

令和 5 年 6 月 15 日現在

機関番号：10101

研究種目：基盤研究(B)（一般）

研究期間：2018～2022

課題番号：18H02486

研究課題名（和文）ゲノム編集で明らかにするショウジョウバエの模様形成機構

研究課題名（英文）Genome editing reveals the mechanism of Drosophila pigmentation pattern formation

研究代表者

越川 滋行（Koshikawa, Shigeyuki）

北海道大学・地球環境科学研究所・教授

研究者番号：30714498

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 13,200,000円

研究成果の概要（和文）：本研究ではミズタマショウジョウバエの翅の模様形成に関わるすべての主要な遺伝子を同定し、遺伝子機能を解析して、模様形成機構を理解することを目指した。蛹期の翅を切り取ってトランスクリプトーム解析を行い、着色が生じる領域で発現が高く（または低く）、かつwinglessの制御下にある遺伝子群を同定することができた。それらのうちいくつかについて、ゲノム編集により着色に関する機能の解析を行なった。またGAL4/UASシステムによる遺伝子機能の解析法の開発を行なった。着色を制御する遺伝子制御ネットワークを明らかにするため、種特異的なwingless遺伝子の発現を制御するエンハンサーの機能を解析した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

模様の形成機構の研究は、それ自体のみならず、組織のパターニングの原理や、表現型進化の理解に大きく貢献してきた。本研究の成果は、模様がどのように形成されるかを、ある一種の生物においてより正確に理解する試みである。さらに、模様がない近縁種と比べて、どのような遺伝的な変化が模様の進化を引き起こすのかを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：In this study, we aimed to identify all the major genes involved in wing pigmentation pattern formation in *Drosophila guttifer* and analyze gene function to understand the mechanism of pattern formation. By performing transcriptome analysis of small regions from the pupal wings, we were able to identify a group of genes whose expression was high (or low) in the regions where pigmentation occurs and which are under the control of wingless gene. We analyzed the functions of some of these genes in relation to pigmentation by genome editing. We also developed a method to analyze gene functions using the GAL4/UAS system. To clarify the gene regulatory network that controls pigmentation, we analyzed the function of enhancers that regulate the species-specific expression of wingless gene.

研究分野：進化発生生物学

キーワード：進化 発生 ショウジョウバエ 模様 着色 cis制御領域

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

模様の形成機構の研究は、それ自体のみならず、組織のパターニングの原理や、表現型進化の理解に大きく貢献してきた。代表者はミズタマショウジョウバエを用いて、そのユニークな模様形質と実験的操作性の高さを生かし、模様の形成機構と新しい形質の進化に関する研究を展開してきた。より詳しい研究の背景は、以下の総説を参照されたい。福富・越川 (2018)、古関・越川 (2022)、柄澤・越川 (2022)、および Koshikawa (2020)。

2. 研究の目的

ミズタマショウジョウバエの模様形成の仕組みを、関与する遺伝子をすべて網羅する形で、それらの機能を含めて理解する。そして、種間比較によりキロショウジョウバエと何がどのように異なるのか(進化してきたのか)を明らかにする。これまでにミズタマショウジョウバエで模様形成の鍵となる遺伝子が複数(上流の *wingless* と、下流の *yellow* など)明らかになっている。*wingless* とは脊椎動物の Wnt-1 のホモログであり、パターンングや細胞分化を制御する分泌性シグナル伝達因子をコードする遺伝子である。*yellow* は昆虫のメラニン合成を担う遺伝子として知られている。網羅的アプローチと個別的なアプローチを組み合わせ、これら以外の模様形成に必要な遺伝子のネットワークを明らかにする。

3. 研究の方法

(1) トランスクリプトーム解析による、模様形成に関わる遺伝子の同定:

ミズタマショウジョウバエ (*Drosophila guttifer*) は、ショウジョウバエ亜属の *quinaria* グループに属する(または近縁の)北米に分布する種である。近交系(A5)は、カリフォルニア大学サンディエゴ校のショウジョウバエストックセンターから入手した野生型(15130-1971.10)を10回連続兄弟姉妹交配して作出した。トランスクリプトーム解析には、ミズタマショウジョウバエの2系統(トランスジェニック系統 No.1 および No.2)を使用した。トランスジェニック系統 No.1 は、EGFP を *yellow* 遺伝子のエンハンサーと連結したトランスジェニックラ系統を A5 系統と5回連続戻し交配することにより確立した。トランスジェニック系統 No.2 は、トランスジェニック系統 No.1 に UAS-*wg* 系統を2回連続戻し交配することにより樹立した。ハエは標準的なコーンミール/砂糖/酵母/寒天の餌で 25°C で飼育した。

