2011)により抽出した。個体ごとの SNP のフィルタリング後、全個体の変異データを bcftools(Li et al. 2009)を用いて結合し、vcftools (Danecek et al. 2011)により、オプション“-max-missing 0.9”で欠損データが全個体中 10%以上で確認される変異サイトを全て取り除き、“-remove-indels” および“-max-alleles 2 --min-alleles 2”で

biallelic SNP のみを抽出した。最終的に 7,718,484 biallelic SNP を入手し、その後の解析に用いた。

3.2.3 *H. chilotes* および *H. sp.* ‘short head chilotes’の集団構造解析

集団構造推定および集団サイズの変動パターンの推定には自然選択の影響を受けていない中立な遺伝子座を用いる必要がある。得られた多型データに対し、vcftools(Danecek et al. 2011)の”--hwe”でハーディー・ワインベルグ平衡 (HWE) から有意に逸脱している SNP(p 値 <0.000001)を取り除いた。全個体中の変異アレルの割合 (minor allele frequency, 以降 maf とする) が 5%より多い変異サイトを vcftools で抽出し、連鎖不平衡の関係となっているサイトを plink(Purcell et al. 2007)で除き、最終的に入手した 96,148 biallelic SNP を解析に用いた。

H. chilotes および *H. sp.* ‘short head chilotes’の遺伝構造を評価するため、maf1%または 5%条件下で得られた中立多型データに対して、主成分分析(PCA)を行なった。PCA では個体ごとの SNP のアレルタイプを変数として、個体間の遺伝的な違いを正規分布を仮定してそのばらつきが最大になる要素に変換することで個体を遺伝的にクラスタリングする。また、ADMIXTURE 解析を実行した(Alexander et al. 2009)。全個体が $K=1\sim 6$ 個の遺伝的要素で構成されることを仮定し、それぞれで error rate を算出した。さらに、3種の系統関係を明らかにするために、同じ中立多型データをもとに分子系統推定を行なった。まず、vcf2phylip(Ortiz 2019)を用いて vcf 形式の中立多型データを phylip 形式に変換した。invariant sites は raxml_ascbias (https://github.com/btmartin721/raxml_ascbias) を用いて除去した。その結果、86,354 SNPs を入手した。さらに、ModelTest-NG(Flouri et al. 2015; Darriba et al. 2020)を用いて最適な塩基置換モデルを推定した。最後に、塩基置換モデル TVM+G4 を ModelTest-NG による推定結果をもとに選択し、RAxML-NG(Kozlov et al. 2019)を用いてブートストラップ 500 回で分子系統推定を行なった。

3.2.4 広範なヴィクトリア湖シクリッドと比較した *H. chilotes* および *H. sp. 'short head chilotes'* の進化系統解析

仮に *H. sp. 'short head chilotes'* が *H. chilotes* と他種の種間交雑により *H. chilotes* から派生した種であれば、その交雑相手を特定する必要がある。そのため、700 種以上から構成されるヴィクトリア湖シクリッドの中で *H. chilotes* および *H. sp. 'short head chilotes'* と特に遺伝的に近い関係にある種の探索を行なった。最近、McGee et al. (2020) にて計 92 種のヴィクトリア湖シクリッドの全ゲノム配列データが公開された。本解析ではそのうち *H. chilotes* と *H. savagei* を除いた 78 種を解析に加えた (Table 4)。ショートリードを入手した後、材料と方法の「ゲノムデータの入手」で述べた方法と同様に、fastp(Chen et al. 2018)によるクオリティコントロール後、bwa-mem(Li 2013)によるマッピング、そしてbcftools(Li 2011)による変異抽出を行ない、最後に個体ごとに SNP に対するフィルタリングを行なった。全個体の変異データをbcftools(Li et al. 2009)を用いて結合し、vcftools(Danecek et al. 2011)により、オプション"--max-missing 1"で欠損データが見られる変異サイトを全て取り除き、"--remove-indels" および"--max-alleles 2 --min-alleles 2"でbiallelic SNPのみを抽出した。HWEに基づいたフィルタリングを行ない、 $p < 0.0000001$ で有意に HWE から逸脱する SNP は取り除いた。そして、maf が 1% または 5% 以上の変異サイトをvcftools(Danecek et al. 2011)でそれぞれ抽出し、連鎖不平衡の関係となっているサイトをplink(Purcell et al. 2007)で除き、最終的にmaf 1% の条件下で 31,713 SNPs、maf 5% の条件下で 9,844 SNPs を入手した。次に、vcf2phylip(Ortiz 2019)を用いてvcf形式のファイルをphylip形式のファイルに変換した。続いて、invariant sitesをraxml_ascbias(https://github.com/btmartin721/raxml_ascbias)を用いて除去した。その結果、maf 1% の条件下で 18,198 SNPs、maf 5% の条件下で 9,262 SNPs からなる多型データを得た。さらに、ModelTest-NG(Flouri et al. 2015; Darriba et al. 2020)を用いてそれぞれのデータセットで最適な塩基置換モデルを推定した。最後に、maf 1% の条件のデータセットでは塩基置換モデル GTR+G4、maf 5% の条件のデータセットでは塩基置換モデル TVM+G4 を

ModelTest-NGによる推定結果をもとに選択し、RAxML-NG(Kozlov et al. 2019)を用いてブートストラップ 500 回で分子系統推定を行なった。加えて、*H. chilotes* および *H. sp. 'short head chilotes'* に遺伝的に近縁であると示唆された 16 種とアウトグループである *H. sauvagei* を含めた 19 種 53 個体に焦点を絞り上記と同様の方法で PCA を行なった。このとき、maf が 2% 以上の条件を満たす 74,669 SNPs から構成されるデータセットを用いた。

種・集団間でのアレル共有の程度を調べるため、Patterson's *D* (Patterson et al. 2012) を Dsuite (Malinsky et al. 2021) を用いて算出した。ABBA-BABA テストと呼ばれる本手法ではアウトグループを含めた 4 集団(((P1, P2), P3), O) を仮定し、集団分岐の順序と一致しない SNPs に注目する (Patterson et al. 2012)。アウトグループが持つアレルタイプを A、変異アレルタイプを B とすると、(((P1:A, P2:B), P3:B), O:A) である多型サイトと(((P1:B, P2:A), P3:B), O:A) である多型サイトは集団分岐の順序と一致しない。この 2 種類の多型サイトの数に大きな差が確認される場合は集団 P2 と集団 P3 あるいは集団 P1 と集団 P3 間の遺伝子流動が示唆される。Patterson's *D* はこの 2 種類の多型サイトの数の差を 2 種類の多型サイト数の合計で割ることで得られ、集団間で遺伝子流動を経験したかどうかを調べることができる。本研究では、コンゴ水系シクリッド *A. stappersii* 6 個体またはタンガニーカ湖シクリッド *H. burtoni* 3 個体をアウトグループ O として選択した。アウトグループとして用いた 2 種に関して、Weber et al. (2021) で配列決定された全ゲノム配列データを NCBI データベースから入手し、前述の解析手順に沿って多型データを得た。集団 P3 には *H. chilotes* と *H. sp. 'short head chilotes'* を除くヴィクトリア湖シクリッドを種ごとに用いた。集団 P2 と集団 P1 には *H. chilotes* および Nyegezi 個体を含む *H. sp. 'short head chilotes'* の各分集団を分子系統解析によって示唆された系統関係に従って全ての組み合わせで割り当てた。データセットは以下の手順で作成された。本解析に用いる 83 種 147 個体の変異データを bcftools (Li et al. 2009) を用いて結合し、vcftools (Danecek et al. 2011) により、オプション "--max-missing 0.97" で欠損データが全個体の 3% 以上で見られる変異サイトを全て取り除き、"--remove-indels" および "--

-max-alleles 2 --min-alleles 2”で 78,792,644 biallelic SNPs を抽出した。データセットに対し、Dsuite(Malinsky et al. 2021)のオプション”Dinvestigate”を window_size = 100 SNPs、step_size = 50 SNPs で実行した。

3.2.5 *H. chilotes* と *H. sp.* ‘short head chilotes’の集団史推定

集団構造推定および系統解析により示唆された *H. chilotes* の分集団および *H. sp.* ‘short head chilotes’それぞれに対し、vcftools(Danecek et al. 2011)を用いてゲノムワイド多型データから塩基多様度(π)を算出した。さらに、各集団間で集団分化の指標である F_{ST} (Weir and Cockerham 1984)の加重平均を求めた。また、比較対象として *H. sauvagei* のムワンザ湾外個体とムワンザ湾内個体についても F_{ST} を算出した。さらに、最近の種間交雑の有無を確認するために、vcftools を用いた近交係数の計算により、個体ごとにヘテロ接合度を評価した。

smc++(Terhorst et al. 2017)を用いて、*H. chilotes* の各分集団、*H. sp.* ‘short head chilotes’ および *H. sauvagei* に対して、集団サイズの変動パターンの推定と各集団間の分岐年代の推定をブートストラップ 100 回で行なった。入力データは vcf2smc プログラムにより多型データから scaffold ごとに作成され、さらにブートストラップ解析のために 500kb からなるデータに細分した。突然変異率は Malinsky et al. (2018)で報告された 3.5×10^{-9} mutations (サイト・世代あたり) を仮定した。

3.2.6 *H. chilotes* 分集団間で自然選択の影響を受けている領域の探索

H. chilotes の各集団間で遺伝的に大きく分化している領域を特定するために、集団分化の指標である F_{ST} (Weir and Cockerham 1984)を window_size = 10kb、step_size = 2kb のゲノム領域ごとに vcftools(Danecek et al. 2011)を用いて算出した。このとき、PCA の結果を受けて *H. chilotes* のムワンザ湾外個体 (Chamagati-Juma 集団、Makobe 集団および Mabibi Island 個体) とムワンザ湾内集団間での計算も行なった。それぞれの F_{ST} の分布において上位 0.5%の値

を示すゲノム領域を集団間で遺伝的に大きく分化している領域 (HDR、Highly Differentiated Region) とみなした。加えて、3 集団を対象とした Population Branch Statistic (PBS)(Yi et al. 2010)を計算した。PBS では2つの遺伝的に近縁な集団 A、集団 B とアウトグループである集団 O を仮定する。各集団のペア間で計算されたゲノム領域の F_{ST} から遺伝的な距離 (t_{AB} 、 t_{AO} 、 t_{BO}) を推定し、さらに、 $(t_{AB} + t_{AO} - t_{BO}) / 2$ を求めることで集団 A の PBS が算出される。本解析では、アウトグループに *H. sauvagei* を選択し、集団 A および集団 B には *H. chilotes* の各分集団を全ての組み合わせで割り当てた。まず、scikit-allel(Miles et al. 2020)を用いて window_size = 10kb、step_size = 2kb のゲノム領域ごとに Hudson's F_{ST} (Hudson et al. 1992)を計算した。次に、scikit-allel のソースコードを元に作成したスクリプトを用いて Hudson's F_{ST} から PBS を算出し、組み合わせごとに正規化した。PBS の値が大きいほど自然選択を受けている可能性が高くなるため、本解析では上位 1 % の正規化 PBS 値を示す HDR を探索し、自然選択が働いている分集団を特定した。さらに、自然選択が働いている集団の組み合わせから適応候補遺伝子を以下の 13 種類に分類した。(1)ムワンザ湾内集団にのみ正の自然選択、(2)Makobe 集団にのみ正の自然選択、(3)Chamagati-Juma 集団にのみ正の自然選択、(4)ムワンザ湾内集団と Makobe 集団で同じアレルに正の自然選択、(5)ムワンザ湾内集団と Chamagati-Juma 集団で同じアレルに正の自然選択、(6)Makobe 集団と Chamagati-Juma 集団で同じアレルに正の自然選択、(7)ムワンザ湾内集団と Makobe 集団間で異なるアレルにそれぞれ正の自然選択、(8)ムワンザ湾内集団と Chamagati-Juma 集団間で異なるアレルにそれぞれ正の自然選択、(9)Makobe 集団と Chamagati-Juma 集団間で異なるアレルにそれぞれ正の自然選択が働いた遺伝子とみなした。遺伝子領域が PBS の算出を行なった複数のゲノム領域にわたる場合、PBS 値を算出したゲノム領域の位置によって自然選択が働いている分集団が異なる場合が確認された。そこで、例えば、ある遺伝子が位置するゲノム領域において、一部の領域でムワンザ湾内集団での正の自然選択が検出され、別の領域で Makobe 集団での正の自然選択が検出された遺伝子は(7)に分類し、他の分集団の組み合わせの場合も同様に処理し

た。加えて、(10)ムワンザ湾内集団と Makobe 集団で同じアレル A に正の自然選択および Chamagati-Juma 集団でアレル B に正の自然選択、(11)ムワンザ湾内集団と Chamagati-Juma 集団で同じアレル A に正の自然選択および Makobe 集団でアレル B に正の自然選択、(12)Makobe 集団と Chamagati-Juma 集団で同じアレル A に正の自然選択およびムワンザ湾内集団でアレル B に正の自然選択、(13)3つの分集団ごとに異なるアレルに正の自然選択が働いた遺伝子に分類した。

3.2.7 適応候補遺伝子の探索

HDR 上にどのような遺伝子が含まれているか調べるために、Ensembl(Cunningham et al. 2019) で HDR をクエリとした blastn 検索を行なった。このとき、東アフリカの河川に生息するシクリッド *Oreochromis niloticus* (O_niloticus_UMD_NMBU) とマラウイ湖シクリッド *Maylandia zebra* (M_zebra_UMD2a) のアセンブリ配列において同定された遺伝子を検索先のデータベースとして指定した。次に、取得した候補遺伝子のアミノ酸配列をクエリとして NCBI データベース(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)で tblastn 検索し、遺伝子のアミノ酸配列、UTR 領域の塩基配列を改めて取得した。続いて、参照配列に対し、取得した配列をそれぞれ tblastn 検索あるいは blastn 検索することで候補遺伝子のゲノム上の位置を特定した。最後に、参照配列から候補遺伝子のコーディング領域の配列を単離し、EMBL-EBI (<https://www.ebi.ac.uk>)の GeneWise(Birney et al. 2004)によりエキソン・イントロン構造を予測し、得られた遺伝子配列の質を踏まえて候補遺伝子を同定した。

同定した適応候補遺伝子にどのような機能を持つ遺伝子が多いか調べるために、WebGestalt(Liao et al. 2019)による GO enrichment 解析を行なった。解析対象としたのは *H. chilotes* の Chamagati-Juma 集団、Makobe 集団、ムワンザ湾内集団それぞれで自然選択を受けていると推定された遺伝子セット、および複数の分集団で自然選択を受けていると推定された遺伝子セットである。このとき、functional database として”gene

ontology”、”Disease”、”Phenotype”カテゴリーを選択し、ヒトの”protein-coding data”を元に適応候補遺伝子の機能を調べた。

3.2.8 種ごとの形態のばらつきの評価

ムワンザ湾内個体とムワンザ湾外個体間での形態的なばらつきの評価には所属研究室による現地調査で捕獲・計測した個体のデータを用いた。*H. chilotes*、*H. sp.* ‘short head chilotes’、*H. sauvagei* および豊富な形態計測データがある *Mbipia mbipi*、*Pundamilia nyererei*、*P. pundamilia* の性成熟したオス個体において、ムワンザ湾を境としてその体長において有意に差があるかどうかを Welch’s *t* 検定により調べた。

3.3 結果

3.3.1 *H. chilotes* と *H. sp.* ‘short head chilotes’の遺伝構造

唇が厚いシクリッドである *H. chilotes*、*H. sp.* ‘short head chilotes’、および *H. sauvagei* の3種計37個体からなる中立多型データを用いて集団構造推定を行なった。主成分分析 (PCA) の結果、PC1 (21.088%) でアウトグループとして用いた *H. sauvagei* と唇が厚いシクリッド2種が遺伝的に分かれた (Fig. 18a)。これは Samonte et al. (2007)や Takeda et al. (2013)の先行研究や本論文の第2章の結果と一致する。PC2 (10.087%) では唇が厚いシクリッド2種のうち *H. chilotes* のムワンザ湾内個体が遺伝的に区別された (Fig. 18a)。さらに、PC3 (7.305%) では *H. chilotes* のムワンザ湾外の Chamagati Island または近傍の Juma Island に生息する個体が Makobe Island に生息する個体と異なる遺伝的クラスターを形成した (Fig. 18)。本研究で用いた個体のうち、ムワンザ湾から最も離れた Mabibi Island でサンプリングされた *H. chilotes* 個体は PC1 でわずかに他のムワンザ湾外個体と異なる遺伝構造を示したが、PC2、

PC3 では Chamagati Island または近傍の Juma Island に生息する個体が形成する遺伝的クラスターに属した (Fig. 18)。また、McGee et al. (2020)で決定された 1 個体は確認された全ての主成分において Makobe Island に生息する個体が形成する遺伝的クラスターに属した。したがって、*H. chilotes* は基本的にムワンザ湾内個体とムワンザ湾外個体に遺伝的に分けられ、さらに湾外でも生息場所ごとに分集団を形成していることが示唆された。これらの結果から、以後 *H. chilotes* に関してムワンザ湾内集団、Chamagati-Juma 集団、Makobe 集団を遺伝的に異なる分集団として表記する。また、*H. sp. 'short head chilotes'* は PC1、PC2 では *H. chilotes* の湾外個体と遺伝的に近いことが示唆されたが、PC3 では *H. chilotes* と異なる遺伝的クラスターを形成した (Fig. 18)。また、近交係数 (F) の値も最近の種間交雑の可能性を意味する負の値をどの個体も示さなかったことから、*H. sp. 'short head chilotes'* が *H. chilotes* と他種の最近の交雑により生じた個体である可能性は低い (Fig. 19)。したがって、*H. sp. 'short head chilotes'* は *H. chilotes* とは遺伝的に区別できる種または集団であると考えられる。ADMIXTURE 解析でも同様の結果が得られた。 $K=2$ のとき、*H. sauvagei* に対し唇が厚いシクリッド 2 種は異なる遺伝的要素を持つことが示され、 $K=3$ でムワンザ湾内集団特有の遺伝的要素が確認された (Fig. 20)。 $K=4$ では、ムワンザ湾外の 2 つの分集団が異なる遺伝的要素で構成され、このとき *H. sp. 'short head chilotes'* は Chamagati-Juma 集団と似た遺伝構造を持つことが示された。ADMIXTURE 解析における error rate は $K=2$ のとき最も低い値を示した。

分子系統推定の結果、*H. sp. 'short head chilotes'* は *H. chilotes* に比べ、ヴィクトリア湖シクリッドの中で古くに種分化した *H. sauvagei* に遺伝的に近いことが分かった (Fig. 21)。そのため、*H. sp. 'short head chilotes'* は *H. chilotes* の直接の祖先系統である可能性がある。さらに、*H. chilotes* に関しては、ムワンザ湾外の Mabibi Island に生息する個体がまず分岐し、次いで Chamagati-Juma 集団が分岐し、最後に Makobe 集団とムワンザ湾内集団が分岐したことが推定された (Fig. 21)。したがって、*H. chilotes* はムワンザ湾外の岩場各所で分集団を

形成し、その後ムワンザ湾内に侵入したと考えられる。一方で、本解析では、*H. sp. 'short head chilotes'* 4 個体は単系統にならず、ムワンザ湾内の Nyegezi から採取された個体がムワンザ湾外の Chamagati Island から採取した 3 個体に比べ、より祖先的であるという結果が示唆された。よって、*H. sp. 'short head chilotes'* として同定された 4 個体の中に *H. sp. 'short head chilotes'* と似た形態学的特徴を示す別種が含まれている可能性を考慮する必要がある。

3.3.2 ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散における唇の厚いシクリッドの進化過程

ヴィクトリア湖シクリッドではその祖先系統が系統間の交雑によって形成されたこと (Meier, Marques, et al. 2017) や、短期間に急激な種分化を経験したことから、遺伝子座から推定される系統関係が種の系統関係と矛盾する incomplete lineage sorting (ILS) がゲノム全体に占める割合が大きいため (Brawand et al. 2014)、ヴィクトリア湖シクリッドの系統関係の解明は極めて困難な課題である。ヴィクトリア湖シクリッドの系統関係をゲノムレベルで推定した先行研究はあるが (Wagner et al. 2013; McGee et al. 2020)、*H. chilotes* や *H. sp. 'short head chilotes'* と進化的に関わりのある種は特定されていない。本解析では、*H. chilotes* の分集団または *H. sp. 'short head chilotes'* との間に遺伝子流動が確認される種を調べることで、これら 2 種が他種との交雑によりその遺伝的分化が促進された可能性を検証した。まず、RAxML-NG (Kozlov et al. 2019) による分子系統解析により、*H. chilotes* や *H. sp. 'short head chilotes'* を含む広範なヴィクトリア湖シクリッド 81 種をいくつかのゲノムレベルの系統グループに分類した。少なくとも 2 ハプロタイプが共有する変異アレルで構成される多型データ (maf 1% 以上) による解析の結果、ヴィクトリア湖シクリッドは古くに分岐したアウトグループである *H. sauvagei* を含む 9 つの遺伝的クレードに分かれた (Fig. 22a)。本結果は魚食性シクリッドや卵稚魚食性シクリッドがそれぞれ clade C、clade D3 と名付けた同じ遺伝的クレードにまとめられ、McGee et al. (2020) で示された結果と類似していた。*H. chilotes* および *H. sp. 'short head chilotes'* はヴィクトリア湖シクリッドの属の中で *Neochromis*、

Paralabidochromis が多くを占めるヴィクトリア湖の岩場種からなる同じ遺伝的クレード (clade B) に属していることが示唆された (Fig. 22a)。形態学上、*H. chilotes* および *H. sp.* ‘short head chilotes’は *Paralabidochromis* グループに分類されており、今回の結果は形態学に基づく分類体系を支持する。少なくとも 14 ハプロタイプが共有する変異アリルで構成される多型データ (maf5%以上) による解析でも同様の結果が得られた (Fig. 22b)。*H. sp.* ‘short head chilotes’はこれらの解析で生息場所によって種分岐のタイミングに違いが見られた (Fig. 22)。Chamagati Island に生息する *H. sp.* ‘short head chilotes’は *H. chilotes* が分岐する一つ内側で遺伝的クラスターを形成したが、Nyegezi から採取された *H. sp.* ‘short head chilotes’は同種と考えられる Chamagati Island に生息する *H. sp.* ‘short head chilotes’に対し、他の *Paralabidochromis* 種とより遺伝的に近い可能性が示された (Fig. 22)。ADMIXTURE 解析においても *H. chilotes* および *H. sp.* ‘short head chilotes’を含む遺伝的クレード (clade B) に属する種は *H. chilotes* を構成する遺伝的要素を他種と比較し多く共有していた (Fig. 23)。さらに、*H. sp.* ‘short head chilotes’はこれらの種と比較しても *H. chilotes* を構成する遺伝的要素を多く有していた。

Dsuite(Malinsky et al. 2021)による ABBA-BABA テストの結果、*H. chromogynos* (Pchr) および *H. fisheri* (Hfis)が Nyegezi から採取された *H. sp.* ‘short head chilotes’と他の分集団に比べてアリルを多く共有していることが示唆された (Fig. 24b, c)。これは *H. chromogynos* や *H. fisheri* が Nyegezi から採取された *H. sp.* ‘short head chilotes’と遺伝的に近い関係にある可能性を示す。一方で、*H. bicolor* (Hbic)、*H. crassilabris* (Hcra)、*H. cyaneus* (Hcya)、*H. flavus* (Pfla)、*H. xenognathus* (Pxen)、*Neochromis gigas* (Ngig)、*Paralabidochromis sp.* ‘blue beadleii’ (Pbbe)、*Paralabidochromis sp.* ‘blue biter’ (Pbbi)、*Paralabidochromis sp.* ‘orange anal picker’ (Poap)は Chamagati Island から採取された *H. sp.* ‘short head chilotes’と他の分集団に比べてアリルを多く共有していた (Fig. 24b, c)。特に *H. cyaneus* は Nyegezi から採取された *H. sp.* ‘short head chilotes’とはアリル共有の程度が低いことが示されたため (Fig. 24c)、側系統群とされた *H.*

sp. 'short head chilotes'の系統的に内側に入る可能性がある。本項で記述した全ての種は分岐系統推定の結果、*H. chilotes* および *H. sp. 'short head chilotes'* と同じ遺伝的クレードに属していた。一方で、本解析により推定されたアレル共有の程度は最近の種間交雑を経験している種で確認されている程度より低く (Meier et al. 2018)、単にヴィクトリア湖シクリッドの種分化後の期間の短さを反映しているだけである可能性を否定できなかった。

広範なヴィクトリア湖シクリッドを用いた maf が 5% または 1%以上の条件下での分子系統解析の結果、どちらにおいても *H. chilotes* および *H. sp. 'short head chilotes'* と同じ遺伝的クレードに属する、遺伝的に近い種の存在が明らかになった。ABBA-BABA テストにおいてもこれらの種は *H. sp. 'short head chilotes'* と遺伝的に近い関係にあることが示唆された。Nyegezi から採取された *H. sp. 'short head chilotes'* が Chamagati Island から採取された *H. sp. 'short head chilotes'* とは別種である可能性をさらに検証するため、この遺伝的クレード内の 19 種 53 個体についてさらに PCA を行なった。PC1 (11.947%) では *H. sauvagei* と他種が分けられ、PC2 (9.073%) および PC3 (6.748%) で *chilotes* の分集団が遺伝的に異なるクラスターを形成した (Fig. 25a, b)。このとき、*H. sp. 'short head chilotes'* 4 個体は全て他の種と区別され、より *H. chilotes* に遺伝的に近いことが示唆された (Fig. 25b)。PC4 (5.552%) において、*H. sp. 'short head chilotes'* がその生息場所間で遺伝構造が異なる可能性を示したが、Chamagati Island から採取された *H. sp. 'short head chilotes'* が *H. chilotes* の Chamagati-Juma 集団と同じ遺伝的クラスターに属していたため、生息場所に応じた適応による影響が考えられる (Fig. 25c)。これらの結果から、本研究で用いた *H. sp. 'short head chilotes'* は同一種と見なすことができると判断した。

3.3.3 *H. chilotes* と *H. sp. 'short head chilotes'* の適応過程

H. chilotes の分集団ごとの塩基多様度(π)は Makobe 集団で最も低く、次いでムワンザ湾内集団で低い値が得られた (Fig. 26)。集団間の遺伝的分化の程度を表すゲノムワイド F_{ST} の値

は古くに分岐した *H. sauvagei* と *H. chilotes* の間で 0.26123 (*H. sauvagei* と *H. chilotes* の分集団間の F_{ST} の平均)、*H. sauvagei* と *H. sp. 'short head chilotes'* の間で 0.22394 であり (Fig. 26)、先行研究と同様に *H. sauvagei* が祖先種であることを示していた (Samonte et al. 2007; Takeda et al. 2013)。第 2 章で算出された *H. sauvagei* と *H. chilotes* 間のゲノムワイド F_{ST} の値は 0.21848 であり、本研究で算出された値よりも低い。これは、複数地点でサンプルされた *H. chilotes* 個体をまとめて解析に用いたために、*H. chilotes* 全体の塩基多様度が実際より大きく推定されてしまったためであると推察される。*H. chilotes* の分集団間のゲノムワイド F_{ST} の値はムワンザ湾内集団と Makobe 集団間で 0.13094、ムワンザ湾内集団と Chamagati-Juma 集団間で 0.12612、Makobe 集団と Chamagati-Juma 集団間で 0.10103 であった (Fig. 26)。*H. sauvagei* のムワンザ湾内個体とムワンザ湾外個体間のゲノムワイド F_{ST} が 0.03988 であったことから、*H. chilotes* の分集団間の遺伝的分化の程度は大きいといえる。さらに、*H. sp. 'short head chilotes'* と *H. chilotes* 間のゲノムワイド F_{ST} の値は 0.13312 (*H. sp. 'short head chilotes'* と *H. chilotes* の分集団間の F_{ST} の平均) だった。*H. sp. 'short head chilotes'* と *H. chilotes* 間の比較において、最もゲノムワイド F_{ST} の値が低い集団ペア (*H. sp. 'short head chilotes'* と Chamagati-Juma 集団) では F_{ST} は 0.11101 と算出され (Fig. 26)、これは *H. chilotes* のムワンザ湾内集団と他の 2 つの分集団間での値より低かった。

smc++ (Terhorst et al. 2017) による集団史の推定では、世代時間 2 年を仮定した場合、*H. sauvagei* が *H. sp. 'short head chilotes'* と 22,703 年前に、*H. chilotes* と 19,883 年前に分岐したという結果が得られた (Fig. 27a)。よって、*H. sauvagei* は約 15,000 年前のヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より前に種形成したことが改めて示され、これは先行研究とも一致している (Samonte et al. 2007)。第 2 章では、*H. chilotes* との分岐年代は約 14,700 年前であると推定されたが、これは *H. chilotes* における遺伝的な分集団の存在により分岐年代が過小推定されたためであると考えられる。分岐年代推定時に比較する種もしくは集団において、遺伝的に異なる個体群が含まれる、すなわち集団構造が確認される場合は、分岐してからの期間を

反映する指標の一つである集団間の遺伝的分化の程度が実際より低く評価され、集団間の分岐年代も実際より小さい値を示すことが予想される。この推定結果の違いは種間レベルで遺伝的に近縁とされるヴィクトリア湖シクリッドにおいても同一種内の集団構造を明らかにする重要性を提示する。*H. sp. 'short head chilotes'*は*H. chilotes*の各分集団と平均して約13,500年前に分岐したと推定された (Fig. 27a)。ヴィクトリア湖では約14,600年前に干上がり、その後約2,000年間水位の大きな増減を経験している(Johnson et al. 2000; Stager and Johnson 2008)。*H. sp. 'short head chilotes'*と*H. chilotes*の推定分岐年代は約13,800年から12,800年前までの急激な水位上昇の時期と一致しており、水位上昇に伴う生息域の拡大が2種の種分化を促進した可能性が予想される。*H. chilotes*の分集団間の分岐年代は約8,600年前から6,900年前と推定された (Fig. 27a)。約11,500年前から8,000年前までは現在よりも水位レベルが高い時期が続いており(Stager and Johnson 2008)、*H. chilotes*はこの時期に生息域を拡大し、辿り着いた岩場ごとに集団を形成したと推察される。また、*H. chilotes*のムワンザ湾内集団は集団分岐の時期に集団サイズが減少していると推定された (Fig. 27c)。したがって、*H. chilotes*の生息域拡大時には少数の個体からなる集団がそれぞれ現在の生息域に侵入し、生息環境に適応したと考えられる。分子系統推定および集団史推定の結果を統合すると、肥厚した唇を持つ*H. sp. 'short head chilotes'*と*H. chilotes*はヴィクトリア湖シクリッドの適応放散の時期に分岐した別種であり、それぞれ異なる進化過程を経験した。特に、*H. chilotes*は種形成後に生息域を拡大し、ムワンザ湾付近の離島近くの岩場を中心とした生息地を獲得した後、ムワンザ湾内に侵入し、定着した可能性が示唆された。

3.3.4 *H. chilotes*の局所適応に関与した候補遺伝子の探索

*H. chilotes*の各分集団における適応候補遺伝子の探索を行なうために、まず、10kbのゲノム領域に対し分集団のペアごとに F_{ST} の加重平均を計算することで、各分集団間およびムワンザ湾内—湾外集団間で遺伝的に大きく分化している領域を特定した (Fig. 28)。それぞれの

F_{ST} の分布において上位 0.5%の値を示すゲノム領域を遺伝的に大きく分化している領域 (HDR) とみなした。さらに、Population Branch Statistic(PBS)(Yi et al. 2010)を算出し、ゲノム領域ごとにどの分集団に自然選択が働いているかを検証した。本解析では、上位 1%の PBS 値を示す HDR を自然選択の影響を受けた領域としてみなし、そのゲノム領域および周辺 10kb に存在する遺伝子を探索した。その結果、合計 610 個の適応候補遺伝子が単離された (Fig. 29)。続いて、各分集団において自然選択を受けていると判定された適応候補遺伝子に対して、どのような機能を持っている遺伝子が多く含まれているか調べるために、WebGestalt (Liao et al. 2019)を用いて GO enrichment 解析を行なった (Fig. 30)。全ての分集団に共通して、神経・シグナル伝達に関わる「化学的シグナル伝達」や「膜電位の調節」の機能を持つ適応候補遺伝子が確認された。また、行動や外部刺激の認知に関わる「生殖行動」や「認知」等の機能を持つ適応候補遺伝子に含まれていたことは種分化を促進する機構の一つである同種認知が分集団内で強化されている可能性を示唆する。また、Chamagati-Juma 集団では、体サイズに関わる「低身長」や「身長異常」を担う遺伝子や頭部形態に関わる「鼻梁の陥没」や「丸顔」等の GO を持つ遺伝子が見つかった。体サイズに関しては、*H. chilotes* のムワンザ湾内に生息する個体が湾外に生息する個体より体長が大きいことが報告されている (Fig. 15)。本解析結果は観察データとは異なる分集団でたが、Makobe 集団では、歯に関わる「未萌出歯」や唇上部の溝である人中の形成に関わる遺伝子が適応候補遺伝子に含まれることが分かった。ムワンザ湾内集団では、「未萌出歯」に加え、「歯並びの悪さ」や「歯数の異常」といった歯に関わる遺伝子や、「上顎骨の低形成」のような上顎の形成を担う遺伝子が適応候補遺伝子に含まれることが分かった。さらに、2集団以上で自然選択を受けている可能性が示された適応候補遺伝子のみを用いて同様の GO enrichment 解析を行なったところ、認知・行動、歯、人中や顎といった頭部形態、そして生殖器に関わる適応候補遺伝子が多いことが明らかになった。また、シクリッドにおける機能が解明されている遺伝子の中で、Makobe 集団では視覚関連遺伝子である LWS 遺伝子を含むゲノム領域に自然選択が働

いている可能性が示唆された (Fig. 31a)。LWS 遺伝子は生息場所の濁度に応じて同種内で異なるアリルが選択されることが知られている(Terai et al. 2006)。Makobe Island は他の分集団の生息場所と比べ透明度が比較的高いため(Seehausen et al. 2008)、Makobe 集団では生息環境への適応に際し、LWS 遺伝子に対し自然選択が働いたと考えられる。GO エンリッチメント解析においても Makobe 集団で「光刺激に対する感覚認知」の機能を有する遺伝子に自然選択が働いたことが確認され (Fig. 30)、Makobe 集団が生息環境に対して適応した可能性が示唆された。

3.4 考察

本研究では、ヴィクトリア湖シクリッドで形態学的多様性が報告されている *H. chilotes* および類似した形態を示す *H. sp. 'short head chilotes'*に着目した全ゲノムレベルの集団遺伝解析を通して、*H. sp. 'short head chilotes'*が *H. chilotes* とヴィクトリア湖シクリッドの適応放散の時期に種分化した別種であり、*H. chilotes* はさらに生息場所ごとに遺伝的な分集団を形成していることを明らかにした。*H. chilotes* の分集団は約 8,500 年前からヴィクトリア湖の中心部からムワンザ湾内に向かって形成され、それぞれで生息環境に対して適応したことが分かった。*H. chilotes* の分集団ごとに自然選択を受けた遺伝子とその形態学的多様性を生み出した可能性が示唆された。

3.4.1 ヴィクトリア湖における唇の厚いシクリッドの進化

ヴィクトリア湖シクリッドはその周辺の河川や小規模な湖を含めると 700 種以上から構成されているが、その形態学的特徴は必ずしも種間で大きく離れているわけではなく、中間的な特徴を持つ個体が存在する(Salzbürger 2018; Svardal et al. 2021)。また、適応放散を経験し

