



Evolutionary Theory for

CONSTRAINED & DIRECTIONAL DIVERSITIES

Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 3 No. 7 (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～



第5回理論情報交換会 第5回大規模情報解析情報交換会
第6回領域会議 第6回総括班・大規模解析支援班・国際活動
支援班合同会議 第2回若手ワークショップ報告

表紙: サツマニシキ *Erasmia pulchella*。2019年4月25日沖縄県名護岳登山道にて。
日本産の蛾の最美麗種である。捕まえると悪臭のする黄色い泡を胸部から大量に噴出することで
知られ、この美しさは警告色としての機能を有する。(写真: 深津武馬)

目次

新学術領域研究「進化の制約と方向性」

第5回理論情報交換会 第5回大規模情報解析情報交換会 第6回領域会議 第6回総括班、
大規模解析支援班、国際活動支援班合同会議 第2回若手ワークショップ 日程概要 1

領域代表挨拶 倉谷 滋 4

第5回理論情報交換会報告 古澤 力 5

第5回大規模情報解析情報交換会報告 重信 秀治 6

第5回大規模情報解析情報交換会参加レポート 二河 成男 7

計画研究班報告

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ゆ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

公募研究班報告

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 16

「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 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 21

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 22

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 23

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 25

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 26

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 28

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	29
ネットア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	30
ゲノム倍数性を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	32
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	33
第2回若手ワークショップ報告	上坂 将弘	34
理論情報交換会・大規模情報解析情報交換会・領域会議・若手ワークショップ参加記	藤川 真琴	35
第6回領域会議参加記	森 崇晃	36
領域会議&若手ワークショップ感想記	高井 嘉樹	37
連載エッセイ(17) 『ビーグル号航海記』に見るSFと科学の距離	倉谷 滋	38



若手ワークショップにおける討議の様子

新学術領域研究「進化の制約と方向性」

第5回理論情報交換会

第5回大規模情報解析情報交換会

第6回領域会議

第6回総括班、大規模解析支援班、国際活動支援班合同会議

第2回若手ワークショップ

於 基礎生物学研究所/岡崎コンファレンスセンター 日程概要

12月20日(金) 基礎生物学研究所

理論情報交換会@111 会議室

10:30～12:00 第5回理論情報交換会 (1)

12:00～13:30 昼食

13:30～18:00 第5回理論情報交換会 (2)

12月21日(土) 岡崎コンファレンスセンター

大規模情報解析情報交換会@中会議室

領域会議@大隅ホール

ポスター発表 交流会@中会議室

計画班会議@小会議室

9:30～12:00 第5回大規模情報解析情報交換会

9:30～ 9:35 重信秀治「はじめに」

9:35～10:00 二河成男「深津班」

10:00～10:25 安岡有理「安岡班」

10:25～10:50 PALFALVI Gergo「長谷部班」

10:50～11:15 内田唯「入江班」

11:15～11:40 佐伯望「守屋班」

11:40～12:00 総合討論

12:00～13:20 昼食@中会議室、ポスター掲示開始

13:20～18:00 第6回領域会議

13:20～13:30 領域代表始めの挨拶:倉谷滋

座長:古澤力

13:30～13:50 倉谷滋「脊椎動物の筋骨格系の形態進化に見る制約と方向性」

13:50～14:10 入江直樹「脊索動物胚発生分子発生システムゆらぎ測定と進化的保存性」

14:10～14:30 金子邦彦「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」

14:30～15:00 休憩

座長:金子邦彦

15:00～15:20 長谷部光泰「摂動実験を用いた食虫植物の捕虫葉進化機構の解明」

15:20～15:40 深津武馬「昆虫—微生物共生可能性の探索と分子基盤の解明」

15:40～16:00 古澤力「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」

16:00～16:30 休憩

座長:入江直樹

16:30～16:50 田村宏治「胸鰭の鰭条本数の個体間ゆらぎ要因と種間形態多様性」
16:50～17:10 守野孔明「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」
17:10～17:30 土松隆志「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」
17:30～18:00 岡田泰和「武器と性形質進化における発生の拘束と可塑性」

18:00～20:30 交流会 ポスター発表

20:30～21:30 計画班会議(倉谷、金子、深津、古澤、入江、長谷部)

12月22日(日) 岡崎コンファレンスセンター

領域会議@大隅ホール

ポスター発表 昼食@中会議室

総括班会議@小会議室

若手ワークショップ@中会議室

9:00～13:40 第6回領域会議(続き)

座長:深津武馬

9:00～9:20 上野博史「酵素1分子の活性揺らぎと進化能の関係」

9:20～9:40 田中幹子「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—」

9:40～10:00 石川由希「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」

10:00～10:20 市橋伯一「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」

10:20～10:40 休憩

座長:重信秀治

10:40～11:00 細田一史「生態系の揺らぎ応答関係と内部進化の実験的解明」

11:00～11:20 晝間敬「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」

11:20～11:40 守屋央朗「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」

11:40～12:00 安岡有理「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」

12:00～13:00 昼食 ポスター発表@中会議室

12:00～13:00 第6回総括班会議@2階小会議室

総括班代表:倉谷滋

総括班分担者:入江直樹、金子邦彦、長谷部光泰、深津武馬、古澤力、重信秀治

総括班研究協力者:郷通子、藤山秋佐夫

学術調査官:園下将大

領域会議続き

座長:長谷部光泰

13:00～13:20 大林龍胆「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～」

13:20～13:40 新美輝幸「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」

13:40～15:30 第2回若手ワークショップ

15:30～15:40 領域代表終わりの挨拶:倉谷滋



参加者集合写真



領域会議の会場風景

領域代表挨拶

元号が改まった令和1年もいよいよ押し詰まって参りましたが、皆様その後いかがお過ごしでしょうか。

先日、理化学研究所の科学者会議セミナーというものがあり、和光に行って参りました。そこで、東大の國枝先生に、クマムシを扱った見事な研究成果を発表して頂いたのですが、それがまた非常に面白いトークで、私がそれまで知らなかった数々の現象について知ることができ、いたく感激して帰って参りました。クマムシと言え、たしかに乾燥に耐え、真空や過激な温度変化に耐えることで有名な生物です。動物の常識を遙かに超えています。とりわけ、研究の競争が激化しているヨコヅナクマムシの生態に関しては良く知られるようになってきました。伝統的にはクマムシ、つまり緩歩動物は、カギムシを含む有爪動物とともに節足動物の系統と近いと目されてきましたが、最近の分子系統学的解析では、線虫とも類縁性がありそうだということになっています。しかし、よくよく聴いてみますと、どうやらそれは一種の long branch attraction による効果も入っているとのこと、進化的起原に関してはまだ謎の残る動物だということだそうです。さらに、緩歩動物の内部でも、さまざまなクマムシが多様化しており、そのなかには乾燥に耐える能力のない、水棲のものまでいるということです。

そもそも、「クマムシの話を聞きたい」というのは、生物学に吹き始めた新しい風を感じてみようというのがそもそもの目的だったのですが、極限環境を生き延びる能力のある特殊動物の遺伝子研究や細胞生物学研究はまさにうってつけで、DNAの放射線耐性や冷凍睡眠まで視野に入れたその応用面もさることながら、彼らの特殊能力、そしてそれを可能にする遺伝子の進化的起原を考えると、自然にはまだまだ我々の想像を超える現象が潜んでいると実感せずにはおれません。いったい、どのような経路でいつ、どこで、なにが進化してきたのか、そこにはどのような偶然と必然が作用していたのか。応用が重視されるようになった生物学においてこそ、実は進化の理解が本質にあるのだということをあらためて強く認識したわけです。

おかげさまで先般、新学術中間評価の発表が滞りなく終わり、A評価という結果も出ました。これも、皆様の研究の賜であります。なかなか理解が難しく、人に伝えるのが困難な領域であるにも関わらず、この結果が出たことを大きなプラスと考えたいと思います。新しい科学が生まれるときは、いつも古い考え方が邪魔をします。それを打開するのは、分かりやすい現象の提示以外にありません。これまでのペースを維持しつつ、いよいよ本腰を入れて後半に臨みたいと思います。今年の冬は思いの外寒さが厳しく、風邪やインフルエンザが蔓延していますが、何事もなく研究が進むことを期待しています。では、張り切って参りましょう。

倉谷 滋(理化学研究所)



第 5 回理論情報交換会報告

古澤 力(理化学研究所/東京大学)

本領域では、表現型の揺らぎと進化の方向性の相関関係について解析を進めていますが、そこで常に問題となるのは、どのようにして表現型を定量するかという点です。例えば、脊椎動物の形態進化を解析する場合、その「形態の揺らぎの大きさ」には様々に異なる定義があり得るでしょう。形態は本質的に高次元のデータであり、そこでの差異を議論することは簡単ではありません。特徴的なランドマークを用いて形態空間を定義し、そこでのユークリッド距離や主成分空間を用いて議論する研究もありますが(e.g. Sakamoto & Rita, PLOS One, 2012)、ランドマークの恣意性に常に悩まされ、また線形変換である主成分解析によって、高次元のデータから常に適切な特徴量(軸)が抽出できるとは限りません。

こうした高次元データからの特徴量抽出について、近年の機械学習の発展により様々な手法が提案されています。それぞれに利点・欠点はある、注意深く使う必要はあるのですが、それらの手法を理解し使えるようになることは、本領域が目指す表現型揺らぎや進化的応答の解析に貢献するはずで、そこで今回の理論情報交換会では、機械学習のハンズオンセミナーを行いました。目的は二つあり、一つは自ら手を動かして様々な手法を使えるようになること、もう一つは形態に代表される高次元データをどのように扱い、どのような情報を抽出すべきか、理論的な枠組みやその背後にある思想を議論することです。

具体的な内容としては、Python/Jupyter を用い以下の手法について解析を体験しました。

- PCA (Principle Component Analysis)
- t-SNE (t-distributed Stochastic Neighbor Embedding)
- UMAP (Uniform Manifold Approximation and Projection)
- VAE (Variational Auto-Encoder)
- SVM (Support Vector Machine)
- RF (Random Forest)
- CNN (Convolutional Neural Network)

データとしては、機械学習分野のスタンダードである手書き文字データセット MNIST や、植物葉の形態データセットなどを用いて、形態データの分類やそこからの特徴量抽出を行いました。

セミナーは、それぞれの手法について仕組みを解説し、その後にサンプルコードを自ら実行するという形で進みました。ただし、単に実行するだけではなく、その利点・欠点についての考察や、背後にあるデータが持つ分布にどのように迫るかなど、活発な議論が行われたと思います。このハンズオンセミナーで用いた資料は、

<http://mbd.riken.jp/kuratani.html>

からアクセス可能です。説明に用いた資料も PDF 形式でダウンロードできます(パスワードは furusawa です)。興味のあるかたはご覧になってください。質問は大歓迎です。

次回のハンズオンセミナーで何を題材とするかは、今後検討していきます。こんなことをもっと学びたいなど、何かご意見がある方は、古澤(chikara.furusawa@riken.jp)まで連絡をお願いします。

第4回大規模解析情報交換会報告

重信 秀治(基礎生物学研究所)

「大規模情報解析に関する各班からの情報提供とディスカッション」

9:30 - 9:35 はじめに(重信秀治)

9:35 - 10:00 深津班(二河成男)

10:00 - 10:25 安岡班(安岡有理)

10:25 - 10:50 長谷部班(PALFALVI Gergo)

10:50 - 11:15 入江班(内田唯)

11:15 - 11:40 守屋班(佐伯望)

11:40 - 12:00 総合討論

これまでの大規模解析情報交換会は、NGS の最新技術の紹介など、支援班からの情報提供が主でした。第5回を迎える今回、初の試みとして、班員からの情報提供の場を企画しました。コンセプトは、各班の大規模解析の現状や体験談を発表してもらい、単なる一方通行の発表にとどまらず、それをネタに皆で議論するというものです。まとまった話は領域会議で発表があるはずなので、この場では、本会の目的である情報共有の趣旨を鑑み、大規模解析の具体的なディテール、例えば使ったソフトウェアやパイプラインにまで言及してもらおう。さらに、演者の皆さんには、失敗談や未解決の問題にも触れてくださいとお願いしました。司会をつとめた私は、ラボミーティングのようなノリで参加者がざつぱらんに議論できるように配慮したつもりです。

支援班のサポートを受けている班から5名の方々に発表していただきました。深津班の二河さんには、カメムシ共生可能細菌のゲノム解読および 16S リボソーム RNA 解析について発表していただきました。(詳細は以下のご本人のレポートをご覧ください)。安岡さんには、ゼノパス胚の ChIP-seq と RNA-seq の解析について解析のディテールを発表していただきました。特に RNA-seq の spike-in コントロールは注目を集め、その扱い方やデータの解釈の仕方、ノーマライズの方法などについて会場から様々な意見が出ました。長谷部班の Gergo 君には、食虫植物の single cell RNAseq の体験談を発表してもらいました。一般的に植物は細胞をばらすことが難しく、single cell RNAseq の適応が困難な材料とされてきましたが、Gergo 君は核を単離して、single “nuclei” RNAseq として1細胞トランスクリプトーム解析を実現することに成功しました。この技術は画期的で、細胞の乖離が困難な動物細胞にも応用可能です。入江班の内田さんには、メダカ胚の超多サンプル RNAseq およびゲノムリシーケンスについて発表してもらいました。揺らぎを捉えるための解析手法について試行錯誤を重ねている様子が伺えました。これは領域共通の課題だと言えます。守屋班の佐伯君には、Nanoporeを使った網羅的プラスミドシーケンスについて発表してもらいました。この手法は領域が発足してから、守屋班と支援班とで協力して開発したものです。ライブラリ作成からドライのインフォマティクス解析まで軌道に乗っていることを知り、支援班として嬉しく思いました。

