

令和 2 年 5 月 28 日現在

機関番号：22604

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K17985

研究課題名(和文) ヒメジロ外部生殖器構造の多様化過程で起きた発生遺伝子ネットワークの変化

研究課題名(英文) Genetic basis of rapid divergence of *Drosophila* male external genitalia

研究代表者

田中 健太郎 (Tanaka, Kentaro)

首都大学東京・理学研究科・特任研究員

研究者番号：30774129

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)：交尾器形態はたとえ近縁な種間でも著しく異なる。交尾器の違いによって生じる機械的生殖的隔離は種と種を隔てる障壁として働くため、交尾器は種分化プロセスを理解するうえで重要な形態形質である。本研究では、キイロショウジョウバエ種亜群の雄の交尾器に着目し、種独自の交尾器形成に関わる遺伝子の特性を明らかにした。また、種分化初期段階にみられるような、僅かに交尾器形態が異なる場合でも雌雄交尾器のカップリングに不適合が生じていることも明らかになった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

交尾器形態は一般に進化速度の速い形態であることは広く認知されていることであったが、具体的にどのような遺伝子によって速く進化しているのかは不明であった。今回の研究結果からは、特定の遺伝子セットではなく、様々な発生関連遺伝子を利用することで交尾器形態は速い進化を遂げた可能性が見えてきた。また、種分化初期段階にみられるような、種間で交尾器形態が如実には違わない(少し異なる)場合でも交尾に不具合が生じることも明らかになった。種分化の初期段階においても交尾器は重要な役割を担っていたと考えられる。

研究成果の概要(英文)：Genital morphology evolves rapidly, especially in males. Incompatible genital coupling between species is one of the mechanisms of isolation of species. Therefore, understanding genetic basis and behavioral outcomes of rapidly evolving genital morphology is an important issue in biology. In this study, I focused on rapid divergence of male genital structures among *Drosophila melanogaster* species subgroup as a model. Comparative gene expression analysis suggested that species-specific genital morphology is specified by changing expression of species-specific genes rather than common genes. Behavioral study also suggested that partial replacement (introgression) by a sibling species genome can induce perturbations in genital coupling mechanics, suggesting that genital compatibility can be susceptible to subtle genomic changes at the early stages of divergence.

研究分野：進化生物学、進化発生生物学

キーワード：交尾器 形態進化 キイロショウジョウバエ

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 進化の過程において新しい機能を担うユニークな構造が出現することは珍しく無い。例えば、キイロショウジョウバエ種亜群の共通祖先で出現した外部生殖器後葉(英:posterior lobe)は交尾の際に雌の腹部を固定するために使われる、新たな機能を持った雄固有の構造である。外部生殖器後葉の形成には、幼虫の後方気門の形成に使われていた形態形成遺伝子が雄外部生殖器の発生遺伝子ネットワークに組み込まれたことが原因であることが明らかになっている(Glassfold et al. 2016)。

カプトムシのツノのように新しく出現した構造は種分化に伴い、種固有の進化を遂げる。外部生殖器後葉も大きさや形状に種間多様性が見られる。構造が多様化する際、発生遺伝子ネットワークに起こる変化は、更に新しい遺伝子が組み込まれることで起こる変化と既にネットワークを形成している遺伝子が改変されて起こる変化の二通りが考えられる。後者の既にネットワークを形成している遺伝子を進化発生的視点から分類すると、構造の出現の際に組み込まれた遺伝子と構造の出現以前からネットワークを形成していた遺伝子の二つに更に区別できる。

構造の多様化の段階で起きた発生遺伝子ネットワークの変化を解明するためには、構造の多様化に関与した原因遺伝子を同定する必要がある。オナジショウジョウバエ、モーリシャスショウジョウバエ、セーシェルショウジョウバエの交雑から得られる雑種雌は妊性を持つことから、順遺伝学的手法を用いて原因遺伝子の同定に向けた研究が進められてきた。例えば、オナジショウジョウバエとモーリシャスショウジョウバエ間の量的形質遺伝子座(QTL)マッピング解析では、大きさの違いには8領域、形状の違いには19のゲノム領域が関与していることが報告されている(True et al. 1997; Zeng et al. 2000)。第3染色体上のQTL領域に着目した解析では、大きさと形状の両方に効果のある3領域と大きさのみに効果がある1領域、計4つのQTL領域が第3染色体上に存在することが報告されており、うち1つの領域については約560 kbまで領域が絞込まれていた(Tanaka et al. 2015)。

