

植物防疫基礎講座：植物病原菌の分子系統樹—そのシステムと見方—(1)

# 分子系統学の基礎

三重大学生物資源学部植物感染学教室 <sup>たか</sup>高 <sup>まつ</sup>松 <sup>すすむ</sup>進

## はじめに

恩師の見果てぬ夢を受け継ごうと分子系統学を使ってうどんこ病菌の進化学研究を始めたころ、当時菌類分子系統学の分野で世界をリードしていたカリフォルニア大学の TAYLOR 博士の研究室を訪れる機会を得た。研究室に入って驚いたのは、ATGC ごとに異なる色を発色するカラーフォントを用いてコンピュータ上でいとも簡単に手作業で塩基配列のアラインメントを行い、MacClade や PAUP, Phylip などの異なるソフトウェアを組織的に駆使しながら、系統樹の作成とその評価を行っていることであった。帰国時にそのカラーフォントを譲ってもらい、その後 10 年以上にわたって愛用している。最近 MacClade やその他のソフトウェアでもカラーフォントが使えるようになったが、使い勝手の面ではそのときのカラーフォントを超えるものではなく、今でもそのフォントがないと安心してアラインメント作業を行うことができない。わずか 1 か月程度の滞在であったが、世界をリードする研究室の雰囲気を感じることができたことなども含め、筆者の現在の研究の出発点であったと思っている。

このシリーズの意図は分子系統学的手法を用いた植物病原菌などの種の同定、分類の解説にあると理解しているが、筆者自身はうどんこ病菌の系統学、進化学を専門にしており、種分類については必ずしも専門ではない。したがって、本稿では広い意味での分子系統学の基礎を述べ、種分類についてはそれぞれの専門家にお任せしたい。菌類の種レベルの分子系統解析では、リボソーム DNA (rDNA) のスペーサー領域 (ITS 領域) の塩基配列がよく用いられている。筆者らがうどんこ病菌でこれまでに行ってきた結果を見ると、形態的に明らかに異なる別種であっても全く同一の ITS の配列をもっていたり、形態的に区別することのできない同種であっても ITS の配列では異なっていたりすることがまれにある。常に複数の領域の塩基配列データを用いたり、分子データを過信せず形態やその他の表現形質を総合して判断す

ることが肝要であろう。

## I 分子系統学の利点と欠点

分子系統学のあけぼのは 1960 年代にさかのぼるが、盛んに行われるようになったのは PCR の技術が一般に普及し始めた 1990 年前後である。従来、系統学は外部形態などの表現形質を比較することで行われてきた。しかし、表現形質は環境の影響を受けやすく、収れんがしばしば起こったり、また複数の形質が相互に関連して変化することもあり、形質の違いが生物の系統関係を正確に表すかどうかは不明確である。さらに、系統解析に用いることのできる形質数は限られており、動植物でも 100 個の形質を取り上げることとはとても困難である。まして、菌類のように体制が単純な生物では 20 個程度の形質を取り上げることさえ困難な場合がある。それに対して、DNA レベルの情報は、一つ一つの塩基を一つの形質とすれば、1 遺伝子座だけの情報でも数百個の形質を扱うことが容易である。さらに、一つ一つの塩基の変化はおおまかに見て独立して起こり、相互に関連して変化することは少ないし、収れんが起こる確率も表現形質に比べてはるかに少ない。

うどんこ病菌では、どの形質が祖先的でどの形質が派生的であるかという過去 100 年間にわたって行われてきた論争が、最近 10 年ほどの間に行われた分子系統解析によってほぼ終息した。うどんこ病菌の代表的な属である *Erysiphe* 属菌は、その閉子のう殻が菌糸状で単純な形態の付属糸をもつという特徴で一つの属と見なされてきたが、一方で分生子形成様式が全く異なる菌が同じ *Erysiphe* 属にまとめられており、これをそれぞれ独立した属とすべきであると考えた分類学者もいた。分子系統解析によって、分生子形成様式の多型が実際に系統的な違いを示すことが明らかになり、それぞれの分生子形成様式ごとに異なる属に分割されるなど、系統関係に立脚した属レベルの分類の整理が行われた。このように、分子系統学は菌類の分類体系の再編に大きな役割を果たしつつある。

