



Evolutionary Theory for

CONSTRAINED & DIRECTIONAL DIVERSITIES

Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 4 No. 2 (2020)

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6回理論情報交換会 第6回大規模情報解析情報交換会
第5回若手ワークショップ 第7回領域会議 第7回総括班会議 報告

目次

新学術領域研究「進化の制約と方向性」

第6回理論情報交換会 第6回大規模情報解析情報交換会 第5回若手ワークショップ
第7回領域会議 第7回総括班会議 日程概要 1

領域代表挨拶 倉谷滋 3

第6回理論情報交換会報告 ～ボディプランの起源と進化に関する総合討論～
古澤力 4

第6回大規模解析情報交換会報告 重信秀治 7

若手企画ワークショップ「新・研究計画 ～新たな謎に踏み込め～」について 入江直樹 10

計画研究班

脊椎動物の筋骨格系の形態進化に見る制約と方向性 倉谷滋 11

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 13

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 15

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 16

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 18

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 20

公募研究班

胸ヒレ鰭条の種内ゆらぎを生み出す発生メカニズムと種間形態多様性 阿部玄武 22

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 23

特異的相互作用の進化: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 25

多次元形質空間におけるマルチレベルな表現型のゆらぎの統合と進化の方向性の予測
高橋佑磨 26

顔面原基のプロポーシオンが哺乳類系統でだけ激変した背景にある、発生上の制約
東山大毅 28

RNA の構造揺らぎの大きさから進化しやすさを予想し制御する 市橋伯一 29

倍数ゲノム複製機構がもたらす新規機能獲得と進化速度の両立 大林龍胆 30

酸素で生じた「ゆらぎ」が「パターン形成プログラム」へと進化した分子基盤の解明	田中幹子	32
腸内感染と運動性の揺らぎが導く細菌病原性分泌装置への進化の実験的解明	寺島浩行	33
神経ネットワークにおける揺らぎと進化的保存性の関係	石川由希	34
細胞ターンオーバーを介した表現型制約とその分子基盤の解明	大澤志津江	35
仙椎-後肢ユニットの形態の制約と個体間の位置のゆらぎを生み出す分子機構の解明	鈴木孝幸	36
実験生態系の摂動と継代による生態系の揺らぎ応答関係の解明	細田一史	37
発現量揺らぎ-適応系により探索する発現変動の適応-進化への影響	守屋央朗	39
自己組織化過程における細胞の揺らぎと対称性の破れ	守山裕大	40
トランスクリプトームのゆらぎがもたらす新規ニッチへの進出能力	石川麻乃	42
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	43
相同器官固有の形態形成ダイナミクスの標準形と発生組織内の位置価を適切に測る座標系	森下喜弘	45
連載エッセイ(24) 動物学的『ウルトラQ』談義	倉谷滋	46

新学術領域研究「進化の制約と方向性」

第 6 回理論情報交換会 第 6 回大規模情報解析情報交換会 第 5 回若手ワークショップ 第 7 回領域会議 第 7 回総括班会議

Zoom オンライン会議 日程概要

6 月 17 日(水曜)

9:30～10:00 Zoom 接続テスト

10:00～12:00 理論情報交換会「ボディプランの起源と進化に関する総合討論」(古澤・金子・藤本担当)

13:30～15:00 大規模情報交換会「ゲノム情報の可視化～ゲノムブラウザを作ってみよう」(重信担当)

15:00～15:30 休憩

15:30～17:30 若手ワークショップ「新・研究計画 ～新たな謎に踏み込め～」(入江担当)

6 月 18 日(木曜)

8:30～ 8:50 Zoom 接続テスト

8:50～ 9:00 倉谷滋 代表挨拶

発表時間:発表 15 分、質疑・演者交代 5 分

座長:長谷部光泰

9:00～ 9:20 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」

9:20～ 9:40 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」

9:40～10:00 入江直樹「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」

10:00～10:20 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」

10:20～10:40 休憩

座長:金子邦彦

10:40～11:00 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」

11:00～11:20 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」

11:20～11:40 阿部玄武「胸ヒレ鰭条の種内ゆらぎを生み出す発生メカニズムと種間形態多様性」

11:40～12:00 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」

12:00～13:30 昼休み

座長:入江直樹

13:30～13:50 土松隆志「特異的相互作用の進化: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」

13:50～14:10 高橋佑磨「多次元形質空間におけるマルチレベルな表現型のゆらぎの統合と進化の方向性の予測」

14:10～14:30 東山大毅「顔面原基のプロポーシオンが哺乳類系統でだけ激変した背景にある、発生上の制約」

14:30～15:00 休憩

座長: 深津武馬

15:00～15:20 市橋伯一「RNAの構造揺らぎの大きさから進化しやすさを予想し制御する」

15:20～15:40 大林龍胆「倍数ゲノム複製機構がもたらす新規機能獲得と進化速度の両立」

15:40～16:00 田中幹子「酸素で生じた「ゆらぎ」が「パターン形成プログラム」へと進化した分子基盤の解明」

16:00～16:30 休憩

座長: 古澤力

16:30～16:50 寺島浩行「腸内感染と運動性の揺らぎが導く細菌病原性分泌装置への進化の実験的解明」

16:50～17:10 石川由希「神経ネットワークにおける揺らぎと進化的保存性の関係」

17:10～17:30 大澤志津江「細胞ターンオーバーを介した表現型制約とその分子基盤の解明」

17:30～17:50 鈴木孝幸「仙椎－後肢ユニットの形態の制約と個体間の位置のゆらぎを生み出す分子機構の解明」

19:00～21:00 オンライン懇親会

6月19日(木曜)

8:30～ 9:00 Zoom 接続テスト

座長: 重信秀治

9:00～ 9:20 細田一史「実験生態系の摂動と継代による生態系の揺らぎ応答関係の解明」

9:20～ 9:40 守屋央朗「発現量揺らぎ－適応系により探索する発現変動の適応－進化への影響」

9:40～10:00 守山裕大「自己組織化過程における細胞の揺らぎと対称性の破れ」

10:00～10:20 石川麻乃「トランスクリプトームのゆらぎがもたらす新規ニッチへの進出能力」

10:40～11:00 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」

11:00～11:30 森下喜弘「相同器官固有の形態形成ダイナミクスの標準形と発生組織内の位置価を適切に測る座標系」

11:30～11:45 重信秀治 大規模解析支援について

11:45～12:00 倉谷滋 終わりの挨拶

13:30～14:30 総括班会議(総括班代表: 倉谷／総括班分担者: 入江、金子、長谷部、深津、古澤、重信／総括班研究協力者: 郷通子、伏見譲／学術調査官: 溝端栄一)

領域代表挨拶

みなさま、お疲れ様でした。おかげさまでもちまして、第7回領域会議は滞りなく終了することができました。大変活発な議論が行われ、かなり有意義な内容のものになったのではないかと思います。

私がとりわけ感銘を受けたのは、理論情報交換会「ボディプランの起源と進化に関する総合討論」でありました。とりわけ若い研究者の方々の進化可能性と表現型揺らぎに対する興味が炸裂していたように思います。しかし同時に、しばしば議論が噛み合っていなかったのではないかと感じています。

というわけで、そろそろ概念的フレームワークをきちんと構築する必要が出てきたのかも知れません。とりわけ「揺らぎ」とその周辺の概念群についても整理が必要です。「揺らぎ応答理論」における「揺らぎ」はさて、どのような現象として定義すべきなのでしょう。そもそもこれが、まだはっきりと意見の一致を見ていないような気がしてなりません。ひとつのとっかかりの可能性はFA、つまり「fluctuating asymmetry、変動する非対称性」です。これは遺伝的、もしくは決定論的背景を持たない表現型のシフトとも呼ぶことができるでしょう。領域会議でもどなたかが触れられていたと思いますが、これは左右相称動物においてはしばしば、左右に差が生ずる現象として見るができます。イボタガの翅にも、FAを伴う多くの斑紋を見ることができます。

もうひとつ、FAによく似たものとして、「応答規準(リアクションノーム)」という概念もあります。これは、ひとつのゲノムがひとつの固定した表現型に帰着するのではなく、常にある一定の潜在的な変異幅を伴っているというものです。つまり、表現型はそもそも潜在的概念なのだと。そこには、温度その他、多くの外的要因が関わることもあれば、純粹に確率論的に決まることもある。大切なのは、ひとつのゲノムが優遇されるかどうか、淘汰を通じて採点される場面においては、決定されたひとつの表現型ではなく、応答規準を考えていかねばならないということ。その考えの延長に、どれか特定の範囲にある表現型と特定の結びついた発生プログラム、つまり「発生的応答規準」という考え方も出てきます。

さらに表現型多型は、ひとつの動物種がいくつかの異なった表現型を持つことを言いますが、それはしばしば応答規準の限られた切片を見ているに過ぎないという可能性もあります。タテハチョウの仲間に見る季節多型がそれです。これは、発生プログラムの中に発生のパスウェイを変化させる関数、もしくはスイッチがあり、それを利用してさまざまな表現型を実現しているというもの。いずれにしても、以上のように、幅のある可能性の中のどの一点を狙っても、それを選択によってすぐさま固定できないと予想されますが、よくしたもので発生プログラムはもっと複雑で、これまでFAや多型や応答規準を足がかりに、本来遺伝的背景を持たなかった形態形質に、いわば新たな遺

伝子ネットワークでできた出来合いのハシゴをかけ、それを淘汰に晒して固定するという芸当、つまり安定化淘汰が生じてきたことは否定できません。いや、それこそが進化の本質であったとの主張も過去にはありました。加えて、多型のようにみえて、遺伝的変異が現れているだけだという可能性もあるでしょう。現実には難しい問題ばかりです。

さて、こういったことをすべて俯瞰して、揺らぎが進化を導くように見える現象の本質を掴むにはどうすれば良いか。どのようなモデルを立て、過去のどのモデルを棄却し、どのようなデータを出してゆくべきなのか、研究における概念的構造をじっくり見据えることが重要でしょう。この作業は決して簡単ではありませんし、それ自体がこの新学術のゴールの一部でもあります。しかし、時間をかけてこのポストコロナの通信環境を最大限利用することによって、多くの知恵がどこかに収束することは可能だと思います。そのような議論の中でアナロジーは常に重要です。が、誤解もまたアナロジーより生まれます。すべては経験です。若い研究者の皆さんには、積極的なコミュニケーションを通じ、集合知が育ってゆく経験を積んで頂きたいと思います。それでは、これからも頑張っ

倉谷 滋



Zoom 上での領域会議オンライン懇親会の様子—右上隅が倉谷領域代表

第 6 回理論情報交換会報告 ～ボディプランの起源と進化に関する総合討論～

古澤力(理化学研究所/東京大学)

ボディプランとは、特定の系統群に共通にみられる形づくりのあり方であり、多くの生物学者がその存在を受け入れている。一方でその定義は常に循環論法に悩まされ、曰く「ボディプランは動物門ごとの基本解剖学的プランである」に対して「同じボディプランを持つ単系統群を動物門とする」とあり、また「相同性が定義できる範囲をボディプランとみなす」一方で、「相同性はボディプランの共有によって定義される」とも述べられる。また、ボディプランは出来上がった「構造」として議論され、その体制そのものがどのように出現し、そして新規な形質を獲得して進化することができるか、明確な説明があるとは言い難いのが現状である。

一方で、前回の領域会議で発表された板尾・金子らによる数理モデルを用いた研究では、レヴィ=ストロースが明らかにした婚姻規則や多様な親族構造が、パラメータに依存して自発的に生成されることが示された(Itao, PNAS 2020)。また、同じく竹内・金子らによる研究により、ゲノム DNA のように情報をコードする分子と、機能を持つ多数の分子の機能分化というセントラルドグマの構造が、階層的な進化過程における「対称性の破れ」として出現することが明らかとなった(Takeuchi, Proc. R. Soc. B 2019)。こうした数理モデルを用いた研究は、構造主義がその存在を前提とした構造そのものについて、その出現の条件や生成メカニズムを明らかとしている。では、こうしたアプローチをボディプランという分類群の起源や進化に適用することは出来ないであろうか？これが前回の領域会議で倉谷によって投げかけられた問いであり、今回の理論情報交換会ではその問を受け、金子・藤本を中心としてボディプランの起源と多様性に関する総合討論が行われた。

まず金子により、上述した先行研究について簡単に紹介された後に、ボディプランの生成を理解するための方向性が提示された。親族構造が個人と集団の階層進化モデルで出現したように、多細胞生物においても、個々の細胞とその集団という階層進化モデルを考え、それに物理的な拘束や、機能的な拘束(例:消化管の形成)の条件を課すことにより、ボディプランの出現を議論できるのではないかと、というアイデアである。

次に藤本により、これまでに議論されたボディプランの分類に関するレビューの後に、多細胞生物の対称性や基本的な構造に着目することにより、可能なボディプランの出現と変遷を理論的に解析するというアイデアが提示された。内骨格/外骨格や体腔の在り/無し、さらに左右相称/放射相称といった基本的な構造を組み合わせることにより、54通りの可能な多細胞体制を考えることができる。こうした大雑把な分類であれば、系統樹との対応を議論し、さらに数理的な手法によってその間の遷移の起こりやすさを予測することができるかもしれない。また、その体制が不連続に変化するために必要な発生・進化の条件とは何かを議論できる可能性がある。実際に、藤本らのグループによるタデジマイソギンチャクの研究では、同じ遺伝子型を持つ個体群において、左右相称と放射相称という異なる対称性を持つ発生過程が出現し得ることが示され、そうした研究を基にボディプランの変遷を実験的・理論的に解析するアプローチが議論された。相称と放射相称という異なる対称性を持つ発生過程が出現し得ることが示され、そうした研究を基にボディプランの変遷を実験的・理論的に解析するアプローチが議論された。

金子・藤本によるプレゼンを起点として、非常に活発な質問・コメントの応酬が引き起こされた。その一部は、新学術領域 Slack の「#ボディプランの進化と多様化」のチャンネルで見ることができる。その絡み合ったコメントの全てを記載することは難しいが、いくつか例を挙げると(カッコ内は発言者)：

