

学位論文要旨

Molecular evolution of mitochondrial DNAs in rain frogs (Amphibia: Anura: Brevicipitidae: *Breviceps*): Discovery of the secondary largest vertebrate mitochondrial genome and the cause of genome size increase

(フクラガエル属における mtDNA の分子進化：脊椎動物で 2 番目に巨大なミトコンドリアゲノムの発見とその発生要因)

逸見 敬太郎

多細胞動物のミトコンドリア (mt) ゲノムは、一般的に、約 14~20 kbp の二本鎖環状 DNA 分子である。ほとんどの後生動物において、mt ゲノムは、呼吸の電子伝達系に関与する 13 のタンパク質遺伝子と、これらタンパク質の翻訳に関わる 2 つの rRNA 遺伝子 (rrns)、および 22 の tRNA 遺伝子 (trns)、合計 37 種類の共通の遺伝子セットをコードしている。さらに、ほとんどの動物の mt ゲノムには、イントロンは見られず、遺伝子間スペーサーもほとんどない。一方で、転写と複製に関連する調節配列を含む 1 kbp 程度の長い非コード領域を含んでおり、この領域は、コントロール領域 (CR、または D ループ領域) と呼ばれる。

後生動物において、mt ゲノムの構造は系統的に近縁な分類群間で保存される傾向がある。特に脊椎動物では mt ゲノム構造の保守性が高く、硬骨魚類から哺乳類に至るまで同じ mt 遺伝子組成と遺伝子配置 (シンテニー) が観察される。しかし、一部の無尾類においては、mt ゲノムの構造変化が報告されている。無尾類の中でも、祖先的なグループ (ムカシガエル類と呼ばれる側系統グループ) の種は、脊椎動物に典型的な (つまり共有原始形質の) ゲノム構造を保持している。対照的に、無尾類の中でも進化的なグループであるカエル亜目に属する種では、原始的な配置から 3 つの trns (Lue・Thr・Pro) が転座し、trnF の上流に位置するようになった結果、派生的な LTPF-trn クラスターが形成されている。新カエル亜目は、アマガエル上科とアカガエル上科に大別され、さらに後者は、ヒメアマガエル類・アカガエル類・アフリカガエル類の 3 つの大きなグループを含む。これらのうちヒメアマガエル類は、カエル亜目一般型の mt ゲノム構造を保持している。一方、アカガエル類とアフリカガエル類では、遺伝子と CR の重複、および、これらの転座に伴う mt ゲノム再編成が頻繁に観察される。

アフリカガエル類は、その名前の通り、アフリカに固有のカエル分類群で、サエズリガエル科、クサガエル科、アナホリガエル科、フクラガエル科の 4 科 422 種で構成されている。先行研究において、これら 4 科から各 1 種の mtDNA の全配列が決定された。その結果、すべての種が 20kbp を超える大きな mt ゲノムを持っていた。特に、フクラガエル科のアメフクラガエル (*Breviceps adpersus*) の mt ゲノムは、激しい遺伝子配置の変化が

生じていたことに加え、複数の遺伝子および CR 重複領域が存在した。これらの重複が原因で、アメフラガエルの mt ゲノムは、現在までに配列が決定された脊椎動物の中で最大であった（後生動物全体では 13 番目）。このように巨大な mt ゲノムがいつ、どの系統に出現したかということは興味深い。しかしながら、フラガエル科、特に他のフラガエル類の mt ゲノムに関する情報はほとんど存在しないため、このユニークな mt ゲノムの出現系統や出現時期についての推定は困難であった。そこで私は、フラガエル類でどのように巨大な mtDNA が出現したのかを明らかにすることを目的とし、モザンビークフラガエル (*B. mossambicus*) とパワーフラガエル (*B. poweri*) 2 種について mtDNA の全塩基配列を新たに決定した。

これら 2 種のフラガエルの mt ゲノム構成、遺伝子配置、および遺伝子配列は互いに非常に似ており、また、これらの特徴は多くのカエル亜目の種とも共通していた。一方で、アメフラガエルで報告されていた遺伝子領域の重複は確認されなかった。2 種のうち、モザンビークフラガエルの mt ゲノムサイズは 22.5 kb で、他のアフリカガエル類と似た大きさであった。一方で、パワーフラガエルの mtDNA は、28.1 kbp であり、アメフラガエルに次いで脊椎動物の中で 2 番目に大きいものであった。パワーフラガエルで巨大な mt ゲノムの生じている原因は、アメフラガエルとは異なり、CR 領域が 12.5 kbp の長さまで異常に伸長していたことであった。巨大化の原因が異なることに加え、系統解析の結果、巨大な mt ゲノムを持つパワーフラガエルとアメフラガエルは単系統群にならなかった（モザンビークフラガエルがアメフラガエルとより近縁であった）ため、フラガエル属の中では少なくとも 2 つの異なる系統で mt ゲノムの巨大化が生じたことが明らかになった。さらに、分岐年代解析の結果、フラガエルの中でもパワーフラガエルに至る系統では 4700 万年以内に、アメフラガエルに至る系統では 3400 万年以内に mt ゲノムの巨大化が生じたと推定された。先行研究において、mt ゲノムの巨大化に係る要因として、高い塩基置換率と、負の選択圧の緩和が指摘されていた。そこでフラガエル類を含むアフリカガエル類、および、他のカエル亜目について塩基置換率と選択圧変化を調べた。その結果、ゲノムが巨大なフラガエル 2 種の系統において特に高い塩基置換率や、負の選択圧の緩和は見られなかった。一方で、フラガエル類に至るアフリカガエル類の祖先系統では負の選択圧が緩んでいたと推定された。この結果や先行研究での仮説を考慮したところ、負の選択圧の緩和が、その子孫系統で間接的に影響し、アフリカガエル類で共通して見られる 20 kbp 以上の大きな mt ゲノムや、フラガエル類の 28 kbp 以上の巨大なゲノムの出現した可能性が示唆された。具体的には、祖先系統では、わずかに有害な突然変異の排除圧力が弱まり、ゲノムに重複を生じやすくなるような突然変異が蓄積し、現在のアフリカガエル類やフラガエルの mt ゲノムは重複が起こりやすい状況にあるのではないかと考えられた。