

# 昆虫の DNA が教えてくれること

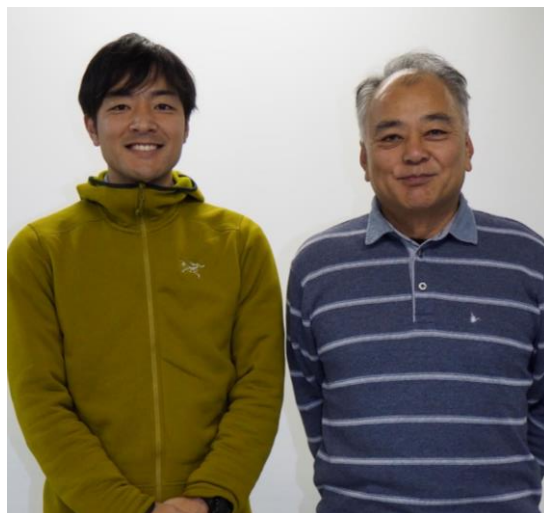
## —日本列島の昆虫進化史から繁殖戦略まで—

### 鈴木信夫先生

日本女子体育大学教授(昆虫学)、日本昆虫学会・日本節足動物発生学会会員。理学博士。小金井市で子供たちの自然観察教室の指導スタッフとしても活動をしている。自然観察大学講師【おもな著書】「校庭の昆虫」(全農教、共著)、「昆虫発生学 上」(培風館、シリアゲムシ目分担)、「フィールドガイドシリーズ 昆虫ウォッチング」(平凡社、ヤマトシリアゲ分担)

### 鈴木智也先生

信州大学理学部博士研究員(進化生物学)。理学博士。日本昆虫学会・日本動物学会・信州昆虫学会会員。主にコオイムシ類を材料として胚発生、分類、分子系統地理、繁殖生態などの研究を展開している。信州大学および武蔵野大学で非常勤講師。【おもな著書】「水生半翅類の生物学」(北隆館、分担)、「Species Diversity of Animals in Japan」(Springer、分担)



じつはこのお二方は親子です。親子講演のテーマが DNA で、しかもコオイムシを題材にすると、なんとというすばらしいことでしょう。できすぎかもしれませんね。

このレポートで掲載した写真と図はすべて鈴木信夫・鈴木智也(禁無断転載)

## 第1部 DNA の塩基配列データから系統樹を描く 鈴木信夫

### ● 中立進化説

ダーウィンは、有利な変異に注目して、進化のメカニズムをうまく説明しました。しかし、集団遺伝学者の木村資生は、生存に有利でも不利でもない、中立的な突然変異をもった個体も生き残ると考えました。木村の中立進化説から導き出される、「様々な突然変異が遺伝子 DNA の中に、時間とともに蓄積されていく」という考えが、生物の進化を解き明かす新たなヒントになりました。

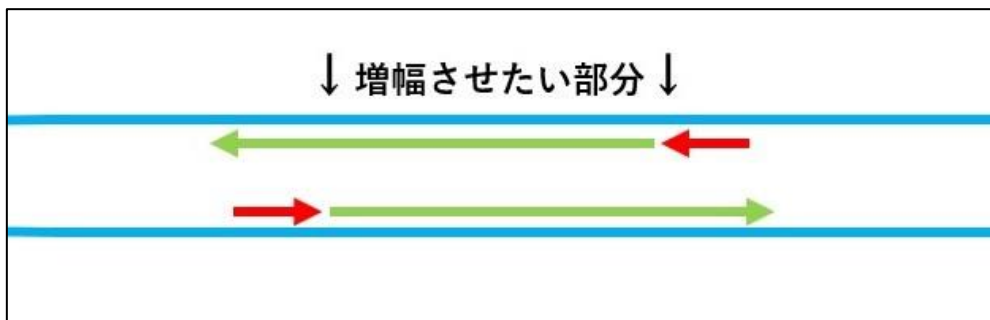
### ● 突然変異は、いつ起こる

細胞が分裂するとき、分裂前に DNA 量を 2 倍にすることで、分裂後の細胞に振り分けられる DNA の量は保たれます。このように、細胞分裂のときに DNA はコピーされるのですが、約 100 億回に 1 回、コピーミスが起こります。このミスは、突然変異として DNA の中に時間とともに蓄積されていきますが、この突然変異を見つけるためには、DNA の塩基配列を知る必要があります。