**細胞と細胞集団が整合して成長できる「階層的Attractor」
卵から再帰的に生成+進化的に獲得される
“状態空間”で一部領域のみ →可能なBody-Plan？**

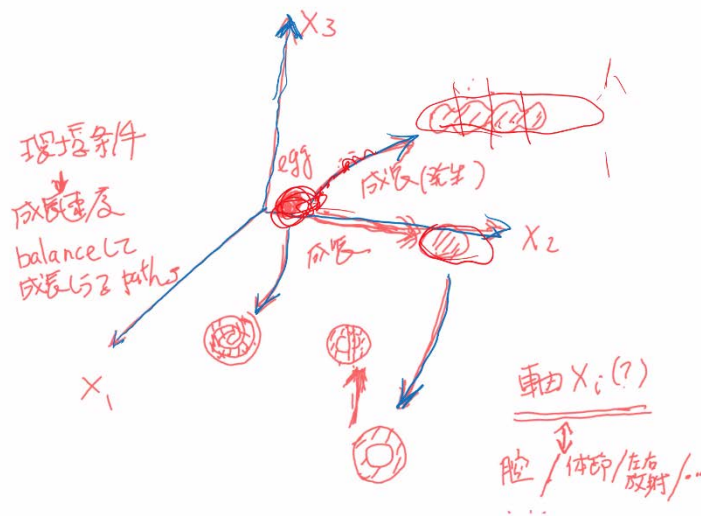


図 1: 金子によって提示されたボディプランの進化を理解するための模式図

- ✓ 新しいボディプランができるときの革命的な何らかの魔法じみた発生プログラムの再構築を考えると、「体制」というものがゲノムの中でどのようにコードされていて、それがあある状態から次の状態へと、どれだけ不連続に変わりうるかということがそもそもの問題意識だったはず(倉谷)。
- ✓ 崩壊指数(decay index)が低いノードがボディプランの出発点といっても良いのでは？
ここで崩壊指数とは、最節約樹形から出発して、樹長が長くなる樹形を見ていき、そのクレードが姿を消す(壊れる)分岐図との樹長との差のこと。樹長が少し長くなっていただけですぐに壊れるクレードは弱い、いつまでも壊れにくいクレードは強い(平沢)。
- ✓ 一旦生物のこと忘れて、すごく抽象化したトイモデルで生き物の体構造をモデル化してシミュレーションやれないか(細田)。
- ✓ いろんな方向に変化できるけど、安定なところしか結局終着しないわけで、ある程度安定な中での変化しかしなくなる。辻褄があった形(含む機能)が進化しなければならない、という観点からモデル化しないとイケない(倉谷)。
- ✓ 安易に適応度を導入するんじゃなく、“発生的に辻褄があった”形態が可能か、という概念を導入すべきでは？ミクロな拘束の下で可能なマクロな構造を探索し、その上で適応度を導入するのが筋(金子)。
- ✓ 考えるべきテーマ: ボディプランの出現、ボディプランが保守的になったこと、ボディプランの破壊(上坂)。

上記のコメントはごく抜粋であり、興味のある方は Slack のコメントを参照し、さらに議論を加えて欲しい。

「ボディプランの起源と進化」という茫洋としたテーマを基とした総合討論の会であったが、様々な異なる視点からの活発な議論が引き起こされた。提示された疑問に対して解答が得られたわけではないが、問題の難しさを再認識した上で、その理解へ向けた方向性が提示された(かもしれない)。むろん、このトピックは領域内の様々な議論と結びついたものであり、今後も活発な議論が続いていくであろう。

最後に、オンライン会議でのコメントの応酬を、議事録係として Slack に投稿してくれた香曾我部氏(理研)に感謝したい。

第6回大規模解析情報交換会報告

重信秀治(基礎生物学的研究所)

第6回大規模解析情報交換会は、第7回領域会議の前日に、Zoomを用いたオンライン形式で行いました。大規模解析支援の担当である私、重信が講師をつとめ、「ゲノム情報の可視化〜ゲノムブラウザを作ってみよう」のテーマで情報交換会を開催しました。レクチャーを中心に進行しましたが、随所にデモをはさみ、また興味のある参加者が実際に自分のコンピュータを操作して体験できるように、コンピュータのセットアップを含む詳細情報を GitHub に設けた特設 wiki (<https://github.com/kuratanicde/20200617-nibb-omics/wiki>) で提供しました。

ゲノム情報の可視化は多くの「気づき」を私たちに与えてくれます。ゲノムブラウザは単なる遺伝子情報のお絵かきソフトウェアでは有りません。ゲノムや遺伝子に付随する情報まで統合可能な知のプラットフォームです。ゲノム情報の可視化の重要性を伝えたい、そして、その手法は決して難しいものでないののでぜひ班員の皆さんにも身につけていただきたい、という思いから、今回「ゲノム情報の可視化」を企画しました。

米国の統計学者 J. W. Tukey (1915 - 2000) は 1960 年ごろ、探索的データ解析 (Exploratory Data Analysis) のアプローチを提唱しました。これは複雑な統計モデルを立ててあれこれ解析する前に、現実のデータの全体像を人間の眼で捉えることから出発しようという姿勢です。その一環として、Tukey はかの有名な箱ヒゲ図 (box plot) を考案しました。彼は、“Graphs force us to note the unexpected; nothing could be important.” (グラフは我々に、期待しなかったことを気付かせる。これほど重要なものは他にはない。) という格言を残しています。同じことが、ゲノム解析にも当てはまると私は考えます。次世代シーケンシングなどの技術の進歩により、大規模なゲノム情報が容易に得られるようになりました。多くの生物学者は、次世代シーケンサーから出力される巨大な fastq ファイルと日々格闘しています。それらを解析するバイオインフォマティクスのツールは豊富に回り、洗練されたアルゴリズムでゲノムを多面的に解析することができます。ただ、複雑なゲノム解析の深みに入っていく前に、ゲノム情報を可視化して直感的に全体像を捉えることが大切だと思います。私自身の経験を一例お話しすると、最近、ホタルのゲノムを解読し、発光酵素であるルシフェラーゼの進化的起源はアシル CoA 合成酵素遺伝子の高度な重複であることを見出しました (Fallon et al., 2018 eLife)。論文上では、精緻な分子系統樹解析とシンテニー解析に基づいてそれを裏付けていますが、この発見の緒になったのは、実に大雑把な解析、具体的にはルシフェラーゼを query にした BLAST 検索のラフな結果を気軽な気持ちでゲノムブラウザに表示したことでした。ルシフェラーゼの近傍に類似の配列が多数並んでいることに驚きとともに気づかされ、それから丁寧にオーソログ・パラログ解析や分子進化解析に着手しました。このように複雑なアルゴリズムであれこれゲノム解析する前に、ゲノム情報を可視化して全体像を直感的に捉えるアプローチは大変有効で、これを Tukey の Exploratory Data Analysis (EDA) になぞらえて、Exploratory Genomic Analysis (EGA) と、名付けて普及させたいと、私は考えています。

ゲノム情報の可視化として真っ先に思い浮かぶのが、ゲノムブラウザです。ゲノムブラウザでは、遺伝子の存在するゲノム上での位置やイントロン・エクソンなどの遺伝子構造が一目瞭然で、とても便利です。しかし、ゲノムブラウザの表現力はそれだけにとどまりません。Google Map が地形や道路、駅のような地図情報だけでなく、渋滞情報やお気に入りのショップの開店閉店時間などの α の情報を提供して私たちの日常生活を便利にしてくれているのと同様、ゲノムブラウザも、構造情報以上のリッチなコンテンツを格納することが可能であり、逆にいえばそのような情報の統合化が、ゲノムベースの現代の生物学的研究の鍵とさえ言えるかもしれません。

では、どのようなツールを使えば、ゲノム情報の可視化が可能でしょうか。今回の情報交換会では2つのツールを紹介しました。Integrated Genome Viewer (IGV) と JBrowse です。IGV はローカルコンピュータにインストールして使うソフトウェアで、一方、JBrowse はサーバにインストールして使うソフトウェアです。それぞれに一長一短があり、用途に合わせて使い分けると良いでしょう。IGV はローカルのコンピュータで起動するソフトウェアで重いデータファイルもサクサクと処理してくれますので(マシンスペックにもよるでしょうが)、ショートリードのマッピングデータの巨大な BAM ファイルなどを手元で気軽にブラウジングするのに適しています。また対応しているフォーマットも幅広く、特別な設定をしなくても大抵のゲノム関連のデータファイルを読み込んで、いい感じで表示してくれます。JBrowse はサーバにインストールするソフトウェアであるため、ウェブサーバに関する知識が必要であり、データの変換やインポートもコマンドラインベースでプログラミングの知識も必要となり、IGV より敷居が高いツールですが、遺伝子アノテーションなどを研究チームで共有するには最適です。事実、多くのゲノムプロジェクトのコミュニティでは JBrowse を使ってゲノムブラウザを構築しオフィシャルデータセットを公開しています。また、JavaScript による柔軟なカスタマイズが可能です。遺伝子をクリックして、その遺伝子に関する別のデータベースのウェブサイトへ飛んだりすることも可能であり、インフォメーションハブとしての高いポテンシャルを有しています。

特設 Wiki では、IGV と JBrowse の使い方を、具体的なコードを示しながら解説しています。IGV 用には2つの演習問題を設け、演習1はシロイヌナズナの RNA-Seq データをゲノムにマッピングした結果の bam ファイルをゲノムブラウザに表示させる練習です(図1)。演習2は、リファレンスゲノムがIGVに用意されていない非モデル生物の例として、アブラムシ共生細菌 *Buchnera aphidicola* のゲノムのリファレンスをまず作成し、その後にゲノムリシーケンスの結果の bam ファイルをインポートして、多型の分布状況を調べる練習です(図2)。この 2 課題は情報交換会でも多くの参加者が一緒に演習に参加してくれたようです。Jbrowse 用の演習問題では、*Buchnera aphidicola* のゲノムリファレンスを構築して NCBI からダウンロードした遺伝子アノテーション情報を表示する練習をしました。当日は時間が足りず十分な時間解説できませんでしたが、発展演習として、興味のある遺伝子のトラックを右クリックして NCBI Gene や、KEGG にジャンプできるように web リンクを生成するカスタマイズの方法や、BLAST 検索の結果をインポートする方法を wiki に解説してあります。是非お試しください。

皆さんも、俺流のゲノムブラウザを構築し、是非日々の研究に生かしてください。

Links

- 今回の大規模情報交換会特設 Wiki: <https://github.com/kuratanicde/20200617-nibb-omics/wiki>
- Integrated Genomics Viewer: <https://www.broadinstitute.org/igv>
- JBrowse: <http://jbrowse.org/>

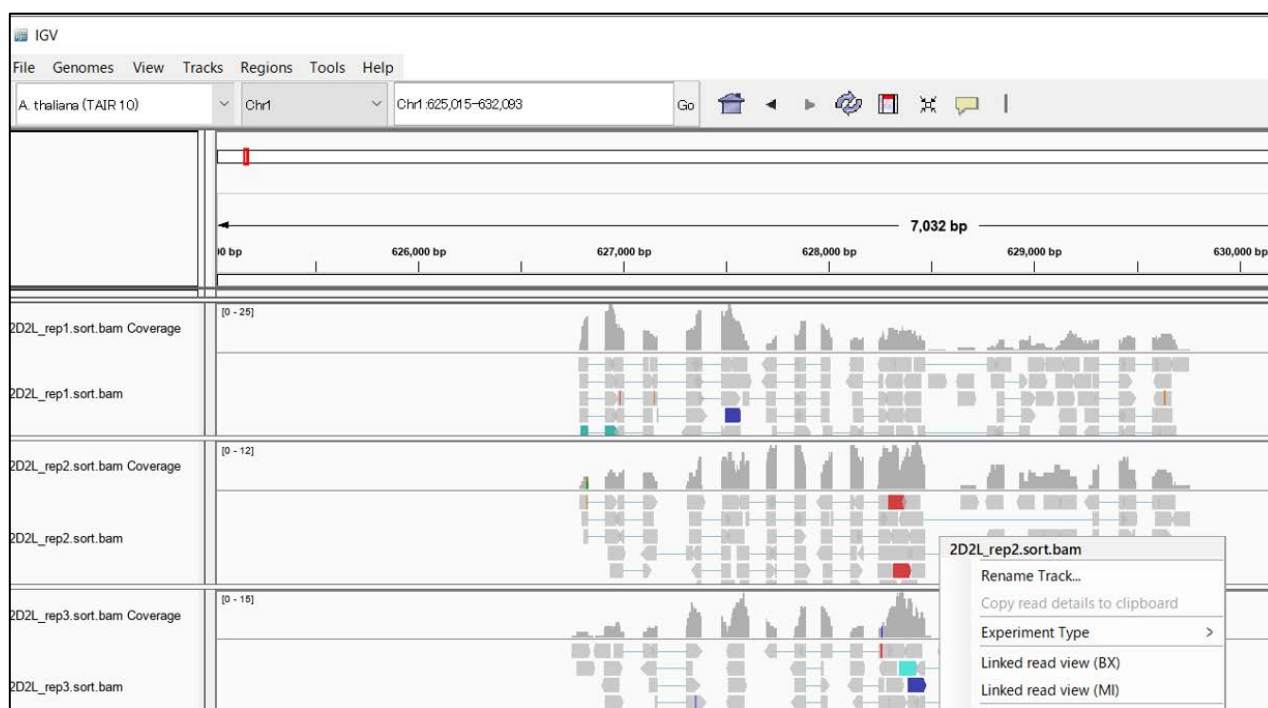


図1 IGV で RNA-Seq のデータを可視化した例

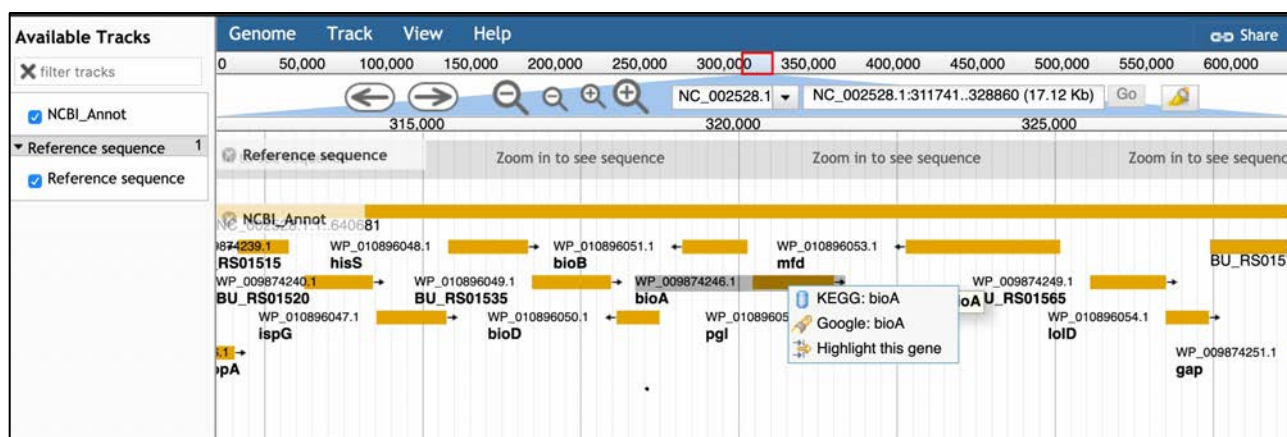


図2 デモで作成した、JBrowse によるゲノムブラウザ。NCBI からダウンロードした Buchnera aphidicola ゲノムのアノテーション情報を可視化し、さらに遺伝子のトラックの右クリックで KEGG や Google 検索ができるようにカスタマイズした。

若手企画ワークショップ「新・研究計画 ～新たな謎に踏み込め～」について

領域の班代表は、解くべき問題・乗り越えるべき課題をそれぞれの観点から設定した研究に取り組んでいます。領域内の若手は実はもっと新しいアイデアを持っているかもしれません。実際、この領域が起こそうとする学術的変革・潮流や、もっといえば進化生物学にとっても、次の時代をつくる若い世代のアイデアやひらめきが決定的に重要です。こんな考えから(!?)、若手のワーキンググループメンバーである内田唯、上坂将弘、守野孔明、香曾我部隆裕、芝井厚、北沢美帆が中心となり、ワークショップ「新・研究計画 ～新たな謎に踏み込め～」を企画しました。こう書くと、さも若手企画担当の入江が指示したかのように聞こえるかもしれませんが、実際にはほとんどゼロから若手ワーキンググループメンバーだけで、企画から領域会議前日(6月17日)の開催までを実施しました。