ゲノム配列は近交系(A5)を対象に、ナショナルバイオリソースプロジェクトにおいて近藤周博士らにより決定されたものを使用した。アセンブリ配列は767個のスキファールドを持ち、合計168.4 Mb、スキファールド N50 長1.8 Mb である。遺伝子予測は Augustus を用いて実施した。

蛹期の後半の P12(i) または P12(ii) ステージの蛹を、2回連続のトランスクリプトーム解析に使用した。これらのステージは、*yellow* 遺伝子の発現と色素沈着のプロセスが始まった直後のステージである。最初の実験では、*yellow* エンハンサーに接続された EGFP を持つトランスジェニックライン No.1 の個体を使用した。実体顕微鏡下で、翅の第三縦脈上の鐘状感覚子周辺の EGFP 陽性領域、第三縦脈の先端の EGFP 陽性領域、第三縦脈上の EGFP 陰性領域を外科用ナイフを用いて分離した。2回目の実験では、トランスジェニック系統 No.1 および No.2 の個体において、同じ場所の EGFP 陽性領域と EGFP 陰性領域を解剖した。解剖した組織から、RNeasy Micro Kit (Qiagen) を用いて RNA を抽出した。RNA 抽出には、1つのレプリケートに対して20の解剖組織を使用した。各領域について5つの生物学的レプリケートを準備した(合計: 20×5 = 100 組織)。RNA シーケンス用のライブラリは、基礎生物学研究所の重信秀治博士らの指導のもと、Quartz-Seq のプロトコルに従って構築した。このプロトコルは、2つの PCR 工程を含む。1回目の PCR では21 サイクル、2回目の PCR では8 サイクルを実施した。RNA シーケンスは、NextSeq 550 を用いて行った。

配列決定されたトランスクリプトームは、*hisat2* を用いてミズタマショウジョウバエのゲノムにマッピングされた。トランスクリプトームアセンブリは *stringtie* で実施した。DEG は *edger* で同定した。発現に差があった遺伝子は、Ensembl から取得したキロショウジョウバエのタンパク質データベースに対して *blastx* 検索した。各遺伝子のトップヒットの結果を、遺伝子アノテーションの結果とし、 *david* を用いて濃縮解析を行った。アノテーションできなかった遺伝子は、*blast2go* で再解析を行った。

(2) エンハンサーの進化:

wg の種特異的な発現パターンをもたらした新規獲得配列は、発現制御に必要な配列の中に含まれているはずであると考えた。ミズタマショウジョウバエにおいて横脈と縦脈末端での発現を駆動するシス制御領域である *gutCVT-core* と、それに対応して横脈での発現を駆動する *melCV-core* には、完全に一致する配列(配列比較解析のソフトウェアである GenePalette の機能におけるアンカーポイント、14-43 bp)がいくつかあり、これらのシス制御領域をアンカーポイントで囲まれた5つの領域に分割した(領域1、2、3、4、5と命名した)。次に、これらの領域の一つまたはいくつかを欠いたシス調節配列を、EGFP レポーター遺伝子の隣にクローニン

グした。これらのコンストラクトをキイロショウジョウバエのゲノムの特定の部位に組み込むことで、蛹化した翅の発達における制御機能を調べた。シス調節領域の機能調節に最も重要な配列は転写因子の結合部位であることから、蛹の翅で発現する転写因子に注目した。その一つである Mothers against Decapentaplegic (Mad) は Decapentaplegic シグナルの読み出しに必要な転写因子で、リン酸化された Mad (pMad) は同じく転写因子である Medea と複合体を形成して特定の配列に結合し標的遺伝子発現を活性化する。蛹の翅における pMad の局在は、gutCVT-core によって駆動されるパターンと似ている。そこで私たちは Mad が gutCVT-core に結合する転写因子であると仮定し、Mad の候補結合部位である SMAD コンセンサス (GCCGNCGC) をシス制御領域で探索した。

