

平成30年6月6日現在

機関番号：14401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2015～2017

課題番号：15K14593

研究課題名(和文) 網状模様パターンの網状進化

研究課題名(英文) Reticulate evolution of reticulate animal color patterns

研究代表者

宮澤 清太 (MIYAZAWA, Seita)

大阪大学・生命機能研究科・助教

研究者番号：10377905

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)：本研究課題では、動物体表に見られる模様パターンの多様性や、多様性を生み出すメカニズムを解明することを目指し、とくに遺伝子浸透や種間交雑などの網状進化に関わる事象と、擬態的で複雑な網状模様パターンとの関連を明らかにする目的で研究を行った。網状模様パターンをもつ動物種とその近縁種との間で模様パターン解析および比較ゲノム解析を行うことで、模様パターンと系統関係との関連について新たな知見が得られた。

研究成果の概要(英文)：To elucidate the variety of animal color patterns and their underlying mechanisms, we focused on the possible associations between cryptic and complex reticulate color patterns and reticulate evolutionary events such as genetic introgression and hybridization. Comparative genomics and color pattern analyses of reticulated animal species and their related species with distinct color patterns have brought new insights into the relationships between color patterns and phylogenetic patterns.

研究分野：発生生物学、進化生物学、数理生物学

キーワード：パターン形成

1. 研究開始当初の背景

(1) 種間交雑によって新しい種が形成される事例は、植物ではよく知られている。動物においてはそのような「交雑による種分化」は極めて稀であるとされてきたが、近年、種間交雑によって新たな形質が獲得された事例(チベット人の高地適応がデニソワ人との混血によりもたらされたとする Huerta-Sanchez et al. Nature 2014 など)が報告されるようになり、網状進化に関わるイベントが生物進化の過程でこれまで考えられてきた以上に大きな役割を果たしてきたことが示唆されている。

(2) 動物体表に見られる模様パターンは、同種識別・交配選択や擬態・隠蔽等、適応的にも大きな意義をもつ形質であるが、新たなパターンがどのように獲得されるかはまだよくわかっていない。そうした中、数理モデルとシミュレーションによる検討を行った研究代表者らの研究により、複雑で擬態的な「網状模様パターン」(下図上段)が「網状進化」によって生じ得るという仮説が導かれている(Miyazawa et al. Nature Communications 2010)。



2. 研究の目的

そこで本研究では、網状模様パターンをもつ複数の動物種を対象として、異なる模様をもつ近縁種との間で模様パターン解析と比較ゲノム解析とを行うことで、網状進化の痕跡

を探索し、この仮説を検証することを目指した。

3. 研究の方法

(1) 「網状模様パターン」をもつ生物種のうち、近縁種に白斑点をもつ種、黒斑点をもつ種の両方がいるものを対象として、近縁種も含めたサンプル収集を行った。本研究課題においてはとくに多様な模様パターンをもつ硬骨魚を対象とし、稀少種については博物館標本等を含め収集にあたった。得られた生体サンプル、凍結サンプル、もしくは博物館収蔵液浸標本由来サンプルの筋肉組織、鱗等より DNA 抽出を試みた。また、生体サンプル、凍結サンプルについては、可能な場合には体表組織の摘出を行い、模様パターンを構成する要素の境界部分で切り分けた後、RNA 抽出に供した。

(2) 収集した生体サンプルの撮影画像を中心として、博物館収蔵標本や魚類写真資料データベースなどから得られた画像データも活用し、画像解析による模様パターンの比較解析を行った。

(3) 対象とする生物種のうち、これまでにミトコンドリア DNA の全長配列が決定されていないものについて、全長あるいは部分配列のシーケンス解析を行った。得られた全長ないし部分配列を用いて暫定的な系統樹を作成し、近縁種間の系統関係を確認した。

(4) 上記で対象とした生物種について、複数の核遺伝子について部分配列ないし全長配列の決定および系統樹の作成を行い、ミトコンドリア DNA 配列にもとづく系統樹と比較した。

(5) ミトコンドリア DNA 配列にもとづく系統樹と核遺伝子にもとづく系統樹との間で齟齬が見られ交雑や遺伝子浸透など網状進化の痕跡の可能性が考えられた生物分類群に

