

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 16 日現在

機関番号：63904

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2014～2015

課題番号：26891026

研究課題名(和文)環境応答性を獲得したアブラムシの染色体分配機構

研究課題名(英文)Environmentally induced chromosome elimination of aphids

研究代表者

小川 浩太(OGAWA, Kota)

基礎生物学研究所・生物機能解析センター・NIBBリサーチフェロー

研究者番号：40733960

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：アブラムシの母虫が仔虫のX染色体を半減させることで生じる特殊な雄産出機構とその進化プロセスを解明するために、エンドウヒゲナガアブラムシを用いて雄産出期・雌産出期それぞれで germarium の網羅的な遺伝子発現解析を行った。オス産出カテゴリで高発現していた遺伝子群をさらに解析したところ、複数あるヒストンのパラログやアブラムシ特異的な重複遺伝子の「使い分け」が見いだされた。アブラムシは祖先的なネアブラムシと比べると重複した遺伝子が多く、これらの遺伝子重複がアブラムシの複雑な生活史進化の原動力となった可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：Most aphids show reproductive polyphenism, that is, they alternate their reproductive modes from parthenogenesis to sexual reproduction. Parthenogenetic oocytes can develop into various morphs, including viviparous and oviparous females and males, depending on the maternal physiological states that are affected by surrounding environments. To reveal the regulatory mechanisms determining developmental fates of parthenogenetic oocytes depending on maternal conditions, transcriptomic analysis of the germaria was carried out. In germaria in which males are produced with X-chromosome reduction, many genes were highly expressed in comparison with the other categories producing females. Furthermore, histone genes and aphid-specific duplicated genes were identified as candidates for the fate determination based on the Gene-Ontology-based enrichment analysis and differential expression analysis. The gene duplication is suggested to enable aphids to acquire the drastic polyphenism.

研究分野：進化発生学

キーワード：染色体放出 環境応答 トランスクリプトーム エンドウヒゲナガアブラムシ ネアブラムシ

1. 研究開始当初の背景

生物の形質(表現型)は必ずしも遺伝情報だけ決定されるわけではなく、環境要因に応じて可塑的に変化する。これは表現型可塑性と呼ばれ、環境への迅速な適応を可能とし、さらには表現型の多様化にも貢献すると考えられている(West-Eberhard 2003)。表現型可塑性の発生制御機構は、表現型や適応戦略が多様化した進化的背景を理解する上で重要である(Nijhout 1999, 2003)。半翅目昆虫アブラムシは家庭菜園や観葉植物上でもよく見られる非常に身近な生物でありながらさまざまな表現型多型を示すため、表現系多型を研究する上で好適な材料である。研究代表者は特にアブラムシの繁殖多型の制御機構に着目し、その分子基盤を解明し、可塑性の進化について議論することを目的に研究を展開している。

アブラムシは複雑な生活史を持つが、その中でも性決定機構は特徴的である。春から夏にかけてアブラムシは胎生単為生殖によって爆発的に増殖するが、秋になると日長の短日化に応答し、有性世代(オスと卵生メス)が出現し交尾・産卵する。そして、翌春には越冬卵から幹母が孵化し、単為生殖で繁殖する(Fig. 1)。

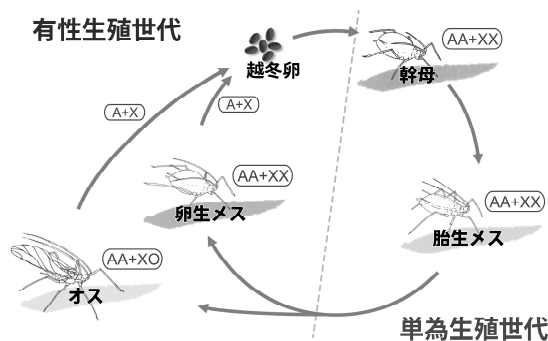


Fig.1 アブラムシの生活環と核型。アブラムシは環境(日長条件)によって核型を変化させることができる。

アブラムシは環境条件に応じて染色体の挙動を変化させオスとメスを産み分ける。アブラムシの性決定様式はXO型であり、雌雄で核型が異なる。メス親(XX)が単為生殖でオス(XO)を産出する場合、発生過程でX染色体が半減する。このユニークなオス産出は環境刺激(短日)によって誘導され、X染色体は成熟分裂時に極体と一緒に放出される(Stevens 1910, Morgan 1912, Ogawa et al. unpublished)。成熟分裂時のX染色体と常染色体の挙動は異なっており、独立に分配様式が改変されるためX染色体のみが半減する。通常、染色体の挙動は高度で複雑な機構により正確に制御されているが、アブラムシでは例外的に環境応答性を獲得している。

