

令和元年6月3日現在

機関番号：82626

研究種目：若手研究(A)

研究期間：2014～2018

課題番号：26711021

研究課題名(和文)アカトンボの体色と色覚の進化

研究課題名(英文)Evolution of color pattern and color vision in red dragonflies

研究代表者

二橋 亮(Futahashi, Ryo)

国立研究開発法人産業技術総合研究所・生命工学領域・主任研究員

研究者番号：50549889

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 18,100,000円

研究成果の概要(和文)：トンボの色覚や体色形成の進化に関しては、生態学的な側面からの研究例はあるものの、その分子機構に関しては、世界的に見ても未解明な点が多かった。本研究から、トンボでは色覚に関わるオプシンが動物の中でも例外的に多様化していることを発見した。また、オプシン遺伝子は、トンボの幼虫と成虫で全く異なる発現を示すこと、トンボの種間で遺伝子数が大きく異なることが確認された。体色変化に関しては、トンボが極長鎖メチルケトンと極長鎖アルデヒドという特殊な組成を持つワックスを分泌して紫外線を反射することを発見した。さらに、エレクトロポレーションを併用したRNAiによる遺伝子機能阻害系を確立することに成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究から、トンボは多数のオプシン遺伝子を持っており、異なる光環境に合わせて異なるオプシン遺伝子セットを使い分けていることが明らかになった。各遺伝子の特性を解析することで、異なる光環境に対する生物の適応機構の理解が深まることが期待される。また、トンボは他の生物とは異なる組成のワックスを用いて紫外線を反射していることが明らかになった。化学合成したワックスでも紫外線反射や撥水性が再現できたことから、将来的には生物由来の新素材として利用できる可能性がある。

研究成果の概要(英文)：While many ecological and behavioral studies have been focused on the diversity of color vision and color pattern in dragonflies, its molecular bases have been poorly understood. We identified an extraordinary large number of visual opsin genes. These opsin genes are differentially expressed between adult and larva, as well as between dorsal and ventral regions of adult compound eyes. We also identified very long-chain methyl ketones and aldehydes as unique and major components of UV reflective dragonfly's wax. Moreover, we established an electroporation mediated RNA interference (RNAi) procedure in dragonflies.

研究分野：昆虫分子生物学

キーワード：トンボ 色覚 体色形成 色素 構造色 オプシン

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

トンボは、聴覚や嗅覚が退化していることから、基本的に視覚で相手を認識すると考えられている。そのため、体色や斑紋が近縁種間で多様化した例が多くみられる。中でも、日本人に馴染みの深いアカトンボは、近縁種間で体色や斑紋に著しい多様性が見られる。一方で、トンボの体色形成や進化に関しては、生態学的な側面からの研究例はあるものの、その分子機構に関しては、世界的に見ても全く研究されていなかった。また、トンボの色覚に関する研究は、1970年代から1990年代前半までに、主に電気生理学的なアプローチで数本の論文が発表されたが、その後は報告が途絶えており、トンボの色覚の分子機構や、色覚に関わる遺伝子の進化については、世界的にも全く報告例がないテーマとなっていた。

### 2. 研究の目的

本研究は、アカトンボおよび近縁種の種間で、色覚ならびに体色形成に関わる遺伝子の発現・機能解析と、色覚の電気生理学的実験を行い、トンボの色覚と体色の進化機構を解明することを目的とする。

### 3. 研究の方法

トンボの色覚に関しては、複眼における網羅的遺伝子発現解析 (RNAseq) と、網膜電図および視細胞の細胞内電位の測定を組み合わせることで、色覚に関わる分子機構の比較解析を行う。また、トンボの体色形成に関わる分子機構に関しては、体色や斑紋の異なるアカトンボおよび近縁種の腹部皮膚、翅を用いた RNAseq 解析を行い、体色と関連の見られた遺伝子に関しては、RNAi 等による機能解析を試みることで、現時点で未解明な部分の多いトンボの色覚および体色形成の進化に関わる分子機構の解明に取り組む。

