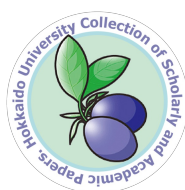




|                  |                                                                                   |
|------------------|-----------------------------------------------------------------------------------|
| Title            | 逆位と遺伝子多型から追うアナナスショウジョウバエ亜群の種分化                                                    |
| Author(s)        | 松田, 宗男                                                                            |
| Relation         | 生物進化研究のモデル生物群としてのショウジョウバエ. 北海道大学低温科学研究所編                                          |
| Citation         | 低温科学, 69, 29-32                                                                   |
| Issue Date       | 2011-03-31                                                                        |
| Doc URL          | <a href="https://hdl.handle.net/2115/45186">https://hdl.handle.net/2115/45186</a> |
| Type             | departmental bulletin paper                                                       |
| File Information | LTS69_005.pdf                                                                     |



# 逆位と遺伝子多型から追う アナナスショウジョウバエ亜群の種分化

松田 宗男<sup>1)</sup>

2010 年 12 月 15 日受付, 2010 年 12 月 18 日受理

アナナスショウジョウバエ亜群における種分化を染色体変異と塩基配列に基づき検討した。 *Drosophila bipectinata* complex 内の 4 種の関係は、染色体変異に基づく分岐図と分子レベルの分岐図が一致した。しかし、 *D. ananassae* complex では染色体変異に基づく分岐図が分子レベルのものと一致しなかった。これは種分化後に種間交雑があり、遺伝子流動が生じたことを示唆する。古典的な染色体多型の分岐図をもとに塩基配列情報の解析を行うことにより、より詳細な系統関係が推定でき、遺伝子の種間移入の歴史が推測できる。

## Evolutionary history of the *Drosophila ananassae* species subgroup inferred from chromosome arrangements and DNA sequences

Muneo Matsuda<sup>1</sup>

We compared chromosomal and molecular cladograms of three different taxonomic levels of the *Drosophila ananassae* species subgroup: 1) between complexes (the *ananassae*, *bipectinata* and *erceptae* complexes, and *D. varians*), 2) between species within the *bipectinata* complex (*D. bipectinata*, *D. parabipectinata*, *D. malerkotliana*, and *D. pseudoananassae*), and 3) between species within the *ananassae* cluster of the *ananassae* complex (*D. ananassae*, *D. parapallidosa*, *D. pallidosa*, *D. pallidosa*-like-WAU, and *D. papuensis*-like). Polytene chromosome data were consistent with molecular data within the *bipectinata* complex. On the other hand, we found that cladograms based on DNA sequence data were inconsistent with those from chromosomal arrangement data in the *ananassae* cluster. The inconsistency might be explained by gene flow caused by recent hybridization between species. Chromosomal arrangement (especially inversion) data would give us more information than nucleotide data alone.

### 1. 背景

Sturtevant and Dobzhansky (1936) および Dobzhansky and Sturtevant (1938) が核型や唾腺染色体に見られるバンドパターンの比較に基づきショウジョウバエの系統関係を研究する方法を発展させて以来、多くの研究成果が得られている (Dobzhansky, 1970; Carson, 1970; Lemeunier et al., 1986; Wasserman, 1992)。近年、DNA の塩基配列を用いた系統関係の構築が主流になり、多くの生物でその成果が報告されている。ショウジョウバエ 12 種のゲノム解析 (Drosophila 12 Genomes Consortium, 2007) の進展とともに、アナナスショウジョウバエ亜群 (*Drosophila ananassae* species subgroup) でも塩基配列をもとにした類縁関係

