

令和 3 年 6 月 4 日現在

機関番号：22604

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2017～2020

課題番号：17H01445

研究課題名(和文) 急進的環境適応の遺伝基盤を解明する野外・室内実験進化オミックス

研究課題名(英文) Experimental evolutionary genomics study for genetic mechanisms of rapid adaptive evolution

研究代表者

田村 浩一郎 (Tamura, Koichiro)

東京都立大学・理学研究科・教授

研究者番号：00254144

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 32,400,000円

研究成果の概要(和文)：一般に生物の進化には長い時間が必要であるが、生息地の環境が激変した場合など、生物は短期間で進化することがある。そのような急進的な適応進化のメカニズムを明らかにするため、1980年代に熱帯から日本に移住したアカショウジョウバエを用い、実験集団での人為選択によって低温に対する適応進化を再現した。そして、人為選択に伴うゲノム中の遺伝子頻度の変化を調べ、実際に自然集団で生じた遺伝子頻度の変化と比較した。その結果、既存の遺伝的変異に自然選択が作用する“柔らかい選択的一掃”による適応進化であることが分かった。また、選択の対象となった原因遺伝子が存在するゲノム上の位置が予想された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

伝統的な生物進化のメカニズムは、集団中に生じた突然変異に自然選択が作用して集団中の遺伝子が置き換わり生物の表現型が変化するというもので、その場合、ゲノム中、選択の対象となった遺伝子周辺の多様性が著しく低下する“硬い選択的一掃”が生じる。しかし、このモデルではある程度の進化時間が必要とされ、急進的な適応進化は説明しにくい。そこで近年、既存の遺伝的変異に自然選択が作用する“柔らかい選択的一掃”のモデルが提唱されたが、自然集団のゲノム解析では検出しにくい。本研究の最大の成果は、実験集団を併用することによって柔らかい選択的一掃が検出できることを示したことで、進化生物学上の意義がある。

研究成果の概要(英文)：In the traditional view, organismal evolution occurs by a newly emerged mutant gene taking over the preexisting gene by natural selection. In this case, we hardly explain rapid adaptive evolutions, as considerable time expected. In this research project, using a fruit fly species, *Drosophila albomicans*, which migrated from tropical Southeast Asia to Japan during the 1980s, we investigated the evolutionary mechanism of the rapid cold adaptation. We used an artificial selection of cold tolerance in experimental populations to examine the genome-wide gene frequency changes by the artificial selection and compare them with those observed in the natural population in Japan. In conclusion, we could explain the evolutionary changes of gene frequencies observed in both experimental and natural populations by the "soft selective sweep from standing genetic variation" model. Furthermore, we identified a genomic region as the target of natural selection.

研究分野：分子進化遺伝学

キーワード：低温耐性 低温順化 人為選択 実験進化 既存変異 柔らかい選択的一掃 ショウジョウバエ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 生物はつねに一定の速度で徐々に進化するとは限らず、しばしば短期間で急速に進化することがある。19 世紀後半に欧州で起こったオオシモフリエダシャクの工業暗化は良い例で、白色を基調としたシモフリ模様の蛾が、工業地帯で煤煙によって黒くなった樹皮の色に適応し、数十年で 98% の個体が黒色に変化した (Clarke et al. 1985)。短期間で新たな環境への適応は、分布域の急速な拡大に伴って観察されることもある。本研究で対象としたアカショウジョウバエも元来熱帯に生息していたが、1980 年代半ばに台湾から日本に侵入し、数年の間に西日本に広く生息するようになった。

(2) 研究代表者は、日本にきたアカショウジョウバエは低温耐性が向上していること、その要因として低温順化の効果が向上したことを明らかにした (Isobe et al. 2013)。そこで、低温順化にもなって発現量が変化する遺伝子を RNA-seq によって網羅的に調べたところ、種内系統間で異なる遺伝子の発現が変化することが分かった。一方、キイロショウジョウバエの強制発現系を用いてそれら個々の遺伝子の発現変化の効果を調べたところ、複数の遺伝子が、それぞれ単独で発現量を変化させるだけでも低温耐性が向上することが明らかになった (Isobe 2014)。このように、急進的な温度適応は極少数の遺伝子の発現の変化に起因し、その遺伝子は特定の遺伝子に限らないことから、低温適応をもたらす遺伝機構にはいろいろな遺伝子による多様性があり、原因となる遺伝子は集団中に常に多型として存在するという着想に至った。

