

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 6 日現在

機関番号：14401

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2013

課題番号：23770086

研究課題名(和文) 種間交雑による新奇な体表模様パターンの形成と種分化

研究課題名(英文) Speciation and novel color pattern formation by hybridization

研究代表者

宮澤 清太 (MIYAZAWA, Seita)

大阪大学・生命機能研究科・助教

研究者番号：10377905

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,500,000円、(間接経費) 1,050,000円

研究成果の概要(和文)：動物の体表に見られる多彩な模様パターンは、生物の多様性を鮮やかに示す実例であるばかりでなく、まさにその多様性を生み出す要因ともなり得る。本研究課題では、種間交雑による「模様パターンの混合」がパターンの多様性や種分化に及ぼす影響を検討し、動物の体表模様の多様性を生み出すメカニズムの一端を明らかにするため、数理的検討ならびにトラフグ属魚種を対象とした模様パターンの混合の実例の探索と検証を行った。

研究成果の概要(英文)：Animal color patterns are not only the most vivid examples of the enormous biodiversity, but also the potential cause for the biodiversity. To explore and evaluate the effect of 'pattern blending' by hybridization on the color pattern diversity and speciation, numerical simulation was performed. The color patterns of pufferfish (genus Takifugu) were also examined as illustrative examples.

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：模様パターン 種分化

1. 研究開始当初の背景

(1) 動物の体表に見られる多彩な模様(色調・パターン)は生物多様性の象徴と言える。体表模様によって交配相手や同種が識別される例は多く知られており、色調やパターンの違いが生殖的隔離や種分化の要因となる場合も少なくないと考えられる。実際、シクリッドに関する研究(Seehausen et al. *Nature* 2008)では、体表の色調と視覚の差異により種分化が生じたメカニズムが明確に示された。他方、模様のもう1つの要素である「パターン」の形成過程については、多数の因子が相互作用する複雑なメカニズムと推測されているものの、詳細は明らかになっておらず、そのため、生殖的隔離を引き起こすような模様パターンの違いが生じる機構についてもほとんどわかっていなかった。

(2) 一方、研究代表者らの先行研究によって、模様パターン形成の基礎的なメカニズムについて数理モデルと実験的手法をあわせた解析が行われており、本研究開始当初までに、模様パターンの多様性に関して次のような知見が得られていた(Miyazawa et al. *Nature Communications* 2010)。

模様は交雑により「混ぜる」ことができる。模様を「混ぜる」と、まったく別の複雑な模様になる。

(3) 植物では種間交雑によって新しい種が形成されるケースがよく知られているが、そのほとんどは倍数性の変化を伴うものである。交雑起源の種が分化するためには、親種との生殖的隔離の成立、新たなニッチの獲得の2点が必要とされるが、倍数化を伴わない交雑では交雑種と親種との間の生殖的隔離は生じにくく、また交雑個体は一般に両親種の間中間的な形質をもつ(親種と似ている)ことが多いため、親種と異なる環境への適応も困難である。そのため、動物においては「交雑による種分化」は極めて稀であるとされていた。

2. 研究の目的

研究代表者らが見出した「模様の混合による新奇パターンの形成」という現象では、2次元的な量的形質である模様パターンが上記のどちらの条件も満たす(模様の違い・嗜好性による親種との生殖的隔離、擬態的な新奇パターンによる新たな環境への適応)ように働く可能性が考えられた。そこで本研究では、種間交雑による「模様パターンの混合」がパターンの多様性や種分化に及ぼす影響を検討し、動物の体表模様の多様性を生み出すメカニズムの一端を明らかにするため、以下の項で示すような数理的検討と、トラフグ属魚種を対象とした模様パターンの混合の実例の探索と検証を試みた。

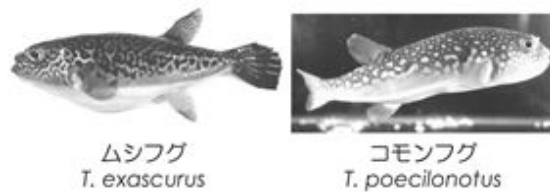
3. 研究の方法

(1) 「模様パターンの混合」が種分化を引き起こす条件の数理的検討

反応拡散モデルによる模様パターンの形成過程を組み込んだシミュレーションモデルを構築し、模様パターンを自動的に定量化するシステムと合わせて、交雑による「模様パターンの混合」がどのような条件のもとでパターンの多様性や種分化を引き起こし得るか、検討を行った。

