

平成 30 年 6 月 19 日現在

機関番号：63801

研究種目：基盤研究(A) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H02418

研究課題名(和文) トゲウオ淡水進出の鍵形質の遺伝基盤

研究課題名(英文) Genetic basis for key traits of stickleback freshwater colonization

研究代表者

北野 潤 (Kitano, Jun)

国立遺伝学研究所・集団遺伝研究系・教授

研究者番号：80346105

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 31,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究室に存在するイトヨの全集団のddRAD解析を実施し、これまでに本研究室で採集した全ての淡水イトヨは、ニホンイトヨ系統でなく、イトヨ系統から由来していることを確認した。ついで、ある不飽和脂肪酸代謝酵素のコピー数がイトヨにて高いこと、当該遺伝子発現量もイトヨにて高いこと、ある不飽和脂肪酸合成能力もイトヨで高いことを見出した。そこで、淡水餌からの不飽和脂肪酸合成能力の違いが、淡水進出能力を規定していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：Our phylogenomic analysis revealed that all Japanese freshwater populations are derived from *Gasterosteus aculeatus* rather than *Gasterosteus nipponicus*. We found that differences in the ability to produce an poly unsaturated fatty acids and the copy number of an enzyme explains the different ability to colonize freshwater.

研究分野：進化遺伝

キーワード：進化 適応 生態 遺伝 ゲノム

## 1. 研究開始当初の背景

未開拓の新規ニッチへの進出は、新しい豊富な資源の利用を可能にし、その後の適応放散を誘導しうる。例えば、四肢動物の繁栄は、それまで未利用であった空白の生態ニッチ（陸上や空など）に進出することと同期して生じたことが示されている。また、氷河サイクルで形成された淡水湖沼では、トゲウオを中心いくつかの水圏の分類群が、空白の生態ニッチであった淡水進出に成功し、急速に多様化を遂げた。また、新規ニッチを利用可能にする形質が生殖隔離にも貢献する場合、祖先集団と新規集団の間で交雑率が低下し、多様性が維持されうる。しかし、新規ニッチへの進出の鍵となる形質の遺伝基盤について、実際の野外集団で解明された例は極めて少ない。

## 2. 研究の目的

本課題では、申請者がこれまで詳細に記載してきた日本産トゲウオを利用してこの課題に取り組む。具体的には、多様な淡水域に進出して表現型多様化を遂げた系統と淡水に進出できず均一な表現型にとどまった系統を利用して、その背景にある淡水餌資源の利用能力の違いの鍵となる遺伝基盤、及び、その遺伝的変異を同定するとともに、生殖隔離との関連性について解析する。

## 3. 研究の方法

まずは、日本産トゲウオ科のイトヨ (*Gasterosteus aculeatus*) とニホンイトヨ (*Gasterosteus nipponicus*) について、Double Digest Restriction Site Associated DNA Sequence (ddRAD) 解析を利用してゲノムワイドな SNP 情報を得た。その後、RAxML 法にて系統樹を描き、日本における淡水イトヨ集団の由来を明らかにした。

イトヨとニホンイトヨについて、飼育実験によって、異なる餌に対する要求性(生存率)を比較した。また、候補遺伝子を強制発現させたトランスジェニックニホンイトヨについて同様の飼育実験を実施した。

候補遺伝子の探索のために、イトヨとニホンイトヨの全ゲノム配列を比較解析した。また、遺伝子発現量の解析のためにブラインシュリンプのみで飼育したイトヨとニホンイトヨの脳と眼球などの RNA シークエンスを実施した。

いかにしてその変異が生じ集団内に広まったのかについて解析するために、fluorescent in situ hybridization(FISH)法を利用したり、bacterial artificial chromosome (BAC)のシークエンスを実施したり、Pac-bio や Nanopore によるロングリードシークエンスを実施した。

さらに、北米とヨーロッパ産イトヨのゲノ

ム DNA を共同研究者より入手して、日本産トゲウオで見出した知見の普遍性を検証した。淡水進出できた系統とできなかった系統を含む日本産トミヨ属やカジカ科についてもゲノムの定量 PCR によって当該遺伝子のコピー数を解析した。

イトヨとニホンイトヨの間で遺伝子流動する部位、しない部位を見出し、当該遺伝子の座位と比較した。

淡水進出に重要な遺伝子座を網羅的に理解するために、淡水実験池にイトヨとニホンイトヨの雑種を放流し適応実験を実施した。

また、淡水進出後の適応機構を知るために神経内分泌器官の下垂体の詳細な解析を行った。

## 4. 研究成果

まず、本研究室に存在するイトヨの全集団の ddRAD 解析を実施し、これまでに本研究室で採集した全ての淡水イトヨは、ニホンイトヨ系統でなく、イトヨ系統から由来していることを確認した。

ついで、ニホンイトヨと海産イトヨについて全ゲノムを解析することで、ある不飽和脂肪酸代謝酵素のコピー数がイトヨにて高いこと、RNA シークエンスを実施することで当該遺伝子発現もイトヨにて高いことを見出した。このコピー数の変異は、氷河期終了前よりもっと前に生じており、本来坐乗していた X 染色体から別の常染色体にコピーアンドペーストで重複されたことが明らかになった。トランスジェニックの実験により、この酵素を強制発現させたニホンイトヨでは淡水由来餌での生存率が上昇した。

イトヨの餌の分析やメタ解析の結果、イトヨが淡水で摂食する餌には不飽和脂肪酸の一種が少ないことが確認された。そこで、淡水餌からの不飽和脂肪酸合成能力の違いが、淡水進出能力を規定していると考えられた。

