

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：16301

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2019～2020

課題番号：19K21996

研究課題名（和文）次世代シーケンシングによる温暖化適応遺伝子のゲノム検索：遺伝的多様性予測への活用

研究課題名（英文）Genome Scan for Genes underlying Global Warming Adaptation Using Next-generation Sequencing: Application to Genetic Diversity Projection

研究代表者

渡辺 幸三（Watanabe, Kozo）

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・教授

研究者番号：80634435

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は気候変動に伴う流域内の環境勾配の変化に伴う適応的な遺伝子頻度の変化を表現する手法を構築した。河川水生昆虫7種を対象にして、温暖化に関連する環境因子（水温・降水量等）の影響を受ける環境選択性遺伝子座をゲノムから検索し、それらの配列型を環境変数から予測する適応進化モデルを開発した。そして、気候変動シナリオ下の流域スケールの環境変数の空間分布を導き、上記適応進化モデルとのガップリングにより、将来の遺伝子型と遺伝的多様性の空間分布を予測した。その結果、適応的進化を考慮すると、生息域の縮小が必ずしも遺伝的多様性を劣化させるとは限らないことが示された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

従来の気候変動下の遺伝的多様性の予測は、中立進化（環境選択を受けない）を前提としているが、現実には、例えば低水温に適応した遺伝子型は温暖化が起きれば、水温が低い高標高・高緯度地域に避難して存続できる可能性がある。しかし、従来法では中立遺伝子座が解析されてきたため、環境勾配に沿った遺伝子の「避難現象」を再現できず、遺伝的多様性の低下を過剰に予測する可能性が懸念される。本研究は、ゲノム上の環境選択性遺伝子に着目して、気候変動下における環境勾配に沿った遺伝子型の移動（避難）も考慮した上で、遺伝的多様性をより正確に予測するモデルを開発した点で高い学術的意義がある。

研究成果の概要（英文）：In this study, we constructed a method to describe adaptive changes population genetic structure associated with changes in environmental gradients within a watershed due to climate change. We developed an adaptive evolution model for seven riverine aquatic insect species by searching the genome for environmentally selective loci that are affected by environmental factors related to global warming (e.g., water temperature and precipitation) and predicting their allele frequencies from environmental variables. Then, we predicted the spatial distribution of environmental variables at the basin scale under climate change scenarios, and predicted the spatial distribution of allele frequencies and genetic diversity by gapping with the above adaptive evolution model. The results showed that habitat reduction does not necessarily degrade genetic diversity when adaptive evolution is considered.

研究分野：応用生態工学

キーワード：ゲノム 適応遺伝子 次世代シーケンシング 遺伝的多様性 河川

## 様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

### 1. 研究開始当初の背景

野生生物の環境適応を遺伝子の観点から調べる研究は多いが、そのほとんどが遺伝子に対する選択圧を考慮していなかった。近年では統計手法を用いて選択性を有する遺伝子座を定義し、局所環境要因との連関を調べる研究が増えているが、事例は少ない。開発行為や気候変動等の大きな環境変化に適応して野生生物の遺伝子パターンは変化すると考えられるため、今後の生物多様性保全施策のためにも環境依存的な遺伝変動を把握する枠組みの構築が希求される。

これまでの気候変動に伴う遺伝的多様性の変化を推定する研究では、将来における生息分布の縮小あるいは空間的遷移に伴い対象領域における遺伝子プール(集団サイズ)が減少することを想定して、遺伝的多様性の減少を表現してきた。しかし、これは気候変動に伴う集団サイズ(個体数、生息分布)の縮小に伴う、遺伝的浮動の増加に伴う遺伝的多様性の劣化を前提とする中立進化理論に基づいていた、気候変動に伴う水温、気温、流速などの環境状態の変化に伴う自然選択が起こす遺伝的多様性の劣化を予測するモデルではなかった。

膨大なゲノム(昆虫:約1~10億塩基長)には、様々な自然選択を受ける「環境選択性遺伝子座」が数多く存在する。温度や降水量等の影響を受けた環境選択性遺伝子座をゲノム上で特定できれば、適応進化モデルを開発できる可能性がある。

