



Evolutionary Theory for

CONSTRAINED & DIRECTIONAL DIVERSITIES

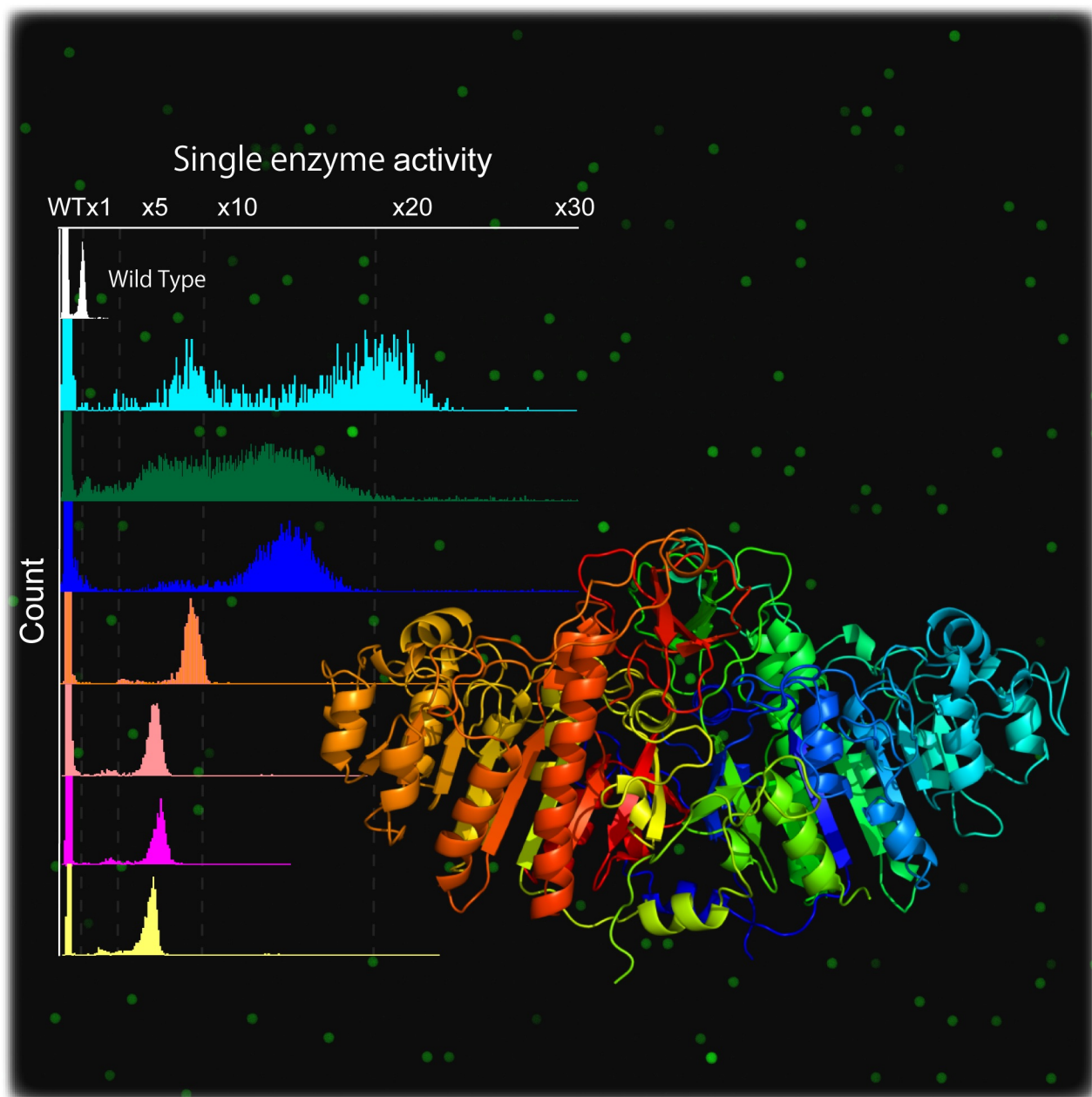
Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 3 No. 1 (2019)

新学術領域研究

進化の制約と方向性

～微生物から多細胞生物までを貫く表現型進化原理の解明～



平成31年度 研究組織 研究計画

表紙 Alkaline phosphataseの1分子酵素活性測定。最上段のグラフ(白)は野生型酵素の1分子活性分布。その下のグラフ(色付き)は高活性選択の進化実験で取得した1アミノ酸変異を有する7種の変異体の1分子活性分布。各変異体に特有の活性揺らぎが観察される。右下はAlkaline phosphataseの分子モデル。背景は酵素1分子の活性を蛍光強度として検出するマイクロチャンバーの画像で、各輝点がそれぞれ酵素1分子の入ったウェルを示す。
(提供:東京大学 上野博史)

目次

領域代表挨拶	倉谷 滋	1
平成 31 年度 研究組織		
総括班		3
計画研究班		4
公募研究班		6
平成 31 年度 研究計画		
計画研究班		
脊椎動物の筋骨格系の形態進化に見る制約と方向性	倉谷 滋	8
進化の揺らぎ応答理論の確立と多階層・発生過程への展開	金子 邦彦	9
脊索動物胚発生の分子発生システム揺らぎ測定と進化的保存性	入江 直樹	10
昆虫－微生物共生可能性の探索と分子基盤の解明	深津 武馬	11
多様な選択圧下での大腸菌進化実験による揺らぎ－応答関係の定量解析	古澤 力	12
摂動実験を用いた食虫植物の捕虫葉進化機構の解明	長谷部 光泰	13
公募研究班		
胸鰭の鰭条本数の個体間ゆらぎ要因と種間形態多様性	田村 宏治	14
軟体動物割球特異化機構を題材にした発生システム浮動の方向性と制約の解明	守野 孔明	15
「鍵と鍵穴」の進化を解く:植物自家不和合性を用いた理論と再現実験によるアプローチ	土松 隆志	16
深層ネットワークを援用した表現型制約と表現型進化原理の探索と普遍構造の探求	小林 徹也	17
武器と性形質進化における発生の拘束と可塑性	岡田 泰和	18
骨化順序ヘテロクロニーの揺らぎと制約	小薮 大輔	19
酵素1分子の活性揺らぎと進化能の関係	上野 博史	20
脊椎動物の陸上進出による新奇形質の誕生－環境変化により揺らぐ形態形成経路に迫る－	田中 幹子	21
神経ネットワークの揺らぎは配偶者選好性の進化を規定しうるか	石川 由希	22
人工 RNA 進化システムを用いた RNA の構造揺らぎと進化の関係の解析	市橋 伯一	23
生態系の揺らぎ応答関係と内部進化の実験的解明	細田 一史	24
植物感染糸状菌の共生性と病原性を規定する分子の進化論的考察	晝間 敬	25

発現量揺らぎー適応系により探るプロテオームの制約条件とその適応ー進化への影響	守屋 央朗	26
ネッタイツメガエル胚発生における転写因子ー標的遺伝子関係の揺らぎ測定	安岡 有理	27
ゲノム倍数性がもたらす進化可能性ー揺らぎと安定性の両立ー	大林 龍胆	28
テントウムシ斑紋の揺らぎから探る表現型進化の制約と方向性	新美 輝幸	29
連載エッセイ(11) 『桑港(1936)』に始まる「カタストロフ映画」の系譜	倉谷 滋	30

領域代表挨拶

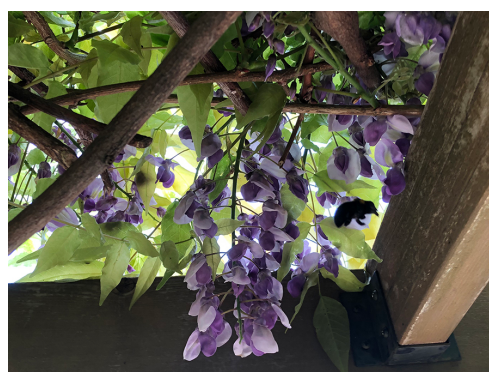
私は「生命の進化における＜情報＞とは何ぞや」などということを最近よく考えます。かつて、進化発生学（エヴォデヴォ）においては「進化とは、発生プログラムの変更の歴史である」という標語があり、それは究極的にゲノム学の発展を促しましたが、どうやらそれだけでは進化の本質は掴めそうもないと、ようやく研究者は気がつき始めた。しかも、研究者は得てしてデータそのものを情報と見なしてしまいますが、それは「研究に役立つ」という、本来的に局所的な意味での情報であり、進化を含めた生命現象の本質においては、必ずしも情報といえるようなものではないのかも知れません。さもないと、世の中のすべてを情報の集積と見なし、個々の分子の運動を（それこそ、ブラウン運動まで含めて）細大漏らさず記述し、再構成しなければすべてが理解できないということにもなりかねない。私たちが目指しているのはもちろん、そういった七面倒くさいことではありません。むしろ、何が生物の秩序ある機能や姿、そしてその進化的変化を媒介し、それがいかにして可能となっているかを理解することが重要です。デカルトやラ・メトリ以来、生物は精巧な機械に喩えられてきましたが、決定論的立場や、要素還元主義で攻めていける限界が本格的に近づいてきたようです。ならば、進化のダイナミズムもまた、単に「時計職人」とは見なせないということになる。

以前私は、「DNA だけが情報だ」という意味のことを書いたことがあります（拙著、『分節幻想 – 動物のボディプランの起源をめぐる科学思想史』2017 年、工作舎）。そこには幾分誇張も混ざっていますが、その言明の背景には、「世代から世代へと受け継がれていくこと」、つまり「伝えられること」という現象、立ち振る舞いが情報の本質だという含みがあります。言うなれば、遺伝情報が読み解かれた結果として立ち現れる表現型は、環境と相互作用すべく変容してきたその時その時の帰結に過ぎず、そこには本来的に「伝達可能で計測可能なコードされた情報」と呼ぶべきものはない（だから、表現型は本来的に測れない）という考え方でもあります。それは、ある子供の数学的才能と、その子が持って帰ってきた昨日の算数のテストの成績が同じものではない、ということと同じです。ここでいう「情報」は従って、「コーディング」とか、「生命現象において、個を超えて伝達されうるもの」とか、さらには「潜在的可能性」と言い換えることもできる。表現型はすでにできてしまったものだから、その限りにおいてすでに可能性は持たない。テストのやり直しがきかないのと同じです。むしろ、ここにはウォディントンが（「できてしまった発生経路」からなる）「エピジェネティック・ランドスケープ」を案出せねばならなかったように、「表現型そのもの」をコーディングしている情報の部分などは「ない」という含みもある。つまり、我々の指とかそれぞれの歯とかのような、表現型を示す記号論的体系に対応したゲノム構造はないということにもなる。

一方で、中公新書の『生命を捉えなおす』や『生命知としての場の論理—柳生新陰流に見る共創の理』を書かれた清水博氏によれば、情報とは「無限定性」を消してしまうもののことだそうです。つまり、生命を構成する複雑な分子系は、そのままでは乱雑さ（エントロピー）が増大して、果てしなく無秩序になっていきかねない。そしてそれは、ひとつの分子がとりうる状態や場所の無限の可能性に起因している。したがって、特定の分子の結合や酵素反応、代謝経路、遺伝子ネットワークなどが滞りなく起こるためには、それ以外の結合や出会いを阻止するような「道標」がなければならない。そのような（可能性を減少させる）作用を持つものすべてが「情報」だというわけです。言い方を変えれば、「無限定性」あるいは馬鹿でかい一種の「自由度」を極限まで減少させるものがすなわち情報であり、それがあからこそ生命には（自己）組織化や発生経路の予想可能性が獲得できていると、そういうことになる。ならば、エピジェネティック・ランドスケープにおける明瞭な「クレオド」を作り出しているのもまた、その情報だということになります（ここに私は自説との接

点を見ます)。こういった定義、あるいは表現は、「情報の立ち振る舞い」ではなく、むしろ「情報が行うことの本質」という実質的機能面を重視したものの見方だと言えましょう。ここにはおそらくDNAにコードされたものも含まれるのですが、どうやらそれだけではなさそうです。清水博士によれば、「過去の状態に依存して現在を決める歴史的存在」こそが生命の本質であり、そのなかには非平衡開放系としての細胞の物理的構造や、我々のまだ知らないさまざまな物理現象も含まれるのかも知れません。「歴史的存在」であるからこそ保存されるアイデンティティーがあり、そこに相同性や発生拘束が立ち現れることになる。カウフマンのいう自己組織化において説明されていなかった「歴史性」が、まさにここでは問われています。

では、我々の扱うべき「情報」の本体とは何でしょうか。あるいは、その本質は我々のすでに知っている生物学や物理学の中にすでにあるのでしょうか。言葉や概念は、科学にとって本質です。そして、新しい概念を創出することはしばしば理解を導くこともあれば、それ以上にしばしば科学研究を無効化してしまうこともある。昔の「生氣論」はかなり危ういところに位置していたのかも知れませんが、「エビジェネティックス」もまた、科学概念の定立の困難さをイヤと言うほど我々に見せつけました。大袈裟なようですが、この新学術が直面しているのも同じ問題です。それではみなさん、今年も大いに頑張ってください。



