

はるらぼ！

HAL lab.axolotl



ウーパールーパーだより Vol 4.0

～アホロートル研究・調査活動報告～

特集1 アホロートルと近縁種の性質を深掘り！

特集2 彼らの違いを生む決定的要因は何処に？



2024/1/12 初版

Presented by
ウーパールーパー研究室・はるらぼ



全ての画像・文章について無許可の商業利用を禁じます！
クリエイティブ・コモンズ・ライセンス・非営利・改変禁止 (CC-BY-NC-ND)

編：杉山 遥

【研究報告】

アホロートル系統間 および 近縁種間 における 形質の比較による本質の理解

報告日: 2024 年 1 月 12 日

著: 杉山 遥* (Ph. D)¹, 萩原 和晃¹, FN 三太子¹, 竜岡 龍騎 (外部研究員)***, 阿保郎 太郎¹ (ファーム管理)

※ 責任著者, 監修・最終著者



所属: ¹アホロートルルーパー研究室_はるらぼ
since 2020~

sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com

X (旧 Twitter): https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)

Facebook <https://www.facebook.com/profile.php?id=61555247101938>

【国外】研究者 SNS “ResearchGate”

<https://www.researchgate.net/profile/Sugiyama-Haruka>

【国内】研究者ポータルサイト”Research map”

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl?lang=ja



協賛企業: サイマン SciMoun (株)



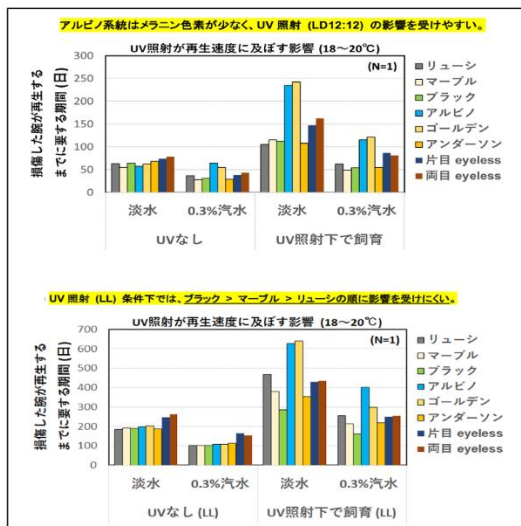
※ CC-BY-NC-ND; 本文献の許可なき商業利用、無断転載・改変の一切を禁止します。



概要 Abstract

- ・メキシコサラマンダー (*Ambystoma mexicanum*) を含むアホロートルの累代系統は、国内外に広く流通している。
- ・一般的に知られている複数の体色を示す変異系統を含め様々な表現型の個体が存在し流通しているが、流通個体の多くは交雑を繰り返されており、行動・習性等含む表現型の微妙な差異が生じる可能性があるが不明瞭である。
- ・流通しているアホロートルの仲間には、近縁種アンダーソンサラマンダー (*Ambystoma andersoni*) やトウブタイガーサラマンダー (*Ambystoma tigrinum*) や、メキシコサラマンダーとの交雑種も含まれているが、詳細な表現型の違いについては未解明な部分が多い。(一部、我々が報告: 杉山, 2023 (文献 [1]) 参照.)
- ・我々の過去報告結果において、複数の系統を用いて検討を行ったため表現型の差による影響が懸念されたことから、改めてその精度について検証した。その結果、アンダーソンとの交雑系統の塩分濃度への耐性以外にも、紫外放射 (紫外線, UV) への耐性に明確な差が見られた。特に、**アルビノ系統やリューススティックのような上皮に含まれるメラニン色素の割合が少ない白体色の個体では、明らかに UV が損傷再生を阻害する効果がより強く発揮された。**
- ・アルビノ系統が示す汽水適応性は、タイガーサラマンダー由来の耐塩性が一部起因している可能性が考えられたが、イオンチャンネルの発現に着目した所、野生型系統のマーブルやリューススティック・メラニン過剰のブラックと比較して大きな違いは見られなかったため、**複数世代を経て固定化されたアルビノのようなヘテロ交雑系統はアホロートル寄りの表現型として定着している可能性が高い**と考えられる。
- ・これらの知見に基づき過去の検討結果を再評価した結果、**アホロートルの系統間では殆ど齟齬は無く、検討結果の解釈にも系統間の違いは大きくは影響しない**ことが示された。

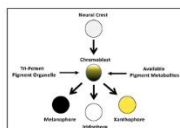
また、近縁種のアンダーソンサラマンダー および タイガーサラマンダー の累代系統は、生理学的な応答性自体はメキシコサラマンダーとあまり大きな差異は見られないものの、**生息地の水質 (特に Na に代表されるカチオン類の含有率) 等の違いが耐塩性に大きく影響している可能性が高い**と考えられる。(杉山, 2023 (文献 [1]) 参照.)



標準系統（交雑していない、広義には野生型の系統）



アルビノ系統 (タイガーサラマンダーとの交雑)



【野生型体色を構成する色素】

- ・**クロモフィア（緑色素細胞）**・・・緑葉の色素は葉に、光の反射で葉光が見える（金葉つゆ）
 ・**キセルクロモフィア（黄色素細胞）**・・・黄色、メラノフィアと併存で存在し、環境様を形成する。
 ・**メラノフィア（黒色素細胞）**・・・黒色、メラノフィア同士で隣接する。
 ・**クロモプラスム（色素素細胞）**・・・上記3つの色素細胞の元となる細胞（胚発生過程での神経管由来の細胞）
- 野生型動物体のクロモプラストは、均一に3種類の色素細胞へ分化できる能力を持っている（Mirind et al, 2023）.

野生型個体のクロモプラストは、均一に3種類の色素細胞へ分化できる能力を持っている (Mirindi et al., 2023).

メキシコ・サンタローラの組合			
ベアランツ (硬底版)		底砂有り (硬底版高)	
産卵時 (成母)	淡水 -0.30%	淡水 -0.43%	
卵の孵化 (孵化日)	淡水 -0.10%	淡水 -0.15%	
day30-60 (幼母)	0.10 -0.15%	0.10 -0.25%	
day120 (若成体成母)	0.10 -0.20%	0.10 -0.30%	
※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒土) がある方が安定する			
アンティグワ・ランダーの組合			
ベアランツ (硬底版)		底砂有り (硬底版高)	
産卵時 (成母)	淡水 -0.20%		
卵の孵化 (孵化日)	淡水		
day30-60 (幼母)	0.05 -0.15%	0.05 -0.15%	
day120 (若成体成母)	0.05 -0.15%	0.05 -0.20%	
※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒土) がある方が安定する			
トウバグラー・サンタローラの組合			
ベアランツ (硬底版)		底砂有り (硬底版高)	
産卵時 (成母)	淡水 -0.50%	淡水 -0.55%	
卵の孵化 (孵化日)	淡水 -0.25%	淡水 -0.30%	
day30-60 (幼母)	0.20 -0.40%	0.20 -0.55%	
day120 (若成体成母)	0.20 -0.40%	0.20 -0.55%	
※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒土) がある方が安定する			

近縁種: アンダーソンサラマンダー



トウブタイガーサラマンダー
(*Ambystoma tigrinum*)



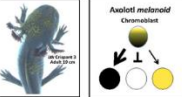
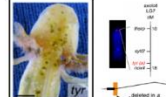
変異体 (モザイク, eyeless)



オビタイガーサラマンダー
(*Ambystoma mavortium*)



ゲノム編集によるモザイク系統1
(メラニン過剰+ラメ抑制+キサントフォア減少)

ゲノム編集によるモザイク系統2
(tyr欠損→メラニン蓄積不全→アルビノ)

アメリカ・テキサス州・メキシコ湾にて釣られた個体
(タイガーサラマンダーの雑種？ ネオテニー個体)
参照: <https://www.reddit.com/r/newsokur/comments/>



導入 Introduction

当研究グループでは、メキシコサラマンダー *Ambystoma mexicanum* (以下、アホロートル) 野生種の過去の生態や最適な成育環境について研究を行ってきた。

以前の報告にて、流通している複数のアホロートル系統間の違い (メキシコサラマンダーの累代飼育系統 or アメリカの研究機関で主流となっている近縁種との交雑系統) に関する文献情報 (色素細胞制御や変異遺伝子の由来など) に基づき、当ラボおよびファームにおける維持系統におけるメキシコサラマンダー配列の割合について確認を行った。また、近縁種である アンダーソンサラマンダー (*Ambystoma andersoni*) および タイガーサラマンダー (トウブタイガーサラマンダー: *Ambystoma tigrinum*) との比較検討により、生息地による水の硬度や塩分含有率への耐性の違いに関する知見を一部明らかとした。(杉山, 2023 (文献 [1]) 参照.)

今回我々は、過去の文献にて複数の系統を混合して用いている検討結果において、系統間の微妙な差異が見られないか否かの確認と併せて、近縁種とメキシコサラマンダーとの間に見られる遺伝的・生理学的な違いについて明らかにすべく、過去文献と同時並行で長期的に調査・検討を行ってきた知見を含め総合的に判断し報告したく思う。

材料と手法 Materials & Methods

本研究には、メキシコサンショウウオ(ウーパールーパー)の各系統、アンダーソンサラマンダー、トウブタイガーサラマンダーを用いた。尚、本項に記載されていない内容は、基本的に本文中に記載されている条件を参照のこと。[1-2]

本文献に掲載したデータに用いるために実施した実験・調査の手法は、過去の報告内容に準じて条件設定を行った。ただし、系統比較や近縁種との比較の中で条件設定などを調整・変更した場合は、適宜本文・図表の解説文中で適宜補足する。

【明暗条件】

適切な成長制御・体内の概日リズムを保持するため、日長条件を特殊な状態にする場合を除き、実験室における飼育管理やファームにおける系統管理において、LD12:12 [明期: ZT0 (午前 6 時) ~ / 暗期: ZT12 (18 時) ~] の日周リズムで飼育を実施した。特に、他個体認識時、求愛に際した攻撃行動・噛み合い行動等のセロトニンによって制御される行動様式が適切に発揮されることや、睡眠時におけるセロトニン→メラトニンへの合成・分泌が十分に行われることを目的とし、上記の明暗周期での管理を徹底した。

【飼育水の条件】

飼育時の水温は、通常は 18~22℃, 繁殖モード誘導時は 18℃ → 8℃ (5 日間) → 18℃ (5 日間) という処理を施した。

今回は行動への影響を加味し、全ての飼育・調査において淡水飼育条件で統一した。

水質: 淡水環境; pH6.7 (平均値), KH4.8~5.4

【飼育密度の設定】

飼育水槽: GEX_マリーナ60cm水槽 (60×30×36cm MR600BKST-N 269467)

- ・ 単独飼育・・・水槽中に 1 個体を投入し、常に単独で生育する環境とした。
- ・ 集団 (低密度) 飼育・・・水槽中に 6 個体を投入し、常に他個体と接する環境とした。
- ・ 集団 (高密度) 飼育・・・ポリ容器 (25cm×18cm×9.5cm; <https://jp.daisonet.com/products/4549131590630>) に 10~14 個体相当の飼育密度を設定し、成長に応じて生育に支障のない程度に高い密度を維持した。
- ・ 異種混泳・・・上記の高密度飼育と同様だが、半数がエゾサンショウウオ (*Hynobius retardatus*) となっている (図 26)。
- ・ 過密飼育・・・定義は明確ではないが、上記のポリ容器に 14 個体程度を上限に、多くの個体で過密にした状態。

【給餌条件】

給餌は週 2-3 回、ZT および CT13-15 (午後 7~9 時) に必ず行った。

薬剤投与の際には、餌中に混合した粉末成分を経口投与にて摂取させた。

【成長過程の記録・撮影】

成長実験には 30-50mm の幼体を用い写真を撮影後、その後定量比較に用いるタイミング (撮影開始から 30, 60, 90, 120, 200, 360 日後) における成長後個体の撮影像と共に、画像解析ソフト Image J (Color FootPrint) にて測定を行った。飼育時の水槽は、本実験にて用いる個体では全てタイミングを統一し、成長過程に合わせて飼育水槽を大きくしていく方式を取った。

【飼育環境 および 観察・撮影条件】

成長実験には 30-50mm の幼体を用い写真を撮影後、その後定量比較に用いるタイミングにおける成長後個体の撮影像と共に、画像解析ソフト Image J (Color FootPrint) にて測定を行った。飼育時の水槽は、本実験にて用いる個体では全てタイミングを統一し、成長過程に合わせて飼育水槽を大きくしていく方式を取った。高硬度汽水 (ミネ水) 作製時は、瀬戸内海産の荒塩を用いて調整を行った。(100g 当たり NaCl 94.0g, MgCl₂ 150mg)。給餌は週 2-3 回、ZT および CT15-17 (午後 9-11 時) に必ず行った他、栄養試験の際には、餌中に混合した粉末成分を経口投与にて摂取させた。実験群への給餌の頻度は一定に合わせた。

睡眠実験群の誘導の際は、暗所にて飼育を行った。また、給餌の際にはメラトニンの経口投与を行った。尚、本研究における

生育実験の際は、あくまで夜間におけるメラトニン依存的な成長ホルモン分泌促進を目的としたことから、メラトニンの原材料であるセロトニンを十分に生合成・分泌させるために、食事のタイミングには 2-3hr 程度の期間、光を当てている (ただし、後述する行動観察時の LD12:12 条件では、メラトニンによる成長ホルモン分泌を考慮していないため、給餌時に光を当てていない)。統計解析には、Graphpad Prism ver.6 を用いて One Way ANOVA; turkey test, $*p<0.05$ にて有意差解析を行った。

【日周活動リズム定量のための飼育環境 および 観察条件】

通常飼育から 30 日経過した個体を用いて、給餌用プラスチックケース内に 1 匹ずつ投入後、各時刻から 1 時間以内の行動を観察した。光条件は、明暗 (LD12:12) 条件、恒暗 (DD) 条件、恒明 (LL) 条件を設定し、DD 条件は前日の暗期の延長から開始し、LL 条件は前日の明期の延長から開始した。

LED による時計因子のリセット・分解の可能性が懸念されるため、設備上の問題から動画撮影などは行わず、あくまで目視観察による評価に留めている。

動きの評価基準としては、遊泳行動をある程度の頻度で行う場合は“行動あり”として評価し、基本的にその場で留まって移動しない場合を“行動無し”と設定した。動画撮影時とは異なり、帰る巣穴が無い場合、行動に関する判定を遊泳・歩行への積極性の有無で判断している。

今回は暗視するための設備が無いことから、実験者が暗闇に暗順応しながら動作について確認を行っている。水槽が透明であり、個体の体色が見やすい背景の上に設置することで、動作を観察しやすくなるよう工夫をしている。

餌条件は、通常餌条件およびメラトニン添加条件を設定し、6 時, 12 時, 18 時, 24 時 (ZT0, 6, 12, 18) のタイミングで給餌を行った。尚、メラトニンの経口投与は計測開始の 0 時の給餌時から実施した。給餌をする人間に対する反応なども鑑みて、行動観察は摂食前後の様子を見て総合的に判断した。ただし、採餌時直後には行動がやや抑制されることが懸念されたため記録の対象とは設定せず、給餌後の食べ残しに起因して餌につられて動かないように注意した。観察時刻開始時に給餌し 5 分程度経過後に新しい入れ物へ移動させた後、移動の刺激の影響も鑑みて 25~30 分静置後に再度観察を行った。

【時計遺伝子発現動態の飼料調整】

繁殖後の幼若な個体 (5~20mm の個体 (幼生)) のうち、残念ながら亡くなった幼若個体を複数の飼育者の方々にお願いして譲り受け、回収し、時計遺伝子に関する遺伝子群の中樞神経における発現確認 (目と脳を含む) を実施した。また、一部の抹消で発現があると思われる遺伝子については、腹部を用いた遺伝子発現の解析を行った。

(推定) 回収時刻 4-8 時、10-14 時、16-20 時、22-26 時

LD12:12 の日長条件下に置いてから、5~7 日以上経過し、日長条件には適応できたと思しき個体を用いている。

【遺伝子発現解析に用いた手法・条件】

遺伝子発現解析の手法としては、RT-qPCR を用いた。

各系統毎に 3 個体分の mRNA を回収し、逆転写した cDNA を 3 回繰り返し分析した結果を解析し、平均値を算出した。

比較試料として、自然突然変異にて偶発的に産まれた Eyeless 変異体 (両目欠損個体; 右図 1 参照; LD12:12) を用いた。しかしながら、回収できた死亡個体数自体が非常に少なかったことから、1-2 個体分の cDNA を 3 回繰り返し分析した結果を解析し、平均値を算出した。

比較方法: Relative standard

遺伝子発現強度の比較に際し、相対 mRNA 量で比較対象とした。

【当ラボ および 共同研究設備におけるアホロートル系統における遺伝子配列情報】

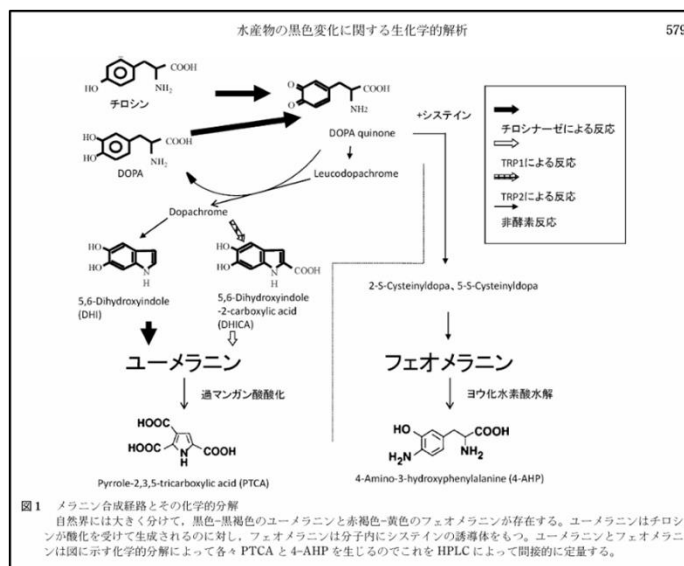
アホロートルには多くの系統が現在固定化されており、それらは国内外に広く流通している。(図 1. 参照)これらの系統の違いは主に体色として表出しており、上皮細胞におけるメラノフォア (黒色素:ユーメラニン を持つ細胞)・キサントフォア (黄色素:フェオメラニン を持つ細胞)・イリドフォア (虹色素細胞) の三種類の色素細胞の存在比の違いに起因していることが知られている。これらを一定の比率で保持する野生型体色の系統をマーブルと呼ぶ。(右最上図, 文献 [1-2], [4], 図 1-1, 1-4, 1-6. 参照)

体色を決定する上で重要な遺伝子として、**第三染色体上に存在する *endothelin3* (エンドセリン 3, *edn3*) によるメラノフォアの制御**が知られている。ヒトを含む哺乳動物においてもエンドセリンがメラノサイトに作用することでメラノサイトの活性化と増殖を促し、メラニンの合成が過剰に高まることでシミ・ソバカスが形成されることが分っており、逆にエンドセリンの発現が低下してしまうと皮膚のメラニン欠乏の状態となってしまう。(右上二段目図, 文献[2]. 参照) このような**アホロートルの *Edn3* を欠損した系統がリューススティックと**呼称されている。

