

SINE挿入を指標とした系統解析によって明らかとなったヒゲクジラ類の系統関係と過去の急速な放散

二階堂雅人***・佐々木剛***・牧野瞳*・後藤睦夫****・上田真久****・Pastene A. Luis ****・岡田典弘****

*東京工業大学大学院生命理工学研究科・**統計数理研究所予測制御研究系・***基礎生物学研究所細胞情報研究部門・****(財)日本鯨類研究所

Phylogenetic reconstruction of baleen whales and detection of their past extensive radiation event by the SINE insertion analysis

Masato Nikaido*, **, Takeshi Sasaki***, Hitomi Makino*, Mutsuo Goto****, Naohisa Kanda****, Luis A Pastene****, and Norihiro Okada*, ****#

*Graduate School of Bioscience and Biotechnology, Tokyo Institute of Technology, Yokohama, Japan; **The institute of Statistical Mathematics, Tokyo, Japan; ***Department of Cell Biology, National Institute for Basic Biology, Myodaiji, Okazaki, Japan; ****The Institute of Cetacean Research, Tokyo Japan (#To whom correspondence should be addressed nokada@bio.titech.ac.jp)

Abstract. Baleen whales (suborder Mysticeti) comprise eleven extant species that are classified into four families. Although several phylogenetic hypotheses about these taxa have been proposed, their phylogenetic relationships still remain confusing. SINE (short interspersed repetitive element) insertion data are now regarded as almost ideal shared derived characters at the molecular level, and we have applied this method to this problem. Here, we successfully reconstruct the phylogenetic relationships of these whales by characterizing 40 informative SINE loci. One of the intriguing conclusions is that balaenopterids and eschrichtiids radiated very rapidly during a very short evolutionary period. During this period, when newly inserted SINE loci retained ancestral polymorphisms, speciation occurred and these SINEs were sorted incompletely into each lineage, thus resulting in inconsistencies regarding the presence or absence of the SINE. This is in sharp contrast to the phylogeny of toothed whales, for which no SINE inconsistencies have been found. Furthermore, we found monophyletic groupings between humpback and fin whales, and also between (sei + Bryde's) and blue whales, both of which have not previously been recognized. The comprehensive SINE insertion data, together with the mitochondrial DNA phylogeny that was recently completed, provide a nearly complete picture of the evolutionary history of baleen whales.

Key words: Baleen whale, ancestral polymorphisms, radiation, phylogenetic tree, SINE method

はじめに

鯨目 (Cetacea) は伝統的に歯鯨亜目 (Odontoceti) およびヒゲ鯨亜目 (Mysticeti) という2つの亜目に分類されており, 現生種のみで80種以上を包含するグループである (Sasaki *et al.*, 2005, in press; Rice, 1998). 鯨類の形態は完全な水中生活に適応するために, 後肢の退化や体毛の喪失など, さまざまな面で高度な特殊化を遂げた. また歯鯨類にみられるエコロケーション能力やそれに伴う形質の獲得, ヒゲ鯨類における髭板の存在なども顕著な適応の例と言えよう. その鯨類の起源や系統は過去長い間, 進化生物学者の間で興味の対象となってきたが, その高度に特殊化した形態のため鯨類における進化の歴史を再構築するのは極めて困難であった. しかし, 近年における分子生物学的手法の進歩により, この問題にも解明への糸口が見えはじめてきた. 現在, 鯨類にもっとも近縁な現生動物はカバであることが知られている (Shimamura *et al.*, 1997; Gatesy, 1998; Nikaido

et al., 1999). また, 過去に様々な議論がなされてきた歯鯨類の単系統性 (Milinkovitch, *et al.*, 1993; Adachi and Hasegawa, 1995; Milinkovitch, 1995; Messenger and Mcguire, 1998) やカワイルカ類の多系統性 (Nikaido *et al.*, 2001a; Arnason and Gullberg, 1996; Cassens *et al.*, 2000; Hamilton *et al.*, 2001) に関する問題も鯨類の系統分類における歴史の中で重要な位置を占めている.

分子系統学分野において, 歯鯨類の系統関係や鯨類の起源に関しては, ここ10年間でかなり詳細に研究されてきたが, ヒゲ鯨類の内部系統に関してはまだ十分には研究されてきていない. Arnason *et al.* (1993) 及び Arnason and Gullberg (1994) はいくつかのヒゲ鯨種におけるミトコンドリア DNA の調節領域および Cyt b 領域をそれぞれ決定, 解析し以下の点で一致する結論を導き出した. まずセミクジラ科 (Balaenidae: ホッキョククジラとセミクジラ) は単系統であり, ヒゲ鯨類のもっとも基部に位置するグループである. コセミクジラ科 (Neobalaenidae: コセミクジラ)