次に gutCVT-core または melCV-core を鋳型として、PCR により制御機能を調べるためのシス制御配列を増幅した。一部の領域を欠いた配列を合成するために、分割された領域の境界の配列に基づくプライマーを用いて PCR を行った。キメラ配列を得るために、gutCVT-core または melCV-core のそれぞれの領域の DNA 断片を作成し、オーバーラップエクステンション PCR により結合させた。推定結合部位をロックアウトした配列を得るために、まず、ロックアウトする配列の前後 10 塩基程度の配列を含むプライマーを用い、推定結合部位をランダムな配列に変更して PCR を実施した。これらをオーバーラップエクステンション PCR で結合させた。増幅された配列を、5'末端を EGFP 配列に近い方向に向けて S3aG ベクターに挿入し、その構築物を、PhiC31 インテグラーゼによる遺伝子導入システムを用いてキイロショウジョウバエの VK00006 系統へ導入した。蛹期における EGFP レポーターの発現を BX60 顕微鏡を用いて観察した。

4. 研究成果

(1) トランスクリプトーム解析による、模様形成に関わる遺伝子の同定:

蛹期の翅を切り取ってトランスクリプトーム解析を行なった。将来着色ができる部位(エリア 1 と 2) ほとんど着色しない部位(エリア 3)の比較と、wingless 遺伝子の異所的発現を起こした部位(異所的な着色ができる)と、同じ場所で異所的発現を起こさなかった部位である。これらの組み合わせにより、着色が生じる場所で発現が高く(または低く)かつ wingless の異所的な発現により発現上昇する(あるいは低下する)遺伝子を見つけることができる。

エリア 1 とエリア 3 の遺伝子発現を比較したところ、2333 個の遺伝子の発現が異なっていた。そのうち、エリア 1 ではエリア 3 と比較して 1390 遺伝子が高く発現、943 遺伝子が低く発現していた。エリア 2 とエリア 3 では、合計 2582 個の遺伝子が異なって発現していた。そのうち、エリア 2 とエリア 3 では、1593 遺伝子が高く発現、989 遺伝子が低く発現していた。これらのデータを統合すると、エリア 3 と比べた際に、エリア 1 とエリア 2 で同じ傾向を示す遺伝子は 1035 個となった。このうち、615 遺伝子はエリア 1 とエリア 2 の両方で発現が高く、420 遺伝子はエリア 1 とエリア 2 で発現が低かった。

さらに、これらの関連遺伝子のうち 151 個が、翅の色素形成を引き起こす遺伝子である wingless によって正または負に制御されていることを明らかにした。この 151 個の遺伝子には、神経発生、Wnt シグナル、Dpp シグナル、メラニン色素形成のエフェクター(酵素など)の遺伝子が含まれていた。他のショウジョウバエで知られている色素パターン形成を制御する制御遺伝子は、いずれも含まれていなかった。この結果は、ミズタマショウジョウバエの着色パターンは、1 つの大きな遺伝子回路の採用ではなく、複数の遺伝子制御ネットワーク、シグナル伝達経路、エフェクター遺伝子が多段階的に協調することによって出現した可能性を示唆している。

次に wingless の制御下にある遺伝子を特定するために、wingless を異所的に発現させたときに発現上昇または発現低下する遺伝子を同定した。エリア 1 およびエリア 2 で共通して発現が高かった 615 個の遺伝子のうち、78 個の遺伝子が wingless の異所性発現により発現上昇した。エリア 1 とエリア 2 で共通して発現が低下する 420 個の遺伝子では、wingless の異所的発現は 73 個の遺伝子の発現を低下させた。合計で、着色に関連する 151 の遺伝子が wingless 遺伝子によって調節された。これらの 151 遺伝子をキイロショウジョウバエのタンパク質データベースと照合したところ、131 遺伝子がアノテーションされていた。これらの 131 個の遺伝子について、david を用いた解析を行った結果、14 個の機能注釈クラスターが得られ、そのうち 6 個が有意であった。最も有意なクラスターには、Gene Ontology (GO) の用語である「Glycoprotein」、「Plasma membrane」、「Disulfide bond」、「Signal peptide」、「Receptor」が含まれていた。「クチクラ色素沈着」、「メラニン生合成過程」などの GO 用語は、3 番目の有意なクラスターに含まれた。アノテーションができなかった 20 個の遺伝子は、blast2go で再解析した。4 つの遺伝子はアノテーションされ、残りの 16 遺伝子はデータベース内のどの遺伝子とも一致しなかった。

