

生物の系統は、過去に確かであった事実である。化石記録から推定する限り、このことに間違いはなさそうである。しかし、現在われわれが入手可能な手掛かりは限られている。この手掛かりを何とか駆使して、より真実に近い過去をあばいていく、これが系統分類学である。正しく過去を推定するためには、なるべく多くの情報を得たほうがよい。そのような理由で、系統分類学者はこれまで、形態、化石、染色体、化学成分など可能な限りのデータを用いてきた。そして、1953年にワトソン WATSON とクリック CRICK が遺伝子の本体は DNA であるということを明らかにして以来、遺伝子自体の情報も系統関係の推定に有用であろうという考えが広まってきた。遺伝子は4種類の分子の組合せで構成されている。この分子情報を用いて系統を推定する分野が「分子系統学」である(木村, 1988; 長谷川, 1989)。

4-1 理論

4-1-1 分子系統学の長所

研究が進むにつれ、分子情報は系統関係を推定するのに以下のような点で適していることがわかってきた。

1) 非常に多くの情報が簡単に得られる。ポリメラーゼ連鎖反応(PCR)法(3章脚注*15参照)の発達により、特定の遺伝子を試験管内で増幅し、塩基配列を迅速に決定することが可能になった。たとえば、植物の光合成の暗反応で二酸化炭素を固定する働きをしているリブローズ二リン酸脱炭酸酵素の大サブユニット遺伝子(*rubisco* gene、*ribulose biphosphate carboxylase large subunit*)の塩基配列は1000種以上の植物で決定され、陸上植物の系統推定に役立っている。

2) 得られる情報は4種類のヌクレオチド(アミノ酸に翻訳した時は20種

類のアミノ酸)から構成されており、形質変化のパターンが規則的でモデル化しやすく、定量的、統計的解析が容易である。このため、推定された系統樹がどの程度確からしいのかを統計的に検定できる。

3) 生命の根幹にかかわるようなタンパク質は全生物を通じて比較可能な程度に保存されていることが多く、同一の基準で、離れた分類群間の系統関係を推定できるようになった。名古屋大学の堀らは世界に先駆けて rRNA の塩基配列を生物界の広範な分類群間で比較した(堀・大沢, 1984)。

4) 塩基配列データはある程度自然選択に中立で、時間に比例して変異を蓄積している場合がある。通常、適応的に有利な外部形態などは自然選択によって急速に集団内に広がっていくが、コドンの第3番目の塩基などは、変異してもアミノ酸に変化を及ぼさず、遺伝的浮動だけによる偶然的固定により、ほぼ時間に比例して蓄積していく(木村, 1988)。したがって、変異の程度を比較すれば、分類群同士がどのくらい前に分化したのかが推定できることもある。これを分子時計という。

4-1-2 分子進化速度の一定性と分子時計

1965年、ツッカーカンドル ZUCKERKANDL とポーリング PAULING はヘモグロビタンパクの、マーゴリアッシュとスミスはシトクロム c タンパク質のアミノ酸配列をいろいろな生物で比較し、年あたりのアミノ酸残基置換数(進化速度)がほぼ一定であることに気づいた。この事実はそれまでの自然選択を基本とした進化理論(ネオダーウィニズム)では十分に説明しきれない。木村は1969年に、核酸の塩基配列やアミノ酸残基(分子レベルの形質)の進化は、形態などの表現型レベルの形質とは異なっているという「分子進化の中立説」を提唱した。この説は分子レベルの形質の進化速度が一定であるという事実をよく説明する。

進化速度の一定性は系統分類学にとっても重要な意味をもつ。これまで、生物の分岐年代を推定する唯一の情報は、化石記録であった。しかし、化石の産出は偶然に左右されるし、全ての生物の化石が得られるわけではない。

もし、分子レベルの形質の進化速度が一定なら、現生生物の塩基配列を比較して、あらゆる生物が分岐した年代を推定できることになる。これが、分子時計である。たとえば、化石記録から10万年前に分岐したとはっきりしているAとBという種の塩基配列が10個違っていたとすると、Aと塩基配列が5個しか違わない種は、5万年前にAから分岐したことになる。

しかし、近年、塩基配列情報がいろいろな生物から蓄積されてくるにつれ、分子時計はたいへん狂いやすいものであることがわかってきた。したがって、分子データから分岐年代を推定する際には、対象としている遺伝子、系統で分子時計がきちんとはたらいっているかどうかを相対速度テスト (relative rate test) で、あらかじめ検討する必要がある。