領域内で頻用される技術について情報共有ができたのみならず、発表者と会場との間の活発な議論もでき、有意義な企画になったのではないかと思います。当日の午後以降に開催された領域会議では、計画班および公募班の代表から研究報告がなされましたが、上記の大規模解析情報交換会で解析担当者の試行錯誤や工夫の話を聞いた後に代表の発表を聞くと、各班の研究の展開がリアルにかつ立体的に感じられました。次回以降にもまた、同様な企画を開催したいと思います。発表者の皆さん、議論に加わっていただいた皆さん、どうもありがとうございました。

第 5 回大規模情報解析情報交換会参加レポート

二河 成男(放送大学)

今回は、各班の大規模情報解析の現状や体験談を発表して議論するという、新たな形式で行われた。自身では試みたこともない最新の手法に触れることができ、それらの問題点なども議論され、講演や論文からは知ることが難しい情報を得るよい機会であった。

私は深津班で行っている、Nanopore や PacBio を用いた細菌ゲノム配列決定と、16S rRNA 領域を用いた土壌細菌叢解析について報告した。配列決定に関しては、Nanopore を用いると 4M 程度の環状ゲノムであれば容易にその完全長を決定できるが、特定の塩基配列でメチル化に起因する読み間違いや、ホモポリマー領域に indel が生じることを紹介した。PacBio についても同様のゲノムであれば完全長を決定できる。ただし、配列決定に用いる DNA の質に結果が左右され、PFGE において 100kb を超えるものが確認できる DNA が必要なこと、また、一部のサンプルで特定の塩基配列に挿入の読み間違いが生じやすいことを説明した。加えて、アセンブルや遺伝子予測に用いたパイプラインについても示した。そして、16S rRNA による土壌細菌叢解析の状況と用いたパイプラインについて紹介し、発表を終えた。この発表に対して、Nanopore の basecaller の機能向上、PacBio の読み間違いと DNA 修飾との関連、ショートリードを組み合わせた hybrid アセンブルの重要性について、コメントやアドバイスを頂き、大変参考になった。

他の演者の発表に関しても、興味をもったものについて紹介したい。自身の不勉強のため、結果のきれいなデータやグラフが出てきて初めて、これはどのように実験や解析を行ったかが知りたくなるという状況なので、気になったものについて、後から自身で調べ理解したことを述べる。1 つは、ATAC-seq である。この方法では、トランスポゾンを利用して真核生物の核 DNA 上に散在するオープンクロマチン領域の塩基配列を網羅的に決定する。比較的少ない細胞数と低価格で、組織ごとのオープンクロマチン領域を比較できるとされている。また、シングルセルごとの解析も可能であり、オープンクロマチン領域の共通性を利用した細胞種のグループ分けも行われている。本交換会でも非モデル生物でシングルセル ATAC-seq に基づく細胞種の分類ができることが示された。もう1つは、RNA-seq である。現在では、単純に組織間の遺伝子発現量を比較するのではなく、より正確かつ詳細な比較が求められており、今回もどう比較するか、何を比較するかといったことが議論された。また、そのような比較を可能にする、シングルセルでの RNA-seq や spike-in という校正用のマーカーを用いた方法についても紹介があった。これらに加えて、近交系の多型サイトの同定や、Nanopore を利用したプラスミドのコピー数の定量などについても報告があった。

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、日下部りえ（理化学研究所）

【研究目的・背景】 本研究では脊椎動物の筋骨格系に注目し、その形態進化を左右してきたとおぼしい発生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方向性の関連を理解することを目指している。脊椎動物進化では、筋-骨格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、まず比較形態学的探索を展開、続いて、発生機構的探索を通じて胚発生における筋-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理解することを目指している。

対象とするのは移動性体節筋(MMP筋-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筋前駆細胞が長距離を移動後、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-骨格結合の保守性の基盤が失われがち(すなわち、進化的新規形質が現れやすい)と推測される。

【2019年度研究進捗状況】 これまでに、比較形態学的探索としてヤツメウナギやトラザメの胚発生におけるMMP筋(鰓下筋群)の発生過程についての解析(日下部)と、筋と骨格の結合関係が抜本的に変化した稀な例であるカメの胸筋の進化(平沢)について研究を進めてきた。前者に関しては、これまでに遺伝子発現解析およびCRISPR/Cas9による遺伝子破壊実験により、マウスやニワトリで研究されてきた移動中の筋前駆細胞の分化抑制が現生脊椎動物の共通祖先でほぼ成立し、その移動や胚環境との相互作用に伴うはずの揺らぎが脊椎動物の初期進化から存在していたらうということが分かりつつある。後者に関しては、スッポン胚において胸筋原基がまず腹部の真皮と結合を樹立し、のちに真皮内で成長した腹甲骨格と二次的に結合することを発見した。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が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。発生機構的探索にも着手しており、まず上記のカメ胸筋の比較形態学的探索にヒントを得、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を進めている。

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、化石種形態を系統樹上で比較する準備を整えている。本年度は、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* の化石に対して、シンクロトン放射光X線マイクロCTを駆使した精密形態観察を行なった。

【今後の展望】 発生過程の解析においては、報告されている発生関連遺伝子以外についても比較すべく、MMPが移動する胚環境について、肢芽や頸部、カメの腹部等の組織のトランスクリプトーム解析を行う。これは当初計画では初年度から開始する予定であったが、ヤツメウナギ胚やスッポン胚等における発生過程の解析が予想以上に進展したため、それらの結果を十分に考慮してから開始した方が本課題の遂行上効率が良いだろうと判断した。

発生機構的探索では、これまでに確立したニワトリ前肢移植実験を本格的に展開し、腱前駆細胞不在の異所的な胚環境に置かれた胸筋の筋芽細胞の応答についてのデータを集める。さらに、移植等による擾乱実験だけでなく、一連の遺伝子発現解析およびトランスクリプトーム解析の結果をもとに局所的遺伝子操作を行い、その発生環境変動に対する応答も解析する。

続いて、胚発生上の筋-骨格結合成立過程における揺らぎを検出すべく、ニワトリ胚を中心にして、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だろうと予想される。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。

最後に、化石記録を含む比較形態学的探索から調べられた進化的傾向と発生機構的探索で検出された揺らぎの間の対応関係について、理論的な検証を進める。

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)

【研究目的・背景】 これまで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しやすいという、揺らぎ応答理論を定式化してきた。これを踏まえ、表現型進化の制約、進化しやすい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、環境変化で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。成果は一般向け講演、成書でも公表、表現型進化の新描像を広く世に問う。

【2019 年度研究進捗状況】 (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、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うことで多種共生が生じること、最後に個体―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。[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。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、この拘束された揺らぎは発生過程に起因することをモデルから示した。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が種内で共存することを、配置過程の計測を通じて見出した。

【今後の展望】 (i)大自由度の表現型空間からいかに自由度縮減が生じるかの統計力学理論、それをもとにしたマクロなポテンシャル地形理論を完成させ、その一般化によって各班の実験への指針を与える。(ii)階層性進化による情報―機能分化の対称性破れ理論を細胞、多細胞生物、細胞集団、個体集団(社会)へと拡張する。特にサイズが臨界値を超えると分化が生じることに着目しつつ、共生出現条件の定式化を含めて、各班での実験検証を図る。(iii)発生の砂時計仮説とロバストネス進化と遅い過程による制御過程の意義を明らかにする。ボディプランの揺らぎと進化の方向性の対応を解析するとともに、揺らぎの制御を通じて特定の対称性を選択的に創出する実験系の構築を試みる。加えて、細胞の形態揺らぎと進化の対応関係を解析する。

脊索動物胚発生分子発生システムゆらぎ測定と進化的保存性

入江直樹(代表・東京大)、内田唯(研究協力者・東京大)、上坂将弘(分担・理研)

【研究目的・背景】 動物の発生過程の進化的多様性には、ある種の法則性が存在することが近年明らかになった。長年の予想に反して、発生段階のうち最も保存されているのは最初期ではなく、発生の途中段階(特に器官形成期)であるという法則性(=発生砂時計モデル)が遺伝子発現情報の比較解析研究から判明した。この保存された器官形成期こそが、動物門ごとのボディプランを数億年スケールで強固に保存させてきた原因になったのではないかと考えられており、門ごとの型(タイプ)を指定するという意味からファイロティピック段階と呼ばれている。しかし、発生砂時計モデルが複数の動物門において成立することが示唆されているにもかかわらず、なぜ器官形成期が保存されるのかについてその進化メカニズムは明らかになっていない。ボディプランは、長い進化スケールにおいて非常に変わりにくい「限られた多様性」の好例と考えており、本課題ではこの進化メカニズムを明らかにしたい。

【2019 年度研究進捗状況】 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か。今年度はこの問題に対し、メダカ胚・全胚遺伝子発現プロファイルの揺らぎと種内進化スケールでの進化的保存の関係性について探った。具体的には、遺伝的差異の小さい近交系を用い、親・発生段階・性別・水質等を合わせた兄弟間ペアでの一個体胚由来遺伝子発現プロファイルを表現形として比較したところ、進化的に保存された器官形成期ではそれ以前あるいはそれ以降の発生段階よりも揺らぎが小さいことが判明した。また精緻な比較解析のため、種内進化での保存性評価実験も行い、実際、これら揺らぎの小さい発生段階と合致する進化的保存性の相関を確認した。

さらに、こうしたゆらぎの小さい遺伝子群は時間的にも空間的にも多様な組織で発現する多面発現遺伝子である傾向も判明した。多面発現遺伝子が多い発生段階と進化的保存性の相関は以前の研究で確認しており(Hu et al. *Nature Eco Evo* 2017)、今回の結果は、多面発現遺伝子と揺らぎの小ささ、そして進化的保存を結びつけうるものである。これら結果を整合的に説明しうるシナリオとしては、多面発現遺伝子が揺らぎの小さい頑健かつ変異にも栄養を受けにくい制御システムをもっているために進化を通して保存されている可能性が考えられる。ただし、今回の解析で明らかになったのは、あくまで「揺らぎの小ささ」、「多面発現性」、「進化的保存」の3要素の相互の相関関係であり、前後関係あるいは因果関係を意味するものではない。今後、これらの因果関係に少しでも迫るべくメダカを用いた進化実験を予定している。

また、動物の発生過程を通して使われる制御領域が、進化を繰り返すかのような反復的傾向を示すことを発見した。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)。ヘッケルにはじまる反復説は、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初めてのことである。

【今後の展望】 ボディプランを規定する器官形成期はなぜ進化的に保存されているのか。器官形成期の保存と相関する要因として、揺らぎの小ささ、多面発現遺伝子が互いに相関していることが今年度の実験からみえてきた。これは、発生システムがもつ内的要因が進化的な保存に大きく寄与しているという意外な可能性を示唆するものであり、ボディプラン進化の保守性や定向性に迫りうる重要な手がかりだと考えている。しかし、その具体的な進化メカニズムについては未解明のままであり、今後はこの問題に取り組む。特に、現段階では「揺らぎ」、「多面発現性」、「進化的保存」との相関に留まっていることから、因果関係あるいは前後関係について言及できないという課題がある。今後は、揺らぎが小さい発生段階は、実験進化させても保存される傾向にあるということを確認するべく、別系統のメダカを掛け合わせるなどした実験進化による検証を進める。

また、これまでの研究から器官形成期の保存に寄与しうる要因はみえてきたが、全胚由来の遺伝子発現プロファイルとボディプランとの関係は不明瞭なままである。そこで保存された器官形成期の細胞集団レベルでの関連を single cell seq で解析し、遺伝子発現情報レベルでの保存性とボディプランとの理解のギャップを埋めるための研究を開始する。

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(産総研)、細川貴弘(九州大)、重信秀治(基生研)、
二河成男(放送大)、西出雄大(農研機構)、松浦優(琉球大)

【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自由生活性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。

【2019 年度研究進捗状況】

- ・環境中に存在するチャバネアオカメムシ共生可能細菌群の網羅的な探索、分離、同定を継続的に実施し、特に南西諸島の宮古島に見られる共生細菌 C が優先する特異な状況について追加調査をおこなった。

- ・チャバネアオカメムシ由来の培養可能共生細菌 (C, D, E types)、その他のカメムシ類由来の培養可能共生細菌 (C, D, E types)、そして日本各地の土壌由来でチャバネアオカメムシの生存を支持できる潜在的共生細菌 (Xn types) の計 60 系統についてゲノム解析を進めた。うち 49 系統はほぼ完全長のデータが得られ、環状化した染色体やプラスミドの配列を決定した。8 系統は現時点では理由が不明だが、contigs がつながらない。2 系統は IS が増幅しているため、リード数は十分あるがつかない。1 系統は IS 増幅かつリードが少なく解析不能の状況である。

- ・チャバネアオカメムシ由来の培養可能共生細菌 10 系統、その他のカメムシ類由来の培養可能共生細菌 12 系統、そして日本各地の土壌由来でチャバネアオカメムシの生存を支持できる潜在的共生細菌 42 系統について、日本本土由来カメムシ (A type 共生細菌に感染) に実験的に感染・共生細菌置換をおこなったうえで、羽化率、体サイズ、体色、共生器官の各種形状、発現遺伝子、次世代への垂直伝達率などについて、網羅的に調査を進めている。

- ・チャバネアオカメムシの発生過程における中腸器官の形成過程を詳細に明らかにした。主要な知見としては: 中腸後部の4列の盲囊列は1齢幼虫期に盛んな細胞分裂を伴って起こり、2 齢脱皮時までにはほぼ盲囊原基の基本構造ができる; 共生細菌除去虫でも1齢幼虫期の盲囊原基形成は進行し、共生細菌なしでも自発的に進行する形態形成過程と思われる; 盲囊原基の境界に一致して内臓輪状筋が配置していることが観察され、内臓筋配行のパターンが共生器官の形態形成に関与する可能性が示唆される; 共生器官は1齢期から4齢期までは単純な伸長成長を示すが、5 齢期に太短くなり捻転する独特の形態変化が起こる; 5 齢期には盲囊基部が絞られて閉鎖するような形態変化が進行し、共生細菌は盲囊内に収納されて主管から隔離される; これら5 齢期の共生器官の形態変化に伴って、消化管における食物流路が変化して、成虫においては幼虫で不可能であった固形物の排泄が可能になる; 他。