### 2. 研究の目的

本研究は気候変動に伴う流域内の環境勾配の変化に伴う適応的な遺伝子頻度の変化を表現する手法を構築することを目標とする。既往研究にて、分布型流出・水温モデルを用いて水生昆虫4種の適応的遺伝変動を推定するモデルが構築されている。このモデルの入力値に気候変動下の気温や降水量を現在気候値の代わりに用いることで、将来の河川水文環境に適応した遺伝変動を予測できると考えている。本研究の目的は以下2つである。

- 目的1: 温暖化に関連する環境因子(水温・降水量等)の影響を受ける環境選択性遺伝子座をゲノムから検索し、それらの配列型を環境変数から予測する適応進化モデルを開発する。  
目的2: 気候変動シナリオ下の流域スケールの環境変数の空間分布を導き、上記適応進化モデルとのガップリングにより、将来の遺伝子型と遺伝的多様性の空間分布を予測する。

### 3. 研究の方法

北海道から四国の国土スケールの気候勾配に沿った数多くの流域で、既存のデータベース等に基づいて、水温・流量・雨量・気温・水質の環境データが連続観測されている地点を選んだ。水生昆虫8種を対象に次世代シーケンサー(HiSeq)によるRAD(Restriction site Associated DNA)解析を行い、各個体のゲノムワイドのDNA配列データを取得した。この際、RAD-PCRプライマーに個体認識タグコードを付加して、同時並行で多個体のゲノム情報を一度に取得した。また、ゲノム情報を補完する情報として、同じ地点から採取した同じ水生昆虫種のRNAseq解析(トランスクリプトム解析)データも取得した。

各個体が採取された地点の環境変数(水温・流量等)を説明変数として、ゲノム中から環境選択性遺伝子座を同定して、それらの遺伝子頻度を環境状態も基づいて予測する「適応進化モデル」を作成した。このモデルの作成には、従来の統計学的手法とは一線を画する機械学習(Random Forestによる決定木モデル)を使って、一般的な統計モデルが抱える入力データの統計分布の制約(例、正規性)、説明変数間独立性、欠損データへの脆弱性等を解決する新規的な手法を開発した。このモデル開発の際、各生物種について、まず環境選択を受けたと考えられる非中立性遺伝子座をゲノム上から選んで行った。この非中立性遺伝子座は、BayeScan(Foll et al, 2008)による自然選択が働かない中立を仮定した進化シミュレーション(モンテカルロ法、10,000回繰り返し計算)を行い、中立進化仮説下の同種個体間の塩基置換率の理論出現分布を導き、理論分布の $P > 0.95$ ,  $P < 0.05$ の外れ値を示す遺伝子座とした。さらに、環境選択を受けないと考えられる残りの中立遺伝子座は、遺伝子頻度の空間分布は環境状態に依らず固定されているとして、気候変動下の変化の予測に用いた。

気候変動下の遺伝的多様性の予測を行った。対象流域は宮城県名取川流域(流域面積939km<sup>2</sup>)である。上流域は標高1,000mを越える山岳地帯であり冬季には多くの積雪があり、中流域は仙台市を中心とした市街地を有する。対象流域において、4種の水生昆虫のモデルシミュレーションを行った。まずIPCC第5次評価報告書による気候変動シナリオ(RCP2.6, RCP4.5, RCP8.5)における将来(2031-2050, 2081-2100)の降水量・気温データを取得し、分布型流出・水温モデルにより、将来期間それぞれの1年間における水深、流速、水温データを算定した。これらの水文データと地理データを用いて、機械学習による生態学的ニッチモデル(生息適正度指数モデル)を種ごとに作成し、気候変動下の生息分布を予測した。非中立性遺伝子座と中立遺伝子座のそれぞれにおける遺伝子頻度を推定した。そして、各地点のヘテロ接合度  $H_e = (1/N) \sum_{i=1}^N p_{i,cal} (1 - p_{i,cal})$ 、 $p_{i,cal}$  は  $i$  番目の遺伝子座の遺伝子頻度、 $N$  は遺伝子座の数)を求め、PHYLIPとFigtree

