

学 位 論 文 題 名

Genetics of incipient speciation by sexual isolation
in *Drosophila melanogaster*

(キイロショウジョウバエ変異種間における生殖的隔離機構の遺伝解析)

学位論文内容の要旨

動物の種分化の背景にある遺伝的变化を理解することは、ダーウィン(Darwin 1859) 以来の進化学の古典的課題であるが、未だに難題とされている。近年の分子遺伝学の急速な発展に伴い、種分化に関する遺伝子を特定する試みが活発に行われてきた(Coyne and Orr 1998) が、それらの多くは、すでに種分化が完了した近縁種間の比較に基づいたものである。そのために、検出された遺伝的变化が種分化の過程で起きたものであるか、後に生じたものであるかが、必ずしも明確ではなかった。そこで、本論文では、種分化のメカニズムを明らかにするために、生殖的隔離が生じ、種分化の初期段階にあると考えられるキイロショウジョウバエの 2 変異系統を用いて、その分化の遺伝的背景を解析した。研究に用いたのは、Wu et al (1995) によって最初に記載されたアフリカ中央部ジンバブエ産のキイロショウジョウバエ個体群 (Z 個体群) と汎世界的に分布する個体群 (M 個体群) である。Z 個体群の雌は、同種の M 個体群の雄と交尾をせず、同じ Z 個体群内の雄のみと選択的に交尾する行動が見られる。一方、Z 個体群の雄は、M 個体群の雌と交尾することが可能であり、生殖的隔離が不完全なために、これらの個体群は種分化の初期段階にあると考えられている。

1. Z 個体群と M 個体群の間に交尾前生殖的隔離を生み出す「行動」に関わる遺伝子を染色体上にマッピングし、3 つの染色体を合わせて少なくとも 14 の遺伝的要素が二つの個体群間の行動の違いを規定していることを明らかにした。交尾前生殖的隔離に関連する遺伝子が、キイロショウジョウバエの 4 つの染色体のうち、主に第 2 及び第 3 染色体上に存在するという情報 (Hollocher et al. 1997a) をもとに、染色体上の位置がわかっている突然変異マーカーを利用して、染色体の一部がアフリカの個体群のもので一部が他の個体群のものであるような組み換え系統をつくり、その行動を比べることにより、より細かいレベルでの遺伝子の位置を特定した。具体的には、Z 個体群の雌が交尾相手を選択する遺伝子、及び、この個体群の雄が雌に選ばれる性質または行動を規定する遺伝子が、第 2 染色体と第 3 染色体上の複数の領域にあること、また、これらの要素が形質発現に及ぼす効果には非相加的なものもあることなどが明らかになった。これらの結果から、この交尾前隔離行動には、多くの遺伝子の変化を伴った非常に複雑な遺伝的背景があることが明らかになった。

2. 交尾前隔離行動と染色体の構造変化との関係を検討し、この種内においては染色体逆位の果たす役割はごく限られていることを明らかにした。Z 個体群に高頻度でみられる染色体逆位

(*In(3R)K*) は、1 で特定した雌の行動をつかさどる遺伝的要素を含む領域と一致する。このような染色体逆位が存在すると、その領域での組み換えが抑制されるため、連鎖非平衡が生じることがある。このような連鎖した遺伝子群が生じるプロセスにより、交尾前隔離のような複数の遺伝子の変化を伴う形質が生じ、保たれる可能性がある。この可能性を Z および M 両個体群の逆位をもつ個体と正常個体の交尾行動を比較することで検討した。その結果、染色体の構造変化と交尾行動の対応関係はみとめられず、逆位と正常個体の染色体間でも、多くの遺伝的要素が行き来していることが示された。したがって、Z および M 個体群間の種分化には、染色体構造変化があまり関係していないと判断された。

