

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 24 年 5 月 7 日現在

機関番号：11301
 研究種目：挑戦的萌芽研究
 研究期間：2010～2011
 課題番号：22657004
 研究課題名（和文）侵入外来種の侵入・定着時の進化的応答の検出：全ゲノム配列決定によるアプローチ
 研究課題名（英文）Detecting evolutionary responses of invasion species through determining the whole genome sequences.
 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

研究成果の概要（和文）：

1965年に小笠原諸島に侵入し、侵略外来種となっているグリーンアノール(*Anolis carolinensis*)が、40年以上の間で、どのような進化をしたかを調べるため、小笠原父島の16個体、移入元であるフロリダの8個体を次世代シーケンサーSOLiDを使って、全ゲノム解読を行った。読まれた断片の配列を、データベース上にある配列2.0.61を使用して、アセンブルを行った。現在、アセンブルが終了し、染色体LGbとLGhの塩基多様度の違いを調べた。その結果、父島集団の個体が塩基多様度が大きいことが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：

For examining the evolutionary response of *Anolis carolinensis* after the invasion of Ogasawara Island more than 40 years ago, we determined the whole sequences of 16 individuals in Tchitijima Island and 8 individuals in Florida using SOLiD sequencer. At the present, we completed the assemble of the fragment sequences and examined the nucleotide diversity of LGb and LGh chromosomes. The results showed that the nucleotide diversity of individuals in Tchitijima Island was much larger than those in Florida.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,600,000	0	1,600,000
2011年度	1,400,000	420,000	1,820,000
総計	3,000,000	420,000	3,420,000

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：侵略外来種、アノールトカゲ、小笠原、進化、全ゲノム解読、

1. 研究開始当初の背景

外来種の侵入・定着による生物多様性の消失と生態系機能の低下は、近年非常に大きな問題となっている。外来生物が新たな生息地に侵入し、定着および個体数を増大させるかどうかは、新たな環境へ進化的に急速に適応できるかどうか重要であると指摘されて

いる(Lee, 2002)。一方で遺伝的変化を伴わない可塑的な環境への対応が重要であると研究もあり、急速な進化が新しい環境への定着に重要かどうかは、多くの研究者が注目している未解決の問題である。次世代シーケンサーにより、侵入種個体の全ゲノムの解読が可能になる適応の候補と

なる形質や遺伝子を特定するためには、インテンシブな野外調査と分子遺伝学的解析が必要であった。近年、次世代シーケンサーが登場し、生物のゲノム全体を安価に高速に解析できるようになった。この次世代シーケンサーを使い、侵入前の集団と侵入後の集団の個体の全ゲノムを解読し、比較解析することにより、侵入後の急速な進化を明らかにすることができる可能性がある。グリーンアノール(*Anolis carolinensis*)は、小笠原諸島の1960年代に父島に、1980年代に母島に侵入し、現在父島および母島の全域に拡大し、在来種のトカゲや昆虫に大きな影響を与えている。グリーンアノールは、北米固有のトカゲで、現在、全ゲノム配列が解読され公開されている唯一のトカゲである。次世代シーケンサーを用いて、グリーンアノールの全ゲノム配列を複数個体解読することが可能である。

2. 研究の目的

本研究では、“外来種の侵入・定着時には急速な進化が生じているのか”という仮説を検証するために、小笠原に侵入したグリーンアノールと北米のグリーンアノールの複数個体の全ゲノム配列を解読し、ゲノム全体を比較する。それにより、自然選択によって変化した領域が検出されるかどうかを確かめることで急速な進化の直接的な証拠を探る。また自然選択によってどの領域が変化したか、自然選択を受けていると考えられる領域はどの程度あるのか、ゲノムの構成は変化しているのか、などを解析し、侵入種が50年間でどのように進化したのかを明らかにする。

3. 研究の方法

小笠原父島、母島からそれぞれ30個体以上、グリーンアノールを捕獲し、その場でアルコール保存した個体を入手した。また、フロリダ大学の研究者からアメリカでの野生の個体を8個体入手した。形態の測定とDNA抽出 標本は、外部形態の計測を行った。

