

令和元年6月19日現在

機関番号：13901

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2017～2018

課題番号：17K19425

研究課題名（和文）ショウジョウバエに新たに出現した他種フェロモン認識機構の進化的起源

研究課題名（英文）Evolutionary origin of the neural mechanisms underlying sexual isolation of *Drosophila*

研究代表者

石川 由希（Ishikawa, Yuki）

名古屋大学・理学研究科・講師

研究者番号：70722940

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 4,900,000円

研究成果の概要（和文）：動物は、同種と選択的に交配し、他種との交配を避ける。この行動的な生殖隔離のしくみがどのように進化するのかを理解するために、私はフェロモンによって生殖隔離するショウジョウバエを用いた。このバエは他種のフェロモンにより求愛を低下させることがわかっている。そこで、本研究ではまずスクリーニングによりこのフェロモンによる求愛抑制をおこなう感覚ニューロンを特定した。さらにその形態や数、また下流に接続するニューロンを比較した結果、感覚ニューロンと下流ニューロンとの神経接続の獲得が、この他種フェロモンによる生殖隔離を成立させたことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生殖隔離の進化は、種分化や性選択を介して、生物多様性の創出/維持に大きな影響を与える。この神経基盤の理解は、生殖隔離の商事やすさや性選択の遷移しやすさを予測し、多様性の動態を理解する上で不可欠である。本研究の成果として、私たちは「神経接続の獲得/喪失が生殖隔離の進化に寄与する可能性」を見出した。このような神経接続と進化の関係はこれまで明確に指摘されてこなかった。しかし、同じ性質を持ったニューロンから構成される神経回路の機能が、神経接続の変化によって劇的に転換しうることを考えると、このような機構は行動進化をもたらす新しい普遍的なしくみのひとつかもしれない。

研究成果の概要（英文）：Animals often avoid to mate with heterospecific individuals. To understand the neural mechanism underlying the evolution of this behavioral sexual isolation, we focused on *Drosophila* species, whose sexual isolation mostly depends to cuticular pheromone. First, we screened and identified the sensory neurons which detect heterospecific pheromone and decreases courtship activity. Our further observation of the downstream neurons of these neurons suggests that the acquisition of neural connection between the sensory neurons and the inhibitory downstream neurons contributes the evolution of sexual isolation via heterospecific pheromones.

研究分野：行動遺伝学

キーワード：配偶者選択 生殖隔離 ショウジョウバエ フェロモン

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

1. 研究開始当初の背景

配偶者選択の分化は、性選択や種分化を介して、生物多様性の創出や維持に大きな影響を与える。配偶者選択の分化の神経分子基盤は生殖隔離の起こりやすさや性選択の遷移しやすさを左右し、それゆえ生物多様性の動態を推定する上で不可欠である。しかし神経回路の複雑性やニューロンの機能解析ツールの未整備などにより、その実体はこれまで全く未解明であった。またその遺伝基盤を解明するための量的形質遺伝子座 (QTL) 解析も、視覚/聴覚/嗅覚など複数の情報処理を含む配偶者選択を単一の形質として扱ったため、責任遺伝子座の特定に至っていない。そこで申請者は、単一フェロモン分子への応答を決めるシンプルな神経回路に着目し、神経回路の情報や機能解析ツールが充実したモデル生物とその近縁種を対象とすることで、配偶者選択の分化の神経分子基盤を単一ニューロン/単一遺伝子のレベルで理解する。

2. 研究の目的

キイロショウジョウバエ (以下キイロ) とオナジショウジョウバエ (以下オナジ) は約 540 万年前に分岐した姉妹種であるが、自然環境下では交配しない。これはキイロのフェロモン 7,11-HD (7,11-heptacosadiene) がキイロの求愛を促進する一方、オナジの求愛を強く抑制することによる。面白いことに、キイロを含む祖先型種は 7,11-HD をもつが、オナジは 7,11-HD を二次的に失っている。このことから「祖先型」には 7,11-HD によって求愛を促進する神経回路が存在したが、オナジは新たに 7,11-HD によって求愛を抑制する経路 (7,11-HD 求愛抑制経路) を獲得し、7,11-HD を他種のシグナルとして認識するようになった」と考えられる。そこで本研究では、オナジで新たに出現した 7,11-HD 求愛抑制経路の実体とその進化的起源を解明し、配偶者選択の分化をもたらす神経分子基盤を明らかにする。