写真は、筆者の下顎歯列の型取り、ならびに研究所の藤棚とクマバチ

虫歯治療完了の翌日、薄曇りの神戸港島にて書く

領域代表 倉谷 滋

平成 31 年度 研究組織

総括班：進化の制約と方向性～微生物から多細胞生物までを貫く表現型進化原理の解明～

氏名	所属	職	役割分担
倉谷 滋	国立研究開発法人 理化学研究所 開拓研究本部(CPR) 倉谷形態進化研究室	主任研究員	領域の総括 国際活動支援班代表
金子 邦彦	東京大学 大学院総合文化研究科	教授	国際シンポジウム担当
入江 直樹	東京大学 大学院理学系研究科	准教授	国際連携・関連集会担当
深津 武馬	国立研究開発法人産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	首席研究員	ウェブサイト・ニュースレター担当
古澤 力	国立研究開発法人理化学研究所 生命システム研究センター	チームリーダー	情報交換会担当 大規模解析支援担当
長谷部 光泰	基礎生物学研究所 生物進化研究部門	教授	領域事務担当
重信 秀治	基礎生物学研究所 生物機能解析センター	特任准教授	大規模解析支援担当
郷 通子	名古屋大学	理事(非常勤)	領域運営への助言と評価
佐藤 矩行	沖縄科学技術大学院大学 マリンゲノミクスユニット	教授	領域運営への助言と評価
津田一郎	中部大学 創発学術院	教授	領域運営への助言と評価
伏見 譲	科学技術振興機構 先端計測分析技術・機器開発プログラム	開発総括	領域運営への助言と評価
藤山秋佐夫	情報・システム研究機構	データサイエンス共同利用 基盤施設長	領域運営への助言と評価

(太字は研究代表者、他は研究分担者、研究協力者)

計画研究(6課題)

氏名	所属	職	研究課題
倉谷 滋	国立研究開発法人 理化学研究所 開拓研究本部(CPR) 倉谷形態進化研究室	主任研究員	脊椎動物の筋骨格系の 形態進化に見る制約と 方向性
平沢 達矢	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(BDR) 形態進化研究室チーム	研究員	
Juan Pascual Anaya	国立研究開発法人理化学研究所 開拓研究本部(CPR) 倉谷形態進化研究室	研究員	
金子 邦彦	東京大学 大学院総合文化研究科	教授	進化の揺らぎ応答理論 の確立と多階層・発生 過程への展開
藤本 仰一	大阪大学 理学系研究科	准教授	
竹内 信人	東京大学 大学院総合文化研究科	特任助教	
入江 直樹	東京大学 大学院理学系研究科	准教授	脊索動物胚発生の分子 発生システム揺らぎ測 定と進化的保存性
上坂 将弘	理化学研究所	研究員	
内田 唯	東京大学 大学院理学系研究科	博士課程生	
深津 武馬	国立研究開発法人産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	首席研究員	昆虫—微生物共生可 能性の探索と分子基盤 の解明
重信 秀治	基礎生物学研究所 生物機能解析センター	特任准教授	
古賀 隆一	国立研究開発法人産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	研究グループ 長	
二河 成男	放送大学 教養学部	教授	
細川 貴弘	九州大学 理学院生物科学部門	助教	
西出 雄大	国立研究開発法人農業・食品産業技術 総合研究機構 生物機能利用研究部門	研究員	
松浦 優	琉球大学 熱帯生物圏研究センター	助教	

森山 実	国立研究開発法人産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門	主任研究員	
古澤 カ	国立研究開発法人理化学研究所 生命システム研究センター	チームリーダー	多様な選択圧下での大腸菌進化実験による揺らぎ-応答関係の定量解析
若本 祐一	東京大学 大学院総合文化研究科	准教授	
長谷部 光泰 玉田 洋介 石川 雅樹 鳴川 秀樹 須田 啓 Gergo Palfalvi	基礎生物学研究所 生物進化研究部門	教授 助教 助教 博士研究員 大学院生 大学院生	摂動実験を用いた食虫植物の捕虫葉進化機構の解明

(太字は研究代表者、他は研究分担者、研究協力者)

公募研究(16 課題)

氏名	所属	職	研究課題
田村 宏治 阿部 玄武	東北大学 大学院生命科学研究科 東北大学 大学院生命科学研究科	教授 助教	胸鰭の鰭条本数の個体間ゆらぎ要因と種間形態多様性
守野 孔明	筑波大学 生命環境系	助教	軟体動物割球特異化機構を題材にした発生システム浮動の方向性と制約の解明
土松 隆志 藤井 壮太	千葉大学 大学院理学研究院 東京大学 大学院農学生命科学研究科	准教授 助教	「鍵と鍵穴」の進化を解く:植物自家不和合性を用いた理論と再現実験によるアプローチ
小林 徹也	東京大学 生産技術研究所	准教授	深層ネットワークを援用した表現型制約と表現型進化原理の探索と普遍構造の探求
岡田 泰和	首都大学東京 理学部	准教授	武器と性形質進化における発生の拘束と可塑性
小薮 大輔	武蔵野美術大学造形学部 教養文化・学芸員課程研究室	准教授	骨化順序ヘテロクロニーの揺らぎと制約
上野 博史	東京大学 大学院工学系研究科	助教	酵素1分子の活性揺らぎと進化能の関係
田中 幹子	東京工業大学 生命理工学院生命理工学系	准教授	脊椎動物の陸上進出による新奇形質の誕生—環境変化により揺らぐ形態形成経路に迫る—
石川 由希	名古屋大学 理学研究科	講師	神経ネットワークの揺らぎは配偶者選好性の進化を規定しうるか
市橋 伯一	大阪大学 情報科学研究科	准教授	人工 RNA 進化システムを用いた RNA の構造揺らぎと進化の関係の解析
細田 一史	大阪大学 未来戦略機構	特任准教授	生態系の揺らぎ応答関係と内部進化の実験的解明
晝間 敬	奈良先端科学技術大学院大学 バイオサイエンス領域	助教	植物感染糸状菌の共生性と病原性を規定する分子の進化論的考察
守屋 央朗	岡山大学 異分野融合先端研究コア	准教授	発現量揺らぎ—適応系により探るプロテオームの制約条件とその適応—進化への影響
安岡 有理	国立研究開発法人理化学研究所 生命医科学研究センター 応用ゲノム解析技術研究チーム	研究員	ネッタイツメガエル胚発生における転写因子—

			標的遺伝子関係の揺らぎ測定
大林 龍胆 畠山 哲央	国立遺伝学研究所 細胞遺伝研究系 共生細胞進化研究部門	特任研究員	ゲノム倍数性がもたらす進化可能性～揺らぎと安定性の両立～
新美 輝幸	基礎生物学研究所 進化発生研究部門	教授	テントウムシ斑紋の揺らぎから探る表現型進化の制約と方向性

(太字は研究代表者、他は研究分担者、研究協力者)

脊椎動物の筋骨格系の形態進化に見る制約と方向性

倉谷滋、平沢達矢、Juan Pascual-Anaya（理化学研究所）

【研究目的・背景】

脊椎動物進化では、筋-骨格要素間の結合に保守性が見られ、大部分の歴史において「つなぎ変え」を生じずに形態を多様化してきたが、まれにそこから逸脱した例もある。本研究では、筋-骨格結合のこのような進化パターンに注目し、胚発生における筋-骨格結合の成立機構に内在する揺らぎの実体を解明、発生上の揺らぎと進化的傾向の関連を明らかにする。

特に対象とするのは移動性体節筋(MMP筋と略 - 舌筋、四肢筋など)である。この筋は、Lbx1遺伝子の特異的に発現する体節由来前駆細胞が長距離を移動後、発生後期に非体節由来の骨格要素と相互作用し二次的に結合を樹立することでパターンングされる。この発生過程には多分に揺らぎが含まれているはずであり、進化において筋-骨格要素に見る結合の保守性の基盤が失われがちとなると予想される。

【研究計画】

前年度のニワトリ胚移植実験では、胸筋-胸骨結合を介在する腱前駆細胞の発生は除去できていなかった可能性がある。そこで、2019年度は、ステージ23のニワトリ胚の前肢芽を別の胚の腰部に移植し、胸骨とそれに付随する腱前駆細胞が不在の環境で、胸筋原基がどのようにふるまうかを調べる実験を展開する。ステージ23において、MMP筋の前駆細胞は前肢芽内にあり、胸筋原基はその後前肢芽から体幹へ向かって伸長、移動していくことが知られているので、この実験操作で胸筋原基を腰部の環境に置くことが可能である。

また、胚発生における筋-骨格結合の成立過程における揺らぎにどのようなものがあるかを絞り込むべく、ニワトリ胚を中心にし、比較のために両生類(アホロートル、ニホンヒキガエル)や魚類(トラザメ)も使い、筋芽細胞の分化、分布、遺伝子発現の経時的変化に関するデータを集める。特に鰓下筋群と前肢筋群について、個々の筋ごとの発生タイミングの違いに注目し、先に発生する筋と後から発生する筋とで形態形成の可塑性に差異がないかを探る。これらのMMP筋において筋芽細胞が個々の筋へ分かれる過程では、筋-骨格結合を介在する腱前駆細胞に加え、非体節由来の筋結合組織(筋周膜等)の分化、分布の影響も大きいことが予想される。2019年度は、これら非体節由来間葉の分化、分布、遺伝子発現の経時的変化および血管系との関連性に関するデータも集める。加えて本年度は、検索を化石動物をも含めた頭蓋形態にまで広げる。

進化の揺らぎ応答理論の確立と多階層・発生過程への展開

金子邦彦(東京大)、藤本仰一(大阪大)、竹内信人(東京大)

【研究目的・背景】

これまでにノイズや環境変動による表現型揺らぎが大きいほど進化もしやすいという、揺らぎ応答理論を定式化してきた。この結果を踏まえ、表現型進化の制約、進化しやすさという漠然としていた概念を定量的に表す理論を完成する。そのため、生物の状態を少数マクロ変数で記述し、それが遺伝的变化、環境変化とともにどう変化するかを地形で表した理論を構築する。次に、複数種の集団が安定して共存しつつ進化できるかを理解するべく、相互作用をとりいれた階層進化理論を展開する。これにより、表現型可塑性と共生過程の関係を結びつけ共生しやすさを定量的に表現する。第三に、表現型を形作る発生過程が進化を通しどのように変化していくかを調べ、進化と発生の対応、発生過程の進化拘束を定量的に表現する。これにより、形態進化の方向性への理解を与える定量的進化発生学の道を開く。

【研究計画】

表現型進化の方向性と拘束のシミュレーションと理論:触媒反応ネットワークモデルと遺伝子制御ネットワークのシミュレーションを用いて、表現型進化が低次元に拘束されるかを求め、その理論を展開する。これを成長速度など適応度に関連する表現型が環境、遺伝子変化を外部変数とした地形としてあらわすポテンシャルの理論を構築して、それがもたらす予言を求める。このような低次元構造の形成の普遍性を求め、その統計力学理論の方向を探る。これをふまえてロバストネスと可塑性の関係を探る。またこれらを実験から得られる、遺伝子—表現型関係の進化との対応を探る。

階層進化理論:分子—細胞の階層をまたがる進化の理論を展開し、特に遺伝と機能を担う分子の役割分化を明らかにする。細胞—多細胞、個体—社会での階層に対して理論を一般化する。個体—生態系の階層をまたがるシミュレーションを行ない、相互作用により多種が共存できるか、それに対して表現型の可塑性の意義を調べる。個体内に他個体が存在するモデルのシミュレーションを通して、共生が維持される条件、その進化的安定性を明らかにする。

進化発生対応の理論: (1) 発生過程を模した力学系モデルを用い、親子のパターンが類似するロバストネスに着目し、発生過程と進化過程の対応関係を調べる。特に、対応における遅いモードの意義を明らかにする。この結果ら、入江班が見出している、発生砂時計仮説が妥当か、またどのような条件でそれが現れるかを明らかにする。

(2) 動植物の形態形成の各階層、すなわち、細胞集団(動物上皮や植物幹細胞)、器官形状(昆虫翅)、複数の器官(花びら)の空間配置において、発生過程の揺らぎと進化過程の対応関係を調べる。揺らぎについては、昨年度までに構築してきた実験データの解析系と数理モデルを高次元の形態(表現型)空間で定量比較することで、揺らぎの制約(低次元構造)の特徴を明らかにする。生物実験では、これらの揺らぎを近縁種や変異体と比較することで、制約された進化の方向性の相関を探索する。並行して計算機実験では、制約された揺らぎを産み出す発生過程のポテンシャルを可視化(レイイベントサンプリング)した上で、進化の方向性(進化シミュレーション)との対応関係を解析できる系の構築を進める。

