

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 27 日現在

機関番号：10101

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26891002

研究課題名(和文) シロアリの社会組織化に関わる遺伝子の同定と機能解析

研究課題名(英文) Identification and functional analysis of genes associated with social organization in termites

研究代表者

林 良信 (Hayashi, Yoshinobu)

北海道大学・地球環境科学研究科(研究院)・学術研究員

研究者番号：70626803

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、どのような遺伝子がシロアリの社会組織化に重要な役割を果たしているのか明らかにすることを目的とし、オオシロアリの社会組織化に重要な遺伝子の同定を行った。まず、オオシロアリの兵隊アリ、王・女王アリ、副王・副女王アリの発現遺伝子の配列を次世代シーケンサーで解読し、全遺伝子の発現量を推定をした。その結果、492遺伝子において兵隊アリ有意な発現量の上昇がみられた。次に、種間比較によりシロアリの祖先系統での自然選択圧の検出を行ったところ、4遺伝子で正の自然選択圧が検出された。兵隊アリで高発現する遺伝子と正の自然選択を受けた遺伝子は、シロアリの社会組織化に重要であると考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, to identify genes involved in social organization in termites, comprehensive gene expression and evolutionary analyses were conducted in the Japanese damp wood termite *Hodotermopsis sjostedti*. First, the sequences of expressed genes obtained from soldiers, kings, queens, male neotenics, and female neotenics were determined with a next generation sequencer, and expression levels of the genes were estimated. As a result, 492 genes exhibited significantly higher expression levels in soldiers than in the other castes. Next, a comparative analysis was performed to detect positive selection in the ancestral lineage of termites, and found four genes that were positively selected. The differentially expressed genes and the positively selected genes are considered to be important in social organization in termites.

研究分野：昆虫遺伝学

キーワード：昆虫 トランスクリプトーム

1. 研究開始当初の背景

単独生活から社会生活への進化は生物進化の歴史上の大イベントであり、緊密な個体間相互作用によって「個体とその集合(社会)」という明確な階層構造を生み出し、生命現象において全く新たな複雑性を生じさせた (Okasha 2011)。社会性を示す生物は数多く存在するが、社会性昆虫とよばれるシロアリはそのなかでも特に複雑、巨大で非常に調和のとれた社会を形成し (Oster & Wilson 1978)、もっとも興味深い社会性生物の1つである。

シロアリの社会には王・女王アリ、働きアリ、兵隊アリなどの特定の仕事に専念した個体(カースト)が存在しており、それらが分業を行っている(図1)。シロアリは、分業により労働効率を向上させて生産性の高い社会を実現しており、単独性の生物では見られないようなこと(たとえば、巣内でのキノコ栽培や、堅牢で空気循環に優れた巣(蟻塚)の構築、多数個体の協同による採餌など)も効率よく行っている。このカースト間での分業によりシロアリ類は非常に繁栄し、熱帯・亜熱帯域の陸上動物の中で最も現存量の多い生物となっている。

このように非常に効率的で生産性の高いシロアリ類の社会がどのように組織化されているか、また特に、どのような遺伝子がシロアリの社会組織化に重要な役割を果たしているのかはほとんどわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、どのような遺伝子がシロアリの社会組織化に重要な役割を果たしているのか明らかにすることを目的とし、シロアリの社会組織化に重要な遺伝子を同定し、それらの機能解析を行う。

3. 研究の方法

研究材料として、日本に分布し生物学的知見の多くあるオオシロアリを用いた。兵隊アリ、王・女王、副王・副女王アリからRNAを抽出し、cDNA合成などの処理を行った後、次世代DNAシーケンサーHiSeq2000でトランスクリプトームの塩基配列を決定した。そして、de novoアセンブリのあと、各遺伝子の発現量を計算しカースト間で比較することでオオシロアリのカースト特異的遺伝子を網羅的に同定した。また、ワモンゴキブリとキゴキブリの大規模トランスクリプトームデータを用いることにより、各遺伝子の進化速度を計算した。さらに遺伝子機能アノテーションによる遺伝子機能の推定を行った。発現解析と進化速度解析、遺伝子機能アノテーションの結果から、特にシロアリの社会組織化に重要であると思われる遺伝子を特定した。

