

平成30年6月26日現在

機関番号：72101

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26291075

研究課題名(和文)大進化の分子機構の解明

研究課題名(英文)Elucidation of molecular mechanism of macroevolution

研究代表者

岡田 典弘 (Okada, Norihiro)

公益財団法人国際科学振興財団・その他部局等・主席研究員

研究者番号：60132982

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：基盤研究B「大進化の分子機構の解明」は大きく分けて二つから成り立っている。一つは進化の過程でゲノムに挿入される転移因子の大進化における寄与である。我々は二次口蓋を作るWint5aのエンハンサーが、三つの転移因子によって構成されていること、三つのうちのそれぞれの転移因子は進化の特定の異なった時期に挿入され、独自の機能を持ったということを証明した。

もう一つは戦いとは何か、という問題である。これは強いボスに率いられた率いられた集団は生き残りやすいという重要な行動である。我々は闘魚を材料に戦いを分析した結果、対戦相手同士の内脳の転写産物が戦うことによって同調するという非常に面白い現象を見出した。

研究成果の概要(英文)：The project, named "Elucidation of molecular mechanism of macroevolution" can be divided into two parts. One is about the contribution of transposable elements which were inserted into genomes on macroevolution. We elucidated the enhancer of Wint5a responsible for making the secondary palate can be divided into three parts, each of which was inserted into the genome at the different time of evolution and played a different role in its function.

The second is about what the fighting is. The fighting is the important and conserved behavior of animals because a population led by a strong boss can survive more easily. Using a fighting fish pair, we elucidated that the transcripts of two individuals of a fighting pair are synchronized. This is a very interesting and new discovery.

研究分野：分子進化、分子生物学

キーワード：大進化 転移因子 レトロポゾン 闘魚 戦い RNA-seq

1. 研究開始当初の背景

これまでに哺乳類の脳および二次口蓋の進化に関与した2つのエンハンサーを発見し、それらを欠損させたノックアウトマウスを確立した。そのうち大脳新皮質特異的な AS021 エンハンサーの欠損マウスを用い、Satb2、Ctip2、Lmo4 などの発現パターンを免疫染色で解析した。また KO マウスにおける神経束の構造を明らかにするため、NPY や TAG1 等の抗体を用いた免疫染色もおこなった。一方、二次口蓋の形成過程で機能する AS3_9 エンハンサーの解析を、当初の予定を繰り上げて開始した。比較ゲノム解析および反復配列の詳細な解析から、AS3_9 エンハンサー配列が複数のレトロポゾンや DNA トランスポゾンに由来し、その機能も哺乳類の進化過程で段階的に確立されたことを明らかにした。このエンハンサーの欠損マウスでは野生型と比較して制御対象遺伝子の発現パターンに異常が見られている。ノックアウトマウスにおける口蓋形成の異常を明らかにするため、組織学的な解析をおこなっている。以上のように哺乳類の脳と二次口蓋の進化において重要な役割を果たしてきたエンハンサーに関して、その役割を明らかにした。陸上動物出現の分子基盤に関しては、シーラカンスゲノムを基盤とした比較ゲノム解析をおこなった。シーラカンスと哺乳類で保存された領域が数万箇所存在することから、その中でエンハンサーの候補領域の絞り込みをおこなっている。

2. 研究の目的

本研究は転移因子に由来した Wint5a のエンハンサーの性質を明らかにしたようとするものである。闘魚に関しては戦いの性質を RNA-seq を用いて明らかにしたい。

3. 研究の方法

エンハンサーの候補の転移因子由来の配列をベクターに組み込みマウス胚に打ち込んで発生させ、発現部位を調べることでエンハンサーの性質を明らかにすること。闘魚に関しては RNA-seq で得られた配列をバイオインフォマティクスの方法で性格付けを行う。

4. 研究成果

この研究費では主に二つのテーマを取り扱った。一つはレトロポゾン的一种である SINE の機能の問題である。もう一つは闘魚を用いて、戦いの分析を分子生物学的観点から遂

行した。1) AmnSINE1 の座位である AS3_9 を含む領域が Wint5a のエンハンサーであることは我々の研究室で兼ねてから明らかにされてきた。今回、この領域が実は三つの領域から構成されていることが明らかになった。AmnSINE1, X6b_DNA, MER117 の三つである。2) 進化のプロセスを考えたところ、AmnSINE1 が最も古く哺乳動物の共通祖先で挿入され、その後単孔類の分岐後、X6b_DNA が挿入され、真獣類の祖先で最後に MER117 が挿入された。二次口蓋はこの三つが揃って初めて形成される。3) AmnSINE1 が最初に挿入された時には Wint5a に関しては機能を持たないがその後の他の二つの転移因子の挿入によって初めて真獣類の共通祖先で機能を持ったということになる。このようなことなる転移因子の組み合わせが一つのエンハンサー活性を作っているというのは初めての例である。4) 闘魚を用いて、戦いを分析する系を構築した。60 分の戦いの行動分析から、対戦相手同士の行動が同調するという現象が見出された。闘魚には mouth-locking というお互いが取っ組み合いの喧嘩をするような行動が知られていて、この頻度、長さ、分布が戦いを特徴づけていると考えられる。5) 各段階から転写産物の配列を決定し、其の転写量の相関係数を調べることで、対戦相手同士の転写産物が同調しているという現象が見出された。これは対戦相手が同じように考え、それが同じような行動に転化され、さらにそれが転写産物の同調という現象として見出されたということであろう。このような行動が同調するという現象は世界で初めての発見である。

