

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 5 年 5 月 26 日現在

機関番号：32670

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2017～2022

課題番号：17K07506

研究課題名(和文)脊椎動物における色覚研究基盤モデルの創出

研究課題名(英文)Creation of a basic model for color vision research in vertebrates

研究代表者

深町 昌司 (FUKAMACHI, Shoji)

日本女子大学・理学部・教授

研究者番号：20323446

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,600,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、CRISPR/Cas9法によりメダカの錐体オプシン遺伝子(全8種)にフレームシフト変異を導入した。単色光下の視運動反応に基づいて波長感受性を定量したところ、赤オプシンを失った変異体は赤色光感受性が低下した一方、紫オプシンを失った変異体の紫外線感受性は野生型と同程度だった。さらに、紫と青の2種類のオプシンを失ったメダカも同様に紫外線を感じた。これらの結果は、動物が示す紫外線への応答が、必ずしも紫や青のオプシンを介さないことを示唆する点で興味深く、緑や赤のオプシンだけでも幅広い波長への応答が可能であることを示している。引き続きこれらの変異体の解析により、動物の色覚の理解が進むだろう。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトの色覚の理解する際、色盲/色弱(色覚少数派)のヒトが果たした役割は大きい。同様に、動物の色覚を理解しようとする際、色盲動物を野生型と比較する手法は有効と考えられる。本研究で作出した各種の錐体オプシンKOメダカ(色盲メダカ)は、引き続き動物の色覚(四色型色覚)を研究する基盤を提供すると期待される。二色型色覚のヒトが三色型で見える色を想像することができないため、三色型のヒトも四色型のメダカが見ている色を想像することはできないと考えられる。しかし、色盲メダカと野生型を比較したデータを積み上げることで、四色型で見る世界の理解に繋がりたい。

研究成果の概要(英文)：In this study, we introduced frameshift mutations into the medaka cone opsin genes (eight subtypes in total) using the CRISPR/Cas9 system. Quantitation of behavioral photosensitivity based on the optomotor response under monochromatic light showed that mutants lacking red opsin had reduced red light sensitivity, whereas mutants lacking violet opsin had similar UV sensitivity to that of wild type. In addition, medaka that lost two types of opsins, violet and blue, also sensed UV light. These results are interesting in that they suggest that the responses of animals to ultraviolet light are not necessarily mediated by violet or blue opsins, and that green and red opsins alone are capable of responding to a wide range of wavelengths. Continued analysis of these mutants will advance our understanding of animal color vision.

研究分野：遺伝学

キーワード：色覚 色盲 メダカ 視運動反応 波長感受性 配偶者選択

1. 研究開始当初の背景

脊椎動物には紫 (SWS1)・青 (SWS2)・緑 (RH2)・赤 (LWS) の4種の錐体オプシンが存在するが、哺乳類 (有袋類・有胎盤類) は紫と赤の2種類しか持っていない。ヒトを含む狭鼻猿類のみ、LWS 遺伝子の重複と吸収極大波長の変化によって三色型色覚を獲得したが、全4種類を保持し、四色型と考えられる鳥類や魚類の色覚よりも色分解能が高いとは考えにくい。しかしその実態の理解はほとんど進んでいない。

2. 研究の目的

本研究では四色型の色覚の理解に向けて、メダカをモデルとして錐体オプシン遺伝子のゲノム編集を行い、色盲と野生型の行動を比較した。

3. 研究の方法

CRISPR/Cas9法を用いて、メダカが持つ4種類8サブタイプの錐体オプシン (SWS1, SWS2a, SWS2b, RH2a, RH2b, RH2c, LWSa, LWSb) 遺伝子にフレームシフトを導入した。単色光下の視運動反応により波長感受性を定量し、各種色盲メダカと野生型とで比較した。また、体色依存的な配偶者選択行動への影響を調べることで、色分解能を評価した。

4. 研究成果

LWSa と LWSb を両方失った赤色盲メダカを作成し、視運動反応を目視で比較したところ [図 1]、野生型は波長 830 nm まで視運動反応陽性であった一方、赤色盲は 740 nm よりも長波長で陰性となった。赤色光は LWS を介して感覚されていることが示された [Homma et al. 2017; 図 2] また配偶者選択行動を調べたところ、赤色盲では体色の好みが大きく低下したため、色分解能が低下していると考えられた [Kamijo et al. 2018]

それまで目視で主観的に定性していた視運動反応を、行動を録画した動画解析により、遊泳距離や反応速度などで客観的に定量する実験系を立ち上げた [Matsuo et al. 2018]