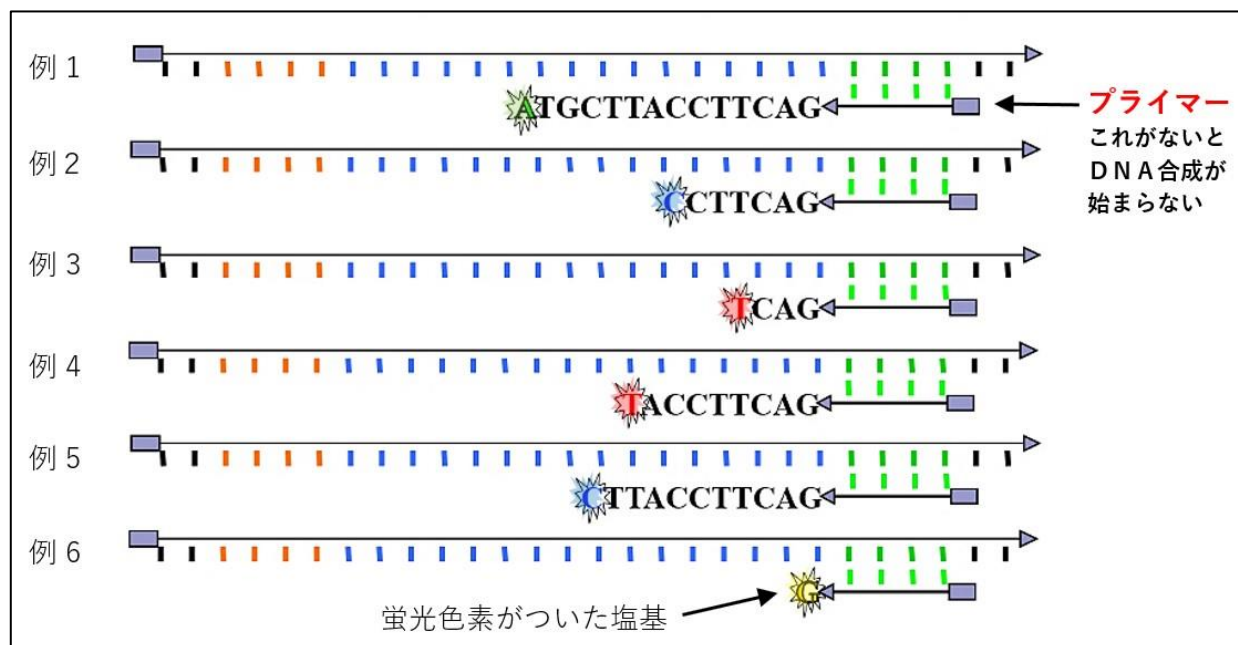
### ● 塩基配列を決定する

DNA の塩基配列を知るには、目的の DNA のコピーが大量に必要です(理由は後述します)。人工的に DNA

のコピーを作るには、まず DNA の入った実験液を 90°C 以上にして、無理やり 2 重らせんをほどきます。実験液には、4 塩基 (A・T・G・C)、DNA 合成酵素やプライマー (下図の赤い矢印) も入れておきます。次に温度を少し下げて、ほどけた DNA (下図の青い線) にプライマーを結合させてから、少し温度を上げると、酵素がプライマーの先に DNA 鎖を合成していきます (下図の緑色)。この手順を 30 回ほど繰り返すと、目的の DNA の数は、初めの約 10 億倍に増えます。