てからの期間が短く、ヴィクトリア湖シクリッド全体が遺伝的に近縁であるため、詳細な系統関係の解明は困難であり、その多くが未解明のままである。本研究では、まず、広範なヴィクトリア湖シクリッドの遺伝構造からヴィクトリア湖シクリッドをいくつかのグループに分けた。その結果、魚食や卵稚魚食などの食性に基づいた系統関係が示され、これは McGee et al. (2020) で示唆された結果と類似していた。唇の厚い 2 種を含むグループにおける分子系統樹では *H. chilotes* は系統樹の末端に位置し、*H. sp. 'short head chilotes'* がその直前で分岐していた。これは、ヴィクトリア湖の唇の厚いシクリッドが進化の過程で最後に派生した特徴的な系統である可能性を示唆している。肥厚した唇は岩の隙間に生息する幼虫を捕獲するのに有用であるとされ (Baumgarten et al. 2015)、一般的な唇を持つシクリッドから偶然生じた唇の厚いシクリッドが生態学的地位 (ニッチ) を獲得し、適応進化を遂げたことが予想される。一方で、中間的な唇の厚さを示す *H. sp. 'short head chilotes'* はより厚い *H. chilotes* とニッチが重なっていると考えられるが、種間競争に伴う集団縮小を示すゲノム上の痕跡は確認されなかった (Fig. 26, Fig. 27b)。 *H. sp. 'short head chilotes'* はヴィクトリア湖シクリッドの特徴である中間的な形質を示す種の一つであり、その種形成・維持機構の解明は進化生物学的に大きな意義があるといえる。加えて、シクリッドにおける肥厚した唇という形質はヴィクトリア湖だけでなく、ヴィクトリア湖周辺の小規模な湖やタンガニーカ湖シクリッド、マラウィ湖シクリッド、そして南米シクリッドに共通して観察されており、平行進化の好例として注目されている (Salzburger 2009; Vranken et al. 2020)。唇を厚くする遺伝的メカニズムがこれらの湖間で共通している場合、唇の肥厚に寄与するアレルが古くから集団内に維持されてきた SGV である可能性が考えられる。 *H. chilotes* および *H. sp. 'short head chilotes'* の進化過程の解明は古くに獲得されたアレル多様性によるヴィクトリア湖シクリッドの形態学的多様性の創出機構の理解につながると期待できる。

H. chilotes と比較すると薄いですが、他のヴィクトリア湖シクリッドと比較して厚い唇を持つ *H. sp. 'short head chilotes'* はこれまで報告例が極めて少なく、Chamagati Island や

Makobe Island でのみその生息が確認されている(Seehausen 1996)。本研究は *H. sp.* ‘short head chilotes’を用いた最初の進化ゲノム研究であり、未解明であったその種形成過程の解明に取り組んだ。本研究によって、*H. sp.* ‘short head chilotes’は *H. chilotes* と他種との交雑個体ではなく、*H. chilotes* より古くに分岐した別種である可能性が示唆された。その分岐年代はヴィクトリア湖シクリッドの適応放散の時期に一致しており、*H. chilotes* と近縁であるが、種間交雑することなく独立した種として維持されてきたと考えられる。生息域に関して、*H. chilotes* はヴィクトリア湖の広域分布種として知られているが、*H. sp.* ‘short head chilotes’は局所的な報告のみである。一方で、Greenwood (1959)はヴィクトリア湖の北側に生息している *H. chilotes* の 25 個体の形態データから、*H. chilotes* が唇の厚さ、頭長や顎の長さにおいて多様性を持つことを報告した。Seehausen (1996)はこれに対し、報告された多様性を示す形質が *H. sp.* ‘short head chilotes’の特徴と一致することから、ヴィクトリア湖北部において *H. sp.* ‘short head chilotes’が生息している可能性を指摘している。本研究で用いた個体は全てヴィクトリア湖南部で採取された個体であり、今後、より広域で採取された個体を解析に追加することで詳細な *H. sp.* ‘short head chilotes’の進化史の解明が可能になると考えられる。さらに、*H. sp.* ‘short head chilotes’と *H. chilotes* のゲノム比較により自然選択が働いている適応的な候補遺伝子を探索することにより、近縁かつ生態的地位が重なると考えられる 2 種がどのように分岐したのかその種分化メカニズムを調べるのがヴィクトリア湖シクリッドの進化史の解明に重要であると考えられる。

3.4.2 *H. chilotes* の適応と形態学的多様性

H. chilotes の分集団間のゲノム比較により分集団ごとの適応に寄与した可能性のある候補遺伝子が単離された。例えば、視覚関連遺伝子 LWS において透明度が低い環境に生息するシクリッドは透明度が高い環境に生息するシクリッドに比べ、短波長光を感受しやすいアレルを持っている個体が多いことが知られている(Terai et al. 2006)。Makobe Island はヴィクト

リア湖の中では透明度が高く(Seehausen et al. 2008)、Makobe 集団のみが他の *H. chilotes* 個体と異なるアリルを有していた。そのため、Makobe 集団では集団分化時にその生息環境に適した LWS 遺伝子のアリルに自然選択が働いたと考えられる。transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 (*trpm4*) 遺伝子は主に Chamagati-Juma 集団やムワンザ湾内集団で自然選択を受けた遺伝子であり(Fig. 31b)、嗅覚神経を介した検出された化学刺激に対する免疫反応に関与していることが分かっている(Kasthuber et al. 2013; Ellison et al. 2018; Sepahi et al. 2019)。本遺伝子は第2章においてヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より前にアリル多様性を獲得したことが明らかになっており、ヴィクトリア湖シクリッドの分集団形成において集団内に維持されている多型 SGV がその適応に寄与したことを示唆している。同定された適応候補遺伝子の一部はヒトにおいて体サイズや歯、鼻の形や鼻と口の間の溝(人中)といった頭部形態形成において役割を持つことが示された。歯数や歯並び、歯の形状はヴィクトリア湖シクリッドの種同定に用いられる形質であり、種間での多様性が確認されている(Seehausen 1996)。一方で、*H. chilotes* での多様性は報告されておらず、実際にこれらの遺伝子が *H. chilotes* において歯の多様性を生み出しているかどうかに関しては今後詳細な形態計測を行なう必要がある。肥厚した唇が特徴的な *H. chilotes* において、他種と区別できる他の主要な形質の一つは頭長であり、同じく唇が肥厚した *H. sp.* ‘short head chilotes’は *H. chilotes* に比べ頭長が短いことから名付けられた(Seehausen 1996)。頭部形態についても *H. chilotes* が多様性を示すかどうかは確認されていないが、今後のシクリッドの形態研究において注視する必要がある。

同一種内の形態や生態における多様性は *H. chilotes* だけでなく複数のシクリッドで報告されている。ヴィクトリア湖広域分布種である *Neochromis greenwoodi* はヴィクトリア湖シクリッドの中でも地理的多様性に富む種の一つである(Seehausen et al. 1998)。濁度の高いムワンザ湾北部に生息する個体は虫やコケを主食とするのに対し、ヴィクトリア湖南東部のスピーク湾に生息する個体は藻を主食とし、それぞれの集団間で頭部形態や歯の形

状が大きく異なることが報告されている(Seehausen et al. 1998)。ムワンザ湾北部に生息する *Lithochromis rubripinnis* では生息場所に応じて2種類の体色が確認されている(Seehausen et al. 1998)。さらに、Luanso Island に生息する個体は平均的に細い体型を持ち、その顎の長さや歯列の数からプランクトン食に適した形態を持つとされる(Seehausen et al. 1998)。

一方で、ヴィクトリア湖シクリッドで観察される生息場所間での表現型の違いがその生息環境に応じて可塑的に生じているのか、あるいは遺伝的基盤の違いに由来しているのかについて調べた研究は少ない。ヴィクトリア湖やその周辺の河川に生息する *Astatooreochromis alluaudi* では、食物の硬度に応じて咽頭顎や咽頭歯の構造が可塑的に変化することがトランスクリプトーム解析により示唆されている(Gunter et al. 2013)。また、ヴィクトリア湖の沖合性シクリッド *H. pyrrhocephalus* において、1980年代初頭の大型肉食魚ナイルパーチの侵入と1990年代の富栄養化に伴う溶存酸素濃度の急激な低下に伴い、その形態学的特徴が表現型可塑性と遺伝的基盤の両方の影響を受けて大きく変化した可能性が議論されている(Witte et al. 2008)。タンガニーカ湖および周辺の河川に生息する *A. burtoni* では、湖に生息する個体に比べ河川に生息する個体は、細い体型や下側にある口といった流れの速い河川において底生動物を採餌することに適した形態を持つ(Theis et al. 2014)。この形態の違いは生息環境に応じて可塑的に生じているものではなく、湖個体と河川個体間の遺伝的基盤の違いに由来することが交配実験によって示されている(Theis et al. 2014)。本研究で着目した *H. chilotes* の表現型多様性が表現型の可塑性に由来するのか、それとも遺伝的基盤の違いに由来するのかについて調べた研究はない。また、ヴィクトリア湖シクリッドで可変的な体長や歯といった形質において、他の個体とかけ離れた何らかの特徴を持つ個体が正の自然選択により集団内に広まったのか、あるいは遺伝的浮動によって集団の大部分を占めるようになったのかどうかについてもまだ明らかになっていない。今後、本研究によって単離された適応候補遺伝子におけるアリルを、類似した形態学的特徴を示す他種が共有しているか調べることで、ヴィクトリア湖シクリッドひいては魚類の形態学的多様性を創出

する遺伝的基盤の解明につながると期待できる。

3.4.3 *H. chilotes* の急速な集団分化

シクリッドの系統分類において、唇の厚さは種同定に用いられる形質の一つであり、際立った形態的特徴を持たない種が多いヴィクトリア湖シクリッドの中で、特徴的な肥厚した唇を持つ *H. chilotes* は比較的種同定しやすい種とされる。一方で、その形態における地理的多様性は古くから観察されていた(Seehausen 1996)。本研究結果は *H. chilotes* が生息場所に応じた遺伝的な分集団を形成していることを強く示唆しており、ゲノムレベルで形態の多様化が引き起こされている可能性を示している。ヴィクトリア湖シクリッド種間での遺伝的分化の程度は F_{ST} において 0.057 ~ 0.362 であると報告されている(Bezault et al. 2011)。これに対し、本研究の *H. chilotes* の分集団間で算出された F_{ST} の値は 0.101 ~ 0.131 であったことから、ヴィクトリア湖シクリッドにおいて同一種内の分集団としては集団間の遺伝的分化が進んでいると考えられる。タンガニーカ湖および周辺の河川に生息する *A. burtoni* の交配実験では F_{ST} が 0.19 を超えた場合に集団間で弱い生殖的隔離の存在が確認されており(Rajkov et al. 2018; Weber et al. 2021)、*H. chilotes* の分集団も種分化の萌芽段階にあると考えられる。一方で、*H. sauvagei* を除くヴィクトリア湖シクリッドで生息場所間でのゲノムワイドな遺伝的分化を調べた研究はないため、*H. chilotes* における分集団間の遺伝的分化の程度がヴィクトリア湖シクリッドにおいて普遍的かどうか今後検証する必要がある。

ヴィクトリア湖のムワンザ湾周辺に生息する *H. chilotes* は約 8,600 年前から 6,500 年前にかけて集団分岐したと推定されたが、その遺伝的分化の程度は約 14,600 年前に種分化したとされるヴィクトリア湖シクリッドの種間レベルに匹敵していた。このような急速な集団分化が引き起こされた要因として祖先集団における遺伝的多様性に着目して議論したい。種間・集団間の遺伝的分化の速さ、すなわち進化速度がどのような要因で決定づけられるのかについては集団遺伝学において古くから注目されてきた。Gillespie and Langley

(1979)はゲノム比較における集団間の遺伝的な違いを $E(d_{XY}) = 2\mu t + \theta_A$ と表した。ここで、 μ は突然変異率、 t は集団が分岐してからの時間、 θ_A は祖先集団での遺伝的多様度を意味する。この式から、 t が十分大きいとき、集団間の遺伝的な違いは集団が分岐してからの時間 t に比例して大きくなるが、集団が分岐してからの時間が短いとき、その程度は祖先集団における遺伝的多様度と近似できることが分かる。よって、*H. chilotes* は種分岐後も高い遺伝的多様性を保ったまま、生息域の拡大に伴い分集団を形成し、本研究で観測された分集団間の遺伝的分化の程度はその分岐してからの時間ではなく祖先集団の遺伝的多様度を反映している可能性がある。これはヴィクトリア湖に種形成後に侵入し、生息域を広げたとされる*H. sauvagei* の分集団間の遺伝的分化の程度 ($F_{ST} = 0.03988$) が同じ生息場所間での*H. chilotes* の分集団間の遺伝的分化の程度 ($F_{ST} = 0.12612$) に比べ極めて小さかったことから予想される。祖先集団における遺伝的多様性は集団内に維持されている多型 (SGV) により構成される。Guerrero and Hahn (2017)は集団分化過程において祖先集団におけるSGVからそれぞれ分集団に不均一に選び取られた”sieved polymorphism”が分岐後の集団間の遺伝的分化の程度を高めている可能性を指摘した。ヴィクトリア湖シクリッドは祖先系統間での交雑により大量のSGVを獲得し、爆発的な種分化を経験した(Meier, Marques, et al. 2017)。本論文の第2章ではこのようなSGVをSNPレベルだけでなく、長い大規模な分化アリルとしてヴィクトリア湖シクリッドの祖先集団が維持していたことを示した。一方で、*H. chilotes* の種分岐直後にどの程度のSGVが維持されていたのかはまだ明らかになっていない。*H. chilotes* の分集団間で遺伝的に大きく分化しているアリルの起源を調べることはこの課題を解決するための方法の一つであると考えられる。これは*H. chilotes* の急速な集団分化の原因の解明だけでなく、ゲノム全体を通して*H. chilotes* の種分化の完了につながったSGVがどの程度を占めるのか、ヴィクトリア湖シクリッドにおける爆発的な種分化を促進したSGVの詳細な役割の理解につながると期待される。種分化の萌芽段階にある*H. chilotes* の分集団に着目した本研究は種分化過程におけるSGVの重要性を間接的に示唆しており、今後のヴィクト

リア湖シクリッドにおける潜在的な進化可能性を示している。

第4章 総論

本研究は東アフリカのヴィクトリア湖に生息するシクリッドの著しい種多様性を生み出した遺伝的基盤を明らかにすることを目的とした。まず、異なる生息環境に適応している3種の全ゲノム比較解析により、種の適応に寄与したと考えられる遺伝子のアレル多様性がヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より古くに獲得されたことを明らかにした。次に、より近縁な種内の分集団に着目した集団遺伝解析により、ヴィクトリア湖シクリッドが種分化後において生息範囲の拡大に応じて地域ごとの分集団を形成し、観察されている種内レベルでの遺伝的・形態学的多様性を急速に獲得した可能性を示した。

700以上の種で構成されるヴィクトリア湖シクリッドは、約14,600年前の大干ばつ後に水位が再び上昇したヴィクトリア湖に移入した少数の種にその起源を持つ適応放散を遂げた種グループである(Johnson et al. 2000)。ヴィクトリア湖シクリッドは他の生物種と比較しても類稀なる種多様性を持つが、一方で種を区別することが難しいとされるほど種間の遺伝的分化の程度は小さいと考えられてきた(Samonte et al. 2007; Salzburger 2018)。本研究は形態学的特徴から分類されてきたヴィクトリア湖シクリッドを遺伝的な観点からも種を区別することができる可能性を示した。また、推定された種間の分岐年代はヴィクトリア湖の水位上昇の時期と一致していた。これは複数個体を用いる集団遺伝解析がヴィクトリア湖シクリッドの進化史の解明に十分有効であることを意味する。さらに、形態における地理的多様性が確認されている種、*H. chilotes*では、集団遺伝解析により同一種内においても生息場所ごとに遺伝的に区別できる分集団が存在し、分集団はそれぞれの生息環境に適応していた。特筆すべき成果の一つは*H. chilotes*の分集団間の遺伝的分化の程度がヴィクトリア湖シクリッドの種間比較により観察された程度と同等であったことである。特に、同一種内での分集団間の遺伝的分化の程度が種間の遺伝的分化の程度よりも高い値を示す場合があることはヴィクトリア湖シクリッドの種分化とその後の生息域拡大が極めて短い間隔で起こったことを反映していると考えられる。

ヴィクトリア湖シクリッドの適応放散を駆動した遺伝的基盤として、その急速な種分化より前に獲得され、祖先集団内に維持されてきた遺伝的多様性 (SGV) が重要視されてきた(Loh et al. 2013; Brawand et al. 2014; Meier, Marques, et al. 2017; Takuno et al. 2019)。本研究により、ヴィクトリア湖シクリッドにおいて種間で分化していたアリルを有する 99 個の遺伝子はそのアリル多様性をマラウイ湖シクリッドやタンガニーカ湖シクリッドの適応放散の前に既に獲得していたことが分かった。また、同一種内での分集団間比較でも遺伝的に大きく分化しているアリルを持つ遺伝子を単離したところ、その一部はアリル多様性の起源がヴィクトリア湖シクリッドより古いことがすでに示されていた遺伝子であった。古くに獲得され、SGV として集団内に維持されてきたアリルがヴィクトリア湖シクリッドの種分化だけでなく種形成後の集団分化にも重要な役割を持つことは明らかであり、現在も種分化を駆動していると考えられる。ヴィクトリア湖は今もなお速いテンポで新たな種の創出と生息環境への適応が進行している「進化の舞台」であり、ヴィクトリア湖シクリッドは魚類ひいては生物がどのようにして多様化していったのかを理解するための根源的な遺伝的基盤を残している。今後、ヴィクトリア湖シクリッド研究において、より多くの種や集団の過去の集団動態を集団遺伝解析により明らかにすること、そしてゲノム比較解析により種分化に寄与した遺伝子、種形成後の環境適応に寄与した遺伝子の特定と分化アリルの集団内への固定過程の解明を複合的に進めることが、生物が進化の過程でどのようにして種多様性を獲得していったのか、進化生物学における難問の解明につながると考えられる。

图表

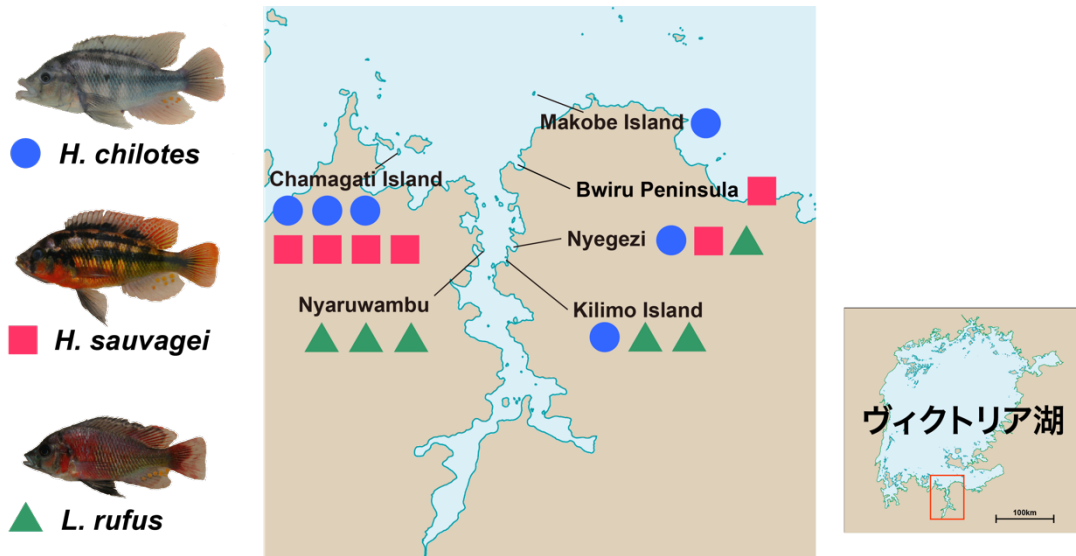


Fig. 1 本研究で用いた3種

本研究で用いた *H. chilotes*、*H. sauvagei*、*L. rufus* の写真。地図上にヴィクトリア湖のムワンザ湾周辺のサンプリングポイント、および採取された種と個体数をマーカーの種類と数で示した。

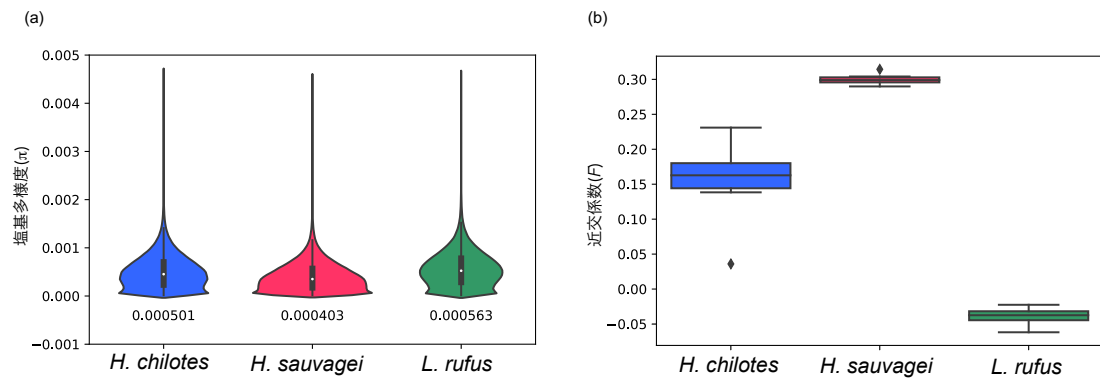


Fig. 2 3種の遺伝的統計量

(a)各種の塩基多様度。同じ塩基多様度を示す領域が多いほどバイオリンプロットの幅は大きくなる。例えば、*H. sauvagei*は他の2種に比べ塩基多様度が低い領域が多い。(b)各種の個体ごとの近交係数。正の値をとるとき、ホモ接合度が高く、負の値をとるとき、ヘテロ接合度が高いことを意味する。

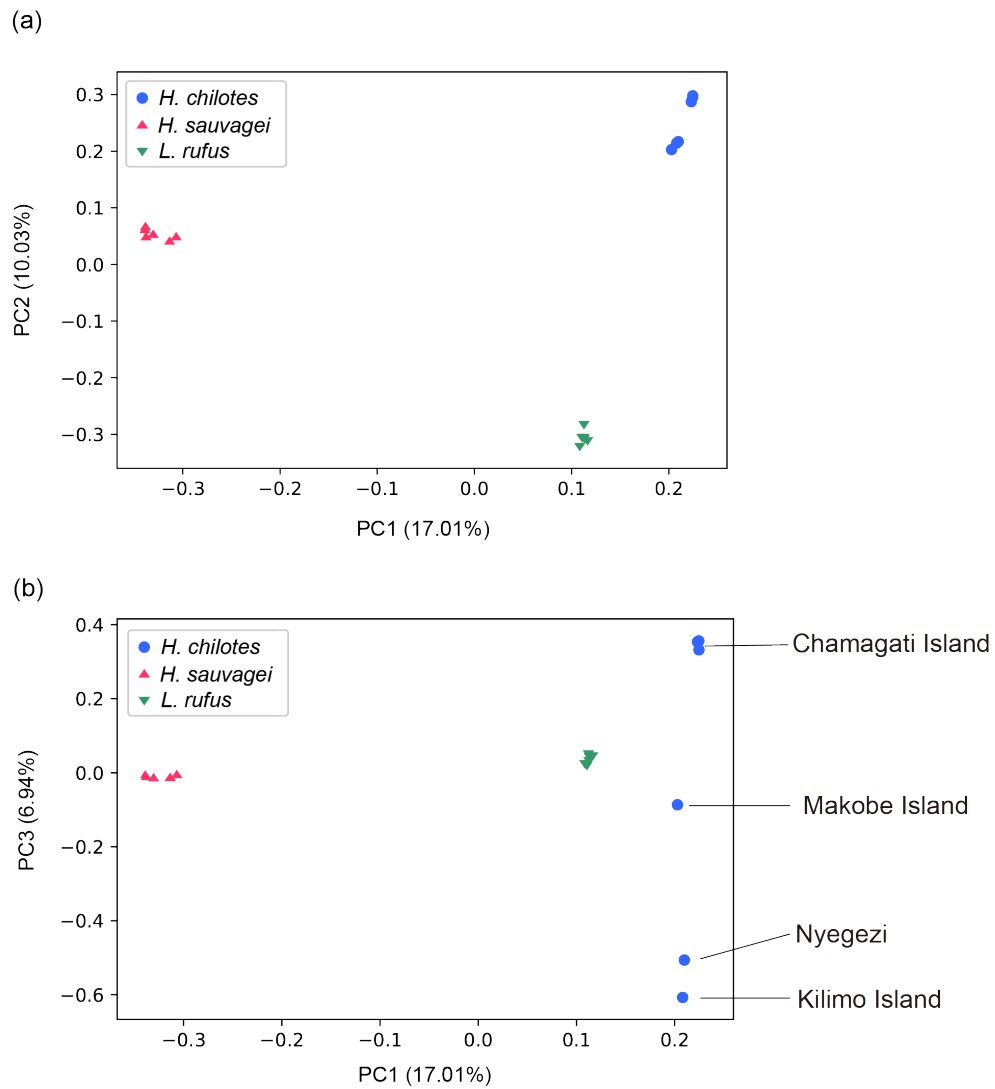


Fig. 3 主成分分析 (PCA) 結果

61,461 LD-pruned SNPs をもとにした主成分分析により全個体を遺伝的にクラスタリングした。() 内の数値は全 SNP のうち主成分の説明に用いられた SNP の割合を示す。(a) PC1 と PC2 の結果。(b) PC1 と PC3 の結果。*H. chilotes* に対してのみ個体のサンプリングポイントを明記した。

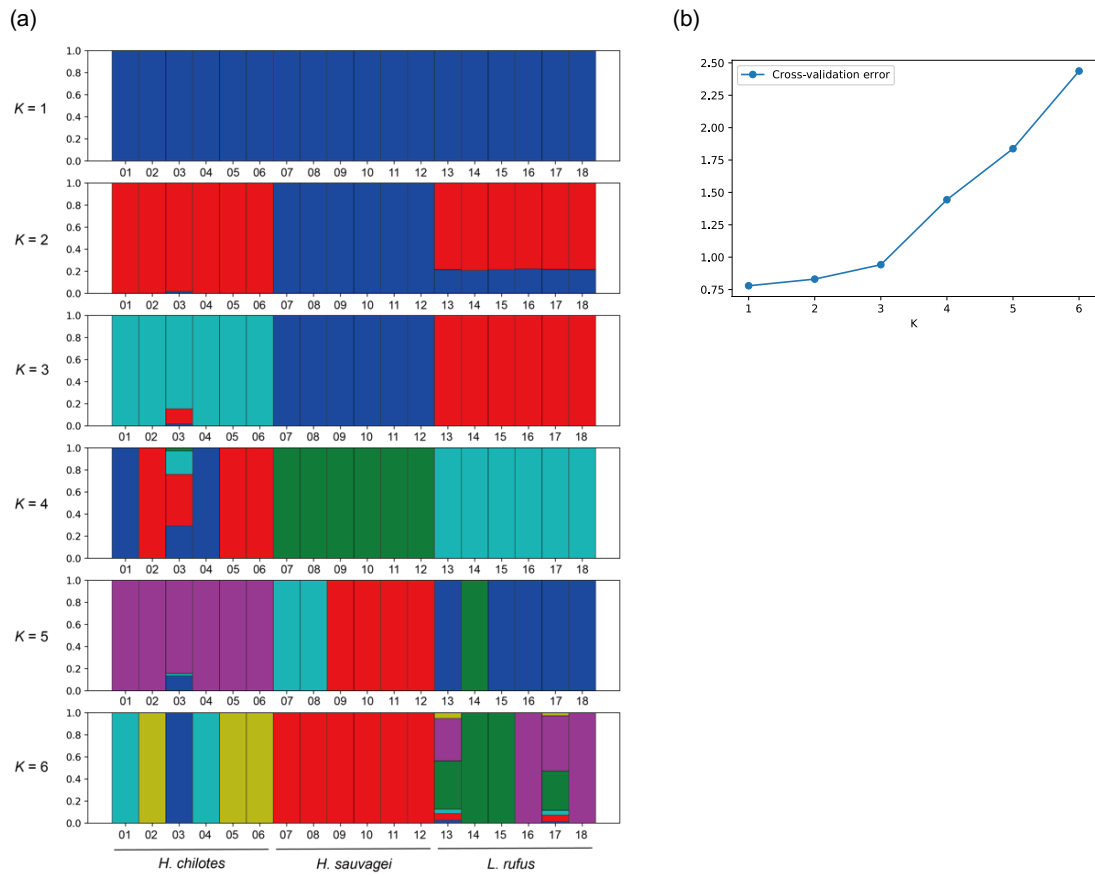


Fig. 4 ADMIXTURE 解析結果

全体が K 個の遺伝的要素から構成されると仮定した場合に、各個体がどのような要素の組み合わせで構成されるのかを最尤法を用いて 61,461 LD-pruned SNPs をもとに推定した。

(a)横軸に個体、縦軸に個体ごとの遺伝的要素の構成比率を示す。(b) K の値ごとの error rate の変化を表す。

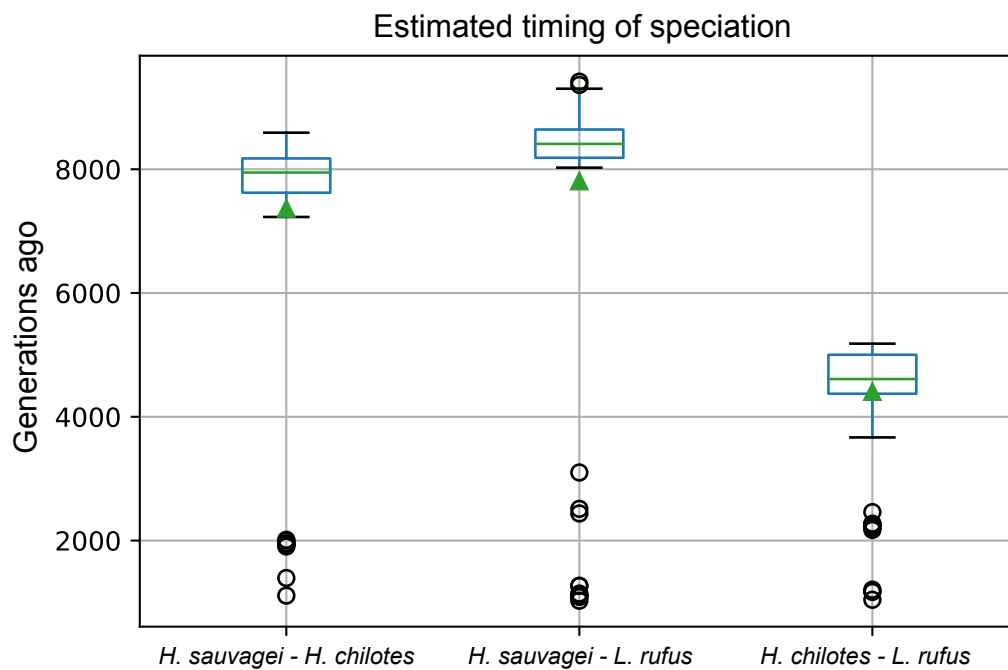


Fig. 5 種間の推定分岐年代

smc++(Terhorst et al. 2017)を用いて、種のペアごとに分岐年代をブートストラップ 100 回で推定した。突然変異率は 3.5×10^{-9} mutations (サイト・世代あたり) を仮定した。緑の三角は分岐年代の平均を示す。図中の丸は外れ値を示す。全ての試行において、種ごとに 12 ハプロタイプ (6 個体) の多型データを用いた。

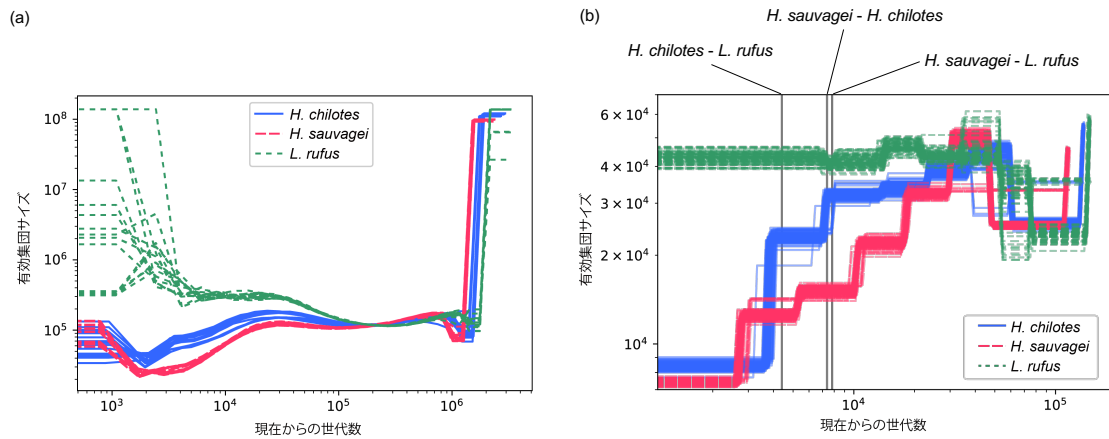


Fig. 6 集団サイズの変動パターン

世代ごとの集団サイズの変化を (a)msmc2(Schiffels and Durbin 2014)および(b)smc++(Terhorst et al. 2017)を用いて推定した。2つの解析はどちらも長さが 500kb 以上の scaffold のみを用いた。突然変異率は 3.5×10^{-9} mutations (サイト・世代あたり) を仮定した。横軸は現在からの期間、縦軸は有効集団サイズを表す。青の実線が *H. chilotes*、赤の破線が *H. sauvagei*、緑の点線が *L. rufus* の集団サイズの変動パターンを示す。(a)各試行は種ごとに2個体(4ハプロタイプ)ずつ用いて行なった。(b)全ての試行において、種ごとに12ハプロタイプ(6個体)の多型データに対し、ブートストラップ100回でsmc++を実行した。smc++を用いて推定された種間の分岐年代の平均を種のペアごとに実線で示した。

