

2014年7月30日（水） 10:30~17:00

首都大学東京「リカレント生物学」

## 講義①「最近の昆虫研究から生物学的手法の発展について考える」

朝野継起先生

### 講義のアウトライン

#### ●ゲノム配列情報の重要性

生物間の比較

昆虫科学の可能性

#### ●私が見てきた／やってきた研究

自然免疫

メラニン化／外骨格形成

#### ●ゲノム配列解析コストの変遷

最初は1億ドル

→技術が発達して、「1000ドルゲノム」時代へ。

#### ●ゲノム配列解析の技術革新

・生命情報学（バイオインフォマティクス）  
読んだ配列をつなげていく、などの処理が向上した。

・次世代シーケンサー  
安く、大量のデータを得られる

1サンプル×600塩基

から、

2500万×500塩基

の処理が可能に！

※ただし、ただ読めばいいのではなく、その後のデータ処理が必要。

#### ●Nature 誌におけるゲノム関連論文

2013年8月 ヤシ

2014年1月 エレファントシャーク、ネアンデルタール人

2014年6月 ユーカリ、クシクラゲ

※ただ読めばよい、という時代ではない。配列の解読と分析がセット。だから、今でも Nature

でそれなりにゲノム関連の論文が出ている。

### ●昆虫は地球上で（陸上で）最も成功した動物と言われている

- ・動物種の8割以上
- ・総バイオマスが大きい
- ・環境への適応力

### ●人と昆虫の深い結びつき

- ・生産（絹、蜂蜜）
- ・伝染病
- ・災害
- ・趣味

昆虫の研究者は、他の無脊椎動物と比べてものすごく多い。

### ●ゲノムが読まれた昆虫

すでに50種類くらい解読されている。

i5K：昆虫ゲノム5000種計画

### ●自然免疫研究のノーベル賞

Toll 受容体による免疫反応の活性化

今までの「免疫」は、「一度かかった病気に二度かからない」しくみを学ぶものだった。しかし、最近では自然免疫の重要性が今まで以上に認識されてきた。

### ●自然免疫研究における昆虫研究の貢献

- ・抗菌性ペプチドが初めて発見されたのは昆虫
- ・抗菌性ペプチド合成のしくみ（Toll 受容体など）は昆虫の研究が貢献
- ・異物認識（バクテリアやカビなど）

認識分子の発見。

### ●抗菌ペプチドの発見

1970年代 ショウジョウバエの体内に抗菌活性

1980年 セクロピア蚕から抗菌ペプチドを単離

※タンパク質や生体分子を分離する技術があまり発展していなかったため、大きな昆虫を何匹もつぶして、最初の材料量を大きくして精製した。

抗菌ペプチドは、基本的にはプラスに帯電していて、細胞膜に刺さって、そこで何かを入

れて殺す(?)

※細胞膜の「脂質の組成」の違いによってささるかささらないかが決まると考えられている。

脂肪体細胞 (Fat body cells) で合成されている。

※ヒトでもこういうペプチドが見つかっており、それがうまくつくと、湿疹が出やすいという症例がある。

### ● Toll 経路の重要性

ショウジョウバエはけっこうカビた環境でもへっちゃら。

でも、Toll がダメになるとすぐに死ぬ。

Toll 経路により、抗カビペプチド (ドロソマイシン) の発現が誘導される。

(ノーベル賞受賞の研究)

### ● 胚発生と Toll

※後で要確認

### ● PAMPs

病原体特異的に存在する分子に特有にみられる分子パターン

ペプチドグリカン認識タンパク質は昆虫で初めて見つかった。

Toll 経路を活性化 e t c...

### ● ホフマンとルーメトル (かつてホフマンの弟子)

ホフマンがノーベル賞をとったことに対し抗議。

ルーメトルが研究しようとしたらホフマンは止めた。でもあきらめなかったからノーベル賞につながった。

でも、最初のきっかけや、その後の自然免疫研究の牽引も含めてホフマンが受賞したのではないだろうか。

### ● 新しい免疫応答性の因子を探索する

- ・ 二次元電気泳動による解析 (感染前後でどんなタンパク質が増えているか調べる)
- ・ DNAチップによる解析 (RNAの様子を調べる)

