



Evolutionary Theory for

CONSTRAINED & DIRECTIONAL DIVERSITIES

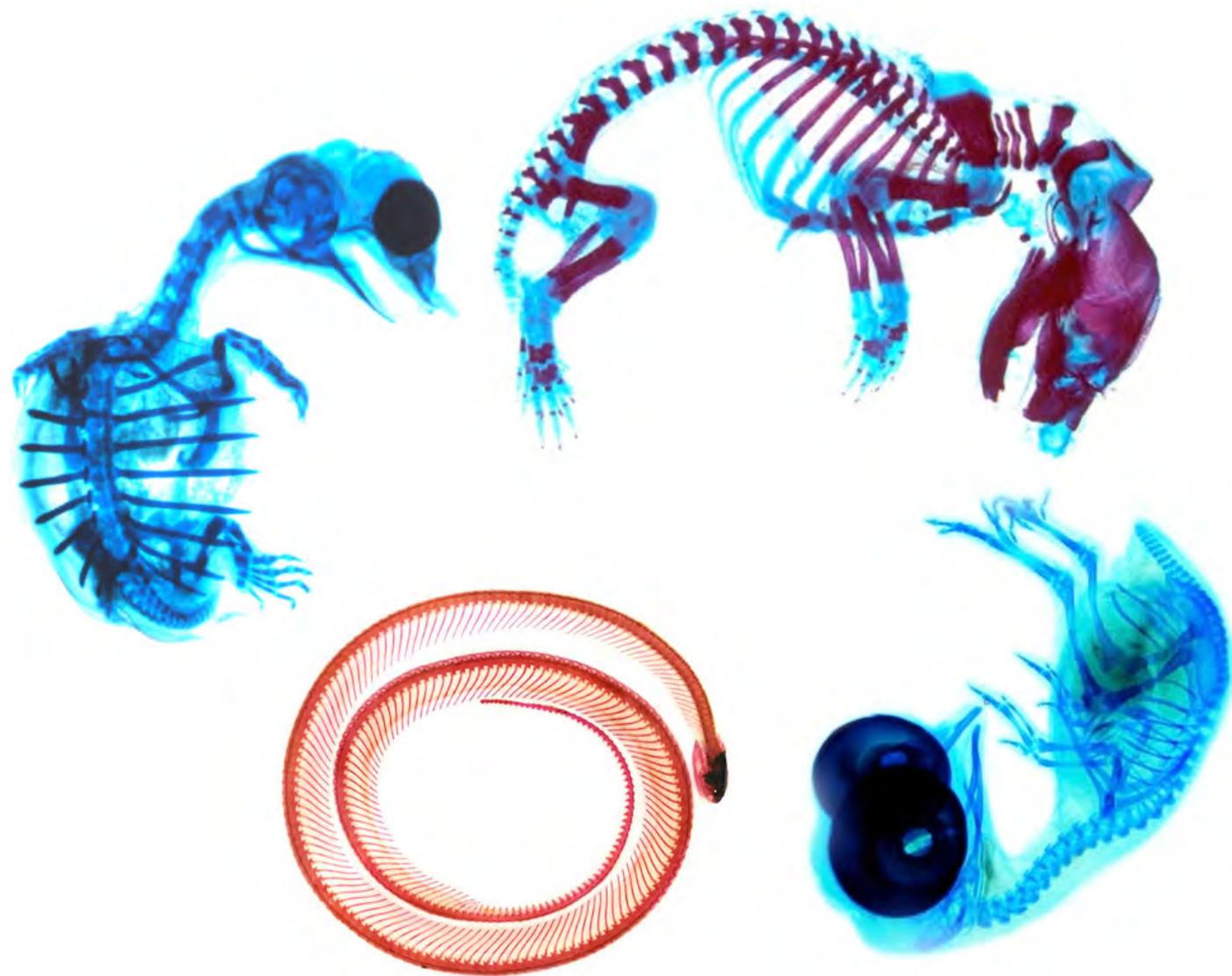
Grant-in-Aid for Scientific Research on Innovative Areas

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 4 No. 7 (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8回領域会議 第8回総括班会議 報告

表紙:スッポン胚、マウス胚、ニワトリ胚、シマヘビ成体の骨染色標本。硬骨を赤、軟骨を青で示す
(写真:名古屋大学 鈴木孝幸)

目次

新学術領域研究「進化の制約と方向性」第8回領域会議 第8回総括班会議 日程概要 1

領域代表挨拶 倉谷滋 3

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	5
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	7
脊索動物胚発生の分子発生システム揺らぎ測定と進化的保存性	入江 直樹	9
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	10
多様な選択圧下での大腸菌進化実験による揺らぎ-応答関係の定量解析	古澤 力	12
摂動実験を用いた食虫植物の捕虫葉進化機構の解明	長谷部 光泰	13

公募研究班

胸ヒレ鱗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	15
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	17
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	19
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	20
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	22
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	24
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	26
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	28
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	30
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	32
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	33
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	34
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	36
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	37

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	38
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	40
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	42
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	44
ヒト固有 NOTCH2NL 遺伝子による脳発達の揺らぎと脳進化方向性の研究	鈴木 郁夫	46
ネットイツメガエル胚発生における遺伝子制御ネットワークの揺らぎと進化	安岡 有理	47
連載エッセイ(28) 書籍のなかに我が身を置く:変質し続けるメディアの中で	倉谷 滋	49

新学術領域研究「進化の制約と方向性」
第8回領域会議 第8回総括班会議
Zoom オンライン会議 日程概要

12月14日(月曜)

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「胸ヒレ鱗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」

12:00～13:00 昼休み

座長:入江直樹

- 13:00～13:20 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」
- 13:20～13:40 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」
- 13:40～14:00 東山大毅「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」

座長:深津武馬

- 14:00～14:20 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」
- 14:20～14:40 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」
- 14:40～15:00 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」

15:00～15:20 休憩

座長:古澤力

- 15:20～15:40 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」
- 15:40～16:00 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」
- 16:00～16:20 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」
- 16:20～16:40 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」

- 16:40～17:00 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」
17:00～17:20 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」
17:20～17:40 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」
17:40～18:00 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」
- 18:15～ 懇親会

12月15日(火曜)

座長:重信秀治

- 9:00～ 9:20 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」
9:20～ 9:40 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」
9:40～10:00 鈴木郁夫「ヒト固有NOTCH2NL遺伝子による脳発達の揺らぎと脳進化方向性の研究」
10:00～10:20 安岡有理「ネッタイツメガエル胚発生における遺伝子制御ネットワークの揺らぎと進化」
- 10:20～10:25 重信秀治 大規模解析支援について
- 10:25～10:30 古澤力 理論情報交換会について
- 10:30～10:35 入江直樹 若手ワークショップについて
- 10:35～10:40 倉谷滋 終わりの挨拶
- 11:00～12:00 総括班会議

領域代表挨拶

いよいよ冬の到来を思わせる肌寒さとなりました。思えば、新型コロナウイルスに振り回されたこの一年、いろいろなことが打撃を被りましたが、転じてよかったこともいくつかあったと思います。ひとつは、リモート会議が標準になり、時間の節約になったこと。とりわけ会議ソフトの充実は、昨年までのテレビ会議のクオリティを知るものにとっては文字通り信じられないような進歩でした。同時に、これによって国内外を問わず、さまざまな公開セミナーを聴講することも可能になりました。私は自分の興味の赴くまま、専門外のセミナーをこまめに聴講するようになりましたが、たしかに分野の垣根を意識せずに好奇心を持つことが科学の根本だと再確認するようになりました。

それに関係して、福沢諭吉の『学問のすゝめ』は有名なわりに意外と読まれていないのではないかと思います。開国して新政府が樹立、一刻も早く列強に追いつかないととんでもないことになるという危急存亡の時、「むしろこれを好機として身を立てよ、そして国を変えよ」と励ましているのがこの『学問のすゝめ』なのであります。親の小言のようなタイトルのため、敬遠されているとしたら大変に勿体ないことです。冒頭の「天は人の上に人を造らず人の下に人を造らずと言えり」という有名な文は、封建時代の犠牲となり立身出世を断念せざるを得なかった父親の無念を諭吉が受け継いでいるために強調されたもので、民主主義の時代が長く続き、その疲弊が問題となりがちな現代となってはもはやなじみません。ですから、この台詞のことはもう忘れ、別のメッセージを探すべきです。じっさい、『福翁自伝』のなかには次の「兄弟問答」の一節があります。

(略)……あるとき兄が私に問いを掛けて「お前はこれから先、何になる積もりか」というから、私が答えて「左様さ、まず日本一の大金持ちになって思うさま金を使うてみようと思います」というと、兄は苦い顔をして叱ったから、私が反問して「兄さんはどうなさる」と尋ねると、真面目に「死に至るまで孝悌忠信」とただ一言で、私は「へーイ」と言ったきりそのままになった……(略)。

同様に、身分の差を固守し助長する日本人の精神土壌を痛烈に批判した次のような文章も『学問のすゝめ』にはあります。礼節を重んじ、闇雲に人を敬えなどと言っているのではなくむしろ逆なのであります。諭吉は、

常に人を恐れ人に諂(へつら)う者は次第にこれに慣れ、その面の皮鉄の如くなりて、恥ずべきを恥じず、論ずべきを論ぜず、人をさえ見ればただ腰を屈するのみ

と述べ、さらに彼はそういう輩がそこらの瘦犬と変わらないと断言するのであります。こういったところは、政治不信が慢性化したコンプライアンス社会のいまだからこそ読む価値があるのかも知れませんが、とにかく諭吉は現代日本人が聞いてもかなりラディカルです。諭吉はなによりも周囲に惑わされず、大局を見て瞬時に物事の本質を把握する能力に長け、お茶目な人物だと言うことが

よく分かります。そこには父親よりもむしろ「天衣無縫の正義の人」といった感のある母親の影を見るようです。そして、今後はむしろそこに注目すべきなのでしょう。とにかくこの国は、諭吉の望んだようにはまったくならなかった。そして、危機が再び思わぬ形でやってきた。そういうときにこそ読むべき本なのかも知れません。

倉谷 滋(理化学研究所)

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

【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ことを目指している。特に対象とするのは移動性体節筋(MMP筋と略:舌筋、四肢筋など)である。この筋は、*Lbx1* 遺伝子を特異的に発現する体節由来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。

【2020年度研究進捗状況】 ニワトリ胚における筋-骨格結合発生擾乱実験を当初計画していたが、年度前半に東京大学への立ち入りが制限された影響で、11月現在は本格的データ取得には至っていない。現時点で実験は再開できるようになり、年度末までに必要データの取得を進める。実験中断期間は、進化過程における制約と方向性の把握に向けた化石種の精密観察を進めるとともに、骨格形態比較のためにシンクロトロン放射光 X線マイクロCTで撮影したオーストラリアハイギョ胚・幼生の胸鰭におけるMMP筋発生過程の観察も行なった。これは、予期せず細胞レベルのCT撮影データが取得できたことによる展開であったが、対鰭から四肢への進化的移行における筋-骨格結合の新規獲得機序の詳細を突き止める上で重要な絞り込みにつながる。

また、MMP筋との比較のために、形態的多様化が極端に小さく、形態進化上「制約」の存在を予想させる外眼筋の発生についても、トラザメ胚の観察と組換えマウスを用いた細胞系譜解析を通じて理解を進めた。

【2021年度研究計画】 これまでに、カメの進化における胸筋のつなぎ変えを主軸とした観察により、進化におけるMMP筋-骨格結合のつなぎ変えを許す発生基盤変更の候補が絞られてきたが、この検証のために今年度から継続してニワトリ胚を用いた発生擾乱実験を進める。正常発生では移動しない位置に異所的に筋前駆細胞が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、現象の把握とその傾向の解析が鍵となる。同時に、個々の筋を取り囲む非体節由来の筋結合組織(筋周膜等)の分化パターンの可塑性、揺らぎにも注目しなくてはならない。これは外眼筋の発生についての研究でも同様であり、発生上の揺らぎと進化上の制約・方向性を理解するために、合わせて比較していく計画である。