4-1-3 相対速度テスト

AとBという二つの系統における進化速度を比較してみよう。AとBが分岐したよりも、古い時代に分岐したと考えられる種Cを用意する(図4-1)。AとBの共通祖先をOとし、A、B、Cの共通祖先をR(共に現在は絶滅している)と名づける。これら3種の系統関係は図4-1に示したようになる。ここでは、AO(AがOから分化した後に起こった塩基置換数)とBO(BがOから分化した後に起こった塩基置換数)が同じかどうかを検定する。Oは現生しないので、AO、BOを直接調べることはできない。われわれが得られるデータはAB、AC、BCでの塩基置換数だけである。ここで、ACはAOとORとRCを足したものになり、BCはBOとORとRCを足したものになるこ

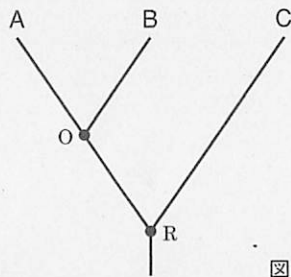


図4-1 進化速度と分岐年代の推定

とに注目する。

$$AC = AO + OR + RC \quad (1)$$

$$BC = BO + OR + RC \quad (2)$$

(1), (2)で、OR, RCは両式に共通であるから、

$$AC - AO = BC - BO$$

すなわち、

$$AO - BO = AC - BC$$

となる。したがって、AOとBOでの塩基置換数が同じか異なっているかは、 $AC - BC$ が0から有為に異なっているかどうかを調べればよい。

相対速度テストを用いて、いろいろな遺伝子、系統での進化速度の変動が報告され、その理由が検討されている。

4-1-4 遺伝子による進化速度の違い

これまでに、様々な遺伝子が系統推定に用いられてきた。そして、異なった遺伝子は異なった進化速度をもつことがわかってきた。たとえば、*rbcL* 遺伝子は、同じ葉緑体上のマチュラーゼK遺伝子 (*matK* gene, *maturaseK*) とくらべると3倍ほど塩基置換速度が遅いことが知られている。遺伝子による進化速度の違いは、遺伝子や遺伝子内での塩基座位やアミノ酸残基の置換による影響が異なっているのが一つの原因と考えられている。たとえば、タンパク質の立体構造に大きな影響を与えて個体の適応度を減ずるような塩基置換は、自然選択によって排除されてしまうので残らないが、機能的に重要でない(より中立的な)アミノ酸に影響を与えるような塩基置換は保持されていく。

4-1-5 系統による進化速度の違い

生物の系統によっても進化速度が異なる例が報告されている。たとえば、ネズミなどの齧歯類は、霊長類よりも速い進化速度をもつと報告されている(総説としてLi, 1993)。これは、世代時間仮説によって説明できる。霊長類

と齧歯類の生殖細胞系列は世代あたりほぼ同じ数だけ分裂する。したがって、世代時間の長い霊長類のほうが、短い齧歯類よりも年あたりの細胞分裂回数が増える。細胞分裂時における複製ミスは突然変異の大きな供給源であるから、齧歯類のほうが、年あたりたくさんの突然変異を起こすことになる。同じような例が植物でも知られている。一般に一年草のほうが多年性の木本植物よりも進化速度が速い。しかし、この場合は世代時間仮説では説明できない。なぜなら、植物には生殖細胞系列と体細胞系列の区別がないと考えられているからである。この場合は、年あたりの細胞の分裂回数で説明できるかもしれない。一年草は1年間に50 cm くらいに成長すると考えると、500年では通算して250 m 成長することになる。それに比べると、木本植物の成長速度は遅い。ジャイアントセコイア *Sequoiadendron giganteum* は500年では75 m ほどしか大きくならない。細胞の分裂回数が突然変異率に比例していると仮定すれば、草本植物のほうが木本植物より進化速度が速いことになる。

また、DNA 合成酵素は一般に修復能をもち、間違っただけで遺伝子を複製しないような機構をもっている。しかし、その性能は生物によって異なっており、このことも進化速度の系統間における変動の大きな要因となっている。このほかにも、生殖細胞の世代あたりの分裂回数は雄のほうが雌より大きいことから(雄は大量の精子を作り、雌は少数の卵を作る)、雄の進化速度のほうが雌より大きいという仮説や、代謝率の大きな生物のほうが突然変異源となる活性酸素を作りやすいために、代謝率の小さい生物より進化速度が速いという仮説が提唱されている。

