

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 5 月 24 日現在

機関番号：10101

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2014～2015

課題番号：26840136

研究課題名(和文) サケ科魚類の回遊多型における遺伝的基盤と進化的起源

研究課題名(英文) Genetic basis and evolutionary origin of migratory polymorphisms in salmonids

## 研究代表者

小泉 逸郎 (Koizumi, Itsuro)

北海道大学・地球環境科学研究科(研究院)・准教授

研究者番号：50572799

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、顕著な表現型多型を示すサケ科魚類を用いて、回遊二型(降海型と河川残留型)の遺伝的基盤と進化的起源を明らかにした。サクラマス、アメマス合計384個体においてゲノム全域から約8,000万塩基サイトの配列を決定した。ゲノムワイド関連分析(GWAS)を行ったところ、降海型と残留型を区別できる遺伝子領域はわずか1-4遺伝子座のみであり、効果もそれほど強くなかった。候補遺伝子領域をニジマスのドラフトゲノムと比較したところ、ニジマスにおける候補領域とは異なっていた。これらのサケ科魚類は似たような回遊特性を持つが、各種で異なる遺伝的変異を用いて降海/残留の表現型多型を達成していると考えられた。

研究成果の概要(英文)：This study examined the genetic basis and evolutionary origin of migratory dimorphisms in salmonids (i.e., sea-run anadromous vs. stream resident), which is among the most remarkable example of phenotypic polymorphism. More than 80 million DNA sequences were determined in 384 individuals of masu salmon and white-spotted charr. Genome-wide association analysis revealed 1-4 candidate genes related to migratory dimorphisms, but the effects of these loci were small. Compared to a draft genome of rainbow trout, candidate loci were different among the 3 species of partially migratory salmonids. This study indicates that salmonids have accomplished similar life history polymorphisms with different genetic mechanisms.

研究分野：動物生態学

キーワード：生活史多型 表現型可塑性 進化 遺伝的基盤 サケ科魚類 回遊型 残留型

## 1. 研究開始当初の背景

生物の色や形といった表現型は個々の生物を特徴づける最も顕著な形質であり、研究者だけでなく多くの人々の興味を惹きつけてきた。それぞれの表現型は自然選択によって形作られた適応的な形質であると考えられるが、その遺伝的基盤についてはほとんど理解が進んでいない。遺伝的基盤が明らかとなれば、単にある形質が適応的というだけでなく、どのような変異によって新規形質が獲得されたのか、様々な遺伝的・生態的制約の下で他の形質とどのように遺伝子セットが進化してきたか、など進化のより詳細なプロセスが明らかとなる。

幾つかのサケ科魚類では、同一個体群内でも一生を河川で過ごす小型の河川残留型と海に降って大きく成長する回遊型(降海型)が共存する(図1)。残留型と回遊型の生活史分岐には、環境要因と遺伝的要因の双方が関わっていることが分かっており、幼魚期の餌条件がよく成長率が高いと残留型になる傾向がある。また、サケ科の中には、全ての個体が一生を河川で過ごすもの、全ての個体が海に降りるもの、一部が河川に留まり残りが降海するもの、など種間・種内で変異に富む。さらに、回遊のスケールは、海の代わりに湖を利用する降湖型(擬似降海)、大きな本流を利用する降河型など柔軟で多様である。サケ科魚類の系統樹からは、祖先型は河川型であり、進化的に新しくなるにつれて、より高度な回遊行動を獲得したことが示唆されている。

水産重要種でもあるサケ科魚類は世界で最も研究されている魚類である。しかし、ゲノム構造が複雑なため機能遺伝子の解析は思ったようには進んでいなかった。



図1. サケ科魚類の回遊多型の例。海で大型化した降海型(サクラマス)と一生を河川で過ごす残留型(ヤマメ)。これらは同種で共に成熟したオス。

## 2. 研究の目的

本研究では、近年技術的進歩の目覚ましい次

世代シーケンサーによる遺伝子の網羅的分析を用いて、(1)複数のサケ科魚類において降海型と残留型の分化に関係する候補遺伝子領域を推定し、(2)異なる種において同様の遺伝的メカニズムで回遊多型を獲得したかどうかを検討する。これによりサケ科魚類の回遊多型の遺伝的基盤と進化的起源を考察する。