大量の DNA のコピーができたなら次の実験です。方法は上記とほぼ同様ですが、違いは実験液に蛍光色素つき (以下、色つき) の 4 塩基も入れる点です。酵素が DNA 鎖を延ばす際に、色つき塩基が使用されると、酵素はその先に塩基をつなげられなくなり、合成はストップします (下図)。いつ色つき塩基が使われるかは、偶然に支配されます。つまり DNA のコピーが大量にあれば、いきなり色つき塩基を取り込んで、一つ目でストップした最短の断片 (下図の例 6) から、最後まで伸び続けた最長断片まで、全ての長さの DNA 断片を作ることができるのです。



DNA はマイナスの電気を帯びているので、上記の方法で作った DNA 断片をスタート地点に並べ、ゴール側をプラスに帯電すると、軽い (= 短い) 断片から順番にゴールします。ゴールラインにレーザー光線を使うと、ゴールのたびに蛍光色素が光ります。塩基の種類ごとに違う色に光るので、その色で塩基の種類が特定されて、塩基配列が決定できるのです。

- 塩基配列の違いから系統樹を描く

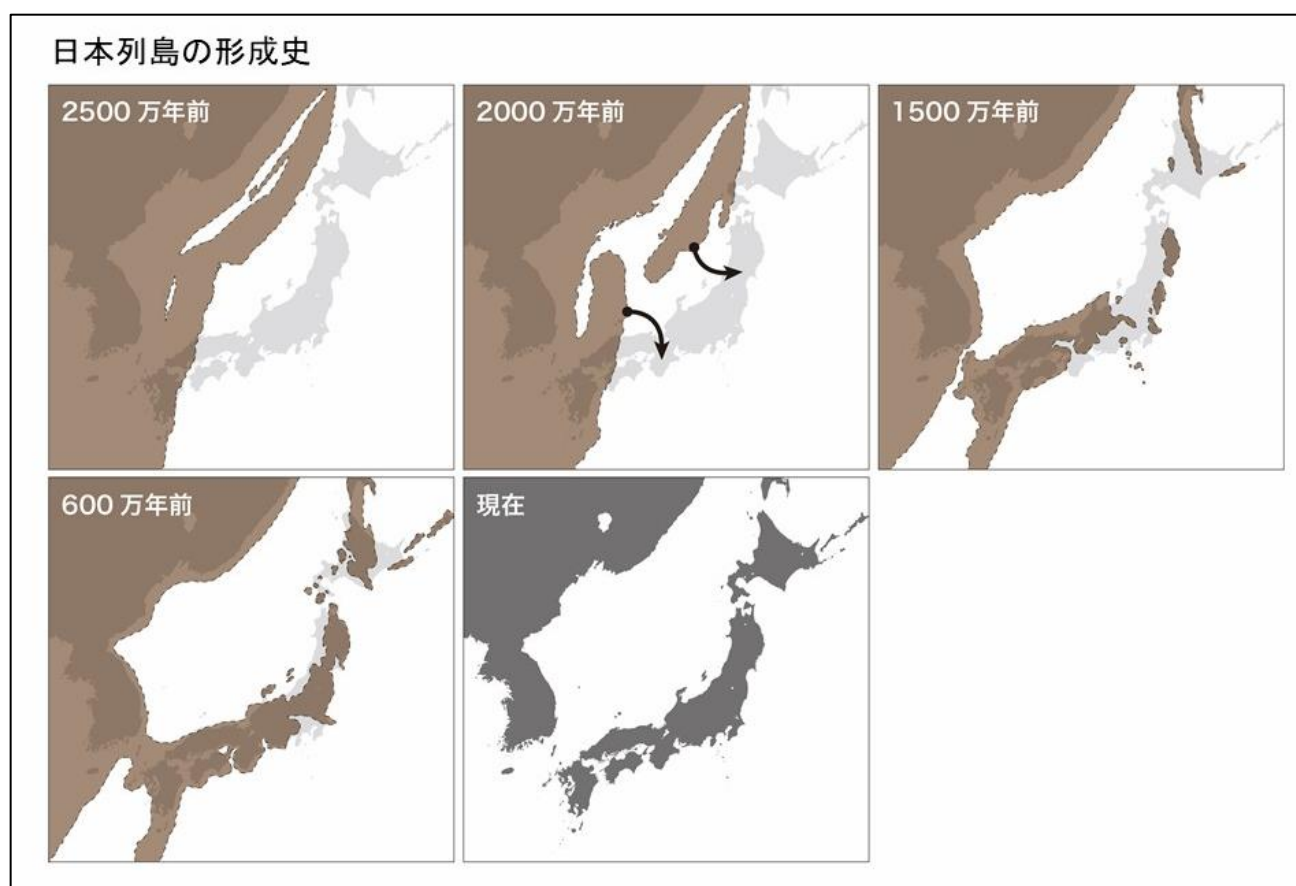
系統樹を描くために、分析する生物の全ての遺伝子 DNA を調べる必要はありません。特定の遺伝子を比較すればいいのです。わかった DNA 配列データに、置換・挿入・欠損といった突然変異の部分を考慮して、全体を整列させてから、系統樹を描くことになります。実際には、系統解析アプリを使用して、系統樹を描きます。