3. 1 で行なったマッピングの結果を補強するために、まったく別のアプローチで当該遺伝子を含む領域の特定を試みた。複数の遺伝子マーカーを導入した M 個体群と Z 個体群を交雑させ、染色体が組み換えにより完全に断片化して混ざった雑種個体群を用意した。次に、統計的解析により第 3 染色体上のマーカー遺伝子の頻度と生殖的隔離行動との相関をみることで、これらのマーカー遺伝子の周囲に交尾行動を支配する遺伝子が存在するかどうかを検討した。多くのノイズの存在が予想されたが、大きいサンプルサイズを用いた大規模な実験により、前記 1 で第 3 染色体上にマッピングされた領域と、ほぼ一致する結果が得られた。

4. ところで、キイロショウジョウバエ雌におけるクチクラ炭化水素成分構成の多型が、よく知られている (Ferveur et al. 1996)。この自然集団における種内多型は、特殊な地理分布を示す。すなわち、Z を含むアフリカ及びカリブ諸島の個体群はクチクラ炭化水素の二つの主成分のうち、5,9-heptacosadiene の割合が高いのに対し、その他の地域の個体群は 7,11-heptacosadiene の割合が高い。このようなクチクラ炭化水素成分構成多型が個体群間での交尾前隔離に関与している可能性があると考え、これらの関係を 16 個体群について精査した。その結果、Z 個体群内では生殖的隔離行動の強さと 5,9-heptacosadiene の割合との間に高い正の相関が見られた。よって、この二つの形質は、互いに独立ではないと考えられた。

さらに、この炭化水素構成を支配する遺伝子座を決定し、この多型の分子レベルの進化パターンの推定を試みた。まず、組み換えを利用した遺伝学的マッピングにより 87B-C の 13kb 内にクチクラ炭化水素成分の違いを引き起こすサイトがあることがわかった。この 13kb 内で 1 つのサイトのみが、調べた 44 個体群すべてにおいて表現型と遺伝子型と相関を示したことから、それがこのクチクラ炭化水素成分構成の多型を支配していると考えられた。このサイトは、2 つタンデムに並んでいる脂肪酸不飽和化酵素の一方の *Fad-dup* 遺伝子のプロモーター領域に存在した。近縁種である *Drosophila simulans*、*D. mauritiana*、*D. sechellia* の塩基配列より、祖先型はアフリカのタイプで、その他の系統では、*Fad-dup* のプロモーター領域に 16bp の欠失領域のあることがわかった。また、Dallerac et al. (2000) により、この遺伝子は、アフリカタイプ、カリブ諸島以外の地域の系統では、上記のプロモーター領域の欠失により *Fad-dup* の発現パターンに変化が生じ、クチクラ炭化水素の成分構成が変化したと考えられた。

以上、本研究では、キイロショウジョウバエ種内個体群間の交尾前生殖的隔離について、遺伝子座の存在する位置を染色体上のかなり狭い領域レベルで特定した。その結果、この行動的隔離に関わる遺伝子が 14 以上存在し、それらの間に非相加的相互作用も見られるなど、複雑な遺伝的構造が関与していることが明らかとなった。さらに、この交尾前隔離行動に関わると考えられる 1 遺伝子について、プロモーター領域の欠失という分子レベルの変異であることを確定した。

学位論文審査の要旨

主 査	教 授	齋 藤 裕
副 査	教 授	諏 訪 正 明
副 査	教 授	Wu Chung-I
副 査	教 授	木 村 正 人
副 査	助教授	秋 元 信 一

学 位 論 文 題 名

Genetics of incipient speciation by sexual isolation in *Drosophila melanogaster*

(キイロショウジョウバエ変異種間における生殖的隔離機構の遺伝解析)

本研究は86 ページの英文論文で、表4、図14、引用文献77 を含み、4 章で構成されている。

動物の種分化の背景にある遺伝的变化を理解することは、進化学の古典的課題であるが、未だに難題とされている。本論文では、種分化のメカニズムを明らかにするために、生殖的隔離が生じ、種分化の初期段階にあると考えられるキイロショウジョウバエの 2 変異系統を用いて、その分化の遺伝的背景を解析した。研究に用いたのは、アフリカ中央部ジンバブエ産のキイロショウジョウバエ個体群 (Z 個体群) と汎世界的に分布する個体群 (M 個体群) である。Z 個体群の雌は、同種の M 個体群の雄と交尾をせず、同じ Z 個体群内の雄のみと選択的に交尾する行動が見られる。一方、Z 個体群の雄は、M 個体群の雌と交尾することが可能であり、生殖的隔離が不完全なために、これらの個体群は種分化の初期段階にあると考えられている。