がセミクジラ科の次に分岐し、ミンククジラやイワシ、ニタリクジラの分岐へと続くという点である。しかし、ナガスクジラ科 (Balaenopteridae: ザトウクジラ, ナガスクジラ, イワシ+ニタリクジラ, ミンククジラ) およびコククジラ科 (Eschrichtiidae: コククジラ) の系統関係に関しては一致した見解を得ることはできなかった。調節領域を指標として構築された系統樹ではナガスクジラとシロナガスクジラが単系統群を形成するのに対し, cytb を用いたものではザトウクジラとシロナガスクジラの単系統性が示唆された。また両者の系統樹は共に, コククジラがナガスクジラ科の内部に入り込み, ナガスクジラ科の側系統性を示唆しているがその系統的立場は両者の系統樹では一致した見解が得られていない。このように分子系統学の立場からはヒゲクジラ類の系統関係は未だ解決されていなかった。

近年 Sasaki *et al.* (2005) は現生ヒゲクジラ9種のミトコンドリア全長配列を決定し, データベースからシロナガスクジラおよびナガスクジラの配列を加え, それらを指標にして系統樹を作成した。その結果, コククジラ科およびナガスクジラ科の単系統性が示され, さらに下記の4つの lineage の存在が明らかとなった: lineage I (南北ミンククジラ), lineage II (ナガスクジラとザトウクジラ), lineage III (イワシ+ニタリクジラとシロナガスクジラ), lineage IV (コククジラ)。Sasaki らの研究においては4つの lineage の存在は明らかにすることはできたが, lineage I, II, III, IV 間の関係を明らかにすることはできなかった。

本研究では SINE 挿入を指標としたヒゲクジラ類の系統解析を, 特にナガスクジラ科とコククジラ科に注目しておこなった。その中でナガスクジラ科とコククジラ科の共通祖先における急速な放散イベントを検出し, さらにはヒゲクジラ亜目全体の系統樹構築に成功した。本稿ではミトコンドリアの全長配列の解析による年代推定によって明らかとなった, ヒゲクジラの進化における急速な放散イベントの起こった時期についても合わせて触れることとする。本研究によって, SINE 法というものが系統推定だけではなく, 急速な放散イベントの存在を明らかにするためにも非常に有効な手段であることを示すことができたといえよう。

方法

SINE とは cDNA 中間体を介して増幅するレトロポゾンであり, レトロポジションによって宿主ゲノムに再挿入される (Rogers, 1985; Weiner *et al.*, 1986; Okada, 1991a; Okada, 1991b; Kazazian, 2000)。SINE のある遺伝子座への挿入は不可逆的なものであり, さらに SINE が異なる種における同じ遺伝子座へ独立に挿入する可能性は極めて低い。よって SINE 挿入は常に「無」状態から「有」状態という一方向に固定されている。以上に挙げたいくつかの SINE の特徴を考慮すると SINE は生物の系統推定における Homoplasy の無い理想的な指標となりうる (Shedlock and Okada, 2000)。我々はかつてこの SINE 法を用いて鯨類やその周辺

種の系統関係を明らかにしてきた経緯がある (Shimamura *et al.*, 1997; Nikaido *et al.*, 1999, Nikaido *et al.*, 2001a)。

本研究では14種のクジラ類(ヒゲクジラ11種および歯クジラ3種)に加え, 外群としてカバを用いた (Nikaido *et al.*, 1999)。DNA は Blin and Stafford (1976) にしたがって抽出した。DNA 量が十分でなかったコセミクジラとホッキョククジラを除く全てのヒゲクジラ種に関して, そのゲノムライブラリーを構築した。クジラゲノムにおける SINE サブファミリーの増幅時期やその分布などを考慮して, CHR-2 SINE (特に CD サブファミリー) を用いてゲノムライブラリーのスクリーニングをおこなった (Nikaido *et al.*, 2001a; Nikaido *et al.*, 2001b)。

スクリーニングによって得たポジティブクローンは配列決定の後, その配列をもとに SINE 挿入の有無を確認できるようなプライマーセットを設計した。それぞれの遺伝子座を増幅するプライマーセットを用い, 14種の鯨類およびカバのゲノム DNA を鋳型にして PCR をおこなった。その PCR 産物をアガロースゲル電気泳動し SINE 挿入の有無を確認した。SINE 挿入を確認するためにほぼ全ての PCR 産物に関して, クローニング・配列決定をおこなった。SINE 挿入データは, 挿入あり: 1, 挿入無し: 0 とし, データマトリックスにまとめた。その際, アガロースゲル電気泳動によって PCR 産物が確認できない場合は missing: ? として扱った。このデータをもとに PAUP* (Swofford, 1998) を使用して系統樹の構築をおこなった。ゲノムへの SINE 挿入は「無し→あり」へ一方向であるので, 系統樹の根を考慮する必要はない。

結果および考察

ヒゲクジラ類の系統関係

我々は9種類のヒゲクジラに関して, そのゲノムライブラリーを構築し, SINE 挿入が確認される遺伝子座を総計40個単離し, それら全てを系統解析の指標として用いた。ここで重要な点は, 可能な限りほぼ全てのクジラ種に関してゲノムライブラリーを構築し, そのスクリーニングをおこなったところにある。つまり, ライブラリーのスクリーニングをおこなった種に関しては, 必ずその遺伝子座への SINE の挿入があるわけで, そのスクリーニングがある種に偏ってしまうことは, 系統推定における情報が偏ってしまうことになる。よってこの偏りが生じないように広範なクジラ種に関してまんべんなくスクリーニングしていくことが不可欠である。また SINE 挿入が種内に固定しているか否かは, その個体数を増やすことによって確認した (最低3個体~10個体)。その際, SINE 挿入の有無に関する種内多型は確認されなかった。