2. 研究の目的

(1) 急進的な適応進化を説明するモデルとして、近年、「集団中に既存の複数の遺伝子の変異が同時に自然選択を受けることによって集団中の遺伝的構成が急速に変わる」“soft selective sweep from standing genetic variation” (Messer & Petrov 2013) が注目されている。そこで、アカショウジョウバエの日本への移住に伴った急進的な低温適応進化もこのモデルによって説明できるか、実験集団で人為選択を行い、次世代 DNA シーケンサーによる Pool-seq を用いて集団中のゲノムの遺伝子構成の変化を調べる “Evolve and Resequence” 法で検証した。集団中に既存の変異遺伝子が人為選択によって集団中に広がる場合、複数の実験集団で共通する遺伝子頻度の変化が期待される。一方、集団中に多型として存在する遺伝子の頻度が人為選択によって変化する場合でも集団毎に異なる遺伝子の頻度が変化するかを調べ、低温耐性という同一形質に適応進化をもたらす遺伝機構に多様性があるかどうかを検証した。

(3) 実験集団を用いた人工的な低温適応にもなう遺伝的構成の変化が、実際に台湾から日本への移住に伴う変化を再現できるか、台湾と日本の集団のゲノム配列を決定し、その違いと実験集団の遺伝的構成の変化との共通点を調べた。

3. 研究の方法

(1) 台湾で採集した 250 単一雌系統それぞれから雌雄 2 個体ずつを取り出し、合計 1000 個体のアカショウジョウバエをプラスチック製のケージ (11 × 13 × 28 cm) に入れ、毎世代約 1000 個体の親で 6 世代飼育して遺伝子頻度を平衡化した後、10 のケージに約 1000 個体ずつ入れて実験集団を構築した。その後、10 集団中 5 集団は毎世代親バエを 22 ~ 34 時間、3 段階の時間で 1 に置き、約半数が生き残った条件のものから約 1000 個体を次世代の親として世代交代を繰り返した。一方、対照実験集団として、10 集団中 5 集団は低温による人為選択を行わずに約 1000 個体を次世代の親として世代交代を繰り返した。

それら 10 集団について、実験集団構築時の 0 世代目および 11、21、31、41、51 世代目の集団について集団全体から DNA を抽出し、Illumina NovaSeq 6000 シーケンサーを用いて 1 集団当たり平均 100 GB の規模でゲノム配列を決定した。得られた配列データに関して集団遺伝学的解析を行い、人為選択がゲノムの遺伝子頻度の変化におよぼす影響を調べた。

(2) 実験集団での人為選択による遺伝子頻度の変化の中から、実際に台湾から日本に移住した際に生じた遺伝子頻度の変化を抽出するため、台湾の自然集団と日本の自然集団についてもゲノム配列を決定し、実験集団の配列データとともに解析した。

4. 研究成果

(1) 図 1 には、人為選択 5 集団、対照実験 5 集団それぞれについて、1 に 22 時間置いた後のハエの生存率の世代遷移を示した (ただし 12 世代目以前は 1 に置いた時間が 16 ~ 22 時間の間で世代によって異なる)。5 集団の平均と分散を用いて統計検定した結果、13 世代目以降は継続して人為選択集団の生存率は対照実験集団の生存率より有意に高くなり、人為選択によって集団の平均的な低温耐性が向上したことが明らかになった。人為選択集団については、次世代の親バエを用意するために、3 段階の時間で 1 に置いたが、実験終了時の 51 世代目では、34 時間置いた場合に約 50% の生存率を示した。一方、人為選択開始前の集団およびその後の対照実験集団では、22 時間置いた場合でも生存率は 30% 以下となり、低温耐性に大きな差が生じた。