### 4. 研究成果

#### (1) トンボにおけるオプシン遺伝子の多様性の発見

最初にアキアカネの幼虫および成虫の視覚器官における遺伝子発現解析を行った。マニュアル・アセンブリで各遺伝子の全長配列を決定した結果、色覚に関わるオプシン遺伝子が20種類と非常に多く存在していることが確認された (図1)。また、11科12種のトンボで網羅的に調べた結果、オプシン遺伝子の数は、15~33種とトンボの科間で極端に多様性していることが明らかになった。

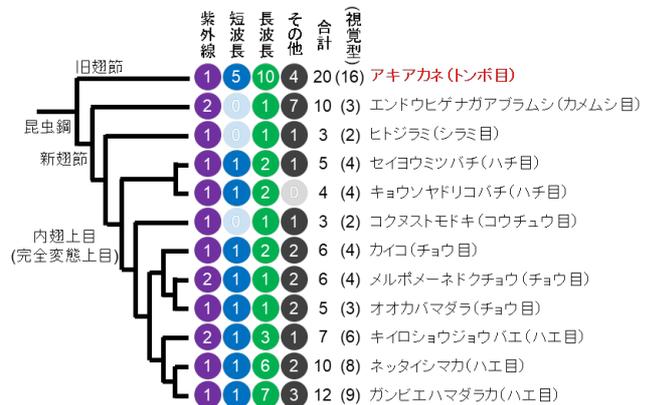


図1: 昆虫におけるオプシン遺伝子数の進化 (Futahashi et al., 2015 PNASを基に作成)

#### (2) オプシン遺伝子の時期、領域特異性の発見

次に、成虫の複眼背側、複眼腹側、単眼周辺と、幼虫頭部に分けて、発現するオプシン遺伝子を比較解析した。その結果、大部分のオプシン遺伝子は、特定の時期や領域でのみ発現していることが確認された (図2)。また、アキアカネを用いて複眼の分光感度を調べた結果、オプシン遺伝子の種類と対応して複眼の背側と腹側で異なる色覚を持つことが明らかになった (図2中央)。以上の内容を、筆頭責任著者として、2015年にPNAS誌で報告した。

また、アキアカネの成熟過程でオス、メスにおけるオプシン遺伝子の発現と複眼の分光感度を解析した結果、成熟すると紫外線領域の感度に雌雄差が現れることが確認された。

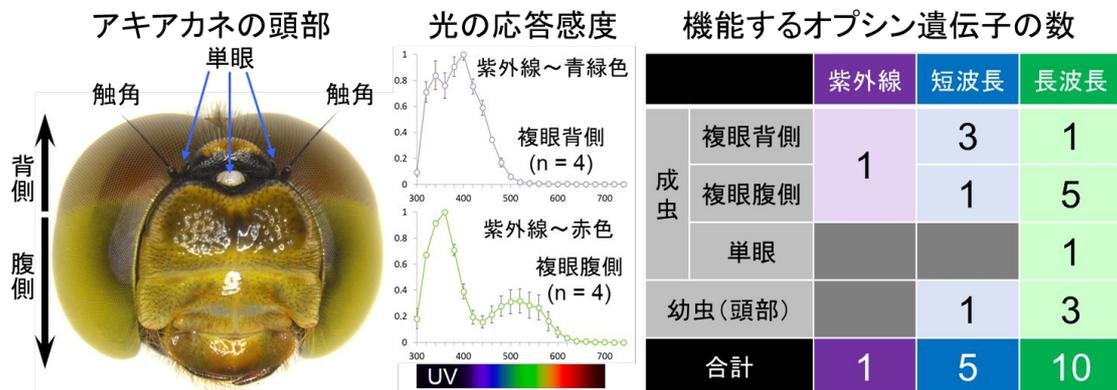


図2: アキアカネ複眼における光の応答感度と機能するオプシン遺伝子の内訳 (Futahashi et al., 2015 PNASを基に作成)

