

平成 30 年 6 月 7 日現在

機関番号：24506

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2014～2017

課題番号：26291078

研究課題名(和文)シクリッドにおけるオス集団内色彩二型の進化に関する研究

研究課題名(英文)Evolution of male colour dimorphism in a cichlid

研究代表者

高橋 鉄美 (Takahashi, Tetsumi)

兵庫県立大学・自然・環境科学研究所・教授

研究者番号：70432359

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 12,100,000円

研究成果の概要(和文)：本研究は、タンガニカ湖に固有なCyprichromis属魚類のオスに見られる色彩二型の遺伝的基盤と維持機構の解明を目的とした。

遺伝的基盤については、XP04の重複回数とSNPsが複合して関係するとの結果を得た。しかし、種間で共通する変異が見つかっていないこと、および遺伝子編集で再現出来ていないことから、最終的な結論は得られていない。ここまでの成果で、論文を執筆中である。

維持機構については、繁殖に参加する色彩型が季節によって異なるとの仮説を検証している。現在、2種で数年分のサンプルを得ており、約半分の解析を終え、仮説を支持する結果が得られている。今後、さらに数年分のデータを追加する。

研究成果の概要(英文)：This study aims at revealing genetic basis of male colour dimorphism of Cyprichromis species, and at revealing mechanism for maintaining the dimorphism.

For the genetic basis, the number of copies of XP04 gene and SNPs may be associated with the expression of dimorphism. However, we couldn't find genetic mutations that are common between species and couldn't express the dimorphism in transgenic zebrafish. We are preparing for publishing the data we have obtained so far.

For maintenance mechanism, we are testing a hypothesis that male colour morph mating with females differs between seasons. We have sampled two species for a few years and have analysed about half amount of the samples. The results are at present supporting the hypothesis. We have to add more samples to the data before concluding whether this hypothesis is supported.

研究分野：魚類生態学

キーワード：色彩多型 遺伝的基盤 維持機構 シクリッド タンガニカ湖 古代湖

1. 研究開始当初の背景

アフリカ東部の大地溝帯にあるタンガニイカ湖には、約250種ものシクリッド科魚類が生息する。これらはほとんどが湖に固有であることから、湖が形成された1千万年前以降に、湖内で爆発的に種分化したと考えられる。またこれらは、種によって形態や生態が極めて多様であることから、生物多様性の進化およびその維持機構を説明するモデルとして、世界的に注目されている。本研究の代表者は、この魚類の分類と進化を解明することを目的として研究を続けている。本研究では、そのような研究の一環として、*Cyprichromis* 属に見られるオス集団内色彩二型に注目した。

この属には5種が含まれ、単系統群を形成する。そのうち3種(4種とすることもある)において、集団内色彩二型が見られる。研究開始当初では、代表者が *C. leptosoma* を用いて行った色彩二型の連鎖解析と関連分析により、原因遺伝子が160 kbp程度の組換えが制限された領域に存在することが示されていた。しかし、その領域にある遺伝子のうちどれが原因遺伝子であるかは分かっていなかった。

また、色彩二型の維持機構については、上記遺伝子座におけるアリル頻度分布がハーディー・ワインベルグ平衡に従うことから、異類交配の可能性が低いことが分かっていた。また、色彩パターンが地域集団ごとに異なるにも関わらず、どの地域集団においてもオス色彩型の数が必ず2つであることから、頻度依存選択の可能性も低い(もし頻度依存選択で二型が維持されているのであれば、他の地域から色彩の異なる個体に移入した場合、少数のため有利となって増え、全体としては三型になってしまうと予想される)。このため、既存の仮説とは異なる全く新しい仮説が必要であった。

2. 研究の目的

この研究では、*Cyprichromis* 属魚類に見られるオス色彩二型の(1)遺伝基盤の解明、および(2)維持機構の解明を目的とした。

3. 研究の方法

(1) 遺伝基盤の解明：先行研究では、*C. leptosoma* を用いて原因遺伝子の探索を行い、160 kbp程度の領域に存在することが判明していた。しかしこの種では、この領域の組換えが制限されているため、ゲノムマッピングの手法を用いた原因遺伝子の絞り込みが難しかった。そこで本研究では *C. coloratus* を用いて、問題となっている領域のアンプリコンシーケンス、トランスクリプトーム解析、ゲノムのリシーケンスを行い、原因遺伝子の絞り込みを行った。また、特定された遺伝子の影響について、ゼブラフィッシュを用いたトランスジェニックによる確認を試みた。