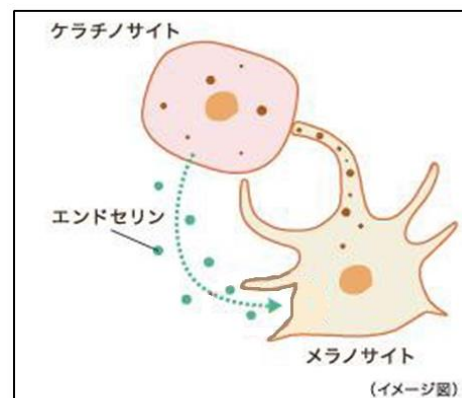
尚、哺乳類においてエンドセリンは血管収縮にも関与していることから、アホロートルにおいても変異の程度によっては血液循環への影響が見られる可能性もあるが、安定に累代されている系統が存在することから、流通個体における *Edn3* の欠損変異ではあまり問題がないと推察される。(図 1-1, 1-4. 参照)

また、類似の系統として**アルビノ系統も知られているが、こちらはエンドセリンの欠損によるメラニン蓄積の異常ではなく、メラニン自体の減少・欠乏が主たる要因となっている。**

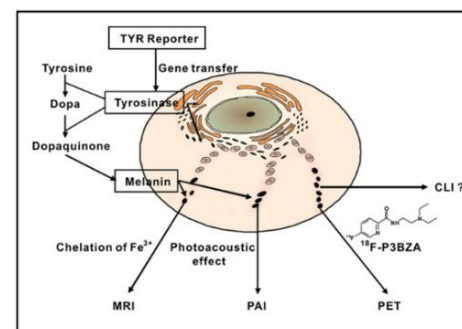
メラニン生成には**チロシナーゼ (*tyrosinase*, *tyr*)** という酵素が関わっており、アミノ酸であるチロシン (Tyr) がメラノフォア中でドーパ、ドーパキノンへと変換を受け、このドーパキノンがメラニンへと変換される。(右下二段目図. 参照) すなわちこの**チロシナーゼの欠損により、アホロートルもアルビノとなってしまう。**また、メキシコサラマンダーではアルビノ系統が巧く固定化できなかったためか、現在の流通系統にはトウブタイガーサラマンダー由来の配列が 3'-非翻訳領域 (UTR) に含まれており、すなわちウーパールーパーのアルビノ系統は完全なメキシコサラマンダーではなく、トウブタイガーサラマンダーとの一部混血系統であるといえる。(図 1-1, 1-4. 参照) また、黒色系統であるメラノイド (ブラック) 系統は、遺伝子 *Ltk* (*Leukocyte Tyrosine Kinase*) の点突然変異 (*Ltk^T*) のホモ接合体であり、チロシンをリン酸化することで活性化するチロシナーゼに変異が生じることで、本来のメラニン色素生成機構 (右最上図, 右最下図, 次頁右上図. 参照) が変化し、黒色素 (ユーメラニン) を含有する細胞の割合が顕著に増大することで生じた変異系統である。(文献 [1-2], [4] 参照)



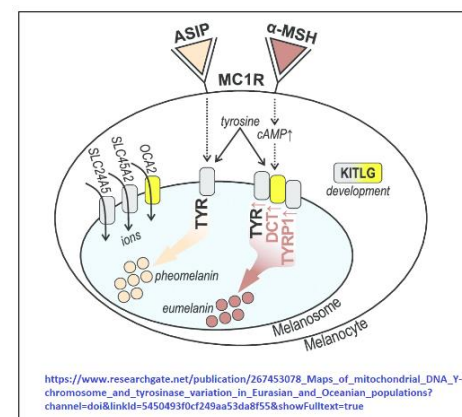
https://www.istage.jst.go.jp/article/suisan/77/4/77_4_578/_pdf/-char/ja



花王「スキンケアナビ」シミ・ソバカスを防ぐケアの研究 (kao.com) 改

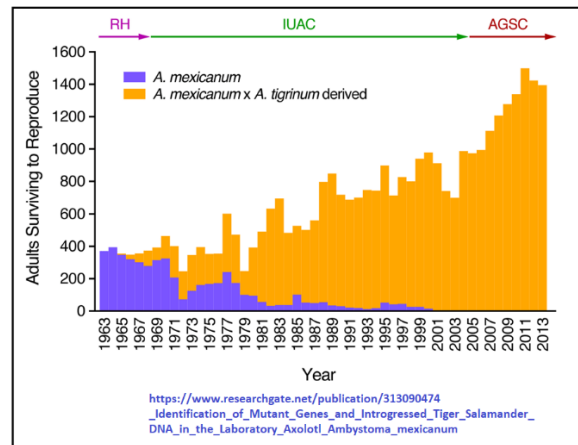


<https://www.nature.com/articles/srep0149>



https://www.researchgate.net/publication/267453078_Maps_of_mitochondrial_DNA_Y-chromosome_and_tyrosinase_variation_in_Eurasian_and_Oceanian_populations?channel=doi&linkid=5450493f0c7249aa53da8f55&showFulltext=true

交雑種問題だが、実はアルビノに限ったことではない。アメリカ等を中心とした海外における系統ストックにおいては非常に問題となっており、研究用の累代系統の殆どがタイガーサラマンダーとの混血系統となってしまう現状がある。一方で日本国内では一部、一般に流通する系統の中にはワシントン条約規制以前に持ち込まれた野生型の純系が維持されている場合もあるとされる。(文献 [1]. 参照)



これらの先行研究情報を踏まえ、当ラボおよびファームにおいて飼育・維持されている系統における遺伝子情報について、上皮の一部を極々少量回収後 PCR によって確認を行った。(補足図 1. 参照)

確認の結果、特に野生型系統 (マーブル, リューシ, ブラック) において、2 割弱程度であるものの、タイガーサラマンダーとの混血個体が一部含まれていることが示唆された。(それぞれ、25~30 個体ずつをランダムに選定) 従って、30 個体の内 24 個体は混血系統であると推定された。これは、維持個体のいずれかに混血系統が混在していた または アルビノ等の交雑種との子孫が紛れていた等が影響する可能性が示唆された。一方で、大半の個体はメキシコサラマンダーの純系累代系統であり、遺伝子汚染を受けていない可能性が高いことも示唆された。今後、可能であれば更に精度の高い試験によって塩基配列を同定し、完全に純系の野生型累代系統を維持できるべく、ファームの 阿保朗 氏と連携して系統維持を行っていく予定である。

【系統毎の成長率比較 1 (塩分・給餌率)】

当ラボの初期検討において、成長制御機構について検討する過程で、推定生息環境の再現や餌に含まれる必須な栄養素などについて着目した試験を中心に実施していた。(下図, 補足図 2, 文献 [1], [4]. 参照)

目的：アホロートルの成長メカニズムについて明らかにする。
意義：生態を理解することで、絶滅から救う糸口が掴める。



野生下→体長40cm以上
(飼育下では30cm程度)

<実験課題>
アホロートルの成長にとって
必要な因子は何か？

↓

<実験内容>
成長率を定量して同定する

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/44393200

具体的には、成育時期毎に体調を比較することで、餌や飼育水へと添加した因子が成長にどの程度影響を与えるかを順次調査し、統計的に比較する形式で試験を行った。(図 2-1. 参照)

明暗周期が 12hr:12hr での成長率を比較すると、汽水飼育個体の方が顕著に生育率を高くすることが分かる。(図 2-1 (B). 参照) このような成果は、当ラボ設立当初から我々がアホロートルの生息環境について考察する上で重要な知見であり、免疫機構等を含めて多くのテーマへと派生してきた。(図 2, 表 2, 文献 [1]. 参照)

これに加え、餌の与え方と成長率に関して系統間での違いを比較した所、いずれの系統においても毎日食べるだけ給餌された個体が最も成長率が高く、次いで 3 日毎 > 6 日毎に食べるだけ給餌した個体で高い成長率を示した。(図 14)

また、成長関連の因子や炎症再生に関わる因子、粘膜の制御に関わる因子の発現動態について比較をしても、変異の影響が強い eyeless 変異体を除いて、中枢・末梢・表皮 のいずれにおいても発現の傾向には大きな差異は見られなかった。(図 13. 参照)

尚、後述する紫外線 (UV) の照射によって、Caspase3 が活性化されることでプログラム細胞死 (アポトーシス) が誘発されることで損傷再生が阻害されることが知られているが、生物種によっては黒色メラニン色素 (ユーメラニン) が紫外線を吸収することでその効果を打ち消す働きがあるとされている。そこで、実際に各系統に対して損傷再生時に UV 照射をすることで、メラニン色素の程度と紫外線による影響の関係性について定量評価を行った。(図 22. 参照)

検討の結果、よりストレスが強くなる継続的な UV 照射 (LL) 条件下においてメラノイド > 野生型体 > 白色個体 > アルビノ系統 の順、すなわち黒色素細胞の割合が多い順に、その影響を受けにくい傾向が見られた。(図 22-2. 参照)

また、成長・生育に関連して、上陸や成熟化に関するホルモン分泌、食砂行動・腸内細菌叢 (腸内フローラ; 感染時の乱れも含む)、免疫応答・疾患時の疑似的な変態誘導、排泄頻度 等に注目すると、eyeless 変異体を除いて系統間における差は殆ど見られていない。(図 15, 図 16, 図 17, 図 19, 図 20, 図 21, 図 23, 補足図 6, 図 24. 参照)

こうした傾向から、野生型系統とアルビノ系統の間に代謝の面で大きな違いが見られないことが明らかとなった他、実際の飼育下において経済的に大きな個体へと育成させたい場合は、いずれの系統でも 3 日毎に食べるだけ餌を与えるのが最良である可能性が高いことが示唆された。

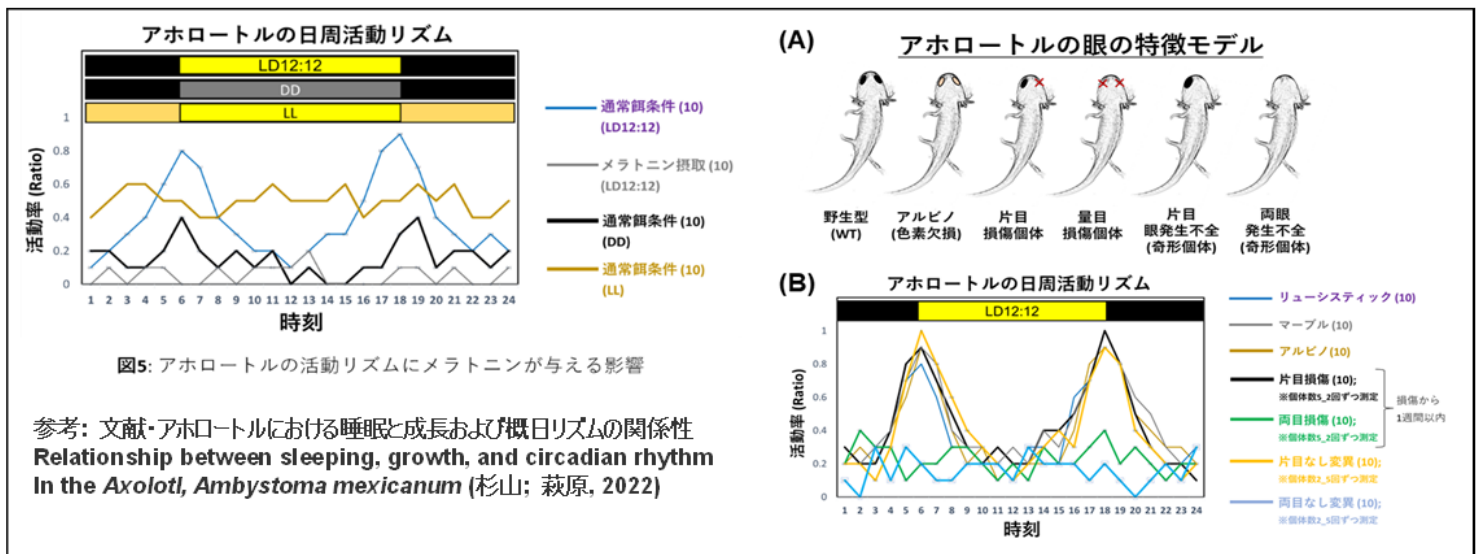
【系統毎の成長率比較 2 (睡眠)】

同様に我々は、睡眠 (暗条件; 給餌の際に限りセロトニン分泌のために室内 LED を照射) 時のメラトニン放出 (日中にセロトニン合成・分泌 → 夜間にメラトニンへ生合成・放出される) が、成長ホルモンの分泌を促進することで成長を促すことを過去明らかにした。(補足図 3, 図 2-2. 参照) 今回、これらの傾向において、系統間で差異が見られるか否かを改めて定量的・統計的な比較を実施した。(図 3, 図 4. 参照)

検討の結果、変異系統 (モザイク, eyeless) を除き、生育率には系統間の差は殆ど見られなかった。

一方で、変異の程度が大きい eyeless 系統では、暗条件下にも関わらず顕著な成長の遅れが見られている。この詳細な機構については、時計遺伝子や成長・代謝に関わる複数の因子の発現について解析を行ったところ、中枢神経 (眼) から受け取れる光が一切無いことで時計遺伝子を巧くリセットすることができず、その結果生じた種々のストレスが結果的に成長を大きく阻害してしまうことで生じる生育不全であることが示唆された。この現象は、結果的に恒明条件 (LL) 時やカフェインによる成長阻害条件において、他系統が示す表現型と同等の成長不全の傾向である点が非常に興味深い。(図 3-3, 補足図 5, 図 11. 参照) 尚、先行研究における“萩原モデル”を中心とした観察系を用いた、二峰性の日周活動リズム (日照開始 / 日の入り でそれぞれ活動のピークを示す) の同定 および 関連因子の発現動態の確認により、eyeless における活動リズムの消失が見られている。一方で、それ以外の系統や近縁種間の差は見られていない。(下図, 補足図 4, 図 5. 参照)

尚、系統毎のメラトニンへの応答性を比較した所、eyeless 変異個体を含め、いずれの系統においても応答性自体には大きな違いが見られなかったことから、眼からの光刺激入力の重要性が改めて示唆されている。(図 18. 参照)



【光受容による時計遺伝子の制御と知覚可能な光波長 および 視覚による相互認識】

時計遺伝子の制御には、眼中に局在する視細胞 (光刺激受容細胞) 内で光・日照 (特に青色波長) が受容され、光応答反応 (時計遺伝子のリン酸化による活性化や安定化、二量体化 → 標的配列への結合による時計遺伝子の発現促進 など) が誘導される。これに関連して、我々はアホロートルにおいて、ゼブラフィッシュ等で青色光・紫外線の受容に関わるという報告がある光受容タンパク質 のオプシン3 および オプシン5 の発現が見られることを明らかにした。(文献 [1], 補足図 5, 図 11. 参照) これは、アルビノを含めたアホロートルおよびアンダーソンサラマンダーで大きな違いは見られず、いずれも青色光や紫外線の照射に対して忌避反応を示すという結果からも裏付けられる。(図 9. 参照) 尚、タイガーサラマンダーについては未検討であるため、今後、タイガーサラマンダーにおける概日リズムおよび体内時計の制御機構等についても、順次明らかにしていきたいと考えている。また、アホロートル および タイガーサラマンダー共に、ネオテニーおよび成長途中の段階における視細胞中の光受容タンパク質の種類と、上陸した生体における光受容タンパク質の発現に差異が見られる可能性も推定される。これは、側線器官が上陸と共に消失し、上皮細胞もある程度乾燥に耐えうる状態へと変化することで、視力を発達させる必要があると考えられたためである。この点も、今後鋭意解明していきたいと思う。

尚、扁平なレンズを持ったネオテニーのアホロートルの視力は、水中では決して高くないことが推察され、他個体認識能力は十分では無く、また色認識についても不十分である可能性が高い。(文献 [1], 図 6, 図 7. 参照) すなわち、相互認識とコミュニケーションという観点で見れば、水中で生活している段階では体色の差異自体はあまり関係していないと考えることができる。

【求愛・繁殖・塩ストレス応答の比較】

各系統およびアンダーソンサラマンダー (+ アンダーソンとメキシコサラマンダーの混血個体) における塩ストレス および 精包/卵 放出の誘導について比較を行ったところ、変異の程度の強い両目のアイレス変異個体を除き、0.3% の汽水条件で軽度誘発され、塩分濃度が変動した再には更に高い頻度で誘発される点は殆ど共通していた。また過去の我々の調査において、0.5% の塩分濃度では逆に塩ストレスが生じ、妊性が低下することを明らかにしていたが、この点も今回比較に用いた系統・品種間では大きな違いは見られなかった。(図 4. 参照) また、低温条件 (本研究においては 8~10℃) への移動による繁殖モードへの誘導をされた雌雄の集団において、オスの他個体への攻撃性が向上し、メスに対する求愛行動 (オスがメスに近寄り身体を擦り付けるような動作を示す) が顕著に活性化されることが明らかとなっているが、リューススティック・マーブル・アルビノ間での比較を行ったものの大きな差異は見られず 同様の傾向が見られている。(図 8. 参照) 尚、我々が過去に明らかにした 塩ストレス応答因子 Rm-62-like (p68-like) の発現動態比較においても、系統間に大きな違いは見られず、水中の塩分濃度上昇後から数時間経過するに伴って発現が亢進する点において殆ど同様の傾向が見られている。(図 12. 参照) このように、系統間 (および アンダーソンサラマンダー) における求愛・繁殖・塩ストレス応答には大きな差が見られないことが示唆された。

【アルビノ系統における関連遺伝子発現の低下】

先述の通り、アルビノ系統はメラニン生成に関わるチロシナーゼ (*tyrosinase*, *tyr*) のチロシナーゼの欠損が見られ、この *tyr* の変異に関してはトウブタイガーサラマンダー由来のものであることが分っている (図 1-1, 1-4. 参照)。しかしながら 我々の調査において、アルビノ系統個体の極一部の中には、哺乳類におけるアルビノの原因遺伝子として知られる AP3B1, AP3D1, BLOC1S, HPS などの発現が顕著に低下しているものが見られることが確認された。ただし、全ての個体でこのような傾向が見られる訳ではなく、更に多くの流通個体について調査が必要であると思われる。

総括 Conclusion

本研究において、以下のような知見を得ることができた。

- ・ アホロートル系統間において成長制御・生理学的な差は殆ど見られない。
- ・ アンダーソンサラマンダーやタイガーサラマンダーにおいても殆ど違いはない。
- ・ 系統間で見られる数少ない表現型・遺伝子型の違いとしては、以下の点が存在する。
 - アルビノ系統は、タイガーサラマンダーとの混血系統として固定化されている。
 - 黒色メラニン色素 (ユーメラニン) を多く持つ順に、紫外線 (UV) の影響を受けにくい。

これらの知見から、過去の我々の検討において得られた知見 および 試験結果の精度には殆ど問題は無く、ある程度客観性・正当性のある報告であることが改めて肯定されたといえる。

今後の試験実施の際には、系統間の差や生息環境における適応性の違い等にもより注目しつつ、アホロートルや他のトラフサンショウウオ系統への理解をより高い精度の調査によって更に深めていきたいと思う。

謝辞 Acknowledgments

今回の調査は、実は過去にある程度結果が収集できていた内容であったものの、その段階では近縁種であるアンダーソンサラマンダーやトウブタイガーサラマンダーについては殆ど結果を収集できていませんでした。しかしながら、竜岡様との共同研究や一部知見の共有によって、その障壁を埋めることに成功致しました。そのような経緯から、昨年度の本誌リリースから殆ど期間を置かないままの発表となるに至っております。ひとえに、多くの関係各所の皆様のご協力あっての成果であり、どれだけの感謝をしても足りません。

関係各所の皆様、改めまして 2023 年は本当に大変お世話になりました。

2024 年を迎え、今後も更なる飛躍を目指し活動して参ります。どうぞ今後とも、当ラボの活動のご支援・応援の程、何卒宜しくお願い申し上げます。

ウーパールーパー研究室_はるらぼ

代表研究者

メキシコサンショウウオ生態研究部

主任研究者

杉山 遥

標準系統 (交雑していない、広義には野生型の系統)