本遺伝子のコピー数は、淡水集団では進出後にさらに上昇していることが、日本、北米、ヨーロッパのイトヨ集団、ならびに、ヨーロッパのトミヨ集団で確認された。しかしながら、カジカ科では淡水種の方が高い傾向が見られなかった一方、アミノ酸置換は観察されたことから、機能的変化の可能性が示唆された。

また、イトヨとニホンイトヨが同所に生息している交雑域において、遺伝子浸透の低下しているゲノム領域を特定し、不飽和脂肪酸の合成酵素のローカスとの一致を確認できた。

本酵素によって、淡水由来餌におけるニホンイトヨの初期の死亡を十分に説明できたが、発達後半に再度の死亡のピークがあるため、その遺伝基盤を明らかにするために、淡水実験池にイトヨとニホンイトヨの雑種を放流する適応度実験を開始した。

また、本課題の遂行中に、下垂体の一細胞

解析に成功したが、下垂体の一細胞解析はトゲウオに限らずこれまでに世界で実施された例はないと考えられるから、本成果も重要な知見と言える。

#### 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13件)

- (1) Ravinet, M., Yoshida, K., Shigenobu, S., Toyoda, A., Fujiyama, A., and Kitano, J. (2018) Genomic landscape at a late stage of stickleback speciation: high genomic divergence interspersed by small localized regions of introgression. *PLoS Genetics* 14: e1007358 (査読有)
- (2) Sardell, J. M., Cheng, C., Dagilis, A. J., Ishikawa, A., Kitano, J., Peichel, C. L., and Kirkpatrick, M. Sex differences in recombination in sticklebacks. *G3: Genes, Genomes, Genetics* 8: 1971-1983 (査読有)
- (3) Kume, M., Mori, S., Kitano, J., Sumi, T., and Nishida, S. (2018) Impact of the huge 2011 Tohoku-oki tsunami on the phenotypes and genotypes of Japanese coastal threespine stickleback populations. *Scientific Reports* 8: 1684 (査読有)
- (4) Matsumoto, T., Yoshida, K., and Kitano, J. (2017) Contribution of gene flow to the evolution of recombination suppression in sex chromosomes. *Journal of Theoretical Biology* 431: 25-31 (査読有)
- (5) Kume, M., and Kitano, J. (2017) Genetic and stable isotope analyses of threespine stickleback from the Bering and Chukchi Seas. *Ichthyological Research* 64: 478-480 (査読有)
- (6) Ishikawa, A., Kusakabe, M., Ravinet, M., Yoshida, K., Makino, T., Toyoda, A., Fujiyama, A., and Kitano, J. (2017) Different contributions of local- and distant-regulatory changes to transcriptome divergence between stickleback ecotypes. *Evolution* 71: 565-581 (査読有)
- (7) Kusakabe, M., Ishikawa, A., Ravinet, M., Yoshida, K., Makino, T., Toyoda, A., Fujiyama, A., and Kitano, J. (2017) Genetic basis for variation in salinity tolerance between stickleback ecotypes. *Molecular Ecology* 26: 304-319 (査読有)
- (8) Yoshida, K., Makino, T., and Kitano, J. (2017) Accumulation of deleterious mutations on the neo-Y chromosome of Japan Sea stickleback (*Gasterosteus nipponicus*). *Journal of Heredity* 108: 63-68 (査読有)
- (9) Matsumoto, T., and Kitano, J. (2016) The intricate relationship between sexually antagonistic selection and the evolution of sex chromosome fusions. *Journal of Theoretical Biology* 404: 97-108 (査読有)
- (10) Ravinet, M., Ishikawa, A., and Kitano, J. (2016) Trophic niche differentiation and phenotypic divergence among cryptic species of Japanese ninespine stickleback. *Evolutionary Ecology Research* 17: 505-523 (査読有)
- (11) Kitano, J. and Mori, S. (2016) Toward conservation of genetic and phenotypic diversity in Japanese sticklebacks. *Genes and Genetic Systems* 91: 77-84 (査読有)
- (12) Yoshida, K., Miyagi, R., Mori, S., Takahashi, A., Makino, T., Toyoda, A., Fujiyama, A., and Kitano, J. (2016) Whole-genome sequencing reveals small genomic regions of introgression in an introduced crater lake population of threespine stickleback. *Ecology and Evolution* 6: 2190-2204 (査読有)
- (13) Ishikawa, A., Kusakabe, M., Kume, M., and Kitano, J. (2016) Comparison of freshwater tolerance during spawning migration between two sympatric Japanese marine threespine stickleback species. *Evolutionary Ecology Research* 17: 525-534 (査読有)

[学会発表](計5件)

- (1) Kitano, J. (2015) Genetic mechanisms of colonization of new niches in sticklebacks. Lecture Series in Ecology and Evolution at the University of Bern
- (2) Kitano, J. (2015) Drivers of sex chromosome-autosome fusions and their roles in speciation. AGA Symposium, Chromosome Evolution: Molecular Mechanisms and Evolutionary Consequences
- (3) Kitano, J. Pennell, M., Kirkpatrick, M., Otto, S., Vamosi, J., and Peichel, C. (2015) Why are there so many species with Y- autosome fusions? ESEB2015
- (4) 北野 潤 (2017) トゲウオにおける淡水進出の鍵形質の遺伝基盤 配偶子産生制

御第7回領域会議

- (5) 北野 潤 (2017) トゲウオにおける適応進化の遺伝基盤 IGER セミナー

〔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〕

なし

6. 研究組織

(1) 研究代表者

北野 潤 (KITANO, JUN)

国立遺伝学研究所・集団遺伝研究系・教授  
研究者番号：80346105

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

牧野能士 (MAKINO, TAKASHI)

東北大学・生命科学研究科・准教授  
研究者番号：20443442

(4) 研究協力者

なし