着目し、全ゲノムを対象としてより詳細な解析を行った。

4. 研究成果

(1) 擬態的で複雑な「網状模様パターン」をもつトラフグ属、モヨウフグ属、タイセイヨウサケ属、コリドラス属の生物種 7 種計 95 個体および模様の異なる近縁種 23 種計 186 個体についてサンプルを収集することができた。これらのうち計 213 個体について筋肉組織あるいは鱗等からの DNA 抽出に成功した。モヨウフグ属の稀少種 2 種については博物館収蔵のホルマリン固定エタノール液浸標本の筋肉組織からの DNA 抽出を試みた。これらのサンプル中では DNA の断片化・変性が進んでいると考えられ、生体サンプルや凍結サンプルを対象とする従来のプロトコルでは抽出が難しかったため、新たに DNA すいすい-F (リーゾ社) を用いる抽出法や、DNA すいすい-F とオートクレーブを併用する抽出法を検討した。これらの新しい抽出方法を用いることで、数十 bp ~ という短い DNA 断片を効率よく抽出することに成功した。また、計 22 個体については体表組織の摘出を行い、模様パターンを構成する要素の境界部分で切り分けた後、RNA 抽出を行うことに成功した。

(2) 収集した生体サンプルの両側体側の模様パターンをデジタルカメラで撮影し、OpenCV ライブラリと Python で構築した模様パターン画像解析プログラムを用いて解析した。また、当該魚種について博物館収蔵標本や魚類写真資料データベース等より複数個体の画像を入手し、これらも同じく画像解析プログラムを適用することで、模様パターンの比較解析を行った。この結果、今回解析した「網状模様パターン」をもつ種はいずれも、黒斑点模様をもつ種、白斑点模様をもつ種と比較して、全体的な体色としては中間的でありながら、模様パターンの複雑性に関しては超越的 transgressive であることが明

らかとなった。

(3) 収集したサンプルのうちこれまでにミトコンドリア DNA 全長配列が決定されていなかった 12 種を含む計 25 個体についてミトコンドリア DNA 全長配列ないしほぼ全長の配列を解読した。さらに計 177 個体についてミトコンドリア DNA の D-loop 領域の配列を決定した。これらの配列にもとづいて近隣結合法および最尤法を用いて系統樹の推定を行った。

(4) 上記サンプルのうち 10 種計 14 個体について核遺伝子 Rag1 部分配列の解読を行った。また、同じく 10 種計 15 個体についてリボソーム DNA の ITS 領域の解読を行った。これらの配列にもとづいて近隣結合法による系統樹の推定を行った。核遺伝子配列にもとづく系統樹と前項のミトコンドリア DNA 配列にもとづく系統樹とでは系統関係のいくつかは齟齬が見られ、遺伝子浸透ないし交雑の可能性が疑われた。また、ITS 領域の解析において同一種・同一個体から複数の ITS 配列が検出され、それぞれが他種の ITS 配列とクレードをなすケースがあり、当該個体が交雑由来である可能性が大きいことを示した。

(5) 前項までの解析において交雑や遺伝子浸透の可能性が疑われた 2 種を含む近縁種 13 種の計 25 個体について次世代シーケンサを用いた全ゲノム解読を行った。全ゲノムを対象として SNP を抽出し、ADMIXTURE 解析および PCA 解析を行ったところ、交雑が疑われた 2 種 3 個体すべてについて、近い過去における種間交雑を強く示唆する結果が得られた。また、この結果は数理モデルによる予測、および模様パターン比較解析の結果と極めて整合性の高いものであった。

以上の成果は、模様パターンという複雑な形質の多様性・進化を数理モデルによる予測をもとに探るといふ本研究のアプローチの高

い有効性・可能性を示すものであると考える。

5．主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計1件)

宮澤清太、近藤滋、動物体表模様のパターン形成メカニズム、医学のあゆみ、査読無、260(10)、2017、pp. 911-912

〔学会発表〕(計1件)

Seita Miyazawa, Shigeru Kondo, Sho Hosoya, Kiyoshi Kikuchi, Peculiar pigment patterns and possible progenitors of a poisonous pufferfish, The annual meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution, 2015, Vienna (Austria)

〔その他〕

ホームページ等

<http://milk.fbs.osaka-u.ac.jp/labs/skondo/seita/>

6．研究組織

(1)研究代表者

宮澤 清太 (MIYAZAWA, Seita)
大阪大学・生命機能研究科・助教
研究者番号： 10377905

(2)研究分担者

なし

(3)連携研究者

なし

(4)研究協力者

SUŠNIK BAJEC, Simona
(University of Ljubljana, Slovenia)

DJURDJEVIČ, Ida
(University of Ljubljana, Slovenia)