

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 8 日現在

機関番号：11301
 研究種目：基盤研究(B)
 研究期間：2010～2012
 課題番号：22405008
 研究課題名(和文) キューバにおけるアノールトカゲの適応形質部位特定とその候補遺伝子探索
 研究課題名(英文) Determining adaptive traits and the candidate genes in Cuban Anolis lizards
 研究代表者
 河田 雅圭 (KAWATA MASAKADO)
 東北大学・大学院生命科学研究所・教授
 研究者番号：90204734

研究成果の概要（和文）：

本研究で、同所的に生息する Trunk-Ground 型(幹から地面に生息する)の種数は、異なる温度環境場所に生息できる種数とその地域で何種が種分化によって起源しているかによって決まっていることを明らかにした。また、後肢長の長い Trunk-Ground 型の *A. sagrei* と短い Twig 型の *A. angusticeps*の間では、発生の複数の段階で後肢長に違いが生じることを明らかにし、今後の遺伝的解析の基盤を得た。

研究成果の概要（英文）：

The present results suggest that the species composition and richness in local assemblages could be explained by evolutionary history (the number of speciation events and limits to range expansion) and ecological processes (habitat partitioning). The results of developmental timings for divergence of hindlimb length showed that there are several important developmental stages for differentiation of hindlimb length between twig and trunk-ground species, depending on different elements of hindlimb.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	5,400,000	1,620,000	7,020,000
2011 年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
2012 年度	4,700,000	1,410,000	6,110,000
年度			
年度			
総計	14,800,000	4,440,000	19,240,000

研究分野：進化生態学

科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：アノールトカゲ、適応放散、多様性、共存、適応形質

1. 研究開始当初の背景

カリブ海の島々に生息するアノールトカゲ (*Anolis* 属)は、異なるニッチ(生息環境や資源利用)へ形態や行動を適応放散させることで、多様に進化し、様々な環境へ侵出している。さらに、異なる島間の同じ生息環境では、類似した形態が進化(収斂進化)している。多数回にわたる生息環境への適応進化や同じ方向への進化機構を明らかにするためには、生

息地への適応に関する性質を特定し、その遺伝的基盤を明らかにする必要がある。

2. 研究の目的

キューバのアノールトカゲは、形態や生理的な形質を分化させ、多様な種が共存している。アノールトカゲが同所的に共存可能になっている要因として、幹、樹幹、幹-地上、枝、草地など異なる生息環境に適応した形質(エ

コモルフとよぶ) に分化したことが原因であることが知られている。しかし、キューバでは、同じエコモルフである Trunk-Ground 型(幹から地上に生息する)は、同所的に異なる種が共存している。本研究では、同所的に共存する種数がどのような要因によって決まっているのかを明らかにし、その共存適応形質を特定する。また、異なるエコモルフが共存を可能にしている要因として、異なる形態が異なる棲息場所に適応していることが示唆されてきた。本研究では、その適応形質である後肢長の違いを引き起こす遺伝的基盤を明らかにするために、後肢の長い Trunk-Ground 型の *A. sagrei* と後肢の短い Twig 型の *A. angusticeps* を用い、発生のどの段階で違いが生じるかを明らかにする。

3. 研究の方法

1. Trunk-Ground 型アノールの種数決定要因
 キューバの 34 地点から 12 種の Trunk-ground 型アノール、247 個体のサンプルを採集した(図 1)。それぞれ同所的に生息する種の組み合わせと種数、生息場所を記載した。

得られたサンプルから DNA を抽出し、ミトコンドリア DNA および核 DNA の 5 つの配列マーカを用いて系統樹を作成した。また、得られた系統樹から、各種がキューバのどの地区から起源したかを 3 つの方法で推定した。

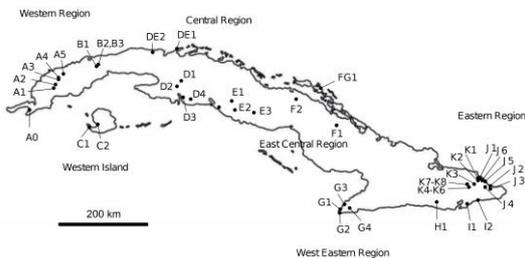


図 1. アノールトカゲのサンプリング地点

2. *Anolis sagrei* と *Anolis angusticeps* の後肢長の発生

A. sagrei と *A. angusticeps* をキューバから輸入し、卵を産ませ、異なる発育段階で卵を固定した。固定した胚は、アルシアンブルー・アリザリンレッド染色による染色を行い、体長(SVL)および後肢長(大腿骨、脛骨、指骨)を計測した。