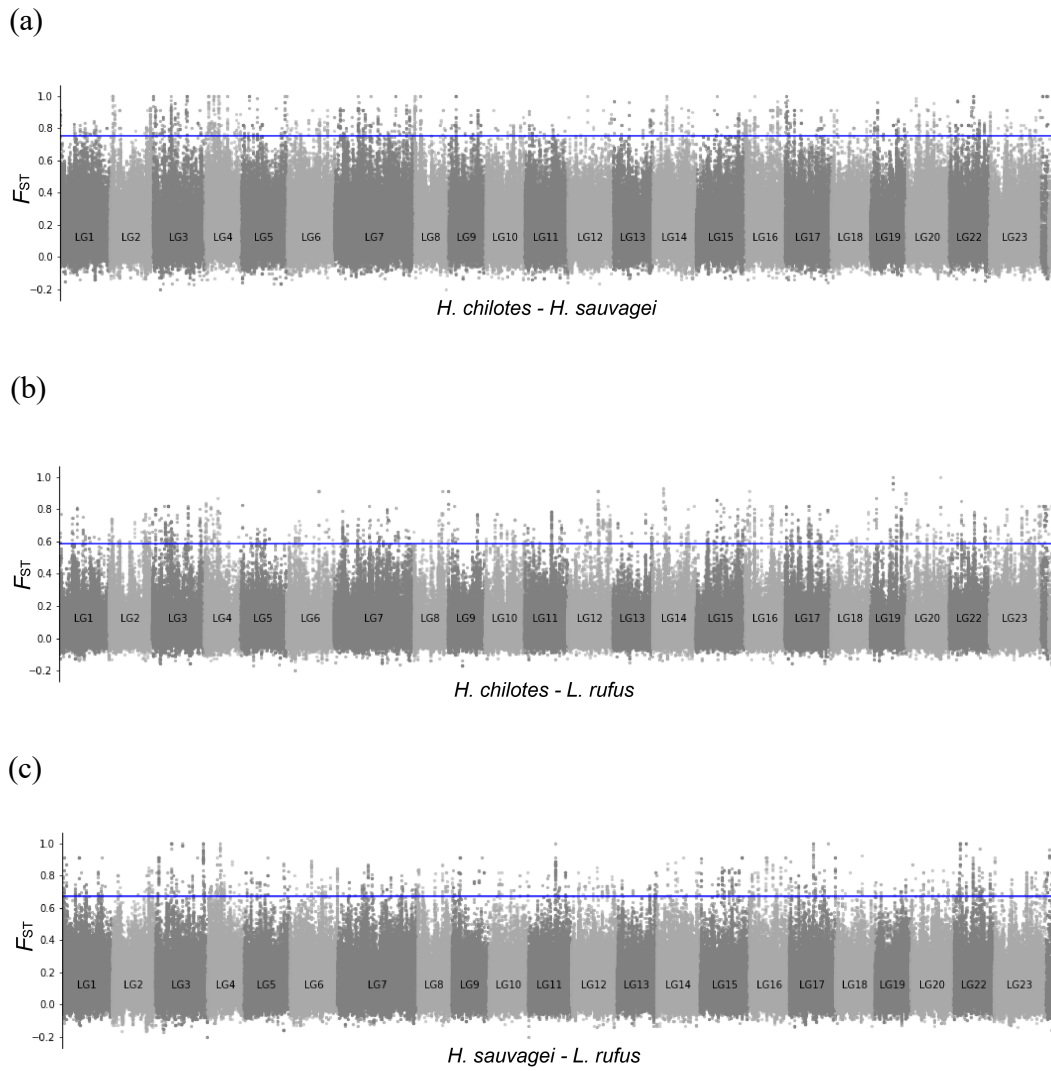


Fig. 7 ゲノム全体における種間の遺伝的分化のパターン

HWEによるフィルタリングなしの多型データに対し、種のペア間で算出されたゲノム全体の遺伝的分化の程度。1つのプロットは window size = 10kb、step size = 2kb で細分化したゲノム領域ごとに算出された加重平均 F_{ST} を示す。青の実線は F_{ST} の分布における上位0.5%の値を示し、この閾値以上の値を示すゲノム領域を遺伝的に大きく分化している領域 (HDR) としてみなした。種のペアとして(a)*H. chilotes* - *H. sauvagei*、(b) *H. chilotes* - *L. rufus*、(c) *H. sauvagei* - *L. rufus* を用いた。

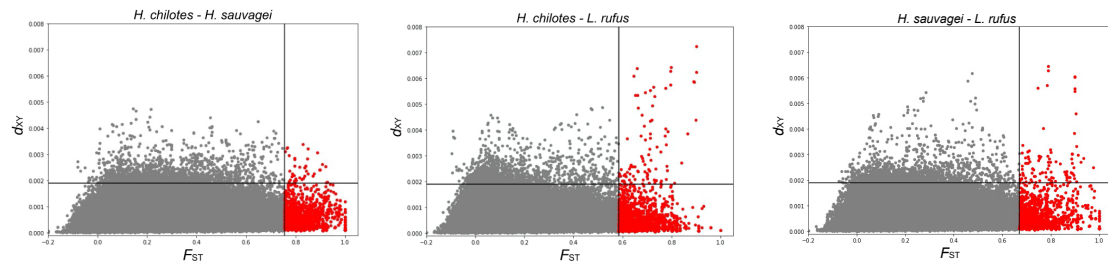


Fig. 8 2種類の集団分化の指標で測ったゲノム領域ごとの遺伝的分化の程度

1つのプロットは window size = 10kb、step size = 2kb で細分化したゲノム領域で計算された遺伝的分化の指標 F_{ST} (横軸)、 d_{XY} (縦軸) を示す。赤色のプロットは遺伝的に大きく分化している領域 (HDR) とみなしたゲノム領域を示す。種のペアとして(a)*H. chilotes* - *H. sauvagei*、(b)*H. chilotes* - *L. rufus*、(c)*H. sauvagei* - *L. rufus* を用いた。

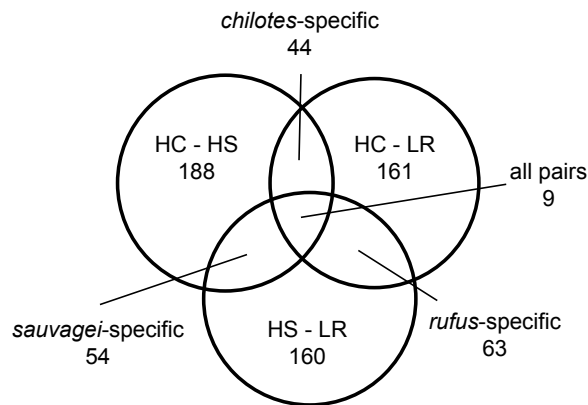
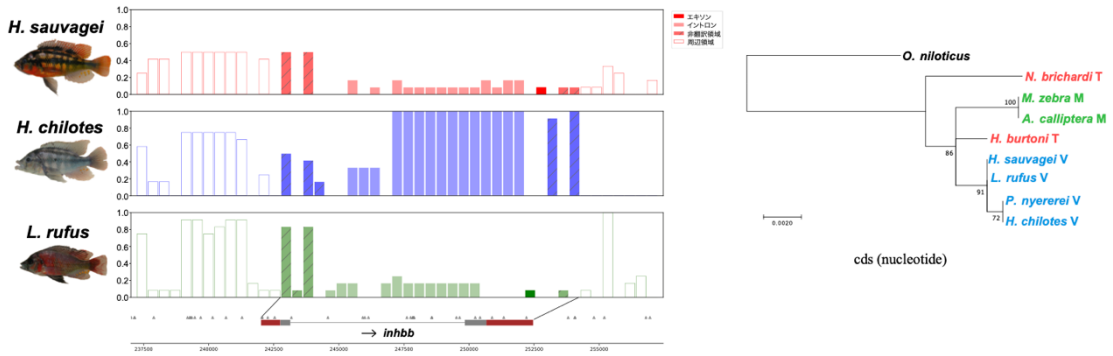


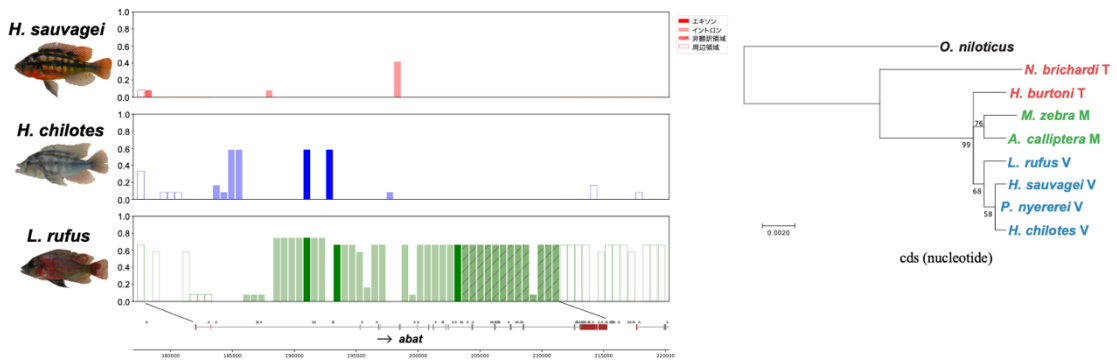
Fig. 9 適応候補遺伝子数

種ペア間で window size = 10kb、step size = 2kb で算出した F_{ST} の分布において上位 0.5% の値を示す領域 (HDR) 上またはその 10kb 周辺に位置する適応候補遺伝子数を示す。HC は *H. chilotes*、HS は *H. sauvagei*、LR は *L. rufus* を意味する。例えば、HC-HS では *H. chilotes* と *H. sauvagei* 間での HDR 上に位置する適応候補遺伝子数が 188 個単離されたことを示す。all pairs はその遺伝子領域に全ての種のペア間での HDR を含む遺伝子を示す。

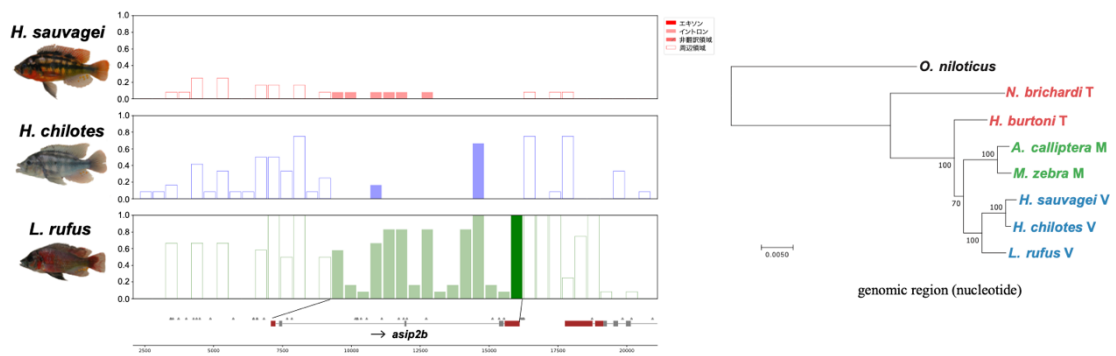
(a) *inhbb*遺伝子 (XP_003445380.1 inhibin beta B chain [Oreochromis niloticus])



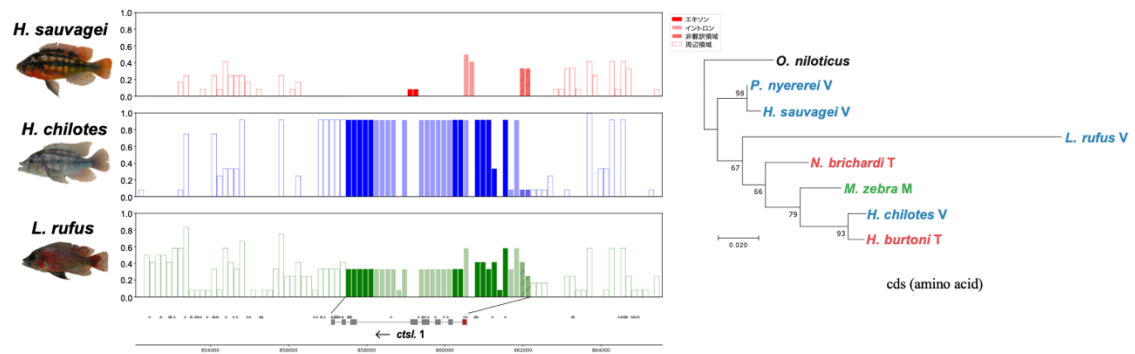
(b) *abat*遺伝子 (XP_025762502.1 4-aminobutyrate aminotransferase, mitochondrial isoform X1 [Oreochromis niloticus])



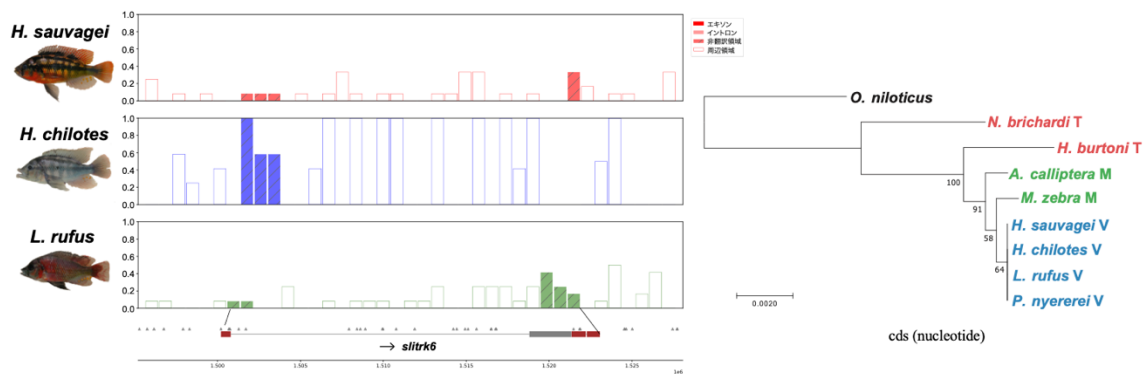
(c) *asip2b*遺伝子 (XP_005476024.1 agouti-related protein-like isoform X1 [Oreochromis niloticus])



(d) *ctsl*遺伝子 (XP_003453258.1 cathepsin L1 isoform X1 [Oreochromis niloticus])



(e) *slitrk6*遺伝子 (XP_005450063.1 SLIT and NTRK-like protein 6 [Oreochromis niloticus])

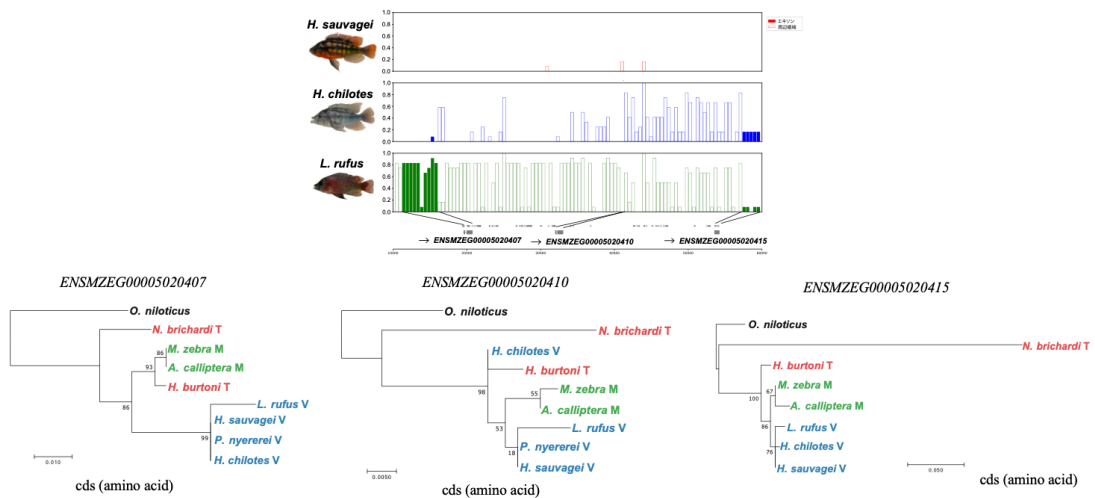


(f) 微量アミン関連受容体遺伝子TAARs

ENSMZEG00005020407遺伝子 (XP_023009248.1 trace amine-associated receptor 13c-like [Maylandia zebra])

ENSMZEG00005020410遺伝子 (XP_024661068.1 trace amine-associated receptor 13c-like [Maylandia zebra])

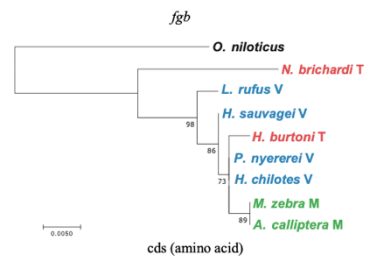
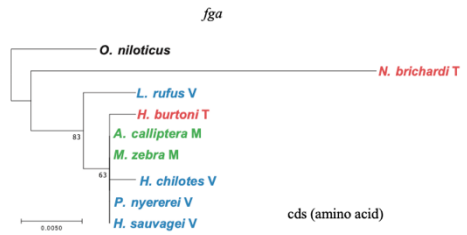
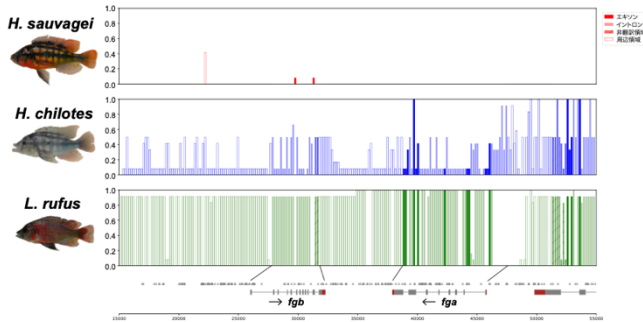
ENSMZEG00005020415遺伝子 (XP_023009448.2 trace amine-associated receptor 13c-like [Maylandia zebra])



(g) フィブリノゲン遺伝子

fga (XP_013119750.1 fibrinogen alpha chain [Oreochromis niloticus])

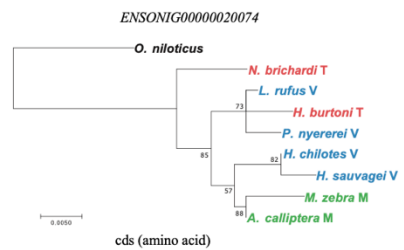
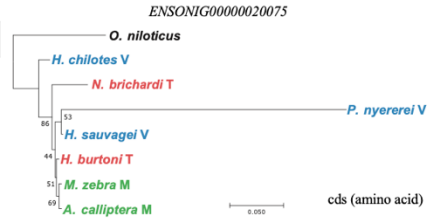
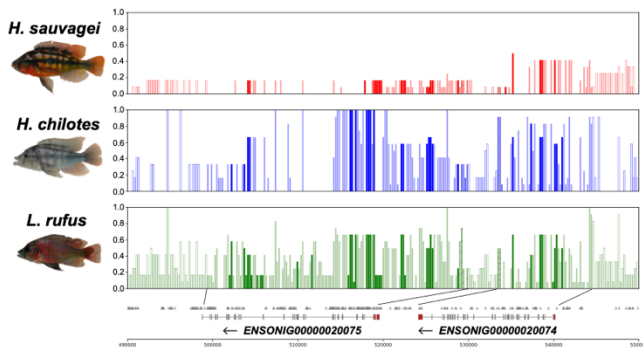
fgb (XP_003455581.2 fibrinogen beta chain [Oreochromis niloticus])



(h) TRPM4遺伝子

ENSONIG00000020075 (XP_019218186.1 transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 [Oreochromis niloticus])

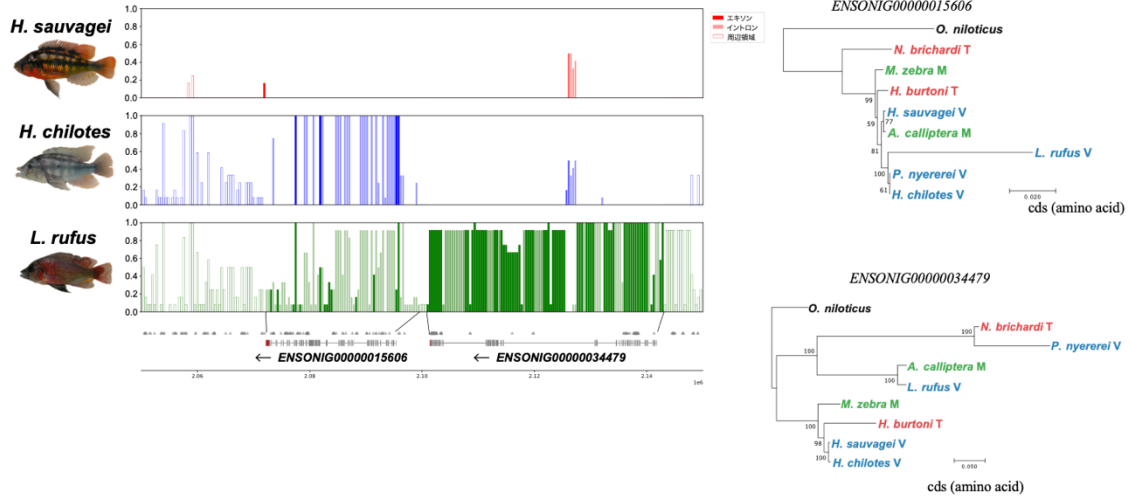
ENSONIG00000020074 (XP_019218187.1 transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 [Oreochromis niloticus])



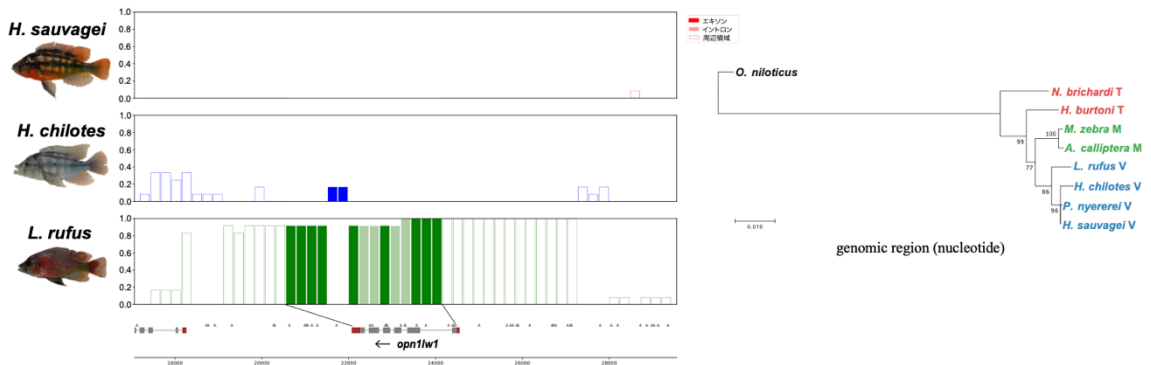
(i) mucin遺伝子

ENSONIG00000015606遺伝子 (XP_025764249.1 mucin-5AC-like [Oreochromis niloticus])

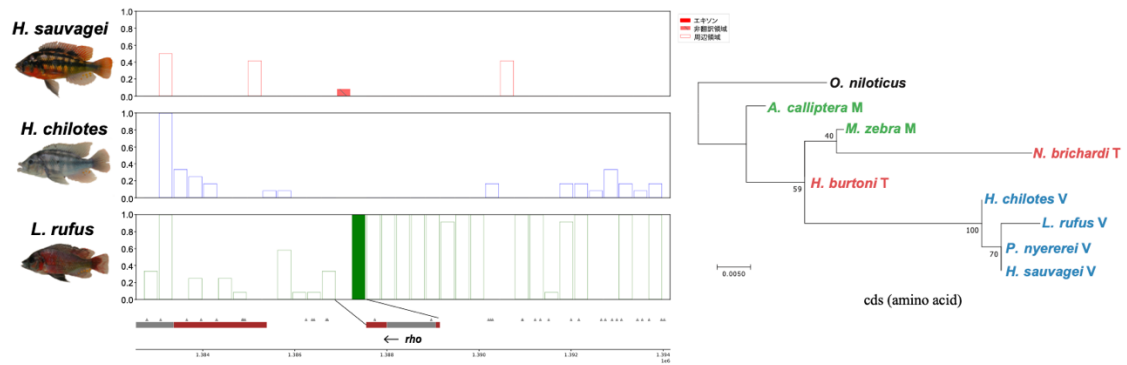
ENSONIG00000034479遺伝子 (XP_019211462.1 mucin-2 [Oreochromis niloticus])



(j) *opn1lw1* (LWS) 遺伝子 (XP_003442677.1 red-sensitive opsin [Oreochromis niloticus])



(k) *rho* (RH1) 遺伝子 (XP_003439053.1 rhodopsin [Oreochromis niloticus])



(l) *col6a6* 遺伝子

col6a6_a (XP_019219953.1 collagen alpha-6(VI) chain isoform X1 [Oreochromis niloticus])

col6a6_b (XP_019219949.1 collagen alpha-6(VI) chain isoform X1 [Oreochromis niloticus])

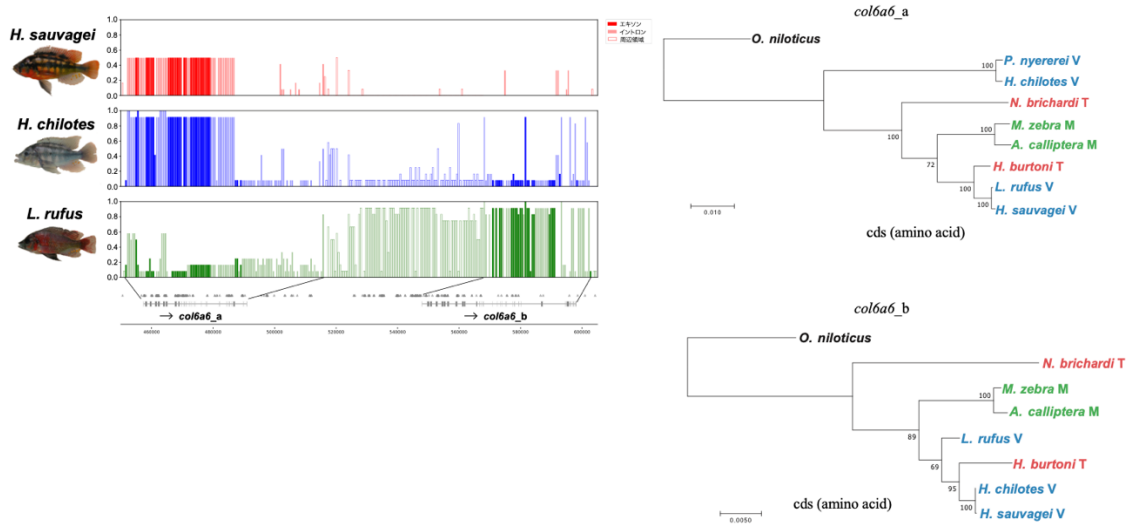
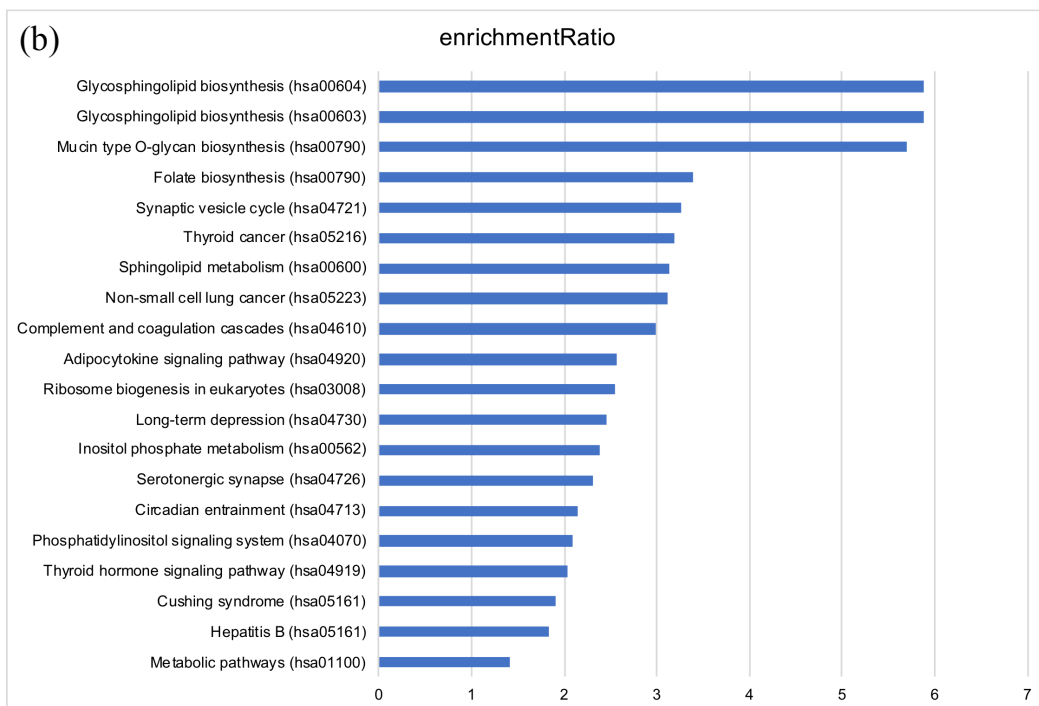
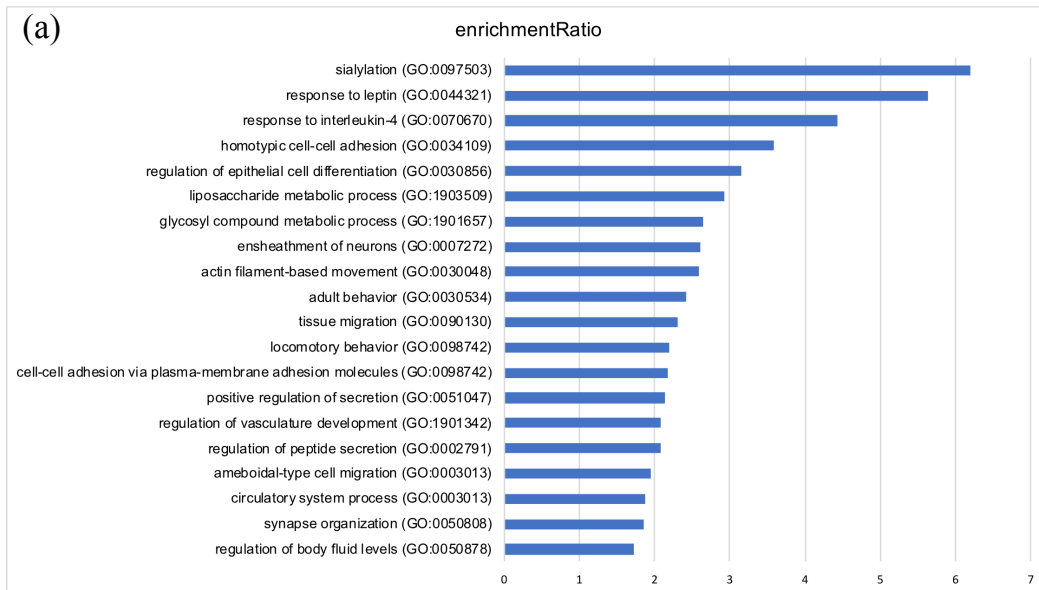


Fig. 10 適応候補遺伝子の遺伝的分化

本研究により単離された適応候補遺伝子のうち 18 個の遺伝子について種ごとのアレル頻度およびアレル多様性の起源の推定に用いた分子系統樹。アレル頻度図では、横軸に SNP、縦軸に SNP ごとの変異アレル頻度を示している。SNP ごとのアレル頻度は *H. sauvagei* において多数を占める major allele に対する変異アレル頻度を示す。図の下部にはゲノム上の SNP の位置を三角プロットで表した。遺伝子のエキソン領域は灰色の太線で示し、非翻訳領域は茶色の太線で示した。分子系統樹において青色で示した 4 種(種名後に V を追記)はヴィクトリア湖に生息するシクリッドであり、ヴィクトリア湖シクリッドのみでブートストラップ値 60 以上で単系統とならない遺伝子に関して、SGV 由来の分化アレルを持つ遺伝子であるとみなした。種名後に T を追記した種はタンガニーカ湖シクリッド、M を追記した種はマラウイ湖シクリッドを表す。各分子系統樹について解析に用いた配列の種類も記載した。c ds (amino acid) はコーディング領域のアミノ酸配列、c ds (nucleotide) はコーディング領域の塩基配列、g enomic region (nucleotide) はイントロンや非翻訳領域を含めた遺伝子領域の塩基配列を用いたことを意味する。(a) *inhbb* 遺伝子、(b) *abat* 遺伝子、(c) *asip2b* 遺伝子、(d) *ctsl* 遺伝子、(e) *slitrk6* 遺伝子、(f) TAAR 遺伝子 3 コピー、(g) フィブリノゲンをコードする遺伝子である *fga* 遺伝子および *fgb* 遺伝子、(h) TRPM4 遺伝子 2 コピー、(i) 2 つの mucin 遺伝子、(j) *opn1hw1* (LWS) 遺伝子、(k) *rho* (RH1) 遺伝子、(l) 2 つの *col6a6* 遺伝子。



したアレルを持つ適応候補遺伝子の GO enrichment 解析

単離した適応候補遺伝子を(a)Biological Process と(b)Pathway カテゴリーにおいてどのような機能を持つ遺伝子が多いか調べた。それぞれ上位 20 番目までの GO を示した。

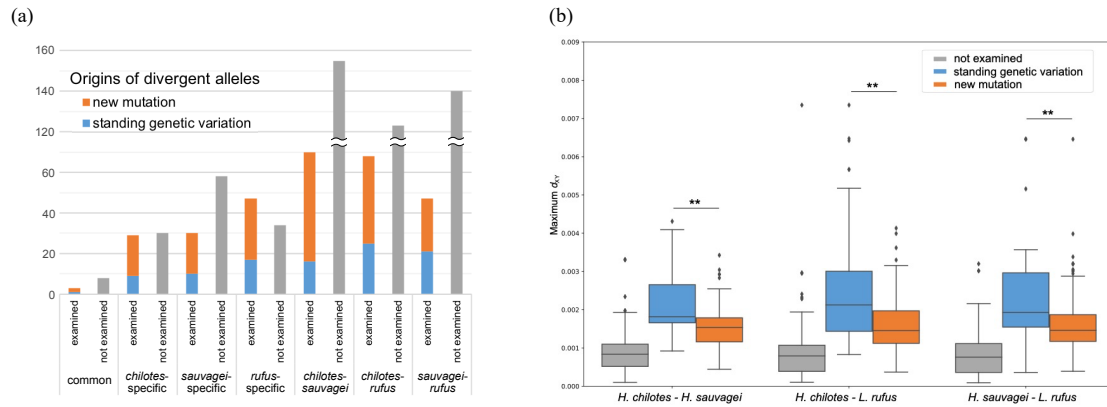


Fig. 12 SGV 由来の分化アリルを持つ遺伝子

(a)分子系統解析により分化アリルの起源がヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より前にさかのぼるとされた遺伝子の数を示す。(b) 分化アリルの起源が古い遺伝子の推定は F_{ST} だけでなく d_{XY} 値が高い領域に存在する遺伝子を優先して行われた。適応候補遺伝子は SGV 由来の分化アリルを持つ遺伝子と new mutation 由来の分化アリルを持つ遺伝子に区別され、それぞれの遺伝子カテゴリーごとに d_{XY} の最大値の分布を比較した。さらに、分布が有意に異なるかどうかをマン・ホイットニーの U 検定により検証し、 $p < 0.001$ で有意に差があるとされた比較ペアを**で示した。

Species	Sample	Sampling Point	LWS													Alleles	RH1								Alleles					
			2	6	3	3	6	7	7	9	1	2	2	2	2		2	2	3	3	4	9	0	5		1	1	6	6	9
			6	2	1	7	8	7	9	1	6	2	6	7	0		5	2	7	3	2	5	4	8		3	7	3	9	8
<i>H. chilotes</i>	HC01	Nyegezi	A	V	S	A	A	A	V	Y	Y	L	I	F	A	C	T	I	H	S	C	V	V/I	G	L	T	I	A	A	r104V / r104I
	HC02	Chamagati Island	H	r104V
	HC03	Makobe Island	P	r104I
	HC04	Kilimo Island	F	T	I	H	r104V / r104I
	HC05	Chamagati Island	H	.	.	.	V/I	r104V / r104I
	HC06	Chamagati Island	H	.	.	.	V/I	r104V / r104I
<i>H. sauvagei</i>	HS07	Bwiru Peninsula	H	r104I	
	HS08	Nyegezi	H	r104I	
	HS09	Chamagati Island	H	r104V	
	HS10	Chamagati Island	H	r104I	
	HS11	Chamagati Island	H	.	.	.	V/I	r104V / r104I	
	HS12	Chamagati Island	H	r104I	
<i>L. rufus</i>	LR13	Nyaruwambu	V	I	.	G	G	S	F	F	.	I	.	I	S	.	V	new	N	new	
	LR14	Nyaruwambu	V	I	.	G	G	S	F	F	.	I	.	I	S	.	V	new	N	new	
	LR15	Nyegezi	V	I	.	G	G	S	F	F	.	I	.	I	S	.	V	new	N	new	
	LR16	Kilimo Island	V	I	.	G	G	S	F	F	.	I	.	I	S	.	V	new	N	new	
	LR17	Kilimo Island	V	I	.	G	G	S	F	F	.	I	.	I	S	.	V	new	N	new	
	LR18	Nyaruwambu	V	V/I	.	A/GA/GA/S	V/F	Y/F	.	L/I	.	F/I	S/T	C/I	.	I/V	.	V	new	N	new

