

軟体動物の特異な遺伝現象に関する基礎的研究

— 巻き貝のミトコンドリア DNA ゲノム構造の多様性 —

「形とはたらき」領域 上 島 勲

1. 研究のねらい

後生動物のミトコンドリア DNA (mtDNA) は約16kbp の環状分子で、ゲノム上には2つの rRNA、13の蛋白遺伝子、22の tRNA 遺伝子の合計37種類の遺伝子をコードしています (図1)。mtDNA のゲノム構造は一般に保存性が高く、ゲノム上の遺伝子配置はほとんど変化しないことが知られています。脊椎動物を例にとると、魚類から哺乳類のヒトに至るまで mtDNA の主な遺伝子は同じ順番に並んでいます。また、脊椎動物と節足動物のように異なる動物門ですら、主要な遺伝子配置は同じであるため、mtDNA のゲノム構造は動物門を越えて保存されていると考えられてきました。ところが、近年になって、軟体動物の腹足類 (巻き貝類) は例外で、mtDNA の遺伝子配置が著しく多様に変化していることが私達の研究から分かってきました。アワビとカタツムリはいずれも腹足類ですが、mtDNA の遺伝子配置は全く異なっており、共通点はほとんどありません。動物門を越えて保存されている遺伝子配置が、同じ綱に属するような近縁な分類群の間でこれほど大きく変化しているというのは実に驚くべきことです。このようにゲノム構造が多様性に富む腹足類は遺伝子配置の変化速度が速くなっていると考えられ、ゲノム構造の進化を研究する絶好のモデルと言えます。本研究では、腹足類の特異な mtDNA に注目し、ゲノム構造がどのようにして多様に進化していったのか、また、遺伝子配置の変化にはどのようなメカニズムが関与しているのかを探ることを目指しました。

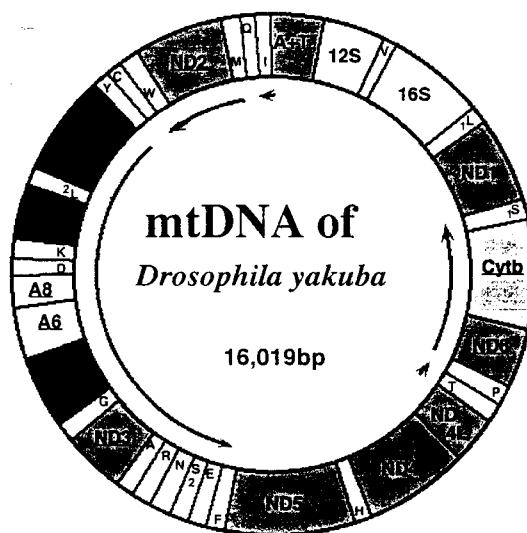


図1 後生動物のミトコンドリア mtDNA の一般的なゲノム構造 (Drosophila yakuba の mtDNA, Clary & Wolstenholme, 1985より)

2. 研究方法と結果

本研究では、腹足類におけるゲノム構造の多様性と分子進化の極性（方向性）を明らかにするために、mtDNA ゲノムのみならず腹足類の系統関係を考慮したサンプリングを行い、主要な上位分類群全てについて mtDNA の全塩基配列または部分塩基配列を決定し、ゲノム構造の体系的な解析を行いました。その結果、系統学的に重要な位置を占めるグループの mtDNA には分子進化の中間段階と考えられるゲノム構造が残っていることが分かり、ゲノムの分子進化過程を詳細に再構築することが可能となりました。また、これら分類群の中には著しく特殊化したゲノム構造を持つものも見い出され、その特徴を解析することによって構造変化の分子メカニズムについても新たな知見が得られました。

2-1 腹足類における mtDNA ゲノム構造の多様性と分子進化

まず最初に、腹足類の主要な高次分類群である前鰓亜綱（サザエ、アワビ類）、後鰓亜綱（ウミウシ、アメフラシ類）、有肺亜綱（カタツムリ）について代表的な1種を選び、mtDNA の全塩基配列を決定しました。これら3亜綱のゲノム構造を比較したところ、後鰓類と有肺類の遺伝子配置はほとんど同じであるのに対し、これらと前鰓類（古腹足類）の間では遺伝子配置が大きく異なっていました。しかし、前鰓類（古腹足類）の遺伝子配置は系統的に遠い関係にある多板綱（ヒザラガイ類）の遺伝子配置とほぼ完全に一致し、この配置はさらに遠い関係にある脊椎動物や節足動物にもよく似ています（図2）。これは、前鰓類（古腹足