以上のような点から、塩基配列情報は系統推定において重要な役割を果たすようになってきた。以下、形態などの表現型レベルの情報と塩基配列情報を用いて推定した系統関係とが一致した例として、水生異形胞子性シダ類について、一致しなかった例として裸子植物の系統について紹介しよう。

4-2 実際

4-2-1 分子系統樹と形態系統樹が一致した例

近頃では農薬の使用などで少なくなりましたが、10年ほど前までは、田んぼに出かけると四つ葉のクローバーの形をしたデンジソウ *Marsilea quadrifolia* と浮草のようなサンショウモ *Salvinia natans* をよく見かけた(図4-2)。これらの植物は、共に維管束をもち、胞子をつけるのでシダ類の仲間であるが、普通のシダ類ではなく、異形胞子性シダ類に分類されている。普通のシダ類は皆同じ大きさの胞子を作るが、これらのシダは雌性配偶子である大胞子と雄性配偶体となる小胞子の2種類の胞子を作る。種子植物は雌(めしべ)に胚嚢細胞(大胞子)、雄(おしべ)に花粉(小胞子)を作るので、この形質に関しては、シダ類よりも種子植物に似ていることになる。また、普通のシダ類は葉の裏側(背軸側)に胞子を包んだ胞子嚢をつけるが、異形胞子性シダ類では胞子嚢果という特殊な器官を形成する。

図4-2からわかるようにデンジソウとサンショウモは互いに形態がかなり異なっている。たとえば、デンジソウには根があるが、サンショウモにはな

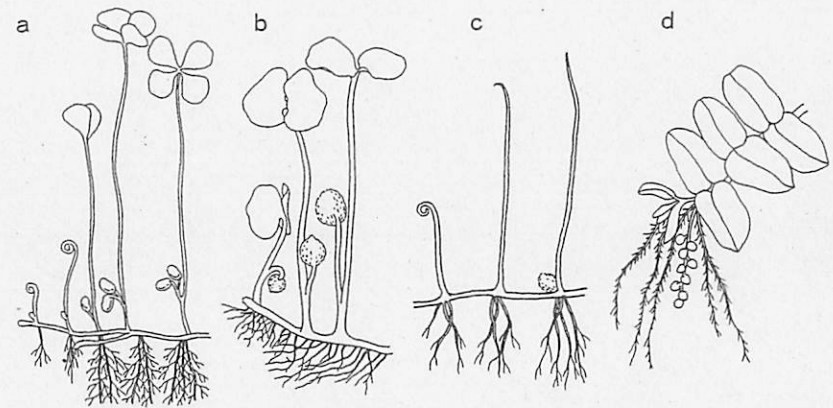


図4-2 デンジソウとサンショウモの仲間

a: デンジソウ属, b: レグネリディウム属, c: ピルラリア属, d: サンショウモ属

い。サンショウモの根のようにみえる器官は葉が変形したものである。また、胞子嚢果の構造も大きく異なっている。したがって、従来の分類体系では、シダ類をシダ目、デンジソウ目、サンショウモ目という三つの目に分けるという見解が主流であった(図4-3)。また、デンジソウ目内にはデンジソウ属のほかにも南米原産のレグネリディウム属 *Regnelidium*、北米、ヨーロッパからオーストラリアにかけて分布するピルラリア属 *Pilularia* が知られているが、これら3属の形態も研究者の興味を引いてきた。デンジソウ属では図4-2のように葉が四つの裂片からなるが、レグネリディウム属では二つ、ピルラリア属は葉身が発達しない。このような葉形態の進化はどのような方向に起こったのであろうか。葉裂片が退化する方向へと進化したのか、それとも葉裂片の数を増やすように進化したのであろうか。

筆者らはシダ類全体の系統関係を *rbcL* 遺伝子を用いて解析している過程で、サンショウモとデンジソウは姉妹群であり、同形胞子性シダ類の中に含まれるような分類群であることを発見した(図4-3)。この結果は、これまで

