

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 4 年 5 月 31 日現在

機関番号：12601

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2021

課題番号：18K06371

研究課題名(和文) 蝶蛾の翅模様のモジュール構造とその性質を利用した多様性・複雑性進化の解明

研究課題名(英文) Evolution of diversity and complexity using the modular structure of wing patterns in butterfly moths.

研究代表者

鈴木 誉保 (Suzuki, Takao K)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・特任助教

研究者番号：40442975

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,000,000円

研究成果の概要(和文)：枯葉に似せた模様、樹皮にまぎれる模様など、多様な色・模様はどのような設計原理が備わっているのだろうか？本研究では、蝶や蛾の色・模様注目し、遺伝子と表現型がそなえるモジュール構造の解明に取り組んだ。まず、カイコの黒色形成遺伝子yellowのエンハンサーを調べ、遺伝子組換え技術を利用してシス調節制御のモジュール構造を明らかにした。次に、蝶の擬態(枯葉、岩、地衣類、ミュラー、ベーツ)を調べ、多様な模様が要素の組み合わせを変えてできているモジュール設計であることを明らかにした。さらに、色・模様を含む様々な表現型についてシステム論的な研究を可能にする「表現型システム生物学」を理論化し提唱した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

蝶の擬態のように一見すると複雑な模様であっても、模様要素の組み合わせを変えてだけつくられていることがわかった。また、体の部位ごとに独立に色づけるためには、遺伝子制御のモジュール構造を利用していることもわかった。これは、蝶や蛾で何度も擬態が収斂進化していることの答えのひとつを提案している。また、遺伝子制御レベルのブロック構造を人為的に操作することで、生物工学的に自在な模様が創り出せる可能性を示唆している。

研究成果の概要(英文)：What are the design principles underlying various colors and patterns in animals, such as special resemblance to dead leaves and crypsis in tree bark? In this study, I focused on the colors and patterns of butterflies and moths to elucidate the modular designs in gene regulatory mechanisms and phenotypic morphological structures. First, I investigated the enhancer of the black-associated gene yellow in *Bombyx mori* and revealed the modular structures of cis-regulatory elements using silkworm transgenic technology. Next, I examined butterfly mimicry (dead leaves, rocks, lichens, Muller, and Bates) and revealed that these complex patterns were formed by combining multiple pattern components in different combinations. Furthermore, I proposed a unifying conceptual framework, "phenotypic systems biology," which enables systems biological approaches to various phenotypes, not only morphological traits (e.g., color and pattern) but also behavioral and life-history traits.

研究分野：進化生物学

キーワード：進化生物学 進化発生学 比較形態学 発生生物学 昆虫生物学

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

蝶や蛾は多様に擬態している。擬態模様は、体の器官・組織ごとに色づけることや、色やパターンを機能的に空間配置することなどが必要となる。こうした複雑な模様が進化することは、一見難しいことのように思えるが、しかし実際には擬態模様は蝶や蛾で何度も繰り返して進化している。したがって、擬態模様デザインの背景には、それを可能にする発生システムの設計原理が備わっているはずである。発生システムの設計原理として、モジュール構造が挙げられる。モジュール構造とは、互いに独立したユニットの集合による構造である。ユニットどうしは互いに独立しているため、他のユニットに影響をあたえずに個々に改変することができ、多様なデザインを生み出すことが可能になると考えられている。しかしながら、モジュール構造の分子生物学的な基盤、擬態模様の多様・複雑進化にどのように影響しているのか、等はほとんどわかっていない。

2. 研究の目的

本研究では、蝶や蛾の色・模様に注目し、遺伝子制御レベルと表現型レベルの両面からモジュール設計を明らかにする。また、こうした設計原理を踏まえて、表現型レベルでの新しいシステム論的なアプローチを模索する。

