

平成 30 年 5 月 16 日現在

機関番号：11301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15H04419

研究課題名(和文) グッピーにおける雌配偶者選好性の個体間変異と可塑性の進化機構の解明

研究課題名(英文) Evolutionary mechanisms for individual variation of female choice in the guppy

研究代表者

河田 雅圭 (KAWATA, MASAKADO)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：90204734

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,800,000円

研究成果の概要(和文)：グッピーを用いて、成育時の光環境とカロテノイドの影響に焦点を当て、遺伝子型の変異とDNAメチル化によるエピジェネティックな変異が雄の体色に対する雌の配偶者選好性の個体間変異に与える影響を調べた。オプシン遺伝子の発現量は、光感受性と雄体色に対する雌の選好性に影響し、その発現量は、成育時の光環境とオプシン遺伝子LWS-1の遺伝子型との交互作用によって影響されることがわかった。またオプシン遺伝子の発現量の遺伝子と環境との交互作用は、DNAメチル化率によるものと示唆された。カロテン高摂取により、目では、光順応に関する遺伝子が、脳では、神経伝達に関係する遺伝子においてDNAメチル化が増加した。

研究成果の概要(英文)：We examined the effects of genotypes and DNA methylation variations on visual sensitivity and female preference to male body colors, focusing on light environments during growth and carotenoid intakes in the guppy, *Poecilia reticulata*. The results showed that genetic polymorphism and light environment in habitats can contribute to variation in opsin gene expression levels and subsequent visual sensitivity and female preference for male body color. The genotype and environmental interactions were partly caused by difference in DNA methylation rates of CG sequences along controlling regions of opsin genes. The whole genome bisulfite sequence analysis showed that in the brains and eyes in Guppies fed by high concentration of carotenoid foods, genes for light sensitivity and regulating synaptic membranes were detected genes with higher h DNA methylation rates.

研究分野：進化生態学

キーワード：性選択 可塑性 DNAメチル化 オプシン グッピー

1. 研究開始当初の背景

集団内で維持される遺伝的変異や表現型の多様性の存在は、環境変化に対する進化的応答、病気の抵抗性、集団維持に影響する (Takahashi, et al. 2014)。その維持機構の解明は、進化生態学の長年の重要な課題である。淡水魚であるグッピー (*Poecilia reticulata*) は、雄の体色が個体ごとに異なり、その多様性は知られている表現型多型の中で最も顕著なものの一つとして注目されている。

これまで、雄の体色の多様性の維持機構について多くの研究が行われてきた。多様性維持に関わる要因として、雄のカラーパターンに対する雌の選好性の個体間変異と選好性が環境条件で変化する可塑性に焦点が当てられてきた。グッピーの雄には、様々なカラースポットや構造色があるが、特にオレンジスポットに対する雌の選好性の個体間変異が重要とされる。その色彩を構成する主要な色素はカロテノイドであり、食物から得る。雄のオレンジスポットの彩度(鮮やかさ)や大きさに対して雌が選好性を示すという傾向は、多くの論文で報告され、グッピーにとって最も重要な性選択形質である。しかし、選好性を示さない集団や個体の報告もある。また、カロテノイド欠乏のエサで成育した個体は、オレンジスポットに対する選好性が高まることが知られ (Grether et al. 2005)、選好性は環境やエサによって変化するという可塑性を示す。このことから、雌配偶者選好性の個体間変異と可塑性が、雄の形質の多様性維持を解明する鍵となっていると考えられているが、その生成維持機構と進化機構については不明である。

雌の選好性の進化機構の一つとして感覚バイアス説がある。グッピーでは、オレンジ色の光波長をよく感受するとき、雌はオレンジ色をもつ雄を好むという考えである。グッピーの原産国において、オプシン遺伝子の集団内・集団間の変異を調べ、より長波長を感受する赤型オプシンである LWS-1 と 3 において、異なる環境で異なるアレルが選択され、集団分化していることを明らかにした Tezuka et al. (2014)。さらに、溶存酸素量が低く、藻類の多いと思われる水環境で、より短波長のアレル LWS-1(A) が選択され、透明な水環境で、よりオレンジ色を感受するアレル LWS-1(S) が選択されていることを示した (Tezuka et al. 2014)。

オレンジスポットの彩度と大きさは、藻類から摂取するカロテノイド量と相関があり、雄の藻類採餌能力との関係が示されている Karino and Shinjo (2007)。カロテノイドが欠乏している環境で、雌は、オレンジの鮮やかな雄を選好することで、採餌能力の高い雄を選ぶ結果になるという説がある (Grether et al. 2005)。これらから、カロテノイド量の環境間の違いが選好性の個体間変異を維持しているという仮説が立てられる。また、雌の配偶

