

遺伝子からみたドクウツギ属植物の系統

長谷部光泰・横山 潤

遺伝子の塩基配列は系統推定に適した情報であることが近年知られてきた。ドクウツギは系統的位置のはっきりしない属であり、その隔離分布から多系統説まで提唱されていたが、葉緑体 DNA ゲノム上の *rbcL* 遺伝子の塩基配列の解析から明らかに単系統群であり、あまり近縁の属は現生していないが、もっとも近縁なのはウリ科などであることがわかってきた。また、種間の系統関係が高い統計学的精度で推定でき、さらに、各種の分化した年代も推定してみた。その結果は、この属の隔離分布を説明するためにこれまで提唱されてきた代表的な仮説を支持しなかったため、それらの仮説の妥当性を検討した後、新しい仮説を提唱した。また、形態情報と塩基配列データから推定された系統関係の相違についても議論した。

1. 系統解析の新しい手法

アリストテレスの時代以来、目にみえる形態を中心に植物の類縁関係が推定されてきた。しかし、20世紀も終わろうとしている現在ですら植物の系統はほとんどわかっていないといっても過言ではない。いろいろな研究者が図鑑などでさまざまな系統関係を提唱しているが、研究者間でコンセンサスが得られているという状況ではない。

この理由は情報量の不足と他人の空似（専門用語では平行進化という）の二つの問題にある。たとえば、2種類の植物を比較すると、無限に比較できる

部分（形質）があるような気がするがそうではない。生育状況や環境によって変化するような形質などを除いていくと、せいぜい10とか20とかの形質しか残らないのが現状である。この10とか20の形質がすべて信頼できるものならまだいいのだが、半分くらいが平行進化であるときもあるのだから事態は困窮してくる。ある形質に着目するとある系統関係が推定できるが、別の形質に着目すると異なった系統関係が推定できてしまうというときには、どちらかが平行進化によって起こったのであろうと考えられる。

しかし、分子生物学の発展に伴って、われわれは新しい世界を垣間みることができるようになってきた。遺伝子の世界である。遺伝子はA, C, G, Tの四つの塩基が糸状に配列することによってできている。遺伝子の情報は莫大な量であり、系統推定の材料としてはもってこいのものである。技術の発展によって遺伝子の塩基配列決定は大学に入ったばかりの学生でも簡単にできるようになり、われわれは多大な情報を得ることができるようになってきた。その結果、植物の系統もかなり正確に推定できるようになってきた。遺伝子の塩基配列を用いて系統推定するメリットの一つは情報量が多いということである。もちろん、塩基配列情報の場合も形態形質の場合同様平行進化（他人の空似）が起こり、正確な系統推定の邪魔をすることが多い。けれども、塩基配列データはA, C, G, Tの4種類の文字の組合せだけでできているので数学的なモデルが立てやすく、

推定した系統樹の精度を検定することができる、というメリットをもっており、自分の推定した系統樹がどのくらい信頼できるのかを即座に判断することができる。

本稿では色素体に含まれる遺伝子の塩基配列情報を用いてドクウツギ属の系統関係を推定してみる。

2. ドクウツギ科はどの植物に近縁か

本特集からわかるように、ドクウツギ科は謎の多いグループである。花は図1のように心皮が離生しており、奇妙な形態をし、現生の被子植物のどのグループに近縁なのか一致した見解が得られていなかった。たとえば、ダールグレン (1983) は胚発生、花粉形態、化学成分の類似からムクロジやミカンに近縁ではあるが、独立な系統であろうと提唱したが、クロンキスト (1982) は花の形態や茎の構造からキンポウゲの仲間近縁ではないかと考えた。しかも、どの形質をとってもちょっと似ているというだけで確証に欠けることも困った問題である。両者の見解のどちらかが正しいとすれば、もう片方の形質は平行進化によって引き起こされたものであろうし、両方とも平行進化によって起こったのかもしれない。多くの研究者は「どの科に近縁かわからない」という点では、一致した見解であった。また、形態を詳細に観察して平行進化を区別しようと思っても、被子植物の科を越えたレベルになるとあまりにも形態が異なっていて比較のしようがないというのが現状である。

このような場合には塩基配列データは非常に有用である。この5年ほどの間に、イギリス キュー植物園のチェイス博士を中心に、アメリカ合衆国の約30の研究所に所属する100人以上の研究者が共同して、被子植物のほとんどすべての科を網羅する1000以上の種において色素体に含まれる遺伝子の一つであるリブローズニリン酸カルボキシラーゼ/オキシゲナーゼ遺伝子のサブユニットの塩基配列

