

## 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6月1日現在

機関番号：14501

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22770019

研究課題名（和文） 交雑帯のゲノムスキャンによる種分化遺伝子の特定

研究課題名（英文） Identification of speciation genes via genome scan in hybrid zones

研究代表者

高見 泰興 (TAKAMI YASUOKI)

神戸大学・大学院人間発達環境学研究科・准教授

研究者番号：60432358

研究成果の概要（和文）：本研究の目的は、種分化に関与する遺伝子が、ゲノム内のどのような場所に存在し、どのような形質と関連しているのかを解明することである。材料は、これまで種分化のしくみが良く調べられてきたイワキオサムシとマヤサンオサムシを用いる。知見が蓄積している材料に対して、新しい解析手法（ゲノムスキャン）を適用することで、種分化のメカニズムを、新たな視点から、さらに深く理解することを目指すものである。

クライン解析を用いたゲノムスキャンの結果からは、交尾器形態にかかわる遺伝子座(QTL)の近傍領域が、交雑帯における自然淘汰を受けていることが明らかになった。解析した12マイクロサテライトのうち、交尾器近傍領域では7/8が有意に中立から逸脱したのに対し、そうでない領域では全てが中立的であった(0/4)。さらに、中立からの逸脱の多くは方向的な淘汰によるものであり、その方向は種間交雑による交尾器破損によって生じるコストを低下させる（雄交尾器は細く短く、雌交尾器は長く）ものであった。このことから、交尾器形態を決める遺伝子は生殖隔離を支配する種分化遺伝子であることが示唆された。

生態ニッチモデリングと、モデルを比較するための「ニッチ同一度テスト」と「背景類似度テスト」をもちいて、両種の生息地選好性が分化しているか否かを検証した。その結果、交雑帯付近においても両種の生息地選好性は分化を保っており、これがモザイク状の交雑帯構成に影響していると結論した。

研究成果の概要（英文）：The present study aimed to determine the genomic location of genes concerning reproductive isolation (i.e., speciation genes), and to explore their association with phenotypic traits. We used two species of carabid beetles, *Carabus iwawakianus* and *C. mayasanus*, which belong to the subgenus *Ohomopterus* that possesses species-specific genital lock-and-key systems, being a model system in speciation studies.

Genome scans using genomic cline analyses in a hybrid zone revealed that natural selection operated on genomic regions linked to QTL for genital morphology. Of 12 microsatellites, 7 of 8 QTL-linked markers significantly departed from null expectation assuming genetic drift only, whereas none of 4 unlinked markers did. The shape of selection was mostly directional to avoid the cost of genital injury due to the mismatch between the heterospecific genitalia: short and narrow male genitalia and long female receptacle were selected. These results suggest that genes responsible for species-specific genital morphologies are speciation genes concerning reproductive isolation between the two closely-related species.

Ecological niche modeling and subsequent comparison of the models using the niche identity test and background similarity test revealed that habitat preferences of those two species were differentiated even within contact areas, suggesting niche differentiation plays an additional role in maintaining narrow hybrid zones between the two species, and may be associated with their speciation.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	2,000,000	600,000	2,600,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：進化生態学，エコゲノミクス，種分化，生殖隔離，交尾器，オサムシ

## 1. 研究開始当初の背景

地球上には多種多様な生物が生息しているが、それらがどのように生み出され、維持されているのかについては、現在も活発な研究と議論が続いている。その中でも、生物多様性を生み出す根源的なプロセスが、種分化である (Coyne & Orr 2004)。20 世紀の研究者は、種分化を以下のように考えていた：

(1) 地理的に隔離された集団に、遺伝的浮動によって突然変異が蓄積する；(2) その結果、集団同士が二次的に接触した際に遺伝的な不和合が生じ、生殖隔離がもたらされる (Mayr 1963)。しかし、近年の種分化研究の成果は、このような仮説を二つの点において覆しつつある。

一つ目は、種分化を推し進める力としての自然淘汰の重要性である。局所環境への適応や、集団独自の配偶様式の進化は、集団間の遺伝子流動を妨げ、種分化を駆動する強力な要因であることが実証されつつある (e.g., Funk et al. 2006; Takahashi et al. 2009)。

二つ目は、生殖隔離をゲノム全体の不和合としてではなく、個々の形質とそれを支配する遺伝子のレベルで理解すべきだという点である (Wu 2001)。これまで、いくつかの先駆的研究が、種分化形質に関連する遺伝子を特定することに成功している (e.g., Bradshaw et al. 1995; Rieseberg et al. 2003)。つまり現在は、種分化研究のパラダイムの転換期であるといえる。このような時代に、新たな視点から種分化をより深く理解するためには、これまで良く研究されてきた生物に最新の研究手法を適用し、それまでの知見をより深く掘り下げることが有効である。

