

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12102

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24570001

研究課題名(和文) ショウジョウバエにおける異種由来ヌクレオポリンの組合せが引き起こす生殖的隔離

研究課題名(英文) *Drosophila* reproductive isolation caused by the interspecific incompatibility among nucleoporins

研究代表者

澤村 京一 (SAWAMURA, Kyoichi)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：90247205

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：キイロショウジョウバエではオナジショウジョウバエ由来の核膜孔複合タンパク質によって生殖的隔離が引き起こされる。本研究では核膜孔複合の中核となる2つのヌクレオポリン(Nup160とNup96)の間に相互作用があること、この2つだけでは雑種致死を引き起こすには不十分であること、Nup96はNup160と違って単独では雑種雌不妊を引き起こさないことを明らかにした。雑種不和合の遺伝的機構は単純ではない。

研究成果の概要(英文)：Nuclear pore proteins from *Drosophila simulans* cause reproductive isolation in *D. melanogaster*. The present study clarified (1) two scaffold nucleoporins (Nup160 and Nup96) interact each other, (2) these two nucleoporins are necessary but not enough to cause hybrid inviability, and (3) Nup160 alone causes hybrid female sterility but Nup96 does not. Thus, genetic system of hybrid incompatibility is not simple.

研究分野：進化遺伝学

キーワード：生殖的隔離 ショウジョウバエ 核膜孔 ヌクレオポリン 雑種致死 雑種不妊 遺伝的不和合 種分化

1. 研究開始当初の背景

キイロショウジョウバエ雌とオナジショウジョウバエ雄の交配では、不妊の雑種雌のみ生まれ雑種雄は幼虫で致死となる。また、親の雌雄を入れ替えた交配では、不妊の雑種雄のみ生まれ雑種雌は胚で致死となる。これまで雑種致死を救済する遺伝子の解析によって、これら雑種致死の原因となる遺伝子が同定されてきた。ヘテロクロマチン結合タンパク質 *Lhr*、*Hmr*、サテライト DNA 配列の *zhr*、核膜孔複合タンパク質 (ヌクレオポリン) の *Nup160*、*Nup96* である。本研究で対象とした *Nup160* および *Nup96* は、雑種雄でキイロショウジョウバエ由来の当該遺伝子が欠損している (すなわち、オナジショウジョウバエ由来の対立遺伝子のみが存在する) ときに、オナジショウジョウバエの *Lhr* 変異体で雑種致死を救済できなくなる遺伝子として知られている。また、キイロショウジョウバエの遺伝的背景においてオナジショウジョウバエ由来の *Nup160* がホモ接合となったとき、雌不妊となる。

2. 研究の目的

キイロショウジョウバエの *Nup160* をオナジショウジョウバエの相同遺伝子に置換した種間イントログレーションは、著者がすでに作製していた。本研究ではまず、キイロショウジョウバエの *Nup96* をオナジショウジョウバエの相同遺伝子に置換した種間イントログレーションを作製した。これらの系統を用いて、以下の疑問に答えるよう研究を計画した。(1)キイロショウジョウバエの遺伝的背景において、オナジショウジョウバエ由来の *Nup96* がホモ接合となったとき、雌不妊となるか？(2)キイロショウジョウバエの遺伝的背景において、*Nup160* と *Nup96* のいずれかがオナジショウジョウバエ由来のホモ接合 (ヘミ接合) もう一方がヘテロ接合のときに、致死となるか？(3)キイロショウジョウバエの遺伝的背景において、*Nup160* と *Nup96* の両方がオナジショウジョウバエ由来のホモ接合 (ヘミ接合) のときに、致死となるか？これらの結果に基づいて、雑種致死および不妊の必要十分条件を検討するとともに、これら以外の遺伝子が遺伝的不和合に関わっている可能性を考察した。

