

令和 2 年 5 月 21 日現在

機関番号：10101

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19427

研究課題名(和文) 模様機能を考える

研究課題名(英文) Thoughts on the function of color patterns

研究代表者

越川 滋行 (Koshikawa, Shigeyuki)

北海道大学・地球環境科学研究所・准教授

研究者番号：30714498

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)：ミズタマショウジョウバエ (*Drosophila guttifer*) は、翅と腹部にメラニン色素による黒い水玉模様を持つ。この模様の機能(適応的意義)を明らかにしようと試みた。まず本種の模様に関与していると推定される遺伝子をゲノム編集によりノックアウトした系統の樹立を試み、二つの遺伝子について、系統の樹立に成功した。本種の翅の模様の機能として考えられる仮説を整理し、配偶者選択における機能を上記系統を用いた実験によって検証した。その結果、雌雄ともに配偶相手の翅の有無は交配相手の選択に影響した。雌による配偶相手の選択において、雄がどの種の翅を持つかは影響したが、それ以外の要素は影響しなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究の目的は、ショウジョウバエ(ハエ目、ショウジョウバエ科の昆虫)の体表(腹部、翅)にあるメラニン色素による着色、模様に関して、その存在意義(適応的意義)を明らかにすることにあった。特にその方法として、ゲノム編集によって模様を改変した個体を用いることが新しい切り口であった。行動実験の結果より、配偶者選択における模様の機能は検出されなかった。本研究をきっかけのひとつとして、より多くの生物の模様の意味が明らかになると期待している。

研究成果の概要(英文)： *Drosophila guttifer* has black polka dots of melanin pigmentation on the wings and abdomen. We tried to clarify the function (adaptive significance) of this pattern. First, we attempted to establish mutant lines in which genes involved in the pigmentation pattern of this species were knocked out by genome editing. We established several lines for the two genes. The hypotheses concerning the function of the wing pattern of this species were reviewed. The function in mate choice was verified by experiments. As a result, the presence or absence of the wing of the mating partner affected the mate choice. The mate choice by females affected by the specific origin of the wings of males, but not by the other factors, such as perfectness of the pattern or intensity of the pattern.

研究分野：進化発生生物学

キーワード：ショウジョウバエ 模様 着色 機能 進化

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

一般に、生物の体表にある模様の適応的意義は、十分に理解されているとは言えない。例えば、昆虫には様々な模様を持つものがあるが、ある模様は隠蔽に役立つと解釈され、ある模様は捕食者への警告に役立つと解釈されている。それらの解釈は、ある限定された条件での実験によって裏付けられたとみなされるが、別の実験では支持されないこともある。実験は模様を書き足したり、塗りつぶしたりすることによって行われることがあるが、そのような人工的な操作は、結果を歪める可能性がある。もし遺伝的操作によって非侵襲的に模様を操作することができれば、模様の機能を解明する上で有力なツールとなり得る。本研究では、ショウジョウバエを用いることで、模様形成の至近要因(形成メカニズム)と究極要因(模様の機能)を同時に扱うことのできるモデル系を作ることができるのではないかと考えた。

### 2. 研究の目的

本研究の目的は、ショウジョウバエ(ハエ目、ショウジョウバエ科の昆虫)の体表(腹部、翅)にあるメラニン色素による着色、模様に関して、その存在意義(適応的意義)を検証することのできるモデルシステムを作ることである。特に翅や腹部にユニークな黒色の水玉模様を持つミズタマショウジョウバエを用いる。ゲノム編集による遺伝的操作によって、模様を欠いたり、模様が薄くなった個体を作り出し、野生型と比較することで模様の機能を明らかにすることができるのではないかと考えた。本研究をきっかけのひとつとして、より多くの生物の模様の意味が明らかになると期待している。

### 3. 研究の方法

ミズタマショウジョウバエには確立された系統資源がほとんどないが、ゲノム編集により翅の水玉模様を薄くした系統を作ることができるのではないかと考えた。まずミズタマショウジョウバエの模様に関与していると推定される遺伝子を、CRISPR/Cas9法を用いたゲノム編集によりノックアウトすることを試みた。化学合成したcrRNAとtracrRNA、Cas9タンパク質を混合し、ミズタマショウジョウバエの胚に顕微注射した。生存したG0世代の表現型を調べるとともに、野生型と交配して次世代(F1世代)に現れた変異体を回収し、変異系統として樹立した。次に作出された変異系統に関して、翅の模様の着色の程度を画像解析により定量化し、系統間での比較を行った。ゲノム編集された領域の周辺の塩基配列を詳細に調べ、どのような仕組みで遺伝子の機能が損なわれているのか評価した。

ミズタマショウジョウバエの翅の模様の機能として考えられる仮説を整理した(丹伊田・越川、2019)。仮説のうち、配偶者選択における機能を実験によって検証した。翅を切り落とした個体、模様を持たない別種の翅に付け替えた個体、ゲノム編集により模様を薄くした翅に付け替えた個体、突然変異により模様の一部要素を欠く翅に付け替えた個体、翅を黒く塗りつぶした個体等を用いて、交配実験を行った。

### 4. 研究成果

メラニン合成に関与することが知られる二つの遺伝子について、エクソンの主要部分を欠くかフレームシフトを起こした複数の系統の樹立に成功した(論文準備中)。これらの遺伝子の機能は別種であるキイロショウジョウバエでは既知であったが、本研究では初めてミズタマショウジョウバエでの機能を実験的に示すことができた。これらの一部を、模様の機能を調べるための交配実験に使用した。

