



Evolutionary Theory for

CONSTRAINED & DIRECTIONAL DIVERSITIES

Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 3 No. 12 (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～



令和元年度研究成果報告

目次

総括班活動報告	長谷部光泰	3
大規模解析支援報告	重信秀治	6
理論解析支援報告	古澤力	7
国際活動支援報告	入江直樹	8
計画研究成果報告(6課題)		
倉谷班「脊椎動物の筋骨格系の形態進化に見る制約と方向性」		9
金子班「進化のゆらぎ応答理論の確立と多階層・発生過程への展開」		10
入江班「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」		11
深津班「昆虫—微生物共生可能性の探索と分子基盤の解明」		12
古澤班「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」		13
長谷部班「摂動実験を用いた食虫植物の捕虫葉進化機構の解明」		14
公募研究成果報告(16 課題)		
田村班「胸鰭の鰭条本数の個体間ゆらぎ要因と種間形態多様性」		15
守野班「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」		16
土松班「「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」		17
小林班「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」		18
岡田班「武器と性形質進化における発生の拘束と可塑性」		19

小薮班 「骨化順序へテロクロニーの揺らぎと制約」	20
上野班 「酵素1分子の活性揺らぎと進化能の関係」	21
田中班 「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—」	22
石川班 「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」	23
市橋班 「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」	24
細田班 「生態系の揺らぎ応答関係と内部進化の実験的解明」	25
晝間班 「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」	26
守屋班 「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」	27
安岡班 「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」	28
大林班 「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—」	29
新美班 「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」	30
連載エッセイ(22) 『スターメイカー』、あるいは宇宙の多世界進化論	倉谷滋 31

領域代表挨拶

緒言:科学は戦う – 病魔を封じ込めた2人の「ジョン」(以下の内容は、集英社インターナショナル編「コロナブルーを乗り越える本」への寄稿より、一部改変したものをここに再録していることをお断りします)

2019年度は思わぬ出来事で幕を閉じることになりました。これについて、むかし読んだある本を思い出しました。それは、岩波少年文庫・イリーン、セガール著『人間の歴史』であります。もう、かなり昔のことですから内容を詳しく思い出すことはできません。しかし、どのようにしてヒトがヒトとなったのか、ということについて非常に興味をそそられ、何度も繰り返して読んだことは覚えています。小学生の頃、私は典型的な理系の少年で歴史は苦手だったのですが、この本は歴史でもなく、かといって普通の科学でもなく、しかし紛れもなく我々が動物からヒトになった、まさにそのときに何が起こったのかということについて非常に分かりやすく書かれていたわけです。

そう、科学はその歴史の延長にある、非常に基本的な人間の営みです。人間は常に前進し、昨日よりもより暮らしやすい明日が来ることを望んでいる。その結果として、人間がさまざまな制度や仕組みに依存して生きようになる。結果としてライフラインができてしまう。人間は自らの体の外側にさまざまな機能を創り出した結果として、弱点をもさらけ出すことになったわけです。いまでも大災害を報道する映像の中で、まるで何事もないかのように飛び回っている鳥類を見ることがあります。これと同じことを、今回の新型コロナウイルス蔓延について感じました。

話は単純ではありません。これまで人間は、さまざまな病気をさまざまなレベルで克服してきました。根絶することのできたウイルスは、牛痘と天然痘の二つだけですが、多くの治療薬やワクチンが開発され、予防のための方法論も充実してきました。これは確かに人間の強い部分です。では、今回のウイルスは何が違うのか。これほどまでに文明が発達した社会を襲ったことでしょうか。いえ、過去の伝染病は常にその時点で最も発達した文明社会を襲っていました。その点に関しては、特別なことは何もありません。そして、病魔を撃退する社会的テクノロジーの基本も同じです。1681年、哲学者ライプニッツがペスト対策のために記したという『エルンスト・アウグスト公爵のための覚書』が先日、工作舎ウェブサイトで期間限定公開されましたが、それを読むと、当時の状況が驚くほど現在の新型コロナウイルス禍と似ていたことが分かります(*)。

* <https://www.kousakusha.co.jp/NEWS/weekly20200407.html>

「見えない敵」に対する防御の技術、人情を犠牲にしても貫徹しなければならない論理。蔓延阻止のための社会学的テクノロジーの基礎が、すでにしてかの天才の頭脳の中に完成していたわけです。人類史は疫病との戦いの連続でありました。いや、我々の祖先がまだ人類ですらなかった頃から病気はずっと我々ともにあったといっているでしょう。この脅威に対し、社会学と科学のテクノロジーが応戦するようになったこと自体ごく最近のことです。ポール・バーバー著『ヴァンパイアと屍体:死と埋葬のフォークロア』は、18世紀までの吸血鬼伝説が、当時における疫病の蔓延と、非科学的な「死」の認識に由来していたことを明らかにしています。当時、病院は「死ぬためにゆく場所」でした。病人を一カ所に集めておかないと、健康な人びとまでが冒されてしまうからです。それが、「病気を治す場所」に変わるうえでの最大の功績者は、18世紀末期に活躍した稀代の外科医、ジョン・ハンターでした。その活躍は、ウェンディ・ムーア著『解剖医ジョン・ハンターの数奇な生涯』に詳しく述べられています。いま、当たり前のように行われているエタノール消毒を発明したのがそもそも彼でした。病の根絶のため、身を以てそれを体験せねば気が済まない彼は、梅毒を含めたあらゆる病原体を自分自身に接種したのです。種痘の開発者として知られるジェンナーは彼の弟子です。

スティーヴ・ジョンソンの『感染地図』も、科学的に病原体を封じ込める人間の戦いを綴った快作です。コレラが襲った19世紀ロンドンではまだ下水道が完備されておらず、土壌から井戸を通じ、人びとの口にこの「見えざる敵」が入り込んでいました。コレラの犯人すらも知られていなかった時代、感染区域の広がり方からある傾向を見出した1人の「探偵」がいました。その名は、ジョン・スノー。彼は、綿密な調査と根気と直感で、犯人の移動経路が井戸であることを突き止めてゆきました。これが切掛けとなり、ロンドンの下水システムは完備されるに至ったのです。

病は常に文明とともにあります。都市の成長や構造変化、そして人の動きが新たな病原体の蔓延経路を構築します。そして21世紀、我々はグローバル経済を享受し、都市の構造はかつてなかった広がり複雑さを見せ、あらゆる情報や物資や人間が凄まじい早さで、途轍もない距離を移動するようになりました。人類史を振り返るとき、それによって現在を認識するとき、我々は直面している困難の真の顔を知るのだと思います。さて、今回のウイルスが本当にターゲットとしたのは一体何だったのでしょうか。ウイルスが惹起した、さまざまなレベル、さまざまな階層にある別の種の戦いが、人間同士の間で不必要に繰り返されてはいなかったのでしょうか。これもまた、社会のシステムに従って生ずる現象です。我々がかつての動物的状态からヒトとなり、社会を構築し、文明が拍車をかけ、いま、社会ソフトウェアがかつてない複

雑さに達している。その複雑さは、我々がボディプランとか、形態形成の創発現象と言ったようなものに見出しがちな、あのマルチレイヤーのなかに浮かび上がってくる現象と似ていなくもありません。今回はまさに、そのシステム構造それ自体が弱点になっているような気がしてなりません。そして、想像も付かないような社会レベルでの適応を新たに迫られている。そのなかで、進化生物学の提示できる可能性は決して小さくはないと思います。

倉谷 滋

総括班活動報告

長谷部 光泰

生物は決してランダムに多様化しているのではない。発生プログラムの変更や形態進化の変更には不均一さや、変わりにくい部分があり、それが進化の性質を示すように見えながら、正確に記述されたことはまだない。本新学術領域では、この制約と揺らぎをさまざまなレベルで検出し、個体間差や環境変化による表現型変化など短期的な時間スケールで観察される表現型揺らぎと、長期的なスケールで起こる表現型進化の制約や方向性がどのように相関しているかを実験的に解明し、制約進化理論の適用範囲の検証と修正を行うことで、何が表現型進化に制約と方向性をもたらすのかを明らかにすることを目的とする。そして、従来の自然淘汰理論、中立進化理論を包含し、生物進化をより包括的に説明できる理論の構築を目指す。

これらの目的の達成のために、総括班は計画研究及び公募研究の支援を行うとともに、理論と実験の融合を促進し、もって各研究結果から一般性を導き出すべく、以下の活動を実施した。

(1) 総括班会議・国際活動支援班会議の開催:2019 年 4 月 22 日、23 日に総括班研究協力者佐藤矩行先生の御世話のもと、沖縄科学技術大学院大学において第 5 回総括班会議を開催し、昨年度の領域活動の総括と今年度の領域活動計画を策定した。特に、中間評価取りまとめ方法について議論、作業調整を行った。また、大規模解析支援の支援対象の決定を行った。2019 年 12 月 21 日、22 日に自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンターにて開催した。今年度の領域活動の総括と、中間評価コメントをもとに来年度以降の領域活動計画を策定した。

(2) 領域会議の開催:2019 年 4 月 22 日、23 日に沖縄科学技術大学院大学において第 5 回領域会議、2019 年 12 月 21 日、22 日に自然科学研究機構岡崎コンファレンスセンターにて第 6 回領域会議を開催し、各班の研究計画について討議した。

(3) 大規模解析支援:第 4 回大規模解析情報交換会を開催した(2019 年 4 月 23 日、OIST にて)。大規模解析技術のアップデート情報と HiC によるゲノムアセンブル手法について情報共有を行なった。第 5 回大規模解析情報交換会を開催(2019 年 12 月 21 日、岡崎コンファレンスセンターにて)。計画班及び公募班で大規模解析を実際に担当している研究者が、失敗談や未解決の問題を含む具体的な経験を披露し、それをもとに参加者全員で議論を行った。2019 年度は新たに 13 件の支援課題(計画班 3 件、公募班 10 件)を所定の審査を経て採択した。研究の進捗次第で柔軟に支援ができるよう、年度途中の随時申請に対応した(上記 13 件中 7 件)。上記支援課題に対し、総括班大規模解析支援チーム(長谷部・重信に加えて、博士研究員 1 名、研究支援員 1 名)が研究支援を行った。打ち合わせや実験における人的交流を含む各班員と支援チームの緊密な連携が図られた。支援内容は多岐にわたるが、超多サンプル RNA-seq、ロングリードによる細菌ゲノム解読、非モデル生物の新規ゲノム解読、細菌叢解析、ナノポアによるプラスミド解析などである。大規模解析支援チームでは領域内ニーズに合わせた技術開発を進めた。ナノポアシーケン

シング、de novo ゲノムアセンブリ、微量サンプルからの超多サンプル RNA-seq、ATAC-seq、シングルセル解析など。新しい解析技術の情報収集や導入も積極的に行なった。

(4) 理論情報支援：2019 年度は、第 5 回領域会議後に、第 4 回理論情報交換会を開催し、信州大学の浅見先生に螺旋卵割の左右性の進化について講演をしていただき、量的形質の進化に関して活発な議論が行われた。また、第 6 回領域会議後に第 5 回理論情報交換会を開催し、ハンズオンセミナーとして、プログラミング言語 Python を用いた機械学習の講習会を行った。生物の形態などの画像データをどのように分類し特徴量を抽出するかに関して、t-SNE、Variational Auto-Encoder、Convolution Neural Network など近年発展が著しい機械学習の手法を、実際に手を動かすことによって習得し、加えてそれらを用いた進化研究についての活発な議論が行われた。さらに、理論情報支援班が中心となって、計画班・公募班に対して理論解析支援を行った。

(5) 国内・国際シンポジウムの開催：国際シンポジウムを2件 (Evolutionary Co-option and "Ground Plan" revisited by current physiology and genomics. IUSSI 国際社会性昆虫学会、Phenotypic evolvability 日本分子生物学会) 企画・開催した。また、国内学会にて、15 件(うち7件は若手)のシンポジウム・ワークショップを企画・開催した。企画が開催された国内学会は、進化学会、生物物理学会、個体群生態学会大会、動物学会、再生学異分野融合研究会、遺伝学会、分子生物学会、比較生理生化学会、発生生物学会、生態学会と広く関連した分野でのイベントとなり、領域活動を広く発信するとともに、分野を超えた学術交流を行った。

(6) 若手育成：領域内の若手研究者(大学院生を含む)で構成される若手ワーキング・グループが中心となり、様々な学術活動を行った。領域内では、理論情報交換会にて Python を用いた機械学習や進化シミュレーションのハンズオンセミナーを行うとともに、大規模情報解析情報交換会では、実際に実験を行う若手研究者が現場レベルでの情報交換を行うなどした。また、若手中心に関連学会や学術集会(進化学会年会・発生生物学会年会・ゲノム微生物若手の会・生態進化コロキウム)にて、学術集会を企画・開催した。

(7) ウェブサイト・ニュースレター作成：ニュースレター12号、号外2号の合計14号を発行した。全て領域ウェブサイトから一般に公開した。また、学会やワークショップの案内、領域内の公募や研究支援などの情報を適宜領域 web page で公開し、領域活動を強化した。

(8) 国際活動支援：海外(カナダおよびノルウェー)から進化可能性を主に研究する研究者2名を招聘し、計画班メンバーが企画したシンポジウム(Phenotypic evolvability、分子生物学会)にて講演をして頂くとともに、今後の当該分野における発展を睨んだ学術交流を行った。加えて、領域内の若手研究者が代表となり企画した若手シンポジウムにアメリカから1名招聘し、学術交流を行った。また、国際活動支援班の予算とは別に、計画班・公募班にて招待講演8件、招聘・受け入れ8件、海外での講演・情報発信(招待講演以

外)3件、海外派遣2件の国際連携が行われた。国際共同研究に関しては、8 班 13 件の国際共同研究が行われ、領域が目指す新しい学術的潮流を生み出すための活動となった。

- ・日本発生生物学会での若手シンポジウム(公募班・守野 / 計画班・入江、日光)

(9月2泊3日、海外からの科学哲学研究者を招聘 1名 : 33 万円)