3. 研究の方法

オナジショウジョウバエの BAC クローンより *CG10208*、*Nup98-96*、*mbc* の 3 つの遺伝子を含む領域をサブクローニングし、*P[acman]* ベクター上に挿入した。C31 を利用したターゲット特異的な相同組換えによって、これらの外来遺伝子をキイロショウジョウバエの第 3 染色体 (細胞学的位置としては 68A4) に導入した。さらにこの染色体と *e Nup98-96³³⁹* 染色体 (*e* は 93C7-D1、*Nup98-96* は 95B1-5) との間で組換え起こさせ、*P{w⁺ Nup96^{sim}}* *e Nup98-96³³⁹* 染色体を

作製した (図 1)。ここで *P{w⁺ Nup96^{sim}}* はオナジショウジョウバエ由来の *Nup96* を含む 3 つの遺伝子を持っていること (*w⁺* はスクリーニング用マーカーとして利用した眼色変異) を、また *Nup98-96³³⁹* は *Nup96* の機能欠損変異 (*Nup98* と *Nup96* は 1 つの産物から自己分解によって作られる 2 つのタンパク質であり、*Nup98-96³³⁹* は後者のみが機能欠損) を表わしている。つまりこのようにして得られたキイロショウジョウバエの第 3 染色体は、キイロショウジョウバエの *Nup96* の代わりにオナジショウジョウバエの *Nup96* をコードしており、以下ではこのイントログレーションを *Nup96^{sim}* と呼ぶ。

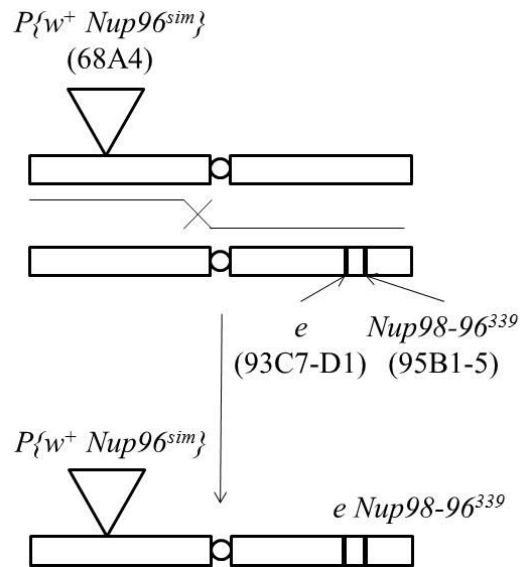


図 1: *Nup96^{sim}* イントログレーションの作製

Nup160^{sim} と *Nup96^{sim}* を用いて、本研究では以下の 3 つを調査した。(1)*Nup96^{sim}* のホモ接合体雌に妊性があるか？(2)キイロショウジョウバエの遺伝的背景において、一方がオナジショウジョウバエ由来のホモ接合 (ヘミ接合) もう一方がヘテロ接合の遺伝子型は致死となるか？(3)キイロショウジョウバエの遺伝的背景において、両方がホモ接合 (ヘミ接合) のときには致死となるか？

4. 研究成果

本研究では、キイロショウジョウバエにおける *Nup160^{sim}* のイントログレーションに加えて *Nup96^{sim}* のイントログレーション作製に成功した。これらの系統を用いた交配実験によって、以下の点が明らかになった。(1)*Nup160^{sim}* のホモ接合体と異なり、*Nup96^{sim}* のホモ接合体の雌には妊性があった。(2)キイロショウジョウバエの遺伝的背景において、一方がオナジショウジョウバエ由来のホモ接合 (ヘミ接合) もう一方がヘテロ接合の遺伝子型は致死とはならなかった (図 2C, D)。(3)キイロショウジョウバエの遺伝的背景において、両方がホモ接合 (ヘミ接合) のときには致死となった (図 2E)。

