

令和 5 年 6 月 10 日現在

機関番号：14101

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2020～2022

課題番号：20K06784

研究課題名（和文）タナゴ亜科魚類の種多様化を駆動する繁殖ニッチ分化の進化遺伝機構

研究課題名（英文）Evolutionary genetic mechanisms underlying reproductive niche divergence in bitterling fishes

研究代表者

北村 淳一（Kitamura, Jyun-ichi）

三重大学・生物資源学研究科・リサーチフェロー

研究者番号：00432360

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,300,000 円

研究成果の概要（和文）：本研究では、淡水二枚貝類への繁殖寄生のため産卵管という新奇形質を獲得したタナゴ亜科魚類を対象として、繁殖ニッチ分化を駆動する雌繁殖形質に焦点を当て、この形質の多様化を引き起こす分子遺伝機構の一旦を描き出すことを目的とした。特に、産卵母貝分化と関連したタビラ種内変異をモデル系とした詳細な解析から、2つの繁殖形質において重要かつ新規的な成果を得た：（1）産卵管の伸長機構や産卵管長の適応的分化のトランスクリプトーム基盤、（2）最終成熟に伴いアクチン依存的に伸長した卵細胞の核膜崩壊後の縮幅の差異が卵形変異に関与している可能性がある。

研究成果の学術的意義や社会的意義

動物の繁殖寄生は巧妙な繁殖戦略の例として古くから自然史学的・生態学的関心を向けられてきた。宿主利用と関連して、祖先・近縁系統には認められない新奇な形質獲得した系統は、このような鍵革新の後、新奇形質自体や様々な繁殖形質を適応進化させることにより繁殖ニッチを分化させ、種多様化してきたと想定される。それでは、このような繁殖ニッチ分化の背後にある形質群の適応的多様化はいったいどのような至近メカニズムによって達成されたのだろうか？本研究はこのような問いに関して、新たな知見を提供することに成功した。

研究成果の概要（英文）：In this study, we explored molecular genetic mechanisms underlying diversification in female reproductive traits that drive reproductive niche differentiation in bitterling fishes. Detailed analysis of intraspecific variation in *Tabira* bitterling as a model system revealed important and novel results for two reproductive traits (ovipositor and egg shape): (1) transcriptomic basis underlying ovipositor elongation mechanisms and adaptive differentiation of ovipositor length, and (2) the possibility that differences in contraction width after nuclear membrane collapse of actin-dependently elongated egg cells upon final maturation may be involved in egg shape variation.

研究分野：進化生態学

キーワード：繁殖戦略 適応進化 ニッチ分割 遺伝基盤 タナゴ亜科魚類 淡水魚類

1. 研究開始当初の背景

動物の繁殖寄生は幅広い分類群に認められ、巧妙な繁殖戦略の例として多くの生態学的研究が行われてきた。一般に、繁殖寄生を行う動物では宿主利用に関する形質に興味深い形質進化が認められる場合が多く、祖先・近縁系統には認められない新奇的な形質を進化させた分類群も存在する。宿主利用のため新奇形質を獲得した系統は、このような鍵革新の後、新奇形質自体や様々な繁殖関連形質を適応進化させることにより繁殖ニッチを分化させ、種多様化してきたと想定される。それでは、このような繁殖ニッチ分化の鍵となる表現型多様化はいったいどのような進化機構によって達成されたのだろうか？このような問いにアプローチする上で、表現型多様化の背後にある生理・発生基盤、ひいてはその進化遺伝基盤の理解はきわめて重要である。

モデル系としてのタナゴ亜科魚類:コイ科魚類の一系統であるタナゴ亜科(Acheilognathinae)魚類は、生きた淡水性二枚貝類(イシガイ類、ドブガイ類)の鰓内に産卵するという繁殖生態(托卵の一形態)を示し、このような繁殖寄生と関連して、雌は産卵管と呼ばれる特異な形質を繁殖期に泌尿生殖突起から伸長させる(図1)。産卵管は祖先・近縁系統を含む他のコイ科魚類には認められない新奇的な形質であり、新規繁殖ニッチの獲得のための鍵革新と見なすことができる。さらに本亜科には、日本列島を含む東アジア地域において顕著な種多様性が存在しており、この地域には宿主となる二枚貝類も数十種類存在する。このような種多様化には、鍵革新後の繁殖ニッチ分化が大きな役割を果たしたことが強く示唆される。我々の多角的なアプローチからなる先行研究によって、繁殖ニッチ分化の達成には、3種類の雌繁殖形質セットの適応的分化が主に関係していることが強く示唆された(図1):(1)産卵管長分化(利用母貝種・サイズと関連した鰓への到達可能性を決定)、(2)卵形分化(利用母貝種の鰓腔へのフィット性を決定:貝類の卵吐出行動への対抗戦略)、(3)繁殖季節分化(共存するタナゴ類間での母貝利用の時間的隔離)。