ヤツメウナギ、ヌタウナギについても進めてきたトランスクリプトーム解析を土台として、MMP筋が発生する胚環境のトランスクリプトーム解析も進める。ここでは、*Lbx1*等、羊膜類のMMP筋で同定されてきた特定の遺伝子発現の比較による限界から離れ、非モデル生物においてバイアス

のかからない遺伝子探索を行う。これにより、分化が抑えられている状態の筋前駆細胞や周囲の間葉細胞がどのような安定性を持つ転写調節状態なのか(揺らぎ)、また、それら分化前の細胞の特性の差異は進化における形態パターンの制約・方向性に関連しているのかといった謎に挑む。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】 入江班研究分担者である上坂将弘博士、および金子班研究分担者、藤本仰一博士の研究グループメンバーである Safiye E. Sarper 博士、金子班研究協力者、香曾我部隆裕博士が、倉谷班の実験設備を使って研究を進めており、彼らと日常的に議論を行い、各班の専門を統合する理論的枠組の深化を目指している。特に若手研究者や学生どうしの議論が活発であり、そのような研究環境は新たな学術領域の創成に結びつくと期待される。

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もしやすいという、揺らぎ応答理論を定式化してきた。この結果を踏まえ、表現型進化の制約、進化しやすさという漠然としていた概念を定量的に表す理論を完成する。そのため、生物の状態を少数マクロ変数で記述し、それが遺伝的变化、環境変化とともにどう変化するかを地形で表した理論を構築する。次に、複数種の集団が安定して共存しつつ進化できるかを理解するべく、相互作用をとり入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。

【2020 年度研究進捗状況】

(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。また遺伝子制御ネットワークの適応ダイナミクスが低次元に束縛され、これを利用して新規入力にも適応できることを示した。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った。

(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ゆる分子数と変異率に関するスケーリング関係をシミュレーションにより求め、理論的に説明した。次に細胞レベルでは細胞内共生体と細胞の進化を通して、遺伝子が宿主側に移動することを求めた。多細胞生物に関しては遺伝子発現とエピジェネティクスの相互フィードバックで安定した分化が生じること、またそれがリプログラミングできるための条件を明らかにした。微生物生態系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した。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た。

(iii) 進化発生対応の理論: 発生の砂時計仮説が発生過程のロバストネスと遅い遺伝子発現制御過程の進化により生じることを明らかにした。

[藤本グループ]: 刺胞動物の器官配置の対称性で発見した種内多型に対して、その発生要因を数理モデリングで調べた。その結果、左右対称および放射対称な個体を発生させる無性生殖初期の揺らぎを特定した。また、被子植物の根端の輪郭をスケーリングすると、複数種で共通してカタナリー曲線に一致することを発見した。カタナリー曲線を生み出す力学作用に基づき、根端がカタナリー形状となる発生拘束を予測し、数理モデルと拘束を乱した変異体実験の双方から証明

した。器官形状の普遍性とその発生拘束を明らかにした。さらに、コケ植物のらせん配置について、幹細胞の成長と分裂に関する幾何学モデリングを進めた。その結果、分裂面の回転角度に応じて多様ならせん配置が生まれることを見出した。

【2021年度研究計画】

(i) 表現型進化の方向性と拘束の理論: これまでの少数次元への縮減の結果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逡巡する方向に起こるといふ進化ルシャトリエ原理の定式化を行う。また、多環境条件への適応のトレードオフないし相利関係を明らかにする。また、有性生殖下での進化に対するシミュレーションによりロバストネスの進化とメンデル法則の関係を明らかにする。

(ii) 階層進化理論: 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両者の整合性から生態系が適応進化できる方向への拘束を明らかにする。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: 発生進化の砂時計関係が生じるための条件を一般的に明らかにし、進化発生対応の理論を定式化する。刺胞動物の対称性の種内多型の発生要因に関して、数理モデルが予測した無性生殖初期の揺らぎを、タテジマイソギンチャクで実験的に検証する。さらに、無性生殖による再生に加えて胚発生も考慮した数理モデルへ拡張することで、イソギンチャクの多様な器官配置を調節する発生要因を特定する。器官配置の対称性について、その種内多型と多様性の関係を明らかにする。コケ植物のらせんおよび輪生配置の数理モデリングを進めて、3次元体制の多様性を生み出す幹細胞の成長・分裂およびその揺らぎの特徴を明らかにする。これら動植物の器官配置過程と器官集合体としての個体の成長の相互フィードバックのモデル化を継続し、動植物の体制の多様化が生じる条件を器官一個体の階層に求める。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

(i) 表現型進化の方向性と拘束の理論: 古澤班の大腸菌進化実験ならびに細胞進化シミュレーションとタイトに連携して進めている。

(ii) 階層進化理論: 市橋班の構成的進化実験、特に RNA とプロト細胞の階層進化への理論からの視点、大林班でのゲノム数と進化の関係、深津班の共生進化の拘束、細田班の生態系進化の低次元拘束に関しては理論的な方向からの議論を進めている。

(iii) 進化発生対応: 入江班、倉谷班での砂時計仮説に関するデータ、また揺らぎと進化の関係の実験結果と理論をつなぐべく共同して研究を進めている。長谷部班のコケ植物3次元体制の多様性、新美班のテントウムシ斑紋形成の揺らぎと多様性に関して、発生モデリングを進めている。さらに、動物の対称性の揺らぎと多様性に関して、倉谷班と共同して実験と数理モデリングの両方を進めている。

脊索動物胚発生の分子発生システム揺らぎ測定と進化的保存性

入江直樹(東大)、上坂将弘(理研)、内田唯(理研・東大)

【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。

【2020 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なのか。これまでの研究から、器官(ボディプラン)形成期が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)がみえてきている他、胚致死による強い負の選択圧では十分に説明できないこともわかってきた(Uchida *et al.* EvoDevo 2018)。本課題では器官形成期の表現型揺らぎの小ささが多様性の乏しさと相関することで、ボディプランが保存されてきた可能性を検討している。これまでの研究により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、そして遺伝子の使いまわしによる多様性の拘束(多面拘束)との関連がみえてきている。また、今年度は発生過程における分子シグナルの依存性が原因となり多様性が拘束されているとする説(発生負荷)を間接的に検証することを試みた。具体的には、カメ、ニワトリの脊索、そして脊索周囲にある神経管と体節を、Laser Micro Dissectionにより切り出した上でRNAseqを行い、発生負荷が存在しているとする場合に期待される遺伝子の保存性を検討した。

【2021 年度研究計画】

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を引き続き行う。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推し進める。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

古澤班、そして大規模情報解析支援班、倉谷班との共同研究を進めている。

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。

【2020 年度研究進捗状況】

- ・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った。
- ・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、同定した。
- ・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 RNA-seq 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同定し、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を実施した。
- ・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た。
- ・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した。
- ・チャバネアオカメムシその他のカメムシ類の難培養共生細菌、培養可能共生細菌、潜在的共生細菌について、培養性、資化能力、細胞形態、運動性などの比較解析を推進し、共生進化レベルとの相関解析を実施した。
- ・異なるレベルの共生能力を示すさまざまな難培養共生細菌、培養可能共生細菌、潜在的共生細菌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した。

- ・チャバネアオカメムシ本土集団の難培養共生細菌 A と、チャバネアオカメムシ沖縄集団の難培養共生細菌 B の間で、共生細菌除去、移植、交換等の実験を実施することにより、宿主—共生細菌間の共進化および特異性の機構解析を行った。
- ・チャバネアオカメムシ本土系統と沖縄系統の交配実験、共生細菌 A および B の定着率を指標にした RAD-seq QTL 解析により、共生特異性に関わる宿主側遺伝子の探索を行った。

【2021年度研究計画】

- ・チャバネアオカメムシその他のカメムシ類で同定された培養可能共生細菌について、比較ゲノム、野外宿主集団における分布と多様性、自然環境中における分布、存在様式、多様性、宿主との共進化、共生細菌間の相互作用、宿主への適応度効果、機能解析、共生、感染、伝達の生理機構、分子機構、自然環境中における進化生態ダイナミクスなどについて解明した研究成果を取りまとめて論文発表する。
- ・チャバネアオカメムシその他のカメムシ類において同定された環境中の潜在的共生細菌群について、比較ゲノム、多種宿主集団における分布と多様性、自然環境中における分布、存在様式、多様性、共存細菌間の相互作用、多種昆虫への適応度効果、機能解析、共生、感染、伝達の生理機構、分子機構、自然環境中における進化生態ダイナミクスなどについて解明した研究成果を取りまとめて論文発表する。
- ・これら様々な進化段階にある難培養共生細菌、培養可能共生細菌、潜在的共生細菌を感染させた宿主昆虫について、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して、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った研究成果をとりまとめて論文発表する。
- ・チャバネアオカメムシ本土集団の難培養共生細菌 A と、チャバネアオカメムシ沖縄集団の難培養共生細菌 B の間における宿主—共生細菌間の特異性に関わる共生細菌側の遺伝子、宿主昆虫側の遺伝子をそれぞれ同定した研究成果を取りまとめて論文発表する。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

- ・古澤班の若本祐一との共同研究により、チャバネアオカメムシの培養可能共生細菌 C, D, E, F の微細流路培養システムを用いた宿主体外培養系の構築、共生器官構造を模した培養系の開発、少数細胞レベルの増殖モニタリングや競争実験などを実施した。
- ・総括班支援により、潜在的共生細菌を人工接種したカメムシの共生部位における網羅的遺伝子発現解析のための RNAseq 解析ならびに共生特異性に関わる宿主側遺伝子の探索を目的とした RADseq 解析を実施した。

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。

【2020 年度研究進捗状況】

(1) 複数薬剤に対する耐性能の定量に基づく適応度地形の推定

ある一つの薬剤を添加した環境での大腸菌進化実験の過程において、同時に他の複数の薬剤に対する耐性能を定量することにより、高次元の耐性能空間における軌跡として進化ダイナミクスを記述することが出来る。そこで、8次元の耐性能空間において、異なる初期条件から始めた進化実験の軌跡を定量し、それに基づき適応度地形の推定を行った。結果として、複数のピークを持つ適応度地形が存在することが明らかとなり、そうした複数ピークを持つ地形の遺伝的背景を同定することに成功した。

(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、発現揺らぎと環境応答、そして進化過程における発現変化の度合いには正の相関があることが示された。

【2021 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

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) 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。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

金子班、入江班、市橋班、大林班、細田班、新美班との共同研究が進行中である。

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)

【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。

【2020 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っている。鳴川を中心として、フクロユキノシタの袋型捕虫葉形成に関わる遺伝子候補として、細胞分裂制御に関わるサイトカニン量を調整するサイトカニンオキシダーゼ/デヒドロゲナーゼが見つかった。捕虫葉形成には、葉原基に凹みのできるものが重要であることが、これまでの発生過程の観察から推定されていたが、in situ hybridizationの結果から、サイトカニンオキシダーゼ/デヒドロゲナーゼは凹み形成部で発現しており、捕虫葉形成に関わる可能性が高いと推定される。サイトカニンオキシダーゼ/デヒドロゲナーゼ遺伝子の機能解析のために、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ため、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ったが、サイレンシングを引き起こすことができなかった。そこで、アグロバクテリウムを介した形質転換系の確立を重点的に進めた結果、GFP遺伝子を導入した形質転換フクロユキノシタの作製に成功した。現在、CRISPR/Cas9法による遺伝子破壊系の確立試験を行っている。外生サイトカニンによる影響を調べるため、ラノリンペーストによる局所投与法を確立した。また、サイトカニンと、サイトカニンと共同的に機能するオーキシンの組織内分布を調べるために、それぞれのセンサーを組み込んだ形質転換体作製を開始した。

