

令和 2 年 5 月 29 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2019

課題番号：16K07479

研究課題名(和文) タナゴ亜科魚類が獲得した新奇形質の適応的多様化機構

研究課題名(英文) Adaptive diversification in a novel reproductive trait of bitterling fishes

研究代表者

北村 淳一 (Kitamura, Jyun-ichi)

三重大学・生物資源学研究科・リサーチフェロー

研究者番号：00432360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：繁殖ニッチ分化は種多様化や多種共存の背後にある生態・進化現象の一つである。コイ科に属するタナゴ亜科魚類は、淡水性二枚貝類の鰓内に産卵するという特異な繁殖生態(繁殖寄生)を示す。タナゴ類の雌は繁殖寄生と関連して、産卵管と呼ばれる近縁分類群に認められない新奇形質を獲得したが、産卵行動発現時の産卵管長の分化は繁殖ニッチ分化の鍵となる表現型進化の一つである。

本研究では、本亜科魚類の中でも亜種間に宿主利用と関連した産卵管長の顕著な変異が認められるタビラ類をモデル系として、そのような変異を生み出す進化遺伝機構(トランスクリプトーム基盤)を解明した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

自然史学的・生態学的関心から繁殖ニッチ分化が駆動する表現型多様性や種多様性創出の研究例は少くない。特に、繁殖寄生を行う動物では宿主利用に関する形質に興味深い形質進化が認められる場合が多く、昆虫類や鳥類を中心に古くから研究されてきた。しかし、その進化機構を遺伝子・ゲノムレベルの枠組みで理解しようという試みはまだ始まったばかりであり、本研究で得られた成果はその先導的研究成果の一つと言える。

研究成果の概要(英文)： Reproductive niche differentiation is a conspicuous ecological and evolutionary phenomenon underlying species diversification and species coexistence. Bitterlings (Teleostei: Cypriniformes: Acheilognathinae) are brood parasitic fishes that spawn in freshwater mussels, and female bitterling evolved a novel reproductive trait named ovipositor in relation to brood parasitism. In bitterlings, divergent ovipositor length is a key phenotypic evolution for the reproductive niche differentiation, or the use of different mussel hosts.

This study used the tabira bitterling that shows intraspecific divergence in ovipositor length through the use of different mussel hosts as a model system, and elucidated transcriptome basis for this divergence.

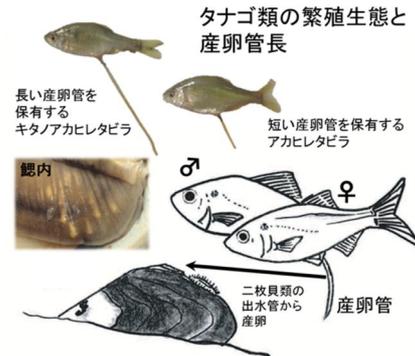
研究分野：進化生態学

キーワード：適応進化 繁殖寄生 新奇形質 トランスクリプトーム 細胞外マトリクス 魚類

1. 研究開始当初の背景

祖先系統や近縁系統には認められない新奇な形質を進化させた生物の存在とそのような新奇性の獲得機構は古くから進化生物学者の関心を浴びてきた。このような新奇形質は動植物を問わず、さまざまな分類群に存在するが、新奇形質自体の多様化が当該分類群のさまざまなレベルでの多様性創出に大きく関与した可能性も予測される。それでは、このような新奇形質の多様化はいったいどのような進化機構によって達成されたのだろうか？

一般に、繁殖寄生を行う動物では宿主利用に関する形質に興味深い形質進化が認められる場合が少なくなく、明らかな新奇形質を進化させたような分類群も存在する。コイ科魚類の一系統であるタナゴ亜科魚類は、生きた淡水性二枚貝類(主に、イシガイ類、ドブガイ類)の鰓内に産卵するという繁殖生態を示し、このような宿主利用と関連して、繁殖期の雌は産卵管と呼ばれる特異な形質を発現させることが知られている。産卵管は二枚貝類の出水管から鰓内に卵を産み付けるために用いられる形質で、繁殖期の雌は泌尿生殖突起から産卵管を伸長させる。コイ科魚類は魚類の中でも種多様性が極めて高い分類群であるが、このような産卵管は祖先系統や近縁系統を含む他のコイ科魚類には認められず、明らかな新奇形質であるといえる(カマツカ亜科のヒガイ属魚類のみに同様の形質が認められるが、タナゴ亜科ほど顕著な特徴を示さない)。さらに、タナゴ亜科魚類は、日本、朝鮮半島、中国などの東アジア地域に多種が生息しており、タナゴ類および宿主となる二枚貝類はともに数十種類存在すること、産卵母貝選択性に種間や地域集団間の変異が存在すること、産卵管の長さが種間・集団間で著しく多様化していることが明らかにされている。このような産卵管長の変異、つまり新奇形質の進化多様性は、宿主利用への適応進化の産物であることが想定されてきた。しかしながら、その進化機構の詳細はブラックボックスのままであった。



