

平成 30 年 6 月 21 日現在

機関番号：12702

研究種目：基盤研究(B) (海外学術調査)

研究期間：2014～2017

課題番号：26304008

研究課題名(和文)スラウェシ島固有のマカク属を用いた霊長類の種形成に関する遺伝領域の特定

研究課題名(英文)Speciation and secondary contact between two Sulawesi macaque species

研究代表者

寺井 洋平 (Terai, Yohey)

総合研究大学院大学・先導科学研究科・助教(特定有期雇用)

研究者番号：30432016

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,600,000円

研究成果の概要(和文)：スラウェシ島には7種のマカクの固有種が生息している。本研究ではこれらマカクの種を用いて、霊長類の種分化の機構を明らかにすることを目的とした。始めに野外調査により生態情報とサンプルを収集し、それらサンプルの全遺伝子のエキソン領域の配列を決定した。解析の結果、スラウェシマカクの共通祖先は5万世代ほど前にスラウェシ島に移住し、4系統がほぼ同時に種分化し、次いで南部と北部でそれぞれ種分化が起きたことが明らかになった。また種分化に関与すると予想された100程度の遺伝子には、採餌や食性に関係する遺伝子が多く含まれ、スラウェシマカクの種は環境適応を介した、生態的種分化によって生じてきたことが推定された。

研究成果の概要(英文)：The Sulawesi macaque species endemic to island of Sulawesi (Central Indonesia) have differentiated into seven morphologically distinct species in seven allopatric areas. The evolution of these species has been studied, however the evolutionary process and its genetic basis are still unclear. We determined exome sequences of seven species. The analyses of these data showed that the speciation of Sulawesi macaques has occurred in Sulawesi island just after the migration of common ancestral species of these macaques. Most of the SNPs were observed in one species (~90%) or shared between *M. tonkeana* and *M. hecki*, whereas a handful of SNPs were fixed differences. These fixed differences were located in ~100 genes including genes responsible for olfaction, and detoxification. These results demonstrate that the small number of genes with fixed differences may be responsible for local adaptation and for preventing expansion of hybrid zones.

研究分野：分子進化生態学

キーワード：種分化 環境適応 集団ゲノム解析 マカク 食性の適応

1. 研究開始当初の背景

これまで生物多様性は種分化の繰り返しにより獲得されてきたと考えられてきた。研究代表者はアフリカのヴィクトリア湖産シクリッドをモデル種として種分化の研究を行い、種分化と適応の機構、またそれらのシクリッドでの一般性について明らかにしてきた。この研究を可能にしたのはシクリッドの種間の遺伝的分化の程度が極めて小さいことを用いたことであった。種分化の初期の、まだ種間の遺伝的分化が小さいときは種分化や適応に関係する短いゲノム領域だけが種間で分化し、他の大部分の領域は種間で分化が見られないと考えられており、実際シクリッドでは予想と同じゲノム構造をしていた。そのため、シクリッドでは種分化に関する遺伝子を明らかにすることが可能となった。我々研究グループはスラウェシ島に生息する7種の固有のマカク属の種が霊長類で種分化の機構を研究することに最適の生物であることを予想し研究を開始した。

マカク属の種は主に東南アジアの島々を含むアジアに広く分布している。その中でもスラウェシ島には7種の固有種が生息しており、形態的に多様化している(図1)。それぞれの種の分布は分かれており、分布の境界には交雑帯が存在し雑種を形成していることが知られている。ミトコンドリアDNA(mtDNA)による分子系統解析では、スラウェシ島の7種は単系統となるが、種間があまりにも近縁なためにこれら種間の系統関係は明らかにされていない。スラウェシ島の7種間では核DNAの分化の程度は低く、多くのマイクロサテライトの座位の多型を種間で共有している。そしてこのような核DNAの分化の低さは、種間の雑種形成による核DNAの流入が原因であると考えられている。また、種間交雑が起こっていても種が維持されていることから、種特異的な遺伝子変異には自然選択や性選択が働いて特異性が維持されていると予想される。そのため、集団ゲノム解析により種間で分化した領域を特定し、そこに存在する遺伝子を明らかにすれば種分化や種特異的な適応に関わった遺伝子を単離し、霊長類における種分化と適応の機構を明らかにできる。