- ・微小流路培養システムを駆使したチャバネアオカメムシ培養可能共生細菌の増殖速度、遊泳能、分裂パターン、形態的特徴などの様々な表現型を1細胞レベルで計測・評価する系を確立した(古澤班若本さんとの共同研究)。

【今後の展望】 フィールドから実験室まで、ゲノムから適応度まで、環境細菌から潜在的共生細菌、任意共生細菌から絶対共生細菌まで、多様な共生のありかたの生態と進化の理解、その過程における揺らぎや制約の検出と解析にさらに取り組む。

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(理研)、若本祐一(東京大)、津留三良(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、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。

【2019 年度研究進捗状況】

(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。

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。

【2019 年度研究進捗状況】

〔課題1. 食虫性関連遺伝子の特定〕 Palfalvi 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、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ている。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で、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、吸収に関わる因子の推定を行っている。これまで、トランスクリプトームの違いと細胞種の違いが対応していること、茎頂分裂組織から葉形成の過程を細胞系譜が追えることがわかった。今後、食虫性に関わる蓋の明かり取り窓、腺点、蜜腺などの器官のサンプル収集を行い、食虫性に関わる組織がどのような細胞系譜によってできあがるかを推定する。

鳴川を中心として、前年度カルスを用いた形質転換に成功しなかったため、ホルモン濃度などを変化させて実験を継続するとともに、苗状原基形成に成功したので、苗状原基を用いた形質転換系の確立を目指している。また、形質転換がうまくいかなかった時のために、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ている。

Palfalvi を中心として、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、食虫性がこれら3種は近縁なウツボカズラとは独立に食虫性を獲得した可能性があることがわかり、論文を投稿中である。

Palfalvi、須田を中心として、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を行った結果、捕虫葉が食虫性を獲得する段階のトランスクリプトームは、シロイヌナズナの老化のそれと類似していることがわかった。このことから、食虫性は老化の遺伝子系を流用することで進化した可能性があることがわかった。

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予定である。また、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っている。

〔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ている。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℃、25℃）、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っているが、これまで消化酵素の起源となった耐病性遺伝子の発現ゆらぎが大きいこと、平面葉より捕虫葉のゆらぎが大きいことがわかってきた。自然界で無いような環境条件でできる可能性がでてきた異常形態葉について、論文を取りまとめている。

〔課題3. 温度感受に関わるクロマチン動態の解析〕 Palfalvi、玉田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調べている。異なった温度でオープンクロマチン領域が変化する可能性を調べるため、single cell ATAC-seq の実験を開始した。

【今後の展望】 今年度内のハエトリソウの運動、モウセンゴケ科のゲノム比較、トランスクリプトーム比較の論文の投稿を行う。実験は全て順調に進行しているが、大量シーケンスに遅れが見られるので実験体制の見直しをして実験の迅速化を目指す。

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、田中祥貴、工藤栄大、吉田溪悟、阿部玄武（東北大学・院生命）

【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、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。しかし近年、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、についてゼブラフィッシュを用いて調べた。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ると、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、全体数は 10~13 本と個体差が存在することがわかった(図 2)。鰭条数のゆらぎは同一系統の同腹個体でも見られ、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、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。

【2019 年度研究進捗状況】 まず、図1の内容を中心として、胸鰭と前肢の相同性と多様性に関する形態・発生・細胞・分子レベルの概要と主張を総説としてまとめた(業績1、業績2)。さらに、図2の内容を中心として、これまでの研究成果を論文としてまとめ発表した(業績3)。

この論文業績3において、ゼブラフィッシュ胸鰭原基の発生過程を経時観察し、いつどのようにして鰭条本数のゆらぎが生じるかを特定した。また、鰭条形成領域に特異的な発現を見せる遺伝子を探索し、それらの遺伝子のレポータートランスジェニックフィッシュの解析から、鰭条形成時に働く芽芽と共通の発生メカニズムの存在を明らかにしている。さらにこれまでに、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失った遺伝子)」を複数(およそ 80 個)見出し、その中から胸ビレ発生に関わるものをスクリーニングする準備を整えた(本班会議でのポスター発表 by 工藤栄大)。一方で、形成中の鰭条を内骨格原基ごと切断した場合に、それぞれ発生初期には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 K. et al., in preparation)。現在、鰭原基を再生させた場合に鰭条数がどのように再生するか(その場合にも鰭条数は発生時と同じように揺らぐのか)を観察している。これらを踏まえて「鰭内において鰭条外骨格特異的に発現する遺伝子の網羅的獲得」を目的に、大規模解析支援にトランスクリプトーム解析(RNAseq)を申請し、採択していただいた。すでにサンプリングを完了し、重信先生との共同研究としてRNAseqを実行していただいている。

本研究を遂行する中で、鰭条数が全くゆらがない胸ビレ前方では鰭条と distal radial 内骨格が1対1で接続しているのに対し、後方では多数対1で接続していること、中央部では一部が1-2対1接続という前方と後方の中間の状態になっていること、を見出した(田中祥貴、本班会議でのポスター発表 by 阿部玄武)。過去のさまざまな文献を参照する限り、1対1接続(前方)はより派生的な正真骨魚で見られる接続様式であり、多数対1接続(後方)はより基盤的な条鰭魚類で見られる接続様式である。ゼブラフィッシュが両者の中間に位置する骨鰻類に属することを考えると、ゼブラ

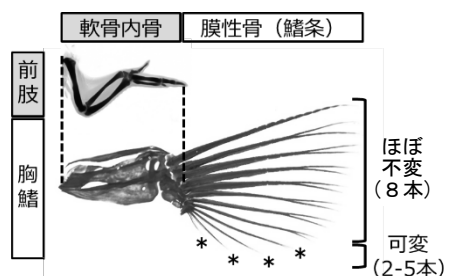


図 1. 前肢骨格と胸鰭骨格の比較(両者のサイズスケールは不正確)。図中の*は、ゼブラフィッシュ胸鰭において個体によって数がゆらぐ鰭条骨(ここでは4本)

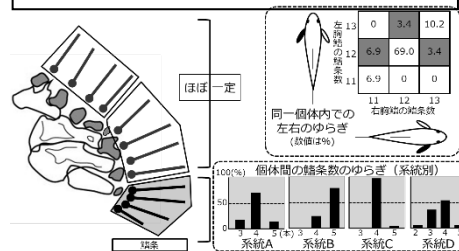


図 2. 個体内、個体間および系統間における、胸鰭の鰭条数のゆらぎ

フィッシュ胸鰭に見られる前後に沿った接続様式の違いは、段階的な進化を表している可能性がある。この議論を進めるためには、基盤的条鰭類、骨鰾類、正真骨魚、それぞれ多くの魚種の胸鰭骨格接続様式を調べる必要がある。そこで、青森県営浅虫水族館の協力も得て魚類サンプルを収集しており、すでに30種以上を得た。現在、骨格標本作製中である。

本研究の目的のひとつは、鰭条本数のゆらぎと魚類の特殊な鰭条(遊離軟条)形成との関係を示すことである。そのために、カナガシラ(条鰭類正真骨魚、カサゴ目ホウボウ科、図3)の胚を用いた観察・実験を行うためのカナガシラ成魚の飼育と人工産卵の準備を開始した。これは、浅虫水族館および北海道大学水産科学研究院の高津哲也先生・中屋光裕先生との共同研究として進められている。浅虫水族館と函館頭足類科学研究所(桜井泰憲所長)それぞれに専用海水槽を設置し、すでに浅虫では16匹の捕獲カナガシラ成魚の飼育を開始した(図4)。過去の文献(藤岡崇ら Nippon Suisan Gakkaishi (1990))によると、陸奥湾のカナガシラの産卵盛期は6月から8月と推定されており、この時期に人工産卵を行う予定である。

業績1. Tanaka, Y., Kudoh, H., Abe, G., Yonei-Tamura, S., and Tamura, T. Evolutionary cell biology (Evo-Cello) on the fin-to-limb transition: what the fish fin lost during evolution to a limb. *The Evolutionary Developmental Biology - A reference guide* (invited by Shigeru Kuratani). under review.

業績2. 工藤栄大、阿部玄武、田村宏治. 「ゲノムと形態形成と進化」*遺伝子医学(メディカルドゥ)* 依頼執筆総説として執筆中

業績3. Hamada, H., Uemoto, T., Tanaka, Y., Honda, Y., Kitajima, K., Umeda, T., Kawakami, A., Shinya, M., Kawakami, K., Tamura, K. and Abe, G. (2019). Pattern of fin rays along the antero-posterior axis based on their connection to distal radials. *Zoological Letters*, 5, 30.

【今後の展望】 いよいよカナガシラの胸鰭遊離軟条の発生メカニズム研究に着手する準備が整った。生体軟骨硬骨染色に始まり、細胞系譜追跡やささまざまな遺伝子発現・機能解析へと展開させていきたい。また、胸ビレ形態の多様化における段階的進化と鰭条本数ゆらぎとの関係を基盤的条鰭類・骨鰾類・正真骨魚類で比較発生学的に解析していくことで、種内ゆらぎと形態進化(特殊化)の関係を調べていけると期待している。基盤的条鰭類では、内骨格と鰭条の接続がすべての領域でゆらいでいる(定まっていない)ことが予想され(解析中)、興味深い。種内ゆらぎの原因カスケードをまだ追い詰め切れていないので、現在進行中のトランスクリプトームのデータ解析も含め今後の課題である。種内においてゆらぐ形質の中には一定の制約の元にゆらいでいる形質があり、ゆらぎの原因となる制約が発生の拘束や原動力となって動物種間の形態多様性を生み出している。このような種内多様性と種間多様性を結びつける興味深い理論を実証できるモデル系として、これからも「胸鰭の鰭条本数の個体間ゆらぎ要因と種間形態多様性」研究を推進していきたい。



図3. カナガシラ(浅虫水族館展示水槽内)



図4. 浅虫水族館バックヤードに設置された特別水槽で飼育を開始した、16匹のカナガシラ成魚

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)

【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。

【2019 年度研究進捗状況】 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*)、および古腹足類クロアワビ (*Halotis discus discus*)を用いて、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 を含む系統特異的転写因子群のはたらきの比較を行うことを目指している。これまでに、クサイロアオガイの 16 細胞期において、割球群(カルテット; 1q1, 1q2, 2q, Mac) を同定しながら割球を分離する手法を確立することに成功した。この手法により、16 細胞期において特定の系列に偏った発現を示す 16 の転写因子を検出し、それらの転写因子の 32 細胞期までの発現パターンを in situ hybridization により網羅的に記載した。また、これら 16 のうち 14 の転写因子は、Orphan、もしくはらせん卵割動物の分岐以降に重複した転写因子であることが認められた。更に、以上の転写因子のうち SPILE を含む 5 遺伝子に関しては、過剰発現が実際に幼生の形態に影響を及ぼすことを確認した。これらの成果は現在投稿準備中である。

次に、以上の転写因子群がヨメガカサおよびクロアワビで初期発生期に発現しているか、発現しているのであればどの割球系列で発現しているのかを、トランスクリプトームおよび in situ hybridization を組み合わせて検証した。まずヨメガカサにおいては、上記転写因子群のカウンターパートは全て存在し、かつ 16-32 細胞期で発現していた。一方で、半分ほどの転写因子群については、(1)発現パターン、(2)遺伝子数、もしくは (3)mRNA 局在制御機構いずれかに違いが見られた。以上のことは、一見保存された発生を示すカサガイ類の中ですら、割球特異化機構には DSD が起きていることを示す。続いて、アワビ類においては、16 遺伝子のうち約半分のカウンターパートがそもそも存在していないか、もしくはトランスクリプトーム解析で 16-32 細胞期に発現レベルが一定量以下であった。このことは、アワビ類ではカサガイ類とはかなり異なるレパートリーの転写因子群を用いて割球特異化を行なっていることを示唆する。例えば、カサガイ類では単一コピーであると考えられる PRD 型 Orphan 転写因子が、アワビ類では高度に重複し数を増やし、かつ 8-16 細胞期に発現を開始していることが観察されており、このような転写因子群を用いているのではないかと推察している。以上のデータは、比較的近縁かつ保存された発生パターンを示す腹足類内であっても、割球特異化機構は異なっているであろうことが明らかになった。

【今後の展望】 引き続き、ヨメガカサおよびクロアワビにおいてトランスクリプトームおよび in situ hybridization による解析を組み合わせ、初期発生で割球特異的に発現する転写因子群を明らかにしていく。また、クサイロアオガイのゲノム解析 (大規模解析支援に採択)から、クサイロアオガイにおける転写因子のレパートリーを解明し、特に系統特異的転写因子に着目した腹足類の転写因子の進化史を明らかにする。以上のデータを合わせて、腹足類 3 種における割球特異化機構の類似点と相違点、およびそこに見出される傾向や制約について明らかにする。また、現生種の個体 (群)に見られる発生システムの性質から進化の制約や方向性を理解するという観点から、(1)割球特異化機構の冗長性の実験的な検証、および (2)1 個体トランスクリプトームを用いた同一父母の個体群内における遺伝子発現のばらつき、の2つの解析を行い、それらが割球特異化機構の DSD の傾向とどのような関連があるかを解明することを目指して研究を進めていきたい。

「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・理)、藤井壮太(東大・農)

【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、自家不和合性の受容体とリガンドのセット(「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。本課題は、数理モデルと形質転換実験により 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規受容体-リガンドのセット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。

【2019 年度研究進捗状況】

(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。この不安定化により SRK との特異性が完全に失われると、自家受精のもと近交弱勢により淘汰されやすくなる。一方、自己の認識特異性を保ったまま SCR に突然変異が生じたとする。この S 対立遺伝子 S1a は他の S 対立遺伝子と比較して不利ではないが、その祖先型の対立遺伝子 S1 と同じニッチにあることで、どちらかが機会的に排除される。祖先型と派生型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、上述のようなジレンマから逸脱した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。

