



令和 5 年 3 月 1 日
琉 球 大 学

魚類の生態・進化・環境 DNA 研究を加速するデータプラットフォーム ——「MitoFish Suite」の機能強化——

SDGs シンボル = 9、14、15



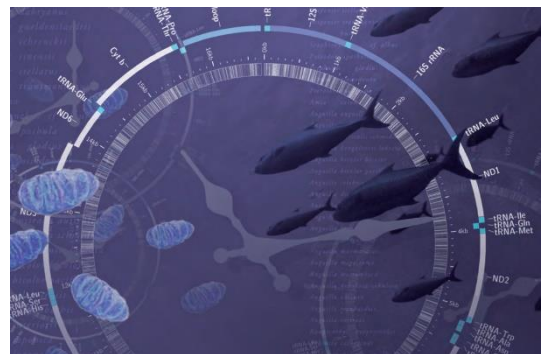
琉球大学の佐藤行人講師、東京大学の岩崎渉教授らの研究チームによる成果が、米国の学術雑誌「Molecular Biology and Evolution」誌に掲載されます。

<発表のポイント>

◆魚類のミトコンドリア DNA データプラットフォーム「MitoFish Suite」は、約 3,500 魚種のミトコンドリアゲノムデータ、約 10,000 種の環境 DNA データを有しており、魚種の遺伝的多様性の推定や環境 DNA を解析するための情報源として活用されている

◆今回、これまでよりも高速で正確な解析機能、強化された分析機能や改善されたインターフェースを実装し、機能強化を行った

◆魚類の分布調査や資源保全、希少種・新種の発見や保護など、生物資源の持続的発展に関連する幅広い研究分野で活用されると期待される



魚類ミトコンドリア DNA データプラットフォーム
「MitoFish Suite」コンセプト図

内容等：別紙参照ください



(別紙)

<発表概要>

琉球大学 医学部附属実験実習機器センターの佐藤行人講師と、東京大学 大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻／大気海洋研究所附属地球表層圏変動研究センターの岩崎渉教授を中心とする共同研究チームは、10 年以上開発を継続している魚類のミトコンドリア DNA データに特化したデータプラットフォーム「MitoFish Suite」の大幅な機能強化を行いました。

魚類は世界に 34,000 種以上生息するとされ、ヒトを含む全脊椎動物の約半数を占めます。赤道域から両極域、川から深海まで、地球上のあらゆる水圏に進出した生物群であり、その中には、水産資源として人間の生活と密接に関連する種や、人間活動の影響で絶滅の危機にある希少種・地域固有種が多く存在します。このことから、魚類の遺伝的多様性を分析・評価することや、環境 DNA (注 1) に基づいて魚類相を網羅的に分析することは、基礎科学的にも社会的にも重要です。魚類の遺伝的多様性を分析する情報源としては、従来からミトコンドリアゲノム (注 2) が多用されており、現在まで多くのデータや知見が蓄積されてきました。

本共同研究チームは、MitoFish Suite を開発・構築し、10 年以上にわたって機能強化を行いながら、世界のデファクトスタンダードの地位を築いてきました。本論文では、最新のアップデートおよび機能強化の成果を報告しています。現在、ミトコンドリアゲノムデータベース MitoFish は魚類約 3,500 種のミトコンドリアゲノム情報を、魚類環境 DNA 解析パイプライン MiFish Pipeline は魚類約 10,000 種の MiFish Primer (注 3) 領域の配列データを含みます。さらに、ミトコンドリアゲノム解析機能や環境 DNA データ解析機能を高速化し、デノイジング機能 (注 4) などによる高精度な解析機能を実装したほか、サンプル間の比較分析機能や、インターフェースの改善なども行いました。特に MiFish Pipeline については、デノイジングを行う解析プログラムを新たに追加することで、解析結果の感度を増強することに成功しました。これにより、MiFish Pipeline が提供しているサンプルデータから、新たに 2 種の魚類を検出することに成功し、うち 1 種は絶滅危惧Ⅱ類に指定される希少種でした。