一方で、DNA 解析技術の普及や系統解析ソフトの爆発的な増加により、分子系統学の基礎も理解しないまま系統解析を行い、それがそのまま論文として公表されて

Basics of Molecular Phylogenetic Analysis. By Susumu

TAKAMATSU

(キーワード: DNA, アラインメント, 進化モデル, 系統樹)

しまう事態もしばしば見られるようになっている。塩基配列データを入力すると、自動的にアラインメントから系統樹作成までやってくれる初心者向けソフトウェアもいくつかある。分子系統学は系統解析手法から見ると数理統計学の一つであり、結果として出てくる系統樹がどの程度、真の系統関係を再現しているのかについて統計的な検討が必要である。そのような検討を行わず、出てきた系統樹のみをもって真の系統関係と見なすことは厳に慎むべきである。

例えば、カリフォルニア大学のグループは ITS 領域の塩基配列を用いてうどんこ病菌全体の系統解析を行い、菌糸状で単純な付属糸が祖先形質であると報告した。その後、筆者らのグループは ITS 領域よりも進化速度が遅い大サブユニット (LSU) rDNA および小サブユニット (SSU) rDNA の塩基配列を用いて同様の検討を行い、菌糸状で単純な付属糸はむしろ最も新しく出現した派生形質であることを明らかにし、現在では筆者らの主張が一般に受け入れられている。これは、カリフォルニア大学のグループがうどんこ病菌全体の系統解析を行うには早すぎる進化速度をもつ ITS 領域を解析に用いたこと、不適当な外群を用いたことが原因であった。このように、不適当な解析を行うと同じ分子系統解析でも全く正反対の結論に達することがあるので、十分な注意が必要である。

## II 遺伝子領域

菌類の系統解析では、従来、SSU rDNA, LSU rDNA 領域および ITS 領域などのリボソーム DNA が多く用いられてきた。これは、(1) rDNA が 1 ゲノム内に同じ配列をもつ百個から数百個のコピーとして存在し解析が容易であること、(2) 同じ rDNA でも領域によって進化速度が異なるので、用いる領域によって近縁な生物群から遠縁な生物群まで様々な生物群の系統解析に用いることが可能なこと、(3) すべての生物が共通にもっていることなどの理由による。例えば、ITS 領域は進化速度が速く、種間や近縁な属間の比較に用いることができる。SSU rDNA は進化速度が遅く、属間から動物、植物、菌類全体の比較に用いることができる。LSU rDNA も SSU rDNA と同様に進化速度が遅いが、比較的進化速度が早い可変領域があり、この可変領域は ITS 領域と SSU rDNA 領域の中間的な範囲の生物群の比較に用いることができる。また、rDNA の転写単位間のスペーサー領域である IGS 領域は ITS 領域よりもさらに進化速度が速く、種以下のレベルの系統解析に用いることができる。一方で、rDNA は生物間で GC 含量が大きく異なる

ことがあったり、塩基の変化が必ずしも独立して起こっていない場合があり、このような場合には正確な系統関係が得られないことがある。

タンパク質をコードする遺伝子では、3-O-acetyltransferase,  $\beta$ -1,3-glucanase,  $\beta$ -tubulin, calmodulin, chitin syntase, chitinase, cytochrome b, phosphate permase, putative reductase, translation elongation factor, UTP-ammonia ligase 等多くの遺伝子領域が用いられている。これらの遺伝子はアミノ酸をコードする 3 塩基対のコドンが並んでいるので、無作為に挿入欠失が起こりやすい rDNA に比べてアラインメントが容易であり、また一次情報である塩基配列とともにそこから翻訳されるアミノ酸配列も系統解析に用いることができる。イントロン領域や変異しやすいコドンの 3 番目の塩基を用いることにより、種間の比較など比較的近縁な生物群の系統解析も可能である。一方、複数コピーからなる遺伝子ではパラロガスな比較をしてしまう可能性があるがあるので、注意が必要である。

系統解析に適した DNA 領域の条件として次の 3 点があげられよう。(1) 環境等の条件によって変異にゆがみが生じない領域であること。(2) 比較したい生物群内で正確なアラインメントができる程度に保存されていること。(3) 比較したい生物群内で系統解析に十分な量の系統学的情報を有すること。