色素パターンを制御する制御ネットワークを理解するためには、転写因子やシグナル伝達経路に関与する遺伝子などの制御遺伝子が重要である。8 つの転写因子が色素沈着に関連し、wingless によって制御されていた。Zinc finger protein interacting with CP190 (ZIPIC)、Zinc finger protein 28-like、E(spl)m3-HLH、E(spl)m5-HLH、E(spl)m7-HLH、lethal (3) malignant brain tumor (l(3)mbt) といった Enhancer of Split 複合体遺伝子は、将来着色が起こる領域と wingless によって発現が増加した。Mothers against dpp (Mad) と Mediator complex subunit 18 (MED18) は、色素沈着部および wingless によって発現が抑制された。2 つのシグナルリガンド、デルタ (Dl) と Wnt oncogene analog 4 (DWnt4、ヒト WNT9A/B のオルソログ) は、将来着色が起こる領域と wingless の異所的発現領域で発現が高かった。シグナルリガンドの受容体としては、将来着色が起こる領域と

wingless の異所的発現領域で、saxophone (sax) が発現が高く、frizzled 2 (fz2) が発現が低かった。

wingless の異所性発現により色素沈着が誘導されるが、誘導された色素沈着の強度は、天然の模様色素沈着よりも弱い。エリア 1 とエリア 2 に共通して 537 個の遺伝子の発現が高く、347 個の遺伝子が低かったが、これらは wingless には制御されていないようだった。したがって、これらの遺伝子は色素を作るのに必須ではなく、補助的な役割を持つか、あるいは色素形成とは無関係だが色素形成領域に特有の構造的な役割を持つ可能性がある。

色素沈着部において wingless によって制御される 12 個の制御遺伝子 (転写因子の遺伝子、シグナル伝達因子の遺伝子) を同定した。そのうち、4 遺伝子 (Dl, E(spl)m3-HLH, E(spl)m5-HLH, E(spl)m7-HLH) は GO タームの神経発生遺伝子に属した。エリア 2 (縦脈末端) には神経由来の組織が存在しないため、これらの遺伝子はエリア 2 に唯一存在する細胞種である表皮細胞で発現していると考えられた。Wnt シグナル遺伝子 fz2 と DWnt4 は将来着色ができる部位および wingless の異所的発現領域において発現量に違いを示した。ミスタマショウジョウバエの将来着色ができる部位における fz2 の発現低下は、キイロショウジョウバエの翅原基で知られているように、Wingless タンパク質の適切な勾配を達成するのに貢献しているのかもしれない。DWnt4 はミスタマショウジョウバエの翅の Wingless 発現領域周辺に発現しており、色素パターン形成に参与している可能性が示唆された。

ミスタマショウジョウバエの翅の色素パターン形成には、wingless 以外の転写因子の遺伝子やシグナル伝達因子の遺伝子が必要であることが、先行研究で示唆されている。今回同定された遺伝子に、wingless の下流で yellow の発現を制御している遺伝子が含まれている可能性がある。

新規質の進化において、大規模な遺伝子回路がコオプシオン (転用) されるのか、それとも多くの遺伝子が個別にコオプシオンされて回路を形成するのかについては、現在も議論が続いている。私たちの知る限り、他のショウジョウバエの種では、wingless によって主に制御される色素沈着パターンの機能的証拠はない。したがって、ミスタマショウジョウバエにおける進化的に新しい着色パターンの出現を説明するには、大規模遺伝子回路がコ・オプシオンされたというモデルは妥当ではないように思われる。以上の結果は、Fukutomi et al. 2021 に詳しく報告されている。

ここまでの結果より、着色が生じる領域で発現が高く (または低く)、かつ wingless の制御下にある遺伝子群を同定することができた。それらのうちいくつかについて、ゲノム編集により着色に関する機能の解析を行なった。また GAL4/UAS システムによる遺伝子機能の解析法の開発を行なった。