(2) トラフグ属魚種を対象とした「模様パターンの混合」の実例の探索と検証

多様な模様パターンの魚種が属内に存在するトラフグ属魚種を対象として、とくに迷宮状の特異な模様をもつ稀少種ムシフグ *Takifugu exascurus*、およびその近縁種で斑点模様をもつコモンフグ *T. poecilonotus* を中心に、AFLP法やmtDNA、ITS領域を含む複数の核遺伝子の配列解析を行い、過去に種間交雑や遺伝子浸透が生じていた可能性の検証ならびに「模様パターンの混合」の実例の探索を試みた。



(3) 模様パターンのバリエーションをもたらす因子の解析

模様パターン研究のモデル生物であるゼブラフィッシュで見出されている複数の模様パターン関連遺伝子を対象として、模様の異なるトラフグ属魚種間で比較解析を行い、模様パターンの違いに関わる因子の同定を試みた。

4. 研究成果

(1) 「模様パターンの混合」が種分化を引き起こす条件の数理的検討

シミュレーションモデルを用いた検討の結果、白斑点模様と黒斑点模様との交雑により「模様パターンの混合」が生じ、迷宮状の模様をもつ交雑個体が生まれるような条件のもとでも、世代が進むに従って多くの場合親種の斑点模様パターンに収束してしまうが、環境条件の違いにより迷宮状パターンが有利となるような状況も生じ得、そのような条件のもとでは迷宮状のパターンをもつ個体のみが生き残るケースも観察されることがわかった。親種である白斑点模様、黒斑点模様と、交雑種である迷宮状模様の3つの模様パターン種がすべて同時に生き残り、種分化

が確立された状態に発展するようなケースは今回の条件下では観察されず、そのような状況が生じるためにはさらに空間的な条件を考慮に入れる必要がある可能性が示唆された。

(2) トラフグ属魚種を対象とした「模様パターンの混合」の実例の探索と検証

トラフグ属魚種のサンプル収集

模様パターンの異なるトラフグ属魚類各種のサンプル収集を、下関市立しものせき水族館の土井氏を始め各地の水族館、研究機関、漁業関係者のみなさまのご協力のもと行った。迷宮状の模様パターンをもつムシフグについては稀少種であるため収集が難航したが、これまでに生息が確認されている日本海側、太平洋側の複数の地点を対象として調査を行い、とくに新潟大学理学部附属臨海実験所の安房田助教らのご協力のもと、新潟県佐渡島において6月頃の産卵期に成熟個体が集まるポイントを発見し、生体サンプルを採集することに成功した。

トラフグ属魚種の DNA 塩基配列解析による交雑、遺伝子浸透の検証

ムシフグが稀少種であること、個体ごとに程度の異なるやや乱れた迷宮状の模様をもつことなどから、「ムシフグ」が白斑点種と黒斑点種の交雑の結果生じた交雑 F1 個体である可能性を当初考えた。そこでまずミトコンドリア DNA 全塩基配列を決定し、トラフグ属他魚種との比較を行った。その結果、日本海側と太平洋側のムシフグ個体間で地域変異が見られること、さらに太平洋側ムシフグ個体のミトコンドリア DNA 全塩基配列がコモフグのものとはほぼ一致するということが明らかとなった。これまでに得られている全ムシフグサンプルについてミトコンドリア DNA 調節領域の配列を解析したところ、採集地点が明確でない1個体分を除き、日本海側個体群、太平洋側個体群とで完全に分かれ、それぞれ日本海側型、太平洋側型のハプロタイプをもつことが判明した。一方、核遺伝子の解析では、アルデヒドデヒドロゲナーゼ遺伝子のイントロン部位にムシフグのみに見られる挿入配列が見出され、これは日本海側集団、太平洋側集団ともすべてのムシフグサンプルで確認された。これらの結果から、ムシフグが交雑 F1 個体である可能性については除外され、太平洋側ムシフグ集団にはコモフグからのミトコンドリア遺伝子浸透が生じているということが明らかとなった。また、リボソーム DNA 配列 ITS 領域の解析から、ムシフグ個体内に複数種類の ITS 配列が見られることが明らかとなった。日本海側ムシフグ集団、太平洋側ムシフグ集団とも、コモフグに見られるものとはほぼ一致する ITS 配列の他、ムシフグ特有の配列も共通に保持しており、これらの結果からはムシフグの進化過程で他のフグとの間に交雑が生じていた可能

性が示唆された。現在ムシフグ、コモフグの全ゲノム配列を対象とした解析を進めており、トラフグ魚種の進化過程で模様パターンのバリエーションや種分化に交雑が及ぼした影響について、今後より詳細かつ網羅的なデータをもとに検証を行っていく予定である。

