

オプシンファミリーの分子系統解析

徳嶋 賀彰 (筑波大学 生物学類)

指導教員：橋本 哲男 (筑波大学 生命環境系)

背景

視物質であるロドプシンは補欠分子族であるレチナールとアポタンパク質より構成される。ロドプシンは光を受容する事によりカスケード反応の引き金となり、G タンパク質を介してシグナルを下流へ伝える。このような働きをするタンパク質はロドプシンの他にも多く知られており、それらはオプシンファミリーとして概括される。オプシンファミリーはさらに G タンパク質共役受容体 (GPCRs) に包含される。オプシンにより活性化される G タンパク質の種類によりオプシンファミリーはいくつかのサブタイプに類別される。サブタイプはさらに発現部位等により類別される。下位分類間の分子系統学的関係は、色覚を有する脊椎動物や節足動物のオプシンに注目したものは数多く研究されているが、それ以外の動物群のデータを用いた研究はあまりなされていない。オプシンは真正後生動物の共通祖先で獲得されたと考えられており、真正後生動物の中で最も古くに分岐した動物は刺胞動物であると目されている。近年、刺胞動物のオプシンを用いた分子系統解析がなされているが、刺胞オプシンは単系統群を構成するという仮説と多系統群を構成するという仮説の両方が提唱されており、いずれの系統樹も統計学的に高い支持を得ていない。また、いずれにおいても、刺胞オプシンを網羅的に使用したわけではなく、使用された刺胞オプシンの配列数も少ない。この問題を解決するべく、本研究では刺胞オプシンを網羅的に用いた大規模分子系統解析を行った。

方法

オプシン配列を問い合わせ配列とした Basic Logical Alignment Search Tool (BLAST) による検索とキーワード検索を配列データベースである Genbank に対して行い、様々な後生動物種がもつ 308 の様々なオプシン配列を収集した。特に刺胞オプシンについては、全ゲノムが解読されている 2 種のゲノムデータベースに対する検索も行い、*Nematostella vectensis* (イソギンチャク) については 32、*Hydra magnipapillata* (ヒドドラ) については 5 のオプシン配列を得た。GPCRs に属しオプシンファミリーに属さない 38 配列を外群として用い、全 340 配列からなるアラインメントを作製した。アラインメントで不揃いな座位を視察により検出・除去し 184 座位を選択して分子系統解析のデータセットとした。これをもとに RAxML プログラムを用いて最尤法により分子系統樹を推定した。進化速度の不均質性を考慮に入れた解析を行うため、 Γ モデルを導入し、アミノ酸置換モデルとして LG モデルを仮定した。アミノ酸組成の定常分布は用いたデータセットより推定した。10 個の初期系統樹を作製し、それぞれを出発点として尤度のより高い樹形を探索し、得られた 10 個の最適系統樹の中から尤度最大のものを最尤系統樹として選択した。この系統樹の信頼性を評価するべく、100 個のリサンプリングデータに基づくブートストラップ解析を行い、各内部枝に対するブートストラップ値を算出した。

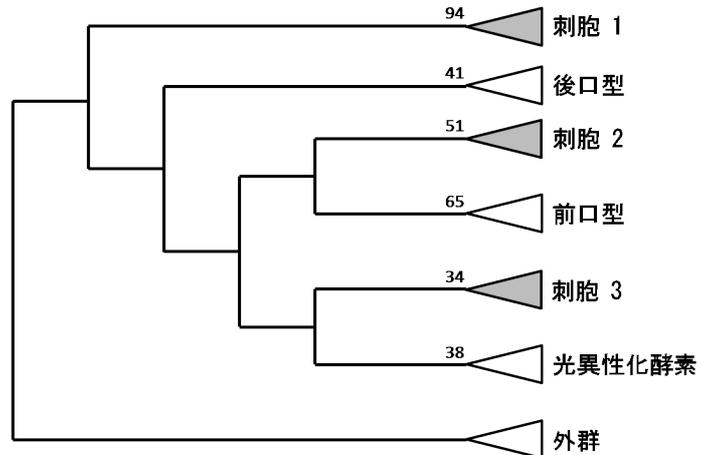


図 1: オプシンの最尤系統樹の概形。数値は Bp 値を表す。刺胞動物のオプシン (刺胞オプシン) は 3 つの部分系統樹に分割された (刺胞 1, 2, 3)。後口動物型オプシン (後口型)、前口動物型オプシン (前口型)、光異性化酵素は単系統群を構成し、後二者はそれぞれ刺胞オプシンと姉妹群を構成した。

結果

推定した最尤系統樹の概形を図 1 に示した。刺胞オプシンは 3 つの部分系統樹に分割され、多系統群を構成した。Bp 値 94 で支持されたクレード (刺胞 1) はオプシン系統樹の根もとより最初に分岐した。Bp 値 51 のクレード (刺胞 2) は前口動物型オプシンと姉妹群を構成し、Bp 値 34 のクレード (刺胞 3) は光異性化酵素と姉妹群を構成した。しかしながら、これら各刺胞オプシンの位置付けについては系統樹の深い分岐に対する Bp 値が低いために確実なものとはいえなかった。

考察

刺胞オプシンの多系統性が真実であれば、多様なオプシンを生じさせた遺伝子重複の一部が刺胞動物の分岐以前に既に起きていたという可能性が考えられる。多系統性をさらに詳細に検証するために、現在、類似度の高い配列を取り除き配列数を少なくしたデータセットを用い、統計検定により分岐パターンの信頼度を評価している。