## 3. 研究の方法

### サンプリングデザイン

近年、ニジマス *Onchorynchus mykiss* において残留型と回遊型に関連する候補遺伝子領域が特定された(Pearse et al. 2014 Proc Roy Soc B)。そこでまずはニジマスに近縁であるサクラマス *O. masou* を対象とした。北海道内の10河川から残留型200個体、回遊型200個体を採集した。北海道のサクラマスではオスにのみ生活史二型が現れることから繁殖期に成熟オスをサンプリングした。

次に、異なる属間でも同様の遺伝的変異が残留・回遊に寄与しているかを調べるために、降海型アメマス *Salvelinus leucomaenis* および支流-本流を回遊する降河型オショロコマ *S. malma* をサンプルした。これらのイワナ属では雌雄共に残留型と回遊型が出現する。したがって、残留オス、残留メス、回遊オス、回遊メスをそれぞれ50個体ずつ同一河川にて捕獲した。上記の全ての個体は捕獲後、ヒレ組織の一部を採集し、捕獲場所に再放流した。

### 次世代シーケンサーによるRAD解析

RAD (Restriction site Associate DNA)シーケンスは非モデル生物においてもゲノムを網羅的に解析できる優れた手法である。任意の制限酵素でDNAを断片化し、その制限酵素をタグとして特定部位をシーケンスする。まず、サクラマスの残留型144個体、回遊型144個体を用いて、制限酵素 *Sfbl* で断片化してシーケンスを特定した。その後、アメマスにおいても同様の解析を行った。

### ゲノムワイド関連解析 (GWAS)

GWASは異なる表現型間において遺伝子頻度が大きく異なる候補遺伝子座を特定する手法であり、交配実験のできない人の疾患遺伝子などの探索に広く用いられている。本研究では、残留型と回遊型で顕著に異なる候補遺伝子領域を特定した。また、近年、ニジマスの全ゲノムが解読されたため(Berthelot et al. 2014 Nat Comm)これをリファレンスとしてサクラマスの候補遺伝子領域を特定した。

#### 4. 研究成果

制限酵素 *Sfbl* を用いた RAD シーケンスにより、80bp の RAD-tag が約 6 万個得られた（合計 5,000,000bp、全 3Gb 中の 0.2%）。まず、主成分分析により個体群構造を調べたところ、絶対値は大きくないものの個体群間で明確な遺伝構造が認められた（図 2）。したがって、個体群内および全個体群をプールした場合など複数のケースで GWAS を行った。

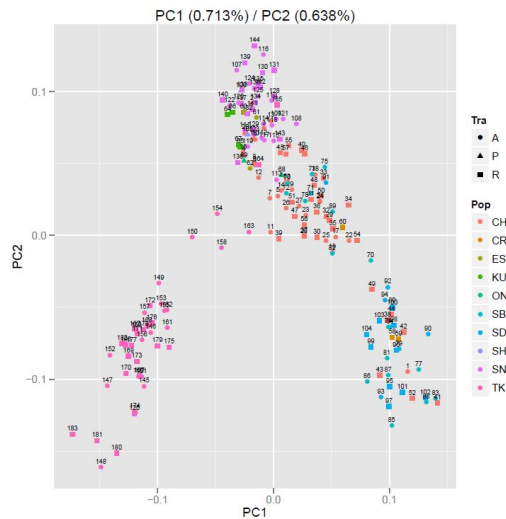


図 2. 主成分分析の結果。異なる色は異なる個体群。は回遊型、は残留型、は未分化個体。個体群 TK が比較的分化しており、その他の集団は大きく 2 つに分けられた。