(1) 遺伝子制御レベルのモジュール設計

カイコは、クワコを祖先種とする家畜化された鱗翅目昆虫のモデル生物である。クワコの幼虫は枝に擬態しているが、家畜化された後も体色の一部は名残りがあつた。カイコの幼虫では、複数の体の器官や組織が黒色を呈する。カイコ幼虫の黒色形成は、*yellow* 遺伝子が関与していることが知られる。また、*yellow* 遺伝子を欠損したカイコ変異系統も既に単離されている。加えて、カイコはすぐれた遺伝子組換え技術が開発されており、遺伝子制御を調べるためのエンハンサー解析を行うにはうってつけの材料である。ハエの *Drosophila* 属では、器官・組織特異的な遺伝子発現は、*yellow* 遺伝子のシス調節制御のモジュール構造により達成されていることが知られている。しかし、この設計原理が、他の目の昆虫で成立しているかどうかは検証された例はない。そこで本研究では、カイコの幼虫の黒色形成に注目し、*yellow* 遺伝子の組織特異的な発現がどのような遺伝子制御で行われているかを調べることを目的とした。

(2) 表現型レベルのモジュール設計

蝶は、枯葉・岩・地衣類など様々な隠蔽型擬態をし、またミューラー擬態・ベーツ擬態など標識型擬態もしている。これらの模様は一見して複雑であり、どのようにこうした複雑な模様ができているのかはわかっていない。わたしのこれまでの研究で、枯葉に擬態した蝶や蛾の模様が要素の集合で形成されており、要素ごとに性質を変えながら枯葉模様が進化してきたことがわかっている。また、最近の研究では、ミューラー擬態をしているドクチョウの仲間が斑紋のモジュール設計をしていることが分子機構の研究によりわかってきた。しかし、擬態模様は実に多様であり様々なものがあるが、調べられた擬態の種類も限定的で、また分類群もタテハチョウの一部の亜科に集中していた。そこで、本研究では、隠蔽型擬態と標識型擬態をした9種について調べ、またタテハチョウ科の11亜科のうち7亜科を対象として、その模様の設計原理を調べることを目的とした。

(3) 表現型システムの設計原理の理論化

世界にあふれる複雑で多様な表現型には共通した設計原理はあるのだろうか？表現型にモジュール構造が成立しているならば、表現型がモジュール単位に可分解であることをしめす。言い換えれば、一見複雑な表現型であっても、要素の集合で記述できることを指す。これまでの研究で、わたしは蝶や蛾の模様だけでなく、動物の目や哺乳類の哺乳形質などの複合適応形質が要素の集合で形成されていることを示し、この設計原理を多要素構造として提案した。もしモジュール設計をもとにした多要素構造が様々な適用できるならば、表現型を要素群とその相互作用で形成されるシステムとして記述できる可能性がある。この一般システムとしての記述は、これまで遺伝子中心で進んできたシステム生物学を表現型形質にも拡張できる可能性を示唆する。そこで本研究では、一連のモジュール設計の研究をもとにして、表現型の普遍原理を探るためのフレームワークの構築を目的とした。このフレームワークを、「表現型システム生物学 (phenotypic systems biology)」として提案した。

3. 研究の方法

(1) 遺伝子制御レベルのモジュール設計

1-1. 材料

カイコは、野生型系統として p50、*yellow* 遺伝子欠損系統として k12、遺伝子組換えには白 C を利用した。飼育は、人工飼料あるいは桑葉を餌とし、12:12 で明暗制御し、25-27 で育てた。

1 - 2 . 遺伝子組換え実験

カイコ p50 からゲノムを抽出し、PCR によって yellow 遺伝子の 5'領域とイントロンをクローニングした。カイコ遺伝子組換えに利用する汎用ベクターに乗せ換え、緑色蛍光タンパク質 (GFP) と直列で繋いだ。piggy Bac トランスポゾンを利用して、カイコゲノムへと組み換えた系統を作成した。piggy Bac はゲノムの任意の位置で組み変わってしまうため、ゲノムの位置効果によりエンハンサーと関係なく遺伝子発現が誘導される可能性がある。その可能性を調べるために、それぞれのクローニングされたゲノム断片について、2 - 1 0 系統を作成し、どの系統でも consistent な結果が得られているかどうかを調べた。

