

氏 名	に こう なる お 二 河 成 男
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 1846 号
学位授与の日付	平 成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学 位 規 則 第 4 条 第 1 項 該 当
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 物 理 学 専 攻
学 位 論 文 題 目	動 物, 植 物, 菌 類 の 系 統 関 係, お よ び, 動 物 門 の 分 岐 年 代

論文調査委員 (主 査)
教 授 宮 田 隆 教 授 山 岸 秀 夫 教 授 金 久 實

論 文 内 容 の 要 旨

最近, 生物の系統進化の研究に分子進化学的方法が盛んに応用されている。特に, 化石の残り難い生物群に対して有効な手段となっている。しかし, 問題にする生物群が短い期間に一斉に分岐した場合は, それらの系統関係を明らかにすることは, 分子進化学的にも困難な問題である。さらに, 脊椎動物の範囲を超えて, 異なる動物門の間で分岐した時期を推定することは, 適当な分子時計が知られていないために, さらに困難な問題となっている。申請者は, これらの困難な問題を解決するために新しい方法を導入し, 長い間懸案となっていた動物・植物・菌類の系統関係の解明, 並びに動物門の分岐時期の推定に成功した。

動物, 植物, および菌類の間には, 形態上の類似性が認められず, また化石のデータも少ないため, この3つの生物界の系統関係を従来の形態学的手法で明らかにすることは困難であった。一方, 分子進化学者は, かなり早い時期からこの問題に取り組んできたが, 3者の系統的位置が接近しているために, 用いる分子や方法により結果が異なり, 一貫した結論が得られないまま, 今日に至っていた。申請者は, 十分な統計量を得るために, 54種類の異なるタンパク質から成る膨大なデータセットを用意し, 3生物界の系統関係を総合的に判断する解析を行なった。その結果, 予想通り, タンパク質によって推定される3者の系統関係は異なっていたが, 個々のタンパク質の解析結果を最尤法を用いて総合すると, 動物は菌類に近縁で, 植物に遠縁となる系統樹が最尤系統樹であると推定された。しかも, この系統関係は他の2つの系統関係を示す樹形に対して, 統計的にも有意であることが示された。こうして, 多数種のタンパク質を用いた精密な分子系統進化学的解析によって, 長い間論争的であった3つの生物界の系統関係に関する問題に終止符を打つとともに, 分岐が互いに接近している生物群に対して, 精度よく系統関係を推定する上でこの方法が極めて有効であることを示すことができた。

続いて, 申請者は動物門の間の分岐時期の推定を行った。分子に基づく生物間の分岐時期の推定には, 長い進化の過程で分子が一定の速度でアミノ酸ないしは塩基置換を繰り返す, いわゆる分子時計の性質が利用されてきた。しかし, この性質は高々脊椎動物の範囲内で保証されていたに過ぎず, 脊椎動物の範囲

を超えて、異なる動物門の間でも成り立つ性質であるかどうか、明らかでなかった。申請者は、まず、脊椎動物の異なる綱の間のみならず、脊椎動物と節足動物の間でも進化速度の一定性が成立する、拡張された分子時計を多数のタンパク質の解析から探した。その結果、アルドラーゼとトリオースリン酸イソメラーゼ (TPI) が、良い近似で、拡張された分子時計の性質を示すことが明らかになった。さらに申請者は、アルドラーゼと TPI の進化速度の一定性を、3 種類の異なる進化距離の推定法で検証し、これらのタンパク質は、方法によらず、脊椎動物の系統にとどまらず、節足動物と脊椎動物、さらには、植物と動物の分岐まで含めた進化の過程で、近似的に進化速度の一定性を示すことを明らかにした。次に、申請者はこうして見つかった 2 つの分子時計を利用して、異なる動物門の間で最初の分岐となった側生動物と真正後生動物の分岐、および、脊索動物門の中で最も脊椎動物に近縁なグループである頭索動物と脊椎動物の分岐時期を推定することを試みた。そのために、申請者は側生動物としてカワカイメン (*Ephydatia fluviatilis*)、頭索類としてナメクジウオ (*Branchiostoma belcheri*) を選び、カワカイメンのアルドラーゼ、および、カワカイメンとナメクジウオの TPI の cDNA を PCR で増幅し、塩基配列を決定した。アルドラーゼと TPI のそれぞれについて、カワカイメンとナメクジウオのアミノ酸配列を他の生物種の配列と比較し、分子時計の性質を利用することによって、側生動物と真正後生動物の分岐が約 9.1 億年前に起きたことが示された。同様に、脊椎動物と頭索類の分岐時期は 7 億年前後と推定され、旧口動物と新口動物の分岐の直後に、これらの分岐が起こったと推定された。

