

令和元年6月21日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2016～2018

課題番号：16K07480

研究課題名(和文)性的隔離における識別に関わる遺伝子座の同定と行動解析

研究課題名(英文)Genetic and behavioural analysis on female mate discrimination in sexual isolation

研究代表者

都丸 雅敏 (Tomaru, Masatoshi)

京都工芸繊維大学・応用生物学系・助教

研究者番号：70324720

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)：セーシェルショウジョウバエ雌は、キイロショウジョウバエ雄を識別し、ほとんど交尾しない。識別の遺伝基盤を明らかにするため、欠失染色体解析を行った。その結果、F1雑種雌の交尾率が著しく低下する、5ヶ所の染色体領域が識別因子を含む候補として絞り込まれた。候補領域の中には、求愛行動と神経系の性を決定するfruitless遺伝子が含まれていた。そこで、fruitless変異体が識別に関与するか否かを調べたところ、用いた2つのアレルでは交尾率の低下は見られず、識別への関与はないと考えられた。また、体表炭化水素のガスクロマトグラフィ解析を行ったところ、候補領域には顕著な差異は見られなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ショウジョウバエの求愛行動における雌の識別に関わる遺伝基盤を明らかにした。雌の識別は、種認識や配偶者選択のひとつの様態である。種認識や配偶者選択は有性生殖を行う生物では一般に見られ、性的隔離の発達は種分化において重要な役割を果たしていることから、本研究の成果は、植物を含めた有性生殖の配偶システムの進化や種の起源の機構の解明にとって学術的意義があると考えられる。本研究は、生物多様性の3つのレベルのうちの、種の多様性と遺伝子の多様性の2つにまたがる研究であり、生物多様性の保全と人類社会の持続可能性に寄与する社会的意義があると考えられる。

研究成果の概要(英文)：Females of *Drosophila sechellia* rarely accept *D. melanogaster* males, whereas *D. melanogaster* females accept *D. sechellia* males. Since hybrid females of the species accept *D. melanogaster* males more than *D. sechellia* females do, the discrimination by *D. sechellia* females seems to be recessive. This study aimed to clarify the genetic basis of female discrimination. By using a third chromosome *DrosDel* deficiency kit, we found that five chromosomal regions are candidates involving female discrimination factors. We found the fruitless gene locates in one of the candidate regions. The fruitless is the master control gene of male courtship behaviour and determines sexual identity of neurons. fruitless/*D. sechellia* hybrid females copulated well with *D. melanogaster* males, suggesting that these alleles do not affect female mate discrimination. We found small differences in cuticular hydrocarbon profiles between hybrids, however, they do not seem to explain differences in copulation success.

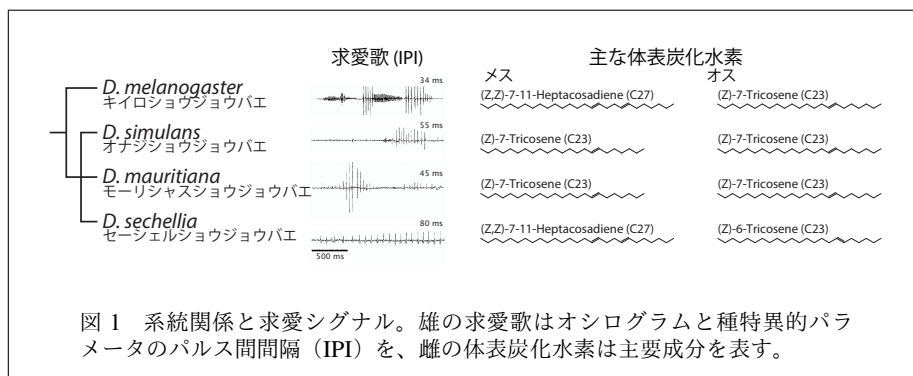
研究分野：進化遺伝学

キーワード：セーシェルショウジョウバエ キイロショウジョウバエ 性的隔離 配偶者選択 体表炭化水素 欠失染色体 ガスクロマトグラフィ 識別遺伝子

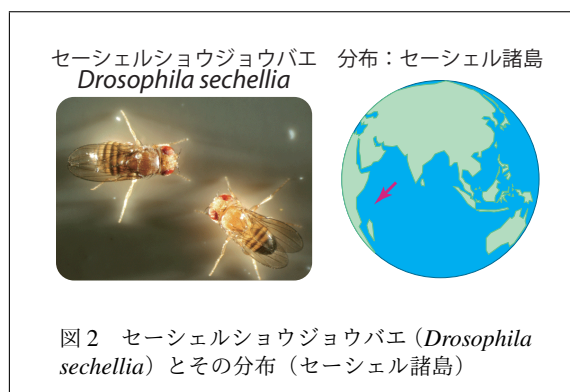
## 1. 研究開始当初の背景

性的隔離など接合子形成前隔離の発達は種分化において重要である。同所的に分布する種間では、異所的な種間よりも接合子形成前隔離が速く進化する傾向にあり、隔離の強化が重要な仕組みと考えられる。配偶に際し、別種を避け、同種を選ぶことは広く生物界に見られ、種認識があると考えられる。種認識や配偶者選択の機構を明らかにすることは、有性生殖における配偶システムの進化の解明につながるに違いない。