- ・日本分子生物学会(計画班・入江 / 古澤、Dec.4、博多)

(海外 [カナダ・ノルウェー] からの招聘 2名: 合計約 60 万円)

(他にあった予定は、新型コロナウイルス感染症拡大によりキャンセル or オンライン化)

大学院生及びポスドクを派遣するなど、国際交流だけでなく理論・実験・大規模情報解析を統合的に活用できる人材の育成にも力を入れた。

国際活動支援班が派遣・招聘した3名のうち、2名が若手であった。

大規模解析支援報告

重信 秀治

本領域で扱う表現型揺らぎと進化的制約を定量的に理解するためには、超多試料トランスクリプトーム解析や非モデル生物のゲノム解析など、従来の進化研究のスケールを大きく上回る大規模なオミクスミクス解析が重要な役割を持つ。大規模解析支援チームは、新学術領域ならではの研究プラットフォームを構築し、班員の解析をサポートすることを目指す。さらに、それらの新しい技術を班員が有効に活用できるよう、情報共有と領域メンバーの技術向上を促す役割も担う。令和元年度は以下の活動を行った。

平成 29 年度、30 年度に採択済みの解析支援課題に加えて、令和元年度は新たに 13 件の支援課題（計画班 3 件、公募班 10 件）を所定の審査を経て採択した。研究の進捗次第で柔軟に支援ができるよう、年度途中の随時申請に対応した。採択課題は以下の通り。

- 田村班：ゼブラフィッシュの超多サンプル RNA-Seq
- 長谷部班：食虫植物のゲノム解読、超多サンプル RNA-Seq、シングルセル RNA-Seq、シングルセル ATAC-Seq
- 安岡班：ゼノパス ChIP-Seq、超多サンプル RNA-Seq、ゲノムリシーケンス (2 件)
- 新美班：テントウムシ ATAC-Seq、テントウムシゲノムからの長鎖ターゲット断片抽出 (2 件)
- 岡田班：オオツノコクヌストモドキのゲノム解読 (2 件)
- 入江班：脊椎動物発生過程シングルセル RNA-Seq (2 件)
- 守野班：貝類ゲノム解読
- 田中班：RNA-Seq
- 守屋班：進化実験後の網羅的プラスミド集団シーケンシング (ナノポア)、RNA-Seq

上記支援課題に対し、総括班大規模解析支援チーム（長谷部・重信に加えて、博士研究員 1 名、研究支援員 1 名）が研究支援を行った。打ち合わせや実験における人的交流を含む各班員と支援チームの緊密な連携が図られた。支援内容は多岐にわたるが、超多サンプル RNA-seq、ロングリードによる細菌ゲノム解読、非モデル生物の新規ゲノム解読、細菌叢解析、ナノポアによるプラスミド解析などである。支援課題に対し、大規模解析支援チーム（長谷部・重信に加えて、博士研究員 1 名、研究支援員 1 名）が研究支援を行った。打ち合わせや実験における人的交流を含む各班員と支援チームの緊密な連携が図られた。支援内容は上記の通り、超多サンプル RNA-seq、ロングリードによる細菌ゲノム解読、非モデル生物の新規ゲノム解読、細菌叢解析、など多岐にわたる。

大規模解析支援チームでは領域内ニーズに合わせた技術開発を進めた。ナノポアシーケンシング、de novo ゲノムアセンブリ、微量サンプルからの超多サンプル RNA-seq、ATAC-seq、シングルセル解析など。新しい解析技術の情報収集や導入も積極的に行なった。

大規模解析情報交換会を 2 回開催した。第 4 回大規模解析情報交換会を開催した (2019 年 4 月 23 日、OIST にて)。大規模解析技術のアップデート情報と HiC によるゲノムアセンブル手法について情報共有を行なった。第 5 回大規模解析情報交換会を開催 (2019 年 12 月 21 日、岡崎コンファレンスセンターにて)。計画班及び公募班で大規模解析を実際に担当している研究者が、失敗談や未解決の問題を含む具体的な経験を披露し、それをもとに参加者全員で議論を行った。

理論解析支援報告

古澤 力

本領域の大きな特徴は、統計物理を背景とした理論生物学研究を取り入れ、表現型の制約や方向性に関する進化について、統一的な視点から理解しようとする点にある。この目的のためには、これまでの理論研究に関する情報共有と、さらなる理論の発展へ向けた密な議論を領域内で行う必要がある。さらに、得られた実験データからの特徴量抽出や数理モデル構築など、理論研究との融合研究を推進することが重要となる。そうした連携活動をサポートすることを目的として、理論解析支援班が構成されている。2019 年度は以下の活動を行った。

1: 理論情報交換会の開催

領域が目指す制約進化理論の構築へ向けて、情報共有とメンバーの理論解析技術の向上を目的として、理論情報交換会を開催した。第4回理論情報交換会は2019年4月の領域会議後に開催し、信州大学の浅見先生に螺旋卵割の左右性の進化について講演をしていただき、量的形質の進化に関して活発な議論が行われた。続いて、東京大学の金子邦彦氏が発生過程の安定性に関して Waddington によって提唱された Homeorhesis の概念を紹介し、その理解へ向けて何が必要かの議論を行った。

第5回理論情報交換会は、2019年12月に開催し、そこではハンズオンセミナーとして、プログラミング言語 Python を用いた機械学習の講習会を行った。領域内においても、形態データを含む様々な高次元データの解析が必要となるが、そのときに必要となる機械学習の手法について、基礎的なものから最新に近いものまで、実際に手を動かすことにより理解することを目的とした。具体的には、手書き文字や植物葉形態のデータを用い、PCA, t-SNE, UMAP, Random Forrest, Variational Auto-Encoder, Convolution Neural Network による解析を行った。このハンズオンセミナーで用いた資料は以下の URL より取得可能である。

<http://mbd.riken.jp/VAE/lecture.html>

プログラミングにほぼ触れたことが無い参加者もいる中で、様々な手法を用いた複雑な解析を、1日という短い期間で行うという密度の高いセミナーとなった。今後も、統計解析や機械学習の活用など、領域における実験と理論の融合に貢献するハンズオンセミナーを開催する予定である。

2: 領域内での実験・理論融合研究の支援

理論解析支援班の活動の一つとして、必要とする班と共同研究を行い、理論解析の支援を行った。各班の研究内容と進展に依存して、さまざまな理論解析が進んでいる。例えば、小藪班が持つ哺乳類胎児のCT画像から、機械学習を用いて骨形成パターンの特徴量抽出が試みられている。この解析により、哺乳類胎児の発生過程における揺らぎやその進化的制約を定量することが可能となると期待される。また、長谷部班との共同研究では、植物細胞の分裂面を予測する数理モデル構築が進んでおり、この解析から植物形態形成の揺らぎがどのように制御されるかの仕組みが理解されつつある。今後も、領域会議などでの議論を通じ、領域内での理論解析支援を積極的に推進する。

国際活動支援報告

入江 直樹

進化可能性を対象としたグループ研究は世界を見渡しても珍しい。本領域の研究はこうした中で世界的な学術潮流を生み出すべく活動を続けており、2018 年度には、近年突出した学術的發展をみせる中国をはじめ、進化学分野の発展が著しい東アジア諸国の進化学研究者が相互に交流できる国際コミュニティ(AsiaEvo)の発足に成功し、2018年4月に中国・深圳にて The 1st AsiaEvo Conference を開催した(第二回 AsiaEvo は本領域最後の最終年度 2021 年、東京にて開催予定であるが新型コロナウイルスの関係からまだ流動的な状態にある)。

2019 年度は、Norwegian Academy of Science , Center for Advanced Study による「Evolvability project」に計画班・入江が招聘された他、日本にも研究者をノルウェーとカナダから1名ずつ招聘し、学術的交流を行った(日本分子生物学会 年会 Phenotypic evolvability、企画入江・古澤)。ノルウェーの当該プロジェクトは進化生態学を専門とする科学者が多く、当該領域とはやや違ったバックグラウンドといえるが、進化可能性の解明という点ではオーバーラップが多く、分野を超えた交流も期待できる。ノルウェーの進化可能性プロジェクトは時限付きプロジェクトですでに年限を迎えているが、コアメンバーらと今後さらなる交流を進めていく予定である。また、公募班の守野を中心とし、ミネソタ大学にて科学哲学を専攻する気鋭の若手研究者、吉田善哉を招聘して、日本発生生物学会にて若手シンポジウムを共催した(公募班・守野、計画班・入江)。この他にも国際活動支援班にて支援が決まった応募があったものの、新型コロナウイルス感染症拡大の影響を受けていずれもキャンセルとなっている。

国際活動支援班の支援とは別に、計画班・公募班にて招待講演8件、招聘・受け入れ8件、海外での講演・情報発信(招待講演以外)3件、海外派遣2件の国際連携が行われた。国際共同研究に関しては、8 班 13 件の国際共同研究が行われ、領域が目指す新しい学術的潮流を生み出すための活動となった。さらに領域からのプレスリリース情報や、公開した大規模データの情報発信もウェブサイト等から行っており、領域が生み出す学術的潮流のうねりは着実に世界に広がりつつあると感じている。

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）

脊椎動物の筋-骨格要素間の結合には進化的保守性が見られ、大きな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-骨格結合が大きく変化したケースに注目し、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解明を通じて、発生上の揺らぎと進化的傾向の関連を明らかにすることを目指している。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、*Lbx* 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を得る。この発生過程には多分に揺らぎが含まれていると予想され、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る傾向へ連なると考えられる。

これまでに本研究では、羊膜類四肢筋がどのような可塑性を持つのか、比較形態学的探索を軸に調べてきた。これまでに、カメの胸筋等の進化上の筋-骨格結合の劇的な変更の背景には、腱前駆細胞の分布変化による「つなぎ変え」ではなく、腱前駆細胞を介在しない真皮への新規結合があったということが判明しつつある。さらに組織学的観察と遺伝子発現解析をベースに四肢動物内で骨格筋の発生過程の比較を進めたところ、真皮との結合を樹立する発生機構は、少なくとも現生四肢動物の共通祖先で進化し、それがさまざまな部位で転用されていくつかの筋の新規形態獲得に関与してきた可能性があることを見出した。発生機構の探索も開始し、まず上記のカメ胸筋の比較形態学的探索にヒントを得て、ニワトリ胚において胸筋前駆細胞を胸骨がない腹部レベルの胚環境に配置する発生擾乱実験に着手した。

また、比較形態学的探索として、筋骨格系の進化的傾向の全容を把握するために、化石種の形態を系統図上で比較する準備も整えた。2019年度は、理解が遅れている初期脊椎動物のうち特に鍵となると予想されたデボン紀パレオスポンディルス *Palaeospondylus gunni* の化石に対して、シンクロトン放射光X線μCTを駆使した精密形態観察を行なった。このパレオスポンディルスの解剖学的特徴および系統的位置を解明することは、それぞれのグレードの初期にどのような形態型が進化しえたのか、どのような形態は進化し難いのかといった進化的傾向の見方を大きく変える潜在性を秘めている。本研究では、化石化過程で背腹方向に圧縮を受けているものの完全な頭骨が保存されていることを確認、従来同定できなかった形態的および組織学的特徴を詳細に解明することに成功した。パレオスポンディルスには、肉鰭類の一般的な特徴が認められ、一部の形態は基盤的四肢動物であることを示唆する。これは基盤的四肢動物と類似した体軸骨格パターンを持つことと整合的である。そのため、パレオスポンディルスは初期四肢動物であった可能性が高く、本種が四肢や対鰭を欠いているのは、進化上二次的に失ったか、あるいは幼生型であったものと推測される。これは、進化的保守性が非常に高い四肢筋の初期進化についての理解を進める上で重要な成果と位置付けられるであろう。

Uesaka M, Kuratani S, Takeda H, Irie N. (2019). Recapitulation-like developmental transitions of chromatin accessibility in vertebrates. *Zoological Lett.* 5: 33.

Hirasawa T, Alev C, Kuratani S. (2019). Twins at conspicuously different developmental stages in a turtle egg. *Zoological Sci.* 36: 1-4.

Higuchi S, Sugahara F, Pascual-Anaya J, Takagi W, Oisi Y, Kuratani S. (2019). Inner ear development in cyclostomes and evolution of the vertebrate semicircular canals. *Nature* 565: 347-350.

進化のゆ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(東大総合文化) 藤本仰一(阪大理)

(i)表現型進化の方向性と拘束の理論: 触媒反応ネットワークモデルを用いて、大自由度の表現型が進化により低次元に拘束されることを固有値スペクトル解析で明らかにした。さらにそれにより進化の方向が拘束されるがその一方で新たな環境への進化が加速されることを示した。また遺伝子制御ネットワークそして統計力学のスピングラスモデル、またタンパクのデータを用いて、この進化的次元縮減が普遍的であることを示した。

(ii)階層進化理論: 原始細胞においてその分子数がある程度以上になると遺伝と機能を担う分子の役割が対称性の破れで生じる、つまり分子生物学のセントラルドグマが出現することを発表した。次に細胞と細胞集団の階層では細胞が有用成分をもらすことで多種共生が生じること、最後に個体一社会の階層に対してはゲーム理論による搾取構造の形成を示し、さらに未開人類社会での婚姻構造の形成を明らかにした。

(iii)進化発生対応の理論: 発生過程と進化過程の対応関係において、遅く変化する遺伝子発現の意義を調べた。特にエピジェネティック過程を考慮して、発生過程の安定性(homeorhesis)の現れる仕組みを明らかにした。また倉谷班との共同で発生砂時計仮説をサポートするシミュレーション結果を得た。

[藤本 G] 完全変態昆虫のサイズ進化の法則(各種の最終体重は臨界体重に比例)を発見した。ボディプラン(器官の数と空間配置)の進化発生対応では、被子植物の左右対称な花の多様性を包括する発生特性を数理モデルから予測した。加えて、動植物のボディプランに揺らぎを見出した。基部双子葉植物の花器官配置では、らせん状と同心円状の2型のみが同種内で共存し、この拘束された種内多型は発生過程に起因することをモデルから示した。刺胞動物のイソギンチャクでは、器官配置の左右対称性と放射対称性の種内多型を、配置過程の計測を通じて見出した。

Sato, T. U., and Kaneko, K. (2020). Evolutionary dimension reduction in phenotypic space. *Phys. Rev. Research*, 2 (1): 013197.