1 - 3 . yellow 機能実験

野生系統 p50 を産下後から幼虫がハッチするまでの間、適宜卵殻を取り除いて幼虫を観察し、黒く着色時期を調べた。同様に、yellow 欠損系統 k12 も観察し、p50 で着色している部位が、k12 では着色していない部位を調べた。

(2) 表現型レベルのモジュール設計

1 - 1 . 材料

擬態の一般的な性質をしるために、隠蔽擬態 (crypsis)、扮装擬態 (masquerade)、ミューラー擬態、ベーツ擬態と 4 種を含めた種を調べた。また、分類群の偏りによる結果へのバイアスを避けるために、タテハチョウ科 11 亜科のうち 7 亜科 (Nymphalinae, Charaxinae, Biblidinae, Satyrinae, Danainae, Heliconiinae, and Limenitidinae) から調べる種を集めた。

1 - 2 . 形態学

相同 (グラウンドプラン) を同定する方法は、先行研究で確立した方法を利用した。同形を同定する方法は一般的にない。そこで、レマネ規準と Rieppel fixed points を援用して同定する方法を提案した。相同でも同形でもない方法を新規とした。そのため、この新規形質は novelty というより、unique といったほうが正確である。novelty であるかどうかを検証するためには、系統関係を考慮してより多くの種を調べる必要がある。しかし、今回の目的には不要である。

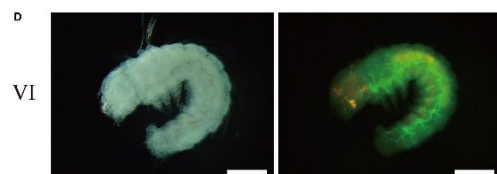
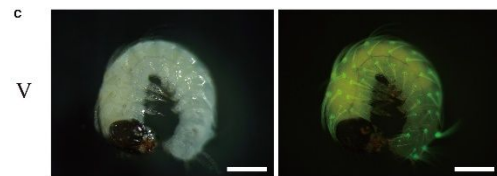
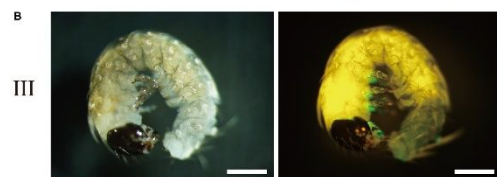
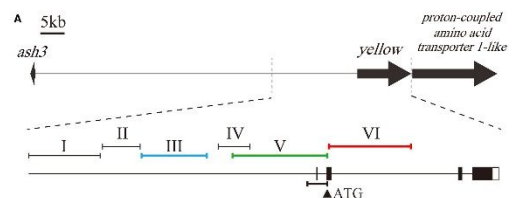
(3) 表現型システムの設計原理の理論化

システム全体の枠組みである多要素構造は、先行研究で複合適応形質の設計原理として提案していた。この考え方を表現型の一般化にも援用した。要素群については比較生物学の方法を援用した。要素間相互作用については、先行研究の方法をもとにした。マクロ進化プロセスについては、先行研究の方法をもとにした。