者選好性がオプシン遺伝子の吸収波長と発現量に影響を受け、その発現量は光環境などによって可塑的に変化する機構として、カロテノイド欠乏や成育時の光環境による色覚の変化、および、成育時に餌として取り込むカロテノイドによってエピジェネティックな行動の変化(特に DNA メチル化の変化による)が生じるという仮説が考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、成育時の光環境とカロテノイドの影響に焦点を当て、オレンジスポットに対する雌の配偶者選好性の個体間変異と可塑的变化の生成維持と進化機構を解明することを目的とし、以下を実施した。(1)光環境の違いとオプシン多型が、色覚と雌選好性の個体間変異にどう影響するか、(2)カロテノイド欠乏による雌選好性の変化がゲノム DNA のメチル化と関係しているかを検証し、雌選好性の違いに関わるメチル化部位を特定する。

これらにより、オプシン多型の維持機構、色覚が選好性の変異・可塑性にどの程度影響しているか、メチル化が選好性の可塑性に影響しているか、を明らかにする。

3. 研究の方法

[1]光環境とオプシン多型が色覚と選好性におよぼす効果：沖縄の自然集団から妊娠した雌個体を採集し、生まれた子どもを交配することで、LWS-1 のホモ接合個体 AA (吸収波長=562nm) と SS(571nm)を作成し、性育時の光環境を白色光、緑光、オレンジ光で育てた。性成熟後、オプトモータ行動実験による光感受性の測定と雌は、オレンジ体色の大きい雄 (LO) と小さい雄 (LO) のビデオ画像を見せ、雌の選好性を測定した、その後、オプシン遺伝子の発現量を測定した。さらに、オプシン遺伝子発現のコントロール領域の近くの CG 配列のメチル化率と発現量との関係をみた。

[2]光環境とオプシン多型が色覚と選好性におよぼす効果：高 β カロテン条件 (エサ中の β カロテン 0.6%)、低 β カロテン条件 (エサ中の β カロテンなし) の 2 条件で飼育した集団を作成した。 β カロテンの摂取量がメスの眼と脳に与える DNA メチル化状態の変化を検出するために、全ゲノムバイサルファイトシーケンスを行い、各条件で DNA メチル化状態が異なる遺伝子を検出した。

4. 研究成果

[1]光環境とオプシン多型が色覚と選好性におよぼす効果：

オプトモータ行動実験の結果、532nm と 600nm の光波長に対して、LWS1 の SS 型の個体は AA 型に比べて高い光感受性を示した (図 1)。さらに、光感受性は、成育時の光環境によって影響され、特に AA 型では、緑光で育った時の感受性が増大した (図 1)。

光感受性は、特に *LWS-1* の発現量と相関することが示され、発現量が高いほど、532nm と 600nm の光波長に対しての光感受性が高まることがわかった(図 2)。

オプシン(*LWS-1*, *LWS-2*, *LWS-3*, *SWS1*,

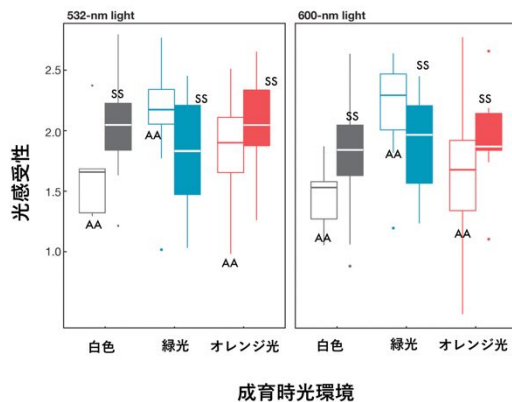


図 1. 成育時の光環境と *LWS-1* 遺伝子型と光感受性

SWS2-A, *SWS2-B*, *RH2-1*, *RH2-2*) の発現量は互いに相関するので、主要因解析により要約した。PC1 軸に相関するオプシン発現量が増大するほど、HO 雄への滞在時間が増大した。