ゲノム解読を行う個体として、小笠原父島16個体、フロリダ8個体を用いた。ゲノムを断片化した後、次世代シーケンサーSOLIDを用いてシーケンスを行った。SOLIDで読まれた配列は、シーケンサーによる解読後、既にインターネット上で公開されているグリーンアノールの既知配列(http://www.ensembl.org/Anolis_carolinensis/Info/Index/)を基にして、読まれた配列をアセンブリした。

4. 研究の成果

形態比較

移入元であるフロリダの個体に比べ、最初に移入された父島の個体は、頭が長くなり頭高が小さくなっていたが、母島の個体は父島ほどではなかった。

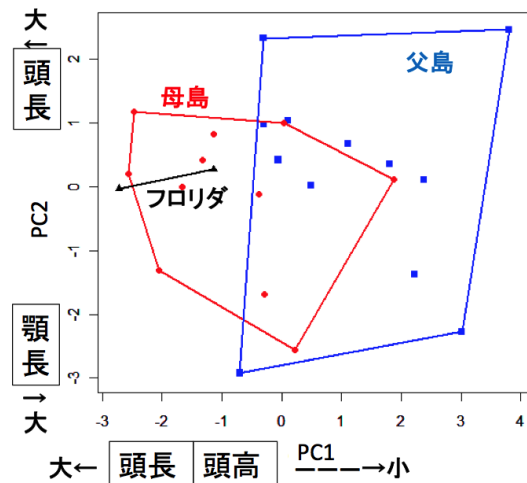


図1. フロリダ、父島、母島個体の形態のPCAの結果

ゲノム解析

最初に父島8個体SOLIDで読まれた。総リード数は23.9億リードで、1サンプルあたりの平均リード数は2.99億リードだった。一個体あたり約89%のゲノムをカバーする領域が読まれた。8個体のバリエーションは表1で示した。

表1. 父島8個体の各染色体におけるヘテロ塩基の数. T13-21は個体名

Chromosome	T3		T4		T5		T11	
	homo	het	homo	het	homo	het	homo	het
1	159,505	23,473	153,809	16,286	158,552	28,047	138,157	15,547
2	117,365	23,028	126,570	11,236	130,458	20,468	110,832	13,719
3	121,685	21,309	121,368	14,514	151,550	13,845	100,313	15,883
4	107,639	12,949	93,826	12,193	115,246	13,450	93,401	9,183
5	115,933	15,738	103,125	13,223	113,287	18,797	92,828	11,353
6	57,959	8,847	55,028	6,082	62,945	9,438	52,246	5,385
LGa	2,074	493	2,046	409	2,462	558	1,991	376
LGb	1,536	155	1,664	74	772	94	604	78
LGc	6,605	1,166	8,400	372	6,723	1,513	6,007	710
LGd	762	135	984	14	831	161	667	95
LGe	1,480	312	1,661	166	1,512	404	1,639	166
LGf	226	73	250	54	333	79	216	104
LGg	107	46	116	32	158	20	104	31
LGh								
0								
Chromosome	T15		T16		T18		T21	
	homo	het	homo	het	homo	het	homo	het
1	136,734	12,990	169,437	30,251	150,784	20,215	157,259	27,661
2	117,315	9,586	133,209	26,803	114,493	18,851	124,376	24,206
3	100,451	12,978	146,852	20,743	125,511	15,883	121,088	25,420
4	90,871	7,830	107,858	20,539	94,536	14,512	120,819	10,752
5	93,625	9,464	123,792	20,498	106,575	15,281	113,189	17,838
6	49,059	5,508	65,900	10,817	63,027	4,797	60,894	9,554
LGa	2,361	244	2,746	510	2,447	314	2,407	594
LGb	658	71	867	96	650	67	829	77
LGc	5,634	776	7,150	1,549	6,909	803	6,472	1,354
LGd	801	52	931	181	1,063	20	1,177	64
LGe	1,241	245	1,509	490	1,199	318	1,451	404
LGf	176	82	241	121	212	86	272	98
LGg	103	27	138	31	104	26	90	48
LGh								
Total	599,029	59,853	760,630	132,629	667,510	91,173	710,323	118,070