4 . 研究成果

(1) 遺伝子制御レベルのモジュール設計

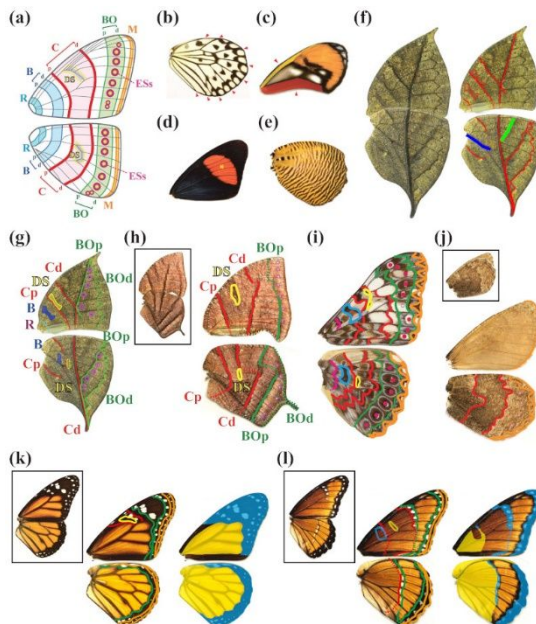
カイコのゲノムから、yellow 遺伝子の 5' 上流とイントロンの 22kb を単離し、エンハンサー解析を行った。約 5kb ごとに約 1kb のオーバーラップを含むように断片化し、緑色蛍光タンパク質 (GFP) に直接つなげたプラスミドを作成した。作成したゲノム断片をカイコ遺伝子組換え技術によりゲノムに組換え、該当のエンハンサー箇所が遺伝子発現誘導能を持っているかどうかを検証した。作成した 6 つの断片のうち、3 つに遺伝子発現誘導能が見られ、それぞれ胸脚、刺毛、トラキアで発現していた。yellow 欠損系統を利用して、どの部位の黒色形成に yellow 遺伝子が関与しているかを調べたところ、胸脚、刺毛、トラキアでの黒色形成は yellow 遺伝子が関与していることも検証できた。以上より、カイコ幼虫の黒色形成には yellow 遺伝子が関与し、その発現制御はシス調節領域が部位特異的に誘導する領域がモジュール構造をなしていることがわかった。論文 (査読有り) として発表した。



(2) 表現型レベルのモジュール設計

擬態した蝶 9 種を対象に、形態学を利用して模様を要素の集合へと分解した。枯葉擬態 (コノハチヨウ *Kallima inachus*、エグリキノハタテハ *Memphis philumeta*、シータテハ *Polygonia c-album*)、岩擬態 (ダイセツタカネヒカゲ *Oeneis melissa*)、地衣類擬態 (コケイロカスリタテハ *Hamadryas feronia*)、ミューラー擬態 (オオカバマダラ *Danaus plexippus*、カバイロイチモンジ

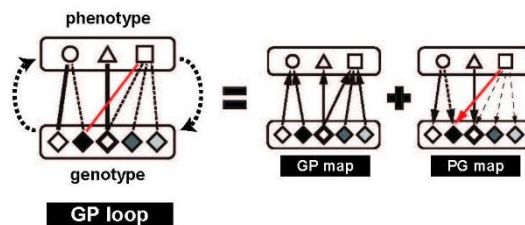
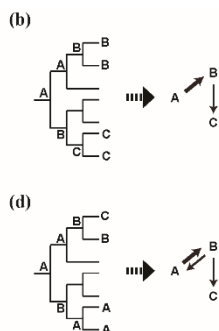
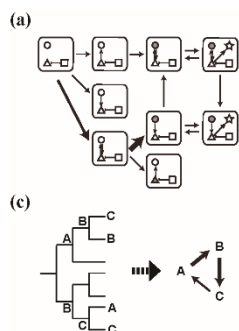
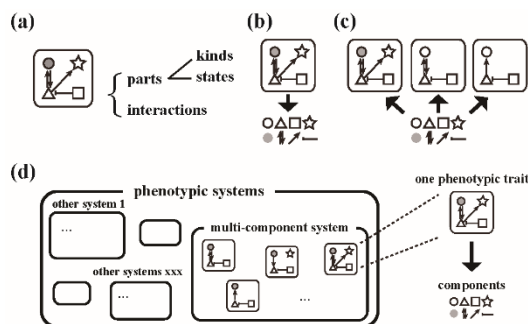
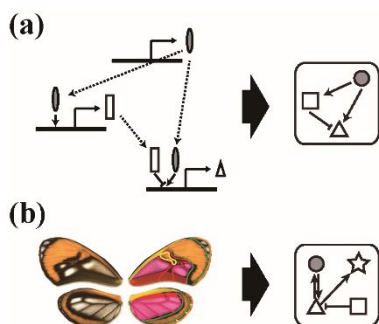
Limnitis archippus, *Hypoleria aureliana*), ベーツ擬態 (*Eresia clio*) の合計 9 種を調べた。模様要素としては、相同要素 (グラウンドプラン) 同形要素 (さざ波模様、色領域、脈依存斑紋) 新規要素を調べた。擬態の種類や分類群に依らず、すべての擬態模様が要素の集合へと分解できた。同じ要素の組み合わせ方を変えて、様々な擬態を作りだしていることがわかった。また、枯葉に擬態した蝶がみせる葉脈模様はグラウンドプランで作られているが、どの要素を使って主脈や側脈をつくるかが異なっていた。以上より、様々な擬態模様は、レゴブロックのように模様要素を組み合わせを変えて作られるモジュール構造をしていることがわかった。論文 (査読有り) として発表した。