(v.1.3.1) により Unweighted Pair Group Method with Arithmetic mean (UPGMA) クラスタを作成し、遺伝的多様性と遺伝的類似集団を可視化した。

#### 4. 研究成果

分布型流出・水温モデルの計算の結果、8つのGCMと3つのRCPシナリオのうち、年平均降水量は近未来(2031-2050年で1.02-1.03倍)と遠未来(2081-2100年で1.06倍)でわずかに増加し、年平均気温は近未来(2031-2050年で1.19-1.69増加)と遠未来(2081-2100年で1.29-4.37増加)で大幅に増加すると予測された。近未来(+0.3~0.7)と遠い将来(+0.4~3.2)の年間水温の上昇は特徴的だが、気温に比べて上昇幅は緩やかだった。月間水温は、冬から春先にかけて、他の季節に比べてさらに上昇した。RCP8.5シナリオにおける近未来と遠未来の月別流出量は、現状で流出量が多い7月と10月に おいてわずかに増加すると予測され、将来的には最大流速などが上昇することが示唆された。

流域内に広く連続的に分布する *Hydropsyche orientalis* (Ho) と上流に連続的に生息する *Hydropsyche albicephala* (Ha) の生態学的ニッチモデルは、クロスバリデーションの結果、他の種に比べて優れた性能を示した。その一方で、生息分布がパッチ状になっている *Stenopsyche marmorata* (Sm) と *Ephemera japonica* (Ej) は、比較的モデルの精度は低かったが有意な信頼性を得る結果となった。機械学習アルゴリズムに基づくランダムフォレスト(RF)とブースト回帰木(BRT)は、一般化加法モデルと比較して、良好な精度を示した。

広く分布する Ho と Sm は、主に水温の上昇に伴い、将来の気候条件の下で上流側の出現確率がさらに高くなると予測された(図1)。一方、Ha と Ej は上流の出現確率が大きく低下した(図2)。その結果、前者と後者の2種では、出現確率から種の存在範囲(または生息範囲)が変換される河川メッシュが、それぞれ大幅に増加・減少した。驚くべきことに、極端なシナリオ(遠将来のRCP8.5)では、Ha の生息範囲は100%喪失した。最も保守的なシナリオ(RCP2.6)でも、Ha は現在の生息地の62.1%を失うと予測された。Ej の生息域も27.1%-61.1%減少したが、Ho と Sm はそれぞれ28.3%-38.7%と15.3%-37.0%増加した。河川の水温は、気温に比べて上昇幅が小さいにもかかわらず、将来的に上流に住む Ha に壊滅的な損失をもたらす可能性があることを初めて示した。

ゲノムスキャン法(Dfdist と BayeScan)により Ho、Sm、Ha、Ej の4種に対して、それぞれ10、27、7、7の遺伝子座が適応的遺伝子座として検出された。これらの適応的遺伝子座の遺伝子頻度は、機械学習アルゴリズムに基づくブースト回帰木でモデル化した。その結果、Ho、Sm、Ha、Ej のそれぞれ10、25、6、6の適応的遺伝子座について、対立遺伝子頻度を有意に推定できた。

これらの適応的遺伝子座について、流域全体の遺伝的多様性の高さを表すガンマ多様性  $H_T$  の気候変動下の挙動を予測した(現在、近未来、遠未来)。その結果、温室効果ガス排出量の増加に伴い、Ho、Sm、Ha が減少し、Ej は増加した。中立遺伝子座を対象にした予測では、ガンマ多様性  $H_T$  は気候変動(生息域の変化)の影響を受けにくかった。多くの先行研究では、中立進化を前提としてシミュレーションを行っていたため、気候変動下における遺伝的多様性の低下について悲観的な予測がなされていた。本研究では、適応進化プロセスを考慮したシミュレーションを行った結果、流域内に広く分布する Ho、Sm のユニークな遺伝子型は、生息地が失われたにもかかわらず、流域の遺伝的多様性を維持する役割を果たしているという、従来とは異なる結果を示した。