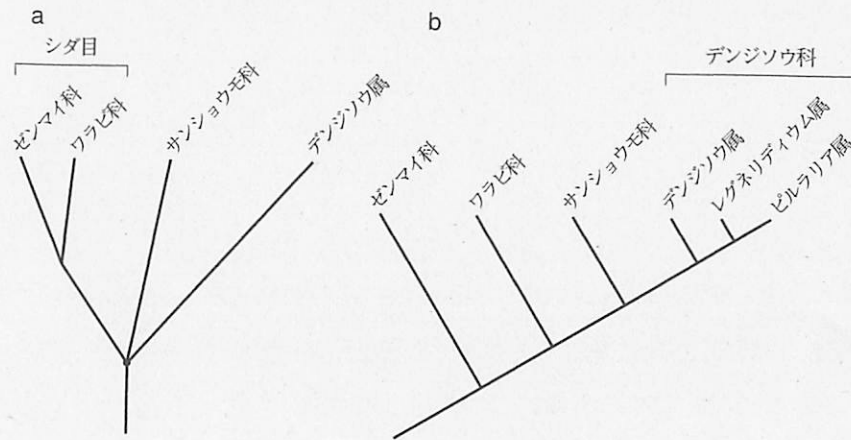


図4-3 デンジソウとサンショウモの分類体系での位置
 従来の表形学的方法では、シダ類はシダ目、サンショウモ目、デンジソウ目の3目に分類されていた(a)が、形態形質の分岐系統学的解析、*rbcL*の塩基配列情報からはサンショウモ目、デンジソウ目は姉妹群でシダ目の中に含まれることがわかった(b)

の研究結果とはずいぶん食い違っていたので、われわれは何度も塩基配列データを解析し直したが、結論は変わらず、統計的にも高い確率で支持された。1993年に横浜で開かれた国際植物学会議の会場で、この結果を発表したが、偶然、同じ会議中に米国のロスウェル ROTHWELL が、デンジソウ属とサンショウモ属の中間的な形態をもった化石を発見し、現生シダ類と共に分岐系統学的に解析した結果を発表した。*rbcL*の塩基配列データからの結果と形態・古生物学からの結果は完全に一致していた。分子系統学的データと形態などの表現型レベルのデータとは互いに異質のデータであるから、それらからの結果が一致したということは、求められた系統関係がかなり信頼できることを示している。分子データを用いて系統推定する場合には、1) 求めた分子系統樹が統計的に支持されるか、2) これまで得られている系統関係と一致するか、という二つの基準で考察することが必要である。いろいろ議論はあるが、これまでの研究ではどのようなデータが系統推定に最も適しているかということとはわかっていない。上記の例は両方の基準が満たされた例であるが、そうでない場合の例を以下に示そう。

4-2-2 分子系統樹が従来の研究と一致しない例

東南アジアへ旅行しスープを食べると、不思議な赤い木の実が入っていることがある。柔らかい豆(=被子植物)のような味のする果肉の中に、大きな種子が入っている。この種皮を割って中味を食べると銀杏(=裸子植物)のような味がする。これがグネツム *Gnetum gnemon* で、裸子植物の1種である。

被子植物と裸子植物は、共に種子を作る点でシダ類とは異なっている。珠心と呼ばれる器官内で減数分裂が起こり、卵細胞が形成される。被子植物の珠心は通常2枚の珠皮、心皮で覆われているが、裸子植物の珠心は1枚の珠皮で覆われているだけで、心皮をもたない。つまり、裸子植物の胚珠(珠心と珠皮などを合わせたもの)は被子植物のように雌ずいの中に包まれず、外界にむき出しになっている(図4-4)。また、被子植物の雌ずいは花被(花卉

