

平成 30 年 6 月 20 日現在

機関番号：32639

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2016～2017

課題番号：16K18622

研究課題名(和文)アリ類における進化的キャパシターHsp90を介した表現型進化機構の解明

研究課題名(英文)The mechanism of phenotypic evolution mediated by Hsp90 in ants

研究代表者

宮崎 智史(MIYAZAKI, Satoshi)

玉川大学・農学部・助教

研究者番号：20547781

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：生物の表現型は、Hsp90を介した遺伝的変異の蓄積と解放、適応的な変異の固定を経て進化すると提案されている。本研究では寒冷地に適応進化したカドフシアリの無翅女王を対象として、この進化過程の検証を試みた。この無翅女王は冬期の低温に対するhsp90発現の応答が、祖先表現型である有翅女王に比べて弱いことが示され、蓄積した遺伝的変異を解放しやすい状態であると示唆された。また、有翅女王及び無翅女王の遺伝的差異を明らかにするため、RAD-seqを実行した。今後、そのデータを用いて、無翅女王の進化過程で固定された適応的な遺伝的変異をスクリーニングできると期待される。

研究成果の概要(英文)：Phenotypic evolution can be facilitated by the Hsp90-mediated mechanism. In the mechanism, genetic mutations accumulated by Hsp90 are released under environmental perturbations, and then an adaptive mutant phenotype can be selected. In this study, this Hsp90-mediated mechanism was examined for the caste evolution in a queen-polymorphic ant *Myrmecina nipponica*. In this species, ergatoid queens are distributed only in cold habitats, suggesting that this caste would be secondarily evolved through cold adaptation. Expression of hsp90 was induced at a lower level in progenies of ergatoid queen than in those of alate queen (ancestral), suggesting that accumulated mutations are likely to be released in the ergatoid queen's colonies. Then, to examine the genetic differences between ergatoid and alate queens, RAD-seq was performed. It is expected that analyses of RAD-seq data allow us to examine the adaptive genetic mutations fixed through the evolution of ergatoid queens.

研究分野：生態進化発生学，昆虫発生学

キーワード：カースト進化 カドフシアリ 無翅女王 Hsp90

1. 研究開始当初の背景

カドフシアリは日本に広く分布し、有翅女王と無翅のワーカーからなるコロニーを形成する。しかしながら北海道では2タイプのコロニーが存在し、それぞれ繁殖カーストが異なる。一方では有翅女王が、もう一方では有翅女王とワーカーの中間的な形態を示す無翅女王が繁殖を担う。通常では有翅女王は有翅女王から、無翅女王は無翅女王からしか生産されないが、低温条件で越冬した有翅女王からは稀に無翅女王が生産される。従って、寒冷適応に伴って有翅女王から無翅女王への進化が起こったと示唆されている。近年、複数地点で無翅女王の分布が確認されているが、それらの無翅女王の進化起源が同一なのかは明らかになっていない。

表現型進化を引き起こす機構の1つとして、Heat shock protein 90 (Hsp90) などの進化的キャパシターを介した遺伝的変異の蓄積と解放、そして適応的な遺伝的変異の固定という一連のプロセスが考えられている。寒冷な環境への適応には、Hsp90 に代表される熱ショックタンパク質 (Hsp) による環境ストレス緩衝機構が関与している可能性がある。ショウジョウバエなどのモデル生物を用いた先行研究では、この Hsp90 によるストレス環境機能を低下させると表現型変異が創出されることが明らかになっている。カドフシアリの無翅女王進化の過程においても、Hsp90 のストレス環境機能の低下により創出された表現型変異の中から適応的なものが固定された可能性がある。

2. 研究の目的

本研究ではまず、祖先的な表現型である有翅女王と派生的な無翅女王を複数地点で採集し、それらの表現型レベルでの差異を調べたのち、進化的キャパシターとして知られる *hsp90* 発現の環境応答の差異について検証した。続いて、有翅女王を対象に *hsp90* の機能を阻害することで表現型変異の創出が引き起こされるかどうかの検証を試みた。また、無翅女王の進化的起源が1回か複数回かを検証するため、そして、その進化過程で固定された適応的な遺伝的変異をゲノムワイドに調べるため、それらの有翅女王と無翅女王を対象とした RAD-seq を行った。

3. 研究の方法

これまでの主な採集地としていた北海道千歳市に加え、北海道江別市、神奈川県足柄下郡、岐阜県下呂市、富山県富山市、愛媛県松山市の森林でコロニーを採集し、形態計測を行った。同一地点で有翅女王と無翅女王の両方のコロニーを得られた千歳市と下呂市の個体群を対象に、冬季の低温に曝露し、その環境ストレス応答として *hsp90* 遺伝子の発現動態をリアルタイム定量 PCR で調べた。