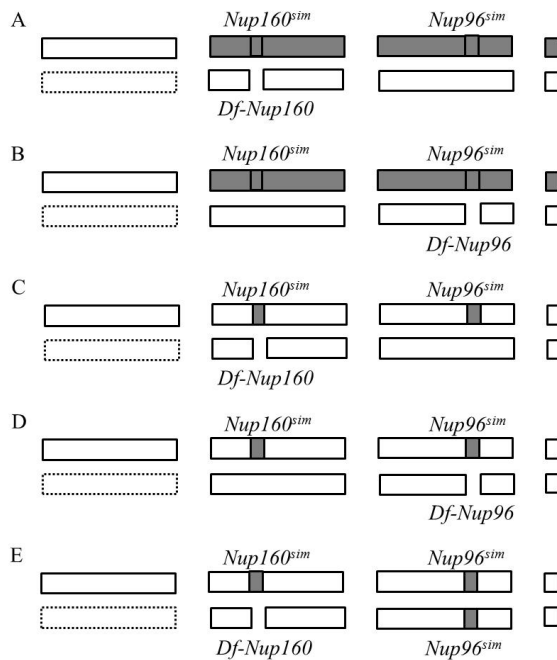


図 2 : 調査個体の染色体構成
左から X 染色体、第 2 染色体、第 3 染色体、
第 4 染色体 ; オナジショウジョウバエ由来
(黒)、キイロショウジョウバエ由来 (白)

ここで Nup160 (酵母におけるホモログは Nup120) および Nup96 (同じくホモログは Nup145C) はいずれも核膜孔複合体の中核をなすヌクレオポリンであり、Nup85 とともに Y 字状に結合して、骨組みを作る。この周囲に約 30 種類のヌクレオポリンが集まることによって核膜孔が形成される。このような情報に基づいて本研究結果を以下のように考察した。

(1) Nup160^{sim} のホモ接合体は雌不妊であったが Nup96^{sim} のホモ接合体の雌には妊性があったことから、Nup96 よりも Nup160 の方が核膜孔複合体の構造に大きな影響を与える部位に存在する、あるいはより多くのタンパク質と相互作用を持っていると推測される。

(2) Nup160^{sim} あるいは Nup96^{sim} がホモ接合 (ヘミ接合) になった種間雑種は致死である (図 2A, B) が、キイロショウジョウバエの遺伝的背景において、一方がオナジショウジョウバエ由来のホモ接合 (ヘミ接合)、もう一方がヘテロ接合の遺伝子型は致死とはならなかった (図 2C, D) ことから、雑種致死には Nup160 と Nup96 以外にもオナジショウジョウバエ由来の遺伝子が必要であり、それはキイロショウジョウバエの対立遺伝子に対して優性であると考えられる。そのような第 3 の遺伝子の候補として、Nup85 (ショウジョウバエにおけるホモログは Nup75) を考えている。

(3) キイロショウジョウバエの遺伝的背景において Nup160^{sim} および Nup96^{sim} がホモ接合 (ヘミ接合) のときに致死となった (図 2E) ことから、Nup160^{sim} と Nup96^{sim} は同

じ遺伝的不和合の 2 つのコンポーネントであると推測される。遺伝的不和合の相手となる因子は未同定である (キイロショウジョウバエの X 染色体にあることは分かっている) が、その候補としては Nup153 や ELYS が考えられる。今後はさらなる種間イントログレーションを作製し、これらの可能性を検討する必要がある。

5 . 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 5 件)

澤村 京二、佐藤 玄、李 昭楊、上村 佳孝、松田 宗男、アナナスショウジョウバエ類における種間浸透の分子生物学的証拠: ペナン島(マレーシア)集団の事例、昆虫 DNA 研究会ニュースレター、査読無、20 巻、2014、41 - 44

<http://ci.nii.ac.jp/naid/40020038816/>

K. Sawamura, K. Maehara, Y. Keira, H. O. Ishikawa, T. Sasamura, T. Yamakawa, K. Matsuno, A test of double interspecific introgression of nucleoporin genes in *Drosophila*, G3 Genes | Genomes | Genetics、査読有、4 巻、2014、2101 - 2106

DOI: 10.1534/g3.114.014027

M. Shirata, Q. Araye, K. Maehara, S. Enya, T. Takano-Shimizu, K. Sawamura, Allelic asymmetry of the *Lethal hybrid rescue (Lhr)* gene expression in the hybrid between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: confirmation by using genetic variations of *D. melanogaster*, Genetica、査読有、142 巻、2014、43 - 48