2. 研究の目的

インドネシア、スラウェシ島にはこの島固

有の7種のマカク属が生息している。これらの種は遺伝的に非常に近縁な種であり、分布の境界で交雑帯を形成しているため種分化の研究に最適である。本研究ではスラウェシ島のマカク属を用いて、種分化や種特異的な形質に関わる遺伝子を単離し、霊長類の種分化の機構を明らかにすることを目的としている。

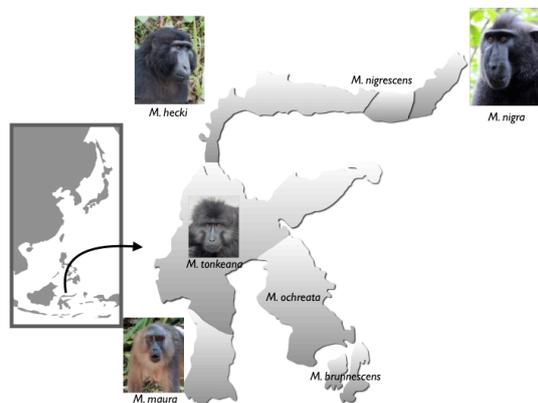


図1 スラウェシ島固有の7種のマカク

3. 研究の方法

スラウェシ島固有のマカク属の種分化と種特異的な適応の分子機構を明らかにするため、始めに野外調査により生態情報を収集し、同時に各種10-15個体のフンを収集しゲノムDNAを抽出した。この調査地はスラウェシ島中央より少し北に位置するパル(Palu)であり、*M. tonkeana* と *M. hecki* の分布域の境界にあたる(図1)。また、研究期間の後半ではさらにスラウェシ島北部に分布する種、*M. nigra* と *M. nigrescens* についても野外調査を行った。これにより、スラウェシ島でも分布域が密集する北部の半島の種をすべて調べることが可能となった。ゲノムDNAの抽出および次世代シーケンシング用のライブラリの作製はボゴール農科大学で行った。ライブラリはエキソンキャプチャ法を用いて全遺伝子のエキソン領域だけを濃縮し、配列決定のカバレッジが50xになるように5-10 Gbの配列をそれぞれの個体で決定した。決定した塩基配列は同属のアカゲザルゲノムを参照配列としてマッピングを行った。マッピングしたデータから *M. nigra* と *M. nigrescens* の種間の分化の程度や年代、交雑の有無とゲノム領域の浸透、またこれら2種間で完全に分化した変異の抽出を行った。このような種間で完全に分化した変異が存在する遺伝子はそれぞれの種の地域適応や種

分化に關与する可能性が高い。他のスラウエシマカクの種についてもエキソンキャプチャ法を介した全遺伝子のエキソン領域を行い、同義置換の抽出後、種間の系統関係を明らかにした。

4. 研究成果

本研究以前、スラウエシ島に生息する固有の7種のマカクがどのように進化してきたかについて、ほとんど明らかにされていなかった。本研究の解析の結果、スラウエシマカクの共通祖先は5万世代ほど前にスラウエシ島に移住し、急速に種分化をしたことが明らかになった(図2)。この種分化では4系統がほぼ同時に島に放散し、次いで南部と北部でそれぞれ種分化が起きた。*M. tonkeana* と *M. hecki* についてはさらに詳細に解析を行っており、最近に交雑を起こしゲノムの1割程度が浸透していることが明らかになった。またこれらの2種で種間で完全に分化した変異をもつ遺伝子は、わずか100程度でこれらに採餌や食性に關係する遺伝子が多く含まれていた。そのため、スラウエシマカクの種は地域環境に適応しており、これらの種は生態的種分化によって生じてきたことが推定された。哺乳類、霊長類で生態的種分化の例はあまり報告されておらず、この研究の成果が哺乳類での生態的種分化の代表例となることが期待される。

