

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2013～2015

課題番号：25304016

研究課題名(和文) 新たな気候帯への適応進化機構の解明：半砂漠地帯のキューバアノールトカゲを用いて

研究課題名(英文) Adaptation to new climate environments: using Cuban Anoles lizard in a semi-desert habitat

研究代表者

河田 雅圭 (Kawata, Masakado)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：90204734

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,700,000円

研究成果の概要(和文)：走行力測定による温度耐性実験の結果、森林集団のA. homolechisは30度に比べ35度で最高走行速度が低下したのに対し、半砂漠集団のA. homolechisは、走行速度が低下しなかった。RAD-seqにより検出されたSNPでの遺伝的構造解析では、2つの集団間に違いが観察された。LOSITANによる自然選択を受けている領域の検出では5つのSNPを検出した。33度および36度の温度環境で5日間飼育したのち脳を抽出し、RNA-seq解析を行い発現変動遺伝子の検出を行った。33度および36度で発現量が有意に異なった遺伝子は、森林集団のA. homolechisで78、半砂漠集団で43であった。

研究成果の概要(英文)：In Cuba, the Anolis lizard A. homolechis usually inhabits in forest edges, while we found a population where lizards inhabit in a hot and dry semi-desert habitat. The results of behavioral experiments for temperature tolerance showed that the maximum running speeds decreased from 30 to 35 conditions in the forest population, but did not decreased in semi-desert population. Using SNPs detected by RAD-seq, STRUCTURE analysis showed that the forest population (Los Cardelos) and semi-desert population showed slightly different genetic structure. Between the two populations, 5 SNPs were detected as loci that subject to divergent selection using LOSITAN. RNA-seq was conducted to detect differentially expressed genes (DGE) between 33 and 36 conditions for individuals from the forest and semi-desert populations. The results showed that 78 and 36 DGE were detected in the forest and semi-desert populations, respectively.

研究分野：進化が生態学

キーワード：温度適応 アノールトカゲ

### 1. 研究開始当初の背景

多くの生物は、生息環境などのニッチは進化しづらい傾向(niche conservatism)があり、特に異なる気候帯にある生息地に新たに適応侵入することは困難であることが指摘されている。たとえば、祖先種が現在とは異なるバイオーム(気候など異なる生息環境に生息する群集)へ進出した例は1万種の植物のうち、356種のみであり、さらに森林などのバイオームから乾燥地帯への侵入は2例しかない。多くの種が異なるニッチに適応進化できず生息分布を限定させていることで、地球上の生物多様性が維持されている。なぜ、ある生物は、異なる気候帯の生息環境に適応進化し、分布を拡大できるのかという問題の解明は、生態学的・進化学上の最重要問題であり、生物多様性を決める要因解明と同時に、進化しやすさ (evolvability) と進化しづらさ (conservatism) を決める要因解明につながる。

キューバには64種のアノールトカゲ (*Anolis* 属) が生息している。アノールトカゲは異なる生息環境(樹幹、幹、枝先、草地)に応じて異なる形態や行動を持った種に分化しており、生態学・進化学のモデルシステムとして注目されている。これまでに研究代表者らは、樹木の幹から地面に生息する12種のアノールトカゲの系統関係と局所群集での共存関係を調べた。その結果、森林内部、林縁部、開けた場所など、生息温度環境を変えて同所的に異種が共存しているが、近縁な種は同じ温度環境に生息する傾向が示された。たとえば、*A. allogus* の系統には、*A. allogus*, *A. imias*, *A. ahli*, *A. rubribarbus* という近縁種がいるが、すべての種で森林内や岩陰の温度の低い環境(平均体温27度)を好み、異なる温度環境への進化は生じていない。樹木の幹から地面に生息する *A. homolechis* は、森林の林縁部に生息し、中程度の温度環境(平均体温30度)に適応している。しかし、我々の調査で、キューバ東南部の海岸地帯の半砂漠灌木帯に生息する集団(Macambo)は、日影で36-37度の高温環境下で、サボテンなどが生育する降水量のきわめて少ない乾燥環境に生息していることを発見した。この *A. homolechis* の集団は、近隣の中温高湿環境の森林集団から、激的に異なるバイオームへ適応進出した集団であると考えられる。