Fig. 13 LWS 遺伝子と RH1 遺伝子の分化アレル

視覚関連遺伝子である LWS 遺伝子と RH1 遺伝子の個体ごとのアレルのアミノ酸配列。"Alleles"は Terai et al. (2017)で記されているアレルタイプ名を記載し、ヴィクトリア湖シクリッドで報告されていないアレルに関しては new とした。

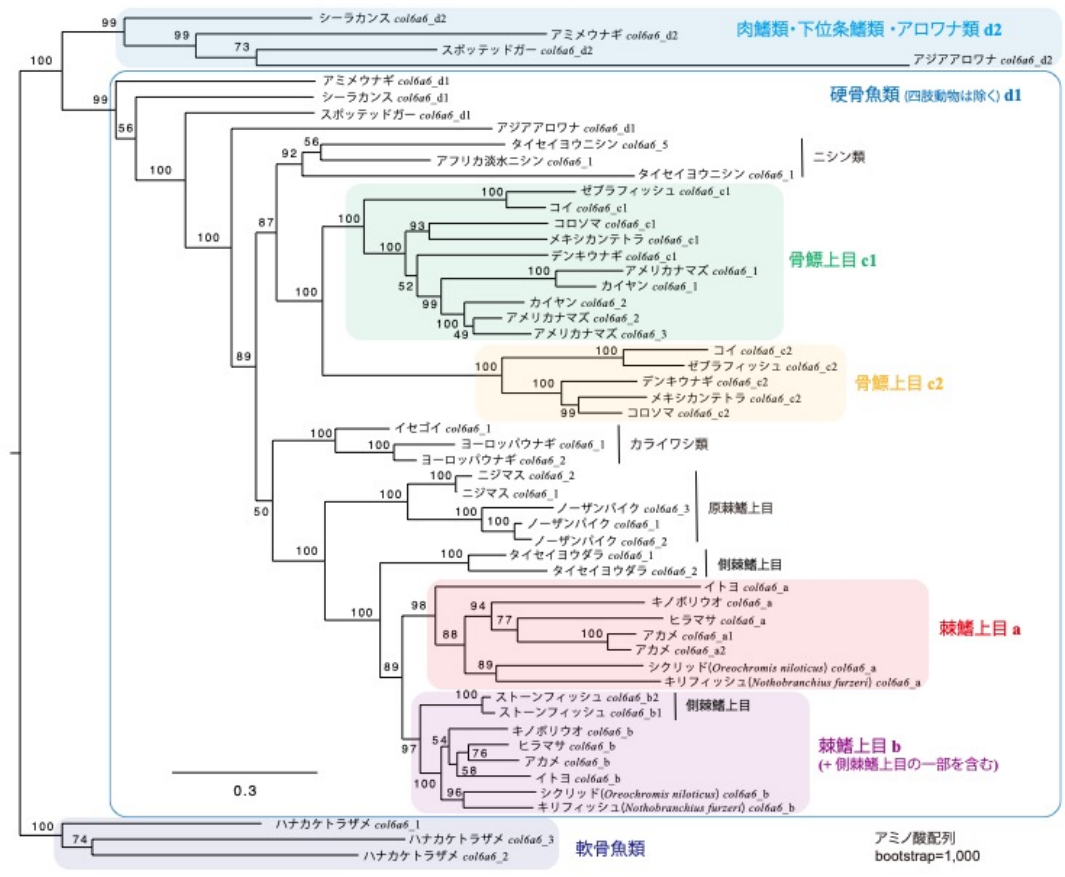




















Fig. 14 広範な魚類における *col6a6* 遺伝子の分子系統樹

SGV 由来の長い分化アレルを持つ *col6a6_a* 遺伝子および *col6a6_b* 遺伝子において、これらが魚類の進化過程においていつ獲得されたかどうか調べるために、軟骨魚類以降の広範な魚類 26 種の *col6a6* 遺伝子のアミノ酸配列から RAxML(Stamatakis 2014)を用いてブートストラップ 1,000 回で分子系統推定を行なった。分子系統樹から同じ遺伝的クラスターに属すると考えられる硬骨魚類以降の *col6a6* 遺伝子に関しては便宜上 a、b、c1、c2、d1、d2 の 6 種類に分けた。軟骨魚類との分岐後、*col6a6* 遺伝子は遺伝子重複により d1 と d2 の 2 コピーを獲得し、さらに d1 から遺伝子重複・欠失を繰り返しながら、骨鰭上目では c1、c2、側棘鰭上目および棘鰭上目では a、b を獲得したと推定される。

Table 1 解析に用いた 3 種各 6 個体の情報

<i>Haplochromis chilotes</i>					<i>Haplochromis sauvagei</i>					<i>Lithochromis rufus</i>				
Photo	Individual Name	Locality	Bottom Substrate	Average Mapping Coverage	Photo	Individual Name	Locality	Bottom Substrate	Average Mapping Coverage	Photo	Individual Name	Locality	Bottom Substrate	Average Mapping Coverage
	HC01	Nyegezi	Rock	27.7		HS07	Bwiru Peninsula	Rock	19.2		LR13	Nyaruwambu	Vegetation	21.9
	HC02	Chamagati Island	Rock	29.4		HS08	Nyegezi	Rock	23.8		LR14	Nyaruwambu	Vegetation	22.5
	HC03	Makobe Island	Rock	20		HS09	Chamagati Island	Rock	20.9		LR15	Nyegezi	Rock	21.4
	HC04	Kilimo Island	Rock	26.6		HS10	Chamagati Island	Rock	23.6		LR16	Kilimo Island	Rock	23.1
	HC05	Chamagati Island	Rock	30.8		HS11	Chamagati Island	Rock	24.4		LR17	Kilimo Island	Rock	22.9
	HC06	Chamagati Island	Rock	21.6		HS12	Chamagati Island	Rock	21.1		LR18	Nyaruwambu	Vegetation	23

第 2 章のゲノム解析に用いたヴィクトリア湖シクリッド 3 種各 6 個体の個体データ。全ての個体について写真および解析時の名前、サンプルリングポイント、生息環境、算出されたマッピングカバレッジの平均を記載した。

Table 2 分化アリの起源推定に用いたアセンブリ配列データ

種名	生息地	アセンブリ配列名	アセンブリ配列のN50	発表論文
<i>Oreochromis niloticus</i>	東アフリカの河川	Orenil1.0	2,802,423	Brawand et al. (2014)
<i>Neolamprologus brichardi</i>	タンガニーカ湖	NeoBri1.0	4,430,025	Brawand et al. (2014)
<i>Haplochromis burtoni</i>	タンガニーカ湖の周辺河川	AstBur1.0	1,194,190	Brawand et al. (2014)
<i>Astatotilapia calliptera</i>	マラウイ湖	fAstCal1.2	38,669,361	Malinsky et al. (2018)
<i>Maylandia zebra</i>	マラウイ湖	M_zebra_UMD2a	32,660,920	Brawand et al. (2014)
<i>Haplochromis sauvagei</i>	ヴィクトリア湖	Hsau_1.0	1,207,037	Nakamura et al. (2021)、本論文第2章
<i>Pundamilia nyererei</i>	ヴィクトリア湖	PunNye1.0	2,525,540	Brawand et al. (2014)
<i>Haplochromis chilotes</i>	ヴィクトリア湖	Hchi_1.0	1,540,223	Nakamura et al. (2021)、本論文第2章
<i>Lithochromis rufus</i>	ヴィクトリア湖	Lruf_1.0	1,164,211	Nakamura et al. (2021)、本論文第2章

適応候補遺伝子が持つ分化アリの起源の推定に用いた東アフリカンシクリッド9種のアセンブリ配列データ。種名に加え、生息地やアセンブリ配列情報および発表された論文について記載した。

Table 3 SGV 由来の分化アレルを持つ遺伝子リスト

NCBI name	Ensembl name	Differentiated type	Allele Origin
XP_014264615.2 canalicular multispecific organic anion transporter 1 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005000431	chilotos_specific	before LT
XP_014266774.1 cytochrome P450 2K1 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005012708	chilotos_specific	before LT
XP_019209781.1 low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor II isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000009609	chilotos_specific	before LT
XP_003453258.1 cathepsin L1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ctsl1 (1 of many)	HC-HS	before LT
XP_023008116.2 interferon-induced protein 44-like isoform X1 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005008301	HC-HS	before LT
XP_025756607.1 immunoglobulin lambda-1 light chain isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSMZEG00005011534	HC-HS	before LT
XP_024660446.1 B-cadherin [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005018585	HC-HS	before LT
XP_024654935.1 uncharacterized protein LOC101476923 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005020390	HC-HS	before LT
XP_019218186.1 transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000020075	HC-HS	before LT
XP_019219953.1 collagen alpha-6(VI) chain isoform X1 [Oreochromis niloticus]	COL6A6_a	HC-LR	before LT
XP_024659051.1 intestinal mucin-like protein [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005001611	HC-LR	before LT
XP_004556710.1 5-hydroxytryptamine receptor 3A isoform X1 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005004322	HC-LR	before LT
XP_012774329.1 claudin-4-like [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005024782	HC-LR	before LT
XP_025760617.1 deleted in malignant brain tumors 1 protein-like [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000000324	HC-LR	before LT
XP_013130919.2 uncharacterized protein LOC102080461 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000037893	HC-LR	before LT
XP_003459761.2 lysosome-associated membrane glycoprotein 2 [Oreochromis niloticus]	sich211-212k18.7	HC-LR	before LT
XP_019208588.1 poly [ADP-ribose] polymerase 14 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	sich211-219a4.3	HS-LR	before LT
XP_003450323.1 dynein subunit 3 [Oreochromis niloticus]	dctn3	rufus_specific	before LT
XP_025753024.1 titin-like [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000028760	rufus_specific	before LT
XP_019211462.1 mucin-2 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000034479	rufus_specific	before LT
XP_024657872.1 E3 ubiquitin/ISG15 ligase TRIM25-like [Maylandia zebra]	ENSONIG000000041810	rufus_specific	before LT
XP_005466907.1 general transcription factor IIF subunit 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	gtf2f2a	rufus_specific	before LT
XP_024658101.1 transmembrane protease serine 9 [Maylandia zebra]	zgc:100868	rufus_specific	before LT
XP_019207152.1 interferon-induced protein 44 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000013227	sauvagei_specific	before LT
XP_025765652.1 phytyl-CoA hydroxylase-interacting protein-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000019102	sauvagei_specific	before LT
XP_005475210.1 contactin-associated protein-like 5 [Oreochromis niloticus]	cntnap5a	HC-HS	before LT
XP_005474838.1 protein PROCA1 [Oreochromis niloticus]	proca1	HS-LR	before LT
XP_003441540.1 microspherule protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	mcrs1	sauvagei_specific	before LT
XP_025764249.1 mucin-5AC-like [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000015606	chilotos_specific	before LM
XP_003455098.2 arrestin domain-containing protein 1 [Oreochromis niloticus]	arrdc1a	HC-LR	before LM
XP_014264957.2 C-type lectin domain family 4 member G-like [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005009464	HC-LR	before LM
XP_013119752.1 toll-like receptor 2 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG000000014114	HS-LR	before LM
XP_005472754.2 FK506-binding protein 4 [Oreochromis niloticus]	zgc:174935	HS-LR	before LM
XP_004569146.1 dnaJ homolog subfamily A member 3, mitochondrial [Maylandia zebra]	dnaj3b	chilotos_specific	before LM
XP_019204193.1 calcium/calmodulin-dependent protein kinase type II delta 1 chain isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSMZEG00005024927	chilotos_specific	before LM
XP_003454799.1 complement C1q tumor necrosis factor-related protein 3 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG000000007831	HC-HS	before LM
XP_012772379.1 vitamin D 25-hydroxylase [Maylandia zebra]	cyp2r1	HC-LR	before LM
XP_003452751.1 CD209 antigen-like protein E [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000006977	HC-LR	before LM
XP_019208668.1 succinate-hydroxymethylgluturate CoA-transferase isoform X1 [Oreochromis niloticus]	suget	HC-LR	before LM
XP_004550244.1 claudin-4 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005024780	HS-LR	before LM
XP_024659284.1 ras-related protein Rab-26 [Maylandia zebra]	ENSONIG00000019635	HS-LR	before LM
XP_005456145.1 platelet endothelial aggregation receptor 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	pear1	HS-LR	before LM
XP_005449550.3 homeobox protein pnx-like [Oreochromis niloticus]	pnx	sauvagei_specific	before LM
XP_003448945.1 potassium voltage-gated channel subfamily H member 8 [Oreochromis niloticus]	kenh8	HC-HS	before LM
XP_019207464.1 aryl hydrocarbon receptor isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000041277	HC-LR	before LM
XP_004568754.1 protein Lines homolog 1 [Maylandia zebra]	lins1	HS-LR	before LM
XP_024654919.1 adhesion G protein-coupled receptor F4-like [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005020101	chilotos_specific	before HB
XP_014266397.2 uncharacterized protein LOC106675719 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005020305	chilotos_specific	before HB
XP_004550586.1 sodium/bile acid cotransporter [Maylandia zebra]	slc10a1 (1 of many)	chilotos_specific	before HB
XP_024658389.1 alpha-1,3-galactosyltransferase 2 isoform X1 [Maylandia zebra]	A3GALT2	HC-HS	before HB
XP_023009658.2 uncharacterized protein LOC101476357 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005020436	HC-HS	before HB
XP_019218187.1 transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000020074	HC-HS	before HB
XP_014265601.1 C-C chemokine receptor type 6-like [Maylandia zebra]	cer6b (1 of many)	HC-LR	before HB
XP_019201035.1 leukotriene B4 receptor 1-like [Oreochromis niloticus]	ENSMZEG00005014651	HC-LR	before HB
XP_012779965.3 poly [ADP-ribose] polymerase 14 [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005021082	HC-LR	before HB
XP_025757175.1 membrane cofactor protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSMZEG00005022254	HC-LR	before HB
XP_019211762.1 uncharacterized protein LOC100710538 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000013388	HC-LR	before HB
XP_012776049.1 leucine-rich repeat-containing protein 59 isoform X1 [Maylandia zebra]	lrc59	HC-LR	before HB
XP_019209684.1 LOW QUALITY PROTEIN: solute carrier family 12 member 3 [Oreochromis niloticus]	slc12a10.1	HC-LR	before HB
XP_005477412.1 ankyrin repeat domain-containing protein 66 [Oreochromis niloticus]	ANKRD66	HS-LR	before HB
XP_003438954.1 CD63 antigen [Oreochromis niloticus]	cd63	HS-LR	before HB
XP_014268336.2 TRPM8 channel-associated factor homolog [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005005638	HS-LR	before HB
XP_024660658.1 TRPM8 channel-associated factor homolog [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005005677	HS-LR	before HB
XP_013130508.1 C-type lectin domain family 12 member B isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000002260	HS-LR	before HB
XP_005454335.1 cadherin-related family member 5-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	cdhr5b	rufus_specific	before HB
XP_019219949.1 collagen alpha-6(VI) chain isoform X1 [Oreochromis niloticus]	COL6A6_b	rufus_specific	before HB
XP_024661068.1 trace amine-associated receptor 13c-like [Maylandia zebra]	ENSMZEG00005020410	rufus_specific	before HB
XP_013130765.1 solute carrier family 22 member 4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000006894	rufus_specific	before HB
XP_013119750.1 fibrinogen alpha chain [Oreochromis niloticus]	fga	rufus_specific	before HB
XP_003455581.2 fibrinogen beta chain [Oreochromis niloticus]	fgb	rufus_specific	before HB
XP_003455534.1 peptidyl-prolyl cis-trans isomerase [Oreochromis niloticus]	ppiab	rufus_specific	before HB
XP_003443845.1 CMP-N-acetylneuraminate-beta-galactosamide-alpha-2,3-sialyltransferase 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSMZEG00005001853	sauvagei_specific	before HB
XP_005456534.1 phospholipid phosphatase-related protein type 4 [Oreochromis niloticus]	plppr4b	sauvagei_specific	before HB
XP_003439924.1 secretory carrier-associated membrane protein 4 [Oreochromis niloticus]	scamp4	HC-LR	before HB
XP_003459235.3 NLR family CARD domain-containing protein 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000007801	HS-LR	before HB
XP_005476125.1 lysine-specific demethylase 4A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	kdm4ab	HS-LR	before HB
XP_004550242.1 methyltransferase-like protein 27 [Maylandia zebra]	mett127	HS-LR	before HB

NCBI name	Ensembl name	Differentiated type	Allele Origin
XP_005474831.1 uncharacterized protein LOC100697759 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	zgc:174895	HS-LR	before HB
XP_005460205.1 uncharacterized protein LOC100691302 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000013644	rufus_specific	before HB
XP_005476790.1 ATP-sensitive inward rectifier potassium channel 10 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	KCNJ10	rufus_specific	before HB
XP_005455223.1 cytosolic 5'-nucleotidase 3A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	nt5c3a	rufus_specific	before HB
XP_003439146.1 solute carrier family 13 member 3 [Oreochromis niloticus]	slc13a3	rufus_specific	before HB
XP_003449539.1 APOBEC1 complementation factor isoform X1 [Oreochromis niloticus]	a1ef	sauvagei_specific	before HB
XP_004568752.1 ceramide synthase 3 [Maylandia zebra]	cers3a	sauvagei_specific	before HB
XP_003441521.1 signal transducer and activator of transcription 1-alpha/beta isoform X1 [Oreochromis niloticus]	stat2	sauvagei_specific	before HB
XP_005454886.2 complement C3 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000016456	common	before HB
XP_005474867.1 N-acetyllactosaminide beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 2 [Oreochromis niloticus]	b3gn2l	HC-HS	before HB
XP_003455104.1 heat shock cognate 71 kDa protein [Oreochromis niloticus]	hspa8b	HC-HS	before HB
XP_005477906.1 UDP-galactose translocator isoform X1 [Oreochromis niloticus]	slc35a2	HC-HS	before HB
XP_003442614.1 E3 ubiquitin-protein ligase CHIP [Oreochromis niloticus]	STUB1	HC-HS	before HB
XP_013128485.2 multidrug and toxin extrusion protein 1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000003414	HC-LR	before HB
XP_013129827.1 testis-expressed protein 26 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ENSONIG00000005507	HC-LR	before HB
XP_025761322.1 uncharacterized protein LOC100692382 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	si:ch73-132f6.5	HC-LR	before HB
XP_003456112.1 WD repeat-containing protein 54 [Oreochromis niloticus]	wdr54	HC-LR	before HB
XP_003451607.1 dnaJ homolog subfamily C member 15 [Oreochromis niloticus]	dnajc15	HS-LR	before HB
XP_003457538.1 2'-deoxynucleoside 5'-phosphate N-hydrolase 1 [Oreochromis niloticus]	dnph1	HS-LR	before HB
XP_005472753.1 uncharacterized protein LOC102081280 [Oreochromis niloticus]	si:dkey-87o1.2	HS-LR	before HB
XP_025761298.1 tripartite motif-containing protein 2 [Oreochromis niloticus]	trim2b	HS-LR	before HB
XP_013129433.1 neutral ceramidase isoform X1 [Oreochromis niloticus]	asah2	sauvagei_specific	before HB

分子系統解析によって推定された分化アリの起源がヴィクトリア湖シクリッドの適応放散より前にさかのぼる遺伝子リスト。"NCBI name"は参照配列におけるアノテーションに用いた NCBI から取得した遺伝子を指し、"Ensembl name"は HDR をクエリとしたホモロジー検索により検出された Ensembl に登録されていた遺伝子名を指す。"Differentiated type"は HDR として検出された種ペアを表す。"Allelic Origin"は各遺伝子の分化アリの起源を示し、before LT はタンガニーカ湖の Lamprologini 族の分岐前、before HB はタンガニーカ湖の河川進出した Haplochromini 族の分岐前、before LM はマラウイ湖シクリッドの適応放散前にその起源を持つことを意味する。

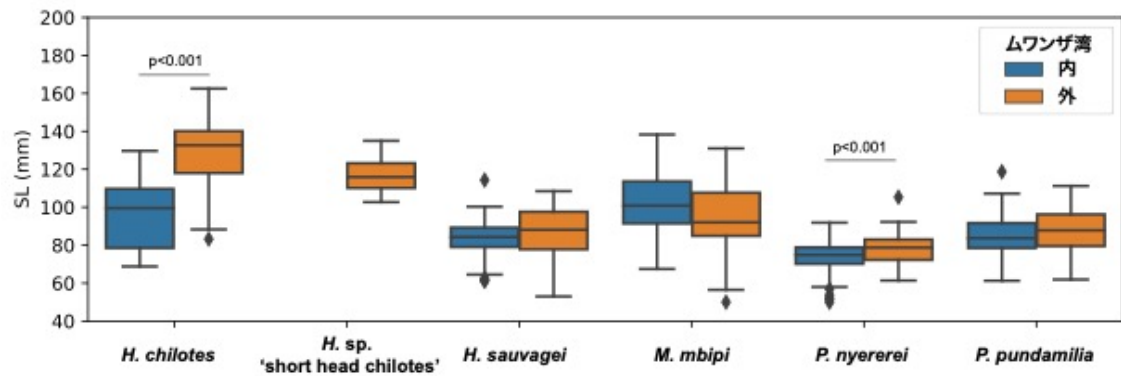


Fig. 15 ムワンザ湾湾内—湾外間のシクリッドの体長比較
シクリッド種のオスの体長をヴィクトリア湖のムワンザ湾を基準に比較した。Welch's t 検定により体長の平均値に有意な差があるか調べた。

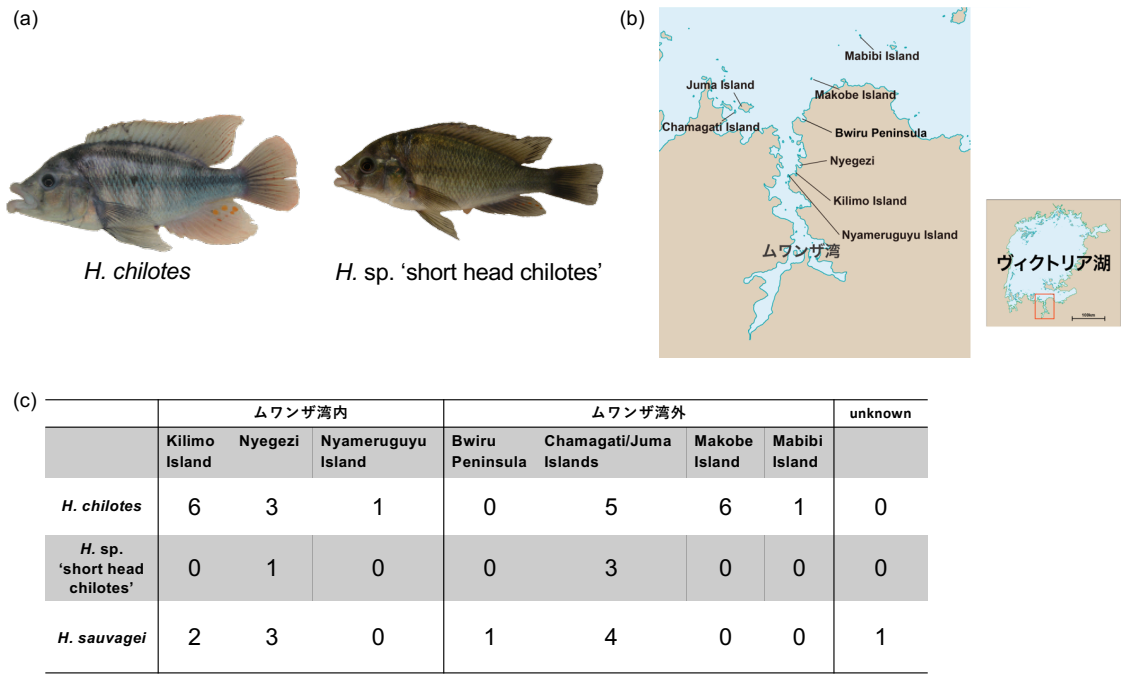


Fig. 16 *H. chilotes* 分集団の集団遺伝解析に用いた個体データ
 (a)*H. chilotes*、*H. sp. 'short head chilotes'*、祖先種である *H. sauvagei* の写真。(b)ヴィクトリア湖のサンプリングポイント。(c)サンプリングポイントで採取された個体数。

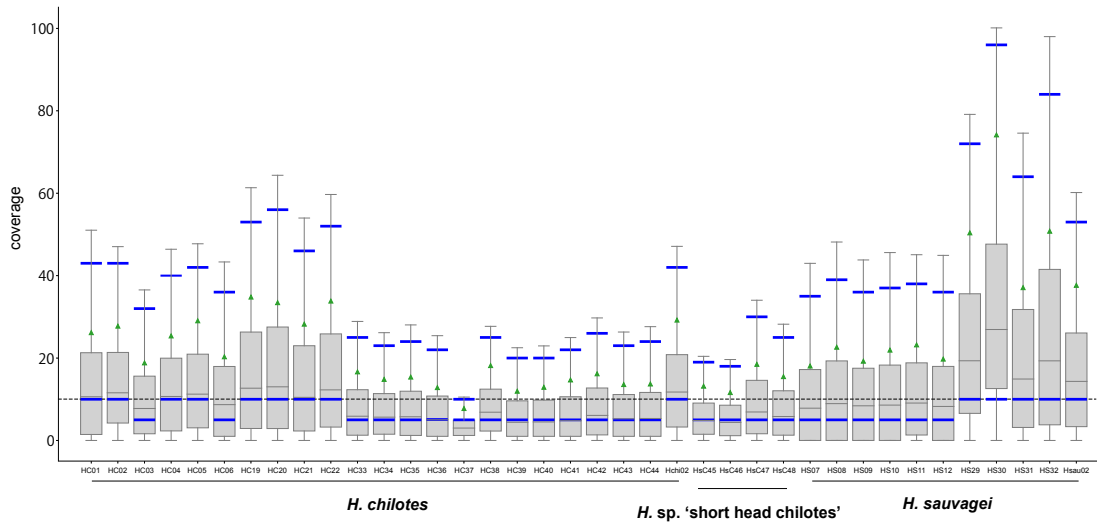


Fig. 17 マッピングカバレッジ

bwa-mem による *H. chilotes* のアセンブリ配列へのマッピング結果を評価するために samtools のオプション”depth”を用いて個体ごとにサイトごとに reads の貼り付いた数（マッピングカバレッジ）を調べた。カバレッジが極めて高い場合は繰り返し配列がマップされている可能性が高く、低い場合は精度の悪いリードがマップされていると推測される。個体ごとの平均値は緑の三角形のプロットで示した。破線は coverage=10 を示す。本解析では青線に挟まれる範囲のカバレッジが得られた変異のみを個体ごとに抽出した。

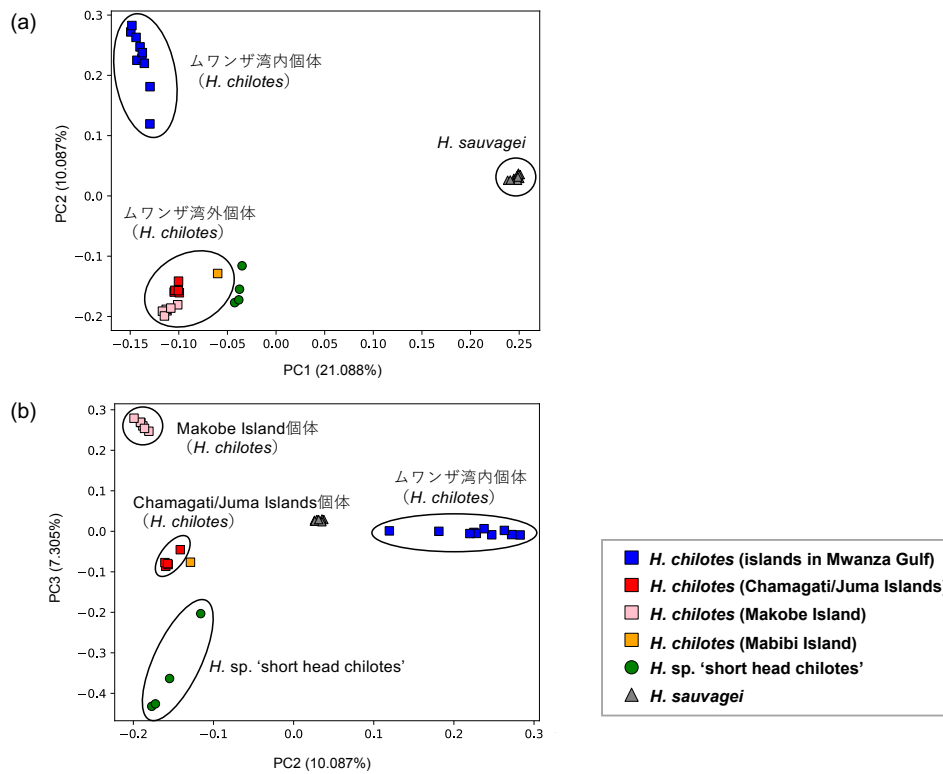


Fig. 18 唇の厚いシクリッド2種の主成分分析

肥厚した唇が特徴的な *H. chilotes* 22 個体(四角プロット)、*H. sp.* 'short head chilotes' 4 個体 (丸プロット)、およびアウトグループである *H. sauvagei* 11 個体 (三角プロット) から得られた多型データから遺伝的な個体のクラスタリングを主成分分析により実施した。連鎖不平衡の関係にない maf 5%以上の条件を満たした 96,148 SNPs を入力データとして用いた。(a)PC1-PC2。(b)PC2-PC3。

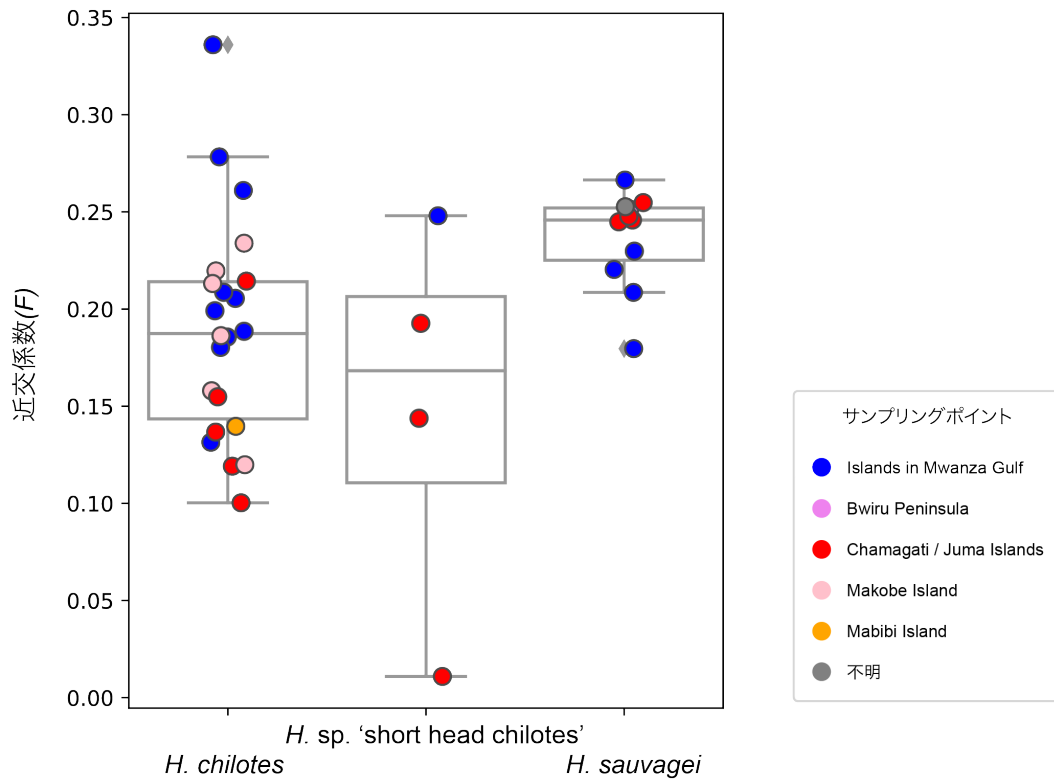


Fig. 19 近交係数

H. chilotes 22 個体、*H. sp. 'short head chilotes'* 4 個体、およびアウトグループである *H. sauvagei* 11 個体において計算された近交係数。正の値をとるとき、個体のホモ接合度、負の値をとるとき、個体のヘテロ接合度が高いことを示している。負の値をとる個体は遺伝的に離れた個体と最近交雑を経験した可能性がある。

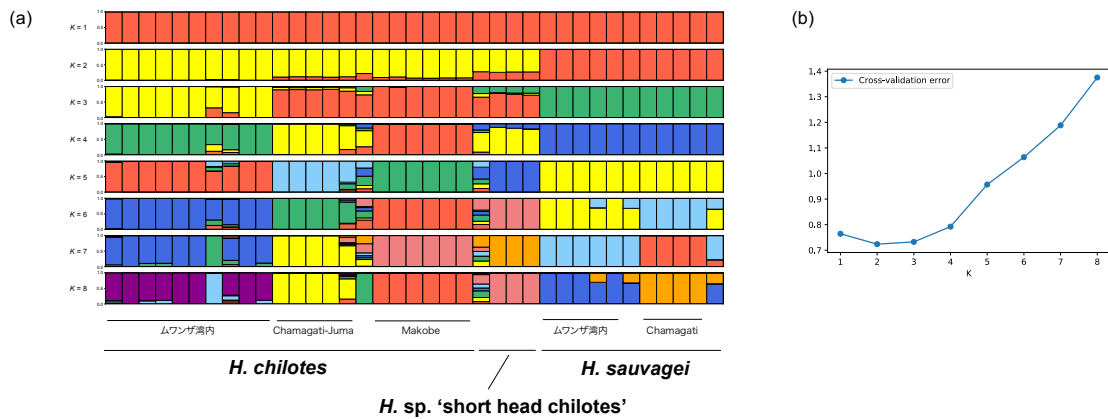


Fig. 20 ADMIXTURE 解析結果

全体が K 個の遺伝的要素から構成されると仮定した場合に、各個体がどのような要素の組み合わせで構成されるのかを最尤法を用いて、*H. chilotes*、*H. sp. 'short head chilotes'*、*H. sauvagei* からなる多型データから抽出した 96,148 LD-pruned SNPs をもとに推定した。(a)横軸に個体、縦軸に個体ごとの遺伝的要素の構成比率を示す。(b) K の値ごとの error rate の変化を表す。