図1はそれぞれのクレードAからJを代表する遺伝子座の PCR パターン (40遺伝子座中12遺伝子座: 我々が単離した40個にのぼる全ての遺伝子における PCR パターンは紙面の都合上割愛する) を示したものである。今回新たに単離さ

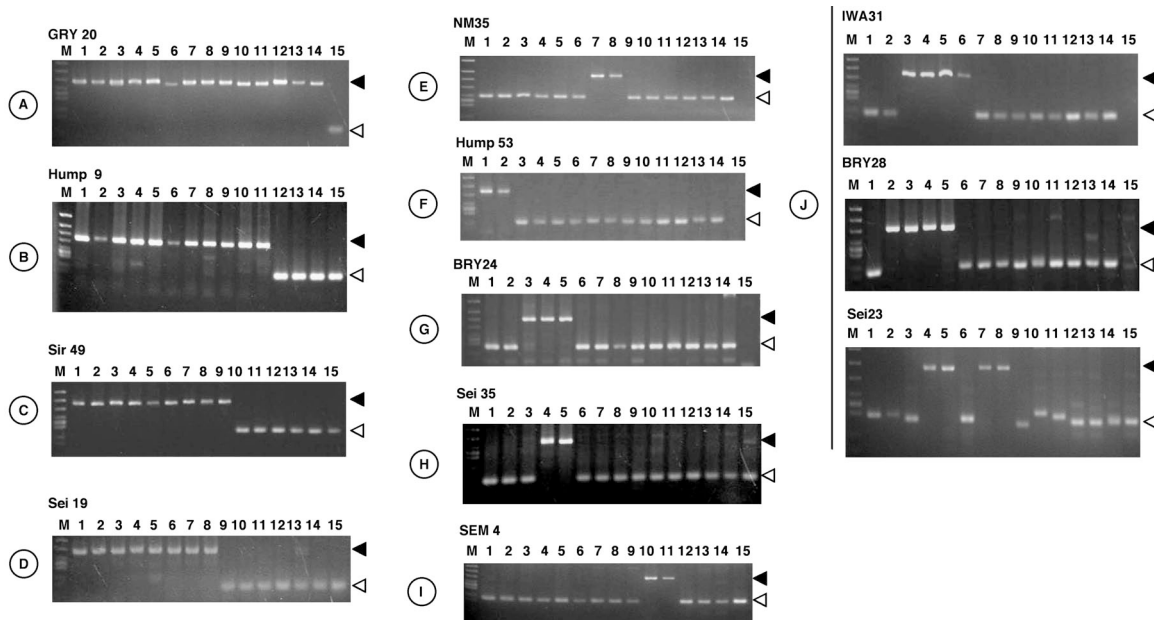


図1. それぞれのCladeを示すSINE遺伝子座のPCRパターン. 全40遺伝子座の中で代表的な12遺伝子座におけるPCR産物のアガロースゲル電気泳動像. SINE挿入のあるバンドは黒矢頭によって, SINE挿入のないバンドは白矢頭によって示した. AからJのアルファベットは図2におけるそれぞれのcladeを示している. 遺伝子座の名前は, ゲノムライブラリーを構築した鯨の種名にちなんで命名している (BRY, Bryde's, ニタリクジラ; GRY, gray, コククジラ; Hump, humpback, ザトウクジラ; NM, North Atlantic minke, 北大西洋ミンククジラ; Sei and IWA, sei, イワシクジラ; SEM, right, セミクジラ; Sir, blue, シロナガスクジラ). またそれぞれの種は以下のように番号をつけた: 1, ザトウクジラ; 2, ナガスクジラ; 3, シロナガスクジラ; 4, イワシクジラ; 5, ニタリクジラ; 6, コククジラ; 7, 北大西洋ミンククジラ; 8, 南氷洋ミンククジラ; 9, コセミクジラ; 10, セミクジラ; 11, ホッキョククジラ; 12, マッコウクジラ; 13, ツチクジラ; 14, ハンドウイルカ; 15, カバ.

れた5遺伝子座によってクジラ目の単系統性が再確認された (図1のA, 図2のclade A). クレードBはヒゲ鯨類の単系統性を表しており, これは5遺伝子座によって支持されている. ここで, マッコウクジラとヒゲ鯨類の単系統性を示唆するような遺伝子座は1つも単離されないことから, 歯鯨類の偽系統仮説 (e. g. Milinkovitch, *et al.*, 1993; Milinkovitch 1995) は現実的ではないことが伺える.

SINE挿入による系統推定により明らかとなったヒゲ鯨類の系統関係・分岐順序は以下の通りである. まずセミクジラとホッキョククジラが単系統群を形成し (図1のC, 図2のclade I), このグループはヒゲ鯨の中でもっとも最初に分岐をした (図1のC, 図2のclade C). その次にコセミクジラが分岐したことが6個のSINE遺伝子座によって示唆されている (図1のD, 図2のclade D). 上述の結果は以前の分子研究における結果とも一致し (Adegoke, *et al.*, 1993; Amason, *et al.*, 1992; Amason and Gullberg, 1994), 我々のミトコンドリア全長配列の解析においても高いブートストラップ値で示唆されている. また形態的な研究とも矛盾はない (e. g. Barns and McLeod, 1984; Mead and Brownell, 1993).