脊索動物胚発生の分子発生システムゆらぎ測定と進化的保存性

入江直樹、上坂将弘、内田唯（東京大学）

【研究目的・背景】

ヘッケルの反復説以来、「個体発生と系統発生の関係性」は、発生の最初期が最も祖先的かつ保存されているという仮説が漠然と支持されてきたが、近年の独立した複数の研究により、器官形成期が初期胚や後期胚よりも保存される傾向にあることが様々な動物グループ（脊椎動物や節足動物、線虫、軟体動物）において明らかにされてきた（発生砂時計モデル）。しかし、器官形成期にこのような限られた多様性が生じる進化メカニズムは明らかになっておらず、どうして大進化スケールでこのような進化的法則性が生じているのかについては明らかになっていない。本課題では脊索動物の動物群の発生過程の揺らぎに着目し、当該問題の解明に取り組む。

動物の発生過程が砂時計型の多様性を示すことの説明として、器官形成期は高い致死性を持つために進化的な変化が許容されなかったという説が有力視されていたが、我々の実験では、むしろ原腸形成期前後がより致死性であるという本仮説に否定的な結果が得られている。もう一つの有力仮説としては、発生の途中段階には「多様化のための正の選択圧がかからなかった」とする説であるが、淘汰圧を想定しない場合は急速な中立変異を許容してしまい、進化的保存の説明にはならない。進化における遺伝的多様性の創出が理論上の組合せと比して桁違いに小さいことを踏まえ、我々はこの限られた多様性と器官形成期の揺らぎ応答と関係について探索することとした。

【研究計画】

[研究1] 脊索動物発生システムの遺伝子発現情報からの揺らぎ・応答測定

ゲノム解読済みの脊椎動物数種を用い、動物胚の分子発生システムの個体間差ならびに外部環境からの攪乱に対する表現型応答を遺伝子発現情報やDNAのエピジェネティック状態から測定・解析する。

[研究2] 遺伝子制御と進化的多様性の関係性

脊椎動物内のグループの進化においては、遺伝子の制御レベルでの変化が新奇形質獲得に大きく寄与したことが明らかにされてきた。これを踏まえ、動物発生過程の進化的多様性と、遺伝子制御情報との関連を探ることで、大進化スケールにおける限られた多様性を生み出す仕組みを探索する。

[研究3] 揺らぎ応答関係データを踏まえた古典概念の統廃合と修正

我々の近年の研究により、器官形成期の限られた多様性を説明するひとつの因子として、多面拘束が候補としてあがった。これを踏まえ、多面発現、表現型揺らぎ、そして進化的保存との関連を探っていく。

[研究4] 発生と進化の関係性を説明する進化制約理論の検討と構築

研究1～3において同定した揺らぎやすい分子発生システムと、進化的に保存された分子発生システムを比較し、その相関関係を揺らぎ応答理論により説明できるかを金子班と連携しつつ検証を進める。

昆虫—微生物共生可能性の探索と分子基盤の解明

深津武馬、古賀隆一、森山実(産業技術総合研究所)、重信秀治(基礎生物学研究所)、
二河成男(放送大学)、細川貴弘(九州大学)、西出雄大(農研機構)、松浦優(琉球大学)

【研究目的・背景】

従来の共生研究はすでに高度に確立した共生関係を対象としてきたが、近年の申請者らの研究により、環境中には特定の宿主生物、例えば半翅目昆虫のチャバネアオカメムシなどに潜在的な共生能力を有する細菌が普遍的に存在することがわかってきた(Hosokawa *et al.* 2016 *Nat Microbiol*)。このような環境中の「潜在的共生細菌」「共生可能細菌」の全貌を把握するとともに、既知の「必須共生細菌」や「任意共生細菌」と比較解析し、さらにはそれらを宿主昆虫に継続的に感染させて実験共生進化させることにより、共生進化の条件や可能性、さらにはその促進要因や制約機構を探る。またそれら実験データを理論生物学や統計物理学の観点から解析、統合することにより、共生進化と揺らぎ応答の関係について明らかにする。

【研究計画】

本年度は以下の研究を実施する。

- ・主要モデル系のチャバネアオカメムシに加え、他にも共生可能性進化実験モデルとして有用な可能性のあるカメムシ類およびその他の昆虫類について、野外採集による試料収集、実験室飼育維持手法の検討、共生細菌の単離、培養、実験操作法の開発などを行う。本年度は特にツチカメムシ類について重点的に調査する。
- ・チャバネアオカメムシの共生細菌除去幼虫を日本各地から採取した土壌試料に曝露して、細菌感染により成長できた個体をスクリーニングすることで、環境中に存在する共生可能細菌群を網羅的に探索、分離、同定する。本年度は引き続き宮古島の各所多地点において重点的な調査を行う。
- ・得られた共生可能細菌系統について順次ゲノム配列決定、感染宿主カメムシの中腸共生器官のRNAseqを行い、細菌側と宿主側の双方について高発現する遺伝子群や共生能力に関わる可能性のある遺伝子群を洗い出し、特に高発現しているものや興味深い機能を有することが期待されるものについて機能解析に着手する。
- ・異なるレベルの共生能力を示すさまざまな環境由来の共生可能細菌系統の解析および同定を進める。それらを共生細菌除去幼虫に感染させて、感染密度、局在、垂直感染率、宿主共生器官の形態や大きさなどの表現型効果を定量的に評価する。
- ・前年度に引き続き、共生可能細菌に感染させた昆虫系統を飼育維持し、高い成長速度や大きな体サイズなどの指標に基づいて適応度の高い個体を選抜して、その次世代の孵化幼虫にその細菌を感染させることを継続的に繰り返した進化実験系を検討する。
- ・異なるレベルの共生能力を示すさまざまな共生可能細菌系統や進化実験細菌系統を共生細菌除去幼虫に感染させて、感染密度、局在、垂直感染率、宿主共生器官の形態や大きさなどの表現型効果を定量的に評価する。それら定量値の平均、分散、揺らぎについて統計的に検討し、共生能力との相関解析を行う。

多様な選択圧下での大腸菌進化実験による揺らぎ－応答関係の定量解析

古澤力(理化学研究所)、若本祐一(東京大)

【研究目的・背景】

生物システムは環境変動に応じて、柔軟にその内部状態を変化させ、新たな環境に対して適応・進化する能力を持つ。一方で、その表現型変化は任意の方向に起こるのではなく、そこには明確な制約と方向性が存在する。その制約と方向性が出現するメカニズムを明らかにすることは、無方向でランダムな多様化過程を前提とした従来の進化理論では説明することが難しいさまざまな現象を、統一的に理解する新たな進化理論の構築に繋がる。そこで本研究では、大腸菌進化実験を用いることにより、表現型変化の制約と方向性の存在を定量的に明らかにする。表現型揺らぎの計測、そして細胞モデルの計算機シミュレーションと融合することにより、揺らぎ応答関係がどのように成り立ち、そこから進化過程の抑制と方向性をどのように予測できるかを検証する。

【研究計画】

(1) 自動培養システムを用いた複数環境・複数系列での進化実験

表現型進化がどのように拘束されているかを定量的に解析するために、自動培養システムを用いた複数環境・複数系列での大腸菌の進化実験を行った。ストレス耐性を持つ 192 株 (48 ストレス環境×4 独立進化系列) について、トランスクリプトーム解析とゲノム変異解析が完了している。今後、この表現型と遺伝子型のデータに基づき、大腸菌の表現型進化がどのように拘束されているか、またその背後にある遺伝子型変化がどのように対応をしているかを解析する。また、金子班と共同で、計算機シミュレーションと理論解析から、こうした表現型進化の拘束と揺らぎの大きさに関しての理論的検証を進める。

(2) 1 細胞レベルでの発現揺らぎと環境応答の解析

さまざまな遺伝子に蛍光タンパク質を融合させた大腸菌のライブラリを用い、顕微鏡下での 1 細胞計測により遺伝子発現量の揺らぎを定量する。また、同じシステムを用い、環境変化を与えたときの発現量の変化を定量することにより、発現揺らぎと環境応答の大きさにどのような関係があるかを解析する。また、上記(1)の進化実験のデータと統合することにより、揺らぎと環境応答、そして進化の過程においてどのような時間スケールでの揺らぎ－応答関係が成り立つかを探求する。

(3) 1 細胞レベルでの遺伝子操作系を用いた発現揺らぎと遺伝子摂動への応答の解析

顕微鏡下での 1 細胞計測を行いながら、光遺伝学の手法を用いて遺伝子操作を行う系の構築が完了している。この系を用いることにより、揺らぎの計測を行いながら、同時にゲノム配列への摂動とその応答を解析することが可能となる。この系を用いることにより、抗生物質耐性の適応進化過程における揺らぎと遺伝子摂動への応答を解析する。

摂動実験を用いた食虫植物の捕虫葉進化機構の解明

長谷部 光泰、玉田 洋介、石川 雅樹、鳴川 秀樹、須田 啓、Gergo Palfalvi(基生研)

【研究目的・背景】

ダーウィン以来の進化研究が、未だに解明しきれていない問題として、一つ一つの形質は適応的ではないが、いくつかの形質があわさること始めて適応的になる複合適応形質がどのように進化するかがある。複合適応形質はいろいろな生物に見られるが、複数の形質が確率的な突然変異の蓄積のみによって一斉に進化するのには困難であろうと考えられてきたものの、これまで妥当な代替仮説が存在しなかった。食虫植物の持つ食虫性は、小動物を誘引、捕獲、消化、吸収することではじめて適応的になるので、複合適応形質の典型例である。本研究では、フクロユキノシタの誘引、捕獲、消化、吸収を担う遺伝子を特定し、それらが、協調して進化しえた機構を「揺らぎ応答進化理論」で説明できるかを検証する。さらに、フクロユキノシタの温度依存的な捕虫葉形成に着目し、植物の温度感知に関わるクロマチン状態と協調的な表現型進化の関連を調べる。

【研究計画】

博士研究員の鳴川秀樹、大学院生の Gergo Palfalvi、須田啓、研究協力者の玉田洋介、石川雅樹と共同して研究を行う。

[課題1. 食虫性関連遺伝子の特定]

鳴川を中心として、フクロユキノシタの捕虫葉形態形成機構を明らかにするため、葉形態形成関連遺伝子の *in situ* ハイブリダイゼーションを行う。また、アグロバクテリウム法による形質転換系の確立を目指す。Palfalvi を中心にフクロユキノシタゲノムのリシーケンス、HiC 解析を行い、課題2と3のゲノム関連解析に資する。また、ハエトリソウ、コモウセンゴケの発生段階による比較トランスクリプトーム解析を行い、食虫性関連遺伝子の発現変動解析を行う。さらにハエトリソウ、ムジナモ、コモウセンゴケのゲノム比較から、食虫性関連遺伝子がどのように進化したかを推定する。

[課題2. 環境摂動による遺伝子発現応答の解析]

Palfalvi、鳴川を中心として、フクロユキノシタに環境摂動を与え、食虫性関連遺伝子の発現応答を測定することで「揺らぎ応答進化仮説」が食虫植物進化に適用可能かを検証する。異なる光条件(24 時間連続明、16 時間明 8 時間暗、8 時間明 16 時間暗)、培養温度(15°C、25°C)、栄養分濃度を変えた条件で食虫性に関わる遺伝子の方が、関わらない遺伝子よりも発現ゆらぎが大きいかどうかを調べる。予備的実験を行った後に本実験を行う。

[課題3. 温度感受に関わるクロマチン動態の解析]

Palfalvi を中心に食虫性関連遺伝子が共通のエピジェネティック制御を獲得して進化した可能性を検証する。植物の温度感受に関わるヒストンバリエント H2A.Z の ChIP-seq を行い、食虫性遺伝子発現とクロマチン状態に関連があるかを調べる。

胸鰭の鰭条本数の個体間ゆらぎ要因と種間形態多様性

田村宏治(東北大)、阿部玄武(東北大)

【研究目的・背景】

魚類の胸鰭は四足動物の前肢の相同器官である(図 1)。ただし胸鰭内骨格のさらに先端には「鰭条」とよばれる膜性骨が存在するが、鰭条に相当する構造は前肢には無い。ことから、両者は相同器官ではあるもののかなり形態や構造が異なると理解されてきた。しかし、申請者らの研究も含め胸鰭における鰭条も、四肢と同様にパターン形成を行っている可能性も示唆されている。

鰭条のパターン形成を考えるにあたって、そもそも胸鰭の鰭条に明確なパターン(定形)が存在するのか、の記載が無かった。そこで申請者らはゼブラフィッシュを用いて、鰭条の本数を指標に、胸鰭鰭条のパターンの存在の有無を調べた(未発表、図 2)。その結果、前方では鰭条の本数が一定であること、一方で後方の鰭条は 2~5 本と個体によってゆらぎがあり、全体の本数は 10~13 本と個体差が存在することを見出した。鰭条数のゆらぎは同一系統の同腹個体でも見られる。さらに、このゆらぎの度合いが系統によって異なることも判明した。過去の知見と併せて考えると、このゆらぎを見せる後方の鰭条は、四肢のパターン形成因子として有名な *shh* 遺伝子の発現領域に由来する可能性がある。鰭条数がゆらぐのは後方部位のみであり、ゆらぎを生じる部位に制約がある。本研究は、胸鰭鰭条の本数に部位的制約をもって種内ゆらぎを生じる外的要因とその標的カスケードを特定すること、さらに鰭条本数のゆらぎと魚類の特殊な鰭条(遊離軟条)形成や四足動物の指本数多様性形成との関係を示すこと、を目的とする。