今後、MitoFish Suite は、ミトコンドリアゲノム情報に立脚した魚類の生態や遺伝的多様性に関する研究を、生命情報科学の側面から今後もさらに強力に推進することが期待されます。生物学がビッグデータ時代を迎えるなか、計算機の使用に親しみのない研究者や潜在的ユーザーにとっては、データ解析のハードルが高くなりつつあります。MitoFish Suite は、コマンド入力操作を必要としないウェブツールとしてデータ解析やデータベース検索を可能にすることから、生物学や水産学のみならず、環境生態学や水理工学など様々な分野における魚類ミトコンドリアゲノムデータや環境 DNA 解析の活用をサポートし、さらに促進すると期待されます。

この研究成果は、2023 年 2 月 28 日付で、学術雑誌『Molecular Biology and Evolution』に掲載されました。



<発表内容>

研究の背景

魚類（主として真骨類）は、ヒトを含む脊椎動物の中で最も種数が多い分類群であり、全世界で約 34,000 種以上が生息すると推定されています。その生息域は、海洋から陸上の河川・湖沼、赤道域から南極・北極域、潮だまりやサンゴ礁などの浅海から海溝深部の超深海にまで及び、地球上のあらゆる水圏に進出した生物群であると言えます。

魚類には、マグロやウナギなど、水産資源として人間の持続的発展と密接に関連する種や、タナゴ類やドジョウ類など、人間活動の影響で絶滅の危機に瀕する希少種や地域固有種が多く存在します。このことから、魚類の遺伝的多様性を分析・評価することや、環境 DNA に基づいて魚類相を網羅的に分析することは、基礎科学的にも社会的にも重要です。魚類の遺伝的多様性を分析するための情報源としては、細胞内のコピー数が多いために比較的容易に分析できるミトコンドリアゲノムデータが多用されてきました。

研究の内容

東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻の朱涛（シュ トウ）特任研究員と岩崎渉教授（同大気海洋研究所附属地球表層圏変動研究センター教授兼務）、琉球大学医学部の佐藤行人講師、千葉県立博物館の佐土哲也研究員、宮正樹主任上席研究員は、魚類のミトコンドリアゲノムデータに特化したデータプラットフォーム MitoFish Suite を開発・構築し、10 年以上にわたって機能強化を行いながら、世界のデファクトスタンダードの地位を築いてきました。MitoFish Suite の前身にあたる MitoFish データベースは、旧東京大学海洋研究所における科学研究費補助金の研究プロジェクトとして 2007 年頃から作成がスタートしており、当時から数えると 15 年以上の歴史を持ちます。

岩崎教授らによる 2013 年の論文公表以降、全世界からのアクセス数は増加を続けています。2018 年に琉球大学の佐藤講師らによって 2 報目の論文が発表された際には、年間被閲覧数が 4 万回を超えるまでに成長しました。また、同論文の発表時には、MiFish Primer によって増幅された環境 DNA データの自動解析機能 MiFish Pipeline を世界に先駆けて提供し、さらに利用が加速しました。両論文の被引用回数は合計で 750 回を超えており

（Google Scholar 調べ）、本研究分野で日本を代表する文献となっています。MitoFish は 2023 年 2 月時点での収録数が全長配列で合計 3,562 件、部分配列で合計 42,398 件にのびります。今回、これまで問題となっていた魚類の慣用名（common name）および異名（synonym）からのデータベース検索も行えるように改良し、利便性を高めました。また、魚類環境 DNA 解析パイプライン MiFish Pipeline についても、魚類約 10,000 種の MiFish Primer 領域の配列データを含むように強化しました。ミトコンドリアゲノム解析機

能や環境 DNA データ解析機能はより高速化され、高精度な解析機能が実装されました。さらに、サンプル間の比較分析機能や、インターフェースの改善なども行いました。

特に MiFish Pipeline (図 1) については、デノイジングを行う解析プログラムを新たに追加することで、解析結果の感度を増強することに成功しました (図 2)。従来の MiFish Pipeline では、ある閾値よりも検出度数が低い配列を一律で除去していましたが、今回の改良によって、そのような検出度数の低い配列についても解析可能となりました。これにより、MiFish Pipeline が提供しているサンプルデータ (沖縄県浦添市・宇地泊川の河川水サンプル) から、新たに 2 種の魚類、*Caranx tille* ミナギンガメアジ (配列頻度 12/6714 = 0.18%) と *Luciogobius ryukyuensis* ミナミヒメミズハゼ (配列頻度 17/6714 = 0.25%) を検出することができました。後者は琉球諸島固有のミミズハゼ属魚類であり、環境省レッドリストで絶滅危惧Ⅱ類に指定されています。今回の結果は、改良版 MiFish Pipeline を使った環境 DNA 解析が、希少種の探索や同定に役立つことを示唆しています。

