

# カラシン目魚類から見た赤緑型視物質遺伝子の重複と機能分化

新領域創成科学研究科 先端生命科学専攻 人類進化システム分野 47-46519 奥田 絢子

指導教官 河村 正二 助教授

2006年3月 修了

【キーワード】 視物質 オプシン カーディナルテトラ 遺伝子重複 機能分化 収斂進化

## 【序論】

動物が生息する環境は光に満ち溢れており、眼から光情報を得て様々な判断を行っている。光情報をより詳細にしてくれるのが色である。動物は光の明暗だけでなく、色を基に、危険物の有無を確認したり、繁殖相手を選別したり、捕食者から身を守ったりしている。脊椎動物において明所でこの色識別を担っているのが錐体オプシンであり、進化系統学的に4種類に分けられ、それらは、RH2(緑型)、SWS1(紫外線型)、SWS2(青型)、M/LWS(赤型)である。一般に、魚類、両生類、爬虫類、鳥類は4種全てを持ち、有胎盤哺乳類はSWS1とM/LWSの2色型である。その中でも霊長類は例外的にM/LWSグループの遺伝子重複で赤オプシンと緑オプシンを獲得した。それぞれのオプシンはそれぞれに最もよく吸収する光波長( $\lambda_{max}$ )が異なり、それらの違いはアミノ酸配列の違いによる。特に霊長類のM/LWSでは、3つのアミノ酸サイト(ヒト赤型オプシンの180、277、285番目)によって $\lambda_{max}$ が調整されることが明らかになっており、3サイトルールと呼ばれている。

魚類は生息する水中に光環境が陸上に比べて多様であることから、各オプシングループに遺伝子重複によるサブタイプを持ち、多彩な色覚を有しているものが多いと考えられている。特に霊長類と類似して、M/LWSグループに2つ以上の遺伝子を持つものが存在することが知られている。メキシカンテトラもその1つである。メキシカンテトラのM/LWS型遺伝子は、R007、G101、G103の3つであり、各 $\lambda_{max}$ は560nm,530nm,530nmでR007が霊長類の赤オプシンと、G101/G103が緑オプシンに対応している。メキシカンテトラのM/LWS型オプシンの $\lambda_{max}$ は霊長類と同様に3サイトのアミノ酸(180、277、285)の置換によって分化していることがわかっている。この現象は、陸上の霊長類と水中の魚類が全く独立に同様の遺伝子重複とアミノ酸置換により、遺伝子を進化させてきたことを示しており、収斂進化の例として注目された。G101とG103は $\lambda_{max}$ の分化が見られないことからここではまとめてメキシカンテトラMWS、R007をLWSと呼ぶことにする。そもそもメキシカンテトラのMWSとLWSの遺伝子重複の起源は非常に古く、硬骨魚類の共通祖先に遡ることがわかっている。したがって全

ての硬骨魚類はMWSとLWS両方の遺伝子を持つはずであるが、これまでにMWSに相当する遺伝子が魚類で発見されたのはメキシカンテトラだけである。メキシカンテトラのMWSは霊長類との色覚における収斂進化の例として興味深い。魚類におけるMWSに関する情報が非常に少ないため、①MWSの発現パターン②LWSとのcolor opponencyシステムの有無③メキシカンテトラ以外でMWS

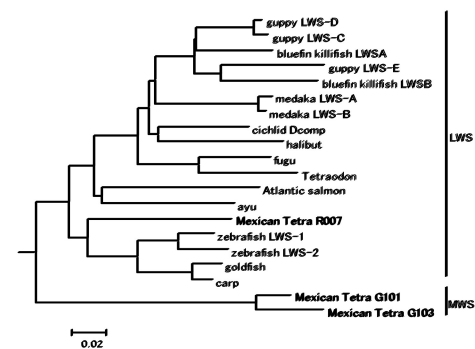


図1. 塩基配列による硬骨魚類のM/LWSオプシン遺伝子の進化系統樹

が保存されている魚種がいるかどうか、など不明なことがまだ多い。①②の問題は、メキシカンテトラを対象にさらに研究を掘り下げることで解決できるが、残念ながら日本国内でメキシカンテトラを入手することはできなかった。③に対しては、メキシカンテトラ以外の魚種で調べる必要がある。そこで私はメキシカンテトラと同じカラシン目カラシン科に属するカーディナルテトラ(*Paracheirodon Axelrodi*)に着目した。カーディナルテトラはブラジルネグロ河流域に生息する淡水魚で、その鮮やかな体色から観賞用熱帯魚として広く親しまれている。しかしこれまでにオプシンをはじめ、色覚についてはほとんど調べられていない。またこれまでにオプシン遺伝子が調べられてきた魚種の中で、メキシカンテトラに最も近縁であることから、