UPGMA クラスタリングによる遺伝的構造の予測は、上流に新たな生息地を得た種(Ho と Sm) と温暖化により生息分布が縮小した2種(Ha と Ej) で遺伝的適応パターンが対照的であることを示した。前者(Ho と Sm)の場合、流域全体に水温による強い選択圧が作用した結果、高い水温により適応した遺伝集団が広がり、遺伝的構造が空間的に均一化されていた(図1)。後者(Ha と Ej)の場合、縮小した生息域内で遺伝的集団の空間分布は、標高の低い生息域の集団が上流側にシフトしていた(図2)。環境の変化(ここでは主に水温の上昇)に対する下流側の集団の劇的な遺伝的適応により、現流域の集団(すなわち青色で表示された集団)が縮小することを示している。以上の結果は、生息域の縮小が必ずしも遺伝的多様性を劣化させるものではないことを示している。

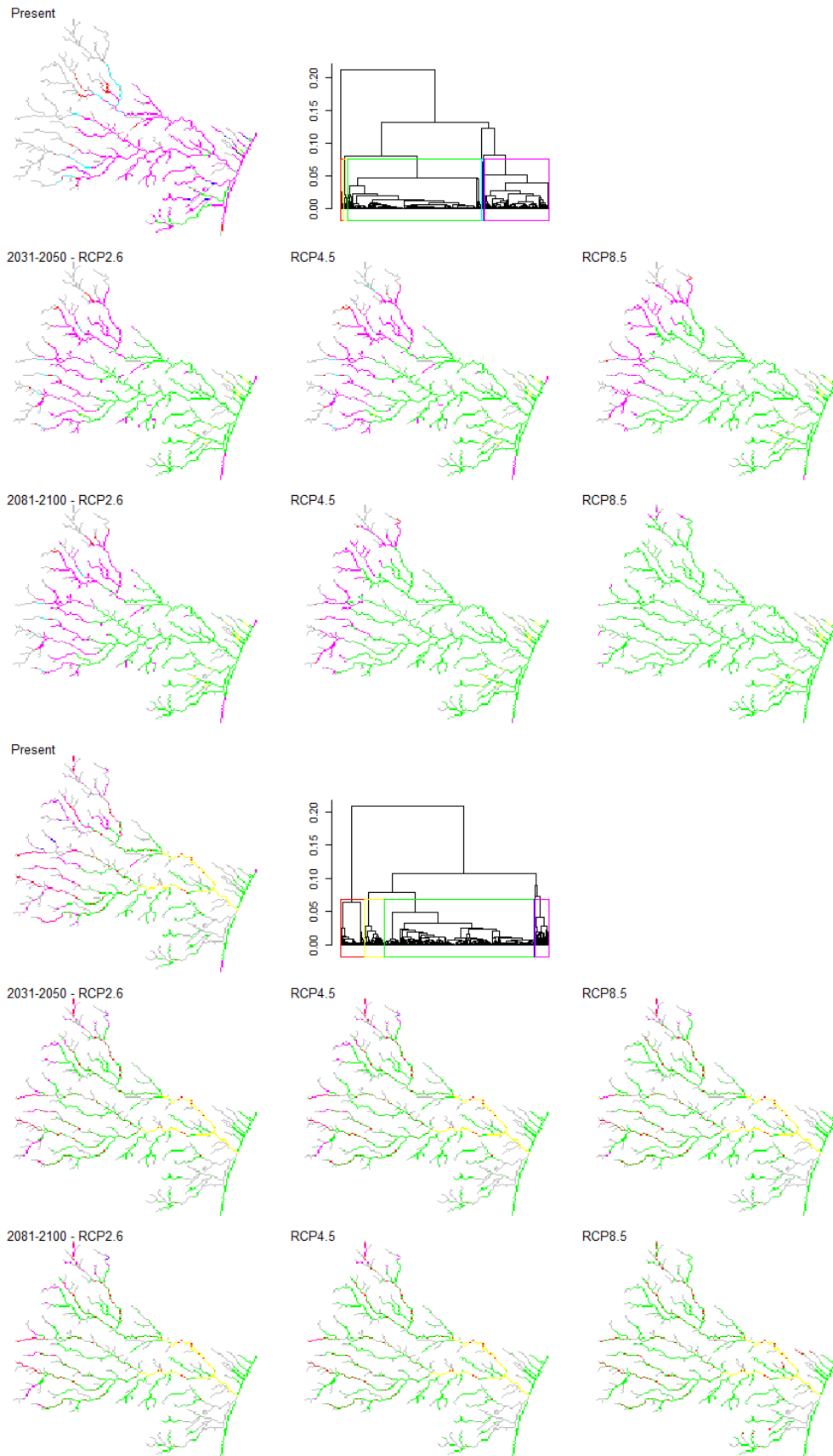


図1. *H. orientalis* (上)と *S. marmorata* (下)の遺伝的に類似した集団を、現在、近未来(2031-2050)、遠未来(2081-2100)の全排出シナリオにおいて、適応遺伝子座の対立遺伝子頻度の予測値を用いて、UPGMAで決定した。各河川グリッドの色は、UPGMAの色(すなわち遺伝的集団)に対応し、薄い灰色は種が生息していないと予測されるグリッドを示す。

