

令和 3 年 6 月 14 日現在

機関番号：63801

研究種目：若手研究

研究期間：2018～2020

課題番号：18K14764

研究課題名(和文)新規環境進入におけるゲノムとエピゲノム機構

研究課題名(英文) Genomic and epigenomic mechanisms of adaptation for new environment

研究代表者

山崎 曜 (Yamasaki, Yo)

国立遺伝学研究所・ゲノム・進化研究系・特別研究員(PD)

研究者番号：40816021

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)：本研究はトゲウオ科魚類のイトヨを対象に、海域と淡水域を回遊する集団が淡水に残留する際に生じた適応をゲノムとエピゲノムの両面から明らかにすることを目的とした。日本のイトヨ淡水性集団を対象とした表現型の観察から、淡水型集団では欧米で見られるような防御形質の減少は多くの集団では起きておらず、起きている集団においても欧米とは異なる原因変異で生じていた。全ゲノム解析から、様々な年代に淡水化したこと、また各集団で新しく獲得した変異で適応している可能性が示唆された。また複数の淡水性集団と回遊集団を対象に飼育実験を行い、異なる塩分環境間でのメチル化パターンの違いを調べることができるサンプルを得た。

研究成果の学術的意義や社会的意義

現時点での本研究の成果は遺伝的側面に限られるものの、それらは平行進化の遺伝的メカニズムの解明に洞察を与えうる。欧米ではイトヨの淡水性集団は、類似した時期に集団間で共通の遺伝的変異で淡水適応している場合が多いことが知られている。いっぽうで本研究の成果から、日本の集団では各淡水性集団が異なる時期に異なる変異を用いて淡水適応している場合が多いことが分かってきた。これは欧米と日本でイトヨの集団遺伝構造が異なることが原因である可能性がある。今後も欧米と異なる特徴を持つ日本の集団を追跡・比較することで、これまで見過ごされてきた平行進化のメカニズムを明らかにできる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：The purpose of this study was to elucidate the adaptations from marine to freshwater environment in *Gasterosteus aculeatus*, by using genomics and epigenomics technique. Phenotypic observations showed that most freshwater populations do not exhibit the reduction in defensive traits which was seen in Europe and North America. Interestingly, a few Japanese freshwater populations that shows defensive trait reduction like North America and Europe do not shared the same mutation with them. Whole-genome sequencing analysis suggested that the freshwater populations may have adapted to freshwater at different ages and that each population may have adapted with newly acquired mutations. I also conducted rearing experiments on multiple freshwater and migratory populations to obtain samples that could be used to examine differences in methylation patterns among different saline environments.

研究分野：進化生態学

キーワード：平行進化 全ゲノム解析 淡水適応 トゲウオ科 浸透圧 DNAメチル化 表現型可塑性 遺伝的同化

1. 研究開始当初の背景

新規環境への進入後に集団が受ける新たな選択圧は、表現型の適応的分化を促進する。しかし多くの場合、新規環境進入初期の集団は、従来環境よりも適応度が低いと考えられる。進入直後の適応度の低い状況が如何に急速に解消され、絶滅をまぬがれて表現型の多様化に繋がるかという問いは、適応的な多様化の初期過程における重要課題である (Schluter, 2000)。この状態を解消する一つのメカニズムが、適応的な可塑性である。ここで、可塑性による応答で適応度の低い状態をしのいだ後に遺伝的な適応進化が追従する可能性がある。その結果、可塑性を失って適応的な形質が発現し続けるようになる現象は遺伝的同化と呼ばれる。遺伝的同化は新規環境進入のメカニズムの一つとして重要な可能性が指摘されている (Pfennig et al. 2010: TREE)。しかし逆に、コストがないのであれば可塑性での対処が続き、遺伝的な適応進化はむしろ生じにくくなるとする予測もある (Paenke et al. 2007: Am. Nat.)。以上の議論に対し野外での研究例は少なく、新規環境進入時に遺伝的同化が起きたかどうかの検証は進化生物学の古典的な課題のひとつとされている (Levis & Pfennig, 2016: TREE)。