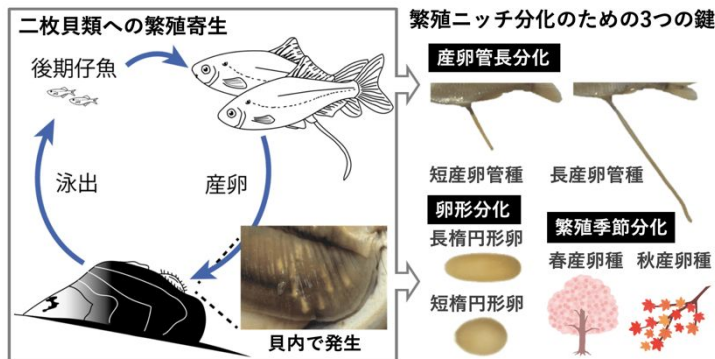


図1. タナゴ亜科魚類の生活史と繁殖ニッチ分化の鍵となる形質進化

2. 研究の目的

本研究の目的は、先行研究の成果を発展的に継続、すなわち(1)産卵管長の適応的分化を引き起こす生理・生化学的基盤の探索、(2)卵形の適応的分化を引き起こす発生基盤の探索、および(3)繁殖季節分化の生理基盤の探索によって、繁殖ニッチ分化の背後にある繁殖形質セット分化の分子生態機構の詳細をさらに追究することである。

3. 研究の方法

産卵管長分化研究のモデル系:タビラ(*Acheilognathus tabira*)5亜種の中で、排卵時の産卵管長の明瞭な変異が認められるアカヒレタビラ(短産卵管亜種:*A. t. erythropterus*)とキタノアカヒレタビラ(長産卵管亜種:*A. t. tohokuensis*)の姉妹亜種を研究対象とした(図2)。東北地方において、両種の繁殖期に最伸長時(排卵時)を含む様々な産卵管伸長レベルを有する雌個体を採集し、産卵管のサンプリングを実施した。なお、我々の先行研究によって、アカヒレタビラの全ゲノム情報の解読が実施されており、BUSCOが90%の質のゲノム情報が利用可能な状況にある。このゲノム情報を各種の分子遺伝学的解析の参照配列として用いた。

卵形分化研究のモデル系:タビラ5亜種の中で、卵形の差異が最も顕著であるシロヒレタビラ(短楕円型亜種:*A. t. tabira*)とキタノアカヒレタビラ(長楕円型亜種)を研究対象とした(図3)。山陽地方(シロヒレタビラ)と東北地方(キ

短産卵管亜種 長産卵管亜種



アカヒレタビラ キタノアカヒレタビラ

図2. 産卵管研究のモデル系

タノアカヒレタビラ)において、両種の繁殖期に排卵前の雌個体を採集し、卵巣卵のサンプリングを実施した。

繁殖季節分化研究のモデル系：タナゴ亜科魚類の中で最も種多様性が高い分類群であるタナゴ属魚類の中で、産卵時期が異なるイチモンジタナゴ（春産卵種：*Acheilognathus cyanostigma*）とゼニタナゴ（秋産卵種：*Acheilognathus typus*）を研究対象とした。前者は中部地方の保全池、後者は東北地方の保全池の集団を対象とし、1年間毎月1回雌雄の採集を行い、両種の繁殖と関連した生理的变化（性ホルモンや各種の遺伝子発現など）を追跡するためのサンプルセットを収集した。

