

# Lunar Phase-Dependent Expression of Cryptochrome and a Photoperiodic Mechanism for Lunar Phase-Recognition in a Reef Fish, Goldlined Spinefoot

Masato Fukushiro, Takahiro Takeuchi, Yuki Takeuchi, Sung-Pyo Hur, Nozomi Sugama, Akihiro Takemura, Yoko Kubo, Keiko Okano, Toshiyuki Okano

*PLoS One* 6, e28643 (2011)

doi:10.1371/journal.pone.0028643

## サンゴ礁に生息する魚類、ゴマアイゴにおける月齢依存的なクリプトクロムの発現と光周期による月齢認識機構

福代真<sup>1</sup>、竹内崇裕<sup>1</sup>、竹内悠記<sup>2</sup>、Sung-Pyo Hur<sup>2</sup>、洲鎌望<sup>2</sup>、竹村明洋<sup>2</sup>、久保葉子<sup>1</sup>、岡野恵子<sup>1</sup>、岡野俊行<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>早大,<sup>2</sup>琉球大

### 【本論文のポイント】

ゴマアイゴはサンゴ礁に生息し、夏の上弦の月の夜にのみ産卵する。このような月齢同調産卵はサンゴにも見られるが、その分子メカニズムは不明である。時計関連遺伝子であるクリプトクロムは、概日時計やその光同調に関わる分子であるため、月齢同調産卵に関わる可能性がある。そこで、ゴマアイゴのクリプトクロム遺伝子を探索し、*SgCry1*、*SgCry3*の2種類のクリプトクロム遺伝子を同定し、脳および卵巣における発現を調べた。その結果、*SgCry3*の遺伝子発現が、卵巣では一定であったが、間脳において月齢依存的に振動した。間脳は鳥類では生殖応答に関わっていることをふまえると、*SgCry3*が月齢認知に関わっている可能性があり、1月周期の発現変動パターンから、周期性の背景には、月光による発現抑制がある可能性が示唆された。

### 【概要】

多くの生物は、周期的な環境変化に同期して、生物集団全体が一斉に生殖活動を行う。サンゴやある種の魚では、月の満ち欠け<sup>\*1</sup>のサイクルが種の同期行動の合図として用いられることが知られており、月齢同調産卵と呼ばれている。満月の夜に産卵するサンゴにおいては、新月の夜よりも満月の夜のほうが概日時計遺伝子の1つであるクリプトクロム

(Cryptochrome; *Cry*)の mRNA の発現が高かった。クリプトクロムは時計遺伝子として働くほか、青色光受容分子として機能する可能性が考えられるが、サンゴの月齢同調産卵に関わっているかどうか不明であるが、サンゴと同様に月齢同調産卵を示すゴマアイゴ (*Siganus guttatus*) において *Cry* 遺伝子が振動するかどうかは、月齢同調産卵の分子メカニズムを探る上で興味深い。そこで我々は、夏の上弦の月の日に産卵するゴマアイゴを材料に、*Cry* 遺伝子の発現量を詳細に検討した。

まず、ゴマアイゴに発現する *Cry* 遺伝子を探索し、2種類の遺伝子を同定した。分子系統解析により、それぞれ脊椎動物の *Cry1*、*Cry3* に分類され、*SgCry1* と *SgCry3* と呼ぶことにした。また、魚類の *Cry3* 遺伝子は哺乳類の *Cry2* 遺伝子のオルソログであることが強く示唆された。

次にゴマアイゴの *SgCry* mRNA 発現の mRNA 発現プロファイルを評価するために、脳の中中部(中脳及び間脳)と卵巣に焦点を当てた。脳の中中部には、鳥類において季節の認識(光周性)や季節性の繁殖行動に関わる中枢が存在するためである。成熟した魚の脳と卵巣の内側部分を、最初の産卵から7,8日間隔で約2ヶ月間集めた。データ採取と同時に、魚が実験中に成熟したことを示すために生殖腺指標(GSI)を測定した(図1)。

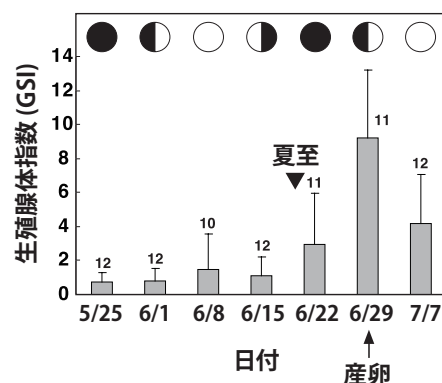


図1 産卵日前後における卵巣の発達

採取した脳と卵巣のRNAからcDNAを合成し、リアルタイムPCR法により *SgCry1* と *SgCry3* の主要月齢における mRNA 発現の日内変動を調べた。その結果、*SgCry1* と *SgCry3* の mRNA の日内変動性については、卵巣ではほとんど変動しなかったものの、脳においては *SgCry1* の mRNA 量が明け方と昼間において徐々に減少した。*SgCry3* の mRNA 発現量は脳内でも、1日を通してほぼ一定であった。