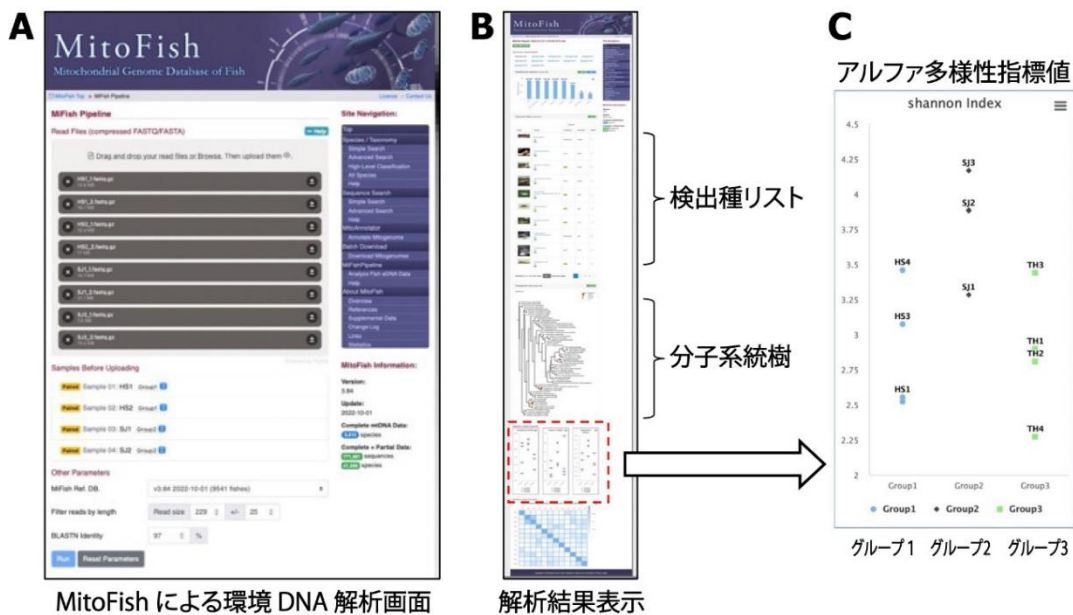


図 1. MitoFish を用いた環境 DNA データの自動解析。

(A) MitoFish が提供する環境 DNA 自動解析プログラム MiFish Pipeline の実行ページ。高速 DNA シークエンサーの出力ファイル fastq.zip をドラッグ & ドロップでデータ転送し、オンライン解析を実行することができる。(B) 環境 DNA データ解析の結果表示画面。縦スクロール表示の画面に、検出された種と配列数、魚類種の写真、解析された配列の分子系統樹、入力サンプルのアルファ多様性指標値(注 5)などを出力し表示する。(C) 推定されたアルファ多様性指標値(Shannon 指数 H') の分布プロット図。複数のサンプルをまとめたグループごとに色分けしたプロットを出力し表示する

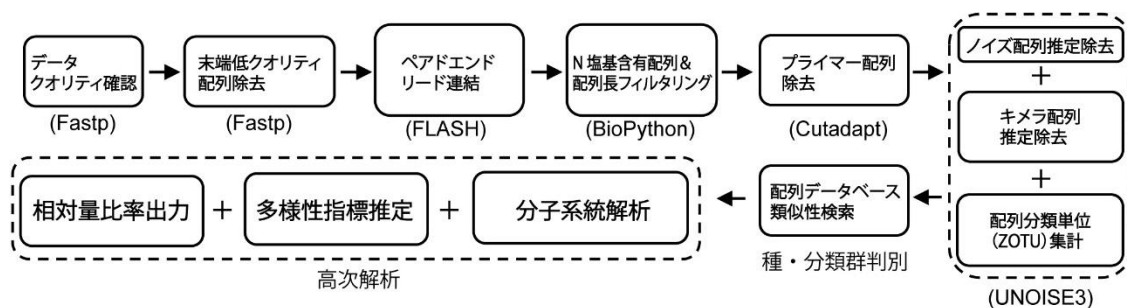


図 2. 環境 DNA データの自動解析プログラム MiFish Pipeline の概要。

ユーザーが入力し転送したデータについて、データ全体のクオリティ確認から、低クオリティ配列末端の除去、ペアドエンド・リードの連結、プライマー配列の除去などのデータ前処理を自動で行う。続いて、ノイズ配列やキメラ配列の推定除去、配列の集計と MitoFish データベースへの配列照合解析を行うことで、配列が由来する生物種を推定し、結果を出力する。分子系統解析、アルファ多様性指標値、相対配列比率などの高次解析の結果も出力する