主要な結果として、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集団内に維持されることが予測された。また、アレルの優劣性と新規 S 対立遺伝子の維持されやすさの間にも関連が見られた。

(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(*Arabidopsis halleri*)の計 173 個体のデータを用いて、リシークエンスデータ(Illumina HiSeq)に基づく S 遺伝子座の塩基配列解析を行った。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、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。

【今後の展望】 モデルの予測を実際のハクサンハタザオの S 対立遺伝子を用いて検証する。とくに、リシークエンス解析から見つかった S 対立遺伝子内の非同義置換が特異性にやや影響を与える「特異性のゆらぎをうむ変異」なのではないかと考え、これらの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。

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（首都大 理学部）

【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、ひときわ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、武器をもつ昆虫をモデルとして、様々な体モジュールが、全体として機能的なパフォーマンスを持つよう統合的に発生する仕組みに興味を持っている。本研究では、オオツノコクヌストモドキという武器甲虫を主なモデルとして、武器をもたらず遺伝子、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す。

【2019 年度研究進捗状況】 武器の誇張化メカニズムおよび、武器と他の体モジュールに発生的リンクをもたらずメカニズム解明にむけて、生態発生学的解析を進めた。具体的には、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た、詳細な遺伝子発現の栄養応答解析や RNAi によるノックダウン解析を行い、「特定のインスリン様ペプチドが武器サイズを制御する」ことについて論文発表とプレス発表を行った(Okada et al. 2019, PLOS Biol). また、スクリーニング解析として、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。

【今後の展望】 武器の誇張化をもたらずいくつかの主要なメカニズムがこれまでに解明できたが、ここまでの研究では栄養条件(環境条件)に対する応答を決める分子発生学的機構におもに注目してきた。環境変動に対する世代内での発生的応答は、世代を超えて生じる進化的応答と(どれくらい)共通するのか、が次の大きな課題である。オオツノコクヌストモドキでは武器である大顎サイズに人為選抜をかけ、大顎が大きな系統と小さな系統が作出されている(Okada & Miyatake 2009). 面白いことに、表現型レベルでは栄養に対する形態発生的な応答と選抜(進化)に対する応答が酷似しており(Okada et al. 2012), 発生可塑性が形態変異を生み出すメカニズムと、選抜への進化的応答を生み出すメカニズムがどこかで繋がっている印象を持っている。そこで本種のゲノム情報を活用し、大顎が大・小の 4 系統とコントロール系統(2系統)のゲノムの再シーケンスを行い、変異サイトを特定することで大顎サイズの誇張化と関連する遺伝子・ゲノム領域を決定する。これから、比較トランスクリプトームやノックダウン実験の結果と紐つけることで、発生可塑性と進化的応答のメカニズム間のリンクの正体を突き止めたい。

骨化順序ヘテロクロニーの揺らぎと制約

小藪 大輔 (City University of Hong Kong / 東京医科歯科大学)

【研究目的・背景】 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。本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。

【2019 年度研究進捗状況】 2014 年以降新たに入手した 4 種の哺乳類を加え, 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 画像を材料とした分析を行った。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を明らかにすることを目指した。まず 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 を算出した結果を図 1 に示す。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(図 2)。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結果を図 3 に示す。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 個の骨は変動しうるということを意味する。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($r = 0.58$, $P = 0.0031$)。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。また, 24 個の骨が発生過程でどのようなテンポとモードで骨化し, またそれらが出生タイミングに対してそのようなタイミングとなっているのかを分析した結果を図 5 に示す。

【今後の展望】 哺乳類全体における全身骨の比較解析がほぼ完了したので本年は論文発表に向けて執筆を最優先で進める。加えて, 種内変異動態の実験を行い, 種内変異と種間変異の相関関係の分析をさらに進める。

图 1

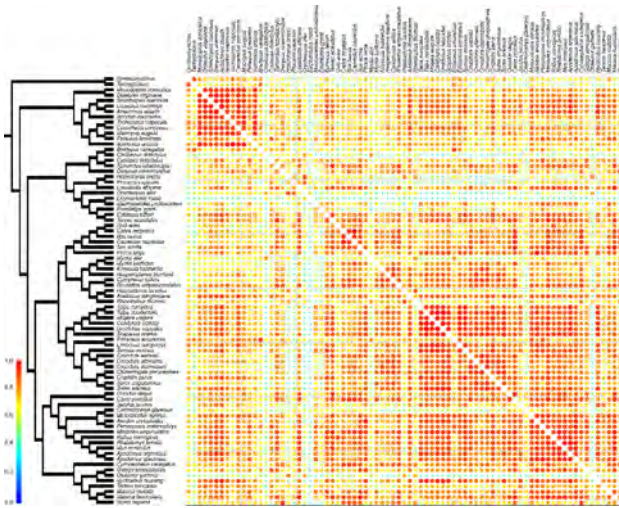


图 2

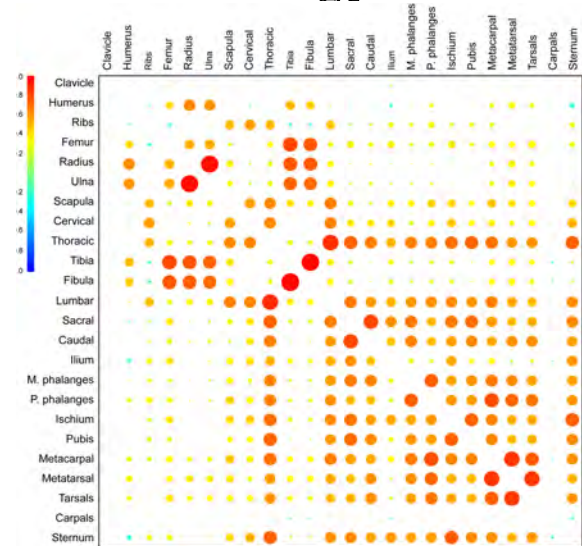


图 3

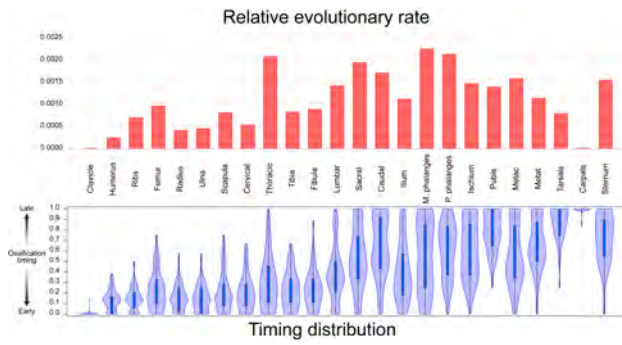


图 4

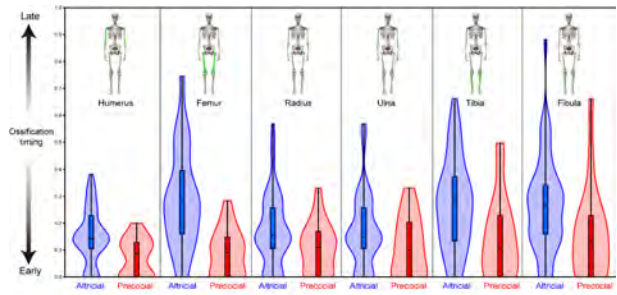
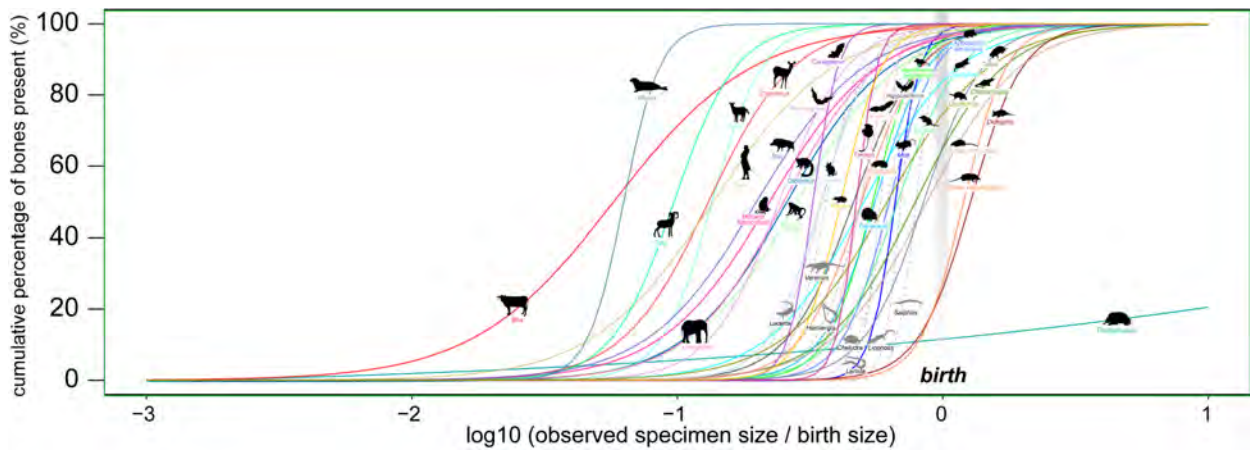


图 5



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)

【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明らかにする。

【2019 年度研究進捗状況】 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、Alkaline phosphatase (ALP)をモデル酵素に用いて、野生型よりも活性の上昇した変異体を複数個取得できている。さらに活性の上昇した変異体の1分子活性分布を計測したところ、これら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ピックアップした変異体の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ている。このように人工進化させた酵素1分子の活性揺らぎが明らかになりつつあるが、これまでモデル酵素に用いてきたALPはホモ2量体で機能するため、合成されたALP分子にはホモ2量体の片方が活性を持たないポピュレーションが存在することがこれまでの研究から明らかになっている。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。さらに活性揺らぎの異なるALP変異体をテンプレートにした変異DNAライブラリーの評価の際に、ALP変異体が組み合わさったヘテロ酵素がチューブ内で合成されてしまうため、これら酵素ライブラリーの活性分布を正確に計測できない。そこで変異DNAライブラリーをマイクロチャンバーデバイス内に隔離し発現させ、変異酵素ライブラリーに変換した後に回収・評価する、新しい変異酵素ライブラリーの作成・評価法を開発した。

【今後の展望】 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探索を行っている。これまで超好熱古細菌由来の α -glucosidaseが単量体で機能し、かつ1分子活性分布の計測が可能であることが分かった。現在この酵素を用いた進化実験の準備を行っている。ALPの進化実験を進めると共にこの酵素で進化実験を行い、両者の共通点・相違点から酵素1分子の活性揺らぎと進化との関係の理解を目指す。

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。

これらの背景から、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。本研究では各種脊椎動物をモデルに、酸化ストレスによってのみ指間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。

【2019 年度研究計画】 2018 年度までに、(1)グルコース代謝経路との関連性について明らかにしたので、2019 年度は、(2)血管形成との関連性について、さらに検証する。これまでの研究から、指間細胞死が検出される領域では血管網が発達していること、さらに人為的な血管網の発達により指間細胞死を誘発できることを確認している。血管網は、外傷などのストレスによって形態が大きく揺らぐ形質であるが、脊椎動物が高濃度酸素に曝されることと指間領域の血管網の発達との関連性、さらに、血管網の発達が ROS の産生を促す機構も不明であった。2019 年度は、これらの点を明らかにする目的で、① 酸化ストレスと指間領域における血管形成の関連の検証、及び ② 指間領域における血管形成期に ROS の産生を促すソースの探索を行う。

【2019 年度研究進捗状況】 (1)グルコース代謝経路との関連性については、当初の計画通り、2018 年度までにメタボローム解析と遺伝子発現解析によって検証し、肢芽の正常発生過程では細胞増殖期から指間細胞死期を通して、酸化リン酸化によるグルコース代謝が行われていることを明らかにしていた。そこで、2019 年度は当初の計画よりも進めて、高酸素濃度環境におかれた肢芽の指間細胞でグルコース代謝経路が切り替わる可能性を検証している。これまでに、領域からの支援を頂きトランスクリプトーム解析を行ったところ、高酸素濃度環境では、ミトコンドリアの電子伝達系関連遺伝子の発現量が上がり、解糖系関連遺伝子の発現量が下がっていることを示唆する結果を得ている。一方、(2)血管形成との関連性については、① 酸化ストレスと指間領域における血管形成の関連の検証、及び ② 指間領域における血管形成期に ROS の産生を促すソースの探索を行った。その結果、血管に存在することが知られ、酸素分子から ROS を産生することが知られる酵素の働きを抑制すると、指間細胞死が消失するという結果を得ている。

【今後の展望】 今後は、羊膜類での“パターン形成”過程における指間細胞死の分子機構を明らかにした上で、比較生物学的検証を行うことで、発生の“ゆらぎ”として出現した指間での細胞死が、羊膜類で“パターン形成”に必須なメカニズムに進化した原理を明らかにすることを目指す。

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】 配偶者選好性の分化は種分化の重要な一步である。一方、配偶者選好性は種内でも大きなばらつきを持つ。この種内レベルの揺らぎから、種間で分化した配偶者選好性がどのように進化するのかは、生物の進化を理解する上で重要な命題である。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や経験によって揺らぎ、配偶者選好性のばらつきを生む。この揺らぎからどのように種間の分化が生じるのだろうか？また揺らぎが分化に果たす役割はあるのだろうか？

キイロ(以下キイロ)とオナジ(以下オナジ)はごく近縁でありながら、単一フェロモンへの選好性を逆転させた姉妹群である。近年、私たちはこの選好性を司る神経ネットワークを種間比較しネットワークに保存性の高い経路と低い経路が存在する可能性を見出した。これは神経ネットワークにまだ知られていない進化の法則性があることを示唆する新たな発見である。