(2) エンハンサーの進化 :

wingless のシス制御領域である gutCVT-core は蛹翅の横脈と縦脈の先端でレポーター EGFP の発現を促進したが、領域 1 を欠く gut2-5 は翅の静脈全体で発現を促進した。領域 1 と 2 の両方を欠く gut3-5 は発現促進しない。領域 5 を欠く gut1-4 は、横脈と静脈の先端で EGFP を発現させ、これは完全な gutCVT-core による発現と非常に似ている。領域 4 と 5 を欠く gut1-3 は、横脈でのみ発現させ、蛍光は弱いがこの EGFP 発現パターンは melCV-core による発現と似ている。これらの結果から、領域 4 は発現の活性化に重要な役割を持ち、領域 5 は必要ないことがわかった。さらに、領域 1、4、5 を欠く gut2-3 は、発現を促進しなかった。この結果は、領域 1 が横脈での発現を活性化する役割を持つことを示す。同様に、melCV-core の対応する領域の制御機能を調べるために、領域 5 を欠く mel1-4 と、領域 1 と 5 を欠く mel2-4 を調べた。完全な melCV-core と同様に、mel1-4 は横脈での発現を活性化した。したがって、melCV-core の領域 5 も不要であった。一方、mel2-4 は発現を活性化することができなかった。このように、領域 1 は melCV-core の発現駆動に重要な役割を果たす一方、領域 2-4 だけでは横脈での発現を活性化できないことが示された。

領域 1 の抑制機能がミスタマショウジョウバエに至る系統で新たに獲得されたものであるかどうかを調べるため、gutCVT-core の領域 1 を melCV-core の対応する配列に置き換えたキメラ配列である mel1gut2-5 の抑制機能を調べた。mel1gut2-5 は gutCVT-core が示す蛍光パターンと同様、静脈先端を除く縦脈での発現が抑制されていた。このように、キイロショウジョウバエの相同配列も領域 1 の抑制機能を有していることがわかった。また、先の実験では領域 3 の必要性が確認できなかったため、領域 3 を melCV-core の対応する配列に置き換えたキメラ配列である mel3gut1-2+4 についても機能を検証した。このシス制御配列も gutCVT-core と同様の制御機能を持ち、それによって EGFP が横脈と縦脈の先端で発現した。この結果は、領域 3 の変化が、新たな発現パターンをもたらしたシス制御進化において、重要な役割を果たさなかったことを示している。

gutCVT-core では SMAD コンセンサスに類似した配列 (GCCGNCGC またはその 1bp 変化、以下、簡単のため SMAD コンセンサスと呼ぶ) が領域 1 に 2 つ、領域 3 にひとつ、領域 4 に重なるように 4 つある。これらの推定結合部位が発現調節に必要なかどうかを調べるため、これらの配列をロックアウトし、その調節機能を調べた。gut1-4 の結果から予想されるように、BMP-AE KO は gutCVT-core と非常によく似た制御機能を有していた。一方、SMAD コンセンサスをすべて欠損した gutSMAD bs KO は、横脈や縦脈末端での発現を活性化しなかった。このことから、発現の活性化には SMAD のコンセンサスが必須であることが示された。複数の SMAD コン

センサスのうち、どのコンセンサスが発現活性化に必要なかを明らかにするため、発現促進に関与しうる領域3および4のSMADコンセンサスをそれぞれ野生型の配列に戻し、その制御機能を検証した。領域3のSMADコンセンサスのみを戻したgutSMAD bs3 Recは、発現促進機能を取り戻し、横脈や縦脈末端でEGFP発現が駆動した。一方、領域4のSMADコンセンサスのみを戻したgutSMAD bs4 Recは発現を活性化できなかった。このように、gutCVT-coreの発現制御に必要なSMADコンセンサスは、領域3のものだけであることがわかった。

melCV-coreではSMADコンセンサスに非常に類似した2つの配列が存在した。一つは領域2にあり(GACGACGC)、もう一つは領域3にあり、gutCVT-coreの配列(GCAGACGC)と完全に同じであった。melCV-coreにおいてSMADコンセンサスが必須であるかどうかを調べるため、これらの配列をノックアウトした。その結果EGFP発現が消失したことから、SMADコンセンサスがmelCV-coreの発現活性化に必要なことが示された。以上の結果より、ミズタマシヨウジョウバエの祖先において獲得された縦脈末端でのwinglessの発現を駆動するエンハンサー活性は、既存のSMADコンセンサスと新しく獲得された配列の組み合わせによって生じたことが示された。この研究の詳細はKarasawa et al (2023)に詳しく報告されている。

(3) また、模様を決めるwinglessが蛹の翅のどの細胞において発現しているかは重要な問題であるが、これまで巨視的レベル(翅全体の写真においてどの辺りの位置にあるか、成虫においてどの組織になりそうか)でしか捉えられていなかった。そもそも蛹の翅にはどのような細胞タイプが存在しているかも含め探究していく必要がある。その端緒として、第三縦脈上の着色ができる場所の中心にある鐘状感覚子において、蛹期のソケット細胞とドーム細胞においてwingless遺伝子が発現していることを確認した(Koseki et al. 2021)。