## 第2部 昆虫の DNA が教えてくれること

-日本列島の昆虫進化史から繁殖戦略まで- 鈴木智也

- 東アジア産コオイムシ類2種の進化史

日本列島は約 2000 万年前に大陸から離裂して島嶼化した後、氷期間氷期サイクルに起因する陸橋の形成と消失を繰り返した複雑な地史を持っています。



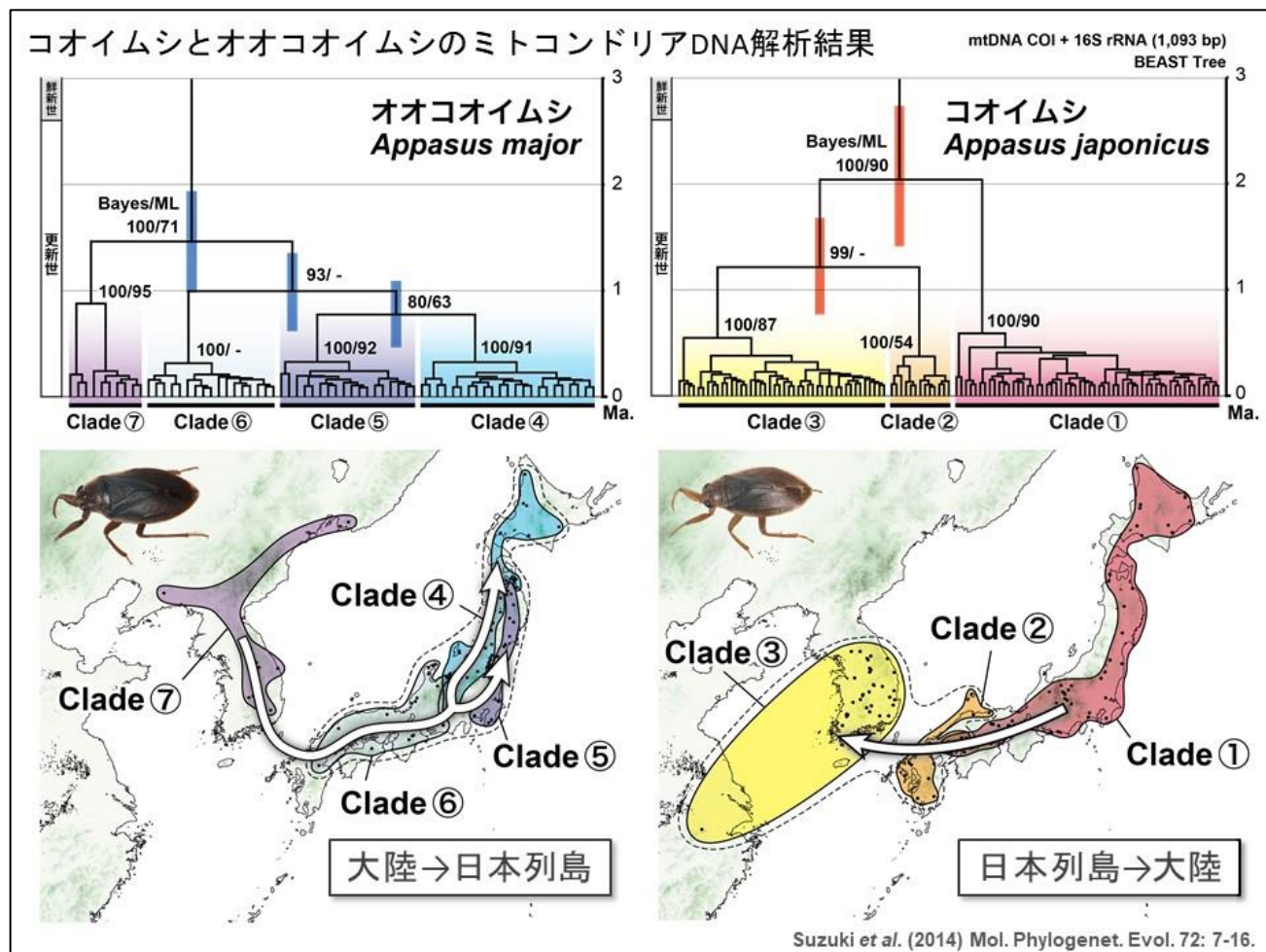
Otofuji et al., 1985; Iijima & Tada, 1990; Tada, 1994; Taruno, 2010; Kawamura, 2014