(2) 二型維持機構の解明：タンガニイカ湖は乾季に水が濁り、雨季に透明になるこのため、雨季と乾季で目立つオスの色彩が異なる。よって、雨季と乾季でメスに好まれるオスの色彩型が異なる可能性がある。このため、季節ごとに繁殖に参加するオスの色彩を調べようとした。しかし、*Cyprichromis* では他の動物と同様に、どのオスがどのくらい繁殖に参加しているかを、行動から調べるのが難しい。このため、この魚が口内保育することを利用して調べた。つまり、口内保育しているメスを採集し、メスと子供の遺伝子型から、交配相手のオスの色彩型を推定した。

4. 研究成果

(1) 遺伝基盤の解明：*C. coloratus* 野生個体のアンプリコンシーケンス(両色彩型から12個体ずつ)により、この種では、先行研究の *C. leptosoma* と異なり、問題の領域において組換えが生じていることが強く示された。このため、さらに多くの野生個体を用いた関連分析を行った。その結果、この領域にある遺伝子の一つである XP04 が原因遺伝子であることが示唆された。

また、ゲノムリシーケンスの結果から、XP04 遺伝子の後半から始まる領域が重複していることが判明した。このことをさらに詳しく調べるため、各種各色彩型を6個体ずつ定量PCRで調べたところ、*C. coloratus* の青尾型では4~5倍、黄尾型では3~5倍の遺伝子が、また *C. leptosoma* の青尾型では3~4倍、黄尾型では2倍(つまり、通常の遺伝子と同じ量の)の遺伝子が存在することが分かった。いっぽうトランスクリプトーム解析では、*C. coloratus* では黄尾型の方がXP04の発現量が有意に多く、*C. leptosoma* では逆に青尾型の方が有意に多かった。また塩基配列の比較では、両種で共通する変異は見つからなかった。

以上の結果、および *C. leptosoma* ではXP04のシス領域に色彩型と一致する変異が見られず、また遺伝領域においても色彩型と一致する非同義置換が見られなかったことから、少なくとも *C. leptosoma* ではXP04の重複が発現量の増加と関係し、それが青尾型を発現させていると推測された。

しかし、上で示したように *C. coloratus* では遺伝子重複の程度に色彩型間で明瞭な違いが見られなかったため、単純にこれが発現量の違いと関係しているとは考えられなかった。この種では、XP04の遺伝領域に、色彩型と一致する非同義置換が2つある。もしかしたら、発現量の違いと非同義置換の組み合わせで、二型が発現しているのかも知れない。

当初は、近縁な2種(*C. coloratus* と *C. leptosoma*)に共通な現象である色彩二型が、異なる遺伝的メカニズムによって支配されているとは全く予想していなかった。しかし、これまでの結果では、そのように考えざるを

得ない。なお、これらの変異をゼブラフィッシュのトランスジェニックで確認したところ、色彩二型を再現できなかった。これが、*Cyprichromis* とゼブラフィッシュの違いによるものなのか、それとも色彩二型の原因が別にあるのかは分かっていない。今後の課題である。現在、これまで得られた結果をもとに、消去法では XP04 がもっとも有力な候補となる旨の論文を執筆している。

(2) 二型維持機構の解明：これまで、*C. coloratus* では三年分の、*C. leptosoma* では二年分のサンプルを得ている。4年間の研究期間で三年もしくは二年分のサンプルしか得られなかった理由は、サンプリングに適した地点および集団を見つけるのに時間がかかり、研究開始当初にはサンプルが得られなかったためである。現在では、このうち約半分のサンプルについて解析を済ませており、今のところ仮説（季節によって繁殖に参加するオス色彩型の頻度が異なる）を支持する結果が得られている。この調査は今後も引き続き行い、あと数年分のデータを加えて検証することを考えている。

なお、上記の結果を含めた研究成果は、代表者の兼務先である兵庫県立人と自然の博物館におけるセミナー等において、一般の方々に公開している。

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 10 件)

以下、すべて査読あり。

- ① Takahashi T (2018) Function of nuchal humps of a cichlid fish from Lake Tanganyika: inferences from morphological data. *Ichthyological Research* First Online. doi:10.1007/s10228-018-0614-y
- ② Sato S, Takahashi T, Tada S, Tanaka H, Kohda M (2017) Parental females of nest-brooding cichlid improve and benefit from the protective value of masquerading young as snails. *Animal Behaviour* 124:75-82. doi:10.1016/j.anbehav.2016.12.001
- ③ Takahashi T, Ota K (2016) Body size evolution of a shell-brooding cichlid fish from Lake Tanganyika. *Journal of Evolutionary Biology* 29:2373-2382. doi:10.1111/jeb.12961
- ④ Tanaka H, Frommen J, Takahashi T, Kohda M (2016) Predation risk promotes delayed dispersal in the cooperative

breeding cichlid *Neolamprologus obscurus*. *Animal Behaviour* 117:51-58. doi:10.1016/j.anbehav.2016.04.019