マーブル
(野生型体色)



リューススティック
(一部色素欠乏)



ブラック
(メラニン過剰)



アルビノ系統 (タイガーサラマンダーとの交雑)

アルビノ



ゴールデン



イエロー



変異体 (モザイク, eyeless)



<https://www.sabinocanyon.com/>

近縁種: アンダーソンサラマンダー



<http://www.ha.shotoku.ac.jp/~kawa/KYO/SEIBUTSU/DOUBUTSU/ryouseirui/anders/02.html>

図 1-1: 中型両生類 (アホロートル) の系統とその表現型 1

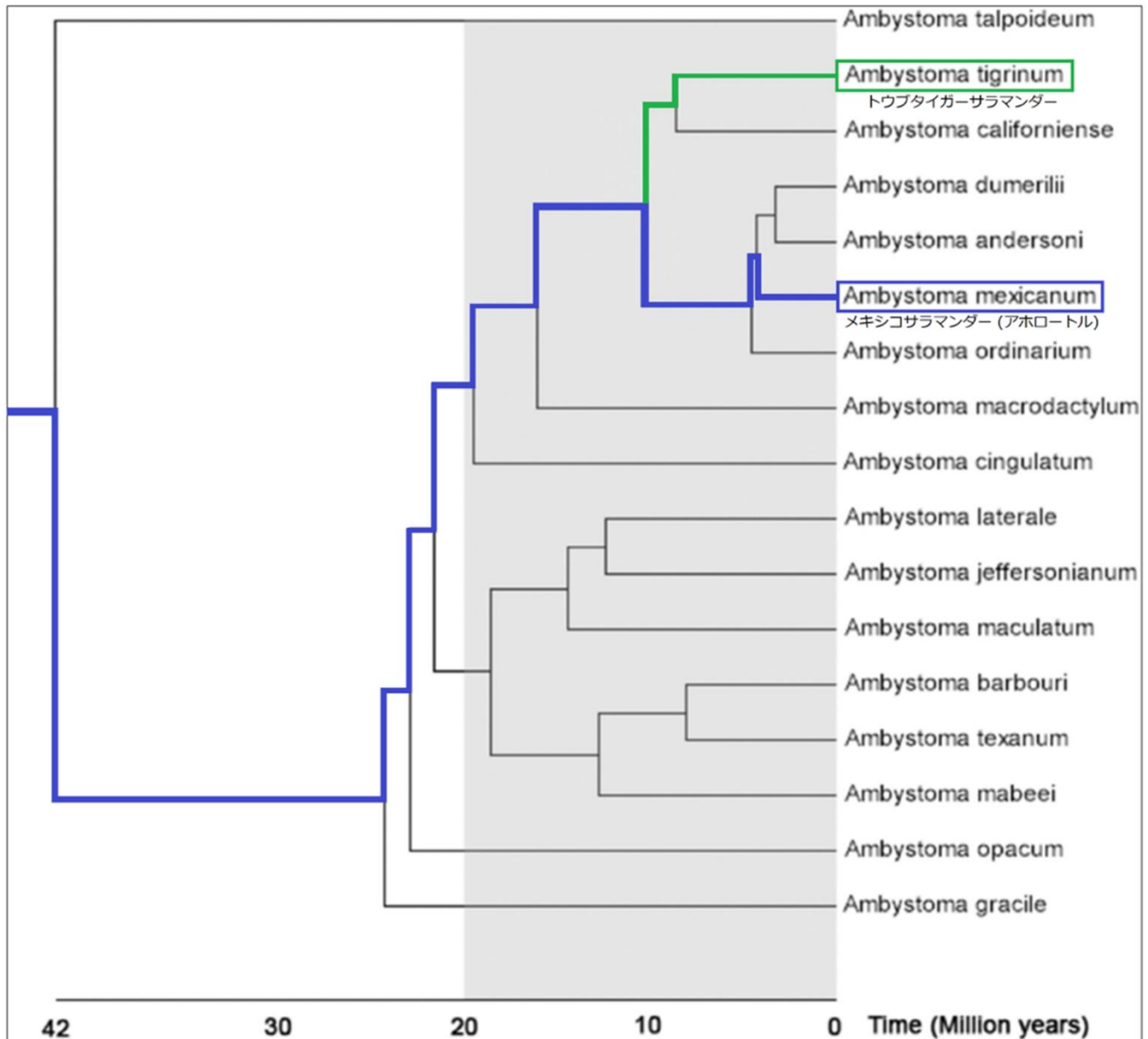
トウブタイガーサラマンダー
(*Ambystoma tigrinum*)



オビタイガーサラマンダー
(*Ambystoma mavortium*)



アメリカ・テキサス州・メキシコ湾にて釣られた個体
(タイガーサラマンダーの雑種? ネオテニー個体)
参照: <https://www.reddit.com/r/newsokur/comments/>

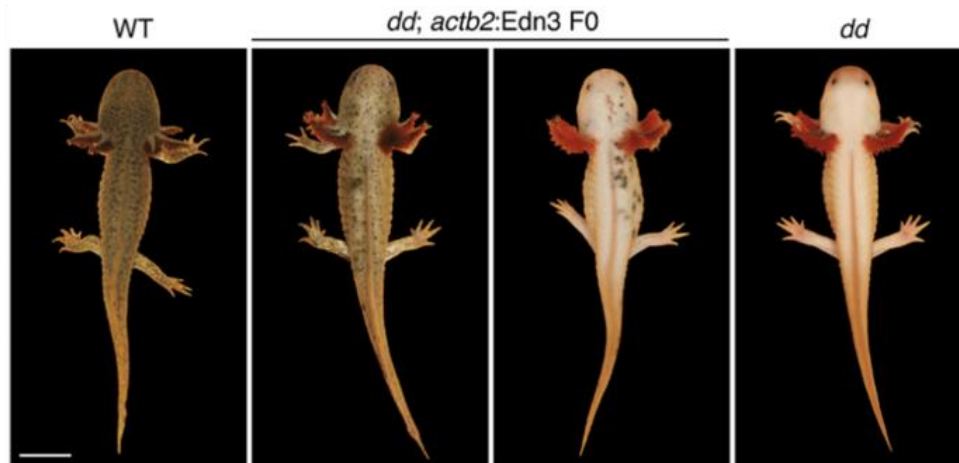


(Melissa et al., 2018)

https://www.researchgate.net/publication/329547761_Miniscule_differences_between_sex_chromosomes_in_the_giant_genome_of_a_salamander

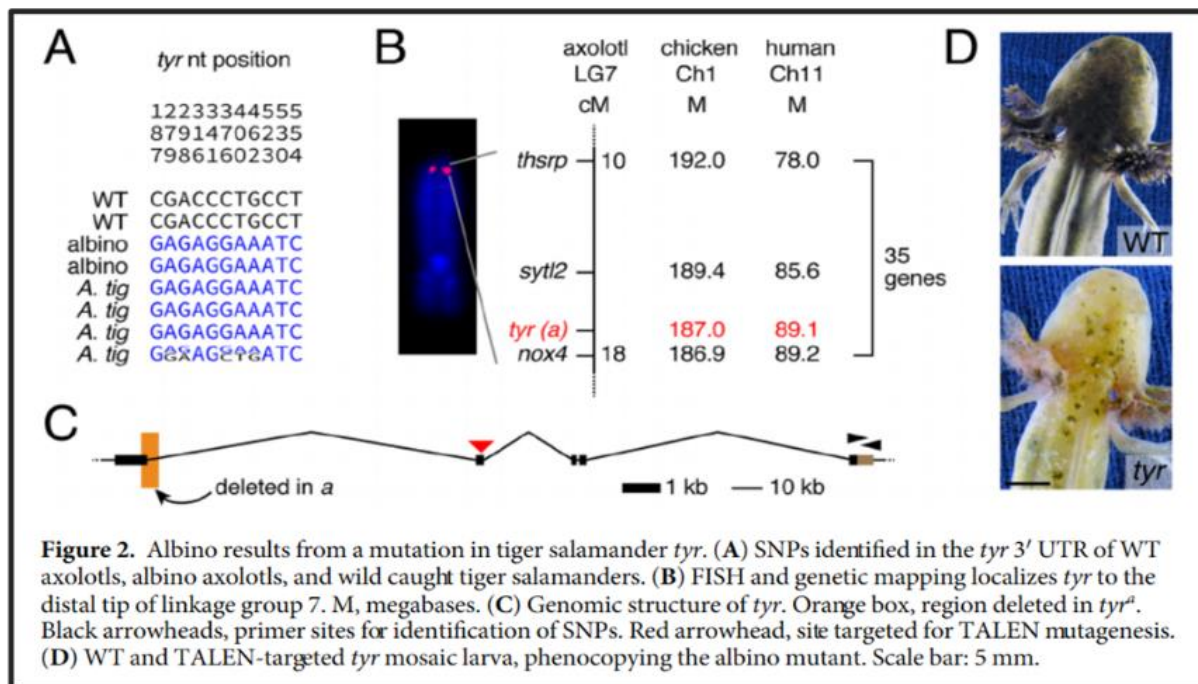
図 1-2: アホロートルの近縁種とゲノム配列解析に基づく系統樹

edn3 (第三染色体上) 遺伝子は黒色体色制御に関わる



[White locus corresponds to edn3. \(A\) Mapping of white mutant phenotype... | Download Scientific Diagram \(researchgate.net\)](#)

Axolotl *tyr* gene (第七染色体上) 遺伝子の変異遺伝子 *tyr^a* (下図 C の領域の欠損) をホモ接合で持つ個体はアルビノ体色になる。
またこの遺伝子領域は、交雑時のタイガーサラマンダー由来である可能性が高い。



[White locus corresponds to edn3. \(A\) Mapping of white mutant phenotype... | Download Scientific Diagram \(researchgate.net\)](#)

B. PCR Primers used for *tyr* 5' RACE.

Primer ID	Primer Sequence	Reference Sequence
OCA1_GSP3.2	CAATCCAAGTACAGGAATAGCAAAC	GenBank
OCA1_GSP3.3	ACTTATAGACCGGTTTGCTATTCCT	Locus KU684456

※

tyr: tyrosinase [[Ambystoma mexicanum tyrosinase gene, complete cds - Nucleotide - NCBI \(nih.gov\)](#)]

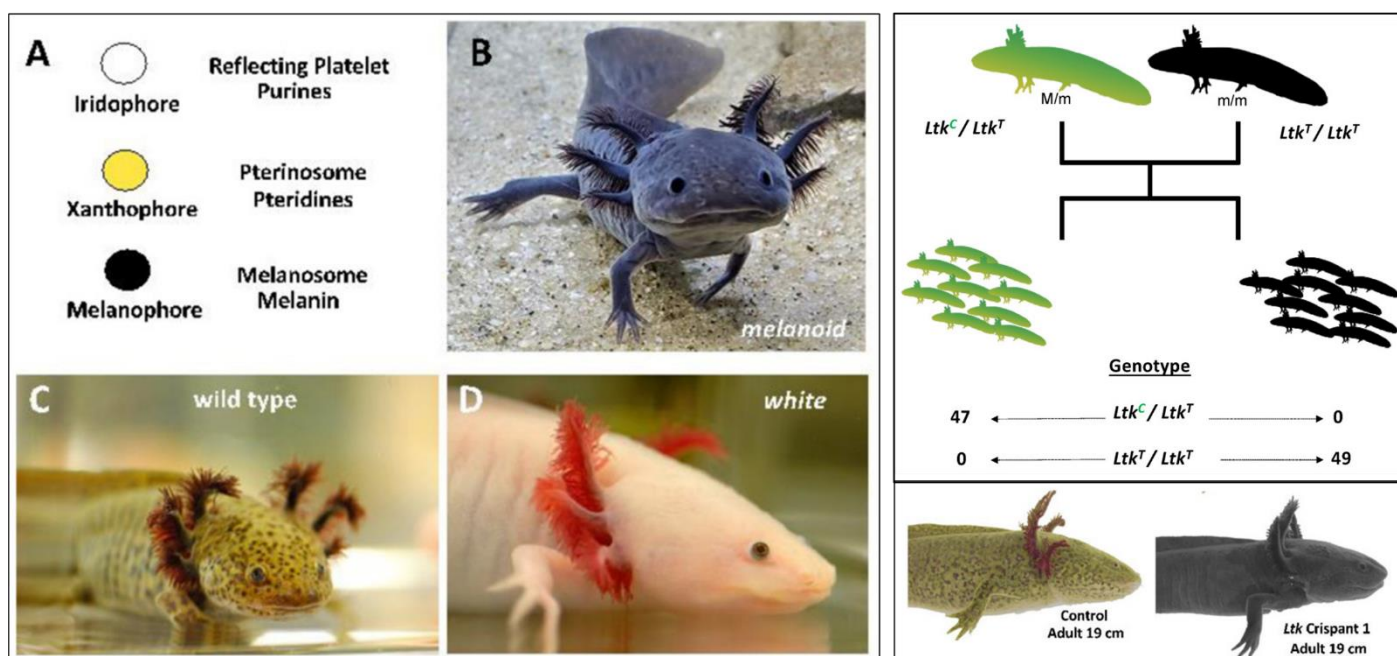
図 1-4: 中型両生類 (アホロートル) の系統に関わる遺伝的因子 1

表 1: アホロートルにおける代表的な変異(体)リスト

Mutant Gene List

Albino (a)	Anemic (an)	Axanthic (ax)
Cardiac Non-function (c)	Eyeless (e)	Fluid Imbalance (f)
Gill Lethal (g)	Hand Lethal (h)	London Lethal (l)
Melanoid (m)	Microphthalmic(mi)	Pindhead (pi)
Lethal (r)	Short Toes (s)	Spastic (sp)
Stasis (st)	Twisted Gills (t)	Vasodilatation (v)
White (d)	Lethal (x)	

<https://ambystoma.uky.edu/axolotl-research2/12-educationresources/9-mutant-genes>



※ *Ltk* (Leukocyte Tyrosine Kinase) gene: 変異型 (Ltk^T) ホモ接合個体は、メラニン過剰 (ブラック) 体色となる。

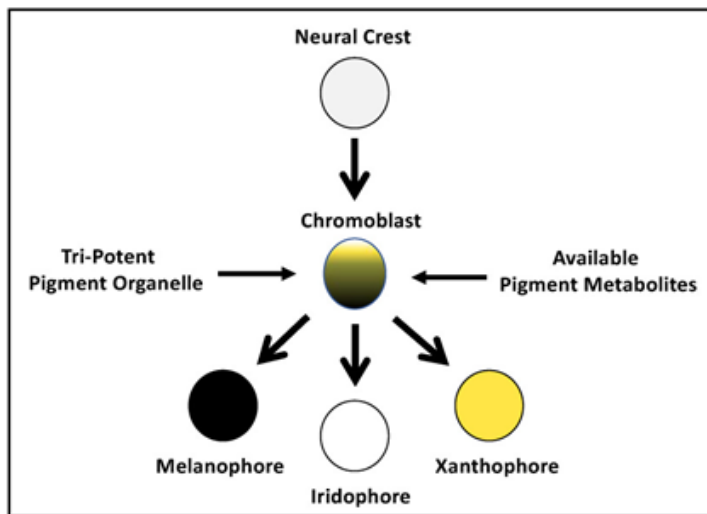
[Mirindi et al., [Genes \(Basel\)](#). 2023 Apr; 14(4): 904. Published online 2023 Apr 13. doi: [10.3390/genes14040904](https://doi.org/10.3390/genes14040904)]

図 1-5: 中型両生類 (アホロートル) の系統に関わる遺伝的因子 2

【野生型体色を構成する色素】

- ・ **イリドフォア (虹色素細胞)** …… 実際の色素は無く、光の反射で蛍光が見える (金環 ラメ)。
- ・ **キサントフォア (黄色素細胞)** …… 黄色。メラノフォア 近傍で存在し、斑模様を形成する。
- ・ **メラノフォア (黒色素細胞)** …… 黒色。メラノフォア 同士で隣接する。
- ・ **クロモブラスト (色素芽細胞)** …… 上記 3 つの色素細胞の元となる細胞 (胚発生過程での神経管由来の細胞)

野生型個体のクロモブラストは、均一に3種類の色素細胞へ分化できる能力を持っている (Mirindi et al., 2023)。



尚、受精卵の時期にゲノム編集 (CrispR-Cas9) によって *Ltk* の配列を本来と異なる状態へと改変することで、メラノフォアの存在比が圧倒的に増大し、イリドフォア (金環) が消失する。

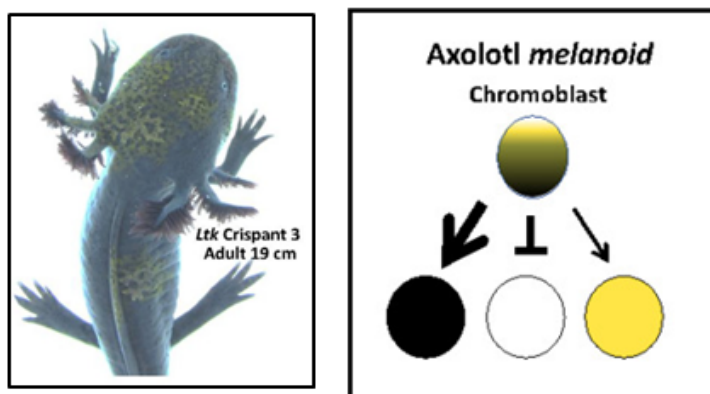
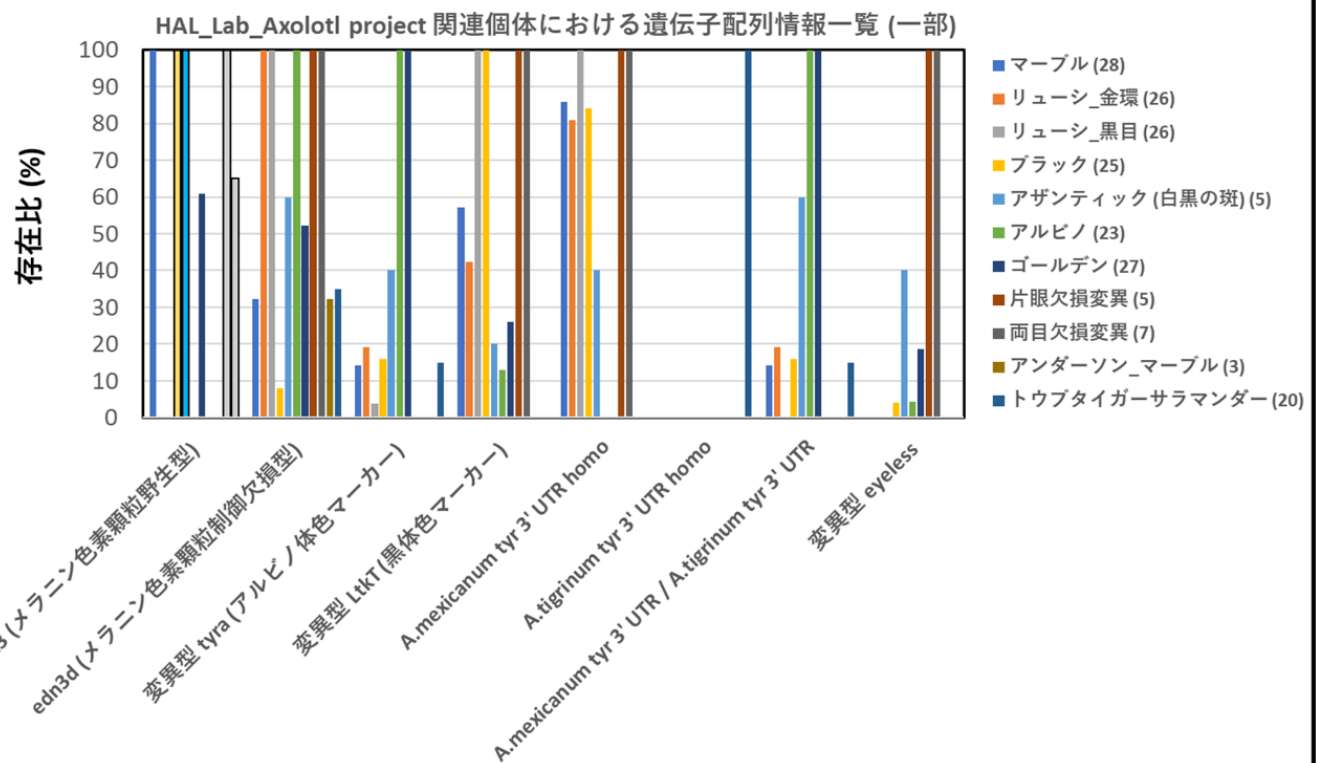