その結果、大陸と列島間の集団の接続と分断化が何回も繰り返されることで、複雑な分散が生じてきました。加えて、日本列島内のほぼ全域における活発な地殻その結果としての山岳形成は、日本列島の生物多様性の創出にも大きく寄与してきました。このような状況から、日本列島は世界的な生物多様性のホット

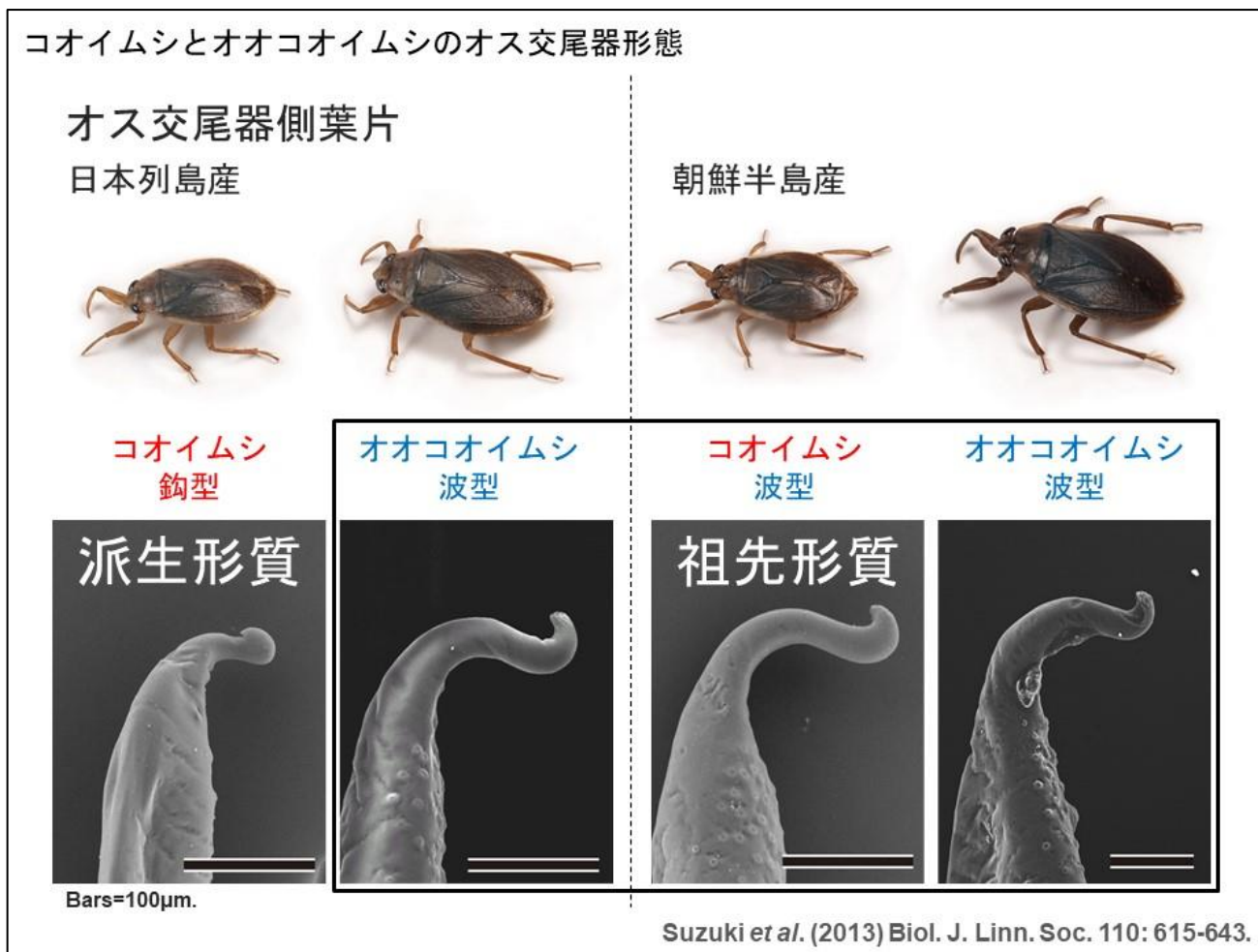
スポットとされています。私たちは、日本列島、朝鮮半島、中国北東部に分布するコオイムシに着目して研究を展開しています。

コオイムシが属するコオイムシ亜科の昆虫は、雄が卵塊を背負い、卵塊が孵化するまでの世話を雄が単独で行うというユニークな繁殖戦略をもつ水棲カメムシ類です。このように雄が単独で仔の世話をする行動を「父育 paternal care」と言います。雄は雌との交尾後に自身の背に産卵させ、孵化するまで卵塊を保護します。私たちはこれまで東アジア産コオイムシ類のコオイムシとオオコオイムシを材料にして、1. ミトコンドリア遺伝子の解析に基づく分子系統地理学的研究、2. ミトコンドリア遺伝子と核遺伝子の分子系統解析および形態的解析に基づく系統分類学的研究を展開してきました。

その結果、ミトコンドリア遺伝子の分子系統解析からは、①コオイムシとオオコオイムシは日本列島形成時(約1000万年前)に日本列島と大陸で異所的に種分化したこと、②コオイムシは日本列島個体群が祖先的であり、オオコオイムシは大陸個体群が祖先的であること、③コオイムシは日本列島から大陸へ、オオコオイムシは大陸から日本列島へ分布を拡大し、現在は2種の分布域が大きくオーバーラップしていることが明らかとなっています。



さらに、系統分類学的研究からは、④コオイムシは日本列島と朝鮮半島の個体群間で雄交尾器側葉片形態が異なること(日本列島が鉤型、朝鮮半島が波型)、⑤コオイムシの雄交尾器側葉片形態は日本列島の鉤型が派生的であることが明らかになっています。