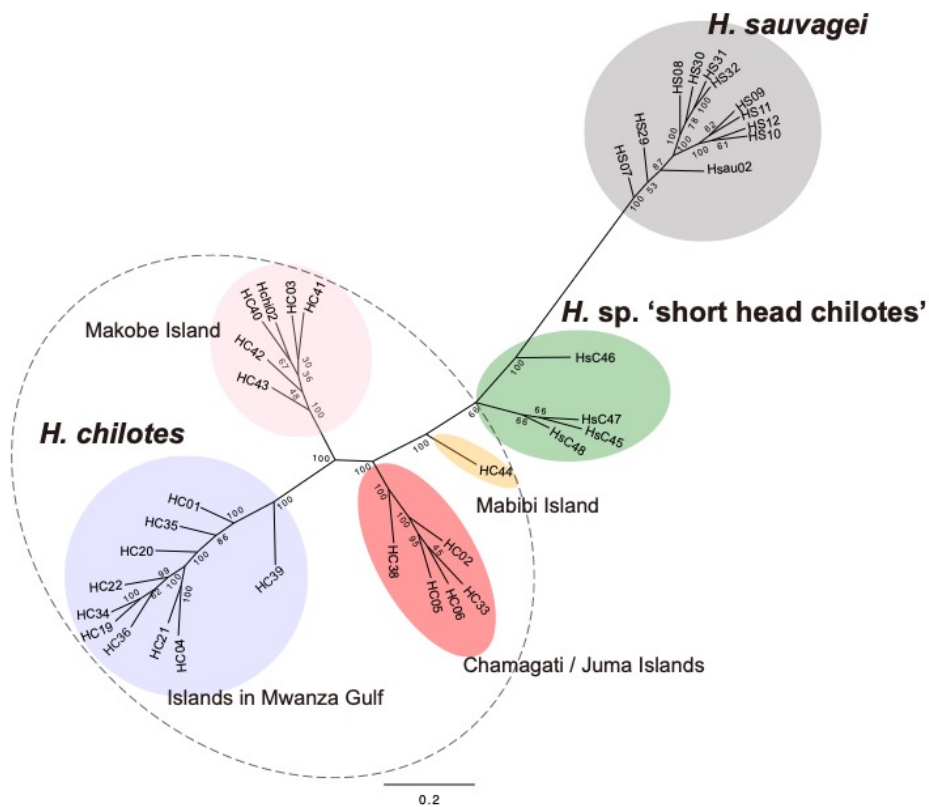
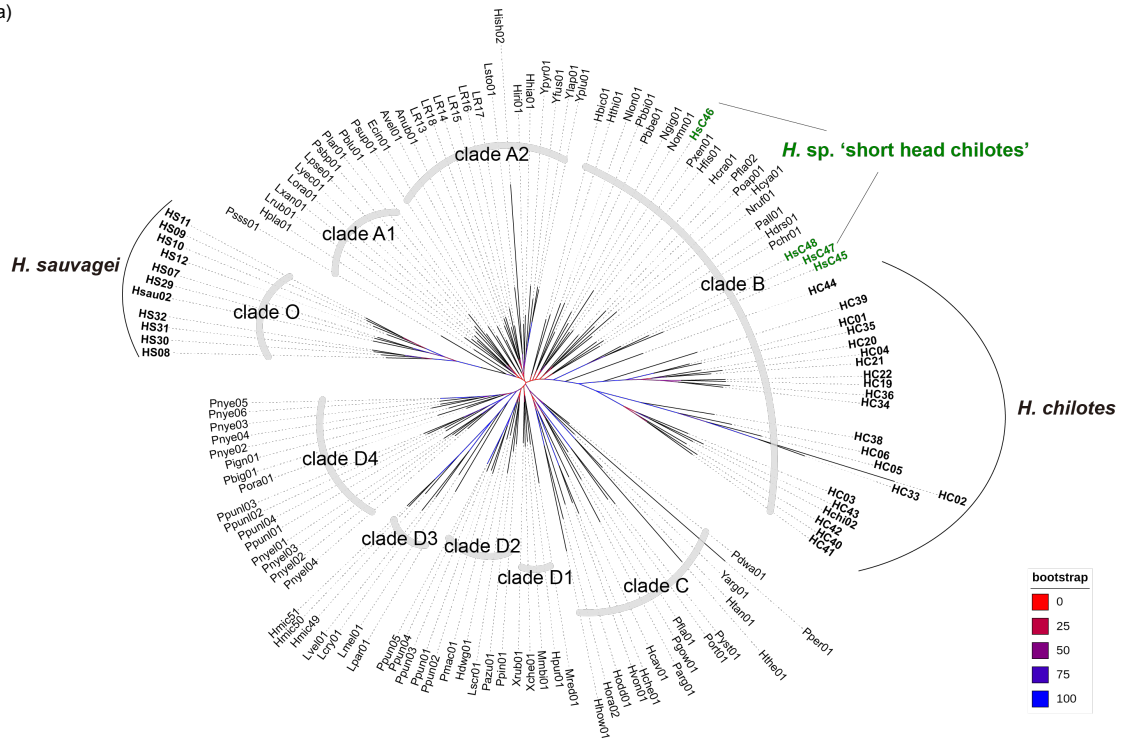


Fig. 21 *H. chilotes*、*H. sp. 'short head chilotes'*、*H. sauvagei* の分子系統樹

H. chilotes、*H. sp. 'short head chilotes'*、*H. sauvagei* における 86,354 LD-pruned SNPs からなる多型データをもとに raxml-ng(Kozlov et al. 2019)を用いて bootstrap 500 回で分子系統推定を行なった。

(a)



(b)

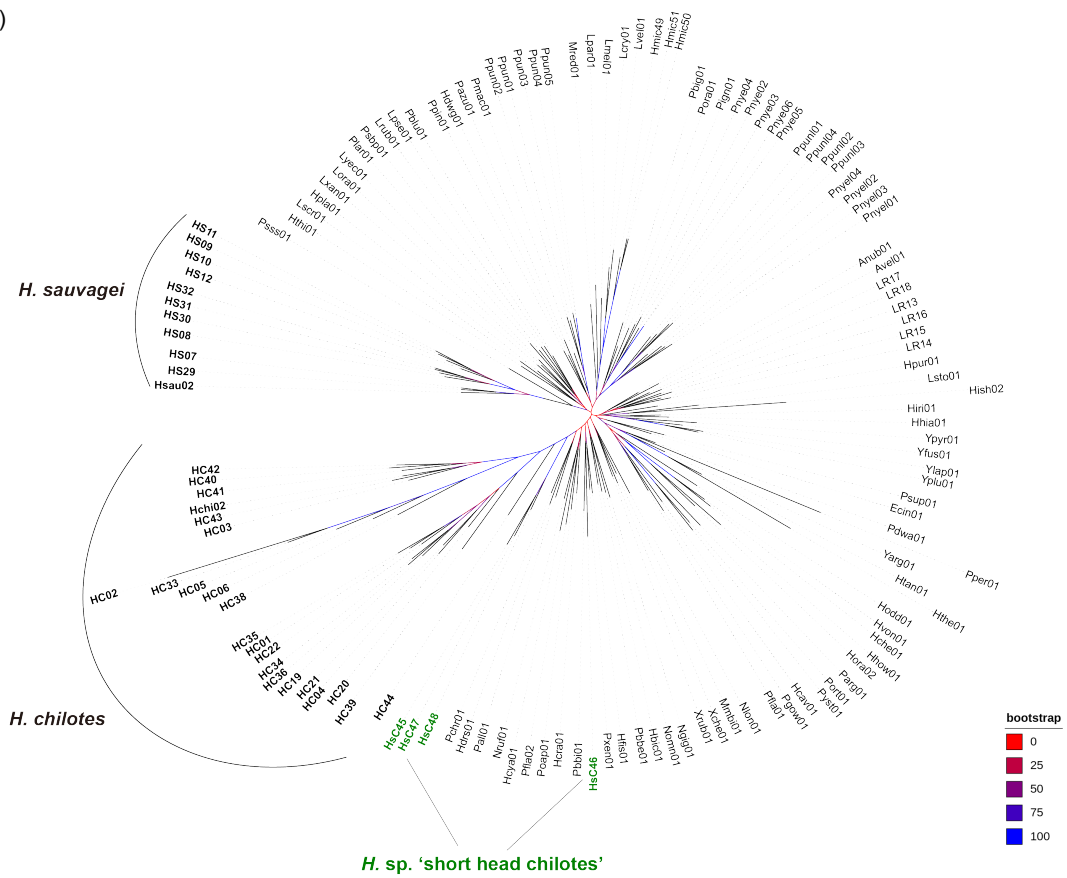
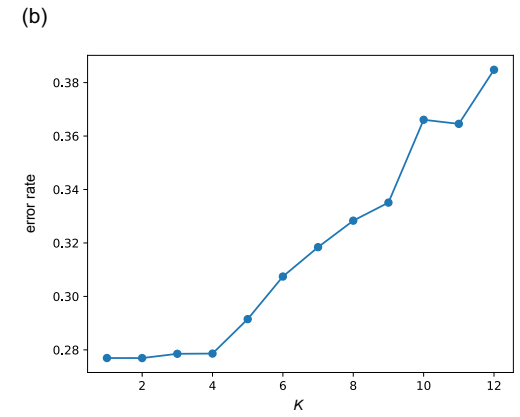


Fig. 22 ヴィクトリア湖シクリッド 81 種 136 個体の分子系統樹

H. chilotes、*H. sp.* ‘short head chilotes’を含むヴィクトリア湖シクリッド 81 種 136 個体から得た多型データに対し、raxml-ng(Kozlov et al. 2019)を用いて bootstrap 500 回で分子系統推定を行なった。多型データは(a)maf 1%条件下で抽出した 18,198 SNPs、(b)maf 5%条件下で抽出した 9,262 SNPs を用いた。bootstrap 値は内部枝の色の違いで表した。(a)では推定された分子系統樹から 81 種をアウトグループを含めた 9 つの遺伝的クレードに分け、それぞれのクレード名を記載した。



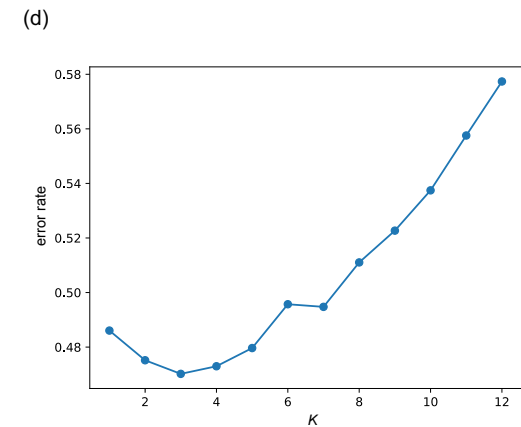
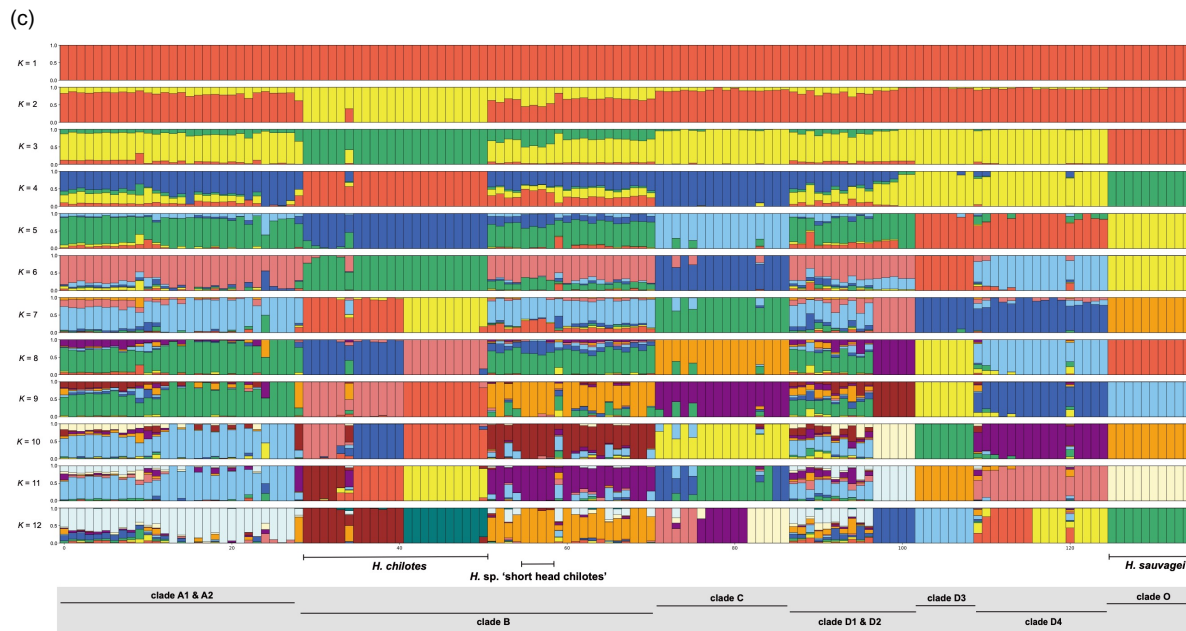
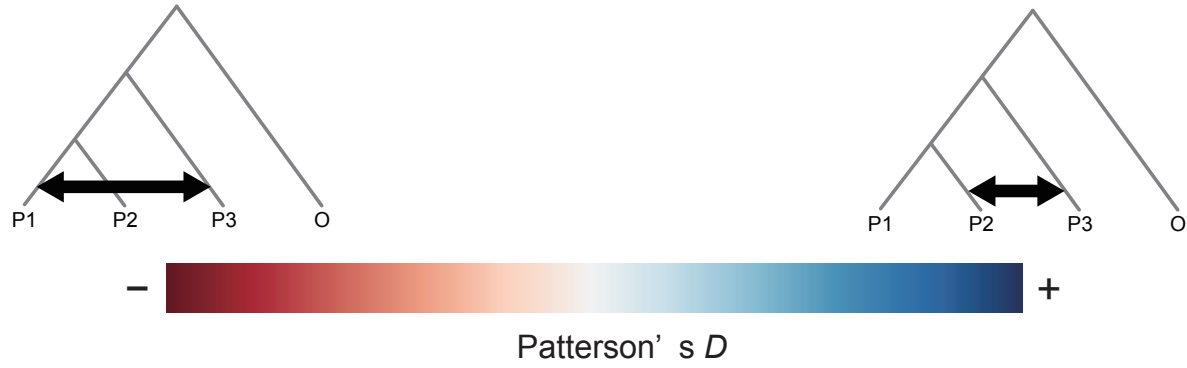


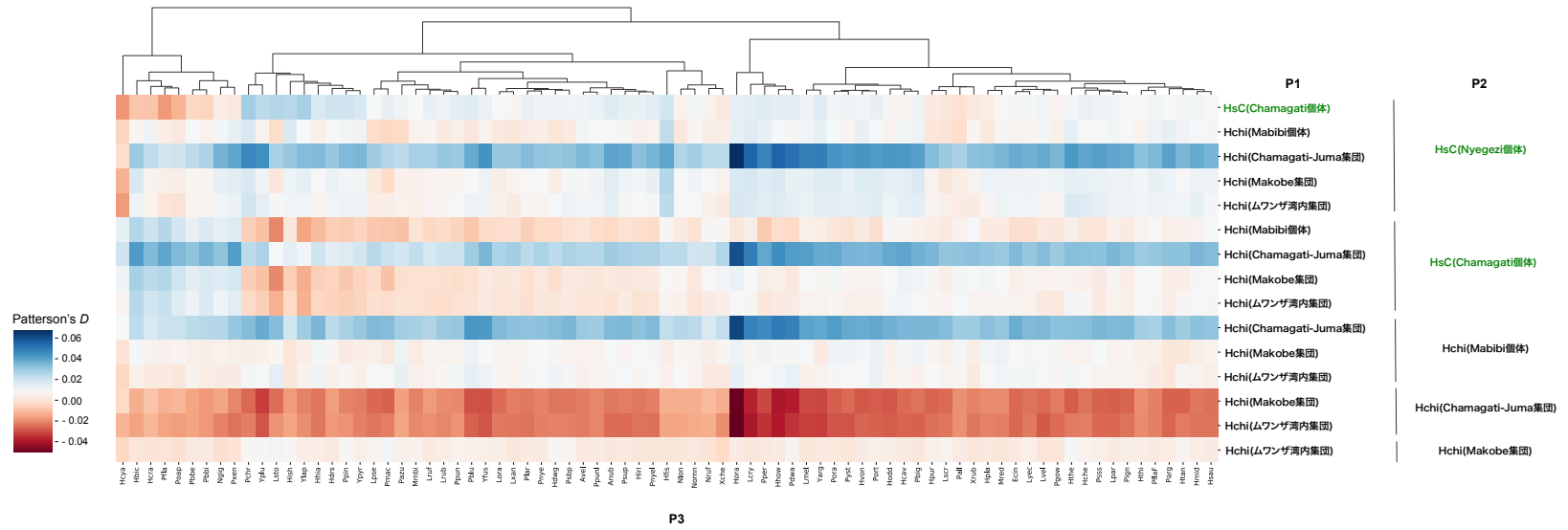
Fig. 23 ヴィクトリア湖シクリッド 81 種 136 個体の ADMIXTURE 解析結果

全体が K 個の遺伝的要素から構成されると仮定した場合に、各個体がどのような要素の組み合わせで構成されるのかを最尤法を用いて、ヴィクトリア湖シクリッド 81 種 136 個体から得た多型データをもとに推定した。下部の clade 名は Fig. 21a で記載したものに相当する。多型データは(a)、(b)maf 1%条件下で抽出した 31,713 SNPs、(c)、(d)maf 5%条件下で抽出した 9,844 SNPs を用いた。(a)、(c)横軸に個体、縦軸に個体ごとの遺伝的要素の構成比率。(b)、(d) K の値ごとの error rate の変化。

(a)



(b)



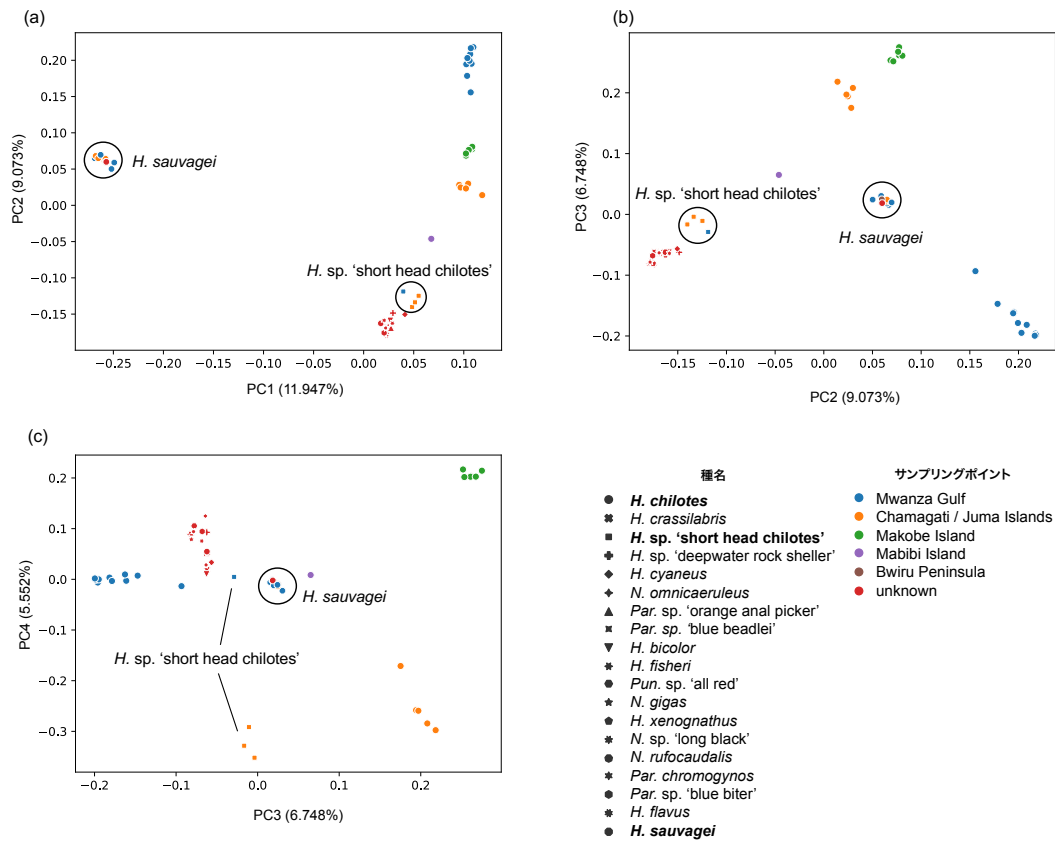


Fig. 25 *H. chilotes* および *H. sp. 'short head chilotes'* に近縁な 19 種 53 個体の主成分分析
 ヴィクトリア湖シクリッド 19 種 53 個体から得られた maf 2% の条件を満たす 74,669 LD-
 pruned SNPs による PCA の結果。マーカーの違いは種の違いを表し、色の違いはサンプリ
 ングポイントの違いを表す。(a)PC1-PC2。(b)PC2-PC3。(c)PC3-PC4。

		<i>H. sauvagei</i>	<i>H. sp. 'short head chilotes'</i>	<i>H. chilotes</i>		
				Chamagati-Juma集団	Makobe集団	ムワンザ湾内集団
<i>H. chilotes</i>	<i>H. sauvagei</i>	0.0007396				
	<i>H. sp. 'short head chilotes'</i>	0.22394	0.0007288			
	Chamagati-Juma集団	0.25249	0.11101	0.0009164		
	Makobe集団	0.26159	0.13628	0.10103	0.0008519	
	ムワンザ湾内集団	0.26962	0.15208	0.12612	0.13094	0.0008712

Fig. 26 *H. chilotes*、*H. sp. 'short head chilotes'*、*H. sauvagei* の遺伝的統計量
H. sauvagei、*H. sp. 'short head chilotes'*、および *H. chilotes* の3つの分集団ごとに計算された塩基多様度 π の 10kb あたりの平均値 (網掛け)、および種・分集団間でのゲノムワイド F_{ST} の加重平均を示した。

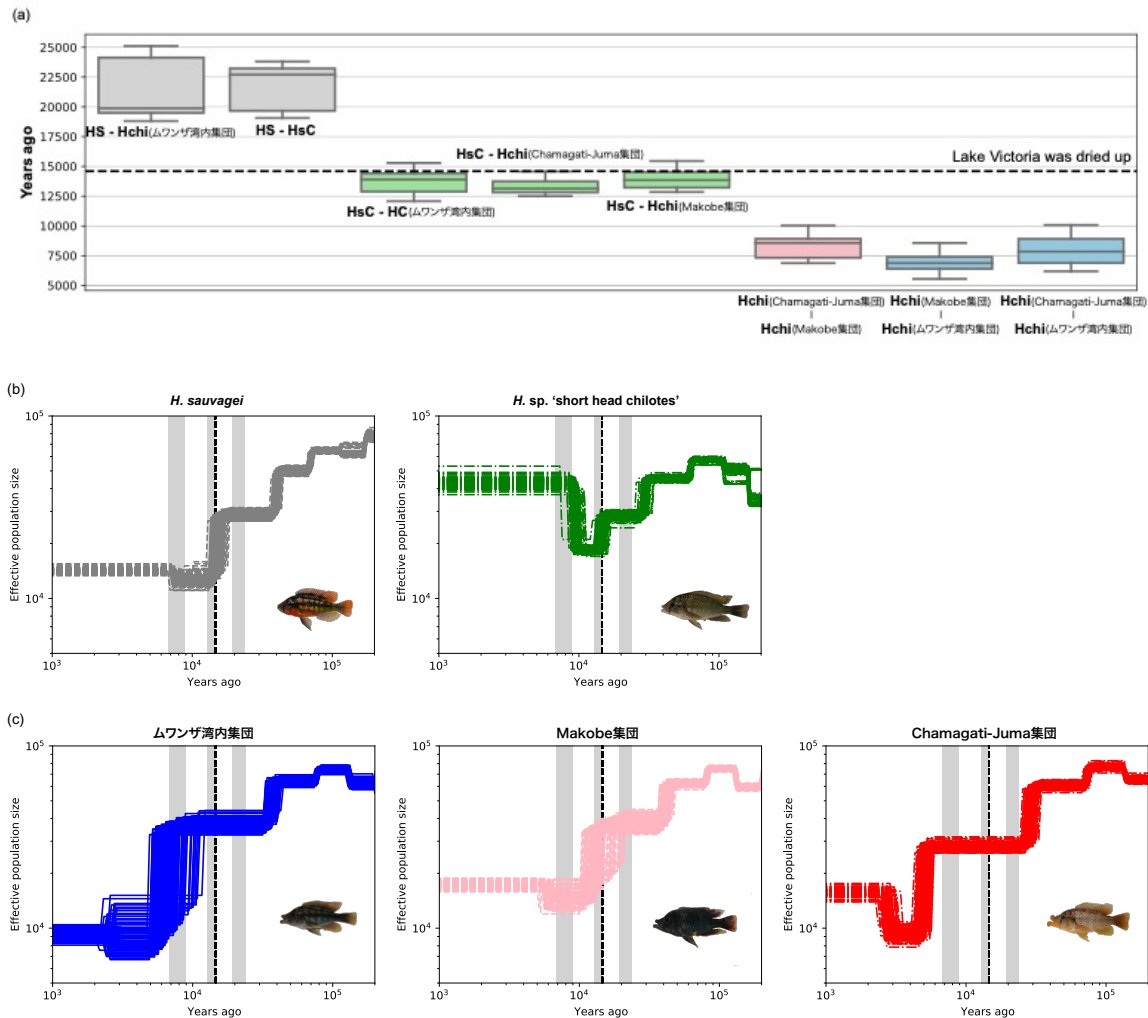


Fig. 27 *H. chilotes*, *H. sp. 'short head chilotes'*, *H. sauvagei* の集団史

smc++(Terhorst et al. 2017)を用いてブートストラップ 100 回で推定された *H. sauvagei*, *H. sp. 'short head chilotes'*, *H. chilotes* の集団史。突然変異率は Malinsky et al. (2018)で報告された 3.5×10^{-9} mutations (サイト・世代あたり) を仮定し、世代時間は 2 年を仮定した。(a) 種・集団間の推定分岐年代。HS は *H. sauvagei*, Hchi は *H. chilotes*, HsC は *H. sp. 'short head chilotes'* を示す。灰色の箱ひげ図は *H. sauvagei* の種分岐年代、緑色の箱ひげ図は *H. sp. 'short head chilotes'* と *H. chilotes* の分岐年代、ピンク色または青色の箱ひげ図は *H. chilotes* の分集団間の分岐年代を示す。破線はヴィクトリア湖が干上がったとされる 14,600 年前を指す。(b)、(c)種・集団ごとの集団サイズの変動パターン。横軸に現在からの時間、縦軸に有効集団サイズを示す。網掛けされている年代は(a)で推定された分岐年代(四分位範囲)であり、右から *H. sauvagei* が 2 種と分岐した時期、*H. sp. 'short head chilotes'* と *H. chilotes* が分岐した時期、*H. chilotes* の分集団形成が起こった時期を示す。破線はヴィクトリア湖が干上がったとされる 14,600 年前を指す。(b)は *H. sauvagei*, *H. sp. 'short head chilotes'* の結果、(c)は *H. chilotes* の分集団の結果である。

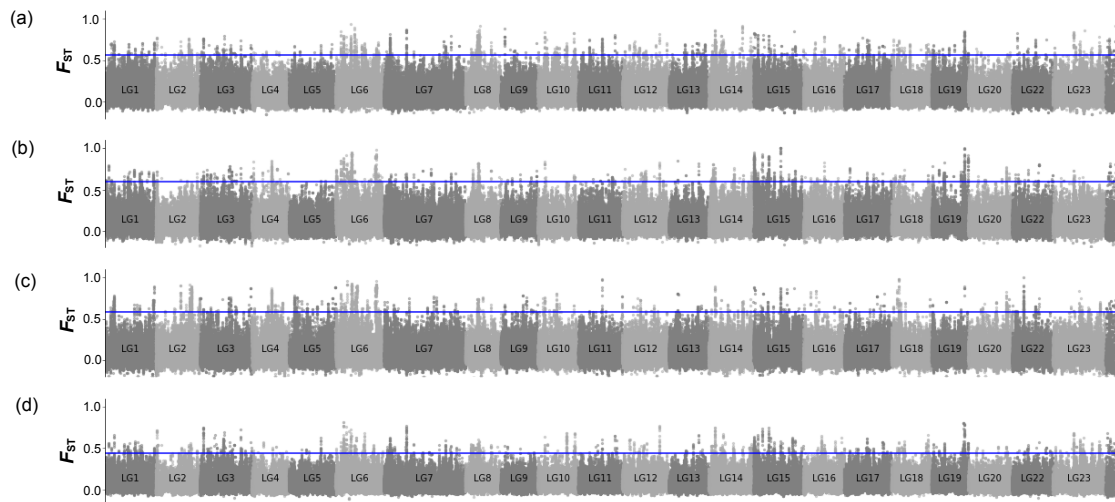


Fig. 28 ゲノム全体における分集団間の遺伝的分化のパターン

H. chilotes の分集団のペア間で算出されたゲノム全体の遺伝的分化の程度。1つのプロットは window size = 10kb、step size = 2kb で細分化したゲノム領域ごとに算出された加重平均 F_{ST} を示す。青の実線は F_{ST} の分布における上位 0.5% の値を示し、この閾値以上の値を示すゲノム領域を遺伝的に大きく分化している領域 (HDR) としてみなした。分集団のペアとして (a) ムワンザ湾内集団 – Makobe 集団、(b) ムワンザ湾内集団 – Chamagati-Juma 集団、(c) Makobe 集団 – Chamagati-Juma 集団、(d) ムワンザ湾内集団 – ムワンザ湾外集団 (Makobe 集団、Chamagati-Juma 集団および Mabibi 個体) を用いた。

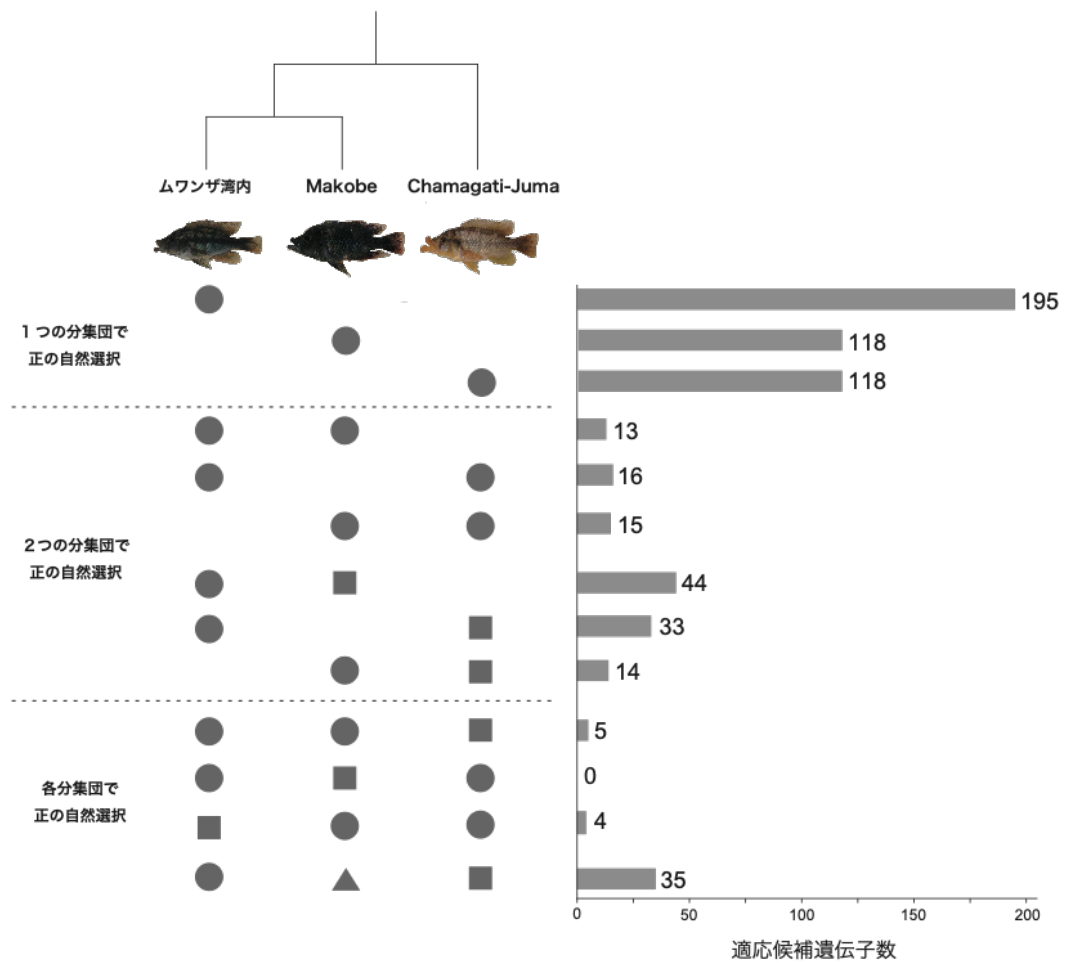
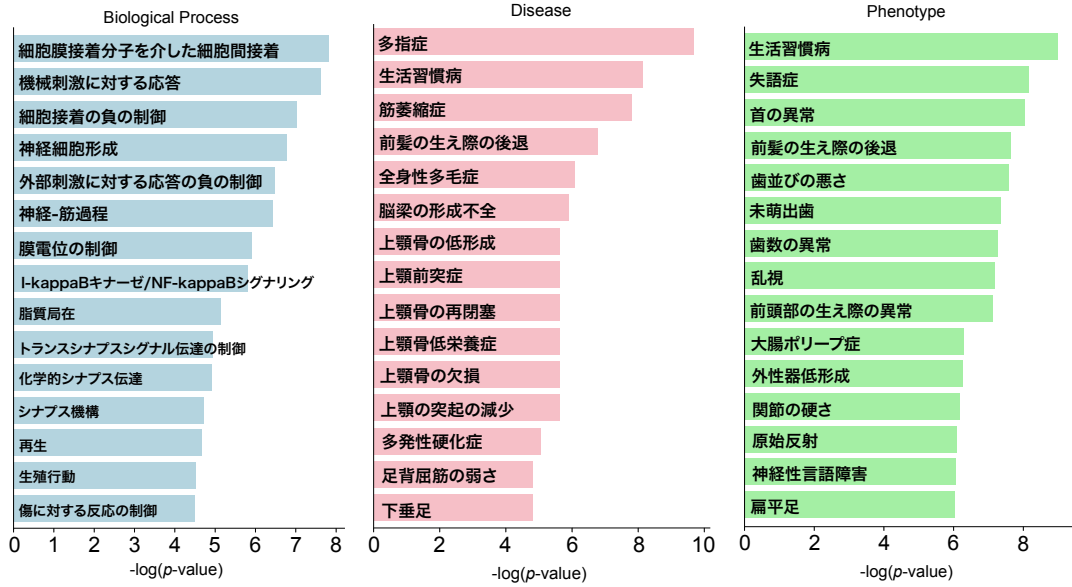


Fig. 29 *H. chilotes* の分集団における適応候補遺伝子数

ゲノム全体の上位 1% の Population Branch Statistic (PBS) 値 (Yi et al. 2010) を示す HDR 上に位置する適応候補遺伝子数。左のマーカ-の有無は自然選択が働いている集団かどうかを示し、マーカ-の形状の違いは自然選択を受けているアレルの違いを表す。