神経ネットワークにおいて、重要性の高い経路の揺らぎは行動決定に致命的な欠陥をもたらす一方、それ以外の揺らぎはある程度許容されるであろう。このことから私は“神経ネットワークの重要な経路は揺らぎが小さく進化的に保存されており、それ以外の揺らぎの大きい経路の変化によって配偶者選好性の分化が実現される”と着想した。そこで本研究では、光/熱遺伝学による神経活動操作や神経接続の可視化などにより高解像度の神経ネットワーク比較を実現し、神経ネットワークの揺らぎと進化の関係を解明する。さらに豊富なゲノム情報や遺伝学的ツールを用いて揺らぎやすさを調節する分子機構を明らかにし、揺らぎを操作しながら進化実験を行う。これにより、神経ネットワークの揺らぎが配偶者選好性の進化を規定しうるかを定量的に検証する。

本研究で、性フェロモン 7,11-HD 選好性の進化を対象とする。キイロのオスは、メスの持つ 7,11-HD によって求愛を促進させる。一方、オナジのオスは、7,11-HD によって逆に求愛を抑制させる。キイロの 7,11-HD 選好性には、ppk23-P1 神経回路が寄与しており、この神経回路の活性化がオスの求愛を促進する。このことから、これら2種においては、ppk23-P1 神経回路が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 ppk23-P1 神経回路を比較し、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、上記の仮説を検証する。

2種の F1 雑種オスはオナジのオスと同様に 7,11-HD によって求愛を抑制させる。2018 年度までに私たちはこの雑種をオナジ型フェロモン選好性のモデルとして使い、キイロ型の ppk23-P1 神経回路が求愛を促進させる機能を持つのに対し、オナジ型の ppk23-P1 神経回路は求愛を抑制させる機能を持つことを明らかにした。さらに GRASP 法(Feinberg et al. 2008)を用いて、オナジ型の ppk23-P1 神経回路では特定のシナプス前細胞(以下 X ニューロン)とシナプス後細胞(Y ニューロン)の神経接続が失われている可能性を見出した。

【2019 年度研究進捗状況】 GRASP 法による神経接続の可視化は簡便であるが偽陽性を含むことが報告されている。そこで 2019 年度はまず、“two-tag” EM 法を用い、透過電子顕微鏡(以下 EM)レベルでの神経接続を確認することを目指した。まずはキイロにおいて神経接続が報告されており、解剖学的に観察部位を特定しやすい Gr33a ニューロンと mAL ニューロンを用いて実験条件を検討した。これらの細胞を EM 観察下で標識するために、シナプス前細胞である Gr33a ニューロンにミトコンドリア局在配列と HA タグを付加したペルオキシダーゼを、シナプス後細胞である mAL ニューロンに細胞膜に局在する CD2 を付加したペルオキシダーゼをそれぞれ発現させた。抗 HA 抗体と抗ペルオキシダーゼ抗体を用いた免疫染色によりこれらが正しく発現しているこ

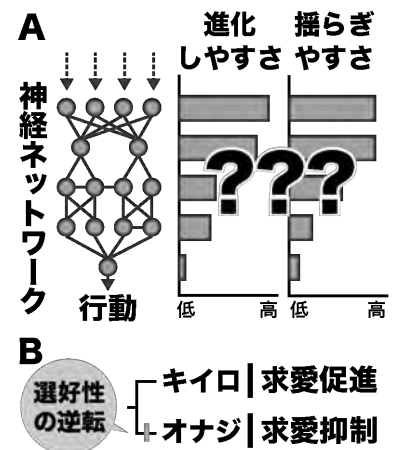


図1 (A) 本研究の仮説の概要 (B) ハエのフェロモン選好性の進化

とを光学顕微鏡レベルで確かめた。次に DAB 染色の条件を検討した。ホルマウントで染色し、EM により観察したところ、mAL ニューロンの細胞膜は確認できたが、Gr33a ニューロンのミトコンドリアは確認できなかった。長時間の DAB 染色によりミトコンドリアが破壊されている可能性を考え、サンプルをアガロース切片にて浸透を促進させ DAB 染色時間を短縮した。その結果、標識された Gr33a ニューロンのミトコンドリアを観察できるようになった。さらに Gr33a ニューロンと mAL ニューロンの神経接続や接続部位におけるシナプス小胞を確認することができ、“two-tag” EM 法で神経接続を標識できる条件を設定することができた。現在、この条件を用いて X ニューロンと Y ニューロンの神経接続を観察しようとしている。これまでに各ニューロンにペルオキシダーゼを発現する系統を確立し、期待通りの発現パターンが得られていることを光学顕微鏡レベルで確認した。すでに Y ニューロンの細胞膜は観察できており、今後サンプル数を増やして X ニューロンのミトコンドリア及び X ニューロンと Y ニューロンの神経接続を EM レベルで観察することを目指す。

【今後の展望】 今後は、各経路の進化保存性と神経ネットワークの揺らぎやすさがどのように関係しているかを調べるため、交尾経験の有無によってキイロの各経路の神経接続がどのように揺らぐのかを、GRASP シグナルのばらつきを指標に定量し、進化保存性との相関を調べる。神経ネットワークの進化保存性と揺らぎやすさの関係が明らかになったら、ゲノム欠損系統や RNAi 系統を用いて、揺らぎやすさを決定する分子を特定する。さらに特定した分子を用いて揺らぎを操作しながら進化実験を行い、神経ネットワークの揺らぎやすさと進化しやすさの因果関係を解明する。

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(東京大)

【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。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 について、構造とその揺らぎを予測し、構造揺らぎと進化した構造、およびその進化しやすさに関連があるかを検証する。

【2019 年度研究進捗状況】 進化実験中に出現した 9 種類の RNA について RNA の表現型(構造)揺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し、RNA の各塩基が対合を形成する割合を求めた。このデータに基づいて各 RNA が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。その結果、8 ステップのすべての進化過程で、進化により選ばれた構造が元の分布にふくまれていることを見出した。この結果は、構造揺らぎと進化により変化した構造には関係があることを示している。この結果については部分的に(特に前半のラベリングデータについて)論文にまとめ受理された(Mizuuchi, Usui, Ichihashi, RNA in press)。

進化の途中には前述の9種類だけではなく、合計 91 種類の RNA が出現している。さらに 2019 年度にはこれらすべてについて揺らぎを解析し、上で見られたパターンが一致しているか、別のパターンが見えてこないかを検証した。91 種類の構造分布を予測し、その揺らぎの大きさを調べたところ、進化が進むにつれて(すなわち適応度が上がるにつれて)揺らぎが小さくなる傾向がみられた。また、ただ小さくなるだけではなく、急に揺らぎが大きくなるような変異もまれに導入されることも見出された。これらをもたらす変異の種類は異なっており、点変異では揺らぎが小さくなり、挿入変異や複数の変異が同時に入った場合に揺らぎが大きくなる傾向があった。この結果は、進化中は揺らぎを消費することにより適応度を上げるステージと、まれな変異により揺らぎを回復させるステージがあることを示唆する。

さらに揺らぎの大きさと進化しやすさに相関があるかどうかを調べるために、揺らぎの大きさの異なる RNA に対してランダム変異を導入したライブラリを作成し、その中に含まれる適応変異の頻度と適応度を測定することを試みた。方法は、ライブラリを数世代複製させたのちに、次世代シーケンサーにより各変異の頻度変化を測定することにより、各変異の適応度を見積もった。その結果、揺らぎの大きな RNA ほど適応変異の頻度が高いという結果をえることができた。

【今後の展望】 今後、人為的に揺らぎの大きさを変えた RNA を構築し、揺らぎの大きさと進化のしやすさ(適応的な点変異の多さ)に相関があるかをさらに検証していく。

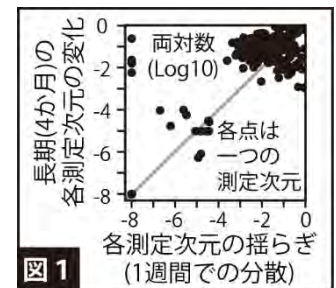
生態系の揺らぎ応答関係と内部進化の実験的解明

細田一史(大阪大)

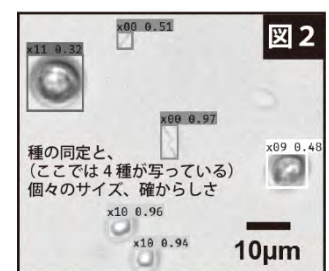
【研究目的・背景】 生物は内部にも外部にも複雑なネットワークを有する階層構造の中に存在し、生物の進化はこの内部構造による制約と、外部生態系での選択圧の両面に制限される。よって進化の理解には階層をまたぐ必要であり、異なる階層を同じ理論で記述できれば大きく前進する。外部適応の原理である自然選択は分子・個体・生態群集と異なる階層で働くことが明らかだが、内部制約の原理は明らかでない。生物の階層において、内部構造制約を表現する「揺らぎ応答理論(短期的な揺らぎと長期的な変化の関係)」があるが、異なる階層への適用は明らかでない。もしこの理論が生態系にも適用可能なら、分子から生態系をまたぐ理論へと発展し、自然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。

【2019 年度研究進捗状況】

① 当初計画に沿った実験生態系の構築・進化実験・揺らぎ応答関係の解明： 24 種の微生物を用いて、多様性を保てる実験生態系を構築した。ここでは、「各生物種の同定や系自体の詳細把握をせずとも、様々な測定量を得ることで、揺らぎ応答理論通りの関係があるかどうかを調べる方針」が研究の特徴であった。4か月の進化実験の結果、短期の揺らぎと長期の変化の相関は統計的有意ではあったが(図1)、これは各測定量自体の特徴により現れるものであり、生態系の特徴に依存するものでは無かった。幸い 2019 年度前半でこの結果にたどり着いたが、この当初の実験系では、測定量にも生態系自体にも不明点が多く、さらに掘り下げることは困難と判断した。よって以下のように当初の計画を超えて、「意味の明らかな状態量」として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(②)、生態系の理解を深めたうえで(③)、揺らぎ応答関係を解明する(④)こととした。



② 全生物種を定量できる実験生態系と、ハイスループット実験系の構築： 生物種を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新たに構築した。具体的には、自動分注器の導入と、顕微鏡の自動測定、および顕微鏡画像の機械学習による生物種同定法の開発をおこなった(図 2 は新しく開発した機械学習による実際の同定結果)。これにより、並行して 6000 個程度の生態系に関して、各生態系内の 12 種生物の個体数のダイナミクスを計測できる実験系が構築できた。



③ この実験生態系の基礎理解： 様々な生物の組み合わせの生態系を試験した。例えば 12 種全ペア($_{12}C_2$ 通り)での 2 種培養を行い、それぞれの種間相互作用を調べた(図3)。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 種も滅び、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。(いずれの結果も画像解析の精度を上げた後に論文投稿予定)



④ 短期的な揺らぎと長期的な変化の関係： 上記②にある新しい 12 種の系に関して、生態系がどのような揺らぎを持ち、変化していくかを観察した(図4)。なおこれは申請当初予定していた図1(24 種の系)のように各状態変数に関して揺らぎと応答を見るものではなく、生物量に基づいて次元圧縮した状態空間上の変化をみるものである。結果、揺らぎの方向に平均的に変化していくようにも見えるが、これは、生態系の遷移の途中で、系の変化の速さのばらつきによりこのように見える効果があり、揺らぎ応答関係のみを抽出できていない。よって今後は、さらに安定した半年後の系に対して再度複製して進化実験を行うとともに、より明示的な結果が得られる摂動実験も行う。



⑤ 生態系内の生物の進化： 階層をまたぐ理解のため、各生物の進化に関しても調べた。上記④の結果である培養 5 ヶ月の実験生態系から大腸菌を単離し、ゲノム変化を調べた。結果、残念ながら祖先株から有意な変異は観察されなかった。ただし、これは変異体が生き残っていないというわけではない。今回は、生態系から大腸菌ゲノムを採取する際に、その量を増幅するために、大腸菌のみが効率よく増える条件において培養を行っている。この培養により、祖先株が集団を占拠してしまったことが考えられる。よって今後は、途中過程に別の培養をいれずに、直接ゲノムを測定することを検討している。なお、比較のための2種ペア系での進化として、この生態系に含まれる生物種から、異なる2種類の大腸菌、大腸菌と酵母、大腸菌と繊毛虫、シアノバクテリアと繊毛虫といった系で進化実験の結果も解析している。(それぞれ再投稿準備中および執筆中)

【今後の展望】 上記④の続きを行い、生態系の揺らぎ応答関係を解明する。具体的には、半年で十分に安定した様々な生態系を 32 個に複製し、これを初期状態として進化実験を行う。またこの進化実験と並行して、32 個の複製に対して温度変化をあたえる摂動実験も行う。これらにより、状態空間上での 32 個の分布が広がる方向と、進化(外力としてゲノム変化)や摂動(外力として温度変化)による生態系の変化の方向の関係を調べる。以上、より安定な状態から始めることに加え、摂動実験によってより明示的な外力を加えてその変化を観測することで、揺らぎ応答関係が成り立つか否かに関して明示的な結果が得られるだろう。

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（奈良先端科学技術大学院大学）

【研究目的・背景】 植物感染糸状菌の感染戦略は多彩であり、同一種であっても宿主環境によっては対照的な戦略をとり、寄生（病原）性と共生性の境は連続的であることが示唆されている。一方で、特定の菌株の系統ごとに比較して解析すると、寄生・共生どちらか一方の感染戦略を優先的にとることが多く、感染戦略の嗜好性は菌のゲノムや感染時の遺伝子発現応答の違いによって生まれていることが示唆される（Hiruma et al., 2018）。しかしながら、両者の感染戦略を分かつ決定因子はこれまでほとんど明らかになっていない。発表者は、植物内に感染する内生糸状菌 *Colletotrichum tofieldiae* (Ct) が、貧栄養環境下でリン栄養を自身の菌糸を介して植物へと輸送することで植物生長を促す共生菌であることを発見している（Hiruma et al., 2016）。また、Ct はこれまで日本を含む世界中の多彩な植物種から単離されており、その中には共生型菌に加え、同種であるにも関わらず同一植物の植物生長を逆に著しく阻害する寄生型菌（Ct3）が含まれることを見いだした。したがって、これらの同種の菌株間での比較機能解析が共生性や寄生性を分かつ分子機構を明らかにしていくためには重要な一歩であると考えた。