が報告されている (Da Lage et al., 2007; Sawamura et al., 2010)。Da Lage et al. (2007) は *Amyrel* 遺伝子の塩基配列の比較に基づき、*ananassae* 亜群は *ananassae* 種群とすべきとの提案をしているが、本稿では現在の分類に従い、*melanogaster* 種群に属する *ananassae* 亜群として議論を進める。*ananassae* 亜群は *ananassae*, *bipectinata*, *erceptae* の 3 つの complex とこれらの complex には入らない *D. varians* を含め 24 種が記載され、熱帯～亜熱帯に世界的に分布している (Tobari, 1993; Lemeunier et al., 1997; Matsuda et al., 2009)。本論文では、現在までに得られている染色体から見た系統関係と分子レベルからみた系統関係を complex 間、*bipectinata* complex 内、*ananassae* complex の *ananassae* cluster 内の 3 分類階層について比較し、系統関係の相違点および類似点から新たな研究方向を提示したい。染色体から見た系統関係では分岐年代を追うことは困難であり、塩基配列から推定される情報には劣る。しかし、両者の解析を同時に行うことにより、逆位

1) 杏林大学医学部生物学教室

<sup>1</sup> Department of Biology, School of Medicine, Kyorin University, Sinkawa, Mitaka, Tokyo, Japan

の切断点の構造解析, 逆位と遺伝子との連鎖不平衡などの情報がより明確になることが期待される (O'Grady et al., 2001).

## 2. 結果

### 2.1 *ananassae* 亜群に属する complex 間の分化

Da Lage et al. (2007) の *Amyrel* 遺伝子の変異のデータに基づき作成した種の分岐図 (cladogram) を図 1 a に示した. この分岐図は *COI*, *Ddc*, *Gpdh*, *Pgi* 遺伝子に基づく系統樹 (Matsuda et al., 2009) と矛盾しない. *ananassae* complex + *bipectinata* complex と *ercepeae* complex + *D. varians* の 2 つに分けられていることが特徴的である. 一方, 染色体情報を用いた分岐図はこれとは異なる. 第 1 精母細胞における X, Y, 第 4 染色体の対合によって形成される 4 価染色体の有無 (Matsuda et al., 1983; Matsuda et al., 2009) と rDNA の染色体上の位置 (Roy et al., 2005; Shibusawa et al., 2007) から, *ercepeae* complex とその他の種 (*D. varians*, *bipectinata* complex, *ananassae* complex) に分けられる (図 1 b). X 染色体と第 4 染色体の間で起こったとされる *D. ananassae* の転座 (Kikkawa, 1938) は *ercepeae* complex と分岐した後であることを示唆している (図 1 b). また, *bipectinata* complex の 4 種すべてにおいて自然集団中に B 染色体が観察される (Matsuda et al., 2005). これは本 complex の特徴であり, 現在まで *ananassae* 亜群の他の種では報告されていない. この結果は塩基配列から得られた分岐図と矛盾しない.

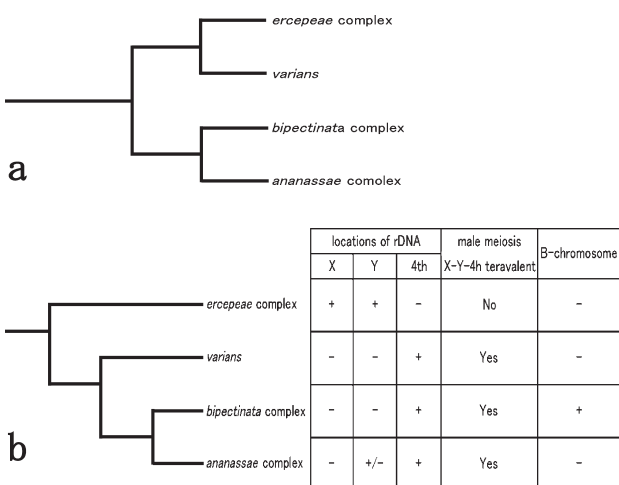


図 1: (a) *Amyrel* 遺伝子の塩基配列に基づく *ananassae* 亜群の分岐図 [Da Lage et al. (2007) を参考に作成]. (b) *rDNA* 遺伝子の染色体上の位置, 雄減数分裂における X, Y, 第 4 染色体の対合像, および B 染色体の有無から見た *ananassae* 亜群の分岐図 [Roy et al. (2005), Shibusawa et al. (2007), Matsuda et al. (2005, 2009) を参考に作成].