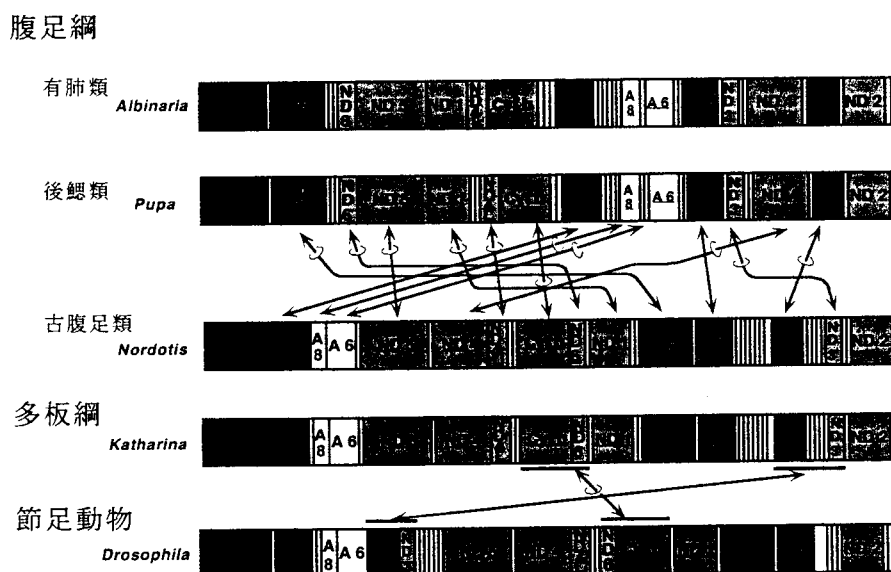


図2 腹足類の代表的な高次分類群の mtDNA ゲノム構造
mtDNA の遺伝子配置は古腹足類と直神経類（有肺類+後鰓類）の間で大きく異なる。

類)は、後生動物に共通する原始的な遺伝子配置を残していることを示しています。これに対して、後鰓類や有肺類の遺伝子配置は他のどの動物とも異なる独特な配置で、動物全体に共通のパターンから大きく逸脱しています。従って、後鰓類や有肺類の遺伝子配置が二次

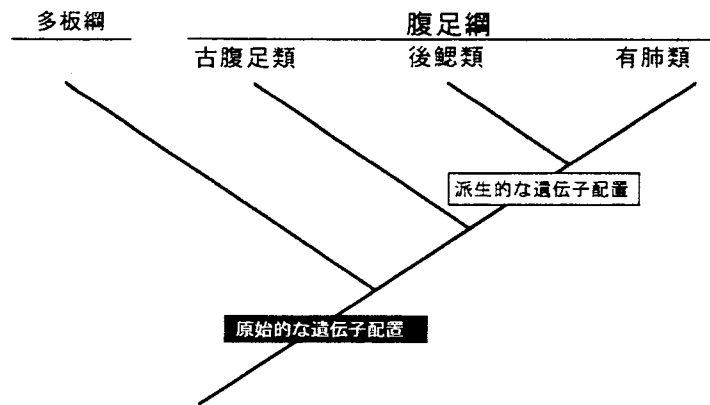


図3 腹足類における mtDNA 遺伝子配置の分子進化

的に特殊化した派生的な配置であり、遺伝子配置は「古腹足類」型から「後鰓類」型へ進化したと考えられます。なお、37種類の遺伝子が並ぶ配列には100万種類を越える莫大な組み合わせがあり、後鰓類のような特殊化した遺伝子配置が収斂進化によって独立に生じることはあり得ません。つまり、後鰓類と有肺類は近縁な関係にあり、両者に共通の特殊な遺伝子配置は、古腹足類が分岐した後に後鰓類と有肺類の共通祖先に至る過程で獲得されたと考えられるのです(図3)。