さらに我々はコククジラ科およびナガスクジラ科の共通祖先から出現した4つの大きなlineageの存在を発見した. まずlineage Iは北半球と南半球それぞれに分かれて分布するミンククジラ2種 (図1のE, 図2のclade E), その次にlineage IIはザトウクジラとナガスクジラ (図1のF, 図

2のclade F) が4個のSINE遺伝子座によって支持されている. 特に, このclade Fはヒゲ鯨の系統という観点からは非常に興味深い発見だといえる. ザトウクジラは他のナガスクジラ科鯨類 (ナガス, イワシ, ニタリ, シロナガスクジラ) とは形態的に大きく異なることから, ザトウクジラ属 (Megaptera) として分類されているからである. 分子系統学ではザトウクジラ属がナガスクジラ属内に入り込むという点においては過去の研究で一致した見解が得られているが, ザトウクジラの姉妹群は何かという問題に関しては, 一致した見解が得られていない. Baker *et al.* (1993) はヒゲ鯨類のミトコンドリア調節領域の部分配列を決定し, ザトウクジラとナガスクジラの単系統性を再現しているが, その論文においては深く触れられていない. さらに Amason, *et al.*, (1993) はミトコンドリア調節領域の全長配列を決定し解析をおこなったところナガスクジラとシロナガスクジラの単系統性を示唆したのである. つまり独立におこなわれたミトコンドリア調節領域の解析はお互いに矛盾した結果を示しているのである. ミトコンドリアCytb配列の解析ではザトウクジラとシロナガスクジラの単系統性を支持している (Amason and Gullberg, 1994). 次に, 核DNA配列の研究に言及すると, Cipriano and Palumbi (1999) はアクチン遺伝子のイントロン配列の解析によりザトウクジラとナガスクジラを姉妹群としているが, 研究に使用したタクサの数が不十分であった (ザトウ, ナガスクジラを含めて4種). また Amason, Gretarsdottir and Widegren