(4) この一連の研究では、ミズタマシヨウジョウバエの水玉模様ができる位置において高く発現し、かつ着色の場所を決めるwingless遺伝子によって制御されている遺伝子が多く同定され、またwinglessが種特異的な発現を獲得するに至った仕組みの一端を明らかにすることができた。またミズタマシヨウジョウバエにおけるゲノム編集法の開発により、これらの遺伝子の機能を解析する道筋がひらけた。

<引用文献>

福富雄一, 越川滋行 (2018) 昆虫の模様形成研究の現在とこれから 蚕糸・昆虫バイオテク 87(2): 95-102

古関将斗, 越川滋行 (2022) 昆虫の翅模様の進化発生生物学. 生体の科学 73(4): 364-367

柄澤匠, 越川滋行 (2022) ショウジョウバエの翅の模様形成メカニズムとその進化. 科学(岩波), 92(11): 992-996

Koshikawa S (2020) Evolution of wing pigmentation in *Drosophila*: Diversity, physiological regulation, and cis-regulatory evolution. *Development, Growth & Differentiation* 62(5):269-278, DOI: 10.1111/dgd.12661

Fukutomi Y, Kondo S, Toyoda A, Shigenobu S, Koshikawa S (2021) Transcriptome analysis reveals *wingless* regulates neural development and signaling genes in the region of wing pigmentation of a polka-dotted fruit fly. *The FEBS Journal* 288(1): 115-126, DOI: 10.1111/febs.15338

Karasawa T, Saito N, Koshikawa S (2023) Cis-regulatory evolution that caused change in *wingless* expression pattern associated with wing pigmentation pattern of *Drosophila*. *FEBS Letters*: in press. DOI: 10.1002/1873-3468.14637

Koseki M, Tanaka NK, Koshikawa S (2021) The color pattern inducing gene *wingless* is expressed in specific cell types of campaniform sensilla of a polka-dotted fruit fly, *Drosophila guttifera*. *Development Genes and Evolution* 231: 85-93, DOI: 10.1007/s00427-021-00674-z

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計14件（うち査読付論文 9件 / うち国際共著 3件 / うちオープンアクセス 10件）

1. 著者名 Cedric Finet, Victoria A Kassner, Antonio B Carvalho, Henry Chung, Jonathan P Day, Stephanie Day, Emily K Delaney, Francine C De Re, Heloise D Dufour, Eduardo Dupim, Hiroyuki F Izumitani, Thaisa B Gauterio, Jessa Justen, Toru Katoh, Artyom Kopp, Shigeyuki Koshikawa, et al.	4. 巻 13
2. 論文標題 DrosoPhyla: Resources for Drosophilid Phylogeny and Systematics	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Genome Biology and Evolution	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/gbe/evab179	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 Mujeeb Shittu, Tessa Steenwinkel, Shigeyuki Koshikawa, Thomas Werner	4. 巻 3
2. 論文標題 The making of transgenic <i>Drosophila guttifera</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Methods and Protocols	6. 最初と最後の頁 31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/mps3020031	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 Heloise D. Dufour, Shigeyuki Koshikawa, Cedric Finet	4. 巻 117
2. 論文標題 Temporal flexibility of gene regulatory network underlies a novel wing pattern in flies	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America	6. 最初と最後の頁 11589-11596
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1073/pnas.2002092117	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 Takayuki Suzuki, Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 62
2. 論文標題 Enhancer functions underlying morphological diversity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 263-264
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12685	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Masato Koseki, Nobuaki K. Tanaka, Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 231
2. 論文標題 The color pattern inducing gene wingless is expressed in specific cell types of campaniform sensilla of a polka-dotted fruit fly, <i>Drosophila guttifera</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Development Genes and Evolution	6. 最初と最後の頁 85-93
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s00427-021-00674-z	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 -

1. 著者名 Takuma Niida, Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 127
2. 論文標題 No evidence for contribution of sexually monomorphic wing pigmentation pattern to mate choice in <i>Drosophila guttifera</i>	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ethology	6. 最初と最後の頁 527-536
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/eth.13157	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 -