Z 個体群と M 個体群の間に交尾前生殖的隔離を生み出す「行動」に関わる遺伝子を染色体上にマッピングし、3 つの染色体を合わせて少なくとも 14 の遺伝的要素が二つの個体群間の行動の違いを規定していることを明らかにした。さらに、突然変異マーカーを利用して 2 つの個体群の組み換え系統をつくり、その行動を比べることにより、交尾前生殖的隔離に関連する遺伝子が、第 2 及び第 3 染色体上のどの位置に存在するかを精査し、Z 個体群の雌が交尾相手を選択する遺伝子、及び、この個体群の雄が雌に選ばれる性質または行動を規定する遺伝子が、第 2 染色体と第 3 染色体上の複数の領域にあること、また、これらの要素が形質発現に及ぼす効果には非相加的なものもあることなどを明らか

にした。これらの結果から、この交尾前隔離行動には、多くの遺伝子の変化を伴った非常に複雑な遺伝的背景があることが明らかになった。

交尾前隔離行動と染色体の構造変化との関係を検討した結果、明確な対応関係はみとめられず、逆位と正常個体の染色体間でも、多くの遺伝的要素が行き来していることが示された。これは、この種内においては染色体逆位の果たす役割はごく限られていることを示している。

染色体上の遺伝子マッピングの結果を補強するために、まったく別のアプローチで当該遺伝子を含む領域の特定を試みた。複数の遺伝子マーカーを導入した M 個体群と Z 個体群を交雑させ、染色体が組み換えにより完全に断片化して混ざった雑種個体群を用意した。次に、統計的解析により第 3 染色体上のマーカー遺伝子の頻度と生殖的隔離行動との相関をみることで、これらのマーカー遺伝子の周囲に交尾行動を支配する遺伝子が存在するかどうかを検討した。多くのノイズの存在が予想されたが、大きいサンプルサイズを用いた大規模な実験により、前記 1 で第 3 染色体上にマッピングされた領域と、ほぼ一致する結果が得られた。

さらに、キイロショウジョウバエ雌におけるクチクラ炭化水素成分構成の多型が個体群間での交尾前隔離に関与している可能性を、16 個体群について精査し、Z 個体群内では生殖的隔離行動の強さと 5,9-heptacosadiene の割合との間に高い正の相関が見られことを発見した。

そこで、この炭化水素構成を支配する遺伝子座を決定し、この多型の分子レベルの進化パターンの推定を試みた。まず、組み換えを利用した遺伝学的マッピングにより 87B-C の 13kb 内にクチクラ炭化水素成分の違いを引き起こすサイトがあることがわかった。この 13kb 内で 1 つのサイトのみが、調べた 44 個体群すべてにおいて表現型と遺伝子型と相関を示したことから、それがこのクチクラ炭化水素成分構成の多型を支配していると考えられた。このサイトは、第 3 染色体上に 2 つタンデムに並んでいる脂肪酸不飽和化酵素の一方の *Fad-dup* 遺伝子のプロモーター領域に存在した。近縁種である幾種かの塩基配列より考えると、祖先型はアフリカのタイプで、その他の系統では、*Fad-dup* のプロモーター領域に 16bp の欠失領域のあることがわかった。

以上、本研究では、キイロショウジョウバエ種内個体群間の交尾前生殖的隔離について、遺伝子座の存在する位置を染色体上の狭い領域レベルで特定し、行動的隔離に関わる遺伝子が 14 以上存在すること、さらにこの交尾前隔離行動に関わる遺伝子の 1 つが、脂肪酸不飽和化酵素のプロモーター領域の欠失という分子レベルの変異であることを確定した。これらの成果は、動物の種分化にともなう遺伝的変化の実態を理解する上で重要な発見を含んでおり、学術的に高く評価される。よって、審査員一同は、高橋文が博士（農学）の学位を受けるに十分な資格を有するものと認めた。