## III アラインメント

分子系統解析では、塩基配列やアミノ酸配列に基づいて解析を行う。これらの配列には進化の過程で置換、挿入、欠失が発生するので、配列間で置換、挿入、欠失が起こった部分の対応付けを行う必要がある。このような対応付けをする作業をアラインメントという。表現形質による系統解析ではアラインメントは容易だが、塩基配列の場合は ATGC という 4 種類のキャラクターしかないため、挿入、欠失が多く発生している生物群では対応付けが困難なことも多い。系統解析はアラインメントした配列データの縦の列 (サイト) を一つ一つの独立したキャラクターとし、各サイトで起こった置換数や置換の起こる確率を推定して系統樹の形で表現する。アラインメントが不適切だと、配列の違いを置換で説明することができなくなり、その後どのような緻密な系統解析を行ってもその結果は無意味である。したがって、正確なアラインメントを行うことは系統解析において極めて重要である。別の言葉でいえば、正確なアラインメントができないような分子データを系統解析に使うべきではない。

筆者の研究室では、初期のアラインメントのみを

Clustal X というソフトウェアで行い、その後新たに得られたデータをカラーフォントを用いて手作業で初期アラインメントに付け加えていくことにより、配列データを作成している。この作業は実際の塩基置換の様子を目で確認しながら行うことになるので、生物の分子進化の起こり方を実感することができ、また、その過程でシークエンスの間違いなども発見できるので、良い方法であると考えている。また、配列データの中で、アラインメントが不確実な部分はその後の系統解析から除外するようにし、確実にアラインメントできたサイトのみを解析に用いている。

rDNA のデータでは、下記の二つの URL サイトから二次構造に基づいてアラインメントされた配列データが入手可能である。その配列データを土台にして、新たに決定したデータをプロファイル・アラインメント (Clustal X に実装されている) を行うことにより、二次構造に基づいた配列データを得ることが可能である。

(1) ベルギー, University of Gent “The European Ribosomal RNA database” (<http://www.psb.ugent.be/rRNA/index.html>)

(2) アメリカ, Michigan State University “Ribosomal Databse Project II” (<http://rdp.cme.msu.edu>)

#### IV 遺伝的距離の算出

二つの生物間の遺伝的距離とは、その二つの生物が共通祖先から分岐したあとにそれぞれの系統で蓄積した突然変異の合計数である。最も単純にはアラインメントされた二つの塩基配列のサイトごとの塩基置換数で表される。しかし、共通祖先からの分岐後の時間が長くなるにつれて同じサイトに複数の塩基置換が起こったり (多重置換)、たまたま同じ塩基に変異することもあるので、見掛けの塩基置換数は実際に起こった塩基置換よりも常に過小評価になる。これを補正するのが分子進化モデルであり、現在では様々な分子進化モデルが提唱されている。例えば、最も単純な分子進化モデルは Jukes and Canter model で上記の多重置換を補正するモデルである。さらに、Kimura 2-parameter model では、多重置換のほかにトランジション\*とトランスバージョン\*\*の違いを考慮して塩基置換数を補正する。また、Kimura 2-parameter model に加えて塩基組成の偏りを考慮した

\* トランジション：ピリミジンが別のピリミジンへ、プリンが別のプリンへ変わる塩基対置換突然変異。

\*\* トランスバージョン：ピリミジンがプリンといれかわる塩基対置換突然変異。

モデルが Hasegawa, Kishino and Yano model である。塩基置換速度は遺伝子によって異なるが、一つの配列の中でもサイトによってもしばしば大幅に異なる。このような不均質性が大きいと多重置換を過小に評価してしまう。このような場合にガンマ分布を用いることにより、より正確な遺伝的距離の算出が可能になる。

より正確な分子系統解析を行うためには、自分の配列データに最適な分子進化モデルを選ぶことが大切である。最近の系統樹作成ソフトでは、多くの分子進化モデルをオプションとして選択することが可能になっている。これらのオプションの中から、どうやって最適な分子進化モデルを選ぶことができるのだろうか。このような悩みに答えるために作成されたソフトウェアとして、Modeltest がある。これは 56 種類の分子進化モデルをペアワイズで比較し、その結果を尤度比検定または赤池の情報量基準 (AIC) を用いて解析することにより、その配列データに最適な分子進化モデルを探索するためのソフトである。