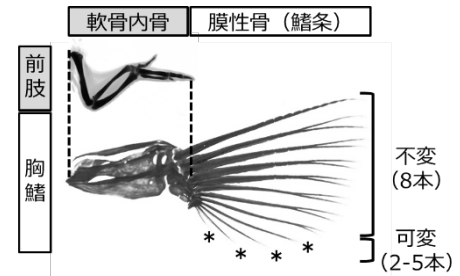


図 1. 前肢骨格と胸鰭骨格の比較(両者のサイズスケールは不正確)。図中の*は、ゼブラフィッシュ胸鰭において個体によって数がゆらぐ鰭条骨(ここでは 4 本)

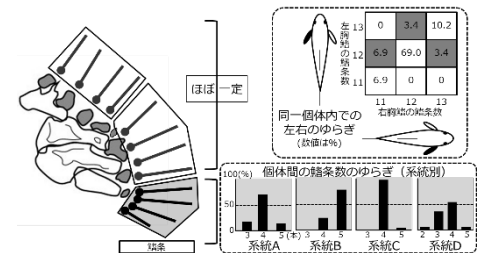


図 2. 個体内、個体間および系統間における、胸鰭の鰭条数のゆらぎ

【研究計画】

(課題 1) 種内ゆらぎの発生要因の特定

* 鰭条数ゆらぎが起こる時期・領域・過程の特定とゆらぎ外的要因候補の摂動実験

- 1-1. 鰭条数のゆらぎが起こる時期と領域を特定するためのツール作り
- 1-2. 鰭条数のゆらぎの原因となる時期・過程の特定
- 1-3. ゆらぎを変化させる摂動実験

(課題 2) 種内ゆらぎ要因の標的カスケードの特定

* 第一候補(*shh* シグナル経路)の解析と網羅的他候補因子(経路)の探索

- 2-1. 第一候補としての *shh* シグナル経路の機能解析
- 2-2. *shh* 経路以外の標的カスケードの探索

(課題 3) 種内ゆらぎと種間多様性の関係の理解

* 遊離軟条および四足動物の指の本数に対する、課題 1,2 の要因および標的の摂動実験

- 3-1. 課題 1 および課題 2 との相関解析

軟体動物割球特異化機構を題材にした発生システム浮動の方向性と制約の解明

守野孔明 (筑波大)

【研究目的・背景】

発生システム浮動は発生進化の源泉となる変異を生み出す。従って、発生システム浮動の方向性の理解は発生進化の方向性の理解へとつながる。近年、らせん卵割動物(軟体・環形動物など)にのみ存在する新規 homeobox 遺伝子群 SPILE が、動-植軸に沿って入れ子状に発現し、らせん卵割型発生の保存された特徴である動植軸に沿った割球運命分配に働くことを発見した。一方で、軟体動物腹足類の中でも遺伝子数や発現パターンに変動があり、他の転写因子に比べ変異に富むことも分かってきている。本課題では、腹足類 3 種を用いて初期発生期の転写因子発現プロファイルの相違点と、それに SPILE 遺伝子がどう寄与しているかを、*in situ* hybridization とトランスクリプトーム、機能解析を組み合わせ検証する。これにより、数億年レベルで保存されている発生様式の背後にどの程度の浮動が許容されどのような傾向があるかを理解する。

【研究計画】

保存された発生パターンを示す軟体動物カサガイ類 2 種クサイロアオガイ (*Nipponacmea fuscoviridis*) とヨメガカサ (*Cellana toreuma*)、古腹足類クロアワビ (*Haliotis discus discus*)を用いて、SPILE 遺伝子を中心とした初期発生における転写因子の発現プロファイルおよび SPILE のはたらきの比較を行う。今年度の実験項目は以下の通りである。

(1) 1 細胞トランスクリプトーム: クサイロアオガイ、ヨメガカサおよびクロアワビの 16 及び 32 細胞期の 1 細胞トランスクリプトーム解析を行う。まずは、生殖期が長く実験的にも扱いやすいクサイロアオガイで手法を確立することを目指し、その方法を他の種に応用していきたい。各細胞の遺伝子発現量を取得し、それらをクラスター解析し、細胞タイプごとのクラスターに分ける。加えて、ドメインサーチにより、転写因子を網羅的に同定し、3 種間での遺伝子対応表を作成する。重複等により対応が取りにくい場合は個別に系統解析を行い、対応関係を明瞭化する。これにより、どの生物種でどの転写因子が発現している/いないのかについての網羅的情報を構築する。

(2) SPILE 遺伝子群を中心とした転写因子群の発現パターンの解析: クサイロアオガイ、ヨメガカサ及びクロアワビの 32 細胞期において、SPILE を含む複数の転写因子群の *in situ* hybridization を行う。これにより、(1) SPILE 遺伝子群の発現パターンを網羅的に解明する、および (2) 1 細胞トランスクリプトームで得られた クラスターがそれぞれどの細胞に相当するのかを判断する、という 2 点を達成する。クロアワビとヨメガカサについては、まず 32 細胞期の SPILE 遺伝子群の発現情報を明らかにする。SPILE 遺伝子群だけでは全ての細胞タイプを分類するのに十分な情報でない可能性がある。そこで、軟体動物もしくは環形動物で幼生期に胚葉特異的に発現する転写因子群で、32 細胞期に発現している遺伝子を選択し、追加で解析を行う。以上の行程により、1 細胞トランスクリプトーム解析と *in situ* hybridization による情報を合わせ、どの割球細胞にどのような転写因子が発現しているのかを網羅的に理解する。

「鍵と鍵穴」の進化を解く:

植物自家不和合性を用いた理論と再現実験によるアプローチ

土松隆志(千葉大学)、藤井壮太(東京大学)

【研究目的・背景】

共進化する生物同士にはしばしば、特定の相手としか相互作用しないというパートナー選択の特異性がみられる。このような特異性を担う分子の実体の多くは受容体とリガンドのような「鍵と鍵穴」のシステムであるが、新しい特異性、すなわち「新しい鍵と鍵穴のセット」はどのように進化するのかという問題が以前から指摘されていた。鍵と鍵穴のいずれかが変化すれば互いに認識されず、特異性は崩れてしまう。このような中間状態を乗り越え新しい特異性はどう進化するのか。本研究では、自家受精を防ぐ自己認識機構である植物の自家不和合性を対象にこの問題に取り組む。

今回特に着目するのが、自家不和合性の鍵と鍵穴のセット(「*S*対立遺伝子」と呼ぶ)の特異性が不安定化し部分的に自家和合化するような、特異性の「ゆらぎ」現象である。このようなゆらいだ*S*対立遺伝子は、自家受精による近交弱勢を被るリスクはあるものの、条件によっては集団中から淘汰されずに維持され、新しい*S*対立遺伝子へと進化しうると予想される。本申請課題は、シミュレーションモデルとアミノ酸置換実験により*S*対立遺伝子の進化過程を予測・再現することを通して、特異性のゆらぎと新しい鍵と鍵穴の進化可能性との関係を、理論と実験の両面から探ることを目的とする。

【研究計画】

(1) シミュレーションモデルによる*S*対立遺伝子の進化過程の予測

新しい*S*対立遺伝子の進化と特異性のゆらぎとの関係を探るために、進化過程を再現するシミュレーションモデルを構築する。*S*対立遺伝子に生じる突然変異、自然淘汰、遺伝的浮動を組み込んだ確率的な進化シミュレーションモデルのもとで、突然変異が特異性のゆらぎに与える影響をパラメーターとして変化させながら、*S*対立遺伝子の進化しやすさ(進化可能性)を定量的に検討する。

(2) 野生集団の*S*遺伝子座配列解析

実際の野外集団においてどのような*S*対立遺伝子が分離しているのかを把握するために、モデル植物シロイヌナズナに近縁のハクサンハタザオを用いて、リシークエンスデータに基づく塩基配列解析を行う。特に雄側鍵因子 SCR、雌側鍵因子 SRK タンパク質の相互作用部位に存在する変異に着目する。

(3) アミノ酸置換実験による特異性のゆらぎの定量と進化の再現

(1)、(2) の結果を踏まえ、特定の2種類の*S*対立遺伝子に着目したアミノ酸置換実験を行う。タンパク質相互作用部位のアミノ酸数カ所に変異を人工的に導入し、2種類の*S*対立遺伝子の中間的な配列を人工的に作製する。この配列をシロイヌナズナに遺伝子導入し、タンパク質相互作用や自家不和合性の活性を定量することで、不安定かつ中間的な特異性の実態を定量し、2種類の*S*対立遺伝子間の進化的移行の過程を実験的に再現することができる。

深層ネットワークを援用した表現型制約と表現型進化原理の探索と普遍構造の探求

小林 徹也(東京大)

【研究目的・背景】

本研究では、近年明らかになった表現型ゆらぎを有する集団に普遍的に成り立つ変分構造と適応度ゆらぎ定理を基盤として、その結果に深層ネットワークに基づくモデル化と強化学習の知見を融合させることで、表現型制約と表現型進化の理論を発展させる。

深層ネットワークを用いて抽象的かつ柔軟に表現型制約を表現し、深層強化学習の学習則から表現型進化過程のヒントと知見を得る。ネットワークの構造を工夫して、免疫系の表現型進化や1細胞複製過程の表現型制約・進化の問題にモデルを具体化する。シミュレーションを主体に探索的に得られた表現型進化の法則は、免疫受容体 NGS データや1細胞定量データなどを用いて実験との整合性を確かめる。

また、進化と深層強化学習の両者に共通して現れる変分構造を介して、統一的な理論の構築を目指す。その成果は生命進化の理解を深め、深層ネットワークの学習法などにも寄与すると期待される。

【研究計画】

【1. 免疫系における表現型選択と拘束のモデル化】適応免疫系を具体的な対象として、環境に対する表現型適応の過程を強化学習(マルコフ決定過程)の枠組みで定式化する。適応過程に存在する制約を深層ネットワークによってモデル化する。具体的には環境とのインターフェイスである抗原の分布、それを受け取るT細胞群、そしてT細胞群によって制御されるエフェクター細胞群の3層のレイヤーをまず考え、免疫学的な知見と矛盾しないように免疫ネットワークを構成する。

【2. 適応ダイナミクスの導出】深層強化学習などで援用されているQ学習やエントロピー制約Q学習などの知見を用いて、免疫ネットワークの学習則を導く。その学習性能をシミュレーションで検討しつつ、免疫学的な知見と比較することで、より生物学的に妥当な学習則の探索などを行う。また平行して生物学的に妥当な更新則を考え、その強化学習の観点からの解釈も試みる。

【3. モデルの妥当性の検証】【1,2】で得られた適応ダイナミクスを主に数値的に解析し、学習過程および学習収束後にどのような分布に例えばT細胞群が収束するかを調べる。その分布をT細胞受容体のNGSシーケンスデータなどと比較することによって、得られたモデルの生物学的な妥当性を検証する。また可能であれば解析的な方法により、学習の結果からどのような分布が得られるのかなどに関する一般的な結果の導出も試みる。

【4. 表現型適応理論の応用】免疫系を対象とした表現型適応過程のモデルを改良し、細胞複製過程に関する表現型適応のモデルを構築し、強化学習の観点から増殖する細胞系のもつ表現型適応性の解析を行う。

【5. 表現型適応の普遍構造の理解】上記の表現型適応過程のモデルを元に、モデルの表面的な詳細によらない普遍構造を取り出すため、深層強化学習の変分構造に着目して情報や熱力学構造の観点から得られた結果を捉える理論的枠組みを構築する。

【研究目的・背景】

カブトムシの角やクジャクの羽といった性選択形質は、多細胞生物の形態の中でもひととき目を引く巨大で美しい“誇張された表現型”である。形態学・生態学は古くからこうした形質に注目し、性選択形質である武器や装飾がすさまじい種内・種間の多様性を持ち、進化的・発生的に“変わりやすい形質”であることがよく知られてきた。この対極に位置する非常に“変わりにくい形質”が昆虫などの節足動物の交尾器形態である。節足動物の交尾器は、キチン質の交尾器が同種の雌雄間できっちりと噛み合うように安定化選択が働いている。そのため、体サイズや武器サイズの変異がどれだけ大きな種でも、交尾器は種内ではほぼ一定サイズに収束する (Eberhard et al. 1998, Evolution)。つまり、形態進化の過程で、武器・装飾の発生は大規模な改築がなされる一方で、交尾器は進化的、発生的に頑健で安定した発生プログラムを保持しており、強くキャナライズされた形質ということができる。脚や翅など、他の様々な体モジュールは、一次性形質である交尾器・交尾行動や、二次性形質である武器や装飾形質と協調し、全体として機能的な形態を形作るように、発生的・遺伝的にリンクが生じている。貴領域への参画では、武器を持つ昆虫の発生をモデルに、“いかに器官ごとの変異性と安定性がもたらされ、発生的なリンク/モジュール性が生じるのか”，という問題を提起し、分子発生学と、種内/種間/系統間の比較アプローチを組み合わせることで、表現型に多様化と制約をもたらす進化原理の探求に貢献したい。

