

平成 29 年 5 月 29 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26660263

研究課題名(和文) *Drosophila prolongata*における求愛行動多様性の遺伝的基盤研究課題名(英文) Genetic basis of mating behavior in *Drosophila prolongata*

研究代表者

松尾 隆嗣 (Matsuo, Takashi)

東京大学・大学院農学生命科学研究科(農学部)・准教授

研究者番号：70301223

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：昆虫は自身の生理状態や周囲の状況に合わせて異なる行動戦略を使い分けることが知られているが、その分子メカニズムは不明である。テナガシヨウジョウバエ (*Drosophila prolongata*) の単一メス由来自殖系統群の解析から、その行動には大きな種内変異があることが明らかになっている。行動に多様性をもたらす責任遺伝子座を特定するために、オスの求愛行動とメスの交尾受容性について遺伝学的な解析を行った。その結果、交尾受容性を制御する遺伝子座の位置について染色体上の2.5Mbの領域にまで絞り込むことができた。

研究成果の概要(英文)：Insects are able to change their behavior in response to their own physiological state and surrounding environment. However, genetic basis that control this response is not known. Wide variation in behavior has been detected among isofemale strains of *Drosophila prolongata*. In this study, genetic analysis was conducted to identify the responsible loci for male courtship behavior and female mating receptivity. As a result, the position of a major locus contributing to female receptivity was narrowed down to the 2.5 Mb region on an autosome.

研究分野：昆虫行動生態学

キーワード：交尾行動 行動進化

1. 研究開始当初の背景

(1) 昆虫は自身の生理状態や周囲の状況に合わせて異なる行動戦略を使い分けることが知られている。たとえばダイコクコガネの一種では角の長いオスは巣穴入口でメスを防衛する戦略をとるのに対し、角の短いオスは自ら横穴を掘り闘争を回避してメスに到達する。このような柔軟な行動戦略の切り替えによる環境への高い適応力が昆虫の繁栄に寄与していると考えられるが、複雑な行動の切り替えがどのようなしくみで実現されているのかについては分かっていない。

動物の行動は複雑な制御を受けており、多数の遺伝的因子の関与により形作られていると考えられる。このような形質の進化には、複数の遺伝子の変化が必要である。一方で昆虫の行動戦略には種内で多様性が認められ、複雑な行動が個体間で切り替わる。複数の遺伝子により制御されているはずの行動がどのような機構により切り替わるのかは謎である。

ここでひとたび行動以外の形質、例えば形態に目を向けると、例えばチョウ目昆虫において、擬態に関する翅の色彩パターンの種内多型がスーパーゼンと呼ばれる染色体領域によって制御されている例が明らかになってきている (Joron et al. 2011, Nature など)。行動においてもスーパーゼンのように連鎖した複数の遺伝子が協調して進化する仕組みがあるのだろうか。行動の種内多様性の遺伝的基盤を明らかにすることは、行動進化のメカニズムの新しいモデルにつながる可能性を秘めている。

しかしながら形態にくらべて行動ははるかに遺伝学的解析の難しい形質である。形態的形質は個体ごとに評価できるため、例えば戻し交雑 1 代目の各個体ごとに表現型と遺伝子型を解析することで原因遺伝子座のマッピングが可能である。一方、ほとんどの場合において行動形質は 1 個体で評価することができず、同じ遺伝子型を持つ個体を多数解析して初めて定量できるものが多い。そのため、遺伝学的なマッピングには組換え近交系統を確立する必要があるが、その作成には数十世代を要する。したがって行動形質の遺伝学的マッピングは形態的形質に比べて非常にチャレンジングである。

(2) *Drosophila prolongata* は遺伝学のモデル生物であるキイロショウジョウバエの近縁種であるが、様々な興味深い形質を備えている。たとえば前脚の形態に著しい性的二型があり、オスではメスの二倍以上の大きさになる。我々はこの前脚が、交尾直前に観察される "leg vibration" と名付けた動作に用いられることを見出した。Leg vibration にはメスの交尾受容性を高める効果がある。近縁種との比較により、これらの形態や行動はすべて *D. prolongata* でのみ急速に進化したことが示唆されている。