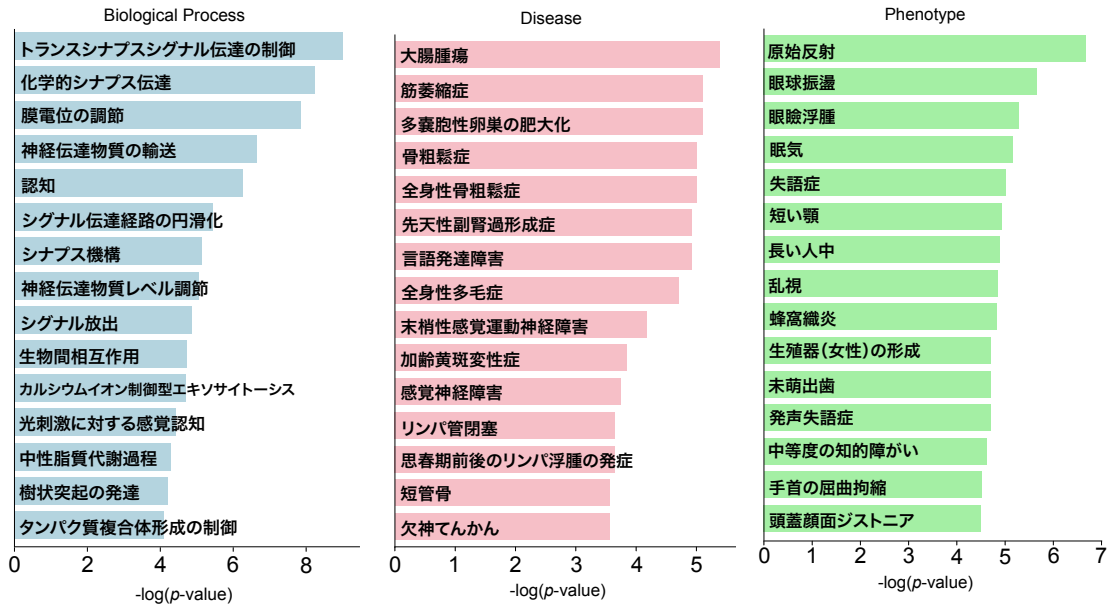
(a)

ムワンザ湾内集団



(b)

Makobe集団



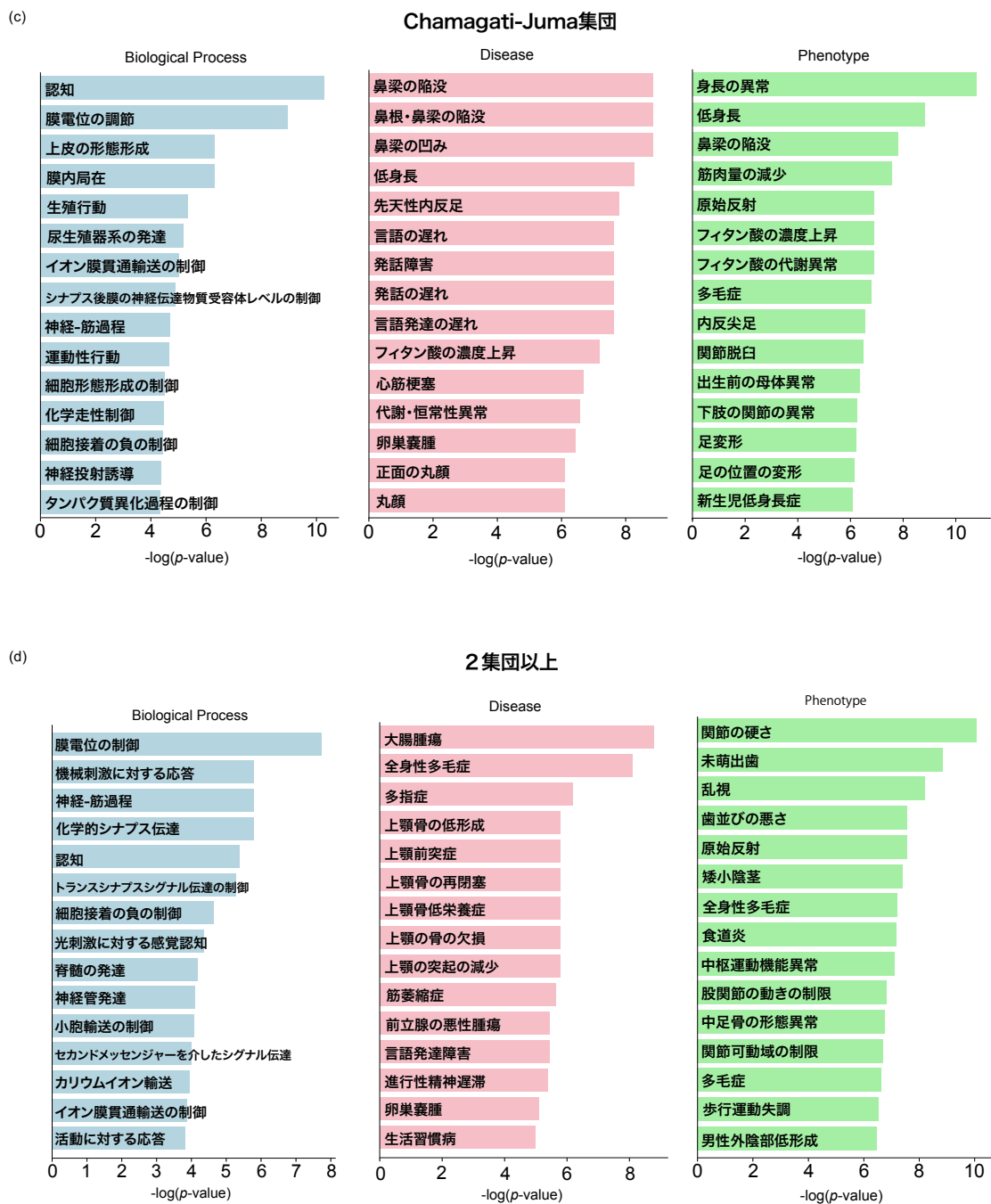


Fig. 30 GO enrichment 解析

PBS 解析により自然選択が働いている分集団が特定された遺伝子について、どのような機能を持っている遺伝子が多いか調べるために、WebGestalt(Liao et al. 2019)を用いた GO enrichment 解析を行なった。(a)ムワンザ湾内集団、(b)Makobe 集団、(c)Chamagati-Juma 集団、(d)2 集団以上で自然選択を受けた遺伝子セットに対する結果。

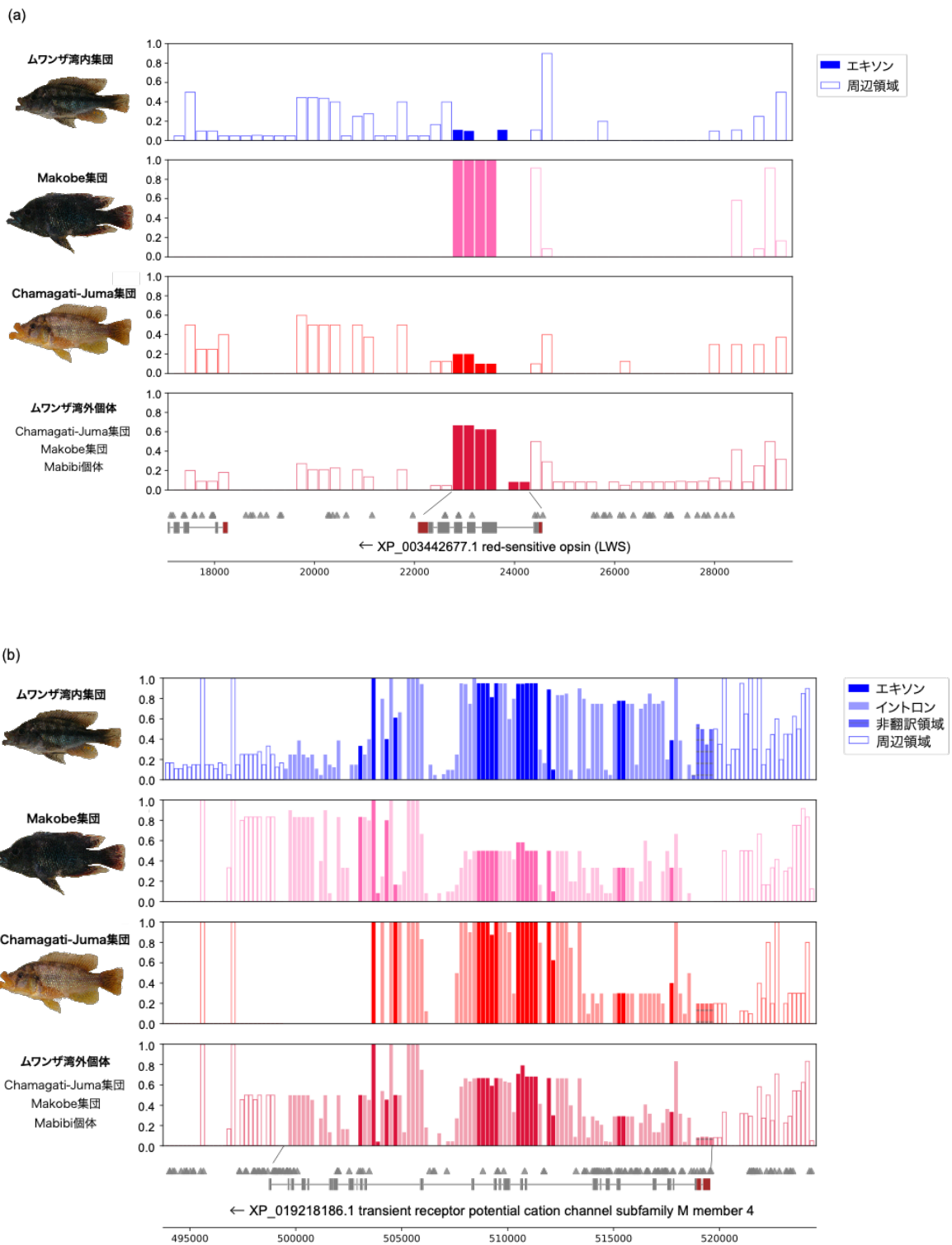


Fig. 31 *H. chilotes* の分集団において自然選択が働いていると考えられる遺伝子
本研究により単離された適応候補遺伝子の種ごとのアレル頻度。横軸に SNP、縦軸に SNP
ごとの変異アレル頻度を示している。SNP ごとのアレル頻度は *H. sauvagei* において多数を
占める major allele に対する変異アレル頻度を示す。図の下部にはゲノム上の SNP の位置

を三角プロットで表した。遺伝子のエキソン領域は灰色の太線で示し、非翻訳領域は茶色の太線で示した。(a)Makobe 集団での自然選択の痕跡が検出された LWS 遺伝子。

(b)Chamagati-Juma 集団およびムワンザ湾内集団での自然選択の痕跡が検出された *trpm4* 遺伝子。

Table 4 第3章で用いたサンプル情報

species name	fishID	indID	SRA	paper	Lake	sampling point
<i>Astatotilapia burtoni</i>	Abur	Abur02	SRR7662352	Weber et al. (2021)	Tanganyika	Kalambol
<i>Astatotilapia burtoni</i>	Abur	Abur03	SRR7662353	Weber et al. (2021)	Tanganyika	Kalambol
<i>Astatotilapia burtoni</i>	Abur	Abur04	SRR7662354	Weber et al. (2021)	Tanganyika	Kalambol
<i>Astatotilapia</i> sp. 'nubila rocks'	Anub	Anub01	SRR12700885	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Astatotilapia stappersii</i>	Asta	Asta02	SRR7662382	Weber et al. (2021)	RusiziR	RusiziR
<i>Astatotilapia stappersii</i>	Asta	Asta03	SRR7662383	Weber et al. (2021)	RusiziR	RusiziR
<i>Astatotilapia stappersii</i>	Asta	Asta04	SRR7662384	Weber et al. (2021)	RusiziR	RusiziR
<i>Astatotilapia stappersii</i>	Asta	Asta05	SRR7662385	Weber et al. (2021)	RusiziR	RusiziR
<i>Astatotilapia stappersii</i>	Asta	Asta06	SRR7662363	Weber et al. (2021)	RusiziR	RusiziR
<i>Astatotilapia stappersii</i>	Asta	Asta07	SRR7662368	Weber et al. (2021)	RusiziR	RusiziR
<i>Haplochromis velifer</i>	Avel	Avel01	SRR12700827	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Enterochromis cinctus</i>	Ecin	Ecin01	SRR12700873	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis bicolor</i>	Hbic	Hbic01	SRR12700833	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis cavifrons</i>	Hcav	Hcav01	SRR12700911	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'checkmate'	Hche	Hche01	SRR2886828	McGee et al. (2016)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC01	DRR283430, DRR283460, DRR283461	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Nyegezi
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC02	DRR283431, DRR283462, DRR283463	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC03	DRR283432, DRR283462, DRR283463	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Makobe Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC04	DRR283433, DRR283466, DRR283467	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC05	DRR283434, DRR283468, DRR283469	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC06	DRR283435, DRR283470, DRR283471	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC19	新規決定	新規決定	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC20	新規決定	新規決定	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC21	新規決定	新規決定	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC22	新規決定	新規決定	Victoria	Nyegezi
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC33	新規決定	新規決定	Victoria	Juma Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC34	新規決定	新規決定	Victoria	Nyegezi
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC35	新規決定	新規決定	Victoria	Nyegezi
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC36	新規決定	新規決定	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC37	新規決定	新規決定	Victoria	Juma Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC38	新規決定	新規決定	Victoria	Juma Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC39	新規決定	新規決定	Victoria	Nyameruguyu Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC40	新規決定	新規決定	Victoria	Makobe Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC41	新規決定	新規決定	Victoria	Makobe Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC42	新規決定	新規決定	Victoria	Makobe Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC43	新規決定	新規決定	Victoria	Makobe Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	HC44	新規決定	新規決定	Victoria	Mabibi Island
<i>Haplochromis chilotes</i>	Hchi	Hchi02	SRR12700909	McGee et al. (2020)	Victoria	Makobe Island
<i>Haplochromis crassilabris</i>	Hcra	Hcra01	SRR12700864	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis cyaneus</i>	Hcya	Hcya01	SRR12700818	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'deepwater rock sheller'	Hdrs	Hdrs01	SRR12700862	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'deepwater giant'	Hdwd	Hdwd01	SRR12700852	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis fischeri</i>	Hfis	Hfis01	SRR12700834	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis hiatus</i>	Hhia	Hhia01	SRR12700810	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis howesi</i>	Hhow	Hhow01	SRR12700899	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis iris</i>	Hiri	Hiri01	SRR12700811	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis ishmaeli</i>	Hish	Hish02	SRR12700817	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis microdon</i>	Hmid	Hmic49	新規決定	新規決定	Victoria	Bwiru Bay
<i>Haplochromis microdon</i>	Hmid	Hmic50	新規決定	新規決定	Victoria	unknown
<i>Haplochromis microdon</i>	Hmid	Hmic51	新規決定	新規決定	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis</i> sp. 'odd upper'	Hodd	Hodd01	SRR12700842	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'orange rock hunter'	Hora	Hora02	SRR12700821	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis plagiodon</i>	Hpla	Hpla01	SRR12700884	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'purple yellow'	Hpur	Hpur01	SRR12700881	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS07	DRR283436, DRR283472, DRR283473	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Bwiru Peninsula
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS08	DRR283437, DRR283474, DRR283475	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS09	DRR283438, DRR283476, DRR283477	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS10	DRR283439, DRR283478, DRR283479	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS11	DRR283440, DRR283480, DRR283481	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS12	DRR283441, DRR283482, DRR283483	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS29	新規決定	新規決定	Victoria	Nyegezi
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS30	新規決定	新規決定	Victoria	Nyegezi
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS31	新規決定	新規決定	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	HS32	新規決定	新規決定	Victoria	Kilimo Island
<i>Haplochromis sauvagei</i>	Hsau	Hsau02	SRR12700891	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'short head chilotes'	HsC	HsC45	新規決定	新規決定	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis</i> sp. 'short head chilotes'	HsC	HsC46	新規決定	新規決定	Victoria	Nyegezi
<i>Haplochromis</i> sp. 'short head chilotes'	HsC	HsC47	新規決定	新規決定	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis</i> sp. 'short head chilotes'	HsC	HsC48	新規決定	新規決定	Victoria	Chamagati Island
<i>Haplochromis tanaos</i>	Htan	Htan01	SRR12700846	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'thickskin'	Hthi	Hthi01	SRR12700847	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis vonlinnei</i>	Hvon	Hvon01	SRR12700890	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Lipochromis cryptodon</i>	Lcry	Lcry01	SRR12700850	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Lipochromis melanopterus</i>	Lmel	Lmel01	SRR12700858	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown

<i>Lithochromis</i> sp. 'orange'	Lora	Lora01	SRR12700859	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis parvidens</i>	Lpar	Lpar01	SRR12700877	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Lithochromis</i> sp. "pseudoblue"	Lpse	Lpse01	SRR12700857	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Lithochromis rubripinnis</i>	Lrub	Lrub01	SRR12700845	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Lithochromis rufus</i>	Lruf	LR13	DRR283442, DRR283484, DRR283485	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Nyaruwambu
<i>Lithochromis rufus</i>	Lruf	LR14	DRR283443, DRR283486, DRR283487	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Nyaruwambu
<i>Lithochromis rufus</i>	Lruf	LR15	DRR283444, DRR283488, DRR283489	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Nyegezi
<i>Lithochromis rufus</i>	Lruf	LR16	DRR283445, DRR283490, DRR283491	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Kilimo Island
<i>Lithochromis rufus</i>	Lruf	LR17	DRR283446, DRR283492, DRR283493	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Kilimo Island
<i>Lithochromis rufus</i>	Lruf	LR18	DRR283447, DRR283494, DRR283495	Nakamura et al. (2021)	Victoria	Nyaruwambu
<i>Lithochromis</i> sp. "scraper"	Lscr	Lscr01	SRR12700892	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'stone'	Lsto	Lsto01	SRR12700856	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Lipochromis</i> sp. 'velvet black cryptodon'	Lvel	Lvel01	SRR12700812	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Lithochromis xanthopteryx</i>	Lxan	Lxan01	SRR12700843	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Lithochromis</i> sp. "yellow chin"	Lyec	Lyec01	SRR12700894	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Mbipia mbipi</i>	Mmbi	Mmbi01	SRR12700829	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'red carp'	Mred	Mred01	SRR12700901	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Neochromis gigas</i>	Ngig	Ngig01	SRR12700886	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Neochromis</i> sp. 'long black'	Nlon	Nlon01	SRR12700826	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Neochromis omnicaruleus</i>	Nomn	Nomn01	SRR12700813	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Neochromis rufocaudalis</i>	Nruf	Nruf01	SRR12700904	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia</i> sp. 'all red'	Pall	Pall01	SRR12700824	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis argenteus</i>	Parg	Parg01	SRR12700878	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia azurea</i>	Pazu	Pazu01	SRR12700902	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Paralabidochromis</i> sp. "blue beadlet"	Pbbe	Pbbe01	SRR12700828	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Paralabidochromis</i> sp. "blue biter"	Pbbi	Pbbi01	SRR12700865	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia</i> sp. 'big blue red'	Pbig	Pbig01	SRR12700819	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia</i> sp. 'blue giant'	Pblu	Pblu01	SRR12700860	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis chromogynos</i>	Pchr	Pchr01	SRR12700882	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'dwarf dentax'	Pdwa	Pdwa01	SRR12700896	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis flavipinnis</i>	Pfla	Pfla01	SRR12700874	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis flavus</i>	Pfla	Pfla02	SRR12700831	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis gowersii</i>	Pgow	Pgow01	SRR12700875	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia igneopinnis</i>	Pign	Pign01	SRR12700820	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia</i> sp. 'large red deepwater'	Plar	Plar01	SRR12700898	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia macrocephala</i>	Pmac	Pmac01	SRR12700854	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia nyererei</i>	Pnye	Pnye02	SRR4169625	Meier et al. (2017)	Victoria	Makobe Island
<i>Pundamilia nyererei</i>	Pnye	Pnye03	SRR4169623	Meier et al. (2017)	Victoria	Makobe Island
<i>Pundamilia nyererei</i>	Pnye	Pnye04	SRR4169622	Meier et al. (2017)	Victoria	Makobe Island
<i>Pundamilia nyererei</i>	Pnye	Pnye05	SRR4169621	Meier et al. (2017)	Victoria	Makobe Island
<i>Pundamilia nyererei</i>	Pnye	Pnye06	SRR12700883	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia</i> sp. "nyererei-like"	Pnyel	Pnyel01	SRR4169632	Meier et al. (2017)	Victoria	Python Island
<i>Pundamilia</i> sp. "nyererei-like"	Pnyel	Pnyel02	SRR4169631	Meier et al. (2017)	Victoria	Python Island
<i>Pundamilia</i> sp. "nyererei-like"	Pnyel	Pnyel03	SRR4169626	Meier et al. (2017)	Victoria	Python Island
<i>Pundamilia</i> sp. "nyererei-like"	Pnyel	Pnyel04	SRR4169620	Meier et al. (2017)	Victoria	Python Island
<i>Paralabidochromis</i> sp. "orange anal picker"	Poap	Poap01	SRR12700825	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia</i> sp. 'orange'	Pora	Pora01	SRR12700841	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pyxichromis orthostoma</i>	Port	Port01	SRR12700872	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis perrieri</i>	Pper	Pper01	SRR12700861	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia</i> sp. 'pink anal'	Ppin	Ppin01	SRR12700893	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia pundamilia</i>	Ppun	Ppun01	SRR4169633	Meier et al. (2017)	Victoria	Makobe Island
<i>Pundamilia pundamilia</i>	Ppun	Ppun02	SRR4169619	Meier et al. (2017)	Victoria	Makobe Island
<i>Pundamilia pundamilia</i>	Ppun	Ppun03	SRR4169618	Meier et al. (2017)	Victoria	Makobe Island
<i>Pundamilia pundamilia</i>	Ppun	Ppun04	SRR4169617	Meier et al. (2017)	Victoria	Makobe Island
<i>Pundamilia pundamilia</i>	Ppun	Ppun05	SRR12700840	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pundamilia</i> sp. "pundamilia-like"	Ppunl	Ppunl01	SRR4169630	Meier et al. (2017)	Victoria	Python Island
<i>Pundamilia</i> sp. "pundamilia-like"	Ppunl	Ppunl02	SRR4169629	Meier et al. (2017)	Victoria	Python Island
<i>Pundamilia</i> sp. "pundamilia-like"	Ppunl	Ppunl03	SRR4169628	Meier et al. (2017)	Victoria	Python Island
<i>Pundamilia</i> sp. "pundamilia-like"	Ppunl	Ppunl04	SRR4169627	Meier et al. (2017)	Victoria	Python Island
<i>Paralabidochromis</i> sp. "sky blue picker"	Psbp	Psbp01	SRR12700823	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'short snout scaper'	Psss	Psss01	SRR12700888	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis</i> sp. 'supramacrops'	Psup	Psup01	SRR12700895	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis xenognathus</i>	Pxen	Pxen01	SRR12700835	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Pyxichromis</i> sp. 'stripe'	Pyst	Pyst01	SRR12700869	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Xystichromis</i> sp. 'cherry fin'	Xche	Xche01	SRR12700870	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Xystichromis</i> sp. 'ruby green'	Xrub	Xrub01	SRR12700871	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Haplochromis cf. argens</i>	Yarg	Yarg01	SRR12700837	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Yssichromis fusiformis</i>	Yfus	Yfus01	SRR12700838	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Yssichromis laparogramma</i>	Ylap	Ylap01	SRR12700822	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Yssichromis</i> sp. 'plumbus'	Yplu	Yplu01	SRR12700836	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown
<i>Yssichromis pyrrocephalus</i>	Ypyr	Ypyr01	SRR12700809	McGee et al. (2020)	Victoria	unknown

第3章のゲノム解析で用いた個体のリスト。"species name"は種名を示す。"fishID"と"indID"はそれぞれ ABBA-BABA テストで示した種の ID、分子系統解析で示した個体の ID と対応している。"SRA"は NCBI データベース(<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov>)に登録されている生データのアクセッション番号を示し、公開された論文も記載した。サンプリングポイントに関して、"Lake"に基本的にどの湖で採取されたかを記した。タンガニーカ湖の

流出河川である Rusizi 川に関しては *A. stappersii* がタンガニーカ湖シクリッド系統に属さないため、RusiziR として記載した。さらに詳細なサンプリングポイントについては、明記されていない個体は unknown として記した。

Table 5 検出された適応候補遺伝子リスト

NCBIに登録されている遺伝子名	Mwa (1)	ヒトでの遺伝子名
XP_019211013.1 scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M130 [Oreochromis niloticus]		CD163
XP_003440158.1 ras association domain-containing protein 6 [Oreochromis niloticus]		RASSF6
XP_003440172.1 glyoxalase domain-containing protein 4 [Oreochromis niloticus]		GLOD4
XP_003440183.1 dehydrogenase/reductase SDR family member 11 [Oreochromis niloticus]		DHRS11
XP_003440250.2 serine/threonine-protein phosphatase 2A activator [Oreochromis niloticus]		PTPA
XP_003441765.1 sucrase-isomaltase, intestinal [Oreochromis niloticus]		SI
XP_003441988.1 leucine-rich repeat-containing protein 51 [Oreochromis niloticus]		LRRC51
XP_003442109.1 heparan sulfate glucosamine 3-O-sulfotransferase 2 [Oreochromis niloticus]		HS3ST2
XP_003442444.1 immunoglobulin superfamily DCC subclass member 3 [Oreochromis niloticus]		IGCC3
XP_003443273.1 complement C1q tumor necrosis factor-related protein 1 [Oreochromis niloticus]		C1QTNF1
XP_003444106.1 histone acetyltransferase KAT2B [Oreochromis niloticus]		KAT2B
XP_003444192.1 shugoshin 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		SGO1
XP_003444541.1 cytoskeleton-associated protein 2-like [Oreochromis niloticus]		CKAP2L
XP_003445395.1 LOW QUALITY PROTEIN: ATP-binding cassette sub-family A member 12 [Oreochromis niloticus]		ABCA12
XP_003445602.1 coxsackievirus and adenovirus receptor homolog [Oreochromis niloticus]		CXADR
XP_003445699.1 leucine-rich repeat transmembrane neuronal protein 4 [Oreochromis niloticus]		LRRTM4
XP_003445736.1 transcription factor PU.1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		SP1
XP_003445754.1 NEDD8-activating enzyme E1 regulatory subunit isoform X1 [Oreochromis niloticus]		NAE1
XP_003445799.3 putative solute carrier family 22 member 31 [Oreochromis niloticus]		SLC22A31
XP_003445807.1 carbonic anhydrase 7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		CA7
XP_003446252.2 probable palmitoyltransferase ZDHHC14 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		ZDHHC14
XP_003447119.1 ankyrin repeat and BTB/POZ domain-containing protein BTBD11-B isoform X1 [Oreochromis niloticus]		None
XP_003447885.1 mitochondrial antiviral-signaling protein [Oreochromis niloticus]		MAVS
XP_003449459.1 actin, aortic smooth muscle [Oreochromis niloticus]		FBXO28
XP_003449471.1 ankyrin repeat and SOCS box protein 3 [Oreochromis niloticus]		ASB3
XP_003449539.1 APOBEC1 complementation factor isoform X1 [Oreochromis niloticus]		A1CF
XP_003449721.2 protein arginine N-methyltransferase 9 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		PRMT9
XP_003449759.1 transmembrane protein 184C [Oreochromis niloticus]		TMEM184C
XP_003449804.1 sulfotransferase 4A1 [Oreochromis niloticus]		SULT4A1
XP_003449831.1 carbohydrate sulfotransferase 11 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		CHST11
XP_003449859.1 opioid-binding protein/cell adhesion molecule [Oreochromis niloticus]		OPCML
XP_003449997.1 clathrin light chain A isoform X1 [Oreochromis niloticus]		CLTA
XP_003450870.1 proline rich transmembrane protein 1B [Oreochromis niloticus]		PRRT1
XP_003451162.1 stress-associated endoplasmic reticulum protein 1 [Oreochromis niloticus]		SERP1
XP_003451163.1 beta-enolase [Oreochromis niloticus]		ENO3
XP_003451194.1 C-type natriuretic peptide 2 [Oreochromis niloticus]		None
XP_003453032.1 myristoylated alanine-rich C-kinase substrate [Oreochromis niloticus]		MARCKS
XP_003453058.2 histone deacetylase 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		HDAC2
XP_003453887.1 dolichyl-diphosphooligosaccharide-protein glycosyltransferase subunit STT3B [Oreochromis niloticus]		STT3B
XP_003454224.1 merlin [Oreochromis niloticus]		NF2
XP_003454226.1 reticulon-4 receptor [Oreochromis niloticus]		RTN4R
XP_003454438.1 src kinase-associated phosphoprotein 2 [Oreochromis niloticus]		SKAP2
XP_003454598.1 dual specificity protein phosphatase 7 [Oreochromis niloticus]		DUSP7
XP_003455784.1 tetrapeptide repeat protein 22 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		TT22
XP_003456060.1 ankyrin repeat domain-containing protein 9 [Oreochromis niloticus]		ANKRD9
XP_003456091.1 regulator of microtubule dynamics protein 3 [Oreochromis niloticus]		RMDN3
XP_003456601.4 peroxisome biogenesis factor 6 [Oreochromis niloticus]		PEX6
XP_003456708.1 DNA-directed RNA polymerases I and III subunit RPAC1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		POLR1C
XP_003456709.1 sphingolipid delta(4)-desaturase DES1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		DEGS1
XP_003456723.2 F-box only protein 28 [Oreochromis niloticus]		FBXO28
XP_003457057.1 prefoldin subunit 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		PFDN1
XP_003457239.1 EARP-interacting protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]		EIPR1
XP_003457259.4 growth/differentiation factor 6-A-like [Oreochromis niloticus]		None
XP_003457730.1 olfactory receptor 52N2-like [Oreochromis niloticus]		None
XP_003457731.1 solute carrier organic anion transporter family member 2B1 [Oreochromis niloticus]		SLCO2B1
XP_003457860.1 putative gustatory receptor clone PTE03 [Oreochromis niloticus]		None
XP_003457861.1 glucose 1,6-bisphosphate synthase [Oreochromis niloticus]		PGM2L1
XP_003459862.2 LOW QUALITY PROTEIN: serine/threonine-protein phosphatase 1 regulatory subunit 10 [Oreochromis niloticus]		PPP1R10
XP_003460075.1 LOW QUALITY PROTEIN: protein AF-9 [Oreochromis niloticus]		MLL3
XP_003460258.1 cyclin-dependent kinase 2-interacting protein [Oreochromis niloticus]		CINP
XP_004543586.1 trace amine-associated receptor 13c-like [Maylandia zebra]		None
XP_004551121.2 sialic acid-binding Ig-like lectin 5 [Maylandia zebra]		SIGLEC5
XP_005448847.1 class E basic helix-loop-helix protein 23 [Oreochromis niloticus]		BHLHE23
XP_005448881.1 glutathione hydrolase 7 [Oreochromis niloticus]		GGT7
XP_005449872.1 transcription initiation factor IIA subunit 1 [Oreochromis niloticus]		GTFC2A1
XP_005449920.2 kinesin-like protein KIF26B isoform X1 [Oreochromis niloticus]		KIF26B
XP_005450905.1 protogenin B isoform X1 [Oreochromis niloticus]		None
XP_005450907.1 DNA-binding protein RFX7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		RFX7
XP_005451964.1 transmembrane protein 198-B [Oreochromis niloticus]		TMEM198
XP_005451991.1 zinc finger protein 148 [Oreochromis niloticus]		ZNF148
XP_005452445.1 protein angel homolog 2 [Oreochromis niloticus]		ANGEL2
XP_005452695.1 CREB3 regulatory factor isoform X1 [Oreochromis niloticus]		CREBRF
XP_005453424.1 attractin isoform X1 [Oreochromis niloticus]		ATRN
XP_005454422.2 endonuclease domain-containing 1 protein [Oreochromis niloticus]		ENDOD1
XP_005454668.1 fibronectin type III domain-containing protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		FNDC1
XP_005454820.1 bifunctional UDP-N-acetylglucosamine 2-epimerase/N-acetylmannosamine kinase isoform X1 [Oreochromis niloticus]		GNE
XP_005457143.2 inactive tyrosine-protein kinase transmembrane receptor ROR1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]		ROR1
XP_005457166.1 KN motif and ankyrin repeat domain-containing protein 4 [Oreochromis niloticus]		KANK4
XP_005457967.1 E3 UFM1-protein ligase 1 [Oreochromis niloticus]		UFL1
XP_005458708.1 lengsin isoform X1 [Oreochromis niloticus]		LGSN
XP_005458710.2 protein FAM83B-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]		None

XP_005458729.1 hsp70-Hsp90 organizing protein 2 [Oreochromis niloticus]	HOP2
XP_005460493.1 amphoterin-induced protein 2 [Oreochromis niloticus]	AMIG02
XP_005461052.1 protein FAM131A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	FAM131A
XP_005461382.2 LOW QUALITY PROTEIN: sarcoplasmic/endoplasmic reticulum calcium ATPase 2 [Oreochromis niloticus]	ATP2A2
XP_005461764.1 calysteninin-2 [Oreochromis niloticus]	CLSTN2
XP_005461958.1 lipid droplet-associated hydrolase [Oreochromis niloticus]	LDHA
XP_005461970.3 LOW QUALITY PROTEIN: dapper homolog 1 [Oreochromis niloticus]	DACT1
XP_005461971.1 galectin-3 [Oreochromis niloticus]	LGALS3
XP_005461975.1 jmjC domain-containing protein 7 [Oreochromis niloticus]	JMJD7
XP_005462575.1 pigment epithelium-derived factor [Oreochromis niloticus]	PEDF
XP_005462576.1 alpha-2-antiplasmin [Oreochromis niloticus]	SERPINF2
XP_005462812.2 inner ear-specific collagen-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_005464860.1 dnaJ homolog subfamily C member 5G isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DNAJC5G
XP_005464863.1 tripartite motif-containing protein 54 [Oreochromis niloticus]	TRIM54
XP_005465180.1 neuronal acetylcholine receptor subunit alpha-9 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CHRNA9
XP_005465373.1 transmembrane protein 94 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TMEM94
XP_005465379.1 tudor and KH domain-containing protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TDRKH
XP_005466267.1 uncharacterized protein LOC102079865 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005466975.1 ankyrin repeat domain-containing protein 11 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ANKRD11
XP_005467003.1 zinc transporter ZIP13 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SLC39A13
XP_005467107.1 zinc finger protein 821 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZNF821
XP_005467113.1 myotubularin-related protein 10 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MTMR10
XP_005467115.1 unconventional myosin-1e isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MYO1E
XP_005467168.1 ammonium transporter Rh type C 2 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005467192.1 chromodomain Y-like protein 2 [Oreochromis niloticus]	CDYL2
XP_005468319.2 alanine aminotransferase 2 [Oreochromis niloticus]	GPT2
XP_005468322.1 pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide type I receptor [Oreochromis niloticus]	None
XP_005469699.1 immunoglobulin superfamily member 21 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	IGSF21
XP_005471546.1 dihydropyrimidinase-related protein 2 [Oreochromis niloticus]	DPYSL2
XP_005471597.1 SUN domain-containing protein 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SUN2
XP_005471642.1 zinc finger protein 665 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZNF665
XP_005471644.1 endothelial zinc finger protein induced by tumor necrosis factor alpha isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZNF71
XP_005471651.1 uncharacterized protein C10orf88 homolog [Oreochromis niloticus]	C10orf88
XP_005473050.1 transport and Golgi organization protein 2 homolog isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TANGO2
XP_005473116.1 leucine-rich repeat transmembrane neuronal protein 4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	LRRTM4
XP_005473780.1 coiled-coil domain-containing protein 172 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CDC172
XP_005473782.1 uncharacterized protein LOC102080399 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005474589.1 leucine-, glutamate- and lysine-rich protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	LEKR1
XP_005475636.1 patatin-like phospholipase domain-containing protein 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PNPLA2
XP_005475865.1 23 kDa integral membrane protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005477201.1 Fanconi anemia group M protein [Oreochromis niloticus]	FANCM
XP_005478613.1 zinc finger protein 385D [Oreochromis niloticus]	ZNF385D
XP_012780486.1 SLAM family member 5 isoform X1 [Maylandia zebra]	CD84
XP_013120046.1 uncharacterized protein LOC100698705 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_013120753.2 LOW QUALITY PROTEIN: interferon regulatory factor 2-binding protein-like A [Oreochromis niloticus]	None
XP_013122452.1 zinc transporter 3 [Oreochromis niloticus]	SLC30A3
XP_013123766.2 LMBR1 domain-containing protein 2-B [Oreochromis niloticus]	None
XP_013125122.1 protein FAM189A1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	FAM189A1
XP_013127141.1 dipeptidase 1 [Oreochromis niloticus]	DPEP1
XP_013127348.1 protein patched homolog 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PTCH1
XP_013128710.1 POZ-, AT hook-, and zinc finger-containing protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PATZ1
XP_013129136.1 carbonic anhydrase-related protein 10 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CA10
XP_013131172.1 DNA polymerase theta [Oreochromis niloticus]	POLQ
XP_013131670.1 ephrin type-A receptor 7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	EPHA7
XP_013132711.2 cerebellin-1-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_013133028.1 receptor-type tyrosine-protein phosphatase N2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PTPRN2
XP_019200590.1 muscledblind-like protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MBNL1
XP_019201363.1 DNA (cytosine-5)-methyltransferase 3A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DNMT3AA
XP_019201423.1 receptor-type tyrosine-protein phosphatase F isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PTPRF
XP_019202075.1 secretory phospholipase A2 receptor-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_019203754.1 macrophage mannose receptor 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MRC1
XP_019204093.1 apolipoprotein B-100 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	APOB
XP_019204099.1 protein TALPID3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	KIAA0586
XP_019204112.1 LOW QUALITY PROTEIN: trafficking protein particle complex subunit 12 [Oreochromis niloticus]	TRAPP012
XP_019204140.1 LOW QUALITY PROTEIN: endonuclease Dicer [Oreochromis niloticus]	DICER1
XP_019204164.1 CD209 antigen [Oreochromis niloticus]	CD209
XP_019204337.1 zinc finger protein 839 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZNF839
XP_019204833.1 focadhesin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	FOCAD
XP_019204835.1 plexin A3 [Oreochromis niloticus]	PLXNA3
XP_019205468.1 vitelline membrane outer layer protein 1 [Oreochromis niloticus]	VMO1
XP_019207725.1 beta-1,3-galactosyltransferase 1 [Oreochromis niloticus]	B3GALT1
XP_019207830.2 NACHT, LRR and PYD domains-containing protein 12-like [Oreochromis niloticus]	NLRP12
XP_019208965.1 coagulation factor XIII A chain [Oreochromis niloticus]	F13A1
XP_019209070.1 prostaglandin reductase 1 [Oreochromis niloticus]	PTGR1
XP_019209076.1 prostaglandin reductase 1 [Oreochromis niloticus]	PTGR1
XP_019209884.1 protein phosphatase 1F [Oreochromis niloticus]	PPM1F
XP_019209939.1 AT-hook-containing transcription factor isoform X1 [Oreochromis niloticus]	AHCTF
XP_019209964.1 whirlin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	WHRN
XP_019212237.1 beta-1,4-N-acetylgalactosaminyltransferase 2-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019213165.1 ephrin type-A receptor 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	EPHA6
XP_019215116.1 multidrug and toxin extrusion protein 1 [Oreochromis niloticus]	SLC47A1
XP_019215402.1 B(0,+)-type amino acid transporter 1 [Oreochromis niloticus]	SLC7A9
XP_019215476.1 catenin alpha-2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CTNNA2

