

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成24年5月31日現在

機関番号：32644

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2009～2011

課題番号：21570241

研究課題名（和文）ドーパミンレセプター遺伝子の多型と進化に見る闘争心の起源

研究課題名（英文）Evolutionary Origin and Genetic Differentiation of Dopamine Receptor D2, D3 and D4 Genes of Japanese Domesticated Chickens

研究代表者

小見山 智義（KOMIYAMA TOMOYOSHI）

東海大学・医学部・准教授

研究者番号：60439685

研究成果の概要（和文）：

DRD2,3,4 遺伝子の F_{ST} 、塩基別頻度ならびに進化系統樹解析を調査することで、シャモとナガナキドリ間では各塩基の頻度や集団別分化の程度に違いがあることがわかった。このことは品種を識別するマーカーとして使うことができる他、外見を重視するという緩やかな選択よりも闘鶏などの競技に使われるニワトリの方が、選択の度合いが高いことを確認することができた。さらに、分子進化的解析により、沖縄シャモが日本鶏の起源であることも再認識することができた。

研究成果の概要（英文）：

In the present study, our primary goal was to further understand the ancestry and domestication processes of domesticated chickens by analyzing the relationship among gene variations of dopamine receptor genes (DRD2, DRD3, and DRD4) and species. In addition, we sought to clarify the relationship between aggressiveness and past artificial selection of chickens by humans. To accomplish this goal, we performed an evolutionary analysis and studied the genetic differentiation of DRD2, DRD3 and DRD4 genes for three varieties of Japanese domesticated chickens (fighting cock, long-crowing, and ornamental), analyzing a total of 8,200 base pairs.

From these results, we found different nucleotide frequencies and polymorphism types that might be used as markers for each domesticated chicken species. Furthermore, we were able to show that in order to breed the novel varieties of present day ornamental chickens, intensive artificial selection was forced upon ancestral fighting cock populations, which resulted in the profoundly differentiated Japanese domesticated chickens we know today.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	1,400,000	420,000	1,820,000
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,700,000	1,110,000	4,810,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学

キーワード：分子系統樹、人為淘汰、家畜化

1. 研究開始当初の背景

実験動物としてニワトリ（シャモ、ナガナ

キドリ、他観賞用鶏）を用いることで、ドー

パミンレセプター遺伝子多型から行動特性との関連性を調査することで、将来ヒトでの行動特性や精神疾患解明の手掛かりを見つけておくことが可能であると考えられた。

2. 研究の目的

本研究の目的は、ニワトリのドーパミンレセプター遺伝子多型と動物の持つ行動特性との関連を明らかにすること、さらには強い人為淘汰をかけて特異的な行動特性をもつに至ったニワトリ品種の進化的成立過程を明らかにすることを目的にした。

3. 研究の方法

研究方法については以下の①～⑤の流れに従い実施した。

(1) ニワトリのサンプリングを行う(採血)。基本的には、これまでの小見山らの研究ですでに収集されているバックグラウンドのはっきりとしているサンプルを使用することにする。

(2) TotalDNA を抽出後、プライマーの設計から PCR にかけて、その後シーケンスを行い配列の決定を行う。

(3) 得られ配列をアライメントし、品種間で配列の比較解析を行うと同時に進化的解析を実施する。

(4) シミュレーションによる各DRD2、DRD3とDRD4遺伝子についてタンパク質立体構造予測を行う。

(5) ドーパミンレセプターDRD2、DRD3、DRD4の遺伝子ごとの配列と3つの遺伝子全配列を含めた解析を行い、遺伝子多型と品種間におけるニワトリの行動特性との関連性を多角的な視野から調査する。

4. 研究成果

日本では、シャモは今からおよそ900年前の鳥獣戯画(1100年)に描かれており、ナガナキドリも古事記(712年)に記載があるこ

とから、どちらの品種も長い間、強い人為選択のもと、今日の洗練された品種へと作出されてきた非常に貴重なニワトリである。

そこで本研究では、これらの文化的にも貴重で、かつ成立された背景(目的)の異なるシャモとナガナキドリを使うことで、DRD遺伝子多型と動物の持つ行動特性との関連を明らかにすると同時に、日本鶏の起源について解明することを目的にしたものである。

この研究実施のためにドーパミンレセプター遺伝子(DRD2, 3, 4)およそ8600bpについて配列決定を行い比較配列解析を行った。

そこで、文化的背景の異なるシャモ(8個体)、ナガナキドリ(9個体)、観賞用(9個体)、野鶏(1個体)、日本キジ(1個体)合計28個体についてそれぞれDRD2, 3, 4遺伝子の配列決定を行った。そして、およそ8600bpについて配列比較解析を行い、品種間の分子進化的解析をすると同時に集団分化係数(F_{ST})の調査を実施した。