図 1-6: 中型両生類 (アホロートル) の系統に関わる遺伝的因子 3



※ 簡易的な PCR バンドによる判定 (SNP の違い等の配列同定は可能な範囲で今後実施予定)

	<i>Edn3</i> (メラニン色素顆粒野生型)	<i>edn3^d</i> (メラニン色素顆粒制御欠損型)	変異型 <i>tyr^a</i> (アルビノ体色マーカー)	変異型 <i>Ltkt</i> (黒体色マーカー)
マーブル (28)	100.0	32.1	14.3	57.1
リューシ_金環 (26)	0.0	100.0	19.2	42.3
リューシ_黒目 (26)	0.0	100.0	3.8	100.0
ブラック (25)	100.0	8.0	16.0	100.0
アザンティック (白黒の斑) (5)	100.0	60.0	40.0	20.0
アルビノ (23)	0.0	100.0	100.0	13.0
ゴールデン (27)	60.9	52.2	100.0	25.9
片眼欠損変異 (5)	0.0	100.0	0.0	100.0
両目欠損変異 (7)	0.0	100.0	0.0	100.0
アンダーソン_マーブル (3)	100.0	32.1	0.0	0.0
トウブタイガーサラマンダー (20)	65.0	35.0	15.0	0.0

	<i>A.mexicanum tyr</i> 3' UTR homo	<i>A.tigrinum tyr</i> 3' UTR homo	<i>A.mexicanum tyr</i> 3' UTR / <i>A.tigrinum tyr</i> 3' UTR	変異型 <i>eyeless</i>
マーブル (28)	85.7	0.0	14.3	0.0
リューシ_金環 (26)	80.8	0.0	19.2	0.0
リューシ_黒目 (26)	100.0	0.0	0.0	0.0
ブラック (25)	84.0	0.0	16.0	4.0
アザンティック (白黒の斑) (5)	40.0	0.0	60.0	40.0
アルビノ (23)	0.0	0.0	100.0	4.3
ゴールデン (27)	0.0	0.0	100.0	18.5
片眼欠損変異 (5)	100.0	0.0	0.0	100.0
両目欠損変異 (7)	100.0	0.0	0.0	100.0
アンダーソン_マーブル (3)	0.0	0.0	0.0	0.0
トウブタイガーサラマンダー (20)	0.0	100.0	15.0	0.0

補足図 1: HAL_Lab_Axolotl project 関連個体における遺伝子配列情報一覧 (一部)

参照: 杉山 (2023)

Ambystoma mexicanum の生息地は 淡水湖と塩湖が何度も混ざりあっていた

The Axolotl Newsletter

Issue number 26 Fall, 1997

Contents

Axolotl Newsletter Number 26 p.16

which they called the Laguna de Mexico. In addition, a causeway or dike crossing from north to south through Tlahuac separated Xochimilco from Chalco (Sanders, et al., 1979). During the Aztec period nearly the entire Xochimilco-Chalco basin was devoted to chinampas horticulture, as was the Laguna de Mexico around Tenochtitlan. Also, as a result of the Aztec waterworks, saline water was largely prevented from entering the southern lakes, even during periods of flood (Armillas, 1971).

Thus the habitat of the axolotl was significantly affected during the period of the Aztec empire in at least two ways: first, by the spread of the chinampas, which involved the construction of ditches and islands, and second, by the construction of waterworks which controlled water levels and prevented the incursion of salt water into the axolotl habitat. Its habitat may have been enlarged as well by the expansion of fresh water horticulture into the district around Tenochtitlan. The impact that these historical changes had on the species can only be speculated upon.

The chinampas system and the Aztec waterworks were at their peak when the Spanish Conquistadors arrived in 1519. What

(参考: The Axolotl news letter. 1997)

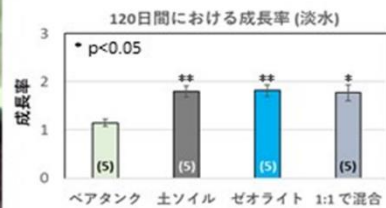
Ambystoma mexicanum の生育・成長には 硬水・汽水環境が望ましい



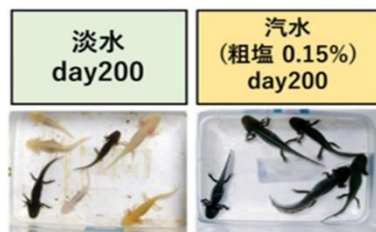
(A) ペアタンク



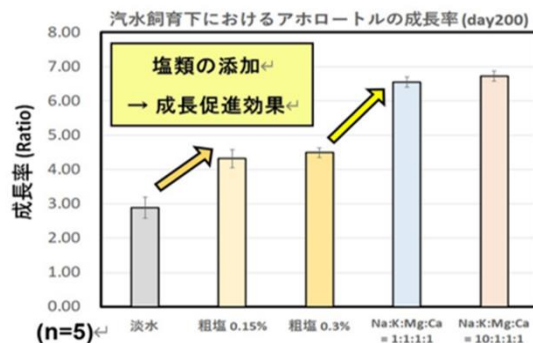
(B) ソイル(土,砂)を加えて自然界に近づけた環境



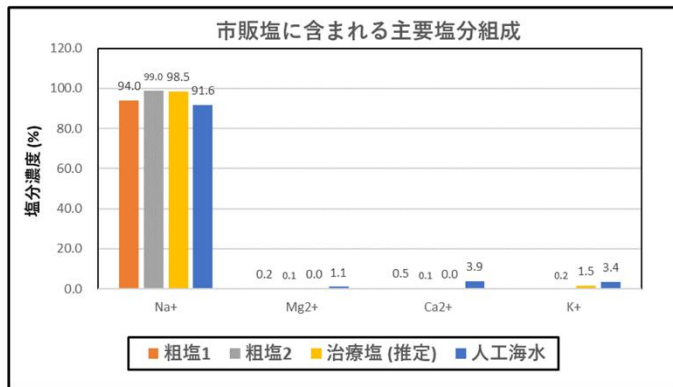
(C) ソイル有/無間の成長率比較 (水質は中性: pH 6.5-7.0)



(杉山 ほか, 2022-2023)



補足図 2-1: メキシコラサマnder (*Ambystoma mexicanum*) における汽水環境の重要性



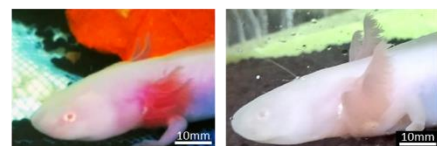
(B) <ミネラル含有水飼育に用いる粗塩例>

国産原料100% あら塩の恵み
(関東塩業)

<組成>
・塩化ナトリウム 94.0%
・他陽イオン 5.0~6.0%
・マグネシウム 0.15%

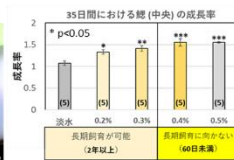
塩楽 瀬戸内の塩 国産塩
(塩楽)

<組成>
・塩化ナトリウム 95.0%
・他、ナトリウム 4.0~5.0%
・カルシウム 0.06%
・マグネシウム 0.073%
・カリウム 0.09~0.16%



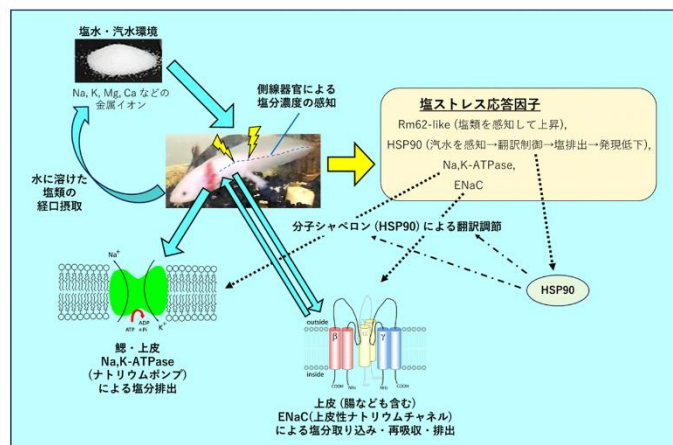
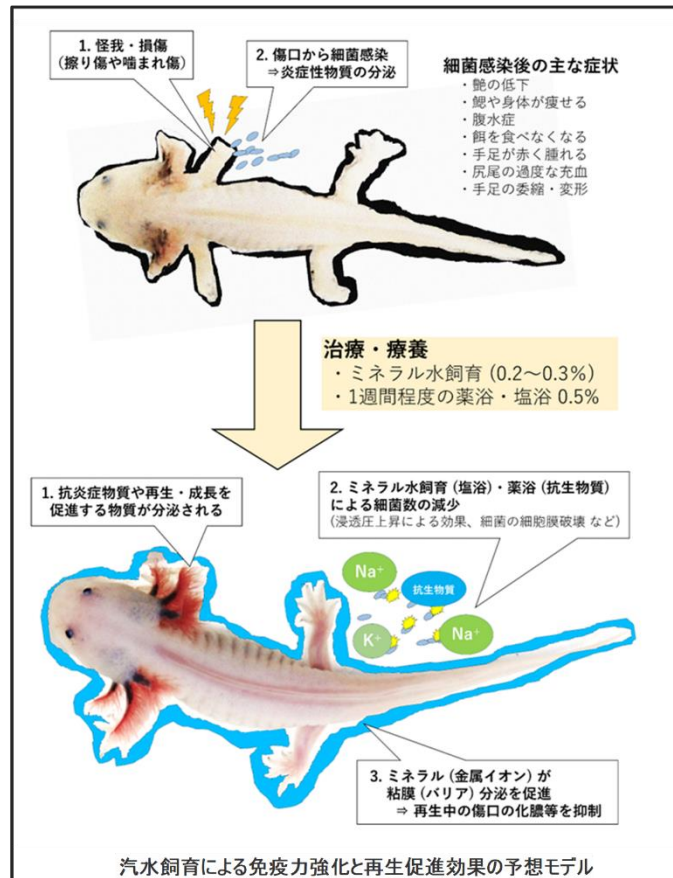
(C) 汽水浴開始時の鰻

(C') 汽水浴 (0.2~0.5%) で約1ヶ月飼育後の鰻



(D) 汽水環境下での鰻の成長率 (水質は中性: pH 6.5-7.0)

図1 (C)~(D) (杉山, 2022)



補足図 2-2: メキシコラサマンダー (*Ambystoma mexicanum*) における汽水環境の重要性 2

表 2: アホロートル・タイガーサラマンダーにおける生育時期毎の最適な塩分濃度

参照: 杉山 (2023)

	メキシコサラマンダーの場合	
	ベアタンク時 (硬度低め)	底砂有り時 (硬度高め)
産卵時 (成体)	淡水～0.30%	淡水～0.40%
卵の孵化 (9割以上)	淡水～0.10%	淡水～0.15%
day30～60 (幼体)	0.10～0.15%	0.10～0.25%
day120以降 (亜成体以降)	0.10～0.20%	0.10～0.30%

※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒玉土) がある方が安定する

	アンダーソンサラマンダーの場合	
	ベアタンク時 (硬度低め)	底砂有り時 (硬度高め)
産卵時 (成体)	淡水～0.20%	
卵の孵化 (9割以上)	淡水	
day30～60 (幼体)	0.05～0.10%	0.05～0.15%
day120以降 (亜成体以降)	0.05～0.15%	0.05～0.20%

※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒玉土) がある方が安定する

	トウブタイガーサラマンダーの場合	
	ベアタンク時 (硬度低め)	底砂有り時 (硬度高め)
産卵時 (成体)	淡水～0.50%	淡水～0.50%
卵の孵化 (9割以上)	淡水～0.25%	淡水～0.30%
day30～60 (幼体)	0.20～0.40%	0.20～0.50%
day120以降 (亜成体以降)	0.20～0.40%	0.20～0.50%

※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒玉土) がある方が安定する

(A)

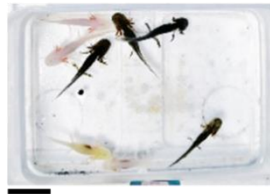
・針子・稚魚
(孵化直後～孵化後1ヶ月程度)



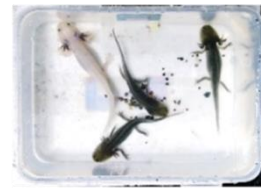
・体長2～3cm 程度



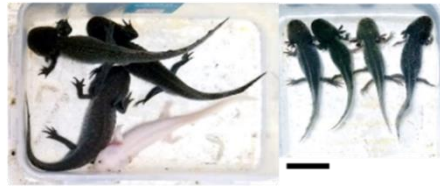
・体長 5～7cm 程度



・体長 10～15cm 程度



・体長 18～25cm 程度



・体長 30cm 以上



各スケールバー:
50mm

(B)

比較 0日目



各スケールバー:
50mm

淡水
120日目



淡水
200日目



淡水
360日目



淡水
day630



比較 0日目



各スケールバー:
50mm

0.3% 汽水飼育
120日目



0.3% 汽水飼育
200日目



0.3% 汽水飼育
360日目



0.3% 汽水飼育
day630



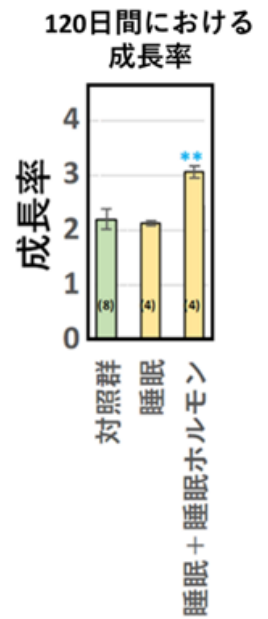
図 2-1: アホロートルの成長ステージと成長率の比較 1 (LD12:12)

アホロートルは 睡眠導入因子メラトニンに応答する

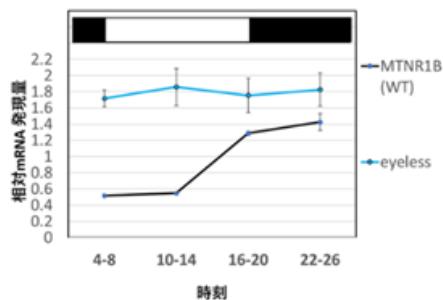


* 2-3mg 程度を経口摂取させた。

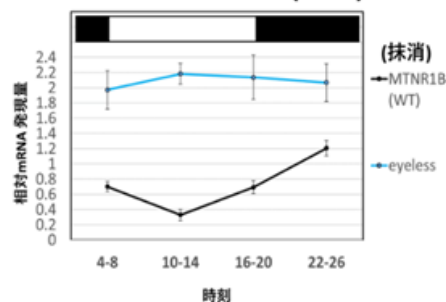
摂取量の参照 <http://www.myojin-kan.jp/melatonin/>



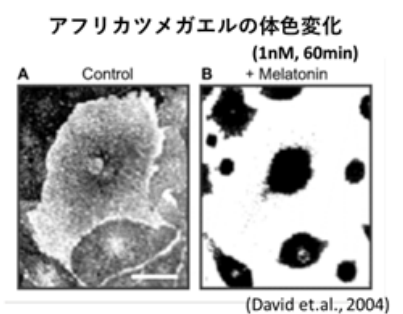
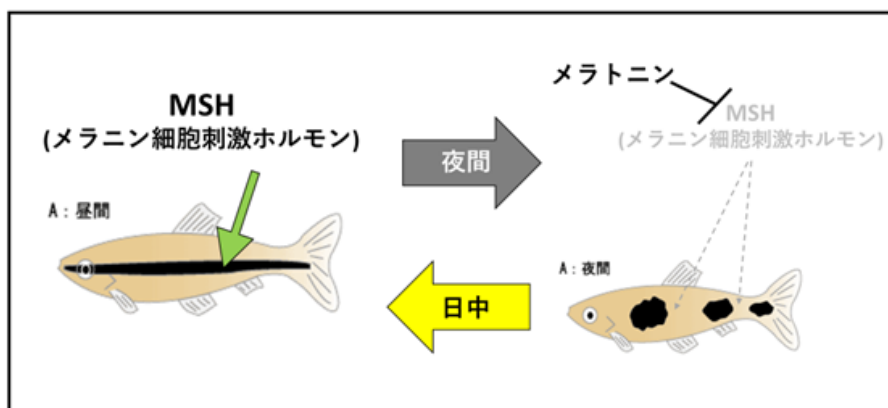
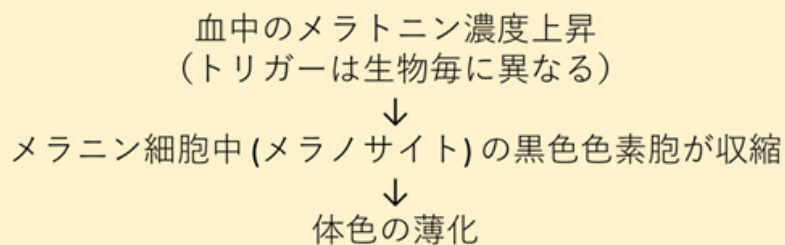
メラトニン受容体(中枢)



メラトニン受容体(末梢)



＜睡眠導入因子メラトニンと体色変化＞



<https://doi.org/10.1111/j.1600-0749.2004.>

<https://www.mnc.toho-u.ac.jp/v-lab/fish/soho/change3.html>
<https://ameblo.jp/kozoshoku/entry-12543597455.html>