### ● カイコを使った実習例

- ① 大腸菌をカイコに注射

- ②カイコの血液を採取（針をさしてそこから出す）
- ③大腸菌を塗布した寒天培地にたらす
- ④血液をたらしただけの部分には大腸菌が増えない

細菌が侵入したときにどんな応答が起こるかをきわめて簡単に確かめることができる。

※一度熱してから注射している。タンパク質の白いかたまりがでてくる。遠心分離で除く。  
※ペプチドはタンパク質と違って小さいので、一度熱しても常温に戻すと立体構造が元に戻ることもある。

### ●外骨格の外傷部位に生じるメラニン合成

メラニン合成酵素を活性化させる経路が動く。  
→メラニンが合成される。

※外骨格をこすると、基本的にはどんなものもメラニン化する。

カニの殻にある傷（黒い斑点あり）

※なぜこするとメラニン合成が活性化するのか？

- ・もともと表面に存在していた細菌がぬりこまれた可能性
- ・生じた「傷」そのものが影響している可能性（細胞損傷によってDNA等が細胞外に出てきたことを認識？）

※メラニンがどのように役に立っているか今はまだよくわかっていない。

メラニン合成をロックアウトしても生存率に影響がない。

またメラニン合成が過剰になっているものも、生存率に影響がない。

### ●大西洋産タラにみられるTLRの多様性

2012年のNature論文

脊椎動物なのに、血液に抗体が見つからない。

調べてみると、抗体をつくるのに必要な遺伝子が欠損していた。

Tollの遺伝子をみてみたら、すごく多様なTLRを持っていることがわかった。これで様々なものに対応??

### ●昆虫に存在する2種類のメラニン合成酵素

- ・ラッカーゼ
- ・フェノール酸化酵素

### ●ラッカーゼ

メラニン化に関係

殻をかたくするのにも関係している

※もともとウルシで見つかった。漆器を堅くしていき反応と同様の反応を昆虫は殻を堅くするのに使っている。

### **おまけの話題：クシクラゲ**

分類学上、どこに位置づければよいかかわからなかった。

地球の生命の歴史で「神経」のシステムが一度しか進化しなかったと考えられていた。しかし、クシクラゲがカイメンよりも原始的だとすると、筋肉・神経が独立にそれぞれの枝で進化したと考えられる。クシクラゲの神経も発現してる遺伝子が違う。神経伝達物質も、グルタミンだけが他の生物と共通していて、他は全然違う物質を使っている。おもしろい生き物である。

### **おまけの話題：昆虫と甲殻類の関係**

昆虫と甲殻類は違う仲間

→系統寿により「近い仲間」とわかる

→さらに、昆虫は甲殻類の中で枝分かれした集団と言われるようになった。

(大野注) 従来の甲殻類は、「甲殻類」と「昆虫」を含む手段の側系統ということになる(?)

### **個人的な疑問**

※「ラッカーゼやフェノール酸化酵素は脊椎動物のチロシナーゼと同じ反応に関わる」とあるが、同じ反応を触媒するのになぜ異なる名前がつく？活性部位が共通？それ以外は調節領域？

※ヒトの抗菌物質はどのくらいある？いつ合成されている？感染がきっかけ？それともいつでも？

## 講義②「シダ植物を例とした生物多様性解析の現状と他分野との関係」

角川洋子先生

### 講義のアウトライン

- 1、生物多様性解析における分子マーカー情報の活用
- 2、種分化研究における遺伝地図ベースでの研究  
集団遺伝学、量的遺伝学

#### ●量的遺伝学

量的形質の統計遺伝学解析

ある形質を「持っているかないか」ではなく、「どれくらい種をつけるか」というような量的な形質を調べる。

作物関係でよく使われる。

対応するのは「減数分裂によってもたらされる遺伝的多様性」だろうが、高校生物の教科書の印象としては内容がうすい、という感じ。

#### ●陸上植物の種分化

25万種以上に多様化。

別な環境に進出することで、異なる淘汰圧により自然選択が起こり、種分化が起こる。  
生殖的隔離・分断性淘汰

#### ●種分化過程で起きる適応進化が生物多様性を生み出す原動力

3つの生物多様性の話題

#### ●種の持つ独自のニッチ

・生物学的種概念

「生殖的隔離」だけに注目していると研究の過程では不都合なことがある。そこで、以下の概念が登場。

・結合的種概念

「遺伝子流動のある範囲」あるいは「同一の安定化選択が作用しうる範囲」  
自然選択圧に対する適応的な形質がどのような好ましい対立遺伝子の組み合わせで生じる

か？

(後半の部分が新しい)