### (3) トンボにおけるワックスによる紫外線反射メカニズムの解明

野外における紫外線カメラを用いた観察の結果、アキアカネやナツアカネなどアカトンボの仲間は、メスが成熟すると腹部腹側にワックスを分泌して紫外線を反射できるようになることが確認された(図3)。このような紫外線反射が見られる複数のトンボを用いて解析を進めた結果、紫外線反射ワックスは極長鎖メチルケトンと極長鎖アルデヒドが主成分であることが確認された。また合成した極長鎖メチルケトンでも自己組織的に紫外線反射と撥水性が再現されることが確認された。これらの内容を筆頭責任著者として2019年に*eLife*誌で報告した。

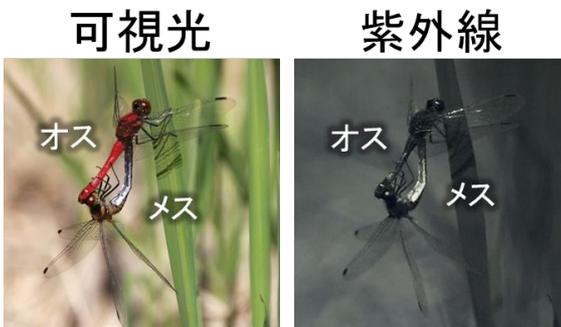


図3: ナツアカネのメスの紫外線反射 (Futahashi et al., 2019 *eLife* を基に作成)

### (4) トンボにおける遺伝子機能解析系の確立 トンボにおける遺伝子

RNAseq 解析から、翅や体色に関係する候補遺伝子が複数得られた。しかし、トンボにおける遺伝子機能解析系が存在しないことが、研究の支障となっていた。そこで、ハッチョウトンボを用いて RNAi による遺伝子機能阻害を試みたところ、エレクトロポレーションを併用することで局所的に遺伝子機能阻害が可能であることが確認された(図4)。この内容は実質筆頭および責任著者として2017年に*Appl Entomol Zool*誌で発表した。その後、複数のトンボでこの系が適用できることを確認し、RNAseqによる遺伝子発現解析と比較ゲノム解析を組み合わせ、チョウトンボにおいてメスの翅色多型の原因遺伝子を絞り込むことにも成功した。

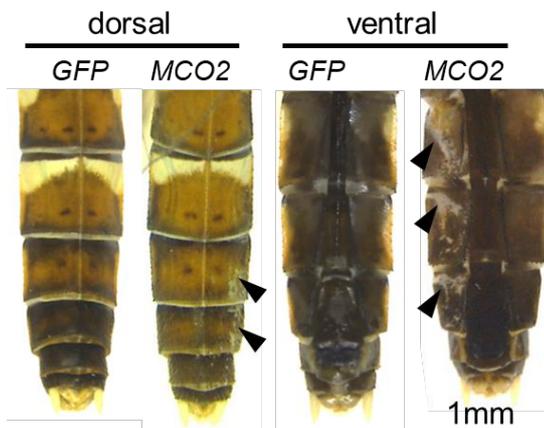


図4: ハッチョウトンボにおける MCO2 遺伝子の局所的機能阻害 (Okude et al., 2017 *Appl Entomol Zool* を基に作成)

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計 37 件)(計 37 件中 8 件を下記に記載)

