

平成 21 年 5 月 1 日現在

研究種目：基盤研究(B)  
 研究期間：2006 ～ 2008  
 課題番号：18370009  
 研究課題名（和文）グッピーの色覚に影響する視物質遺伝子の多様性：雌の配偶者選好の変異と関連づけて  
 研究課題名（英文）Polymorphisms of genes for visual pigments in guppies: with relation to variation of female choice  
 研究代表者  
 河田 雅圭 (KAWATA, MASAKADO)  
 東北大学・大学院生命科学研究所・教授  
 研究者番号：90204734

## 研究成果の概要：

本研究では、グッピー(*Poecilia reticulata*)の赤型オプシン遺伝子の維持気候の解明に向けて研究を行った。この研究によってグッピーの視物質遺伝子をすべて同定し、LWS-B, C, D 以外の吸収波長を特定した。さらに、沖縄に生息する移入個体を用いて、光感受性を調べる行動実験を行い、LWS-B と LWS-C から同定できる遺伝子型の違いが緑波長領域の感受性の違いに影響を与えていることが示された。また、グッピー原産地のトリニダッド2集団の個体を LWS-B と LWS-A の配列を決定し、集団遺伝的解析を行った、Aripo 川下流の集団で LWS-B に関して平衡選択の可能性が示唆された。

## 交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2006 年度	6,300,000	1,890,000	8,190,000
2007 年度	4,400,000	1,320,000	5,720,000
2008 年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
年度			
年度			
総計	15,000,000	4,500,000	19,500,000

研究分野：進化生態学

科研費の分科・細目：生態・環境

キーワード：色覚遺伝子、遺伝的多様性、多型維持、性選択

## 1. 研究開始当初の背景

集団内・集団間において、どのようなメカニズムで変異（表現型や遺伝的）が維持されているのかという問題は、進化生態学上最も重要な問題の一つであるが、まだ十分に解明されていない。特に性選択に関わる性質（雌の選好性や雄の性的形質）の集団内・集団間変異の研究は、「性選択によって減少すると予測される変異

がどのような機構で維持されているのか」「変異の大きさは性選択にどのような影響を及ぼすのか」「変異は種分化や集団分化を促進するか」という問題として近年注目されている。これまでの雌の選好性の変異の研究では、表現型変異を対象として研究が行われてきた。関係する性質の変異をあ引き起こす遺伝子の変異を直接調べることで、遺伝子型頻度や

遺伝子頻度の動態から、自然選択や遺伝的浮動の影響を推定することが可能になる。

グッピー (*Poecilia reticulata*) は古くから性選択や自然選択のモデル生物として、非常に多くの研究が行われてきた。グッピーの雄の体にみられるオレンジや黒などのカラースポットの大きさ、彩度、明度、コントラスト、数などが集団内・集団間で大きな変異があることが知られる。雌は、オレンジや黒のスポットに対して選好性をもっていることも確かめられ、同様に、雌の選好性に対しても集団内および集団間で変異があることが報告されている。これら雄の体色の変異や雌の選好性の変異が高いレベルでグッピー集団になぜ維持されているかは、多くの研究が行われているが、依然未解決の問題である。グッピーの雌が雄のオレンジ色のスポットの雄を好むという行動の起源として、オレンジ色に対する感覚刺激が影響していると考えられている。グッピーがオレンジ色を好むのは、オレンジ色をした果実 (*Sloanea laurifolia*) に反応するためだという研究がある。色覚に重要な働きをしているのがオプシンから構成される視物質である。これまで、顕微分光法による先行研究でグッピーの赤・緑感受性視細胞に最大吸収波長 (どの光の波長をもっともよく吸収し反応するか) に多型があることが指摘されていた。研究分担者である河村正二らは、本研究申請者との共同研究によって、グッピーの視物質遺伝子 (=オプシン遺伝子) を単離・同定することにはじめて成功した。その結果5つの赤型オプシン遺伝子座 (LWS opsin genes) があり、そのうちの2座位において、2つ以上の対立遺伝子があることが示された。このLWS遺伝子の多型が色覚の変異と関係し、また色覚変異には、雌の雄の婚姻色に対する選好性についての変異に影響しているものと考えられる。

## 2. 研究の目的

本研究の目的は、色覚の違いを引き起こすオプシン遺伝子の変異がなぜ高い割合で維持されているのかを、雌の選好性の変異の維持と関連させて、いくつかの仮説を検証するための基礎情報を得ることである。本研究では、(1) オプシン遺伝子の変異の実態を明らかにし、(2) 個体の光感受性の違いおよび(3) 雌の選好性に影響しているかを検討する。また、原産地に集団を用いて、オプシン遺伝子の変