- ⑤ Takahashi T, Sota T (2016) A robust phylogeny among major lineages of the East African cichlids. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 100:234-242. doi:10.1016/j.ympev.2016.04.012
 - ⑥ Takahashi T, Moreno E (2015) A RAD-based phylogenetics for *Orestias* fishes from Lake Titicaca. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 93:307-317. doi:10.1016/j.ympev.2015.08.012
 - ⑦ Takahashi T, Nagata N, Sota T (2014) Application of RAD-based phylogenetics to complex relationships among variously related taxa in a species flock. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 80:137-144. doi:10.1016/j.ympev.2014.07.016
 - ⑧ Takahashi T, Koblmüller S (2014) A new species of *Petrochromis* (Perciformes: Cichlidae) from Lake Tanganyika. *Ichthyological Research* 61:252-264. doi:10.1007/s10228-014-0396-9
 - ⑨ Takahashi T (2014) Greenwoodochromini Takahashi from Lake Tanganyika is a junior synonym of *Limnochromini* Poll (Perciformes: Cichlidae). *Journal of Fish Biology* 84:929-936. doi:10.1111/jfb.12309
 - ⑩ Winkelmann K, Genner MJ, Takahashi T, Rüber L (2014) Competition-driven speciation in cichlid fish. *Nature Communications* 5:3412. doi:10.1038/ncomms4412
- [学会発表] (計 4 件)
- ① 高橋鉄美 (2016) 東アフリカに生息するシクリッドのロバストな系統. 2016 年度日本魚類学会年会.
 - ② 田中宏和, Joachim Frommen, 高橋鉄美, 幸田正典 (2015) 共同繁殖するシクリッドでは捕食圧が子の分散を制限する. 日本生態学会近畿地区会 2015 年度第 1 回例会.
 - ③ Takahashi T (2014) Sistemática de las *Orestias* del Lago Titicaca. Symposium "Conservación de los Carachis (*Orestias*) en el Lago Titicaca".

- ④ 高橋鉄美 (2014) シクリッドの色彩遺伝子の探索. 2014 年度日本魚類学会年会シンポジウム「魚類における適応と種分化の進化遺伝機構：研究最前線と今後の展望」.

[図書] (計 2 件)

- ① 高橋鉄美 (2015) 南米・ティティカカ湖の巨大カダヤシ. 井田 齋・松浦啓一 (監修), 『小学館の図鑑 NEO 魚 [新版]』 p. 87, 小学館.
- ② 高橋鉄美 (2015) アフリカ・タンガニカ湖の多様なカワスズメ. 井田 齋・松浦啓一 (監修), 『小学館の図鑑 NEO 魚 [新版]』 p. 128, 小学館.

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

○取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]

一般向けセミナー (計 18 件)

- ① 高橋鉄美 (2017) アフリカ・タンガニカ湖の魚たち. 兵庫県立人と自然の博物館.
- ② 高橋鉄美 (2017) アフリカ・タンガニカ湖での調査研究. 兵庫県立人と自然の博物館.
- ③ 高橋鉄美 (2016) 古代湖・タンガニカ湖の特異なさかなたち. 兵庫県立人と自然の博物館.

6. 研究組織

(1) 研究代表者

高橋 鉄美 (TAKAHASHI, Tetsumi)
兵庫県立大学・自然・環境科学研究所・教授

研究者番号：70432359

(2) 研究分担者

曾田 貞滋 (SOTA, Teiji)
京都大学・理学 (系) 研究科 (研究院)・教授
研究者番号：00192625

渡邊 正勝 (WATANABE, Masakatsu)
大阪大学・生命機能研究科・准教授
研究者番号：90323807

(3) 連携研究者

()

研究者番号：

(4) 研究協力者

ハリス・フィリ (PHIRI, Harris)
ムバムワイ・ムベウエ (MBEWE, Mbamwai)
ダニー・スイニンザ (SINYINZA, Danny)
テイラー・バンダ (BANDA, Taylor)
ローレンス・マカサ (MAKASA, Lawrence)