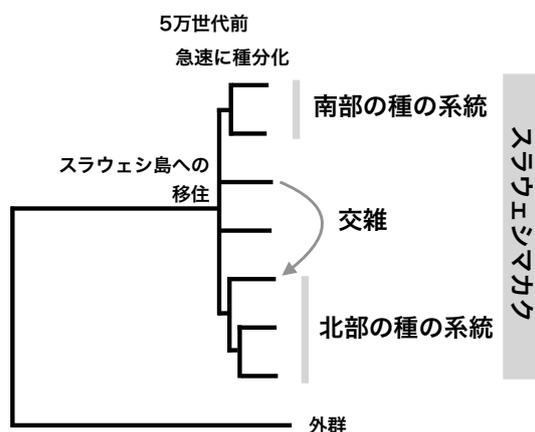


図2 スラウエシ島のマカクの進化

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 24 件)
 原著論文: すべて査読有り

1. Terai Y, Miyagi R, Aibara M, Mizoiri S, Imai H, Okitsu T, Wada A, Takahashi-Kariyazono S, Sato A, Tichy H,

Mrosso HDJ, Mzighani SI, Okada N. Visual adaptation in Lake Victoria cichlid fishes: depth-related variation of color and scotopic opsins in species from sand/mud bottoms. *BMC Evolutionary Biology* 17:200. doi: 10.1186/s12862-017-1040-x (2017)

2. Kato T, Matsui S, Terai Y, Tanabe H, Hashima S, Kasahara S, Morimoto G, Mikami O, Ueda K, Kutsukake N. Male-specific mortality biases secondary sex ratio in Eurasian tree sparrows *Passer montanus*. *Ecology and Evolution* 7:10675-10682 doi: 10.1002/ece3.3575 (2017)

3. Mieko Kono, Hideyuki Tanabe, Yoshihito Ohmura, Yoko Satta, and Yohey Terai. Physical contact and carbon transfer between a lichen-forming *Trebouxia* alga and a novel Alphaproteobacterium *Microbiology* 163:678-691. doi: 10.1099/mic.0.000461 (2017)

4. Anik Budhi Dharmayanthi, Yohey Terai, Sri Sulandari, Toyoko Akiyama, Yoko Satta. The Origin and Evolution of Fibromelanosis in Domesticated Chickens: Genomic comparison of Indonesian Cemani and Chinese Silkie breeds. *PLOS ONE* 12:e0173147. doi:10.1371/journal.pone.0173147 (2017)

5. Shiho Takahashi-Kariyazono, Hirokazu Tanaka, Yohey Terai. Gene duplications and the evolution of c-type lysozyme during adaptive radiation of East African cichlid fish. *Hydrobiologia*, 791:7-20 doi: 10.1007/s10750-016-2892-6 (2017)

6. K. Katayama, Y. Nonaka, K. Tsutsui, H. Imai, H. Kandori. Spectral Tuning Mechanism of Primate Blue-Sensitive Visual Pigment Elucidated by FTIR Spectroscopy. *Sci. Rep* 7, 4904. doi: 10.1038/s41598-017-05177-4 (2017)

7. Akihiko Koga, Hideyuki Tanabe, Yuriko Hirai, Hiroo Imai, Masanori Imamura, Takao Oishi, Roscoe Stanyon, Hirohisa Hirai. Co-Opted Megasatellite DNA Drives Evolution of Secondary Night Vision in Azara's Owl Monkey. *Genome Biology and Evolution* 9(7): 1963-1970 doi: 10.1093/gbe/evx142. (2017)

8. L. H. P. Purba, K. A. Widayati, K. Tsutsui, N. Suzuki-Hashido, T. Hayakawa, S. Nila, B. Suryobroto, H. Imai. Functional

characterization of the TAS2R38 bitter taste receptor for phenylthiocarbamide in colobine monkeys. *Biology Letters* 13, 20160834. doi: 10.1098/rsbl.2016.0834 (2017)

9. S. Bunlugsup, H. Imai, Y. Hamada, K. Matsudaira, S. Malaivijitnond. Mitochondrial DNA and two Y-chromosome genes of common long-tailed macaques (*Macaca fascicularis fascicularis*) throughout Thailand and vicinity. *Am J Primatol* 79, e22596. doi: 10.1002/ajp.22596 (2017)

10. Shiho Takahashi-Kariyazono, Jun Gojobori, Yoko Satta, Kazuhiko Sakai, and Yohey Terai. *Acropora digitifera* Encodes the Largest Known Family of Fluorescent Proteins that Has Persisted during the Evolution of *Acropora* Species. *Genome Biology and Evolution* 1–13 doi: 10.1093/gbe/evw265 (2016)

11. F. N. Carelli, T. Hayakawa, Y. Go, H. Imai, M. Warnefors and H. Kaessmann. The life history of retrocopies illuminates the evolution of new mammalian genes. *Genome Research* 26, 301-314. doi: 10.1101/gr.198473.115 (2016)