### 2. 研究の目的

キューバ東南部の海岸地帯の半砂漠灌木帯に生息する *A. homolechis* 集団(Macambo)がどのような気候で新しい環境に適応できたのかを探ることによって、気候帯が異なる環境への適応進化がどのような気候で可能になったのかの解明ができる。また、近縁種である *A. jubar* が近隣に生息する。Macambo との系統関係を調べたところ、*A. homolechis* は近隣の *A. jubar* と同じクレードを構成することが示され、両者は交雑し、遺伝子浸透を起こしている可能性がある。異なる気候帯への侵入

進化がまれな原因として、新たな環境への適応を可能にする遺伝的変異が生じづらいためであることが指摘されている。また、異なる環境への侵入可能な種は、様々な環境に適応する能力が備わっている可能性もある。高温乾燥気候帯への侵入適応進化を可能にする進化機構として、以下が考えられる。(1) 森林帯から森林帯・半砂漠灌木帯との推移帯に生息する *A. jubar* との交雑によって遺伝子浸透が生じ、乾燥・高温環境での適応を可能にする遺伝子の獲得により侵入可能になった(遺伝子浸透仮説)、(2) *A. homolechis* の祖先集団には、高温・乾燥に強い遺伝子をもつ個体(遺伝的変異個体)が低頻度ながら維持されていた(遺伝的変異仮説)、(3) *A. homolechis* の森林集団の個体は、森林環境でも半砂漠帯でも適応できる能力を備えている(広範囲適応能力仮説)。

上記仮説を検証するためには、高温・乾燥適応に関わる遺伝的基盤を明らかにする必要がある。本研究では、森林環境から高温乾燥地帯への適応進化機構の仮説の検証を目的に以下の点を明らかにする。(1) 野外での温度・湿度、植生などの生息環境を把握し、森林帯から半砂漠灌木帯にどのような環境の違いがあるかを明らかにする、(2) 森林環境と高温乾燥環境に生息する個体を用い、温度感受性・耐性、乾燥耐性についての集団間の違いを明らかにする、(3) 森林環境の個体と高温乾燥環境にいる個体間で温度・乾燥感受性の間に違いが明らかになった場合は、異なる個体間の遺伝子発現を比較すると同時に、自然選択を受けた遺伝子を検出することで、高温乾燥適応進化に関与した遺伝子を検出する。(4) *A. homolechis* と *A. jubar* との間に交雑による遺伝子浸透が生じたかを検証する。(5) (1)-(4)までの結果をもとに仮説を検証し、新たなバイオームへの適応侵入を可能にした遺伝基盤と進化機構を予測する。

### 3. 研究の方法

本研究は、ハバナ大学との過去6年間におよび共同研究で築いてきたキューバと日本での共同研究体制・基盤をもとに実施した。半砂漠灌木帯(高温乾燥環境)への侵入進化の機構を明らかにするために、

(1) 高温乾燥であるキューバ南東部の半砂漠集団(Macambo)と森林環境集団(Los Cardelos)の温度、湿度、照度などをデータロガーを設置することで調べる。

(2) 森林環境と高温乾燥環境に生息する個体を用い、異なる温度での走行速度を比較することで高温適応力の違いを測定する。

(3) 森林環境の個体と高温乾燥環境にいる個体間で温度・乾燥感受性に違いが明らかになった場合は、温度・乾燥感受性の異なる個体間で、RNA-seq解析によって環境適応の違いに関する遺伝子を検出する。

(4) *A. homolechis* と周辺地域の *A. jubar* との間に交雑の程度、および森林環境と半砂漠

環境の個体群の間で選択がうけた遺伝子があるかどうかを RAD-seq により検出される SNP を用いて検証する。

#### 4. 研究成果

##### (1) 森林集団と半砂漠集団の環境の違い

設置したデータロガーから、半砂漠集団 (Macambo) の気温は、森林集団 (Los Cardelos) に比べて、年間を通じて 5 ほど高いことが示された (図 1)。