一方 *D. prolongata* 種内にも行動に多様性があることが分かってきた。たとえばオスが leg vibration をほとんどしないにもかかわらず高い交尾成功率を示す系統が存在する。これは、本種においてオスの求愛行動の多様性が遺伝的に規定されていることを示している。また、メスの交尾受容性についても系統間に多様性が存在する。長い求愛の最後に leg vibration を受けて初めて交尾を受容する系統が多いのに対し、ある系統のメスはほとんど交尾を拒否せず leg vibration 無しでも容易に交尾を受容してしまう。このように、テナガショウジョウバエの配偶行動には系統間の違いがあり、その原因となる遺伝子をつきとめることで配偶行動を制御する分子メカニズムにせまれる稀有な材料である。

2. 研究の目的

(1) 本研究では、キイロショウジョウバエに近縁であり、しかもキイロショウジョウバエよりもはっきりとした行動を示す *D. prolongata* を対象とし、組換えによる古典的なマッピングと最新のゲノムシーケンス技術を併用することにより、*D. prolongata* の行動多様性をもたらす遺伝的基盤を明らかにする。

(2) 本研究により、昆虫の行動多様性がどのように進化するのかについての理解を格段に深める。

(3) *D. prolongata* の配偶行動における多様性の持つ生態学的な意義についても明らかにし、新規な適応行動がどのように進化するのかについて理解する。

(4) これまで作物育種などに用いられてきた遺伝学的解析手法を、可視マーカーやバランサー染色体などの無い非モデル昆虫に適用する方法を確立することで、産業的に重要な昆虫の有用・有害形質にかかわる遺伝子の同定に新たな道筋をつける。

3. 研究の方法

(1) 親系統の行動解析 オスの求愛方法とメスの交尾受容性について、15 の単一メス由来自殖系統のそれぞれについて定量的に評価し、その後の解析に用いる系統を決定する。また、leg vibration の生態学的なメリットとデメリットを評価し、行動の多様性が集団内で維持され続ける理由を明らかにする。

(2) 親系統のゲノム配列決定と一塩基多型 (SNPs) の探索 選定した行動の異なる親系統のゲノム配列をそれぞれ HiSeq の 1 レーン分を使用して解析する。今後の原因遺伝子座マッピングに用いるため、親系統間の SNP を同定する。リードをアセンブルして得られたコンティグはキイロショウジョウバエのゲノム配列と対応付けることにより大局的な位置関係を整理し、ゲノム全体の地図を得る。

(3) イントログレーション系統の作製 親系統間でかけあわせた F₁ 個体に、一方の系統を戻し交雑する。得られた BC₁ 系統の個体にさらに親系統をあてがい、その交尾行動をビデオ記録する。行動を解析して、戻し交雑したのと反対の系統の形質を維持している個体の子孫だけを残し、さらに戻し交雑 + 行動によるスクリーニングを行う。これを5回にわたり繰り返すことにより、一方の系統において行動の多様性に関与する染色体領域が別の系統のゲノムに導入された系統(イントログレーション系統)を得る。

(4) イントログレーション系統の SNP 解析による原因領域の推定 イントログレーション系統のゲノム配列解析を行い、さらに SNP 解析を行うことでゲノムの全体にわたってどちらの親系統由来であるかを明らかにする。これにより行動の多様性に関わる染色体領域を特定する。

4. 研究成果

(1) 全ての単一メス由来自殖系統について、オスの求愛方法とメスの交尾受容性、さらにオス間の闘争性について定量的な解析を行い、各系統の特性を明らかにした。その結果、オスの求愛方法については SaPa014 系統と BaVi043 系統が leg vibration の使用に関して最も異なっており、メスの交尾受容性については SaPa010 系統と SaPa042 系統が最も異なっていることが示された。オス間の闘争性については SaPa008 系統が他の系統と比べて際立って異なっていた。