【研究計画】

本計画では主要な武器昆虫モデルとして、大量飼育や武器サイズの人為選抜が可能なオオツノコクヌストモドキ(*Gnatocerus cornutus*)を用いて、武器をもたらす遺伝子、および、武器サイズに大きな“ゆらぎ”をを許容する分子基盤を解明する。さらに、武器と他の体モジュールのあいだに発生的リンクをもたらすメカニズム解明にむけて、分子発生学解析(RNAiなどの実験的手法とトランスクリプトームによる網羅的発現解析、形態計測学)、ゲノム解析(新規ゲノム解読、および武器のない近縁種コクヌストモドキとのゲノム比較)、量的遺伝学的解析(武器サイズやプロポーションの異なる人為選抜系統のゲノムリシーケンスを行う。これらの実験を統合することで、武器と性的形質の環境応答の仕組みと進化的応答の仕組み、そして両者のつながり(表現型相関と遺伝相関をつなぐ仕組み)の解明を目指す。

骨化順序ヘテロクロニーの揺らぎと制約

小藪大輔(武蔵野美術大)

【研究目的・背景】

脊椎動物の身体は数百の骨によって構成されているが、どの骨を先に、或いは後に形成するかという骨化順序は種によってほぼ決まっている。これまで代表者は独自に収集してきた 100 種以上の羊膜類(鳥類, 爬虫類, 哺乳類)の胚標本を用いて、頭部構成骨の骨化順序にみられる種間変異と制約的パターンを明らかにしてきた。骨化順序の種間変異は種内レベルにおける変異が成因となっていると想定される。加えて、当該新領域が掲げる「進化の揺らぎ応答理論」に従えば、種内レベルで骨化順序の変動幅が大きい骨は種間レベルでも骨化順序の進化的変動幅が大きいと予想される。しかし、骨化順序の種内変異についての知見は大きく不足しているため、種内変異動態と種間変異動態に相関性はあるのか現状では明らかでない。そこで本課題では、脊椎動物の全身骨格の形成タイミングに見られる種内変異と種間変異を題材として「進化の揺らぎ応答理論」の検証を構想する。これまで代表者は羊膜類における頭部形態の発生プログラムの種間差を明らかにし、発生プログラム改変の系統進化パターンとモジュール的制約性を明らかにしてきた(e.g., Koyabu et al. 2011, *EvoDevo*; Koyabu et al. 2012, *PNAS*; Koyabu et al. 2014, *Nat. Commun.*; Ramírez-Chaves et al. 2016, *Proc. Roy. Soc. B*; Koyabu 2017, *J. Vet. Med. Sci.*)。本申請課題をこれら網羅的探索型研究に続く理論検証型研究として位置づけ、当該新領域の各計画班の成果を相互参照しながら、「進化の揺らぎ応答理論」の検証を目指す。

【研究計画】

2014 年以降新たに入手した 4 種の哺乳類を加え、合計 139 種の胎子の全身マイクロ CT 画像を材料とした分析を行う。これまで代表者は羊膜類脊椎動物の頭部における骨化順序の系統的な進化史と制約を明らかにしてきたが、これまでの研究では、骨化順序における①各骨の種間変異のパターンはどういったものか、②各骨の種内変異のパターンはどういったものか、③各骨の種内変異パターンと種間変異パターンは相関するかどうかは明らかになっていない。代表者のこれまでの研究活動により 134 種の羊膜類における頭部の骨化順序の記載は完了しているが、この生データから種間レベルでの骨化順序における各骨の変動幅を定量化すれば①を達成することができる。種内レベルでの骨化順序における変動幅の定量化は爬虫類と鳥類で行われているが、本課題では理化学研究所で飼育されている C57BL/6 マウスを哺乳類における種内変異動態のモデルとして骨化の変異動態の定量化を行い、②を達成する。そして①と②の結果を踏まえ③の検証を行う。これまでの代表者の研究により頭部の骨化順序の進化史と制約性は明らかになっているが、全身骨格のパターンは未だ不明である。そこで、本課題は羊膜類において全身骨格の骨化順序を記載するとともに、頭部と同様に③の検証を行う。カミツキガメについての先行研究からは膜性骨群が種内変異が高いという指摘があるが、本課題によってカメ類の種間レベルでも同様のパターンがあるのかを検証しうる。また、鳥類では後期発生の骨群ほど種内変異が高いという指摘があるが、本課題によって鳥類の種間レベルでも同様のパターンがあるのかを検証しうる。

酵素1分子の活性揺らぎと進化能の関係

上野 博史（東京大）

【研究目的・背景】

「同一の遺伝情報」を持つ細胞集団においても、個々の細胞は同じではない。例えば、同一の遺伝子を持つ細胞集団を薬剤にさらした際に、耐性遺伝子を持たないにもかかわらず生き残る一部の細胞 (persister 細胞) が存在する。この耐性は通常の細胞とは異なる「表現型」のひとつとして「確率的」に現れる。我々の最近の研究から、このような「表現型の揺らぎ」は、1 分子レベルでも生じることが分かってきた。つまり同一の DNA から合成した酵素 1 分子においてもその活性には揺らぎが存在し、しかもその大きさは分子種によって変動しうるのである。

このような「表現型の揺らぎの大きさ」と「進化」には相関があり、大きな揺らぎを示す表現型ほど進化速度が速くなるという理論が最近報告されている。しかしこの理論がどういった表現型や進化に適用できるかどうかは未だ自明ではない。そこで本研究ではマイクロチャンバーデバイスを用いた酵素の定量進化実験系を確立し、酵素 1 分子の活性揺らぎと進化能との関係を明らかにする。具体的には Alkaline phosphatase (ALP) をモデル酵素に用い、マイクロチャンバーデバイスを用いた進化実験で高活性 ALP へと進化させていく。その際、各世代の変異 ALP の 1 分子酵素活性分布を計測し、揺らぎ幅と進化速度との関係や進化到達点における活性揺らぎ幅を明らかにする。さらに進化の起点における活性揺らぎ幅が進化能に与える影響や、定方向進化や非定方向進化における活性揺らぎ幅と進化能の関係を明らかにする。

【研究計画】

本年度はマイクロチャンバーデバイスを用いた酵素の定量進化実験系を確立する。モデル酵素には大腸菌由来の Alkaline phosphatase (ALP) を用いる予定である。マイクロチャンバーデバイスはマイクロメートルサイズの親水／疎水パターンが施されたガラス基板と溶液交換用のポートを持つ上面ガラスから構成される。進化実験ではまず各種変異 ALP をコードする変異 DNA ライブラリ・蛍光基質・無細胞タンパク質合成系の混合溶液をデバイスに流し込む。この時、DNA をチャンバー当たり 1 個以下になるようにする。その後、封入用オイルを加えることで微小ドロップレットアレイを作製する。このドロップレット内の 1 つの DNA から合成された ALP が蛍光基質を分解するとチャンバー内の蛍光強度が上昇する。この蛍光上昇の傾きを定量し、傾きの高いチャンバーから 1 DNA を回収し、PCR 増幅・シーケンス解析を行うことで、活性の高い進化した ALP の DNA およびその配列情報を得ることができる。予備実験では、既に野生型 ALP に比べて数倍程度活性の上昇した複数の ALP 変異体を取得することに成功している。しかしながら、現状では 1 DNA の回収からシーケンス解析まで成功する効率が低いという問題がある。そこでその原因と考えられるデバイスなどへの DNA の吸着防止処理や、PCR 酵素・プライマー配列の最適化を行う。さらに蛍光性 ALP の開発を行い、その発現量を見積もることで定量性のさらなる向上を目指す。

脊椎動物の陸上進出による新奇形質の誕生—環境変化により揺らぐ形態形成経路に迫る—

田中幹子(東京工業大学)

【研究目的・背景】

脊椎動物は陸上への進出に伴い、高濃度の酸素環境に曝されることとなった。本研究では、上陸に伴う酸化ストレスによって、新奇形質を生み出した形態形成プロセスの揺らぎの解明を目指す。

羊膜類の四肢の形成過程では、指間領域の細胞がプログラム細胞死(以降、指間細胞死とよぶ)によって取り除かれ、指が分離する。一方、両生類アフリカツメガエル幼生の肢芽では、指間細胞死のシステムが確立しておらず、それぞれの指が伸長することによって分離する。このことから、指間細胞死は、脊椎動物が進化の過程で新しく獲得した形質であると考えられている。我々は、ニワトリ胚の肢芽の細胞死領域において、高レベルの活性酸素種(Reactive Oxygen Species: ROS)が検出されること、この領域での ROS の作用を阻害すると細胞死が抑制されることを確認している。このことから我々は、指間細胞死が環境変化によって獲得された形質である可能性を考えた。

【研究計画】

本研究では各種脊椎動物の肢芽をモデルに、ゲノム配列の変化を伴わずに、酸化ストレスというノイズによってのみ、指間領域の細胞に特異的なプログラム細胞死という新奇形質が出現する系を用いて、四肢の形態形成プロセスの揺らぎを検出し、その分子機構に迫ることで、脊椎動物の上陸に伴う環境変化が新奇形質を生み出す原理を明らかにすることを目的とする。

そこで、環境酸素濃度によって大きく揺らぎ、生体内に ROS を大量に産生させうると考えられる経路の揺らぎが、新奇形質を獲得させた可能性を検証する。この目的で、肢芽におけるメタボローム解析、関連経路で働く遺伝子発現解析、および関連経路が ROS の産生と指間細胞死に与える影響を検証するための機能解析実験を行う。これらの解析により、関連経路が環境変化によって揺らぎ、新奇形質を生み出しうる経路であるか、否かを理解することは、多彩な環境で進化した脊椎動物の形態変化の法則を理解するために重要な情報となることが期待される。

神経ネットワークの揺らぎは配偶者選好性の進化を規定しうるか

石川由希(名古屋大学)

【研究目的・背景】

動物の配偶者選好性は神経ネットワークに規定されている。神経ネットワークはゲノム変異や経験などによって揺らぎ、配偶者選好性のばらつきを生む。一方、種分化の過程では、この揺らぎが固定され、選好性が分化する。本研究は、ショウジョウバエのフェロモン選好性をモデルケースとし、神経ネットワークの揺らぎやすさがどのように配偶者選好性の進化を規定しうるのかを明らかにする。

これまでの私たちの研究により、ショウジョウバエのフェロモン選好性に関与する神経ネットワークには、種間で保存性の高い経路と低い経路が存在することが示唆された。このことから、本研究では『神経ネットワークには揺らぎにくく保存性の高い部分と、揺らぎやすく保存性の低い部分があり、この神経ネットワークの揺らぎやすさが配偶者選好性の分化を規定する』という仮説を検証し、当領域の骨子である『揺らぎ応答理論』を拡張する。

【研究計画】

本研究では、ごく近縁でありながら、単一フェロモンへの選好性が全く異なるキイロショウジョウバエとオナジショウジョウバエ、また両種の F1 雑種を材料として用いる。キイロショウジョウバエのオスは、メスの持つ 7,11-ヘプタコサジエン (7,11-heptacosadiene, 7,11-HD) によって求愛を上昇させる。一方、オナジショウジョウバエと F1 雑種のオスは、7,11-HD によって求愛を劇的に低下させる。キイロショウジョウバエのフェロモン選好性には、5 つのニューロン群 (ppk23, PPN1, AbdB, mAL, P1) から構成される ppk23-P1 神経経路が寄与している。この経路の活性化は、キイロショウジョウバエでは求愛を促進する一方で、F1 雑種オスでは求愛を抑制する。このことから、キイロショウジョウバエと F1 雑種において、ppk23-P1 経路は何らかの分化を果たしていることが示唆される。そこで本研究では、この2種の ppk23-P1 経路を詳細に比較し、神経回路のどの部分が種間で保存され／分化しているのか、またどこが揺らぎやすいのかを明らかにし、上記仮説を検証する。

本年度はまず、ppk23-P1 経路を構成する5つのニューロン群の機能をキイロショウジョウバエ、オナジショウジョウバエ、F1 雑種において比較する。各ニューロン群に光／熱遺伝学的ツールを発現させ、各ニューロン群の人為的な活性化が求愛行動にどのような影響をもたらすかを定量化する。これによりニューロン群の機能面において、ppk23-P1 経路のどこが種間で保存されているのかを明らかにする。次に、GRASP 法を用いて ppk23-P1 経路の各ニューロン間の神経接続を比較する。シナプス前／後細胞に GRASP ツールを発現させたハエの脳を解剖して抗 GFP 抗体染色を行い、CTMK 画像ツールを用いて各個体の脳を標準脳にマップする。ImageJ ソフトウェアを用いて GRASP シグナルを定量し、キイロショウジョウバエと F1 雑種で比較する。これにより、ppk23-P1 経路のどの神経接続が保存され／分化しやすいのかを明らかにする。