### 2.2 *bipectinata* complex 内での種分化

Kopp and Barmina (2005) が解析した 6 つの核遺伝子 (*al*, *bab2*, *Gpdh*, *ple*, *Sod*, *up*) の塩基配列に基づく分岐図を図 2 a に示した. *D. malerkotliana*, *D. parabipectinata*, *D. bipectinata* が単系統群を形成し, *D. pseudoananassae* が最も古く分岐したことを示している. また, *D. malerkotliana* と *D. parabipectinata* との塩基配列の相違は *D. malerkotliana* と *D. bipectinata* 間および *D. parabipectinata* と *D. bipectinata* 間よりも大きく, 種間の生殖的隔離の関係とほぼ同じである (Kopp and Barmina, 2005). Tomimura et al. (2005) は, *bipectinata* complex 全種に共通な標準唾腺染色体地図を作成し, 4 種間の系統関係を明らかにした. その結果に基づく 4 種の分岐図を図 2 b に示した. この結果は塩基配列から作成された分岐図とは矛盾せず, *D. pseudoananassae* とそれ以外の 3 種が単系統群を形成している. *D. malerkotliana*, *D. parabipectinata*, *D. bipectinata* 間の塩基配列変異量と染色体逆位数とは必ずしも相関しない. これらの相違は両論文 (Kopp and Barmina, 2005; Tomimura et al., 2005) でも指摘されているように, 雑種形成の可能性と集団の大きさの違いを反映していると考えられる. 本 complex 内で最も分布が広いのは *D. malerkotliana* であり, 熱帯～亜熱帯で汎世界的に観察される. 次いで分布が広いのは *D. bipectinata* であり, 広くアジア, オセアニア, 南太平洋諸島に分布している (Matsuda et al., 2005). 他の 2 種はアジア, パプアニューギニアの限られた地域に分布し, その集団の有効サイズは大きくないと推測される.

### 2.3 *ananassae* cluster 内での種分化

*ananassae* complex 内で交配可能な種 (*ananassae* cluster) において核遺伝子 (*Actn*, *w*, *CG7785*,

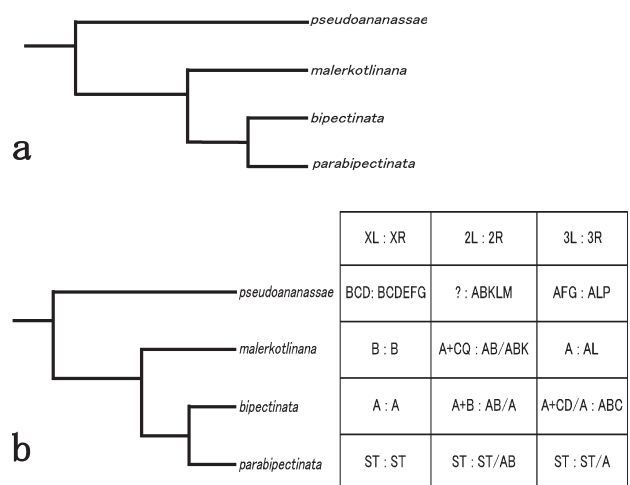


図 2: (a) 核遺伝子 (*al*, *bab2*, *Gpdh*, *ple*, *Sod*, *up*) の塩基配列に基づく *bipectinata* complex の分岐図 [Kopp and Barmina (2005) を参考に作成]. (b) 逆位の種間変異に基づく *bipectinata* complex の分岐図 [Tomimura et al. (2005) を参考に作成]; 各染色体腕のアルファベットは染色体の逆位を表している.