ダーウィンによる性淘汰の提唱以来、雌による配偶者選択の進化は最も重要な研究課題のひとつである。雌の選好があれば、雌による配偶者選択は起こりうるから、雌の選好の研究は多く行われてきた。一方、雌が雄を拒絶する場合、選好ではなく、識別の結果として現われた配偶者選択の様態の可能性もある。また、雄の求愛の惹起は選好と考えられるが、求愛の中断は識別による可能性もある。性淘汰によって選好が進化し、性的隔離が生じると予測する理論と裏付けるような実験報告がある。一方、識別の進化が隔離に重要とする理論や実験もある。交尾促進の化学シグナルには種間で保存されているものがある一方、隔離に関わるシグナルは種特異的である。そこで、配偶者識別の進化の解明は性的隔離を考える上で鍵となると考えられる。遺伝学および動物行動学、化学生態学的なアプローチによる研究は、識別と選好の進化とその連続性に関する疑問に光を当てることができるだろう。



シロウジョウバエは求愛行動が定型的であり、多くの種では、雌の体表炭化水素が雄の求愛を惹起させる性フェロモンとして働き、雄が発する翅の振動音 (求愛歌) は雌による雄の受容に用いられると考えられている (図1)。様々な分類群で別種雄の求愛信号に対する雌の拒絶が知られていることから、識別の進化はシロウジョウバエだけの特殊なケースではない。キイロショウジョウバエ (*D. melanogaster*) の姉妹種のセーシェルショウジョウバエ (*D. sechellia* : 図2) では、キイロショウジョウバエ雄の求愛歌に対する雌による拒絶が進化したと考えられる。逆交配では、雌の体表炭化水素の主要成分に違いがない (図1) にも関わらず、セーシェルショウジョウバエ雄によるキイロショウジョウバエ雌への求愛は弱い。F<sub>1</sub> 雑種雌は識別を示さず、セーシェルショウジョウバエ雄の求愛を強く受けることから、雌雄各々の識別の形質は潜性 (劣性) と考えられる。



## 2. 研究の目的

本研究の開始当初の目的は以下の通りである。

- (1) 識別遺伝子候補のカタログ化: 塩基配列レベルで切断点が明らかな欠失染色体系統を用いて識別に関与する染色体領域を同定する。近縁4種の公開されている塩基配列情報と発現情報とを統合し、候補遺伝子をカタログ化する。
- (2) 雌の識別行動の詳細な解析: 識別に関与する染色体領域がヘミ接合であるF<sub>1</sub> 雑種雌の行動を定量的に観察し、行動学的アプローチから識別の機構を推定する。
- (3) 雄の識別に関与する体表炭化水素の解析: ガスクロマトグラフィーにより、セーシェルショウジョウバエ雄による識別が強いF<sub>1</sub> 雑種雌と弱いF<sub>1</sub> 雑種雌の体表炭化水素を比較し、識別に関与する炭化水素種を推定する。
- (4) 識別遺伝子の効果検証: 識別に関与する候補遺伝子を第2染色体に導入した、第3染色体がヘミ接合のF<sub>1</sub> 雑種雌を作製し、識別が弱まるか否かを確かめる。

### 3. 研究の方法

セーシエルショウジョウバエの雌は近縁種のキイロショウジョウバエ雄を識別し、求愛を受け入れずほとんど交尾しない。このセーシエルショウジョウバエの識別の形質が潜性であることを利用して、以下の実験を行った(図3)。

(1) 第3染色体の一部分を欠いた欠失染色体を持つDrosDel欠失染色体系統(キイロショウジョウバエ)とセーシエルショウジョウバエを交配し、F<sub>1</sub>雑種雌を得た。このF<sub>1</sub>雑種雌は、欠失部分に関してはセーシエルショウジョウバエの染色体だけしか持たない部分へミ接合体である。このF<sub>1</sub>雑種雌には欠失部分のセーシエルショウジョウバエ側の染色体にある遺伝子のみが存在することから、潜性遺伝子の表現型の解析が可能である。この欠失染色体解析を用いることによって潜性遺伝子が効果を持つ染色体領域を見つけ出すことができる。