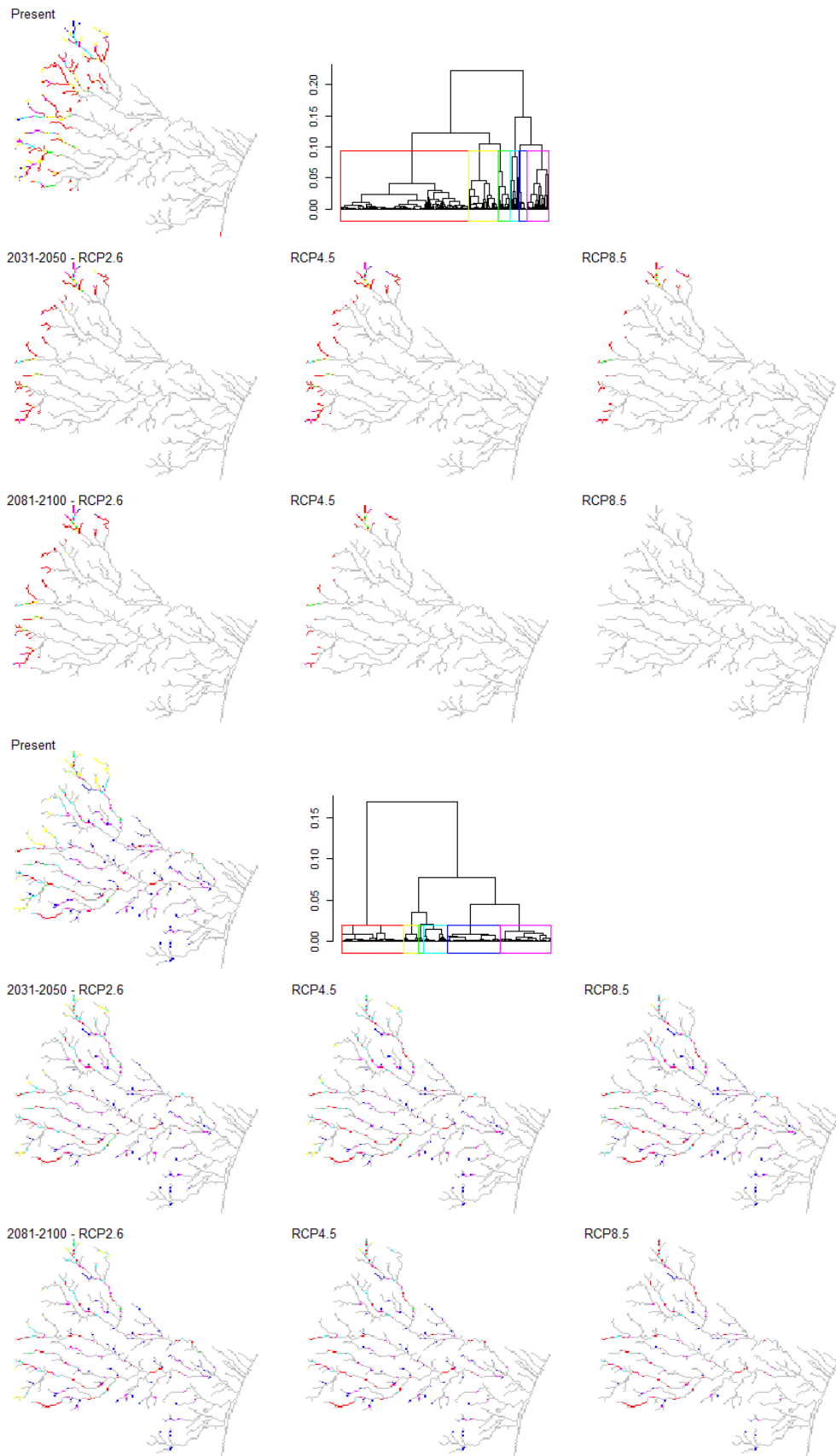


図2 *H. albicephala* (上)と *E. japonica* (下)の遺伝的に類似した集団を、現在、近未来(2031-2050)、遠未来(2081-2100)の全排出シナリオにおいて、適応遺伝子座の対立遺伝子頻度の予測値を用いて、UPGMAで決定した。各河川グリッドの色は、UPGMAの色(すなわち遺伝的集団)に対応し、薄い灰色は種が生息していないと予測されるグリッドを示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 4件/うち国際共著 4件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Chiu, M-C, K. Nukazawa, T. M. Carvajal, V. H. Resh, B. Li, and K. Watanabe	4. 巻 43 (12)
2. 論文標題 Simulation Modeling Reveals the Evolutionary Role of Landscape Shape and Species Dispersal on Genetic Variation within a Metapopulation	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecography	6. 最初と最後の頁 1891-1901
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ecog.05118	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 該当する

1. 著者名 Chiu, M-C, B. Li, K. Nukazawa, V. H. Resh, T. M. Carvajal, and K. Watanabe	4. 巻 26 (12)
2. 論文標題 Branching Networks Can Have Opposing Influences on Genetic Variation in Riverine Metapopulations	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Diversity and Distributions	6. 最初と最後の頁 1813-1824
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ddi.13160	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 該当する

1. 著者名 Malison, R. L., B. K. Ellis, A. G. DelVecchia, H. N. Jacobson, B. K. Hand, G. Luikart, H. A. Woods, M. Gamboa, K. Watanabe, and J. A. Stanford	4. 巻 101 (10)
2. 論文標題 Remarkable Anoxia Tolerance by Stoneflies from a Floodplain Aquifer	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecology	6. 最初と最後の頁 e03127
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ecy.3127	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 該当する

