

## 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 15 日現在

機関番号：12201

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2010～2011

課題番号：22658056

研究課題名（和文） 魚類の性格を支配する脳内性格関連遺伝子群の探索と機能解析

研究課題名（英文） Identification and characterization of genes affecting personality traits of fish

研究代表者

飯郷 雅之 (IIGO MASAYUKI)

宇都宮大学・農学部・准教授

研究者番号：10232109

研究成果の概要（和文）：

魚類の「性格」は遺伝的に決まっているのか？ヒトでは個体の性格を支配する「性格関連遺伝子」の存在が明らかにされた。また、ヒト以外の哺乳類や鳥類においてもその存在が報告されつつある。しかしながら、魚類において「性格」が遺伝子の多形に影響されることを示した報告は申請者の知る限りない。そこで本研究においては、アユとメダカをモデル魚として、魚類の「性格」を支配する脳内性格関連遺伝子群の探索と機能解析を試みた。

研究成果の概要（英文）：

Are there genes affecting personality traits of fish? In human, some genes have been identified as “personality-related genes”. Recent studies also identified “personality-related genes” not only in mammals but also in birds. These strongly suggest the presence of “personality-related genes” in fish. However, this issue has not been tested yet. Thus, in this study, we tried to identify and characterize genes affecting personality traits of fish.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	0	1,700,000
2011 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度	0	0	0
年度	0	0	0
年度	0	0	0
総計	3,200,000	450,000	3,650,000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：魚類，性格関連遺伝子，モノアミン，受容体，多型

## 1. 研究開始当初の背景

魚類の「性格」は遺伝的に決まっているのか？ヒトでは個体の性格を支配する「性格関連遺伝子」の存在が明らかにされた。また、ヒト以外の哺乳類や鳥類においてもその存在が報告されつつある。しかしながら、魚類において「性格」が遺伝子の多形に影響されることを示した報告は申請者の知る限りない。申請者はこれまでアユやメダカを対象に生殖、回遊、日周リズムを司る脳内分子機構の研究を進めてきた。那珂川におけるサンプリングの際にアユの友釣りを見て、「友釣りで釣れやすいアユは攻撃性が高く、連れにくいアユは攻撃性が低いのでは？遺伝的な違いがあるに違いない」と考えた。そこで本研究においては、アユとメダカをモデル魚として、魚類の「性格」を支配する脳内性格関連遺伝子群の探索と機能解析を試みた。

## 2. 研究の目的

魚類の「性格」は遺伝的に決まっているのか？ヒトでは個体の性格を支配する「性格関連遺伝子」の存在が明らかにされた。しかしながら、魚類において性格や行動特性を支配する性格関連遺伝子が存在するかどうかは未だ明らかにされていない。そこで本研究においては、アユとメダカをモデル魚として、魚類の性格を支配する脳内性格関連遺伝子群の探索を行い、機能解析を試みる。様々な脳内神経伝達物質およびそれらの合成・代謝酵素、受容体、トランスポーターの遺伝的多形と行動の間に有意な相関を見いだすことができれば、放流する種苗の選抜育種の分子マーカーとして利用することが可能となり、効率的分子育種の技術開発に貢献できる。

## 3. 研究の方法

### (1) 試料の採取

那珂川産天然アユ、琵琶湖産湖アユ、および近縁のリュウキュウアユ、メダカについては南方系の Hd-rR 系統、各 10 個体以上から脳、網膜、肝臓、ヒレなどを採取し、遺伝子のクローニングおよび多形解析用の cDNA およびゲノム DNA を調整した。

### (2) 脳内性格関連遺伝子群のクローニング

脳内性格関連遺伝子群の候補として脳内のモノアミン性神経伝達物質であるドーパミンを選定し、その受容体（ドーパミン DRD1～5）遺伝子群の cDNA およびゲノム DNA のクローニングを試みた。