(3) 模様パターンのバリエーションをもたらし因子の解析

ゼブラフィッシュ模様パターンの変異に関連する遺伝子の中でも、これまで最も研究が進んでいるのはギャップ結合に関わるコネキシン 41.8 である。野生型ゼブラフィッシュはストライプパターンを示すが、コネキシン 41.8 遺伝子に変異をもつ leopard 変異体は黒斑点模様を示し、劇的に模様パターンが異なる。ストライプの方向性・異性を考慮に入れなければ、ムシフグの迷宮状模様と野生型ゼブラフィッシュの縦縞とは同様の構造とも考えられる。コモフグの白斑点模様とのパターンの違いがゼブラフィッシュ野生型と leopard 変異体との違いと同じくコネキシン遺伝子に起因するという可能性を考え、トラフグ属魚種のコネキシン 41.8、45.6 遺伝子の比較解析を行った。結果、一部魚種においてコーディング領域の一部に配列の違いが見られたものの、ストライプ/迷宮模様、斑点模様の違いとの相関は認められず、トラフグ属魚種模様パターンのバリエーションに対するコネキシン 41.8、45.6 遺伝子の関与の可能性は低いことが示唆された。一方、ムシフグ、コモフグにおける色素細胞の観察から、これら色素細胞の配置パターンがゼブラフィッシュストライプパターンにおける黒色素胞、黄色素胞の配置とは異なる形式であることが明らかとなった。これらの結果は、ゼブラフィッシュ型の模様パターン形成メカニズムが魚類一般の模様形成にそのまま適用できるとは限らないという可能性を示唆するものである。魚類をはじめ動物の体表模様パターンの多様性がどのようなメカニズムによって生じてきたかを明らかにするためには、特定のモデル生物を対象とする解析にとどまらず、多様な生物種を対象とする研究を進めていくことが今後より重要になっていくと考えられる。

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3件)

宮澤 清太、動物の模様を「混ぜる」とどうなるか?、生物科学、査読有、63、(2012)、pp. 149-156
http://www.ruralnet.or.jp/seibutsu/063_03.htm

Miyazawa, S. Striping by striding:

synthetic approaches toward pattern formation, *Pigment Cell and Melanoma Research*, 査読有, (2012), 25, pp. 124-125
DOI: 10.1111/j.1755-148X.2012.00972.x

Lee, J M, Miyazawa, S, Shin, J O, Kwon, H J, Kang, D W, Choi, B J, Lee, J H, Kondo, S, Cho, S W, Jung, H S, Shh signaling is essential for rugae morphogenesis in mice, *Histochemistry and Cell Biology*, 136, 査読有, (2011), 136, pp. 663-675
DOI: 10.1007/s00418-011-0870-7

〔学会発表〕(計6件)

宮澤 清太, ヘンなもようのどうぶつを
しらべたい、定量生物学の会 第六回年会、
大阪大学、(2013.11)

宮澤 清太, カタイ模様、ユルい模様、
日本動物学会第84回岡山大会 シンポジウム
「紋様・体色形成研究の新たな展開」、岡山
大学、(2013.9)

宮澤 清太, ヘンなもようのどうぶつを
しらべたい、NGS現場の会 第三回研究会、神
戸国際会議場、(2013.9)

宮澤 清太, 「やわらか模様」のつくり
かた、新学術領域「複合適応形質進化の遺伝
子基盤解明」第6回インフォマティクスオー
プンセミナー(招待講演)、富山大学、
(2013.6)

宮澤 清太, $\times = ?$ 交雑が新しい
模様をつくる?、第28回個体群生態学会大
会企画シンポジウム「新しい形質はどのよう
にうまれるのか? ~数理モデルから得られ
る新たな洞察」(招待講演)、東邦大学、
(2012.10)

宮澤 清太, 動物の模様を「混ぜる」と
どうなるか?、第7回みちのく進化生物セミ
ナー(招待講演)、東北大学、(2012.3)

〔図書〕(計1件)

宮澤 清太, 共立出版、日本進化学会
(編)「進化学事典」項目執筆「パターン形
成の理論と実際」、(2012)、pp. 746-747

〔その他〕

Miyazawa, S, *Science*, 336, Special issue:
Computational Biology, (2012), 表紙
[http://www.sciencemag.org/site/special/
compbio/](http://www.sciencemag.org/site/special/compbio/)

ホームページ等

<http://milk.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/skondo/seita/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

宮澤 清太 (MIYAZAWA, Seita)

大阪大学・大学院生命機能研究科・助教
研究者番号: 10377905

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

なし