そこで、次に、後鰓類型の遺伝子配置が進化した過程をさらに詳細に解析するために、後鰓類と前鰓類をつなぐ位置にあるとされる異旋類のゲノム構造を調べました。その結果、ミジンワダチガイ科やトウガタガイ科などの高等な異旋類では後鰓類型の遺伝子配置をしていたが、最も原始的な異旋類であるミズシタダミでは、後鰓類型の特殊化した配置と古腹足類型の原始的な配置の両方を合わせ持つ中間的な遺伝子配置が残っていることを発見しました。また、“生きた化石”であるエンマノツノガイの遺伝子配置を調べたところ、さらに多くの原始的な配置が残っているが、一部にミズシタダミと共通の遺伝子配置も見られ、ミズシタダミと古腹足類の間をつなぐ遺伝子配置をしていることが分かりました(図4)。なお、前鰓亜綱の主要な高次分類群についてもゲノム構造を調べましたが、古腹足類に見られた遺伝子配置はアマオブネ類などの原始腹足類に、またエンマノツノガイの遺伝子配置は新生腹足類に共通でした。

このように、様々な中間段階が見い出されたので、腹足類における mtDNA の遺伝子配置の進化過程を詳細に再構築することが可能となりました。図4に示すように、後鰓類のような特殊な遺伝子配置は、古腹足類にみられる原始的な配置から、ゲノム上の逆位と転座が徐々

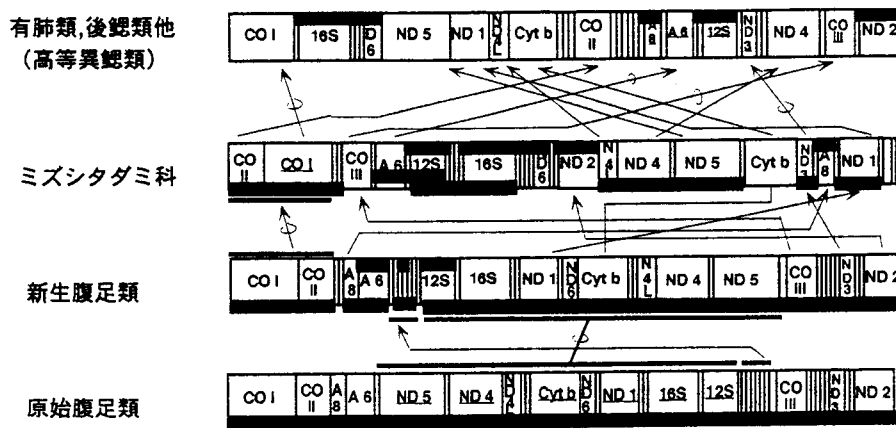


図4 腹足類における mtDNA ゲノム構造の多様性

ミズシタダミ類の mtDNA には、高等異鰓類と共通の派生的な遺伝子配置（青で示す）と、古腹足類と共通の原始的な配置（赤で示す）がモザイク状に混在し、進化の中間的な段階であることが分かる。また、新生腹足類の遺伝子配置は、ミズシタダミ類よりも原始的な特徴を多く残っているが、逆位によって生じた派生的な配置（緑で示す）をミズシタダミ類と共有する。

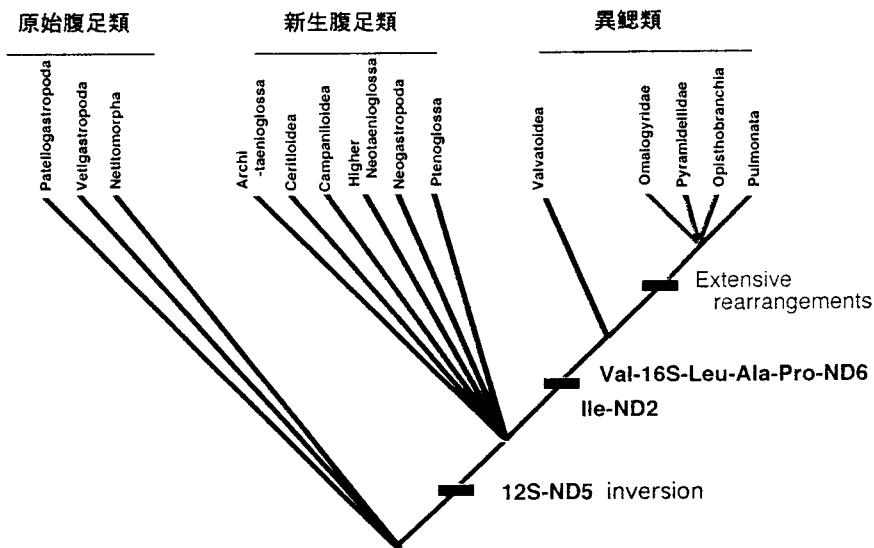


図5 mtDNA 遺伝子配置の変化にもとづく腹足類の系統進化

に蓄積することによって段階的に進化したことが分かります。また、この遺伝子配置の変化から、図5のような分岐序列が推定されますが、これは形態データに基づく腹足類の最新の系統仮説と完全に一致し、ゲノム構造の変化が腹足類の系統進化を反映していることが示されました。