当然のことながら、分子進化モデルが複雑になればなるほどデータへの当てはまり度は良くなる。しかし同時に、パラメータが増えることにより誤差が大きくなるので、複雑な分子進化モデルを用いることは必ずしも最適な系統樹を得ることにはつながらない。TAKAHASHI and NEI (2000) は、比較したい生物種の数に対してキャラクターの数が比較的小さく塩基配列の変異が大きいデータでは、複雑な分子進化モデルを用いるよりも、全く補正のない単純な分子進化モデルと近隣結合法を用いるほうが正しい系統樹が得られる場合があることを報告している。

#### V 系統樹の作成

系統樹の作成には様々な方法が提案されているが、おおまかに遺伝的距離に基づく方法 (距離行列法)、最大節約法、最尤法の三つに分けることができる。ここでは主要な方法のみを取り上げて解説する。

##### 1 距離行列法 (Distance method)

距離行列を使う方法の中で最も単純なのは、平均距離法 (UPGMA 法) である。この方法は、遺伝的距離の近いもの同士を順番に結び付けていく方法である。進化速度の一定性を仮定しているため、この方法で系統樹を作成するためには用いる配列データに進化速度の一定性が仮定できるかどうかの検定を行う必要がある。実際には進化速度の一定性が厳密に成り立つことは少ないため、正しい系統関係を再現する能力は劣っていることが知られている。一方、系統樹上に分岐年代を同時に表示でき

るので、分子時計を仮定できるデータでは有効に用いることができる。

近隣結合法 (NJ 法) は SAROU and NEI (1987) によって考案された方法で、進化速度の一定性を仮定していないので、生物によって進化速度に違いがあっても、比較的正しく系統関係を再現することができる方法としてよく用いられている。遺伝的距離を計算したすべての生物を使って図-1 左のような星形系統樹を仮定する。それらの生物を 1 対 1 で結合した図-1 右のような系統樹を作成し、その枝長の総和を求める。枝長の総和が最も短くなった対を近隣と呼ぶ。次にこの近隣を一つにまとめて同様な操作を繰り返し、すべての生物が近隣となった時点で終了する。

最小進化法 (ME 法) は可能なすべての系統樹に対して枝長の総和を求め、一番枝長の短くなった系統樹を最良の系統樹として選ぶ方法である。計算が複雑で時間がかかるので、通常は近隣結合系統樹を初期系統樹とし、発見的探索法により最小進化系統樹を探索する方法がとられる。

## 2 最大節約法 (Maximum parsimony method)

可能なすべての系統樹に対してその系統樹を説明するために必要な塩基置換数 (ステップ数) を計算し、ステップ数が最も少ない系統樹を最適な系統樹と考える。比較したい生物の数が多くなると計算に時間がかかるので、通常は簡便な方法で初期系統樹を作成し、発見的探索法によって最大節約系統樹を探索する方法がとられる。

## 3 最尤法 (Maximum likelihood method)

配列データからある系統樹が成立する確率を尤度という。可能なすべての系統樹に対して分子進化モデルを用いてその系統樹の尤度を計算し、尤度が最も高い系統樹を最適な系統樹と考える。計算量が多いので、通常は簡便な方法で初期系統樹を作成し、発見的探索法によって最尤系統樹を探索する方法がとられる。しかし、発見的探索法でも比較したい生物数がある程度多くなるとパン

コンでは計算が終わらない。このため、簡便法による最尤系統樹探索ソフトがいくつか開発されている。

## 4 ベイズ法 (Bayesian analysis)

分子進化モデルを用いて尤度を計算する点では最尤法と共通するが、事後確率に基づく新しい系統樹作成法である。ベイズ法の原理についての説明は筆者の能力を超えるので、詳しいことは文献を参照願いたい (丹後, 2000; HALL, 2004; FELSENSTEIN, 2004)。ソフトウェア MrBayes によって比較的簡便に系統樹を得ることができる。このソフトではマルコフ連鎖モンテカルロ法 (MCMC) を用いて初期系統樹の樹形をかく乱することで、より事後確率の高い系統樹を発見的に探索していくことにより解析時間の短縮を果たしている。MrBayes の条件設定は、以下のホームページを用いることにより簡便に行うことができる。