(2) 進化速度の速い交尾器形態は種間の交雑を妨げる生殖的隔離機構としても働く。実際に、オナジショウジョウバエとモーリシャスショウジョウバエの種間交雑では、同種ペアに比べて交尾時間が短くなり、雌が受け取る精子の数や生まれる次世代の数も減ることから、交尾器不適合による生殖的隔離が生じていると考えられている(Coyne 1983; Robertson 1983; Price et al. 2001)。しかし、両種の交尾器を見比べると、複数の交尾器構造の違いがみられるため、種分化直後のように、交尾器構造が僅かにことなる場合でも、機械的生殖的が生じるかは不明なままであった。

2. 研究の目的

(1) キイロショウジョウバエ種亜群をモデルに、新奇に出現した形態形質が種固有な進化が起こる際にどのような変化が生じているかを明らかにすること、更に、実際にどの遺伝子が種間の交尾器形態差を生み出しているのか明らかにすることを目的として研究をおこなった。

(2) 些細な交尾器形態の違いが種間交雑時の交尾器のカップリングにどのような影響を及ぼしているのか明らかにすることを目的として研究をおこなった。

3. 研究の方法

(1) 新奇に出現した形態形質が種固有な進化が起こる際にどのような遺伝的な変化が生じたのか明らかにするために、RNA-seq法を用いて種間遺伝子発現比較解析をおこなった。ショウジョウバエの交尾器の形態形成が進行中の蛹化後30時間と45時間の雄の蛹の交尾器組織を含む腹部末端からRNAを抽出し、ライブラリー作成後に次世代シーケンサーを用いてシーケンスリードを取得し、遺伝子発現比較解析をおこなった。

また、オナジショウジョウバエとモーリシャスショウジョウバエについては先行研究から交尾器形態差をうみだす原因のゲノム領域が同定されていたため、その領域中に存在する遺伝子発現パターンを種間で比較し、候補遺伝子のスクリーニングをおこない、最終的にはゲノム編集個体を作成することで原因遺伝子の同定をおこなった。

(2) 些細な交尾器形態の違いが種間交雑時の交尾器のカップリングにどのような影響を及ぼしているのか明らかにするために、交尾器形態を改変したイントログレッション系統を複数作成した。ここで作成したイントログレッション系統は、オナジショウジョウバエのゲノムの一部がモーリシャスショウジョウバエ由来のゲノムに置き換わった系統であるため、基本的な交尾器構造はオナジショウジョウバエに近い構造を示すものの、局所的にはモーリシャスショウジョウバエに近い形態も併せ持つ。イントログレッション系統の雄とオナジショウジョウバエ雌の交尾パターンやカップリング様式を録画、観察することで交尾器不適合の有無を検証した。

4. 研究成果

(1) キイロショウジョウバエ、オナジショウジョウバエ、モーリシャスショウジョウバエ、セーシェルショウジョウバエの形態形成段階にある交尾器で発現する遺伝子の発現量を比較