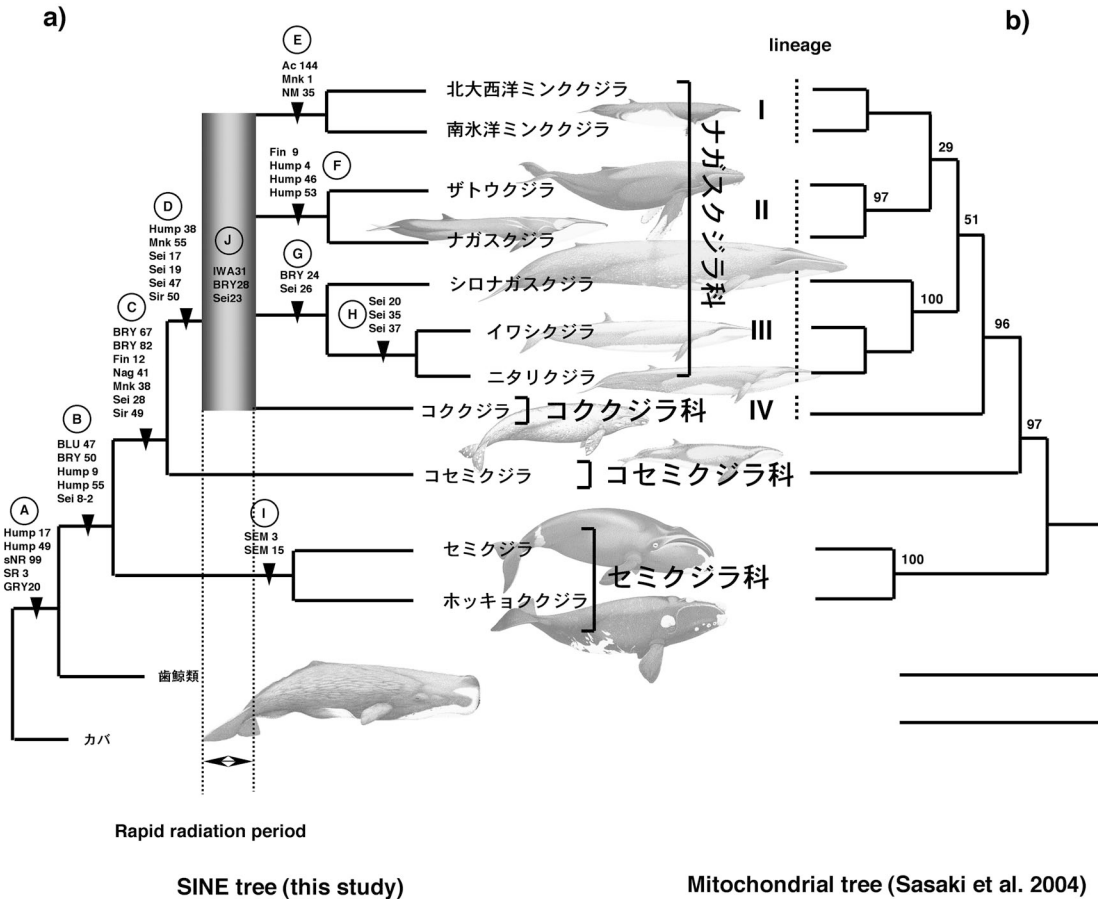


図2. SINE挿入データによって示されたヒゲ鯨の系統樹。a) 40遺伝子座にのぼるSINE挿入データによって構築された系統樹。系統樹上に示されている全ての遺伝子座は本研究において単離されたものである。それぞれのcladeはAからJまでで示されている。主要な4つのlineageと放散イベントのあった期間も示されている。b) Sasaki et al. (2005 in press)によって報告された、12個のミトコンドリアタンパク遺伝子のアミノ酸配列を指標にして構築された最尤系統樹。枝上の数値はブートストラップ確率を示している。トポロジーのみ示しており、枝の長さはアミノ酸の変異数を反映していない。なお分岐年代に関してはclade Jに相当する部分を多岐状態として推定した。

(1992) は鯨類に特異的なサテライト配列を指標に系統解析をおこなったところナガスクジラとシロナガスクジラの単系統性が支持された。上述にあるようにザトウクジラの姉妹群は現在も明らかにはされていないといってよい。よってザトウクジラとナガスクジラが単系統群を形成するという結果は形態学的、古生物学的な意味合いだけでなく分子系統学的にも非常に驚くべきものである。おそらく形態形成における発生システムの大幅な変革が、ザトウクジラの特異的な形態を作り出し、形態、分子間における系統上の不一致を引き起こしたと考えられる。

lineage IIIは単系統群を形成するイワシクジラ、ニタリクジラおよびシロナガスクジラを含むグループであり2個のSINE遺伝子座によって支持されている(図1のG, 図2のclade G)。このclade G内部においてはイワシクジラとニタリクジラの単系統性が3個のSINE遺伝子座によって支持されている(図1のH, 図2のclade H)。イワシクジラとニタリクジラの単系統性は近年の分子系統学においてしばしば示唆されているが(Amason, *et al.*, 1993; Amason and Gullberg 1994; Amason and Gullberg, 1996) このグループ

とシロナガスクジラとの単系統性を示すデータは形態でも分子でも見つかっていない。lineage IVはコククジラを含むグループである。

今までに述べたlineage IからIVのそれぞれのlineageにおける単系統性は複数のSINE挿入データから支持されているが、IからIVの間の関係は解決が不可能であることがわかった(後述)。図2ではこれら4者は多岐として扱い、今後この系統樹をコンセンサスツリーと位置づける。

矛盾するSINEパターンによって示唆されるナガスクジラ科とコククジラ科の祖先における放散イベント

ヒゲ鯨ゲノムへのSINE挿入パターンを詳細に調べていく過程で、我々は3個の興味深いSINE遺伝子座を発見した。3遺伝子座のうち2個(BRY28, Sei23)は図2に示した系統樹と矛盾し、さらには、この3遺伝子座は全てが互いに矛盾しているのである。例えば遺伝子座IWA31(図1のJ, 図3)はlineage IIIとIVの単系統性を示唆しているのに対し、遺伝子座BRY28はlineage IIIとナガスクジラの単系統性を示している。このように互いに矛盾しており、また