1. 著者名 Li, B., S. Yaegashi, T. M. Carvajal, M. Gamboa and K. Watanabe	4. 巻 10 (13)
2. 論文標題 Detection of Adaptive Divergence in Populations of the Stream Mayfly Ephemera strigata with Machine Learning	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Ecology and Evolution	6. 最初と最後の頁 6677-6687
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/ece3.6398	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 該当する

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 4件）

1. 発表者名 Kozo Watanabe
2. 発表標題 Molecular Approaches to the Study of Freshwater Biodiversity: Genomic Adaptation and DNA Metabarcoding.
3. 学会等名 International Workshop of Water Quality Monitoring (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Ming-Chih Chiu, Kozo Watanabe
2. 発表標題 Landscape shape predicts enclosed genetic variation within the metapopulation of a species with varied dispersal
3. 学会等名 International Workshop of Water Quality Monitoring (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Nukazawa K., Chiu M-C., Kazama S., Watanabe K.
2. 発表標題 Contrasting Adaptive Genetic Consequences of Stream Insects under Changing Climate
3. 学会等名 5th International Conference on Climate Change 2021 (ICCC 2021) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Chiu M. C, Watanabe K
2. 発表標題 Elevational Patterns of Genetic Diversity in Riverine Populations in Japan
3. 学会等名 5th International Conference on Climate Change 2021 (ICCC 2021) (招待講演) (国際学会)
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
--	---------------------------	-----------------------	----

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		
米国	カリフォルニア大学バークレー校		