はじめに品種間の分子進化的解析においては、シャモ(3個体)、ナガナキドリ(5個体)、野鶏(1個体)とアウトグループとして日本キジ(1個体)の合計10個体を用いた。その結果、沖縄シャモが82%の高いブートストラップ値で野鶏から分れ、ついで5個体のナガナキドリと2個体のシャモが73%のブートストラップ値で分れた。このことは、73%で分れた7個体はいずれも沖縄シャモがこれらの品種の成立に関与したことを意味する。そしてこの結果は、我々が行ったミトコンドリア系統解析の結果を示唆するものであった(Komiyama et al., 2004)。次に、集団分化係数(F_{ST})の調査では、DRD3, 4遺伝子のそれぞれにおいて F_{ST} が、シャモとナガナキドリ間で大きな値を示した。DRD3ではシャモとナガナキドリ間で0.081、DRD4ではシャモとナガナキドリ間で0.403であった。特に

DRD4 において非常に高い値を示したことは興味深い。また、A、T、G、Cのそれぞれの遺伝子頻度の調査においては、DRD2 では43 サイト、DRD3 では26 サイト、DRD4 では30 サイトのそれぞれのSegregation sites のみを抜き出し調査を実施した。その結果、3つの遺伝子間の平均についてみると、シャモはアデニン (A:0.234) とシトシン (C:0.370) の頻度が高く、チミン (T:0.171) とグアニン (G:0.226) の頻度が低いことが分かった。またナガナキドリにおいては、シャモの頻度とは逆にアデニン (A:0.209) が低く、グアニン (G:0.266) が高いことが分かった。特にシャモにおけるシトシンの頻度が高いことは興味深く、品種識別マーカーとして使うことができると考えられる。以上のことから、DRD2, 3, 4 の F_{ST} を調査することで、2つグループ間 (シャモとナガナキドリ) では集団分化の程度に違いがあり、それぞれが長い間、目的の異なる文化にあわせて別々に系統維持されてきていることを明らかにした。またその中でもシャモが高い数値を示したことは、外見を重視するという緩やかな選択よりも闘鶏などの競技の方が、選択の度合いが高いことも確認できた。さらに、分子進化的解析により、沖縄シャモが日本鶏の起源であることもあわせて再認識することができた。

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)

[学会発表] (計8件)

- ①Evolutionary Study of Japanese Domesticated Chickens through Dopamine Receptor T. Komiyama, H. Iwama, Y. Tateno, H. Kobayashi, T. Gojobori, SMBE2011 京都 2011年7月26-29日 京都大学 (京都市)
- ②Comparative Genomics of Cultural Domesticated Chickens A. Ogura,

M. Lin, T. Komiyama, SMBE2011 京都 2011年7月26-29日 京都大学 (京都市)

- ③日本鶏を用いたドーパミン受容体 D2, D3, D4 の遺伝的分化に関する解析 小見山智義, 岩間久和, 舘野義男, 小林広幸, 五條堀孝 日本進化学会第13回大会in京都 2011年7月29-31日 京都大学 (京都市)
- ④Cultural Domestication of Chicken M. Lin, A. Ogura, T. Komiyama National Institute of Genetics, Tokyo 2011年8月1-2日 国立情報学研究所 学術総合センター (東京)

⑤Genomic diversity of chickens underlying cultural domestication revealed by a CGH, A. Ogura, T. Komiyama, evolution 2010, Portland, Oregon, USA 2010年6月25日 Portland State University

⑥The Evolutional Relationship between the Domestication of Fighting Roosters and the repeat variation of Dopamine receptor D4. T. Komiyama, H. Iwama, Y. Nakamura, K. Sato, H. Kobayashi, Y. Tateno, H. Inoko, K. Ikeo, T. Gojobori, Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE 2010) Lyon France, Lyon Convention Center. 2010年7月4-8日、

⑦ドーパミンレセプターDRD4 遺伝子の多型と進化にみる闘争心の起源

小見山智義, 岩間久和, 中村洋路, 佐藤恭子, 池尾一穂, 小林広幸, 猪子英俊, 五條堀孝 日本遺伝学会第82回札幌大会 2010年9月20-22日 北海道大学 (札幌市)

⑧ドーパミンレセプター遺伝子の多型と闘鶏用シャモにおけるドメスティケーション成立過程との関係 小見山智義, 岩間久和, 中村洋路, 池尾一穂, 小林広幸, 猪子英俊,

五條堀孝 日本進化学会 第11回札幌大会
2009年9月2-4日 北海道大学(札幌市)

[その他]
ホームページ等

<http://www.cp-tokai.com/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

小見山 智義 (KOMIYAMA TOMOYOSHI)
東海大学・医学部・准教授
研究者番号: 60469685

(2) 連携研究者

小林 広幸 (KOBAYASHI HIROYUKI)
東海大学・医学部・教授
研究者番号: 60195807

吉川 正信 (YOSHIKAWA MASANOBU)
東海大学・医学部・准教授
研究者番号: 90276791

五條堀 孝 (GOJOBORI TAKASHI)
研究者番号: 50162136
国立遺伝学研究所 遺伝情報分析研究室
教授

岩間 久和 (IWAMA HISAKAZU)
研究者番号: 20398035
香川大学 医学部 准教授

中村 洋路 (NAKAMURA YOUJI)
研究者番号: 90463182
独立行政法人水産総合研究センター中央水産研究所

田中 剛 (TANAKA TUYOSHI)
研究者番号: 70414919
独立行政法人農業生物資源研究所
研究員