これらの結果のうち②と⑤は、日本列島産コオイムシはミトコンドリア遺伝子系統では祖先的である一方で、雄交尾器形態では派生的であるという矛盾を含んでいます。そこで私たちは、コオイムシにおける核遺伝子の遺伝的構造と交尾器形態の関係性を明らかにすることを目的とし、SSR マーカー・11 座を使用して核遺伝子の遺伝的構造を明らかにしました。

その結果、①朝鮮半島個体群と日本列島個体群間の遺伝的交流がないこと、②日本列島内では広く遺伝的交流があること、③日本列島内のミトコンドリア遺伝子と SSR 解析（核遺伝子）で検出される遺伝的構造が異なることを明らかにしました。

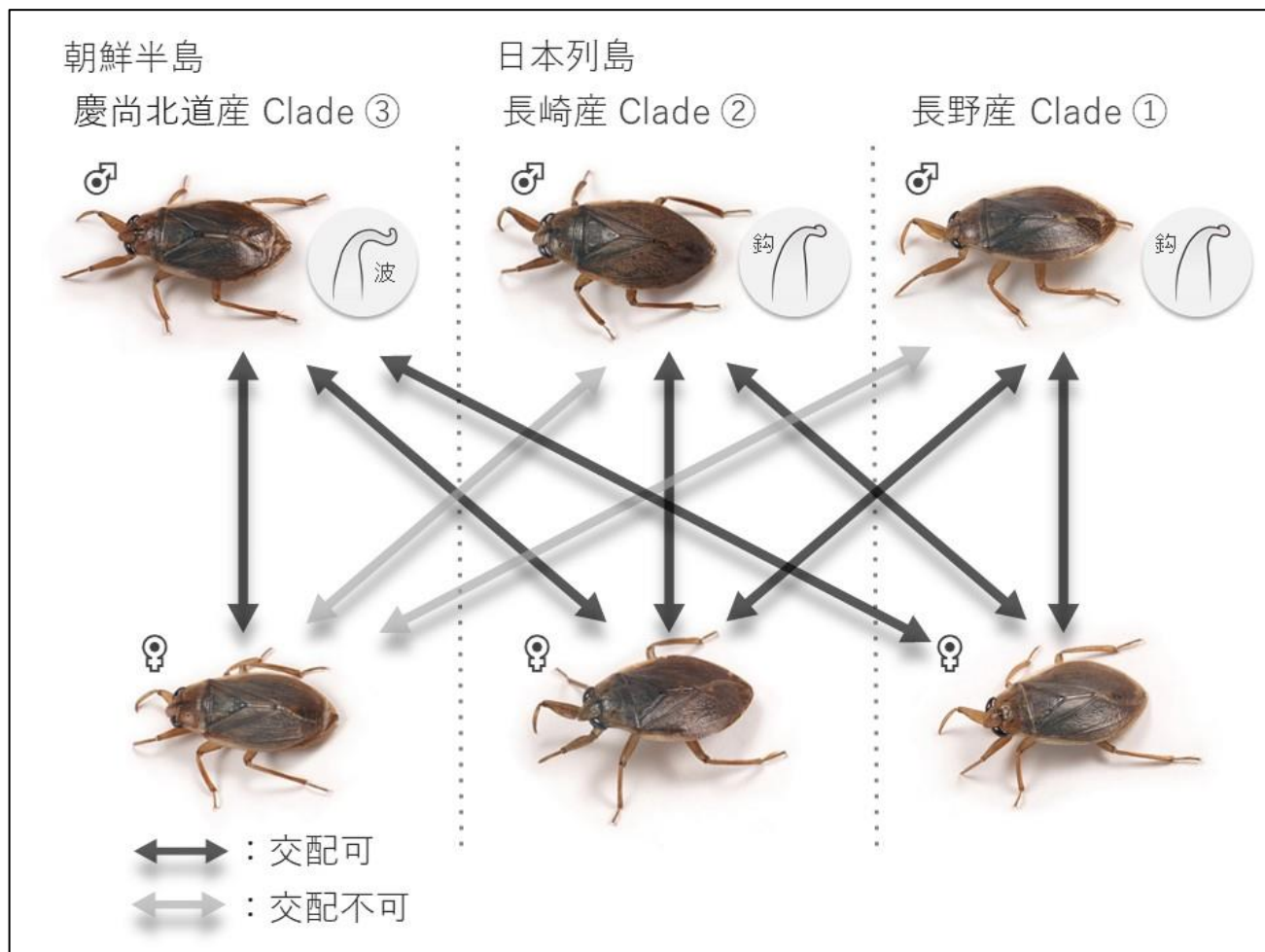
SSR 解析で新たに得られた結果とこれまでに得られている結果を合わせて考察すると、日本列島産コオイムシにおける鉤型の交尾器形態は、対馬海峡形成後に日本列島集団内に固定されたことが見えてきたのです。さらに、核遺伝子とミトコンドリア遺伝子の集団構造に齟齬が認められたことから、雌雄の移動分散能力が異なる可能性が見出されました。