SINE の機能に関しては Wint5a のエンハンサーの研究が PLoS Genet. に 2016 年に掲載されたのがメインの結果である。

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 8 件; すべて査読あり)

Visual adaptation in Lake Victoria cichlid fishes: depth-related variation of color and scotopic opsins in species from sand/mud bottoms
Y Terai, R Miyagi, M Aibara, S Mizoiri, H Imai, T Okitsu, A Wada, ...N.Okada,

- Y.Terai
BMC evolutionary biology 17 (1), 200(2017)
- Laterality is universal among fishes but increasingly cryptic among derived groups
M Hori, M Nakajima, H Hata, M Yasugi, S Takahashi, M Nakae, ...N.Okada,
Zoological science 34 (4), 267-274(2017)
- Solution structure of a reverse transcriptase recognition site of a LINE RNA from zebrafish
M Otsu, M Kajikawa, N.Okada, G Kawai
The Journal of Biochemistry 162 (4), 279-285(2017)
- Evolution of Shh endoderm enhancers during morphological transition from ventral lungs to dorsal gas bladder
T Sagai, T Amano, A Maeno, T Kimura, M Nakamoto, Y Takehana, ...N. Okada, , , ,
Nature communications 8, 14300 (2017)
- Multiple episodic evolution events in V1R receptor genes of East-African cichlids
M Nikaido, H Suzuki, Y Satta, SI Mzighani, C Sturmbauer, ...N. Okada
CHEMICAL SENSES 41 (9), E259-E259(2016)
- Coordinately co-opted multiple transposable elements constitute an enhancer for wnt5a expression in the mammalian secondary palate
H Nishihara, N Kobayashi, C Kimura-Yoshida, K Yan, O Bormuth, Q Ding, ...N. Okada
PLoS genetics 12 (10), e1006380 (2016)
- Molecular developmental mechanism in polypterid fish provides insight into the origin of vertebrate lungs
N Tatsumi, R Kobayashi, T Yano, M Noda, K Fujimura, N Okada, M Okabe
Scientific reports 6, 30580 (2016)
- MetaSINEs: broad distribution of a novel SINE superfamily in animals
H Nishihara, F Plazzi, M Passamonti, N Okada
Genome biology and evolution 8 (3), 528-539 (2016)
- Genetic mechanism underlying the parallel evolution of lip thickness in east African cichlids
M Nikaido, N Okada
GENES & GENETIC SYSTEMS 90 (6), 377-377(2015)
- Distinct functions of two olfactory marker protein genes derived from teleost-specific whole genome duplication
H Suzuki, M Nikaido, K Hagino-Yamagishi, N Okada
BMC evolutionary biology 15 (1), 245 (2015)
- LINE retrotransposition and host DNA repair machinery
K Yamaguchi, M Kajikawa, N Okada
Mobile genetic elements 5 (6), 92-97(2015)
- Determining the position of storks on the phylogenetic tree of waterbirds by retroposon insertion analysis
T Kuramoto, H Nishihara, M Watanabe, N Okada
Genome biology and evolution 7 (12), 3180-3189 (2015)
- A microsatellite-based genetic linkage map and putative sex-determining genomic regions in Lake Victoria cichlids
Y Kudo, M Nikaido, A Kondo, H Suzuki, K Yoshida, K Kikuchi, N Okada
Gene 560 (2), 156-164 (2015)
- Integrated mechanism for the generation of the 5 junctions of LINE inserts
K Yamaguchi, M Kajikawa, N Okada
Nucleic acids research 43 (4), 2487(2015)
- [学会発表](計 2 件)
- Mechanism of genome diversification by amplification of SINEs with the CTCF binding site
T Tsukui, K Kurokawa, H Nishihara, M Hirakawa, N Okada

GENES & GENETIC SYSTEMS 90 (6), 407-407(2015)

(4)研究協力者

What is fighting? Analysis of its neurogenomic state

N Okada

GENES & GENETIC SYSTEMS 91 (6), 366-366(2016)

〔図書〕(計 1 件)

「科学者の冒険」(クバプロ刊 2017 年)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

岡田 典弘 (OKADA, NORIHIRO)

公益財団法人国際科学振興財団・その他部局等・主席研究員

研究者番号：60132982

(2)研究分担者

西原 秀典 (NISHIHARA, HIDENORI)

東京工業大学・生命理工学研究科・助教

研究者番号：10450727

(3)連携研究者

二階堂 雅人 (NIKAIDO, MASATO)

東京工業大学・生命理工学研究科・准教授

研究者番号：70432010