(2) F<sub>1</sub>雑種雌1匹とキイロショウジョウバエ雄1匹のペアを交配し、1時間の直接観察を行い、求愛行動を記録した。識別遺伝子がへミ接合となったF<sub>1</sub>雑種雌の交尾率は著しく低下するはずである。

(3) 交尾率が著しく低くなったF<sub>1</sub>雑種雌の作製に用いた欠失染色体に含まれる遺伝子をカタログ化し、識別遺伝子の候補のリストを作成した。

(4) 候補遺伝子の中に *fruitless* 遺伝子が含まれていた。そこで、*fruitless* 遺伝子が雌による識別に関与するか否かを調査するため、(1)と同様の方法によりF<sub>1</sub>雑種を作製し、(2)の方法によって求愛を観察した。

(5) F<sub>1</sub>雑種雌からヘキサンをを用いて体表炭化水素を抽出し、ガスクロマトグラフィ法によって分析を行った。

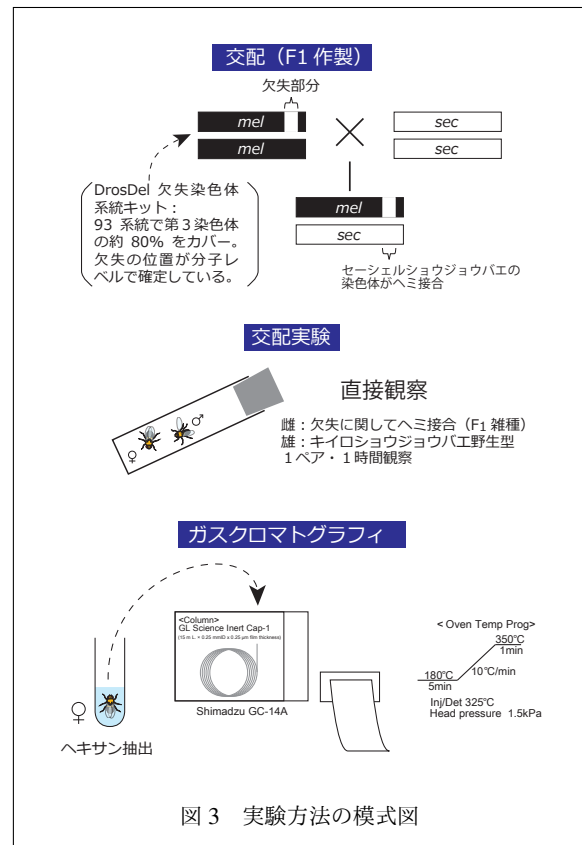


図3 実験方法の模式図

### 4. 研究成果

(1) 交配実験による識別候補遺伝子を含む染色体領域の探索

DrosDel欠失染色体系統83系統とセーシエルショウジョウバエとのF<sub>1</sub>雑種雌を作製し、F<sub>1</sub>雑種雌とキイロショウジョウバエ雄とのペアの求愛を観察した。その結果、用いた欠失染色体によって交尾率に大きな変異があることが明らかとなった(図4)。そこで、交尾率が10%以下と著しく低くなったものを、識別遺伝子を含む染色体領域の候補と考えることにした。