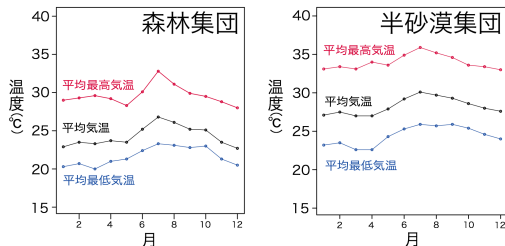


図 1. 森林集団 (Los Cardelos) と半砂漠集団 (Macambo) の年間気温の変化。

##### (2) 森林集団と半砂漠集団の高温耐性の違い

森林集団の *A. homolechis* と半砂漠集団の *A. homolechis* の高温耐性の違いをみるために、30 と 35 での斜面での最高走行速度の比較を行った。その結果、半砂漠集団の個体は、有意に 35 での走行速度が減少することがなかった (図 2)。

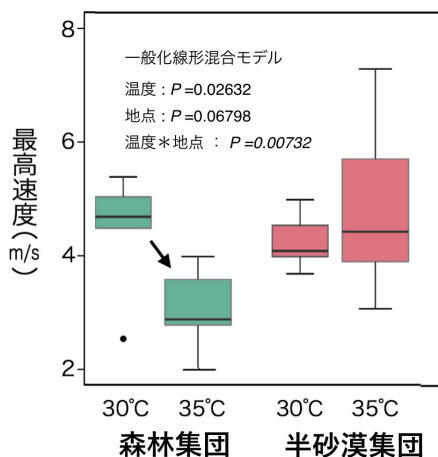


図 2. 森林集団 (Los Cardelos) と半砂漠集団 (Macambo) の *A. homolechis* の 30 と 35 での 45 度斜面の最高走行速度。

##### (3) 森林集団と半砂漠集団の遺伝的構造

RAD-seq で検出された SNP を用いて集団間の遺伝的構造を調べた。調査した 7 つの集団を含めて解析した結果、K4 集団と Juragua、Siboney の *A. jubar* とは大きな遺伝的違いがあったが、森林集団である Los Cardelos と半砂漠集団である Macambo の間に違いはみられなかった (図 3)。しかし、森林集団と半砂漠

集団のみで STRUCTURE 解析をおこなった結果、2 つの間に違いが観察された (図 4)。

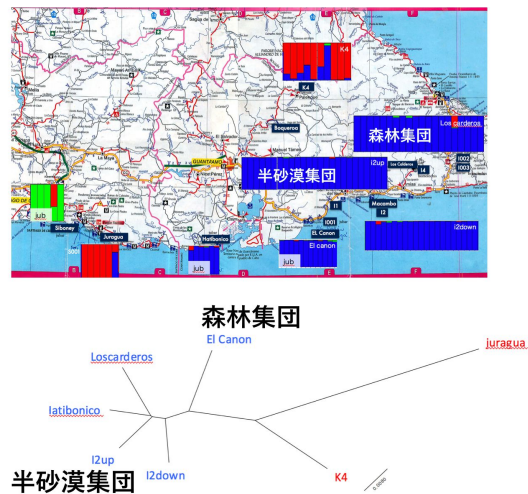


図 3. キューバ南東部の 7 集団の STRUCTURE 解析による遺伝的構造の違い (上) と遺伝的距離 (下)

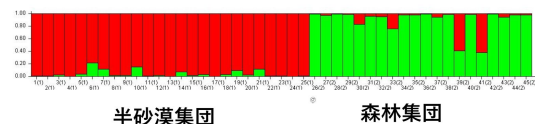


図 3. 森林集団と半砂漠集団での STRUCTURE 解析による遺伝的構造の違い。

##### (4) 森林集団と半砂漠集団の遺伝間比較による自然選択をうけて分化した SNP の検出

BAYSCAN および LOSITAN を用いて、2 集団間で有意に選択を受けて分化したと推定できる SNP の検出を試みた。その結果、BAYSCAN では、outliner SNP を検出することはできなかったが、LOSITAN では 5 つの SNP を検出した。

##### (5) 森林集団と半砂漠集団をもちいた RNA-seq による発現変動遺伝子の検出

実験室で、33 度および 36 度の温度環境で 5 日間飼育したのち、脳を抽出し、RNA-seq 解析を行い発現変動遺伝子の検出を行った。33 度および 36 度で発現量が有意に異なった遺伝子は、森林集団の *A. homolechis* で 78、半砂漠集団で 43 であった。