オオオサムシ類は日本列島に固有で、飛ぶことができず、著しい種分化をとげた甲虫の一群である (石川 1991)。系統分化の歴史が良く調べられており (Takami 2000; Sota & Nagata 2008)、多様な交尾器形態や体サイズが生殖隔離機構として働くことが知られている (Sota & Kubota 1998; Takami & Suzuki 2005; Takami et al. 2007; Nagata et al. 2007)。さらに、そのような種分化形質の進化機構についても良く調べられており (Takami 2002, 2003, 2007; Takami & Sota 2007)、形質の遺伝的基盤についても明らかにされつつある (Sasabe et al. 2007)。つまりオオオサムシ類は、新たな視点からの種分化研究に十分に対応可能な材料である。本研究は、その中でも最も研究が進んでいるマヤサンオサムシとイワキオサムシの種分化に注目する。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、種分化に関与する遺伝子が、ゲノム内のどのような場所に存在し、ど

のような形質と関連しているのかを解明することである。

マヤサンオサムシとイワキオサムシは、野外で分布を接し、自然交雑帯を形成している (Kubota 1988)。両種には交尾器形態と生息環境選好性に違いがあり、それらが生殖隔離の原因となって、交雑帯における側所的分布を維持していると考えられる (Sota & Kubota 1998; 高見ら, 日本進化学会 2009 ポスター)。

種分化を遺伝子のレベルから見ると、生殖隔離に関わる遺伝子は交雑帯において種間で混ざりあいにくく、種の独自性を保つと期待される (図 1)。一方それ以外の遺伝子は、

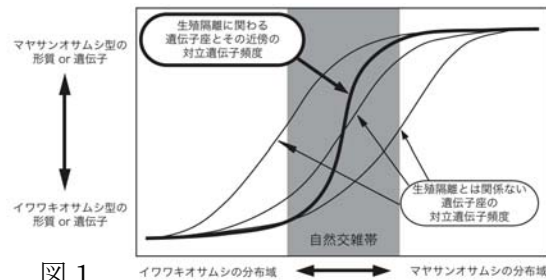


図 1

交雑帯を越えて流動し、種間で混ざり合うと期待される。そこで本研究は、このような遺伝子流動のパターンを、自然交雑帯のゲノムスキャンによって明らかにする。

## 3. 研究の方法

### (1) サンプリング

マヤサンオサムシとイワキオサムシの自然交雑帯が三重県鈴鹿市に知られている。ここにトランセクトを設置し、60 集団、約 1600 個体を採集した。個体の交尾器を解剖し、雄交尾器にある交尾片と、雌交尾器にあり、交尾片と種特異的に対応する膈盲嚢の長さや幅を、実体顕微鏡下で測定し、関連研究との比較のために記録した。DNA を抽出するため、精巢や筋肉組織を取り出して 99%エタノールで保存した。

### (2) ゲノムスキャン

ゲノムスキャンとは、ゲノム内に散在する中立マーカー遺伝子座 (マイクロサテライトや AFLP) のそれぞれについて、遺伝的分化や遺伝子流動の程度を網羅的に解析する方法である (Black et al. 2001)。生殖隔離に関わる遺伝子座の近傍にあるマーカー遺伝子座は、種間の遺伝子流動が妨げられるため、急激な対立遺伝子頻度の移行を示すと期待される (図 1)。このような解析により、生殖隔離に関与する遺伝子がゲノム内にどの程度存在し、それが交尾器形態や環境選好性などのように関連しているのかを解明することができる。

本研究では、すでに染色体上の位置が決定されている12のマイクロサテライト遺伝子座をマーカーとして用いた (Sasabe et al. 2010). そのうち5マーカーは雄交尾器形態を支配するQTLと連鎖し、4マーカーは雌交尾器形態を支配するQTLと連鎖していた (内1マーカーは雌雄両方のQTLに連鎖). 残りの4マーカーは交尾器形態のQTLとは連鎖していないものとした.

交雑帯の中心に位置する集団から得られたサンプルについてマーカー遺伝子型を決定し、個々のマーカーごとにゲノムクライン解析を行った. 中立を仮定したクラインの形をシミュレーションによって求め、そこからの逸脱について検討した. 解析には Introgress (Gompert & Buerkle 2009) を用いた.

### (3) 生態ニッチモデリング

生態的分化が種分化におよぼす影響と、その遺伝的背景を明らかにする第一歩として、分布データに基づく生態ニッチモデリングの構築と、種間での比較を行った. 分布データは文献情報から抽出し (Ishikawa & Kubota 1994, 1995), 環境データは国土地理院 50m メッシュ地図と気象庁メッシュ気候値のデータを用いた. ArcGIS によって年平均気温、地形的湿度指数、降水量のデータセットを構築し、Maxent (Phillips et al. 2006) によって地点ごとの分布確率を予測するニッチモデルを推定した.

生態ニッチ分化が種分化と交雑帯の維持に寄与しているならば、各種のニッチは接触域においても分化を保っているはずである. その予測を調べるために、種間でニッチモデルに差があるか否かを統計的に検討した. 比較のための手法は Warren et al. (2008) によるニッチ同一度テストと背景類似度テストを用いた.