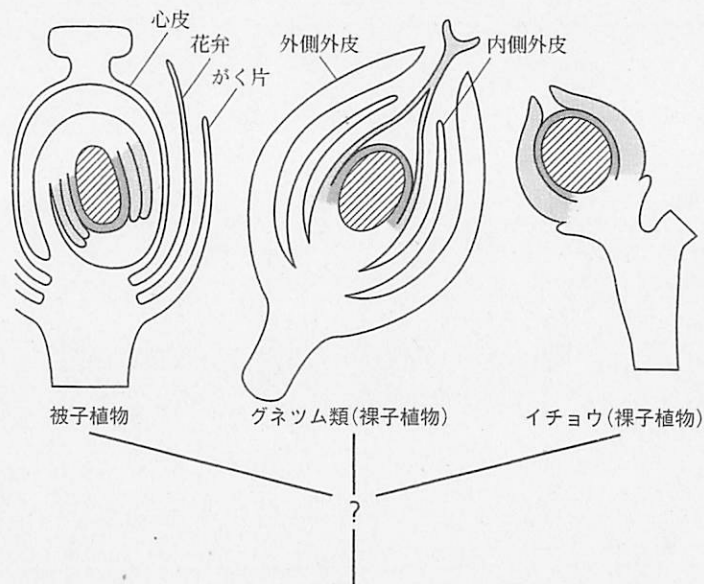


図4-4 被子植物，グネツム類（裸子植物），イチョウ *Ginkgo biloba*（裸子植物）の雌花の模式図。斜線部分は胚嚢，濃い網掛けの部分は珠心，薄い網掛けの部分は珠皮を示す。被子植物の胚珠は心皮，花卉，がく片に覆われ，グネツム類の胚珠は内側外皮，外側外皮に覆われ，イチョウの胚珠はむき出しになっている



図4-5 グネツム属の1種 (*Gnetum parvifolium*)

やがく片)で覆われているが、裸子植物にはそのような器官がないのが普通である。グネツム類は心皮をもたないので、裸子植物である。しかしながら花被様の器官をもつ点、網状脈の葉をもつ点など、外観は裸子植物よりも被子植物に似ている(図4-5)。また、被子植物の受精は重複受精と呼ばれ、花粉由来の二つの雄核が胚珠内の卵細胞と極核と受精し、それぞれ胚と胚乳を形成する。裸子植物では花粉由来の雄核が胚珠内の卵細胞とだけ受精する。

近年、グネツム類で重複受精に似た現象が観察された。したがって、グネツム類は現生裸子植物の中では、被子植物に最も近い分類群ではないかと考えられ(図4-6 a)、被子植物の起源を考えるうえで大きな影響を与えてきた。ところが、われわれが、*rbcL*の塩基配列を現生の全ての目の裸子植物で決定したところ、グネツム類は被子植物よりも裸子植物に近い(裸子植物と単系統になる)確率が最も高いという結論がでた(図4-6 b)。いったい、形態、

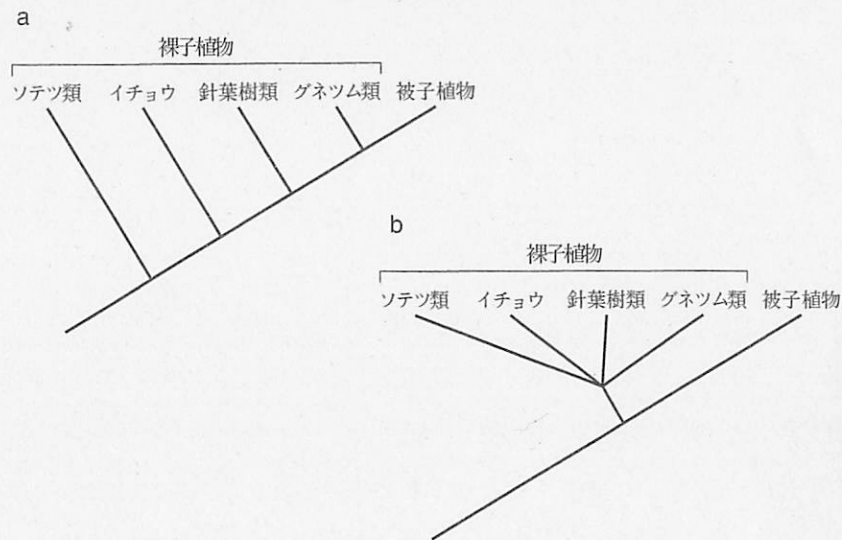


図4-6 グネツム類の最近の分類体系
ロコントとスティーブソン (LOCONTE & STEVENSON, 1990) が分岐形態学的方法から推定した裸子植物と被子植物の系統関係 (a)と、*rbcL*の塩基配列から推定された系統関係 (b)、グネツム類の位置に注目