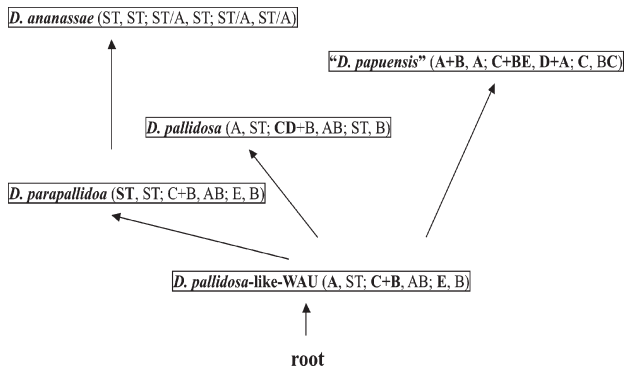


図3：唾腺染色体の配列（XL, XR; 2L, 2R; 3L, 3R）に基づく *ananassae* cluster の系統関係 [Matsuda et al. (2009) を参考に作成]。

*ZnT63C*) のイントロン領域の塩基配列に基づく分岐図の作成を試みたが、遺伝子によって分岐図が異なり、4 遺伝子座をまとめた図は描けていない (Sawamura et al., 2010)。同様に、ミトコンドリアの *COI* 遺伝子を用いたハプロタイプのネットワーク (Matsuda et al., 2009) においても明確な分岐図は描けず、近年に交雑が起こった可能性を示唆する。主に唾腺染色体の配列に基づいて、*ananassae* cluster には *D. ananassae*, *D. pallidosa*, *D. parapallidosa*, *D. pallidosa-like*, *D. papuensis-like*, *D. pallidosa-like-WAU* が報告されている (Tomimura et al., 1993; Matsuda et al., 2009)。しかし、*D. pallidosa-like* は系統によって他種との間の生殖的隔離の程度が異なり、種としてのまとまりは疑わしい (Matsuda et al., 2009)。また、Futch (1966) は南太平洋地域の *ananassae* の中に体色が明るい *D. pallidosa* を区分し、さらにパプアニューギニアでは特異的な逆位を持つ系統を発見して、“*papuensis*” と仮称した。我々は 1981 年にパプアニューギニアおよび南太平洋諸島で採集された系統を解析し、パプアニューギニアの集団に “*papuensis*” とほぼ同じ逆位を持つ系統を発見した (Tomimura et al., 1993)。しかし、この系統には 1966 年には報告されていなかった新たな逆位とともに、*D. ananassae* のほとんどの集団で観察される遺伝子配列の染色体 (ST) があり、近年に *D. ananassae* との雑種が形成された可能性を示した (Matsuda et al., 2009)。我々はこれを *D. papuensis-like* とよんでいる。しかし、強い生殖的隔離が他種との間で認められ、Futch (1966) の結果を再現することができた。そこで、遺伝子移入前の染色体配列を推測し、系統関係を示したのが図3である。この結果は Y 染色体連鎖の遺伝子 (*k12*) の塩基配列に基づき作成した系統樹 (Matsuda et al., 2009) と矛盾しない。