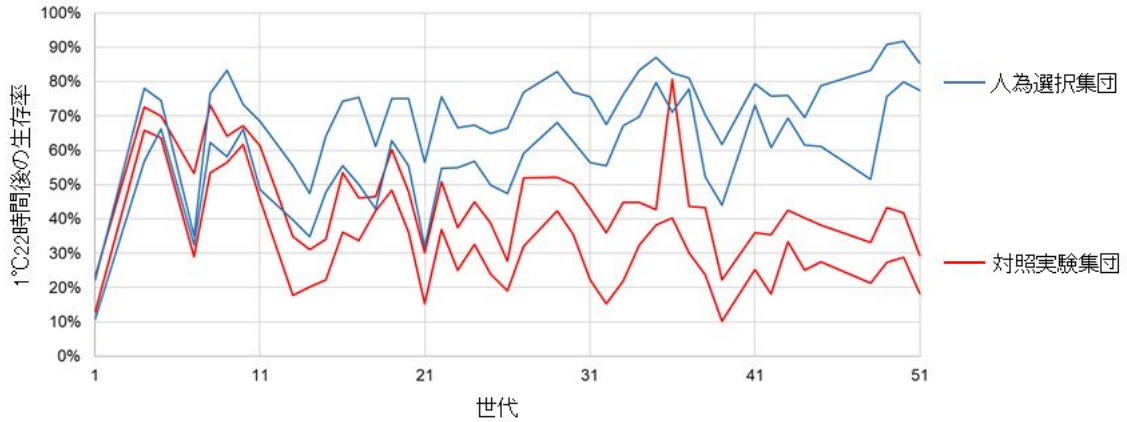


図1.1 に22時間置いた後の生存率の世代推移

人為選択集団、対照実験集団、それぞれ5集団の中の最大値と最小値を示す。
12世代目以前は1に置く時間は世代によって16~22時間の間で異なる。

(2) 図2には、11、21、31、41、51世代目の実験集団の系統樹を示す。ゲノム配列全領域における差異(SNP)を用いて集団間の F_{ST} を計算し、近隣結合法を用いて系統樹を推定した。赤色の枝に繋がる集団CP1~5は対照実験集団、青色の枝に繋がる集団SP1~5は人為選択集団である。いずれの世代も対照実験集団と人為選択集団は緑色で示す内部枝によって分化していることが分かり、内部枝の長さは世代とともに長くなっている。このことは、人為選択によって5集団に共通した遺伝子頻度の変化が生じたことを示唆する。