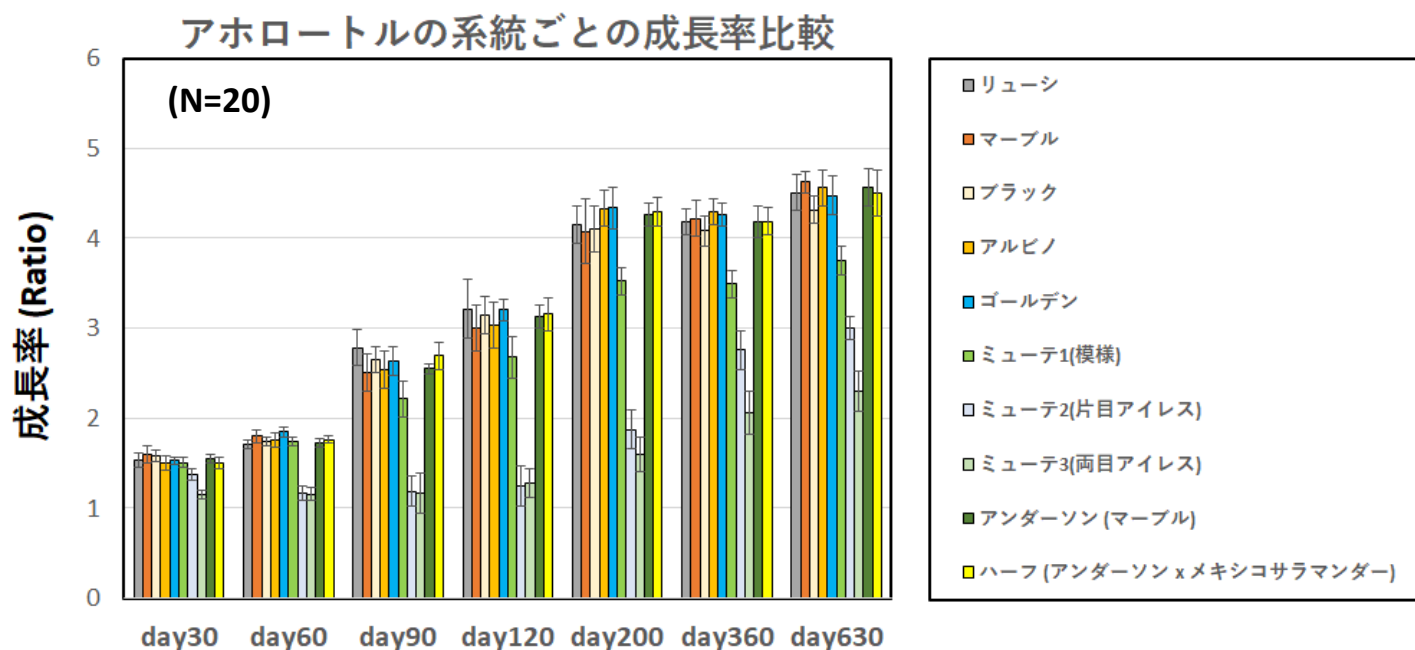
補足図 3: 日周性とアホロートルの概日リズム(活動リズム)とあくびの関連まとめ

睡眠 (0.3% 汽水, 食事時以外、恒暗条件下で飼育。)				
day60	day120	day200	day360	day630



図 2-2: アホロートルの成長ステージと成長率の比較 2 (DD)

(A) LD12:12



(B) DD (睡眠)

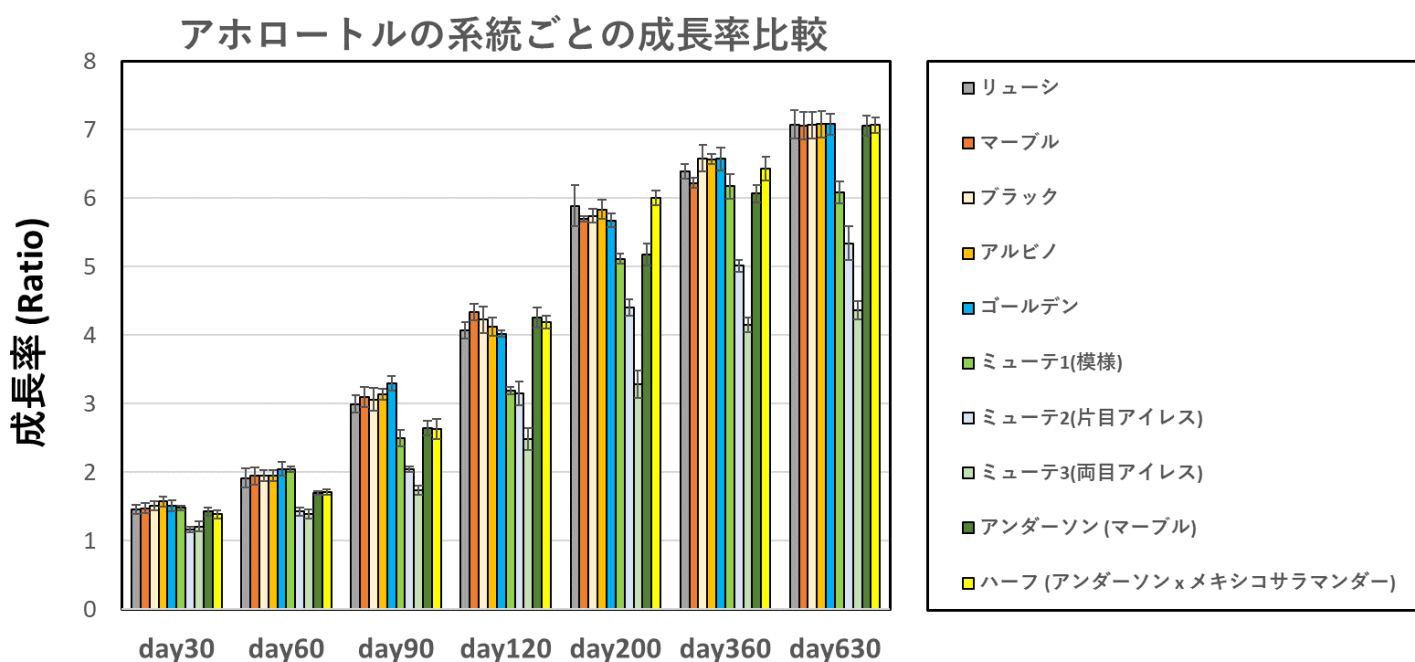
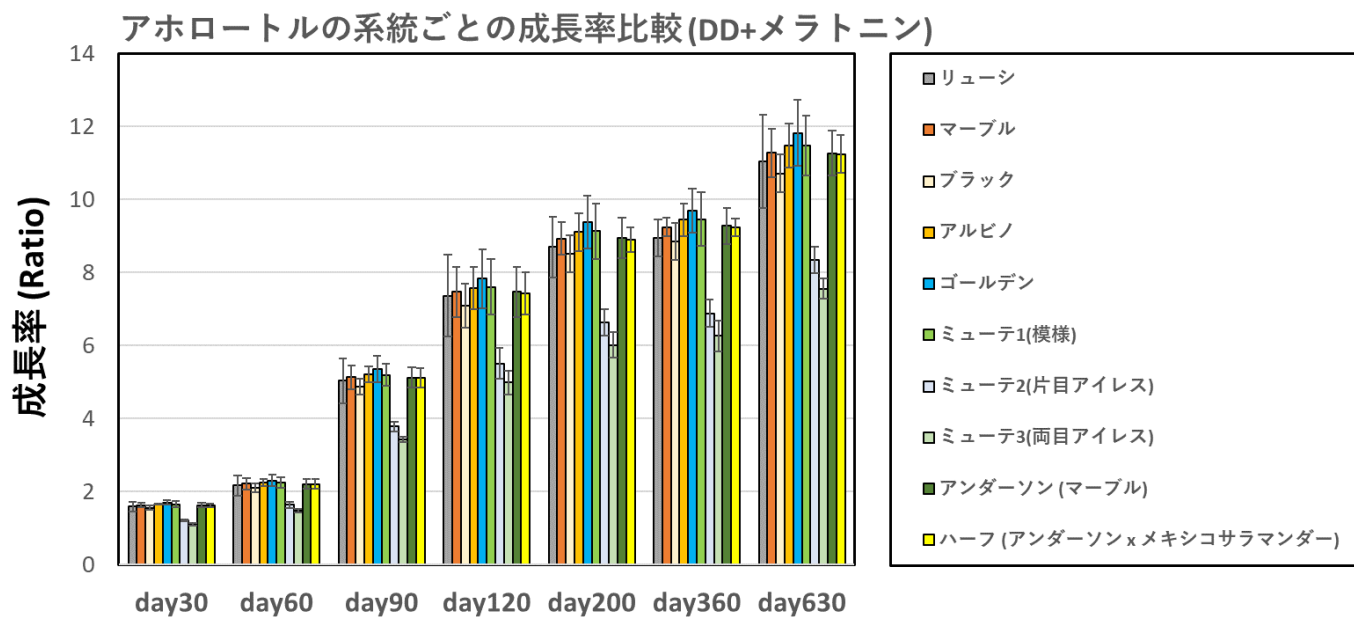


図 3-1: アホロートルの系統ごとの成長率比較 1 (淡水)

(A) DD+メラトニン (睡眠促進)



(B) DD+抗ヒスタミン剤 (睡眠促進)

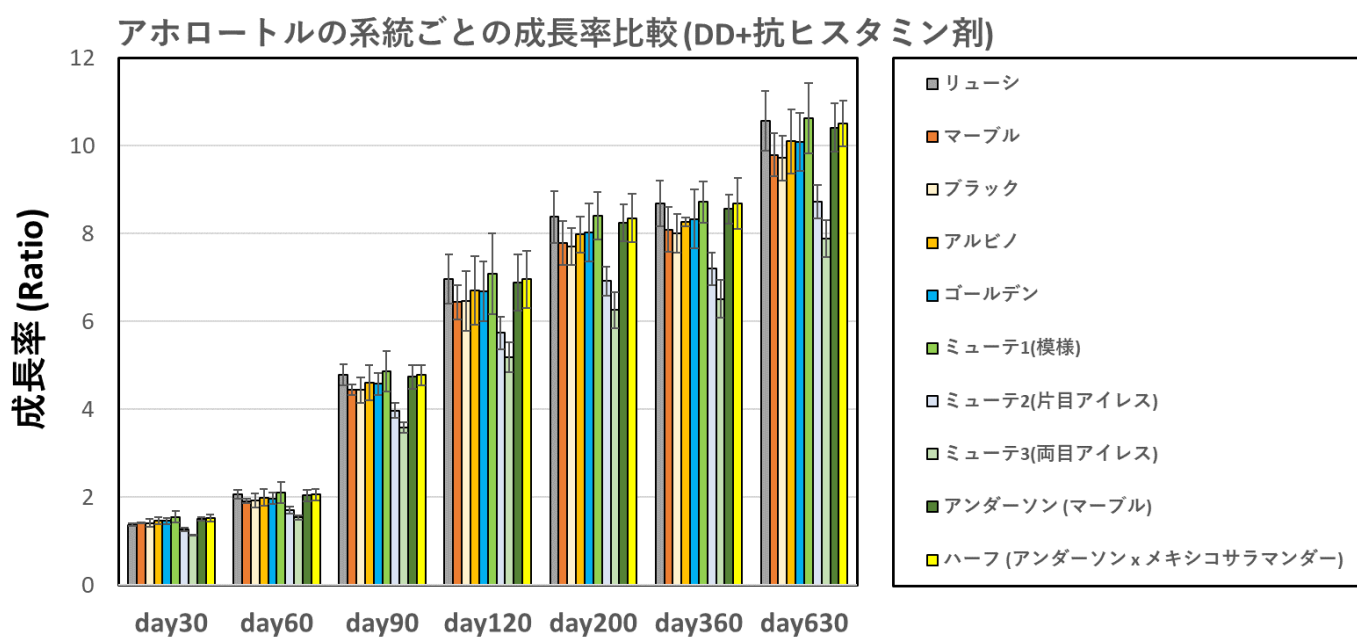
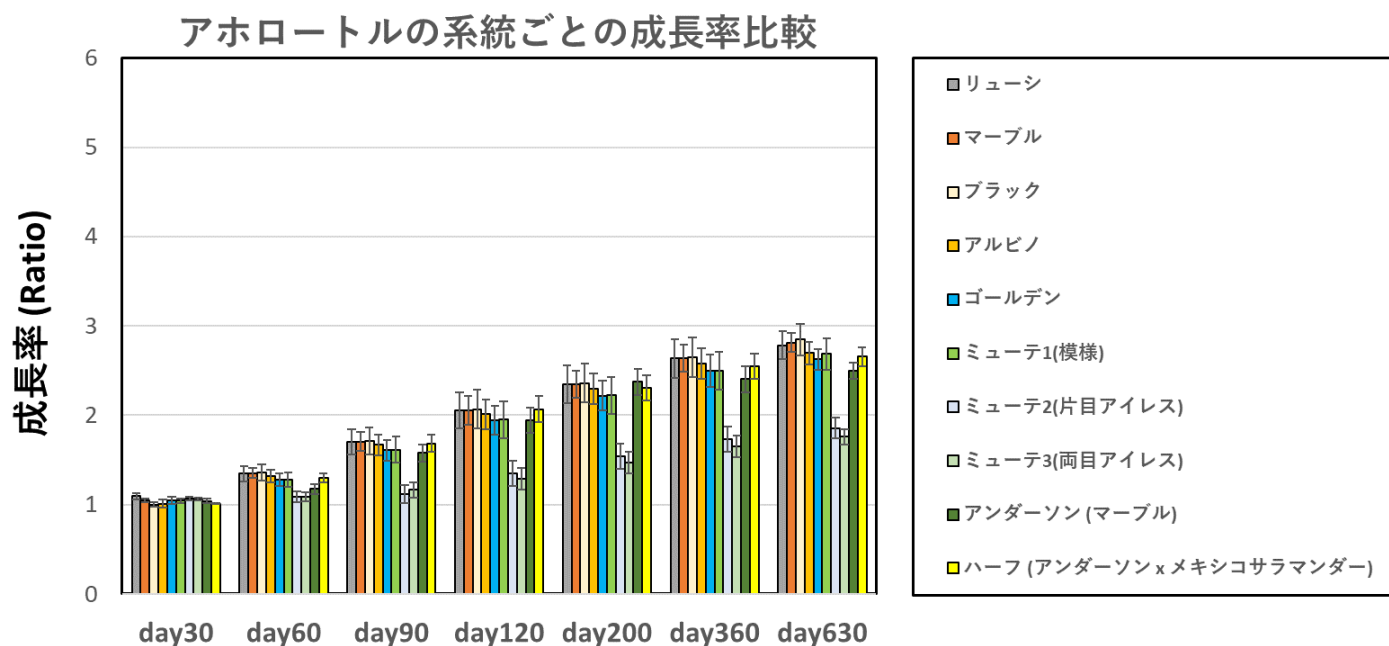


図 3-2: アホロートルの系統ごとの成長率比較 3 (淡水, DD+ α)

(A) DD+カフェイン (睡眠抑制)



(B) LL

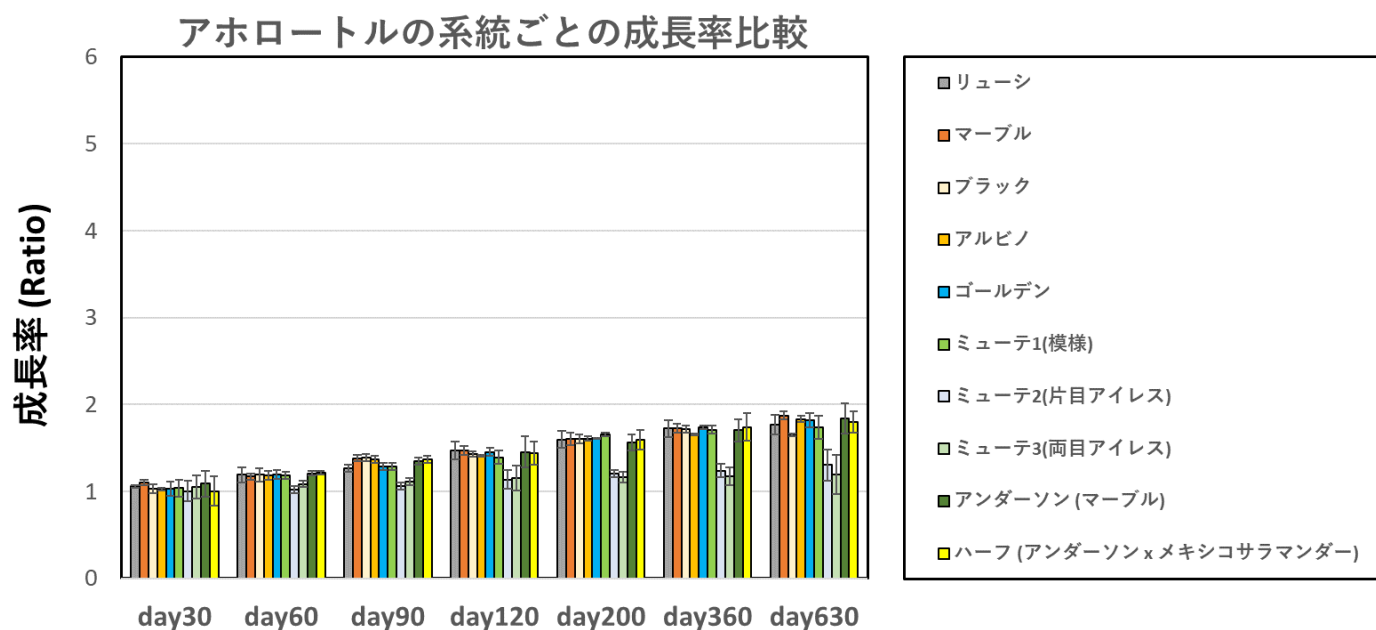


図 3-3: アホロートルの系統ごとの成長率比較 4 (淡水, 睡眠抑制)