2. 研究の目的

本研究では、淡水性二枚貝類に繁殖寄生を行うタナゴ亜科魚類が獲得した産卵管という新奇形質をモデル系として、新奇形質の適応的多様化機構を明らかにしようとするものである。まず、タナゴ亜科魚類における網羅的な産卵管長の種間変異データと各種の系統関係を用いた系統種間比較法(Phylogenetic Comparative Methods: PCM)により、母貝利用と関連した産卵管長の進化がタナゴ亜科魚類に広く起こっていることをシミュレーションにより検証する。次に、タビラ類(*Acheilognathus tabira*)に認められる産卵管長の種内変異(亜種間変異)を利用した比較トランスクリプトーム解析により、産卵管長の変異の背後にある進化遺伝基盤を探索する。以上のアプローチを駆使して、このような新奇形質が多様化した進化機構の一旦を描き出す。

3. 研究の方法

(1) 系統種間比較法(PCM)を用いた産卵管長多様化の進化要因の検出

タナゴ亜科魚類は種間で産卵管長が著しく多様化していることが知られており、このような多様化は宿主利用の差異(異なる母貝種の利用)と関連した適応進化によって創出された可能性がある。一般に、短産卵管を保有する種は小型のイシガイ亜科の貝を利用し、長産卵管の種は大型のドブガイ亜科の貝を利用する傾向があることも判明している。これには、大型の貝種を利用する種は長い産卵管のほうが、小型の貝種を利用する種は短い産卵管のほうが有利であるという適応的なシナリオが想定されている(貝の出水管から鰓までの距離は、貝のサイズに依存するため)。本研究では、このようなシナリオの妥当性を種間の系統関係を考慮した形質比較を行うPCMによって統計学的に検証した。これまでに蓄積した日本産タナゴ類全種の産卵管長データおよびそれぞれの種の産卵母貝種のデータセット(表現型データセット)と既報のタナゴ亜科魚類の分子系統樹(きわめて多くのタクソンをカバーし、複数の核遺伝子とミトコンドリア遺伝子の塩基配列情報を用いて解析した Chang et al. 2014)を本解析に利用した。

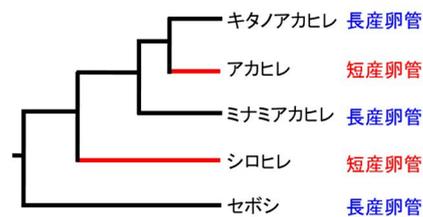
(2) 産卵管長変異のトランスクリプトーム基盤の検出

本州と九州に広く分布する日本固有種のタビラは5亜種(セボシタビラ *A. tabira nakamurae*, シロヒレタビラ *A. tabira tabira*, ミナミアカヒレタビラ *A. tabira jordani*), キタノアカヒレタビラ *A. tabira tohokuensis*, アカヒレタビラ *A. tabira erythropterus*)存在するが、各亜種の産卵管長に大きな変異が存在する。研究代表者のこれまでの先行研究は、産卵管長が長い3亜種と短い2亜種がそれぞれ単系統ではなく、長い産卵管から短い産卵管への進

化がタビラの分化の過程で2度独立に生じたことを明らかにしている(Kitamura et al. 2012). また、野外において短産卵管を保有する亜種は小型のイシガイ亜科の貝を利用し、長産卵管の亜種は大型のドブガイ亜科の貝を利用する傾向があることも判明している. このように、遺伝的に近縁な亜種間に顕著な対象形質の変異が認められるタビラ類は、タナゴ類の産卵管長変異の進化遺伝機構にアプローチするのに、適したモデル系と言える.

タナゴ類の雌は繁殖期に泌尿生殖突起から産卵管を形成するが、産卵行動発現時(排卵時)に顕著に伸長する(最大長となる)ことが知られている. そのため、産卵管長の種間差はその伸長レベルの差異と言い換えることが可能である. 本研究では、この伸長前後の産卵管における網羅的遺伝子発現パターンを亜種間で比較することで、産卵管長の変異の背後にある進化遺伝基盤を明らかにする手掛かりを得ることができると考え、姉妹亜種であるアカヒレタビラとキタノアカヒレタビラを対象とした比較トランスクリプトーム(RNA-seq)解析を実施した.

タビラ5亜種における産卵管長の反復進化



まず、RNA-seq データをマッピングするためのリファレンス配列を得るために、アカヒレタビラのドラフトゲノム解読を実施した. ドラフトゲノムの解読には、本亜種から採取した血液から抽出した高品質ゲノム DNA を用いて、10X genomics-Chromium システムを利用して実施した.