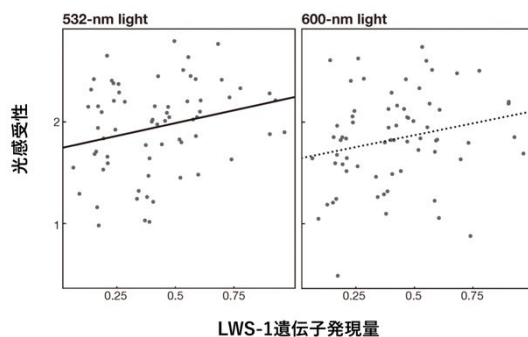


図 2. *LWS-1* の発現量と光感受性

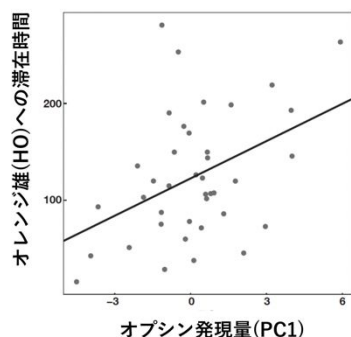


図 3. 複数のオプシン遺伝子発現量とオレンジ雄への選好性

LWS-1, *LWS-2*, *LWS-3* および *SWS2-A*, *SWS2-B* のコントロール領域近辺の CG 配列の DNA メチル化とオプシン遺伝子発現との関

係を調べた。1つの CG は、成育時の光環境で DNA メチル化率に差があり、*LWS-2* の発現量と相関した。また、もう1つの CG サイトは、SS 型は CG であるが、AA 型は CG 配列でない場合があり、遺伝子型により DNA メチル化率に差があり、それが *SWS2* と *LWS-2* の発現量と相関した。

これらのことから、複数のオプシン遺伝子の発現量は、成育時の光環境と *LWS-1* の遺伝子型によって影響を受け、遺伝子と環境との交互作用があることがわかった。また、オプシン遺伝子の発現量は、光感受性および雄のオレンジ体色(特にコントラストの大きさ)の選好性に影響することがあきらかになった。さらに、オプシン遺伝子の発現量は、光環境によって変化する部位の DNA メチル化率と遺伝子型によって異なる DNA メチル化率を示す CG サイトがあり、DNA メチル化率と *LWS-2* および *SWS2* の発現量との相関がみられたことから、オプシン遺伝子の発現量の遺伝子と環境との交互作用は、DNA メチル化率によるものと示唆された。

[2]光環境とオプシン多型が色覚と選好性におよぼす効果

眼の高 β カロテン条件で DNA メチル化が増加していた遺伝子として色覚関連遺伝子が多く (14/45 遺伝子)、脳の高 β カロテン条件で DNA メチル化が増加していた遺伝子には神経伝達に關係する遺伝子が多く見られた (13/43 遺伝子)。眼において、低 β カロテン条件と比べて、高 β カロテン条件で DNA メチル化率が有意に増加した遺伝子のうち、視覚と色覚に關連する遺伝子が検出された。

検出された遺伝子のうち、イオンチャネルをコードする *CNGB3* と、錐体ロドプシンキナーゼの機能を持つタンパク質をコードする *GRK7A* は相同なゼブラフィッシュの遺伝子は錐体で発現するため、グッピーにおいても色覚に關与していると推測され、色の感受全体に影響を与えうる遺伝子である。脳において、神経細胞における DNA メチル化はシナプスやニューロンでの神経伝達の膜興奮性を低下させたり、記憶や学習に影響を与えたりすることが報告されている。このことから、 β カロテンの摂取量は色覚だけでなくメスの情動や運動能力、再交配の回避などの配偶に關連する形質や行動を多面的に変化させていることが考えられた。

<引用文献>

Grether, G. F., G. R. Kolluru, F. H. Rodd, J. de la Cerda, and K. Shimazaki. (2005) Carotenoid availability affects the development of a colour-based mate preference and the sensory bias to which it is genetically linked. *Proceedings of Royal Society of London B* 272: 2181–2188.

Karino, K. and S. Shinjo (2007) Relationship Between algal-foraging ability and expression of sexually selected traits in male guppies. **Zoological Science** 24: 571–576

Takahashi, Y., K. Kagawa, E. I. Svensson and M. Kawata (2014) Evolution of increased phenotypic diversity enhances population performance by reducing sexual harassment in damselflies. **Nature Communications** 5: 4468

Tezuka, A., S. Kasagi, C. van Oosterhout, M. McMullan, W. M. Iwasaki, D. Kasai, M. Yamamichi, H. Innan, S. Kawamura, and M. Kawata (2014) Divergent selection on opsin gene variation in guppy (*Poecilia reticulata*) populations of Trinidad and Tobago. **Heredity** 113, 381–389

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 6 件)

Tamagawa, K., T. Makino and M. Kawata (2017) The effects of CpG densities around transcription start sites on sex-biased gene expression in *Poecilia reticulata*. **Genome Biology and Evolution**, 9: 1204-1211. doi: 10.1093/gbe/evx083 (査読あり)