次に、月齢依存性を検討するため、主要月齢ごとに mRNA 量を比較した。その結果、卵巣においては、月齢依存性は見られなかった一方、脳においては、*SgCry1* と *SgCry3* いずれの mRNA においても月齢依存的な有意な変動性が観察された (図2)。

このように、脳における *SgCry1* の mRNA 発現は日中および月内で変動を示したが、*SgCry3* の mRNA 発現は月の位相依存性のみを示した。*Cry1* および *Cry3* の月内変動を見ると、いずれも新月から上弦にかけて上昇し、満月で大きく減少している。

サンゴの先行研究においては、サンゴの *Cry* の mRNA 発現量は、産卵のタイミングである満月に最大となっており、月光量でなく産卵のタイミングに同期する傾向が伺える。また、満月では夜半以降の月光量が増加することから、夜の後半の月光の有無が *Cry* 遺伝子の発現抑制に働いている可能性がある。さらに、*Cry* 遺伝子の発現量と月光量を統合することで、月齢を細かく認識できる月光認識の仕組みが考えられる (図3)。これらの結果より、*Cry* 遺伝子は月光に应答して月齢同調産卵のスイッチを制御する遺伝子として機能する可能性がある。

[要約作成：岡ノ谷優貴、岡野俊行]

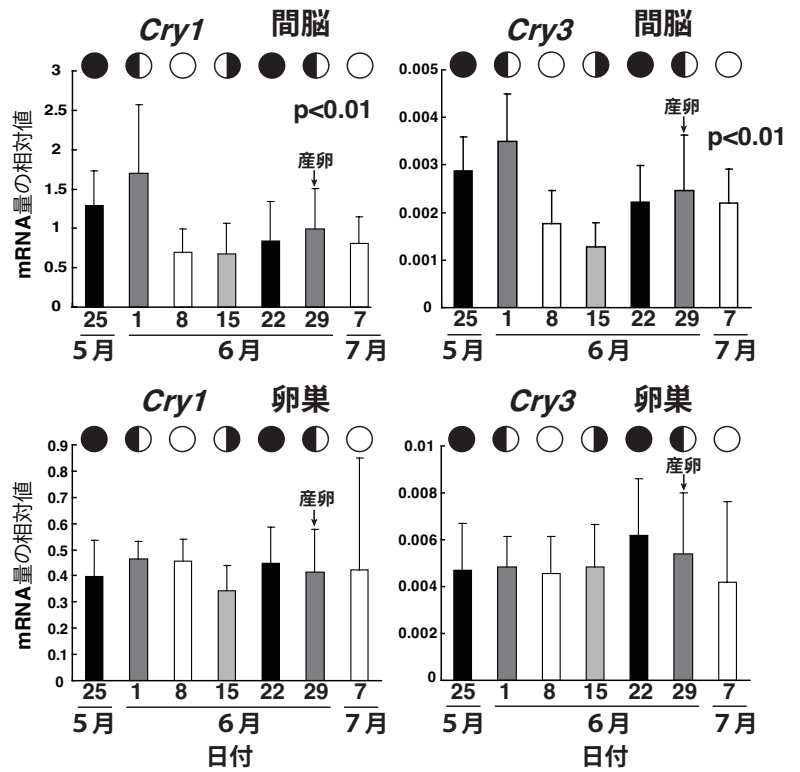


図2 間脳および卵巣における *Cry1*, *Cry3* mRNA 発現の月周変動  
*Cry1*, *Cry3* は間脳において発現変動し新月から上弦にかけてピークとなる

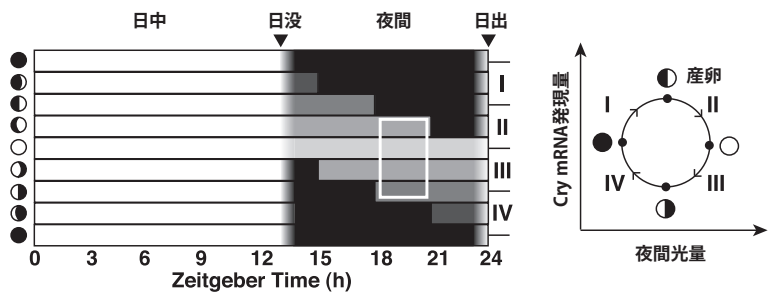


図3 ゴマアイゴにおける月光認識機構のモデル

### 【語句の説明】

※1 月の満ち欠け：月は地球の周りを公転しているため、29.5日を1周期とする月の満ち欠けが形成される。月の満ち欠け（月齢）によって、月光量に変化するが、同時に、「月の出」と「月の入り」の時刻も大きく変化する。月光量は新月を最小とし、満月を最大とするが、その間では直線状に光量に変化するわけではなく、満月の前後で急激に増減する。