感染症防止策としてオンライン開催にはなりましたが、事前にSlackを用いて議論を深めるなどの工夫もあり、非常に活発な議論が展開されました。若手の企画だと言われていても、気がつけば計画班代表らも若手に混じって(本人達も若手の気分で?)議論に参加しており、もはや全体議論です。形式としても、当初の領域会議ではZoomのみによる開催を予定していましたが、議論の白熱ぶりに、班代表の質疑応答までこのSlackを併用して行うことになりました。もはや若手WGが領域のあり方まで飲み込んだかのような様相でした。

この企画、特に面白いのは、内田さんが最初に説明してくれたように「まだ科学の言葉で語りきれないこと」も含めて、議論していくことで問題を明確化しようという点だと思います。すでにわかっていること、あるいは細部を詰めるだけの問題を扱うよりずっと楽しめる内容です。とは言え、同じ進化を扱う参加者でも、物理学や発生生物学などバックグラウンドは様々です。言葉の定義や範囲で問答することになることもしばしばありました。

具体的な内容については、ここで紹介するに余りある価値のある議論が繰り広げられたことを鑑みて、ニュースレターVol. 4 No. 3で特集を組むことにいたしました。是非そちらをご参照ください。

若手WG担当 入江直樹

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(理化学研究所)、平沢達矢(東京大学)、Juan Pascual-Anaya (理化学研究所)

【研究目的・背景】

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。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。

【2019 年度研究結果】

本研究では、まず、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。発生機構的探索も開始し、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* の化石に対して、シンクロトロン放射光 X 線 μ CT を駆使した精密形態観察を行なった。

【2020 年度研究計画】

胚発生における筋-骨格結合の樹立過程、特にカメの胸筋等、例外的に結合関係が進化上変化した部位の発生過程について、前年度までに集めた観察データをもとに、ニワトリ胚で発生擾乱実験を展開し、筋-骨格結合樹立過程における発生上の揺らぎの特性を調べることに力を注ぐ。特に、正常発生では移動しない位置に異所的に筋前駆細胞を置いた場合にその筋前駆細胞がどのような可塑性を示して分化していくのかを検証する。その際、筋前駆細胞の分布のみならず、個々の筋を取り囲む非体節由来の筋結合組織(筋周膜等)や血管系の分化パターンの揺らぎに

も注目する。そして、個々の筋の発生擾乱に対する反応を比較することで、筋-骨格結合樹立過程における発生上の揺らぎと進化的保守性からの逸脱の関連性を探る。

また、筋細胞や腱細胞までの細胞型分化過程にある遺伝子発現プロファイル変化を明らかにするための比較トランスクリプトーム解析を進める。本研究ではこれまでに、ヤツメウナギ胚における遺伝子発現解析および CRISPR/Cas9 による遺伝子破壊実験を展開し、MMP 筋の発生機構のうち少なくとも一部が現生脊椎動物の共通祖先で成立していたことを突き止めたが、この理解をさらに推し進めるため、まずヤツメウナギ胚におけるトランスクリプトーム解析を実施する。ヤツメウナギともう1つの現生円口類であるヌタウナギには発生においてゲノムの削減が起きることが知られ、この現象が細胞型分化過程に与える影響が無視できない。そのため、ヌタウナギの一部の組織ともトランスクリプトームを比較する。これらヤツメウナギ胚を中心としたトランスクリプトーム解析を土台とし、他の脊椎動物胚とも比較することで、筋前駆細胞が移動して骨格と結合を樹立するまでの発生過程にどのような性質の揺らぎがあるかを突き止めることを目指す。

同時に、比較形態学的探索として進めている化石種の精密観察も継続し、脊椎動物筋骨格系パターンの進化過程における制約と方向性の全容把握を進める。

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(東京大学)、藤本仰一(大阪大学)

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

- (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。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。

【2020 年度研究計画】

(i) 表現型進化の方向性と拘束の理論:これまでにロバストネス進化により表現型変化が低次元空間に拘束されることを示してきた。今年度は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、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定式化を行う。つい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、進化が環境変化による表現型変化を通減する方向に起こるという進化ルシャトリエ原理の定式化を行う。以上の理論によって 各班の実験への指針を与える。

(ii) 階層進化理論:情報—機能分化の対称性破れの理論を昨年度発表したもので、まずこの条件をあらわすスケーリング理論を展開する。次に この理論を細胞、多細胞生物、細胞集団へと拡張する。細胞レベルでは細胞内共生体と細胞が整合して成長できる条件から共生体の進化の条件を求める。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、それにより安定した生態系が形づくられることを明らかにする。さらに個体—社会の階層に対しては社会での家族構造の四類型がどのような条件で生じるかを示し、それによる社会、経済構造の進化を求める。一般に階層内部の要素数が臨界値を超えると分化が生じることに着目しつつ、協同的構造出現条件の定式化を行って、各班での実験検証を図る。

(iii) 進化発生対応の理論:発生の砂時計仮説が発生のロバストネスといかに関係するか、それが遅く変化する過程による制御過程と関連することを明らかにする。

ボディプラン(体制)に種内揺らぎ(多型)があることを、被子植物の花と刺胞動物のポリプの器官配置に昨年度見出した。今年度は器官配置の発生過程に生じる揺らぎの制御を通じて特定の体制が選択的に創出する理論を、計算機実験等により構築する。この理論を構成的に検証すべく、ポリプの実験系の構築を進める(倉谷班と共同)。これら器官配置パターンと器官集合体としての個体の成長パターン(等方/異方、局在、他)の相互フィードバックのモデル化を進め、動植物の体制の多様化が生じるための条件を器官—個体の階層に求める。

脊索動物胚発生分子発生システム揺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・理研)、上坂将弘(分担・理研)

【研究目的・背景】

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。

【2019 年度研究結果】

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(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も考えられた。これについては、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可能性が指摘されてきたが、本課題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ほど脆弱ではなく、むしろ頑健である可能性が考えられた。さらに、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 Ecol Evol 2017)。2019 年度は、制御領域の特性と多面発現性、そして進化的保存性の関連探索にも着手した。すでに、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、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ている。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。

【2020 年度研究計画】

メダカの近交系及び同種異集団を用いた実験系により、揺らぎと進化的保存性との関連、そして多面拘束との関連を探るとともに、メダカを用いた数世代程度の進化実験による揺らぎ応答理論の検証も予定している。また、各動物門におけるボディプランと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、森山実(産業技術総合研究所)、重信秀治(基礎生物学研究所)、二河成男(放送大学)、細川貴弘(九州大学)、西出雄大(農研機構)、松浦優(琉球大学)

【研究目的・背景】

従来の共生研究はすでに高度に確立した共生関係を対象としてきたが、近年の申請者らの研究により、環境中には特定の宿主生物、例えば半翅目昆虫のチャバネアオカメムシなどに潜在的な共生能力を有する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 年度研究結果】

- ・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 か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に関する新知見を得た。
- ・共生可能細菌の実験進化的解析: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の多様性の解明;など。

【2020 年度研究計画】

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

多様な選択圧下での大腸菌進化実験による揺らぎ-応答関係の定量解析

古澤力(理研)、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。

(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。

【2020 年度研究計画】

(1) 環境条件を動的に制御する進化実験による進化能地形の推定

前年度までに完了した大腸菌進化実験のデータと、環境にフィードバック制御を与えて進化過程をコントロールする技術を用い、様々な初期条件から複数のターゲット表現型へ向けた進化実験を実施し、その進化軌跡が持つ性質を解析する。特に、それらのデータから、進化可能性を記述するポテンシャルランドスケープの定量を試み、それに基づいて進化過程の予測と制御を行う手法を開発する。

(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:

それぞれの遺伝子を蛍光タンパク質で標識した大腸菌ライブラリを用い、顕微鏡観察により遺伝子発現揺らぎの大きさを定量する。炭素源を変化させる、あるいは環境ストレスを付与するなどの環境摂動を与え、遺伝子発現量の平均値と揺らぎがどのように変化するかについて、一部の遺伝子について定量が完了しており、今年度は定量を継続してさらにサンプル数を増加させる。上記(1)の進化実験の結果と統合し、表現型揺らぎの大きさと進化応答・環境応答の大きさの関係を解析する。

(3) 1 細胞計測系を用いた遺伝子発現揺らぎと遺伝型摂動への応答の定量:

顕微鏡下での 1 細胞計測を行いながら、光遺伝学的手法を用いて遺伝子操作を行う系を用いることにより、揺らぎの計測を行いながら、同時にゲノム配列への摂動とその応答を解析する。さらに、この系を用いるなどして、ゲノム変異に依存しない抗生物質耐性の獲得ダイナミクスを解析し、そこでの表現型揺らぎと環境摂動への応答がどのように関係するかを明らかにする。

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、上田真道、Peng Chen、棚瀬邦明、
真野弘明、瀬上紹嗣(基礎生物学研究所)、玉田洋介(宇都宮大学)

【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。

【2019 年度研究進捗状況】

【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、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。

モウセンゴケ科の共通祖先でゲノム重複がおり、食虫性進化に寄与した可能性が高いことを発見し論文発表した ([Palfalvi et al. 2010 Curr. Biol.](#))。

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予定し、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。

【2020 年度研究計画】

【課題1. 食虫性関連遺伝子の特定】

Palfalvi、玉田を中心に、昨年度行ったシングルセルトランスクリプトームの解析結果に位置情報を付加し、食虫性に関わる遺伝子を抽出するため、代表的な遺伝子の *in situ* ハイブリダイゼーション実験を行う。鳴川を中心に、推定した遺伝子の詳細な解析を行い、食虫性関連遺伝子を同定する。このために、ウイルス誘導遺伝子サイレンシング法を用いたノックダウンの表現型解析を行う。また、*in situ* hybridization 法を用いて、捕虫葉および平面葉形成過程における発現パターンを明らかにする。植物ホルモンの捕虫葉形態形成への影響を評価するため、ラノリンペーストによる局所投与法を検証する。並行して、アグロバクテリウムを介した形質転換系の確立を進め、ノックアウトや植物ホルモンセンサーなどの各種変異体の作製を目指す。Cheng、瀬上を中心に、ムジナモのカルスを用いて形質転換系の確立を目指す。形質転換の目処がたった段階でシングルセルトランスクリプトームによる食虫性関連遺伝子の探索を行う。棚瀬、瀬上を中心に、モウセンゴケのカルス、苗状原基の誘導を行い、形質転換系の確立を目指す。運動受容位置を特定し、運動受容と伝達機構に関わる遺伝子を特定するためのシングルセルトランスクリプトーム解析を行う。Palfalvi と玉田を中心に、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を論文発表する。須田を中心に、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リバイズして出版する。上田と真野を中心に、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 LOB 遺伝子の機能解析を行う。

【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、約 300 サンプルのトランスクリプトーム比較解析を完了し、食虫性進化と遺伝子発現ゆらぎとの関連を解析する。自然界で無いような環境条件でできることがわかった異常形態葉について、論文化する。

【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検証する。ATAC-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。

胸ヒレ鰭条の種内ゆらぎを生み出す発生メカニズムと種間形態多様性

阿部玄武(東北大・院生命)

【研究目的・背景】

硬骨魚のヒレは、基部側の担鰭骨と先端部側の鰭条によって構成される。骨化の様式が異なるそれらは、しかしながら近年、その細胞系譜と発生メカニズムに共通性が認められるようになった。その内、鰭条は多様性に富んだ構造で、器官の発生や機能を形態進化に結びつけるのに興味深いモデルとなる。例えば、胸ヒレの鰭条は、多くの魚種で個体ごとに本数のゆらぎが見られる。また、鰭条は魚類が様々な環境に適応するのに多様な形態も示す。特に、海底に生息するホウボウ科魚種は、鰭条の一部を独立に運動可能にした特殊な構造(遊離軟条;触腕のような感覚器)を持つ。我々は最近、ゼブラフィッシュの胸ヒレが、鰭条本数のゆらぎ方を元に前後3つの区画に分けられる持つことを報告している(Hamada et al., 2019)。この研究において、種内ゆらぎとして2つの現象(鰭条本数のゆらぎと区画ゆらぎ)を見出し、このゆらぎに発生過程の環境要因が重要であることを突き止めた。本研究はこの2つのゆらぎに関わる発生メカニズムを特定し、その発生メカニズムがホウボウ科魚種カナガシラの遊離軟条の形態進化に関わる可能性を調査する。これにより、種内ゆらぎの元となる発生メカニズムと種間の形態進化の関係を議論する。

【2020 年度研究計画】

本研究計画では、環境に応答し胸ヒレ鰭条の本数ゆらぎと区画ゆらぎを生じる発生メカニズムを特定する。2つの発生メカニズムとして *shh* 経路と *hox* 発現制御に注目する。さらに、その発生メカニズムがホウボウ科魚種の遊離軟条の形態進化に関わるのかを解析する。

(1) 鰭条形成における *shh* シグナル経路の解析: *shh* 経路と鰭条本数のゆらぎの関係を調べるため、胸ヒレ骨格(軟骨、硬骨)、*shh* 経路応答および *shh* 発現細胞をトレースするトランスジェニック系統(TG)を作製、取得する。これまでに、*shh* 発現細胞をトレースするTGコンストラクトを作成し、現在F1世代をスクリーニングしている最中である。これらのTGを用いて、*shh* 経路や環境要因の摂動実験を行い、ゆらぎのもととなる発生現象を特定する予定である。

(2) 鰭条-DR 接続様式の進化傾向の解析: 鰭条/DR 接続の条鰭類における進化傾向を、条鰭類全体魚種を対象に胸ヒレ骨格パターン解析を行い検証する。浅虫水族館のご協力のもと、これまでに、17目50種以上のサンプルを取得し、12種で骨格標本作製し、その骨パターンを解析中である。また、これからは、ゼブラフィッシュとメダカで *hox* 遺伝子を中心とした発現解析と、ゲノム編集技術を用いた遺伝子機能解析を行い、区画化の遺伝子制御を解析する。

(3) カナガシラの胸ヒレ骨格の区画化の解析: カナガシラの卵を取得し、胸ヒレ形成過程と *shh* 経路、区画化遺伝子の発現を記載する。カナガシラの採卵は、陸奥湾や近海で採取されるカナガシラを繁殖期になるまで飼育し、自然産卵もしくは人工授精により行う。現在、浅虫水族館のご協力のもと、オス8個体、メス13個体、不明5個体を飼育している。これから夏にかけて自然産卵とともに人工授精もおこない、採卵を試みる予定である。