Itao, K., and Kaneko, K. (2020). Evolution of Kinship Structures Driven by Marriage Tie and Competition. *PNAS*, 117 (5): 2378-2384.

Yamagishi, J. F., Saito N., and Kaneko, K. (2020). Advantage of Leakage of Essential Metabolites for Cells. *Phys. Rev. Lett.* 124: 048101.

Hatakeyama, T. S., and Kaneko, K. (2020). Transition in relaxation paths in allosteric molecules: Enzymatic kinetically constrained model. *Phys. Rev. Research* 2: 012005(R).

Himeoka, Y., and Kaneko, K. (2020). Epigenetic Ratchet: Spontaneous Adaptation via Stochastic Gene Expression. *Scientific Reports*, 10: 459.

Tang, Q., and Kaneko, K. (2020). Long-range Correlation in Protein Dynamics: Confirmation by Structural Data and Normal Mode Analysis. *PLoS Comp. Biol.*, 16 (2): e1007670.

Kitazawa, M. S., Fujimoto, K. (2020). Perianth phyllotaxis is polymorphic in the basal eudicot *Anemone* and *Eranthis* species. *Frontiers in Ecology Evolution*. 8: 70.

Nakagawa A., Kitazawa M. S., Fujimoto K. (2020). A design principle for floral organ number and arrangement in flowers with bilateral symmetry. *Development*. 147: dev182907.

Takeuchi, N., and Kaneko, K. (2019). The origin of the central dogma through conflicting multilevel selection. *Proc. R. Soc. B*, 286: 20191359.

Fujimoto, Y., and Kaneko, K. (2019). Emergence of Exploitation as Symmetry Breaking in Iterated Prisoner's Dilemma. *Phys. Rev. Research*. 1: 033077.

Fujimoto, Y., and Kaneko, K. (2019). Functional Dynamics by Intention Recognition in Iterated Games. *New J. Phys.* 21: 023025.

Nakamura, E., and Kaneko, K. (2019). Statistical Evolutionary Laws in Music Styles. *Scientific Reports*, vol. 9, No. 15993: 1-11.

金子邦彦, 古澤力. (2019). 適応と進化におけるマクロ現象論——表現型変化の低次元拘束と揺らぎ-応答関係. *日本物理学会誌*, 第 74 巻 第 3 号: 137.

北沢 美帆, 藤本 仰一. 花の器官数を決める数理. *生物物理* (2019) 59(5): 266-270.

Hironaka K., Fujimoto K., Nishimura T. (2019). Optimal scaling of critical size for metamorphosis in the genus *Drosophila*. *iScience*. 20(25): 348-358.

Matsushita K., Horibe K., Kamamoto N., Fujimoto K. (2019). Cell Motion Alignment as a Polarity Memory Effect. *J. Phys. Soc. Jpn.* 88(10): 103801.

Horibe K., Hironaka K., Matsushita K., Fujimoto K. (2019). Curved surface geometry-induced topological change of an excitable planar wavefront. *Chaos*. 29: 093120.

金子邦彦. (2019). 普遍生物学. 東京大学出版会. 322 頁

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、上坂将弘、内田唯(東京大学)

動物の基本的な解剖学的特徴(ボディプラン)は5億年以上に渡って強固に保存されており、系統慣性(phylogenetic inertia)の好例とされる。ボディプランが保存される理由は、発生過程におけるボディプラン形成期間(動物門ごとの典型的な形を決めるという意味からファイロティピック段階と呼ばれる)の保存性によるのではないかと考えられており、近年の比較分子発生学的研究もこれを支持してきた(発生砂時計モデル)。しかし、結局のところなぜ器官形成期が進化的に保存されるのか、その進化メカニズムはよくわかっていない。動物胚の器官形成期が進化を通して保存されるのはなぜなのか。これまでの研究から、器官(ボディプラン)形成期は脊椎動物の進化を通してずっと保存のターゲットとなっていること(Persistent conservation, Hu *et al.* Nature Eco Evo 2017)がみえてきており、環境要因よりも(発生などの)内的要因が数億年スケールの多様化にバイアスをかけている可能性が考えられた。こうした内的要因の1つとして、従来仮説では器官形成期が容易に胚致死に至ることで強い負の選択圧に晒されているという脆弱説が指摘されてきた。しかし、本課題の研究ではこれを否定する結果(Uchida *et al.* EvoDevo 2018)を得ている。つまり、器官形成期は従来考えられていたほど脆弱ではなく、むしろ頑健である可能性が示唆された。器官形成期の保存に遺伝子の使い回しによる拘束(pleiotropic constraint)が寄与している可能性も浮上している(Hu *et al.* Nature Eco Evo 2017)。

2019年度は、保存性が生じた器官形成期のみならず、器官形成期後に多様化する発生段階にもフォーカスし、発生が進むほど種間の多様性が大きくなるという傾向を説明する何らかの発生学的特徴・傾向があるかどうかについて調べた。1つの可能性として、古くはErnst Haeckelが提唱した反復説のように、発生の後期ほど進化的に新しい分子メカニズムが働いているのではないかと考えた。全胚由来遺伝子発現情報では、すでにこうした反復的な傾向が認められないことがわかっているが(Wang *et al.* Nature Eco Evo 2013, Hu *et al.* Nature Eco Evo 2017)、タンパク質コーディング遺伝子は異なる発生段階で頻繁に使い回し(多面的発現)が行われており、反復的な傾向を検出するには解像度が十分でないかもしれない。そこで、分担者の上坂は、遺伝子発現制御機構に着目し、発生過程後期における傾向を探った。具体的には、マウス・ニワトリ・メダカの発生過程を対象とした全胚 ATACseq データ解析を行ったところ、器官形成期以降の発生段階でのみ、配列上進化的に新しい制御領域がより後の発生段階で出現すること傾向が認められた(Uesaka *et al.* Zoological Letters 5:33, 2019)。これは、器官形成期より後の多様性が大きくなる発生段階においては、進化を繰り返すかのような反復的傾向を示すことを示している。一方で、こうした反復的傾向は発生初期から器官形成期までの時期には検出されなかった。ヘッケルの反復説をはじめとする反復的な傾向は、特定の形態的特徴について一部支持する報告はあったが、包括的な制御領域を対象とした実験から支持されるのは今回が初めてのことである。しかしながら、こうした反復的な傾向をもたらす進化メカニズムは不明のままである。また、遺伝子制御レベルでは反復的傾向がみられておらず、遺伝子制御レベルでのみこうした反復的傾向がみられることも十分な説明がなく、今後の研究を待つ必要がある。

Recapitulation-like developmental transitions of chromatin accessibility in vertebrates

Masahiro Uesaka*, Shigeru Kuratani, Hiroyuki Takeda, Naoki Irie

Zoological Letters 5, Article number: 33 (2019)

The developmental transcriptome for *Lytechinus variegatus* exhibits temporally punctuated gene expression changes

John D. Hogan, Jessica L. Keenan, Lingqi Luo, Dakota Y. Hawkins, Jonas Ibn-Salem, Arjun Lamba, Daphne Schatzberg, Michael L. Piacentino, Daniel T. Zuch, Amanda B. Core, Carolyn Blumberg, Bernd Timmermann, José Horacio Grau, Emily Speranza, Miguel A. Andrade-Narravo, Naoki Irie, Albert J. Poustka, Cynthia A. Bradham
Developmental Biology <https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2019.12.002> (2019)

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)

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、我々の研究により、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。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索。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。

本年度の主要な成果は以下の通りである。

- 共生可能細菌群の探索、分離、解析: 共生細菌除去幼虫を日本各地の土壌試料に曝露、スクリーニングすることで、環境中の共生可能細菌群を網羅的に探索、分離、同定した。中でも特異な共生細菌叢を呈することが示唆された宮古島その他の南西諸島で重点的に調査を実施した。
- 日本各地の土壌中の培養可能共生細菌/潜在的共生細菌の NGS 群集解析: つくば、福岡、沖縄島、札幌、京都、与那国島、松山、徳之島、宮古島、久米島など全 12 カ所の土壌サンプルから DNA 抽出し、16S rDNA の v1-v2 領域と v3-v4 領域の 2 カ所の塩基配列を独立に解析したところ、環境土壌中の培養可能共生細菌/潜在的共生細菌の存在比は極めて低い(10^{-5} のオーダー)ことが判明した。
- 共生細菌の大規模比較ゲノム解析: チャバネアオカメムシ共生細菌および近縁細菌 62 系統のゲノム配列決定および比較ゲノム解析を行い、培養可能共生細菌や潜在的共生細菌ではゲノムシンテニーがよく保たれていることが示された。
- 宿主昆虫共生器官の形成過程および機構の解析: チャバネアオカメムシの発生過程における中腸共生器官の形態形成および発達、そして共生細菌の感染過程、個体群動態、局在推移などについて徹底的な記載を実施し、細胞骨格系による盲嚢パターン形成、細胞死や細胞分裂の関与などの新知見を見出した。
- 共生可能細菌の実験進化学的解析: 共生可能細菌に感染させた昆虫系統を飼育維持し、適応度の高い個体を選抜して体内細菌を次世代に感染させることを継続的に繰り返して進化実験をおこなうための検討を継続して遂行した。
- その他の研究成果: キンカメムシ類における腸内共生細菌の進化と多様化の解明; カメムシ類における中腸共生器官の形態形成過程; ナガカメムシ類における内部共生系多様化の解明など。

Nishide Y., Kageyama D., Hatakeyama M., Yokoi K., Jouraku A., Tanaka H., Koga R., Futahashi R., Fukatsu T. (2020) Diversity and function of multicopper oxidase genes in the stinkbug *Plautia stali*. **Sci Rep** 10: 3464.
Fukatsu T. (2019) Grand challenges to launching an ideal platform for publishing microbe-insect symbiosis studies. **Front Microbiol** 10: 2542.
Kuechler S., Fukatsu T., Matsuura Y. (2019) Repeated evolution of bacteriocytes in lygaeoid stinkbugs. **Environ Microbiol** 21(11): 4378-4394.
Hosokawa T., Imanishi M., Koga R., Fukatsu T. (2019) Diversity and evolution of bacterial symbionts in the gut symbiotic organ of jewel stinkbugs (Hemiptera: Scutelleridae). **Appl Entomol Zool** 54(4): 359-367.
Oishi S., Moriyama M., Koga R., Fukatsu T. (2019) Morphogenesis and development of midgut symbiotic organ of the stinkbug *Plautia stali* (Hemiptera: Pentatomidae). **Zool Lett** 5: 16.
Ohbayashi T., Futahashi R., Terashima M., Barrière Q., Lamouche F., Takeshita K., Meng X. Y., Mitani Y., Sone T., Shigenobu S., Fukatsu T., Mergaert P., Kikuchi Y. (2019) Comparative cytology, physiology and transcriptomics of *Burkholderia insecticola* in symbiosis with the bean bug *Riptortus pedestris* and in culture. **ISME J** 13(6): 1469-1483.
Nikoh N., Koga R., Oshima K., Hattori M., Fukatsu T. (2019) Genome sequence of “*Candidatus Serratia symbiotica*” strain IS, facultative bacterial symbiont of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. **Microbiol Res Announc** 8: e00272-19.

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、津留三良(東京大学)

【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、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。本研究課題では、大腸菌進化実験を用いることにより、その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。それらのデータから、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。

【研究実績】

(1) 多様なストレス環境下での大腸菌進化実験:

昨年度までに、複数環境・複数系列での大腸菌の進化実験が完了している。今年度は、その進化実験において見いだされたゲノム変異を親株ゲノムに導入し、その影響を解析した。64 株の変異導入株を作成し、さまざまなストレスに対する耐性を定量したところ、進化株と類似した交差耐性・感受性のパターンが見いだされた。この結果は、進化実験で見いだされた表現型進化の拘束が、変異導入実験によって再現されたことを意味している。

さらに、選択環境にフィードバック制御を加えることにより、ターゲットとした表現型へ向けた進化過程を実現する手法を構築した。この手法を用いて、さまざまなターゲット表現型への進化実験を行うことにより、進化可能性を定量的に評価することが可能となる。

(2) 顕微鏡観察による大腸菌遺伝子発現揺らぎと環境応答の定量:

蛍光タンパク質遺伝子をそれぞれの遺伝子の C 末端に結合させた大腸菌ライブラリーを用い、発現揺らぎの大きさと、さまざまな環境変動に対する応答を系統的に解析した。結果として、一部の遺伝子はタンパク質の局在などにより、他よりも大きい発現揺らぎの大きさを示す場合があること、そして発現揺らぎと環境変動に対する応答の大きさには正の相関があることが示された。

(3) 1 細胞計測系を用いた遺伝子発現揺らぎと環境摂動への応答の定量:

大腸菌などの微生物について、発現プロファイルなどの高次元の表現型を非破壊的に定量することを目的として、ラマン分光を用いた表現型解析の手法を構築した。適切な機械学習を用いることにより、ラマン分光のスペクトルに基づいて、トランスクリプトーム解析によって得られた発現プロファイルを定量的に予測可能であることが示された。またこの結果は、発現プロファイルの変化が比較的低次元に拘束されていることを示唆している。

【今後の展望】

これまで議論されてきた揺らぎ-応答進化理論を踏まえ、大腸菌の表現型進化がどのように拘束されているか、また進化可能性をどのように理解できるかを実験データから明らかにする。それに基づき、理論解析を援用しつつ進化の予測と制御を可能とする手法を構築する。