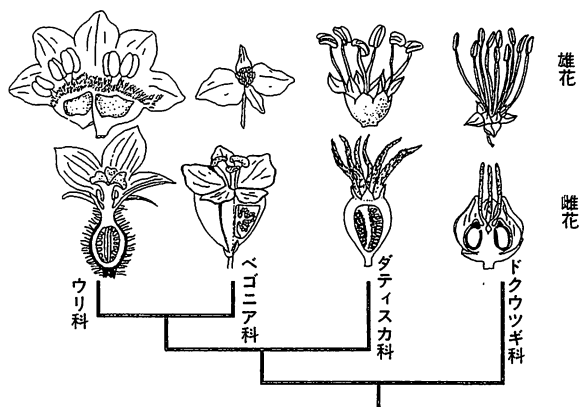


図1 *rbcL* の塩基配列から推定されたドクウツギ科の類縁¹⁾。図は Engler : Syllabus der Pflanzenfamilien および, Heywood : Flowering Plants of the World より引用した。雄花と雌花は必ずしも同一種ではない。

(*rbcL*: 約1500塩基対) を決定した¹⁾。*rbcL* は光合成に重要な役割を果たす酵素であるため、植物全般でよく保存されており、系統推定に適した遺伝子である²⁾。さて、*rbcL* から得られた結果はこれまでの形態形質からの推定とは大きく異なっていた(図1)。ドクウツギ科はベゴニア科、ウリ科、ダティスカ科と近縁であることがわかったのである。チェイス博士らは論文の中で統計的な検定をしていないので、筆者らが彼らのデータを用いて再検討してみた結果、確かにこの結果は支持されることがわかった。また、この周辺の科や属の塩基配列情報を増やしても同じ結果になるそうである(チェイス私信)。

塩基配列データからこれまで謎とされていたドクウツギの類縁がわかったが、新たな問題点が現われてきた。図1からわかるようにドクウツギ属と近縁とされる3属の花形態はドクウツギと大きく異なっているのである。これらの属での花形態の分化はどのようにして起こったのであろうか。形態サイドからの再検討が必要である。しかし、これまで何百年にもわたって先人が研究してきた問題であるから、従来の手法で花形態の観察をし、知見を蓄積するとともに、新しい手法を用いたアプローチを考えていく必要がある。現在若手の系統分類学者を中心に分

子生物学的手法で花の形態形成過程を遺伝子のレベルから追跡し、形態形質の進化を探ろうという先駆的な研究が始まっている。今後期待したい。

3. ドクウツギ属の系統

グッド氏は世界のドクウツギ属植物を形態形質から、南半球に分布する種、北半球に分布する種、テルミナリスの大きな三つのグループに分類した³⁾。また、本特集で戸部氏は形態形質を分岐系統学的手法を用いて解析し、系統関係を推定している。そこで、筆者らは先述の *rbcL* の塩基配列を 8 種類のドクウツギ属植物について決定し、形態形質から得られた系統樹と塩基配列データから推定された系統樹を比較検討してみた。ドクウツギ属の 8 種とドクウツギ属に近縁であると考えられる (図 1) ベゴニアについて *rbcL* 遺伝子の 1263 塩基対を比較してみた。ドクウツギ属 8 種に共通でベゴニアのみ異なっている塩基、つまり、ドクウツギ属に特異的な変異は全部で 43 個あり、ドクウツギ属がよくまとまった単系統群であることがわかる。さらに、ドクウツギ属内でみられる変異は全部で 7 個あった。これらの変異は図 2 に図示してある。このことからドクウツギ属内では *rbcL* の塩基配列の変異はきわめて少ないと考えられる。系統推定にはいろいろな方法が考案されているが²⁾ 変異が少ないときにもっとも精度

よく系統推定ができる最大節約法で系統関係を推定してみた。念のため、近隣結合法という方法でも系統樹を構築してみたが同じ結果を得ることができた。図 2 からわかるように平行進化をまったく考えずにただ一つだけの系統樹が推定できる (平行進化が多い場合にはどの形質を平行進化と考えるかによって何種類もの系統関係が推定される場合が多い)。

しかし、この系統樹ではアジア産のネパレンシス、ジャポニカ、インターメディアと地中海のミルティフォリアがひとまとまりのグループであることはわかるが、これらの間の系統関係は情報不足のため (*rbcL* の塩基配列に変異がなかった) わからなかった。そこで筆者らはこれら 4 種の系統関係をはっきりさせるためにより近縁種間の系統推定に適した方法である制限酵素切断断片長多型を検出する方法 (以下制限酵素断片法と略す) を用いてみた⁴⁾。