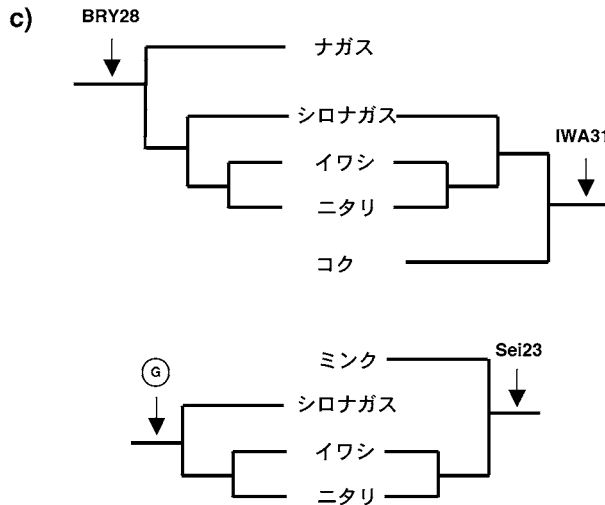


図3. 3つのSINE遺伝子座によって示唆される3通りの矛盾するトポロジー

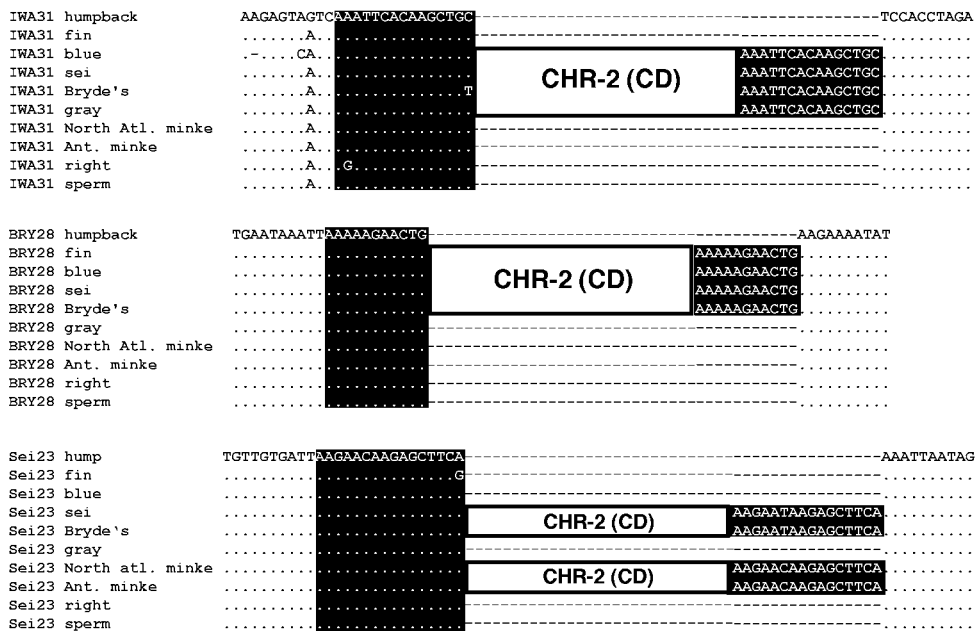


図4. 矛盾するSINE遺伝子座における部分配列のアラインメント. 挿入のあったSINEのサブファミリー名が太線の四角内に示されている (CD: cetacean-specific deletion; Nikaido *et al.*, 2001). ダイレクトリピートは反転している. 一致する塩基はドットで, 欠失はハイフンで示した.

BRY28はコンセンサスツリーで示されているナガスクジラとザトウクジラの単系統性にも矛盾している. さらに遺伝子座Sei23はlineage Iとイワシ+ニタリクジラの単系統性を支持し, コンセンサスツリーにおける clade G と矛盾状態にある. また遺伝子座 Sei23は前述のBRY28, IWA31のどちらとも矛盾しているのである. これらの遺伝子座に関するPCR産物は配列を決定することによりSINE挿入の有無を確認しており, その部分配列のアラインメントを図4に示した.

矛盾する遺伝子座が存在することがわかったことから, 我々はSINEデータをPAUP*によって解析し最節約系統樹の作成を試みた. その結果, 上述の3個の矛盾遺伝子座の存在により lineage III とIVを結びつけるブートストラップ

値は低く (60%), その他のlineage間の関係も多岐となった.

SINE系統樹とミトコンドリア全長配列による系統樹

最近, 我々のグループは, 現生のヒゲ鯨類ほぼ全ての種に関するミトコンドリア全長配列の解析を終了させた (Sasaki *et al.*, 2005, in press). その系統樹 (図2b) は本研究によって構築されたSINE系統樹と以下の点において本質的に一致した結果を示している. 1. まずザトウクジラとナガスクジラの単系統性 (lineage II), ニタリ+イワシクジラとシロナガスクジラの単系統性 (lineage III) が高いブーとストラップ値で示されている. 2. しかし lineage I からIVの分岐順序を示すブートストラップ値は非常に低い.

このブートストラップ値が低い原因として、この4つの lineage が過去に急速な放散を遂げた可能性も考えられる。以上の点でミトコンドリアDNA系統樹とSINE系統樹は互いに一致するものだといえる。

祖先多型, incomplete lineage sortingそして放散イベント

序文でも述べたようにSINE挿入は、先祖返りや平行進化のような現象が無いために、生物の歴史を忠実に残しているものとも言える。つまり異なる種におけるまったく同じ遺伝子座へ独立にSINEが挿入する確率が極めて小さいということである。よって、それぞれのSINEは、その挿入している遺伝子座の系統樹を正確に反映しているといえる。たとえ複数のSINE遺伝子座がお互いに矛盾しているとしても、SINEは少なくともそれぞれの遺伝子座の系統樹は正しく示しているわけである (Nei and Kumar, 2000を参照)。

過去に我々がおこなってきたSINEを指標とする鯨類の起源やその系統関係に関する研究では、歯鯨類ゲノム中にそのような矛盾したSINE遺伝子座は検出されなかった (Shimamura *et al.*, 1997; Nikaido *et al.*, 1999; Nikaido *et al.*, 2001a)。つまり本研究における結果によって初めて、クジラゲノム中における遺伝子座間の矛盾が明らかになり、その現象がヒゲ鯨の進化の歴史における放散イベントが存在することを示唆したのである。