- Horinouchi, T., Maeda, M., Kotani, H., Furusawa, C. (2020) Suppression of antibiotic resistance evolution by single-gene deletion. *Sci. Rep.* 10: 4178
- Shibai, A., Satoh, K., Kawada, M., Kotani, H., Narumi, I., Furusawa, C. (2019) Complete Genome Sequence of a Radioresistant Bacterial Strain, *Deinococcus grandis* ATCC 43672, *Microb. Res. Ann.* 8:e01226
- Shibai, A., Maeda, T., Kawada, M., Kotani, H., Sakata, N., Furusawa, C. (2019) Complete Genome Sequence of Tree Star-Shaped Bacteria, *Stella humosa*, *Stella Vacuolata*, and *Stella Species* ATCC35155. *Microb. Res. Ann.* 8:e00719
- Horinouchi, T., Furusawa, C. (2020) Understanding metabolic adaptation by using bacterial laboratory evolution and trans-omics analysis. *Biophy. Rev.*, in press

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、鳴川秀樹、Gergo Palfalvi、須田啓、玉田洋介、真野弘明（基礎生物学研究所）

【研究目的・背景】

本研究では、食虫植物の食虫性（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、環境依存的な捕虫葉形成に着目し、植物の環境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ことを目的とする。

【研究実績】

〔課題1. 食虫性関連遺伝子の特定〕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、昨年度に引き続き、捕虫葉形成過程における細胞分裂様式の詳細な解析を行った。異なった発生段階のRNA-seq解析を行うとともに、シングルセルトランスクリプトーム解析法を確立し、pseudotime course を作り細胞系譜を予想することができ、捕虫葉形態形成を制御する細胞分裂伸長制御に関わる因子とともに、誘引、捕虫、消化、吸収に関わる因子を推定することができた。

カルスを用いた形質転換で実験条件を工夫することで感染カルスを得ることに成功し、個体再生条件の検討を開始した。また、苗状原基を用いた形質転換系を確立するため、苗状原基形成条件を検討した。ウイルス誘導遺伝子サイレンシング法による機能解析系確立も並行して進めた。

ハエトリソウ、コモウセンゴケ、ムジナモのゲノム比較の結果を論文投稿した。ハエトリソウとコモウセンゴケの初期発生段階におけるトランスクリプトーム比較解析結果について論文作成を行った。

ハエトリソウの食虫性の特徴である記憶機構について論文を投稿した。食虫植物の運動に関わる遺伝子候補探索のため、同じような速い運動を行うオジギソウにおける運動機構に関わる遺伝子の機能解析を行い、いくつかの候補遺伝子の機能解析を開始した。

ムジナモの無菌培養系を確立し、カルス誘導に成功し、形質転換実験を開始できた。

〔課題2. 環境摂動による遺伝子発現応答の解析〕昨年度に引き続き、Palfalvi、鳴川、玉田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調べた。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）、栄養分である窒素濃度を変えた条件、サイトカイニン投与、エチレン前駆体投与など、384 サンプルのトランスクリプトーム比較解析を行い、食虫性進化と遺伝子発現ゆらぎとの関連を解析している。96 サンプルのシーケンスが終了した。

〔課題3. 温度感受に関わるクロマチン動態の解析〕当初、植物の温度感受に関わるヒストンバリエント H2A.Z および、クロマチン動態の概要を知るため H3K27me3、H3K4me3 の ChIP-seq 解析を行い、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予定だったが、より精度の高い single cell ATAC シーケンスを行うことに変更し、実験結果を解析中である。

Palfalvi, G., Hackl, T., Terhoeven, N., Shibata, T.F., Nishiyama, T., Ankenbrand, M., Becker, D., Forster, F., Freund, M., Iosip, A., Kreuzer, I., Saul, F., Kamida, C., Fukushima, K., Shigenobu, S., Tamada, Y., Adamec, L., Hoshi, Y., Ueda, K., Winkelmann, T., Fuchs, J., Schubert, I., Schwacke, R., Al-Rasheid, K., Schultz*, J., Hasebe*, M., and Hedrich*, R. (*: co-corresponding authors) 2020. Genomes of the Venus flytrap and close relatives unveil the roots of plant carnivory. *Current Biology* 30, 1-9.

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)

本研究は、「前肢の相同器官である胸鰭における、種内で鰭条の本数に部位的制約をもってゆらぎを起こす外的要因とその要因が標的とするカスケードを特定する」ことを目的とした。さらに、鰭条本数のゆらぎを生じる要因・標的カスケードと四足動物の指本数多様性形成との関係を示していく。これらにより「種内でゆらぎやすい仕組みを用いていることで、同一部位から作られる構造の種間多様性や形態特殊性を生み出す可能性を高めている」という仮説を検証する。同一種内あるいは同一系統内における鰭条数ゆらぎを生じる外的要因を特定することは、本領域の中心命題のひとつである「表現型のゆらぎ」研究の典型である。鰭条数がゆらぐのは後方部位に制限されており、この部位は脊椎動物全体の付属肢形態の多様性を担っている部位に相関している。表現型のゆらぎと形態進化を議論する好適モデルのひとつとして、本分担研究計画は本領域に貢献する。

これまでに、複数のゼブラフィッシュ系統の胸鰭原基発生過程を経時観察し、鰭条本数のゆらぎが生じる時期と生じ方の様式を特定した(Hamada et al., 2019)。また、鰭条形成領域に特異的に発現を見せる遺伝子トラップ系統のスクリーニングから、鰭条形成時に機能する遺伝子の候補をいくつか獲得した。さらに、数十種類の脊椎動物+無脊椎動物の遺伝子情報を用いた網羅的遺伝子配列種間比較から「魚類特異的遺伝子(魚類しか持っていない遺伝子あるいは四足動物だけが失った遺伝子)」を複数(およそ 80 個)見出し、その中から今回のプロジェクトに関わるものをスクリーニングするために、大規模支援班の協力のもと、胸鰭鰭条領域の RNAseq を行なった(現在解析中)。

一方で、形成中の鰭を内骨格原基ごと切断した場合、それぞれ胸鰭形成初期には鰭骨格を再生するが、中期頃から能力低下し、後期には再生しないことを新たに発見した(Yoshida et al., 2020; Uemoto et al., 2020; Abe et al., 2019)。現在、鰭を再生させた場合の鰭条数のゆらぎを観察し、データ解析している。

2019 年秋から、形質の種内ゆらぎ領域と種間の形態特殊性進化の関係を調べる目的で、独立に動く遊離軟条を胸鰭に有するカナガシラを実験系として確立させる準備を開始した。青森県浅虫水族館および北大水産の高津哲也先生・中屋光裕先生の協力のもと、複数個体のカナガシラ成魚を飼育し産卵シーズン(6-8 月)に向けて胚獲得の準備を開始した(図 1)。

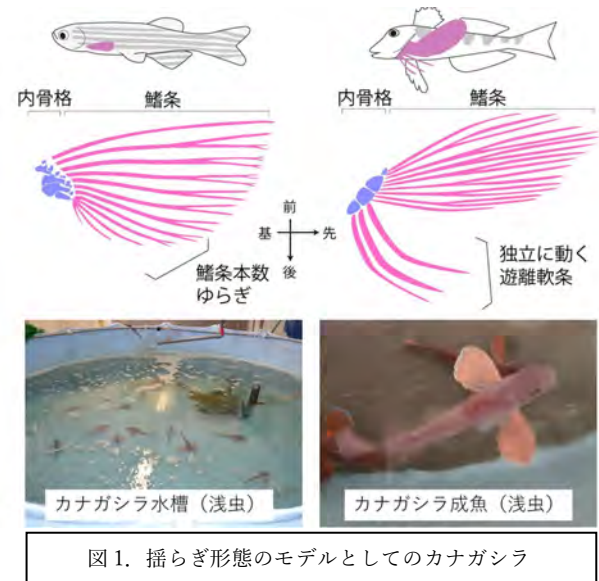


図 1. 揺らぎ形態のモデルとしてのカナガシラ

Yoshida, K., Kawakami, K., Abe, G. and T., Tamura, K.

Zebrafish can regenerate endoskeleton in larval pectoral fin but the regenerative ability declines. *Developmental Biology*. 2020, 463, 110-123.

Uemoto T., Abe, G. and T., Tamura, K. Regrowth of zebrafish caudal fin regeneration is determined by the amputated length. *Scientific Reports*. 2020, 10, 649.

Abe, G., Hayashi, T., Yoshida, K., Yoshida, T., Kudoh, H., Sakamoto, J., Konishi, A., Kamei, Y., Takeuchi, T., Tamura, K. and Yokoyama, H. Insights regarding skin regeneration in non-amniote vertebrates: skin regeneration without scar formation and potential step-up to a higher level of regeneration. *Seminars in Cell and Developmental Biology*. 2020, 100, 109-121.

Hamada, H., Uemoto, T., Tanaka, Y., Honda, Y., Kitajima, K., Umeda, T., Kawakami, A., Shinya, M., Kawakami, K., Tamura, K. and Abe, G. Pattern of fin rays along the antero-posterior axis based on their connection to distal radials. *Zoological Letters*. 2019, 5:30.

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（筑波大学）

近年、発生システム浮動（DSD）と呼ばれる、相同な形質が生物によって異なった分子経路によって形成される事例が認識されてきた。DSD は表現型の変更を起こさないため、種々の選択のもとで進化の源泉となる変異が発生経路に蓄積されることを説明できる現象である。従って、DSD が起きる仕組みや、DSD に見られる方向性と制約の解明は、発生進化の方向性と制約の理解へとつながると考えられる。本課題では、保存的な発生を示す腹足類の 3 種、クサイロアオガイ(カサガイ類)、ヨメガカサ(カサガイ類)及びクロアワビの割球特異化機構に着目し、初期発生期の割球群(カルテット)の転写因子発現プロファイルの相違点と、その違いに系統特異的転写因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、機能解析等を組み合わせ検証した。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ことを目指し、以下の成果を挙げた。

(1) 割球特異化機構における発生システム浮動の観察

カルテットごとのトランスクリプトームにより、クサイロアオガイ 16 細胞期において 16 の転写因子がいずれかのカルテット特異的に発現することを解明した。これらのうち 5 遺伝子に関しては、過剰発現をすると実際に幼生の形態に影響を及ぼすことを確認している。さらに、16 のうち 14 個の転写因子は、orphan 遺伝子、もしくはらせん卵割動物の分岐以降に重複した遺伝子であることが認められた。続いて、トランスクリプトーム解析と ISH 法により上記転写因子の発現が他の腹足類でも保存されているかを検証した。ヨメガカサにおいては、上記 16 転写因子のカウンターパートは全て存在し、かつ 16 および 32 細胞期で発現していた一方で、複数の遺伝子の発現パターンや遺伝子数が異なることを明らかにした。アワビにおいては、複数の転写因子がそもそも存在しておらず、また、多くの転写因子が 16-32 細胞期で発現していなかった。以上より、発生パターンが保存されていても、発生経路には多くの変異が蓄積しうることを明らかにした。

(2) 発生システム浮動を許容する発生システムの性質についての仮説

上記のアプローチにより、カサガイ 2 種の 16 細胞期に、各カルテット系列で特異的に発現する転写因子群が多数存在することが明らかになった。さらに、より多数の転写因子群が発現している細胞系譜で発現プロファイルが変更されやすい傾向を見出した。このことから、発生経路に冗長性が存在することで、多少の変異を許容し、DSD を駆動するという仮説を提唱するに至った。

(3) クサイロアオガイのゲノム解析の進行

本研究で着目する系統特異的転写因子は進化の過程で数を増減させやすく、冗長性の理解には使用する種での遺伝子数の把握が必要である。そこで、新学術領域の大規模解析支援および統合ゲノミクス共同利用支援（基礎生物学研究所）を受け、総括班重信秀治教授との共同研究によりクサイロアオガイのゲノムシーケンスを行なった。現在までに Chromium システムを用いたゲノムシーケンスを行っており、今後ロングリードのデータと組み合わせアセンブルすることを計画している。

「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)

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は受容体とリガンドであることが多いが、新しい特異性、すなわち「新しい受容体とリガンドのセット」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。受容体とリガンド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、数理モデルと形質転換実験により新しい特異性タイプの進化過程を予測・再現することを通して、特異性のゆらぎと新規受容体-リガンドのセットの進化可能性との関係を探ることを目的としている。

(1) 数理モデリングによる新規 *S* 対立遺伝子進化条件の検討

自家不和合性における新規 *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数理モデルを構築した。このモデルでゆらぎとは、「雄因子 SCR と雌因子 SRK 間の特異性にみられる不安定さ」のことである。突然変異が雄因子 SCR に生じ、自己の雌因子 SRK との特異性が不安定化する状況を考える。この突然変異体と祖先型とが長く共存できるとき、新しい *S* 対立遺伝子が進化しやすいと考えられる。SCR と SRK の認識特異性がゆらいだ中間状態のもとで、祖先型と突然変異体の共存空間が誕生するのではないかと考え、数理モデリングにより *S* 対立遺伝子の進化しやすさ(進化可能性)を定量的に検討した。主な結果として、認識特異性がゆらいだ中間状態があることで、たしかに新規 *S* 対立遺伝子が長期に渡って祖先型アリルとともに集団内に維持されること、このような状態は近交弱勢が強い条件下で起こりやすいことが予測された。また、*S* 対立遺伝子間の優劣性と新規 *S* 対立遺伝子の進化のしやすさにも関連があるという予測が得られた。この数理モデルをさらに発展させ、より広いパラメーターでの条件検討や、優劣性をもたない配偶体型自家不和合性システムについても検討を行うなど、一般的な自家不和合性進化モデルを構築する。

(2) リシークエンス解析による *S* 対立遺伝子内の自然多型の把握

実際の野生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、シロイヌナズナに近縁の自家不和合性種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 *S* 遺伝子座の塩基配列解析を行った。以前考案した、*S* 対立遺伝子ごとに BAC ライブラリ由来のリファレンスを用意し、それらすべてについてマッピングを行う方法を用いて解析を行ったところ、劣性、やや優性、優性の3種類の *S* 対立遺伝子について、計約 30 個体について高い信頼度で塩基配列を同定することができた。さらに、同一の特異性をもつとされる *S* 対立遺伝子内にも、いくつかの非同義置換が見られることが明らかになり、そのうちのいくつかは SCR/SRK タンパク質の推定相互作用部位の中にあった。これらの多型が特異性に影響を与えているのではないかと考え、塩基置換を人工的に再現した形質転換個体を準備している。