4. 研究成果

実験に用いるオオシロアリを鹿児島県屋

久島で採集した。兵隊アリ(soldier)、王・女王アリ(primary reproductives)、副王・副女王アリ(neotenics)の雌雄について、消化管を除く全身からRNAを抽出した。次に、抽出したRNAから次世代DNAシーケンサーで塩基配列決定を行うためのサンプル作成をし、次世代DNAシーケンサーHiSeq2000を用いて各カーストの発現遺伝子の配列を決定した。次世代シーケンサーによって、合計181,084,900リードを得ることができた。これらのリードについて、アダプター・クオリティトリミングを行い、Trinity (Grabherr et al. 2011)を用いたde novoトランスクリプトームアセンブリを行った。その結果、182,661のコンティグ配列(総塩基数: 196,180,778; N50 length: 2249 bp)を得ることができた。

次に、得られたアセンブリを用いて、eXpress (Roberts and Pachter 2012)を用いたリードカウントと、edgeR (Robinson et al. 2010)を用いた発現量比較解析を行った。全遺伝子の発現量データから、多次元尺度法により各サンプルの2次元座標面上での座標を求めると、雌雄の兵隊アリが他のサンプルとの距離が大きくなった(図1)。また、王と副王、女王と副女王の距離が比較的小さくなった。

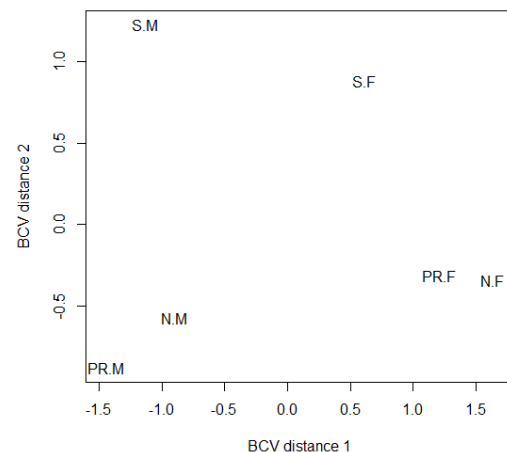


図1. 遺伝子発現量データをもとにした多次元尺度法によるサンプルの2次元配置図。S.M: 兵隊アリ雄, S.F: 兵隊アリメス, PR.M: 王アリ, PR.F: 女王アリ, N.M: 副王アリ, N.F: 副女王アリ。

また、遺伝子発現量のデータからクラスタリングを行うと、兵隊アリの雌雄がクラスタリングを形成した(図2)。さらに、兵隊アリの雌雄では発現量は非常に高い相関係数を示した(スピアマンの相関係数 = 0.995; 図3)。

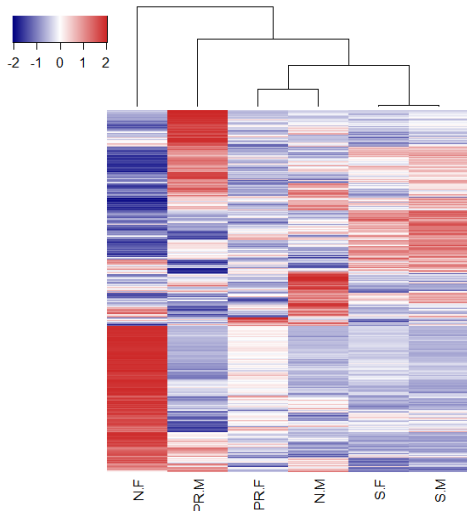


図2. 遺伝子発現量のヒートマップ。S.M: 兵隊アリ雄, S.F: 兵隊アリメス, PR.M: 王アリ, PR.F: 女王アリ, N.M: 副王アリ, N.F: 副女王アリ。

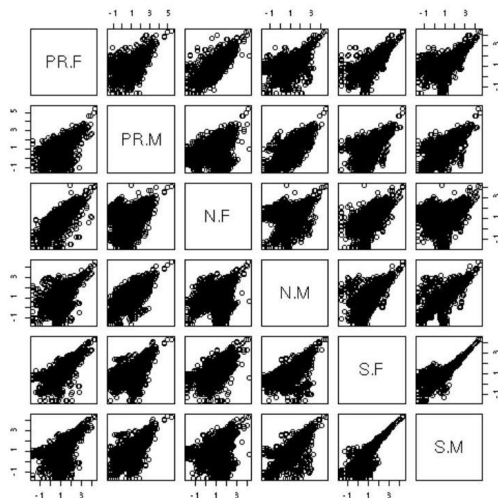


図3. 遺伝子発現量 (対数) のサンプルペアごとの散布図。S.M: 兵隊アリ雄, S.F: 兵隊アリメス, PR.M: 王アリ, PR.F: 女王アリ, N.M: 副王アリ, N.F: 副女王アリ。