遺伝子は 1 本の糸状の物質であるから、特定の塩基配列を認識して切断する制限酵素で処理するといくつかの断片として検出されてくる。たとえば、*EcoRI* という制限酵素は GAATTC という配列があるとその場所で遺伝子を切断し、いくつかの断片ができてくる。この断片をいろいろな種間で比較してやるとほとんどが同じ断片であるが、いくつかの異なった断片が検出されることがある。A という種類の遺伝子の中には GAATTC という配列をもった部分があるが、B という種類では同じ部分が GAAATC であったとしよう。すると、A ではこの部分が *EcoRI* で切断されるため、短い断片が 2 本検出されるが、B では長い断片が 1 本だけ検出されることになる (A の短い断片を 2 本たすと B の長い断片の長さになる)。通常一つの断片の変異が一つの塩基配列の変異を表わしていることになる (もっとたくさんあることもある)。したがって、切断する塩基配列の違ういろいろな酵素で遺伝子を切断して断片を比較してやれば間接的に塩基配列の変異を検出したことになる。

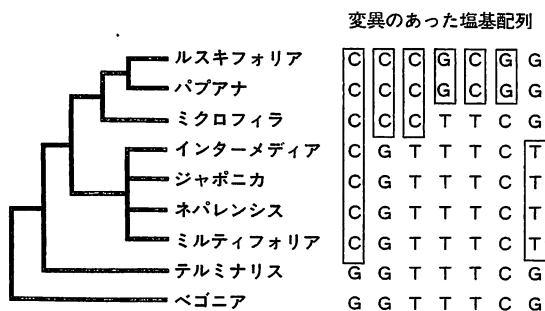


図 2 *rbcL* の塩基配列から最大節約法で推定したドクウツギ属内種間の系統関係、ドクウツギ属内で変異のあった塩基座位 (固有派生形質となるような変異は除外してある) を示してある。

筆者らは上述の4種とパプアナの合計5種類について、16個の制限酵素を用い、制限酵素切断断片を比較した。その結果14個の変異が系統推定に有用な情報として検出された。はじめから制限酵素断片法を全部の種類について調べればよいような気がするかもしれないが、そうはうまくいかない。なぜなら、ベゴニアとドクウツギ属全種の間ではあまりに断片の変異が多すぎて対応を付けることができず、お互いの間で塩基配列にいくつ変異があるのかを推定することができないからである。制限酵素断片法は近縁種間の系統関係を求めるのに、*rbcL*の塩基配列はやや離れた分類群間の系統関係を推定するのに適した方法であり、ドクウツギ属の場合は両方法を併用

することが必要だったのである。

制限酵素切断断片長多型のデータについて、近隣結合法、最大節約法、最尤法の三つの方法で系統推定してみた結果が図3である。どの方法でもジャポニカとインターメディア、ネパレンシスとミルティフォリアが近縁であるという系統樹が推定された。近隣結合法では枝の分岐点の分散が一部重なりあう部分があり、ネパレンシスとミルティフォリアが単系統群であるという結果は統計的に有意に示せたことにはならない。しかし、最大節約法をブーストラップ法で検定した結果(図3の(2))ではこの2種がもっとも近縁である確率はかなり高く示されているとともに、最尤法でミルティフォリアを図4の形態形質から推定した系統樹のように配置すると尤度がかかなり低くなりいびつな形の系統樹が構築される。また、近隣結合法はすべての断片の中で何本の断片が違っているか(遺伝的距離)を基準として系統関係を推定するが、制限酵素切断断片長多型のデータは実験上の誤差からどうしても遺伝的距離の分散を過大評価してしまう傾向があり、図3の(1)で示した分散もその影響を受けている可能性が高い。したがって、現状では図3に示した系統関係がもっとも信頼性の高い系統樹であるとして問題はないであろう。*rbcL*の塩基配列と制限酵素切断断片長多型の結果を総合した結果が図4である。調べたドクウツギ属8種すべての系統関係が明らかになった。