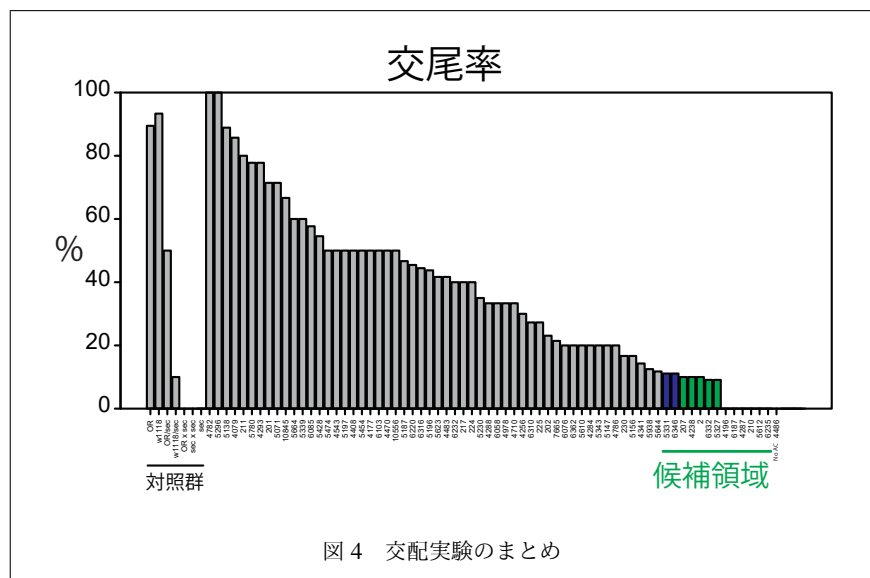


図4 交配実験のまとめ

これにより、欠失染色体の13個が候補となり、欠失領域が重複しているものをまとめると、5つの染色体領域に絞り込むことができた。

## (2) 識別候補遺伝子のカタログ化

ショウジョウバエ遺伝子データベース (FlyBase) の検索から、識別候補の5つの染色体領域には、それぞれ遺伝子が5つから100個含まれることが明らかになった。この候補遺伝子の中には、ショウジョウバエの雄の求愛のマスター遺伝子であり、神経系の性を決定する *fruitless* 遺伝子が含まれていた。

## (3) *fruitless* 遺伝子の効果の検証

*fruitless* 遺伝子の挿入変異系統を系統センター (京都工芸繊維大学 KYOTO Stock Center) から2系統入手した。この系統とセーシェルショウジョウバエとのF<sub>1</sub>雑種雌を作製し、キイロショウジョウバエ雄とのペアの求愛を観察した。その結果、*fruitless* 挿入変異のF<sub>1</sub>雑種雌は対照と同程度 (40%前後) の交尾率を示した。この結果から、ここで用いた2つのアレルに関しては *fruitless* 遺伝子は、セーシェルショウジョウバエ雌による雄の識別に関与していないと結論した。

## (4) 体表炭化水素の分析

識別遺伝子を含む欠失染色体系統のF<sub>1</sub>雑種雌の体表炭化水素のガスクロマトグラムは、対照の野生型キイロショウジョウバエのF<sub>1</sub>雑種雌のものと大きな違いは見られなかった。これは、識別遺伝子と体表炭化水素の発現を支配する遺伝子が異なるとの予想と一致した結果である。また、(2)識別候補遺伝子の絞り込みの調査において、体表炭化水素合成に関与する既知の遺伝子は、識別候補領域に含まれないことが明らかになった。

以上の結果から、求愛行動における雌の識別に関わる遺伝因子が、染色体の狭い領域に位置することが明らかになり、関わる遺伝子はあまり多くない可能性が示唆された。種認識や配偶者選択は有性生殖を行う生物では一般に見られ、性的隔離の発達は種分化において重要な役割を果たしている。本研究の成果は、植物を含めた有性生殖の配偶システムの進化や種の起源の機構の解明にとって学術的意義があると考えられる。また、動物の意思決定に関与する遺伝基盤の解明の一助となると考える。

## 5. 主な発表論文等

[雑誌論文] (計0件)

[学会発表] (計6件)

- (1) Tomaru, M. Does *fruitless* affect mate discrimination by *Drosophila sechellia* females against *D. melanogaster* males? 60th Annual Drosophila Research Conference, March 27 – 31, 2019, Dallas, TX, USA
- (2) 都丸雅敏・秋野順治 セーシェルショウジョウバエ雌の配偶者識別で *fruitless* 遺伝子が関与? 動物行動学会大会第37回大会 2018年9月28日–30日 京都
- (3) Tomaru, M., Akino, T. Behavioral analysis of mate discrimination by *Drosophila sechellia* against *D. melanogaster* by using partial hemizygous hybrid females. 59th Annual Drosophila Research Conference, April 11 – 15, 2018, Philadelphia, PA, USA
- (4) 都丸雅敏・秋野順治 セーシェルショウジョウバエ雌の配偶者識別における体表炭化水素と求愛行動 2017 (2017年度日本動物心理学会・日本動物行動学会・応用動物行動学会・日本家畜管理学会・日本行動神経内分泌研究会合同大会) 2017年8月30日–9月1日 東京
- (5) Tomaru, M., Akino, T. Deficiency mapping of female mate discrimination factors in *Drosophila sechellia*. 58th Annual Drosophila Research Conference, March 29 – April 2, 2017, San Diego, CA, USA
- (6) 都丸雅敏・秋野順治 セーシェルショウジョウバエ雌の配偶者識別の行動解析 動物行動学会大会第35回大会 2016年11月11日–13日 新潟

[図書] (計0件)

[産業財産権]

○出願状況 (計0件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年：

国内外の別：

○取得状況（計0件）

名称：

発明者：

権利者：

種類：

番号：

取得年：

国内外の別：

[その他]

ホームページ等

## 6. 研究組織

### (1) 研究分担者

研究分担者氏名：秋野 順治

ローマ字氏名：(AKINO, Toshiharu)

所属研究機関名：京都工芸繊維大学

部局名：応用生物学系

職名：教授

研究者番号（8桁）：40414875

### (2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

※科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。