森林集団と比較して、半砂漠集団の方が変動遺伝子は少ないにもかかわらず、同じ GO (Gene Ontology) を持つものが多かった。そのために、半砂漠集団では、複数の機能を持つ遺伝子発現を活性化することで温度変化に、対応しているのかもしれない。森林集団の個体では脳に関わる遺伝子が多く検出され、異なる温度環境が個体の脳に何らかの刺激として伝達されていることを示していると推察される。Rab10 や Rab3b は脳の神経伝達物質のエキソサイトーシスに関わる機能を持つこと、FLRT2、RIC8a は膜構造の変化

や形成に關与することから、森林集団でサンプリングされた個体ではこれまでに経験したことの無い温度(36℃)に対して新たな神経ネットワークの形成が行われたのかも示れない。

一方、半砂漠集団の個体ではこのようなGOは検出されなかった。半砂漠集団の個体では日常的に36℃という高温環境にさらされていた可能性がある。半砂漠集団の個体では、複数の機能を持つ遺伝子発現が活性化される傾向が見られた。基本的に、糖代謝や炭水化物の代謝等に関わるものが多く、脳での神経活動が活発になっているものと予想される。タウリンやアルギニンなどの脳のストレスを緩和させるような物質代謝が起こっていることから、半砂漠集団の個体では、温度変化の際に脳で熱のストレスを緩和するような系が働いていることが示唆された。

#### 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11件)

1. Akashi, H. D., A. Cadiz, S. Shigenobu, T. Makino and M. Kawata (2016) Differentially expressed genes associated with adaptation to different thermal environments in three sympatric Cuban Anolis lizards. **Molecular Ecology** (in press) 査読有 10.1111/mec.13625
2. Wakasa, H., A. Cadiz, L. M. Echenique-Diaz, W. M. Iwasaki, N. Kamiyama, Y. Nishimura, H. Yokoyama, K. Tamura and M. Kawata (2015) Developmental stages for the divergence of relative limb length between a twig and a trunk-ground Anolis lizard species. **Journal of Experimental Zoology (Part B: Mol. Dev. Evol.)** 324:410–423 査読有 DOI: 10.1002/jez.b.22627
3. Morii, Y., J. Yokoyama, M. Kawata, A. Davison and S. Chiba (2015) Evidence of introgressive hybridization between the morphologically divergent land snails *Ainohelix* and *Ezohelix*. **Biological Journal of the Linnean Society**, 115: 77–95. 査読有 DOI: 10.1111/bij.12466
4. Wallberg, A., F. Han, G. Wellhagen, B. Dahle, M. Kawata, N. Haddad, Z. L. P. Simões, M. H. Allsopp, I. Kandemir, P. D. la Rúa, C.W. Pirk, and M. T. Webster (2014) A worldwide survey of genome sequence variation provides insight into the evolutionary history of the honeybee *Apis mellifera*. **Nature Genetics** 46, 1081–1088 査読有 doi:10.1038/ng.3077
5. Tamate, S., M. Kawata and T. Makino. (2014) Contribution of non-orthologous duplicated genes to high habitat variability in mammals. **Molecular Biology and Evolution** 31(7):1779–1786 査読有 doi: 10.1093/molbev/mss133
6. Takahashi, Y., K. Kagawa, E. I. Svensson and M. Kawata (2014) Evolution of increased phenotypic diversity enhances population performance by reducing sexual harassment in damselflies. **Nature Communications** 5: 4468 査読有 doi:10.1038/ncomms5468
7. Anzai, W., Omura, A., Cadiz Diaz A., Kawata, M., Endo, H. (2014) Functional morphology and comparative anatomy of appendicular musculature in Cuban Anolis lizards with different locomotor habits. **Zoological Science** 31:454–463 査読有 doi:10.2108/zs130062
8. McLysaght, A., Makino, T., Grayton, H., Tropeano, M., Mitchell, K., Vassos, E. and Collier, D.A. (2014) Ohnologs are overrepresented in pathogenic copy number mutations. **PNAS** 111:361–366 査読有 doi: 10.1073/pnas.1309324111
9. Takahashi, Y., N. Nagata and M. Kawata (2014) Antagonistic selection factors induce a continuous population divergence in a polymorphism. **Heredity**, 112, 391–39 査読有 doi:10.1038/hdy.2013.117
10. Makino, T., McLysaght, A. and Kawata, M. (2013) Genome-wide deserts for copy number variation in vertebrates. **Nature Communications** 4:2283. 査読有 doi:10.1038/ncomms3283
11. Cádiz Díaz, A., N. Nagata, M. Katabuchi, L. M. Díaz, L. M. Echenique-Díaz, H. D. Akashi, T. Makino, and M. Kawata (2013) Relative importance of habitat use, range expansion, and speciation in local species diversity of Anolis lizards in Cuba. **Ecosphere**, 4:art78. 査読有 DOI: 10.1890/ES12-00383.1