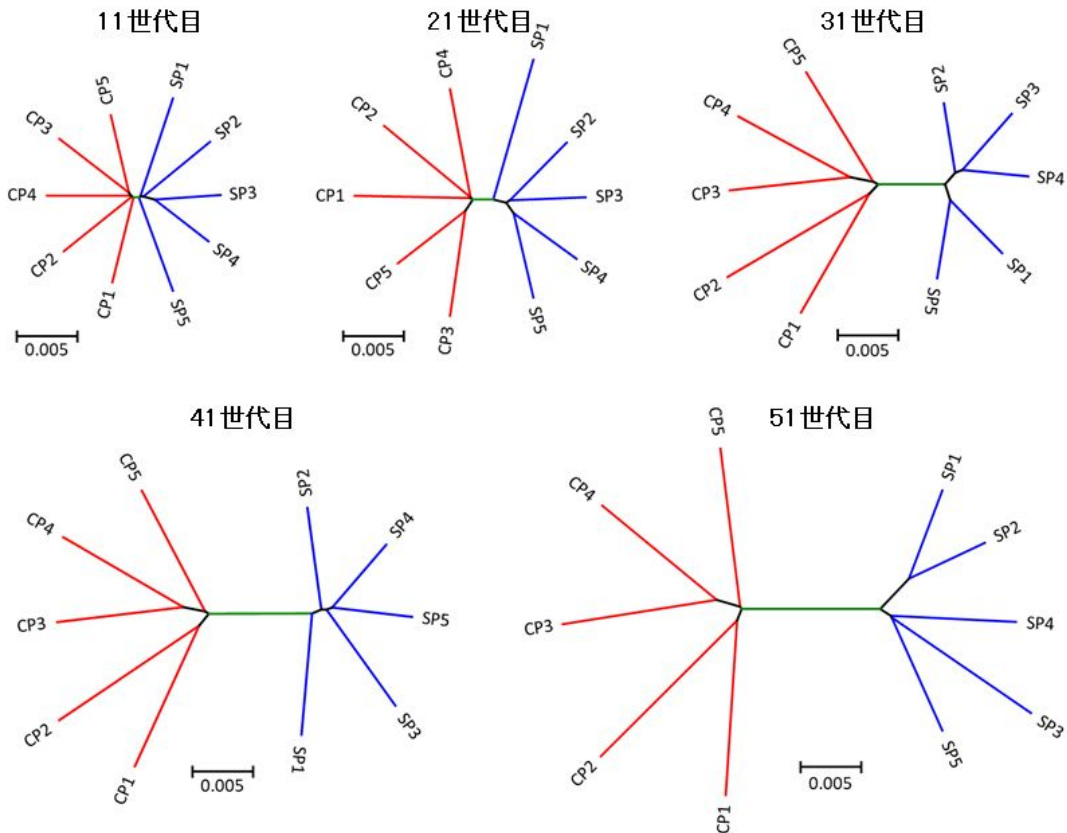


図2. 11、21、31、41、51世代目の実験集団間の系統関係

集団間の分化を示す F_{ST} を用い、近隣結合法によって推定した。赤色の枝は対照実験5集団(CP1~CP5)間の分化を、青色の枝は人為選択集団(SP1~SP5)間の分化、緑色の枝は対照実験集団・人為選択集団間の分化を示す。

一方、各集団に直接繋がる外部枝の長さを比べると、対照実験集団(赤色)・人為選択集団(青色)いずれの集団でも世代とともに長くなっているが、両集団間で比較すると人為選択5集団の枝はいずれも対照実験5集団の枝よりも短い。この結果は、集団間の分化は主に遺伝的浮動によって生じていると考えられるが、人為選択集団では選択の影響によって集団間の分化がある程度制約されていることを示唆する。これらの結果から、人為選択によって5集団に同様のゲノムの遺伝的構成になるような選択圧がかかったと結論付けられる。新たに生じた突然変異に自然

選択がはたらき進化が起こるという伝統的な進化モデルでは、集団毎に同一の遺伝的構成に進化することは期待されない。この場合、ゲノム中、他の領域に比較して顕著に遺伝的多様性が減少する“硬い”選択の一掃 (hard selective sweep) が観察されることが期待されるが、人為選択 5 集団のゲノムの遺伝的多様性を 1 ~ 10 kb ごと区切って調べても、そのような hard selective sweep の痕跡は見つからなかった。一方、既存の遺伝的変異に自然選択がはたらく“soft selective sweep from standing genetic variation” のモデルでは、既存の遺伝的変異は実験集団間で共有されることから、同一の選択圧によって同一の遺伝的構成に変化することが期待される。本研究で得られた人為選択集団における遺伝子頻度の変化は、このモデルから期待される結果とよく一致するため、人為選択集団の低温耐性の向上も、既存の遺伝的変異に選択がはたらいた結果であると示唆される。“柔らかい”選択の一掃は、自然集団中のゲノムの変異解析では検出されにくいので、本研究で用いた実験進化学的手法によって検出できることが示されたのは、本研究の大きな成果であると言える。

一方、低温耐性の最も大きな要因である低温順化に伴うトランスクリプトームの変化を調べた先行研究では、低温順化によって発現が変化する遺伝子は系統間で大きく異なり、その差異は低温順化の有無による差異よりはるかに大きいものであった。この結果からは、低温順化に参与する遺伝子には多様性があり、人為選択集団全てで共通する遺伝子が選択の対象となった結果とは一致しない。ゲノムとトランスクリプトームの違いなのか、低温順化にตอบสนองする遺伝子の集団間差異と集団内差異の違いなのか、両者を同時に説明する進化メカニズムを明らかにしていくことが今後に残された課題である。