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している。安定的にカルス状組織から不定芽を形成させることに成功したが、形成率が低く、今後の方針を検討している。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が進行中であり、近縁のハエトリソウとの比較解析から食虫性関連遺伝子を探索する予定である。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、GFPを発現する形質転換モウセンゴケの作出に成功した。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進めている。Palfalviを中心に、ハエトリソウ、ムジナモ、コモウセンゴケゲノム解読と比較から、食虫性関連遺伝子の進化について議論した論文を発表した(Palfalvi et al. 2020 Curr. Biol.)。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

リプトーム比較解析結果を論文を執筆中であり、年度内に投稿予定である。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発表した(Suda et al. 2020 Nature Plants)。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進めている。

[課題2. 環境摂動による遺伝子発現応答の解析]Palfalviを中心としてフクロユキノシタに環境摂動を与え、336サンプルのトランスクリプトーム比較解析を完了した。食虫性進化と遺伝子発現ゆらぎとの関連を解析中である。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、論文投稿し、マイナーレビジョン中である。

[課題3. 温度感受に関わるクロマチン動態の解析]Palfalviを中心に食虫性関連遺伝子が共通のエピジェネティック制御を獲得して進化した可能性を検証ため、single cell ATAC-seq解析の条件設定を行い、年度内にデータを取得予定であり、食虫性遺伝子発現とクロマチン状態の関連を調べている。

Palfalvi, G., Hackl, T., Terhoeven, N., Shibata, T.F., Nishiyama, T., Ankenbrand, M., Becker, D., Förster, F., Freund, M., Iosip, A., et al. (2020). Genomes of the Venus Flytrap and Close Relatives Unveil the Roots of Plant Carnivory. *Current Biology* 30, 2312-2320.

Suda, H., Mano, H., Toyota, M., Fukushima, K., Mimura, T., Tsutsui, I., Hedrich, R., Tamada, Y., and Hasebe, M. (2020). Calcium dynamics during trap closure visualized in transgenic Venus flytrap. *Nature Plants* 6, 1219-1224.

【2021年度研究計画】

[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成機構と植物ホルモンとの関連について論文投稿する。

[課題2. 環境摂動による遺伝子発現応答の解析][課題3. 温度感受に関わるクロマチン動態の解析]課題1のsingle cell transcriptome解析から得られたデータ、改良したゲノムデータ、single cell ATAC-seq解析結果と併せて、食虫性関連遺伝子と遺伝子発現揺らぎについて論文投稿する。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

Single cell RNAseq、single cell ATAC-seq、大量RNAseq解析を総括班支援班、発現揺らぎについての理論解析を古澤班と共同で進めている。

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】

硬骨魚の胸ヒレは脊椎動物の器官の中でもっとも多様性に富んだ構造の一つで、器官の発生や機能を形態進化に結びつける非常に良いモデルとなる。その胸ヒレの先端部骨格である鰭条は、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ために、種ごとに多様な形態も示す。例えば、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ともなる)を持つ。

申請者は最近、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年度研究進捗状況】

鰭条本数ゆらぎと特殊な後方形態(遊離軟条)の関係を調べるため、本年度はこれまでに shh 経路や hox 遺伝子発現をレポートするゼブラフィッシュ TG 系統などの整備と、主要な条鰭類系統の胸ヒレ骨格形態の観察、およびカナガシラ卵などのサンプリングを行った。

まず、shh 経路と鰭条本数のゆらぎの関係を調べるため、shh 経路応答細胞および 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、取得した。特に、真骨魚特異的ゲノム重複により生じた二つの shh 遺伝子(shha と shhb)がゼブラフィッシュでは両方維持されている。それらの knock-in TG を作製し観察したところ、ヒレの種類(有対ヒレと正中ヒレ)や発現時期で異なる発現パターンを見せ、機能分化している様子が見てとれた。現在、それら TG 系統を使った、時期特異的な shh 経路の摂動実験を行うために準備中である。

次に、これまで十分に記載されてこなかった真骨魚胸ヒレ骨格の進化傾向を調べるため、主要な分類群の魚種を対象に胸ヒレ骨格パターンの解析を行った。浅虫水族館のご協力のもと、これまでに15種以上で骨格標本を作製、その骨パターンを観察した(図1)。その結果、条鰭類の胸ヒレ骨格の進化的変遷として、胸ヒレの基部担鰭骨数の安定化と、先端担鰭骨の鰭条との対応関係の確立、さらにカナガシラ独自の形態の獲得として肩甲骨と烏口骨の分離とそれによる担鰭骨の擬鎖骨への隣接化が起こっていることが分かった。現在これらの内容をまとめ、論文投稿の準備中である。

また、遊離軟条形成の解析のため、カナガシラ卵の取得も試みている。昨年冬から飼育環境下におかれた個体、および繁殖期に採取されたカナガシラ成魚個体から人工授精を試みた。残念ながら飼育個体は十分に成熟しておらず人工授精が出来なかったが、野外採取個体からの人工

授精に成功し、受精卵が得られた。現在、固定した仔魚サンプルを骨染色し、ヒレの発生段階の形態の観察を行っている。

【2021年度研究計画】

- (1) 鰭条形成における shh シグナル経路の解析: 作製した shh 経路をトレースする TG を用いて、shh シグナルや環境要因の摂動実験を行う。これにより、ゆらぎのもととなる発生現象を特定するとともに、環境要因と shh 経路の関係を明らかにする。
- (2) 鰭条-DR 接続様式の進化傾向の解析: 上記胸ヒレ骨格の形態進化の遺伝的要因として、hox 遺伝子に注目している。現在、胸ヒレに発現する hox 遺伝子の knock-in TG を作製しており、来年度はそれらを用いて hox 遺伝子変異による胸ヒレの形態変化と進化的変遷過程の関係を解析する予定である。
- (3) カナガシラの胸ヒレ骨格の区画化の解析: 再度、飼育個体および採取個体から、人工授精をおこない、受精卵の取得を試みる。得られたカナガシラ胚・仔魚を用いて、胸ヒレ形成過程の記載と、shh 経路、区画化遺伝子の発現を記載する。また、shh 経路に関しては、亢進剤や阻害剤を用いた摂動実験を行い、遊離軟条形成における shh 経路の役割を解析する。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

総括班支援により、カナガシラのヒレ形成における RNA-seq 解析の計画を進めている。現在、様々な臓器から抽出した mRNA の解析による RNA カタログの作成と、カナガシラゲノムの解析を行っている。

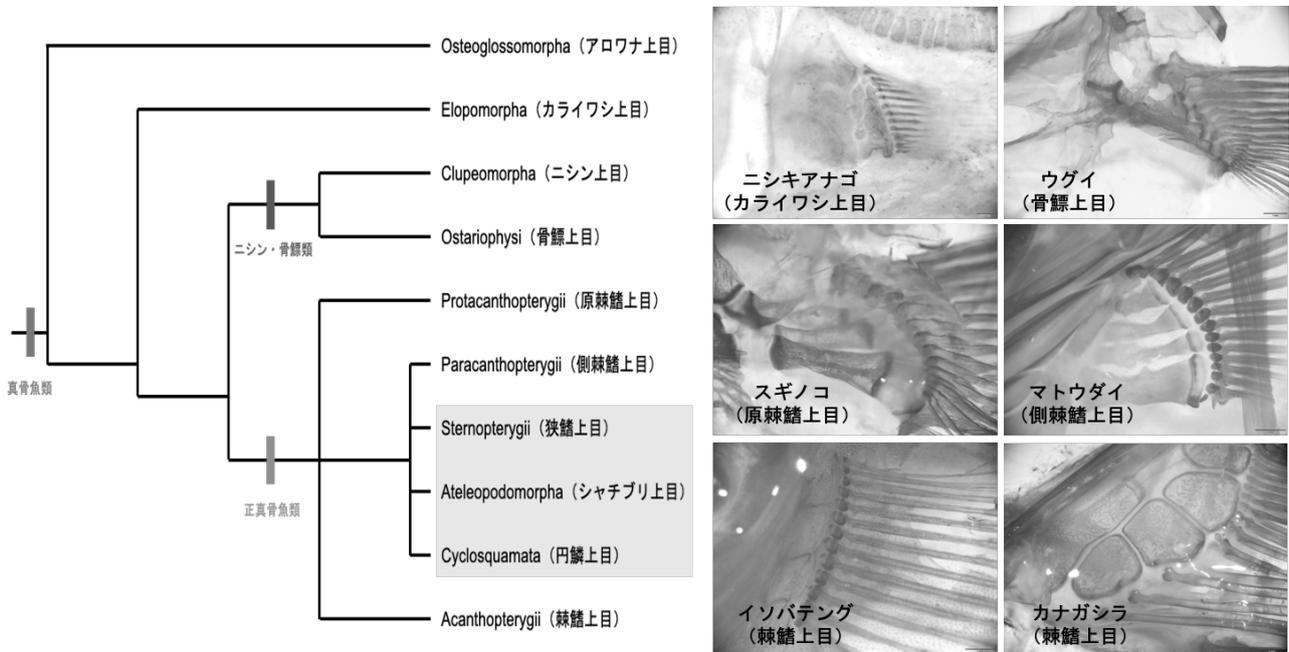


図 1 正真骨魚の系統関係と胸ヒレ骨格を観察した結果の一部（左の系統関係の図の灰色部分は、サンプル調達が難しく解析が難しい魚種）。

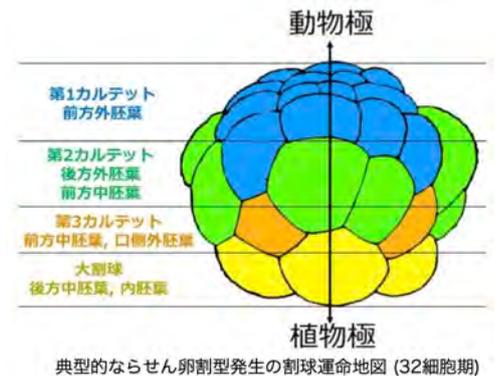
軟体動物割球特異化機構を題材とした発生システム浮動の制約と方向性の解明

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。

【2020 年度研究進捗状況】

(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。今年度はカサガイ類クサイロアオガイを用いて 16・32 細胞期を用いて安定したフローを作ることを目指す。これまでに、卵割のタイミングによる選抜や、メタノール固定などの工夫を行い、発生段階をできる限り同調させた上で RNA を安定して抽出する方法を確立した。この手法を用いて、まず 1 ペアの父母から 16・32 細胞期それぞれ 5 個体 × 2 (technical replicates) より RNA 抽出を行い、その後の行程に進めている。このフローが問題ないことが確認出来れば、今年度中に残り 2 ペアの解析も完了させたい。

(2) 割球特異化システムの冗長性の実験的検証

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。必要に応じて過剰発現、および複数遺伝子を同時に機能阻害することも行う。これらの実験により、割球特異化システムの冗長性や頑健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。今年度の進捗は以下の通りである。

(1) 各割球系列で発現する転写因子群のうち orphan 転写因子について、mRNA 注入による過剰発現実験を行い、表現型を観察した。この結果、過剰発現胚では各 orphan 転写因子群の発現領域 (e.g. LiPRD; 1q2, PRD-VL: Mac) に対応するマーカー遺伝子群の発現が拡大 (e.g. 1q2 マーカー Otx, Mac マーカー GATA4/5/6) することが観察された。これと以前までの結果と合わせ、割球系列特異的に発現する Orphan 転写因子群 9 つのうちのほぼ全てが実際に割球運命特異化の機能を持っていることが明らかになった。