[学会発表](計8件)

1. 河田雅圭, ミクロ生物学分野が取り組む生態学の課題, 第63回日本生態学会2016年3月24日, 仙台国際センター(宮城県仙台市)
2. 赤司寛志, Antonio Cádiz Díaz, 齋藤茂, 富永真琴, 牧野能士, 河田雅圭, アノールトカゲにおける高温センサーTRPA1チャンネルと高温忌避行動との関連, 第63回日本生態学会2016年3月22日, 仙台国際センター(宮城県仙台市)
3. 玉手智史, 森英章, Brian J. Canposano, Kenneth L. Krysko, 舟山亮, 中山景子, 牧野能士, 河田雅圭, 小笠原に侵入したグリーンアノールの進化的変化の検出と集団ゲノム解析, 第63回日本生態学会2016年3月21日, 仙台国際センター(宮城県仙台市)

4. 赤司寛志, Antonio Cádiz Díaz, 重信秀治, 齋藤 茂, 富永真琴, 牧野能士, 河田雅圭, アノールトカゲから迫る異なる温度環境における恒常性維持機構, 日本動物学会第 86 回新潟大会, 2015 年 9 月 18 日, 仙新潟コンベンションセンター(新潟県新潟市)
5. Akashi, H. D., A. Cádiz Díaz, S. Shigenobu, T. Makino, M. Kawata, Whole transcriptome analysis on three Cuban Anolis lizard species adapting to different thermal microhabitats, European society for evolutionary biology, 2015 年 8 月 10 日, Lausanne( Switzerland )
6. 赤司寛志, Antonio Cádiz Díaz, Valentin Dacheux, Lazaro M. Echenique-Diaz, 牧野能士, 齋藤 茂, 富永真琴, 河田雅圭, 温度感受性から迫る温度微環境の生息地分割のメカニズム, 日本進化学会第 16 回大阪大会, 2014 年 8 月 22 日, 高槻現代劇場 (兵庫県高槻市)
7. 赤司寛志, Antonio Cádiz Díaz, Lazaro M. Echenique-Diaz, 牧野能士, 齋藤 茂, 富永真琴, 河田雅圭, キューバ産アノールトカゲの異なる温度環境への適応機構, 第 61 回日本生態学会, 2014 年 3 月 16 日, 広島国際会議場 (広島県広島市)
8. 赤司寛志, 河田雅圭, 生態学・進化学のモデル生物:キューバのアノールトカゲ, 第 61 回日本生態学会, 2014 年 3 月 14 日, 広島国際会議場 (広島県広島市)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計 0 件)

○取得状況(計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1)研究代表者

河田 雅圭 (KAWATA, MASAKADO)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号 : 90204734

### (2)連携研究者

牧野 能士 (MAKINO, TAKASHI)

東北大学大学院生命科学研究科・准教授

研究者番号 : 20443442

田村 宏治 (TAMURA, KOJI)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号 : 70261550

瀧本 岳 (TAKIMOTO, GAKU)

東京大学・大学院農学研究科・准教授

研究者番号 : 90453852

長太 伸章 (NAGATA, NOBUAKI)

国立科学博物館・標本資料センター保存科

学寄付研究部門・特定研究員

研究者番号 : 70533264