DOI: 10.1007/s10709-013-9752-3

Q. Araye, K. Sawamura, Genetic decay of balancer chromosomes in *Drosophila melanogaster*, Fly、査読有、7 巻、2013、184 - 186

DOI: 10.4161/fly.24466

K. Maehara, T. Murata, N. Aoyama, K. Matsuno, K. Sawamura, Genetic dissection of *Nucleoporin 160 (Nup160)*, a gene involved in multiple phenotypes of reproductive isolation in *Drosophila*, Genes and Genetic Systems、査読有、87 巻、2012、99 - 106

DOI: 10.1266/ggs.87.99

[学会発表](計 13 件)

新井 健太、澤村 京二、キイロショウジョウバエの実験室系統における集団サイズと近交弱勢、日本遺伝学会、長浜バイオ大学、長浜、2014 年 9 月 19 日

澤村 京一、前原 一慶、計良 陽子、石川 裕之、笹村 剛司、山川 智子、松野 健治、ショウジョウバエにおけるヌクレオポリン遺伝子の種間イントログレッション、日本遺伝学会、長浜バイオ大学、長浜、2014年9月19日

Q. Araye, K. Sawamura, Population size and inbreeding depression in *Drosophila melanogaster* lab strains. Japanese Drosophila Research Conference、金沢歌劇座、金沢、2014年6月5日

澤村 京一、佐藤 玄、李 昭揚、上村 佳孝、松田 宗男、アナナスショウジョウバエ類野外集団における種間浸透：ペナン島（マレーシア）の事例、ショウジョウバエ多様性研究会、国立遺伝学研究所、三島、2013年9月30日

白田 美香、新井 健太、前原 一慶、塩谷 天、高野 敏行、澤村 京一、ショウジョウバエ雑種致死救済効果を抑制する遺伝子の解析、日本遺伝学会、慶応大学、日吉、2013年9月19日

澤村 京一、佐藤 玄、李 昭揚、上村 佳孝、松田 宗男、アナナスショウジョウバエ類の野外集団における一方向的な種間浸透：ペナン島（マレーシア）の事例、日本進化学会、筑波大学、つくば、2013年8月28日

新井 健太、澤村 京一、遺伝的組換えを失った染色体の運命、日本進化学会、筑波大学、つくば、2013年8月28日

澤村 京一、佐藤 玄、李 昭揚、上村 佳孝、松田 宗男、アナナスショウジョウバエ類における種間遺伝子浸透の分子生物学的証拠：ペナン島（マレーシア）の事例、昆虫DNA研究会、東京大学、東京、2013年5月26日

M. Shirata, Q. Araye, K. Maehara, K. Sawamura, Analysis of genes suppressing the lethal hybrid rescue between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*、国際遺伝学会議、マリナ・ベイ・サンズ、シンガポール、2013年4月16日

M. Shirata, K. Sawamura, Suppressor hunting for lethal hybrid rescue between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*、Japanese Drosophila Research Conference、東京慈恵会医科大学、東京、2012年10月13日

K. Maehara, K. Sawamura, A gene causing multiple phenotypes of hybrid incompatibility in *Drosophila*: *Nucleoporin 160 (Nup160)*、Japanese Drosophila Research Conference、東京慈恵会医科大学、東京、2012年10月13日

Q. Araye, K. Sawamura, Genetic decay of balancer chromosomes in *Drosophila*

melanogaster. Japanese Drosophila Research Conference、東京慈恵会医科大学、東京、2012年10月13日

澤村 京一、松田 宗男、アナナスショウジョウバエ類を用いた種分化の研究、日本遺伝学会ワークショップ「ショウジョウバエの進化・集団遺伝学」、九州大学、福岡、2012年9月24日

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.biol.tsukuba.ac.jp/~sawamura/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

澤村 京一 (SAWAMURA, Kyoichi)

筑波大学・生命環境系・准教授

研究者番号：90247205

(2) 研究分担者

松野 健治 (MATSUNO, Kenji)

大阪大学・大学院理学研究科・教授

研究者番号：60318227

石川 裕之 (ISHIKAWA, Hiroyuki)

千葉大学・大学院理学研究科・准教授

研究者番号：00398819