(2) 発現する転写因子の数が少なく、冗長性や頑健性が比較的少ないと予想される 16 細胞期に 2q もしくは Mac の系列で発現する転写因子群を中心に、モルフォリノオリゴ (MO) の注入による KD 実験を行なっている。現在までのところ、2q 系列で発現する SPILE-B の KD 胚では、2q 系列マーカーの発現が消失するといった表現型が観察できている。一方で、大割球系列で発現する転写因子の KD では、予想に反して現在まで特異的な表現型が観察できていないが、これが冗長性によるものなのか、KD の不完全性によるものなのかは現在検討中である。

【2021 年度研究計画】

クサイロアオガイの 1 個体ずつのトランスクリプトームデータが得られ次第、遺伝子発現レベルの解析を行い、各転写因子の発現の揺らぎやすさ、およびそこにどのような傾向があるかについて明らかにしていく。併せて、他の腹足類での解析も進めていく。また、割球特異化システムの冗長性の検証については、特に Mac 系列を中心に二重 KD 実験や MO 注入胚のトランスクリプトームなどを行い、実際に冗長性が存在しているのか、もし存在しているのであればどのように補償されているのかなどについて明らかにしていく予定である。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

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い。冗長性や、進化の方向性の理解には、使用する種での遺伝子数の把握が必要である。そこで、本領域の大規模解析支援、並びに基礎生物学研究所の生物機能情報分析室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ている。前年度までに 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。この状況を改善するため、より長鎖の DNA を抽出し、Chromium システムおよび Nanopore を用いたシーケンスを行っている。これによりつながりの良い scaffold が構築出来れば、遺伝子モデル構築および転写因子レパートリーの把握およびその進化史の解明へと進んでいきたい。

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のように進化するのか。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すると予想される。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。

【2020年度研究進捗状況】

(1) 野生集団における自家不和合性遺伝子座の多型解析:

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*) を用いて、野生集団における *S* 遺伝子座の塩基配列解析を進めている。昨年度、リシークエンスデータを用いて 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、同一の特異性をもつとされる *S* 対立遺伝子内にも非同義置換が見られることを見出していた。本年度は、野生集団からさらに個体のサンプリングを行ない、*S* 対立遺伝子内の多型解析を進めた。加えて、ハクサンハタザオとは異なる配偶体型自家不和合性システムをもつナス科ペチュニア属植物 (*Petunia axillaris*) についても、Nanopore を用いたトランスクリプトーム解析等により野生集団内で分離する変異の探索を進めている。

(2) 形質転換実験による特異性の進化の再現

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実験を進めている。現在、花粉管伸長などの自家不和合性の表現型を確認と並行して、タンパク質相互作用を効率的に定量する系の開発を進めている。

【2021年度研究計画】

野生集団でみつけた変異が自家不和合性表現型・タンパク質相互作用に与える影響を測定することで、*S* 対立遺伝子の特異性ゆらぎを定量し、すでに作成している数理モデルへフィードバックする。また、野生集団のデータが得られつつあるナス科配偶体型自家不和合性システムについてもモデルの検討を行ない、一般的な自家不和合性進化モデルの構築を目指す。

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、斉藤京太(千葉大学)、坪井助仁(ルンド大学)

【研究目的・背景】

われわれは、生命現象のさまざまな階層で表現型のばらつき(不均一性)を認識することができる。比較的大きなスケールであれば、ある科内の属間での形態的変異や、ある属内での種間の形態的変異がある(=大進化的差異)。少しスケールを落とすと、ある種内の集団間での形態的変異(=小進化的差異)や、ある集団内での個体間の遺伝的な変異(=standing variation/遺伝的多型)を認識することができる。さらに、エピ遺伝的な変異にも目をやると、同じ遺伝子型内での環境による表現型変異(=表現型可塑性)や、遺伝でも環境でも説明のできない発生上のランダムな表現型変異(=発生ゆらぎ)がある。一方で、ふつう、各形質の表現型は別の形質の表現型と相互作用しながら適応度に影響を与えるため、「適応的な表現型の組み合わせ」を達成するような遺伝的なシステム(たとえば、遺伝子ネットワークや多面発現効果)が進化の過程で獲得されることが知られている。このような選択圧は、相関選択と呼ばれる。また、ひとたび表現型相関が達成されると、取りうる表現型の組み合わせが制限され、結果として、突然変異の方向性や大進化の方向性などのさまざまな表現型変化の方向性を制約する可能性が、近年指摘されるようになってきた。多次元の形質空間上では、standing variation のベクトル(方向性)と突然変異のベクトル、大進化のベクトルとが類似した方向を向くことも実証的に示されつつある。一方で、あらゆる階層の表現型のばらつきを統合するという観点からいえば、上述のベクトルと、発生ゆらぎのベクトル、表現型可塑性のベクトル、小進化のベクトルなどがどのような関係にあるのかが検証されなければならない。そこで本研究では、ショウジョウバエ類を対象に、各階層において、多次元形質空間に表現型のばらつきのベクトル、すなわち、発生ゆらぎ(f_{\max})と表現型可塑性変異(e_{\max})、standing genetic variation (g_{\max})、集団間の小進化的多様性(p_{\max})、大進化的多様性(d_{\max})を推定するとともに、各階層の変異のベクトルの整列性を検証することを目的とする。

【2020 年度研究進捗状況】

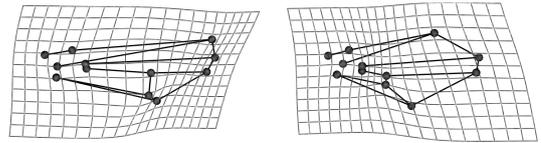
本年度は、ショウジョウバエ類の翅の 12 点の相同なランドマークを形質、また各ランドマークの x 座標と y 座標を表現型値として解析を行なった。まず、試験的なデータを用いて d_{\max} (多次元形質空間における形質変異の第一主成分)を推定した。同様に、ひとつの集団に由来するキハダショウジョウバエの多数の単雌系統を用いて g_{\max} を推定した。さらに、ひとつの系統をさまざまな飼育条件で飼育することで e_{\max} を推定した。



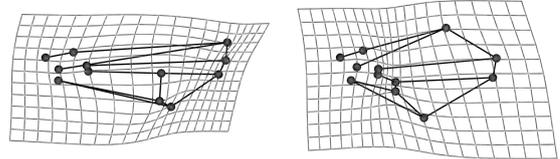
また、 g_{max} を推定する実験において左右両方の翅の解析を行なうことで左右の表現型の差異から f_{max} の推定を試みた。

データ量はまだ充分ではないものの、現時点で得られているベクトルを比較すると、 e_{max} と g_{max} 、 d_{max} のなす角はいずれの組み合わせでも $10^{\sim}15^{\circ}$ 程度であり、よく似た方向を向いていることがわかった。

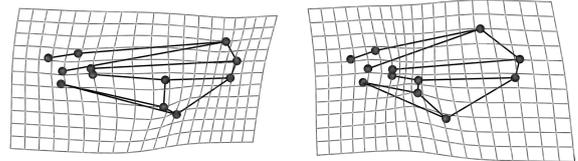
d_{max}
種間バラツキ



g_{max}
種内バラツキ



e_{max}
可塑的バラツキ



【2021年度研究計画】

今後は、全国の複数の地点でサンプリングを行なうことで、小進化のベクトル

(p_{max})をするとともに、複数種あるいは複数系統を用いて解析することで各ベクトルを高い精度で推定する。これらのデータを用いて、下位階層から上位階層のベクトルの予測性を検証する。また、理論的に可能なさまざまな翅形態と実在する翅形態を用いた流体力学的解析を通じて各ベクトルの相関性の背景にある相関選択を生み出す適応度地形を推定するとともに、実際に起きた進化の過程やその結果としての生じる階層間でのベクトルの相関の成立機構を議論する。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

現在行なっているランドマークベースの解析は、同一の(=相同な)ランドマークをもつ生物にしか拡張することはできない。実践的には、属間の比較を超えるような高次の表現型変異の比較において、ランドマークベースの解析は無力である。そこで、領域内の支援を受け、トランスクリプトームベースの解析を計画している。すなわち、各相同遺伝子を形質、各遺伝子の発現量を表現型として、多階層・超多次元で表現型分散のベクトルを推定し、各ベクトルの方向性を比較するための方法論の確率を目指している。その第一歩として、遺伝子発現プロファイルに関する e_{max} と g_{max} を行ない、その整列性を検証する。

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。あるいは、他の羊膜類でも実は類似したシフトが起こっている可能性はないだろうか。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。

【2020 年度研究進捗状況】

当該年度は、医学系研究科にある μ CT スキャンを用い、マウスとニワトリの間での頭部発生の定量化を中心におこなう予定であった。しかし、コロナ渦も相まって臨床研究棟にある CT の使用回数も限られ、この計画に関しては思うようにデータの取得が進んでいない状況にある。

代わりに本年度では、ある程度哺乳類に類似した頭部形態を持つワニ類に関し、その発生過程を調べた。上記の「哺乳類系統での顔面原基のシフト」は、哺乳類特有の顔面形態を生み出した。例えば、多くの羊膜類や四肢動物では、前上顎骨が鼻の先を覆うように被さって口先を構成するのに対して、哺乳類は鼻の外腹側の骨(septomaxilla)を使って口先をつくる。だからこそ口先に鼻の孔が開いているだけのいかにも爬虫類的な顔面から、明確な可動式の鼻部をもつ哺乳類顔が生まれる。これに伴い口先を支配する末梢神経も哺乳類と他の四肢動物とでは入れ替わっているわけだが、実は骨格や神経に関してワニの成体の口先も(それほど極端ではないものの)哺乳類と類似した位置関係にあるのだ。この哺乳類と収斂的な顔面形態が、哺乳類同様の発生過程から生じるのかどうかを確認するため、武智正樹博士(東京医科歯科大)と平沢達矢博士(東京大)が過去に作成したミシシッピワニ(*Alligator mississippiensis*)胚試料を用い、頭部構造の発生過程を追った。結果、口先の骨化が始まるまでの頭部の神経や骨格の位置関係はニワトリやトカゲと極めて類似しており、ワニの口先の骨は祖先的な前上顎骨であることが示唆された。つまり、この動物ではどうやら顔面原基の組み方に関して哺乳類のようなシフトは起こさないまま、成体において哺乳類様の骨と神経の位置関係をつくっている可能性がある。

【2021 年度研究計画】

μ CT スキャンに関しては徐々に使用できるようになってきていることから、引き続き、哺乳類とニワトリの発生過程を中心に、発生の中の時点でどの部位が最も変更されることにより系統特有の形態が作られるのかを追う。

またワニ形態に関しても、より後期の発生段階の胚を用いて組織切片の作成と三次元構築を施し、典型的な羊膜類様の配置からどのような過程を経て哺乳類様の形態に達するのかを知る予定である。

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)、前田祐太郎(東大総合文化)、上浦六十(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。これができるれば、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。

【2020 年度研究進捗状況】

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。2020 年度では、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した。その結果、確かに進化が進むにつれて揺らぎが減少する傾向があることを見出した。この結果から、揺らぎが大きい方が進化可能性が高い(=適応的な変異が多い)のではないかと、という仮説を立てた。つまり、揺らぎが大きいほど改良可能な部分構造が多く、ゆえにそこを良くするための適応的な変異が見つかりやすいということである。この仮説は、揺らぎの大きな RNA と揺らぎの小さな RNA について適応的な変異の頻度を比較することで実験的に検証が可能である。実際に我々は、進化途中に現れたいくつかの RNA について、揺らぎの大きさと適応的な変異の頻度(進化可能性の大きさ)に相関があることを見出した。さらに現在、進化途中に現れた RNA ではなく、人為的に揺らぎの大きさを変えた約 10 種類の RNA を構築し、それらが持つ適応変異の頻度についての測定を行っている。