キイロでは、脚に存在する ppk25 ニューロンが 7,11-HD を受容し、最終的に求愛コマンドニューロンである P1 ニューロンを活性化させる (ppk25-P1 神経回路)。オナジとキイロが正反対の 7,11-HD 応答性を示す機構としては (A) 同一の神経回路 (ppk25-P1 神経回路) が求愛に異なる作用を及ぼすようになった、または (B) オナジでは 7,11-HD 求愛抑制経路が新たに (あるいは他の求愛抑制経路からの転用で) 獲得された、という 2 つの仮説が考えられる。予備実験により仮説 A は棄却されたため、本研究は仮説 B に注力し、まずはオナジの 7,11-HD 求愛抑制経路を特定することを目指した。予備実験から、オナジの 7,11-HD 求愛抑制経路の入口となる 7,11-HD 受容ニューロンは前脚上の味覚ニューロンのいずれかであると想定された。さらに、これまでの私たちの研究で、2 種の雑種はオナジと相同な 7,11-HD 求愛抑制経路を持ち、また遺伝学的ツールを用いて前脚上の全味覚ニューロンを特異的に機能抑制できるとわかった (石川 未発表)。そこで本研究では、雑種を用いたスクリーニングを足がかりに、オナジの新たな 7,11-HD 受容ニューロンを特定し、7,11-HD 求愛抑制経路の実体とその進化的起源を解明した。

3. 研究の方法

(1) 7,11-HD 受容ニューロンのスクリーニング、機能比較

7,11-HD 受容ニューロンを特定するために、各味覚ニューロンに神経毒テタヌス毒素 (TNT) を発現させたキイロをオナジと交配させ、各味覚ニューロンの機能を阻害させた雑種を得た。これら雑種のキイロに対する求愛活性を観察し、機能阻害によってキイロに対する求愛が促進されるニューロン群を 7,11-HD 受容ニューロン群とした。また、7,11-HD 受容ニューロンに TNT を発現させたキイロと野生型キイロを交配させて得られた、7,11-HD 受容ニューロンの機能を阻害させたキイロに関しても、同様の行動観察を行い、該当ニューロンの機能を比較した。

(2) 7,11-HD 受容ニューロンの形態比較

7,11-HD 受容ニューロンの形態や細胞数を種間で比較するため、該当ニューロンに蛍光タンパク質 (GFP) を発現させ、その細胞数、細胞体の位置、軸索投射パターンを比較した。

(3) 7,11-HD 受容ニューロンと下流ニューロンとの接続比較

7,11-HD 受容ニューロンと下流ニューロンとの接続を比較するために、GRASP 法を用いた。GRASP 法は、再構成 GFP を指標として神経接続を可視化する方法である。シナプス前細胞とシナプス後細胞の候補ニューロン群に、GFP を 2 分割したサブユニット (spGFP₁₋₁₀, spGFP₁₁) それぞれ発現させる。両ニューロン群がシナプス接続するのに十分なほど近接していれば GFP が再構成されてシグナルが検出されるが、接近していなければシグナルは検出されない。

4. 研究成果

本研究ではまず、オナジと相同な 7,11-HD 求愛抑制経路を持つ雑種において、7,11-HD を受容してキイロへの求愛を抑制する 7,11-HD 受容ニューロンをスクリーニングした。その結果、特定の味覚ニューロンに神経毒テタヌス毒素を発現させると、雑種のキイロへの求愛が促進されることがわかった。このことから、この味覚ニューロンが 7,11-HD 求愛抑制経路の入口となる 7,11-HD 受容ニューロンであることが示唆された。同様の機能阻害をキイロにおいて行っても、キイロやオナジへの求愛に影響はなかったことから、この 7,11-HD 受容ニューロンの機能の違いが、7,11-HD 選好性の進化に重要であることが示唆された。

次に、この機能の違いが、この解剖学的特徴により説明できるかを調べるために、7,11-HD

受容ニューロンに GFP を発現させて、その細胞数、細胞体の位置、軸索投射パターンを比較した。その結果、キイロ と雑種 の 7,11-HD 受容ニューロンの解剖学的特徴に違いは検出されなかった。

そこで 7,11-HD 受容ニューロンの機能の違いが、下流に接続するニューロンの違いによる可能性を検証した。下流に接続する可能性のあるニューロンとして、7,11-HD 受容ニューロンの投射部位付近に投射することが知られており、フェロモン入力により求愛を抑制することが知られている特定のニューロン(Yニューロンとする)に着目した。GRASP 法を用いてこれら 2 種のニューロンのシナプス接続を可視化すると、雑種 においては GRASP シグナルが検出された一方で、キイロ ではシグナルが検出されなかった。このことは、雑種 及びオナジ においては 7,11-HD 受容ニューロンが Yニューロンに接続することで求愛を抑制している一方、キイロ では 7,11-HD 受容ニューロンは Yニューロンに接続せず、そのため求愛に対する効果を持たないという可能性を示唆している。すなわち、オナジにおいて新たに出現した 7,11-HD 求愛抑制経路は、7,11-HD 受容ニューロンと Yニューロンの神経接続の獲得により出現したと考えられる。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 1 件)