### 3. 考察

*D. ananassae* は 2007 年にゲノム解析が発表された 11

種のショウジョウバエの 1 種 (*Drosophila* 12 Genomes Consortium, 2007) であり、その後の種分化や比較ゲノム研究の一翼を担う種となってきた。さらに、同亜群の *bipunctinata* complex に属する *D. bipunctinata* ゲノムの塩基配列解析もほぼ終了し (A. Kopp, 私信), *ananassae* 亜群内および *melanogaster* 種群の種分化機構を研究するモデル生物となった。しかし、亜群内の complex 間や complex 内 (特に cluster 内) においては、ミトコンドリアや核の遺伝子レベルだけで系統関係を構築することは限界がある (遺伝子によって異なった系統樹が描かれる) ことがわかってきた。特に交配可能な種間の比較では、雑種形成による遺伝子移入を無視できず、移入された遺伝子が遺伝的な組み換えによって集団内に広まる可能性がある。この問題を解決し、信頼性の高い系統関係を示すには、組み換えがほとんど無視できる Y 染色体上の遺伝子や唾腺染色体から推測した種特異的な逆位の切断点近傍の遺伝子の塩基配列変異を調べる方法が考えられる。幸いに *D. ananassae* では唾腺染色体のバンドと塩基配列情報との関係が明らかになっている (Shaef-fer et al., 2008) ので、切断点近傍の遺伝子座を選ぶことが可能である。このような試みはすでに *D. pseudoobscura* とその近縁種で行われており (Noor et al., 2007), *ananassae* cluster でも Sawamura et al. (2010) にその一端が報告されているが、十分な解析は行われていない。今後、逆位と連鎖した複数の遺伝子座の解析をさらに進める必要がある。

塩基配列と染色体変異から推測した分岐図に矛盾が認められなかった *bipunctinata* complex 内の種は、すでに長期にわたり種間雑種の形成が野外ではほとんど起きていないことを示唆し、塩基配列をもとに比較的正確な類縁関係を構築することができる分岐年代の種であると推定される。Kopp and Barmina (2005) によれば、*D. bipunctinata*, *D. parabipectinata*, *D. malerkotliana* の分化は 283,000~385,000 年前と推測している。このことは、唾腺染色体の逆位と塩基配列情報の結果を結びつけることができ初めて明らかになった点である。また、本 complex で同定された種内、種間の逆位の切断点の分布を見ると、唾腺染色体のバンドレベルではあるが、切断点にホットスポットがあることが示唆されている (Tomimura et al., 2005)。また、*D. ananassae* complex と同様に第 2 染色体左腕 (マラーのエレメント E) に最も多くの逆位が報告されている。*ananassae* 亜群内で見られる共通の現象は、種分化に特定の染色体や逆位が重要な働きをしている可能性を示唆する。他の種群との比較とともに染色体腕の特徴も今後の研究対象である。