(3) アカシヨウジョウバエが台湾から日本に移住した際、遺伝的浮動などの要因によって、低温適応に関連した遺伝子以外にも多くの遺伝子のアレル頻度が変化したと考えられる。一方、低温による人為選択を行った実験集団は、自然環境とは異なる研究室のケージの中で維持された。そのため、低温以外にも自然環境とは異なる実験集団特有の環境による選択を受けたと可能性もある。そこで、人為選択集団中で観察された遺伝子頻度の変化の中で、台湾から日本への移住に伴った遺伝子頻度の変化と共通するものを抽出するため、自然集団と人為選択集団を合わせて SNP 変異の主成分分析を行った。結果は図 3 に示す。

横軸の主成分分析の第 1 主成分(PC1)は日本集団が左端、その他の集団が右端に位置しており、台湾から日本への移住に伴って日本集団特異的に頻度が変化した遺伝子によって生じた成分であると考えられる。一方、第 2 主成分(PC2)は最下部に台湾、人為選択前の実験集団が位置し、人為選択集団の世代が進むにつれて上部に向かって移動し、最上部に日本集団が位置する成分となっている。すなわち、台湾の集団に人為選択をかけたところ、世代を経るにしたがって遺伝子頻度が日本集団の遺伝子頻度に向かって変化した遺伝子による成分であることを示す。そこで、ゲノム全領域に渡って 1 kb ウィンドウごとに第 2 主成分に対する主成分負荷量を求め、第 2 主成分との相関が高い領域を調べた。その中で、上位 0.1% に位置する 55 のウィンドウ中 47 のウィンドウが第 2 染色体右腕(2R) の先頭 3 Mb の中にあり、この領域が台湾から日本への移住と人為選択集団に共通した遺伝子頻度の変化が生じた領域であることが分かった。この領域は日本集団と人為選択集団に共通して塩基多様度も低い傾向が認められ、柔らかい選択の一掃の痕跡と解釈できる。今後、この領域にある遺伝子について機能解析を行い、低温順化や低温耐性との関連を見いだすことにより、低温耐性の進化機構を明らかにすることが期待できる。

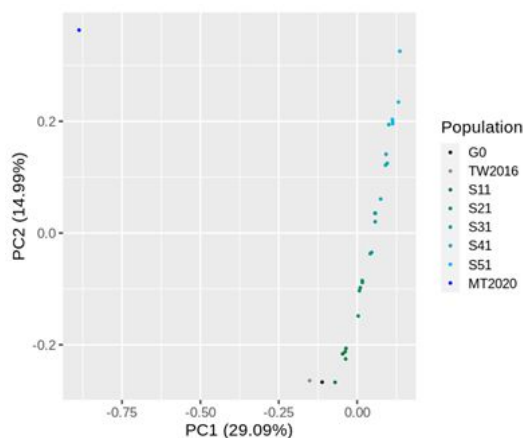


図3 . SNP 変異の主成分分析の結果

第 1 主成分(PC1)と第 2 主成分(PC2) の分布を示す。G0: 人為選択集団の 0 世代目(人為選択前)、TW2016: 台湾集団、S11 ~ S51: 11 ~ 51 世代目の人為選択集団、MT2020: 日本(松山)集団

< 引用文献 >

- Clarke CA, Mani GS, Wynne G. Evolution in reverse: clean air and the peppered moth. *Biol. J. Linn. Soc.* 26: 189-199. 1985.
- K Isobe, A Takahashi, K Tamura. Cold tolerance and metabolic rate increased by cold acclimation in *Drosophila albomicans* from natural populations. *Genes Genet. Syst.* 88:289-300. 2013.
- PW Messer, DA Petrov. Population genomics of rapid adaptation by soft selective sweeps. *Trends Ecol. Evol.* 28:659-669. 2013.
- Isobe K. Genetic analysis of cold tolerance in *Drosophila albomicans*. PhD dissertation, Tokyo Metro. Univ. 2014.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計17件（うち招待講演 2件 / うち国際学会 3件）