<http://darwin.zoology.gla.ac.uk/~rpage/mrbayes/>

## 5 系統樹作成法の優劣比較

系統樹作成法の優劣比較については多くの文献で取り上げられており、関心の高いことがわかる。一般的には、生物間の分子進化速度が極端に異なるような条件下では、最大節約法は間違った系統樹を導きやすいことが知られている。近隣結合法と最小進化法はこのような場合でも正しい系統樹を導く確率が高く、最尤法は最も正解率が高いといわれている。しかし、これらの結果は通常の系統解析ではほとんど遭遇しないような極端な条件を設定したシミュレーション実験によるものであり、これをそのままのみにすることはできない。むしろ、極端に分子進化速度が異なるようなデータを系統解析に用いるべきではない。通常は系統解析に用いられるようなデータでは、どの系統樹作成法を用いてもよく似た系統樹が得られることが多い。それぞれの系統樹作成法の長所、欠点を理解し、そのうえでそれぞれをうまく使っていくことが必要である。筆者の研究室では、常に 2 種類以上の異なる系統樹作成法によって系統樹を作成し、複数の系統樹で共通に指示された結果のみを正しい結果として考察するよう指導している。

最大節約法は多重置換を想定していないので、変異の大きい配列データでは間違った系統関係を導くことがあり、また枝長は常に過小推定となる。また、比較する生物数が多くなると同じステップ数をもつ系統樹が無数に得られ、計算が終息しなかったり、計算に長時間かかることがある。一方、トランジションとトランスバージョンに自由に重み付けをしたり、ギャップを 5 番目のキャラクターとして設定することにより系統樹推定に有効に利用できるなど、比較的自由的な条件設定が可能である。

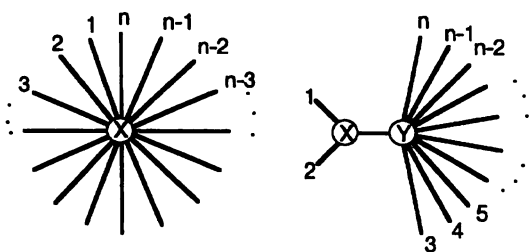


図-1 星形系統樹の例 (左) と生物 1 と 2 が近隣と仮定された無根系統樹 (右)

キャラクターベースの系統樹作成法なので、得られた系統樹とキャラクターの進化を直接関連付けながら考察することができる。比較する生物種が 100 以上になって計算が終息しない場合は、Parsimony ratchet 法により短時間で最節約系統樹を得ることも可能である。

近隣結合法は、生物数が多い場合でも短時間で系統樹を得ることができる。しかし、遺伝的距離を計算するための分子進化モデルはギャップを考慮していないので、ギャップが多く挿入されているような配列データではギャップの存在が系統樹全体の樹形に悪影響を及ぼすことがある。基本的には、近隣結合法ではギャップを含むサイトは解析から除外すべきである。しかし、rDNA のようにギャップが多く入るような配列データでは、ギャップを除去すると情報量が極端に少なくなることもあり、痛しかゆしである。変異が大きい配列データでは、通常近隣結合法よりも BioNJ 法 (PAUP ver. 4 に実装されている) のほうがより正しい系統樹が得られるといわれている。

最尤法はどのような条件下でも堅実な結果が得られるといわれているが、計算が複雑なため長時間かかり、生物数が多くなると実際には実行不可能なことが多い。このような場合は DDBJ のスーパーコンピュータ上で公開されている fastDNaml を利用することも一つの手である。筆者らの研究室では、簡便法による最尤系統樹探索ソフト TREEFINDER を用いて比較的良好的な結果を得ている。

ベイズ法は MrBayes を用いることにより、最尤法よりも短時間に系統樹を得ることができ、最近多くの論文で使われている。基本的には尤度ベースの方法なので、信頼性は最尤法に準じると思われるが、詳しいことはわからない。