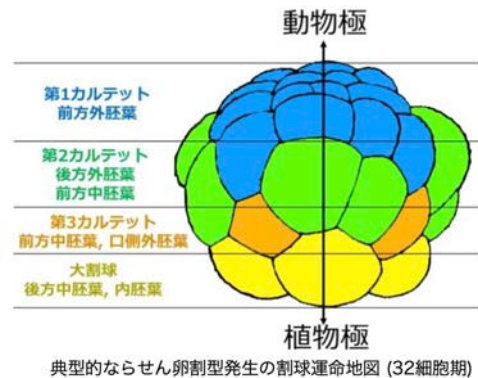
軟体動物割球特異化機構を題材にした発生システム浮動の方向性と制約の解明

守野孔明 (筑波大学)

【研究目的・背景】

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。

らせん卵割動物 (軟体動物や環形動物など) は、らせん卵割型発生と呼ばれる保存的な初期発生を示し、初期卵割期の割球運命地図が高度に保存されている (右図) ことが一般に知られる。しかし、発表者はこれまでの研究で、典型的ならせん卵割型発生を示す軟体動物内であっても、相同な割球群の運命特異化機構は必ずしも保存されておらず、大規模な進化時間にまたがる DSD が起きていることを示してきた。加えて、それぞれの割球系列に多数の転写因子群が発現していることから、発生システムの冗長性が発生経路の変動を許容し、DSD を引き起こすという仮説を提唱した。



以上の成果を土台として、本研究では軟体動物腹足類 3 種を対象とし、(1) 種内に見られる発現揺らぎの傾向とより長期的な進化の結果である DSD の傾向に相関があるのかを検証する。合わせて、(2) 各割球系列群における運命特異化機構の冗長性の程度を実験的に検証し、冗長性の程度と発現揺らぎおよび DSD の傾向に関連性が見られるかを明らかにする。これにより、発生システムの冗長性が発現揺らぎおよび DSD を許容し、方向性や制約を作り出すことに関与しているのかを解明することを目指す。

【2019 年度研究結果】

保存されたらせん卵割型発生を示す腹足類 3 種(カサガイ類クサイロアオガイ・ヨメガカサおよび古腹足類クロアワビ)を用いて、(1)初期発生期の転写因子発現プロファイルにどれほどの相違があるか、(2)発現プロファイルの差異に新規遺伝子群がどのように寄与するか、を明らかにすることを目指し、以下の成果をあげた。

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。更に、発生時系列トランスクリプトーム解析と ISH 法により、クロアワビではそれらの転写因子群のうち半分ほどしか発現が保存されておらず、カサガイ類ヨメガカサにおいても、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。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ていることを明らかにした。

発生システム浮動を許容する発生システムについての仮説

上記のアプローチにより、カサガイ 2 種の 16 細胞期に、それぞれのカルテット系列で 4-10 と多数の転写因子群が発現していることが明らかになった。さらに、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、冗長性が発生システム浮動を駆動する、という仮説を提唱するに至った。

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を受け、基礎生物学研究所の重信教授との共同研究のもとに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 を用いたゲノムシーケンスを行い、ドラフトゲノムを構築したが、N50 が 57kb と小さな値に留まった。今後、ロングリードのシーケンスを行い、再アセンブルすることを計画している。

【2020 年度研究計画】

引き続き、保存された初期発生パターンを示す腹足類 3 種を用いて、割球運命特異化が起きる 16、32 細胞期に発現する転写因子群を対象に以下の 2 つの実験を行う。

(1) 1 個体ずつのトランスクリプトームを軸とした、転写因子発現レベルの揺らぎの検証

軟体動物 3 種の 16、32 細胞期において、3 ペアの父母から発生させた胚から、1 個体ずつ RNA を抽出しトランスクリプトーム解析を行う。この実験により、各転写因子の発現の揺らぎやすさを測定し、そこにどのような傾向があるかを明らかにする。具体的には、遺伝子の特徴 (ex: 進化的に新しい/古い、重複の有無、DNA 結合ドメインの種類)、発生ステージ (16/32 細胞期)、発現する細胞系譜 (ex: 予定外胚葉/中胚葉/内胚葉) といった傾向の情報を抽出する。それらの情報を腹足類 3 種で比較し、揺らぎの傾向の共通性/相違点について明らかにする。また、揺らぎやすい遺伝子/発生ステージ/細胞系譜は、腹足類の進化過程でも同様に DSD が起きやすい傾向があるのかについて検証する。2020 年度は以上の行程を、3 種の中でも発生の同調性が高く扱いやすいクサイロアオガイを用いてまず行い、データを取得すると共に安定した実験フローを確立することを目指す。

(2) 割球特異化システムの冗長性的実験的検証

クサイロアオガイにおいて 16 細胞期で各割球群系列に発現する転写因子群を機能阻害し、その影響をマーカー遺伝子の発現等を用いて観察する。必要に応じて複数遺伝子を同時に機能阻害することを行う。これらの実験により、割球特異化システムの冗長性がどの割球群系列にどの程度存在しているのかを明らかにする。この情報をもとに、遺伝子発現が揺らぎやすい、もしくは進化の過程で DSD が起きやすい発生経路と冗長性のある発生経路が一致するのかどうかを考察する。2020 年度には、まず 2q および大割球系列の遺伝子の解析について取り組んでいく。

特異的相互作用の進化:

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、藤井壮太（東京大学）

【研究目的・背景】

共進化する生物同士にはしばしば、特定の相手としか相互作用しないというパートナー選択の特異性がみられる。このような特異性を担う分子の実体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。本研究は、数理モデルと実験により 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 年度研究結果】

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。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、もともとは予期していなかった興味深い結果として、「雄因子の変異が先に生じた場合は、優性タイプの S 対立遺伝子のときの方が祖先アリルと共存しやすい」ということ、逆に「雌因子の変異が先に生じた場合は、劣性タイプの S 対立遺伝子のときの方が祖先アリルと共存しやすい」という予測が得られた。

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に基づく S 遺伝子座の塩基配列解析を行った。その結果、S1(最劣性)、S4(やや優性)、S12(優性)という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。

【2020 年度研究計画】

[1] 数理モデル解析による S 対立遺伝子の進化過程の予測

今年度はでは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を行うほか、近年分子メカニズムが急速に明らかになったナス科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] 実験による特異性の進化の再現

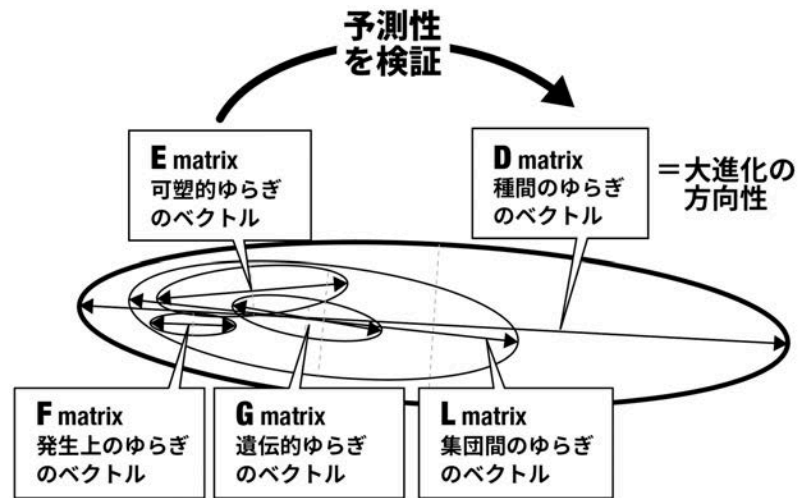
数理モデルの状況を再現する形質転換実験を行う。実際の野生植物集団で発見された S 対立遺伝子内のアミノ酸置換を人工的に作成、遺伝子導入し、タンパク質相互作用の程度や自家不和合性の活性の観点から特異性のゆらぎを定量する。この解析から、不安定かつ中間的な特異性の実態を定量し、モデルで仮定する新規 S 対立遺伝子の進化の「源」になる変異が、実際の野生集団ですでに分離しているかどうかを明らかにする。また、数理モデルと同様、ナス科配偶体型自家不和合性システムについても実験・解析を進め、野生集団内で分離する変異について検討を行う予定である。

多次元形質空間におけるマルチレベルな表現型のゆらぎの統合と進化の方向性の予測

高橋佑磨(千葉大学)

【研究目的・背景】

本研究の目的は、個体内や環境間、個体間、集団間、種間などのさまざまなレベルで認められる形質間の相関や多次元形質空間における形質の最大分散のベクトルの整列性から、進化の制約機構を実証するとともに、ミクロなレベルでの形質間の相関からのマクロなレベルでの進化パターンの予測性を検証することである。



野外で見られる自然選択は一般的に強く、かつ、ほとんどの形質には集団内に遺伝分散がある。そのため、選択圧の変化にすぐに適応できるはずである。しかし、実際には、大進化スケールにおいて種の形質は安定である場合も多いし、適応に失敗して種が絶滅することも少なくない。

多くの形質は遺伝的、発生的に他の形質と密接な関わりをもち、このような形質間の関係が進化の方向性や速度を制限し、結果的に適応的な進化を妨げる要因になりうる。たとえば、形質間の遺伝相関は、相加的遺伝分散共分散行列 (**G matrix**, **G**) により評価することができ、**G** から導かれる多次元形質空間において分散が最大になる方向性 ($g_{\max}$) により進化の方向性が予測できる。また、**G** が大進化スケール (種間) での形質変化の安定性や分化パターン (**D matrix**, **D**) を予測できることもわかりつつある。一方、形質の分散共分散構造は、さまざまなレベルで認識される。すでに述べた **G** や **D** に加え、環境効果に由来する形質変異同士の共分散行列 **E matrix** (**E**) や局所集団間の分化における **L matrix** (**L**)、さらには、遺伝的にも環境的にも同じ条件において現れる発生上のゆらぎに由来 **F matrix** (**F**) などがある。これまでに行なわれたいくつかの断片的な研究から、各レベルの形質間の分散共分散構造の結びつきが示唆されてきた。すなわち、まず可塑性によって **E** が適応地形図と合致し、遺伝的同化によって **G** が適応的に整列するため、集団の分化および種分化 (**D**) が適応地形図に沿って生じる可能性があるのだ。しかし、一つの分類群でこれらの行列の整列性を調べた研究は皆無で、したがって、たとえば、**F** や **E**, **G** からの進化の予測性については充分にわかっていない。

本研究では、急速な環境変化が起きている都市とその周辺の非都市部を舞台に、複数集団に由来するキハダショウジョウバエの単雌系統を用いて摂動実験や系統間・種間比較を行なう。具体的には、翅の形態幾何学的解析を行なうことで、多次元形質空間において、発生のゆらぎに基づく形質間共分散 (**F**) と可塑的変異の形質間共分散 (**E**)、集団内の遺伝的変異の形質間共分散

散(**G**)、地域集団間の形質間共分散(**L**)、種間での形質間共分散(**D**)の関係を定量する。さらに、これらの行列から推定される最大分さベクトルの整列性を検証することで、よりミクロなレベルで観察される形質間の相関にもとづく進化の制約機構や、そのような相関からの進化の予測性を検証する。



【2020 年度研究計画】

1. E matrix との推定(可塑的変異)

測定する形質として、分子発生学的研究が豊富である翅形態に着目する。確立された単雌系統のうち、2系統をランダムに選んで、可塑的変異の分散共分散行列(**E**)の推定を行なう。具体的には、温度や日長、栄養状態をそれぞれ数段階設定し、それらをランダム化して実際の飼育条件を設定し、卵から成虫まで飼育を行なう。実体顕微鏡下で得られた成虫の翅をカメラで撮影する。これらの画像を用い、ショウジョウバエ類の翅形態の解析で伝統的に用いられてきたいくつかの翅脈のランドマークの座標を自動で抽出し、条件間での形態変異の成分を **E** とする。さらに、左右の翅の形態差の成分を **F** とし、同一な遺伝・環境条件下での発生のゆらぎのベクトルの指標とする。

2. D matrix の推定(系統間変異)

分子系統樹と種の平均形質を用いて、種間の分化における形質の共分散行列(**D**)を空いてする。ショウジョウバエ類の数百種に関する既存の翅画像を用いて、各種の翅や外部形態などの形質を測定する。また、種間の形質のゆらぎ(変異)の成分を **D** として推定する。

顔面原基のプロポーションが哺乳類系統でだけ激変した背景にある、発生上の制約

東山大毅（東京大学）

【研究目的・背景】

脊椎動物は、同一セットの顔面原基の量的な曲げ伸ばしと組合せで顔面形態を作っている。これまでに、哺乳類でない羊膜類に比較し、現生哺乳類では顔面原基の組合せが大きくシフトしていることを示した。では、この哺乳類特徴的なパターンを作った発生上の機構は何だろうか。また哺乳類に至る系統でだけ同パターンが成立した理由は何だろうか。本研究では、顔面形成期の哺乳類胚では、眼胞のサイズが他系統では顔面形成が破綻してしまうほど明らかに縮小していることにも着目し、「眼胞や脳も含め、羊膜類各系統での特有な顔面原基の形態が、発生上どこが最もダイナミックに変化することで生じるのか」「同一種内で揺らぎうる原基のサイズはどの範囲か」「例えばニワトリの眼胞を縮小するなど人為的な摂動を与えたとき、周囲の顔面原基と連動した変化によって哺乳類型に近づくのかどうか」を定量的に検証し、羊膜類顔面のプロポーションを作る法則性や進化可能性についての考察を試みる。

Riedl が発生負荷の概念で述べたように、「個体発生において先んじて生じる形質が後発の形質に影響を及ぼすために容易に変更できない」という仮説は広く知られている。もし申請者が予測するように「顔面原基のプロポーションが眼胞サイズに依存」し、かつ「他系統なら致死になるほどのサイズ変化が約1億年かけて漸進的に起こった結果として哺乳類特有の顔面が生じた」ということが示せたならば、上記の発生負荷を利用した結果として羊膜類の顔面原基の進化の方向性は説明できるのかもしれない。

【2020 年度研究計画】

野生型マウス、ニワトリと眼胞縮小ニワトリ、スッポン胚での発生過程、特に咽頭胚期～顔面形成後まででの、 μ CT スキャンを用いた定量データを取得する。マウスは当研究室で申請者が継代を続けてきた野生型マウスを用いる。ニワトリ胚は一般的なニワトリ有精卵を購入し、孵卵して入手する。またニワトリの咽頭胚期(発生ステージ 12～15 程度)に未成熟な眼胞を切除することによって眼胞縮小胚が作出できることを利用し、眼のような構造が特定の発生時期に縮小した際、周囲の原基のような構造のプロポーションにどういった影響があるのか、それらがどう相関するのかを、 μ CT スキャン(東京大学医学系研究科所蔵の島津製作所卓上型マイクロフォーカス X 線 CT システム inspeXio SMX-90CT)などを用いて比較する。その他の羊膜類の例として申請者はヤモリの顔面形成期の胚をいくつか所持しているが、安定的にデータ数を得られるモデルとして、スッポン(*Pelodiscus sinensis*)胚の購入を想定している。スッポンは養殖されており、秋頃の産卵期には相当数の有精卵を得られる。