異に自然選択が働いているかどうかを検討することを目的とする。

## 3. 研究の方法

(1) オプシン遺伝子の変異と吸収波長  
RFLP で検出された SWS, RH, LWS 遺伝子座のオプシン遺伝子の配列を特定し、11 シスレチナールと視物質を再構成し、吸収波長を特定する。

(2) LWS オプシン遺伝子型と光感受性

実験には日本に移入し野生化した2つのグッピー集団 (沖縄県我部祖河及び静岡県下田市で採集し研究室で維持繁殖した個体) を用いた。集団の中で特定された LWS-A と LWS-B の配列から特定された遺伝子型について、オプトモータ実験を行い、異なる光波長に対する光感受性を調べた。波長は 514, 546, 561, 577nm の4つの波長を調べた。

(3) LWS オプシン遺伝子型と雌の選好性

LWS-B の遺伝子型の違いが雌の選好性にどのような影響を与えるかについて選好性実験を行った。実験は Brook (2000) の方法に基づいて行った。

(4) 原産国トリニダッドにおいて、Aripo 川下流と Pitch Lake の2集団について、それぞれ50個体の LWS-A, および LWS-B の配列を調べ、Tajima's D を推定した。

## 4. 研究成果

(1) オプシン遺伝子の変異と吸収波長

グッピーは、SWS1, SWS2, RH2-A, RH-B, LWS-A, B, C, D のオプシン遺伝子を持ち、桿体は RH1 であった。それぞれの吸収波長は、LWS-B, C, D を除いて特定された (図1)。LWS-A, LWS-B, C, においてアミノ酸配列の異なる対立遺伝子多型がみられたが、LWS-A に関してはその対立遺伝子間での吸収波長に違いはみられなかった。

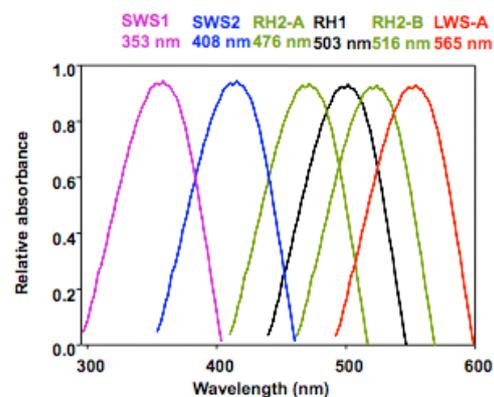


図1. *Poecilia reticulata* におけるオプシン遺伝子とその最大吸収波長、LWS-B、LWS-B、LWS-D については今回吸収波長を決定できなかった。

(2)LWS オプシン遺伝子型と光感受性

LWS-B には 5 カ所で非同義置換多型が観察されたが、すべての箇所で連鎖しており、2つの対立遺伝子 (Allele-1 および Allele-2) に同定することができた (表 1)。LWS-C に関しても 5 カ所の非同義置換が観察された。LWS-B および LWS-C の配列から合計で 8 つの遺伝子型が同定された (表 2)。

オプトモーター実験による光感受性の違いが、各 8 つの遺伝子型間で異なっているかどうかを調べた結果、4 つの波長 (514, 546, 561, 577nm) 間での違い、雄雌間の違いは有意ではなかった。遺伝子型間では、OAB-1, OAB-3 および OAB-5 の間で違いがみられ、OAB-5, OAB-3 の遺伝子型が OAB-1 の遺伝子型に対して、有意に 4 波長の光感受性が高かった (図 1.  $P < 0.05$ )。今回の結果は、OAB-3 および OAB-5 の個体数が少なく、確実な結果をえるためにはサンプルサイズを増やす必要がある

表 1. LWS-B における遺伝子型

LWS-B 遺伝子における 5 つの非同義置換箇所 (LWS-B 遺伝子上の 1680 番目、1866 番目、2010 番目、2012 番目) を示す。

各遺伝子	1680	1686	1866	2010	2012
Allele-1	G	A	C	G	A
Allele-2	A	T	A	T	G

表 2. LWS-B 及び LWS-C の遺伝子解析によって定義された 8 つの遺伝子型。OAB-1,2,3,5 は沖縄我部祖河集団、OAB-4,6,7,8 は静岡集団。

