Title	ハチクマ (タカ目タカ科) の羽毛色バリエーションに関与する遺伝子の研究
Sub Title	The genetic basis of melanic polymorphism in oriental honey buzzard (Pernis ptilorhyncus
Cub Tillo	orientalis).
Author	小野, 裕剛(Ono, Hirotake)
Publisher	慶應義塾大学
Publication year	2019
Jtitle	学事振興資金研究成果実績報告書 (2018.)
JaLC DOI	· · ·
Abstract	ハチクマ(Pernis ptilorhynchus orientalis) の羽装は特に腹側で個体差に富んでいる。それは淡色(白色ペパフ色)、淡褐色、濃褐色、縞模様といった具合に極めて多様である。これらのパターンは羽毛の基調色と白斑(白鍋)の組み合わせによって作られていると考えられ、これはマウスで知られているメラノコルチン受容体(Mc1n)とアグチシグナルタンパク質(ASIP)によって作られるパターン形成理論と極めて整合性が高い。そこで我々は異なる羽装を持つハチクマがこれらの遺伝子の多型を持っているかどうかを確かめた。研究の開始に当たり、ハチクマの全ゲノムドラフト配列の決定を行った。使用したのは淡褐色の表現型を持つ個体の血液で、盛岡市動物公園で飼育されていたものである。イルミナ社のHiseqとLC genomics workbenchを用いた結果、約60万コンティグからなる約1.5Gbの配列を得た。辛いに、Mc1r遺伝子の一ド領域全長とASIP遺伝子コード領域を含む約100kbを入手することができた。この情報を元に今年度はMc1rのPCRプライマーセットをいくつか作成した。検査に使用した27個体の野生ハチクマは以前に行われた渡りルート探索研究の際に捕獲されたもので、保管されていた羽毛からDNAを抽出した。は一下のアのアンイが検出され、その内の2つは濃褐色の表現型と完全に対応していた。この濃褐色ハブロタイブは945bpのMc1rコード領域に16のSNPs(そのうち同義置接が5、非同義置接が11)を持つものであった。その一方で、淡色型・淡褐色の素現型を持つものと特定のハブロタイブの相関は見られなかった。これらの結果は濃褐色が体外の表現型にはASIP遺伝子の多型が関チョレているであった。その一方で、次色はASIP遺伝子の多型が関チョレているであった。そのよるはSIPのハブロタイブ解析を進めていきたいと考えている。Plumage color patterns of oriental honey buzzard (Pernis ptilorhynchus orientalis; OHB) are particularly diverse on their ventral side, e.g. light (white to buff), intermediate brown, dark brown and barred. It is presumend that these patterns are composed of combinations of basic colors and the size of white spots (bars) in each feather. Since these features are consistent with the phenotypes of mutant strains of melanocortin receptor 1 (Mc1r) and agouti signaling protein (ASIP) in mice, we tried to determine the haplotypes of these genes in individuals which have different plumage paterns. At the start of this study, we sequenced whole genome of OHB to design the PCR primers which amplify Mc1r and ASIP genes. To extract genome DNA, we used blood sample of intermediate plumage OHB, which kept in the Morioka city zoo. We got 1.5Gb draft sequence consist of 600,000 contigs using Illumian Hi-seq and CLC genomics workbench. Several pairs of PCR primers for the OHB Mc1r gene were designed based on whole genome sequence. We analyzed 27 individual OHB, whose feathers were corrected at previous survey for the route of migration. The PCR products were sequenced directly to detect the polymorphisms. We found severa
Notes	
Genre	Research Paper
URL	https://koara.lib.keio.ac.jp/xoonips/modules/xoonips/detail.php?koara_id=2018000005-20180050

保護されています。引用にあたっては、著作権法を遵守してご利用ください。

The copyrights of content available on the KeiO Associated Repository of Academic resources (KOARA) belong to the respective authors, academic societies, or publishers/issuers, and these rights are protected by the Japanese Copyright Act. When quoting the content, please follow the Japanese copyright act.

2018 年度 学事振興資金 (個人研究) 研究成果実績報告書

研究代表者	所属	法学部	職名	准教授	一 補助額	300 (A	(A)	千円
	氏名	小野 裕剛	氏名 (英語)	Hirotake Ono				113

研究課題 (日本語)

ハチクマ(タカ目タカ科)の羽毛色バリエーションに関与する遺伝子の研究

研究課題 (英訳)

The genetic basis of melanic polymorphism in oriental honey buzzard (Pernis ptilorhyncus orientalis).