## 参考文献

- Carson, H. L. (1970) Chromosomal tracers of evolution. *Science*, **168**, 1414-1418.
- Da Lage, J. K., G. J. Kergoat, F. Maczkowiak, J. F. Salivan, M. L. Cariou, and D. Lachaise (2007) A phylogeny of Drosophilidae using *Amyrel* gene: questioning the *Drosophila melanogaster* species group boundaries. *J. Zoo. Syst. Evol. Res.*, **45**, 47-63.
- Dobzhansky, T. (1970) *Genetics of the Evolutionary Process*. Columbia Univ. Press, New York and London.
- Dobzhansky, T., and A. H. Sturtevant (1938) Inversions in the chromosomes of *Drosophila pseudoobscura*. *Genetics*, **23**, 28-64.
- Drosophila 12 Genomes Consortium (2007) Evolution of genes and genomes on the Drosophila phylogeny. *Nature*, **450**, 203-218.
- Futch, D. G. (1966) A study of speciation in South Pacific populations of *Drosophila ananassae*. *Univ. Tex. Publ.*, 6615, 79-120.
- Kikkawa, H. (1938) Studies on the genetics and cytology of *Drosophila ananassae*. *Genetica*, **20**, 458-516.
- Kopp, A., and O. Barmina (2005) Evolutionary history of the *Drosophila bipectinata* species complex. *Genet. Res.*, **85**, 23-46.
- Lemeunier, F., S. Aulard, M. Arienti, J. M. Jallon, M. L. Cariou, and L. Tsacas (1997) New cases of insular speciation within the *Drosophila ananassae* species subgroup (*melanogaster* group) and descriptions of two new species (Diptera: Drosophilidae). *Ann. Entomol. Soc. Am.*, **90**, 28-42.
- Lemeunier, F., J. R. David, L. Tsacas, and M. Ashburner (1986) The *melanogaster* species group. In: Ashburner, M., H. L. Carson, and J. N. Thompson Jr. (eds) *The Genetics and Biology of Drosophila*, **3e**: 227-296. Academic Press, New York.
- Matsuda, M., H. T. Imai, and Y. N. Tobari (1983) Cytogenetic analysis of recombination in males of *Drosophila ananassae*. *Chromosoma*, **88**, 286-292.
- Matsuda, M., C. S. Ng, M. Doi, A. Kopp, and Y. N. Tobari (2009) Evolution in the *Drosophila ananassae* species subgroup. *Fly*, **3**, 157-169.
- Matsuda, M., Y. Tonomura, Y. Goto, and Y. N. Tobari (2005) B-chromosome and reproductive isolation among geographic populations of *Drosophila pseudoananassae* Bock 1971. *Annu. Dros. Res. Conf.*, **46**, 822C.
- Noor, M. A. F., D. A. Garfield, S. W. Shaeffer, and C. A. Machado (2007) Divergence between the *Drosophila pseudoobscura* and *D. persimilis* genome sequences in relation to chromosomal inversions. *Genetics*, **177**, 1417-1428.
- O'Grady, P. M., R. H. Baker, C. M. Durando, W. J. Etges, and R. DeSalle (2001) Polytene chromosomes as indicators of phylogeny in several species groups of *Drosophila*. *BMC Evol. Biol.*, **1**, 6.
- Roy, V., L. Momnti-Dedieu, N. Chaminade, S. Siljak-Yakovlev, S. Aulard, F. Lemeunier, and C. Montchamp-Moreau (2005) Evolution of the chromosomal location of rDNA genes in two *Drosophila* species subgroups: *ananassae* and *melanogaster*. *Heredity*, **94**, 388-395.
- Sawamura, K., K. Kamiya, H. Sato, Y. Tomimura, M. Matsuda, and Y. Oguma (2010) Evolutionary relationships in the *Drosophila ananassae* species cluster based on introns of multiple nuclear loci. *Zool. Sci.*, **27**, 303-312.
- Schaeffer, S. W., A. Bhutkar, B. F. AcAllister, M. Matsuda, L. M. Matzkin, et al. (2008) Polytene chromosomal maps of 11 *Drosophila* species: the order of genomic scaffolds inferred from genetic and physical maps. *Genetics*, **179**, 1601-1655.
- Shibusawa, M., Y. N. Tobari, and M. Matsuda (2007) Variations in the chromosomal locations of the rRNA genes and pairing ability during male meiosis in the *D. ananassae* complex. *Annu. Dros. Res. Conf.*, **48**, 702C.
- Sturtevant, A. H., and T. Dobzhansky (1936) Inversions in the third chromosome of wild races of *Drosophila pseudoobscura*, and their use in the study of the history of the species. *Proc. Natl. Acad. Sci., USA*, **22**, 448-450.
- Tobari, Y. N. (1993) Geographic distribution. In: Tobari, Y. N. (ed) *Drosophila ananassae: Genetical and Biological Aspects*: 9-22. Japan Scientific Societies Press and Karger, Tokyo.
- Tomimura, Y., M. Matsuda, and Y. N. Tobari (1993) Polytene chromosome variations of *Drosophila ananassae* and its close relatives. In: Tobari, Y. N. (ed) *Drosophila ananassae: Genetical and Biological Aspects*: 39-51. Japan Scientific Societies Press and Karger, Tokyo.
- Tomimura, Y., M. Matsuda, and Y. N. Tobari (2005) Chromosomal phylogeny and geographical divergence in the *Drosophila bipectinata* complex. *Genome*, **48**, 487-502.
- Wasserman, M. (1992) Cytological evolution of the *Drosophila repleta* group. In: Krimbas, C. B., and J. R. Powell (eds) *Drosophila Inversion Polymorphism*: 455-552. CRC Press, Boca Raton.