(2) 行動生態学的な実験から、leg vibration にはメスの交尾受容性を高めるメリットがある一方、ライバルオスに感知されると干渉行動を引き起こし、メスを奪われるリスクが高まることが分かった。このようなデメリットが存在するために、*D. prolongata* は常に leg vibration を使用するようには進化せず、leg vibration を用いない求愛方法も維持していると考えられる。さらに、leg vibration のメリットとデメリットのバランスは社会条件(ライバルオスが周囲にいるかないか)によって変化することから、*D. prolongata* のオスがライバルオスの存在下で求愛行動を修正するかどうかを調べたところ、単独で求愛している場合に比べてオス2匹が同時にいる場合には leg vibration を用いなくなることが明らかになった。これは社会条件に応じて求愛行動を変化させる事例として大変珍しいものである。

(3) SaPa008(闘争性の高い系統)、SaPa010(交尾受容性の高い系統)、BaVi043(標準的な系統)の3つの親系統のゲノム配列を解析した。HiSeq 1 レーンずつを使ってゲノム配列解析を行った(100PE)。Velvet によるアセンブルで N50 が 40kb ~ 50kb となるコンティグ

を得た。これに対し各系統のリードを相互マッピングし、GATK を用いて SNP の探索を行ったところ、平均して 50 万カ所の多型サイトを同定できた。

(4) メスの交尾受容性について、イントログレーション系統の作製に成功した。親系統および F₁ と BC₁ 世代の交尾行動について詳細に解析した結果、スクリーニング時に総求愛時間1分以内かつ leg vibration 無しで交尾を受け入れたメスを選抜すると高い確率で原因遺伝子座を追跡できることが判明した。

(5) イントログレーション系統のゲノム配列を行い、SNP 解析によりメスの交尾受容性を制御する原因遺伝子座が含まれる染色体領域を特定した。これはキイロシヨウジョウバエのゲノム上で 2.5 Mb に相当するサイズであった。なお、イントログレーション系統のゲノム配列解析は東京農業大学生物資源ゲノム解析センターとの共同研究として行った。

<引用文献>

Joron et al. (2011) Chromosomal rearrangements maintain a polymorphic supergene controlling butterfly mimicry. *Nature* 477:203-206.

5. 主な発表論文等

[雑誌論文](計15件)

Ayumi Kudo, Shuji Shigenobu, Koji Kadota, Masafumi Nozawa, Tomoko F. Shibata, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2017) Comparative analysis of the brain transcriptome in a hyper-aggressive fruit fly, *Drosophila prolongata*. *Insect Biochemistry and Molecular Biology* 82:11-20. 査読有 DOI:10.1016/j.ibmb.2017.01.006

Yurika Hitoshi, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2016) Inheritance pattern of female receptivity in *Drosophila prolongata*. *Zoological Science* 33:455-460. 査読有 DOI:10.2108/zs160047

Yurika Hitoshi, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2016) Intraspecific variation in heat tolerance of *Drosophila prolongata* (Diptera: Drosophilidae). *Applied Entomology and Zoology* 51:515-520. 査読有 DOI:10.1007/s13355-016-0425-4

Bin Yang, Katsuhisa Ozaki, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2016) Sexually biased expression of odorant-binding proteins and chemosensory proteins in Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* (Lepidoptera: Crambidae).