【2019 年度研究進捗状況】 対照的な感染戦略を示す Ct 菌株の全ゲノム情報を取得するとともに、植物感染時の比較トランスクリプトーム解析を行うことで、共生性および寄生性に関わる遺伝子の絞り込みを行なった。その結果、共生時もしくは寄生時に顕著に誘導される菌遺伝子をそれぞれ 211 遺伝子、129 遺伝子同定した ($\log_2FC > 1$, $q < 0.05$)。その中で、共生時もしくは寄生時特異的な菌遺伝子（感染戦略特異的遺伝子）をそれぞれ 12 遺伝子、38 遺伝子同定した。さらに、レプリケート間での遺伝子発現揺らぎが少ない 24 の寄生菌特異的遺伝子群の中から、植物ホルモンの 1 種で植物の乾燥耐性に重要なアブシシン酸（ABA）の合成酵素の遺伝子群を見出した。菌のゲノムの同一クラスター領域に座乗しているこれらの遺伝子がそれぞれ破壊された菌変異体（通常生育に問題は認められない）を相同組換え法を利用して作出して、その宿主感染時の表現型を調査したところ、寄生性の有意な軽減が認められた。シロイヌナズナの ABA 経路の欠損変異体においても、野生型 Ct3 の寄生性の軽減が同様に認められたことから、寄生型 Ct3 は ABA を活用することで寄生性を発揮していることが考えられた。糸状菌が ABA を合成する事実自体は 40 年ほど前から報告されているが、その植物微生物相互作用における役割は明らかではなかった。今回、菌由来の ABA が寄生性の発揮に重要であることを遺伝学的に初めて示すことに成功した。興味深いことに、これらの遺伝子群は共生型菌も保持しているにも関わらず発現が検出されなかったことから、共生型菌は寄生性特異的遺伝子の発現揺らぎを抑制する仕組みを有することが示唆された。

さらに、植物を介して特定の選択圧を Ct に与えた際の進化の方向性を調査する目的で、共生型 Ct が病原菌化する植物変異体などに Ct を接種したのち、再分離して再接種するという流れを 30 サイクル繰り返した。結果、オリジナルの Ct 株と比較して共生能が低下した Ct 人工進化株を単離した。

【今後の展望】 寄生型の感染戦略を発揮するために重要な遺伝子群（ABA 合成酵素遺伝子など）の発現が揺らぐことなく共生菌株で抑制されているメカニズムの実態を、同種だけではなく近縁種も含めた比較解析や、順遺伝学的手法を用いることで明らかにしていく必要性があらう。

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、佐伯望（岡山大学・環境生命科学研究科）

【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。

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なわせる)、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)。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を行う。

【2019 年度研究進捗状況】 2019 年度は、2018 年度中に行った適応実験の8条件の Oxford Nanopore シーケンサーによる配列決定解析を行った。これらの実験の結果から、制約を受けている遺伝子は適応的な遺伝子になりにくく、発現揺らぎの大きな遺伝子が適応的であることが示唆された。さらに、ハイスループットに多くの条件を探索できるよう培養条件の改良を行った。新規の培養条件では、まず高温適応について調査した。富栄養培地で発現上昇が高温に適応的な遺伝子は、酵母の高温増殖性を決める株間多型を持つ遺伝子であった。このことは、本研究の発現量揺らぎ—適応系が自然界での温度適応を別の角度から実験室で再構築できることを意味している。一方、合成培地で発現上昇が高温に適応的な遺伝子群は、これまで高温適応に関わると考えられていない多数の遺伝子を含んでいた。このことは、この実験系により、これまでに探索されてこなかった表現型空間の探索がなされている可能性を示唆している。

【今後の展望】 構築されたハイスループットの実験系により、酵母がぎりぎり生育できるような過酷な条件で適応的な遺伝子の取得を行い、より広い表現型空間においてどのような遺伝子の過剰が適応的なのかを評価し、課題1と2をさらに追求する。

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。

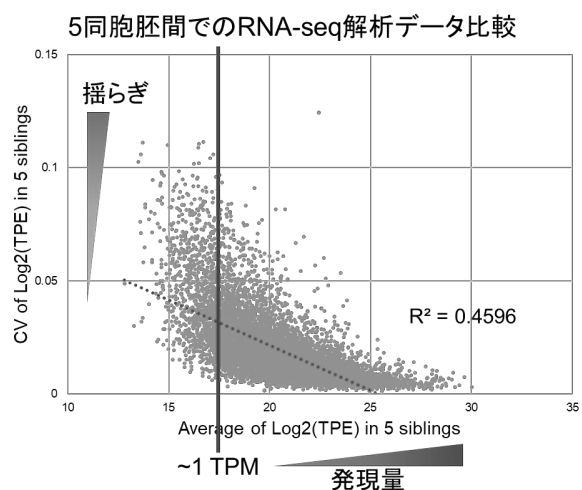
【2019 年度研究進捗状況】 ネットイツメガエル近交系統を用いて、1胚 RNA-seq 解析を実施した。より正確に遺伝子発現量の揺らぎを検出するため、RNA 抽出の際に外部標準 RNA (ERCC RNA Spike-In Mix) を加え、1 胚あたりの転写産物量 (TPE, Transcripts per embryo) を定量化した。*otx2/5* MO 注入胚、コントロール MO 注入胚、無注入胚の 3 条件について、それぞれ 5 つずつ原腸胚を別々に回収した。同じ実験を 5 ペアの Nigerian BH 系統 (旧 Golden 系統) で行い、1 胚 RNA-seq 解析を行った。(計 75 サンプル)。主成分解析の結果、*otx2/5* MO 注入胚は独立した実験間で同様の遺伝子発現傾向を示しており、MO による遺伝子機能阻害が再現性高く一定の効果を持つことが示された。

次に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。その結果、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 (右図)。さらに、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。これは、RNA-seq の技術的な発現検出誤差にとどまらず、低発現遺伝子は発現の揺らぎが大きいことを示している。

さらに *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。標的遺伝子の発現制御との関係は現在解析中である。

Nigerian BH 系統に加え、約 180 万年前に分岐した Ivory Coast 系統も用いて同様の実験を行った。現在、Nigerian 系統は原腸胚以外にも神経胚・咽頭胚・オタマジャクシ幼生の *Otx2/5* 機能阻害胚の RNA サンプルが準備できている。また、Ivory Coast 系統についても各ステージのサ



遺伝子発現量と揺らぎの負の相関関係

ンプルが 3-5 ペア分用意できている。さらに、ChIP-seq 実験の技術的な誤差を検討するため、同一ペア由来の同法胞胚を用いた追加実験も行っている。ChIP 実験の細かな条件設定については、所属研究室のシーケンサー (MGI 社、DNBSEQ-G400) を用いて検討し、最適な条件を見出した。

【今後の展望】 RNA サンプル、DNA サンプルを大規模解析支援班に送付し、新たなシーケンスデータを得て、ステージ間・系統間の揺らぎを検討する。また、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。Otx2/5 以外の転写因子 (FoxA、Mix、Siamois) とその標的遺伝子についても、MO 注入実験や ChIP 実験などの条件検討を行い、転写因子間の揺らぎの比較を行うための基礎データを得る。

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（理化学研究所）、畠山哲央（東京大学）

【研究目的・背景】 本研究ではゲノム倍数化が進化に及ぼす影響とその過程を実験的検証により解き明かすことを目的とする。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。ゲノム倍数化と進化との関係について、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。これは全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。この仮説に基づくとゲノム倍数化によって生じる冗長性は進化を加速させることになる。他方、進化速度を考えた場合、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。本申請では、これまでの理論のみに基づくと一見矛盾する、ゲノム倍数体の進化を実験生物学により定量的に捕らえ、ゲノム倍数化と進化の関係に存在する普遍原理の解明を目指す。さらに、新たなゲノム倍数化進化の数理モデルを作成することによって、ゲノム倍数化と進化の関係の普遍的な理論の構築を試みる。

【2019 年度研究進捗状況】 昨年度は定量的に複数コピーゲノムの遺伝様式を解析する構成的手法を確立した。今年度はこの手法を用いてシアノバクテリアにおける複数コピーゲノムの遺伝様式を解析した。その結果、すべてのゲノムが遺伝するわけではなく、数世代でどれか一つのゲノムに置き換わってしまうことが明らかになった。また、倍数性の異なる複数種のシアノバクテリアにおいてもこの遺伝様式は同様であることが明らかになった。数理シミュレーションの結果、この遺伝様式は我々が以前明らかにした染色体の複製システムに起因することもわかってきた。さらに、この遺伝様式は進化可能性に大きく影響することも実験、理論の両面からわかってきた。以上のように、生命システムの上に成り立つ進化原理が明らかになりつつある。このような遺伝様式に加え、本発表では実際に倍数性の異なる複数種において進化速度を解析した結果について、その原理を理論シミュレーションとあわせ考察し、議論したい。

【今後の展望】 これまでに、倍数ゲノムの新たな遺伝様式とその進化可能性がわかってきた。この結果はミトコンドリア病発症過程やオルガネラの片親遺伝を説明するうえでも興味深い結果となっており、オルガネラゲノム進化への適応も可能な進化理論へと発展している。そのためにも、今後は進化原理の理解が最も重要である。現在、ゲノム複製システムなどを人為的に改変した変異体を作出しており、このような生命システムを変化させ、どのように進化速度が変化するかを捉えることによって、倍数性ゲノムが及ぼす進化原理の理解を目指す。

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）

【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。

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* 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。

【2019 年度研究進捗状況】 テントウムシの斑紋の黒点サイズの個体間の揺らぎを定量的に解析することが、斑紋形成制御のモデル構築と進化のシミュレーションを進める上で必須である。そこで、生物画像データ解析を専門とする自然科学研究機構・生命創成探究センターの加藤輝特任助教との共同研究を進め、テントウムシの斑紋の黒点及び翅の輪郭を自動認識して、個体間のサイズや形態を補正するプログラムを開発した。また、ナミテントウ紅型の集団内に温度に対して黒点サイズが大きく揺らぐ系統と、ほとんど揺らがない系統が存在することが判明した。そこで、それぞれを系統化し、詳細な解析を進めることとした。

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。前年度に確立した蛹期の翅における ATAC-seq 解析のライブラリ調製のプロトコルに基づき、低温(17℃)・常温(23℃)・高温(29℃)処理したナミテントウの着色期の前翅から ATAC-seq 解析のサンプル調製を完了し、シーケンス解析を進めている。

pannier 遺伝子を標的とした GFP レポーターの NHEJ 法による標的部位へのノックインを行ったところ、G0 世代において少数であるが GFP 陽性の細胞を観察できた。現在、これら系統化を進めるとともに、さらに効率の良いノックイン率に向けての条件検討を行っている。

【今後の展望】 新たに系統化した温度応答性の異なるナミテントウの紅型系統や各種テントウムシについて、温度摂動による黒点サイズ応答について定量的に解析を進め、種内・種間の黒点サイズの揺らぎの傾向を明らかにする。さらに、温度感受性が異なる系統・種の *pannier* 遺伝子座の配列解読及び比較解析を進めるとともに、形質転換体やゲノム編集技術を用いた遺伝子機能解析を行い、*pannier* の温度変化に応答するエンハンサーを同定する。以上の解析を通して、自然選択とともにテントウムシの斑紋サイズの揺らぎの振幅が変動するメカニズムを分子レベルで解明する。

第2回若手ワークショップ報告

上坂 将弘(理化学研究所)

師走の岡崎にて開催された一連のプログラムの最後の企画として、若手ワークショップを開催しました。今回のワークショップでは、本新学術領域のテーマの一つである「表現型の揺らぎ」について、参加者間の議論を通して、理解を深めることを目的としました。企画者は、上坂 将弘、内田 唯、北沢 美帆、香曾我部 隆裕、芝井 厚、守野 孔明(五十音順)の6名です。

「表現型揺らぎ」について、完全に自由に討論してもらうことも面白そうだと思いますが、時間的な制約からある程度議論に方向性を持たせるため、以下のテーマを企画者側で設定しました。

- ・揺らぎと進化の方向性の相関の普遍性(生物・表現型)について
- ・揺らぎと進化の方向性をつなぐメカニズムについて
- ・表現型の進化が揺らぎと相関しうる進化的時間スケールについて
- ・表現型揺らぎの測定の難しさについて
- ・進化分野で次の「新学術領域」を立ち上げるなら？

導入として企画の進行やテーマについて簡単に説明し、各自が自由にテーマを選びグループディスカッションを始めました。グループディスカッションの後、テーマごとにどのような議論が行われたか総括してもらい、続いて会場全体で総合討論を行いました。ワークショップの詳細については、領域ニュースレター次号(Vol. 3 No. 8)であらためて詳しく報告する予定ですが、どの参加者も積極的に企画に参加してくれたおかげで、非常に活発かつ濃密な議論が繰り広げられ、予想以上に盛り上がったように感じました。次回の若手ワークショップでも、学生から PI まで自由に率直な意見交換が行えるようなプログラムを企画できたら楽しいだろうと考えております。参加者の皆様、そして企画に協力していただいた多くの方々にあらためて感謝いたします。



理論情報交換会・大規模情報解析情報交換会・領域会議・ 若手ワークショップ参加記

東京大学大学院 理学系研究科 生物科学専攻

動物発生学研究室 入江グループ

修士1年 藤川 真琴



東京大学修士1年の藤川真琴です。私は、理論情報交換会・大規模情報解析情報交換会・領域会議・若手ワークショップに参加しました。今回が初めての参加で、始まる前は領域会議とはどのようなものなのか、少しドキドキしながら基礎生物学研究センターに向かったのを覚えています。今回私の初めての参加の感想について書かせてもらいます。拙い文章ではありますが、よろしくお願いします。