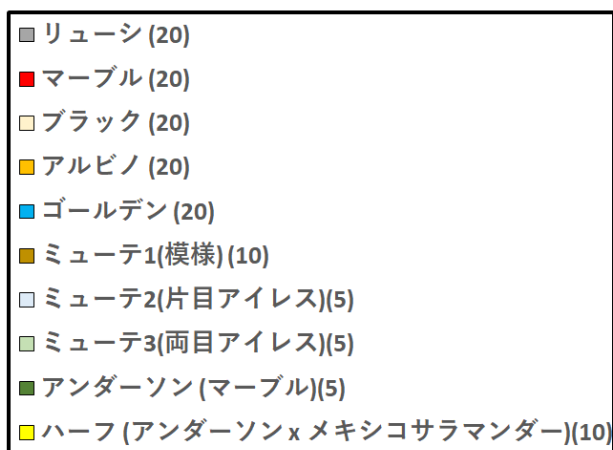
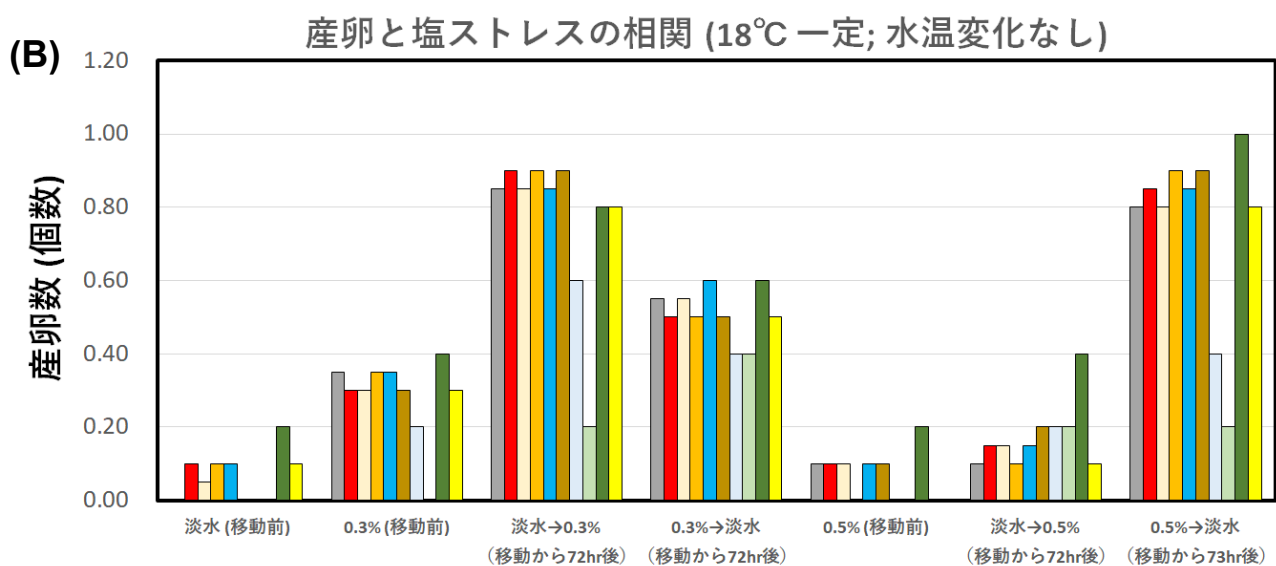
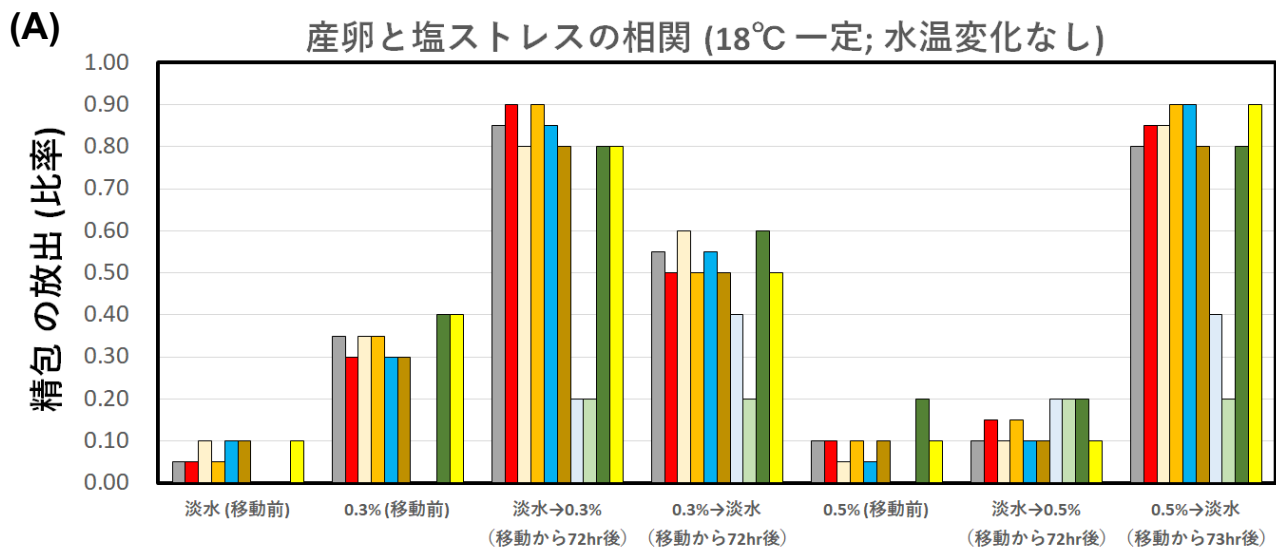
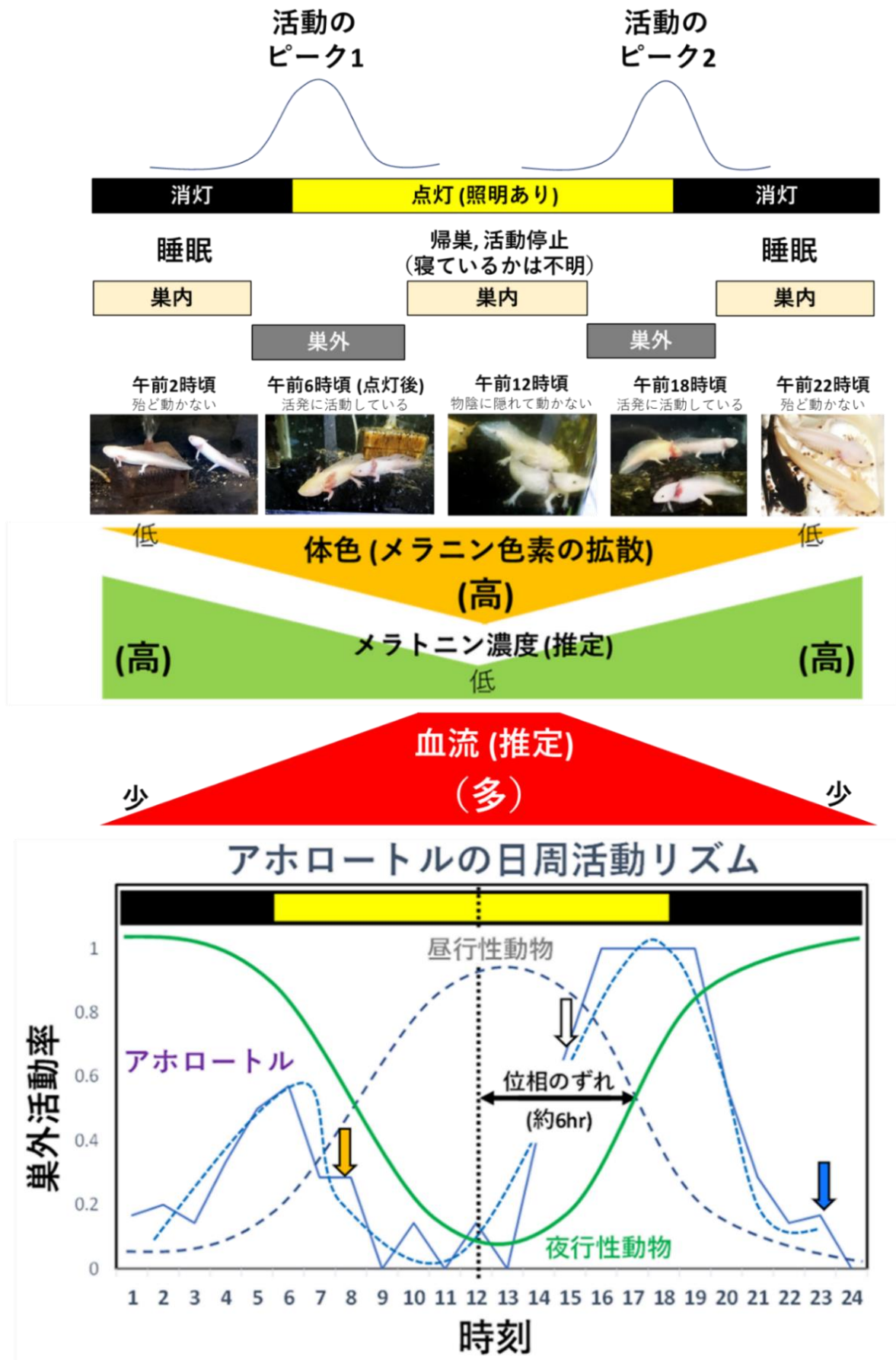


図 4: アホロートルの塩ストレスと繁殖力 (妊性)2 (LD12:12)

ミューテの産卵数が少ないのは、時間をかけても成熟度がやや低い場合があるためであり、DD に近い状況でありながらも産卵数は少なめになってしまう個体も見られる、



補足図 4: 日周性とアホロートルの概日リズム(活動リズム)と体色変化の相関まとめ (杉山;萩原, 2022)

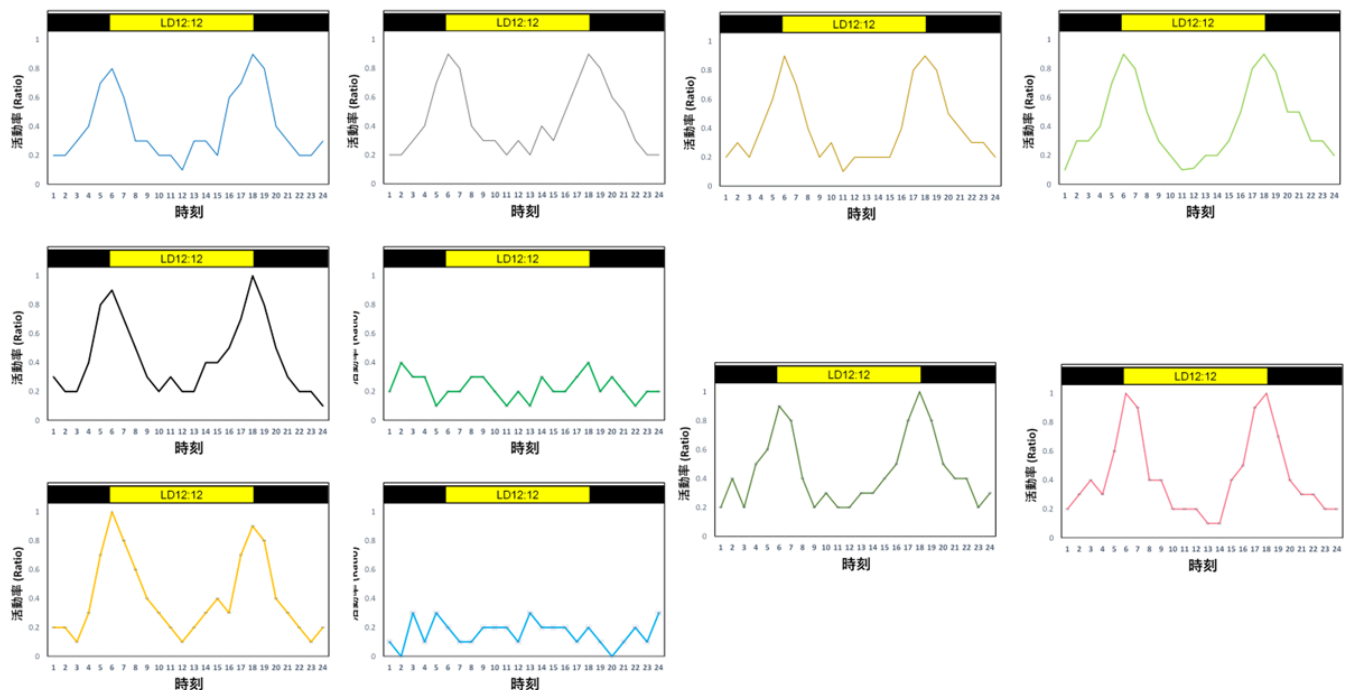
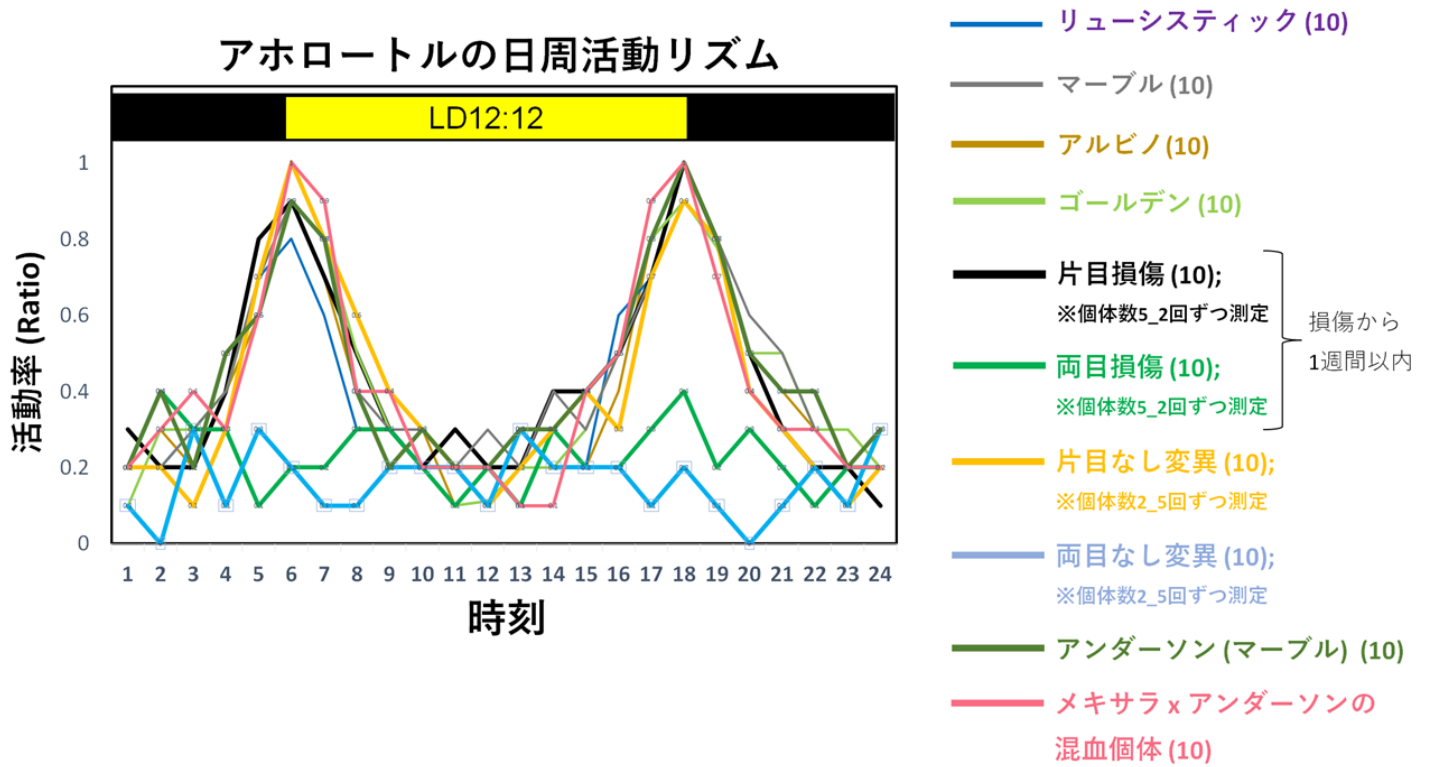


図 5: アホロートルにおける系統毎の日周活動リズム (LD12:12)

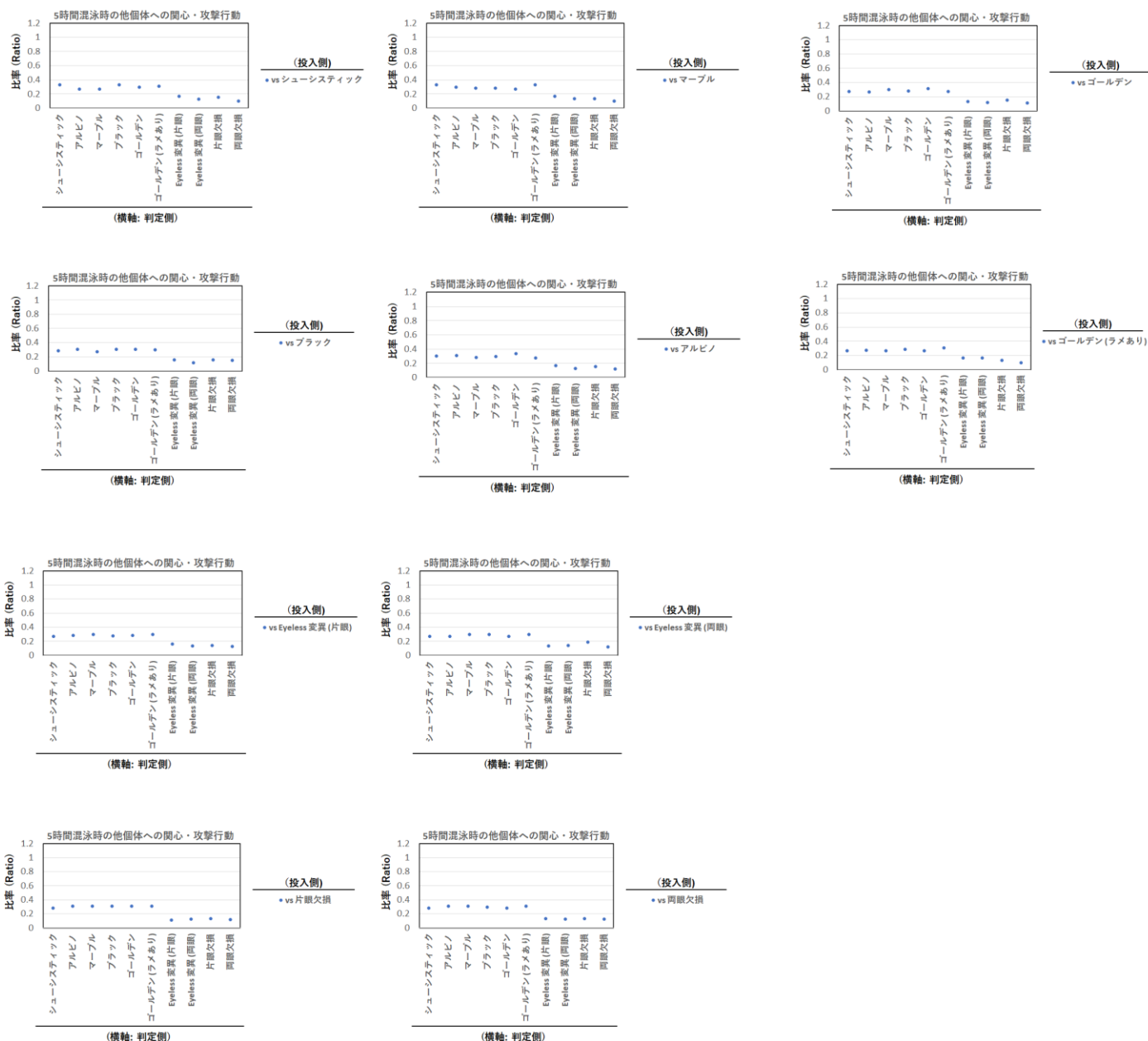


図 6: アホロートルにおける系統毎の他個体認識性 (杉山 2022)

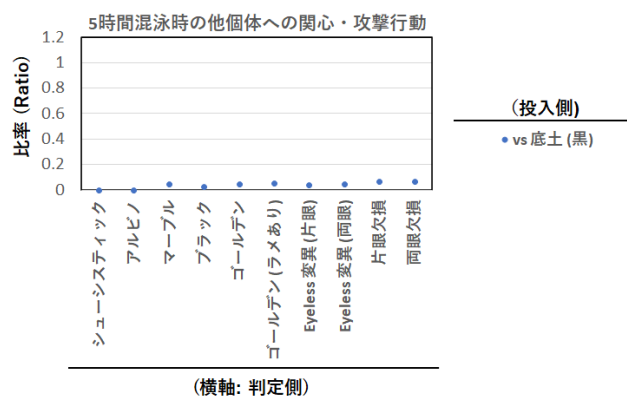
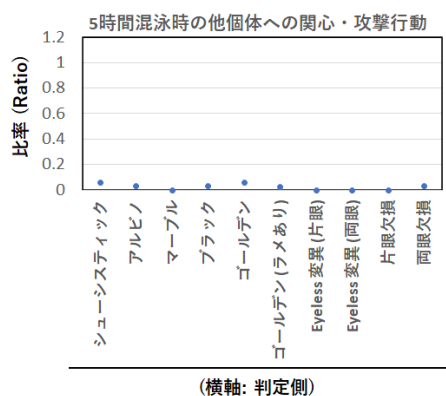
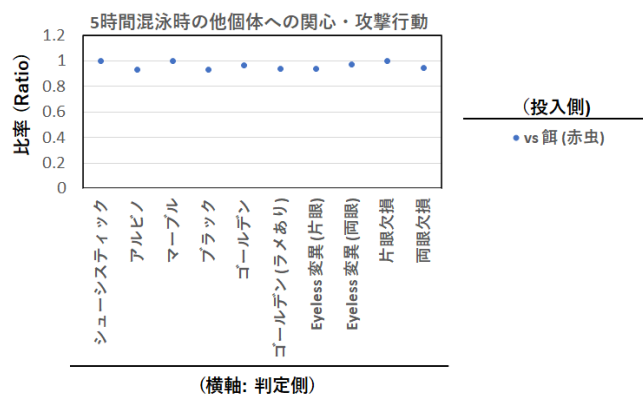
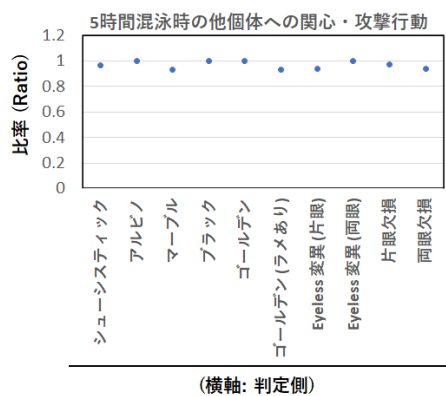