人工 RNA 進化システムを用いた RNA の構造揺らぎと進化の関係の解析

市橋伯一(大阪大)

【研究目的・背景】

生物進化の方向性に対する制約のひとつとして、揺らぎの大きな表現型が進化しやすいという傾向(揺らぎ応答理論)が提唱されている。しかしながら、未だ実験的な検証は十分ではなく、またその制約をもたらすメカニズムも明らかでない。

近年我々は、生物と同じように変異と自然選択により自律的に進化する分子システム(RNA の自己複製システム)を構築した。RNA の場合、配列情報から表現型である構造とその揺らぎまでを計算することができる。したがって、進化による配列変化が表現型(構造)及びその揺らぎをどう変えたかを曖昧さなく理解することができる。したがって、この系は揺らぎ応答理論の検証とその分子メカニズムの理解のために理想的な実験モデルとなっている。

本研究では、これまでに行った進化実験における各段階の RNA9 種類について、構造特異的 RNA ラベリング実験により構造とその揺らぎを正確に予測し、構造揺らぎと進化により変化した構造に関連があるかを直接検証する。さらに得られた結果から、揺らぎ応答をもたらす分子メカニズムを理解することを目指す。本研究の特徴は、試験管内で進化した RNA を用いることで、進化制約をもたらす分子メカニズムにまで迫ることである。進化制約のメカニズムを理解できれば、進化の予想や制御も可能になる。これは生命の進化過程における偶然性と必然性の理解につながるのみならず、進化工学の飛躍的な効率化にも貢献する。

【研究計画】

本研究では、これまでに得た進化の各段階の RNA9 種類を用いて、RNA の進化の方向性が揺らぎ応答理論と一致するか、すなわち揺らいでいる部分構造(表現型)が進化によって変化するか、を検証する。そして一致するならばその分子メカニズムを明らかにすることを目指す。そのために2年間で以下の4項目を実施する。

1. 9 種類の RNA の全長について構造特異的 RNA ラベリングにより各塩基の対合率を測定する

RNA の表現型(構造)ゆらぎを測定するために、構造特異的 RNA ラベリングを RNA 全長にわたって実施する。結果を RNA 配列に対応付け、RNA の各塩基が対合を形成する割合を求める。できるだけ精度を高めるために、同一 RNA について複数回の実験を行う。

2. RNA ラベリングのデータを用いて RNA の構造分布を求める

RNA ラベリングデータを制約条件に用いて、各 RNA のとりうる構造とその安定性を計算する。通常 RNA は安定性の異なる複数の構造を遷移している。したがってこの解析により、多くの取りうる構造とその存在割合(すなわち構造分布)を求める。

3. RNA 進化が揺らぎ応答理論と一致しているかを検証する

揺らぎ応答理論では、進化により変化しやすい構造はもともと揺らいでいた構造であることを予想する。これを確かめるために、進化の各段階で進化によって変化した構造が、進化前の RNA 構造分布で揺らいでいた場所かどうか、すなわち構造分布が広がっているかどうかを検証する。逆に、進化前の構造で揺らいでいない場所は進化により変化しないかどうかを検証する。これらの検証により RNA の構造進化が揺らぎ応答理論と一致しているかを検証する。

4. 揺らぎ応答理論のメカニズムを考察する

RNA の構造進化において揺らぎ応答理論を支持する結果が得られた場合、そのメカニズムを追求する。必要に応じて RNA の変異体作成やさらなるラベリング実験を行い、メカニズムの信頼性を検証する。

【研究目的・背景】

生物は内部にも外部にも複雑なネットワークを有する階層構造の中に存在し、生物の進化はこの内部構造による制約と、外部生態系での選択圧の両面に制限される。よって進化の理解には階層をまたぐ必要であり、異なる階層を同じ理論で記述できれば大きく前進する。

外部適応の原理である自然選択は分子・個体・生態群集と異なる階層で働くことが明らかだが、内部制約の原理は明らかでない。生物の階層において、内部構造制約を表現する「揺らぎ応答理論(短期的な揺らぎと長期的な変化の関係)」があるが、異なる階層への適用は明らかでない。もしこの理論が生態系にも適用可能なら、分子から生態系をまたぐ理論へと発展し、自然選択などを含む統合理論の構築が飛躍的に進歩する。また人類の緊急課題である生態系変化の理解も躍進する。

本研究では、実験生態系における揺らぎ応答理論と、その生態系内部の生物進化を解析することで階層をまたぐ進化の理解を目指す。

【研究計画】

約 20 種の微生物による実験生態系を用いて短期的な揺らぎと長期的な変化の関係を解析する。具体的には本研究全体として下記 6 項目を行う。

- (1) 多様性などをある程度保ち継代培養できる条件を約 400 通りの中から 4 条件に絞る。
- (2) その 4 条件それぞれについて、約 100 の反復実験を行い、分散 V_i (短期的な揺らぎ。i は一つの測定次元)を測定する。
- (3) その 4×100 個の実験生態系を約 30 回(100 世代相当)継代して変化 Δx_i (x は測定値)を測定する(進化実験)。
- (4) 4×100 個の実験生態系の様々なパラメタの変化から V_i と Δx_i の関係性を解析する。
- (5) 進化実験の前後において大腸菌を単離し、ゲノムとトランスクリプトームの変化を測定する。
- (6) 以上を説明する数理モデルの構築を試みる。

平成 30 年度には以下のように(1)~(3)を行う。

- (1) 培養条件の選択: 実験生態系が比較的多様性を保ち安定となる条件を選ぶ。様々な条件(振盪と静置、光および温度の強度、炭素源濃度、その他栄養濃度など約 400 通り)での培養を、1 週間に一度、10 分の 1 に希釈して継代培養し、これを 8 回続ける。この中から 4 条件を選ぶ。
- (2) 生態系の短期的な揺らぎを計測: 上記 4 条件のそれぞれについて、約 100 反復の培養を 1 週間行い、約 40 次元のそれぞれの測定量 x_i に対して分散 V_i を求める。 V_i は測定で得られた分散から、培養を行わずに同じサンプルを測定したときの分散を引いたものである。定量 PCR は生物種の数だけプライマーセットがあり多量になるため、凍結したサンプルを用いて(3)以降を行いながら測定していく。 V_i は元の 4 条件の生態系それぞれについて、測定系の数だけ求まる。
- (3) 継代培養: 4 条件 $\times$ 100 反復の実験生態系を約 30 回(10 の 30 乗=2100 で 100 世代相当)継代する。継代中は簡易に顕微鏡観察、プレートリーダ、FCM による測定のみ行い、最後は全ての測定系を用いて、各測定量での継代前後の変化 Δx_i を測定する。それぞれの生物は 100 世代以上継代される(死亡があるためこれ以上になる。例えば大腸菌であれば 200~300 世代と予想される)。大腸菌や酵母の進化実験ではおよそ 100 世代あればゲノムに変異が入るため、進化が期待される(実験進化において最初の変異は有意義であることが知られている)。

植物感染糸状菌の共生性と病原性を規定する分子の進化論的考察

晝間敬(奈良先端大)

【研究目的・背景】

本研究では、植物根に感染する糸状菌が、同種でありながら同一宿主に対して片や共生型、片や病原型という好対照的な進化の方向性を決定する因子の同定・解析を目的とする。

糸状菌 *Colletotrichum tofieldiae* (*Ct*)は様々な植物から単離されている。モデル植物シロイヌナズナから単離された *Ct* は貧栄養条件下でアブラナ科植物の生長を促す(Hiruma et al., Cell 2016)。一方で、日本のオオアマナから単離された *Ct* の1株はシロイヌナズナの生長をむしろ阻害する病原菌であることを見出し、異なる地域・植物への適応進化の結果、*Ct* 株間の感染戦略は同種という制約のもとでも共生型から病原型まで幅広く変化していることが推察された。

そこで、同種でありながら多彩な感染戦略を示す *Ct* 株間での比較ゲノム解析と *Ct* 株の植物感染時のトランスクリプトーム解析を行い、植物感染糸状菌の感染戦略の可塑性のメカニズムや、その進化の方向性を決めた因子の絞り込みを目指す。次に、絞り込んだ菌・植物因子に関して、遺伝子欠損変異体を解析し、その機能を明らかにする。さらには、様々な進化圧を宿主内で与えることで(若手研究 B の成果)、*Ct* を実験室内でそれぞれ(共生か病原)の表現型を強める方向に進化させる。上記の解析結果を組み合わせることで共生菌の進化の方向性を、*Ct* 株内と *Ct* 株間の遺伝子発現や表現型の揺らぎから予測できないか考察する。

【研究計画】

今年度は、第一に、日本から新たに得られた *Ct* 株 3 株(うち1株は病原菌として振舞う)の菌糸は蛍光タンパクでラベル化したのち、それらの根における感染様式を共焦点レーザー顕微鏡を用いて明らかにする。そのゲノム情報を PacBio 及び Illumina シークエンスにより取得し、すでにゲノム情報を取得している *Ct* 株 5 株(植物生長を促す)のゲノムと合わせて比較ゲノム解析を行う。比較ゲノム解析により、進化速度が速い遺伝子群(領域)の同定を目指す。

第二に、貧栄養条件下で植物生長を促す共生型 *Ct* 株(スペイン、Hiruma et al., Cell 2016)と同一条件下で植物生長を阻害する病原型 *Ct* 株(日本)、病原型 *Ct* と同地域の同植物種から単離されたにもかかわらず植物生長を促す *Ct* 株(日本)を植物根に接種し、菌・植物双方の時系列遺伝子発現プロファイリングを取得する。本年度は、遺伝子発現の揺らぎとゲノム上での進化速度の関係を考察するために必要なサンプル量などを推定するための予備実験を行う。

発現量揺らぎ—適応系により探るプロテオームの制約条件とその適応—進化への影響

守屋央朗(岡山大)

【研究目的・背景】

細胞内のタンパク質には、その発現量の変動が適応度に強い影響を与える—強い制約を受けているものと、発現量を多少変動させても適応度に影響を与えない—制約を受けていないものがある。私たちは、出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)のほぼすべての種類のタンパク質を対象として、それぞれの発現量がどれくらい制約を受けているのかを、独自に開発した発現量揺らぎ—適応系(gTOW 法)により調べてきた。その結果、大半のタンパク質の発現量は制約を受けていない一方、2%程度のタンパク質の発現量のみが強い制約を受けている事を明らかにした。本研究では、先行研究で構築されたこの発現量揺らぎ—適応系をハイスループット化することで、課題1:発現量の制約は環境により変わるのか、課題 2:発現量揺らぎは適応—進化に寄与するのかを追求する。

私たちの発現量揺らぎ—適応系は、一つの生物が持つすべての種類のタンパク質の発現量の制約を体系的に調査できる唯一の実験系である。この実験系は、標的タンパク質の発現量揺らぎを過剰方向に数十倍拡張することができ、与えられた環境でどのタンパク質の発現変化が最も適応的かをプロファイリングできる。さらに、短期的に起きる適応と長期的に起きる進化の間に存在する、適応から進化に至る中期的なイベントを短時間で観察できる。これらの特徴から、本実験系は、進化制約方向性領域で検証・確立を目指す「制約進化理論」や「揺らぎ応答理論」が、真核細胞の適応—進化に適用可能かを実証するのに最適な実験系であると私たちは考えている。

【研究計画】

研究目的の 2 つの課題を追求するために、従来の発現量揺らぎ—適応系をハイスループット化し、様々な環境における発現量の制約と発現上昇による適応を並列に評価する実験系の構築を行う。実験系は、以下の3つのステップから成る。1) *S. cerevisiae* の 5,800 種類の各遺伝子を 2 μ プラスミドに連結し、それぞれを酵母に導入する(すべての遺伝子を発現量揺らぎ—適応系に乗せる)、2)この 5,800 種類の株を混合し様々な環境下で培養する(コピー数適応を一斉に行わせる)、3)混合培養後の細胞集団からプラスミドを回収し、各プラスミドのコピー数を次世代シーケンサーによるインサートの出現頻度により解析する(コピー数の制約と適応的コピー数を測る)。

平成 30 年度は、上記の実験系を完成させることを第一の目標とする。本研究で最もコストのかかる1の株の構築については、すでに先行研究で終了している。本研究では、特に2と3に注力する。系が完成できた時点で、高温・貧栄養・薬剤存在下などの様々な環境におけるプロファイリングへと移行し、年度中に5程度の環境をプロファイリングする。平成 31 年度は、酵母が通常増殖できないような過酷な環境での実験へと移行する。さらに、特定の環境下で制約が弱まったり適応的に働いたりするタンパク質が見つかった場合には、これらを個別培養してハイスループット解析の結果を再確認するとともに、より詳細なメカニズムの解析も行う。