1. Fujii, S., Tsuchimatsu, T., Kimura, Y., Ishida, S., Tangpranomkorn, S., Shimosato-Asano, H., Iwano, M., Furukawa, S., Itoyama, W., Wada, Y., Shimizu, K.K., and Takayama, S. (2019) Identification of a stigmatic gene functions in inter-species incompatibility in the Brassicaceae. *Nature Plants* 5: 731-741
2. Bamba, M., Aoki, S., Kajita, T., Setoguchi H., Watano, Y., Sato, S., and Tsuchimatsu, T. (2019) Exploring genetic diversity and signatures of horizontal gene transfer in nodule bacteria associated with *Lotus japonicus* in natural environments. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 32: 1110-1120
3. 土松隆志, 安田晋輔, 高田美信, 北柴大泰, 新倉聡, 藤本龍, 柿崎智博 (2019) 「アブラナ科植物における自家不和合性研究の最前線と育種現場での利用」『育種学研究』 21: 61-68

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、(東京大学 生産技術研究所)

本研究では、申請者らが明らかにし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。

本年度は前年度の T 細胞学習に関する内容を論文として投稿し、そのリバイスの過程で以下のような進展を得た：

- (1) 環境の病原体変動について他のモデルも検討し免疫学習の一般性を確認した
- (2) T 細胞種数や病原体種数などのパラメータを変更した時のスケーリング性質を数値解析で示した
- (3) 抗原と T 細胞受容体の相互作用がスパースでも学習がほとんど影響を受けないことを確認した
- (4) 十分 T 細胞種数が多い場合、実験で観測されているような種数に関するパワー則が現れることを確認した
- (5) 計算のパワー則と実験で得られたパワー則の一致を検証した
- (6) そして、獲得免疫系の学習に対して自然免疫系の果たす役割について、数値的なシミュレーションから知見を得た。これ以外にも、事前学習の役割などを取り込めるようなモデルの拡張や事前学習の影響の検討を行なった。

一方、これらの知見を細胞ネットワークにも拡張することを目指し、反応ネットワークを最適化の観点から捉えるモデルの検討などを行なった。また得られた適応ダイナミクスをより普遍的に Actor-Critic の観点から捉えるモデリングについても検討を進めた。

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 (東京都立大 理学部)

カブトムシの角やクジャクの羽といった性選択形質は、ひととき目を引く巨大で美しい“誇張された表現型”であり、こうした武器や装飾はすさまじい種内・種間の多様性を持ち、進化的・発生的に“変わりやすい形質”であることが知られている。一方、節足動物の交尾器や哺乳類の脳など、他の体モジュールは生育時の環境によらず、ほぼ一定のサイズに発生し、発生プロセスも環境や遺伝的摂動に対して頑健な作りになっていると考えられている。表現型の“ゆらぎ”と安定性を考える上で、1) 環境依存的に形態形成が起こる表現型可塑性 および、2) 武器や可塑性が部位特異的に生じるモジュール性、が重要なしくみであるがそのメカニズムはよくわかっていない。私は、オオツノコクヌストモドキ(以下オオツノ)という武器甲虫を主なモデルとして、武器をもたらす遺伝子、そして武器サイズに大きな“ゆらぎ”を許容する分子基盤の解明を目指している。

環境依存的に武器サイズが変異するメカニズムについて、まずターゲット遺伝子に“的を絞った”解析(candidate gene approach)として、インスリン経路遺伝子に注目し解析を進めた。昆虫のインスリン様ペプチドはしばしば遺伝子コピーが増えていることが知られていたが、トランスクリプトーム解析からオオツノが5つのインスリン様ペプチドを持ち、そのうちの1つのみ(GcorILP2)が、変態期に栄養条件に応じて脂肪体(昆虫の肝臓様組織)で合成され、RNAiによるノックダウン解析を行うと、このインスリンを欠如した個体では、大顎の栄養依存的成長が消失し、どのような体サイズでも非常に小さなサイズの武器しか作らなくなることを特定した。本業績についての論文発表を行うとともに「特定のインスリン様ペプチドが武器サイズを制御する」ことについてプレス発表を行った(Okada et al. 2019, PLOS Biol). この知見は、「保存されたシグナル伝達経路」とされるインスリン・シグナリングだが、その起点であるリガンド分子がかなり多様化しており、武器特異的な栄養への応答を下支えするインスリン様成長因子を示した点で重要であり、制約の中で多様性を作出するメカニズムの一つといえるだろう。

これまで可塑的発生のメカニズム解析として、比較トランスクリプトームにより、栄養条件や雌雄によって頭部で発現が異なる遺伝子の網羅的探索を進め、多数の候補遺伝子を得ている。さらに、領域の大規模解析支援および基礎生物学研究所のサポートを受け、10xGenomics 社の Chromium システムを活用して、オオツノコクヌストモドキ(*Gnatocerus cornutus*)の良質のドラフトゲノム配列を得ることができた。現在、大顎サイズを大きく選抜した系統、小さく選抜した系統についてもリシーケンスを行い、遺伝子レベル・ゲノムレベルでの大顎サイズ進化と、大顎と協調的に生じる他形質の進化遺伝基盤の準備が整った。

Okada K, Katsuki M, Kiyose K, **Okada Y** (2020)

Older males are more competitive in male fights and more aggressive towards females in the broad-horned flour beetle *Gnatocerus cornutus* Behavioral Ecology & Sociobiology (2020) 74:36

Okada Y*, Katsuki M, Okamoto N, Fujioka H, Okada K. (2019)

A specific type of insulin-like peptide regulates the conditional growth of a beetle weapon. [PLOS Biology \(2019\) 17\(11\): e3000541](https://doi.org/10.1371/journal.pbio.1000054). [首都大プレスリリース](#)

Okada K, **Okada Y**, Dall S, Hosken D. (2020) Proceedings of the Royal Society B (2019) 286: 20190582.

Loser-effect duration evolves independently of fighting ability

骨化順序ヘテロクロニーの揺らぎと制約

小藪大輔 (City Univ. of Hong Kong 獣医生命科学部/東京医科歯科大学)

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」の検証を実施した。合計 79 種(単孔類 2 種、有袋類 11 種、異節類 5 種、アフリカ獣類 9 種、偶蹄類 5 種、食肉類 1 種、翼種類 9 種、食虫類 16 種、げっ歯類 13 種、皮翼類 1 種、霊長類 7 種)の胎子の全身マイクロ CT 画像を撮像した。全身骨格の骨化順序を各種ごとに記載し、系統樹上にマッピングを行うことで哺乳類における骨化順序の進化史復元と制約性の評価を行った。79 種総当りで骨化順序の類似度を定量化すべく Spearman's rank correlation を算出した。二種間類似度の中央値は 0.77 であり、体骨格の骨化順序は哺乳類全体で見ると中程度以上の保守性があることが認められた。特に有袋類、げっ歯類、食虫類で二種間類似度が高く、骨化順序の多様度が低いことが示された。また 24 個の骨の進化的な連動性(モジュール性)を分析するため、Phylogenetic independent contrast を用い、系統間距離の影響を除去した上での 24 個の骨の相関関係を Pearson's correlation によって算出した。次に 24 個の骨の骨化タイミングの種間変動率と変動幅を分析した。24 個の骨のなかで指骨、趾骨、胸椎、仙椎の種間変動率が特に高いことが示された。他方、手根骨と鎖骨は種間変動率がゼロであり、哺乳類ではこの 2 つの骨に限って骨化タイミングの変動が全くないことが示された。具体的には、種に関わらず 24 個の骨のなかで、鎖骨は最初に必ず骨化する骨であり、手根骨は最後に必ず骨化する骨である一方、それ以外の 22 個の骨は変動するという意味を意味する。また、本領域の中心的命題である種内変異と種間変異の相関関係を検証するため、げっ歯類における 24 個の骨の骨化タイミングの種内変動率の定量化を行った。げっ歯類における各骨の種内変動率と哺乳類全体における種間変動率の Pearson's correlation を算出したところ、有意な正の相関が認められた。この結果は、種内において骨化順序の変動が起きやすい骨は種間レベルでも骨化順序の変動が起きやすい骨であることを示し、揺らぎ一応答仮説を支持するものである。ただし、強度の相関ではなく中程度の相関であることは、哺乳類における骨化順序の種間変動は全体としては種内変異のパターンを反映するが、他方でロコモーション類型や生活史の特殊化によってそういった拘束を緩和した結果であるためと考えられた。これを検証するため、次にロコモーション類型や生活史のパターン、体サイズと骨化順序の関係性を分析した。ロコモーション類型と骨化順序とは明確な関係性を見出すことはできなかったが、早成型(出生時すぐ自力で歩ける、しがみつけるタイプ)の種と晩成型(出生時には未熟なタイプ)である種で、四肢骨の形成タイミングが大きく異なることが明らかになった(図 4)。19 種の早成型と 45 種の晩成型を比較したところ、上腕骨、大腿骨、尺骨、橈骨、脛骨、腓骨の骨化が早成型で有意に早いことが認められ、種における体骨格の骨化順序決定には、新生子が早成型か晩成型かという生活史が大きな要因になっていることが明らかになった。

Sano, K., Beyene, Y., Katoh, S., **Koyabu, D.**, Endo, H., Berhane, A., Suwa, G. A 1.4-million-year-old used bone handaxe from Konso, Ethiopia, shows advanced tool technology in the early Acheulean. *PNAS* (in press).
www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.2006370117

Sohn, J.H., Kimura, J., **Koyabu, D.** 3D model related to the publication: three-dimensional and histological observations on male genital organs of greater horseshoe bat, *Rhinolophus ferrumequinum*. *Morphomuseum* (in press). <https://doi.org/10.18563/journal.m3.113>

López-Aguirre, C.*, Hand, S.J., **Koyabu, D.**, Son, N.T. and Wilson, L.A.B. Postcranial heterochrony, modularity, integration and disparity in the prenatal ossification in bats (Chiroptera). *BMC Evolutionary Biology* 19:75 (2019).

López-Aguirre, C.*, Hand, S.J., **Koyabu, D.**, Son, N.T. and Wilson, L.A.B. Prenatal allometric trajectories and the developmental basis of postcranial phenotypic diversity in bats (Chiroptera). *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution* 332: 36-49 (2019).

Ledevin, R., **Koyabu, D.** Patterns and constraints of craniofacial variation in colobine monkeys: disentangling the effects of phylogeny, allometry and diet. *Evolutionary Biology* 46: 14-34 (2019).

Oh, J.W., Minami, M., Ikeda, S., Takatsuki, S., Oonishi, N., Higuchi, N., Okada, A., Kimura, J., **Koyabu, D.** Non-invasive age estimation by cranial suture closure in Japanese sika deer (*Cervus nippon*). *Mammal Study* 44(3):147 - 155 (2019).

酵素1分子の活性揺らぎと進化能の関係

上野博史、野地博行(東京大学)

「同一の遺伝情報」を持つ細胞集団においても、個々の細胞の表現型には揺らぎが存在することが知られている。我々の最近の研究から、このような「表現型の揺らぎ」は、酵素 1 分子レベルでも生じることが分かっていた。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するのである。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調べた。

これまでに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の確立に成功している。具体的には 1 分子 DNA のマイクロチャンバー内への封入、1 分子 DNA からの無細胞酵素発現と活性定量、1 分子 DNA の回収・増幅のプロセスを実現した。1 分子 DNA のマイクロチャンバー内への封入および無細胞酵素発現・活性定量においては、ドロップレット形成に用いるオイルやチャンバーアレイの設計が大きく結果に影響することが分かった。そこでそれらの最適化を行い、より均一に封入・酵素発現・活性定量を実現できる条件も見出している。また 1 分子 DNA の回収の自動化や PCR 条件の最適化を行い、プロセスの再現性を向上することにも成功している。

さらに Alkaline phosphatase (ALP) をモデル酵素に用いて、確立した進化実験系による高活性変異体スクリーニングを行った。その結果、野生型よりも 10 倍以上活性の上昇した変異体を複数個取得することに成功した。これらの変異体の 1 分子活性分布を計測したところ、平均活性の上昇した変異体の活性揺らぎの大きさは野生型の活性揺らぎよりも必ずしも小さくなるわけではなく、分子種によって様々な値を持つことが分かった。一方、活性によらずランダムに選んだ変異体の 1 分子活性分布の計測を行ったところ、平均活性が低い変異体ほど活性揺らぎが大きくなる傾向が得られた。この結果は、平均活性が低い ALP を起点として進化実験を行った場合、進化した高活性の変異体は活性揺らぎが小さくなる傾向を持つ可能性を示唆している。今回、進化実験の起点に用いた野生型の ALP は、他の変異体に比べ非常に小さな活性揺らぎを持つことが分かったため、今後は活性揺らぎの大きい変異体を起点に用いた進化実験が必要であると考えている。

またこれまでモデル酵素に用いてきた ALP 分子にはホモ 2 量体の片方が活性を持たない、つまり完全に active なポピュレーションのちょうど半分の活性を示すポピュレーションが存在することが、1 分子活性分布から明らかになっている。これは、ALP の活性発現に必要な分子内クロスリンクおよび Zn^{2+} イオンの配位が酵素合成後にうまくいかない場合に生じることが分かった。この活性特性は、ALP が単量体間の協同性を全く持たないことを示す興味深い結果であるが、このような活性の Heterogeneity が存在すると、酵素の活性分布の揺らぎを単純に評価することが難しくなる。そこで今後はモデル酵素活性の Heterogeneity による問題を根本的に解決するため、および活性揺らぎと進化能との関係の一般性を検証するため、ALP 以外にも単量体で機能する進化モデル酵素の進化実験を行う予定である。これらの進化実験の結果の共通点・相違点から、酵素 1 分子の活性揺らぎと進化との関係をより理解できると考えている。

Akama, K., Iwanaga, N., Yamawaki, K., Okuda, M., Jain, K., Ueno, H., Soga, N., Minagawa, Y., and Noji, H. (2019). Wash- and Amplification-Free Digital Immunoassay Based on Single-Particle Motion Analysis. *ACS Nano* 13: 13116-13126.