また上記の実験とは独立に、純粋な理論的な RNA のモデルをつかった場合にも、揺らぎと進化可能性に関するかの検証も行っている。過去に Fontana と Schuster は、計算機上で RNA の構造の進化シミュレーションを行い、目的構造に至るまでに RNA 構造がどのような変遷をたどるのかを詳細に記述している (Fontana & Schuster, Science 1998, 280, 1451-1455)。しかし、この研究では RNA の構造揺らぎは考慮されていなかった。そこで現在、RNA の構造揺らぎを考慮したシミュレーションを行い、揺らぎの存在によって進化のプラセスがどう変わるのか、そして進化途中の

RNA の揺らぎはどのような変遷をたどるのか、を明らかにしようとしている。

【2021年度研究計画】

引き続き、人為的に揺らぎを変えた RNA の適応変異の分布を解析する。この結果から、揺らぎの大きさと進化可能性の大きさについての関係性を検証する。さらに RNA のシミュレーション実験から、実験で見られた進化中の揺らぎが減少していく傾向があること、さらに時々急増大すること、が単純な理論モデルでも見られるのか、見られるならばどんな条件で起こる現象なのかを明らかにする。これらの解析により、揺らぎ応答理論が RNA の構造進化に適応可能かどうかを実験と理論の両方から検証できる。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

昨年度行った適応変異分布の解析(次世代シーケンスを利用)では古澤班との共同研究で行った。今年度実施の解析は総括班の大規模シーケンス支援で行っていただいている。大変感謝しております。

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(東工大)、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。

【2020年度研究進捗状況】

(1) 複数コピーゲノムの遺伝様式の解析

複数コピーゲノムのうち、どのゲノムを複製し、どのゲノムを遺伝するのかを詳細に解析するため、1細胞イメージング系を確立し、染色体トラッキングをおこなった。その結果、ゲノム複製の選択性はなく、ほぼランダムに選択されることがわかってきた。さらに、このランダムな複製においても、わずか数世代でどれかひとつのゲノムに固定されることも明らかになった。以上の結果は、進化可能性を予測する上で基盤となり、シミュレーションにも遺伝様式を取り入れ解析中である。

(2) 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。さらに今年度は様々な倍数性のシアノバクテリア種を用いて実際に進化速度を解析した。その結果、シミュレーションの結果と一致するような結果が得られており、最も進化速度の早いゲノムコピー数もわかってきた。今後はさらに解析対象を増やし、シミュレーションとの相違を解析していく。

(3) ゲノム倍数化の分子基盤

そもそもなぜ倍数化するのかという分子基盤を理解するため、様々な倍数性を持つシアノバクテリアを用いて解析した。その結果、倍数性が多いシアノバクテリアは、バクテリア型の複製機構とは別の新規なゲノム複製機構を持つことが示唆された(Ohbayashi et al., 2020, Front. Microbiol)。この結果は、複製開始機構の進化によって、1細胞分裂あたりの複製回数が増加したことが考えられ、倍数化との因果関係が示唆される。現在、その詳細な複製開始機構、また倍数性との因果関係を解析中である。

【2021年度研究計画】

これまでの研究から倍数ゲノムの遺伝様式が明らかになりつつある。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。2021 年度は遺伝様式を定量的に解析するとともに、様々な倍数性における進化速度を実験的に算出し、その成果を論文としてまとめる。

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变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变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。

【2020 年度研究進捗状況】

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、ニワトリ胚の枝芽を題材に、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っている。これまでに、通常酸素状況と高濃度酸素状況で指間細胞死を促す ROS の産生源について明らかにしている。さらに、ニワトリ胚の枝芽を題材に、酸化ストレスが細胞死を促す経路で活性化される因子について明らかにしている。

【2021 年度研究計画】

2021 年度は、2020 年度の実験で明らかとなったニワトリ胚の指間での細胞死経路のうち、両生類の指間でも確立している経路を明らかにすることを目標とする。そのため、2020 年度の結果に応じた実験を遂行することとなる。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

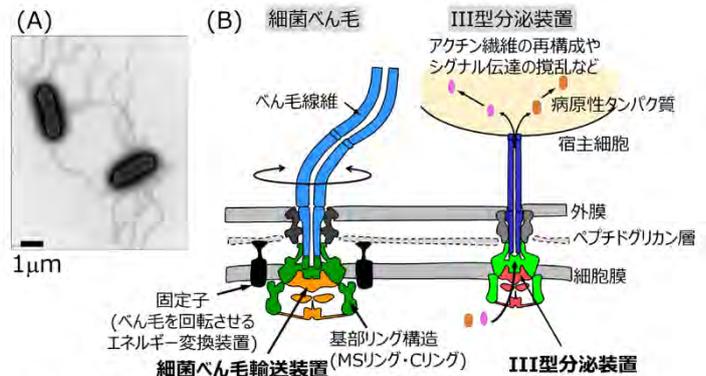
ニワトリ胚の指間細胞死は、環境中の酸素濃度に依存して産生される ROS によって促進される。この過程における ROS の産生源や活性化される因子を特定することを目的として、大規模解析支援班、重信氏に指間組織のトランスクリプトーム解析をご支援頂いた。

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。



(A)サルモネラ菌の電子顕微鏡像。菌体から長く伸びている線維がべん毛である。(B)細菌べん毛(左)とIII型分泌装置(右)の模式図(断面図)。細菌べん毛、は回転モーターとして機能する。III型分泌装置は、病原性タンパク質を宿主細胞内へ直接送り込むことができる。

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。

【2020 年度研究進捗状況】

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ことを目指した。まず、サルモネラ菌から二種類ある III 型分泌装置 (SPI-1、SPI-2) の、細胞膜上で分泌を行う分泌装置の構成遺伝子群を欠損させた。また、セレクションのために、テトラサイクリン耐性遺伝子を導入した。この変異サルモネラ菌株では、III 型分泌装置から分泌される病原性タンパク質が、細胞内で溜まっている。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。培養上清に分泌されるタンパク質を SDS-PAGE で確認すると、SPI-1 によって分泌されるタンパク質 SipA と思われるバンドを検出できた。また、マウスに継続感染することが知られている Lon プロテアーゼ欠損変異体を作成した。この変異体も同様に継続感染によって、病原性が高まるような変異体の取得を目指す。

(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ことを目指した。共同研究者の慶応大学金先生と感染実験について実験計画を打ち合わせているところである。

【2021年度研究計画】

マウスへの継続的感染実験を行う。感染力を失った III 型分泌装置欠損変異体がマウス腸内で定着するような変異体や、病原性タンパク質がべん毛から分泌され細胞障害を起こす様な変異体の取得を目指す。また、マウスへの感染だけではなく、線虫を用いた感染実験系の構築も目指す。線虫に病原性細菌や乳酸菌などを摂餌させ、感染メカニズムや寿命がどのように変化するのか研究した報告はいくつもある。そこで、線虫への摂餌による感染を行い、進化実験を行う。さらに、これらの変異体を元に、変異原処理による突然変異導入を行い、病原性を回復する変異体の取得を行う。最後に、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。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

本年度は特になし。

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(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(キイロ)とオナジショウジョウバエ(オナジ)、また両者の F1 雑種を用いてこの問いに答える。

【2020 年度研究進捗状況】

本年度は、雑種において喪失している神経接続が、キイロ型においては存在することの確証を得るために、キイロの神経接続を透過型電子顕微鏡(TEM)で観察した。まず、2種のニューロン群を TEM 環境下で標識／観察する Two-tag EM 法(Lin et al. 2015)を立ち上げ、着目する神経接続のシナプス前細胞とシナプス後細胞を TEM で観察することに成功した。着目している神経接続付近の観察を重ねることで、キイロにおける神経接続の存在を確かめる予定である。

また、オナジにおける解析系を立ち上げるために、特定のニューロンの行動機能を検証する光遺伝学実験の導入を行った。*fruitless-GAL4* で標識されるニューロン群にチャネルロドプシン CsChrimson を発現させ、赤色光を与えることで求愛行動を誘導できることを確認した。今後、これを用いてオナジのフェロモン選好性に関与する神経回路の機能解析を進める。

【2021 年度研究計画】

これまでの研究成果から、「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した。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することになる。

そこで 2021 年度は、Two-tag EM 法による神経接続の解析を更に進め、キイロにおける神経接続の存在を検証する。次に、(オナジ型のフェロモン選好性を持つ)雑種における神経接続の喪失が、オナジにおいても観察されるかを検証するために、着目する神経接続を構成するシナプス前細胞とシナプス後細胞を標識するシステムを作成し、GRASP 法を用いて神経接続を観察する。

さらに、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、外的摂動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。摂動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。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

特になし。

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変化」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年度研究進捗状況】

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RNA-seq解析を開始した。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)昆虫の変態ホルモンである Ecdysone を与えて発生遅延を抑制した *Minute* 変異体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、個体の成長遅延により転写が変動する遺伝子群を同定した。現在、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、死細胞の数(カスパーゼ依存的な細胞死を抗体染色により可視化)を指標に単離する *in vivo RNAi* スクリーニングを行っているところである。

【2021年度研究計画】

個体の成長遅延に伴い変動する遺伝子群を単離するRNA-seq解析を継続する。並行して、細胞ターンオーバーの抑制により多様な表現型が出現する仕組みの解析を行う。具体的には、細胞ターンオーバーを抑制した翅原基の発生過程を、モルフォゲンや翅脈を形成する細胞のパターンに着目して解析する。可能であれば、得られたデータから数理モデルを構築し、細胞ターンオーバーが表現型の揺らぎを吸収する仕組みを明らかにする。一方で、細胞ターンオーバーを抑制することで発現が変動する遺伝子群をRNA-seqにより解析し、表現型の揺らぎを制御する因子を同定する。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

現時点では、該当なし

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 年度研究進捗状況】

これまでの結果より、仙椎の位置決定に関与する Hox11 遺伝子群の発現には、TGF- β スーパーファミリーの分泌因子 GDF11 が必要であることが明らかとなった。そこで 2020 年度では、培養細胞系を用いて GDF11 の濃度と時間のどの働きが Hox11 遺伝子群の発現に重要であるのかを調べた。マウスの ES 細胞を脊椎骨の前駆組織である前体節中胚葉の細胞に分化誘導し、その細胞に様々な濃度の GDF11 タンパク質、及びに作用時間を変化させて *Hoxa11*, *Hoxc11*, *Hoxd11* の発現量を RT-qPCR を用いて調べた。その結果、まず Hox11 遺伝子群の発現は濃度と時間依存的に発現が上昇することが分かった。さらに、*Hoxc11* の発現に関して時間と濃度の相乗効果が発現に寄与していることが定量的に示された。また *Hoxa11*, *Hoxd11* に関しても有意差は認められなかったが同様の傾向が観察された。これらのことから、生体内においても PSM の後端に発現する GDF11 タンパク質の濃度と作用時間に依存して Hox11 遺伝子群の発現が誘導されている可能性が示唆された。特に、Hox11 遺伝子群の中で最も前側に発現することが分かった *Hoxa11* の発現領域もこのメカニズムによって発現領域が規定されるため、これにより個体間の発現領域のばらつきが生じ、仙

椎の位置が体の前後軸上に沿ってゆらぐことが考えられた。現在、ニワトリ胚に GDF11 タンパク質を吸着させたビーズを移植し、*in vivo* においても Hox11 遺伝子群の発現が同様に濃度と時間の要素によって発現がコントロールされているのかを解析中である。