## VI 系統樹の評価

得られた系統樹がどの程度信頼できるものかを検討することは、系統推定において極めて重要である。

### 1 一致指数 (consistency index : CI), 保持指数 (retention index : RI), 修正一致指数 (rescaled consistency index : RC)

一致指数、修正一致指数は最大節約系統樹と配列データとの当てはまり具合を示す指数で、最大値は 1。数字が高いほど当てはまり具合が良く、系統樹の信頼性が高いと判断される。最大節約系統樹を論文中に示すときはこれらの数字も示す必要がある。具体的には以下のような計算式で算出される。

$$CI = \frac{m}{s} \quad RI = \frac{g-s}{g-m} \quad RC = CI \times RI$$

m : 配列データ内で考えられる最小のステップ数

s : 実際に系統樹上で起こった総ステップ数

g : 系統樹上で考えられる最大の総ステップ数

### 2 ブートストラップ (Bootstrap)

系統樹の枝の支持率を検定する手法の一つ。配列データから縦の列 (サイト) を重複を許して無作為抽出し、元の配列データと同じ長さの疑似データを作る。この抽出を繰り返して得られた多数の疑似データ (通常 1,000 個程度) ごとに系統樹を作成し、そのうちある枝が出現する頻度を求める。この頻度をブートストラップ確率 (Bootstrap probability) といい、100% に近いほどその枝の信頼性が高いと判断できる。PAUP ではブートストラップ解析の結果として合意樹が出力されるが、それはあくまでも疑似データによる合意樹なので論文に用いてはならない。元のデータで作成した系統樹の枝に対してブートストラップ確率を当てはめていくべきである。生物数が多くなるにつれてブートストラップ解析に長時間を要するようになる。この場合、ブートストラップの回数を少なくするよりは、1 回のブートストラップにかかる時間を短くして回数をより多くとるほうがよい。

### 3 崩壊指数 (Decay index)

ブートストラップと同様、系統樹の枝の支持率を検定する手法の一つ。最大節約法で得られた系統樹の、ある枝を消滅させるのに必要なステップ数の増分で示す。その枝の支持率が高ければ高いほど、消滅させるのに必要なステップ数は多くなる。提唱者の名前をとって Bremer support と呼ばれる。PAUP と AutoDecay を用いて計算することができる。

### 4 樹形比較 (Topology test)

異なる系統樹間に統計的な違いがあるかどうかを検定する方法。分子データから得られた系統関係が従来の分類体系と異なる場合に、分子データから従来の分類体系を統計的に有意に棄却できるかどうかを検定する場合やその他いろいろな目的に使うことができる利用価値の高い検定法である。日本の研究者が行っている菌類の分子系統分類学ではまだ利用頻度が低いが、ぜひマスターしたい検定法である。最大節約法ベースでは、Wilcoxon の符号付き順位検定に基づく Templeton test があり、PAUP ver. 4 に実装されている。

対数尤度の差異に基づく検定法では、Kishino-Hasegawa (KH) test や Shimodaira-Hasegawa (SH) test があり、いずれも PAUP ver. 4 で実行可能である。KH test では、ある配列データから構築された系統樹に

対して、同じデータを用いて尤度の差を検定することは想定されていない。また、3種類以上の系統樹の比較を行う多重比較も想定されていないので、このような場合は正しい検定が行われない。この問題を受けて新たに開発された検定法がSH testであり、上記の場合でも使用することができる。一方、SH testはKH testよりも保守的 (conservative) で、一般的に仮説が棄却されにくい。最近、SH testを改変したWeighted Shimodaira-Hasegawa (WSH) testやApproximately Unbiased (AU) testが開発されている。

## VII 系統解析のためのソフトウェア

系統解析のためのソフトウェアは有料、無料を含め現在おびただしい数が配付されている。その大部分は下記のホームページ上に紹介されているので参照されたい。

<http://evolution.genetics.washington.edu/phylip/software.html>

筆者の研究室では主にマッキントッシュコンピュータを用いて系統解析を行っているので、用いているソフトウェアはマッキントッシュで使うことのできるものに限られている。以下に筆者の研究室で用いているソフトウェアを用途ごとに紹介する。