12. S. Bunlugsup, H. Imai, Y. Hamada, M.D. Gumert, A.M. San, and S. Malaivijitnond. Morphological characteristics and genetic diversity of Burmese long-tailed Macaques (*Macaca fascicularis aurea*). *Am J Primatol*. 78, 441-455. doi: 10.1002/ajp.22512 (2016)

13. E. Nishi, K. Tsutsui, and H. Imai High maltose sensitivity of sweet taste receptors in the Japanese macaque (*Macaca fuscata*) *Sci. Rep* 6, 39352. (<https://www.nature.com/articles/srep39352>)(2016)

14. K. Yoshida, Y. Go, I. Kushima, A. Toyoda, A. Fujiyama, H. Imai, N. Saito, A. Iriki, N. Ozaki, M. Isoda Single-neuron and genetic correlates of autistic behavior in macaque *Science Advances* 2, e1600558. doi: 10.1126/sciadv.1600558 (2016)

15. H. Imai, N. Suzuki-Hashido, Y. Ishimaru, T. Sakurai, L. Yin, W. Pan, M. Ishiguro, K. Masuda, K. Abe, T. Misaka, and H. Hirai. Amino acid residues of bitter taste receptor TAS2R16 that determine sensitivity in primates to β -glycosides. *Biophysics and Physicobiology* 13: 165–171. doi: 10.2142/biophysico.13.0_165 (2016)

16. Malinsky M, Challis RJ, Tyers AM, Schiffels S, Terai Y, Ngatunga BP, Miska EA, Durbin R, Genner MJ, Turner GF. Genomic islands of speciation separate cichlid ecomorphs in an East African crater lake. *Science*, Vol. 350, pp. 1493-1498 doi: 10.1126/science.aac9927 (2015)

17. Shiho Takahashi-Kariyazono, Yoko Satta, Yohey Terai. Genetic diversity of fluorescent protein genes generated by gene duplication and alternative splicing in reef-building corals *Zoological Letters*, 1:23 doi: 10.1186/s40851-015-0020-5 (2015)

18. N. Suzuki-Hashido, T. Hayakawa, A. Matsui, Y. Go, Y. Ishimaru, T. Misaka, K. Abe, H. Hirai, Y. Satta, and H. Imai. Rapid expansion of phenylthiocarbamide non-tasters among Japanese macaques. *PLoS ONE* 10, e0132016. doi: 10.1371/journal.pone.0132016 (2015)

19. K. Katayama, T. Okitsu, H. Imai, A. Wada, and H. Kandori. Identical Hydrogen-Bonding Strength of the Retinal Schiff Base between Primate Green- and Red-Sensitive Pigments: New Insight into Color Tuning Mechanism. *J Phys Chem Lett.* 6, 1130-1133. doi: 10.1021/acs.jpcclett.5b00291 (2015)

総説: 査読なし

20. 今井啓雄 味覚受容体の進化と多様性. *アグリバイオ* 1, 89-91. (2017)

21. 今井啓雄, 西榮美子味覚受容体タンパク質の進化と多様性. *生物科学* 67, 75-84. (2016)

22. 今井啓雄サルの味覚を追ってフィールドに。 *フィールドプラス* 15, 22-23. (2016)

23. 寺井洋平: フィールドワークから見た視覚の適応進化、*フィールドプラス*2016, 01 No. 15, p24-25 (2016)

24. 筒井圭, 今井啓雄 霊長類苦味受容体の機能的多様性 *比較生理生化学* Vol. 32 No. 1 p. 24-29 (2015)

[学会発表] (計 44 件)

1. Hiroo Imai, Taste receptors and feeding behaviors as a target of molecular biology of primates. International symposium on Genomics and Cell Biology of Primates. March 24, 2018.
2. Widayati K, YAN X, Suzuki-Hashido N, Purba LH, Bajebber F, Suryobroto B, Terai Y,