次に、これらの Hox11 遺伝子群の発現を制御しているメカニズムを明らかにするために、スッポン、マウス、ニワトリ、シマヘビのそれぞれの胚を単離し、Hox11 遺伝子群の PSM におけるエンハンサーを同定したいと考えた。シマヘビは個体間で仙椎の位置のゆらぎが大きく、これと比較するためにスッポン、マウス、ニワトリのエンハンサー配列も同定したいと考えた。Hox11 遺伝子群が発現している前後のステージにおいてそれぞれの種の胚を単離し、オープンクロマチン領域を網羅的に同定出来る ATAC-seq を行った。計画班の基礎生物学研究所の重信先生の研究室で NGS データの解析方法を教えて頂き、現在 RAW データから IGV を用いて Hox11 遺伝子座周辺の配列のピークからエンハンサー候補領域の選定を行っている。

GDF11 の作用する濃度と時間が変化することにより体の前後軸に沿った仙椎の位置がゆらぐかどうかを直接調べるために、*Gdf11* のエンハンサー候補領域の 1 つと、エンハンサー候補領域の 3 つを同時に欠損させた標的遺伝子破壊マウスを作成した。その結果、1 つのエンハンサー候補領域を欠損させた胚より、3 つ同時に欠損させた胚の方が仙椎の位置がより体の後方にシフトすることが分かった。この結果より、GDF11 の作用を減弱させるとその濃度と時間に依存して実際に仙椎の位置が変化することが分かった。これらの結果より個体間においても GDF11 の作用する濃度と時間が少し異なるとが結果として個体間の仙椎の位置の違いを生み出している可能性が強く示唆された。

【2021年度研究計画】

現在、*Gdf11* の発現が個体間でどれだけゆらぎが大きいかを調べるために、当研究室で数十年近交系として交配を続けている GSP 系統のニワトリの単一のオスとメスを、人工授精により交配し、有精卵を採取している。この有精卵から胚を採取し、*Gdf11* の発現が開始される 10 体節期のステージにおける *Gdf11* の発現量のゆらぎを RT-qPCR を用いて明らかにする。この時に *Gdf11* とともに、発現量の個体間のゆらぎの程度を比較するために Hox 遺伝子や、ハウスキーピング遺伝子など複数の遺伝子の発現量と比較する。

これまでの研究で、Hox11 遺伝子群の中で *Hoxa11* 遺伝子の発現が最も前側の体節で見られることが明らかになっている。現在 *Hoxa11* 遺伝子を前体節中胚葉の前側まで発現領域を拡大させる実験を行っている。この胚において仙椎の領域が前側にシフトするのかを骨染色により調べる。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】簡単にご記入ください。

計画班の重信先生との共同研究により、ATAC-seq のデータの解析方法を教えて頂き、共同で解析を行っている。また総括班の支援により前述した ATAC-seq とシマヘビゲノム解読の費用を出して頂き、本年度基礎生物学研究所においてゲノムの解読も進めている。このゲノムを明らかにすることでシマヘビの ATAC-seq のデータをアライメントする予定である。

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。

【2020 年度研究進捗状況】

計画通り、以下を行った。(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通り準備した。(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した。(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複製を半年間継代した。

また、計画では2021年度の予定だったが、(4)揺らぎ応答関係の解析として、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した。結果、摂動実験でも進化実験でも、揺らぎ応答関係が見られる生態系と見られない生態系があった。明確に見られたものに関しては両方の実験で見られており、その理由は生物種間のトレードオフだった。よって、温度でも進化でも、外力として同様に扱うことができると示唆された。一方で、見られないものの理由は、そもそも種数が少なく、相互作用が少ないからと考えられる。

【2021年度研究計画】

上記の結果から、今後はより多種を安定に共存できる生態系の構築が必要と考えられる。とはいえ、培地や光などの条件はすでに検討されているため、劇的な多様性向上は望めないと考えられる。よって、計画を超えて、空間構造の導入に挑戦していく必要があるかもしれない。

なお生態系内で生物の進化はおこっていると考えられるため、計画通り(5)生態系内の生物の進化の解析、を行う。すでに、大腸菌およびシアノバクテリア PCC6803 に関して、まずは生態系に含まれるままだが、その表現型の変化が示唆されている。今後は単離を行っての表現型変化の解析、およびゲノム変化の解析を行う。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

古澤班に進化の解析をサポートいただいた。金子班と多階層の議論を行った。新規の人工生態系に使用するため、守屋班から酵母の株をいただいた。

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

佐伯望、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、発現量の変動が強い制約を受けているものと、制約をあまり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—ADPOT 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。

【2020 年度研究進捗状況】

これまでに高温や高塩 (NaCl) などの条件で ADPOT 実験のデータを取得してきた。2020 年度はこれに加え、乾燥、凍結融解、活性酸素存在下、Na 以外の高塩、高・低水素イオン強度などの新たな条件での ADOPT 実験を進行中である。

これまでの ADOPT 実験により、高温条件では tRNA の修飾酵素の過剰が適応的であり、高塩条件ではカルシウム応答性タンパク質群の過剰が適応的であることが見つかっている。この tRNA の修飾酵素には、高温増殖に連鎖した多型があることが知られている。今回、高塩適応のメカニズムの解明を進めた。その結果、実験室での酵母の培養にもちいられる YPD 培地にカルシウムを添加すると高塩条件での増殖が回復することが見いだされ、この増殖の回復に上記のカルシウム応答性タンパク質が関わっていることが明らかとなった。これらの結果は、高温・高塩における ADOPT 実験により取得された適応的遺伝子は、シビアな環境で酵母細胞が増殖するために必要な遺伝的・環境的要因を反映することを意味する。

【2021 年度研究計画】

2021 年度は以下を計画している。1) 高温・高塩での ADOPT 実験の結果を論文としてまとめる。2) 新たな条件での ADOPT 実験で取得された遺伝子群の解析を行う。3) ADOPT 実験のさらなるハイスループット化を行う。4) ADOPT 実験での株の増殖をトレース可能にする (株のバーコード化)。5) *S. cerevisiae* 以外の酵母ゲノムを用いた ADOPT ライブラリーの作成。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

大規模解析支援班により ADOPT 実験のナノポアシーケンス解析、適応的遺伝子を過剰発現している細胞の RNAseq 解析の支援を受けている。

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 年度研究進捗状況】

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今年、2つの研究グループから報告された(Schauer *et al.*, *eLife*. 2020. Fulton *et al.*, *Curr Biol*. 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。本研究課題では、まずこれら先行研究において用いられている自己組織化細胞塊作成法を再現し、その手法の確立を目指した。前者の先行研究(Schauer *et al.*, *eLife*. 2020)で採用されている手法(256 細胞期胚から抽出した細胞を Ringer's solution 中にて培養)によって、細胞塊の自己組織化(前後軸の伸長)が確認できた。また、前後軸の伸長に先立って、細胞塊の中央付近が陥入する現象が確認された。後者の先行研究(Fulton *et al.*, *Curr Biol*. 2020)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 photoconvertible reporter である *kaede* を用いて追跡した。また、自己組織化過程における個々の細胞の形態や細胞間隙について解析し、細胞の物性の変化についても解析をおこなっている。

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)。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 をミオシン II 阻害剤 (blebbistatin) や cortical contractility 促進剤 (LPA) などを用いることにより実験的に変化させ、cortical contractility の自己組織化への影響を観察した。

【2021年度研究計画】

まずは今年度に遂行した上記2つの研究計画について引き続き実験を進め、多角的な定量的解析をおこなうことにより結果の解釈をおこなう。

研究計画 1: 細胞の物性変化による細胞の選別と自己組織化

近年、胚発生過程において細胞の物性が液体様 (fluid-like) や固体様 (solid-like) と遷移することで形態形成が生じることが報告されている (fluid to solid transition, jamming と呼ばれる。Mongera *et al.*, *Nature*. 2018, Wang *et al.*, *bioRxiv*. 2019)。そこで、自己組織化過程においてこのような細胞の物性変化が生じているかを検討する。個々の細胞の形態や細胞間隙から推定する方法や、微小油滴 (oil microdroplet) を自己組織化細胞塊に注入し、その変形率を三次元的に解析することで注入場所における物性環境を推定する。

研究計画 2: 細胞間の interfacial tension による細胞の選別と自己組織化

上記で述べた cortical contractility に加えて、ephrin-Eph 経路による細胞間の反発作用と interfacial tension によっても細胞が選別され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)、その接着境界における角度を測定することで推定することができる。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 を作成することで interfacial tension とそれに伴う物性的な性質を測定する。また、作成した自己組織化細胞塊を用いて RNA シーケンスをおこない、自己組織化過程において発現している ephrin, Eph を探索、同定し、その自己組織化へ及ぼす影響を評価する。

研究計画 3: メダカ胚を用いた上記観察結果の比較解析

ゼブラフィッシュ胚を用いた上記実験と並行して、メダカ胚を用いて同様な実験をおこない、上記で着目した細胞の物性的性質それぞれについて、その共通性・相違性を解析する。また、メダカとゼブラフィッシュ両種の細胞を混合し培養することで、両種の細胞の性質に差があるかを直接的に検討する。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

他班との共同研究、総括班支援について今年度はとくにおこなわなかった。来年度の遂行、利用を検討している。

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／東北大学)

【研究目的・背景】

本研究では、生物の新規ニッチ進出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、淡水域への適応に関わる遺伝子発現のゆらぎが大きいことが示唆された (Ishikawa et al. *Science* 2019; Ishikawa et al. *Evol Ecol Res* 2016)。また、淡水ニッチに進出した集団では、更に日長条件や浸透圧変化に対するトランスクリプトームの環境応答性が祖先集団に比べて変化していた (Ishikawa et al. *Evolution* 2017; Ishikawa et al. in prep)。これは、トランスクリプトームのゆらぎの進化が、淡水ニッチへの進出と適応に寄与していることを示唆している。そこで、本研究では、『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・適応能力を規定している』という仮説を立て、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、これを検証する。

【2020 年度研究進捗状況】

2020 年度は、新型コロナウイルス感染拡大の影響により、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の定量的解析を行うための大量のニホンイトヨ稚魚を作成するための親魚の採集を行うことができなかった。そこで、淡水適応後にトランスクリプトームのゆらぎの差を生み出したゲノム領域を同定するために行う予定であった、イトヨ内での海型と淡水型の eQTL 解析を前倒しして開始した。本解析では、複数の異なる組織で eQTL 解析を行うことで、ゆらぎの差を生むゲノム領域が持つ多機能性やそれによる組織間での遺伝子発現の進化の制約などを明らかにする。また、これらのゲノム領域が淡水進出過程でどのような選択圧を受けたのかや、人工淡水池で実際に選択されるのか、また、どのような機能を持つのかを明らかにすることで、トランスクリプトームのゆらぎが新規ニッチへの進出を規定するか検証し、その分子機構を明らかにする。

海型集団と淡水型集団の F₂ 交雑個体を淡水条件下と 100% 海水条件下に置き、エラ、生殖腺の 2 組織について RNA 抽出を行った。解析予定の 224 サンプルの内、現在、16 サンプルの予備実験用の解析が順調に行われており、残りのサンプルについても順次解析が行われている。

【2021 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。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

eQTL 解析の表現型として用いるトランスクリプトーム情報を得るための RNA シークエンスについて、大規模解析支援に申請し、支援を得ている。

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。

【2021 年度研究進捗状況】

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相関するオープンクロマチン領域の解析を進めた(ATAC-seq 法)。低温(17℃)・常温(23℃)・高温(29℃)で処理したナミテントウの前翅から ATAC-seq 解析のライブラリー調製を完了し、複数の温度応答エンハンサー候補配列を取得した。

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ことを目指してノックイン法の検討を進めた。短い DNA 断片(epitope タグ)および長い断片 DNA 断片(GFP 遺伝子)の挿入の検討を進めた。

Single nucleus-RNAseq 解析による温度応答エンハンサー結合因子の推定

着色直前の蛹の前翅において *pnr* の発現を直接制御する上流制御因子を同定する目的で、10x genomics chromium controller を用いた single nucleus RNA-seq 解析を行った。現状のデータを元に、*pnr* 発現細胞で特異的に発現する遺伝子候補の絞り込み解析の検討を進めた。