強く連鎖する LWSa と LWSb の配列を詳細に解析したところ、ミナミメダカ、キタノメダカともに遺伝子変換 (gene conversion) が起きていることを発見した。また、巨大欠失を起こして LWSa と LWSb を連結させた変異体 (2つある遺伝子を1つにした変異体) の赤色光感受性は野生型と同等であることがわかった [Harada et al. 2019]

SWS2a と SWS2b の片方、あるいは両方を失った青色盲メダカを作成し、配偶者選択行動を調べたところ、いずれも体色の好み低下したため、色分解能が低下したと考えられた。しかし、青色光下の視運動反応は低下しておらず、青色光感受性は野生型と同等であった [Kanazawa et al. 2020] 青を失っても紫や緑によって補完された可能性が考えられた。

SWS1 を失った紫色盲メダカと抗メダカ SWS1 モノクローナル抗体を作成し、網膜における錐体モザイク構造への影響を調べた。ニジマスで報告されていた眼球や頭部の奇形は起こらず、網膜にも特に異常は見られず、メダカでは SWS1 を失っても組織が正常に保持されることが示された [Matsuo et al. 2022]

SWS1 と SWS2a と SWS2b の3種を失った紫青二重色盲を作成し、紫外線および青色光感受性を視運動反応により調べたところ、野生型よりも低下しておらず、むしろ上昇している可能性が示された。RH2 や LWS の発現量 (転写量) は上昇していなかった。これらの結果より、紫外

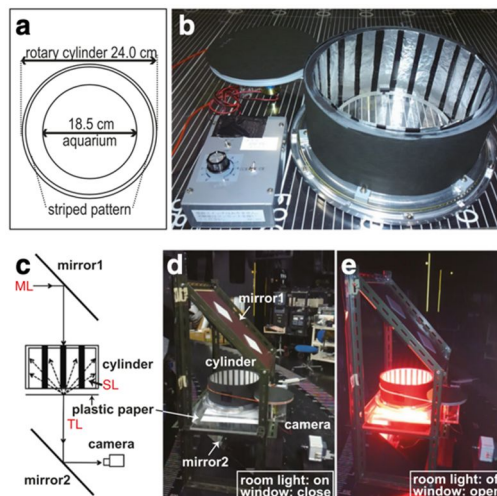


図 1. 視運動反応試験装置

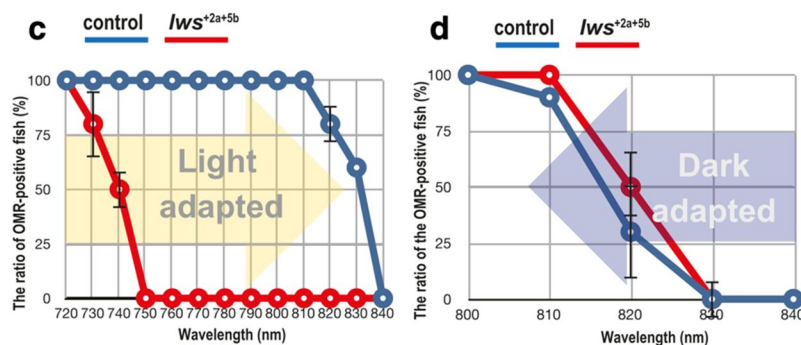


図 2. 赤色盲メダカの光感受性。暗順応条件下では差が無い。

線に対する動物の反応は必ずしも SWS1 や SWS2 を介しておらず、視運動反応は RH2 と LWS のみを介して制御されていることが示唆された [論文投稿中]

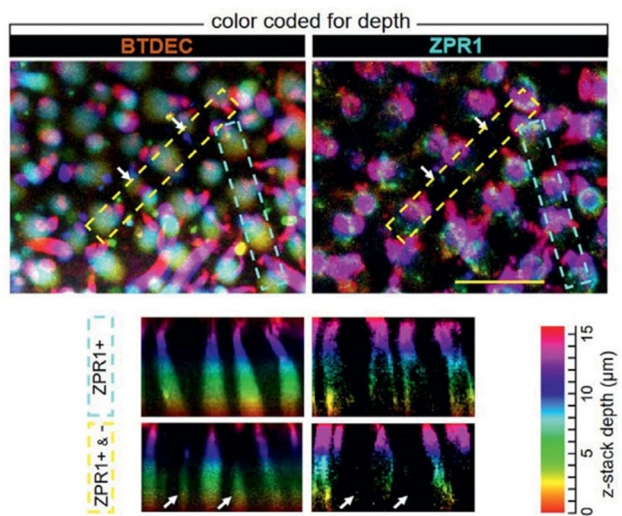


図 3 . 紫色盲メダカの錐体モザイク構造

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計10件（うち査読付論文 10件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 8件）