以上の手法を用いて、眼胞の成長タイミングや各顔面原基のサイズ変化を定量化する。まずそれぞれの動物胚において眼胞や顔面原基の成長のタイミングを定量化し、発生の中の時点でどのポイントが大きく変わることにより特徴的な顔面が作られてゆくのかを明示する。続いて眼胞サイズと各顔面原基のサイズ、あるいは成長スピードなどとの相関を各動物で明らかにし、実際にどの範囲でなら顔面形態が正常なままニワトリやスッポンにおいて眼胞サイズがゆらぐのか。また眼胞を極端に縮小し哺乳類様の顔に近づいたニワトリ胚が、実際にどの程度マウスのプロポーションに近づいているのかをグラフ化し、系統特異的な顔面が胚発生のいつごろ作られるかを考察する。

RNA の構造揺らぎの大きさから進化しやすさを予想し制御する

市橋伯一（東大総合文化）

【研究目的・背景】

生物進化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、またこの理論を用いて進化しやすさや方向性を予測することはできていない。近年我々は、生物と同じように変異と自然選択により自律的に進化する分子システム（RNA の自己複製システム）を構築した。RNA の場合、遺伝型（RNA 配列）から表現型（RNA 構造）とその揺らぎまでを計算することができる。したがって、進化による配列変化が表現型とその揺らぎをどう変えたかを曖昧さなく理解することができる。さらに配列をデザインすることで、揺らぎの大きさを自由に変えることもできる。したがって、この系は揺らぎ応答理論の検証のために理想的な実験モデルとなっている。

今回の研究提案では解析対象を進化実験中に現れたすべての RNA（64 種類）へと拡大する。そしてさらに 1 歩踏み込んで、揺らぎ応答理論に基づいて進化のしやすさを予想し制御できるかを検証する。これができれば、進化はこれまでのようにただ観察するものではなく、予想と制御が可能なものとなるだろう。

【2019 年度研究結果】

前回の公募研究では、これまでに行った進化実験中に現れた一部（9 種類）の RNA の進化の方向性について、揺らぎ応答理論と一致することを見出した。

【2020 年度研究計画】

本年度は、以下の2項目を実施することで、RNA の構造揺らぎの大きさから進化しやすさを予測できるかどうかを検証する。

【項目1. 進化が進むにつれて揺らぎが小さくなるか】

揺らぎ応答理論に基づくと、進化が進むほど RNA の構造揺らぎが小さくなることが予想される。前回は9個の RNA のみであったが、今回は進化途中のすべての RNA（64種類）について構造解析を行い、この予測が正しいかを検証する。この予測が正しいければ、進化中の揺らぎの大きさのダイナミクスから、進化が終わりかけなのか、それともまだ続くのかを判断できるようになる。加えて、この結果の再現性と一般性を検証するために、これまでに私たちのグループで行った他の進化実験や、他のグループが行った RNA の進化実験のサンプルについても、進化が進むにつれて構造揺らぎが小さくなっているかを検証する。

【項目2. 揺らぎの大きさから進化しやすさ（有益変異の多さ）が予想できるか】

構造揺らぎの大きさが異なる複数の RNA について、点変異ライブラリーから短期間の進化実験を行い、次世代シーケンスで各変異の頻度を計測することにより、構造揺らぎが大きい RNA ほど進化しやすいか（＝有益変異が多く存在するのか）を検証する。この相関関係が確かめられれば、構造揺らぎの大きさから進化しやすさを予測することができるようになる。

倍数ゲノム複製機構がもたらす新規機能獲得と進化速度の両立

大林龍胆(理研)、畠山哲央(東大)

【研究目的・背景】

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、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。他方、Fisherの基本定理によれば、進化における適応度の増加率は、適応度の分散に比例する。しかし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。本研究では、この二つの概念を統合して、ゲノム倍数体の進化を実験生物学により定量的に捉え、ゲノム倍数化と進化に関する普遍的な原理の解明を目指す。

【2019 年度研究結果】

(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。

(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。

【2020 年度研究計画】

ゲノムの倍数化が進化に与える影響の実験的な検証にあたり、本研究では倍数性の多様性が大きい原核生物シアノバクテリアをモデル生物として用いる。これまでの申請者の研究では倍数ゲノムの遺伝様式が明らかになりつつある。この遺伝様式にはゲノムの複製様式が大きく影響する。倍数性生物は1細胞内に複数コピーのゲノムを保持するが、この全てが同時に複製されるわけではなく、細胞の成長に伴い一つずつ複製される。このようなゲノムの複製様式が原動力となる倍数性ゲノムの遺伝様式が実験と理論の両面からわかってきた。さらにこの複製機構により、中立選択時にはゲノム倍数体であっても、進化速度を損ねることはないことも明らかになりつつある。

一方で、このシステムではゲノム間の不均一性(heterogeneity)を保つことができないため、大野乾のようなゲノム重複による新規形質獲得はできず、倍数化のメリットがないように思える。倍数化を活かすにはゲノム間の不均一性は必須である。ではどのように不均一性はうまれるのか？これに対して、申請者は、同時に複製されるゲノムの数が揺らぎ、複数のゲノムが同時に複製されると不均一性が保たれ、ゲノム重複による新規形質の獲得が起こるのではないかという仮説を立てた。すなわち複製システム自身の揺らぎにより、選択的にゲノムを遺伝し進化速度を速くする状態と、ゲノムの不均一性を高め新規形質の獲得を促す状態がシフトする。実際に申請者の研究により、成長速度や環境変動によって、複製するゲノム数は大きく揺らぐことがわかっている。本年度はこの複製システムの揺らぎを定量的に計測し、また、人工進化実験と理論を併用することによりゲノム遺伝の選択性とゲノム間の不均一性、そして進化速度の関係を明らかにする。

酸素で生じた「ゆらぎ」が「パターン形成プログラム」へと進化した分子基盤の解明

田中幹子（東京工業大学）

【研究目的・背景】

指と指間の分離は、両生類では細胞の増殖速度の違いによって行われるが、羊膜類になると「指間細胞死」によって行われるようになる。我々は、四肢動物が「大気中の酸素」に曝されると、指間細胞死が促されるという成果を得た。さらに両生類であっても、高い酸化ストレスに曝されると指間に細胞死が誘発されることが明らかとなったが、両生類の指間細胞死は一部の細胞にとどまり、パターン形成にはほとんど影響を与えていなかった。これらの結果は、指間には元々細胞死が生じる分子的な背景は揃っており、両生類では酸化ストレスに応答した可塑的変化として生じた指間細胞死が、羊膜類では四肢のパターン形成に不可欠な発生プログラムへと進化したことを示唆していた。

そこで、本研究では、個体発生の「ゆらぎ」として生じた細胞死が、「パターン形成に不可欠な発生プログラム」へと進化した分子的背景に迫ることを目標に研究を行うこととした。本研究で扱うストレス応答反応は、ゲノム変化を伴わないタンパク質の質的変化の段階が多く含まれることから、進化を推測することが困難な現象である一方、進化の原動力の一つである環境ストレスを無視して、進化理論を語ることは不可能である。

本研究の遂行により、実際に個体発生でのゆらぎがパターン形成に組み込まれる経路が明らかになり、当該領域の目指す進化理論の構築に直結する重要な成果が得られることが期待される。

【2019 年度研究結果】

前回の公募研究では、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 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路を解明するために、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., *Dev Cell* 2019)。

【2020 年度研究計画】

本研究では、ストレスに応答した個体発生の「ゆらぎ」として生じた細胞死が、「パターン形成に不可欠な発生プログラム」へと進化した分子的背景に迫ることを目標に研究を行うこととした。2020 年度は、ニワトリ胚を題材に、ROS シグナル経路と Bmp シグナル経路が指間細胞死を促す過程で、それぞれの経路がどこで合流するのかを明らかにすることを目標として、Bmp シグナルによる ROS シグナルの活性化の検証と ROS の産生源の検証を行う。

腸内感染と運動性の揺らぎが導く細菌病原性分泌装置への進化の実験的解明

寺島浩行（名古屋大学）、金倫基（慶応義塾大学）、井原邦夫（名古屋大学）

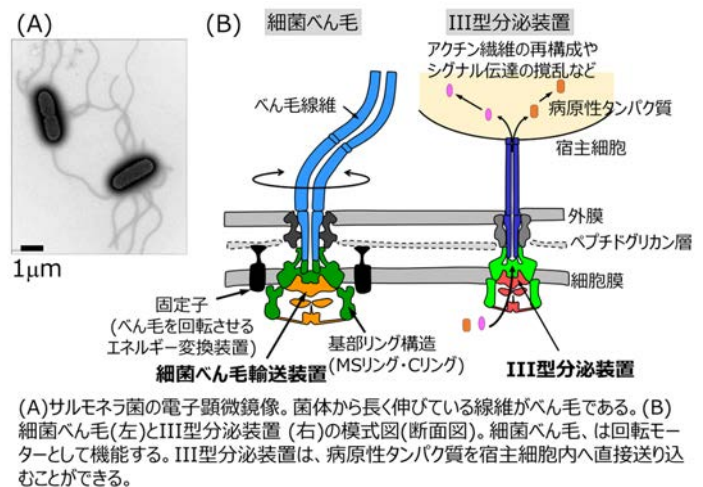
【研究目的・背景】

多くの細菌は、運動器官として「細菌べん毛」を持つ(図)。また、病原性大腸菌 O-157 やサルモネラ菌などの腸管病原性細菌は、病原性タンパク質注射装置「III 型分泌装置」を持つ(図)。両者は、自分自身の細胞外構造を構築するために構成タンパク質を細胞外へと分泌する。構造構築後、細菌べん毛はスクリューのように回転し、水中を泳いだり、粘液表面を這うために使われる。一方で III 型分泌装置は、宿主細胞表面に穴をあけ、細菌側から宿主細胞内へと注射器のように病原性タンパク質を撃ち込む。両者は、起源を同一とする細胞小器官であると考えられている。細菌べん毛の起源は非常に古いと考えられている一方で、III 型分泌装置は、哺乳類などの宿主生物の出現以降に比較的新しくべん毛から進化し、病原性分泌装置としての新規形質を獲得したものと考えられている。

べん毛と III 型分泌装置の間の基質特異性の認識の区別は、特異的シャペロンタンパク質によって規定されると考えられている。つまり、分泌装置自体の基質認識能は緩いが、特異的シャペロンの存在によって厳密に区別されるのである。ここに着想を得て、べん毛から病原性タンパク質を分泌させれば、べん毛から III 型分泌装置への進化の過程を解き明かすことができるかもしれないと考えた。進化の過程で、まず、①べん毛とは無関係なタンパク質が偶然分泌されるようになる。②分泌されたタンパク質が偶然ポジティブに生存に貢献する。③最終的に分泌に特化した器官へと進化する。しかしながら、②と③の間でどのような遺伝的な変化が III 型分泌装置への表現型進化をドライブしたのかは不明である。本研究では、「細菌べん毛によるタンパク質分泌の揺らぎとマウス腸内での選択圧が III 型分泌装置への進化を駆動する」という可能性の検証を行う。そして、共生・感染過程によってどのような進化の方向性がゲノムや生体分子マシンに与えられるのか明らかにすることを目指す。

【研究計画】

- (1). III 型分泌装置の病原性タンパク質が、べん毛を介して分泌されるようになる変異体の取得を行う。サルモネラ菌から III 型分泌装置の遺伝子群を欠損させ、さらに複数ある病原性タンパク質に対する特異的シャペロンの遺伝子を欠損させる。この変異サルモネラ菌株では、本来宿主細胞内に分泌されて初めて機能する病原性タンパク質が、べん毛を通して培養上清(すなわち腸管内)に分泌されるはずである。また、III 型分泌装置が機能しないため病原性が著しく減弱する。
- (2). マウスへの継続的感染実験によってこれらのサルモネラ菌株にマウス腸内での生存に対する選択圧を与え、病原性が元に戻るような新たな変異体の取得を行う。
- (3). どのような領域に遺伝子変異が生じたか次世代シーケンサーを用いてゲノムを網羅的に解析し、べん毛から III 型分泌装置への進化過程に必要な変化を推定する。また、得られた変異体と親株の表現型(主に、べん毛本数や運動性、病原性タンパク質の活性)にどのような違いが生じたのか明らかにする。特にべん毛本数は、本領域が対象とする「表現型揺らぎ」を示し、個体ごとに 5~10 本程度と揺らぐ。理屈上は、べん毛本数が増えるほど培養上清に分泌されるタンパク質の量は増えるため、この揺らぎが病原性に与える影響は大きいと考えられる。



【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ばらつく。この種内レベルの揺らぎから、どのように種間で分化した配偶者選好性が生じるかは、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経験やゲノム変異によってゆらぎ、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？本研究では、ごく近縁でありながら単一フェロモンへの選好性を逆転させた姉妹群であるキイロショウジョウバエとオナジショウジョウバエ、また両者のF1 雑種を用いてこの問いに答える。

【2019 年度研究結果】

キイロショウジョウバエとオナジショウジョウバエのF1 雑種は、オナジショウジョウバエと類似したフェロモン選好性を示す。またF1 雑種にはキイロショウジョウバエで開発された様々な遺伝学的ツールを種間交配で比較的簡単に導入することができる。そこで本研究ではこのF1 雑種をオナジ型フェロモン選好性のモデルとして扱い、研究を進めた。これまでに私たちはフェロモン選好性を司る神経ネットワーク(フェロモン選好ネットワーク)の機能を、キイロショウジョウバエと雑種で比較し、雑種では求愛に関する機能が正から負へ逆転していることを明らかにした。さらに2019年度の公募研究においては、GRASP法を用い、フェロモン選好ネットワークに存在する全ての神経接続の強度を、キイロショウジョウバエと雑種で比較した。その結果、雑種ではほとんどの神経接続が保存されているながら、一箇所の接続のみが失われている可能性が示された。

【2020 年度研究計画】

2019年度の成果から、「神経ネットワークにおいて揺らぎにくい経路は進化的に保存されやすく、揺らぎやすい経路の進化によって配偶者選好性の進化が実現されるのではないか」という可能性が浮上する。もしこれが正しければ、神経ネットワークの揺らぎは進化の方向性を規定しうることになる。そこで、2020年度は、この神経ネットワークの神経接続の揺らぎやすさと進化保存性が相関するのかを検証する。

まず、前年度の公募研究で明らかにした、オナジ型における神経接続の喪失を透過型電子顕微鏡レベルで確認する。さらに、オナジ型における神経接続の喪失がフェロモン選好ネットワークの機能の逆転に十分かを検証する。キイロショウジョウバエにおいてこの神経接続を構成するシナプス前細胞の神経伝達を阻害することで神経接続の喪失を再現し、フェロモン選好性ネットワークの機能が性から負へ転換するかを調べる。具体的には、熱感受性 *shibire* を用いて阻害し、光遺伝学を用いてフェロモン選好ネットワークを強制活性化することで、ネットワークの機能を定量する。

次に、神経接続の進化的保存性と揺らぎやすさが相関するかを検証するため、外的／ない適切道を与えたハエの神経接続の強度を定量し、各経路でそのばらつきを比較する。接道にはハエの配偶者選好性を変化させることが知られる交尾経験や系統差を用いる。摂動を与えたハエを解剖し、GRASP法により神経接続の強度を推定、比較する。