Arai, E., Hasegawa, M., Makino, T., Hagino, A., Sakai, Y., Otsuki, H., Wakamatsu, K., Kawata, M. (2017) Physiological conditions and genetic controls of phaeomelanin pigmentation in nestling barn swallows. **Behavioral Ecology**, 28 : 706-716. doi:10.1093/beheco/axx012 (査読あり)

Melin, A. D., Chiou, K. L., Walco, E. R., Bergstrom, M., L., Kawamura, S. and Fedigan, L. M. (2017). Trichromacy increases fruit intake rates of wild capuchins (*Cebus capucinus imitator*). **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, 114: 10402-10407. doi: 10.1073/pnas.1705957114 (査読あり)

Kawamura, S., Kasagi, S., Kasai, D., Tezuka, A., Shoji, A., Takahashi, A., Imai, H., Kawata, M. (2016) Spectral sensitivity of guppy visual pigments reconstituted in vitro to resolve association of opsins with cone cell types. **Vision Research**, 127:67-73. doi:10.1016/j.visres. 2016.06.013 (査読あり)

Sakai, Y., H. Ohtuki, S. Kasagi, S. Kawamura and M. Kawata (2016) Effects of light environment during growth on the expression

of cone opsin genes and behavioral spectral sensitivities in guppies (*Poecilia reticulata*). **BMC Evolutionary Biology**, 16:106 doi: 10.1186/s12862-016-0679-z (査読あり)

Melin, A. D., Wells, K., Moritz, G. L., Kistler, L., Orkin, J. D., Timm, R. M., Bernard, H., Lakim, M. B., Perry, G. H., Kawamura, S. and Dominy, N. J. (2016). Euarchontan opsin variation brings new focus to primate origins. **Molecular Biology and Evolution**, 33: 1029-1041. doi: 10.1093/molbev/msv346. (査読あり)

[学会発表](計 8 件)

酒井祐輔(代表発表者)、河村正二、河田雅圭:グッピーにおいて錐体オプシン遺伝子の多型が色覚およびメスの配偶者選好性に与える影響」日本進化学会第19回大会, 2017

酒井祐輔(代表発表者), 大槻 朝, 笠木 聡, 河村正二, 河田雅圭:グッピーにおいてオプシンの遺伝子多型と発現量変化が光感受性とメスの配偶者選好性に与える影響, 日本生態学会第64回全国大会, 2017年

稲田垂穂(代表発表者), 青木翔子, 酒井祐輔, 満行知花, 鶴井香織, 辻和希, 陶山佳久, 河田雅圭:グッピーの“少数派好き”が受ける恩恵:カラーパターンの違いは遺伝的距離を反映するか? 日本生態学会第64回全国大会, 2017年

酒井祐輔(代表発表者), 稲田垂穂, 青木翔子, 鶴井香織, 満行知花, 陶山佳久, 辻和希, 河田雅圭:沖縄の移入グッピー集団における色覚の遺伝的分化、第18回日本進化学会, 2016年

Sakai, Y. (代表発表者), H. Ohtsuki, S. Kasagi, S. Kawamura, M. Kawata. The effects of light environment during the growth on the expression levels of cone opsin genes and behavioral spectrum sensitivity in the guppy, *Poecilia reticulata*. 第63回日本生態学会, 2016

稲田垂穂(代表発表者), 佐藤綾, 牧野能士, 河田雅圭:グッピーのメスの脳で発現する配偶者選好行動に関わる遺伝子、第63回日本生態学会, 2016

稲田垂穂(代表発表者), 俵山寛司, 河田雅圭:グッピーにおける遺伝子改変技術の開発 日本進化学会第17回東京大会, 2015年

Sakai, Y. (代表発表者), H. Ohtsuki, S. Kasagi, S. Kawamura, M. Kawata. Variation of absorption spectrum and gene expression pattern of red opsins under different light environments and its effect on behavioral spectral sensitivity in guppies, *Poecilia reticulata*. XVth Congress of the European Society for Evolutionary Biology, 2015

6. 研究組織

(1) 研究代表者

河田 雅圭 (KAWATA, Masakado)

東北大学・生命科学研究科・教授

研究者番号：90204734

(2) 連携研究者

牧野 能士 (MAKINO, Takashi)

東北大学・生命科学研究科・准教授

研究者番号：20443442

河村 正二 (KAWAMURA, Shoji)

東京大学・新領域創成科学研究科・教授

研究者番号：40282727

狩野 賢司 (KARINO, Kenji)

東京学芸大学・教育学部・教授

研究者番号：40293005