残留型と回遊型で GWAS を行ったところ、両者を明確に区別する領域が 1-4 ケ所が見つかった（図 3）。しかし、どれも影響はそれほど強くなく、用いたサンプルによっても異なった。また、ニジマスで見ついている候補遺伝子領域とは異なっていた。

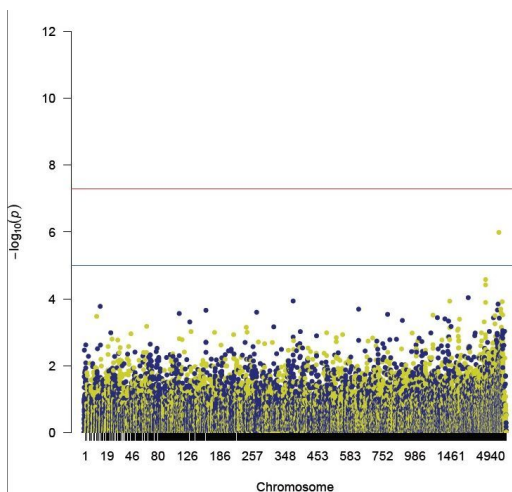


図 3. GWAS の一例

そこで、ゲノムをより詳細に調べるために、制限酵素 *PstI* を用いて再び RAD シーケンスを行った。これにより *Sfbl* の 16 倍の 80,000,000 塩基を読むことができた（全体の 3.2%）。しかし、これほどの高解像度で GWAS を行っても、サクラマスの残留型と降海型に関わる影響力の強い候補遺伝子は検出されなかった。

先行研究のニジマスは雌雄共に降海型と残留型が出現する。これに対してサクラマスはオスのみに多型が出現することから遺伝的基盤も異なると考えられた。そこで同一河川においても雌雄に生活史二型が認められるアメマスで同様の RAD・GWAS 解析を行った。しかし、サクラマスと同じく、残留・回遊に関わる影響力の強い遺伝子領域は認められなかった。

以上から、同じサケ科魚類で似たような生活史多型を持つにも関わらず、それを達成する遺伝的メカニズムは種ごとに異なると考えられた。

サケ科魚類では、幼魚のある時期に臨界体サイズ閾値を超えた個体（＝大型個体）が残留型になることが知られている。ニジマスの先行研究では、発生速度に関する遺伝子領域が残留と回遊の分岐に影響することが示唆されている。つまり、発生速度は成長速度を介して、残留・回遊に寄与していると考えられる。

体サイズに影響するのは発生速度だけではない。例えば、代表者が研究している空知川のオショロコマでは産卵時期を早めることで早く浮上し、大きなサイズとなって残留する。つまり、異なる遺伝的変異を用いて同じ方向へ進化することも十分に考えられる。

また、本研究を通して興味深い発展もあった。これまで残留と回遊の分岐にはサイズ閾値が重要であると考えられてきた。しかし絶対的な体サイズだけではなく、他の個体との相対的な体サイズも分岐に影響するのではないかと着想した。この可能性について理論的な解析を行ったところ、安定環境では常に絶対評価、変動環境では相対評価が有利になることが示された（Tachiki and Koizumi 2016）。

現在、この理論を確かめるために、サクラマスを用いた飼育実験を行っている。本研究課題の遺伝学的解析に加えて、理論解析、飼育実験を組み合わせることで、サケ科魚類の回遊多型の進化プロセスがより詳細に解明されると期待できる。

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 1 件 )

Tachiki Y. and Koizumi I. (2016) Absolute vs.  
relative assessments of individual status in  
status-dependent strategies under stochastic  
environments. *The American Naturalist*, 査読有,  
in press  
DOI: 10.1086/686899

[ その他 ]  
ホームページ等  
<http://noah.ees.hokudai.ac.jp/envmi/koizumilab/>

6 . 研究組織

(1)研究代表者  
小泉 逸郎 ( KOIZUMI, Itsuro )  
北海道大学・地球環境科学研究科・准教授  
研究者番号 : 50572799