## 4. 研究成果

### (1) ゲノムスキャン

12 マーカー遺伝子座のゲノムクライン解析の結果、交尾器形態 QTL と連鎖した 8 遺伝子座のうち 7 遺伝子座が中立を仮定した帰無分布から有意に逸脱した. 一方、QTL と連鎖していない 4 遺伝子座はいずれも帰無分布の予測と整合的であった. 交尾器形態 QTL との連鎖と、帰無分布からの逸脱との間には有意な関連があった (Fisher's test,  $P < 0.05$ ).

帰無分布から逸脱したマーカー遺伝子座について、クラインの形状から作用する自然淘汰の形を検討したところ、すべての場合について方向性淘汰であることが明らかになった. その方向は、種間交雑による交尾器破損によって生じるコストを低下させる (雄交尾器は細く短く、雌交尾器は長く) ものであ

った (図 2).

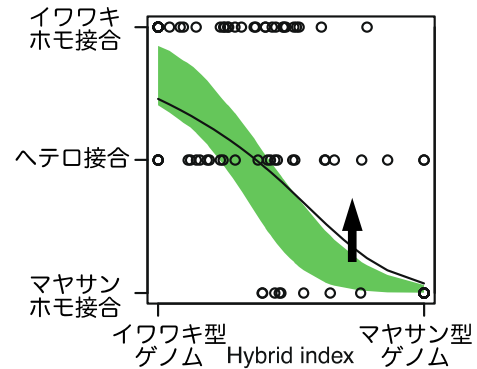
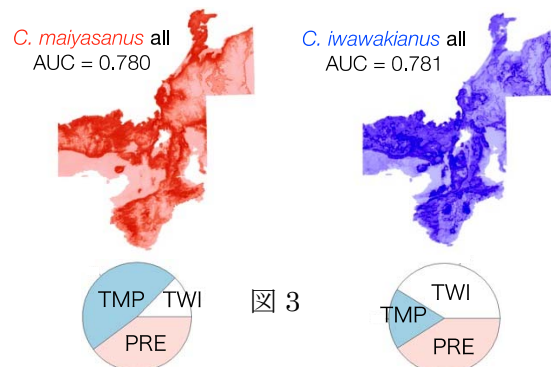


図 2. ゲノムクライン解析の結果. 交尾片長 QTL の近傍マーカーのアレル頻度 (曲線) が、中立から期待される頻度 (帯状部) よりも有意に高まっている (矢印,  $P = 0.003$ ). これは、イワキ型の短い交尾片が方向的に選択され、マヤサン型ゲノムに浸透していることを示す.

以上の結果は、交尾器形態を決める遺伝子は生殖隔離を支配する種分化遺伝子であることを示唆する. さらに、生殖隔離に関わる遺伝子にはエピスタティックな淘汰が働くとされていたが、そのような予測は必ずしも成り立たない可能性を示した. これは、種分化の遺伝的背景に関する研究分野において新たな問題を提起するものである.

### (2) 生態ニッチモデリング

イワキオサムシとマヤサンオサムシのニッチモデルにおける各環境要因の寄与率を比較したところ、前者は地形的湿度指数 (TWI) に、後者は年平均気温 (TMP) により大きく依存して分布が決まっていることが示された (図 3). また、年間降水量 (PRE) の寄与率には大きな違いは見られなかった. この傾向は、各種の分布域を単独域と境界域に分けても同様であった.



ニッチモデルの間の違いを統計的に検討した結果、両種のニッチは有意に異なり、その違いは境界域においても維持されていることが示唆された. よって交雑帯付近においても両種の生息地選好性は分化を保っており、これがモザイク状の交雑帯構成に影響していると結論した. このような生態的分化の定量化に成功したことは、その遺伝的背景の解明に道を開きうる点で大きな意義がある

といえる。

## 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2件)

- ① 高見泰興. 2011. オサムシの交尾器はなぜ多様なのかー性淘汰と遺伝的基盤. *昆虫と自然*, 46 (3): 9-13. 査読無
- ② 高見泰興. 2011. オオオサムシ亜属の交尾のしくみ. *昆虫と自然*, 46 (3): 13-14. 査読無

[学会発表] (計2件)

- ① 高見泰興, 大澤剛士. 側所的分布の成立過程におけるニッチ分化の役割: 捕食性歩行虫の場合. 第60回日本生態学会大会, 2012年3月, 大津.
- ② 高見泰興, 雀部正毅, 曾田貞滋. オオオサムシ亜属の交尾器形態の多様性と遺伝的基盤. 第55回日本応用動物昆虫学会大会, 小集会「闘争と選好性が織りなす世界: 新たな研究展開」, 2011年3月, 福岡.

[図書] (計1件)

- ① 曾田貞滋 (編著), 高見泰興, 長太伸章, 小沼順二, 奥崎穰, 池田紘士, 土屋雄三, 雀部正毅 (共著) オサムシ学の新展開ー生態から進化まで. 北隆館 (近刊).

[その他]

ホームページ等

<http://www2.kobe-u.ac.jp/~takami/>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

高見 泰興 (TAKAMI YASUOKI)

神戸大学・大学院人間発達環境学研究科・  
准教授

研究者番号: 60432358