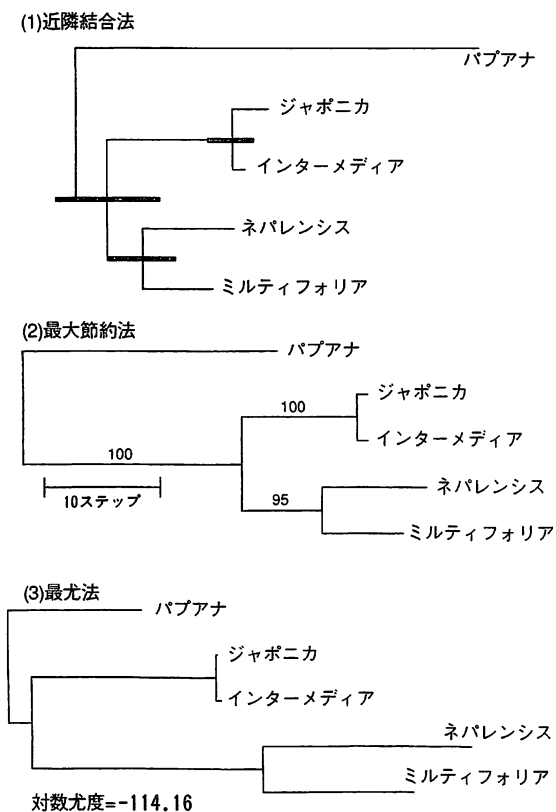


図3 染色体ゲノムの制限酵素切断断片長多型を用いて推定した系統樹。(1)の枝の分岐点の太い線は分散、(2)の枝の上の数字はブーストラップ確率(統計的信頼度を示す指標の一種)²⁾を表わしている。

4. 形態形質の進化と分布

さて、つぎに塩基配列データから推定された系統樹と形態形質から推定された系統樹を比較してみよう。塩基配列データからテルミナリスがもっとも早く分岐した種類であることがわかっているので、テルミナリスがドクウツギ属の系統樹の中でもっとも外側にくるようにし(外群にするという)、本特集で戸部氏が用いた形態形質を用いて最大節約法で系統

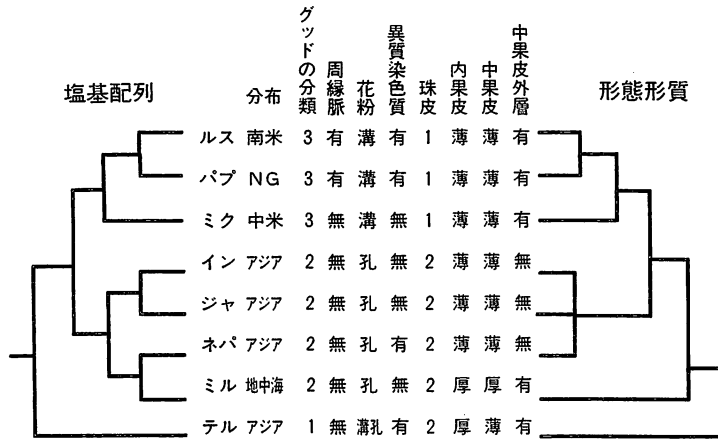


図4 塩基配列情報と形態形質から推定した系統樹の比較。両系統樹の間に示した形態形質の詳細は本特集の戸部氏、高橋氏の記事を参照。分布の項でNGはニューギニアを表わす。

樹を構築してみたのが図4である。ミルティフォリアが他のアジアのドクウツギ類とひとまとまりのグループにならない点のみが異なっている。両系統樹を再検討してみよう。塩基配列から推定した系統樹においてネパレンシスとミルティフォリアが姉妹群になる確率は前述したようにならかなり高いものである。一方、形態形質で、ミルティフォリアを他のアジアの種類と分けている形質は、種皮が厚くなっていることだけである。この形質は平行進化によって起こった可能性はないのだろうか。ミルティフォリアは鈴木氏が本特集で述べているように地中海性気候の乾燥の厳しい地域に分布しているので適応的に厚い種皮が有利だったのかもしれない。また、他のアジアの種類が二倍体であるのに対してミルティフォリアが四倍体であることも影響を与えているのかもしれない。さらに研究が必要である。

これまでグッド³⁾、メルヴィル⁵⁾らによってドクウツギ属の隔離分布を説明する仮説が提唱されてきたが(本特集の大場の項を参照)、現在の地史的な研究結果を考慮すると両仮説ともにややむりがある。たとえば、グッドは南米で起源したドクウツギ属が第三紀最初にアンデス山脈からロッキー山脈に沿って北上したと考えたが、大陸移動説によれば、この時期には南米大陸と北米大陸は海峡で隔てられていたのである。メルヴィルはパシフィカという仮想大

陸が北米、南米、東アジア、東南アジア、オセアニアを結び付けていたと考え、南米起源のドクウツギ属がこの大陸に沿って北上し、北半球に分布を広げたと考えたが、パシフィカの存在は地史的に証明されていない。メルヴィルの仮説は現在南半球に分布する種が北半球の種より原始的であるという仮定にたって立てられたのであるが、塩基配列データから推定して系統関係は明らかに南半球の種類が派生的であり、彼が仮定したように原始的(系統樹の中でもっとも初めに分岐する)ではない。