1. Ishikawa Y, Okamoto N, Yoneyama Y, Maeda N, Kamikouchi A. A Single Male Auditory Response Test to Quantify Auditory Behavioral Responses in *Drosophila melanogaster*. Journal of Neurogenetics (in press) (査読あり)

〔学会発表〕(計 16 件)

1. 石川 由希 「性フェロモンへの好みを決める神経回路の進化」(蚕糸・昆虫機能利用学術講演会) 2019 年 3 月 22 日
2. 石川 由希 「Evolutionary change in a neural network underlying mating preference of fruit fly」(首都大学バイオコンファレンス) 2018 年 11 月 16 日
3. 石川 由希 「近縁種との交配を抑制するフェロモン情報処理の進化」(昆虫脳コネクトーム研究若手研究発表会) 2018 年 12 月 4 日
4. Yuki Ishikawa, Naoki Maeda, Kaori Mochizuki, Gakutami Nomura, Azusa Kamikouchi, Daisuke Yamamoto 「The neural mechanism underlying evolution of mating preference」(The 46th Naito Conference: Mechanisms of Evolution and Biodiversity) 2018 年 10 月 2 日
5. Yuki Ishikawa, Naoki Maeda, Azusa Kamikouchi 「Neural mechanism underlying rapid evolution of sex-pheromone preference」(The 13th Japanese Drosophila Research Conference) 2018 年 9 月 10 日
6. Yuki Ishikawa 「A neural mechanism underlying rapid evolution of mating preference」(Japanese-German Frontiers of Science Symposium) 2018 年 9 月 6 日
7. 石川 由希 「ショウジョウバエが同種の求愛歌を識別するしくみ」(第 78 回日本動物心理学会大会) 2018 年 8 月 28 日
8. 石川 由希, 前田 直希, 上川内 あづさ 「フェロモン選好性の進化を実現する神経回路の変化」(日本進化学会第 20 回大会) 2018 年 8 月 22 日
9. Yuki Ishikawa 「Neural mechanism underlying evolution of mating preference in fruit fly」(ICOB&NPAS Joint Seminar) 2018 年 8 月 13 日
10. Yuki Ishikawa, Naoki Maeda, Azusa Kamikouchi 「性フェロモンに対する選好性の進化を司る神経基盤」(第 41 回日本神経科学大会) 2018 年 7 月 26 日
11. 石川 由希 「種特異的なフェロモン選好性の進化をもたらす神経基盤」(第 65 回日本生態学会) 2018 年 3 月 15 日
12. 石川 由希 「Neural basis underlying evolution of mating preference」(Neuro Global Focusd symposium "Sex on the brain") 2018 年 2 月 20 日
13. Yuki ISHIKAWA, Daichi YAMADA, Natsuki OKAMOTO, Mizuki NAKAMURA, Hyunsoo KIM, Azusa

KAMIKOUCHI 「Neural mechanisms underlying the auditory information processing in the fruit fly」(日本比較生理生化学会第39回大会)2017年11月23日

14. 石川 由希 「ショウジョウバエのフェロモン選好性の進化をもたらす神経基盤」(日本進化学会第19回目)2017年8月24日
15. 石川 由希 「ショウジョウバエの種間交雑を妨げるフェロモン選好性の進化の神経基盤」(Evo-Devo 青年の会)2017年6月16日
16. 石川 由希 「配偶者選好性の進化をもたらす神経基盤」(生命科学の最前線-独自の視点から挑む多彩な生命現象を体感せよ-)2017年6月13日

〔図書〕(計 1 件)

1. 上川内 あづさ、石川 由希 『第4章 小型でハイスペックな脳の獲得 | 昆虫の脳(pp. 129-168)』 In: 「遺伝子から解き明かす脳の不思議な世界(p.520)」一色出版, 2018年12月 ISBN:978-4-909383-05-1

〔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：
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：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

<https://sites.google.com/view/yukiishikawa>

6. 研究組織

(1)研究分担者
なし

(2)研究協力者

研究協力者氏名：上川内 あづさ

ローマ字氏名：Azusa Kamikouchi

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。