本研究において最も特筆すべき結果はナガスクジラ科とコククジラ科に包含される lineage IからIVの共通祖先は進化的に非常に短い期間に急速な放散を遂げたということである。図2のヒゲ鯨系統樹において、グラデーションによって強調されている部分 (clade J) が、この放散イベントを表している。この放散イベントは図1のJに示してある3個のSINE挿入パターンによって示された遺伝子座から示唆されるものである。ある祖先集団においてSINE挿入多型が保持されている状態で、この集団に急速な (種もしくは集団の) 分化が連続的に起きると、その後誕生した集団にもその多型が受け継がれ、その後はそれぞれの集団において、SINEが有る状態もしくは無い状態に固定する。しかし、このSINE挿入が有る状態に固定するか、無い状態に固定するかは、それぞれの集団でまったく偶然に起きることから、そのSINE挿入の有無は系統を反映しない可能性もある。この様に、ある遺伝子座の系統樹と種の系統樹に不一致が生じることがある。一般にはこのような現象を祖先多型が incomplete lineage sorting されると表現する。図1のJにおける3個のSINE遺伝子座における矛盾はおそらく、コセミクジラが分岐した後に、ナガスクジラ科とコククジラ科の共通祖先において保持されていたSINE多型が、その祖先集団中に固定しないままに、急速な種分化が続いたために引き起こされたためだと考えられる。とすれば、ヒゲ鯨における放散イベントは系統樹上のclade Jでは極めて短期間に起こったと考えられる。また集団が大きくなるほど、その集団に変異が固定するのにそれだけ長い時間が必要であることから、集団サイズの大きさも incomplete lineage

sortingを考える上で重要である (Nei 1987; Pamilo and Nei 1988; Takahata, 1989)。つまり我々のデータによればclade Jにおけるヒゲ鯨類の集団が急激に大きくなっていったことが予想され、このことは過去における地球環境の変遷が鯨類の進化にどのような影響を与えたかを議論するにあたって非常に意味深いものである。Sasaki *et al.* (2005, in press) の解析によると clade Jにおける分岐年代は今からおよそ1900万年前だと計算されている。Sasaki *et al.*, (2005, in press) は論文の中で現生ヒゲ鯨の主要なグループは第三紀前期 (2300万年前) から後期 (1000万年前) に出現していることを挙げ、さらにはナガスクジラ科のステムグループにおいては化石記録が非常に豊富であり、それらが繁栄していた可能性が高いと述べている。SINEデータとミトコンドリア配列による分子時計を合わせて考えると今からおよそ1900万年前 (19.3±2.9 MyBP) にヒゲ鯨の祖先は非常に急速な放散を経験したことになる。この時期に地球規模でどのような環境変動があり、それが鯨類の進化に大きな影響を与えたのが次に重要な問題となるであろう。

文献

- Adachi, J. and Hasegawa, M., 1995. Phylogeny of whales: dependence of the inference on species sampling. *Molecular Biology and Evolution*, **12**, 177-179.
- Amason, U., Gretarsdottir, S. and Widegren, B., 1992. Mysticete (baleen whale) relationships based upon the sequence of the common cetacean DNA satellite. *Molecular Biology and Evolution*, **9**, 1018-1028.
- Adegoke, J. A., Amason, U., and Widegren, B., 1993. Sequence organization and evolution, in all extant whalebone whales, of a DNA satellite with terminal chromosome localization. *Chromosoma*, **102**, 382-388.
- Amason, U., Gullberg, A. and Widegren, B., 1993. Cetacean mitochondrial DNA control region: sequences of all extant baleen whales and two sperm whale species. *Molecular Biology and Evolution*, **10**, 960-970.
- Amason, U. and Gullberg, A., 1994. Relationship of baleen whales established by cytochrome b gene sequence comparison. *Nature*, **367**, 726-728.
- Amason, U. and Gullberg, A., 1996. Cytochrome b nucleotide sequences and the identification of five primary lineages of extant cetaceans. *Molecular Biology and Evolution*, **13**, 407-417.
- Baker, C. S., Perry, A., Bannister, J. L. *et al.* (14 co-authors), 1993. Abundant mitochondrial DNA variation and world-wide population structure in humpback whales. *Proceeding of National Academy of Science, USA*, **90**, 8239-8243.
- Barnes, L. G. and McLeod, S. A., 1984. The fossil record and phyletic relationships of gray whales. In M. L. Jones, S. L. Swartz, and S. Leatherwood, eds. *The Gray whale, Eschrichtius robustus*, 3-32. Academic Press, New York.
- Blin, N. and Stafford, D. W., 1976. A general method for isolation of high molecular weight DNA from eukaryotes. *Nucleic Acids Research*, **3**, 2303-2308.
- Cassens, I., Vicario, S., Waddell, B., *et al.* (13 co-authors), 2000. Independent adaptation to riverine habitats allowed survival of ancient cetacean lineages. *Proceeding of National Academy of Science, USA*, **97**, 11343-11347.
- Cipriano, F. and Palumbi, S. R., 1999. Genetic tracking of a protected whale. *Nature*, **397**, 307-308.
- Gatesy, J., 1998. Molecular evidence for the phylogenetic affinities of Cetacea. In J. G. M. Thewissen, ed. *The Emergence of Whales*, 63-111. Plenum, New York.

