

令和 6 年 5 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2023

課題番号：20K21454

研究課題名(和文)「強化」がもたらすオスの装飾形質進化の発生遺伝学的基盤

研究課題名(英文) Developmental genetic basis of evolution of male ornaments driven by "reinforcement"

研究代表者

安藤 俊哉 (Ando, Toshiya)

京都大学・白眉センター・特定准教授

研究者番号：10709744

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)：(1)強化遺伝子・装飾形質形成遺伝子の同定、(2)装飾形質形成を支える遺伝子制御ネットワークの解析、を通して、装飾形質進化の発生遺伝学基盤解明を目指した。(1)に関しては、本土系統と沖縄系統のキチョウの交配実験によってF2世代を取得し遺伝学的連鎖解析(ddRAD-seq)の解析データを取得した。(2)に関しては、免疫組織化学・電子顕微鏡解析を通して装飾形質形成に変わる細胞の形態変化を明らかにするとともに、mRNA-seq解析をベースとした装飾形質形成に関わる遺伝子情報を取得した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

強化が生物進化に果たす役割は、生殖形質の多型創出を通して種内に種分化のきっかけを与え、さらなる種分化の連鎖を引き起こす点にある。一方、装飾形質の進化の方向性を決める上で重要な、装飾形質形成の発生遺伝学的背景に関しては、対象生物における発生遺伝学的な解析手法が確立されていなかった為、ほとんど解明されていなかった。本研究では、強化遺伝子座の遺伝子多型情報を利用した集団遺伝学的解析のゲノム科学的な基盤を整備するとともに、トランスクリプトーム解析に基づく発生遺伝学的枠組みを明らかにしたことで、強化が生じる分子基盤を明らかにした。今後、本研究の知見に基づいて強化が引き起こす進化様式の解明が期待される。

研究成果の概要(英文)：We aimed to elucidate the developmental genetic basis of ornamental trait evolution through (1) identification of "reinforcement" genes and ornamental trait-forming genes and (2) analysis of gene regulatory networks that support ornamental trait formation. For (1), we obtained F2 generation data from genetic crosses between the mainland Japan and Okinawa lines of *Eurema* and analyzed them by ddRAD-seq (genetic linkage analysis). For (2), we clarified the morphological changes of cells that change to form ornamental traits through immunohistochemistry and electron microscopy, and obtained genetic information related to ornamental trait formation based on mRNA-seq analysis.

研究分野：進化生物学

キーワード：強化 鱗片 キチョウ 構造色 装飾形質

1. 研究開始当初の背景

動物のオスが示す鮮やかな装飾形質(クジャクの翅等)は、種認識や異性に自らの質を提示する信号として機能する。装飾形質は種に固有の特徴を示し、種分化して間もない近縁種間にも明瞭な違いが見られる。近縁種間の装飾形質の違いを生み出す主要な生態学的機構が「強化(reinforcement)」である。強化は、生殖的形質置換とも呼ばれ、分布域が新たに重なった近縁種間で、種間交雑を妨げる方向に、装飾を含む生殖形質が急激に変化(分岐)する現象である。これまでに、強化の実在や強化の起こる生態学的条件が解明されるとともに、強化が生殖形質の種内多型の創出を通じて種分化を促すことが示されてきた(Phennig et al., 2016, Curr Zool 等)。一方で、最近、別々の系統の種内の形態多型の獲得進化が、発生を制御する特定の相同遺伝子(シグナル伝達因子遺伝子)の発現制御配列への収斂的な変異の獲得によってもたらされた例が発見された(蛾と蝶の着色の収斂, Nadeau et al., 2016, Nature; Gallant et al., 2014, Nat Commun 等)。この発見は、発生を制御する遺伝子と、その遺伝子が制御する発生の枠組みが表現型進化の方向性を規定する(極端な場合、平行進化が生じる)ことを意味する。従って、強化がもたらす進化機構を理解する上でも、発生遺伝学的基盤を解明することは重要な意義を持ち、「種ごとの発生遺伝学的な背景の違いが進化の方向性をどのように規定するか」という進化の未解明問題の解明にも繋がる。本研究では、申請者が確立したキチヨウの実験系を用いてこの問題に取り組むこととした。

2. 研究の目的

本研究では、強化による選択を受けた UV 模様形成遺伝子(強化遺伝子)を特定するとともに、沖縄産ミナミキチヨウと沖縄及び本州産キタキチヨウの装飾形質形成の発生遺伝学枠組みを解明する。そして、それらを統合して、装飾形質形成を担う発生遺伝学的枠組みのどのような違いが、キタキチヨウの強化遺伝子座の対立遺伝子の獲得に繋がったかを解明する。

3. 研究の方法

1) 強化遺伝子・装飾形質形成遺伝子の同定

予備実験から、同種内交配および、キタキチヨウとミナミキチヨウの種間交配において、UV 模様が広い形質は狭い形質に対して優性の遺伝形質であることが判明した。そこで、F2世代の個体と独自に構築したキタキチヨウのゲノム配列を利用した遺伝学的連鎖解析(ddRAD-seq法)を行う。