LWS-B および C による 遺伝 子型	LWS-C の変異箇所					LWS -B 遺 伝子 型
	98	1	6	8	1	
OAB-1	GG	CC	AA	GG	GG	1/1
OAB-2	AG	CG	AG	GG	AG	1/2
OAB-3	GG	CC	AG	GG	AG	1/1
OAB-5	AA	GG	GG	CC	AA	2/2
OAB-4	GG	CC	AG	GG	GG	1/1
OAB-6	GG	CC	GG	GG	AA	1/1
OAB-7	GG	CC	GG	GG	AG	1/1
OAB-8	GG	CC	GG	GG	GG	1/1

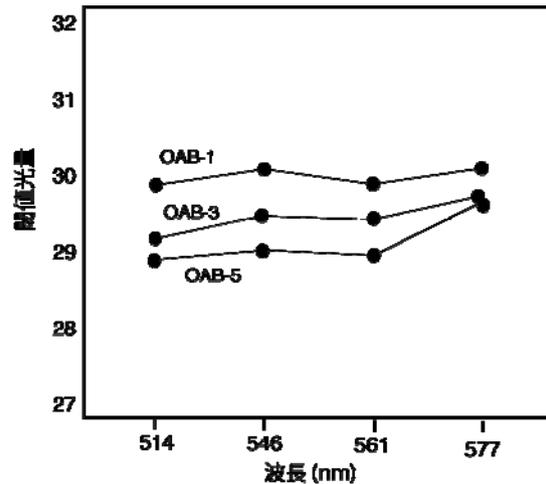


図 1. 3 つの遺伝子型間の光感受性の違い。閾値光量が小さい方が光り感受性が高い。

(3) LWS オプシン遺伝子型と雌の選好性

LWS-B の遺伝子型間と雌選好性との間に有意な違いはみられなかった。しかし、Allele-2/2 の遺伝子型をもった個体は、Allele1/1 の遺伝子型をもった個体に比べて、オレンジスポットに対する選好性が低く、黒に対する選好性が高い傾向がみられた。今回の結果はサンプルサイズが小さく、確実な結果をえるためにはサンプルサイズを増やす必要がある。

(4) LWS-A および C の配列を用いた自然選択の検出

トリニダッド 2 集団の LWS-A および LWS-B の配列解析から、Lower Aripo River での LWS-B の 2 つの対立遺伝子が約 60-40% で維持されていた。また、Tajima D は有意ではなかったが、正の値を示し、平衡淘汰の可能性が示唆された (表 3)。一方、Pitch Lake では、Tajima D は負の値を示し、純化選択の可能性が示唆された (表 3)。

表 3. トリニダッド 2 集団での Tajima D.

集団	LWS-A	LWS-B
Lower Aripo River	0.309	1.100
Pitch Lake	-2.038**	-0.697

(5) まとめと今後、

本研究によって、グッピーの赤型視物質遺伝子に 4 座位あることが明らかになり、その内 2 座位で多型がみられた。また、原産国トリニダッドにおいてもこの多型が維持されていることがわかった。赤型 LWS 遺伝子型と色覚との関連はあきらかではないが、本研究に

より光感受性に影響することが示され、またそれが雌の選好性の違いに影響していることが示唆されたが、確実な結果は今後の研究が必要である。本研究を基盤として、現在、LWS 遺伝子型と光吸収波長、視細胞での発現などの研究がなされているのと同時に、トリニダード 13 集団での配列解析による自然選択を検出する試みが進展している。本研究の成果は、今後色覚の多様性維持、およびそれに関連した雄の婚姻色および雌の選好性の多様性の維持解明につながる基盤となった。