Minagawa, Y., Ueno, H., Tabata, K.V., and Noji, H. (2019). Mobile imaging platform for digital influenza virus counting. *Lab on a Chip* 19: 2678-2687.

Zhang, Y., Minagawa, Y., Kizoe, H., Miyazaki, K., Iino, R., Ueno, H., Tabata, K.V., Shimane, Y., and Noji, H. (2019). Accurate high-throughput screening based on digital protein synthesis in a massively parallel femtoliter droplet array. *Sci. Adv.* 5: eaav8185

Ueno, H. (2019). Digital bioassays and digital gene expression for screening. The 2nd Conference on Biomotors, Virus Assembly, and Nanobiotechnology Applications. (Invited talk) (International Symposium)

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)

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した。ニワトリやマウスのような羊膜類の胚の四肢の形成過程では、指間領域の細胞が細胞死によって取り除かれる「指間細胞死」がおこることで、指が分離する。一方、アフリカツメガエルのような両生類の幼生の肢芽では、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。これらのことから、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。本研究では、環境酸素濃度に依存して大きくゆらぎ、指間の細胞に特異的に活性酸素種 (Reactive Oxygen Species: ROS) を大量に産生させることで、指間に細胞死を獲得させた経緯を解明するために、ROS の産生と、(1) グルコース代謝経路、および (2) 血管形成の関係を明らかにすることを目的として、研究を行った。

まず、(1) グルコース代謝経路については、ニワトリ胚を用いて、1, 指間領域のメタボローム解析 2, 肢芽におけるグルコース代謝関連遺伝子の発現解析、及び 3, グルコース代謝経路が指間細胞死に与える影響の検証を遂行した結果、肢芽の発生過程では、細胞増殖期から指間細胞死期を通して、酸化的リン酸化によるグルコース代謝が行われていることが明らかとなった。次に、(2) 血管網が ROS の産生と関連する可能性を検証した。その結果、ニワトリ胚であっても、アフリカツメガエル幼生であっても、指間において Bmp が発現し、且つ、指間の血管網がリモデリングを行っている時期に、大気中の酸素濃度が十分高いときに限り、指間細胞死が起こっていることを明らかにした (Cordeiro et al., 2019 *Dev Cell*)。

IR Cordeiro, K Kabashima, H Ochi, K Munakata, C Nishimori, M Laslo, J Hanken and *M Tanaka (2019). Environmental oxygen exposure allows for the evolution of interdigital cell death in limb patterning. *Developmental Cell* 50, 155-166. <https://doi.org/10.1016/j.devcel.2019.05.025>.

K Kawahata, IR Cordeiro, S Ueda, G Sheng, Y Moriyama, R Yu, M Koizumi, Ma Okabe, and *M Tanaka (2019). Evolution of the avian digital pattern. *Scientific Reports* 9, article number 8560.

Y Moriyama, HM Pratiwi, S Ueda, and *M Tanaka (2019). Localization of β -catenin and islet in the pelvic fin field in zebrafish. *Zoological Science* 36, 365-371.

M Tanaka (2019). Preface: Ecology, Evolution and Development. *Dev. Growth Dev.* Special Issue “Ecology, Evolution and Development”. 61, 3-4. (Invited/Guest Editor)

E Okamoto, Y Moriyama, S Kuraku, K Kai, and *M Tanaka (2019). Involvement of HGF/MET signaling in appendicular muscle development in cartilaginous fish. *Dev. Growth Dev.* Special Issue “Ecology, Evolution and Development”. 61, 97-103. (Invited/Guest Editor)

S Ueda, IR Cordeiro, Y Moriyama, C Nishimori, K Kai, R Yu, Ro Nakato, K Shirahige, and *M Tanaka (2019). Cux2 refines the forelimb field by controlling expression of *Raldh2* and *Hox* genes. *Biology Open* 8, bio040584.

E Okamoto, HV Mai, A Ishimatsu and *M Tanaka (2018). Modification of pectoral fins occurs during the larva-to-juvenile transition in the mudskipper (*Periophthalmus modestus*). *Zoological Letters* 4, article number 23.

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)

本研究は、ショウジョウバエのフェロモン選好性を規定する神経ネットワークに着目し、その揺らぎやすさがどのように選好性の進化を規定しうるかを明らかにすることを目的とした。キイロショウジョウバエのフェロモン選好ネットワークは、メス特有のフェロモン 7,11-HD の情報を受け取り、求愛を制御することが知られている。また、キイロショウジョウバエのオスは 7,11-HD の存在によって求愛活性を上昇させるが、近縁種オナジショウジョウバエは 7,11-HD により求愛活性を劇的に低下させることが知られている。そこで私はこのフェロモン選好ネットワークに着目し、その揺らぎやすさとフェロモン選好性の進化の関係を明らかにしようとした。

当該年度は、神経接続を可視化する再構成 GFP 法を用いた神経接続の比較を、フェロモン選好ネットワークを構成するニューロン群全てに適用した。オナジショウジョウバエに置いて全ての遺伝学的ツールを導入することにはコストがかかるため、ナジショウジョウバエと同様に 7,11-HD に対する負の選好性を持つ 2 種の雑種を比較に用いた。その結果、雑種に置いて、特定の神経接続のみが失われており、それ以外の経路の神経接続はすべて保存されていることが示唆された。これまで知られているフェロモン選好ネットワークの回路構造や各ニューロンの機能を併せて考慮すると、今回特定された神経接続の喪失がフェロモン選好ネットワークの機能を逆転させる可能性が示唆される。

しかし、再構成 GFP 法には、神経接続がなくても GFP シグナルが検出されてしまう偽陽性が報告されている。今回の結果がこの偽陽性に依るものでないことを確かめるため、透過電子顕微鏡レベルで特定の神経接続を観察できる two-tagEM 法を、今回特定した神経接続に適用した。当該年度はまず、シナプス前細胞のミトコンドリアとシナプス後細胞の細胞膜を透過電子顕微鏡により同時に標識観察できる条件を探索した。まず、標的であるシナプス前細胞とシナプス後細胞に、それぞれミトコンドリアと細胞膜へ局在させる配列を付加したペルオキシダーゼを発現させる系統を作成し、抗ペルオキシダーゼ抗体を用いた抗体染色により、その発現を確かめた。次に、シナプス前細胞のミトコンドリアとシナプス後細胞の細胞膜を同時に DAB 標識でき、かつ組織の構造が保たれる条件を探索するために、様々な固定条件や切片作成条件を検討した。その結果、2 種類の標的細胞のミトコンドリアと細胞膜をそれぞれ同時に観察できる条件を特定することができた。今後はこの条件を用いて、当該神経接続の比較観察を目指す。

Ishikawa Y, Okamoto N, Yoneyama Y, Maeda, N, Kamikouchi A. (2019). A single male auditory response test to quantify auditory behavioral responses in *Drosophila melanogaster*. J Neurogenetics. 33: 64-74.

Ishikawa Y, Fujiwara M, Wong J, Ura A, Kamikouchi A. (2019). Stereotyped combination of hearing and wing/gravity-sensing neurons in the Johnston's organ of *Drosophila*. Frontiers in Physiology. 10: 1552.

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(東京大学)

【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。そこで本研究では、これまでに行った進化実験における各段階の RNA 9 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。

【研究成果】

平成 30 年度は 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し、さらに RNA ラベリングのデータを用いて RNA の構造分布を求めた。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した。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)を求めた。令和元年度は、このデータを持ちいて、構造ゆらぎと進化の方向性に関係があるかどうかを検証した。その結果、少なくともほぼ全ての進化ステップで元々の構造揺らぎの中のマイナーな構造が変異導入によってメジャーになることが観察され、揺らぎ応答理論を支持する結果を得ることができた。

さらに、そのメカニズムについても考察を行った。構造ゆらぎというのは熱揺らぎによって引き起こされる構造のバリエーションである。また進化で変わる構造というのは、基本的には 1 塩基変異によって変わりうる構造である。RNA の構造は 1 塩基の対合では十分な安定性は得られず、複数の対合が必要である。したがって、大きく構造が変わるためには、もともとある程度の安定性で存在していた構造が、新しい変異によりさらに安定化する場合に限られる。そうすると進化で選ばれる構造は、必ずもともとの構造ゆらぎのなかに含まれていることとなる。言い換えると、1 塩基変異によって得られる構造変化が小さいために揺らぎ応答理論に合致した結果になると考えられる。以上の結果から、ある程度の長さを持つ RNA の構造揺らぎと次の世代で選ばれる構造の間には関係性があるのは必然だと考えている。

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 (大阪大)

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と予測も躍進する。なぜなら揺らぎ応答理論が適用可能であれば、現在の生態系の揺らぎ(短い時間スケールでの変動)を測定することで、生態系の長期的変化を予測できるからである。生態系は複雑系であり、未来の予測に過去のトレンドが使えない場合も多いため、新規に現在の状態のみから予測できるようになれば強力な予測手法となる。

本研究では、実験生態系を確立し、これ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、および生態系そのものの理解と新規予測方法の構築を目指すものである。2019年度は以下を行った。

① 当初計画の系の構築・進化実験・揺らぎ応答関係:24種の微生物を用いて実験生態系を構築した。短期揺らぎと長期変化の相関は統計的有意だったが、これは各測定量自体の特徴であり、生態系の特徴に依存するものでは無かった。よって当初計画を超えて、以下のように②全生物種の量を測定してハイスループットの実験系を開発し、③生態系の理解を深めたいうえで、④揺らぎ応答関係を解明することにした。

② 全生物種を識別できる実験生態系と、ハイスループット実験系の構築:顕微鏡観察により見分けられる12種に絞り、多様性を保てる系を構築した。また、機器導入と機械学習により並行して6000個程度の生態系を実験できる系を構築した。

③ 実験生態系の基礎理解:12種全ペアでの2種培養から種間相互作用を調べた。また5種以上が共存する系において、個体数の少ない1種が1匹もいなくなると、その影響により他の2種も減び、2種しか残らなくなるような、自然生態系にあるような複雑系としての特徴も観察された。

④ 短期的な揺らぎと長期的な変化の関係:新しい12種の系に関して揺らぎ応答関係を調べた。揺らぎの方向に変化していくようにも見えたが、遷移の速さのばらつきによる効果を排除できなかった。今後、より安定した系に対して摂動実験を行う必要があることが分かった。

⑤ 生態系内の生物の進化:階層をまたぐ理解のため進化を調べた。半年後の実験生態系から大腸菌を単離した。表現型に変化が見られたがゲノム変化は観察されなかった。ゲノム計測までのプロセスの問題と考えられるため、実験を最適化する必要があると分かった。その他、比較のため大腸菌、酵母、繊毛虫、シアノバクテリアを用いた2種進化実験も行った。

シンポジウム開催: "公募シンポジウム S-B1: 生物や生態系全体の動態をとらえる網羅的実験の新展開", 個体群生態学会第25回大会, 京都大学, 2019年9月26日

招待講演: "微生物人工生態系実験で生物学的ネットワークを理解しに行く", ネットワーク科学セミナー2019, 統計数理研究所, 2019年8月29日

学会発表: 細田一史, 村上なおみ, 瀬尾茂人, 長田穰, 松田秀雄, 古澤力, 近藤倫生, "1万個の人工生態系をつくり生態系ダイナミクスの理解に挑む" 日本生態学会第67回全国大会, 2020年3月4-8日

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(奈良先端大学)

植物と相互作用する糸状菌の感染戦略は、植物生長を著しく阻害する寄生型から植物生長を促す共生型まで多彩である。*Colletotrichum* 属の *spaethianum* クレードに属する糸状菌は、世界中の多様な植物種から単離されており、アブラナ科植物であるシロイヌナズナに対して共生から寄生と対照的な感染戦略を有することが申請者の昨年度の研究から判明している。これら多彩な感染戦略をとる *Colletotrichum* 株の全ゲノム情報を Pacbio および Illumina シーケンスにより取得して、植物に感染中の時系列トランスクリプトーム解析を行った。その結果、共生型菌もしくは寄生型菌のみがそれぞれの感染ステージに特異的に発現誘導させる植物・菌それぞれの遺伝子群の絞り込みに成功した。共生型菌もしくは寄生型菌は互いに異なるタイプの機能未知の分泌性タンパク質や二次代謝物クラスターに属する合成酵素をコードする遺伝子の発現を強く誘導していた。

さらに、その中でセスキテルペンラクトンの1種で機能未知の菌の二次代謝物クラスターが寄生型菌による寄生性発揮に重要であることを見いだした。一方で、共生型菌においても本二次代謝物クラスターは存在しているにも関わらず、共生型菌感染時にはその発現が認められなかった。興味深いことに、二次代謝物の合成酵素の遺伝子発現は寄生時の感染ステージに特異的に強く誘導されていたものの、菌個体間での大きな揺らぎが認められた。一方で、そのアウトプットである植物に対する寄生性は安定的に認められたことから、遺伝子発現揺らぎが安定的な寄生性発揮に重要な役割を担っているという予想外の仮説が浮かび上がってきた。遺伝子発現揺らぎを生み出す制御基盤を理解していくことが今後重要となる。

さらに、共生が崩壊、もしくは増強されるなど、野生型植物と異なる応答を示す様々な植物変異体を活用することで、共生型 *C. tofieldiae* に特定の選択圧を実験室条件下で人工的に与え続ける実験を継続的行ったところ、共生能が有意に低下した *C. tofieldiae* 株の同定に至った。上記の同種の菌株が共生型と寄生型と対照的な感染戦略を示すことも踏まえると、植物感染微生物の感染戦略は想定以上にわずかな差異によってひきおこされていることが考えられ、その可塑性が植物感染微生物の宿主適応に重要であることが伺えた。

1. Pathompitaknukul K, **Hiruma K**^{*}, Tanaka H, Kawamura N, Toyoda A, Itoh T, Saijo Y^{*} (2020). Host-dependent fungus-fungus competition suppresses fungal pathogenesis in *Arabidopsis thaliana*. *bioRxiv*. doi: <https://doi.org/10.1101/2020.05.27.117978>
2. Okamoto K, Aoshima N, Takahashi N, Sakamoto T, **Hiruma K**, Saijo Y, Hidema J, Umeda M, and Kimura S^{*} (2020). SUPPRESSOR OF GAMMA RESPONSE1 acts as a regulator coordinating crosstalk between DNA damage response and immune response. *Plant Molecular Biology*, in press.
3. **Hiruma K**^{*} (2019). Roles of plant-derived secondary metabolites during interactions with pathogenic and beneficial microbes under conditions of environmental stress. *Microorganisms* 7, doi: 10.3390/microorganisms7090362.
4. **Hiruma K**^{*}, Kobae Y and Toju H. (2018). Beneficial associations between Brassicaceae plants and fungal endophytes under nutrient-limiting conditions: evolutionary origins and host-symbiont molecular mechanisms. *Current Opinion in Plant Biology* 44:145-154.