2) 強化遺伝子の機能解析

独自に開発した遺伝子導入法(Ando & Fujiwara, 2013)を利用して、1)で同定した遺伝子座に存在する数十の遺伝子を対象とした RNA 干渉を介した遺伝子機能阻害スクリーニングを行う。鱗粉の UV 反射率の異常を指標に実際に UV 模様形成を司る遺伝子を同定する。

3) 装飾形質形成を支える遺伝子制御ネットワークの解析

予備的な電子顕微鏡解析から、雄特有のキチヨウの UV 模様は、蛹期の 100~120 時間の間に形成される鱗粉クチクラ最外層の多層膜が呈する構造色(光の干渉により生じる色素によらない色)により発色することが判明した(図 4, 矢尻)。薄膜形成時期の翅の比較 mRNA-seq 解析によって、UV 模様形成を制御する遺伝子制御ネットワークを解明する。

以上の 1) ~ 3)の解析結果を統合して、強化が、装飾形質形成の遺伝子制御ネットワーク上のどこに作用したかを解明する。

4. 研究成果

1) 強化遺伝子・装飾形質形成遺伝子の同定

キタキチヨウとミナミキチヨウでは、生殖後隔離が生じつつあることが判明し、交配により得られた F1 の稔性が低く、得られた F2 の数が少なかった。そこで、沖縄本島に生息するキタキチヨウと、本土(愛知県)との UV 反射の種内多型に着目した連鎖解析を推進し、F2 個体を回収した。コロナ禍の影響で交配実験に時間を要したが、最終的に

UV 反射特性の定量化を行い、ddRAD-seq に向けた DNA 抽出を推進し、ddRAD-seq のシーケンス解析のライブラリー調製までは進め、シーケンスデータの取得を完了した。野外採集・交配に時間を要した為、シーケンスデータを用いた Quantitative Trait Locus (QTL)解析の完了には至らなかった。今後得られたデータの統計学的解析を進めることで強化遺伝子・装飾形質形成遺伝子の同定が期待される。

2) 強化遺伝子の機能解析

ddRAD-seq の解析が遅れた為、3.の mRNA-seq 解析で見出されたシグナル伝達因子に着目した機能解析の準備をすすめた。標的遺伝子の cDNA のクローニングを行うとともに、RNA 干渉実験に用いる二本鎖 RNA の合成を行った。

3) 装飾形質形成を支える遺伝子制御ネットワークの解析

コロナ禍の影響で沖縄系統採集が困難となった為、mRNA-seq 解析を本土系統のキタキチョウの雌雄差に着目した解析を推進した。クチクラ分泌初期の鱗粉細胞表面の微細構造の形態変化を、透過型電子顕微鏡法・免疫組織化学法により観察し、UV 反射に関わる微細形態が生じるより詳細な発生時期を特定した。さらに、その発生時期の前後の mRNA-seq 解析を進めることで、UV 反射特性の発現に関与する遺伝子群を同定した。一方で、キタキチョウとミナミキチョウのロングリード解析 (PacBio Sequel IIe HiFi) を行い、染色体レベルに近いゲノム解読を完了した。mRNA-seq 解析で見出された遺伝子領域を含めた比較ゲノム解析のプラットフォームを構築するとともに、系統間の遺伝子発現に基づく強化関連遺伝子を絞り込んだ。

3)の解析結果から、UV 反射模様の発生に関わる遺伝子群を同定できた。染色体レベルに近いゲノム情報が取得できたことで、1)の QTL 解析において高い精度での強化遺伝子の同定が期待される。また、強化遺伝子座周辺の遺伝子に着目した調査及び機能解析を早急に進めることで、強化が生じる際の発生遺伝学的基盤の特性変化が明らかになることが期待される。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 Toshiya Ando
2. 発表標題 Genetic tool development for understanding the molecular basis of intraspecific color pattern diversification in the ladybug
3. 学会等名 the 55th Annual Meeting of Japan Society of Developmental Biology (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 安藤俊哉、小長谷達郎、新美輝幸
2. 発表標題 キタキチョウのUV反射模様の種内多型と遺伝様式
3. 学会等名 日本動物学会 第91回大会 2020
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>京都大学教育研究活動データベース:安藤 俊哉 https://kdb.iimc.kyoto-u.ac.jp/profile/ja.4fae8bdf113b300d.html 安藤俊哉の研究ページ https://sites.google.com/view/toshiyaando/ テントウムシの完全変態を200時間見守る春の自由研究 -テントウムシを電子顕微鏡で観察してみよう- https://live.nicovideo.jp/watch/lv331047999#94:00:15</p>

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
研究 分 担 者	小長谷 達郎 (Konagaya Tatsuro) (80837790)	奈良教育大学・理科教育講座・准教授 (14601)	

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
---------	---------