続いて、Hsp90 阻害剤(ゲルダナマイシン)の経口投与による *hsp90* の機能阻害を試み

た。

また、各採集地点の有翅女王と無翅女王からゲノム DNA を抽出し、RAD-seq を実施した。

4. 研究成果

野外採集を行った結果、北海道に加え、下呂市及び松山市の高山域で無翅女王のコロニーが確認された一方、富山市や足柄下郡の低地では確認できなかった(図1)。また過去の知見と合わせると、北海道については北に行くほど無翅女王コロニーの比率が高まること分かり(図1)、無翅女王の進化が寒冷環境への適応の結果であるとより強く示唆することができた。

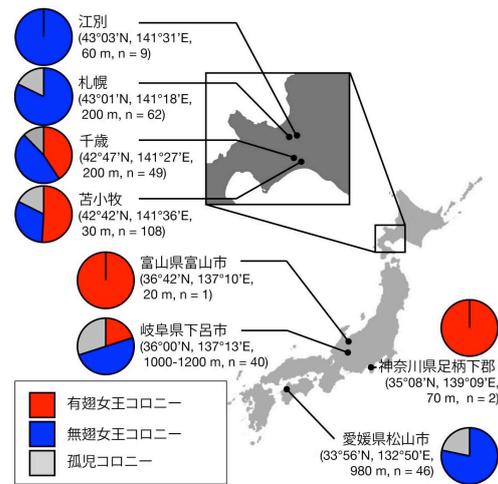


図1. 各採集地点における無翅女王コロニーの採集頻度。先行研究で得られた札幌市と苫小牧市のデータも加えて表示した。

多数のサンプルを得られた千歳市、下呂市、松山市の個体群を対象に形態計測を行い、カースト特異的な形態的特徴が個体群によっ

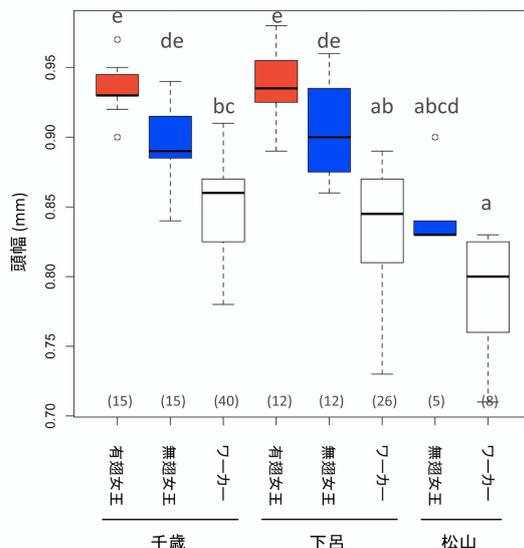


図2. カドフシアリの頭幅におけるカースト間差異と個体群間差異。1-way ANOVAの後、Scheffe's F testを行った。異なる記号は有意差があることを示す。カッコ内にサンプル数を示す。

て異なるかを検証した。その結果、ほとんどの部位において、カースト特異的な特徴はいずれの個体群においても共通であることが分かった。しかしながら、体サイズの指標となる頭幅において、千歳や下呂の個体群では無翅女王がワーカーよりも有意に大きかったが、松山個体群の無翅女王ではワーカーと有意に異ならなかった(図 2)。この結果は、松山個体群の無翅女王が小型化していることを示すとともに、有翅女王との遺伝子交流の消失が小型化に影響している可能性を示唆した。

千歳市と下呂市でそれぞれ同所的に採集された有翅女王と無翅女王コロニーを対象に、冬季の低温(3°C, 90 日間)に曝露したのちに20°Cの条件に14日間おいて回復させる処理を施したところ、いずれのコロニータイプ・個体群・発生ステージ(ワーカー, 幼虫)においても回復1日目では *hsp90* 遺伝子の発現が最も強く誘導された(図 2)。このような発現誘導は冬季に受けた低温障害を回復させる、昆虫に一般的な反応である。ただし、その誘導の強度はコロニータイプ間で異なった。千歳個体群においてはワーカーでは無翅女王コロニーの方が1.3 倍程度、幼虫では有翅女王コロニーの方が2 倍程度も発現量が高く、下呂個体群ではワーカーと幼虫ともに有