Applied Entomology and Zoology
51:373–383. 査読有
DOI:10.1007/s13355-016-0409-4

Tran Thi Thu Phuong, Masanobu Yamamoto, Takeshi Fujii, Wataru Kojima, Takashi Matsuo, Yukio Ishikawa (2016) Comparison of the ability to catabolize DIMBOA, a maize antibiotic, between *Ostrinia furnacalis* and *Ostrinia scapularis* (Lepidoptera: Crambidae), with reference to their hybrids. Applied Entomology and Zoology 51:143–149. 査読有 DOI:10.1007/s13355-015-0383-2

Bin Yang, Takeshi Fujii, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2016) Targeted mutagenesis of an odorant receptor co-receptor using TALEN in *Ostrinia furnacalis*. Insect Biochemistry and Molecular Biology 70:53–59. 査読有
DOI:10.1016/j.ibmb.2015.12.003

Shiori Setoguchi, Ayumi Kudo, Takuma Takanashi, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2015) Social context-dependent modification of courtship behaviour in *Drosophila prolongata*. Proceedings of the Royal Society B 282:20151377. 査読有
DOI:10.1098/rspb.2015.1377

Ayumi Kudo, Hisaki Takamori, Hideaki Watabe, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2015) Variation in morphological and behavioral traits among isofemale strains of *Drosophila prolongata* (Diptera: Drosophilidae). Entomological Science 18:221–229. 査読有 DOI:10.1111/ens.12116

Bin Yang, Katsuhisa Ozaki, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2015) Identification of Candidate Odorant Receptors in Asian Corn Borer *Ostrinia furnacalis*. PLoS ONE 10:e0121261. 査読有
DOI:10.1371/journal.pone.0121261

Takeshi Fujii, Yuji Yasukochi, Yu Rong, Takashi Matsuo, Yukio Ishikawa (2015) Multiple Delta 11-desaturase genes selectively used for sex pheromone biosynthesis are conserved in *Ostrinia* moth genomes. Insect Biochemistry and Molecular Biology 61:62–68. 査読有
DOI:10.1016/j.ibmb.2015.04.007

Shinya Ohta, Yousuke Seto, Koichiro Tamura, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2015) Comprehensive identification of odorant-binding protein genes in the seed fly, *Delia platura* (Diptera: Anthomyiidae). Applied Entomology and Zoology

50:457–463. 査読有
DOI:10.1007/s13355-015-0353-8

Takafumi N. Sugimoto, Takumi Kayukawa, Takashi Matsuo, Tsutomu Tsuchida, Yukio Ishikawa (2015) A short, high-temperature treatment of host larvae to analyze Wolbachia-host interactions in the moth *Ostrinia scapularis*. Journal of Insect Physiology 81:48–51. 査読有
DOI:10.1016/j.jinsphys.2015.06.016

Shinya Ohta, Yousuke Seto, Koichiro Tamura, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2014) Identification of odorant-binding protein genes expressed in the antennae and the legs of the onion fly, *Delia antiqua* (Diptera: Anthomyiidae). Applied Entomology and Zoology 49:89–95. 査読有
DOI:10.1007/s13355-013-0226-y

Shiori Setoguchi, Hisaki Takamori, Tadashi Aotsuka, Jun Sese, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo (2014) Sexual dimorphism and courtship behavior in *Drosophila prolongata*. Journal of Ethology 32:91–102. 査読有
DOI:10.1007/s10164-014-0399-z

Nagamine Keisuke, Kayukawa Takumi, Hoshizaki Sugihiko, Matsuo Takashi, Shinoda Tetsuro, Ishikawa Yukio (2014) Cloning, phylogeny, and expression analysis of the Broad-Complex gene in the longicorn beetle *Psacotha hilaris*. SpringerPlus 3:539. 査読有 DOI:10.1186/2193-1801-3-539

〔学会発表〕(計16件)

嶺川一喜、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエにおける精子競争のジレンマと求愛行動 leg vibration の効果 第61回日本応用動物昆虫学会大会 東京農工大学(東京都小金井市) 2017年03月27日~2017年03月29日

等百合佳、内山博允、足達太郎、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエのメスにおける交尾受容性を制御する遺伝子座の研究 第61回日本応用動物昆虫学会大会 東京農工大学(東京都小金井市) 2017年03月27日~2017年03月29日