塩基配列データは、例外もあるので注意が必要であるが、ほぼ時間に比例して変化している場合が多い。ドクウツギ属の場合も塩基配列の変異はほぼ時間に比例して変化していることが確かめられたので、大まかに各分類群の分岐した年代を推定してみた。ドクウツギがペゴニアから分岐したのが被子植物の分化が活発に起こった1.5~2億年前だと仮定するとテルミナリスが他の現生種の祖先から分岐したのは第三紀の漸新世ごろと推定できる。この時代はフランスからテルミナリスそっくりの化石が産出される年代である。また、ユーラシア大陸の種とマイクロフィラは第三紀中ごろ、マイクロフィラ以外の南半球の種類は第三紀と第四紀の間ごろにそれぞれ分化したのではないかと推定できる。本稿ではふれなかったが、ニュージーランド産のサルメントーサと

アルボレアはパプアナ、ルスキフォリアと非常に類似した塩基配列をもっており、これらを含めて解析しても同じ結果が得られる。この結果に基づいて、つぎのような仮説を考えてみた。

(1) 世界中のどこかで起源したドクウツギ属植物が第三紀に北半球一帯(南半球にも分布していたかもしれない)に分布を広げた。ユーラシア大陸に分布するテルミナリス、ジャポニカ、インターメディア、ネパレンシス、ミルティフォリア、中米に分布するマイクロフィラの系列(祖先)はこの時期に分化したのであろう。このころベーリング海峡は陸地であったのでユーラシア大陸と北米はつながっていたから相互に分布を広げることが可能であったと推定される。ところで、現在、もっとも原始的と考えられるテルミナリスが北半球のヒマラヤに分布するので、ドクウツギの起源がユーラシア大陸であるとするのは早計である。北米大陸に起源したこの属がユーラシア大陸にまで分布を広げ、たまたま現在、ヒマラヤにのみ遺存的に祖先種が生き残っているのかもしれないからである。通常現生種の研究からは分布の起源地を特定することはできない。

(2) 北米から南米に分布域が広がり、第三紀と第四紀の間ごろにマイクロフィラ以外の南半球(チリ、ニュージーランド、パプア・ニューギニア、太平洋諸島)の種が分化した。

この仮説の最大の弱点は北米からドクウツギ属の化石が発見されていないことと、南半球の種類がどのように分布域を拡大したか、すなわち南米大陸から、海を越えてニュージーランドやパプア・ニューギニアへどのように分布が広がったかがわからない点にある。今後の研究が期待される。

塩基配列データからの結果によって百年近くにわたって謎に包まれてきたドクウツギの系統関係や地理的分布について信頼性の高い推定ができた。しかし、ドクウツギがどのようにして海を越えて分布を広げたのかなど細かい点についてはまったくわから

ない。ドクウツギからさらに視野を広げて植物の進化全般を見回すと未解決の難問が山積している。今話題のジュラシックワールドのモデルであるジュラ紀に恐竜たちの足元を飾っていたであろう草たちの子孫がどのように形や分布を変えながら現生までどのように生き延びてきたのかなどという基本的な問題すら、ほとんど霧の中である。分子系統学という新しい武器を手にした科学者は果敢にもこの難関群へのアプローチを開始している。学術雑誌のページをめくるとに驚きの連続といった日々はまだまだ続きそうである。

文 献

- 1) Chase, M. W. *et al.*: *Ann. Mo. Bot. Gard.*, **80**, 印刷中 (1993).
 - 2) 小藤累美子・長谷部光泰: *遺伝*, **46**(6), 24-29 (1992).
 - 3) Good, R. D'O.: *New Phytol.*, **29**, 170-198 (1930).
 - 4) 村上哲明: *遺伝*, **46**(6), 10-17 (1992).
 - 5) Melville, R.: *Vicariance Biogeography*. Columbia University Press, 238-274 (1979).
- (はせbemつやす・よこやまじゅん,

東京大学 理学部 附属植物園)

雑誌『遺伝』綴込み用ファイル

雑誌『遺伝』を6冊綴り込めるファイルです。雑誌『遺伝』の整理、保存にご利用下さい。

ご希望の方は最寄りの書店または小社にお申し込み下さい。

定価 1339 円

送料 510~1020 円

(送料は地域によって異なりますのでお問合せ下さい。書店からお求めの場合は不要です)