ふ化後の個体および生体は CT スキャンにかけ、体長(SVL)および後肢長(大腿骨、脛骨、指骨)を計測した。

軟骨が形成される前の段階では、in situ hybridization により *Hox11* の発現場所を特定し、大腿骨+脛骨と指骨の割合を測定した。

4. 研究成果

Trunk-Ground 型アノールの種数決定要因

共存する種は、西部で 5 種と最も多く、中部で 2 種と最も少なかった。12 種の起源を推定した結果、西部と東部で 3 種と最も多く、その他の地域では 0-2 種であった(図 2)

局所群集で共存できる種数は、地域で何種が種分化によって起源したかという数と何種が同所的に共存できているのかという 2 つの要因が独立に影響していることが明らかになった(図 2)。また、同所的に共存できるかどうかは、異なる温度環境に適応しているかどうかによって決まっていた。

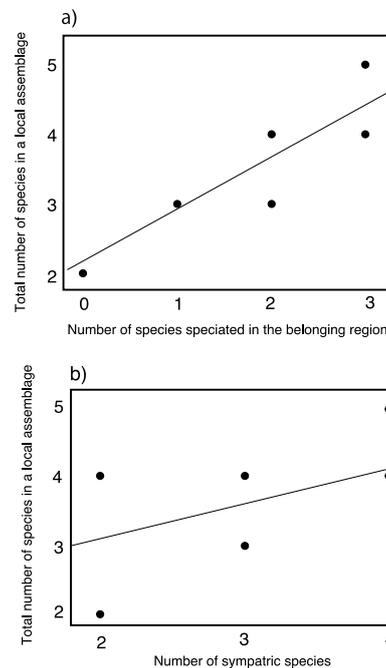


図 2. 地域群集に共存する種数に影響する要因。a) 地域で起源する種数と共存する種数との関係。b) 同所的に共存する種数と群集内で共存する種数の関係

Trunk-Ground 型と Twig 型アノールの後肢長の違いが生じる発生段階の特定

2 種の後肢長の違いを引き起こす要因として、以下を特定した。

- 1) ふ化後から生体までの成長：両種の間で、後肢長の成長速度に有意な違いがみられた(図 3)。
- 2) 骨形成が始まってからふ化までの間では、大腿骨および脛骨においては、両者間で有意な差はみられなかった。しかし、指骨長では Stage 13 まで

の間で、Trunk-Ground 型の *A. sagrei* で早い成長がみられた(図 3)。

- 3) ふ化時点では、*A. sagrei* の後肢長の方が *A. angusticeps* より長かったがこれは、ふ化時点での大きさが *A. sagrei* の方で大きかったからだ(図 3)。
- 4) 骨形成前の段階の *Hoxa11* の領域をもとに指形成部位の長さを測定したところ、骨形成前においても、*A. sagrei* の方が *A. angusticeps* よりも成長速度が速かった(図 4)。

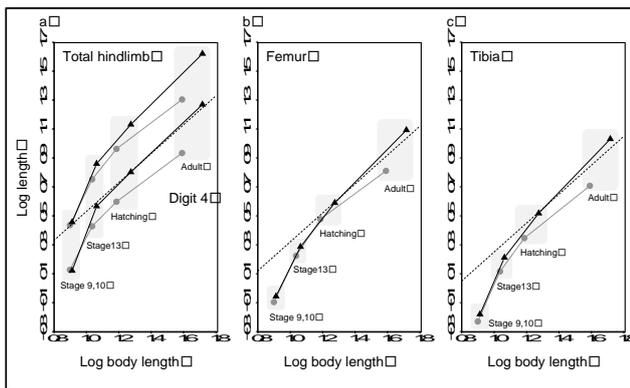


図 3. 骨形成後から成体までの後肢長(大腿骨[Femur],脛骨[Tibia],指骨[Digit]の 2 種の成長。黒線が *A. sagrei*, 灰色が *A. angusticeps*。

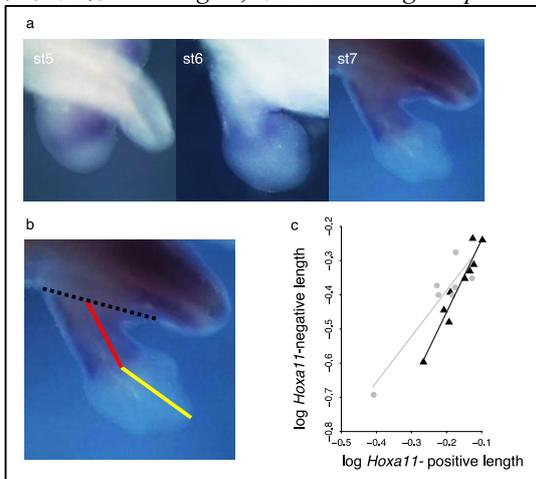


図 4. 骨形成前の後肢の成長、青く染まっている部分が *Hoxa11* が発現している領域で大腿骨と脛骨になる。黒線が *A. sagrei*, 灰色が *A. angusticeps*。