細胞ターンオーバーを介した表現型制約とその分子基盤の解明

大澤志津江（名古屋大学大学院理学研究科）

【研究目的・背景】

種々の内的・外的攪乱により個体発生に遅れが生じた際、その遅れを補正する頑健な(ロバストな)仕組みが存在すると考えられる。我々は最近、(1) 幼虫期のショウジョウバエが発生遅延を起こした際に、その遅延を補正する細胞集団挙動「細胞ターンオーバー」が翅原基で誘発されること、および、(2) この細胞ターンオーバーを遺伝学的に抑制すると、種々の表現型が成虫翅に出現することを見いだした。これらの事実は、細胞ターンオーバー機構の偶発的なエラーが多様な表現型を出現させ得る可能性を示唆している。本研究では、表現型制約を行うこの未知の細胞集団挙動の分子基盤とその役割を解析し、さらにはその破綻によって「表現型の揺らぎ」が引き起こされる仕組みを明らかにする。それにより、「個体の成長遅延に呼応した細胞集団挙動の局所的变化」という、表現型制約を担う新たな発生ロバストネス原理の解明を目指す。

【2020 年度研究計画】

2020 年度は、「表現型制約を担う細胞ターンオーバー」および「表現型の揺らぎ」誘発機構の解析を行う。

① 細胞ターンオーバーを翅原基に誘導する因子の探索

個体の発生遅延を感知して細胞ターンオーバーを翅原基に誘導する遺伝子群を同定するため、RNA-seq 解析を行う。具体的には、(i) 野生型コントロール、(ii) 幼虫期に顕著な発生遅延を示す *Minute* 変異体、および (iii) 複眼原基に物理的ダメージを誘導して発生遅延を引き起こした野生型 幼虫の翅原基で発現する転写産物を RNA-seq により定量的に解析し、個体の成長遅延 ((ii), (iii)) により転写が変動する遺伝子群を同定する。次に、同定された遺伝子群に対する RNAi をそれぞれ、(i) 野生型コントロールあるいは (ii) *Minute* 変異体の翅原基において特異的に発現させ、これにより細胞ターンオーバー現象に影響をきたすものを単離する *in vivo* RNAi スクリーニングを行う。

② 「表現型の揺らぎ」を制御する因子の探索

細胞ターンオーバー機構が破綻した際に、表現型の揺らぎが生じる仕組みを明らかにするため、RNA-seq 解析を行う。具体的には、(iv) ショウジョウバエ細胞死遺伝子 *Hid*, *Reaper*, および *Grim* に対する *microRNAi* を発現させて、細胞ターンオーバーを抑制した *Minute* 変異体幼虫の翅原基で発現する転写産物を RNA-seq により定量的に解析し、「個体の成長遅延に依存した細胞ターンオーバーを抑制」することによって転写が変動する遺伝子群を同定する。同定された遺伝子群に対する RNAi をそれぞれ、(ii) *Minute* 変異体、(iii) 成長遅延を起こした野生型、(iv) 成長遅延に依存した細胞ターンオーバーを抑制した *Minute* 変異体の翅原基において特異的に発現させ、これにより「表現型の揺らぎ」に影響をきたすものを単離する *in vivo* RNAi スクリーニングを行う。

仙椎―後肢ユニットの形態の制約と個体間の位置のゆらぎを生み出す分子機構の解明

鈴木孝幸（名古屋大学）

【研究目的・背景】

私たちの体は前後軸に沿って正しい位置に器官が配置されることで機能的な体として成り立っている。脊椎動物において、体の前後軸パターンは発生中に将来の脊椎骨となる体節に発現する Hox 遺伝子群によって領域分けされ、それぞれの体節レベルに特定の器官が形成されることで、秩序だった体の構造（椎式など）が完成する。近年我々は、体節の前駆組織である中軸中胚葉の後端に発現する TGF- β スーパーファミリーの分泌因子 GDF11 が、中軸中胚葉において仙椎の個性の決定を行う Hox11 遺伝子群の発現を誘導し、仙椎の位置を決定していることを見出した。興味深いことに、体の前後軸に沿った仙椎の位置は同一種内においても異なる個体が存在する。例えばマウスでは正常個体においても一番前側の仙椎の位置（腰椎と仙椎の境界）が脊椎骨 2 つ分異なる個体が出現し、シマヘビでは同一の母親から生まれた兄弟間でも仙椎の位置は最大で脊椎骨 14 個分異なっている。そこで我々は、個体間での仙椎の位置のゆらぎが生まれるメカニズムを、GDF11 による Hox11 遺伝子群の発現誘導機構の保存性（制約）と、GDF11 の発現量の個体間の違い（ゆらぎ）及び誘導された Hox11 遺伝子群の発現領域が個体間でゆらぐ仕組みを調べることで明らかにしたいと考えた。

仙椎の位置の多様性に見られるアロモルフォーゼは、種間の *Gdf11* の発現開始タイミングの違いにより、ファイロタイプ期の脊椎動物胚に見られる Hox11 遺伝子群の発現領域をまとめて変化させることによってもたらされた、アルシャラクシス的な進化過程であると言える。本研究により、椎式のアルシャラクシス的な進化を誘導しえた発生メカニズムの実体にも迫りたい。

【2020 年度研究計画】

本年度は、まず①GDF11 による Hox11 遺伝子群の発現誘導機構を解析する。ニワトリ胚、及び ES 細胞から中軸中胚葉に分化誘導させる培養細胞系を用いて GDF11 タンパク質が時空間的にどのように作用した時に、Hox11 遺伝子群の発現が誘導されるのかを生化学的に解明する。特に GDF11 の作用する濃度と時間を振った時の Hox11 遺伝子群の発現誘導を qPCR を用いて定量的に調べる（現在濃度と時間の両方に依存していると言う定量的結果が得られつつある）。またゆらぎのアウトプットとしての個体間の形態の違いの記述を行う。②Hox11 遺伝子群のうち、我々は *HoxA11* 遺伝子がニワトリ胚において最も前側の体節まで発現していることを発見した。この結果は、仙椎の前端の位置は *HoxA11* 遺伝子によって規定されている可能性を示唆している。そこで *HoxA11* 遺伝子の発現調節機構を明らかにすることにより仙椎の位置の決定機構の分子メカニズムを解明する。ニワトリ胚、マウス胚を用いて ATAC-seq を行い、*HoxA11* 遺伝子座周辺のオープンクロマチン領域を同定する。この領域に EGFP を連結させたコンストラクトを作成し、ニワトリ胚に電気穿孔法を用いて遺伝子導入し、レポーターアッセイを用いて *HoxA11* 遺伝子のエンハンサー領域を同定する。これにより種を越えて共通な又は種に固有な *HoxA11* 遺伝子の発現開始タイミングが決まるメカニズムを同定する。③*Gdf11* 標的遺伝子破壊マウス、及び個体間での仙椎の位置のゆらぎが大きいシマヘビ成体を複数解剖し、形態学的にどの器官の位置や長さに変化が生じているのかを解明する。*Gdf11* 標的遺伝子破壊マウスやシマヘビは頸椎の数は個体間で違いはないが、仙椎までの脊椎骨の数が個体によって異なっている。この時、下半身のどこかの器官が伸長、もしくは肥大化し、個体間で大きさが異なっている可能性も考えられる。この解剖学的解析より、下半身のモジュール間のどこの結合がゆるやかなのか、ジョフロア的な回答を得る。④また *Gdf11* 遺伝子の発現量に個体間でばらつきがある可能性が考えられる。そこで、体節数を揃えたニワトリ胚における中軸中胚葉を単離し、*Gdf11* 遺伝子の個体間での発現量の違い（ゆらぎ）を qPCR を用いて定量的に比較する。

①―④により *GDF11* 遺伝子の発現量や、作用メカニズム、Hox11 遺伝子群の発現調節メカニズムの解析により仙椎の位置が個体間でゆらぐ分子メカニズムの解明を行う。

実験生態系の摂動と継代による生態系の揺らぎ応答関係の解明

細田一史（大阪大学）

【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があり、異なる階層を同じ理論で記述できれば大きく前進する。

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」があるが、原理的には生態系においても、短期的な揺らぎと長期的な変化には同様の関係がありえる。この理論が生態系レベルにも適用可能なら、生物の上下の階層をまたぐ進化の理解が飛躍的に進歩するだろう。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。

本研究では、揺らぎ応答理論が生態系レベルにも適用可能かを実験的に明らかにする。これまで、実験生態系の自発的な変化について揺らぎ応答関係を調べたが、明示的な関係は観察されなかった。そこで本研究では、摂動実験と進化実験により、揺らぎ応答関係を解明する。

【2019 年度研究結果】

本研究は多種微生物を混合した実験生態系を用いて短期的な揺らぎと長期的な変化の関係を解析するものである。2019 年度は以下を行った。

- ① 2018 年度計画当初の系の構築・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。

【2020 年度研究計画】

前回の結果を踏まえ、より安定な生態系に対して、より明確な摂動を加えることとする。具体的には、12 種の微生物による実験生態系を用いて、下記 5 項目および総合解析を行う。

- (1) 安定な実験生態系の構築: 半年間 5 種以上が共存する系を含み安定な系を 12 通り準備。
- (2) 温度変化を加える(摂動実験): 12 通り各々を 32 複製して温度上昇による系の変化を計測。
- (3) 長期変化の計測(進化実験): 12 通りの生態系に関して、各々 32 複製を半年間継代する。
- (4) 揺らぎ応答関係の解析: 32 複製の揺らぎと摂動・進化実験の変化の方向の関係を解析。
- (5) 生態系内の生物の進化の解析: 代表生物として大腸菌のゲノムと表現型の変化を解析。

このうち、2020 年度には以下のように(1)～(3)を行う。

- (1) 安定(疑似安定)な実験生態系の構築: 12 種の生物種から開始して、生産者・分解者・消費者を含み多様性のある 5 種以上が半年間安定に共存する生態系を含み、ある程度安定な生態系を 12 通り選ぶ。これらは、もともとは同じ実験(複製実験)として開始したが、半年の間に異なる種が残った系である。比較のために 2 種しか残らなかった系なども含める。
- (2) 温度変化による生態系の変化を計測(摂動実験): 上記 12 通りの生態系それぞれについて、32 個に複製し、系への外力として温度変化(5℃上昇)を与え、生態系の変化を計測する。
- (3) 長期変化の計測(進化実験): 上記 10 通りの生態系それぞれについて、同じく 32 複製に関して半年程度の継代培養を行う。2 週間おきの継代をせずに密閉を続ける系や、空間構造を壊さずに静置する系も同時進行する。

※ 機械学習の最適化: 進化実験と同時進行にて、機械学習の最適化を行う。前回の成果により、単種培養の顕微鏡画像を教師データとして、深層学習の一種である YOLO を用いて各生物種の判別が実用可能になっている。しかし例えば別種隣接や高密度時などのケースにおける精度が低く、また検出の感度も高いとは言えない。教師データのパターンを増やしても精度向上が見られていないため、別の手法を用いることを検討していく。同時に、より見分けやすい種を加えるなど、生態系自体を改変していくことも行う。

発現量揺らぎ－適応系により探索する発現変動の適応－進化への影響

守屋央朗（岡山大学）

【研究目的・背景】

細胞内のタンパク質には、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 (*S. cerevisiae*) のほとんどの種類のタンパク質について、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、独自の発現量揺らぎ－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、発現量揺らぎ－適応をハイスループット化させた実験系により、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、課題3: 発現変動による適応はどのようなメカニズムにより達成されるのかを追求する。

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

【2019 年度研究結果】

前回の公募研究により、本研究の根幹となる発現量揺らぎ－適応のハイスループット解析系を完成させた。これを用い、すでに 14 条件 102 サンプルの実験データを得ている。この実験で得られた発現変動が適応的な遺伝子は、すべて発現制約が低い発現揺らぎの大きな遺伝子であった。また、これらの遺伝子は既知の適応的遺伝子に加え、適応的遺伝子として知られていない多数の遺伝子を含んでいた。これは、本研究のアプローチが生命の適応－進化についてこれまでにない新たな視点を与える可能性を示唆している。

【2020 年度研究計画】

令和2年度は、新たな環境条件(20条件程度)での実験データの取得を行い、これと前回の公募研究で取得された14条件での実験データをあわせて解析を進め、取得された遺伝子の性質から課題1と2の検証を行う。また、特定の環境下で発現の制約が弱まったり適応的に働いたりする遺伝子が見つかった場合には、その原因となる分子メカニズムの解析(課題3)を行う。前回の公募研究によりすでに複数の適応的遺伝子が取得されており、まずはこれらのメカニズム解析を進める。

自己組織化過程における細胞の揺らぎと対称性の破れ

守山裕大(青山学院大学)

【研究目的・背景】

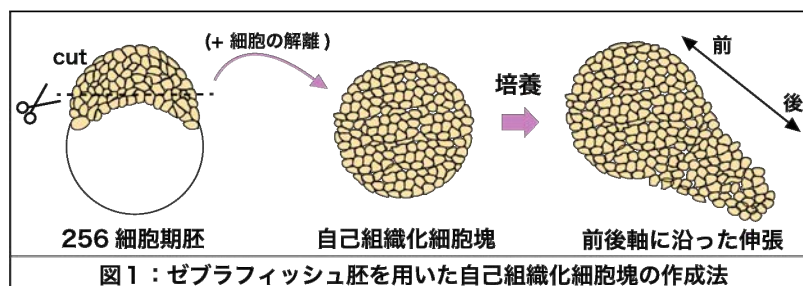
生物の特徴の一つは、胚発生から生体の形態・生理機能の維持まで、エントロピー(乱雑さ)が増加しないことである。特に胚発生においては、はじめはひとつの細胞(受精卵)であったものが細胞分裂を繰り返し、個々の細胞の運命が決定されることで種特有の体制を作り上げていく。これまでの研究から、胚発生においてはモルフォゲンの濃度勾配による位置情報の供与によって胚の極性が確立することなどが示されてきた。また、近年では胚から細胞を抽出し適切な環境下で培養すると、細胞集団が自己組織化し極性が確立することが報告されている。では、このような細胞集団の秩序立った組織化の背景にはどのようなメカニズムが存在しているのだろうか？また、そのようなメカニズムは進化の過程においてどの程度変化しうるものなのだろうか？

本研究課題ではゼブラフィッシュ胚から作成される細胞塊を用いて、自己組織化過程における細胞の振る舞いと極性の確立について、特に細胞のゆらぎや細胞/細胞集団における物性的性質に着目してその関係性を明らかにする。さらに、異種間におけるそれら性質の共通性/相違性について明らかにすることで、進化の過程において細胞の物性的性質がどの程度変化しうるか、また発生拘束となりうるかという点についても検討したい。

