

令和 3 年 6 月 10 日現在

機関番号：32669

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2018～2020

課題番号：18K05796

研究課題名(和文) サクラマスにおける生活史多型の遺伝的基盤の解明：代謝関連遺伝子に着目して

研究課題名(英文) Evaluation of genetic basis for life history polymorphism in masu salmon: based on genetics related to metabolism

研究代表者

山本 俊昭 (Yamamoto, Toshiaki)

日本獣医生命科学大学・獣医学部・准教授

研究者番号：30409255

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、サクラマスの生活史多型に関連する遺伝子を明らかにすることを目的に次世代シーケンスを用いたGRAS-Di解析およびRNA-seq解析を行った。その結果、本研究ではスマルト期に関連する候補遺伝子がいくつかに絞り込むことが出来た。一方で残留型としての性成熟に関連する候補遺伝子は複雑であり、相当な遺伝的領域が関連していることが示唆された。さらには、生活史が異なる親を用いて交配実験を行い、それぞれの時期における関連候補遺伝子の遺伝子発現量を調べた。その結果、スマルトに関連する候補遺伝子の発現量は初期の生活史段階においては発現していないことを確認した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生活史多型は様々な動物群においてみられる現象であり、これまでに多くの研究者を魅了してきたが、それら生活史に関連した遺伝子は未だ十分に解明されていない。本研究では、スマルト期に関連している遺伝子が限定的にすることが出来たことは、初めての生活史多型に関連した遺伝子の解明につながると考えられることから、非常に学術的な意義は高い。さらには、水産資源としても重要なサケ科魚類では、関連遺伝子が明らかになった場合においては、効率的な資源作成にもつながることが期待されるため、社会的なインパクトも非常に大きいと考えられる。

研究成果の概要(英文)：In this study, in order to clarify a genetic basis for the life history polymorphism in masu salmon *Oncorhynchus masou*, I conducted the GRAS-Di analysis and RNA-seq analysis using a next-generation sequence. As a result, some candidate genes in conjunction with the smolting were able to detect. On the other hand, the candidate genes in conjunction with the sexual maturation as the resident form was complicated, and it was suggested that many hereditary domains was related to determine whether individuals are the maturation. Besides, I crossbred using some parents of the different life history and tested gene expression of offspring based on half-sib in each time. As a result, the expression of the candidate genes in conjunction with the smolting showed that it did not express at least until the early stage of life history.

研究分野：分子生態学

キーワード：遺伝子発現 スマルト 生活史多型 RNA-seq

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

本研究の対象であるサクラマス在生活史において顕著な二型が見られる。ひとつは河川の成長のみで成熟に達する残留型と、もうひとつは河川で成長した後、海を回遊して再び産卵のため母川に戻ってくる降海型である。これら2つの生活史は成熟体サイズとそれに伴う繁殖生態が全く異なることから、これまで表現型多型の研究において重要な役割を果たしてきた。古くは、生活史の分岐に関わる要因の研究が行われてきており、幼魚期において成長が良い個体ほど残留型になりやすい傾向があることが示されてきた。また、生活史分岐に対する遺伝的要因の解明についてもいくつもの研究が行われてきた。その結果、残留型の子供は、降海型の子供に比べて成長が早く、また残留型として成熟する傾向が認められた。したがって、生活史多型に対し環境要因だけでなく、遺伝的な要因も影響していることが示唆されたが、どのような遺伝子が生活史多型に関連しているのかは、サケ科魚類だけでなく多くの生物群においても未だ明らかになっていない。本研究の当初の背景は、サケ科魚類をモデル生物として「生活史多型に関連した遺伝的基盤の解明」である。

2. 研究の目的

近年、次世代シーケンサーを用いた網羅的遺伝子解析が盛んに行われ、生態的特性に関連する遺伝的基盤を解明することが試みられている。しかしながら、膨大な遺伝子情報から関連遺伝子を探索することは容易なことではない。本研究では、1)生活史多型に関連した候補遺伝子の探索のため、次世代シーケンサーを用いて網羅的遺伝子解析を行う。そして、2)交配実験を行い、基礎代謝量との関連性、および性成熟までの追跡調査によって候補遺伝子と生活史との関連性を明らかにすることにより、生活史多型に関連した遺伝的基盤を解明することを目的とした。

3. 研究の方法

1) 生活史多型に関連した遺伝子探索

生活史初期に性成熟に達するオスと未成熟のオスの遺伝子発現量を網羅的に比較した。さらには海洋に適応するために生理的な変化が起きる時期に銀毛変態した個体と非銀毛の個体間での遺伝子発現量も比較した。発現量の測定にはRNASeqを行い、その時期に発現量が多い遺伝子を生活史分岐に関連する遺伝子として探索を行った。また、生活史多型が大きく異なる亜種間でも次世代シーケンスによる網羅的解析を行い、亜種間比較より残留型としての成熟および銀毛変態に関連する遺伝子を探索することとした。

2) 交配実験による候補遺伝子と生活史との関連性

秋田県内水面試験場の協力を得て、残留型の親と降海型の親を用いて人工交配を行い、同一の環境下での飼育環境で飼育し、性成熟に至るまで3年間継続的な調査を行った。性成熟に至る時期(10月上旬)および銀毛時期(4月中旬)に鱗のサンプリングを行い、親の生活史の違いが子の生活史、さらには遺伝子発現量にどのような影響を及ぼしているのかを調べた。