したところ、近縁な種であるにも関わらず、多くの遺伝子がペア種間で発現変動していることが分かった（最小で 1679 遺伝子、最大で 3859 遺伝子）。これら発現変動遺伝子を、全ての種で共通して発現変動している遺伝子と、特定の種のみで発現変動している遺伝子に分類した所、どの種でも発現変動している遺伝子に比べ、種固有に発現変動する遺伝子が多く存在していた（蛹化後 30 時間の場合、全ての種で共通に変動する遺伝子は 29 遺伝子、各種で変動する遺伝子は、キイロショウジョウバエ 377 遺伝子、オナジショウジョウバエ 158 遺伝子、オナジショウジョウバエ 182 遺伝子、セーシェルショウジョウバエ 325 遺伝子；蛹化後 45 時間の場合、全ての種で共通に変動する遺伝子は 17 遺伝子、各種で変動する遺伝子は、キイロショウジョウバエ 575 遺伝子、オナジショウジョウバエ 188 遺伝子、オナジショウジョウバエ 558 遺伝子、セーシェルショウジョウバエ 259 遺伝子）。また、外部生殖器後葉が構造の出現の際に組み込まれた遺伝子が発現に変動しているか。その結果、構造の出現の際に組み込まれたとされている遺伝子のうち種間で発現変動している遺伝子は 16 遺伝子中 1 遺伝子のみであった。また、この遺伝子はオナジショウジョウバエのみで発現変動している遺伝子であった。このこと結果は、新たに獲得された形態構造が種固有の形態へ進化するには、新しく組み込まれた遺伝子ではなく、既存の遺伝子によって多様性が創出されていることを示唆する結果となった。

オナジショウジョウバエとモーリシャスショウジョウバエについては先行研究から交尾器形態差をうみだす原因のゲノム領域が同定されていたため、その領域中に存在する遺伝子について、交尾器形態形成中に発現しているか、発現しているのであれば種間で発現変動しているか調べたところ、第 3 染色体上の *tartan* 遺伝子がどちらの種でも強く発現しており、しかも二種間の発現量に有意な差も認められた。Oxford Brookes 大学（英）との共同研究により、この遺伝子をゲノム編集し、それぞれの種の *tartan* 遺伝子の働きに違いがあるか調べた所、実際、オナジショウジョウバエ由来の *tartan* 遺伝子はオナジショウジョウバエ様の交尾器形態形成を誘導し、モーリシャスショウジョウバエ由来の *tartan* 遺伝子はモーリシャスショウジョウバエ様の交尾器形態形成を誘導していることが明らかになった。遺伝子配列比較から、*tartan* 遺伝子コード領域ではなく、遺伝子発現調節領域に生じた遺伝的変異がこれら二種間の交尾器形態の違いを生み出していることも示唆されている。

(2) 些細な交尾器形態の違いが種間交雑時の交尾器のカップリングにどのような影響を及ぼしているのか明らかにするために、オナジショウジョウバエとモーリシャスショウジョウバエから作成したイントログレッション系統の交尾行動を観察したところ、オナジショウジョウバエの雌雄ペアに比べ、交尾時間が長くなるオナジショウジョウバエ雌とイントログレッション雄のペアが見つかった。交尾時間が長くなる原因を詳細に調査した所、このペアでは頻繁に精液漏れが生じており、雌の体内に収まらなかった高い精液が接着剤のように働くことで雌雄交尾器の乖離を妨げているために、見かけ上、交尾時間が長くなっていることが分かった。また、頻繁に性液漏れを起こすイントログレッション系統の雄の交尾器は肛版と呼ばれる構造がモーリシャスショウジョウバエ様に肥大していた。この結果は、ゲノムの一部が多種由来に置き換わることによって生じる些細な交尾器の改変でも、雌雄交尾器カップリングの不適合が生じることを示唆しており、種分化の初期段階から交尾器による機械的生殖的隔離が生じるという考えを支持する結果となった。