【2020 年度研究計画】

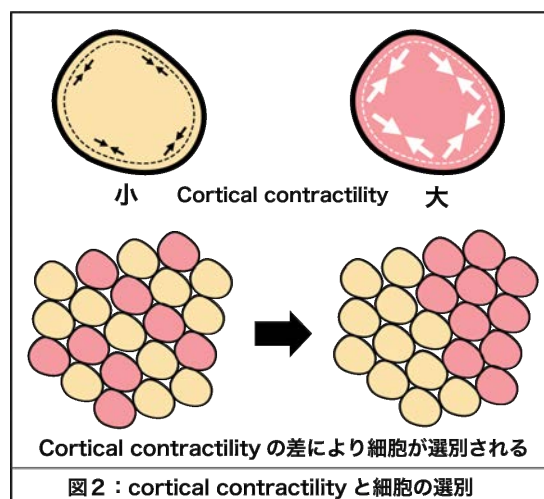
研究計画 1: 自己組織化細胞塊の作成法の確立と細胞挙動の定量的解析

ゼブラフィッシュ胚を用いた自己組織化細胞塊の作成法は近年、2つの研究グループから報告された(Trivedi *et al.*, *bioRxiv*. 2019. Schauer *et al.*, *eLife*. 2020)。どちらの研究においても、ゼブラフィッシュ 256 細胞期胚から細胞を抽出し適切な環境下で培養することで、細胞が自己組織化(自己集合化)すること、そして前後軸の極性が確立し細胞塊の伸張がみられることが報告されている(図 1)。本研究課題では、まずこれら論文において用いられている自己組織化細胞塊作出法を再現し、その手法を確立する。また、前者の論文(Trivedi *et al.*, *bioRxiv*. 2019)では自己組織化細胞塊において細胞の挙動が揺らぐことが示唆されているが、定性的な解析であり、十分なものではない。そこで、自己組織化細胞塊における単一細胞の挙動を kaede などの photoconvertible なレポーターを用いることにより定量的に追跡する。細胞に揺らぎが観察されるか、または特定のパターンがみられるかを確認する。



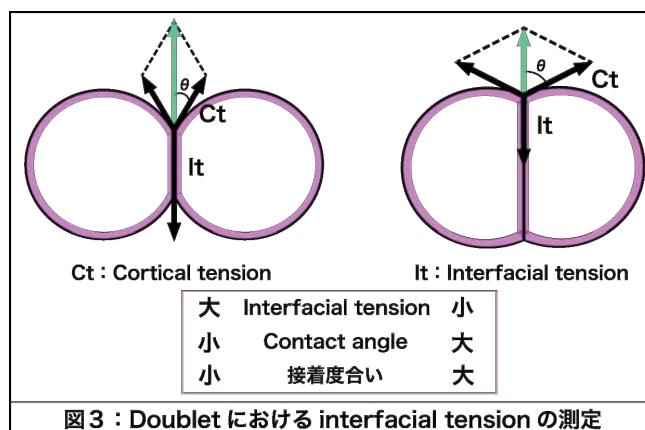
研究計画 2: 細胞の cortical contractility が自己組織化能へ及ぼす影響の評価

形態形成過程において、細胞集団内における個々の細胞の cortical contractility の差が細胞の選別 (cell sorting) に重要な役割を果たしていることが報告されている (Fagotto. *Development*. 2014, 図 2)。そこで、自己組織化細胞塊において対称性が破れる際の細胞集団の cortical contractility をトランスジェニック系システムを利用することにより定量的に解析し、細胞塊内において領域による差がみられるかを検討する。また、アクチン重合阻害剤 (cytochalasin D)、ミオシン II 阻害剤 (blebbistatin)、Rho 経路を活性化することにより cortical contractility を上昇させる試薬 (LPA) などを用いて実験的に cortical contractility を変化させ、これら細胞と正常な細胞を混合して自己組織化細胞塊を作出し、その自己組織化能を評価する。



研究計画 3: 自己組織化細胞塊における細胞間の interfacial tension の測定

上記の cortical contractility による細胞の選別に加え、ephrin-Eph 経路による細胞間の反発作用と細胞間の interfacial tension も細胞の選別に重要な役割を果たしていることが報告されている (Canty *et al.*, *Nat Commun.* 2017)。Interfacial tension は 2 つの細胞を接着させ (doublet と呼ばれる)、その境界面における角度を測定することで推定することができる (図 3)。そこで、自己組織化細胞塊の任意の場所から細胞を抽出し doublet を作成し、interfacial tension とそれに伴う物性的な性質を測定する。また、RNA-seq により自己組織化細胞塊において発現する ephrin, Eph を探索・同定し、機能解析をおこなうことによって interfacial tension が自己組織化能に及ぼす影響を評価する。



本年度は上記のような自己組織化細胞塊の物性的性質の解析を中心に進めていく。

トランスクリプトームのゆらぎがもたらす新規ニッチへの進出能力

石川麻乃(国立遺伝学研究所)

【研究目的・背景】

表現型のゆらぎは、新規ニッチへの進出を駆動／制約することで、進化を方向づけるのではないか？生物の新規ニッチへの進出は、新規形質の獲得や種分化、大進化を促進する。一方、全ての生物種が同一の新規ニッチ進出能力を持つわけではなく、そこには一定の制約と方向性がある。本研究では、この制約と方向性を生む機構として、表現型のゆらぎや方向性の違いに着目し、その分子の実態と新規ニッチ進出に果たす具体的な役割を解明する。モデルとするのは、淡水ニッチへの進出能力が異なるトゲウオ科イトヨ2種である。イトヨ *Gasterosteus aculeatus* は世界各地で海から淡水への進出に成功し、多様化を遂げている。一方、近縁種であるニホンイトヨ *G. nipponicus* は淡水域に一切進出していない。これまでの私たちの研究から、ニッチ進出能力の高いイトヨは、進出能力の低いニホンイトヨに比べて遺伝子発現のゆらぎが大きいことが示唆された。そこで、私は、『2種のトランスクリプトームのゆらぎの差が新規ニッチへの進出能力を規定している』という仮説を立てた。本研究では、このゆらぎの違いを生むゲノム領域／候補変異を同定し、それらが新規ニッチ進出に果たす具体的な役割を実験的、定量的に解析することで、この仮説を検証する。

【2020 年度研究計画】

(1) 稚魚～幼魚期におけるトランスクリプトームのゆらぎの定量的解析

イトヨとニホンイトヨのトランスクリプトームのゆらぎを定量的に計測するため、同一卵塊から得られた孵化直後の稚魚から孵化後3ヶ月の幼魚まで、異なる餌条件、温度に曝露し、RNA シークエンスを行う。稚魚は全身サンプル、幼魚は脳、鰓、肝臓サンプルを用いる。トランスクリプトームのゆらぎに、イトヨとニホンイトヨで違いがあったステージ／環境条件／組織について、淡水進出年代の異なる2つの淡水型を用いて同様にトランスクリプトームのゆらぎを定量する。

(2) トランスクリプトームのゆらぎに対する eQTL 解析

(1)で、イトヨとニホンイトヨの間にゆらぎの差があった環境条件／組織について、それらを制御するゲノム領域を同定するため、eQTL 解析を行う。所属研究室で飼育しているイトヨとニホンイトヨの F1 交雑個体から、ステージ／条件ごとに、F2 交雑個体 200 匹を作出する。これらを環境刺激に曝露し、その前後で(1)と同様に RNA シークエンスを行うと共に、各個体から DNA を抽出し、ddRAD 法により遺伝型を決定する。コントロールの各遺伝子発現量の平均値から、曝露後の各遺伝子発現量の変動値をとることで、トランスクリプトームのゆらぎを制御するゲノム領域を同定する。また、(1)でイトヨと2つの淡水型の間にトランスクリプトームのゆらぎの違いが検出された場合、これらについても同様に解析し、イトヨとニホンイトヨ間の eQTL と比較することで、淡水域進出後、ゆらぎがどのように固定したか検証する。研究室で所持している複数地域のイトヨ、ニホンイトヨ、淡水型の野生集団の全ゲノム配列を用い、同定したゲノム領域内の原因候補変異を検索する。

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。古典的な遺伝学研究により、この多様な斑紋パターンが、単一遺伝子座に座位する複対立遺伝子の組み合わせにより制御されることが明らかとされてきた。また、複対立遺伝子の一つである「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。近年、我々はナミテントウの斑紋多型制御遺伝子座に座位する斑紋プレパターン遺伝子 *pannier* (*pnr*) の同定に成功し、*pnr* が有する翅の斑紋形成の機能がテントウムシ亜科内の別の科でも保存されていることを示した。さらに、従来の「非モデル生物」であったナミテントウにおいて、トランスジェニック技術・ゲノム編集技術・RNA 干渉法といった遺伝学的な解析手法を開発してきた。

本研究では、温度という環境変化に対して斑紋の黒点サイズが揺らぐ明瞭な現象を有するテントウムシに着目する。研究材料には、種・属・科のレベルで斑紋に多型性および単型性を示す各種テントウムシを用いる。申請者が世界に先駆けてナミテントウにおいて同定した翅の黒色領域のパターンを決定する転写因子をコードする *pnr* 遺伝子に焦点を絞り、申請者がこれまでに確立してきた各種テントウムシの飼育系及び遺伝子機能解析法を活かし、斑紋プレパターン遺伝子の温度応答エンハンサーを同定する。そして、転写制御構造の安定性と黒点サイズという表現型の揺らぎとの関係を調査することで、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 年度研究結果】

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

昨年度の本研究により、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 *pnr* 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。

pnr 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 *pnr* 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関連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 *pnr* 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°C) 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。

【2020 年度研究計画】

1. ナミテントウにおける温度摂動による黒点サイズ応答の定量化解析

温度摂動による黒点サイズ応答について独自の斑紋自動解析プログラムを用いて定量解析する。

2. 温度摂動に対する *pnr* 発現の時空間的な動態変化の定量解析系の開発

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

3. ナミテントウにおける *pnr* の温度応答制御領域の同定

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

相同器官固有の形態形成ダイナミクスの標準形と発生組織内の位置価を適切に測る座標系

森下喜弘(理化学研究所)

【研究目的・背景】

本研究では、脊椎動物四肢を題材に、特にその形態形成過程の種間比較を軸に相同器官の表現型(形態)の多様性・進化の研究に取り組む。種間形態の差(多様性)は発生プロセスの違いにより生じるため、種間でそのプロセスを測って比較したい。組織変形写像は、プロセスを測る一つの基準となるだろう。我々は、これまでニワトリとツメガエル四肢発生過程において、細胞のリネージトレースデータから写像を復元し、適切な座標系(ξ系と呼ぶ)下で観測すると、両者が一致することを明らかにした。これより、種に依らない四肢固有の形態形成ダイナミクスが存在することを仮説として提案する(投稿準備中)。同時に、遺伝子発現の時空間パターンをξ系で観測することで、相同器官間で発現ダイナミクスが保存された遺伝子群と、種固有のダイナミクスを示す遺伝子群とに客観的に分類できるのではないかという着想を得た。

【2020 年度研究計画】

Spatial transcriptome データに基づく位置価の客観的な種間比較解析

発生生物学・進化学では組織内の各場所には遺伝子発現パターンにより決まる「位置価」が与えられ、細胞はそれにより分化等の運命決定を行うとされる。この課題では、「大きさ・形・(発生)時間が異なる種間で遺伝子発現の時空間パターンをどのように定量比較すればよいか?」、「「位置価」の「位置」とは、どの座標系で表した位置を選ぶのが適切か?」という問題に取り組む。Spatial transcriptome データをξ系で種間比較し、種間で保存された時空間発現を示すものを、位置価を担う遺伝子群と判断、大きく異なるものを、種間多様性を生み出しうる遺伝子群と判断し分類する。これらの情報を進化学者へフィードバックする。

動物学的『ウルトラQ』談義

倉谷 滋

午前三時、また聞いた。ペギラ、ペギラ……。

『ウルトラQ』「ペギラが来た！」より

あれは、私がまだ大阪府豊中市に住んでいた小学二年生の頃、母親が『勁文社フォノシート・ペギラが来た』なるものを買ってくれた。いわずもがな、当時のテレビ番組、『ウルトラQ』の人気怪獣「ペギラ」の物語である。他にもいくつかあったのだが、岡町商店街の本屋で散々迷ったあげく、私がそれに決めたのだ。「フォノシート」というのは要するに、「ソノシート」と一般に呼ばれる薄いぺらぺらのレコードのことなのだが、後者は正式には「朝日ソノラマ」の商標であり、会社それぞれが独自の名前を付けていたわけなのである。が、「味の素」と同じく、「ソノシート」は当時、一般名称として十分にまかり通っていた。ようするに私が手にしたのは、テレビドラマ、『ウルトラQ』の音源を編集して録音したレコードを絵本と一緒にした商品であり（今なら、「DVD付き絵本」といったところか）、当時はそういったものが『ウルトラQ』に限らず多く売られていたのである。友人のフクダ君は、朝日ソノラマの『ウルトラQ・恐怖の死闘、ナメゴン対ゴメス』を持っていて、彼の家を訪ねる度に聞かせて貰っていたのだが、私はそれがうらやましくなり、同様のものを買ってくれと、たぶん母親にねだったのだと思う。

この「フォノシート」のおかげで、「ペギラ」は私にとって最も親しい怪獣のひとつになった。フクダ君の怪獣が「ゴメス」と「ナメゴン」なら、ボクの怪獣は「ペギラ」だったのだ。「極地に棲息する、翼を持った怪獣ペギラ」と聞くと、いかにもペンギンが巨大化したもののように想像されそうだが、その顔を見るとまるで「角の生えたアザラシ」とでもいった感がある（後述）。こんなキメラであるにもかかわらず、生物学的にかなりまともな怪獣だという印象が当時はあった。あの頃、このソ

ノシートを何度聴いたことか。今でも「ペギラが来た！」の台詞のいくつかを、諳んじることができるぐらいである。とりわけ、このドラマを締めくくる石坂浩二のナレーションが印象的であった。

「どんな動物にも一つはきれいなものがあるはずですよ。もし君が怪獣におそわれたら、あわてずに、その動物がきれいなものをさがしてください」

ご丁寧なことに、このナレーションは絵本のなかに印刷までされていたのだが、今あらためて見てみると、怪獣を「動物の1カテゴリー」として扱っていることが興味深い。『ウルトラQ』全編に漂う博物学趣味が見える瞬間である。じっさいこの、「どんな動物にも一つは嫌いなものがある」という言い回しの由来は、ことによるとあの『プリニウスの博物誌』に見る「自然はどんなものにも必ず敵をつくった」ではなかろうかとも思う。プリニウスはこれを、どんなものでも殺す強力な毒を持つ想像上の怪物、バジリスクスが、「イタチの毒だけには敵わない」という解説の中に書いているのである（澁澤龍彦『プリニウスと怪物たち』に所収）。ちなみにこの怪物は、南米に棲息するイグアナの仲間、*Basiliscus* 属のトカゲのことではなく、むしろ伝説上のものに過ぎない。が、現実のバジリスク類もまた奇怪な姿を持ち、しかも水面を走って逃げるという水上走行の技を持っている（他のトカゲの仲間にも同様の能力を持つものはいる）ので、いっそ「怪獣」と呼んでもほぼ差し支えないのではないかと思っている。

話を戻すと、ペギラのドラマでいう「きれいなもの」というのは、言うまでもなく南極に生えている苔から採った「ペギミンH」なる

成分のこと。抽出したのは、失踪した恋人、野村隊員を捜索するためにやってきた南極越冬隊の紅一点、久原洋子隊員（演・田村奈巳：『ウルトラマン・怪獣墓場』『怪奇大作戦・光る通り魔』にもゲスト出演）。ペギラはこの苔が嫌いで、そのため、苔を食べて飢えを凌いでいたカラフト犬の「サブ」（『南極物語』の「タロ」と「ジロ」にあやかった名前）はペギラのそばで三年もの間生き延びることができたのである（と、ドラマでは想像された）。実験的に、久原隊員がアザラシにこのコケを喰わせてみると、とても苦しがつて死んでしまった。そこで、隊員たちは気象観測用のロケットにペギミンHを充填し、ペギラめがけて発射したのだった。