分子どちらのデータが正しいのであろうか。双方のデータについて検証してみよう。

(1) 形態情報の検討

グネツム類と被子植物が共通にもっている形態形質は本当に共通の祖先から遺伝してきたものなのだろうか。他人の空似（収斂または平行進化）という可能性はないのだろうか。形質の相同性の問題である。以前にグネツム類が被子植物に近縁である根拠の一つとして、グネツム類、被子植物ともに通道組織として道管をもつことが指摘されたことがあった。裸子植物は一般に道管をもたず、より原始的な仮道管をもっている。しかし、グネツム類の道管の形成過程は被子植物のものとは異なっており、今では被子植物とグネツム類の両方で平行進化した形質であろうと考えられている。それではグネツム類にみられる被子植物に類似した他の形質は真に相同なのであろうか。重

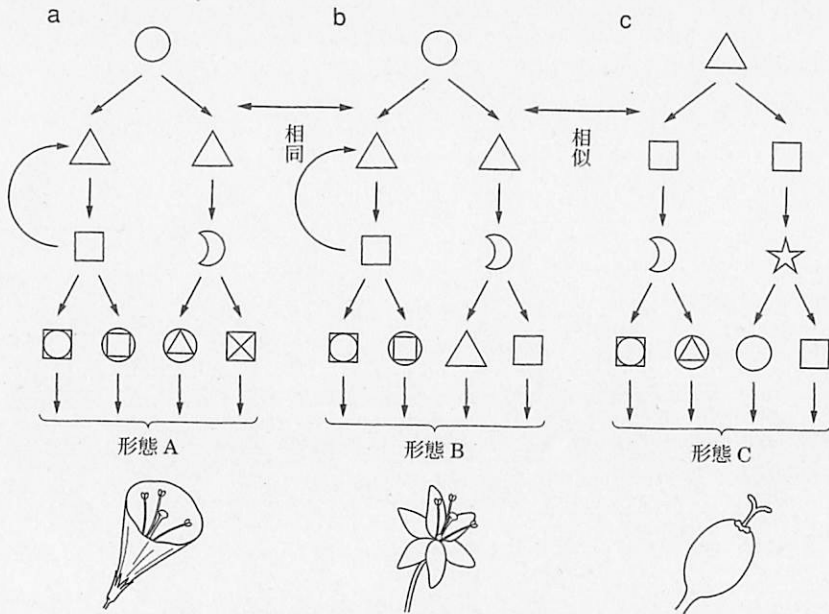


図 4-7 遺伝子発現と形態形成の推定模式図
 図中の記号は遺伝子産物、矢印はその相互作用を示す

複受精の様式にしても、両者ではかなり異なっており、両者が相同であるかどうか判断するには慎重であるべきであろう。

われわれが通常観察している形態形質は、遺伝子発現の複雑な階層の結果作りだされたものである(図 4-7)。したがって、どのように形態が形成されるのかを遺伝子のレベルから解析できれば、形態形質の相同性の問題を解決できるのではないかというアイデアは以前から提唱されていた。近年、分子発生生物学の発達により、この方法に現実性がでてきた。ショウジョウバエの体の一部の形態が他の部分と置き換わってしまうホメオティック突然変異の解析から、転写調節をしている一群の遺伝子が単離、解析されている。哺乳類、鳥類、魚類、節足動物、環形動物、線形動物などで、これらの遺伝子群の調節機構が比較、解析されつつある(5章にて詳述される)(総説として KENYON, 1994; DUBOULE, 1994)。植物でも、同様の解析方法で、花形態や茎葉分化に関する遺伝子の解析が進行中である(WEIGEL & MEYEROWITZ, 1994)。今後、グネツム類の花被様器官が被子植物の花被と同じ遺伝子制御系のもとで形成されているのか、あるいは、結果としてできた形態は似ているが作られ方は異なっているのか、がはっきりすればより進んだ議論が期待できる。

(2) 分子情報の検討

分子データについてもいくつか問題がある。第1に、統計的精度の問題である。塩基の年あたり座位あたりの置換速度(進化速度)は遺伝子やゲノムによって異なっていることが知られている。進化速度の速い遺伝子は近縁分類群間の系統関係を推定するには適しているが、遠縁の分類群間では同じ塩基が何回も変異を起こしてしまい(多重置換)、系統推定の誤差となる可能性がある。rbcL は比較的進化速度の遅い分子であるのでこのような問題は少ないと思われる。しかし、逆に変異が少ないため、rbcL は約 1400 塩基対の遺伝子であるが、系統推定に役立つような変異は裸子植物と被子植物のあいだではせいぜい 30 程度になってしまう。したがって、情報量が明らかに不足している。このような理由からか、rbcL の解析結果は裸子植物の単系統性