発現量揺らぎ一適応系により探るプロテオームの制約条件とその適応一進化への影響

守屋央朗（岡山大学大学院環境生命科学研究科）

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一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一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一適応系 (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一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一進化に寄与するのかを追求する。これら 2 つの課題を追求するために、従来の発現量揺らぎ一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った。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 ミクロ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一適応系に乗せる)、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)。特に発現揺らぎ一適応のハイスループット解析系を確立することに注力し、当初計画していたよりも多サンプル・高速な解析系を構築することに成功した。まず、計画していた 150 mL のフラスコ培養を 6 mL の試験管培養にスケールダウンでき、増殖をモニターしながら最大36 サンプルを同時に培養することが可能になった。これは、本実験系をシミュレーションした結果に基づいてスケールダウンできたことによる。次に、プラスミド出現頻度の解析を計画していたイルミナシーケンサーからナノポアシーケンサーに変更した。これにより、解析に供するライブラリーの調製が簡便になり、多サンプルの解析が可能となった。以上の改良により、大学院生1人でも複数の条件で実行できる解析系が完成した。完成した解析系により、現時点で 16 条件 122 サンプルの解析が終了し、さまざまな環境に適応的なユニークな遺伝子セットが取得されている。これまでに得られた取得された適応的な遺伝子セットでの予備的な結果からは、発現量の制約は環境に関わらず存在し続けること、適応的な遺伝子は発現揺らぎの大きな遺伝子から生じることが示唆されている。

Saeki N, Eguchi Y, Kintaka R, Makanae K, Shichino Y, Iwasaki S, Kanno M, Kimura N, Moriya H., N-terminal deletion of Swi3 created by the deletion of a dubious ORF YJL175W mitigates protein burden effect in *S. cerevisiae*., Sci Rep. 2020 Jun 11;10(1):9500.

Moriya H., The expression level and cytotoxicity of green fluorescent protein are modulated by an additional N-terminal sequence., AIMS Biophysics 2020, 7(2): 121-132

Nemoto M, Iwaki S, Moriya H, Monden Y, Tamura T, Inagaki K, Mayama S, Obuse K., Comparative Gene Analysis Focused on Silica Cell Wall Formation: Identification of Diatom-Specific SET Domain Protein Methyltransferases., Mar Biotechnol (NY). 2020 Jun 03

Mori Y, Yoshida Y, Satoh A, Moriya H., Development of an experimental method of systematically estimating protein expression limits in HEK293 cells., Sci Rep. 2020 Mar 16;10(1):4798.

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)

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。本研究では、GRN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ため、近交系統が複数整備され、一度に大量の同胞胚を得られるネットイツメガエルを実験に用いる。発生学実験とゲノムワイドな情報解析によって、GRN進化の制約と方向性を定量的・理論的に導き出すことを目的とする。

2019年度は、ネットイツメガエル Nigerian BH 系統原腸胚の1胚 RNA-seq 解析を行った。*otx2/5* MO 注入胚、コントロール MO 注入胚、無注入胚の3条件について、それぞれ5つずつ原腸胚を別々に回収して、遺伝子発現量と同胞胚間の発現のばらつきの関係を検討した結果、同胞胚間でのばらつきと遺伝子発現量の間には顕著な負の相関関係が見出された。さらに5回独立に行った実験のデータを解析したところ、同胞胚5つの平均値の5ペア間でのばらつきと遺伝子発現量の間にも弱いながら負の相関関係が見出された。

次に *Otx2/5* 機能阻害胚で発現が変動した下流遺伝子をペア間で比較した。その結果、1ペア由来の同胞胚群に特異的な下流遺伝子の方が複数のペア間で共通した下流遺伝子よりも発現の揺らぎが大きいことが判明した。この結果は、より揺らぎの大きい遺伝子が、摂動(*Otx2/5*の機能阻害)に対してより幅をもった応答を示すことを意味する。

RNA-seq 解析を行った胚の同胞胚(原腸胚)を用いて *Otx2/5* に対する ChIP-seq 解析を行ったところ、各同胞胚群に特異的な ChIP-seq ピークが存在することを見出した。さらに親個体のゲノムリシーケンス結果と重ね合わせたところ、特異的な ChIP-seq ピーク領域にはほとんど多型が存在しなかった。これらの結果は、シス制御領域のゲノム配列非依存的な転写因子結合の揺らぎが存在することを示唆している。同様の実験を Ivory Coast 系統についても行い、シーケンス解析を大規模解析支援班に依頼したので、今後シーケンスデータを得て系統間での揺らぎを検討する。ChIP-seq、RNA-seq、ゲノムリシーケンスのデータを統合的に解析する手法を開発し、*Otx2/5* による標的遺伝子発現制御の揺らぎの全体像を把握する。

発表論文

1. **Yuuri Yasuoka** “Enhancer Evolution in Chordates: Lessons from Functional Analyses of Cephalochordate Cis-Regulatory Modules” *Development, Growth & Differentiation*, in press, doi: 10.1111/dgd.12684
2. **Yuuri Yasuoka** “Morphogenetic Mechanisms Forming the Notochord Rod: the Turgor Pressure-Sheath Strength Model” *Development, Growth & Differentiation*, in press, doi: 10.1111/dgd.12665
3. **Yuuri Yasuoka**[†], Masahito Matsumoto, Ken Yagi, and Yasushi Okazaki (†, corresponding author) “Evolutionary History of GLIS Genes Illuminates their Roles in Cell Reprogramming and Ciliogenesis” *Molecular Biology and Evolution* (2020) 37: 100-109
4. **Yuuri Yasuoka**[†], Yukiko Tando, Kaoru Kubokawa, and Masanori Taira (†, corresponding author) “Evolution of cis-regulatory modules for the head organizer gene *gooseoid* in chordates: comparisons between *Branchiostoma* and *Xenopus*” *Zoological Letters* (2019) 5: 27

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 (理化学研究所)、畠山哲央 (東京大学)

ゲノム倍数化は、現存する様々な生物種において観測される形質である。古くから倍数体生物は環境変動などへ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。大野乾のゲノム重複説によれば、ゲノムの倍数化により冗長性がもたらされ、元々の遺伝子の機能を保持したまま重複した遺伝子の機能が改変され、新規形質の進化が促進される。他方、進化速度を考えた場合、1細胞あたりのゲノムのコピー数が多い場合、1つのゲノムに変異が入ってもその効果が弱められる、つまり表現型の揺らぎが小さくなるため、進化速度は遅くなりうる。本研究では、この一見矛盾するゲノム倍数性の進化に対する影響を、実験と理論の両面から定量的に捉え、ゲノム倍数化と進化の関に存在する普遍原理の解明を目指す。

今年度は主に進化のダイナミクスを考える準備段階として倍数性バクテリアの進化速度とゲノム遺伝様式(進化速度)を解析するための構成的手法を構築した。また以下に示すように複数のコピーを持つゲノムの複製・遺伝の機構を、シアノバクテリアを用いて明らかにした。さらに、複数のゲノムを持つ生物の進化を議論するための数理モデルを構築した。これらの結果を元にして、今後は人工進化実験でゲノム倍数化の進化に与える影響を検証する。

(1) 複数コピーゲノムの複製様式の解析:

倍数体生物において細胞サイズと染色体数(倍数性)には正の相関があることが、古くから観察されてきた。しかし、この相関関係を維持している詳細な機構は不明であった。我々の研究により、細胞の成長に伴い“複製される染色体数”が厳密に制御され、細胞サイズに相関した倍数性を維持していることが明らかになった[3]。

(2) 複数コピーゲノムの遺伝様式の解析:

(1)の結果より、複製される染色体の数が厳密に制御されていることがわかった。そこで、複製されるゲノムや、娘細胞へと受け継がれるゲノムがどのように選択されるのかを明らかにするため、倍数性ゲノムの遺伝様式を解析する構成的手法を確立した。現在、これを用いて倍数性の異なる複数種のシアノバクテリアで遺伝様式の解析を進めている。またシミュレーションを含めた解析によって、(1)で明らかにした複製様式が遺伝様式に直接関与することが示唆されており、今後はより詳細に遺伝様式とその普遍性を解析する。

(3) ゲノム倍数性と進化可能性:

上記の実験で明らかとなった倍数性ゲノムの遺伝様式を元にして、多数のゲノムを持つ生物の進化の数理モデルを構築した。数理モデルを用いたシミュレーションにより、ゲノム数を変化させた際に進化速度が大きく変化することが見えている。この結果は上述したゲノム重複説の矛盾を解決する可能性を示唆する。

1. Ohbayashi R*, Hirooka S, Onuma R, Kanesaki Y, Hirose Y, Kobayashi Y, Fujiwara T, Furusawa C, and Miyagishima SY*: Evolutionary changes in DnaA-independent chromosomal replication in cyanobacteria. *Front Microbiol.* 11:786. 2020. *Corresponding author.
2. Watanabe S, Saito S, Suezaki Y, Seguchi T, and Ohbayashi R: Specific binding of DnaA box motif in the cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942. *J Gen Appl Microbiol.* 66(2) 80-84. 2019.
3. Ohbayashi R*, Nakamachi A, Hatakeyama TS, Kanesaki Y, Watanabe S, Chibazakura T, Yoshikawa H, Miyagishima SY*: Coordination of polyploid chromosome replication with cell size and growth in a cyanobacterium. *mBio*, 10(2), e00510-19, 2019. *Corresponding author. [F1000Prime recommended. https://f1000.com/prime/735609177](https://f1000.com/prime/735609177)

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、安藤俊哉、中村太郎（基礎生物学研究所／総合研究大学院大学）

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。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。我々が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斑紋プレパターン遺伝子に焦点を絞り、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 *pannier* (*pnr*) 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。

昨年度は以下の研究課題に取り組んだ。

(1) ナミテントウにおける温度応答系統と非応答系統の確立

これまでの本研究により、温度による黒点サイズの揺らぎに関する基礎データを取得する過程において、当研究室で維持している紅型系統の中に温度応答する系統としない系統が存在することを発見した。そこで、ナミテントウの *pannier* 遺伝子のゲノム構造の特徴を活かし、数世代かけて温度応答する系統としない系統をそれぞれ数系統ずつ選抜して、系統化した。

(2) *pannier* 遺伝子の温度応答エンハンサーの同定：

テントウムシの斑紋が温度で揺らぐメカニズムを解明する上での最重要課題は、温度応答を担う分子機構の解明である。これまでに、斑紋のプレパターン形成の最重要遺伝子 *pannier* の温度応答性エンハンサーの同定を目指して、エンハンサー領域と相関するオープンクロマチン領域の解析を進めた(ATAC-seq 法)。しかし、実験開始当初、非モデル生物の後期発生期の組織における ATAC-seq のプロトコルが確立していなかった。そこで、細胞核の抽出法の検討を進め、テントウムシ蛹の翅組織での ATAC-seq 法を確立した。そして、常温飼育したナミテントウの前翅で *pannier* が高発現する時期のオープンクロマチン領域を同定した。これまでに、低温(17℃)・常温(23℃)・高温(29℃)で処理したナミテントウの前翅からも ATAC-seq 解析のライブラリー調製を完了し、シーケンス解析を進めている。

『スターメイカー』、あるいは宇宙の多世界進化論

倉谷 滋

「いまに全宇宙という脈絡を抜きにして、われわれの実存も社会も意味をなさなくなるだろうから」

オラフ・ステープルドン著『スターメイカー』より

コロナウィルスもさることながら、何より外に出るのがおっくうで、この週末はずっと家に籠もって読書に明け暮れていた。かくして、長らく読めずに困っていたオラフ・ステープルドンの『スターメイカー』（浜口訳、国書刊行会：絶版）をようやく読了できた。これは、1930年代に書かれた一種のSF・ユートピア小説だが、その内容は分析的な政治思想史を含んだ壮大な「宇宙神話」、あるいは宇宙叙事詩のかたちを借りた進化的政治批判といったようなもので、通常のSF小説のつもりで読むとえらく難儀する。

これと多少とも似たユートピア小説といえば、パウル・シェーアバルトによる『小遊星物語』という、惑星間に巨大な建造物を作る異星人の話があった。いや、むしろ同じシェーアバルトによる悪夢的なファンタジーとでもいうべき『虫けらの群霊』がより近いかも知れない。これらはいずれも、天上にいたる安寧の命が、どれほどのエントロピーを食いつぶしてゆくか強調してやまない。まるで、自分が一個の精虫にでもなったような気にさせられる。このドイツの早すぎた異端の小説家の作品はどれも第一次大戦前に書かれ、今ではあまり読まれることはない（視覚的表現が極めて多く、しかもそれを脳内で再生することの難しいこれらの小説の映画化を心底見てみたいと思う）。