【2022 年度研究計画】

科研費の重複制限が適用されたため、残念ながら今年度途中より本公募研究は廃止となってしまった。

本研究計画で推定した温度応答エンハンサーについては、今後、別の研究計画で進めるナミテントウの斑紋エンハンサーの機能解析の解析対象の一つとして加え、その役割を明らかにしていく。

本研究で確立したテントウムシ斑紋の揺らぎの定量解析系は、テントウムシの斑紋進化の理解に重要な知見を与えると考えている。引き続き表現型の揺らぎが、表現型の進化可能性とどのように関連するかを調査することで、生物進化における「ゆらぎ応答理論」が生物を通して成り立つ普遍原理となりうるのかの検証を進めていく。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

領域内他班との共同研究

・画像データ解析について古澤先生と藤本先生との共同研究を進めている。

総括班支援

・昨年度調製を行なった Single nucleus-RNAseq 解析のデータ量が His-seq 1 レーン(Genesiz 社)では足りなかったため、1レーン分の追加の Run 解析を進めた。

・ナミテントウ紅型を含めた主要斑紋型の転写開始点を含めた exon-intron 構造が不明だったため、遺伝子構造推定のための mRNA-seq 解析を進めた。

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、適切な時空座標系(τ - 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した(Morishita et al., 投稿準備中)。他方で、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。遺伝子発現の時空間パターンを τ - 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のもと、研究を進める。

【2020年度研究進捗状況】

空間トランスクリプトーム解析の最初のデータを、アフリカツメガエル四肢発生過程を対象に取得した。10x社 Visium キットを用いて、背腹軸に沿って中央当たりの肢芽組織の切片に対して3つの異なる発生ステージに対して解析を行った。肢芽の大きさに対し Visium キットのスポット間隔は粗いため、空間方向の分解能を上げるために各肢芽に対して隣接切片4枚を1セットとして情報を重ね合わせることで空間発現パターンを再構成した。典型的な四肢発生マーカー遺伝子に対して、既知の発現パターンと概ね一致することを確認した。他方で、アフリカツメガエルに対してはシーケンスデータからゲノムにマッピングする際に、3' UTR 側の配列が登録されていない遺伝子群が存在することに気が付き、RNA 自体は抽出されているにもかかわらず、解析結果としてそのカウント数が検出できていないものが存在するという問題を抱えている。2020年度の残りの期間に、この問題に対応する他、ツメガエル四肢に対して異なる発生ステージに対してもう一度 Visium 解析を行い、時空間パターン再構成(通常座標系と τ - ξ 系の両方で)を完成させる予定である。

【2021年度研究計画】

比較対象であるニワトリ胚四肢発生過程に対する空間トランスクリプトームデータを2回取得する計画である。得られた結果をツメガエルデータ同様 τ - ξ 系で計測し、二種間で時空間発現パターンが保存されている遺伝子群と保存されていない遺伝子群へと分類する。また、時間座標 τ に関しては、両種の組織変形動態から「発生時刻の種間時計合わせ」によって定義されたものだが、遺

伝子発現パタンの類似性に基づいた時計合わせ(τ')をすることも可能である。 τ と τ' の一致性についても解析を行う。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】簡単にご記入ください。

現時点で具体的な共同研究計画は無いが、空間トランスクリプトーム解析について興味を持っている他の班員に対して、解析時の困難な点や工夫した点などの情報をシェアすることで領域に貢献したい。

ヒト固有 NOTCH2NL 遺伝子による脳発達の揺らぎと脳進化方向性の研究

鈴木郁夫(東京大学)

【研究目的・背景】

本研究は、ヒトに固有な重複遺伝子である NOTCH2NL (N2NL) のレパートリーに見られる個人間の「揺らぎ」が、短期的時間スケールにおいては人類集団に脳発達の「揺らぎ」を生み出し、より長期的時間スケールにおいてはヒトの認知機能の進化を方向づけた可能性を検証する事を目的とする。脳発生において個々の神経幹細胞は、同一ゲノムを持ちながら、増殖やニューロン分化について一定の幅で「揺らぎ」を持ったふるまいをし、結果として脳全体のニューロン数は種ごとに決まった数になる。申請者はヒト固有遺伝子 N2NL を発見し、N2NL が神経幹細胞の「揺らぎ」をシフトさせることで大脳皮質ニューロンを増やし、脳容積の拡大進化を駆動した事を明らかにした (Suzuki *et al Cell* (2018))。N2NL 遺伝子はヒト進化過程において NOTCH2 遺伝子の一部が重複することで誕生し、さらなる重複により4つのパラログが生じた。パラログの一次配列やコピー数に個人差がある事から、進化的に新しい N2NL 遺伝子は今なお進化の途上であり、脳発達を制御する事により「認知機能における個人差」という表現型の揺らぎを生み出している可能性がある。本研究では、人類集団中の N2NL 遺伝子レパートリーの全体像を把握し、個々のパラログ・バリエーションが神経幹細胞の「揺らぎ」に与える影響を統合的に明らかにする事を目的とし、N2NL 遺伝子レパートリーがヒト脳進化をどのように方向づけているのかを評価する。

【2020 年度研究進捗状況】

ヒト神経幹細胞由来サンプルを用いたロングリードシーケンサーによるトランスクリプトーム解析を終え、発達期大脳皮質において発現する N2NL 遺伝子レパートリーを明らかにした。具体的にはオルタナティブスプライシングによる C 末端領域の多型と、糖鎖修飾パターンに差異のあるアミノ酸残基の多型を見つけている。糖鎖修飾部位の多形については機能解析を進めており、たった1アミノ酸置換により細胞内局在パターンが変化することや、Notch シグナルのリガンド分子との相互作用の様式に違いがあることを見出している。さらに、マウス胚大脳皮質における強制発現実験から、当該アミノ酸残基の多型が神経幹細胞の維持活性制御に重要な関わりを持つことを見出している。

【2021 年度研究計画】

すでに発見している N2NL 遺伝子レパートリーの大脳皮質発生における機能解析を進めるとともに、さらなるロングリードシーケンサーを用いた解析により新たな N2NL 遺伝子の探索を行い、脳発達過程とヒトの多様な疾患状態の脳組織における発現パターンを明らかにする。加えて、個々の N2NL 遺伝子の人類集団中におけるアレル頻度やコピー数の「ゆらぎ」や疾患との関連性、そして進化解析を進める。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】簡単にご記入ください。

本研究はヒト固有 N2NL 遺伝子について、ゲノムレベルから個体レベルの多様なアプローチを用いて解析を行う。本領域の多様なバックグラウンドを持つ皆さんからのインプットにより研究を発展させていきたいと考えている。

ネットイツメガエル胚発生における遺伝子制御ネットワークの揺らぎと進化

安岡有理 (理化学研究所)

【研究目的・背景】 動物の胚発生期における遺伝子発現パターンの進化は、遺伝子発現を制御するシス制御配列が進化し、その配列に結合する転写因子の種類や活性が変化してもたらされると考えられてきた。しかし、遺伝子発現制御機構の進化過程を、遺伝子制御ネットワーク (GRN) の揺らぎとして、個体内あるいは種内といった短い時間スケールで定量的に捉えるような研究はなされていない。そこで本研究では GRN の揺らぎを実験的に測定し、進化との関連性を探る。

実験にはネットイツメガエルを用い、シス制御配列、転写因子結合、標的遺伝子発現の揺らぎをゲノムワイドに測定して GRN の揺らぎを定量化する。近交系統内での GRN の揺らぎが系統間での揺らぎに反映されているのか、さらには近縁種間での GRN の進化につながっているのかを検討する。進化的保存性の異なる転写因子間での比較や、異なる発生ステージ間での比較、さらには 1 細胞レベルでの遺伝子発現の揺らぎの検出やシス制御配列の網羅的機能解析を通じて、「進化しやすさ」を支える分子基盤を明らかにする。

【2020 年度研究進捗状況】

ネットイツメガエル初期原腸胚の 1 胚 RNA-seq 解析を行い、5 つの兄弟胚間で発現量のばらつきが大きい「揺らぎ遺伝子」を 500 個程度同定した (図 1a)。同様の解析を独立に 5 回行ったところ、各実験群 (Clutch) で共通の揺らぎ遺伝子 65 個を見出した (図 1b)。このうち 26 個は、Clutch ごとの平均発現量の揺らぎも大きく、特に揺らぎやすい遺伝子だった。実験には近交系統 (Nigerian 系統) を用いていたので、この結果は比較的均質な遺伝的背景でも一部の遺伝子は発現が大きく揺らぐことを示している。

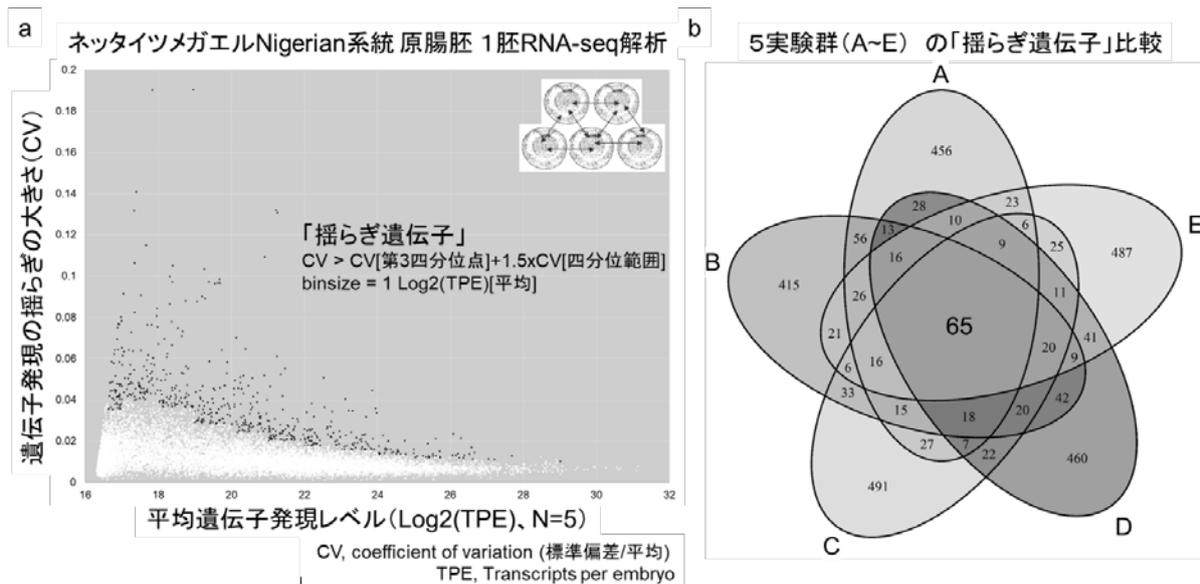


図 1 : 遺伝子発現の揺らぎに関する先行研究の成果 (a)1 胚 RNA-seq 解析による兄弟胚間での遺伝子発現量の平均と揺らぎのプロット。各点が遺伝子を表し、黒い点が揺らぎの大きい遺伝子を示す。(b)独立した実験群間での揺らぎ遺伝子の重なりを示したベン図。

さらに同様の RNA-seq 解析を *otx2/5* 機能阻害胚を用いて行ったところ、*otx2/5* の機能阻害によって兄弟胚間での遺伝子発現レベルの揺らぎが増大していることが判明した。この傾向は発現量の多い遺伝子でより顕著であった。機能阻害効果が一定である(実験ノイズが少ない)とするならば、この結果は *otx2/5* の機能阻害に対する各遺伝子の応答が兄弟胚間で揺らぐこと、さらには *otx2/5* の機能阻害によって胚発生の頑健性が損なわれていることを示唆している。また、*otx2/5* 機能阻害胚とコントロール胚との間での各遺伝子の発現変動を実験群ごとに算出し、5 つの実験群間で「発現変動の揺らぎ」が大きい遺伝子を抽出したところ、転写因子が多く含まれていた。この結果は、*otx2/5* の下流で働く転写因子セットが大きく揺らぎながら、ネットワークのつながりかえが種内でも頻繁に起こっていることを示唆している。