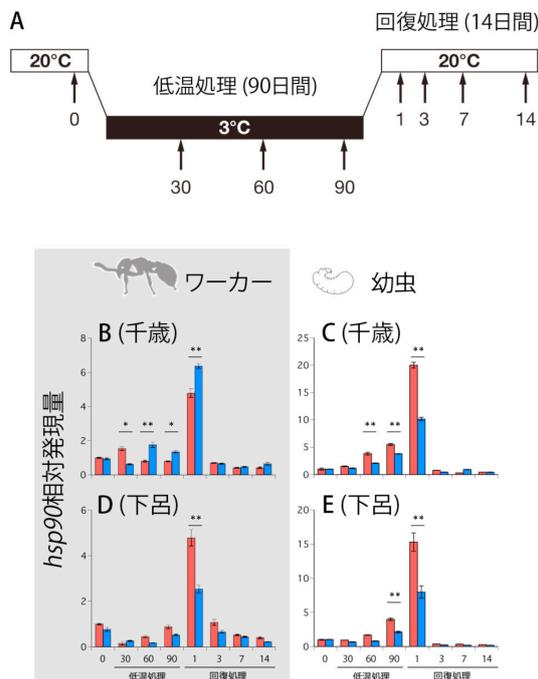


図 3. 冬季の低温ストレスに対する *hsp90* 発現応答の有翅女王コロニー(赤)と無翅女王コロニー(青)の比較。A) 低温処理と回復処理の概要。B-E) 低温処理と回復処理過程における *hsp90* の発現動態。千歳個体群(B-C)と下呂個体群(D-E)のワーカー(成虫, B, D)と幼虫(C, E)における *hsp90* の相対発現量(EF-1 α の発現量で標準化)。1-way ANOVAの後、Scheffé's F testを行い、同じ処理時間にコロニータイプ間で有意差がある場合に*を付した(*: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$)。

翅女王個体群で2 倍程度発現量が高かった(図 2)。無翅女王コロニーの幼虫で低温に対する *hsp90* の応答が弱いという結果はいずれの個体群にも共通しており、無翅女王コロニーに特異的な低温ストレス応答であると示唆された。

続いて、上記で示した冬季の低温ストレスに対する *hsp90* の応答が、表現型発現に与える寄与を評価するため、低温処理(3°C, 90 日間)を施したコロニーに対して Hsp90 阻害剤であるゲルダナマイシン(1 ng/ μ l)を経口投与した後、20°C で飼育し、羽化個体の表現型を調べた。溶媒である50% DMSOを経口投与した対照区のコロニーと同様に、阻害剤処理区のコロニーにおける羽化個体は全てワーカーに分化した。今回の解析では、Hsp90 による低温ストレス応答が表現型分化(ひいては表現型変異の創出)に影響しないのか、あるいは実験系自体に問題があったのかを十分に検討できなかったため、再検討を要する。

最後に、各採集地点の有翅女王と無翅女王の計96 個体からゲノム DNA を抽出し、RAD-seq を実施した(表 1)。今後、RAD-seq データを解析することで、無翅女王の進化的起源が1 回か複数回かを、そして、その進化過程で固定された適応的な遺伝的変異をゲノムワイドに検証することができると期待される。

表 1. RAD-seq に用いた有翅女王と無翅女王の個体数のリスト。個体群別に示した。

	有翅女王	無翅女王
千歳	21	24
下呂	16	22
松山	0	11
富山	1	0
足柄下	1	0

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 2 件)

1. Ito, F., Miyazaki, S., Hashim, R. and Billen, J. 2017. Colony composition and behavioral characteristics of *Myrmoteras iriodum* and *M. jaitrongi* in Ulu Gombak, Peninsular Malaysia (Hymenoptera: Formicidae). *Asian Myrmecology* 9: e009010 (1-9). DOI: 10.20362/am.009010.
2. 宮崎智史・佐々木哲彦 (2018). ミツバチの分子生物学: カースト分化の分子機構はどこまでわかったか? 昆虫と自然

〔学会発表〕（計 5 件）

1. 宇田川真緒, 宮崎智史. 2016. オオズアリの大型ワーカーの日齢に伴う行動変化. 日本昆虫学会関東支部第 53 回大会, II-6.
2. 宮崎智史, 前川清人. 2017. 寒冷適応したカドフシアリの無翅女王における *heat shock protein* 遺伝子の低温応答. 第 64 回日本生態学会大会, P2-C-100.
3. 甲斐啓馬, 宮崎智史, 増岡裕大, 鈴木隆太郎, 前川清人. 2017. シロアリにおける性決定遺伝子 *doublesex* の探索および発現解析. 第 88 回日本動物学会, P015.
4. 重信秀治, 林良信, 三浦徹, 前川清人, 徳田岳, 北條優, 矢口甫, 宮崎智史, 松波雅俊, 豊田敦. 2017. シロアリにおける社会性進化のゲノム基盤の解明. 第 88 回日本動物学会, 1K0945.
5. 宮崎智史, 下地博之, 池主格, 鈴木諒平, 前川清人. 2018. トゲオオハリアリにおけるワーカー間の分業の分子基盤. 第 65 回日本生態学会大会, F01-02.

〔その他〕

ホームページ等

<https://ihsotasm.wixsite.com/myzklab>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮崎 智史 (MIYAZAKI, Satoshi)

玉川大学・農学部・助教

研究者番号：20547781