交配実験の結果、雌雄ともに配偶相手の翅の有無は交配相手の選択に影響した。雄による配偶相手の選択を調べた実験のうち、翅を付け替えた実験において、雌の翅の由来(同種か別種か)翅の模様の要素の完全さや濃さなどは交配相手の選択に影響するという結果が得られなかった。雌による配偶相手の選択において、雄がどの種の翅を持つかは影響したが、それ以外の要素(模様の要素の完全さや濃さなど)が影響するという結果は得られなかった(Niida and Koshikawa 2020)。つまり、ミズタマショウジョウバエにおいて、翅の模様が配偶者選択に影響するという結果は得られなかった。本研究では、ミズタマショウジョウバエの模様の機能を明らかにするには至らなかったものの、模様形成の至近要因と究極要因の両者を調べることができるモデル系

の確立に近づくことができた。また、性的に単型の翅の模様を持つショウジョウバエにおいて、模様の機能を実験により調べた初めての研究例となった。今後は、配偶者選択以外の機能、例えば捕食者に対する隠蔽や警告、体温調節など、模様の機能に関する他の可能性を検証していく必要がある。

## 5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計6件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 福富雄一、越川滋行	4. 巻 87
2. 論文標題 昆虫の模様形成研究の現在とこれから	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 蚕糸・昆虫バイオテック	6. 最初と最後の頁 95-102
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11416/konchubiotec.87.2_095	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 Yuichi Fukutomi, Keiji Matsumoto, Noriko Funayama, Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 131
2. 論文標題 Methods for Staging Pupal Periods and Measurement of Wing Pigmentation of <i>Drosophila guttifera</i>	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Visualized Experiment	6. 最初と最後の頁 e56935
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3791/56935	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 -
1. 著者名 丹伊田拓磨、越川滋行	4. 巻 54
2. 論文標題 ハエの翅の模様の機能を考える	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 36-39
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 -
2. 論文標題 Evolution of wing pigmentation in <i>Drosophila</i> : Diversity, physiological regulation, and cis-regulatory evolution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1111/dgd.12661	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yuichi Fukutomi, Shu Kondo, Atsushi Toyoda, Shuji Shigenobu, Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 -
2. 論文標題 Transcriptome analysis reveals wingless regulates neural development and signaling genes in the region of wing pigmentation of a polka dotted fruit fly	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 The FEBS Journal	6. 最初と最後の頁 in press
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1111/febs.15338">https://doi.org/10.1111/febs.15338</a>	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Takuma Niida, Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 -
2. 論文標題 Sexually monomorphic wing pigmentation pattern does not contribute to mate choice in <i>Drosophila guttifera</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 bioRxiv	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) <a href="https://doi.org/10.1101/2020.05.04.077909">https://doi.org/10.1101/2020.05.04.077909</a>	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計13件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 6件)

1. 発表者名 越川滋行、福富雄一、松本圭司
2. 発表標題 ミズタマシヨウジョウバエの模様はどのように作られるのか？
3. 学会等名 日本動物学会第89回大会 (みなし開催) (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 越川滋行、松本圭司、福富雄一
2. 発表標題 Generation mechanism of a polka-dot pattern in <i>Drosophila guttifera</i> .
3. 学会等名 第46回内藤コンファレンス (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木誉保、越川滋行、小林功、内野恵郎、瀬筒秀樹
2. 発表標題 カイコyellow遺伝子の発現制御領域のエンハンサー解析とシスモジュール制御
3. 学会等名 蚕糸・昆虫機能利用学術講演会（日本蚕糸学会第88回大会）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 福富雄一、松本圭司、船山典子、越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエの翅の着色過程の解明と模様形成遺伝子同定法
3. 学会等名 日本進化学会第19回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエ <i>Drosophila guttifera</i> の模様ができる仕組みを調べ、機能を考える
3. 学会等名 第5回生態進化発生コロキウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Shigeyuki Koshikawa, Yuichi Fukutomi
2. 発表標題 Enhancer function and evolution of polka-dots in <i>Drosophila guttifera</i>
3. 学会等名 日本発生物学会第52回大会 co-sponsored by Asia-Pacific Developmental Biology Network (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福富雄一, 重信秀治, 越川滋行
2. 発表標題 ミズタマシヨウジョウバエの模様で発現する遺伝子の解明のためのトランスクリプトーム解析
3. 学会等名 日本発生物学会 第52回大会 co-sponsored by Asia-Pacific Developmental Biology Network (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福富雄一, 重信秀治, 越川滋行
2. 発表標題 模様形成遺伝子の探索 ~ミズタマシヨウジョウバエのトランスクリプトーム解析~
3. 学会等名 日本進化学会 第21回 北海道大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 越川滋行, 福富雄一, 松本圭司
2. 発表標題 ミズタマシヨウジョウバエの模様が作られる仕組み
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigeyuki Koshikawa, Keiji Matsumoto, Wataru Yamamoto, Yuichi Fukutomi
2. 発表標題 Pigmentation pattern formation in <i>Drosophila guttifera</i>
3. 学会等名 5th Asia-Pacific <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takuma Niida, Shigeyuki Koshikawa
2. 発表標題 Thoughts on function of <i>Drosophila guttifera</i> wing color pattern
3. 学会等名 5th Asia-Pacific <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuichi Fukutomi, Shuji Shigenobu, Shigeyuki Koshikawa
2. 発表標題 Transcriptome analysis of <i>Drosophila guttifera</i> to elucidate the gene network related to color pattern formation
3. 学会等名 5th Asia-Pacific <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丹伊田拓磨, 越川滋行
2. 発表標題 ミズタマシヨウジョウバエの水玉模様が配偶者選択により進化した可能性
3. 学会等名 第64回日本応用動物昆虫学会大会 (みなし開催)
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考