

(続紙 1)

京都大学	博士 (理学)	氏名	三品 達平
論文題目	Origin, diversity, and evolutionary implications of unisexual vertebrates: comparative study on gynogenetic and hybridogenetic fishes		
(論文内容の要旨)			
<p>無性生殖種は組換えの欠如による変動環境への適応能の低下と有害変異の蓄積によって、進化的に短命であると予測されている。しかしながら、近年、無性生殖の一形式である雌性発生・雑種発生種では進化的に長命な場合があることが明らかとなってきた。無性生殖をする脊椎動物の中でも、コイ科魚類のフナ <i>Carassius</i> 属 (雌性発生) と <i>Squalius alburnoides</i> 種群 (雑種発生) は、頻繁に有性型から無性型が生じたことが示唆される稀有な例であり、無性生殖種の進化プロセスを研究する良いモデルである。これらの種群の無性型は、高い遺伝的多様性を示し、何らかの多様性の創出・維持機構の存在が示唆される。しかし、そのような機構や無性生殖種の系統的な実体は明らかとなっていない。本論文では、両者の起源と多様化プロセスを解明するために系統・分子進化・アレル発現に関する解析を行った。そして、それらの結果の比較を通じて脊椎動物における無性生殖の起源と進化可能性、進化的意義について議論した。</p> <p>まず、<i>Carassius</i> 属 (<i>C. buergeri</i> 種群) の無性型の起源と多様性の創出・維持機構の解明を試みた。<i>Carassius</i> 属の無性型3倍体 (3n) は有性型 (2n) の精子を発生刺激に利用するが、その精子は遺伝的に子孫に全く貢献しない雌性発生を行う。これらの集団遺伝・系統解析に先立ち、種や倍数性の判別が極めて困難な本属魚類の効率的な識別法として、核複数遺伝子座のマイクロサテライト (STR) を用いた倍数性判定手法を開発し、また野外集団における高いクローン多様性を明らかにした (第2章)。そして、この手法を日本列島を中心とする広域の野外集団に適用し、mtDNA・STR分析により有性および無性型の集団構造を調べ、さらに多数核遺伝子座の分子系統・アレル発現解析を行った (第3章)。系統およびアレル発現解析の結果、日本列島の3nのゲノム組成は日本と大陸系統の交雑様を示した。一方、2nと3nは多様なmtDNAハプロタイプを共有していたが、2nは明瞭な地理的集団構造を示す一方で、3nは地理的構造が不明瞭で、大半の水系で複数のクローン系統が共存した。無性型の高い遺伝的多様性は、稀な有性生殖に起因する2nから3nへの遺伝子流動と高い移動分散性によってもたらされていることが示唆される。</p> <p>次に、ヨーロッパ産のコイ科 <i>Squalius alburnoides</i> 種群の起源とゲノム進化パ</p>			

ターンを解明した（第4章）。*S. alburnoides*は雑種発生種（2倍体および3倍体）であり、つまり他種である父親のゲノム（Pゲノム）を捨て、母親のゲノム（Aゲノム）のみからなる卵を形成し、それが精子（Pゲノム）と受精する。本種は進化的に長命であるが、それをもたらす機構として、有性ホスト種からの遺伝子流動、減数分裂の存在、あるいはPゲノムによる遺伝ゲノム系統（Aゲノム）における有害変異の非顕在化が考えられる。これらの仮説を、近縁種を含む登録RNA-seqデータを用いて系統・分子進化・アリル発現解析を行い、検証した。その結果、AゲノムにPゲノムからの遺伝子流動の痕跡は見出されず、一方、Aゲノムにおいて有害変異の蓄積を示唆するコドンバイアスの低下とアミノ酸変異の蓄積傾向がみられ、後者は絶滅寸前の近縁有性種と同程度だった。またA・Pいずれか一方の発現が顕著に多い遺伝子は、その大半がPゲノムに偏っていた。以上の結果は、本種には配偶子形成時に父性Pゲノムを排除する厳密な機構が存在し、減数分裂によって排除されない劣性有害変異などによる問題を、有性ホスト由来のアリルを利用して潜在化させていることを示唆する。

以上をもとに、総合考察（第5章）では、脊椎動物における無性生殖種の進化プロセスの共通性と相違点を整理し、無性生殖の起源と種間交雑の関係性、および無性生殖種の進化過程と異質倍数化との関連性について議論した。

(論文審査の結果の要旨)

本論文は、無性生殖をおこなう2つの脊椎動物を対象に、無性生殖の起源と遺伝的多様性の維持機構、およびその進化的意義について、主に分子遺伝学的アプローチから解明を試みた研究である。無性生殖種は、組換えの欠如による適応能力の低さや有害変異の蓄積によって、系統進化的に短命であると予測される。しかし、いくつかの無性生殖種は長い歴史をもつことが示唆され、広い分布域にわたって繁栄している。このことから、無性生殖種はその進化的欠点を何らかの機構で克服していると予想されるが、特に脊椎動物ではほとんど知見がない。申請者は、無性生殖の異なる様式である雌性発生および雑種発生をおこなう淡水魚類の2つの系を用い、この問題に取り組んだ。

まず申請者は、雌性発生をおこなうフナ類に関して、無性型の起源と遺伝的多様性の創出・維持機構の解明を試みている。雌性発生では、無性型3倍体は有性型の精子を発生刺激として利用するが、精子は遺伝的に貢献しない。申請者はまず、種や有性・無性型の区別が困難なフナ類について、ミトコンドリアDNAやマイクロサテライト遺伝子座を用いて簡易に識別し、同時に遺伝集団構造やクローン構成を明らかにする効率的な手法を確立した。その手法を、日本列島を中心に広域からサンプリングされた地理的集団に適用し、さらに多数遺伝子座の分子系統やアレル発現分析を併用することにより、日本列島の無性型3倍体が日本系統と大陸系統の交雑に起源することを明らかにした。さらに稀な有性生殖により、各地で有性型から無性型への一方向的な遺伝子流動が存在することで無性型の遺伝的多様性が維持されている証拠を得た。これまで長らく議論が続いてきた無性型フナ類の起源と実態について、既存の諸説と一線を画す新たな進化的存在様式を明らかにしたことは高く評価される。

次に、雑種発生をおこなう *Squalius alburnoides* と近縁種の公開遺伝子発現データを広く解析し、本種ゲノムの起源を明らかにするとともに、無性生殖に起因する進化的欠点の克服機構の検証をおこなっている。本種は2倍体または3倍体の雑種発生種であり、他種である父親のゲノムを捨て、母親のゲノムのみからなる卵を形成し、それが精子と受精する。分子系統およびゲノム進化パターンの解析の結果、本種は配偶子形成時に父性ゲノムを厳密に排除するが、減数分裂によって排除されない劣性有害変異などによる問題を、父親由来のアレルを発現・利用することによって克服していることを支持する結果が得られている。さらに異質4倍性種の形成プロセスに関する示唆も与え、種形成の背景にあるゲノム進化について新たな知見をもたらす研究として評価される。

以上をもとに、脊椎動物における無性生殖種の進化プロセスの共通性と相違

点を整理し、総合的な議論をおこなっている。本研究は、長らく関心をもたれつつも未解決であった脊椎動物における無性型種について、広域からの試料採集、膨大な分子遺伝実験、また先進的なゲノム科学的手法を有効に組合せて、新たな進化的実像を描くに至った点で新規性が高く、到達点も高いと評価される。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値あるものと認める。また、平成30年1月17日に論文内容とそれに関連した口頭試問をおこなった結果、合格と認めた。

要旨公表可能日： _____ 年 _____ 月 _____ 日以降