今後の展望

本研究によって構築、刷新された MitoFish Suite プラットフォームは、魚類ミトコンドリア DNA 情報に基づいた進化生態学的研究、環境 DNA 研究、それらに付随するデータベース探索やユーザーデータの解析、データベース登録などを、生命情報科学の側面から強力にサポートすることが期待されます。とくに、高速 DNA シークエンサーで産出される大量の塩基配列データは、その解析面において、計算機の使用に親しみのない研究者や潜在的ユーザーにとってハードルが高い場合があります。MitoFish Suite が提供するウェブツールが、生物学や水産学のみならず、環境生態学や水文学など、様々な分野の発展に今後も貢献するものと期待されます。

<用語解説>

(注 1) 環境 DNA： 海水、河川水、土壌などの環境媒質が含有しており、周辺に生息する生物に由来する DNA の総称。主な由来は、生物の皮膚片や羽毛、粘液などの細胞片や、排泄物などであると考えられている。

(注 2) ミトコンドリアゲノム： 真核生物の細胞小器官ミトコンドリア内に存在するゲノムのこと。ミトコンドリアゲノムは、細胞あたりの分子数が細胞核ゲノムと比較して多いことと、半数体（ハプロイド）であることから、塩基配列決定などの DNA 実験を比較的容易に行うことが出来る。このため、野生生物の種判別や集団遺伝解析などを行うマーカー遺伝子として多用される。

(注 3) MiFish Primer： 多様な魚類のミトコンドリアゲノムの DNA 配列の一部を PCR に



PRESS RELEASE

よって読み取るために用いられる短い DNA 配列。DNA を「商品のバーコード」のように簡単に読み取ることで、読み取った DNA の塩基配列から魚の種類が分かる。MiFish Primer は MitoFish のデータを用いて開発され、性能の高さから世界的に使われている。

(注 4) デノイジング： 一般に DNA 配列を決定する際には、1/1,000 から 1/10,000 程度の確率で塩基の読み取りエラーが発生する。このために、実際の生物に由来する真正の配列とは微妙に異なった「ノイズ配列」が混入する。このようなノイズ配列と、環境サンプル中に含まれていたレアな生物種に由来する配列をうまく区別し、データ解析の感度を向上する技術をデノイジングと呼ぶ。

(注 5) アルファ多様性： あるサンプル、すなわち 1 つの環境において検出された生物種の多様性を、種の豊富さ (species richness) と均等度 (evenness) などに基づいて数学的に評価した要約統計量。確率論に基づいて推定される Simpson の多様度指数 D や、エントロピー係数として推定される Shannon 指数 H' など、複数の指標値が考案されており、目的や用途によって使い分けられる。

<謝辞>

本研究は、文部科学省海洋資源利用促進技術開発プログラム（課題番号：JPMXD1521474594）、科研費（課題番号：22H04925）、JST CREST（課題番号：JPMJCR19S2）の支援により実施されました。本記事の作成にあたり、琉球大学・総務課広報係、同大・研究推進機構研究企画室リサーチ・アドミニストレーターの助言と支援を受けました。

<論文情報>

タイトル： MitoFish, MitoAnnotator, and MiFish Pipeline: Updates in ten years
(和訳) MitoFish、MitoAnnotator、および MiFish Pipeline の刷新

雑誌名： Molecular Biology and Evolution

著 者： Tao Zhu, Yukuto Sato, Tetsuya Sado, Masaki Miya, Wataru Iwasaki
Tao Zhu（東京大学 大学院新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 特任研究員）、佐藤行人（琉球大学 医学部附属実験実習機器センター 講師）、佐土哲也（千葉県立中央博物館 研究員）、宮正樹（千葉県立中央博物館 主任上席研究員）、岩崎渉（東京大学 大学院新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 教授／東京大学 大気海洋研究所 附属地球表層圏変動研究センター 教授）

DOI 番号： 10.1093/molbev/msad035

URL： <https://doi.org/10.1093/molbev/msad035>