XP_019216822.1 guanine nucleotide exchange factor VAV2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	VAV2
XP_019217551.1 E3 ubiquitin/ISG15 ligase TRIM25-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_019217911.2 zinc finger protein 37 [Oreochromis niloticus]	ZFP37
XP_019217948.1 interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 5 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	IFIT5
XP_019217959.1 janus kinase and microtubule-interacting protein 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	JAKMIP3
XP_019218864.1 NLR family CARD domain-containing protein 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NLRC3
XP_019220145.1 sialic acid-binding Ig-like lectin 11 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SIGLEC11
XP_019220850.1 beta-1,3-galactosyl-O-glycosyl-glycoprotein beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019221076.1 UDP-glucuronosyltransferase 2A1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	UGT2A1
XP_019221388.1 interleukin-1 beta [Oreochromis niloticus]	IL1B
XP_019222964.1 von Willebrand factor A domain-containing protein 5A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	VWA5A
XP_019223163.1 putative lipoyltransferase 2, mitochondrial isoform X1 [Oreochromis niloticus]	LIP2
XP_019223288.1 mitogen-activated protein kinase-binding protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MAPKBP1
XP_019223296.1 neuropilin-3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NLGN3
XP_024654861.1 NLR family CARD domain-containing protein 3 [Maylandia zebra]	NLRC3
XP_024660204.1 beta-1,3-galactosyl-O-glycosyl-glycoprotein beta-1,6-N-acetylglucosaminyltransferase-like [Maylandia zebra]	None
XP_025753953.1 protein KIAA0100 homolog isoform X1 [Oreochromis niloticus]	KIAA0100
XP_025754314.1 LOW QUALITY PROTEIN: anoctamin-7 [Oreochromis niloticus]	ANO7
XP_025754514.1 tubulin polyglutamylase TTL7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TTL7
XP_025755530.1 microtubule-associated serine/threonine-protein kinase 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MAST2
XP_025756754.1 F-box only protein 34 [Oreochromis niloticus]	FBXO34
XP_025758859.1 E3 ubiquitin-protein ligase SH3RF1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SH3RF1
XP_025758878.1 glucokinase regulatory protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GCKR
XP_025762178.1 AP-1 complex subunit gamma-1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	AP1G1
XP_025763462.1 bromodomain-containing protein 4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	BRD4
XP_025763530.1 ubiquitin-like modifier-activating enzyme 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	UBA6
XP_025765556.1 AMSH-like protease isoform X1 [Oreochromis niloticus]	STAMBP1
XP_025766015.1 leucine-rich repeat-containing protein 30 [Oreochromis niloticus]	LRRC30
XP_025766902.1 olfactory receptor 10J4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	OR10J4
XP_025766985.1 sialic acid-binding Ig-like lectin 10 [Oreochromis niloticus]	SIGLEC10
XP_025767704.1 voltage-dependent N-type calcium channel subunit alpha-1B isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CACNA1B

Mak (2)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_003439560.2 LOW QUALITY PROTEIN: programmed cell death protein 2-like [Oreochromis niloticus]	PDCD2L
XP_003440192.1 mitochondrial uncoupling protein 2 [Oreochromis niloticus]	UCP2
XP_003440322.1 calliclittin [Oreochromis niloticus]	TLCD1
XP_003442677.1 red-sensitive opsin [Oreochromis niloticus]	OPN1LW
XP_003442678.1 blue-sensitive opsin [Oreochromis niloticus]	OPN1SW
XP_003443200.2 zinc finger protein 653 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZNF653
XP_003443201.1 ATPase SWSAP1 [Oreochromis niloticus]	SWSAP1
XP_003443202.1 erythropoietin receptor [Oreochromis niloticus]	EPOR
XP_003444445.1 matrix metalloproteinase-17 [Oreochromis niloticus]	MMP17
XP_003444632.1 protein C10 [Oreochromis niloticus]	C12orf57
XP_003446322.1 SAYSVFN domain-containing protein 1 [Oreochromis niloticus]	SAYS1D
XP_003447763.1 protein SSUH2 homolog [Oreochromis niloticus]	SSUH2
XP_003449143.1 serine/threonine-protein kinase SBK1-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_003449356.1 lysophospholipase D GDPD1 [Oreochromis niloticus]	GDPD1
XP_003449357.1 transmembrane protein 120A [Oreochromis niloticus]	TMEM120A
XP_003450848.1 leucine-rich repeat-containing protein 4C [Oreochromis niloticus]	LRRCC4C
XP_003450969.1 diacylglycerol O-acyltransferase 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DGAT1
XP_003451866.1 plastin-3 [Oreochromis niloticus]	PLS3
XP_003454200.1 cytosolic arginine sensor for mTORC1 subunit 1 [Oreochromis niloticus]	CASOR1
XP_003454626.1 sodium- and chloride-dependent GABA transporter 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SLC6A13
XP_003454847.1 importin subunit alpha-3 [Oreochromis niloticus]	KPNA4
XP_003454875.1 tripartite motif-containing protein 59 [Oreochromis niloticus]	TRIM59
XP_003455184.1 proteinase-activated receptor 2 [Oreochromis niloticus]	PAR2
XP_003455869.1 hypoxanthine-guanine phosphoribosyltransferase [Oreochromis niloticus]	HPRT1
XP_003456178.1 phosphatidylinositol-glycan biosynthesis class W protein [Oreochromis niloticus]	PIGW
XP_003456201.1 zinc finger HIT domain-containing protein 3 [Oreochromis niloticus]	ZNHIT3
XP_003456660.1 probable ribonuclease ZC3H12C [Oreochromis niloticus]	ZC3H12C
XP_003457081.1 Golgi phosphoprotein 3 [Oreochromis niloticus]	GOLPH3
XP_003459371.1 protein Mpv17 [Oreochromis niloticus]	MPV17
XP_003459393.2 transmembrane protease serine 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TMPRSS6
XP_003459837.1 vascular endothelial growth factor C isoform X1 [Oreochromis niloticus]	VEGFC
XP_005449250.1 polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 18 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GALNT18
XP_005451537.1 ADAMTS-like protein 2 [Oreochromis niloticus]	ADAMTSL2
XP_005452691.1 transcription factor COE1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	EBF1
XP_005453129.3 xin actin-binding repeat-containing protein 2 [Oreochromis niloticus]	XIRP2
XP_005453275.2 C991rotein 1 [Oreochromis niloticus]	G3BP1
XP_005453283.1 complexin-2 [Oreochromis niloticus]	CPLX2
XP_005453339.1 regulator of G-protein signaling 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GRG6
XP_005453553.1 uncharacterized protein C3orf18 homolog isoform X1 [Oreochromis niloticus]	C3orf18
XP_005453918.1 adhesion G protein-coupled receptor B2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ADGRB2
XP_005454141.1 MICOS complex subunit mic25a isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005454317.1 zinc finger CCHC domain-containing protein 18 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZC3H18
XP_005454397.1 NADPH-cytochrome P450 reductase isoform X1 [Oreochromis niloticus]	POR
XP_005455075.1 neurobeachin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NBEA
XP_005456231.3 tripartite motif-containing protein 16 [Oreochromis niloticus]	TRIM16
XP_005456546.1 titin homolog isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005456548.2 ligand-dependent corepressor isoform X3 [Oreochromis niloticus]	LCOR
XP_005457192.1 glypican-5 [Oreochromis niloticus]	GPC5

XP_005458659.1 G2/mitotic-specific cyclin-B3 [Oreochromis niloticus]	CCNB3
XP_005458695.1 WAS/WASL-interacting protein family member 2 [Oreochromis niloticus]	WIPF2
XP_005459189.1 complement factor I isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CFI
XP_005459359.1 rho guanine nucleotide exchange factor 26 [Oreochromis niloticus]	ARHGEF26
XP_005459615.1 FERM domain-containing protein 7 [Oreochromis niloticus]	FRMD7
XP_005459754.2 cholesterol 25-hydroxylase-like protein 2 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005460780.1 glutamate receptor ionotropic, NMDA 2A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GRIN2A
XP_005461388.2 LOW QUALITY PROTEIN: nidogen-1 [Oreochromis niloticus]	NID1
XP_005461829.2 GTPase IMAP family member 7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GIMAP7
XP_005462119.2 gastrula zinc finger protein XICGF57.1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005462689.1 tetraspanin-5 [Oreochromis niloticus]	TSPAN5
XP_005464932.1 dynein light chain 4, axonemal [Oreochromis niloticus]	DNAL4
XP_005464933.1 neuronal pentraxin receptor [Oreochromis niloticus]	NPTXR
XP_005466229.1 H/ACA ribonucleoprotein complex non-core subunit NAF1 [Oreochromis niloticus]	NAF1
XP_005466949.1 LIM domain only protein 7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	LMO7
XP_005468422.1 trinucleotide repeat-containing gene 18 protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TNRD18
XP_005472980.4 zinc finger matrin-type protein 4 [Oreochromis niloticus]	ZMAT4
XP_005474832.1 ras-related protein Rab-34 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	RAB34
XP_005475462.1 interleukin-1 receptor type 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	IL1R1
XP_005475859.1 dual specificity tyrosine-phosphorylation-regulated kinase 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DYRK2
XP_005475971.3 gastrotropin [Oreochromis niloticus]	FABP6
XP_005476745.2 ZZ-type zinc finger-containing protein 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZZZ3
XP_005476787.1 zinc finger protein 354C [Oreochromis niloticus]	ZNF354C
XP_005476790.1 ATP-sensitive inward rectifier potassium channel 10 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	KCNJ10
XP_005478041.1 ELKS/Rab6-interacting/CAST family member 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ERC1
XP_005478684.1 proto-oncogene tyrosine-protein kinase Yrk isoform X1 [Oreochromis niloticus]	YRK
XP_013120146.1 homeobox protein PKNOX1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PKNOX1
XP_013120428.1 radixin [Oreochromis niloticus]	RDX
XP_013121005.1 serine/threonine-protein phosphatase 2A 56 kDa regulatory subunit delta isoform [Oreochromis niloticus]	PPP2R2D
XP_013121709.1 peroxisomal acyl-coenzyme A oxidase 3 [Oreochromis niloticus]	ACOX3
XP_013122425.1 low-density lipoprotein receptor class A domain-containing protein 2 [Oreochromis niloticus]	LDLRAD2
XP_013124773.1 arf-GAP domain and FG repeat-containing protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	AGFG1
XP_013125794.1 signal-regulatory protein beta-2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SIRPB2
XP_013126318.1 protein FAM163B [Oreochromis niloticus]	FAM163B
XP_013127145.1 myosin-binding protein C, cardiac-type isoform X5 [Oreochromis niloticus]	MYBPC3
XP_013127457.1 3'(2',5'-bisphosphate nucleotidase 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	BPNT1
XP_013129042.1 glutathione S-transferase A [Oreochromis niloticus]	None
XP_013129227.2 LOW QUALITY PROTEIN: cytosolic carboxypeptidase 4 [Oreochromis niloticus]	AGBL1
XP_013132815.1 interleukin-1 receptor type 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	IL1R1
XP_019203488.1 zinc finger protein 184 [Oreochromis niloticus]	ZNF184
XP_019206344.2 LOW QUALITY PROTEIN: CUB and sushi domain-containing protein 3 [Oreochromis niloticus]	CSMD3
XP_019209781.1 low affinity immunoglobulin gamma Fc region receptor II isoform X1 [Oreochromis niloticus]	FCGR2
XP_019209926.1 vitamin K epoxide reductase complex subunit 1-like protein 1 [Oreochromis niloticus]	VKORC1L1
XP_019212504.1 interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 5 [Oreochromis niloticus]	IFIT5
XP_019213448.1 cytochrome P450 2K1 [Oreochromis niloticus]	CYP2K1
XP_019216004.1 teneurin-3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TENM3
XP_019218195.1 integrin alpha-M-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019219196.1 GTPase IMAP family member 4-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019219784.1 uncharacterized protein LOC100701719 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019219802.1 interleukin-21 receptor-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019220038.1 multidrug resistance protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ABCC1
XP_019220269.1 protein dopey-1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DOP1A
XP_025752667.1 RIMS-binding protein 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	RIMBP2
XP_025753001.1 tetratricopeptide repeat protein 27 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TTC27
XP_025753334.1 pro-neuregulin-3, membrane-bound isoform isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NRG3
XP_025754367.1 LOW QUALITY PROTEIN: neurexin-3b [Oreochromis niloticus]	None
XP_025754533.1 melanophilin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MLPH
XP_025754800.1 gastrula zinc finger protein XICGF26.1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_025755315.1 diacylglycerol kinase iota isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DGKI
XP_025757071.1 protein kinase C-binding protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZMYND8
XP_025757469.1 scavenger receptor cysteine-rich type 1 protein M130 [Oreochromis niloticus]	CD163
XP_025758914.1 glycosaminoglycan xylosylkinase isoform X1 [Oreochromis niloticus]	FAM20B
XP_025761192.1 LOW QUALITY PROTEIN: neurexin-2 [Oreochromis niloticus]	NRXN2
XP_025763044.1 transcription cofactor vestigial-like protein 4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	VGLL4
XP_025763241.1 guanine nucleotide-binding protein-like 3-like protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GNL3L
XP_025763938.1 UPF0687 protein C20orf27 homolog isoform X1 [Oreochromis niloticus]	C20orf27
XP_025764488.1 SH3 and multiple ankyrin repeat domains protein 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SHANK3
XP_025764774.1 diacylglycerol kinase zeta isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DGKZ
XP_025765106.1 proteinase-activated receptor 1 [Oreochromis niloticus]	PAR1
XP_025765383.1 rho GTPase-activating protein 23 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ARHGAP23

CJ (3)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
NP_001298261.1 heat shock 70 kDa protein 1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_003440279.1 general transcription factor 3C polypeptide 4 [Oreochromis niloticus]	GTF3C4
XP_003440977.1 gamma-aminobutyric acid receptor subunit gamma-3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GABRG3
XP_003444381.1 ribosome-recycling factor, mitochondrial [Oreochromis niloticus]	MRRF
XP_003445340.1 GTP-binding protein 8 [Oreochromis niloticus]	GTPBP8
XP_003446430.1 homeobox protein Hox-B4a [Oreochromis niloticus]	None
XP_003446513.1 carnitine O-palmitoyltransferase 1, liver isoform [Oreochromis niloticus]	CPT1A
XP_003446524.1 fez family zinc finger protein 2 [Oreochromis niloticus]	FEZF2
XP_003446525.1 bis(5'-adenosyl)-triphosphatase [Oreochromis niloticus]	FHIT

XP_003446551.1 serine/threonine-protein kinase 35 [Oreochromis niloticus]	STK35
XP_003446857.1 melatonin receptor type 1B-B [Oreochromis niloticus]	None
XP_003446921.1 short transient receptor potential channel 4 [Oreochromis niloticus]	TRPC4
XP_003447080.1 core-binding factor subunit beta isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CBFB
XP_003448137.2 PCNA-interacting partner isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PARBPBP
XP_003448335.1 voltage-dependent calcium channel subunit alpha-2/delta-3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CACNA2D3
XP_003448962.2 stromal membrane-associated protein 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SMAP2
XP_003449057.1 nuclear receptor subfamily 5 group A member 2 [Oreochromis niloticus]	NRS5A2
XP_003449487.1 microfibril-associated glycoprotein 4-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_003449522.1 zinc finger protein OZF [Oreochromis niloticus]	ZNF146
XP_003449745.1 melatonin receptor type 1A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MTNR1A
XP_003449999.1 sialic acid synthase [Oreochromis niloticus]	NANS
XP_003450117.1 arf-GAP with dual PH domain-containing protein 1 [Oreochromis niloticus]	ADAP1
XP_003451357.1 E3 SUMO-protein ligase PIAS4 [Oreochromis niloticus]	PIAS4
XP_003451414.2 forkhead box protein D1 [Oreochromis niloticus]	FOXD1
XP_003451544.1 dnaJ homolog subfamily C member 21 [Oreochromis niloticus]	DNAJC21
XP_003451815.1 caspase-3 [Oreochromis niloticus]	CASP3
XP_003451846.1 sorting nexin-25 [Oreochromis niloticus]	SNX25
XP_003451868.1 long-chain-fatty-acid-CoA ligase 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ACSL1
XP_003451898.1 cullin-associated NEDD8-dissociated protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CAND1
XP_003453618.1 T-box transcription factor TBX4 [Oreochromis niloticus]	TBX4
XP_003454177.1 protein tyrosine phosphatase type IVA 1 [Oreochromis niloticus]	PTP4A1
XP_003454293.1 procollagen-lysine,2-oxoglutarate 5-dioxygenase 1 [Oreochromis niloticus]	PLOD1
XP_003454916.1 popeye domain-containing protein 3 [Oreochromis niloticus]	POPPDC3
XP_003457689.2 ephrin-B2 [Oreochromis niloticus]	EFNB2
XP_003459954.1 COMM domain-containing protein 1 [Oreochromis niloticus]	COMM1
XP_005448493.1 putative protein TPRXL [Oreochromis niloticus]	TPRXL
XP_005449610.1 thyrotropin receptor isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TSHR
XP_005450057.1 gamma-aminobutyric acid receptor subunit alpha-5 [Oreochromis niloticus]	GABRA5
XP_005450810.1 RNA polymerase II subunit A C-terminal domain phosphatase isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CTDP1
XP_005450904.1 AP-4 complex subunit epsilon-1 [Oreochromis niloticus]	AP4E1
XP_005452095.1 netrin receptor UNC5C isoform X1 [Oreochromis niloticus]	UNC5C
XP_005452260.1 plexin-B1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PLXNB1
XP_005452456.1 peroxisomal biogenesis factor 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PEX3
XP_005452468.2 connector enhancer of kinase suppressor of ras 3 [Oreochromis niloticus]	CKNKS3
XP_005453604.1 receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma [Oreochromis niloticus]	PTPRG
XP_005453855.1 MAGUK p55 subfamily member 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MPP6
XP_005454593.1 laminin subunit gamma-3 [Oreochromis niloticus]	LAMC3
XP_005454886.2 complement C3 [Oreochromis niloticus]	C3
XP_005456487.1 protein SEC13 homolog [Oreochromis niloticus]	SEC13
XP_005456680.1 liprin-beta-1 [Oreochromis niloticus]	PPFBP1
XP_005458726.1 CREB3 regulatory factor [Oreochromis niloticus]	CREBRF
XP_005458837.1 DENN domain-containing protein 2D isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DENN2D
XP_005458845.1 ligand-dependent nuclear receptor-interacting factor 1 [Oreochromis niloticus]	LRIF1
XP_005460013.1 protein inscuteable homolog isoform X1 [Oreochromis niloticus]	INSC
XP_005460990.1 5'-AMP-activated protein kinase subunit gamma-1-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005461945.2 LOW QUALITY PROTEIN: peroxidase homolog [Oreochromis niloticus]	PXDN
XP_005461995.1 REST corepressor 1 [Oreochromis niloticus]	RCOR1
XP_005462306.2 LOW QUALITY PROTEIN: E3 ubiquitin-protein ligase parkin [Oreochromis niloticus]	PRKN
XP_005464377.1 acidic mammalian chitinase [Oreochromis niloticus]	CHIA
XP_005466270.1 H/AcA ribonucleoprotein complex subunit DKC1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DKC1
XP_005467046.1 rhombotin-1 [Oreochromis niloticus]	LMO1
XP_005467175.1 melanocyte-stimulating hormone receptor [Oreochromis niloticus]	MC1R
XP_005467269.1 protein sprouty homolog 1 [Oreochromis niloticus]	SPRY1
XP_005469177.2 myc-associated zinc finger protein [Oreochromis niloticus]	MAZ
XP_005469178.1 serine/threonine-protein kinase NLK2 [Oreochromis niloticus]	NLK2
XP_005470056.1 alpha-1,6-mannosylglycoprotein 6-beta-N-acetylglucosaminyltransferase B isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MGAT5
XP_005473728.1 N-acetylgalactosaminide beta-1,3-N-acetylglucosaminyltransferase 2 [Oreochromis niloticus]	B3GNT2
XP_005473799.1 kinesin-like protein KIF20B isoform X1 [Oreochromis niloticus]	KIF20B
XP_005474967.1 probable G-protein coupled receptor 171 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GPR171
XP_005475951.1 pro-MCH 2 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005476577.1 EMLIN-2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	EMLIN2
XP_005477739.2 LOW QUALITY PROTEIN: AT-rich interactive domain-containing protein 1B [Oreochromis niloticus]	ARID1B
XP_012776047.2 N-acetylglucosamine-6-phosphate deacetylase [Maylandia zebra]	AMDHD2
XP_013123196.1 protein strawberry notch homolog 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SNB2
XP_013124841.1 platelet-derived growth factor D isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PDGFD
XP_013125298.1 UNC93-like protein MFSD11 [Oreochromis niloticus]	MFSD11
XP_013127560.1 homeobox protein Hox-B3a [Oreochromis niloticus]	None
XP_013127714.1 AN1-type zinc finger protein 3 [Oreochromis niloticus]	ZFAND3
XP_013129097.2 mucin-12 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MUC12
XP_013129167.1 copine-9 [Oreochromis niloticus]	CPNE9
XP_013130427.1 HEAT repeat-containing protein 5A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	HEATR5A
XP_013130885.1 glypican-6 [Oreochromis niloticus]	GPC6
XP_013131533.2 major histocompatibility complex class I-related gene protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MR1
XP_019201377.1 40S ribosomal protein S7 [Oreochromis niloticus]	RPS7
XP_019202483.1 E3 ubiquitin-protein ligase RNF14 [Oreochromis niloticus]	RNF14
XP_019203696.1 beta-1,4-galactosyltransferase 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	B4GALT2
XP_019203735.1 natural killer cell receptor 2B4 [Oreochromis niloticus]	CD244
XP_019206268.1 major histocompatibility complex class I-related gene protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MR1
XP_019210754.1 LOW QUALITY PROTEIN: laminin subunit beta-3-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_019211139.1 LOW QUALITY PROTEIN: REST corepressor 3 [Oreochromis niloticus]	RCOR3
XP_019213795.1 LOW QUALITY PROTEIN: serine/threonine-protein kinase BRSK1 [Oreochromis niloticus]	BRSK1
XP_019214080.1 receptor-type tyrosine-protein phosphatase gamma isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PTPRG

XP_019214085.1 calcium-dependent secretion activator 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CADPS
XP_019215938.1 zinc finger and BTB domain-containing protein 45 [Oreochromis niloticus]	ZBTB45
XP_019215985.1 solute carrier family 22 member 7 [Oreochromis niloticus]	SLC22A7
XP_019217906.1 gastrula zinc finger protein XICGF57.1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019218563.1 probable G-protein coupled receptor 158 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GPR158
XP_019219298.1 synaptojanin-1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SYNJ1
XP_019221078.1 UDP-glucuronosyltransferase 2C1-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019221517.1 DNA excision repair protein ERCC-6-like 2 [Oreochromis niloticus]	ERCC6L2
XP_024654747.1 protein NLR3 [Maylandia zebra]	NLR3
XP_024661191.1 collagen alpha-3(VI) chain-like isoform X1 [Maylandia zebra]	COL6A3
XP_025754015.1 bromodomain-containing protein 8 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	BRD8
XP_025754264.1 fibrinogen-like protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	FGL1
XP_025754755.1 ankyrin repeat domain-containing protein 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ANKRD6
XP_025754959.1 peroxisomal biogenesis factor 7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PEX7
XP_025755516.1 putative interleukin-17 receptor E-like [Oreochromis niloticus]	IL17REL
XP_025755867.1 uncharacterized protein LOC112842779 [Oreochromis niloticus]	None
XP_025756725.1 myelin transcription factor 1-like protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MYT1L
XP_025757129.1 tripartite motif-containing protein 54 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TRIM54
XP_025762019.1 cytochrome P450 2K1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CYP2K1
XP_025763297.1 pleckstrin homology domain-containing family A member 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PLEKHA6
XP_025763965.1 myomesin-2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MYOM2
XP_025763972.1 rho-related GTP-binding protein RhoU isoform X1 [Oreochromis niloticus]	RHO
XP_025765917.1 LOW QUALITY PROTEIN: zinc finger homeobox protein 4 [Oreochromis niloticus]	ZFH4
XP_025766212.1 peroxisome biogenesis factor 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PEX2
XP_025766524.1 uncharacterized protein LOC10069848 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_035760162.1 amine sulfotransferase-like [Neolamprologus brichardi]	None

Mwa-Mak (same) (4)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_003450037.1 DNA repair protein complementing XP-A cells [Oreochromis niloticus]	XPA
XP_003459858.1 ATP-binding cassette sub-family F member 1 [Oreochromis niloticus]	ABCF1
XP_004556535.1 proline-rich transmembrane protein 2 [Maylandia zebra]	PRRT2
XP_005450837.1 transcription factor SOX-4 [Oreochromis niloticus]	SOX4
XP_005452449.1 cytochrome P450 2K4 [Oreochromis niloticus]	CYP2K4
XP_005455794.1 malignant fibrous histiocytoma-amplified sequence 1 homolog [Oreochromis niloticus]	MFHAS1
XP_005457838.1 adhesion G protein-coupled receptor E1 [Oreochromis niloticus]	ADGRE1
XP_005469290.1 protein glass [Oreochromis niloticus]	None
XP_013128153.1 supravillin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SVIL
XP_019220041.1 acyl-CoA-binding domain-containing protein 7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ACBD7
XP_019220043.1 acyl-CoA-binding domain-containing protein 7 isoform X2 [Oreochromis niloticus]	ACBD7
XP_024660859.1 olfactory receptor 478-like [Maylandia zebra]	None
XP_025764115.1 GTP-binding protein 2 [Oreochromis niloticus]	GTPBP2

Mwa-CJ (same) (5)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_003448504.1 gamma-soluble NSF attachment protein [Oreochromis niloticus]	NAPG
XP_003449512.1 Bardet-Biedl syndrome 1 protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	BBS1
XP_003449540.1 cGMP-dependent protein kinase 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PRKG1
XP_003456722.1 bifunctional heparan sulfate N-deacetylase/N-sulfotransferase 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NDST2
XP_005449020.1 EMILIN-2 [Oreochromis niloticus]	EMILIN2
XP_005450505.1 C-X-C chemokine receptor type 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CXCR2
XP_005453962.1 HMG box transcription factor BBX isoform X1 [Oreochromis niloticus]	BBX
XP_005471552.1 nucleoside diphosphate-linked moiety X motif 13 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NUDT13
XP_005471571.1 kinesin-like protein KIF20B isoform X1 [Oreochromis niloticus]	KIF20B
XP_005472341.1 periostin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	POSTN
XP_005475099.2 sodium/bile acid cotransporter [Oreochromis niloticus]	SLC10A1
XP_013123155.1 zinc finger SWIM domain-containing protein 8 [Oreochromis niloticus]	ZSWIM8
XP_013131576.1 nuclear GTPase SLIP-GC [Oreochromis niloticus]	NUGGC
XP_014268478.1 E3 ubiquitin-protein ligase CBL-B isoform X1 [Maylandia zebra]	CBLB
XP_019212115.1 sacsin-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_025765576.1 ryanodine receptor 2 [Oreochromis niloticus]	RYR2

Mak-CJ (same) (6)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_003448186.1 leucine-rich repeat-containing G-protein coupled receptor 5 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	LGR5
XP_003455739.1 kinesin-like protein KIF11 [Oreochromis niloticus]	KIF11
XP_005450866.1 brain aromatase isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CYP19A1
XP_005452510.1 neuremedin-B receptor [Oreochromis niloticus]	NMBR
XP_005460997.1 uncharacterized protein LOC102076879 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005473147.1 transmembrane protein 132C [Oreochromis niloticus]	TMEM132C
XP_019208864.1 tubulin polyglutamylase TTL4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TTL4
XP_019212084.1 uncharacterized protein LOC109200956 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019216143.1 uncharacterized protein LOC109202680 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019216481.1 uncharacterized protein LOC100690076 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019217511.1 heat shock factor protein 4 [Oreochromis niloticus]	HSF4
XP_019222205.1 LOW QUALITY PROTEIN: solute carrier family 22 member 15-like [Oreochromis niloticus]	SLC22A15
XP_025753024.1 titin-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_025761379.1 macrophage-capping protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CAPG
XP_025767233.1 LOW QUALITY PROTEIN: regulating synaptic membrane exocytosis protein 2 [Oreochromis niloticus]	RIMS2

Mwa vs Mak (divergent) (7)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_003442498.3 LOW QUALITY PROTEIN: double C2-like domain-containing protein alpha [Oreochromis niloticus]	DOC2A
XP_003442614.1 E3 ubiquitin-protein ligase CHIP [Oreochromis niloticus]	STUB1
XP_003447168.1 transmembrane and TPR repeat-containing protein 2 [Oreochromis niloticus]	TMTC2
XP_003447660.2 melatonin receptor type 1A [Oreochromis niloticus]	MTNR1A
XP_003447687.1 protocadherin-12 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PCDH12
XP_003447884.1 pantothenate kinase 3 [Oreochromis niloticus]	PANK3
XP_003449520.2 interferon-induced protein with tetratricopeptide repeats 5 [Oreochromis niloticus]	IFIT5
XP_003449534.2 ATP-binding cassette sub-family A member 5 [Oreochromis niloticus]	ABCA5
XP_003450000.1 sodium/potassium/calcium exchanger 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SLC24A2
XP_003452807.3 TNF receptor-associated factor 5 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TRAF5
XP_003454129.2 immediate early response gene 2 protein [Oreochromis niloticus]	IER2
XP_003454844.1 intraflagellar transport protein 80 homolog isoform X1 [Oreochromis niloticus]	IFT80
XP_003456202.1 dehydrogenase/reductase SDR family member 11 [Oreochromis niloticus]	DHRS11
XP_003457729.1 olfactory receptor 52N5-like [Oreochromis niloticus]	OR52N5
XP_004565274.2 rho GTPase-activating protein SYDE1 [Maylandia zebra]	SYDE1
XP_005451393.1 serine/threonine-protein kinase ULK1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ULK1
XP_005453272.1 proton-coupled amino acid transporter 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SLC36A1
XP_005458738.1 coiled-coil domain-containing protein 130 [Oreochromis niloticus]	CCDC130
XP_005459378.1 structural maintenance of chromosomes protein 4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SMC4
XP_005462696.1 mitotic spindle assembly checkpoint protein MAD1 [Oreochromis niloticus]	MAD1L1
XP_005464866.1 uridine-cytidine kinase-like 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	UCKL1
XP_005471550.1 transcription factor COE3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	EBF3
XP_005474838.1 protein PROCA1 [Oreochromis niloticus]	PROCA1
XP_005474846.1 C2 domain-containing protein 3 [Oreochromis niloticus]	C2CD3
XP_005475861.1 F-box only protein 15 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	FBXO15
XP_013128362.1 lysyl oxidase homolog 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	LOXL3
XP_013128476.1 axin-2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	AXIN2
XP_013130209.2 C-Jun-amino-terminal kinase-interacting protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MAPK8IP1
XP_019208843.1 receptor tyrosine-protein kinase erbB-4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ERBB4
XP_019213094.1 caskin-2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CASKIN2
XP_019216848.1 uncharacterized protein LOC100709838 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019216873.2 LOW QUALITY PROTEIN: sodium/hydrogen exchanger 5 [Oreochromis niloticus]	SLC9A5
XP_019218612.1 structural maintenance of chromosomes flexible hinge domain-containing protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SMCHD1
XP_019219752.1 basement membrane-specific heparan sulfate proteoglycan core protein isoform X1 [Oreochromis niloticus]	HSPG2
XP_019220473.1 protein FAM198A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GASK1A
XP_025753399.1 uncharacterized protein LOC112841986 [Oreochromis niloticus]	None
XP_025754090.1 seizure protein 6 homolog [Oreochromis niloticus]	SEZ6
XP_025755943.1 cell adhesion molecule 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CADM3
XP_025756759.1 mirror-image polydactyly gene 1 protein [Oreochromis niloticus]	MIPOL1
XP_025756192.1 transcription factor 4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TCF4
XP_025765439.1 NLR family CARD domain-containing protein 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NLRG3
XP_025766917.1 sialic acid-binding Ig-like lectin 14 [Oreochromis niloticus]	SIGLEC14
XP_025766920.1 myeloid cell surface antigen CD33-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_025766969.1 hemocentin-1 [Oreochromis niloticus]	HMCN1