ネットイツメガエル胚発生における転写因子一標的遺伝子関係の揺らぎ測定

安岡有理(理化学研究所)

【研究目的・背景】

多細胞生物ボディプランの進化をもたらす大きな原動力の一つは、胚発生期における遺伝子発現パターンの変動、すなわち遺伝子制御ネットワーク(GRN)の改変である。GRNの進化は一般的に次のような過程で起こると想定されている。(1)ゲノム中のシス制御配列の変化、(2)シス制御配列に結合する転写制御因子の種類や活性の変化、(3)標的遺伝子の発現時期・領域・量の変化、である。このシス制御配列を介した転写因子一標的遺伝子関係の進化は、進化発生学分野の大きなテーマの一つであり、特定の遺伝子の発現を制御するシス制御配列の系統間比較解析がこれまで数多くなされてきた。しかしながら、遺伝子発現制御機構の進化過程を個体内あるいは種内といったより短い時間スケールで動的に捉えるような研究は未だなされておらず、GRN進化の制約と方向性を定量的・理論的に導き出すには至っていない。そこで、本研究ではこのGRNの進化が転写因子一標的遺伝子関係の揺らぎとそれに対する応答によってもたらされているという仮説を立て、それを実験的に検証することを目指す。

【研究計画】

本研究ではネットイツメガエル近交系を実験材料として用い、胚発生期における転写因子一標的遺伝子関係の揺らぎを測定する。具体的には、転写因子の結合の揺らぎをクロマチン共免疫沈降シーケンス(ChIP-seq)解析で、標的遺伝子の発現の揺らぎを摂動実験(転写因子機能阻害)胚のRNA-seq解析で、シス制御配列の揺らぎをゲノムリシーケンスで、それぞれ定量的に測定する(図1)。その結果を基に、以下の三つの揺らぎ応答関係を実験的に検討する。

[研究1]シス制御配列非依存的な転写因子結合の揺らぎが標的遺伝子の発現制御に影響するのかを、明らかにする。近交系統内でシス制御配列にSNPがほとんどないことを確認した上で、転写因子結合が揺らぎやすいシス制御配列や標的遺伝子の特徴を明らかにする。

[研究2]シス制御配列のSNP頻度と、転写因子結合および標的遺伝子発現制御の揺らぎが相関するのかを、近交系統間の比較を行って明らかにする。シス制御配列を近縁種のアフリカツメガエルのゲノム配列とも比較し、種内の揺らぎが種間の揺らぎにまで反映されているのかを検討する。

[研究3]転写因子一標的遺伝子関係の揺らぎの大きさが、転写因子や発生段階の保存性と相関するのかを明らかにする。進化的な保存性が高く発生過程を通じて幅広く利用されている転写因子と、保存性が低く発生過程で一過的に発現する転写因子の揺らぎの大きさを比較する。さらに、同じ転写因子でも発生段階に応じて標的遺伝子の揺らぎが変化するのかを検討し、咽頭胚期の遺伝子発現の保守性を担保する制御メカニズムの一端を解明する。

平成30年度は、ゲノム解読された系統と由来が同じで、安定して良質な胚を大量に得られるGolden系統を実験に用い、**[研究1]**および**[研究3]**を進める。

ゲノム倍数性がもたらす進化可能性～揺らぎと安定性の両立～

大林龍胆(遺伝研)、畠山哲央(東京大)

【研究目的・背景】

本研究では染色体(ゲノム)倍数化が生物進化に及ぼす影響とその過程を実験と理論の両面から解き明かすことを目的とする。ゲノムの倍数性は、現存する様々な生物種(真核、原核生物)に偏在する形質である。古くから倍数体生物は環境変動などの適応能力が高いことが示唆されているが、その基本原理の解明には至っていない。ゲノム倍数化と進化の関係について、有名な仮説として大野乾によって提唱されたゲノム重複説がある。これは、ゲノム重複により冗長性が生じ、正常な遺伝子を保持したまま、コピー遺伝子を改変でき、新規形質の進化が促進されるという仮説である。この仮説は近年のゲノム解析により実証されつつある。ゲノム重複説によれば、ゲノム倍数化は進化的に有利な形質であるように一見思える。他方、進化速度の観点では、ゲノム倍数化は進化的に不利な形質であると考えられる。集団遺伝学におけるFisherの基本定理によれば、進化における適応度の増加率は、適応度の分散に比例する。つまり、表現型の「揺らぎ」をより大きくした方が、進化速度をより速くすることができる。1細胞あたりのゲノムコピー数が多い状態では、1つのゲノムに変異が入っても、その他の正常コピーによってその効果が打ち消されるまたは弱められるため、変異の効果が表現型として現れにくい。したがってゲノム倍数化により進化速度は遅くなることになる。そこで、本研究では、これまでの理論のみに基づくと一見矛盾する、ゲノム倍数性による進化理論を実験生物学により定量的に捕えることで、ゲノム倍数化と進化の關係に存在する普遍原理の解明を目指す。

【研究計画】

ゲノムの倍数化が進化に与える影響の実験的な検証にあたり、本研究ではシアノバクテリアをモデル生物として用いて、人工進化実験を行う。シアノバクテリアは1細胞内に複数コピーゲノムを保持している原核生物である(大腸菌などの一般的な原核生物は1細胞あたり1つのゲノムを保持する1倍体)。先行研究で、シアノバクテリアは各増殖期でゲノムのコピー数が変動することが知られている。興味深いことに、世界各国で保持している代表的なシアノバクテリアの比較ゲノム解析の結果より、定常的な環境ではシアノバクテリアの遺伝情報は、非常に安定である(進化速度が遅い)一方で、適応的な変異が生じ(固定し)やすいことが読み取れる。この形質は、まさに上記矛盾点を両立しているように見える。そこで本研究では、いかにしてシアノバクテリアがこのような遺伝情報の安定性と進化を両立しているのかを、人工ヘテロゲノム系による構成的手法を構築し検証する。この構成的手法を用いることで、複数ゲノムのうち一部のゲノムが生存に有利な(変異を獲得した)場合、そのゲノムが集団内でどのように広がり、また淘汰されていくか、つまりヘテロな遺伝情報が表現型として固定されるまでの進化速度を検証していく。

テントウムシ斑紋の揺らぎから探る表現型進化の制約と方向性

新美輝幸(基生研)

【研究目的・背景】

ナミテントウは、極めて多様性に富む斑紋多型を有する昆虫である。この多様な斑紋パターンは、単一遺伝子座に座位する複対立遺伝子により支配されており、それらの組み合わせによって決定されることが古くから明らかにされてきた。また興味深いことに、ナミテントウの紅型では温度や性に依存して黒点のサイズが揺らぐことが知られている。我々は、ナミテントウの斑紋多型を司る斑紋プレパターン遺伝子の同定に成功した。さらに、この遺伝子が有する翅の黒色領域を決定する機能は、他のテントウムシでも保存されていることを明らかにした。また、従来の「非モデル生物」であったナミテントウにおいて、トランスジェニック技術・ゲノム編集技術・RNA 干渉法といった遺伝学的な解析手法を開発してきた。

本研究は、温度という環境変化に対して斑紋の黒点サイズが揺らぐ明瞭な現象を有するテントウムシに着目する。研究材料には、種・属・科のレベルで斑紋に多型性および単型性を示す各種テントウムシを用いる。申請者が世界に先駆けてナミテントウにおいて同定した翅の黒色領域のパターンを決定する転写因子をコードする斑紋プレパターン遺伝子に焦点を絞り、材料に用いる昆虫の利点や申請者がこれまでに確立した遺伝子機能解析法を活かし、斑紋プレパターン遺伝子の温度応答エンハンサーを通して、黒点サイズという表現型の揺らぎと斑紋多型という進化の可変性について「揺らぎ応答理論」が適用可能かを検証する。

【研究計画】

1. ナミテントウにおける温度摂動による黒点サイズ応答及び斑紋プレパターン遺伝子の発現応答の解析

温度摂動による斑紋プレパターン遺伝子の発現の揺らぎを定量 RT-PCR 法により測定することで、温度摂動による黒点サイズ応答が斑紋プレパターン遺伝子の発現応答との関連性を検証する。

2. 温度摂動に対する斑紋プレパターン遺伝子発現の時空間的な動態変化の定量解析系の開発

ゲノム編集を利用して生きたまま斑紋プレパターン遺伝子の発現活性をモニター可能なエンハンサートラップ GFP ノックイン系統を作出し、温度摂動に対する斑紋プレパターン遺伝子の発現の時空間的な動態変化を定量的に解析する実験系を開発する。

3. ナミテントウにおける斑紋プレパターン遺伝子の温度応答制御領域の同定

申請者らが解読したナミテントウのゲノム情報を利用して、形質転換体を用いた遺伝子機能解析により、斑紋プレパターン遺伝子の温度変化に応答するエンハンサーを同定する。

『桑港 (1936)』に始まる「カタストロフ映画」の系譜

倉谷 滋

このところ、進化における「カタストロフ」について考えているうちにできてしまったのが以下のエッセーである。

ハリウッド映画における特徴的な映画ジャンルのひとつに、「カタストロフ映画」と私が勝手に呼んでいるものがある。気をつけて欲しいのだが、これはいわゆる「パニック映画」というのとはちょっと違う。似ているようでも、コンセプトとして別の映画群だと思った方がいい。

パニック映画の主演はあくまでパニックそのものだ。観客は竜巻とか大地震に代表される天変地異、つまり人の力ではどうにもならない大自然の威力とか、さもなければ巨大建造物の崩壊のようなものが見たくて人間は映画館に出かけるのである。例を挙げるなら、『ディープ・インパクト (1998 年、アメリカ)』とか、『大地震 (1974 年、アメリカ)』とかが天変地異を扱った典型的なパニック映画であり、いわゆる怪獣映画というものもこの一変形と言っていいかも知れない。例えば、『シン・ゴジラ (2016 年、東宝)』や『ランペイジ 巨獣大乱闘 (2018 年、アメリカ)』のように。そして、怪獣を人間の作り出した大袈裟な建物や豪華客船に変えれば、『タワーリング・インフェルノ (1974 年、アメリカ)』とか『ポセイドン・アドベンチャー (1979 年、アメリカ)』とか、特殊なところでは『チャイナ・シンドローム (1979 年、アメリカ)』のような社会派の告発映画になったりもするわけだ。このような、どちらかと言えば純粋なパニック映画は、アクション映画の材料として便利に使われることもあり、ブルース・ウィリス主演の『ダイ・ハード』シリーズとか、スティーヴン・セガールの『沈黙の・・・』シリーズなどは、パニック映画の素材をまさに効果的に舞台設定として用いているといえる。

とまあ、この手のパニック映画は昔から山のようにあって、ようするに人間は基本的に大袈裟なハプニングを他人事として好む習性を持っているということなのであろう。そうい

う要素は確かにある。しかし、それだけではないかも知れない。それを色濃く示すのが、ここで扱う「カタストロフ映画」なのだ。

さて、「カタストロフ映画」とは何か。それは単なる「パニック映画」とどう違うのか。一言でいうとそれは、人間の力だけではどうにもならない本質的な人生の大問題が、まさにカタストロフによって予定調和的に解決し、結局「カタストロフがあつてむしろ良かった」といわざるをえないようなハッピーエンディングを迎え、そしてその故にこそ、冷静に考えるとちょっと納得できない内容になっているような、あの一群の映画のことである。つまり、この種の映画においてカタストロフそれ自体は主役ではなく、むしろ脇役なのだ (注)。ちなみに、このジャンルの映画もアメリカには昔から山のようにある。

注：そんなことを言うと、まるでギャオスを倒すためであるかのようにガメラが復活する『ガメラ・大怪獣空中決戦 (1995 年、大映)』や一連の「ウルトラマン・シリーズ」のことを言っているようにも聞こえようが、確かにその通りだ。絵に描いたようなスーパーヒーローが出てくる怪獣映画は、子供向けに作られた「カタストロフ映画」の変形版にすぎない。対して、ヒーローが登場しない『ウルトラ Q』は、パニック映画の範疇に属する。

分かりやすい映画をネタバレ込みでひとつあげよう。サム・ライミ監督によるホラー映画に『ポゼッション (2012 年、アメリカ)』というものがある。アメリカのある小さな街に、両親が離婚の危機を迎えた家族があつて、あるときその次女に悪魔が取り憑く。最初は父親だけがその異変に気が付くのだが、母親のほうは彼の言葉に耳を貸そうともしない。両親の感情が擦れ違うこの一連のシーンは、ある意味、悪魔のシーンよりはるかに怖ろしく、またストレスフルかもしれない。そりやそうだろう。夫婦喧嘩や別れ話の経験者はこの世にごまんといて、誰もが身につまされるに違いないが、本物の悪魔と戦った人間はおそらくあまり (あるいは一人も) いないだろうから……。いわゆるホラー映画というのは、生活が比較的上手くいって、余裕のあるときに

こそ楽しめる映画のことであり、はっきり言って現実味のある不幸を露骨に表現するのは御法度なのだ。その意味で、『ポゼッション』は例外的なホラー映画なのだ（あるいは、これはホラー映画ですらないのかも知れない - 伏線のつもり）。