一方、ステープルドンの『スターメイカー』は、SF風味こそやや希薄で抽象的表現が多いものの、思想的にはいまでも十分に通用し、物理学者のミチオ・カク博士のみならず、ハインライン、クラーク、アシモフといった大御所のSF作家に加え、ボルヘスまでもが大絶賛し、誰もがこれに匹敵するものを書こう

と考えたと言うから、欧米におけるその人気は絶大なものと見受けられる。

*

どういう話かという、第2次世界大戦を目前に控えていたころ、ある一人の男の意識が宇宙に飛び立ち、時間や空間を瞬時に移動できるようになり（この辺りはまるで、エドガー・ライス・バロウズの「火星シリーズ」にも多少似ているかも知れない）、さまざまな惑星や恒星、銀河系宇宙における生命の発生や文明史、その栄枯盛衰を目の当たりにし、最終的には銀河を繋ぐ精神ネットワークの存在とその発達を理解することによって、このコスモス、あるいは「彼」が「スターメイカー」と呼ぶ造物主の実在と存在意義に気が付く（そして、無事に地球に帰ってくる）、というような壮大な内容なのである。まちがっても、『スター・ウォーズ』や『スタートレック』のようなお気軽なエイリアン断ではない。おそらく、映画化の話は永遠に出てこないだろう。

主人公の「精神」だけが時空を自由自在に飛び回るとか、惑星や恒星にも生命や精神が伴うとか、銀河の「精神ネットワーク」が一種のテレパシーによって形成されているとか、今の基準で見ればややファンタジー的な、あるいはニューエイジな要素がないわけではない。肉体を伴わない純粋な「精神」を主体にしているのは、宇宙の広がりや文明の歴史を俯瞰するために、どうしても「光速を超える」必要があるという前提での発想なのだろうが、私はそこでまず躓いてしまった（注）。

注：たしかに、質量を伴う物質であればそれは光速を超えることはできず、何万光年も離れた星へ一足飛びとい

うわけにはゆかなくなる。アインシュタインの理論はそう言っている。ならば、「精神だけが飛翔すればどうか、たぶん、物理的制約に捕らわれず時空を移動できるに違いない」というのであろう。しかし、たとえ靈魂や精神が非物質的な存在だと仮定しても、そこになんらかの「情報」がある限り（記憶とかアイデアとか）、それはある一定の秩序を保たなければならない。さもなければ、それは早晚無秩序なノイズでしかなくなってしまう。早い話が、それはエントロピーと無縁の存在ではあり得ず、構造を維持するためにはエネルギーの流入出がなければならない。となれば、たとえ精神であってもそれは結果的にエネルギーを必要としないではまず、一般相対性理論に従えば、それはとりもなおさず質量を持つことと等価となる。だから、やっぱり光速を超えることは不可能である。幽体離脱が仮にできたとしても、瞬時に木星まで飛んで行くとか、太陽の中を通り抜けるなんてことはできっこないのだ（もし私に幽体離脱が起こったら、死んだつもりでやってみるけどね、いちおう。人生の中で自分自身を用いて相対性理論を検証できる機会などそうそうあることじゃない。もっとも、私は幽体離脱そのものを全く信じてはいないのだが・・・）。これと同じことは、『スターメイカー』のなかで頻出する「テレパシー」についても言えるし、おそらくテレポーテーションについても言える。いかに超能力とて、この世のものである限り物理法則には逆らえないのだ。というか、物理法則に従う事物で出来ているものを「この世」と呼ぶのである。したがって、光速を超えて物体が移動したり、想念が伝わったりできるとは思わない。じつは、既知の物理学で一番手に負えないのは「予知能力」である。なぜかというところ、予知というのは、未来からやってきた情報を受け取るということであり、そのためには過去へ向かうことのできる粒子がなければならない。それに相当するのは光よりも速いタキオンだけだが、それはビッグバンが起こってからだいぶ経った現在のこの宇宙にはすでに存在しない。したがって、今後どんなに科学技術が進歩して、テレパシーや念力の代替となるような技術が可能となったとしても、予知能力に類した技術だけは作ることができないだろうと、ミチオ・カク博士はおっしゃっている。同様に、「宇宙のどこへでも瞬時に移動」というのも受け入れられない。なぜなら、「同時」という概念がそもそも宇宙にはないからだ。時間というのはむしろ、『インターステラー』じゃないが）光速と空間と重力でもって受動的に生まれてしまう一種の局所的な現象であるらしい。

しかしまあ、こと『スターメイカー』を堪能するに当たっては、そういううるさいことは気にしてはいけならしい。読み終わったあとであらためて考えてみると、確かにそこはこたわってはならない禁断の部分だということがよく分かる。そもそも、物理学はこの話のテーマですらないのだから。この小説はハードSFではないのだ。どうしても物理法則や宇宙物理学とか、ビッグバンとか、ブラックホールが気になるという向きは、おそらくポール・アンダーソンの『タウ・ゼロ』なんか読むのが良いのだろう。ビッグ・クランチまでちゃんと面倒見てくれるから。

というわけで、ハードSFよりも手塚治虫の『火の鳥』や、小松左京の『果てしなき流れの果てに』のような宇宙叙事詩、あるいはそれに先立つ、アーサー・C・クラークの『地球幼年期の終わり』のようなハイパーな作品が、この『スターメイカー』に始まる系譜上にあったと言って良いのかも知れない。宇宙生物はたくさん登場するが、それらはすべて、地球人のカリカチュアか、さもなければ実現しなかった架空の文明史を实践しつつある別世界の住人か、さらには、実際の地球人よりも遙かにものわりの悪い、文明崩壊をやってしまった不幸な連中として描かれている。主人公の「彼」によれば、どのような惑星上にも（それがゴルディロック領域にある限り？）、知的生命体は生まれてくるのであり、当初彼らの精神は、肉体と知性の欲求するままに突き動かされた、いわば無自覚で「まどろんだ」状態にあるのだが（そして、そのまま絶滅してしまうことすらあるのだが）、運良く「覚醒」できた種族は文明を開化させ、肯定的な意味における「ユートピア（私はこの語は嫌いだ）」建設に向かって邁進しているのである。「意識の覚醒」が「ユートピア」を指向し、文明を盛り立て、成熟してゆくというのが、宇宙的意味における惑星と生命にとっての「善」なのである。が、その成熟過程で思想の対立や政治哲学の不備が原因で戦争が起こり、発展しては滅んでしまう文明を、彼はいくつも目の当たりにすることになる。成熟より滅亡の方がはるかに起こりやすいのだ。地球の生命史を俯瞰すると、ほとんどの生物種はすでに絶滅しているが、知的生物による文明史も同じだということである。21世紀の今となつては、これは直感的に受け入れやすい前提だが（むろん、認めたくはないが）、19世紀の初めや戦後の1960年代は決してそうではなかった。まして、1930年代にそれを予見しているというのは、どういう精神なのであろう。

とにかく、いろいろなことを考えさせる崇高な小説だ。「彼」はさまざまな星へ行き、その「住人」の精神に寄生することによって観察を続けるが、予想されるように彼は実にさまざまな生物に遭遇することになる。おそらく、ここが最もSFらしい部分だ。ある星には昆虫のような生きものが知的生物となっており、また、ある星では軟体動物から進化した「亜人類」もいる。棘皮動物から進化したような知的生命だっている。むろん、人間とそ

つくりな生物もいて、彼らは文明の荒廃を止めることができず、目の前で自滅する（かのバルタン星人も、一人のマッド・サイエンティストが母星を破壊してしまったために、やむなく地球侵略に及んだことを思いだそう）。どの種族もみな、あたかも判で押したように、精神の覚醒に引き続いてユートピアを目指し、まるでおきまりのように環境破壊や戦争を起こして文明の故に自滅してしまう。「彼」はそんな悲劇をこれでもかといわんばかりに見せつけられるのである。

そんななか、甲殻類型生物と硬骨魚型生物の間に生じた奇妙な共生関係だけが、比較的安定したユートピア社会の実現に向かって邁進していることを「彼」は発見する。まるで、すべての知的生物は、利己的な発展を目指す限りにおいて、さらに画一化を目指す限りにおいて自滅することが定められているとも言いたげである。あるいは、多様性の喪失それ自体が、生態学的に「悪」ということか。

いわばこの物語は、さまざまな知的生命体の運命を一人の人間に見せつけることによって、知的生物の文明が理想化された神の領域にいたることがどれほど陰しい道であるのか、さまざまな失敗例を確認することによって模索しようとしているのである。産業革命以来の機械文明がひとつの頂点に達し、国家間の緊張が高まり、戦争勃発が必至と見られた状況だからこそ、作者のステーブルドンはメタ的な視野に立ち、宇宙的規模でもって世界観を構築することの必要性を説くことができたのではなかろうか。

＊

以前、私は拙著『地球外生物学』において、生物の進化的多様化を物理学の多世界論とか、いわゆるパラレルワールドと並べて論じたことがあった。どういうことかという、我々人類が今このような世界に生きていることは、さまざまな偶然と因果の積み重なるの結果であり、非決定論的なこの世においてはそれがあくまで偶然のひとつに過ぎず、さらにそれと同じ意味で、我々ホモ・サピエンスが生まれてきたことも、多くある偶然のひとつに過ぎない。ならば、その他にどのような進化の道があったのかというと、その一部は目の前にある生物多様性の中にすでに見えているのであると・・・。

つまり、チンパンジーや化石で見つかるネアンデルタール人は、「今頃、ひょっとしたらこうなっていたかも知れない」という、我々の可能性のひとつなのだ。もし、進化が段階的にレベルを向上させてゆく過程であるとすれば（つまり、あたかも階段を上って行くように、ひとつの種Aが、次の時代にはより優れた種Bに変化していくとすれば）、チンパンジーはホモ・サピエンスになれない段階で留まっていると説明されることになるのだろう。が、実際の進化は階段ではなく「分岐」の連続であり、それは基本的にはありとあらゆる可能性の発露の現場なのである。このように考えれば、類人猿だけではなく、他の哺乳類や羊膜類、果ては無顎類や、他の動物門もまた、「どこかで間違った道を選んでいたら、今頃自分はこうだったかも知れない」という可能な例の数々なのだということができる。周りを見渡せば、我々はいままさに、進化のパラレルワールドの重なり合いを見ているのであると・・・。

社会の進化も同様である。ひとつの国がどのような運命を辿るか。どのような出来事が一国の命運を分けるのか。その偶然性と運命論的性格は、これまでの歴史がイヤと言うほど、我々に見せつけてやまないものである。それはしばしば、婚姻にバイアスを与え、適応度の偏りを産みだし、人類の進化に直接間接に関わってきた。誰を優遇し、誰を差別するか、そこに思想や哲学が介在し、それによって個々人の人生が決まるとしたら、政治思想はすでに進化の一部なのである。『スターメイカー』に述べられていることそのままなのである。ならば、我々は果たして、運良く生き延びることができた幸運な種族としてこの世界を謳歌しているのか。それとも、真に幸運な種族は別のパラレルワールドにすでに存在しており、我々は多くある失敗例のひとつを実践している最中に過ぎないのか。

これと関係するかもしれない良く似た話があるとすれば、それは物理学における「人間原理」ということになるのだろう。この宇宙のあり方を規定している物理定数が特定の値を取っているからこそ、ゴルディロックス領域が成立し、地球のような星が生まれ、そこには大気と液相の水があり、それによって生命が生まれ、我々の進化も可能となった。これが少しでも違えば、人間はこの世に生まれることもなく、従って物理学も生まれず、この

宇宙の物理定数の意味を問いかける知的存在も現れなかったであろう。したがって、この宇宙は見方を変えれば、「我々のためにこそ存在する」のであると。我々は祝福されているのであると。人間原理にはいくつかの異なったレベルのものがあるが、最も宗教色の強い運命論的な解釈をするとこのようになる。

しかし、これはむしろ逆ではないのか。宇宙創成にあって、物理定数が決まる何らかのイベントがあったとして、そこにも揺らぎが伴っていたとすれば、その瞬間、宇宙の運命はいくつもの可能性に分岐し、我々の知らない別の宇宙もどこかで実現しているのではないか。その中で、この宇宙においてだけ人間が生まれたに過ぎず、そして他の宇宙では、この宇宙の意義を問いかける存在が生まれることもなかったのだと。つまり、「考察されざる無数の亜宇宙」が存在するのだと。いや、それ以外にもまだ可能性はある。人間が生まれずとも、異なった物理定数のもとで、全く異なった原子組成の生命体が知的生物となり、人間と同様に宇宙の意味を考えているとしたらどうだ。ひとつだけ確かなことは、我々の存在それ自体が、極めて宇宙論的だということなのだ。そして、この世界の成り立ちそれ自体と、その揺らぎによってこそ今があり、まだ未来は何も決まってははいないのだというこ

とに思い至るのである。1930年代、そういった思想にすでに至った作家がいた、と言うことが驚きなのである。

ひとつ加えることがあるとすれば、世の中の動向に対し、壮大な世界観で臨み、個々人の生きる道を示そうという姿勢に、何か19世紀的なものを感じないでは居れない。たとえば、『スターメイカー』の雰囲気にある意味よく似た童話として、19世紀英国の牧師、キングスレーによる『水の子供たち』が思い浮かぶ。これは、煙突掃除人として辛い生活を強いられたトムという10歳の男の子が、ある日、池にはまり込み、見る見るサンショウウオの幼生のように外鰓が生えだし、水の中でのいろいろな冒険を経て、ようやく一人前の男として蘇るという物語だが、ここに当時の科学理論や産業革命以来の新しい政治思想がいたるところで顔を出すのである。世界の広がりの中に自身の狭量さを認識し、遙かな高みから自らのうちに「善なるもの」を見出す。人間は所詮、社会とも、自然とも、そして宇宙開闢以来の歴史とも切り離されては生きてゆけない存在なのである。最近、とんとお目にかからないタイプの物語に、それを再発見した次第である。

(初回執筆：2020年3月)

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 3 No. 12

発 行 : 2020 年 7 月 14 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/>