(3) 表現型システムの設計原理の理論化

表現型形質にも要素群と要素間相互作用を定めることで、分子レベルと同等なシステム生物学の構築を目論んだ。まず表現型形質が要素の集合としてできていることを多要素構造として定めた。これはモジュール設計を基盤にした構造である。要素群のタイプとして、要素そのものが存在すること (kinds) と要素の状態 (states) を定めた。要素群の種類として、相同・同形・新規といった比較生物学の見解を援用して定めた。相互作用としては、形態の揺らぎ構造を利用し統計物理のスピングラスを援用して定められる数理構造として提案した。さらに、この定式化は、複雑な形質の進化プロセスを解くための基盤ができていることを示した。系統比較法 (phylogenetic comparative methods) をもとにした方法であり、マクロ進化プロセスを解析できる。最後に、これから鍵となる概念として、マクロ進化パスウェイと遺伝子型 - 表現型ループ (GP loop) を提案した。これらは、形質のモジュール設計が存在するなら、より普遍的な原理を探ることができることを提案するものである。

表現型形質にも要素群と要素間相互作用を定めることで、分子レベルと同等なシステム生物学の構築を目論んだ。まず表現型形質が要素の集合としてできていることを多要素構造として定めた。これはモジュール設計を基盤にした構造である。要素群のタイプとして、要素そのものが存在すること (kinds) と要素の状態 (states) を定めた。要素群の種類として、相同・同形・新規といった比較生物学の見解を援用して定めた。相互作用としては、形態の揺らぎ構造を利用し統計物理のスピングラスを援用して定められる数理構造として提案した。さらに、この定式化は、複雑な形質の進化プロセスを解くための基盤ができていることを示した。系統比較法 (phylogenetic comparative methods) をもとにした方法であり、マクロ進化プロセスを解析できる。最後に、これから鍵となる概念として、マクロ進化パスウェイと遺伝子型 - 表現型ループ (GP loop) を提案した。これらは、形質のモジュール設計が存在するなら、より普遍的な原理を探ることができることを提案するものである。