を最も高い確率で支持するが、形態データからの系統関係(図 4-6)を棄却することはできない。この問題を解決するためにはさらに多くの塩基配列情報が必要である。短い塩基配列から得られた結果が統計的に支持された場合でも、必ずしも真の系統関係を推定していない場合があるので (CAO *et al.*, 1994)、異なる遺伝子から得られた系統樹が異なる場合などは、より多くの情報を得ることが好ましい。

第 2 に、遺伝子系統樹と種系統樹の問題である。一般に遺伝子系統樹と種系統樹が一致する確率 P は $P = 1 - (2/3) \exp(-t_2/N)$ (ただし、 t_2 は比較している 3 種の系統樹を描いた時の最初の分岐点から次の分岐点までの時間、 N は祖先集団の大きさ) で表わされる (高畑, 1986 a)。化石データが正しいと仮定すると、この場合には t_2 は約 1 億年となり、遺伝子系統樹と種系統樹が食い違う可能性は低い。

第 3 は、グネツム類の葉緑体 DNA が異種間浸透 (高畑, 1986 b) によりグネツム類が分化した後、裸子植物からもたらされた可能性である。この問題を解決するにはオルガネラゲノム以外、すなわち、核の遺伝子の情報を得る必要がある。

第 4 に解析方法の問題である。詳細は 3 章にて述べられているが、分子データの解析には大きく分けて、1) 距離行列を用いる表形学的方法、2) 分岐系統学的方法と関係のある最大節約法、3) 最尤法の三つの方法があるが、まだ、どの方法がどのような場合に最も適切かという問題は未解決であり、今後の研究結果を待たねばならない。3 種の方法で系統関係を推定してみても一致しない場合には、特定の方法が明らかに劣っていることがはっきりしない場合を除いては、結果の解釈に注意が必要である。

第 5 に RNA 編集の可能性である。いくつかの遺伝子で、メッセンジャー RNA (mRNA) が編集されて、DNA の塩基配列から予想されるのとは異なったアミノ酸が翻訳されることが報告されている。このような場合、どのように系統関係を推定していったらよいかは今後の課題である。

以上の考察から判断して、グネツム類の系統関係については今後の研究結

果を待たなければならないことがわかる。従来の研究結果と分子データからの結果が異なった場合には、上で議論したような、何らかの原因があるはずである。

分子系統学はこの 10 年間に系統分類学に新たな活気をもたらすと共に、新しい手法の常として、その有効性について多くの議論がなされてきた (PATTERSON, 1987)。そして、今日では系統分類学者が使うべき当然の手法の一つとして定着し、有力な情報源となってきた。しかし、その適用法については、まだ研究が十分に行われていない分野もあり、注意が必要である。従来の見解と異なった結果が得られた場合などは、細心の注意を払って従来のデータと分子データの両方を再検討する必要がある。

参考文献

- CAO, Y., *et al.* (1994) 3 章文献 1994b 参照
 DOEBLEY, J. (1993) *Curr. Opin. Genet. Dev.* 3: 865-872
 DUBOULE, D. (1994) *Science* 266: 575-576
 長谷川政美 (1989) 3 章文献 参照
 堀 寛, 大沢省三 (1984) “分子進化学入門” 木村資生 編, 培風館, p. 127-163
 KENYON, C. (1994) *Cell* 78: 175-180
 木村資生 (1988) “生物進化を考える” 岩波書店
 LI, W.-H. (1993) *Curr. Opin. Genet. Dev.* 3: 896-901
 MEYEROWITZ, E. M. (1994a) *Curr. Opin. Genet. Dev.* 4: 602-608
 MEYEROWITZ, E. M. (1994b) *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 91: 5735-5737
 根井正利 (1990) 3 章文献 参照
 PATTERSON, C. ed. (1987) “Molecules and Morphology in Evolution” Cambridge Univ. Press
 高畑尚之 (1986a) “続 分子進化学入門” 今堀宏三, 木村資生, 和田敬四郎 共編, 培風館, p. 111-134
 高畑尚之 (1986b) *生物の科学 遺伝* 40(1): 51-58
 WEIGEL, D., MEYEROWITZ, E. M. (1994) *Cell* 78: 203-209