これらの結果をうけて、次に、兵隊アリの雌雄とその他のサンプルの2群の間で遺伝子発現量の比較を行った。その結果、492 遺伝子において兵隊アリで有意な発現量の上昇がみられた。これらの遺伝子の中には、兵隊アリ特異的に発現することが知られている *sol1* (Miura et al. 1999) も含まれていた。

また、一部のセルラーゼは、兵隊アリで高発現していることが分かった

次に、シロアリ類がキゴキブリとの共通祖先から進化する過程で、正の自然選択、あるいは純化選択圧の緩和が生じた遺伝子の特定を行った。この解析には本研究で得られたオオシロアリのトランスクリプトームのデータに加えて、ワモンゴキブリ (Blankenberg et al. 2015)、キゴキブリ (Hayashi et al. submitted)、ヤマトシロアリ、ネバダオオシロアリ (Terrapon et al. 2014)、ナタールオオキノコシロアリ (Paulsen et al. 2014) のアミノ酸コード遺伝子の配列データも用いた。その結果、4 遺伝子で正の自然選択圧が検出され、11 遺伝子で純化選択圧の緩和が検出された。正の自然選択圧が検出された遺伝子のうち2つは、カースト間で発現量に差のある遺伝子であった。これらの遺伝子の機能を推定するために、アミノ酸配列の相同性検索を行った。その結果はこれらの2つの遺伝子は細胞分裂に関わる遺伝子であると推定された。

さらに本研究では、オオシロアリのトランスクリプトームデータを利用して、タンパク質コード遺伝子の DNA メチル化レベルの推定と遺伝子発現量との関係を調べた。まず、メチル化レベルの指標となる CpG O/E をトランスクリプトームデータから抽出したすべてのコーディングシーケンス (165969 個) について計算した。その結果、158228 個 (95.3%) のコーディングシーケンスにおいて CpG O/E が 1 未満であった。このことは、ほとんどの遺伝子において DNA メチル化が生じていることを示唆する。また、オオシロアリの CpG O/E の頻度分布は二峰性を示した (図4)。これは、メチル化レベルが比較的高い遺伝子と低い遺伝子 (それぞれ、高メチル化遺伝子、低メチル化遺伝子とする) が存在することを示唆している。

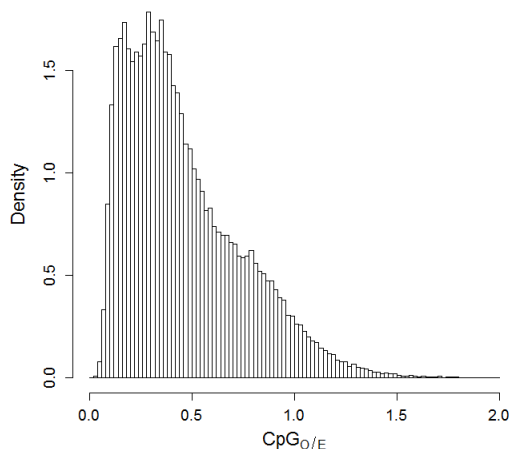


図4 . オオシロアリのコーディングシーケンスの CpG O/E のヒストグラム。

次に、すべての遺伝子(コーディングシーケンス)を高メチル化遺伝子と低メチル化遺伝子に分類して、また昨年度に同定したカースト特異的発現遺伝子と非特異的遺伝子の情報を利用して、高メチル化遺伝子と低メチル化遺伝子のカースト特異的発現との関係を調べた。その結果、カースト特異性とメチル化レベルには有意な相関がみられ、高メチル化遺伝子はカースト非特異的に発現し、低メチル化遺伝子はカースト特異的に発現するものが多いことが明らかになった。これらのことから、DNAメチル化による発現量調節がシロアリの社会構築の基盤となっている可能性を示唆される。今後はDNAメチル化とカースト分化についてさらに研究を進めることで、シロアリの社会性進化の遺伝的基盤の一端が明らかになる。

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 0件)

〔学会発表〕(計 1件)

Sugime Y, Hayashi Y, Matsunami M, Koshikawa S, Miura T. Morphogenetic factors required for soldier-caste differentiation in a termite. CDB Symposium 2016. 28-30 Mar 2016. RIKEN CBD, Kobe.

〔図書〕(計 0件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 0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 0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

林 良信 (HAYASHI Yoshinobu)
北海道大学・大学院地球環境科学研究院・学術研究院

研究者番号：70626803

(2)研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

()

研究者番号：