まあとにかく、次第に悪魔は羽目を外し、その能力を遺憾なく発揮し、ついには奥方に言い寄る恋人を惨殺するに至る（ちなみに、なぜこの恋人だけが被害者になるのか、結局最後まで不明に留まる）。そして、それによってやっと悪魔の所在が認められることになる。当然の成り行きとして、勇気あるユダヤ教のラビによる悪魔払いが始まり、壮絶な戦いの果てに悪魔は滅びる（ように見える）が、重要なのはそれによって家族の絆が「回復」することなのである。よかったよかった。

しかしよくよく考えてみれば、家族が一体となる上で最も邪魔であったはずの、あの母親の恋人を殺したのは、そもそも悪魔ではなかったか。もし、次女に悪魔が取り憑かなかったなら、両親の別居は長引き、一方で母親と恋人の関係はどんどん深まり、その先には確実に離婚が待ち受けていた。いわば、人間関係がその本来のあるべき姿を取り戻す上で、人間の能力だけではいかんともしがたいものがあり、一種の触媒的作用を行う強大な存在（怪物や大事件）が是非とも必要になるということがここで明らかになっている。逆に言えば、人間は本質的にひ弱で情けない存在なので、自力で幸せになれるヤツなんか滅多にいない、ということにもなる。

さてでは、映画『ポゼッション』から、我々は何を学ぶべきなのか。あの、人並み外れた破天荒さで名を馳せたサム・ライミ監督のことだから、映画の真の目的を把握しようとしても一筋縄でいくわけがない。例えば、ホラー映画のように見えて、その実、趣味の悪いコメディとして大成功した名作がひとつある。あるイヤな女が自業自得で延々と呪いに苦しんだ挙げ句、とうとう破滅してゆくその瞬間、観客が納得して溜飲下げるといふ珍しい映画、『スベル（2009年、アメリカ；原題は「Drag Me to Hell」さしずめ、「私を地獄に連れてって」と言う意味）』がそれだ。基本的にこの監督、人間の情けなさをあざ笑うという自虐的で小気味のよい体質を非常に色濃く持っていて、『ポゼッション』においても、悪魔に惨

殺される母親の恋人に対して、「いい気味だ」という思いはちょっと禁じ得ない。夫の留守を良いことに他人の嫁に手を出す間男なんかより、ラビとタイマン張る悪魔の方がよっぽど男らしく清々しいと、誰でも思うだろう。思わない？ むろん、悪魔払いなど、今となっては映画のネタとして何の新鮮味もない。あるいは、「悪霊よりも人間の方が怖ろしい」などと、社会派でもないクセにわかったようなこと言ったところで所詮虚しいだけ（『エイリアン』シリーズ最大の汚点がそれだ）。むしろ、人間は一人残らず意地汚く、それでいて無力で臆病なのだ。そんなことは最初から分かっている。

『ポゼッション』を観て頭をよぎるのは、「悪魔が娘に取り憑いてくれてむしろ良かった。悪魔がいなければ、我々家族はどうなっていたか分からない」という、主人公一家にとっての「アイロニカルな安堵」である。それもまた人間の意地汚さから湧いて出る感情であり、それを傍から見て笑い飛ばすのが、『ポゼッション』の正しい見方だという可能性は確かに否定できない。さもないければ、『ポゼッション』は『エクソシスト（1973年、アメリカ）』に数段劣る凡作になってしまいうだろう。サム・ライミ監督作品がそんな駄作であるはずがない。ならば、そこにはきっと独特のアイロニーが仕込まれているに違いない、そして、それでもって我々を笑わせてくれるに違いない、というわけだ。それが実際に見え隠れするところがいかにもサム・ライミ監督なのである。たとえば、「離婚の危機が大事件によって回避される」というイベントであれば、『ジュラシック・ワールド（2015年、アメリカ）』も同じことで、そこでも大勢の人間が死んでいるが、この映画には『ポゼッション』におけるほどの矛盾や違和感はない。パニック映画としての『ジュラシック・ワールド』の主人公は、あくまで恐竜たちなのだ。しかし、『ポゼッション』の主人公は決して悪魔などではなく、あのどうしようもないぼんくら家族以外にあり得ない。

アメリカン・スピリットの特徴として、「何はなくとも家族の絆が一番」とか、「愛こそすべて（男女関係は本来、収まるべきところに収まるものなのよ）」という価値観があり、それ自体はまったく悪くはないし、日本人も共感を覚えることこの上ない。が、同時にハリウッド

映画は、その理想を成就することがしばしば非常に難しく、時として真の安定・安寧に辿り着くために飛び越えなければならない目の前の山があまりにも高く、陰しく、そのため、準安定な地点に不本意ながら留まり続け（現状に妥協し続け）そのまま死んでしまう人々がほとんどだという現実を暴露してしまっている。『ポゼッション』を通じて延々見せつけられるのは、正常な家族関係を回復しようとする父親の虚しくも果てしない悪あがきなのだ。

むしろ、この困難を飛び越えるために必要とされるエネルギーは人間業では生まれてこない。かくして、そこで持ち出されるのが「カタストロフ」ということになる。そういう意味で、『ポゼッション』における悪魔憑きは、その本来の意味での「カタストロフ」、つまり、「カタリスト（触媒）」なのであり、それが「カタリシス（感動）」を呼び込む。ならば、カタストロフは天変地異や事故だけである必要はない。『ベン・ハー（1959年、アメリカ）』における、キリスト復活に伴う一連の奇跡もまた、人の力を越えた出来事であるには違いなく、同種の予定調和的幸福をもたらしている。実際、ベン・ハーはこの奇跡を通じて家族を取り戻すのだ。『日本沈没（1971年、東宝）』においていしだあゆみと藤岡弘を結びつけたのが地震だったように……。これら大事件を扱った映画群は、みな同じ構造をもっている。

以上のような定義に当てはまる「カタストロフ映画」は極めて多い。特に、SF特撮映画に多い。当然だ。天変地異や怪獣が持ち出されてはじめて話が完結するのだから。例えば、60年代の良質なSF映画のひとつ、『地球は壊滅する（1965年、アメリカ）』は、ある地球物理学者が地下資源を地表にもたすために、地殻に水爆を打ち込むというトンデモ国家プロジェクトの話だ（『コア（2003年、アメリカ）』や『日本沈没』とも少し似ている）。昔、民放でよく放映されてたけど、いまはDVDすら発売されていないのが残念だ（国内では）。さて、このイケイケ博士の奥さんの昔の恋人、男前の主人公博士が、ただ一人この計画に反対し続ける。しかし、この男前の思い虚しく実験は敢行され、そこから地球に大きなひびが入り始める（!）。「このままでは地球が潰れる」と、科学者達は奔走するが、そうこう

しつつもイケイケ博士のイケイケ奥さんは男前博士が気になって仕方がない。だって、昔の恋人だったんですもの……。ついに地殻のひびが大きく広がり、地球の十分の一が「第2の月（!）」となって天空に飛び出すことになるが、そのカタストロフを最後まで見守るイケイケ博士はさすがに責任感じたのか、実験室に閉じこもったまま死んでしまう。おかげで奥さんと男前博士は晴れて結ばれるのであった、メデタシメデタシ……。って、結ばれるべき男女が予定調和的に結ばれるために、地球の10パーセントが破壊され、何千万もの人間が地震その他の災害で命を落としているというのは、ちょっとなあ……。これでいいのかなあ。

これと極めて良く似た映画で、ジョージ・パール監督の『地球最後の日（1951年、アメリカ）』というのがあった。あるいはエメリッヒ監督の『2012（2009年、アメリカ）』でもいい。2本の映画をいっぺんに紹介しようと言うのはいかにも乱暴なのだが、このエッセイの中で両者はほとんど同じ映画なのだから仕方がない。なんなら、『地球は壊滅する』も加えて3本一度に紹介すべきだったかも知れない。つまり、地球がどうにかなってしまうというレベルのカタストロフが起こった結果として、ある男女（恋人もしくは夫婦）の仲が成就し、その結果はみ出された間男と、それに加えてその他大勢の無関係な人々が大規模に死んでしまうと言う話だ（ほらね、同じでしょ）。ひどい。そういう意味で、エメリッヒはアメリカ映画の伝統をよく守っており、ハリウッド版『GODZILLA（1998年、アメリカ）』においても、同じパターンがすでに部分的に現れている。

そもそも恋愛劇というのはどこか椅子取りゲームにも似て、誰かが幸せになるとあぶれものが不幸になるようにできている。現実世界における失恋も同じことだが、映画の場合、失恋の結果として「不本意な死」というペナルティが待っていることが多い。あんまりだ。だから、現実には失恋を経験しながらそれでも生き残っている我々こそ、むしろ幸いと言うべきだ。それにしても、『2012』における間男君の死に方は特に酷い。せっかくできた新しい恋人を元亭主に奪われ、「もう、お前に用はない」とでも言わんばかりに巨大な歯車に挟まれ一瞬にしてミンチになってしま

う彼は、一体何のためにこの世に生まれてきたのだろう。あれは一種の罰ゲームだったとでもいうのだろうか。この映画を観たあとでは、当分の間メンチカツが食べられなくなることを請け合いだ。

他にも多いよ、この手のハリウッド映画。

『ポンペイ (2014 年、アメリカ)』も、『ツイスター (1996 年、アメリカ)』も、あの火山が噴火しなかったら、あの竜巻さえ起こらなかったら、私たちはずっと恋人のままでいられたのに、という映画だ。あるいは、主人公側の視点から見れば、「カタストロフが起こってくれたおかげで、僕たち (私たち) は別の異性との本当の愛に気づくことができた」ということになる。まるで、水原弘の歌う「君こそわが命」のサビの部分だけ何度も何度も繰り返すみたいな身勝手な話だ (若い人には分からなくてゴメン)。で、そもそもこの手の映画の走りは何だったのかと問うならば、ひょっとしたらそれは、70 年代に量産されたパニック映画などではなく、それよりずっと以前の『桑港 (1936 年、アメリカ)』だったのではなかったか、というのがこのエッセイの結論だ (ひょっとしたら、それ以前にもあったかも知れないが、ご存じだったらどうかご教示願いたい)。さて、それはどういう話か。

サンフランシスコでオペラ歌手を目指すマリー (演: スペンサー・トレイシー) には、彼女の夢を理解しない恋人のブラッキー (演: クラーク・ゲーブル) がいて、彼はマリーの働くダンスホールのオーナーでもある。恋愛と仕事がなかなか両立しがたいという、いまでもよくある話で、二人の中はついに破局、マリーは彼女の夢を叶えてくれるという金持ちのバーレーと結婚し、オペラ歌手への道にもようやく光が射しはじめる。が、その一方でブラッキーのことも頭から去って行かない。だって、昔の恋人だったんですもの……。その迷

いが頂点に達したとき、まるで計算でもしたかのように大地震がサンフランシスコを襲う。この地震は 1906 年に実際に起こったサンフランシスコ大地震に基づいており、その場面はミニチュアを用いた見事な特撮でもって再現されている。その意味で『桑港』は典型的な「カタストロフ映画」の条件を満たしている。おまけにこの地震のためにマリーは夫バーレーを失い (いい人だったのに)、それによって彼女が本当に愛していたブラッキーと再び結ばれる条件が一挙に揃うことになる。まるで絵に描いたような予定調和だ。

廃墟と化し、焼け出された大勢の被災者たちが行き交うサンフランシスコの瓦礫の中で再会するマリーとブラッキー。二人は互いにしっかりと抱き合い、見つめ合い、「やっぱり愛してるよ」、「やっぱり愛してるわ」と幸せ一杯な気分になって映画は幕を閉じる。人間の心や行動では何ともならないことを、カタストロフが一挙に解決してしまうわけである。おいおいそれでいいのか、マリー。君の亭主はさっき死んだばかりじゃないか。街だって滅茶苦茶じゃないか。明日からどうやって生きていくんだよ。まだ問題は解決していないと思うぞ。なんだかなー。

と、こんなことをあれやこれやと考えているうち、友人から昔聞いたことのある、「大人のための恋愛指南」に行き着いた。曰く、「10 代や 20 代の若者ならいざ知らず、一人前の大人の男女に何かが起こるというのなら、そりゃああーた、何か突拍子もないような事故でも起こらなきゃあねえ、そりゃあ土台無理な相談ってもんですよ」と……。ある意味、それを最も分かりやすい形で、そして空想の中で実現してくれるのがカタストロフ映画なのであるらしい。映画はまこと、我々の願望と夢の産物なのである。

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 3 No. 1

発 行 : 2019 年 4 月 19 日

発行者 : 新学術領域研究「進化の制約と方向性～微生物から多細胞生物までを貫く表現型
進化原理の解明～」(領域代表者 倉谷 滋)

編 集 : Constrained & Directional Evolution Newsletter 編集委員会(編集責任者 深津 武馬)

領域 URL : <http://constrained-evo.org/>