< 引用文献 >

- Glassford, W. J., W. C. Johnson, N. R. Dall, Y. Liu, W. Boll, M. Noll, M. Rebeiz, S. J. Smith, Y. Liu, W. Boll, M. Noll, M. Rebeiz, S. J. Smith, Y. Liu, W. Boll, M. Noll, and M. Rebeiz. 2015. Co-option of an ancestral Hox-regulated network underlies a recently evolved morphological novelty. *Dev. Cell* 34:520-531.
- True, J., J. Liu, L. Stam, Z. Zeng, and C. Laurie. 1997. Quantitative genetic analysis of divergence in male secondary sexual traits between *Drosophila simulans* and *Drosophila mauritiana*. *Evolution* (N. Y). 51:816-832.
- Zeng, Z., J. Liu, L. F. Stam, C. Kao, J. M. Mercer, and C. C. Laurie. 2000. Genetic Architecture of a Morphological Shape Difference Between Two *Drosophila* Species. *Genetics* 154:299-310.
- Tanaka, K. M., C. Hopfen, M. R. Herbert, C. Schlotterer, D. L. Stern, J. P. Masly, a. P. McGregor, and M. D. S. Nunes. 2015. Genetic Architecture and Functional Characterization of Genes Underlying the Rapid Diversification of Male External Genitalia Between *Drosophila simulans* and *Drosophila mauritiana*. *Genetics* 200:357-369.
- Price, C. S., C. H. Kim, C. J. Gronlund, and J. A. Coyne. 2001. Cryptic reproductive isolation in the *Drosophila simulans* species complex. *Evolution* 55:81-92.
- Coyne, J. A. 1993. The genetics of an isolating mechanism between two sibling species of *Drosophila*. *Evolution* 47:778-788.
- Robertson, H. M. 1983. Mating behavior and the evolution of *Drosophila mauritiana*. *Evolution* 37:1283-1293.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Hagen Joanna F. D., Mendes Cludia C., Blogg Amber, Payne Alexander, Tanaka Kentaro M., Gaspar Pedro, Figueras Jimenez Javier, Kittelmann Maike, McGregor Alistair P., Nunes Maria D. S.	4. 巻 116
2. 論文標題 tartan underlies the evolution of Drosophila male genital morphology	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences	6. 最初と最後の頁 19025 ~ 19030
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1073/pnas.1909829116	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 該当する

1. 著者名 高橋 文、田中 健太郎	4. 巻 69
2. 論文標題 種分化の遺伝学を目指して：モデル生物キイロショウジョウバエの利点と難点	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 日本生態学会誌	6. 最初と最後の頁 183 ~ 190
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.18960/seitai.69.3_183	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -

1. 著者名 Tanaka KM, Kamimura Y and Takahashi A	4. 巻 72(11)
2. 論文標題 Mechanical incompatibility caused by modifications of multiple male genital structures using genomic introgression in Drosophila	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 EVOLUTION	6. 最初と最後の頁 2406-2418
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1111/evo.13592	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Muto L, Kamimura Y, Tanaka KM and Takahashi A	4. 巻 285
2. 論文標題 An innovative ovipositor for niche exploitation impacts genital coevolution between sexes in a fruit-damaging Drosophila	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Proceedings of the Royal Society B	6. 最初と最後の頁 20181635
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) https://doi.org/10.1098/rspb.2018.1635	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Tanaka KM, Buckman TC, Masly JP
2. 発表標題 Deciphering cellular dynamics underlying rapid male genital diversification in <i>Drosophila melanogaster</i> species complex
3. 学会等名 Asia Pacific <i>Drosophila</i> Research Conference 5 (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 田中健太郎, 上村佳孝, 高橋文
2. 発表標題 種間変異がもたらすショウジョウバエ交尾器の接合時不適合性
3. 学会等名 第35回個体群生態学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanaka KM, Buckman TC, Masly JP
2. 発表標題 Developmental and gene expression dynamics underlying rapid morphological evolution of <i>Drosophila</i> male genitalia
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 Tanaka KM
2. 発表標題 Deciphering genital incompatibility by genomic introgression in <i>Drosophila</i>
3. 学会等名 Mini-Symposium: Sexual Selection in Insects (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Tanaka KM, Kamimura Y and Takahashi A
2. 発表標題 How would you like to copulate? Rapid morphological evolution of male genitalia
3. 学会等名 第13回日本ショウジョウバエ研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Tanaka KM, Kamimura Y, Takahashi A
2. 発表標題 Genetic basis underlying rapid divergence of male genital morphology between sibling species of Drosophila
3. 学会等名 The 46th NAITO CONFERENCE: Mechanisms of Evolution and Biodiversity
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 田中健太郎, 高橋文
2. 発表標題 機械的隔離に関わる交尾器形態進化の遺伝的基盤
3. 学会等名 日本進化学会第20回大会
4. 発表年 2018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
---------	---------------------------	-----------------------	----