■ 科学実験の意味

そもそも久原博士のこの実験はいったい、何を証明するために行われたのだろうか。何が目的で、どのような方法でそれを証明するか、生物学的にはそれを考えることが重要だ（実際に最初に直面したのはアリストテレスだったが、その経緯についてはルロワ著『アリストテレス：生物学の創造』に詳しいので参照のこと）。今あらためて「ペギラが来た！」を見ると、そういったことがやたらと気になってしまう。研究進捗報告会でこんなレポートを聞かされると、「ちょっと待ってくれたまえ、久原君。その実験の趣旨を説明してくれないか」と、言わなきゃいけないような、そんな体質が身についてしまっているのだ。条件反射なのだ。

その実験は、ペギラのアザラシとの類縁性を前提としたうえで、「ペギミンH」のペギラに対する薬効に根拠を与えるためだったのか。あるいは、「ペギミンH」がアザラシを殺すなら、次にそれをペギラに試し、最終的にペギラとアザラシの類縁性、もしくはペギラの起原を証明しようという実験の第一段階だったのか。ドラマにおける実験の目的はもちろん、「ペギラの撃退」だった。が、それは実験の「究極的目的」に過ぎず、科学的理解は本来、近接的な仮説の検証を順次積み上げて行くことによって達成されねばならない。それが科学本来のスピリットであり作法なのである。

順を追って考えてみよう。ペギラが「ペギミンH」を嫌うことは、サブを見たペギラの反応により示唆されている。が、まだこの段階ではそれは想像であり、仮説でしかない。ま

だ証明はされていないのだ。観察データが「ペギラはペギミンHを嫌うという仮説」を生み、それが正しいかどうかを検証するためには、実際にペギラにそれを投与しなければならない。「それじゃあ話にならんだろう」と思われるかも知れないが、それが科学的手続きというもののなのである。しかし、開発された薬をいきなり人体に使うわけにはゆかないように、限られた量の「ペギミンH」をそのままペギラに与えるわけにはゆかない。越冬隊隊長のいうように「チャンスは一回しかない」のだ。そこで、実験動物を用いて「検証」することになるが、忘れてならないのは、その動物がペギラと同じ生理を示すとは限らないということ。それと同じ問題が現実社会に幾度もあったことはすでにご存じの通りだ。そのモデル実験の有効性を示すためには、形態学的、分子系統学的に、ペギラが（ヒトやペンギンなどよりもずっと）アザラシに近い動物であり、その実験に十分な妥当性があることが前もって示されねばならない。なぜとって、極端な話、「ペギラはペンギンが巨大化した怪獣である」という可能性もまだ残されているからだ。

■ 食肉類の進化史

ここはかなり微妙な問題だ。イヌもアザラシもともに哺乳綱食肉目に属する比較的近縁な動物なのだ。仮に、ペギラがアザラシ類の一種であるとしよう（その問題点については後述）。しかし、その類縁関係はイヌとどれだけ違うというのか。1980年あたりまでの古典的な系統分類では、食肉目はまず「鰭脚亜目」と「裂脚亜目」に分けられていた。このうち、裂脚亜目が、陸上に棲むイヌやネコの仲間、いわゆる食肉獣として認識している動物たちである。そして、鰭脚類は読んで字の如く、脚が鰭状に変化し、遊泳に適応したアシカやアザラシの仲間、いわゆる「海獣類」を指す（ここでは、海に棲む別の哺乳類、クジラ類やマナティ、ジュゴンなどは含まないので注意）。この分類体系は、イヌとネコの違いよりも、「普通の脚か、鰭状の脚か」という違いがより本質的、あるいは「由来の古い変化」であることとみなすことによって成り立っていたのである。そして、裂脚亜目がさらに「ネコ上科」と「イヌ上科」に分類された。比較的最近まで、このような形態学的「分類」がまかり通っていた。

それに対し、「アザラシやアシカの顔つきを見ると、ネコよりはずっとイヌに近いじゃないか」と反論されるかも知れない。確かに昔の系統樹では、イヌ上科と鰭脚亜目が比較的近接して描かれていた。が、2000年ぐらいの段階では食肉目はネコ型亜目とイヌ型亜目に分けられ、後者の中に鰭脚類が含まれるようになった。しかし、「ネコの祖先も、昔はイヌのような顔をしていたのだ」と言われたらどうする。ネコの仲間が今のような顔つきになったのは二次的な現象なのだと。食肉類というのは皆もともとイヌのような顔つきだったのだと。系統関係や分類関係は、印象だけで決めるわけにはゆかない。さらに、比較を厳密にしたところで、形態形質だけに基づいた進化の復元には限界があるのだ。まず、「ひとつの新しい形質を共有している」といっても、それが本当に祖先を同じくした特徴なのか、あるいは非常に良く似たものが偶然に獲得されたのか、区別が付かないことが多い。しばしば、見分けの付かない「他人のそら似」が出来てしまうのが進化なのである。そこで、分子遺伝学レベルの解析が必要ということになる（それが常に万能とは言えないにせよ）。

遺伝子のアミノ酸配列やゲノム情報に基づく2020年現在の理解では、かつて「鰭脚亜目」とされていた動物群の全てが確かにイヌの仲間に入る、つまり「イヌ亜目の内群」に相当することが分かっている。「指か鰭か」の違いより「顔つき」の形態的印象のほうが深い（時代の古い）系統関係をよりよく反映していたということのようだ。そうすると、現在の食肉目は、絶滅したサーベルタイガーを含む「ミアキス亜目」と、「イヌ亜目」と、「ネコ亜目」にまず分けられ、イヌ亜目の中に海獣類のすべてが入るという図式になる。ちなみに、この三分岐は分岐の順序の解像度が十分でないために取りあえずはそうなっているだけであり、サーベルタイガーはネコの祖先か、イヌの祖先か、あるいは両者の共通祖先のいずれかから分岐していたはずである。化石種の遺伝子データはないので、どうしてもよく分からない部分が残るのである。いや、分子データがあっても解像度が十分ではないという場合もまだまだ多いのである。

この図式、つまり「系統樹」は、進化的な分岐順序、あるいは食肉目の進化史を反映している。サーベル・タイガーを除外して考えるな

ら、食肉類の遠い共通祖先からまずネコの祖先とイヌの祖先が分かれ、ライオンやイエネコに加え、マングースやハイエナをも生み出して行く動物たち、つまり「原始的なネコたち」がイヌとは独自の道を歩み始めた。そして、イヌの祖先を含む系統のなかから、アシカやアザラシを産み出す系統が分かれた、というわけである。より詳しくいうと、鰭脚類はイヌ亜目の中でもイタチ類の姉妹群に相当し、さらにその次にクマが近いらしい（注）。さらに鰭脚類はまず、「アシカとセイウチを産み出すグループ」と「アザラシのグループ」に分かれた。ペギラもアザラシも、後者の仲間に相当するということになる。これが、科学的に推定されるペギラの進化史だ。ただし、じっさいに映像で確認できるペギラの形態、とりわけ長大な尾や手足の形態が、さして鰭脚類を思わせるものでないことは認めざるを得ない。

アザラシの類がアリストテレスによって最初、「奇形の四足類」と呼ばれ、肩甲骨に直接「手」が関節していると記述されたのはさすがに間違いだ（アリストテレスは、実際にアザラシを解剖したことがなかったのだろう）。アザラシの前肢にすべての部品は揃っている。しかし、やはりアザラシの上腕骨と橈骨、尺骨は相対的にかなり短い。一方で、ペギラの前肢にはそのような変形は起こっておらず、むしろ強大な翼を発達させている。おそらく、アザラシとペギラの共通祖先から、ペギラはアザラシ独特の変化が起こる前に独自の道を歩み始め、飛翔性の動物となったのだろう。ならば、ペギラは一面、アザラシの前段階とも見ることができるわけだ。

かくして、イヌとアザラシの分岐は以前考えられていたより多少新しく、互いにかなり（ネコよりずっと）近い動物だという可能性が浮上しているわけである。そして、「ウルトラQ世界」においては、このアザラシの祖先がさらにアシカの祖先と別れた後になって、アザラシとペギラの枝分かれが生じたということらしい。「ペギミンHがアザラシとペギラにとって致命的だ」という特徴は、イヌ亜目から二次的に鰭脚類が分岐した後に、それ以外の系統が耐性を獲得したものか（それにしてもその進化は、なぜ南極にいる怪獣+海獣に生じなかったのか）、それともペギラとアザラシの共通祖先だけがこの苔に弱いという特徴を進化させたのか。むしろ、

その逆のシナリオ、つまりもともとこの南極産のコケは多くの動物にとって毒性で、南極に棲息する少数の食肉類（ペギラとアザラシを含む）だけが二次的に耐性を獲得したという話の方がはるかにありそうなのに、そうはなっていない。

さもなければ、南極に生えるこの苔が、食べられないように動物を殺す毒性を二次的に獲得したのか。しかし、それではなぜイヌであるサブは死ななかったのか。たまたまそういう性質を持つ毒だったのか。つまり、そもそもなぜ、アザラシとペギラ「だけ」がこのコケを嫌うのか、それもまた問題なのである。いずれにせよ、久原隊員は実は、動物進化、もしくは植物進化においてごく最近になって獲得されたと覚しい特異的な薬理効果、つまり、非常に微妙な進化的新規性を相手にしていたことになる。「アザラシとペギラが似ている」だけではすまないのである。

アザラシが死のうが、ヒトが死のうが、「ペギミンH」がペギラにまったく効かない可能性もまだ残っている。なにしろ、イヌには効かないのだ。「しかし、ペギラはサブに怯んでいたではないか」との反論もあろう。が、「それは、サブが食ったコケではなく、その隣に生えていた別の植物の成分のせいだ」、あるいは、「単にサブが嫌いなだけだ」、さらに「一般的にイヌ（あるいは裂脚類）が嫌いなのだ」というような他の可能性もまだ十分にありうる。この成り行き次第では、「サブ」をロケットに縛り付けてペギラめがけて発射しなければならない状況もあり得たのだ。アザラシを実験台に使うということは、ペギラとアザラシが「ペギミンH」の薬効に対して、まったく同じか、あるいは極めて良く似た応答を示すことが前提となっていなければならない。しかし、それもまだ証明されていない仮説に過ぎない。

むろん、久原の目的は最初のシナリオ、「薬効の証明」に違いない。が、科学実験を成立させている仮説の中に、しばしばもうひとつの、あるいはそれ以上の、いまだ証明されざる仮説が紛れ込むことがあることが、以上の議論から分かったと思う。このドラマの実験はまさにその典型を示しているのだ。そういった科学議論の性質を認識しておくことはつねに重要であると、ここで指摘しておきたい。が、ここでドラマに戻って考えると、久原隊員の

実験デザインは、仮説の甘さを示すというより、むしろ彼女の仮説形成能力に基づいた突発的推理、いわゆる「アブダクション」に優れていたことを示すと、私は単純、かつポジティブに納得している。

■ アブダクション

そう、科学者にとってはしばしば「勘」こそが命なのだ。「論理的に筋道を立てて考える」ことは、落ち着いて手続き通りにやれば誰でもいつでもできる。しかし、不思議な物事の成り立ちが一举に頭の中で「像」を結ぶような発想は、決して誰にでもできるものではない。推理小説の中で名探偵が「そのとき、すべてのことが頭の中で一本の線に繋がった」というような体験をすることがよくあるが、それもまたこのアブダクションによるものだ。おそらく、近代遺伝学の「分離の法則」が発見されるに至った、あのメンデルの実験においても、このアブダクションがかなり効いていたであろうと私は個人的に考えている（それについては例えば、池田著『進化論の最前線』を参照）。このような能力こそがじつは科学者の本質的な資質なのであり、科学はしばしばこのような「ひらめき」によって一挙に進歩する。が、それでも実際の実験はというと、常に科学の作法に則って、手続き通りにこなしていかなければならない、ということなのだ。

これと同じような「ひらめきの仮説形成」は、じつは怪獣映画にはかなり多い。『宇宙大怪獣ドゴラ』における博士の推論もそうだ。ドゴラが漂っていた大気中に物音がするというので調べてみたら、それは蜂の大群であった。そこで、ドゴラが蜂毒に弱いのではないかと考え、これが撃退のヒントになると皆が信じた。対策本部はさっそく各種研究所の支援を募って大量のハチ毒合成に取りかかるのだが、ここでもやはりテストはおこなわれておらず、状況証拠からの推論があるだけである。

一方、『ウルトラ・シリーズ』のエピソードにアブダクションの例を探すと、もう少し頼りになりそうな話がいくつか見つかる。たとえば、「ガラダマ」において、由利子が、宇宙から飛来した小型のガラダマとダムに現れたモンスターの間に関係があり、おそらくガラダマがモンスターを電波で操っているのではな

いかと考えたことにそれを見ることができる。この由利子の推理を電波研究所の職員たちは、「よほど推理小説がお好きなんですね」と笑い飛ばすが、一方で現場にいる一の谷博士も由利子とまったく同じシナリオに辿り着いており、由利子が実は科学的アブダクションの資質に優れていたことが示される。と同時に、寺田寅彦やファールがかつて言っていたように、優れた科学者（一の谷博士）というものは、つねに子供のような自由な発想を持つものだということも暗示されている。

同様に、『ウルトラマン・侵略者を撃て』においてムラマツが、バルタン星人の弱点が火星にだけ存在する元素「スペシウム」であり（火星に豊富に存在する「スペシウム」が苦手なバルタン星人だからこそ、あえて地球を征服に来たのである）、さらにそれをウルトラマンが備えているのだらうと推理したこともアブダクションである。以上の二例はいずれも、いまだ検証されざる二つかそれ以上の仮説を含むと同時に、それらがすべて解明されることによって初めてすべての説明が過不足なく完結するという「発想の構

造」、そして、諸現象の背後に隠れている「ビッグ・ピクチャー」の存在を感知し、すべてを整合的に説明する能力の重要性を共有している。

「怪獣に弱点があり、それを何とか発見してその怪獣を撃退する」という筋立ては、『ウルトラQ』の大きな特徴となっている。が、スーパーヒーローが出てくるようになると、単に必殺技で殺されるケースが多くなり、怪獣の弱点を発見する面白味が次第に薄れてゆく。ウルトラマンの必殺技である「スペシウム光線」も、もとはと言えばバルタン星人の弱点であり、それが理解される発見の経緯こそ、『ウルトラマン』の初期エピソードに残されていた『ウルトラQ』由来の空想科学小説的「香り」のひとつなのである。『ウルトラ・シリーズ』は、今では一種の神話体系のようになってしまったが、本来『ウルトラQ』の遺伝子を受け継いだ空想科学ドラマだったのである。

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 4 No. 2

発 行 : 2020 年 7 月 7 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/>