2. 研究の目的

遺伝的同化を検証するためには、遺伝的な適応進化と表現型可塑性を対応づけ、同時に検討する必要がある。そこで可塑性の一つとして DNA メチル化に着目した。DNA メチル化はゲノムの CpG 部位など特定の塩基へのメチル基の着脱により、遺伝子発現を可塑的に制御する機構である。祖先集団においては従来環境と新規環境の間で可塑的な着脱を示すが、新規環境へ進入した派生集団では可塑的な応答が失われたメチル化領域があるとする。そしてそのメチル化の可塑的な着脱を制御するゲノム領域に自然選択の痕跡が見つかったとすれば、可塑性の喪失が適応的に生じた可能性、つまり遺伝的同化が起きたことを強く示唆する。

この検討にトゲウオ科魚類のイトヨの淡水進出は最適である。第一に、イトヨは川で産卵し海で成長する回遊魚であることから、海水—淡水環境間での高い可塑性を有することが分かっている。第二に、遺伝的同化は進入してからの時間が経過するに従って起こりやすくなることが予想されるが、イトヨには異なる時期に淡水域に進出した複数の集団が存在するため、淡水進入後の進化期間を考慮した検討が可能である。第三に、海域と淡水域は浸透圧などの様々な環境条件が異なるため、多様なゲノム領域に選択が掛かることが知られる一方で (Seehausen & Wagner, 2014; Annu. Rev. Ecol. Evol. Syst.)、短期的に複数の遺伝子座を進化させるのは難しい。そのため、表現型可塑性の役割が淡水進出の初期に重要であったと予想され、可塑性と適応進化が相互作用しつつ淡水進出が進行したことが期待される。

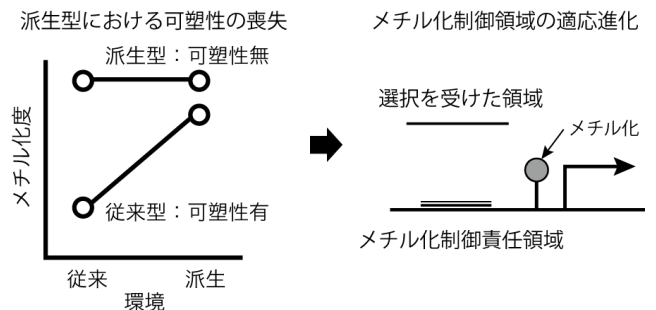


Fig. 1 本研究のアイデア。遺伝的同化パターンを示すメチル化を探索した後、その制御領域への自然選択の有無を検証する。

本研究の目的は、DNA メチル化による可塑性と配列変化による適応進化の両者を対応づける新たなアプローチを用い、イトヨが淡水域へ進出した際に遺伝的同化が起きた候補領域をゲノム全体から探索することである。

### 3. 研究の方法

以下の三項目を実施した。まず日本の淡水性イトヨ集団について淡水域への適応の実態の把握を目的とした研究を行った。複数の淡水性集団と回遊性集団について表現型の観察を行った。また全ゲノムの解読を行い、そのデータに基づきアレル頻度スペクトル分析を行うことで、各淡水性集団の淡水化年代などの集団の歴史の高精度な推定を行った。同じデータを用いて自然選択を受けたゲノム領域の推定を行った。

次に、4つの淡水性集団と1つの回遊集団を対象に、稚魚期より塩分環境の異なる二つの実験区（淡水区、50%海水区）で60日間飼育し、塩分環境間で異なるメチル化が可塑的に導入されるかの実験を行った。塩分環境の変更前、そして塩分環境を変更後14日目と60日目に淡水区と50%海水区から4匹ずつサンプリングを行った。一部のサンプルについてPBAT法によるバイサルファイトシーケンスを行った。

最後にメチル化の制御を行うゲノム領域を推定するQTLマッピングに使用する家系の作成とメチル化導入実験を行った。

### 4. 研究成果

欧米では淡水域に進出すると、鱗が変形した防御形質である鱗板の枚数が減少することが知られている。しかし表現型観察の結果から、日本の淡水性集団で鱗板枚数が減少しているのは3集団であり、他の集団では鱗板は減少していないことが示された (Fig.2)。欧米ではこの鱗板枚数の減少は *Eda* 遺伝子の共通の変異によって達成されているが、遺伝子配列解析から日本の集団では異なる変異が用いられて同様の鱗板枚数の減少が達成されていることが示された。いっぽうで鱗板のサイズが退縮している場合もいくつかの集団で観察された (Yamasaki et al. 2019 Ecol. Evol. Res.).

