

( 続紙 1 )

京都大学	博士 ( 理学 )	氏名	YAN Xiaochan
論文題目	Genetic basis of species differentiation in Sulawesi macaques, Indonesia (インドネシアのスラウェシ島固有のマカクにおける種分化の遺伝的基盤)		
(論文内容の要旨)			
<p>One of the greatest challenges faced by evolutionary biologists is to explain the world's enormous biodiversity. The group of <i>Macaca spp.</i> on Sulawesi Island have undergone rapid morphological and coat color changes from their closest common ancestor. By studying Sulawesi macaques, the candidate aimed to explore: 1. What are the important traits that have diversified, and what are the genes and gene combinations underlying those traits (Chapter 2), 2. How do gene functions change and how do they shape phenotypic differentiation (Chapter 3). In Chapter 2, the genome-wide sequencing between five neighboring species were conducted to explore genetic variation contributing to species differentiation. Using the sequence capture library for exon regions, in total, four pairwise species comparisons were made between <i>M. nigra vs M. nigrescens</i>, <i>M. nigrescens vs M. hecki</i>, <i>M. nigrescens vs M. tonkeana</i> and <i>M. tonkeana vs M. maurus</i> with ~10 individuals in each species. It was found that hundreds of thousands of SNPs were completely differentiated (<math>F_{st}=1</math>) between species. Further analysis showed that the genes categorized to pigmentation was significantly enriched in the differentiated genes. Several differentiated SNPs located in key pigmentation genes were predicted to cause functional consequence of the proteins. Specifically, a key pigmentation related gene, melanocortin-1 receptor (MC1R) was found to have differentiated SNPs in all four pairwise species comparisons. These results suggested that genes related to pigmentation largely diverged between species and contributed to species differentiation. To clarify the genetic and evolutionary basis for coat color variation in Sulawesi macaques, in chapter 3 the functional consequence of species-specific variants of MC1R was investigated using an <i>in vitro</i> expression system. cAMP production activities were compared between MC1R from six Sulawesi species <i>M. nigra</i>, <i>M. nigrescens</i>, <i>M. hecki</i>, <i>M. tonkeana</i>, <i>M. maurus</i>, <i>M. ochreata</i>, and outgroup <i>M. nemestrina</i> and corresponding mutants. Species specifically fixed variants of MC1R showed different functional characteristics in the six species. Six species-specific variants corresponded with variation in agonist-induced and basal activity. Inconsistent with the dark coat color, four substitutions independently caused decreases in the basal activity of MC1R in four species, while <i>M. maurus</i> specific mutation caused an increase of activity. Fixed genes useful for genetic markers shaping species differentiation were detected. Because the pigmentation system of Sulawesi macaques should be related to conspecific mate recognition system, further study is expected to elucidate the color patterning mechanism as well as MC1R functions. Sulawesi macaques are a good model for elucidating the genetic basis of speciation during a short period allopatric separation.</p>			

(続紙 2 )

(論文審査の結果の要旨)

インドネシアのスラウェシ島には固有のマカク類が生息し、6種または7種に分類されている。北から毛色が黒色に近い*M. nigra*、*M. nigrescens*、より毛色が薄く部分的に白色の部分もある*M. hecki*、*M. tonkeana*、そしてさらに毛色の薄い*M. maurus*、*M. ochreata*である。これらはブタオザル (*M. nemestrina*) との共通祖先から分岐した集団が、スラウェシ島各地で適応放散したと考えられている。これまで遺伝的な近縁性や形態学的な類似度が議論されてきたが、それに関与する遺伝子は明らかになっていなかった。

本研究では、各種約10個体のゲノムDNAを調製し、エキソンキャプチャー法により遺伝子領域の遺伝子配列の種間、種内比較を行った。また、一部の遺伝子についてはコードするタンパク質を培養細胞で発現させ、その機能を種間で比較検討した。

その結果、各種に特異的な遺伝子配列を同定することができた(第2章)。特に、遺伝的分化度の指標であるFst値が1の完全に分化している遺伝子は、隣接する二群間で約500~800個存在し、そのうち色素形成に関与する遺伝子が20~50個を占めた。*M. nigra*、*M. nigrescens*、*M. hecki*、*M. tonkeana*、そして*M. maurus*の間で完全に分化している遺伝子は10~11個であったが、そのうちには毛色の形成に関わることが知られているmelanocortin-1 receptor (MC1R)等の遺伝子が含まれていた。遺伝子全体の中に色素関連遺伝子が占める割合に比べて、完全に分化している遺伝子中に含まれる色素関連遺伝子の割合が高いことから、色素関連遺伝子が種分化と関連している可能性を示唆した。

第3章では、種ごとに非同義置換を示すMC1R遺伝子の機能について、培養細胞系を用いた発現系実験により、二次メッセンジャーであるcAMPの産生能を比較検討した。まず、MC1Rタンパク質そのものの示すcAMP産生能は、いくつかの種特異的な非同義置換により多様化していることがわかった。MC1Rを活性化するリガンドである $\alpha$ MSHを添加した時の活性も、種ごとに異なる事がわかった。しかし、これらのMC1Rの活性化効率と毛色の間には、明確な相関は見いだせなかった。MC1Rは種間のマーカーであることになるが、その果たす機能は未知のままである。毛色やそのパターンは同種間の認識をする上で重要と考えられているが、パターン形成等の分子メカニズムについては今後も検討が必要な課題である。ただし、実際にタンパク質の機能を検討したことにより、種特異的な遺伝子配列の違いが果たす役割を明確にする道筋をつけたことは評価できる。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。また、令和4年7月6日、論文内容とそれに関連した事項について試問を行い、その結果をもって令和4年7月13日に霊長類学・野生動物系教員会議で合格と認めた。

要旨公表可能日： 年 月 日以降