- Hamilton, H., Caballero, S., Collins, A. G. and Brownell, R. L. Jr., 2001. Evolution of river dolphins. *Proceedings of the Royal Society, London, Series B, Biological Science*, **268**, 549-556.
- Hillis, D. M., 1999. SINEs of the perfect character. *Proceeding of National Academy of Science, USA*, **96**, 9979-9981.
- Kazazian, H. H. Jr., 2000. Genetics. L1 retrotransposons shape the mammalian genome. *Science*, **289**, 1152-1153.
- Mead, J. M. and Brownell, R. L., 1993. Order Cetacea. In D. E. Wilson, and D. M. Reeder, eds., *Mammal Species of the World*, 349-364. Smithsonian Institution Press, Washington DC.
- Messenger, S. L. and Mcguire, J. A., 1998. Morphology, molecules, and the phylogenetics of cetaceans. *Systematic Biology*, **47**, 90-124.
- Milinkovitch, M. C., Orti, G. and Meyer, A., 1993. Revised phylogeny of whales suggested by mitochondrial ribosomal DNA sequences. *Nature*, **36**, 346-348.
- Milinkovitch, M. C., 1995. Molecular phylogeny of cetaceans prompts revision of morphological transformations. *Trends in Ecology and Evolution*, **10**, 328-334.
- Miyamoto, M. M., 1999. Molecular systematics: Perfect SINEs of evolutionary history? *Current Biology*, **9**, R816-R819.
- Nei, M. and Kumar, S., 2000. *Molecular Evolution and Phylogenetics*. 348p., Oxford University Press, New York.
- Nei, M., 1987. *Molecular evolutionary genetics*. 512p., Columbia University Press, New York.
- Nikaido, M., Rooney, A. P. and Okada, N., 1999. Phylogenetic relationships among cetartiodactyls based on insertions of short and long interspersed elements: hippopotamuses are the closest extant relatives of whales. *Proceeding of National Academy of Science, USA*, **96**, 10261-10266.
- Nikaido, M., Matsuno, F., Hamilton, H., Brownell, R. L., Cao, Y., Ding, W., Zuoyan, Z., Shedlock, A. M., Fordyce, R. E., Hasegawa, M. and Okada, N., 2001. Retroposon analysis of major cetacean lineages: the monophyly of toothed whales and the paraphyly of river dolphins. *Proceeding of National Academy of Science, USA*, **98**, 7384-7389.
- Nikaido, M., Matsuno, F., Abe, H., Shimamura, M., Hamilton, H., Matsubayashi, H. and Okada, N., 2001. Evolution of CHR-2 SINEs in cetartiodactyl genomes: possible evidence for the monophyletic origin of toothed whales. *Mammalian Genome*, **12**, 909-915.
- Okada, N., 1991a. SINEs. *Current Opinion in Genetics and Development*, **1**, 498-504.
- Okada, N., 1991b. SINEs: Short interspersed repeated elements of the eukaryotic genome. *Trends in Ecology and Evolution*, **6**, 358-361.
- Pamilo, P. and Nei, M., 1988. Relationships between gene trees and species trees. *Molecular Biology and Evolution*, **5**, 568-583.
- Rice, D. W., 1998. Marine Mammals of the world: Systematics and Distribution. *The Society for the Marine Mammalogy, Special Publication*, (4) 231p., Lawrence, KS.
- Rogers, J. H., 1985. Origins of repeated DNA. *Nature*, **317**, 765-766.
- Sasaki, T., Nikaido, M., Healy, H., Goto, M., Kanda, N., Pastene, L. A., Cao, Y., Fordyce, R. E., Hasegawa, M. and Okada, N., 2004. Mitochondrial Phylogenetics and Evolution of Mysticete Whales. *Systematic Biology*, (in press).
- Shedlock, A. M., and Okada, N., 2000. SINE Insertions: Powerful Tools for Molecular Systematics. *BioEssays*, **22**, 148-160.
- Shedlock, A. M., Milinkovitch, M. C. and Okada, N., 2000. SINE evolution, missing data, and the origin of whales. *Systematic Biology*, **49**, 808-817.
- Shedlock, A. M., Takahashi, K. and Okada, N., 2004. SINEs of speciation: tracking lineages with retroposons. *Trends in Ecology and Evolution*, **19**, 545-553.
- Shimamura, M., Yasue, H., Ohshima, K., Abe, H., Kato, H., Kishiro, T., Goto, M., Munechika, I. and Okada, N., 1997. Molecular evidence from retroposons that whales form a clade within even-toed ungulates. *Nature*, **388**, 666-670.
- Swofford, D. L. 1998. PAUP*: Phylogenetic Analysis Using Parsimony (Sinauer, Sunderland, MA), Version 4.0.
- Takahashi, K., Terai, Y., Nishida, M. and Okada, N., 2001. Phylogenetic relationships and ancient incomplete lineage sorting among cichlid fishes in Lake Tanganyika as revealed by analysis of the insertion of retroposons. *Molecular Biology and Evolution*, **18**, 2057-2066.
- Takahata, N. 1989. Gene genealogy in three related populations: consistency probability between gene and population trees. *Genetics*, **122**, 957-966.
- Terai, Y., Takahashi, K., Nishida, M., Sato, T., Okada, N., 2003. Using SINEs to Probe Ancient Explosive Speciation: "Hidden" Radiation of African Cichlids? *Molecular Biology and Evolution*, **20**, 924-930.
- Weiner, A. M., Deininger, P. L. and Efstratiadis, A., 1986. Nonviral retroposons: genes, pseudogenes, and transposable elements generated by the reverse flow of genetic information. *Annual Review of Biochemistry*, **55**, 631-661.

(2004年10月27日受付, 2005年1月7日受理)