2つの染色体LGbとLGhについて父島8個体とフロリダ8個体の塩基多様度を比較した。

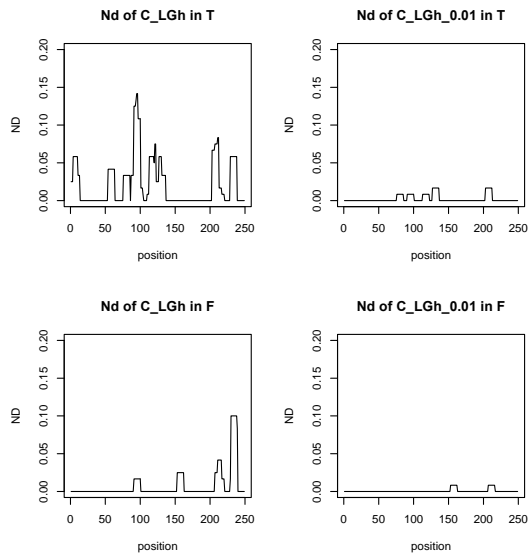
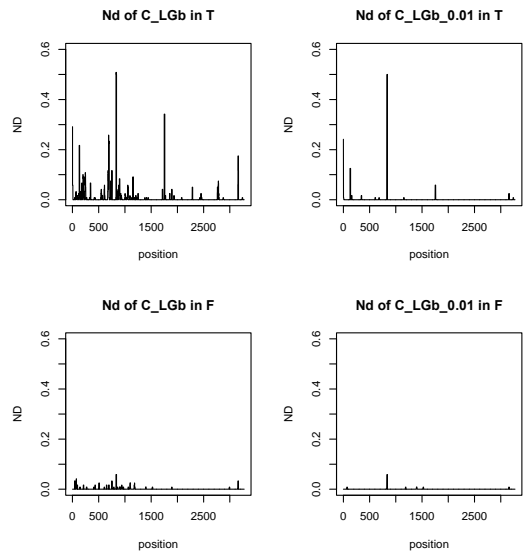


図2. 染色体LGhにおける父島個体(T)とフロ



リダ個体(F)の塩基多様度(D). 右の二つの図は Score<0.01 のみを使用した場合

図3. 染色体LGbにおける父島個体(T)とフロリダ個体(F)の塩基多様度(D). 右の二つの図は Score<0.01 のみを使用した場合

LGh および LGb の2つの染色体の領域において、両者とも、移入先の父島個体の方が、移入もとのフロリダの個体よりも塩基多様度が高い傾向にあった。これは、フロリダだけでなく複数の場所からの移入の可能性が高い。今後、他の染色体で調べると同時に、どの領域で自然選択が働いているかを明らかにする予定である。

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 16 件)

1. Makino, T. and Kawata, M. (2012) Habitat variability correlates with duplicate content of Drosophila genomes. **Molecular Biology and Evolution**, in press 査読有
2. Satake, M., Kawata, M., McLysaght, A. and Makino, T. (2012) Evolution of vertebrate tissues driven by differential modes of gene duplication. *DNA Research*, in press 査読有
3. 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**, DOI: 10.1002/ece3.234 査読有
4. 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
5. 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
6. 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
7. 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
8. 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
9. 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
10. 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
11. 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
 12. Kitano, J., Lema, S.C., Luckenbach, J.A., Mori, S., Kawagishi, Y., Kusakabe, M., Swanson, P., and Peichel, C.L. (2010). Adaptive divergence in the thyroid hormone signaling pathway in the stickleback radiation. **Current Biology** doi:10.1016/j.cub.2010.10.050 査読有
 13. 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
 14. 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
 15. Perez-Bercoff A, Makino T and McLysaght A. (2010) Duplicability of self-interacting human genes. **BMC Evolutionary Biology** 10:160. 査読有
 16. Makino T and McLysaght A. (2010) Ohnologs in the human genome are dosage balanced and frequently associated with disease. **PNAS** 107(20), 9270-9274 査読有