4. 研究成果

1) RNAseq による解析

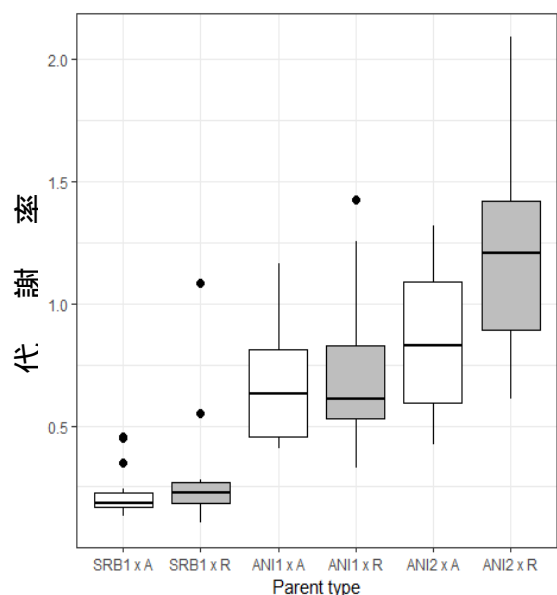
銀毛変態した個体と非銀毛の個体間での遺伝子発現量を調べた結果、約 4 万ほどの遺伝子発現領域が検出され、そのうち 2 つの比較グループ間で違いが見られる候補関連遺伝子は 8 つに絞ることが出来た。これら遺伝子は全てたんぱく質をコードしていることから生活史の分岐に大きく寄与していると考えられる。一方で、生活史初期の成熟に関連する遺伝子は 2 つのグループ間で異なる遺伝子発現領域が相当数観察された。よって、この時期の生活史分岐に関わる遺伝子はスモルト時期よりも相対的に多いことが示された。現段階では、関連していると思われる多くの遺伝子がどのような機能を司っており、どのような関連性を持っているのかを解析している。また、組織ごとによる発現量の比較も行い、どの組織で発現量が高まっているのか、さらにはどのような時期にターゲット遺伝子の発現量が上昇しているのかを比較している。

2) 3 亜種間における GRAS-Di 技術のゲノム解析比較

性成熟の年齢および銀毛時期が異なる 3 亜種間 (ピマス・アマゴ・ヤマメ) を用いてゲノムワイドなジェノタイプングを行った結果、各種での特異的な遺伝子マーカーは 100 - 400 個近く認められた。これら種特異的な遺伝的なマーカーを用いて生活史に関連する遺伝子領域であることを解明するため、多くの個体での確認作業を行った。

3) 交配実験による代謝率の比較

本研究では代謝率の違いが生活史多型に大きく影響していることを予測としていたことから、親の生活史の違いによる子の代謝率を調べることを行った。その結果、残留型由来の子供 (SRB1 x R, AN1 x R, AN2 x R) は、降海型由来の子供 (SRB1 x A, AN1 x A, AN2 x A) に比べて受精卵の段階で代謝率が高いことを示した。すなわち、生活史初期の段階で親による遺伝的な影響を受けており、代謝に関連する遺伝子が生活史多型に影響していることを示唆した。



4) 交配実験による継続的な遺伝子発現量の変化

各生活史の段階における子の遺伝子発現量を調べるため、各ステージで鱗より RNA 抽出を行い、1) によって候補遺伝子となった領域を基に遺伝子発現量の変化をリアルタイム PCR で継続的な変化を調べている。少なくとも初期の段階では、候補遺伝子の発現量はすべての個体で高値を示すことはなかったのに対し、銀毛時期には高い値を示しており、その間の期間でどのような変化が起きているのかを示すことを行った。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件／うち国際共著 0件／うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 SUGIURA Natsuko, OCHIAI Kazuhiko, YAMAMOTO Toshiaki, KATO Takuya, KAWAMOTO Yoshi, OMI Toshinori, HAYAMA Shin-ichi	4. 巻 82
2. 論文標題 Examining multiple paternity in the raccoon dog (<i>Nyctereutes procyonoides</i>) in Japan using microsatellite analysis	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Journal of Veterinary Medical Science	6. 最初と最後の頁 479 ~ 482
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1292/jvms.19-0655	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto T., Kitanishi S., Sato M., Yagisawa M., and Kishi D.	4. 巻 30
2. 論文標題 Links between paternal life history and offspring metabolic rate and body size during early life in masu salmon <i>Oncorhynchus masou</i> .	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Ecology of Freshwater Fish	6. 最初と最後の頁 296-305
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/eff.12584	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Yamamoto T., Kitanishi S., Metcalfe N.	4. 巻 35
2. 論文標題 Effect of parental phenotype on dispersal, growth and maturation of offspring in wild masu salmon (<i>Oncorhynchus masou</i>).	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Evolutionary Ecology.	6. 最初と最後の頁 253-269
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1007/s10682-020-10098-2	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 0件／うち国際学会 0件）

1. 発表者名 山本俊昭
2. 発表標題 サクラマスにおける早熟雄の閾値は集団構造で変化するのか？
3. 学会等名 第20回東日本魚類研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 山本俊昭
2. 発表標題 サクラムス3亜種は遺伝的にどこまで違うのか：次世代シーケンスによる試み
3. 学会等名 東日本魚類研究会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 分担) 山本俊昭	4. 発行年 2020年
2. 出版社 緑書房	5. 総ページ数 20
3. 書名 動物看護の教科書	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究 分担者	北西 滋 (Kitanishi Shigeru) (90552456)	大分大学・理工学部・准教授 (17501)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関
---------	---------