腹足類は化石記録が豊富であるため、今回推定されたゲノムの進化にも時間軸を導入する

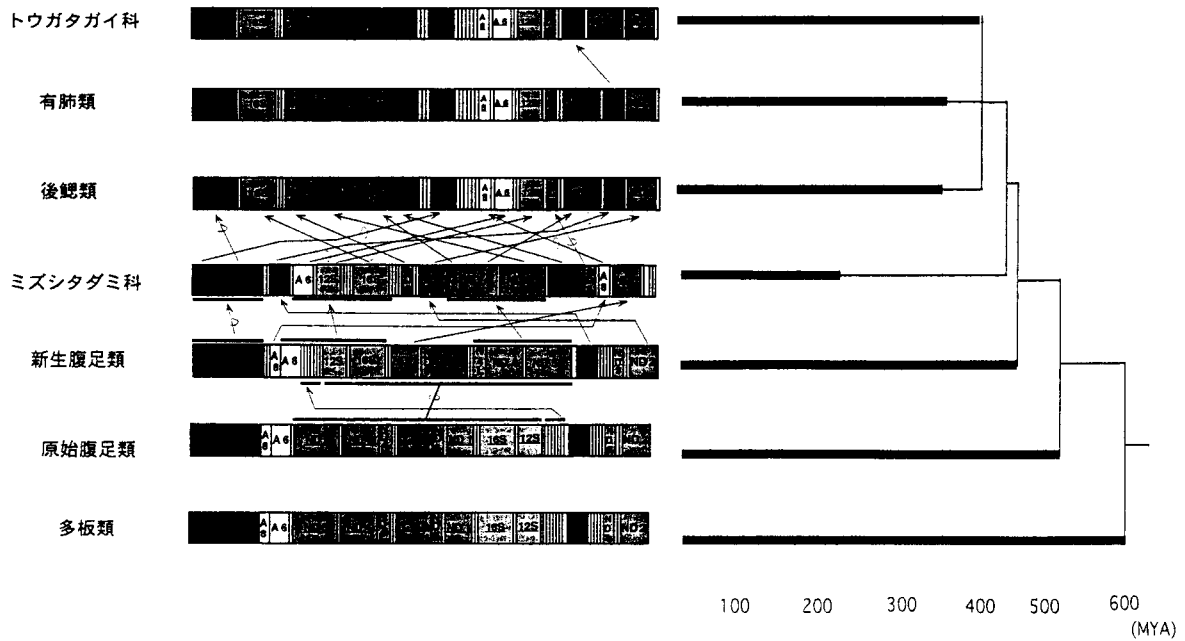


図6 腹足類における mtDNA ゲノム構造の分子進化と各分類群の分岐年代

右の系統樹の樹形は遺伝子配置の変化から推定されたもので、系統樹上の枝の太い線は化石記録が残っていることを示す。遺伝子配置の変化速度と分岐年代は対応しない。

ことができます。図6は遺伝子配置の変化から推定された系統樹に化石記録による分岐年代を示したものです。多板類と原始腹足類の間では、遺伝子配置は5億年に渡ってほとんど変化しなかった一方で、新生腹足類と異鰓類が分岐した後の0.5億年の間に遺伝子配置は著しく変化し、その後は後鰓類と有肺類の間では3.5億年に渡ってほとんど変化していません。このように、mtDNAの遺伝子配置の変化の度合いは分岐年代に全く比例せず、停滞期と激変期を繰り返すという通常の分子進化とは全く異なるパターンを示すことが分かりました。

2-2 ゲノム構造の変化を促進する要因

なお、本研究の過程で2種のクルマガイ類についてmtDNA全塩基配列を決定したところ、その遺伝子配置は、他のいずれの腹足類とも全く異なっており、さらに近縁な2種のクルマガイ類の間でさえも大きく異なっていることが分かりました(図7)。これは、クルマガイ類では遺伝子配置の変化速度が著しく速くなっていることを示しています。また、クルマガイ類のmtDNAは、ゲノムサイズが著しく小さく12kbpしかない(オルガネラゲノムとしては最小サイズ)、ほとんどの遺伝子が同じDNA鎖にコードされているなど、他の分類群にはない特徴が数多く見い出され、腹足類の中で最も特殊化したゲノム構造をしていることが分かりました。このクルマガイ類の奇妙なmtDNAの特徴を詳細に解析したところ、遺伝子配置の進化速度と関連のある特徴を見い出すことができました。