図 7: アホロートルにおける系統毎の非生物・餌への応答性 (杉山 2022)

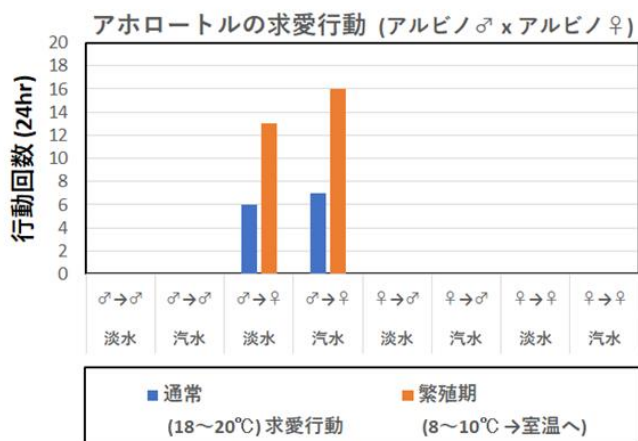
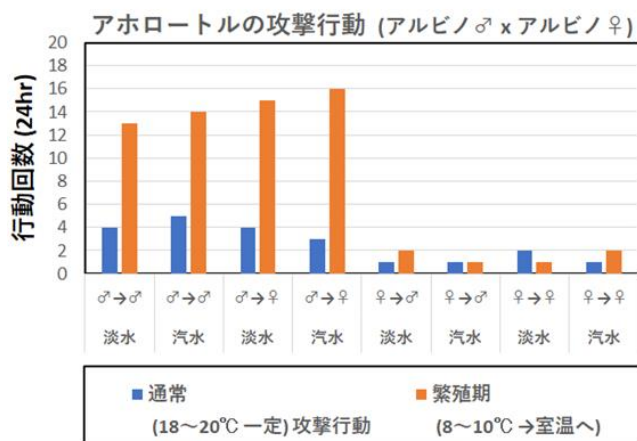
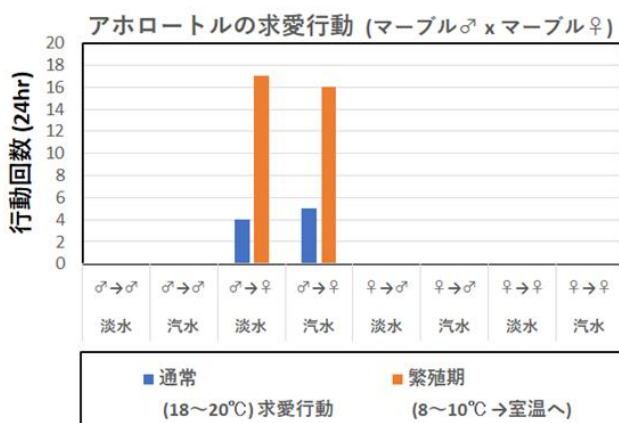
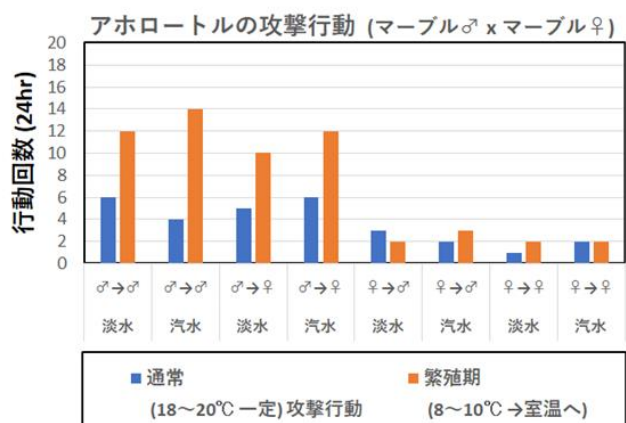
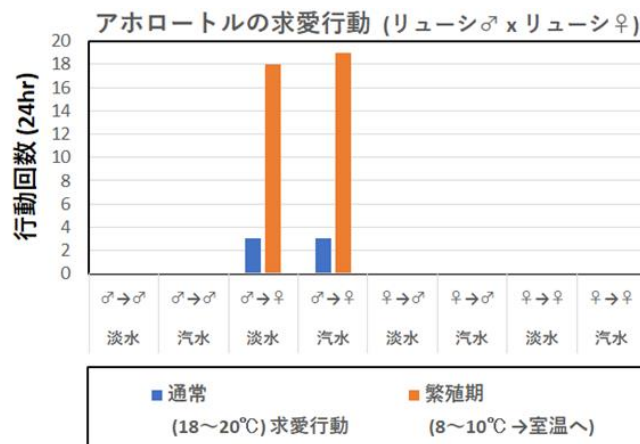
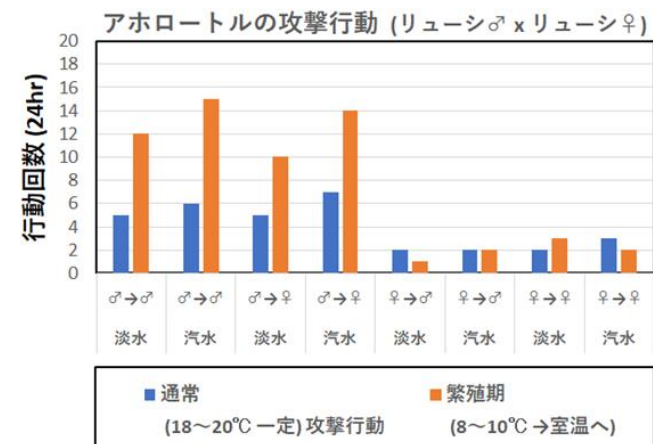


図 8: アホロートルにおける系統毎の性行動(求愛)

水槽サイズ; 45cm 水槽

水質: 淡水環境; pH6.7 (平均値), KH4.8~5.4 / 0.2% 汽水環境; pH6.8 (平均値), KH4.8~5.4 (値)

行動観察の行動; 12 時間の観察の中で、以下の行動の頻度について確認する。

攻撃行動; 相手への強い突進・相手への噛みつき行動 (食砂や周辺への攻撃なども含む)

求愛行動; 相手に対して顔をこすりつける、顔で身体をつつくなど、排卵誘発する行動

生態サイズ ; 25~30 cm, 性成熟済みのリューススティック個体 (2 年目); 四肢や眼の欠損, 突然変異など無し

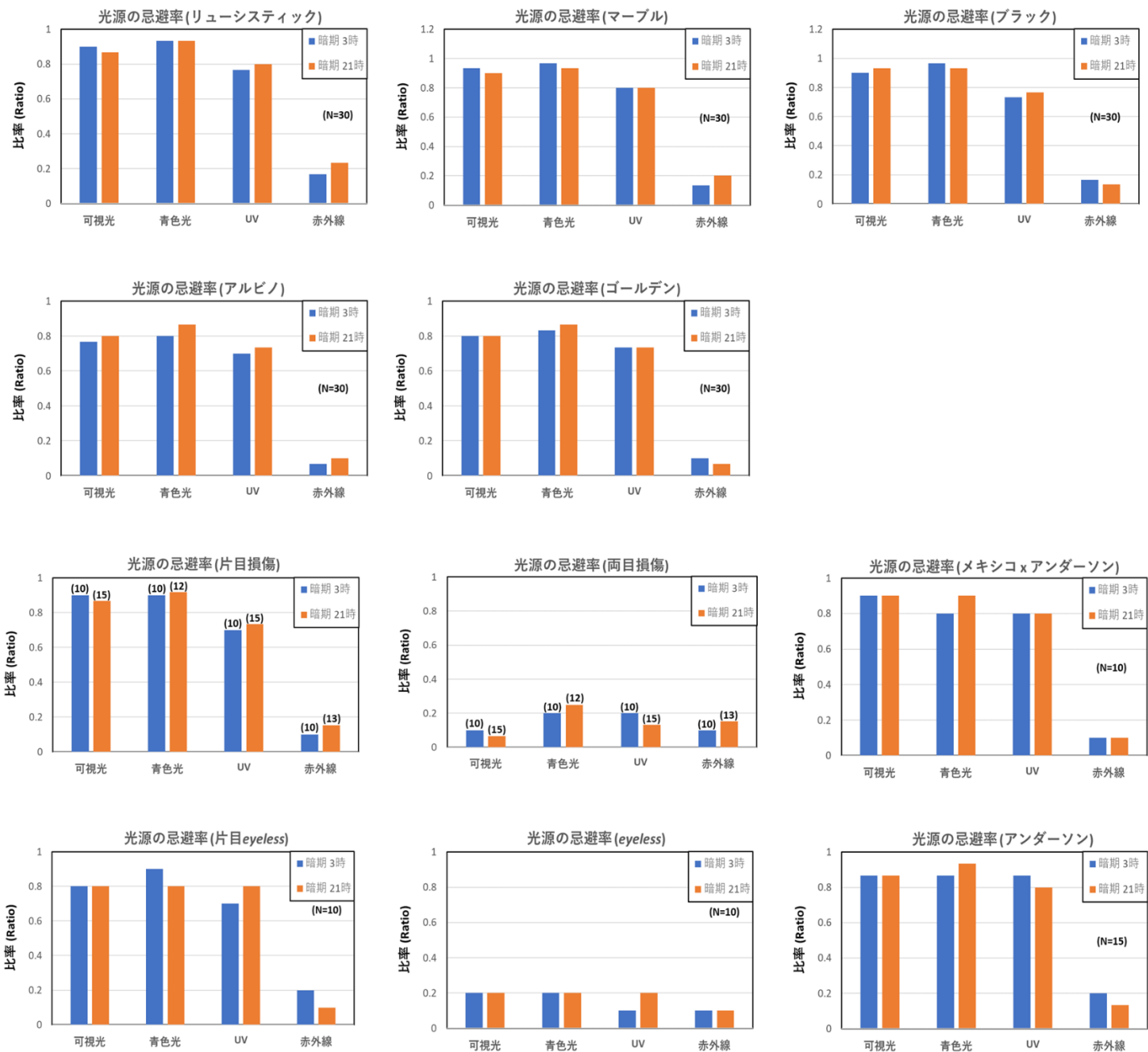


図 9: アホロートルの光波長への反応性・忌避反応

図 11-4 にて示すが、光受容タンパク質 Opn3, 5 の発現が中枢神経系で確認されており、ゼブラフィッシュ等で青色系統や紫外線系統の受容に関わるという報告が見られることから、光源への応答性確認検討において同色系統の光源に対して顕著に反応しているという本結果を支持しているといえる。

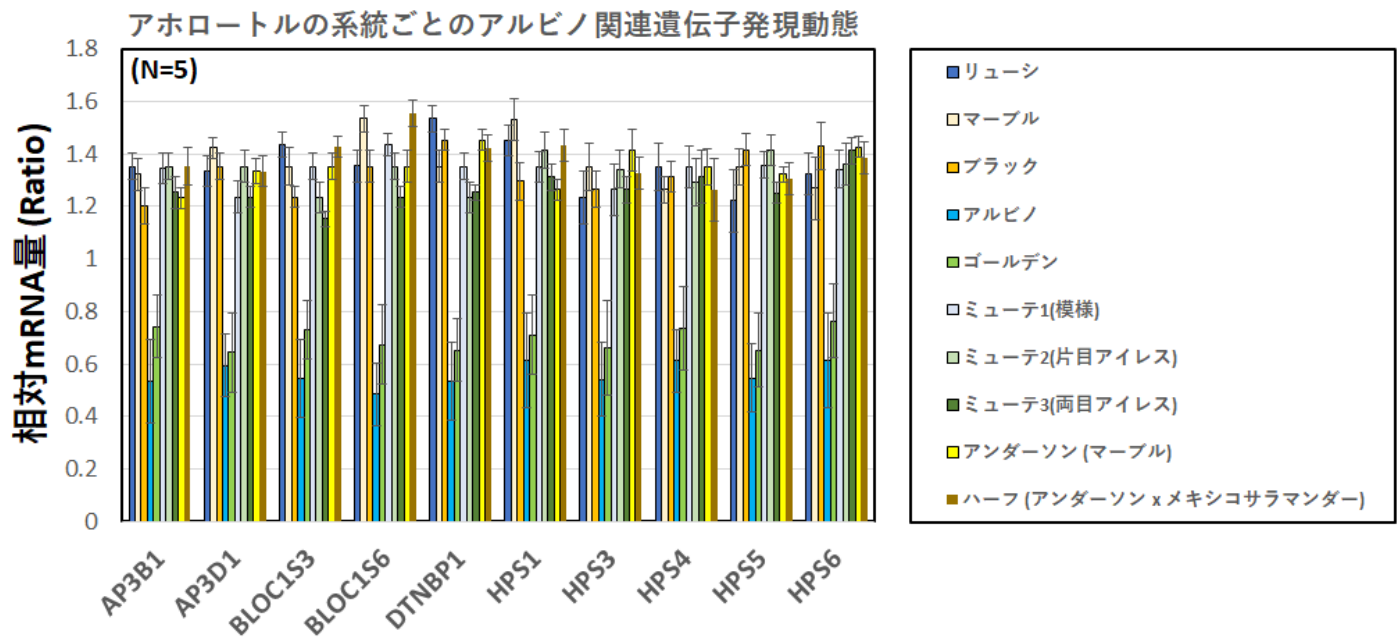
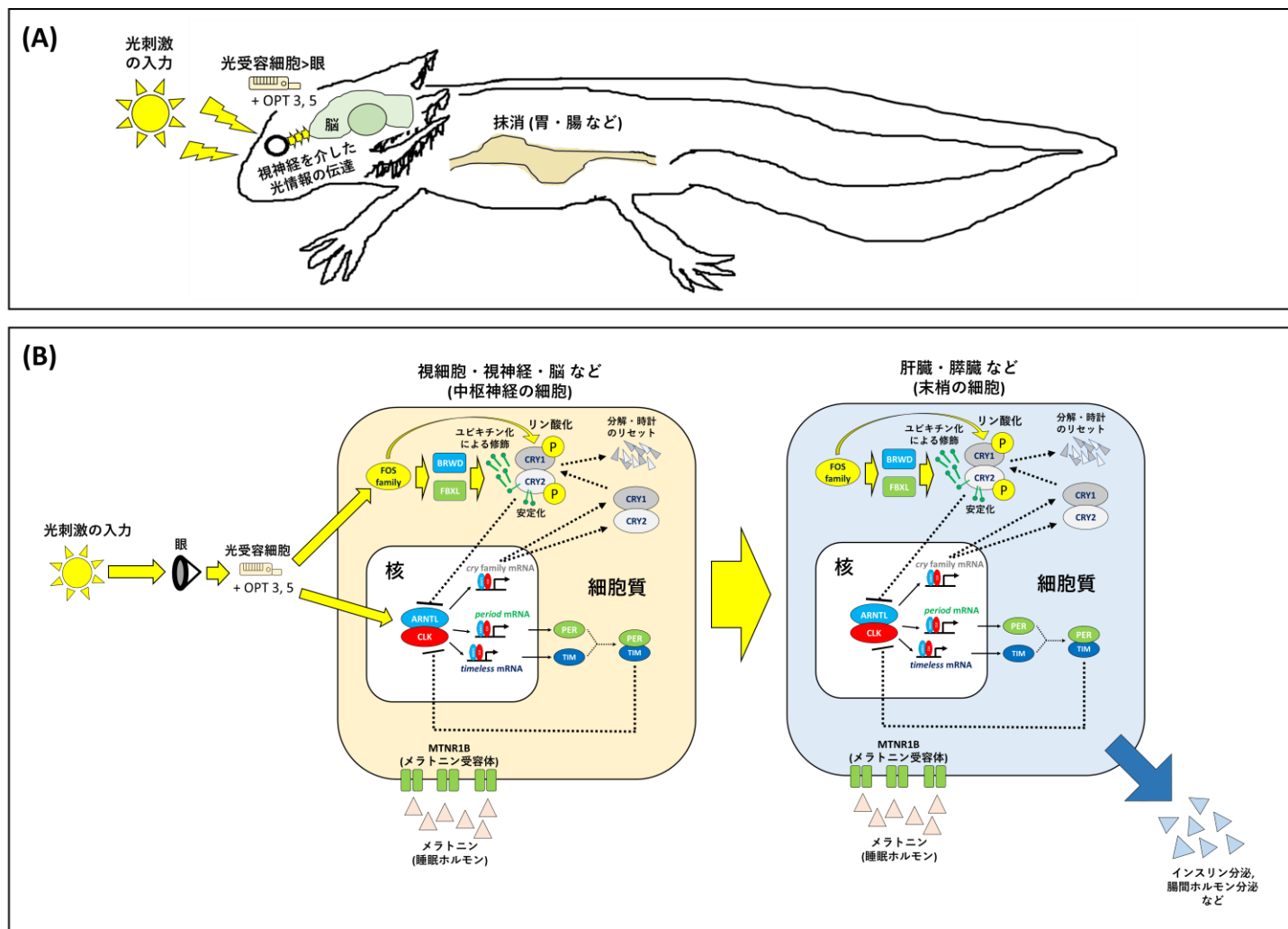
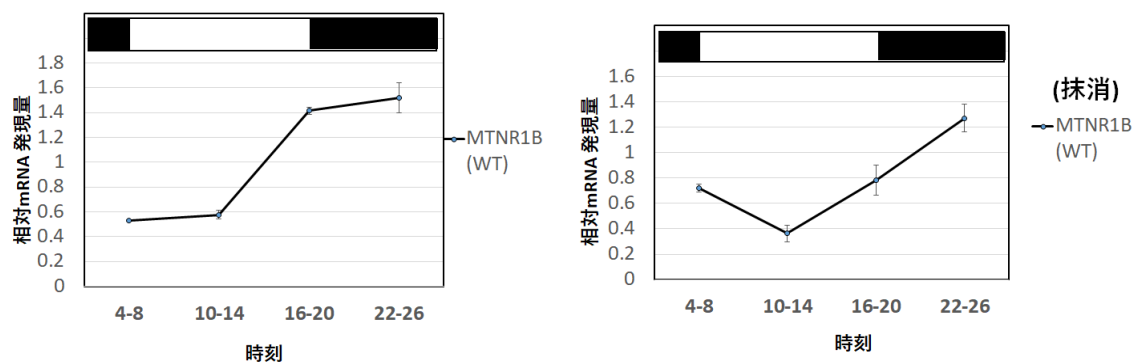


図 10: アホロートルのアルビノ系統における関連遺伝子の発現動態



補足図 5: 概日リズムと体内時計制御予想モデル図 (杉山, 2022)