### (3) 脳内性格関連遺伝子群の系統間の多型の同定

脳内性格関連遺伝子群のエクソン、イントロン、およびプロモータ領域の塩基配列を決定し、アユは天然アユ、湖アユ、近縁のリュウキュウアユの間に塩基配列の多型が存在

するかどうか検討した。

## 4. 研究成果

性格関連遺伝子としてドーパミン DRD1～5 遺伝子の網羅的 cDNA およびゲノム DNA のクローニングを行い、塩基配列の決定を行った。アユの脳および網膜から合成された cDNA をテンプレートとして、既知の脊椎動物ドーパミン受容体サブタイプ遺伝子に保存された領域から作成した縮重プライマーを用いた PCR を行い、アユのドーパミン受容体サブタイプをコードすると予測される cDNA 断片を増幅し、常法により塩基配列を決定した。その結果、アユの 5 種類のサブタイプすべてのドーパミン受容体遺伝子 (DRD1, DRD2, DRD3, DRD4, DRD5) をコードすると予測される塩基配列を決定した。

次に、哺乳類の性格形成に重要な役割を持つと言われている DRD4 遺伝子をまず対象とし、DRD4 cDNA 全長を 5' -および 3' -rapid amplification of cDNA ends (RACE) 法により増幅し、塩基配列決定を試みた。その結果、5' -RACE, 3' -RACE とともに塩基配列を決定することができた。アユ DRD4 cDNA の翻訳領域は 1191 bp で、396 アミノ酸残基をコードしていた (図 1)。

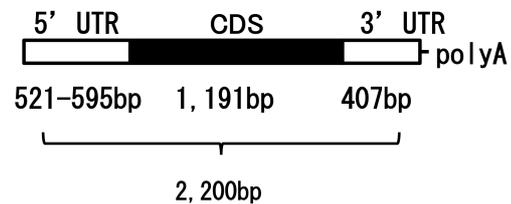


図 1. アユ DRD4 cDNA の構造。

演繹アミノ酸配列の膜貫通部位を TMHMM (<http://www.cbs.dtu.dk/services/TMHMM/>) により予測したところ、アユ DRD4 タンパク質は 7 回の膜貫通部位を持つ G タンパク質共役型受容体であると予測された (図 2)。3 番目の細胞膜内のループが長いのが特徴的であった。

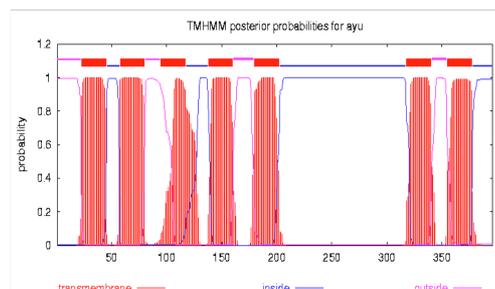


図 2. アユ DRD4 の膜貫通構造部位の予測。

クローニングされたアユ DRD4 が DRD4 をコードしていることを確認するために分子系統解析を行った。ClustalW で配列をアユ DRD4 とデータベース上の DRD4 の配列をアラインメントした後、近隣接合法を用いて分子系統樹を作成した。各ノードの信頼性は1000回のブートストラップを行い、%で表示した。その結果、演繹アミノ酸配列を用いたタンパク質レベルでの解析、cDNA 塩基配列を用いた DNA レベルでの解析の両者ともに、アユ DRD4 は他の魚類の DRD4 と同一のクレードを形成した (図 3)。

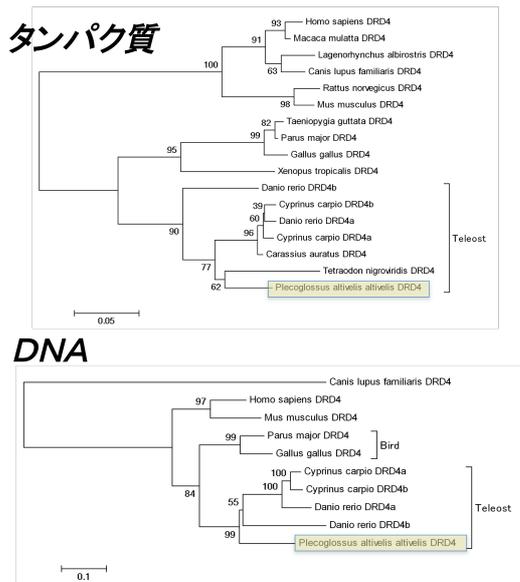


図 3. DRD4 の分子系統樹.