1. **Futahashi R.**, Yamahara Y., Kawaguchi M., Mori N., Ishii D., Okude G., Hirai Y., Kawahara-Miki R., Yoshitake K., Yajima S., Hariyama T., Fukatsu T. (2019) Molecular basis of wax-based color change and UV reflection in dragonflies. *eLife*, 8: e43045. 査読有 (筆頭責任著者). DOI: 10.7554/eLife.43045
2. **二橋亮**・奥出絃太・杉村光俊・鶴飼貞行 (2018) 日本国内から記録されたトンボの種間雑種. *Tombo*, 60: 1-49. 査読有 (筆頭責任著者).
3. **Futahashi R.** (2017) Molecular Mechanisms Underlying Color Vision and Color Formation in Dragonflies. *Diversity and Evolution of Butterfly Wing Patterns*: 303-321. 査読有 (単著). [https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-4956-9\\_17](https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-981-10-4956-9_17)
4. Okude G., **Futahashi R.**, Tanahashi M., Fukatsu T. (2017) Laboratory Rearing System for *Ischnura senegalensis* (Insecta: Odonata) Enables Detailed Description of Larval Development and Morphogenesis in Dragonfly. *Zoological Science*, 34(5): 386-397. 査読有 (責任著者). DOI: 10.1073/pnas.1712857114
5. Okude G., **Futahashi R.**, Kawahara-Miki R., Yoshitake K., Yajima S., Fukatsu T. (2017) Electroporation-mediated RNA interference reveals a role of multicopper oxidase 2 gene in dragonfly's cuticular pigmentation. *Applied Entomology and Zoology*, 53(3): 379-387. 査読有 (実質筆頭責任著者). DOI: 10.1007/s13355-017-0489-9
6. **Futahashi R.** (2016) Color vision and color formation in dragonflies. *Current Opinion in Insect Science*, 17: 32-39. 査読有 (単著). DOI: 10.1016/j.cois.2016.05.014
7. **二橋亮** (2015) トンボの生存戦略に関する体色と色覚の進化. 科研費 NEWS, 2015 年度 vol.1: 14. 査読なし (単著).

8. **Futahashi R.**, Kawahara-Miki R., Kinoshita M., Yoshitake K., Yajima S., Arikawa K., Fukatsu T. (2015) Extraordinary diversity of visual opsin genes in dragonflies. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 112(11): E1247-E1256. 査読有 (筆頭責任著者). DOI: 10.1073/pnas.1424670112

〔学会発表〕(計 43 件)(計 43 件中 15 件を下記に記載)

1. **Futahashi R.** (2018) Molecular mechanisms underlying color formation in dragonflies. The 28th Annual Meeting of the Japanese Society for Pigment Cell Research. Kobe, Oct. 13, 2018. 招待講演.
2. **二橋亮** (2018) トンボの体色形成メカニズムと環境適応. 日本動物学会関東支部公開講演会. 東京. 2018 年 7 月 22 日. 招待講演.
3. **二橋亮** (2017) トンボの紫外線反射の分子機構. 2017 年度生命科学系学会合同年次大会 ConBio2017. 神戸. 2017 年 12 月 6 日. 招待講演.
4. **Futahashi R.** (2017) Molecular mechanisms underlying color vision and color formation in dragonflies. The 29th CDB Meeting "Mavericks, new models in developmental biology". Kobe, Oct. 20, 2017. 招待講演.
5. **Futahashi R.** (2017) Opsin gene diversity in dragonflies. International Congress of Odonatology 2017. Cambridge, Jul. 17, 2017. 招待講演.
6. **二橋亮** (2017) トンボの体色変化と体色多型. Masaki-Kinen Symposium. 小金井. 2017 年 3 月 30 日. 招待講演.
7. **二橋亮** (2017) トンボの色覚と体色の多様性. 日本蚕糸学会第 87 回大会. つくば. 2017 年 3 月 21 日. 招待講演.
8. **二橋亮** (2016) トンボの色覚と体色の多様性に関わる分子機構. 第 39 回日本分子生物学会年会. 横浜. 2016 年 12 月 2 日. 招待講演.
9. **Futahashi R.**, Fukatsu T. (2016) Molecular bases underlying the diversity of color pattern and color vision in dragonflies. XXV International Congress of Entomology. Orlando, USA, Sep. 27, 2016. 招待講演.
10. **Futahashi R.** (2016) Molecular mechanisms underlying color pattern diversity in dragonflies. AIST-RIKEN Bioinformatics Virtual Joint Laboratory Meeting. Tokyo, Mar. 30, 2016. 招待講演.
11. **二橋亮** (2015) トンボの体色形成と色覚の分子基盤. 日本動物学会第 86 回大会. 新潟. 2015 年 9 月 18 日. 招待講演.
12. **二橋亮** (2014) 昆虫の体色および模様の形成機構と進化. 第 46 回種生物学シンポジウム. 山梨. 2014 年 12 月 5 日. 招待講演.
13. **二橋亮** (2014) トンボの体色形成に関わる分子機構. 15 回構造色シンポジウム. 東京. 2014 年 11 月 15 日. 招待講演.
14. **二橋亮** (2014) トンボの成熟過程における体色変化の分子機構. 日本動物学会第 85 回大会. 仙台. 2014 年 9 月 12 日. 招待講演.
15. **Futahashi R.**, Fukatsu T. (2014) Molecular mechanisms underlying color pattern formation in dragonflies. Annual Meeting of the Japanese Society for Mathematical Biology and the Society for Mathematical Biology. Osaka, Jul. 30, 2014. 招待講演.