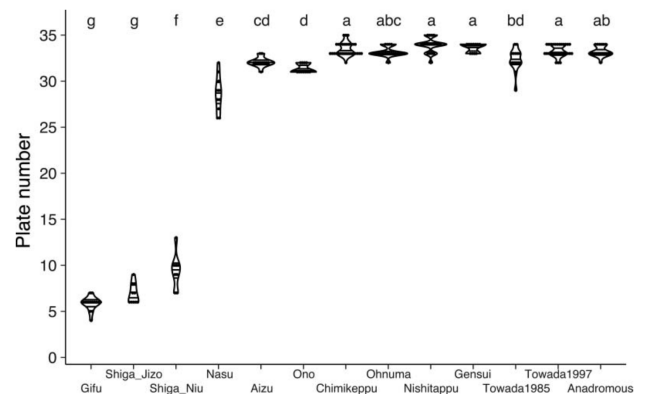


Fig.2 各集団の鱗板枚数(Yamasaki et al. 2019 Ecol. Evol. Res.)

ソフトウェア Fastsimcoal2 を用いて淡水集団と回遊集団の分岐年代および遺伝子流動量を推定した。分岐年代については、当初の予想通り、数千年の若い集団から十数万年の古い集団まで、国内での各集団の淡水化年代は様々に異なることが確認できた (Fig.3)。集団間での遺伝子流動量を推定したところ、ほとんどの集団間で世代当たり 0.01 個体を下回るなど、非常に低いことが示唆された。

欧米では回遊型が低頻度で保有している淡

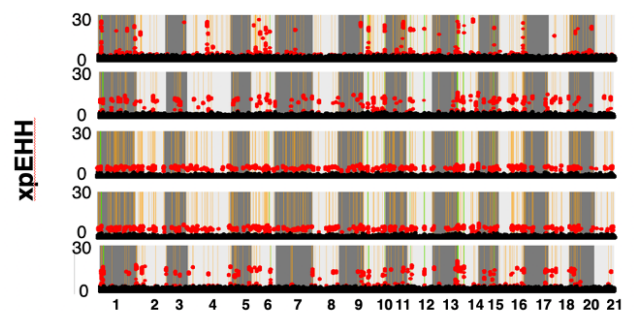


Fig3. 各淡水集団で自然選択を受けた可能性のある領域。

水適応アレルが新たな淡水適応に利用されることで、同じゲノム領域が繰り返し淡水進出に使用されていることがわかっている。そこで日本の淡水集団において共通して淡水化に利用されたと考えられる領域を探索したが、そのような領域はほとんどないことが示唆された。淡水型と回遊型の間の遺伝子流動量が低いことで遺伝子の共有が起こりにくい状況であったことが原因のひとつと考えられる。いっぽうで自然選択の痕跡そのものは多数発見された。以上から、日本の淡水集団の適応進化はそれぞれの集団で独自に獲得した変異によって適応進化が進行してきた割合が欧米よりも高いことが示唆された。

メチル化導入の飼育実験およびメチル化制御領域の QTL 解析を完遂し、解析に供する十分なサンプルを得ることができた。これらのサンプル、およびバイサルファイトシークエンスの結果は現在解析中である。追加の解析を行った後に結果を論文にまとめる。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件／うち国際共著 1件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yo Y. Yamasaki, Seiichi Mori, Tomoyuki Kokita, Jun Kitano	4. 巻 印刷中
2. 論文標題 Armor plate diversity in Japanese freshwater threespine sticklebacks.	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Evolutionary Ecology Research	6. 最初と最後の頁 印刷中
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	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 Yamasaki Yo Y., Kakioka Ryo, Takahashi Hiroshi, Toyoda Atsushi, Nagano Atsushi J., Machida Yoshiyasu, Müller Peter R., Kitano Jun	4. 巻 375
2. 論文標題 Genome-wide patterns of divergence and introgression after secondary contact between <i>Pungitius</i> sticklebacks	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences	6. 最初と最後の頁 20190548
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1098/rstb.2019.0548	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

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Yo Yamasaki, Jun Kitano
2. 発表標題 Genetics and genomics of parallel evolution without gene flow
3. 学会等名 日本進化学会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Yo Yamasaki, Jun Kitano
2. 発表標題 Genetics and genomics of parallel evolution without gene flow.
3. 学会等名 Congress of the European Society for Evolutionary Biology 2019 (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 山崎 曜, 北野潤
2. 発表標題 日本産イトヨ類の平行的淡水進出の集団ゲノミクス
3. 学会等名 日本生態学会
4. 発表年 2019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

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		
デンマーク	Natural History Museum of Denmark	University of Copenhagen	