### ●自然選択を調べるために

- ・完全な生殖的隔離がある場合  
→DNAバーコーディングによる生物種の同定が可能
- ・生殖的隔離が不完全な場合  
→遺伝地図ベースの種分化研究

## 1、生物多様性解析における分子マーカー情報の活用

### ●着生植物の進化

シダ植物の「ウラボシ科」は600種。  
ほとんどは着生植物。

「チャセンシダ類」  
シマオオタニワタリ  
上からふってきた枯れ葉等をためて栄養分にする。

多くは複葉だが、シマオオタニワタリは単葉。  
わかりやすい形質で差異を見いだすのが困難。

### ●隠蔽種

形態形質の差異は明確ではないが、生殖的隔離がある。  
→シマオオタニワタリの隠蔽種を調べてみることに。

88個体について *rbcL* の塩基配列を調べると、遺伝的なタイプがいくつかに分類できることがわかった。

Aタイプ～Eタイプまで分類。  
すると、生育環境のうち標高の違いが関係していることがわかった。  
AタイプとBタイプは同じような標高。  
しかし、Aタイプは樹木の根本の方、Bタイプは樹木の上の方に生えるという違いがあった。

同じ隠蔽種は同じニッチェを占める。

### ●溪流沿い植物

溪流沿いと「細い」葉にはることがある。  
研究材料  
ヤシャゼンマイとオオバヤシャゼンマイ

細葉形質は平行的に進化してくるので、適応的な形質と考えてよい。

それでは、「溪流での適応的な形質とは？その遺伝的な背景とは？」  
これをヤシャゼンマイで研究

オオバヤシャゼンマイでは、F2以降の雑種である可能性のあるものがいた。

これ以降、難解な内容のためメモと理解が追い付かず・・・

## 個人的な疑問とそれに対する先生の回答

### ※なぜ連鎖地図で解析する？次世代シーケンサーで調べればいいのか？

→ゲノムサイズの問題。次世代シーケンサーで調べても数%くらいしか読めない。  
使うだけなら、一回で数十万円とかで使える。  
でも、印象としてはまだまだエラーがある。

### ※ゲノムサイズの小さいものをターゲットに研究した方がよいのか？

適応進化や種分化を扱おうとすると、「わかりやすい形質の差異」が見られ、かつそれらが「適応的」とみなせるような題材が必要。  
ゲノムサイズ云々の研究のしやすさだけではなく、そのような視点で面白いテーマを探してくる（結果としてゲノムサイズが大きくて大変ということはあるが・・・）。

### ※結合的種概念とは？生物学的種概念の何が問題で、それがこの概念でどのように解決された？

→（以下、お話を伺って勝手な解釈でまとめました。間違っていたら申し訳ありません）  
結合的種概念とは、「遺伝子流動のある範囲」あるいは「同一の安定化選択が作用する範囲」  
生殖的には隔離されていないけれど、それぞれの集団で安定化がはたらいっている集団がある。

溪流沿いの「ヤシャゼンマイ」と、川から離れたところにいる「ゼンマイ」

細葉など、明らかな形質の差異が見られる。

交配可能なので、遺伝的交流がある。実際に境界領域には、雑種の「オオバヤシャゼンマイ」が存在している。

遺伝的に交流可能だけど、「実際にしていない」集団がある。

これは、地理的に隔離されているわけではないけれど、異なる環境で異なる淘汰圧（この場合には“溪流環境”が当たる）がかかることにより、集団が安定化する。安定化した集団は、異なる淘汰圧により安定した集団とは異質な集団をつくっていく。

交配はまだ可能な段階だけれど、これらの集団は「別種」とみなすことができる（つまり、種分化が起きたとみなす）。

また、ここでの例、ヤシャゼンマイとゼンマイという異なる2種の交配によって生じたオオバヤシャゼンマイは「雑種」であり、種分化とは異なる。

雑種は、それらの交配により子孫を残すことがない。

（雑種がそのまま種分化につながる例もなくはないが、稀らしい）

## 講義③「東京近郊の野生両生類の保全～現状と課題」

草野保先生

### 講義のアウトライン

- 首都大キャンパス内でのカエル、イモリの「移植」の試み
- 「移植」による効果と今後の課題

#### ●なぜ両生類か？

評価対象種を決めて、絶滅危惧種がどれくらいいるかをまとめてみると・・・  
両生類は、調べた62種のうち3割以上が絶滅危惧種。

#### ●影響を与える要因

生息地の破壊、分断化  
移入種（ウシガエル、アライグマ）  
農薬（ネオニコイド系）  
病気（ツボカビ）  
過剰な採取（ネットを通じたマニアックな需要？）

#### ●両生類の特徴

・殻を持たない無防備な卵  
→環境汚染に弱い  
・透過性で弱い皮膚  
・一生の間に2つの生息場所を利用  
よい水場とよい林  
※陸でも水でも生きられる「万能な生物」ではなく、どちらもなければ生きられず、環境要求性が高い  
・乏しい移動力、生まれた場所への執着  
→狭い地域に隔離。逃げ出せない。