〔図書〕(計 8 件)

1. 尾園暁・川島逸郎・**二橋亮** (2019) 「ヤゴハンドブック」 120 pp. 文一総合出版.
2. **二橋亮** (2018) あかとんぼ. 岩波書店編集部 編 岩波科学ライブラリー「広辞苑を 3 倍楽しむ その 2」 pp.4-5. 岩波書店.

3. **二橋亮** (2017) トンボの色覚と体色の多様性に関わる分子機構. 関村利朗・藤原晴彦・大瀧丈二 編「チョウの斑紋多様性と進化」 pp.341-361. 海游舎.
4. 尾園暁・**二橋亮** (2016) 「ぜんぶわかる! トンボ」 68 pp. ポプラ社.
5. 尾園暁・**二橋亮** (2015) 「しぜん キンダーブック 8月号 とんぼ」 28 pp. フレーベル館.
6. **二橋亮** (2015) 斑紋形成の遺伝子制御. 八木孝司 編 「チョウの斑紋形成の生物学」 pp.35-66. 大阪公立大学共同出版会.
7. 二橋美瑞子・**二橋亮** (2015) 昆虫の色素合成と紋様形成. 伊藤祥輔・柴原茂樹・錦織千佳子 編 「色素細胞 第2版」 pp.172-191. 慶應義塾大学出版会.
8. **二橋亮** (2015) トンボの色いろいろ. 日本昆虫科学連合編「昆虫科学読本 虫の目で見えた驚きの世界」 pp.2-14. 東海大学出版部.

〔産業財産権〕

出願状況(計 2 件)

名称: 紫外線反射剤組成物及び撥水剤組成物

発明者: **二橋亮**・川口研・針山孝彦・山濱由美・石井大佑・矢嶋俊介・三木玲香・森直樹

権利者: 国立研究開発法人産業技術総合研究所・国立大学法人浜松医科大学・国立大学法人名古屋工業大学・学校法人東京農業大学

種類: 特許

番号: 特願 2017-100693

出願年: 2017

国内外の別: 国内

名称: 紫外線反射剤組成物及び撥水剤組成物

発明者: **二橋亮**・川口研・針山孝彦・山濱由美・石井大佑・矢嶋俊介・三木玲香・森直樹

権利者: 国立研究開発法人産業技術総合研究所・国立大学法人浜松医科大学・国立大学法人名古屋工業大学・学校法人東京農業大学

種類: 特許

番号: PCT/JP2018/019559

出願年: 2018

国内外の別: 国外

〔その他〕

ホームページ等

<https://unit.aist.go.jp/bpri/bpri-symbio/Futahashi.htm>

<https://sites.google.com/site/ryofutahashi/home/japanese>

## 6. 研究組織

研究代表者のみ

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。