工藤愛弓、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエのオス脳特異的遺伝子の発現解析 -社会経験の与える影響- 第61回日本応用動物昆虫学会大会 東京農工大学(東京都小金井市) 2017年03月27日~2017年03月29日

Takashi Matsuo, Shiori Setoguchi, Ayumi Kudo, Takuma Takanashi, Yukio Ishikawa

Social context-dependent modification of courtship behavior in *Drosophila prolongata*. 12th Japanese Drosophila research conference 立教大学 (東京都豊島区) 2016年09月09日~2016年09月11日

Yurika Hitoshi, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo Inheritance pattern of female mating receptivity in *Drosophila prolongata*. 12th Japanese Drosophila research conference 立教大学 (東京都豊島区) 2016年09月09日~2016年09月11日

Ayumi Kudo, Takeshi Awasaki, Yukio Ishikawa Takashi Matsuo piggyBac and phiC31 mediated genetic transformation of *Drosophila prolongata*. 12th Japanese Drosophila research conference 立教大学 (東京都豊島区) 2016年09月09日~2016年09月11日

武藤麗子、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエの求愛行動の発達 日本昆虫学会第76回大会・第60回日本応用動物昆虫学会大会合同大会 大阪府立大学 (大阪府堺市) 2016年03月26日~2016年03月29日

等百合佳、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエにおけるメスの交尾受容性の遺伝学的解析 日本昆虫学会第76回大会・第60回日本応用動物昆虫学会大会合同大会 大阪府立大学 (大阪府堺市) 2016年03月26日~2016年03月29日

等百合佳、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエにおけるメスの交尾受容性の遺伝学的解析 日本動物行動学会 第34回大会 東京海洋大学 (東京都港区) 2015年11月20日~2015年11月22日

工藤愛弓、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエにおける piggyBac を用いた形質転換 第59回日本応用動物昆虫学会大会 山形県山形市 2015年03月26日~2015年03月28日

瀬戸口栞、工藤愛弓、石川幸男、松尾隆嗣 社会的条件に応じたテナガシヨウジョウバエ雄の代替配偶戦略 山形県山形市 2015年03月26日~2015年03月28日

瀬戸口栞、工藤愛弓、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエのオスは社会的条件によって求愛戦略を使い分ける 第62回日本生態学会大会 鹿児島県鹿児島市 2015年03月18日~2015年03月22日

瀬戸口栞、工藤愛弓、石川幸男、松尾隆

嗣 必殺技を封印するとき—テナガシヨウジョウバエの求愛における聴衆効果— 第33回動物行動学会大会 長崎県長崎市 2014年11月01日~2014年11月04日

松尾隆嗣 *Drosophila prolongata* における性的二型と闘争・求愛行動の進化 日本遺伝学会第86回大会 (招待講演) 滋賀県長浜市 2014年09月17日~2014年09月19日

工藤愛弓、石川幸男、松尾隆嗣 テナガシヨウジョウバエの闘争行動 第85回日本動物学会 (招待講演) 宮城県仙台市 2014年09月11日~2014年09月13日

Ayumi Kudo, Shiori Setoguchi, Yukio Ishikawa, Takashi Matsuo Variation in morphological and behavioral traits in *Drosophila prolongata*. The 11th Japanese Drosophila Research Conference 石川県金沢市 2014年06月04日~2014年06月06日

〔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

<http://webpark1078.sakura.ne.jp/JP/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松尾 隆嗣 (MATSUO, Takashi)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・准教授
研究者番号: 70301223

(2) 研究分担者 なし

(3) 連携研究者 なし

(4) 研究協力者

瀬戸口 栞 (SETOGUCHI, Shiori)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・大学院生

工藤 愛弓 (KUDO, Ayumi)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・大学院生

等 百合佳 (HITOSHI, Yurika)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・大学院生

楊 斌 (YANG, Bin)
東京大学・大学院農学生命科学研究科・大
学院生