本研究は研究対象種のエンドウヒゲナガ

アブラムシの全表現型の飼育誘導系を立ち上げ、オス産出時およびメス産出時のトランスクリプトームデータが揃った状態で開始した。

2. 研究の目的

本研究では、アブラムシが環境依存的に染色体分配機構を変化させ、表現型の異なる仔虫を産み分ける至近機構の解明を目指した。アブラムシは季節によって単為生殖と有性生殖を切り替える周期性単為生殖を示すが、有性生殖時には“典型的な”減数分裂を、単為生殖でメスを産出する際には「成熟分裂」とよばれる染色体減数が生じない特殊な減数分裂を行う。さらに、XO型のオスを産出する場合は、成熟分裂時にX染色体が1本捨てられ性染色体のみが半減する。どの様式の“減数分裂”を行うかは、環境要因によって切り替わる。環境依存的に染色体分配様式を改変し異なる表現型の個体を産出する機構の獲得は、アブラムシの生活史進化における最大のイノベーションである。「染色体分配が環境応答を示す」という非常にユニークな現象の至近メカニズムと進化的背景の解明を目標に研究を展開した。

3. 研究の方法

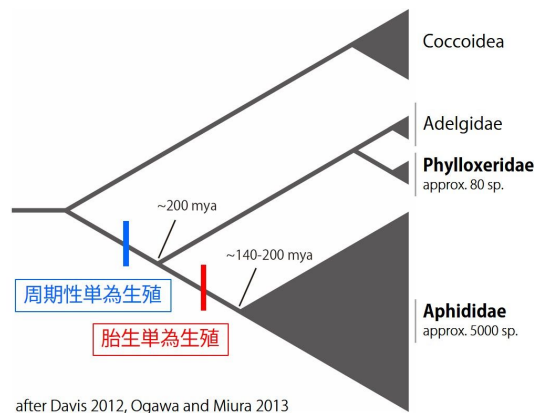
(1) アブラムシの新規獲得遺伝子・系統特異的重複遺伝子の解析

オス産出時(染色体放出時)とメス産出時の胚腺(germarium: 卵巣の一部で単為発生する卵細胞が形成される部位)のトランスクリプトームデータを比較し、オス産出時の染色体放出に関与しそうな遺伝子を絞り込む。それらの候補遺伝子を、情報科学的・組織形態学的・分子生物学的に解析する。具体的には配列情報より遺伝子の機能や起源を解析し、さらに遺伝子のノックダウン・ノックアウトを行いその機能解析を試みる。

(2) 近縁種ネアブラムシとのゲノム比較

アブラムシの生活史の進化プロセスを比較ゲノム学的に明らかにするために、アブラムシの姉妹群でより多くの祖先的形質を残すハルニレフィロキセラ *Olegia ulmifolia* のゲノム解析を行った(Fig. 2)。 *O. ulmifolia* は周期性単為生殖を示すが、その単為生殖様式は卵生である。そのため、アブラムシの生活史の進化を議論する上で重要となる。

なお、研究開始当初はエンドウヒゲナガアブラムシのX染色体の配列を決定することを計画していたが、フランスの研究チームによりほぼ同じ内容の研究結果が発表されたため、計画を変更しネアブラムシのゲノム解析を行った。



after Davis 2012, Ogawa and Miura 2013

Fig.2 アブラムシ上科の系統関係. ネアブラムシ Phylloxeridae とアブラムシ Aphididae のゲノムを比較した。

4. 研究成果

(1) アブラムシの新規獲得遺伝子・系統特異的重複遺伝子の解析

過去の染色体放出の観察結果より卵巣端部の germarium (胚腺) 内で雌雄が決定されると予見できたので、germarium のトランスクリプトームデータの解析を行った。その結果、染色体放出が生じるオス産出カテゴリでは他のカテゴリに比べ、約 750 ~ 1650 個の遺伝子が有意に発現変動していた。オス産出カテゴリで高発現していた遺伝子群をさらに解析したところ、複数あるヒストンのパラログやアブラムシ特異的な重複遺伝子の「使い分け」が見いだされた。以上の結果から重複したヒストン遺伝子の使い分けと、系統特異的に獲得・重複した新規遺伝子が環境依存的な染色体放出に寄与していることが示唆された。ヒストンやこの新規遺伝子はエピジェネティックな発生制御に深く関わっている可能性が高く、不等分配による X 染色体放出もエピジェネティックな機構によって制御されていると考察された。