次に、岩手県と秋田県で採集した両亜種の伸長前の産卵管と伸長時の産卵管から RNA を抽出、マルチプレックス cDNA ライブラリーの作成を行い、Illumina HiSeq による RNA-seq を行った. 得られたデータは各種のバイオインフォマティクス解析を行い、伸長前と伸長時の間の発現変動遺伝子の同定を行った. 発現変動遺伝子の遺伝子アノテーションには、同じコイ科のゼブラフィッシュの Ensembl 情報を利用した.



最後に、RNA-seq データを用いた遺伝子オントロジー解析から産卵管伸長において重要であると考えられた遺伝子群の一部を対象に、定量 PCR によって、産卵管長伸長と関連した遺伝子発現パターンの変化を精査した.

4. 研究成果

(1) 系統種間比較法 (PCM) を用いた産卵管長多様化の進化要因の検出

国外外来(亜)種を含めた日本産タナゴ亜科魚類 18(亜)種すべてを対象とした表現型データセットを用いて、R パッケージである phytools (Revell, 2012), mvMORPH (Clavel et al., 2015), OUwie (Beaulieu & O'Meara, 2015) による PCM 解析を行った. その結果、系統関係を考慮しても、産卵管長の変異は利用母貝種の差異を反映していることが強く示唆された. 次に、産卵管長の進化モデル選択を行ったところ、利用母貝種を基準とした複数の適応ピークをもつ Ornstein-Uhlenbeck (OU) モデルがベストモデルとして選択された. さらに産卵管長の形質最適値を推定したところ、ドブガイ亜科利用に適している表現型は長い産卵管であり、イシガイ亜科利用には短い産卵管が適していることが示唆された.

以上の結果から、ドブガイ亜科を宿主とするタナゴ種は長い産卵管を発現させるように、イシガイ亜科を宿主とするタナゴ種の短い産卵管を発現させるように、適応進化した可能性が高いことが統計学的に示唆された.

(2) 産卵管長変異のトランスクリプトーム基盤の検出

今回アカヒレタビラゲノムを新規に解読したが、約 90% Genome Cover (BUSCO: 約 90%) のドラフトゲノム (version 1) が作成でき、これを RNA-seq 解析の参照配列とした.

伸長前と伸長時の間で遺伝子発現量を比較し、発現変動を示した transcript のアノテーション情報を基に、遺伝子オントロジー解析を行ったところ、特に、細胞外マトリクスに関わる一連の遺伝子群が発現変動を示していることが判明した. 産卵管の大部分を占める結合組織層には、コラーゲン繊維が密集していることが知られているが、多重遺伝子族であるコラーゲン遺伝子群 (col) などのコラーゲン合成系遺伝子や、マトリックスメタロプロテアーゼ (mmp) 遺伝子群などのコラーゲン分解系遺伝子などに顕著な発現変動が認められた.

さらに、このような遺伝子群の発現変動レベルは両亜種の間で有意に異なり、このような結果は、定量 PCR によっても支持された. このように本研究は、産卵管長の変異を創出するトランスクリプトーム基盤の一端を検出し、特に、コラーゲンホメオスタシスに関わる遺伝子発現パターンの変化が産卵管長の変異を創出する遺伝機構として重要であることが示唆された. 今後、さらに詳細な解析を行うことで、この現象の進化遺伝機構が明らかになると期待できる.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計4件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 林 寿樹・三品達平・北村淳一・小北智之
2. 発表標題 繁殖寄生と関連した産卵管長の多様化におけるトランスクリプトーム基盤
3. 学会等名 日本生態学会第67回全国大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 林 寿樹・北村淳一・小北智之
2. 発表標題 タナゴ亜科魚類における雌繁殖形質の多様性は適応進化の産物か？
3. 学会等名 日本魚類学会2019年度年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 寿樹・北村淳一・小北智之
2. 発表標題 宿主依存的な卵形の進化：タナゴ類の系統種間比較からの検証
3. 学会等名 日本生態学会第65回札幌大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 林 寿樹・北村淳一・永野 惇・手塚あゆみ・小北智之
2. 発表標題 タビラにおける繁殖寄生と関連した雌産卵形質セットの進化
3. 学会等名 日本生態学会第64回全国大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 北村淳一・内山りゅう	4. 発行年 2020年
2. 出版社 山と溪谷社	5. 総ページ数 224
3. 書名 日本のタナゴ 生態・保全・文化と図鑑	

〔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
研究 分担 者	小北 智之 (Kokita Tomoyuki) (60372835)	福井県立大学・海洋生物資源学部・准教授 (23401)	