【2021年度研究計画】

Ivory Coast 系統を用いた同様の実験データを解析し、Nigerian 系統の結果と統合することで、系統間での遺伝子制御ネットワークの揺らぎを検出する。WGSの結果と合わせ、ゲノム配列(特にシス制御配列)の変化と遺伝子発現揺らぎとの間の相関関係を導き出す。アフリカツメガエルのゲノム配列と比較し、ネットイツメガエル系統間での遺伝子制御ネットワークの揺らぎがゲノム進化と相関しているのかを検討する。神経胚、咽頭胚、オタマジャクシ幼生の RNA-seq 解析を行い、ステージ間での遺伝子発現の揺らぎを検討する。Mix や Sia など、両生類に特徴的な転写因子の下流遺伝子の揺らぎを検討し、*Otx2/5* の結果と比較することで、転写因子の保存性と標的遺伝子の揺らぎとの関係を明らかにする。

【領域内他班との共同研究、総括班支援】

総括班の大規模解析支援を受け、RNA-seq・ChIP-seq・WGS を実施した。

書籍のなかに我が身を置く：変質し続けるメディアの中で

倉谷 滋

荒俣宏の『本読みまぼろし堂目録：店主推奨七〇〇冊ブックガイド』という本が面白い。荒俣氏が自ら架空の古書店主になりきり、お勧めの本をとめどなく解説したもの。したがって、そんな本をとりあげて解説すること自体、ある意味メタレベルの書籍紹介になってしまい、概説としてそもそも体をなさないのではあるのだが、内容があまりに興味深いのでここに取り上げた次第。

修羅場としての書齋

とりわけそのなかの一章、「書齋有害論 - あるいは書庫付き牢獄の本質」が面白いので、そこだけでも読んでみることを奨めたい。何が書かれているかといえば、つまりは近代知識人における「死に至る病」が書齋で感染するのではないかという視点（90頁）。なるほど、過去の偉人たちによる入魂の書が山積みになっているわけだから、一個人がその英知の奔流のなかで萎縮しないわけがない。いうまでもなく書架をはみ出さんばかりに並べられた書籍の数々は、その所有者たる書齋の主が自ら範とし、追随しようとする難解な思想に溢れている。部屋の主はいわば、狭い空間の中でさらに卑小な存在であることに自ら甘んじなければならないのだ。



かくして書齋とは屈辱と試練の修羅場、苦悩が棲みつき主を死に至らしめる空間となるのである。そうならないためには間違っても書物なんぞに傳（か）つてはならない。むしろ、

自分は過去の偉人たちなどとは比べものにならないほどの高みに立っていると信じ、書物の国の王として尊大に君臨し続けるべきなのだ。おそらく最も効果的な方法は、その内容・クオリティのいかに拘わらず、あらゆる書物の中で自著を最上級に格付けし、そのうえで過去の名著群のうえにどっかりと鎮座せしめることなのであろう。それでこそ、巨人の肩の上にも立てようというもの、これで精神的バランスが取れる。自ら他者の足下にひれ伏すようでは永遠に陽の目を見るわけなどない。そもそも書齋とは秘密の場所、客を招き入れるような空間ではないのだからそれで一向に構わない。加えて、書齋には難解な書物だけではなく、なるべく画集や娯楽マンガや昆虫標本も多く置き、仕事の最中にかけてばなしにする映画のDVDや音楽CDも目一杯溜め込み、自分好みの玩具&遊戯部屋のようにしてしまうべきなのであろう。

書物の変質

もうひとつの興味深い指摘は、「由緒正しくありがたいも危険な書籍」のほとんどが18、19世紀に書かれたものに限られるということ。これには納得させられた。確かにその通りである。私の専門領域の典型としては、かのエルンスト・ヘッケルの著した一連の大著が揚げられるだろう。おそらくここには20世紀前半までに書かれたものも含めた方が良くかもしれないし、その始まりも、少なくともルネッサンス期ぐらいまでには遡る。おっとアリストテレスも忘れてはならない。生物学の歴史は長いのだ。とはいえ、「商業流通物としての書物」の体裁を備えたものという、確かにその始まりは18世紀以降に求めるのが良いのかも知れない。

先日も友人と比較形態・発生学の教科書の話をしていただが、20世紀半ばより以降の書物の話には出なかった。ダーウィンの『種の起源』以降のものがほとんどで、たしか、カーネギー研究所の発行していた比較発生学雑誌『Contributions to Embryology』が最新のも

のだったように記憶する。ようするに、記念碑的な重要書籍が出版される時代はとうに終わってしまっているのである。それが重要なポイントなのである。それはまた、書籍の使われ方、書かれ方の両方が、現代にいたって恐ろしく変質してしまったことをも意味する。

私が世話になっているある出版社は「なるべく絶版はさせない」を目標にしていると聞き及ぶが、毎月新刊書が続々と出版されるこの御時世、全ての書物の在庫を永遠に確保することなど不可能である。今は可能でも早晚不可能になる。おそらく、他の大手出版社も本来は絶版などさせたくないであろう。しかし、物理上、経営上の現実問題を考えると、理想を諦めるより他はない。が、変質の原因は数と経済の論理だけにあるのではない。文化や思想や科学、それを押し進め、享受する人間の内容がそもそも変わってきていると考えた方が良さそうである。

例えば、形態学や解剖学の歴史を考えると良い。ダヴィンチやベザリウスといった解剖学の偉人たちは、一人で学問の内容を革命的に変化させ、押し進めた。その進歩はやがてあるプラトーンに達し、追従する多くの解剖学者たちによって確立されたひとつの規範として成熟する。そして、ついには決定版と言える教科書が成立する。とりわけ、進化論の受容によって、生物学としての思想的基盤は一挙に整備された。以降、いくつもの分野において教科書を最初に編纂した学者には、それなりの栄誉が輝いた。が、それに続く細々とした改訂作業は、もはやどんなヒーローも産み出すことはなかった。おなじことは分類学や発生学についても言うことができる。その改訂作業を得意とする研究者は、その学問思想の深奥ではなく、むしろその編纂・編集作業の手際でもって賞賛されることになる。

「教科書の成立は、その分野の成熟と、それに伴うある種の落ち着きを示す」とは、『The Making of a Fly』を著した発生生物学者の P. A. Lawrence の言ったことだが、この本とて真に歴史に残る「書物」となり得ているかどうかと言えば、それは相当に怪しいと言わざるを得ない。ゲノミックスやバイオインフォマティックス、そしてひょっとすると AI の進歩が、今後発生生物学者たちの悩みを全て解決してしまうかも知れないからだ。そう

なると、進化形態学者の夢も早晚地に落ちてくることになるであろう。現代は、特定の教義をありがたがる時代ではすでになく、真の意味で使える大量データと、それを上手く処理する優れたもののソフトウェア、そして人間の理解の落とし所を模索する時代に入ってゆく。じっさい、それはもう進行しつつある。詰まるところ書籍は、いつの間にかデータと同様、消費され消耗するようになってしまったと荒俣氏は指摘するのである。昔出版されていた書物と、今出版されている書物は、似ているようでもまったく別のものなのである。

古書とは何か

真の書物はそれ自体、生まれた時点ですでに古書である。こんなことを言うと目を白黒されるかも知れないが、ある種の書物は出版された時点ですでに古書となる運命にある（あった）。むろん、私はブックオフなどの後発店で安売りされる新書や文庫本を古書と呼んでいるわけではない。ああいった店はリサイクルショップに過ぎず、店の方もそれは十分に自覚している。この種の店に、19 世紀の稀覯本を求めたり売ろうとしたりする方がむしろ不見識なのである。

しかし、ここに妙な境界領域が存在する。例えば、70 年代に出版された角川文庫版の横溝正史シリーズを探しているとする。その価値を知らない誰かが、それをブックオフに売りに来ていてもおかしくはない。しかし、今になって高値の付いたこれらの文庫は、いずれ廃品になってしまう運命の現代の多くの新刊文庫とは格が違う。当時の角川文庫の多くも同様、昭和初期の探偵小説家のものは得てして値が張るのである。それはひとえに、彼らを蘇らせた表紙のセンスの高さとノスタルジーに由来する。が、文庫本本体の紙と印刷の質は相当に低かった。おそらく、今は読むのに相当苦勞する筈である。

もっと奇妙なことがある。例えば、「人の噂も 75 日」の諺にあるように、人間の下世話な好奇心というものは、そもそもその程度のものでしかなく、その程度の早さで消費され尽くされてゆくわけであるから、ゴシップ記事を中心とした週刊誌などは、消費される情報の典型のようなものだ。が、過去の記事を掘り起こして当時の人心を押し量ろうとする向きには、潜在的にあらゆるゴシップ記事は貴重

な考現・考古学的資料ともなりうる。しかし、それによって得られた研究成果もまた、メタ的に消費されてゆく運命にあるのだから、それもいずれそこで行き止まりなのである。

いずれにせよ、二次的に付加価値の付く古書は存在するが、古書の多くはそもそも生まれ落ちたときから古書になるべく運命付けられている。最近の書籍なら、蓮実重彦の『伯爵夫人』などがそう。逆に、仰々しい装丁で格調を気取って見たところで、どうにもならない安っぽい小説や随筆も多い。所詮人間の考えること、過去の誰かの言ったことの焼き直しでしかあり得ない。いわば、この世に存在してしかるべき精神の在処を記した書物、科学の根底を形成するのに大きく貢献した書物が最初にこの世に確固とした居場所を占め、後続する多くの類似の思想や知識は、それらから派生したレベルの低い子孫に過ぎず、精々先祖の業績を飾るぐらいのことしかできないのである。というわけで、後者のことしか知らない似非学者が前者を見ずして「いまどき、紙媒体の本を置く図書館など不要だろう」などというのは、不届き千万も甚だしい。こういった輩は、真の意味で後続する世代のことを考えてはいないのである。

図書の未来

かくして書籍もまた進化し、増殖する。本というメディアの出自が変容するだけでなく、その受容もまた変容する。動植物の新種とは比べものにならない勢いで増加する書物を扱

わねばならない図書館は、この点において動物園や博物館とは本質的に別ものにならざるをえない。ならばさて、これに輪をかけて凄まじい勢いで増加する学術論文はどのようなのか。

多くの研究者は、何故これほど論文が溢れかえっているのか、そろそろ疑問に思い始めているのではなかろうか。私も同じである。私の専門領域である進化形態学の古典を見れば、Haeckel はいうに及ばず、Goodrich や、De Beer や、Gaupp といった過去の有名どころの比較形態学者たちは、年に 1 本以上の論文を書くことなどめったになかった。だから、「Goodrich (1930)」とか「De Beer (1937)」と言うだけでそれがどの論文なり教科書なりを指すのか自明なのである。おそらく状況は他の学問分野でも同様であろう。ところが今はどうだ。多くの研究者は年間多数の論文を世に送り出している。と同時に、その多くは消費されることもなく消えてゆく。自分の論文だって特定するのがむづかしい。このうち歴史に残る論文が一体いくつあるのか。むろん、アーカイヴのなかから発掘することはいくらでもできるだろう。しかし、メディアが変容しても生き残る歴史がいったい何を意味しうるのか、それはいまや明らかとなったはずだ。が、これ以上はあまり考えたくない気もするのである。

初出：2020年9月28日 Facebook「衝動的に書籍紹介 201」に加筆訂正

Constrained & Directional Evolution Newsletter Vol. 4 No. 7

発行：2021年1月8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/>