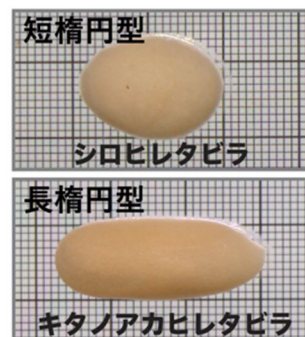


図3. 卵形変異研究のモデル系

4. 研究成果

産卵管長分化の生理・生化学的基盤：まず、伸長に伴う産卵管構造の変化を組織学的に精査するために、DAPI(細胞数)、ピクロシリウスレッド(コラーゲン繊維)、Collagen Hybridizing Peptide(変性コラーゲン繊維)による産卵管の3重染色を実施した。その結果、産卵管伸長は、細胞数の増加によって達成されている訳ではなく、むしろ細胞外基質の変性によって達成されている可能性が強く示唆された。これは、先行研究で実施したRNA-seq解析から得られていた仮説を支持するものである。さらに、アカヒレタビラ(短産卵管亜種)とキタノアカヒレタビラ(長産卵管亜種)の両亜種で、様々な産卵管伸長レベルを網羅した産卵サンプルから抽出したRNAを用いて、先行研究よりもはるかに大規模な比較RNA-seqを実施したところ、長産卵管亜種は短産卵管亜種に比べて、産卵管伸長に伴う1)発現変動遺伝子の絶対数が多いこと、2)コラーゲン遺伝子ファミリーや細胞外基質分解酵素遺伝子ファミリー[マトリクスメタロプロテアーゼ(MMP)ファミリーやADAM/ADAMTSファミリー]の大規模かつ強い発現変動が生じていること、3)いくつかのMMP誘導因子の遺伝子発現が高いことが見出された。以上のように、長産卵管亜種は、産卵管伸長に関連して細胞外基質(特にコラーゲン)の分解・変性の強度が高いことが判明し、この現象が産卵管長の種間変異の背後にある重要なトランスクリプトーム基盤の一つであると結論した。

卵形分化の発生基盤：シロヒレタビラ(短楕円形亜種)とキタノアカヒレタビラ(長楕円形亜種)両亜種の卵巣卵を用いて、性ホルモン(DHP)添加による卵の最終成熟と関連した卵形変化パターンを*in vitro*で精査したところ、卵形変異は主に最終成熟に伴いアクチン依存的に伸長した卵細胞の「核膜崩壊後の縮幅」の亜種間差異が反映していることが判明した(図4)。つまり、短楕円形の卵を産むシロヒレタビラではこの縮幅が大きく、長楕円形卵のキタノアカヒレタビラでは縮幅が極めて小さいと言える。このように、核膜崩壊後の卵縮幅における亜種間差異の原因遺伝子を探索するという今後の研究デザインを構築することができた。さらにいくつかの*in vitro*実験からこの卵形変異には比較的シンプルな遺伝基盤が関与している可能性も想定することができた。これらの結果は、今後卵形分化の遺伝基盤を追究する上で極めて重要な情報となると考えられた。

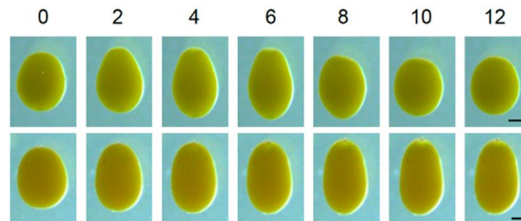


図4. 性ホルモン添加による卵の*in vitro*での最終成熟の間の卵形変化パターン
シロヒレタビラ(上)とキタノアカヒレタビラ(下)

繁殖季節分化の生理基盤：イチモンジタナゴ(春産卵種)とゼニタナゴ(秋産卵種)において、各生息地の環境要因のデータセット、各種ホルモン計測のための血液サンプル、各種遺伝子発現解析のための、脳、下垂体、生殖腺のRNAサンプルを1年間分収集した。本研究期間内にこれらのサンプルの解析をすることはできなかったが、これは今後の研究で解析していく予定である。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 北村 淳一	4. 巻 67
2. 論文標題 岩手県の北上川水系の水路におけるアカヒレタビラ <i>Acheilognathus tabira erythropterus</i> の産卵母貝利用	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 魚類学雑誌	6. 最初と最後の頁 293 ~ 296
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.11369/jji.20-017	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計3件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 小北智之
2. 発表標題 タナゴ亜科魚類をモデル系とした繁殖ニッチ分化の生態ゲノミクス
3. 学会等名 第32回魚類生態研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 小北智之
2. 発表標題 タナゴ類の繁殖戦略研究の新展開
3. 学会等名 第74回魚類自然史研究会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 児玉那奈美・三品達平・北村淳一・藤本泰文・小北智之
2. 発表標題 トランスクリプトーム特性から見るタナゴ種間における産卵管長の進化的多様化
3. 学会等名 2022年度日本魚類学会年会
4. 発表年 2022年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	小北 智之 (Kokita Tomoyuki) (60372835)	九州大学・農学研究院・教授 (17102)	
研究 分担者	三品 達平 (Mishina Tappei) (40830162)	国立研究開発法人理化学研究所・生命機能科学研究センター・基礎科学特別研究員 (82401)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------