[学会発表] (計 15 件) *発表者

1. *Akashi, H., Cadiz Diaz, A., Makino, T., and Kawata, M.: 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
2. *Sato, M.P., Makino, T., Suzuki-Ohno, Y., Iwasaki, W.M., Kawata, M.: Selection for expression level detected by the interspecific comparison of cis-regulatory sequences.:EAFES5:2012 年 3 月 19 日:龍谷大学
3. *Takahashi, Y., Nagata, N. and Kawata, M.: Selection and drift in the population divergence of color polymorphism.:EAFES5:2012 年 3 月 19 日: 龍谷大学
4. *Sakai, Y., Kaizu, T., Ohtsuki, H., Tezuka, A., Kasagi, K., Kawamura, S. and Kawata, M.: The effect of LWS opsin genotypes on color sensitivity and female preference.: EAFES5:2012 年 3 月 19 日:龍谷大学
5. *Tamate, S., Kawata, M. Makino, T.

- Relationship between duplicated gene and environmental adaptation in mammalia.:EAFES5, 日本生態学会第 59 回大会:2012 年 3 月 19 日 : 龍谷大学
6. *Cadiz Diaz, A., Nagata, N., Diaz Beltran, L.M., Echenique-Diaz, L.M., Akashi, H., Makino, T., Kawata, M.: Relative importance of range expansion, speciation and niche differences on regional species diversity in the trunk-ground Anolis lizards in Cuba.:EAFES5, 日本生態学会第 59 回大会:2012 年 3 月 19 日 : 龍谷大学
 7. *Adachi, T., Ishikawa, A., Mori, S., Makino, W., Kume, M., Kawata, M., Kitano, J.: Phenotypic and ecological shifts in introduced crater lake stickleback populations.:EAFES5, 日本生態学会第 59 回大会:2012 年 3 月 18 日 : 龍谷大学
 8. 河田雅圭: 適応進化を制限する遺伝的機構と生物多様性[シンポジウム]日本生態学会第 58 回全国大会、2011.3.8-12 (札幌)
 9. *牧野能土, 河田雅圭: 多様な生息地への適応を制限するゲノム構造[シンポジウム]日本生態学会第 58 回全国大会、2011.3.8-12 (札幌)
 10. *大野(鈴木) ゆかり, 今廣佐和子, 河田雅圭, 中静透: カシノナガキクイムシの行動モデルによるナラ枯れの感染拡大予測 [口頭発表] 影響日本生態学会第 58 回全国大会、2011.3.8-12 (札幌)
 11. 佐藤光彦, 牧野能土, 大野(鈴木) ゆかり, 岩寄航, 河田雅圭: 自然選択がショウジョウバエの転写調節領域進化に与える影響日本生態学会第 58 回全国大会、2011.3.8-12 (札幌)
 12. *岩寄航, 津田真樹, 河田雅圭: 環境変化で出現する新奇形質: 遺伝子制御ネットワークの隠蔽変異が適応進化を促進 日本生態学会第 58 回全国大会、2011.3.8-12 (札幌)
 13. 安達竜也, 森誠一, 牧野渡, 河田雅圭, *北野潤: イトヨにおける新規環境への急速適応 [口頭発表]日本生態学会第 58 回全国大会、2011.3.8-12 (札幌)
 14. *牧野能土: 比較ゲノム解析による網羅的プライマーデザイン [企画集会] 日本生態学会第 58 回全国大会、2011.3.8-12 (札幌)

[図書] (計 0 件)

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)
なし

○取得状況 (計 0 件)
なし

〔その他〕
なし

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) 連携研究者

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

北野 潤 (KITANO, JUN)
国立遺伝学研究所・新分野創造センター・特
任准教授
研究者番号：40282727

長谷川 雅美 (HASEGAWA, MASAMI)
東邦大学・理学部・教授
研究者番号：40250162