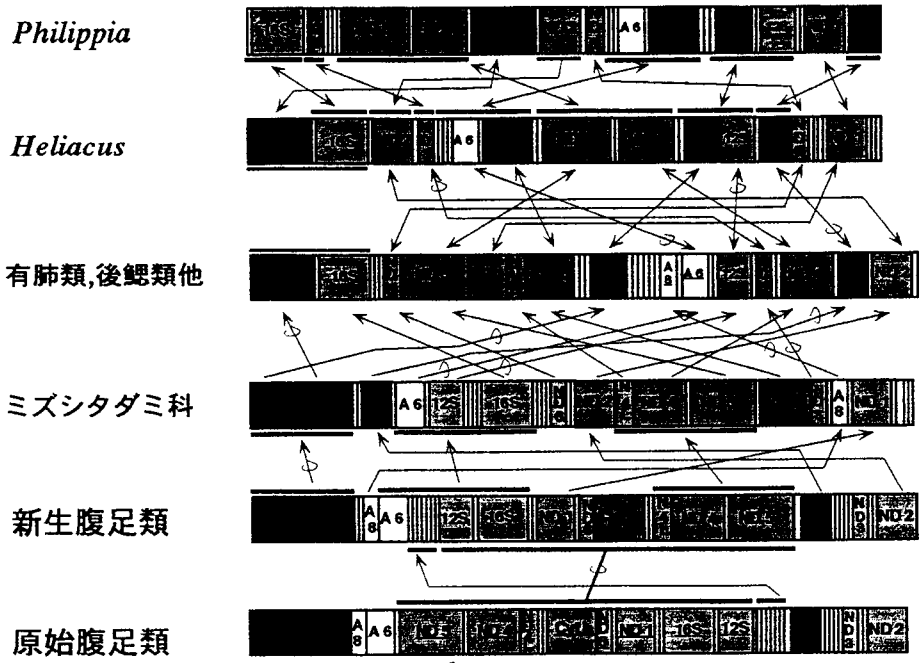


図7 クルマガイ類の特異な mtDNA 遺伝子配置
 2種のクルマガイ (Philippia, Heliacus) の遺伝子配置は他のどの腹足類とも異なり、また近縁な2種間でも大きく異なる。

クルマガイ類では、コードされている遺伝子の塩基配列が他の腹足類と大きく異なっており、遺伝子配置のみならず、塩基置換の速度も速くなっていることが分かりました (図8)。相対速度検定を行ったところ、クルマガイ類の mtDNA は他の腹足類に比べて塩基置換速度が有意に速い

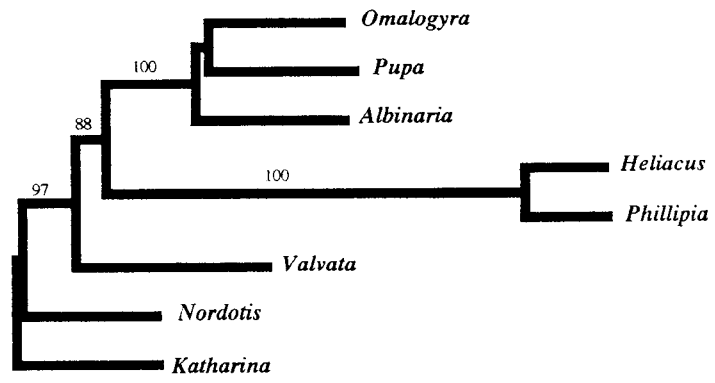


図8 mt-COI 遺伝子の分子系統樹 (近隣結合系統樹)
 2種のクルマガイ類 (Philippia, Heliacus) の塩基置換速度が著しく速い。

ことが確認されました。これはクルマガイ類では mtDNA 複製酵素の fidelity が低いことを示しています。DNA 複製の fidelity が低下すると、ゲノム複製の際のエラーが起りやすくなるため、その結果として遺伝子配置も変化が引き起こされたと考えられます。クルマガイ類だけでなく、線虫のように特殊な遺伝子配置を示す動物ではいずれも塩基置換速度が速くなっており、複製酵素の fidelity の低下が遺伝子配置の頻繁な変化を引き起こす主要因であることを裏付けます。