Mwa vs CJ (divergent) (8)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
MAGP4-D (Hatashima, unpublished data)	None
NP_001266379.1 DNA repair protein RAD51 homolog 2 [Oreochromis niloticus]	RAD51B
XP_003447880.2 LOW QUALITY PROTEIN: rab3 GTPase-activating protein non-catalytic subunit [Oreochromis niloticus]	RAB3GAP2
XP_003449455.1 phosphatidylinositol 3,4,5-trisphosphate 3-phosphatase and dual-specificity protein phosphatase PTEN isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PTEN
XP_003449514.1 ATPase family AAA domain-containing protein 1 [Oreochromis niloticus]	ATAD1
XP_003450118.1 ras-related protein Rab-26 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	RAB26
XP_003453028.1 5'-nucleotidase domain-containing protein 1 [Oreochromis niloticus]	NT5DC1
XP_003454184.1 V-type proton ATPase subunit e 2 [Oreochromis niloticus]	ATP6V1E2
XP_003460145.1 aryl hydrocarbon receptor repressor [Oreochromis niloticus]	AHRR
XP_003460261.1 ankyrin repeat domain-containing protein 9 [Oreochromis niloticus]	ANKRD9
XP_005447870.1 potassium voltage-gated channel subfamily G member 4 [Oreochromis niloticus]	KCNQ4
XP_005449990.1 bile salt export pump isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ABCB11
XP_005452477.2 5'-3' exonuclease 2 [Oreochromis niloticus]	XRN2
XP_005452478.1 homeobox protein Nkx-2.4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NKX2-4
XP_005456558.1 zinc finger matrin-type protein 4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ZMAT4
XP_005467176.1 differentially expressed in FDCP 8 homolog isoform X1 [Oreochromis niloticus]	DEF8
XP_005471655.1 gastrula zinc finger protein XFG20-1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005474585.1 ventricular zone-expressed PH domain-containing protein homolog 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	VEPH1
XP_005475200.1 CASP8-associated protein 2 [Oreochromis niloticus]	CASP8AP2
XP_005475206.1 mitogen-activated protein kinase kinase kinase 7 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MAP3K7
XP_005475215.1 potassium voltage-gated channel subfamily H member 8 [Oreochromis niloticus]	KCNH8
XP_013127976.1 cadherin-13 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CDH13
XP_013131989.1 breast carcinoma-amplified sequence 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	BCAS3
XP_019201272.1 midasin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	MDN1
XP_019204333.1 lectinin beta-propeller repeat-containing protein 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TECPR2
XP_019209610.1 E3 ubiquitin-protein ligase TRIM39 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TRIM39
XP_019210875.1 baculoviral IAP repeat-containing protein 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	BIRC6
XP_019217909.1 gastrula zinc finger protein XICGF57.1 [Oreochromis niloticus]	None
XP_019217954.1 ribonuclease P protein subunit p30 [Oreochromis niloticus]	RPP30
XP_019219312.1 UDP-glucuronosyltransferase 2C1 [Oreochromis niloticus]	UGT2C1

XP_025761861.1 secretory phospholipase A2 receptor-like [Oreochromis niloticus]	None
XP_025761992.1 nuclear GTPase SLIP-GC isoform X1 [Oreochromis niloticus]	NUGGC
XP_025763705.1 titin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TTN

Mak vs CJ (divergent) (9)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_003442611.2 LOW QUALITY PROTEIN: serine/threonine-protein kinase TAO2 [Oreochromis niloticus]	TAOK2
XP_003445379.1 zinc finger protein GLI2 [Oreochromis niloticus]	GLI2
XP_003446529.1 ubiquitin-conjugating enzyme E2 variant 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	UBE2V1
XP_003447656.1 SPARC [Oreochromis niloticus]	SPARC
XP_003447678.2 vesicular integral-membrane protein VIP36 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	LMAN2
XP_005454646.1 LOW QUALITY PROTEIN: ubiquitin carboxyl-terminal hydrolase 25 [Oreochromis niloticus]	USP25
XP_005458443.1 solute carrier family 12 member 5 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SLC12A5
XP_005460425.2 pleckstrin homology domain-containing family A member 5 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PLEKHA5
XP_012771067.1 neuron navigator 3 isoform X1 [Maylandia zebra]	NAV3
XP_019203968.1 acyl-coenzyme A thioesterase 3 [Oreochromis niloticus]	ACOT3
XP_019205713.1 LOW QUALITY PROTEIN: zinc finger protein 385A [Oreochromis niloticus]	ZNF385A
XP_019211048.1 5-hydroxytryptamine receptor 4 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	HTR4
XP_025757587.1 kelch domain-containing protein 8B [Oreochromis niloticus]	KLHDC8B
XP_025759294.1 fer-1-like protein 6 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	FER1L6

Mwa-Mak vs CJ (divergent) (10)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_005457667.1 glutamate receptor subunit 2A isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GRIN2A
XP_025763998.1 glycine receptor subunit beta isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GLRB
XP_003454128.1 protein Asterix [Oreochromis niloticus]	WDR83OS
XP_004574487.1 WD repeat domain-containing protein 83 [Maylandia zebra]	WDR83
XP_025764116.1 atlastin-2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	ATL2

Mwa vs Mak-CJ (divergent) (12)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_003447881.1 uncharacterized protein LOC100709251 [Oreochromis niloticus]	None
XP_005451541.1 SH2 domain-containing protein 3C isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SH2D3C
XP_005459601.1 dachshund homolog 2 [Oreochromis niloticus]	DACH2
XP_005461064.1 chordin isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CHRD

Mwa vs Mak vs CJ (divergent) (13)

NCBIに登録されている遺伝子名	ヒトでの遺伝子名
XP_003437922.2 EF-hand calcium-binding domain-containing protein 14 [Oreochromis niloticus]	EFCAB14
XP_003442557.1 eukaryotic translation initiation factor 3 subunit D isoform X1 [Oreochromis niloticus]	EIF3D
XP_003442613.1 jmjC domain-containing protein 8 [Oreochromis niloticus]	JMJDB
XP_003442616.1 UBA-like domain-containing protein 2 [Oreochromis niloticus]	UBALD2
XP_003447879.1 isoleucine--tRNA ligase, mitochondrial [Oreochromis niloticus]	IARS2
XP_003452812.1 creatine kinase M-type [Oreochromis niloticus]	CKM
XP_003456080.2 transcription regulator protein BACH2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	BACH2
XP_003456081.2 gap junction alpha-10 protein [Oreochromis niloticus]	GJA10
XP_004556501.1 forkhead box protein J1-A [Maylandia zebra]	None
XP_004574485.1 transcription factor IIIA [Maylandia zebra]	GTF3A
XP_005452443.1 polypeptide N-acetylgalactosaminyltransferase 14 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GALNT14
XP_005453274.1 protocadherin Fat 2 [Oreochromis niloticus]	FAT2
XP_005453286.1 ganglioside GM2 activator [Oreochromis niloticus]	GM2A
XP_005455947.2 sialic acid-binding Ig-like lectin 9 [Oreochromis niloticus]	SIGLEC9
XP_005457676.1 heterogeneous nuclear ribonucleoprotein L-like isoform X1 [Oreochromis niloticus]	HNRNPLL
XP_005458740.1 complement C3 [Oreochromis niloticus]	C3
XP_005464929.1 SUN domain-containing protein 1 [Oreochromis niloticus]	SUN1
XP_005469162.1 glutamine-rich protein 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	QRICH2
XP_013124834.1 kin of IRRE-like protein 3 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	KIRREL3
XP_013128155.1 kin of IRRE-like protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	KIRREL1
XP_019201759.1 sodium/bile acid cotransporter isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SLC10A1
XP_019203838.1 piezo-type mechanosensitive ion channel component 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	PIEZO2
XP_019213188.1 amine sulfotransferase [Oreochromis niloticus]	None
XP_019215855.2 LOW QUALITY PROTEIN: voltage-dependent P/Q-type calcium channel subunit alpha-1A [Oreochromis niloticus]	CACNA1A
XP_019218186.1 transient receptor potential cation channel subfamily M member 4 [Oreochromis niloticus]	TRPM4
XP_019219898.1 sialic acid-binding Ig-like lectin 10 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	SIGLEC10
XP_025753730.1 chloride channel protein 2 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	CLCN2
XP_025758093.1 CUB and sushi domain-containing protein 2 [Oreochromis niloticus]	CSMD2
XP_025762265.1 calpain-15 [Oreochromis niloticus]	CAPN15
XP_025763803.1 tau-tubulin kinase 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TTBK1
XP_025763985.1 LOW QUALITY PROTEIN: voltage-dependent T-type calcium channel subunit alpha-1 [Oreochromis niloticus]	CACNA11
XP_025763990.1 two pore calcium channel protein 1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	TPCN1
XP_025764685.1 voltage-dependent N-type calcium channel subunit alpha-1B [Oreochromis niloticus]	CACNA1B
XP_025765797.1 glutamate receptor ionotropic, delta-1 isoform X1 [Oreochromis niloticus]	GRID1
XP_025766166.1 methyltransferase-like protein 4 [Oreochromis niloticus]	METTL4

H. chilotes の分集団において正の自然選択を受けている可能性が高い適応候補遺伝子のリスト。 F_{ST} 値および PBS 値から正の自然選択の痕跡が検出された分集団の組み合わせに基づき、適応候補遺伝子を 13 種類に分類した。 **Mwa** はムワンザ湾内集団、 **Mak** は Makobe 集団、 **CJ** は Chamagati-Juma 集団を指す。例えば、 **Mwa (1)** はムワンザ湾内集団でのみ正の自然選択が働いている遺伝子を意味しており、 () 内の数字は本文中の 3.2.6 に記載した分類番号に相当する。

参考文献

- Alexander DH, Novembre J, Lange K. 2009. Fast model-based estimation of ancestry in unrelated individuals. *Genome Res.* 19:1655–1664.
- Andrews S. 2010. FastQC: a quality control tool for high throughput sequence data. Available from: <http://www.bioinformatics.babraham.ac.uk/projects/fastqc>
- Barrett RDH, Schluter D. 2008. Adaptation from standing genetic variation. *Trends Ecol. Evol.* 23:38–44.
- Baumgarten L, Machado-Schiaffino G, Henning F, Meyer A. 2015. What big lips are good for: On the adaptive function of repeatedly evolved hypertrophied lips of cichlid fishes. *Biol. J. Linn. Soc.* 115:448–455.
- Bezault E, Mwaiko S, Seehausen O. 2011. Population genomic tests of models of adaptive radiation in Lake Victoria region cichlid fish. *Evolution* 65:3381–3397.
- Birney E, Clamp M, Durbin R. 2004. GeneWise and Genomewise. *Genome Res.* 14:988–995.
- Boulenger G. 1911. On a third collection of fishes made by Dr. E. Bayon in Uganda, 1909–1910. *Ann Mus Civ Stor Nat Genova* 45:64–78.
- Brawand D, Wagner CE, Li YI, Malinsky M, Keller I, Fan S, Simakov O, Ng AY, Lim ZW, Bezault E, et al. 2014. The genomic substrate for adaptive radiation in African cichlid fish. *Nature* 513:375–381.
- Browning SR, Browning BL. 2007. Rapid and accurate haplotype phasing and missing-data inference for whole-genome association studies by use of localized haplotype clustering. *Am. J. Hum. Genet.* 81:1084–1097.
- Cescon M, Gattazzo F, Chen P, Bonaldo P. 2015. Collagen VI at a glance. *J. Cell Sci.* 128:3525–3531.
- Chen S, Zhou Y, Chen Y, Gu J. 2018. Fastp: An ultra-fast all-in-one FASTQ preprocessor. *Bioinformatics* 34:i884–i890.
- Churakov G, Smit AFA, Brosius J, Schmitz J. 2005. A novel abundant family of retroposed elements (DAS-SINEs) in the nine-banded armadillo (*Dasybus novemcinctus*). *Mol. Biol. Evol.* 22:886–893.

- Cole TB, Stacey NE. 2006. Olfactory responses to steroids in an African mouth-brooding cichlid, *Haplochromis burtoni* (Günther). *J. Fish Biol.* 68:661–680.
- Cunningham F, Achuthan P, Akanni W, Allen J, Amode MR, Armean IM, Bennett R, Bhai J, Billis K, Boddu S, et al. 2019. Ensembl 2019. *Nucleic Acids Res.* 47:D745–D751.
- Danecek P, Auton A, Abecasis G, Albers CA, Banks E, DePristo MA, Handsaker RE, Lunter G, Marth GT, Sherry ST, et al. 2011. The variant call format and VCFtools. *Bioinformatics* 27:2156–2158.
- Darriba Di, Posada D, Kozlov AM, Stamatakis A, Morel B, Flouri T. 2020. ModelTest-NG: A New and Scalable Tool for the Selection of DNA and Protein Evolutionary Models. *Mol. Biol. Evol.* 37:291–294.
- Darwin C. 1859. On the Origin of Species by Means of Natural Selection. Murray, London
- Ellison AR, Uren Webster TM, Rey O, Garcia De Leaniz C, Consuegra S, Orozco-Terwengel P, Cable J. 2018. Transcriptomic response to parasite infection in Nile tilapia (*Oreochromis niloticus*) depends on rearing density. *BMC Genomics* 19:723.
- Ewing GB, Jensen JD. 2016. The consequences of not accounting for background selection in demographic inference. *Mol. Ecol.* 25:135–141.
- Flouri T, Izquierdo-Carrasco F, Darriba D, Aberer AJ, Nguyen LT, Minh BQ, Von Haeseler A, Stamatakis A. 2015. The phylogenetic likelihood library. *Syst. Biol.* 64:356–362.
- Garrison E, Kronenberg ZN, Dawson ET, Pedersen BS, Prins P. 2021. Vcfliib and tools for processing the VCF variant call format. *bioRxiv* Available from: <https://doi.org/10.1101/2021.05.21.445151>
- Gillespie JH, Langley CH. 1979. Are evolutionary rates really variable? *J. Mol. Evol.* 13:27–34.
- Greenwood PH. 1959. A revision of the Lake Victoria *Haplochromis* species (Pisces, Cichlidae). Part II. Bulletin of the British Museum (Natural History)
- Guerrero RF, Hahn MW. 2017. Speciation as a sieve for ancestral polymorphism. *Mol. Ecol.* 26:5362–5368.

- Gunter HM, Fan S, Xiong F, Franchini P, Fruciano C, Meyer A. 2013. Shaping development through mechanical strain: The transcriptional basis of diet-induced phenotypic plasticity in a cichlid fish. *Mol. Ecol.* 22:4516–4531.
- Hermisson J, Pennings PS. 2005. Soft sweeps: Molecular population genetics of adaptation from standing genetic variation. *Genetics* 169:2335–2352.
- Holsinger KE, Weir BS. 2009. Genetics in geographically structured populations: Defining, estimating and interpreting F_{ST} . *Nat. Rev. Genet.* 10:639–650.
- Hudson RR. 1990. Gene genealogies and the coalescent process. *Oxf. Surv. Evol. Biol* 7:1–44.
- Hudson RR, Slatkin M, Maddison WP. 1992. Estimation of levels of gene flow from DNA sequence data. *Genetics* 132:583–589.
- Jiggins CD, Naisbit RE, Coe RL, Mallet J. 2001. Reproductive isolation caused by colour pattern mimicry. *Nature* 411:302–305.
- Johnson TC, Kelts K, Odada E. 2000. The Holocene History of Lake Victoria. *Ambio* 29:2–11.
- Kasthuber E, Gesemann M, Mickoleit M, Neuhauss SCF. 2013. Phylogenetic analysis and expression of zebrafish transient receptor potential melastatin family genes. *Dev. Dyn.* 242:1236–1249.
- Keller-Costa T, Canário AVM, Hubbard PC. 2014. Olfactory sensitivity to steroid glucuronates in Mozambique tilapia suggests two distinct and specific receptors for pheromone detection. *J. Exp. Biol.* 217:4203–4212.
- Kimura M. 1968. Evolutionary Rate at the Molecular Level. *Nature* 217:624–626
- Kirschke H. 1998. Handbook of proteolytic enzymes. (Barrett AJ, Rawlings ND WJ, editor.). San Diego: Academic
- Kobayashi N, Watanabe M, Kijimoto T, Fujimura K, Nakazawa M, Ikeo K, Kohara Y, Gojobori T, Okada N. 2006. Magp4 Gene May Contribute To the Diversification of Cichlid Morphs and Their Speciation. *Gene* 373:126–133.

- Kocher TD. 2004. Adaptive evolution and explosive speciation: The cichlid fish model. *Nat. Rev. Genet.* 5:288–298.
- Kozlov AM, Darriba D, Flouri T, Morel B, Stamatakis A. 2019. RAxML-NG: A fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. *Bioinformatics* 35:4453–4455.
- Kratochwil CF, Liang Y, Gerwin J, Woltering JM, Urban S, Henning F, Machado-Schiaffino G, Hulsey CD, Meyer A. 2018. Agouti-related peptide 2 facilitates convergent evolution of stripe patterns across cichlid fish radiations. *Science* 362:457–460.
- Kumar S, Stecher G, Tamura K. 2016. MEGA7: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 7.0 for Bigger Datasets. *Mol. Biol. Evol.* 33:1870–1874.
- Lamichhaney S, Berglund J, Almén MS, Maqbool K, Grabherr M, Martinez-Barrio A, Promerová M, Rubin CJ, Wang C, Zamani N, et al. 2015. Evolution of Darwin’s finches and their beaks revealed by genome sequencing. *Nature* 518:371–375.
- Lande R. 1988. Genetics and Demography in Biological Conservation. *Science* 3:455–460.
- Li H. 2011. A statistical framework for SNP calling, mutation discovery, association mapping and population genetical parameter estimation from sequencing data. *Bioinformatics* 27:2987–2993.
- Li H. 2013. Aligning sequence reads, clone sequences and assembly contigs with BWA-MEM. 00:1–3. Available from: <http://arxiv.org/abs/1303.3997>
- Li H, Handsaker B, Wysoker A, Fennell T, Ruan J, Homer N, Marth G, Abecasis G, Durbin R. 2009. The Sequence Alignment/Map format and SAMtools. *Bioinformatics* 25:2078–2079.
- Liao Y, Wang J, Jaehnig EJ, Shi Z, Zhang B. 2019. WebGestalt 2019: gene set analysis toolkit with revamped UIs and APIs. *Nucleic Acids Res.* 47:W199–W205.
- Lischer HEL, Excoffier L. 2012. PGDSpider: An automated data conversion tool for connecting population genetics and genomics programs. *Bioinformatics* 28:298–299.
- Loh YHE, Bezault E, Muenzel FM, Roberts RB, Swofford R, Barluenga M, Kidd CE, Howe AE, Di

- Palma F, Lindblad-Toh K, et al. 2013. Origins of shared genetic variation in African cichlids. *Mol. Biol. Evol.* 30:906–917.
- Malaspinas AS, Westaway MC, Muller C, Sousa VC, Lao O, Alves I, Bergström A, Athanasiadis G, Cheng JY, Crawford JE, et al. 2016. A genomic history of Aboriginal Australia. *Nature* 538:207–214.
- Malinsky M, Matschiner M, Svardal H. 2021. Dsuite - Fast D-statistics and related admixture evidence from VCF files. *Mol. Ecol. Resour.* 21:584–595.
- Malinsky M, Svardal H, Tyers AM, Miska EA, Genner MJ, Turner GF, Durbin R. 2018. Whole-genome sequences of Malawi cichlids reveal multiple radiations interconnected by gene flow. *Nat. Ecol. Evol.* 2:1940–1955.
- Marques DA, Meier JI, Seehausen O. 2019. A Combinatorial View on Speciation and Adaptive Radiation. *Trends Ecol. Evol.* 34:531–544.
- Matuszewski S, Hermisson J, Kopp M. 2015. Catch me if you can: Adaptation from standing genetic variation to a moving phenotypic optimum. *Genetics* 200:1255–1274.
- Mayr E. 1942. *Systematics and the Origin of Species, from the Viewpoint of a Zoologist*. Cambridge Massachusetts: Harvard University Press
- McGee MD, Borstein SR, Meier JI, Marques DA, Mwaiko S, Taabu A, Kische MA, O’Meara B, Bruggmann R, Excoffier L, et al. 2020. The ecological and genomic basis of explosive adaptive radiation. *Nature* 586:75–79.
- Meier JI, Marques DA, Mwaiko S, Wagner CE, Excoffier L, Seehausen O. 2017. Ancient hybridization fuels rapid cichlid fish adaptive radiations. *Nat. Commun.* 8:14363.
- Meier JI, Marques DA, Wagner CE, Excoffier L, Seehausen O. 2018. Genomics of parallel ecological speciation in Lake Victoria cichlids. *Mol. Biol. Evol.* 35:1489–1506.
- Meier JI, Sousa VC, Marques DA, Selz OM, Wagner CE, Excoffier L, Seehausen O. 2017. Demographic

- modelling with whole-genome data reveals parallel origin of similar *Pundamilia* cichlid species after hybridization. *Mol. Ecol.* 26:123–141.
- Meier JI, Stelkens RB, Joyce DA, Mwaiko S, Phiri N, Schliewen UK, Selz OM, Wagner CE, Katongo C, Seehausen O. 2019. The coincidence of ecological opportunity with hybridization explains rapid adaptive radiation in Lake Mweru cichlid fishes. *Nat. Commun.* 10:5391.
- Miles A, R. M, Ralph P, Harding N, Pisupati R, Rae S, Millar T. 2020. cggh/scikit-allel: v1.3.2.
- Miyagi R, Terai Y, Aibara M, Sugawara T, Imai H, Tachida H, Mzighani SI, Okitsu T, Wada A, Okada N. 2012. Correlation between nuptial colors and visual sensitivities tuned by opsins leads to species richness in sympatric Lake Victoria cichlid fishes. *Mol. Biol. Evol.* 29:3281–3296.
- Mort J. 1998. Handbook of proteolytic enzymes. (Barrett AJ, Rawlings ND WJ, editor.). San Diego: Academic
- Nakamura H, Aibara M, Kajitani R, Mrosso HDJ, Mzighani SI, Toyoda A, Itoh T, Okada N, Nikaido M. 2021. Genomic Signatures for Species-Specific Adaptation in Lake Victoria Cichlids Derived from Large-Scale Standing Genetic Variation. *Mol. Biol. Evol.* 38:3111–3125.
- Nikaido M, Ota T, Hirata T, Suzuki H, Satta Y, Aibara M, Mzighani SI, Sturmbauer C, Hagino-Yamagishi K, Okada N. 2014. Multiple episodic evolution events in v1r receptor genes of East-African cichlids. *Genome Biol. Evol.* 6:1135–1144.
- Ohta T. 1972. Population size and rate of evolution. *J. Mol. Evol.* 1:305–314.
- Ohta T. 1973. Slightly Deleterious Mutant Substitutions in Evolution. *Nature* 246:96–98.
- Ortiz E. 2019. vcf2phylip v2.0: convert a VCF matrix into several matrix formats for phylogenetic analysis. *Zenodo*.
- Patterson N, Moorjani P, Luo Y, Mallick S, Rohland N, Zhan Y, Genschoreck T, Webster T, Reich D. 2012. Ancient admixture in human history. *Genetics* 192:1065–1093.
- Patterson N, Price AL, Reich D. 2006. Population structure and eigenanalysis. *PLoS Genet.* 2:2074–2093.

- Pauquet G, Salzburger W, Egger B. 2018. The puzzling phylogeography of the haplochromine cichlid fish *Astatotilapia burtoni*. *Ecol. Evol.* 8:5637–5648.
- Pérez-Sánchez J, Estensoro I, Redondo MJ, Calduch-Giner JA, Kaushik S, Sitjà-Bobadilla A. 2013. Mucins as Diagnostic and Prognostic Biomarkers in a Fish-Parasite Model: Transcriptional and Functional Analysis. *PLoS One* 8:1–9.
- Petren K, Grant PR, Grant BR, Keller LF. 2005. Comparative landscape genetics and the adaptive radiation of Darwin’s finches: The role of peripheral isolation. *Mol. Ecol.* 14:2943–2957.
- Pfeifer B, Wittelsbürger U, Ramos-Onsins SE, Lercher MJ. 2014. PopGenome: An efficient swiss army knife for population genomic analyses in R. *Mol. Biol. Evol.* 31:1929–1936.
- Pfeffer GJ. 1896. Die Thierwelt Ost-Afrikas und der Nachbargebiete. Lief. v. Die Fische Ost-Afrikas. Die Fische Ost-Afrikas, Vol. 3p i-xviii+1–72.
- Plenderleith M, Van Oosterhout C, Robinson RL, Turner GF. 2005. Female preference for conspecific males based on olfactory cues in a Lake Malawi cichlid fish. *Biol. Lett.* 1:411–414.
- Purcell S, Neale B, Todd-Brown K, Thomas L, Ferreira MAR, Bender D, Maller J, Sklar P, De Bakker PIW, Daly MJ, et al. 2007. PLINK: A tool set for whole-genome association and population-based linkage analyses. *Am. J. Hum. Genet.* 81:559–575.
- Rajkov J, Weber AAT, Salzburger W, Egger B. 2018. Immigrant and extrinsic hybrid inviability contribute to reproductive isolation between lake and river cichlid ecotypes. *Evolution (N. Y.)* 72:2553–2564.
- Ramanoudjame L, Rocancourt C, Lainé J, Klein A, Joassard L, Gartioux C, Fleury M, Lyphout L, Kabashi E, Ciura S, et al. 2015. Two novel COLVI long chains in zebrafish that are essential for muscle development. *Hum. Mol. Genet.* 24:6624–6639.
- Ronco F, Büscher HH, Indermaur A, Salzburger W. 2020. The taxonomic diversity of the cichlid fish fauna of ancient Lake Tanganyika, East Africa. *J. Great Lakes Res.* 46:1067–1078.

- Rose MC, Voynow JA. 2006. Respiratory tract mucin genes and mucin glycoproteins in health and disease. *Physiol. Rev.* 86:245–278.
- Salzburger W. 2009. The interaction of sexually and naturally selected traits in the adaptive radiations of cichlid fishes. *Mol. Ecol.* 18:169–185.
- Salzburger W. 2018. Understanding explosive diversification through cichlid fish genomics. *Nat. Rev. Genet.* 19:705–717.
- Salzburger W, Mack T, Verheyen E, Meyer A. 2005. Out of Tanganyika: Genesis, explosive speciation, key-innovations and phylogeography of the haplochromine cichlid fishes. *BMC Evol. Biol.* 5:1–15.
- Samonte IE, Satta Y, Sato A, Tichy H, Takahata N, Klein J. 2007. Gene flow between species of Lake Victoria haplochromine fishes. *Mol. Biol. Evol.* 24:2069–2080.
- Schiffels S, Durbin R. 2014. Inferring human population size and separation history from multiple genome sequences. *Nat. Genet.* 46:919–925.
- Schiffels S, Wang K. 2020. MSMC and MSMC2: The Multiple Sequentially Markovian Coalescent. In: Duthel J, editor. *Statistical Population Genomics*. Springer. p. 147–166.
- Seegers L. 2008. The fishes collected by G. A. Fischer in East Africa in 1883 and 1885/86. *Zoosystematics Evol.* 84:149–195.
- Seehausen O. 1996. Lake Victoria rock cichlids: taxonomy, ecology, and distribution. Zevenhuizen, The Netherlands: Verduijn Cichlids
- Seehausen O, Lippitsch E, Bouton N, Zwennes H. 1998. Mbipi, the rock-dwelling cichlids of Lake Victoria: description of three new genera and fifteen new species (Teleostei). *Ichthyol. Explor. Freshwaters* 9:129–228.
- Seehausen O, Terai Y, Magalhaes IS, Carleton KL, Mrosso HDJ, Miyagi R, Van Der Sluijs I, Schneider M V., Maan ME, Tachida H, et al. 2008. Speciation through sensory drive in cichlid fish. *Nature* 455:620–626.

- Sepahi A, Kraus A, Casadei E, Johnston CA, Galindo-Villegas J, Kelly C, García-Moreno D, Muñoz P, Mulero V, Huertas M, et al. 2019. Olfactory sensory neurons mediate ultrarapid antiviral immune responses in a TrkA-dependent manner. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 116:12428–12436.
- Stager JC, Johnson TC. 2008. The late Pleistocene desiccation of Lake Victoria and the origin of its endemic biota. *Hydrobiologia* 596:5–16.
- Stamatakis A. 2014. RAxML version 8: A tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312–1313.
- Stankowski S, Ravinet M. 2021. Defining the speciation continuum. *Evolution* 75:1256–1273.
- Svardal H, Quah FX, Malinsky M, Ngatunga BP, Miska EA, Salzburger W, Genner MJ, Turner GF, Durbin R. 2019. Ancestral Hybridization Facilitated Species Diversification in the Lake Malawi Cichlid Fish Adaptive Radiation. *Mol. Biol. Evol.* 37:1100–1113.
- Svardal H, Salzburger W, Malinsky M. 2021. Genetic Variation and Hybridization in Evolutionary Radiations of Cichlid Fishes. *Annu. Rev. Anim. Biosci.* 9:55–79.
- Takeda M, Kusumi J, Mizoiri S, Aibara M, Mzighani SI, Sato T, Terai Y, Okada N, Tachida H. 2013. Genetic Structure of Pelagic and Littoral Cichlid Fishes from Lake Victoria. *PLoS One* 8:e74088.
- Takuno S, Miyagi R, Onami J, Takahashi-Kariyazono S, Sato A, Tichy H, Nikaido M, Aibara M, Mizoiri S, Mrosso HDJ, et al. 2019. Patterns of genomic differentiation between two Lake Victoria cichlid species, *Haplochromis pyrrhocephalus* and *H. sp. 'macula.'* *BMC Evol. Biol.* 19.
- Tekin M, Chioza BA, Matsumoto Y, Diaz-Horta O, Cross HE, Duman D, Kokotas H, Moore-Barton HL, Sakoori K, Ota M, et al. 2013. SLITRK6 mutations cause myopia and deafness in humans and mice. *J. Clin. Invest.* 123:2094–2102.
- Terai Y, Mayer WE, Klein J, Tichy H, Okada N. 2002. The effect of selection on a long wavelength-sensitive (LWS) opsin gene of Lake Victoria cichlid fishes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* 99:15501–15506.

- Terai Y, Miyagi R, Aibara M, Mizoiri S, Imai H, Okitsu T, Wada A, Takahashi-Kariyazono S, Sato A, Tichy H, et al. 2017. Visual adaptation in Lake Victoria cichlid fishes: Depth-related variation of color and scotopic opsins in species from sand/mud bottoms. *BMC Evol. Biol.* 17:1–12.
- Terai Y, Seehausen O, Sasaki T, Takahashi K, Mizoiri S, Sugawara T, Sato T, Watanabe M, Konijnendijk N, Mrosso HDJ, et al. 2006. Divergent selection on opsins drives incipient speciation in Lake Victoria cichlids. *PLoS Biol.* 4:2244–2251.
- Terhorst J, Kamm JA, Song YS. 2017. Robust and scalable inference of population history from hundreds of unphased whole genomes. *Nat. Genet.* 49:303–309.
- Theis A, Ronco F, Indermaur A, Salzburger W, Egger B. 2014. Adaptive divergence between lake and stream populations of an East African cichlid fish. *Mol. Ecol.* 23:5304–5322.
- Tonelotto V, Trapani V, Bretaud S, Heumüller SE, Wagener R, Ruggiero F, Bonaldo P. 2019. Spatio-temporal expression and distribution of collagen VI during zebrafish development. *Sci. Rep.* 9:19851.
- Urban S, Nater A, Meyer A, Kratochwil CF. 2021. Different Sources of Allelic Variation Drove Repeated Color Pattern Divergence in Cichlid Fishes. *Mol. Biol. Evol.* 38:465–477.
- Verheyen E, Salzburger W, Snoeks J, Meyer A. 2003. Origin of the superflock of cichlid fishes from Lake Victoria, East Africa. *Science* 300:325–329.
- Verzijden MN, Ten Cate C. 2007. Early learning influences species assortative mating preferences in Lake Victoria cichlid fish. *Biol. Lett.* 3:134–136.
- Vranken N, Van Steenberge M, Kayenbergh A, Snoeks J. 2020. The lobed-lipped species of *Haplochromis* (Teleostei, Cichlidae) from Lake Edward, two instead of one. *J. Great Lakes Res.* 46:1079–1089.
- Wagner CE, Keller I, Wittwer S, Selz OM, Mwaiko S, Greuter L, Sivasundar A, Seehausen O. 2013. Genome-wide RAD sequence data provide unprecedented resolution of species boundaries and

- relationships in the Lake Victoria cichlid adaptive radiation. *Mol. Ecol.* 22:787–798.
- Weber AA-T, Rajkov J, Smailus K, Egger B, Salzburger W. 2021. Speciation dynamics and extent of parallel evolution along a lake-stream environmental contrast in African cichlid fishes. *Sci. Adv.* 7:eabg5391.
- Weir BS, Cockerham CC. 1984. Estimating F-Statistics for the Analysis of Population Structure. *Evolution* 38:1358–1370.
- Weiss JD, Cotterill FPD, Schlieven UK. 2015. Lake tanganyika - A “melting pot” of ancient and young cichlid lineages (Teleostei: Cichlidae)? *PLoS One* 10:1–29.
- Witte F, Welten M, Heemskerk M, Van Der Stap I, Ham L, Rutjes H, Wanink J. 2008. Major morphological changes in a Lake Victoria cichlid fish within two decades. *Biol. J. Linn. Soc.* 94:41–52.
- Wright S. 1931. EVOLUTION IN MENDELIAN POPULATIONS. *Genetics* 16:97–159.
- Yamashita MS de A, Melo EO. 2018. Mucin 2 (MUC2) promoter characterization: an overview. *Cell Tissue Res.* 374:455–463.
- Yi X, Liang Y, Huerta-Sanchez E, Jin X, Xi Ping Cuo Z, Pool JE, Xu X, Jiang H, Vinckenbosch N, Korneliussen TS, et al. 2010. Sequencing of Fifty Human Exomes Reveals Adaptations to High Altitude. *Science (80-.).* 329:75–78.

謝辞

本研究を行なうにあたり、二階堂研究室の皆様に変にお世話になりました。指導教官である二階堂雅人准教授には、研究室に博士課程学生として受け入れてくださったこと、研究遂行にあたり多大なるご支援、ご指導をいただいたこと、深く感謝しております。相原光人研究員にはシクリッドの生態や形態分類について多くのことを教えていただきました。現在まで二階堂研究室で関わりのあった全ての皆様に研究面・精神面で支えていただきました。心より御礼申し上げます。また、共同研究者である東京工業大学生命理工学院の岡田典弘名誉教授（現・北里大学特任教授）、伊藤武彦教授、梶谷嶺助教、国立遺伝学研究所の豊田敦特任教授、タンザニア水産研究所のSemvua I. Mzighani博士、Hillary D. J. Mrosso研究員にも心より御礼申し上げます。

また、修士課程まで在籍しておりました九州大学の進化遺伝学研究室でお世話になった舘田英典教授、手島康介准教授にも改めて御礼申し上げます。教えていただいた集団遺伝学研究の知識や能力は研究を進める上での大きな原動力になってくれました。

最後に、私事ではありますが、長い学生生活において精神的・経済的に常に支え、応援してくれた家族に心より感謝の気持ちをこの場を借りて述べさせていただきます。

報文目録

Nakamura H, Aibara M, Kajitani R, Mrosso HDJ, Mzighani SI, Toyoda A, Itoh T, Okada N, Nikaido M. (2021) Genomic Signatures for Species- Specific Adaptation in Lake Victoria Cichlids Derived from Large-Scale Standing Genetic Variation. *Mol. Biol. Evol*, 388:3111-3125. doi: <https://doi.org/10.1093/molbev/msab084>.