続いて RNA 干渉法および CRISPR/Cas9 法を用いてこれらの遺伝子のノックダウン・ノックアウトを試みた。アブラムシにおいては遺伝子のノックダウン・ノックアウトはごく少数の特殊なケースでの成功報告があるのみで、あらゆる遺伝子の機能を解析するには技術的に不十分である。そのため、まずは実験の条件の見直しから行った。アブラムシで遺伝子のノックダウン・ノックアウトが難しい理由の 1 つとして昆虫類では例外的に胎生で繁殖するということが挙げられる。母虫体内の胚にコンストラクトを注入し正常に発生させることはほぼ不可能である。そのため、人工的に越冬卵産卵を誘導し、その卵にマイクロインジェクションを行うことにした。越冬卵の誘導には時間がかかるため、未だにノックダウン・ノックアウトの結果を評価するまでには至っていないが、他の昆虫での研究例を参考にインジェクション条件等

の絞込みはほぼ終わっており、近日中には結果が得られるものと思われる。

(2) 近縁種ネアブラムシとのゲノム比較

アブラムシの生活史の進化プロセスを比較ゲノム学的に明らかにするために、アブラムシの姉妹群でより多くの祖先的形質を残すネアブラムシのゲノム解析を行った。解析には北海道大学キャンパス内で容易に採集できるハルニレフィロキセラ *Olegia ulmifolia* を使用した。ゲノムシーケンスに加え、幹母・幼虫・単為発生卵それぞれのステージにおけるトランスクリプトーム解析も行いより正確な遺伝子モデルを構築した。そしてアブラムシと比較しオーソログ解析を行った。その結果、アブラムシはネアブラムシに比べゲノムサイズが大きく、遺伝子数も多いことが分かった。両者の遺伝子数の違いは、アブラムシのほうが重複している遺伝子が多いことに起因していた。さらにアブラムシで特異的に重複している遺伝子と雌雄の産み分け時に発現が変動する遺伝子には共通するものが多く、遺伝子重複による遺伝子数の増加がアブラムシの染色体放出機構獲得において重要だった可能性が示唆された。アブラムシは他の生物に比べ遺伝子数や重複遺伝子が多いことが以前から指摘されていたが、本研究によって重複遺伝子や新規遺伝子の獲得がアブラムシの複雑な生活史を支える基盤となっていることが強く示唆された。

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 1 件)

小川浩太、三浦徹. アブラムシの表現型多型: 世代を超えた発生制御. **比較内分泌学**

日本比較内分泌学会、査読有、154 (2015), 34-37

DOI:

<http://doi.org/10.5983/nl2008jsce.41.34>

[学会発表](計 4 件)

小川浩太・重信秀治 「アブラムシ学と生物学: アブラムシ研究の意義とこれから」ユニークな少数派実験動物を扱う若手が最先端アプローチを勉強する会、岡崎コンファレンスセンター(愛知県岡崎市), 2015年8月19日 招待講演

小川浩太・尾納隆大・山口勝司・重信秀治 「ハルニレフィロキセラ *Olegia ulmifolia* のゲノム解析から紐解くアブラムシの進化」日本アブラムシ研究会

第5回研究集会，岡崎コンファレンスセンター（愛知県岡崎市），2015年8月8日

重信秀治・鈴木みゆず・小川浩太・橋山友美・柴田朋子・土田努・三浦徹「モデル生物としてのアブラムシ：5年間の研究リソース開発と今後の課題」日本アブラムシ研究会 第5回研究集会，岡崎コンファレンスセンター（愛知県岡崎市），2015年8月8日

小川浩太・重信秀治・三浦徹「エンドウヒゲナガアブラムシのオス産出の分子機構」日本アブラムシ研究会 第4回研究集会，岡崎コンファレンスセンター（愛知県岡崎市），2014年8月8日

6．研究組織

(1)研究代表者

小川 浩太 (OGAWA, Kota)
基礎生物学研究所・生物機能解析センター・
NIBB リサーチフェロー
研究者番号：40733960