## 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 23 件)

1. Echenique-Diaz, L. M, J. Yokoyama, O. Takahashi, and M. Kawata (2009) Genetic structure of island populations of the endangered bat *Hipposiderosturpis*: Implications for conservation. **Population Ecology** 15, 153 -160. 査読あり
2. Yoshino, H., K. Armstrong, M. Izawa, J. Yokoyama, and M. Kawata (2008) Genetic and acoustic population structuring in the Okinawa Least Horseshoe bat: inter-colony acoustic differences maintained by vertical maternal transmission? **Molecular Ecology** 17, 4978 -4991. 査読あり
3. Ohtsuki, H., J. Yokoyama, N. Ohba, Y. Ohmiya and M. Kawata (2008) Nitric Oxide Synthase (NOS) in the Japanese fireflies, *Luciola lateralis* and *Luciola cruciata*. **Archives of Insect Biochemistry and Physiology** 69, 176 -188. 査読あり
4. Takechi, M., Seno, S. and Kawamura, S. (2008). Identification of *cis*-acting elements repressing blue opsin expression in zebrafish UV cones and pineal cells. **The Journal of Biological Chemistry**, 283: 31625-31632. 査読あり
5. Hiramatsu I, C., Melin, A. D., Aureli, F., Schaffner, C. M., Vorobyev, M., Matsumoto, Y. and Kawamura, S. (2008). Importance of achromatic contrast in short-range fruit foraging of primates. **PLoS ONE**, 3:e3356. 査読あり
6. Kozmik, Z., Ruzickova, J., Jonasova, K., Matsumoto, Y., Vopalensky, P., Kozmikova, I., Strnad, H., Kawamura, S., \*Piatigorsky, J., Paces, V. and \*Cestmir, V. (2008). Assembly of the cnidarian camera-type eye from vertebrate-like components. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, 105: 8989-8993. 査読あり
7. Melin, A. D., Fedigan, L. M., Hiramatsu, C. and Kawamura, S. (2008). Polymorphic color vision in white-faced capuchins (*Cebus capucinus*): Is there foraging niche divergence among phenotypes? **Behavioral Ecology and Sociobiology**, 62, 659-670. 査読あり
8. Fukamachi, S., Kinoshita, M., Tsujimura, T., Shimada, A., Oda, S., Shima, A., Meyer, A., Kawamura, S. and Mitani, H. (2008). Rescue from oculocutaneous albinism type 4 using medaka *slc45a2* cDNA driven by its own promoter. **Genetics**, 178, 761-769. 査読あり
9. Dohzono, I., Kawate Kunitake, Y., Yokoyama, J., Goka, K. (2008) Effects of an alien bumblebee on native plant reproduction through competitive interactions with native bumblebees. **Ecology** 89, 3082-3092. 査読あり
10. Yamashiro, T., Yokoyama, J., Maki, M. 2008. Morphological aspects and phylogenetic analyses of pollination systems in *Tylophora* - *Vincetoxicum* complex (Apocynaceae - Asclepiadaceae) in Japan. **Biological Journal of the Linnean Society** 93, 325-341. 査読あり
11. Kawata, M., Shoji, A., Kawamura, S. and O. Seehausen (2007) A genetically explicit model of speciation by sensory drive within a continuous population in aquatic environments. **BMC Evolutionary Biology**, 7:99 査読あり
12. Yamamoto, N., Yokoyama, J. and M. Kawata. (2007) Relative resource abundance explains butterfly biodiversity in island communities. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA** 104, 10524 - 10529. 査読あり
13. Imai, M., Y.I. Tago, M. Ihara, M. Kawata, Yamamoto K. (2007) Role of the 5' → 3' exonuclease and Klenow fragment of *Escherichia coli* DNA polymerase I in base mismatch repair. **Molecular Genetics and Genomics** 278, 211-220. 査読あり
14. Shoji, A., J. Yokoyama and M. Kawata. (2007) Molecular phylogeny and genetic divergence of the introduced populations of Japanese guppies, *Poecilia reticulata*. **Conservation Genetics**, 8, 267-271. 査読あり
15. Kato, S., Urabe, J. and M. Kawata. (2007) Effects of temporal and spatial heterogeneities created by consumer-driven nutrient recycling on algal diversity. **Journal of Theoretical Biology**, 254:364-377. 査読あり
16. Tsujimura, T., Chinen, A. and Kawamura, S. (2007). Identification of a locus control region for quadruplicated green-sensitive opsin genes in zebrafish. **Proceedings of the National Academy of Sciences USA**, 104: 12813-12818. 査読あり
17. Melin, A. D., Fedigan, L. M., Hiramatsu, C., Sendall, C. and Kawamura, S. (2007). Effects of colour vision phenotype on insect capture by a free-ranging population of white-faced capuchins (*Cebus capucinus*). **Animal Behaviour**, 73: 205-214. 査読あり