これらの結果から、2 種の後肢長の違いの主要な部分は、指の長さの違いによるもので、これは主に、骨形成以前から Stage 13 までの成長速度の違いによるものであった。大腿骨と脛骨の長さの違いは、主にふ化後の成長の違いによるものであった。

これらの事から、両種の後肢長の違いには複数の段階と要因が関与していることが明らかになった。今後、違いが生じている時期の遺伝子発現を RNA-seq などで比較することにより、違いを引き起こす遺伝子を特定できると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 20 件)

1. Cádiz Díaz, A., N. Nagata, M. Katabuchi, L. M. Díaz, L. M. Echenique-Díaz, H. D. Akashi, T. Makino, and M. Kawata. (2013) Relative importance of habitat use, range expansion, and speciation in local species diversity of Anolis lizards in Cuba. *Ecosphere*, in press. 査読有 <http://www.esajournals.org/loi/ecsp>
2. Iwasaki, W. M., M. E. Tsuda and M. Kawata (2013) Genetic and environmental factors affecting cryptic variations in gene regulatory networks. *BMC Evolutionary Biology*, 13:91 査読有 doi:10.1186/1471-2148-13-91
3. Takahashi, Y. and M. Kawata (2013) A comprehensive test for negative frequency-dependent selection. *Population Ecology*, in press. 査読有 DOI 10.1007/s10144-013-0372-7
4. Ohtsuki, H., J. Yokoyama, N. Ohba, Y. Ohmiya and M. Kawata. (2013) Expression of nos gene and firefly flashing: A test of nitric oxide-mediated flash control model. *Journal of Insect Science* (in press) 査読有 <http://www.insectscience.org>
5. Makanae K, Kintaka R, Makino T, Kitano H and Moriya H. (2013) Identification of dosage-sensitive genes in *Saccharomyces cerevisiae* using the genetic tug-of-war method. *Genome Research* 23(2):300-311 査読有 doi:10.1101/gr.146662.112
6. Makino, T. and McLysaght, A. (2012) Positionally-biased gene loss after whole genome duplication: evidence from human, yeast and plant. *Genome Research* 22(12):2427-2435 査読有 doi:10.1101/gr.131953.111
7. Makino, T. and Kawata, M. (2012) Habitat variability correlates with duplicate content of *Drosophila* genomes. *Molecular Biology and Evolution*, 29, 3169-3179 査読有 doi: 10.1093/molbev/mss133
8. Satake, M., Kawata, M., McLysaght, A. and Makino, T. (2012) Evolution of vertebrate