1日目、朝から夕方まで第5回理論情報交換会が行われました。python と Jupyter Notebook を使って、画像データを様々なクラスタリングし可視化する方法が紹介されました。主成分分析など聞き馴染みのあるものから始まり、t-SNE, UMAP など最近論文などでよく耳にする解析法までが紹介されました。まず簡単な原理を説明してもらった後は自分でその方法を Jupyter を使ってデータを分類し、描画するという形式で進行していきました。実際に自分でやってみると PCA より t-SNE, UMAP の方がうまくクラスタリングできるな、t-SNE はやるごとに結果が変わるのだな、など自分の経験としてその解析法が持つ性質を知ることができてとても勉強になりました。

2日目の午前中は大規模解析情報交換会が行われ、各班の代表者が自分の研究について苦労した部分等も発表に含めながらラボセミナーのような雰囲気の研究発表をされていました。完成された研究発表とは違って発表者の方がどのような部分が難しかったか？それをどう乗り越えたかを話していたので、まだ M1 の私は是非参考にしたい、と思いながら発表を聞きました。

2日目午後と3日目は岡崎コンファレンスセンター、大隅ホールで第6回領域会議が行われました。最初に倉谷滋先生の挨拶から始まり、その後それぞれの研究状況の発表を行っていきました。分子レベルの話から個体、共生や生態系の研究までその階層は広く、進化の制約と方向性を様々な階層で見ることができました。この階層同士をつながりはどうなっているのだろう？など自分の視野がさらに広がった様に感じました。

最終日最後のプログラムは若手ワークショップでした。領域会議が終わった後、6 人くらいのテーブルに別れ、それぞれのテーブルに出されたテーマについてグループディスカッションを行いました。揺らぎをどのように測定するかなど実際のなものから新しく新学術領域を立ち上げるとしたらどんなテーマにするかなど奇抜なものもあり、面白いなと感じました。グループの皆さんと話をすることで今回の領域会議での発表の内容や揺らぎとはなにか？など自分の頭を整理でき、さらに理解を深めることができました。その後の意見の共有会でも活発な意見が他のグループから出ていて活気がありとてもいい刺激を受けられたなと感じました。

最後に、今回の領域会議に参加して行き道ではドキドキ不安半分といった私の気持ちもたくさんの方々の発表を聞き、交流会等で他の研究室の学生の方と話して、帰り道では、これから自分の研究を頑張るぞ！という気持ちで電車に乗っていました。モチベーションの上昇につながったと思っています。初めての参加でしたがとても充実した時間を過ごすことができ本当によかったです。ありがとうございました。

第 6 回領域会議参加記

東京大学大学院総合文化研究科
若本研究室 修士 1 年 森 崇晃



今回私は古澤班の一員として第 6 回領域会議に初めて参加いたしました。現在私はバクテリアの進化に関する研究を行っています。特に進化過程における表現型ゆらぎの変化の定量評価を目指し、実験と理論の両面から研究を進めています。今回、本領域会議に参加して、様々な分野の研究への見識が深まり、今後自分の研究の進むべき方向性がみえてきました。

21 日の領域会議では様々な研究者の方の成果報告と今後の展望についてお聞きしました。形態学進化の研究は普段大腸菌しか扱っていない私には新鮮で非常に興味深かったです。改めて生き物の形態の多様さに驚くと同時に、本領域の幅の広さを再認識致しました。研究報告の中では特に、市橋先生の RNA の構造揺らぎと進化の関係性についての研究が興味深く、私も「バクテリアの進化過程においても表現型ゆらぎを消費し適応度を上げるステージと揺らぎを回復するステージがあるのではないか」などと空想しました。

22 日の若手ワークショップではいくつかのグループに分かれ、それぞれ「新たな学術領域をたちあげるならどんなテーマにするか」、「進化の方向性を決定するメカニズムとは何か」などといった議題で討論しました。特に印象的だったのは「表現型ゆらぎ」や「表現型可塑性」という言葉の定義は実は曖昧で、研究者によって違う使い方をしていることでした。我々のグループでは、議論の序盤で、「表現型ゆらぎ」の一例として「スズメガのさなぎの色が温度に応じて変化すること」が挙げられました。そこで初めて、細胞内分子の少数性に起因する確率的な「表現型ゆらぎ」以外の「表現型ゆらぎ」の使われ方を知りました。私の視野の狭さを痛感すると同時に、本領域の幅広さ、議論を交わすことの重要性を痛感致しました。

以上のように幅広い分野の研究者と交流することで、視野が広がり、自分の研究を客観視することができました。そのうえで、私の研究のオリジナルな点や考慮していなかった点が明確になり、今後自分の研究の進むべき道のヒントを得ることができました。このような貴重な経験をさせて頂き、参加者の皆様と関係者の皆様に心から感謝致します。有難うございました。

領域会議 & 若手ワークショップ感想記

産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門

生物共生進化機構研究グループ

深津研究室 博士研究員 高井嘉樹



私がこの「進化の制約と方向性」の領域会議に参加するのは、今回で4回目になります。今回は、古澤班の研究員のみなさん、細田先生(大阪大)、畠山先生(東京大)、内田さん(入江班)と夜遅くまで研究のことをお話しすることができました。参加するたびにお話しする方が増えて、自分の研究の詳細も知ってもらえるようになり、次回の領域会議が楽しみになります。前回の領域会議では倉谷先生が、「先人たちがどのような気持ちで研究してきたのかを考えてほしい」とお話しされて、今回の領域会議では「若者のエネルギー」ということを強調されていたのが記憶に残っています。現在、私自身はカメムシと共生細菌を用いて、昆虫—微生物共生系の構築に必要な(あるいは不要)な遺伝子の同定、遺伝子発現パターンを明らかにしようとしています。私が利用しているチャバネアオカメムシですが、実は、共生細菌や環境細菌がカメムシの体内で何を栄養源としているのかも未だ分かっていません。共生系は謎の多いテーマです。

今回の領域会議においても、比較形態・発生・複合形質・共生・実験進化・理論といった各班が、さまざまな階層、つまり分子・単細胞・多細胞生物・生物間といったレベルにおいて、「揺らぐ表現型」や「制約されている表現型進化」について報告していきました。この領域会議に参加するまでは、1分子の構造や活性の揺らぎの研究についてのお話を聴く機会もありませんでした。東京大学の市橋先生や上野先生の研究のように、RNA や酵素1分子の「揺らぐ表現型」を捉えるような研究は、多細胞生物のカメムシを使っている私からすると、とても刺激的です。と言いますのも、そのような階層で実験系を考えたり、物事を捉えたり考えたりする機会が殆どないからです。領域会議ではずっと、日ごろ使わない脳の部分を使っている状況です。この新学術領域のすべての研究が、「生物自身の性質に制約を受けた進化に関する研究」という内容で一致しているのですから、改めてこの領域研究の階層の広さに驚かされます。領域会議や若手ワークショップでは、研究階層の異なる人たちと、「何をモチベーションに研究しているのか？」という議論にもなり、研究内容を超えて、相手のことを理解したいという雰囲気にもなっていました。

私自身は、約 65 系統の環境細菌について、チャバネアオカメムシに対する適応度を網羅的に調査している段階ですが、これらを感染させたカメムシの共生器官の RNA-seq 解析も同時並行的に進めています。守屋先生(岡山大)から、酵母の遺伝子(約 5800)の約 8 割は 100 コピーまで増やしても酵母の増殖に影響がない、とのお話がありましたが、将来的には私も、共生の制約を受ける遺伝子・受けない遺伝子を、定量的に議論できるようになりたいと考えています。私は、博士課程までは「植物—昆虫相互作用」を、現在は「昆虫—微生物共生系」の研究を進めていますが、そのモチベーションとなっているのは、ヒト以外の生物が周囲の環境や生物をどのように感じ・コミュニケーションをとっているのかを知りたいという思いです(ヒトの言葉や動作に代わるものを理解したい)。領域会議で、研究手法もモチベーションも異なる人たちに囲まれて、刺激を受けっぱなしですが、嬉しい限りです。理論情報交換会・領域会議・若手ワークショップに参加する機会を与えて下さり、ありがとうございます。

『ビーグル号航海記』に見るSFと科学の距離

倉谷 滋

この島の自然誌は、なんともおもしろく、十分注目にあたいする。ほとんどの生物がここに固有の種であり、ほかの土地では見られない。おまけに、各島のあいだでも違いがあるのだ。ただしそれでも、すべての種類は海をへだてること500から600マイルも遠方にあるアメリカ大陸の生物と、いちじるしい類縁関係を持つ。この群島は、それ自体がひとつの小世界だ。……(略)……ということはつまり、時間と空間の両次元で、あの大いなる事実 - 神秘中の神秘 - つまり新しい生物がこの地上に出現する現場へと、われわれはいくらか接近した、ということになるのかもしれない。

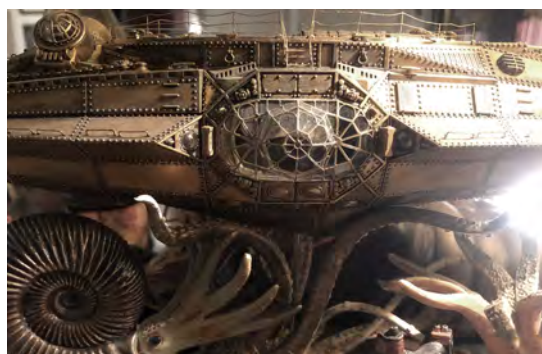
チャールズ・ダーウィン著『ビーグル号航海記(第2版、下)』第17章 ガラパゴス諸島より

海こそまさにこういう巨大生物 - それと比べれば、ゾウやサイなどの地上の動物はこびとにすぎない - に最適な場所であり、彼らが繁殖し進化できる唯一の環境なのである。この膨大な液体のなかにはこれまでに知られている最大の哺乳動物が棲んでおり、ひよっとすると比較を越える大きさの軟体動物がひそんでいるかもしれないし、見るのも恐ろしいほど巨大な甲殻類が、体長100メートルのオマールエビや体重200トンのカニがいるかもしれない!

ジュール・ヴェルヌ著『海底二万里』より

遅まきながら、荒俣宏の新訳によるチャールズ・ダーウィン著『ビーグル号航海記(第2版、上・下)』(平凡社、2013)を読んでいる。原題は、『Journal of Researches into the Natural History and Geology of the Countries Visited During the Voyage of H.M.S. Beagle Round the World』。期待にたがわず読みやすく正確で、しかも大変面白い。誰もが知るようにこれは、ダーウィンが20代半ばであった頃の航海記で、このときのガラパゴス諸島での体験がのちの「自然選択説」着想の基盤となった。とりわけ、ガラパゴス諸島をはじめ、世界各地でダーウィンが初めて出会った動植物を描写しているところが読み応えのある部分であり、そのつど、まるで自分がその場にいるような興奮と感激を感じる。

と、不意に、「すでにどこかで、この雰囲気には浸った覚えがあるぞ」と感じた。そもそも私は、「航海記」などこれまであまり読んだことはない。精々のところ、小学生の頃図書館で借りた『ドリトル先生航海記』のような童話か、さもないと、北杜夫の『どくとるマンボウ航海記』の冒頭部分ぐらいのものである。したがって、こういった書物を「妙に懐かしい」などと思うわけなどないのだが、いったいどうしたことか。理由はすぐに分かった。書きっぷりが、ジュール・ヴェルヌの『海底二万里』に酷似していたのである。



図：巨大頭足類に襲われるノーチラス号。自宅の模型を使って。

■ ヴェルヌとダーウィン

いうまでもなく、『海底二万里』は19世紀後半のSF小説。私が子供の頃もSF小説として扱われていた。が、現代的には少し違う。「空想科学小説(SF)」というよりせいぜい、「科学小説」といったところだ。なぜなら、この小説の中に書かれているほとんどのことがすでに実現してしまっているからだ。というわけで、私はこれを「SF性を失ってしまった残念な小説である」と以前書いたことがある。確かにそうだ。しかし、今回『ビーグル号航海記』を読むことにより、ヴェルヌがどういう感覚で『海底二万里』を書いていたのか、ようやく分かったような気がしたのである。

「HMS (Her Majesty's Ship の略) ビーグル」号がダーウィンを乗せて航海をしたのは1831年から一八三六年にかけて、その成果に基づいて『ビーグル号航海記』が出版されたのは、1839年頃のことだ。以降、博物学的な海洋調査が盛んに行われ、トマス・ハクスレーが「HMS ラトルスネーク」号に外科医として乗り込み、南半球で海棲無脊椎動物の研究に没頭したのも1846年頃。一方で、『海底二万里』が執筆されたのは1870年。その頃までには、かなりの海の動物が採集され、記載されていたはずだが、それらを生きている状態で、直に観察できるような環境はまだ整っていなかった。つまり、19世紀の人々にとって、ガラパゴス諸島と同様、海中も人跡未踏の「謎の世界」にとどまっていたわけである。

ダーウィンはガラパゴス諸島の魚介類について、次のように書いている。

わたしがここで採集した15種の海水魚はすべて新種である。いずれも広い分布をもつ12の属に含まれる魚たちで、例外と言えばこれまでアメリカ東岸にわずか四種だけ知られていたニシホウボウ属である。陸生貝では、一六種を採集した。このうちタヒチでも発見されたマイマイ属を除けば、すべてがこの群島の固有種だった。われわれの航海よりも前に訪れたカミング氏は、ここで90種の陸生貝類を採集したが、まだ詳細に調査されていないニシキウズガイ属、リュウテンサザエ属、インダタミガイ属、オリイレムシロガイ属の未調査数種は、この数に含まれていない。(荒俣訳：平凡社刊・下巻：259ページより)

対してヴェルヌは、クレスボ島の海底の様子を次のように想像した。

これだけの植虫類と軟体動物の標本を前にして、この尊敬すべき若者が分類に暇がないのはあきらかだった。海底にはポリブや棘皮動物がいくらかもいた。各種のセキコクヤギ属、離ればなれに生えて