1. 著者名 Yuichi Fukutomi, Shu Kondo, Atsushi Toyoda, Shuji Shigenobu, Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 288
2. 論文標題 Transcriptome analysis reveals wingless regulates neural development and signaling genes in the region of wing pigmentation of a polka-dotted fruit fly.	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The FEBS journal	6. 最初と最後の頁 99-110
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/febs.15338	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 -

1. 著者名 丹伊田拓磨, 越川滋行	4. 巻 54
2. 論文標題 ハエの翅の模様の機能を考える	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 36-39
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 62
2. 論文標題 Evolution of wing pigmentation in Drosophila: Diversity, physiological regulation, and cis-regulatory evolution	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Development, Growth & Differentiation	6. 最初と最後の頁 269-278
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/dgd.12661	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 -

1. 著者名 福富雄一、越川滋行	4. 巻 87
2. 論文標題 昆虫の模様形成研究の現在とこれから	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 蚕糸・昆虫バイオテック	6. 最初と最後の頁 95-102
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.11416/konchubiotec.87.2_095	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 Takumi Karasawa, Namiho Saito, Shigeyuki Koshikawa	4. 巻 -
2. 論文標題 Cis-regulatory evolution underlying the changes in wingless expression pattern associated with wing pigmentation of Drosophila	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 FEBS Letters	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1002/1873-3468.14637	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 -

1. 著者名 Ryo Futahashi, Shigeyuki Koshikawa, Genta Okude, Mizuko Osanai-Futahashi	4. 巻 62
2. 論文標題 Diversity of melanin synthesis genes in insects	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Advances in Insect Physiology	6. 最初と最後の頁 339-376
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/bs.aiip.2022.03.003	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 -

1. 著者名 柄澤匠, 越川滋行	4. 巻 92
2. 論文標題 ショウジョウバエの翅の模様形成メカニズムとその進化	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 科学(岩波)	6. 最初と最後の頁 992-996
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 古関将斗, 越川滋行	4. 巻 73
2. 論文標題 昆虫の翅模様の進化発生物学	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 生体の科学	6. 最初と最後の頁 364-367
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -

〔学会発表〕 計28件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 古関将斗, 越川滋行
2. 発表標題 模様形成遺伝子winglessを発現する神経組織の構成細胞の特定
3. 学会等名 日本進化学会第23回オンライン大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福富雄一, 重信秀治, 越川滋行
2. 発表標題 Winglessモルフォゲンはどのようにミズタマショウジョウバエの模様を形成するのか?
3. 学会等名 日本動物学会第92回オンライン米子大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 古関 将斗, 田中 暢明, 越川 滋行
2. 発表標題 神経組織の構成細胞における遺伝子発現の進化がもたらしたショウジョウバエの水玉模様
3. 学会等名 日本動物学会第92回オンライン米子大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 越川滋行, 古関将斗, 丹伊田拓磨, 福富雄一
2. 発表標題 ミスタマショウジョウバエの翅の模様、形成メカニズムと機能
3. 学会等名 日本遺伝学会第93回大会オンライン東京大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福富雄一, 重信秀治, 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマショウジョウバエを用いた Wingless モルフォゲンによる模様形成機構の解析
3. 学会等名 日本遺伝学会第93回大会オンライン東京大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 越川滋行
2. 発表標題 野生種ショウジョウバエにおけるゲノム編集と模様研究への適用
3. 学会等名 日本動物学会北海道支部主催2021年度公開シンポジウム
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 福富雄一, 重信秀治, 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエを用いた模様形成遺伝子ネットワークの探索
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 古関将斗, 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエの模様形成遺伝子winglessは、蛹期の翅において鐘状感覚子のどの細胞で発現しているのか？
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 矢野根智広, 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエ胸部における模様形成メカニズムの探索
3. 学会等名 日本動物学会第91回大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 古関将斗, 越川滋行
2. 発表標題 Which cell type of campaniform sensilla expresses the patterning gene wingless in pupal wings of <i>Drosophila guttifer</i> ?
3. 学会等名 日本進化学会第22回オンライン大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丹伊田 拓磨, 越川 滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエの遺伝子変異系統を用いた模様の機能に関する研究
3. 学会等名 第65回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Masato Koseki, Nobuaki Tanaka, Shigeyuki Koshikawa
2. 発表標題 Two types of cells composing a campaniform sensillum express the patterning gene wingless in pupal wings of <i>Drosophila guttifera</i> .
3. 学会等名 62nd Annual <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 Shigeyuki Koshikawa, Yuichi Fukutomi
2. 発表標題 Enhancer function and evolution of polka-dots in <i>Drosophila guttifera</i>
3. 学会等名 日本発生物学会第52回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福富雄一, 重信秀治, 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエの模様で発現する遺伝子の解明のためのトランスクリプトーム解析
3. 学会等名 日本発生物学会 第52回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福富雄一, 重信秀治, 越川滋行
2. 発表標題 模様形成遺伝子の探索 ~ミズタマシヨウジョウバエのトランスクリプトーム解析~
3. 学会等名 日本進化学会 第21回 北海道大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 越川滋行, 福富雄一, 松本圭司
2. 発表標題 ミズタマシヨウジョウバエの模様が作られる仕組み
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Shigeyuki Koshikawa, Keiji Matsumoto, Wataru Yamamoto, Yuichi Fukutomi
2. 発表標題 Pigmentation pattern formation in <i>Drosophila guttifer</i>
3. 学会等名 5th Asia-Pacific <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Takuma Niida, Shigeyuki Koshikawa
2. 発表標題 Thoughts on function of <i>Drosophila guttifer</i> wing color pattern
3. 学会等名 5th Asia-Pacific <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Yuichi Fukutomi, Shuji Shigenobu, Shigeyuki Koshikawa
2. 発表標題 Transcriptome analysis of <i>Drosophila guttifer</i> to elucidate the gene network related to color pattern formation
3. 学会等名 5th Asia-Pacific <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 丹伊田拓磨, 越川滋行
2. 発表標題 ミズタマシヨウジョウバエの水玉模様が配偶者選択により進化した可能性
3. 学会等名 第64回日本応用動物昆虫学会大会(みなし開催)
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 越川滋行、福富雄一、松本圭司
2. 発表標題 ミズタマシヨウジョウバエの模様はどのように作られるのか？
3. 学会等名 日本動物学会第89回大会(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 越川滋行、松本圭司、福富雄一
2. 発表標題 Generation mechanism of a polka-dot pattern in <i>Drosophila guttifer</i> .
3. 学会等名 第46回内藤コンファレンス(国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 柄澤 匠, 齊藤奈美歩, 越川滋行
2. 発表標題 cis制御領域におけるSmadの結合配列の獲得が新しい遺伝子発現のパターンを生み出した
3. 学会等名 日本進化学会年大会 第24回沼津大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柄澤匠, 齊藤奈美歩, 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエの翅の新しい模様形成に必要なcis制御配列の特定
3. 学会等名 日本動物学会第93回早稲田大会 (口頭発表)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Takumi Karasawa, Namiho Saito, Shigeyuki Koshikawa
2. 発表標題 Pre-existing Mad binding site is required for novel expression pattern of wingless in <i>Drosophila guttifera</i> pupal wing
3. 学会等名 64th Annual <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Masato Koseki, Shigeyuki Koshikawa
2. 発表標題 Development of Gal4/UAS system for elucidating the mechanism of the wing color pattern formation of <i>Drosophila guttifera</i>
3. 学会等名 64th Annual <i>Drosophila</i> Research Conference (国際学会)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 古関将斗, 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエにおけるGal4/UASシステムの開発
3. 学会等名 日本動物学会 北海道支部 第67回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 柄澤匠, 齊藤奈美歩, 越川滋行
2. 発表標題 ミスタマシヨウジョウバエの翅の種特異的な模様の獲得における制御配列の進化と既存配列の転用
3. 学会等名 日本動物学会 北海道支部 第67回大会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Hisashi Hashimoto, Makoto Goda, Ryo Futahashi, Robert Kelsh, Toyoko Akiyama (eds.) Yuichi Fukutomi and Shigeyuki Koshikawa (第12章を担当)	4. 発行年 2021年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 472
3. 書名 Pigments, Pigment Cells and Pigment Patterns	

〔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
研究協力者	重信 秀治 (Shigenobu Shuji)	基礎生物学研究所・超階層生物学センター・教授 (63904)	

6. 研究組織（つづき）

	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
研究協力者	福富 雄一 (Fukutomi Yuichi)	北海道大学・環境科学院・大学院生 (10101)	2021年度より日本学術振興会特別研究員（東京都立大学）
研究協力者	古関 将斗 (Koseki Masato)	北海道大学・環境科学院・大学院生 (10101)	
研究協力者	柄澤 匠 (Karasawa Takumi)	北海道大学・環境科学院・大学院生 (10101)	

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