遺伝子配置の変化に関連するもう一つの特徴はゲノムサイズの縮小化です。表1に示すように、腹足類の mtDNA を比較すると、遺伝子配置が特殊化するに伴ってゲノムサイズが小さくなり、同時に多くの遺伝子が同じ DNA 鎖にコードされる傾向があります。これは、ゲノムサイズの縮小

によって転写開始点を含む非コード領域が減少するため、少なくなったプロモーターで効率良く転写ができる遺伝子配置（全ての遺伝子が同じ方向に並ぶ配置）を選択するような淘汰圧が働くためではないかと考えられます。他の分類群でも、ゲノムサイズが著しく小さい mtDNA は全ての遺伝子が同じ方向にコードされていたり、独特な遺伝子配置を持つことが多く、これらの特徴と遺伝子配置の変異性には高い相関が認められました。

3. 今後の展望

本研究では、軟体動物の腹足類における mtDNA ゲノムの複雑な進化過程のダイナミクスを明らかにし、ゲノム構造の再配置を促進していると考えられる要因を推定しました。遺伝子配置の変化する機構については、分子メカニズムという観点から詳細な解析を行う必要があります。また、これらの要因がオルガネラゲノムだけではなく、核ゲノムでも構造変化に影響を与えているのか検証したいと考えています。今回の研究対象は巻き貝類でしたが、最近になって、二枚貝類でも mtDNA のゲノム構造が多様に変化していることが分かってきました。二枚貝類の mtDNA では、遺伝子配置のみならず、コードされている遺伝子の組成も変わっており、さらに、雌雄がそれぞれ異なる mtDNA を持つなど、巻き貝とは異なる分子進化様式をしていると考えられます。現在、二枚貝類の mtDNA についても研究を進めています。

4. 論文リスト

- 1) S. Yokobori, T. Ueda, G. Heldmaier-Fuchs, S. Paabo, R. Ueshima, A. Kondow, K. Nishikawa and K. Watanabe (1999). Complete DNA sequence of the

表1 腹足類における mtDNA のゲノムサイズとコードされている遺伝子の方向性

	ゲノムサイズ	逆向き遺伝子の割合
原始腹足類	17 kbp	38 %
ミズシタダミ	16 kbp	16 %
高等異鰓類	14 kbp	21 %
クルマガイ類	12 kbp	6 %

- mitochondrial genome of the acidian *Halocynthis roretzi* (Chordata, Urochordata). *Genetics* 153 : 1851-1862.
- 2) A. Kurabayashi and R. Ueshima (2000) Complete sequence of the Mitochondrial DNA of the Primitive Opisthobranch gastropod *Pupa strigosa*: Systematic Implication of the Genome Organization. *Mol. Biol. Evol.* 17(2) : 266-277.
 - 3) A. Kurabayashi and R. Ueshima (2000). Partial mitochondrial genome organization of the heterostrophan gastropod *Omalogyra atomus*. and its systematic significance. *Venus* 59(2) : 7-18.
 - 4) Y. Noguchi, K. Endo, F. Tajima and R. Ueshima (2000) The mitochondrial genome of the branchiopod *Laques rubellus*. *Genetics* 155 : 245-259.
 - 5) Y. Shimizu and R. Ueshima (2000) -Historical biogeography and interspecific mtDNA introgression in *Euhadra peliomphala* (the Japanese land snails). *Heredity* 85 : 84-96
 - 6) 稲葉明彦、上島 励 (1999)、軟体動物研究法. 軟体動物学入門 (下巻)、波部忠重、奥谷喬司、西脇三郎共編 サイエンティスト社
 - 7) 奥谷喬司、太田秀、上島 励編 (1999) 水産無脊椎動物の最新学 東海大出版会
 - 8) 上島 励 (2000) 動物系統分類学の新展開 -分子系統学の現在と未来-. 動物系統分類学、追補版 : 1-13. 中山書店
 - 9) 中山剛、上島 励 (2000) 単細胞生物から多細胞生物への進化. 遺伝、別冊12 : 134-154
 - 10) 上島 励 (印刷中) 軟体動物. 生物の種多様性 5巻 無脊椎動物の多様性と系統 (節足動物を除く). 裳華房

国際会議招待講演

Rei Ueshima ; Extensive mitochondrial genomic rearrangement and gastropodan phylogeny, International Symposium on Biodiversity. Nara, 3-5 Dec. 1989

外部発表27件 (論文 5 件、総説、解説等 5 件、口答発表 : 国際会議 2 件、国内会議15件)