1. 発表者名 Kondo T, Ogawa Y, Kimura T, Tanaka K, Nozawa M, Watada M, Tamura K
2. 発表標題 Genome evolution for cold adaptation in experimental populations of <i>Drosophila albomicans</i>
3. 学会等名 Genome Concept Centennial Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Sultan Lulecioglu, Yoshitaka Ogawa, Koichiro Tamura
2. 発表標題 Population Genomic Analysis of <i>Drosophila albomicans</i> from Taiwan and Japan
3. 学会等名 日本進化学会第22回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Shikha Singh, Tomohiko Kimura, Kotoha Isobe, Koichiro Tamura
2. 発表標題 Comparative transcriptome analysis to reveal candidate genes for cold tolerance in <i>Drosophila albomicans</i> at different climate regions
3. 学会等名 日本進化学会第22回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Sheetal Agarwal, Koichiro Tamura
2. 発表標題 Evolutionary mechanisms of temperature adaptation through alternative splicing in circadian rhythmic genes
3. 学会等名 日本進化学会第22回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 近藤朋希, 小川佳孝, 田中健太郎, 田村浩一郎
2. 発表標題 アカショウジョウバエの低温適応の実験進化
3. 学会等名 日本進化学会第22回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 秋山茉莉, 田村浩一郎
2. 発表標題 アカショウジョウバエの温度耐性トレードオフの検証
3. 学会等名 日本進化学会第22回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 近藤朋希, 田中健太郎, 田村浩一郎
2. 発表標題 "Evolve & Resequence" for cold tolerance in <i>Drosophila albomicans</i>
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Luleciogle S, Ogawa Y, Tamura K
2. 発表標題 Whole genome comparisons of <i>Drosophila albomicans</i> populations from Taiwan and Japan
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Singh S, Kimura T, Isobe K, Tamura K
2. 発表標題 Transcriptome analysis to reveals candidate genes for cold tolerance in <i>Drosophila albomicans</i>
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 秋山茉莉, 田村浩一郎
2. 発表標題 Examining temperature tolerance trade-off in <i>Drosophila albomicans</i>
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 近藤朋希, 田中健太郎, 田村浩一郎
2. 発表標題 アカシヨウジョウバエの低温耐性を明らかにする "Evolve & Resequence"
3. 学会等名 日本遺伝学会第91回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tamura, Koichiro
2. 発表標題 Molecular basis of cold acclimation response for rapid adaptive evolution of cold tolerance in <i>Drosophila albomicans</i>
3. 学会等名 The 1st AsiaEvo Conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kimura T, SetoY, OgawaY, Nozawa M, Tamura K
2. 発表標題 Comparative transcriptome analyses for cold acclimation response in <i>Drosophila albomicans</i>
3. 学会等名 Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 近藤朋希, 田中健太郎, 田村浩一郎
2. 発表標題 人為選択実験集団を用いたアカショウジョウバエの低温耐性の研究
3. 学会等名 第20回日本進化学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 近藤朋希, 田中健太郎, 田村浩一郎
2. 発表標題 アカショウジョウバエにおける低温耐性の人為選択の効果
3. 学会等名 第90回日本遺伝学会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 木村友彦, 磯部琴葉, 田村浩一郎
2. 発表標題 比較トランスクリプトーム解析を用いたアカショウジョウバエの低温耐性の遺伝機構の解明
3. 学会等名 日本遺伝学会89回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木村友彦, 磯部琴葉, 田村浩一郎
2. 発表標題 アカショウジョウバエの低温耐性に関する比較トランスクリプトーム解析
3. 学会等名 日本進化学会第19回大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	和多田 正義 (Watada Masayoshi) (00210881)	愛媛大学・理学部・研究員 (16301)	
研究分担者	野澤 昌文 (Nozawa Masafumi) (50623534)	東京都立大学・理学研究科・准教授 (22604)	

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	小川 佳孝 (Ogawa Yoshitaka)	東京都立大学・理学研究科・リサーチアシスタント (22604)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------