1. 著者名 Matsuo Megumi, Matsuyama Makoto, Kobayashi Tomoe, Kanda Shinji, Ansai Satoshi, Kawakami Taichi, Hosokawa Erika, Daido Yutaka, Kusakabe Takehiro G., Naruse Kiyoshi, Fukamachi Shoji	4. 巻 63
2. 論文標題 Retinal Cone Mosaic in sws1-Mutant Medaka (<i>Oryzias latipes</i>), A Teleost	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Investigative Ophthalmology & Visual Science	6. 最初と最後の頁 21 ~ 21
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1167/iovs.63.11.21	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Matsuo Megumi, Kamei Yasuhiro, Fukamachi Shoji	4. 巻 8
2. 論文標題 Behavioural red-light sensitivity in fish according to the optomotor response	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Royal Society Open Science	6. 最初と最後の頁 210415 ~ 210415
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1098/rsos.210415	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kaneko Ena, Sato Hinako, Fukamachi Shoji	4. 巻 16
2. 論文標題 Validation of the three-chamber strategy for studying mate choice in medaka	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 PLOS ONE	6. 最初と最後の頁 e0259741
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0259741	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Kanazawa Nodoka, Goto Mayuko, Harada Yumi, Takimoto Chiaki, Sasaki Yuuka, Uchikawa Tamaki, Kamei Yasuhiro, Matsuo Megumi, Fukamachi Shoji	4. 巻 11
2. 論文標題 Changes in a Cone Opsin Repertoire Affect Color-Dependent Social Behavior in Medaka but Not Behavioral Photosensitivity	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Frontiers in Genetics	6. 最初と最後の頁 801
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3389/fgene.2020.00801	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Harada Yumi, Matsuo Megumi, Kamei Yasuhiro, Goto Mayuko, Fukamachi Shoji	4. 巻 9
2. 論文標題 Evolutionary history of the medaka long-wavelength sensitive genes and effects of artificial regression by gene loss on behavioural photosensitivity	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 2726
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41598-019-39978-6	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsuo Megumi, Ando Yoriko, Kamei Yasuhiro, Fukamachi Shoji	4. 巻 7
2. 論文標題 A semi-automatic and quantitative method to evaluate behavioral photosensitivity in animals based on the optomotor response (OMR)	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Biology Open	6. 最初と最後の頁 33175
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1242/bio.033175	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kamijo Makiko, Kawamura Mayuko, Fukamachi Shoji	4. 巻 150
2. 論文標題 Loss of red opsin genes relaxes sexual isolation between skin-colour variants of medaka	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Behavioural Processes	6. 最初と最後の頁 25 ~ 28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.beproc.2018.02.006	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 Homma Noriko, Harada Yumi, Uchikawa Tamaki, Kamei Yasuhiro, Fukamachi Shoji	4. 巻 18
2. 論文標題 Protanopia (red color-blindness) in medaka: a simple system for producing color-blind fish and testing their spectral sensitivity	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 BMC Genetics	6. 最初と最後の頁 10
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1186/s12863-017-0477-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Kamijo Makiko, Kawamura Mayuko, Fukamachi Shoji	4. 巻 150
2. 論文標題 Loss of red opsin genes relaxes sexual isolation between skin-colour variants of medaka	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Behavioural Processes	6. 最初と最後の頁 25 ~ 28
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.beproc.2018.02.006	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 Shimmura Tsuyoshi, Nakayama Tomoya, Shinomiya Ai, Fukamachi Shoji, Yasugi Masaki, Watanabe Eiji, Shimo Takayuki, Senga Takumi, Nishimura Toshiya, Tanaka Minoru, Kamei Yasuhiro, Naruse Kiyoshi, Yoshimura Takashi	4. 巻 8
2. 論文標題 Dynamic plasticity in phototransduction regulates seasonal changes in color perception	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nature Communications	6. 最初と最後の頁 412
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41467-017-00432-8	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計4件 (うち招待講演 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 深町昌司
2. 発表標題 色覚研究モデルとしてのメダカ
3. 学会等名 第13回バイオイメージングフォーラム & 基礎生物学研究所重点共同利用合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 松尾恵, 安東頼子, 亀井保博, & 深町昌司
2. 発表標題 視運動反応の定量化 ~ サカナタチハミテイル ~
3. 学会等名 第13回バイオイメージングフォーラム & 基礎生物学研究所重点共同利用合同シンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 深町昌司
2. 発表標題 メダカがイメージする世界
3. 学会等名 第117回日本皮膚科学会総会（招待講演）
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 深町昌司
2. 発表標題 メダカの気持ち
3. 学会等名 第12回NIBB Bioimaging Forum（招待講演）
4. 発表年 2018年

〔図書〕 計0件

〔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

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