18. Yamaji, H., Fukuda, T., Yokoyama, J., Pak, J.-H., Zhou, C.-Z., Yang, C.-S., Kondo, K., Morota, T., Takeda, S., Sasaki, H., Maki, M. (2007) Reticulate evolution and phylogeography in *Asarum* sect. *Asiasarum* (Aristolochiaceae) documented in internal transcribed spacer sequences (ITS) of nuclear ribosomal DNA. **Molecular Phylogenetics and Evolution** 44, 863-884. 査読あり
19. Usami, T., J. Yokoyama, K. Kubota and M. Kawata (2006) Genital lock-and-key system and premating isolation by mate preference in carabid beetles (*Carabus* subgenus *Ohomopterus*). **Biological Journal of Linnean Society**, 87, 145-154. 査読あり
20. Hayashi, I. T. and M. Kawata (2006) Impact of ancestral populations on postzygotic isolation in allopatric speciation. **Population Ecology**, 48, 121-13. 査読あり
21. Wei, X., Zou, J., Takechi, M., Kawamura, S. and Li, L. (2006). Nok plays an essential role in maintaining the integrity of the outer nuclear layer in the zebrafish retina. **Experimental Eye Research**, 83, 31-44. 査読あり
22. Matsumoto, Y., Fukamachi, S., Mitani, H. and Kawamura, S. (2006). Functional characterization of visual opsin repertoire in Medaka (*Oryzias latipes*). **Gene**, 371, 268-278. 査読あり
23. Song, I.-J., Nakamura, T., Fukuda, T., Yokoyama, J., Ito, T., Ichikawa, H., Horikawa, Y., Kameya, T., Kanno, A. 2006. Spatiotemporal expression of duplicate AGAMOUS orthologues during floral development in *Phalaenopsis*. **Development, Genes and Evolution** 216, 301-313. 査読あり

[学会発表] (計 8 件)

1. 手塚あゆみ, 笠木聡, 河村正二, Cock van Oosterhout, 河田雅圭, グッピーの色覚の多様性の維持機構の解明, 第 56 回日本生態学会, 岩手県立大学, 2009 年 3 月 18 日
2. 村田和人, 笠木聡, 河村正二, 松島野枝, 河田雅圭, グッピー (*Poecilia reticulata*) における LWS オプシン遺伝子が個体の光感受性に与える影響, 第 56 回日本生態学会, 岩手県立大学, 2009 年 3 月 18 日
3. 河田 雅圭, 地球環境変化と進化学, 地球温暖化による生物進化と生物多様性の変化, 日本進化学会, 第 10 回東京大会, 東京大学, 2008 年 8 月 24 日
4. 河村正二, 松本圭史, 知念秋人, 祖先配列推定によるオプシン吸収波長の進化的推移の復元, 第 10 回日本進化学会, 東京大学, 2008 年 8 月 23 日

5. 手塚あゆみ, 笠木聡, 河村正二, C. van Oosterhout, 河田雅圭, グッピー (*Poecilia reticulata*) における LWS オプシン遺伝子座の多型維持機構, 日本進化学会, 第 10 回東京大会, 東京大学, 2008 年 8 月 23 日
6. Kawamura, S.: Evolutionary diversification of visual opsin subtypes in fish and primates: spectral differentiation, expression patterning and natural selection. The Asia-Pacific Conference on Vision (APCV 2008): Comparative Colour Vision, Brisbane Convention Centre, Brisbane, Australia, July 18-21, 2008.
7. Kawata, M. How genomic studies promote understanding of speciation mechanisms. 第 55 回日本生態学会, 福岡, 2008 年 3 月 14 日
8. 手塚あゆみ, 河田雅圭, グッピーの体色とメラニン生合成に関わる遺伝子の関連性, 第 55 回日本生態学会, 福岡, 2008 年 3 月 14 日

[図書] (計 2 件)

1. 河田雅圭, 笠木聡, 2009, 生物群集を形作る進化の歴史, 『シリーズ群集生態学(2) 進化生物学からせまる』, 京都大学出版会, pp. 65-109.
2. 河田雅圭, 2006, 個体の行動の進化, 『シリーズ進化学 6、行動・生態の進化』, 岩波書店, pp. 13-53.

## 6. 研究組織

(1) 研究代表者

河田 雅圭 (KAWATA, MASAKADO)  
東北大学・大学院生命科学研究科・教授  
研究者番号: 90204734

(2) 研究分担者 (2006~2007 年度)

河村 正二 (KAWAMURA, SHOJI)  
東京大学・新領域創成科学研究科・准教授  
研究者番号: 40282727

横山 潤 (YOKOYAMA, JUN)

東北大学・大学院生命科学研究科・助手  
研究者番号: 30272011

(3) 連携研究者 (2008 年度)

河村 正二 (KAWAMURA, SHOJI)  
東京大学・新領域創成科学研究科・准教授  
研究者番号: 40282727

横山 潤 (YOKOYAMA, JUN)

山形大学・理学部・准教授  
研究者番号: 30272011