論文審査の結果の要旨

分子進化学は、分子から生物の進化の道筋を解明することを目的とした分子系統進化学と、分子の進化機構を解明することを目的とした分子進化機構論とに大別される。分子系統進化学は、生物の系統関係と分岐時期の推定を主要な目的として、これまで大きく発展してきた。すでに類人猿の系統関係から、生物進化の最初の分岐まで、広範囲にわたる生物の系統関係が分子レベルで解明されてきた。こうした中で、真核生物の進化における最も重要な分岐、すなわち動物界・植物界・菌界の系統関係が未解決のままに残されていた。この系統関係の解明に向けて、1975 年以来多くの研究がなされてきたが、いずれも決定的な解決には至らなかった。申請者は、この問題の解決を困難にしている点は、3 つの生物界が進化の過程で極めて短期間のうちに分岐したことによると見抜き、従来、単一の分子によって推定していた系統関係を、多数の分子を用いて総合的に解析する方法を開発した。この多種タンパク質法によって十分な統計量が得られ、信頼性の高い系統樹が推定できる。この方法によって、申請者は 3 つの生物界の系統関係を解析し、動物は菌類に近縁であり、植物に遠縁であるとの結論を得ることに初めて成功した。この研究は、20 年の長きにわたる分子系統学上の重要な問題に終止符を打った点で意義深く、すでに国際的に高く評価されている。

続いて申請者は、分子系統進化学のもう一つの主要なテーマである動物門の分岐時期の推定に挑戦した。タンパク質の進化の過程で一定のペースでアミノ酸置換を蓄積する、すなわち分子時計の性質があることが知られており、この性質を利用することで、化石によることなく、分子の比較から生物の分岐時期が推定できる。しかし、分子進化速度の一定性は化石の証拠が多く残されている脊椎動物の間でのみ確認され

た進化的性質で、脊椎動物の範囲を超えて、異なる動物門の間に拡張できるかどうか、明らかでなかった。申請者は、多数のタンパク質の解析から、異なる動物門の間の分岐時期の推定にも拡張できる分子を探し求めた。その結果、アルドラーゼとトリオースリン酸イソメラーゼ（TPI）が、良い近似で、拡張された分子時計の性質を示すことを見いだした。申請者はこの拡張された分子時計を利用して、異なる動物門の間に最初の分岐となった側生動物と真正後生動物の分岐、および、脊索動物門の中で最も脊椎動物に近縁なグループである頭索動物と脊椎動物の分岐時期を推定するために、この2つの遺伝子をカイメンとナメクジウオから単離し、塩基配列を決定した。これらの配列と他の生物の配列との比較から、側生動物と真正後生動物の分岐がおよそ9.1億年前に起きたこと、及び頭索動物と脊椎動物の分岐時期が新口動物と旧口動物の分岐直後であることを明らかにした。この研究は化石の証拠のない動物門の分岐時期を分子から推定できた希な例であり、方法の斬新さも含めて、高く評価される。

このように、本研究は分子系統樹の推定と生物の分岐時期の推定という、分子系統進化学の上での主要なテーマに対し、斬新なアイデアを導入することで、その応用範囲を拡大させた学問的意義は極めて大きいと考えられる。さらに開発された方法を応用し、20年来の分子系統進化学における懸案であった動物・植物・菌類の系統関係の問題に終止符を打ち、且つ動物の系統進化を解明する上で要になる側生動物/真正後生動物及び頭索動物/脊椎動物の分岐時期を明らかにした点でも、極めて優れた研究であると評価できる。これらは分子進化学の分野での申請者の優れた能力を示している。

よって本論文は、理学博士の学位を授与するに十分価値あるものと判断される。なお、主論文及び参考文献に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。