MWS を保持している可能性が高い。また同じ生息場所に体色の異なる同属異種が存在し、今後それらの種とオプシンを比較することで、色覚と体色の関連性解明が期待できる。そこで私は、カーディナルテトラを対象として、M/LWS 型オプシン遺伝子、特に MWS 遺伝子の単離を本研究の目標とした。

### 【結果と考察】

カーディナルテトラのゲノムライブラリースクリーニングから、M/LWS 型の遺伝子1つを単離した。塩基配列決定を行い、メキシカンテトラの M/LWS 型遺伝子との配列比較から、R007と93.2%の相同性が見られ、この遺伝子は MWS ではなく、LWS であることが明らかとなった。

また、メキシカンテトラの MWS と LWS の相同性は 75%程度であるため、ゼブラフィッシュ LWS-1 をプローブとしたスクリーニングでは MWS を十分にハイブリダイズできなかった可能性があった。そこで、メキシカンテトラ G101 の配列を基にしたプライマーを用いてカーディナルテトラのゲノム DNA を鋳型とした PCR を行ったところ、G101 と 95.8%の相同性を持つ断片が得られた。この配列を基に、カーディナルテトラの眼球から得た total RNA を用いて 3'RACE を行い、エキソン5、6、及び3'UTR を決定した。また、更なる PCR を行い、イントロンを含めたエキソン2から5までの配列を決定した。

LWS は全コード領域の塩基配列、MWS は単離できなかったエキソン1を除くコード領域の塩基配列を使用して系統樹を作成した(図2)。この系統樹により、スクリーニングで単離してきた遺伝子は LWS に相当し、PCR で得られた遺伝子は MWS に相当することが明らかになった。このことから、メキシカンテトラ以外の種でも MWS が保存されていることが示された。これら 2 つの遺伝子の  $\lambda$  max を特徴付ける3サイトから、LWS は多くの魚類と共通して約 560nm になるのに対し、MWS は約 538nm になると予測できる。2つのメキシカンテトラ MWS は3サイトが緑型であるのに対し、カーディナルテトラではそれらのうち2サイトが緑型、1 サイトは赤型に復帰しているのは、カーディナルテトラが独自にメキシカンテトラとは異なる生息場所の環境に適応して進化させてきた特徴である可能性が考えられ、非常に興味深い。

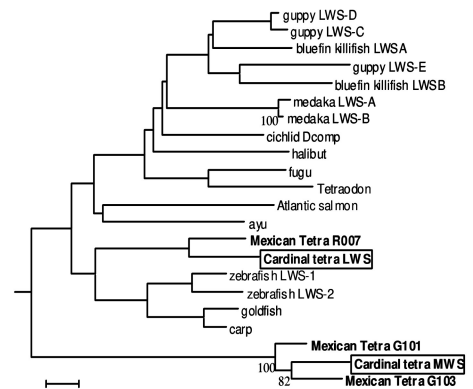


図2. カーディナルテトラM/LWSオプシン遺伝子を含めた進化系統樹

LWSとMWSの3'UTR領域を用いたカーディナルテトラの網膜切片に対する *in situ* ハイブリダイゼーションにより、両遺伝子が視細胞で発現していることを確認した。両遺伝子とも網膜の背側から腹側全体にシグナルが検出されたが、発現パターンは多少異なっているように見られた。このことから、MWS がカーディナルテトラで機能して使われていることが示唆されたが、今後、完全な網膜切片を得て、両遺伝子の発現パターンを詳細に解析することによって、MWS の発現様式の初の報告ができると考えている。

今回、本研究によって魚類の MWS がメキシカンテトラ以外でも保存されていることが示されたのは重要な知見であると考えます。今後、カーディナルテトラ MWS の完全な単離、M/LWS グループにおける他のサブタイプの存在の検証を行い、硬骨魚類における系統関係を明らかにしていくことで、魚類の M/LWS 型オプシン遺伝子進化へ新たな知見を与えるだけでなく、霊長類との収斂進化を考える上でも非常に有益であると考えます。また、カーディナルテトラの大きな特徴のひとつに、その鮮やかな体色が挙げられる。よって、M/LWS 型以外のグループのオプシン遺伝子を探索し、その機能を解明していくこと、体色の異なる同属種とのオプシン遺伝子の比較を行うことが重要である。それらが明らかになれば、色覚と体色との関連性を考察していくことができるだろう。