いるハナゴケ、かつては<白サンゴ>とも呼ばれたビワガラライシの茂み、キノコみたいに並んでいるクサビライシ、筋肉質の円盤で岩に張り付いているイソギンチャクなど、まさに花盛りの花壇そのものだった。(村松訳：新潮文庫版・上巻・261ページより)

ヴェルヌもダーウィンも、博物学華やかなりし一十九世紀に属していた。と同時に、あの世紀末へ向けて科学と芸術、そして文芸が、かつてなかったほど寄り添っていった。クリエイティヴな精神を有する、あらゆる人間の精神を大きく揺るがすような時代だったのである。彼らは確かに、その同じ時代の空気を吸っていたのである。おそらくそのせいだろう、まるで同じ小説を読んでいる気分にさえなるほどだ。

ヴェルヌは、諸外国を舞台にしたさまざまな小説を書いているが、そのうちのいくつか、『素晴らしきオリノコ川』や『地の果ての燈台』、『マゼラン地方にて』については、誰か別の著者の紀行文(ジャン・シャファンジョンの冒険譚や、ヴィクトル・ド・ロシヤの『マゼラン海峡の旅日記』)をネタにするか、あるいは自らの旅行の経験をベースにした、非常に現実的なものとなっている。ヴェルヌは非常に頻繁に旅行したので、たいていの外国の景観に関しても知識があった。しかし、実際には存在しない地底世界や、宇宙や月世界、そして海底については、すでにあった情報をもとに再構成し、それによって想像するよりなかったのである。いいかえれば、ヴェルヌは、私たちが現在考えるような意味での「SF」を書いたというような自覚は甚だ希薄であつた、むしろ、当時最新の正確な情報に基づいて、現実を予見したというこらしい。

『海底二万里』では無脊椎動物ひしめく「海底の森」の様子を示すための挿絵が付され、それはさながら図鑑の見開きページに描かれた生態図のようだ。『海底二万里』の博物学的記述のスタイルは、明らかに当時の博物学書や航海記の類を真似ている。ただし、それは単に真似なのではなく、純粹に現実を指向した想像であり「創作」なのだ。



図：海底を模した水族館の水槽。大阪「海遊館」。

ここを間違えてはならない。例えば、私たちは今でこそ水族館や、スキューバダイビングや、自然科学番組などによって、海の動物を好きなだけ観察することができる。が、欧米において「水族館」と呼べるものができたのはやっと 1860 年代になってからのこと。むろん、当時の硝子の品質や強度を考えると、それはとても満足できるような代物ではなかったはずだ。それでも、SF 的ヴィジョンとしての、そして「センス・オブ・ワンダー」としての深海の様子を見てみたいという夢は止まらない。それどころか、その夢は遠く遙か以前に遡るのである。

例えば、澁澤龍彦の著書、『東西不思議物語』に紹介されているところによれば、海中へ降りてゆく最初の試みを果敢に成し遂げたのは、マケドニア大帝国の建設者、「アレクサンドロス大王」であった。彼は、硝子製の「樽」を作らせ、その中にランプをもって乗り込み、ペルシャ湾の海底に降りたとされる。しかし、この大王には数多くの伝説がついて回るので、真偽の程は分からない。同書によれば、本当に海中を初めて観察したのはアメリカの動物学者、ウィリアム・ビービであり、彼は 1932 年、バミューダ沖の海底 670 メートルまで下降したという。

そののち、同じ目的で 1940 年代にあの有名な潜水艇、「バチスカーフ」が建造され、1000 メートルを超える潜行を可能にし、50 年代には、第二号機の「トリエステ号」が続いた。むろん、この歴史は我が国の誇る「し

んかい 6500」にまで続く。バチスカーフの艇長、ジョルジュ・ウオ少佐による、ダカール沖での潜水記録、『4000 米の深海をゆく』が以前翻訳されたが、それを読んだ『ゴジラ』の原作者、香山滋はいたく感激し、そこにまだ見ぬ古生物が今でも棲息しているのではないかと、密かに期待したと書き残している。それは、地底世界に中生代の爬虫類が生き残っていると想像したヴェルヌの夢想（『地底旅行』）と見事に重なり合う。とすれば、日本の 1960 年代にいたるまでヴェルヌの『海底二万里』が「夢の SF」として、まだかろうじて命脈を保っていたのも決して頷けないことではない。あのころ、たしかに『海底二万里』は、私たちにとってまだ SF だった。

■ 変化する「世界」

ダーウィンによる本物の「航海記」は、陸上の動植物の姿や生態を実に生き生きと描写している。しかし、それに匹敵するヴィジョンは、海中の動物についてはまだなく、それは当時の人間がまだ見たことのない

「自然観の外側」、いわば「SF の領域」に属するものだった。つまり、『海底二万里』という小説は、単に「潜水艦のようなものが出来たら素晴らしいだろう」というだけでなく、「それに乗って海底を直接観察できたら、どれほど素晴らしい光景が見られることだろう」という具体的で見果てぬ夢想に突き動かされて書かれたのである。当時にあって不可能な「究極の航海記」が目指されていたのだ。したがって、ノーチラス号の乗組員たちが目にした動物を描写する筆致が、当時の「航海記」のスタイルに良く似てしまったとしても、まったく不思議はない。

一九世紀末当時の読者は、まだ見たことのない海底の様子を、ヴェルヌの文章に導かれるままに想像したことだろう。当時、出版されたばかりの『海底二万里』を読むということは、現代のわれわれが「ああ、そういう光景なら、このあいだテレビで見たよ」というのとは全く異なった、夢のような仮想体験だったわけだ。それはおそらく、

月面の様子をただ想像するしかなかった人類にとって、アポロ 11 号が月着陸を果たした 1969 年、その想像が一举に現実の映像に置きかえられたときの状況と似ていた筈だ。私はまだ小学生だったが、あの時のことを思い出すと、確かに自然観が目の前で書き換えられていたのだと今にして思う。さらに、「SF のなかから見た<メタ SF 的>イメージ」を描写したものとして、映画『ブレードランナー』に登場したレプリカントのリーダー、ロイ・バティによる次の台詞がある。

I've seen things you people wouldn't believe.
Attack ships on fire off the shoulder of
Orion. I watched C-beams glitter in the dark
near the Tannhäuser Gate. All those
moments will be lost in time, like tears in
rain.

これまで、君たちが信じないような光景を私は見てきた。オリオン座の肩の付近で火に包まれる戦艦や、タンホイザー・ゲートの暗闇に煌めく C 輝線を見つめたこともある。そんな記憶もいずれ、私の命とともに消えてゆくのだ。雨の中の泪のように……。

これは「外宇宙」における（レプリカントと志願労働者しか知らない）経験を語ったものだが、無知で貧弱な人間がまだ知らない世界を、人間を超えた存在が教える場面として読むこともできる。いわば、架空の 2019 年における宇宙観の変遷を表現しているわけだ。それが現実の科学であろうが、SF の世界であろうが、実際に「目で見ると」という行為が、その人間にとっての「世界」の姿を定義し、その経験はつねに科学の発達レベルや自然観とともにある。

世界の広がりとは時代とともに変わる。どの時代に生きようと、人間はつねにこの世のほんの一部しか見ることはできない。かくして、19 世紀人にとって海底の生きものは、海底に行かなければ正しい意味で「見た」とは言えず、「見ること」によってようやく彼らは 20 世紀中盤レベルの世界に移行する。『海底二万里』は、19 世紀後半という特定の時代におけるリアルな自然観と、そ

の外側に位置していたであろう空想科学小説との「界面」を象徴している。

逆の視点で見れば、「航海記」や「旅行記」などの博物学書もまた、SF 小説と極めて近い位置に寄り添っていた。なぜならこれらの書物も、それまで知られていなかった「既存科学の外縁」に（その内側から）接していたからだ。『ビーグル号航海記』の第 17 章、ガラパゴス諸島を訪れて、生物進化に思いを馳せるダーウィンの筆致はどうだ（冒頭の引用）。これを読むと、博物学者ダーウィンが、まるで宝物を発見した海賊のようにはいしゃいでいる様子が目に浮かぶ。それは、ノーチラス号に囚らずも乗り込んでしまった主人公達の感慨さながら。ならば、『ビーグル号航海記』の方もまた自ら、冒険小説や空想科学小説に歩み寄っていたとは言えまいか（冒頭の引用）。それもそのはず、来たるべき世紀末デカダンス文化の時代にあつては、科学と文芸、芸術が密接かつ有機的に融合を果たしていた。その中で、SF 精神は時代とともに変化し、それは現実の科学精神と連動せざるを得なかった。その点から見て、面白い現象がひとつある。それが、トマス・ハクスレーに学んだ H. G. ウェルズの著書、『タイム・マシン』なのである。

■ タイム・マシン

おそらく、この小説が「時代を超えた面白さ」を持つと考える人は多いだろう。が、実はそれはむしろ 20 世紀以降になってやっと言えることらしい。というのも、ジェイムズ・グリッグの著した最近の評論『タイムトラベル - <時間>の歴史を物語る』（柏書房、2018）によれば、『タイム・マシン』が出版された当初（1895 年）、「いったい何が書かれているのかさっぱり分からない」という反応が多かったのだという。

どういうことかということ、「過去・現在・未来」という概念セットは、日常的に「時代とともに世界が特定の方向に変化する」という世界観を共有していないと理解できないのである。一九世紀末以前、「昨日と同じ

ように今日が過ぎ、明日がやってくる」という、今以上に「まったりとした日常」が続いていた当時であって、自分がいきなり去年に移動しようが、来年に移動しようが、人生においてはほとんど何の違いもない。人々の生活と自然の間に大きな差はなく、イギリスの地質学者、ジェームズ・ハットン（岩石が地球内部の熱によって出来たとする「火成説」でも有名）やチャールズ・ライエル（1830年の『地質学原理』の著者）の唱えた「斉一説」そのままの自然観・人生観が幅を効かせていた。つまり、現在も過去も同じ作用が地質学的に作用しているので、現在をよく理解すれば、過去の出来事を類推できるだろうというわけなのである（「The present is the key to the past」）。近代における地質学の礎となったこの考えには、チャールズ・ダーウィンも大きく影響を受け、それが彼の進化論の基盤となった。むろん、それは比較形態学者のジョルジュ・キュヴィエが主張し、のちにルイ・アガシやアルシッド・ドルビーニによって展開された「天変地異説」（もしくは「激変説」）や、聖書の教えにある「ノアの洪水」といった説明・解釈とは真っ向から対立する考え方である。

むろん、斉一説は地層に見られる化石動植物の変化過程を必ずしも上手く説明しはしない。加えて、激変というべき環境変化に伴う生物の大量絶滅は、これまでの地球の歴史において確かに幾度か生じている。地質学的な変化や生物進化の理解には、さらなる科学の発展が必要だったのである。いずれにせよ、19世紀における人間的スケールの世界では、われわれがいま日常的に使うような意味での「過去」や「未来」は、ある意味存在しないといってよい。20年前まで想像も出来なかったスマホを、現在多くの人間が使い、それが前提となった世界ができてしまったような、今の我々の目の前で生じているこのタイプの変化は、ごくごく最近になって見られるようになった例外に過ぎないのだ。ならば、我々にとっての小説『タイム・マシン』もまた、それが書かれた時代を知らねば、真の意義を理解し得ないということになる。

人間は長らく、都市も文明も存在しないよ

うな、じつに変化に乏しい時代を生きてきた。しかし、19世紀末期のように機械文明が発達し、日進月歩の変化が日常生活に及ぶようになると、「時間」の概念が生まれざるをえない。昨日まで正しかったことが、今日も正しいとは限らない。日に日に不可能が可能になる。『タイム・マシン』は、そんな時代の変化が誰の目にも明らかになるうとしていたまさにその矢先に、一步時代を先取りして出版された小説だった。ウェルズは誰よりも早く、われわれが現在言う意味での「時間」がこの世に現れたことを察知したのである。

＊

『海底二万里』に関して、もうひとつ思い出したことがある。荒俣宏が『アクアリストの楽園』（1994年、角川書店）という本の中で紹介していることだが、18世紀のルイ・ルナールによる魚類図譜、『モルッカ諸島魚類彩色図譜』（世界に22冊しか現存しないとされている）では、熱帯の硬骨魚が信じられないようなデフォルメを施されて描かれている。まるで、子供の塗り絵を思わせるような図鑑である。荒俣宏によると、どうやらこれはスケッチの稚拙さが問題なのではなく、むしろ生きて海水中を泳いでいる状態の魚を一所懸命に観察して描いたためにそうなってしまったものらしい。死んだ魚を克明にスケッチしたものではないのだ。魚の体表に発達させた紋様のもたらす視覚効果を、見たままに正直に描いたものとも言える。つまり、実際には存在しない輪郭を作り出すような適応的パターンに、観察者はモロに嵌まり込んでしまっているのだ。

子供の頃、初めて行った溜め池に見つけたトノサマガエルが、実際よりもずっと鮮やかな動物として目に焼き付いたことはなかっただろうか。動物が敵の目を欺くために体表に発達させた紋様は、実際の動物の姿と相反していて当然である。まして、死んで色があせてしまった標本と、生きている動物の姿はそれ以上に異なっている。多少輪郭は不正確になるかも知れないが、このルナールの図譜に見る描画は、当時最高の

観察眼によって認識されたイメージの正確な描写であり、ある意味、シュールリアリズムの一種と認識することさえできる。してみれば、これは18世紀の自然観におけるリアリズム、実物と知覚認識の乖離状態を視覚心理学的に取り込んだ、「世にも珍しい

魚類図鑑」ということができるのかもしれない。対して、のちの博物学は、自然の持つ本当の姿を目の前にさらけ出したいというパトスに突き動かされていた。それが、あの19世紀という時代だったのである。

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 3 No. 7

発 行 : 2020 年 1 月 9 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/>