1. 研究成果実績の概要

ハチクマ(Pernis ptilorhynchus orientalis) の羽装は特に腹側で個体差に富んでいる。それは淡色(白色~バフ色)、淡褐色、濃褐色、縞模様といった具合に極めて多様である。これらのパターンは羽毛の基調色と白斑(白縞)の組み合わせによって作られていると考えられ、これはマウスで知られているメラノコルチン受容体1(Mc1r)とアグチシグナルタンパク質(ASIP)によって作られるパターン形成理論と極めて整合性が高い。そこで我々は異なる羽装を持つハチクマがこれらの遺伝子の多型を持っているかどうかを確かめた。

研究の開始に当たり、ハチクマの全ゲノムドラフト配列の決定を行った。使用したのは淡褐色の表現型を持つ個体の血液で、盛岡市動物公園で飼育されていたものである。イルミナ社の Hi-seq と CLC genomics workbench を用いた結果、約 60 万コンティグからなる約1.5Gb の配列を得た。幸いに、Mc1r 遺伝子のコード領域全長と ASIP 遺伝子コード領域を含む約 100kb を入手することができた。

この情報を元に今年度は Mc1r の PCR プライマーセットをいくつか作成した。検査に使用した 27 個体の野生ハチクマは以前に行われた渡りルート探索研究の際に捕獲されたもので、保管されていた羽毛から DNA を抽出した。

増幅された PCR 産物はクローニングした後に配列決定を行い、ハプロタイプを確定した。結果として、9つのハプロタイプが検出され、 その内の 2 つは濃褐色の表現型と完全に対応していた。この濃褐色ハプロタイプは 945bp の Mc1rコード領域に 16 の SNPs(そのうち 同義置換が 5、非同義置換が 11)を持つものであった。その一方で、淡色型・淡褐色型・縞模様の表現型を持つものと特定のハプロタ イプの相関は見られなかった。

これらの結果は濃褐色が体外の表現型には ASIP 遺伝子の多型が関与しているであろうことを示唆しているので、今後は ASIP のハプロタイプ解析を進めていきたいと考えている。

2. 研究成果実績の概要(英訳)

Plumage color patterns of oriental honey buzzard (Pernis ptilorhynchus orientalis; OHB) are particularly diverse on their ventral side, e.g. light (white to buff), intermediate brown, dark brown and barred. It is presumed that these patterns are composed of combinations of basic colors and the size of white spots (bars) in each feather. Since these features are consistent with the phenotypes of mutant strains of melanocortin receptor 1 (Mc1r) and agouti signaling protein (ASIP) in mice, we tried to determine the haplotypes of these genes in individuals which have different plumage paterns.

At the start of this study, we sequenced whole genome of OHB to design the PCR primers which amplify Mc1r and ASIP genes. To extract genome DNA, we used blood sample of intermediate plumage OHB, which kept in the Morioka city zoo. We got 1.5Gb draft sequence consist of 600,000 contigs using Illumina Hi-seq and CLC genomics workbench.

Several pairs of PCR primers for the OHB Mc1r gene were designed based on whole genome sequence. We analyzed 27 individual OHB, whose feathers were corrected at previous survey for the route of migration.

The PCR products were sequenced directly to detect the polymorphisms. We found several SNPs and cloned into plasmid vector to determine the haplotypes.

As a result, we found 9 haplotypes, and two of them are completely associate with dark brown phenotype. These haplotypes bear 16 SNPs (5 are synonymous and 11 are non-synonymous) within 945 base pairs of Mc1r coding region. On the other hand, we could not find any correlation between other phenotypes and haplotypes.

These results suggest that ASIP is involved in the determination of phenotypes other than dark brown. So, we are planning to investigate the correlation between ASIP haplotypes and OHB plumage phenotypes.

3. 本研究課題に関する発表							
発表者氏名 (著者・講演者)	発表課題名 (著書名・演題)	発表学術誌名 (著書発行所・講演学会)	学術誌発行年月 (著書発行年月・講演年月)				
小野裕剛·長井和哉·時田賢 一·内田聖·樋口広芳	ハチクマ羽毛色パターンに関与する可能性がある MC1R 遺伝子ハプロタイプの分析	日本動物学会 第 89 回大会	2018年9月18日				