- Imai H. Characterization of the TAS2R38 bitter taste receptor for phenylthiocarbamide (PTC) of *Macaca tonkeana* and *M. hecki*, 62th Primate conference 28 January 2018.
3. YAN X, Widayati K, Suzuki-Hashido N, Purba LH, Suryobroto B, Terai Y, Imai H. Characterization of bitter taste sensitivity of two species of Sulawesi Macaques, oral, the 9th PWS symposium, Kyoto, Japan, (2018.3)
 4. YAN X, Widayati K, Suryobroto B, Terai Y, Imai H. Species-specific mutation of two species of Sulawesi Macaques, poster, the 62th primate conference, Japan monkey center, Japan, (2018.1)
 5. Hiroo Imai, Functional diversity of primate GPCR-type sensory receptors, International Symposium on Biophysics of Rhodopsin, 京都、2017.5.12
 6. Hiroo Imai, Nami Suzuki-Hashido, Emiko Nishi, Takashi Hayakawa, Hirohisa Hirai, Laurentia Purba, Kanthi Widayati, Bambang Suryobroto. Functional and behavioral analysis of primate bitter and sweet taste receptors. The 16th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, November 3-4, Fukuoka 2017
 7. Hiroo Imai, Receptor-ligand interaction in various types of primates. Kyoto International Symposium on Virus-Host Coevolution /Human-Nature Interplacement Life Science. November 13, 2017
 8. Terai Y, Imai H, Purba L, Widayati K, Suryobroto B. Genomic regions with the genes related to species differences between two Sulawesi macaque species. Evolution meeting 2017. June, 2017, Portland.
 9. 寺井洋平, 宅野将平, Purba L, Widayati K, 今井啓雄, Suryobroto B. スラウェシ島固有のマカクにおける種分化と二次的接触、第19回日本進化学会大会、2017年8月、京都
 10. 荒川那海、寺井洋平、今井啓雄、 颯田葉子、ヒト-類人猿間の皮膚での遺伝子発現比較とヒト特異的形質について、第19回日本進化学会大会、2017年8月、京都
 11. 荒川那海、寺井洋平、今井啓雄、 颯田葉子、ヒトと類人猿の皮膚における遺伝子発現比較、第33回日本霊長類学会大会、2017年7月、福島
 12. YAN X, Widayati K, Suzuki-Hashido N, Purba LH, Bajebber F, Suryobroto B, Terai Y, Imai H. Species-specific mutation among Sulawesi Macaques: Characterization of the TAS2R38 bitter taste receptor for phenylthiocarbamide (PTC) of two species of Sulawesi Macaques, poster, the 16th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception, Fukuoka, Japan, (2017.11)
 13. YAN X, Widayati K, Suzuki-Hashido N, Purba LH, Bajebber F, Suryobroto B, Terai Y, Imai H. Species-specific mutation among Sulawesi Macaques: Characterization of the TAS2R38 bitter taste receptor for phenylthiocarbamide (PTC) of two species of Sulawesi Macaques, poster, the CETbio core-to-core workshop, Bogor, Indonesia, (2017.10)
 14. YAN X, Widayati K, Suzuki-Hashido N, Purba LH, Suryobroto B, Terai Y, Imai H. Functionally species-specific mutation among Sulawesi Macaques & Characterization of the TAS2R38 bitter taste receptor for phenylthiocarbamide (PTC) of two species of Sulawesi Macaques, poster, the 8th PWS symposium, Inuyama, Japan, (2017.9)
 15. Imai H., Suzuki-Hashido N., Nishi E., Hayakawa T., Hirai H., Purba L. H. P., Widayati K., Suryobroto B. Functional evolution of primate taste receptors. In symposium "Learning from Sensory Molecules: Impact on Physiology and Evolution" The joint meeting of the 22nd International Congress of Zoology and the 87th Meeting of the Zoological Society of Japan, 沖縄コンベンションセンター (宜野湾市) 2016年11月18日
 16. Suzuki-Hashido N, Hayakawa T, Matsui A, Go Y, Ishimaru Y, Misaka T, Abe K, Hirai H, Satta Y, Imai H. Rapid expansion of phenylthiocarbamide (PTC) non-tasters among Japanese macaques. 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016). パシフィコ横浜 (横浜市) . 2016年6月5-9日.
 17. Emiko NISHI, Kei TSUTSUI, Hiroo IMAI Comparison of sweet taste sensitivity between Japanese monkey and human. 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016). パシフィコ横浜 (横浜市) . 2016年6月5-9日.
 18. Purba L.H.P.S., Widayati K.A., Nila S., Tsutsui K., Suzuki-Hashido N., Hayakawa T. Suryobroto B., Imai H. Functional characterization of TAS2R38 bitter taste