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 4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 Suzuki TK, Matsui M, Sriswasdi S, Iwasaki W.	4. 巻 -
2. 論文標題 Lifestyle Evolution Analysis by Binary-State Speciation and Extinction (BiSSE) Model	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Methods in Molecular Biology	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) なし	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 Suzuki Takao K.	4. 巻 19
2. 論文標題 Phenotypic systems biology for organisms: Concepts, methods and case studies	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Biophysics and Physicobiology	6. 最初と最後の頁 e190011
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophysico.bppb-v19.0011	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 鈴木誉保	4. 巻 89
2. 論文標題 数学で探るマクロ進化プロセス : 多要素構造, 組立順序	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 蚕糸・昆虫バイオテック	6. 最初と最後の頁 25-33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11416/konchubiotec.89.1_025	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 鈴木誉保	4. 巻 61
2. 論文標題 表現型システムの生物物理	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 生物物理学会誌	6. 最初と最後の頁 31-35
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.2142/biophys.61.031	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 鈴木誉保	4. 巻 -
2. 論文標題 2.4. カイコにおける遺伝子制御	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 カイコの科学	6. 最初と最後の頁 39-40
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 Suzuki T. K., Koshikawa S., Kobayashi I., Uchino K., Sezutsu H.	4. 巻 -
2. 論文標題 Modular cis-regulatory logic of yellow gene expression in silkworm larvae	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Insect Molecular Biology	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) 10.1111/imb.12574	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 Suzuki Takao K., Tomita Shuichiro, Sezutsu Hideki	4. 巻 280
2. 論文標題 Multicomponent structures in camouflage and mimicry in butterfly wing patterns	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Journal of Morphology	6. 最初と最後の頁 149 ~ 166
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/jmor.20927	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 鈴木誉保	4. 巻 53
2. 論文標題 INSECTS REPORTS 枯葉に擬態した蝶の進化 : 系統レベルの進化と集団レベルの進化	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 34 ~ 36
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 鈴木誉保	4. 巻 87
2. 論文標題 蝶や蛾の翅模様のグラウンドプランと多様性 (特集 ポストゲノム時代の形態進化研究)	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 109 ~ 116
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11416/konchubiotec.87.2_109	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 鈴木誉保	4. 巻 -
2. 論文標題 12章 かたち・模様・パターンの定量生物学	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 定量生物学 (DOJIN BIOSCIENCE SERIES)	6. 最初と最後の頁 195 ~ 209
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 -

〔学会発表〕 計11件 (うち招待講演 4件 / うち国際学会 2件)

1. 発表者名 Suzuki TK
2. 発表標題 Reconstruction of evolutionary process and pathway: Lessons from camouflage and mimicry patterns in butterfly wings
3. 学会等名 The 2nd AsiaEvo conference (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木誉保, 富田秀一郎
2. 発表標題 表現型オミックスと系統比較法であぶりだす: マクロ進化ダイナミクス
3. 学会等名 日本進化学会第23回東京大会 (招待講演)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 鈴木誉保
2. 発表標題 Combinations of flexible and fixed components facilitate colorful divergence and complexity in butterflies
3. 学会等名 第58回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 鈴木誉保
2. 発表標題 ベイズ統計であぶりだす生物形態のデザイン原理：多要素構造と組立順序
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木誉保
2. 発表標題 Multi-component systems of camouflage and mimicry in butterfly wing patterns
3. 学会等名 第57回日本生物物理学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木誉保
2. 発表標題 蝶・蛾の擬態模様に見る多要素構造と進化
3. 学会等名 日本動物学会 第90回 大阪大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木誉保、富田秀一郎、瀬筒秀樹
2. 発表標題 蝶・蛾の擬態模様みる多要素構造
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木誉保
2. 発表標題 蝶の模様の多要素構造とマクロ進化の大規模統計解析
3. 学会等名 定量生物学の会 第九回年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 鈴木誉保
2. 発表標題 蝶や蛾の翅の模様のグラウンドプランの進化発生システム生物学
3. 学会等名 日本発生生物学会 秋季シンポジウム2018
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Takao K Suzuki
2. 発表標題 Component-based phylogenetic comparative methods: Understanding the evolutionary process of complex adaptive traits
3. 学会等名 Evolution 2018 Montpellier: II Joint Congress on Evolutionary Biology (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 鈴木誉保
2. 発表標題 cis-regulatory modularity of yellow gene expression in silkmoth
3. 学会等名 第70回日本細胞生物学会 第51回日本発生生物学会 合同大会
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

Researchmap https://researchmap.jp/takaoksuzuki/
--

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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関