続いて DRD4 遺伝子のゲノム DNA の塩基配列決定を行った。その結果、アユの DRD4 遺伝子は4つのエクソンと3つのイントロンからなることがわかった (図 4)。那珂川産天然アユについては、反復配列多型、SNPs、In/DeI の存在が見いだされ、アユの攻撃行動と相関を持つ可能性が示唆された。

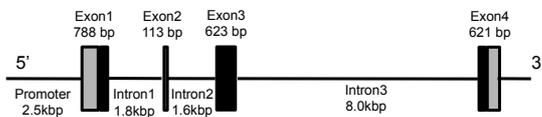


図 4. DRD4 遺伝子の構造

以上、本研究においては「挑戦的」萌芽研究の主旨にみあった研究成果を得ることができた。今後はさらに多くの性格関連遺伝子候補の cDNA およびゲノム DNA クローニングを進め、攻撃行動との相関を検討することにより魚類における性格関連遺伝子の特性が明らかになることが期待される。

## 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 0 件)

〔学会発表〕 (計 7 件)

- ① 武田維倫, 小堀功男, 石嶋久男, 飯郷雅之 (2012) アユの性格関連遺伝子を探る. 水産学会. 平成 24 年度日本水産学会春季大会, 2012. 3. 28, 東京都品川区.
- ② 武田維倫, 小堀功男, 石嶋久男, 飯郷雅之 (2012) アユの性格関連遺伝子多型と攻撃行動. 第 16 回行動神経内分泌研究会, 2012. 2. 22, 東京都文京区.
- ③ 武田維倫, 飯郷雅之 (2011) アユの性格関連遺伝子. 日光シンポジウム, 2011. 12. 17-18, 栃木県日光市.
- ④ 飯郷雅之 (2011) 水産研究における脳科学研究の推進とその応用. (社) 農林水産先端技術産業振興センター、農林水産省主催アグリ技術シーズセミナー.
- ⑤ 武田維倫, 小堀功男, 新井菜津美, 手賀章倫, 石嶋久男, 飯郷雅之 (2010) アユにおける DRD4 の cDNA クローニングと発現解析. 第 17 回日本時間生物学学会学術大会, 2010. 11. 20-21, 東京都新宿区.
- ⑥ 武田維倫, 新井菜津美, 小原明日香, 渡邊長生, 酒井忠幸, 石嶋久男, 手賀章倫, 飯郷雅之 (2010) アユの性格関連遺伝子に関する研究. 第 13 回行動神経内分泌研究会, 2010. 9. 13, 茨城県古河市.
- ⑦ 武田維倫, 飯郷雅之 (2010) 本能的脳機能研究の水産学的展開～機能的ゲノミクスからの新技術開発～. 第 4 回宇都宮大学企業交流会, 2010. 9. 6, 栃木県宇都宮市.

〔図書〕 (計 2 件)

- ① 飯郷雅之, シーエムシー出版, 第 18 章 体内時計制御の水産業への応用, 「体内時計の科学と産業応用」 (柴田重信監修), 2011, pp. 154-160.
- ② 飯郷雅之, 朝倉書店, メラトニンの分子機構, 「からだと光の事典」 (太陽紫外線防御研究委員会編), 2010, pp. 320-324.

〔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〕

ホームページ等

<http://www.utsunomiya-u.ac.jp/info/uunow/uunow-pdf/uu27/10-11.pdf>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

飯郷 雅之 (IIGO MASAYUKI)

宇都宮大学・農学部・准教授

研究者番号：10232109

### (2) 研究分担者

( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

( )

研究者番号：