- receptors to Phenylthiocarbamide (PTC) in Colobine Monkeys (5-9 June 2016) 17th International Symposium on Olfaction and Taste (ISOT2016). パシフィコ横浜 (横浜市) . 2016年6月5-9日.
19. Yohey Terai: Genomic study on sensory drive speciation. The 5th International Seminar on Biodiversity and Evolution: New Methodology for Wildlife Science. June, 2016, Kyoto.
 20. 寺井洋平: ゲノムから見たシクリッドとマカクの適応と種分化. 「放散虫・魚・樹木のかたち」形の科学研究センター シンポジウム. 2016年9月、佐渡島
 21. Arakawa N, Terai Y, Satta Y. Comparative Study of Skin Gene Expression Patterns between Human and Apes. SMBE meeting. June, 2016, Gold Coast.
 22. 寺井洋平、今井啓雄、Laurentia Henrieta Purba、Kanthi Arum Widayati、Bambang Suryobroto、スラウェシ島固有のマカクにおける適応と種分化に関する遺伝子、第18回日本進化学会大会、2016年8月、東京
 23. 荒川那海、寺井洋平、今井啓雄、颯田葉子、類人猿と比較したヒト特異的皮膚形質の獲得について、第18回日本進化学会大会、2016年8月、東京
 24. Suryobroto B, Terai Y, Widayati K, Purba LH, H Imai: Evolutionary relationship of Macaca tonkeana and M. hecki: Speciation with gene flow. 5th Asian Primate Symposium. October, 2016, Sri Lanka
 25. 霊長類におけるヒトの皮膚の表現型の特性について 荒川那海、寺井洋平、今井啓雄、颯田葉子 日本進化学会大会 東京、8月20日 2015年
 26. Hiroo Imai, Functional analysis of bitter and sweet receptors of primates by cellular and behavioral Experiments 日本進化学会第17回大会 8月21日2015年
 27. Yohey Terai 「Genomic regions responsible for speciation in Sulawesi macaques: approach from high-throughput sequencing analysis」 The 4th International Congress on Asian Primates. Bogor Indonesia 2014年
 28. Imai H., Hayakawa T., Suzuki-Hashido N., Tsuji Y., Go Y., Hirai H., Permita L.H., Nila S., Widayati K.A., Suryobroto B. Next-generation sequencing analysis of Indonesian colobine genome. The IVth International Symposium of Southeast Asian Primates, Bogor, 18 August 2014.
 29. 今井啓雄 Intra-species difference in the taste receptors of primates 日本人類学会50周年記念国際研究大会 (2014/05/15-18, 千葉)
- 〔図書〕 (計 5 件)
1. 寺井洋平. 丸善出版、動物学の百科事典: 適応放散. 印刷中.
 2. 寺井洋平. 化学同人、どうしてたくさんの生き物の種がいるの? 種分化について(仮題). 印刷中
 3. 寺井洋平. 丸善出版、魚類学の百科事典「種分化の遺伝学」印刷中.
 4. 寺井洋平. 丸善出版、魚類学の百科事典「色彩と視覚」印刷中.
 5. 今井啓雄 (2016) 昼間視 (明所視). 光と生命の事典. (朝倉書店) pp238-239 (共著)
- 〔産業財産権〕
- 出願状況 (計 0 件)
 - 取得状況 (計 0 件)
- 〔その他〕
- アウトリーチ活動
1. 寺井洋平 第10回中高生のための科学セミナー 講師(2017)
 2. 寺井洋平 JSPS サマープログラム グループディスカッション (2016, 2017)
 3. 寺井洋平 横須賀高校 アカデミア 講義 (2015, 2016)
- ホームページ等
「適応と種分化の研究紹介」
<http://adaptive-speciation.com>
6. 研究組織
- (1) 研究代表者
寺井 洋平 (TERAI Yohey)
総合研究大学院大学・先導科学研究科・助教(特定有期雇用)
研究者番号: 30432016
 - (2) 研究分担者
今井 啓雄 (IMAI Hiroo)
京都大学・霊長類研究所・准教授
研究者番号: 60314176

松村 秀一 (MATSUMURA Shuich)
岐阜大学・応用生物科学部・教授
研究者番号: 30273535
 - (3) 研究協力者
Bambang Suryobroto
ボゴール農科大学・講師

Kanthi Arum Widayati
ボゴール農科大学・講師