だから・・・

環境の微細な変化に反応→個体数の減少、絶滅  
※両生類の変動を調べることで微細な環境変動のモニタリングに使えるのではないか、という発想

#### ●東京都の水田面積の変遷

どんどん水田は減っている。

## ●首都大学キャンパス内の「イモリ池」

7種類の両生類が生息。

1991年当時は、トウキョウサンショウウオとモリアオガエルはいなかった。

→「移植」を試みることにした

→定着し、自然集団として繁殖。

## ●個体群保全のための施策

- 1、生息地の保全
- 2、幼生期の生存率の改善
- 3、個体群の復元
  - ・移植先の選定
  - ・移植元の選定
  - ・移植方法
  - ・モニタリング

「移植」というのが、保全のための一つの重要な手段になるのではないだろうか、という問題意識から。

## ●移植手順

・個体群動態モデルというのをつくって、何度もシミュレーションしてどのような移植がよいかを検討する。

・親の移植はダメ（影響が大きい、元の生息地への執着が強いetc...）

・卵か幼生で移植する。95%は生体にならずに死ぬ。

死ぬ危険な時期な生後1～2週間にヤゴなど水生昆虫に食われてしまう。

→ある程度まで研究室で育てれば、捕食者に食べられる率が下がる（3～4週間でよいことがわかった）

サンショウウオ2卵塊、モリアオガエルは1卵塊

モリアオガエルは5シーズン、サンショウウオは7シーズン移植を繰り返した。

## ●サンショウウオの個体数変動（何対か）

移植後、定着までの10年程度（増減を繰り返しながら）

20対くらいで安定した。このままいくか？

2000年代後半に突如増加。2013年には80対に。2014年には60対に減った。

このあとどうなる？

## ●トウキョウサンショウウオ

指の骨をヘマトキシリン染色すると「年輪」が見えるので年齢がわかる。

24才のものもいた。かなり長生き。

飼っているものは30才を超えるものもある。

### ●卵死亡及び一腹卵数に影響を与える要因の解析（時計モデル）

降雨量、気温 e t c...

→一番影響を与えていたのは「繁殖メスの数」、つまり個体群密度

繁殖メスが多いと、一腹卵数は減少

個体群密度が多い年は死亡率も高い。

※気象条件はあまり相関が見られなかった。

「繁殖メスの数」の次影響があったのが卵死亡率と「日最低気温」（寒いと卵死亡率が高い）それ以外の気候条件での影響は見られていない。

### ●「イモリ池」でのイモリの個体数の増減

2回大きく減った。

1回目は、子供による乱獲？

2回目は、ウシガエル（大きなひょうたん池からやってくる）

ツチガエルは全く見られなくなった。

シュレーゲルアオガエルはいったんいなくなったが、また細々と見られるようになった。

ウシガエル駆除のためのトラップをしかけて対策。もとを断つためにひょうたん池でのトラップ設置

→イモリ池でもひょうたん池でもウシガエルの成体は見られなくなった。

### ●今後の課題

- ・ウシガエルの根絶
- ・池の環境整備
- ・モニタリングの継続
- ・ツチガエルの復活？

### ●その他の話題

※ツボカビの話

2000年代にツボカビが世界的に大きな問題になったときに日本の両生類も調査された。ツボカビは世界で30種くらいいる。

その多くはもともと日本にいた。

在来の両生類の多くは、実はすでにツボカビに感染していることがわかった！

だから、「共存」できちゃっている。

むしろ、日本の両生類が世界に持ち込まれて、そのツボカビが「共存」できていない海外の両生類に感染して悪影響を出した。

※両生類が増えると、それに付随しては虫類、鳥類、ほ乳類も増えてくる。ヘビとかタヌ

キとか。

### **個人的な疑問**

※保全の価値をどう訴える？

※「保全」を理解するためにはどのような知識・理解が必要？