- tissues driven by differential modes of gene duplication. *DNA Research*, 19, 305-316 査読有 doi: 10.1093/dnares/dss012
9. Adachi, T., A. Ishikawa, S. Mori, W. Makino, M. Kume, M. Kawata, and J. Kitano (2012). Shifts in morphology and diet of non-native sticklebacks introduced into Japanese crater lakes. *Ecology and Evolution*, 2, 1083-1098. 査読有 DOI: 10.1002/ece3.234
 10. Pessia, E., Makino, T., Bailly-Bechet, M., McLysaght, A., and Marais, G.A.B. (2012). Mammalian X Chromosome Inactivation evolved as a dosage compensation mechanism for dosage-sensitive genes on the X chromosome. *PNAS* 109, 5348- 5351 査読有 doi: 10.1073/pnas.1116763109
 11. Tezuka, A. N. Matsushima, Y. Nemoto, H. D. Akashi, M. Kawata and T. Makino. (2012) Comprehensive Primer Design for Analysis of Population Genetics in Non-Sequenced Organisms. *PLoS ONE*, 7(2): e32314 査読有 doi:10.1371/journal.pone.0032314
 12. Suzuki-Ohno, Y., M. Kawata, and J. Urabe (2012) Optimal feeding under stoichiometric constraints: A model of compensatory feeding with functional response. *Oikos* 121: 569-578. 査読有 DOI: 10.1111/j.1600-0706.2011.19320.x
 13. Kitano, J., Y. Kawagishi, S. Mori., C. L. Peichel., T. Makino, M. Kawata, M. Kusakabe (2011) Divergence in Sex Steroid Hormone Signaling between Sympatric Species of Japanese Threespine Stickleback. *PLoS ONE*, 6(12): e29253. 査読有 doi:10.1371/journal.pone.0029253
 14. Ishida, S , A. Takahashi , N. Matsushima , J. Yokoyama , W. Makino , J. Urabe and M. Kawata (2011) The long-term consequences of hybridization between the two Daphnia species, *D. galeata* and *D. dentifera*, in mature habitats. *BMC Evolutionary Biology* 11:209 査読有 doi:10.1186/1471-2148-11-209
 15. Nakamura, I., Y. Onoda, N. Matsushima, J. Yokoyama, M. Kawata and K. Hikosaka (2011) Phenotypic and genetic differences in a perennial herb across a natural gradient of CO2 concentration. *Oecologia* 165:809-818 査読有 DOI 10.1007/s00442-010-1900-1
 16. Tezuka, A , H. Yamamoto, J. Yokoyama, C. van Oosterhout, and M. Kawata (2011) The MC1R gene in the guppy (*Poecilia reticulata*): Genotypic and phenotypic polymorphisms. *BMC Research Notes* 4:31 査読有 doi:10.1186/1756-0500-4-31
 17. Yamaguchi, W. Kondoh, M and M. Kawata (2011) Effects of evolutionary changes in prey use on the relationship between food web complexity and stability. *Population Ecology* 53, 59-72. 査読有 DOI 10.1007/s10144-010-0212-y
 18. Tsuda, E. M. and M. Kawata (2010) Evolution of gene regulatory networks by fluctuating selection and intrinsic constraints. *PLoS Computational Biology* 6(8): e1000873. 査読有 doi:10.1371/journal.pcbi.1000873
 19. Bridle, J. R., J. Polechova, M. Kawata, R. K. Butlin (2010) Why is adaptation prevented at ecological margins? New insights from individual-based simulations. *Ecology Letters* 13:485-494 査読有 DOI: 10.1111/j.1461-0248.2010.01442.x
- [学会発表] (計 14 件)
1. 安西航:キューバ産アノールトカゲ属の四肢における筋骨格形態と行動生態の関係」第60回日本生態学会大会:2013年3月8日:静岡コンベンションツアーセンター
 2. 赤司寛志:アノールトカゲにおける温度適応形質の遺伝基盤の解明:第60回日本生態学会大会:2013年3月8日:静岡コンベンションツアーセンター
 3. Wakasa, H:Growth Trajectories of Limb Skeletal Elements in Two Phylogenetically-Related Cuban Anole Lizards:CDB Symposium 2013年3月5日 RIKEN Center for Developmental Biology, Kobe, Japan
 4. 松浦優基:アノールトカゲ HSF 遺伝子群の分子クローニングと機能進化:第35回日本分子生物学会:2012年12月11日~14日、福岡
 5. 若狭 甫:2種の近縁なアノールトカゲの指長の形成過程の比較」:第51回日本両棲爬虫類学会 :2012年11月10日愛知学泉大
 6. 安西航:アノールトカゲ属の四肢における筋骨格形態と行動生態の関係:第51回日本両棲爬虫類学会 :2012年11月10日 :愛知学泉大
 7. Kawata, M : Relative role of evolutionary and ecological processes in community structures in Cuban Anoles 「Evolutionary Divergence and Ecological Collision of Lizards and Snakes:第28回個体群生態学会大会:2012年10月20日:東邦大学
 8. 安西航:キューバ産アノールトカゲ属の四肢における筋骨格形態と行動生態の関係:第28回個体群生態学会大会:2012年10月20日 :東邦大学
 9. 若狭 甫:アノールトカゲの後肢長差の詳細な形成過程について:第14回日本進

化学会 2012年8月21日：首都大学東京

10. Akashi, H.D.: Genetic bases for different thermal microhabitat use in three Cuban Anolis lizards : 第14回日本進化学会 2012年8月21日：首都大学東京
11. Akashi, H.: Genetic bases for adaptation to different thermal environment in Cuban Anolis Lizards.:EAFES5. 日本生態学会 第59回大会:2012年3月19日：龍谷大学
12. Cadis Diaz, A.:Relative importance of range expansion, speciation and niche differences on regional species diversity in the trunk-ground Anolis lizards in Cuba.:EAFES5:2 日本生態学会第59回大会:2012年3月19日：龍谷大学
13. Anzai, W. :2 Functional morphology and comparative anatomy of the limbs in Cuban Anolis Lizards with different locomotor habits.EAFES5, 日本生態学会第59回大会:2012年3月19日：龍谷大学

〔図書〕（計0件）

〔産業財産権〕

○出願状況（計0件）

○取得状況（計0件）

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河田 雅圭 (KAWATA MASAKADO)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授

研究者番号：90204734

(2) 研究分担者

牧野 能士 (MAKINO TAKASHI)

東北大学・大学院生命科学研究科・助教

研究者番号：20443442

(3) 連携研究者

北野 潤 (KITANO JUN)

国立遺伝学研究所・新分野創造センター・

准教授

研究者番号：80346105

田村 宏治 (TAMURA KOJI)

東北大学・大学院生命科学研究科・教授
研究者番号：70261550

瀧本 岳 (TAKIMOTO GAKU)

東邦大学・理学部・准教授

研究者番号：90453852