(1) 塩基配列などのアラインメント Clustal X

(2) アラインメントの手作業による手直し  
MacClade; Se-Al

(3) 系統樹の作成

最大節約法 PAUP; PAUPRat; Phylip

近隣結合法 PAUP; Phylip; Clustal X

最尤法 PAUP; Phylip; fastDNAm1;  
TREEFINDER; TREE-PUZZLE

ベイズ法 MrBayes

(4) 系統樹の描画 PAUP; MacClade; TreeView;  
njplot

(5) 系統樹の評価・検定

枝の信頼性の検定

ブートストラップ解析 PAUP; Phylip; Clustal X;  
TREEFINDER

Decay index (Bremer support, 崩壊指数)

PAUP; AutoDecay

系統樹の比較 (仮説の検定など)

Kishino-Hasegawa test PAUP; Phylip

Shimodaira-Hasegawa test PAUP

Templeton test

PAUP

データ間の不一致性の検定 (e.g. 宿主・寄生者間の共進化の有無; データの結合; 分子進化速度の一定性の検定)

Partition homogeneity test (PH test) PAUP

尤度比検定 PAUP

配列データにおける情報量の検定

g1 analysis PAUP

Relative Apparent Synapomorphy Analysis (long-branch attraction) の有無の検出, 外群の選定

RASA

(6) その他

ファイル形式の変換, キャラクターや OTU の編集, 仮説系統樹の作成, その他いろいろ MacClade

## 参考文献

本稿では、スペースの問題もあって分子系統解析に関する詳細な説明は省略した。詳細については以下の文献を参照願いたい。

- 1) FELSENSTEIN, J. (2004): *Inferring phylogenies*. Sinauer Associates, Sunderland, 664 pp.
- 2) 長谷川政美 (1991): *DNAに刻まれたヒトの歴史*, 岩波書店, 東京, 131 pp.
- 3) ———・岸野洋久 (1996): *分子系統学*, 岩波書店, 東京, 257 pp.
- 4) HALL, B. G. (2004): *Phylogenetic trees made easy*, 2nd ed., Sinauer Associates, Sunderland, 238 pp.
- 5) 今堀宏三他 (編) (1986): *統分子進化学入門*, 培風館, 東京, 257pp.
- 6) 木村資生 (編) (1984): *分子進化学入門*, 培風館, 東京, 296 pp.
- 7) ——— (向井輝美・日下部真一訳) (1987): *分子進化の中立説*, 紀伊國屋書店, 東京, 396 pp.
- 8) ——— (1988): *生物進化を考える*, 岩波新書, 東京, 290 pp.
- 9) LEWIN, R. (斎藤成也監訳) (1998): *DNAから見た生物進化*, 日経サイエンス社, 東京, 135 pp.
- 10) LI, W.H. and D. GRAUR (館野義男・山崎由紀子訳) (1994): *分子の進化*, 廣川書店, 東京, 253 pp.
- 11) 三中信宏 (1997): *生物系統学*, 東京大学出版会, 東京, 458 pp.
- 12) 宮田 隆 (1994): *分子進化学への招待*, 講談社, 東京, 286 pp.
- 13) ——— (編) (1998 a): *分子進化-解析の技法とその応用*, 共立出版, 東京, 196 pp.
- 14) ——— (1998b): *DNAから見た生物の爆発的進化*, 岩波書店, 東京, 198 pp.
- 15) NEI, M. (五條堀孝・斎藤成也訳) (1990): *分子進化遺伝学*, 培風館, 東京, 433 pp.
- 16) ——— and S. KUMAR (2000): *Molecular evolution and phylogenetics*, Oxford University Press, Oxford, 333 pp.
- 17) 日本生化学会 (編) (1993): *新生化学実験講座 第16巻 分子進化実験法*, 東京化学同人, 東京, 511 pp.
- 18) PAGE, R. D. M. and E. C. HOLMES (1998): *Molecular evolution - a phylogenetic approach*, Blackwell Science, Oxford, 346 pp.
- 19) 丹後俊郎 (2000): *統計モデル入門*, 朝倉書店, 東京, 246 pp.
- 20) WILEY, E. O. et al. (宮 正樹訳) (1992): *系統分類学入門-一分岐分類の基礎と応用*, 文一総合出版, 東京, 201 pp.