さらに、私たちは交尾器形態が異なる集団間で繁殖が可能であるか否か、また異なる遺伝的集団間で交配が可能であるか否かについて実験的検討を試みました。異なる遺伝的集団に属する松本、長崎、全羅南道（朝鮮半島）の3産地のコオイムシ



鈴木智也先生

を用いた交配実験を実施した結果、遺伝的には大きく分化しているものの交尾器形態に差異のない松本と長崎の集団間では交配が可能であることが明らかとなりました。また、交尾器形態が異なる朝鮮半島・全羅南道産雄は日本列島(松本・長崎)産雌と交配が可能である一方、日本列島(松本・長崎)産雄は朝鮮半島産雌とは交配できないという大変興味深い結果が得られました。上記の実験から得られた結果は、コオイムシにおける地理的分断がもたらす異所的種分化の初期段階を検出したものと考えられます。



● SSR マーカーによる父性解析から見たコオイムシの繁殖戦略

DNA の情報は系統関係の推定のみではなく、個体の特定や親子判定などにも有用です。はじめにも述べたように、コオイムシ亜科昆虫は、交尾後に雌が雄の背に卵塊を産み、雄は幼虫が孵化するまで卵塊を背負いながら卵の発生段階に応じた世話をするというユニークの繁殖行動を進化させたグループです。この行動により卵の孵化率が高まるとされていますが、卵塊を背負いながらの世話に伴うコストのみならず、捕食圧が高まるリスクもあります。

また、一般的に父育行動は父性が確実な場合に進化することが知られていますが、オオコオイムシにおいては雄が背負う卵塊内の 28.4%の卵が他雄の精子によって受精された卵である可能性が先行研究によって示されています。これは、コオイムシ類の繁殖様式が乱婚型であるため、雌の受精嚢内で多数の雄の精子が混在し、精子競争が生じていることが要因であると考えられます。このような状況であれば、雌との交尾により受精はするものの、卵を背負うことなく逃げてしまうような「やり逃げ」雄が存在する可能性が考え

られますが、そのような検証はこれまでなされていません。そこで私たちは、体表への標識により個体識別した雌雄 20 個体ずつのコオイムシを約1か月間にわたり、自由交配させる集団飼育を行い、その後、17 座の SSR マーカーを使用して、この繁殖実験に用いた全ての個体と孵化した幼虫を対象とする遺伝子解析を実施し、親子関係を推定しました。その結果、コオイムシにおいても父性が確実ではないことが明らかとなりました。さらには、卵塊を背負わずとも子孫を残していた「やり逃げ」雄の存在が示唆されました。この結果は、「雄の種内托卵」行動という極めて珍しい現象を検出したものであると言えます。

.....

質疑応答でも活発なやり取りがあり、多くの方が注目しているテーマであることがわかりました。講師のお二方には、難しい話をわかりやすく話していただきました。ありがとうございました。