(A) アルビノ系統



(B) リューシスティック & *eyeless* 変異系統

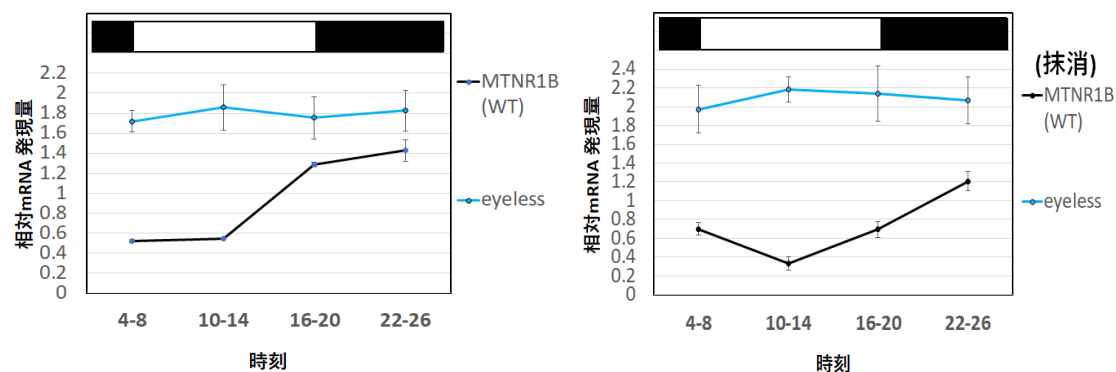
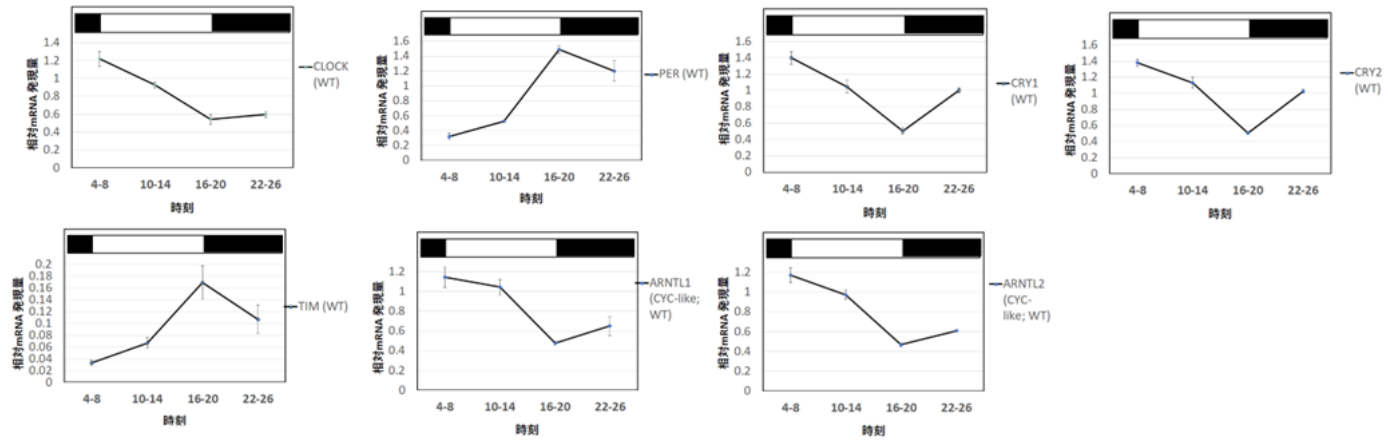


図 11-1: アホロートルのアルビノ系統における関連遺伝子の発現動態 1

※ 左: 中枢におけるメラトニン受容体 (MTNR1B), 右: 末梢における MTNR1B

(A) アルビノ系統における時計遺伝子の発現動態



(B) リューシスティック系統における時計遺伝子の発現動態

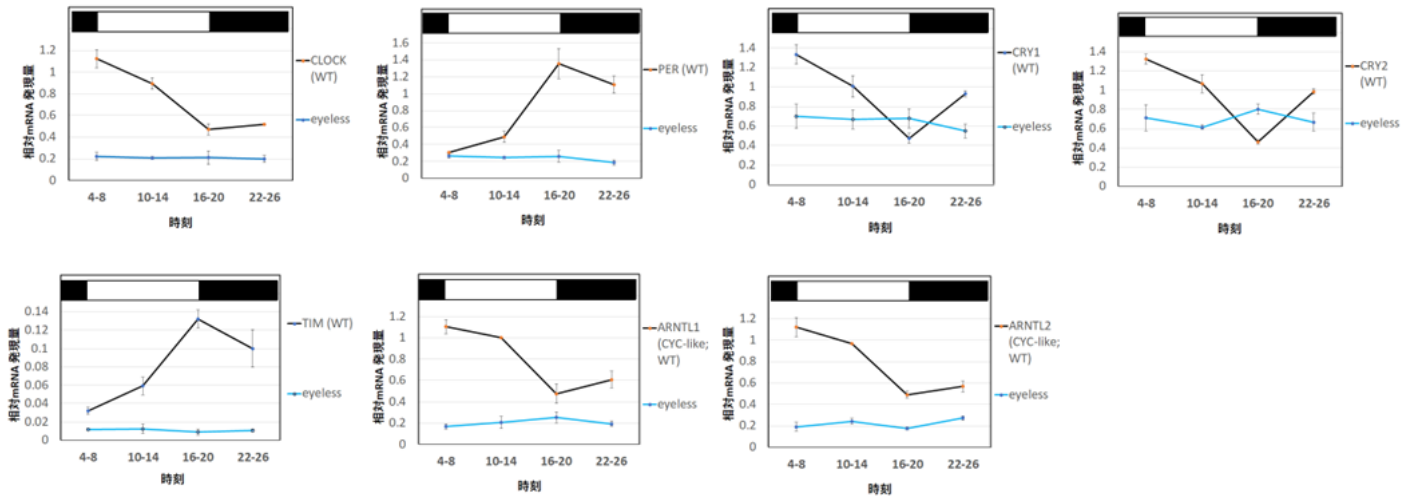
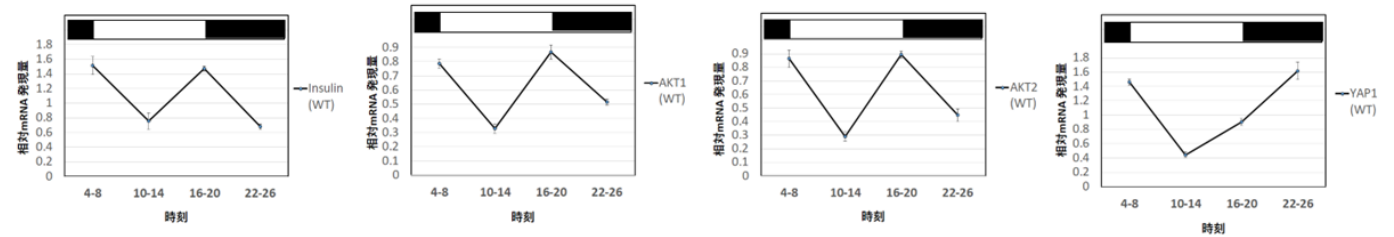


図 11-2: アホロートルのアルビノ系統における関連遺伝子の発現動態 2

(A) アルビノ系統における代謝関連遺伝子の発現動態



(B) リューシスティック系統における代謝関連遺伝子の発現動態

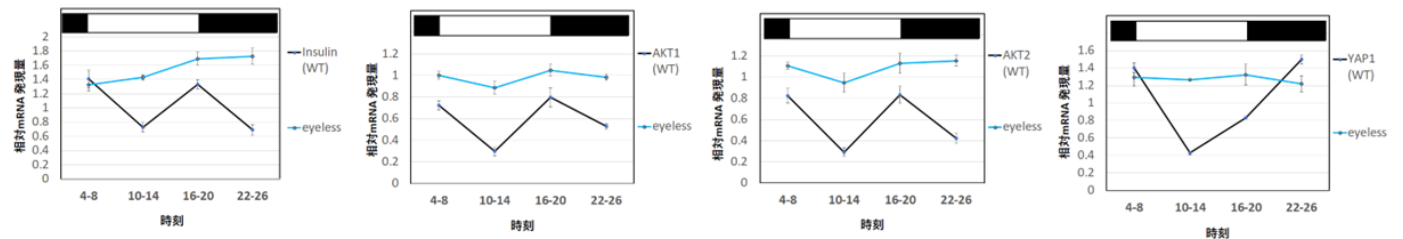
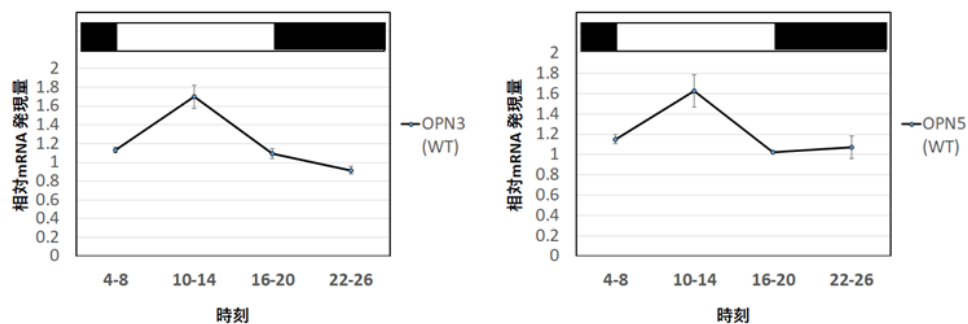


図 11-3: アホロートルのアルビノ系統における関連遺伝子の発現動態 3

(A) アルビノ系統における視細胞の光受容タンパク質をコードする遺伝子の発現動態



(B) リューシスティック系統における視細胞の光受容タンパク質をコードする遺伝子の発現動態

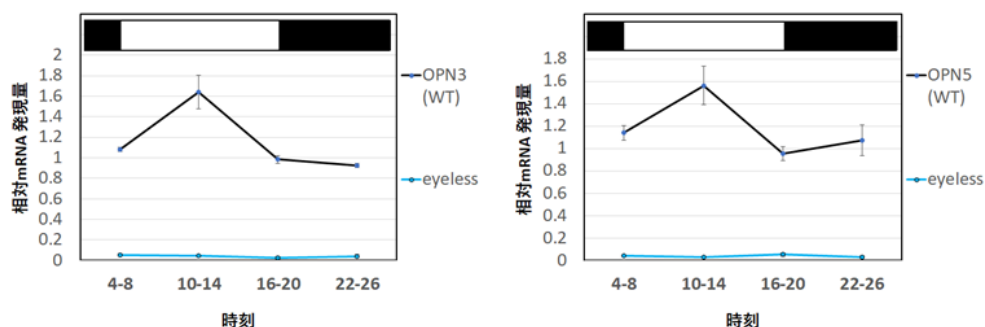
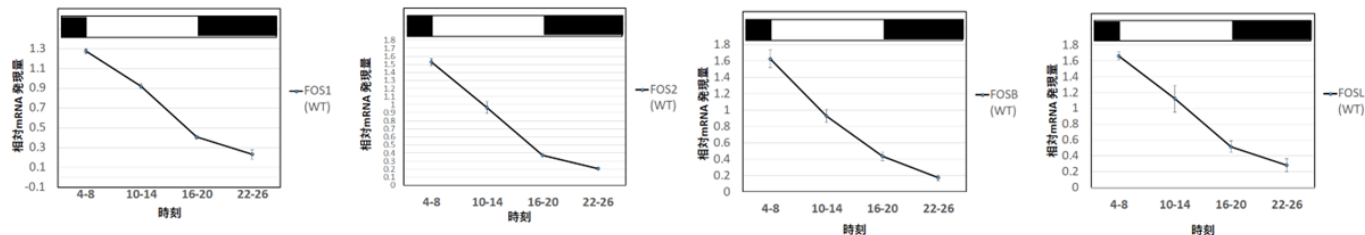


図 11-4: アホロートルのアルビノ系統における関連遺伝子の発現動態 4

ゼブラフィッシュ等の研究において、オプシン 3 は青色光の感知に関わり、オプシン 5 は紫外色の感知に関わっているという報告が見られる。これらの光受容タンパク質の発現動態と、図9の光忌避反応行動には相関が見られることから、アルビノ系統含むメキシコサラマンダーおよび近縁種は、視細胞・中枢神経系にて青色系統の光受容・感知ができ、そのシグナル伝達によって、体内時計の制御を行っていることが示唆された。

(A) アルビノ系統における視細胞中の光受容タンパク質をコードする遺伝子の発現動態



(B) リューシスティック系統における視細胞中の光受容タンパク質をコードする遺伝子の発現動態

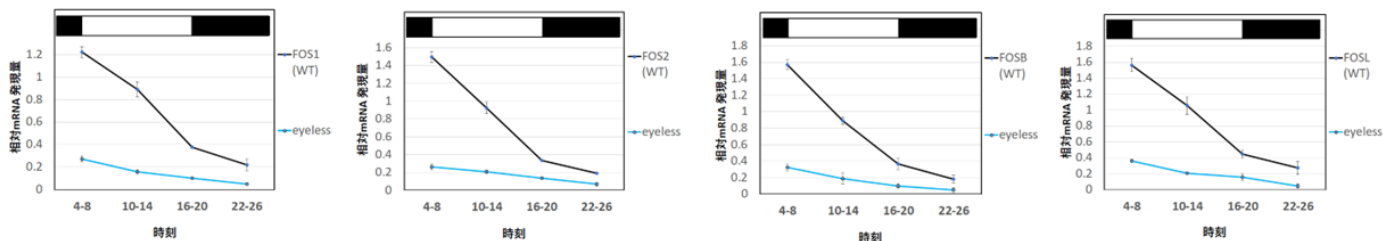
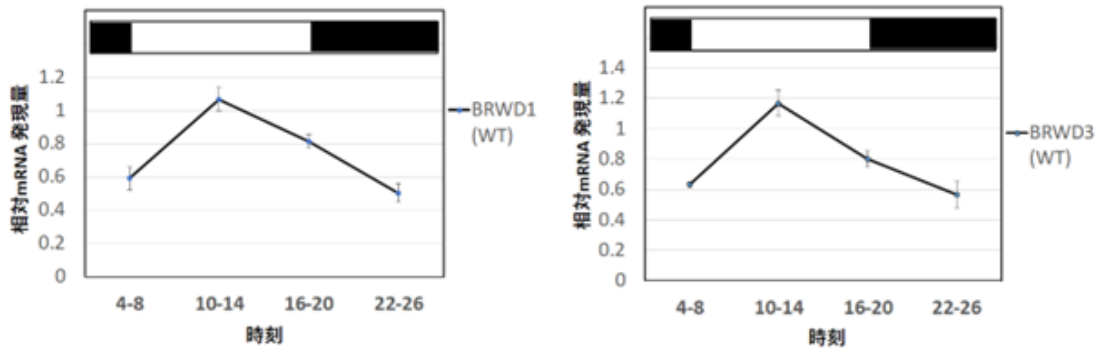


図 11-5: アホロートルのアルビノ系統における関連遺伝子の発現動態 5

(A) アルビノ系統における時計遺伝子の発現動態



(B) リューシスティック系統における時計遺伝子の発現動態

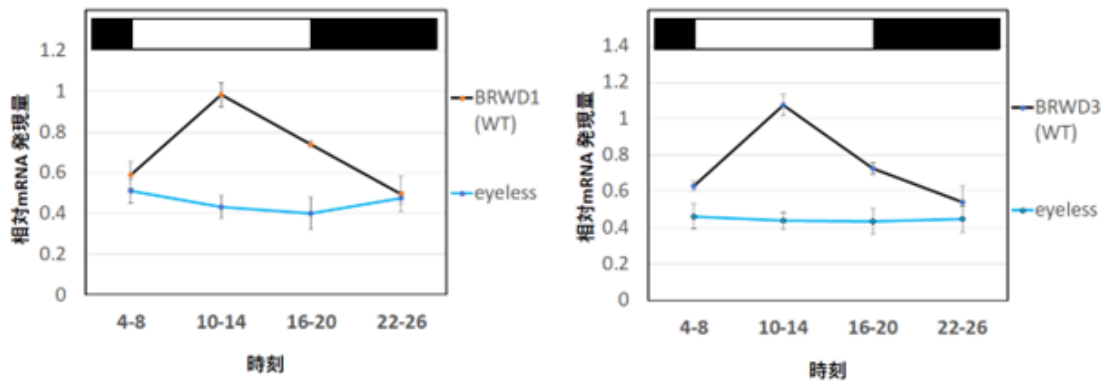
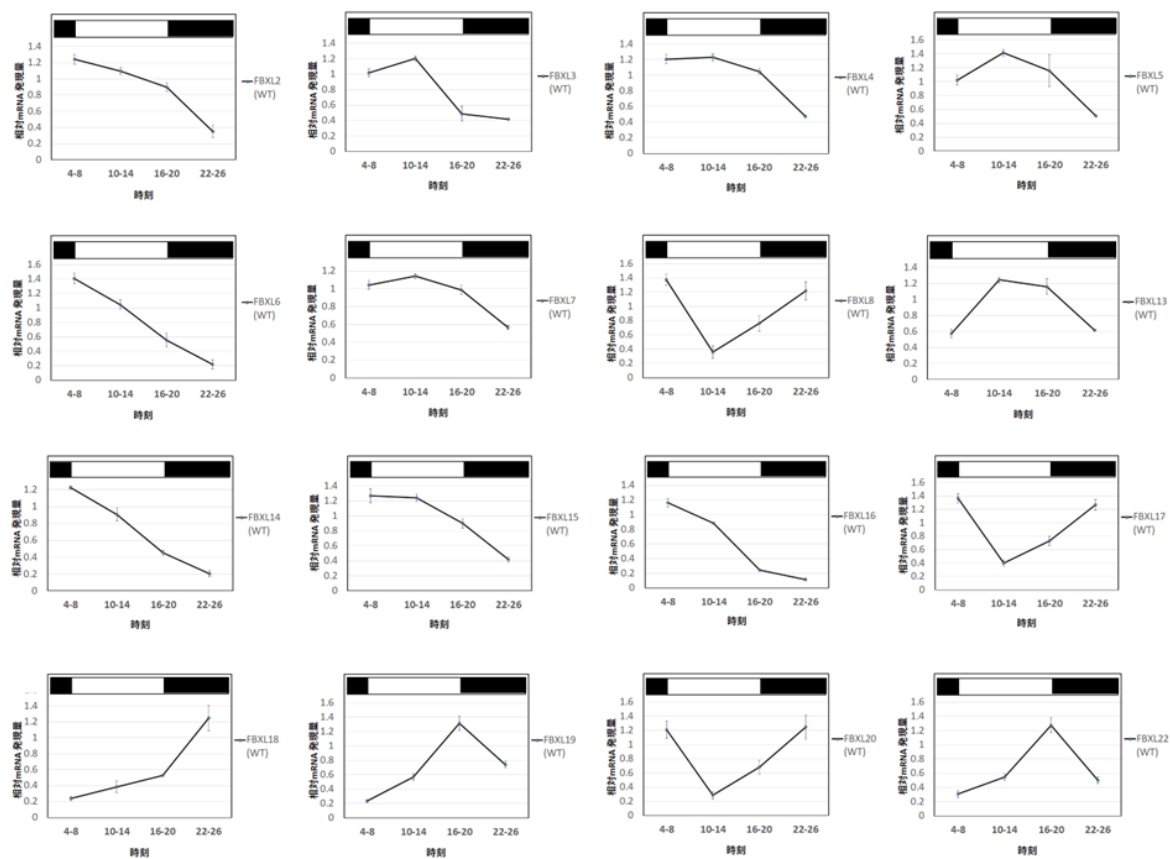


図 11-6: アホロートルのアルビノ系統における関連遺伝子の発現動態 6

(A) アルビノ系統におけるFbox結合タンパク質の発現動態



(B) リューシスティック系統におけるFbox結合タンパク質の発現動態

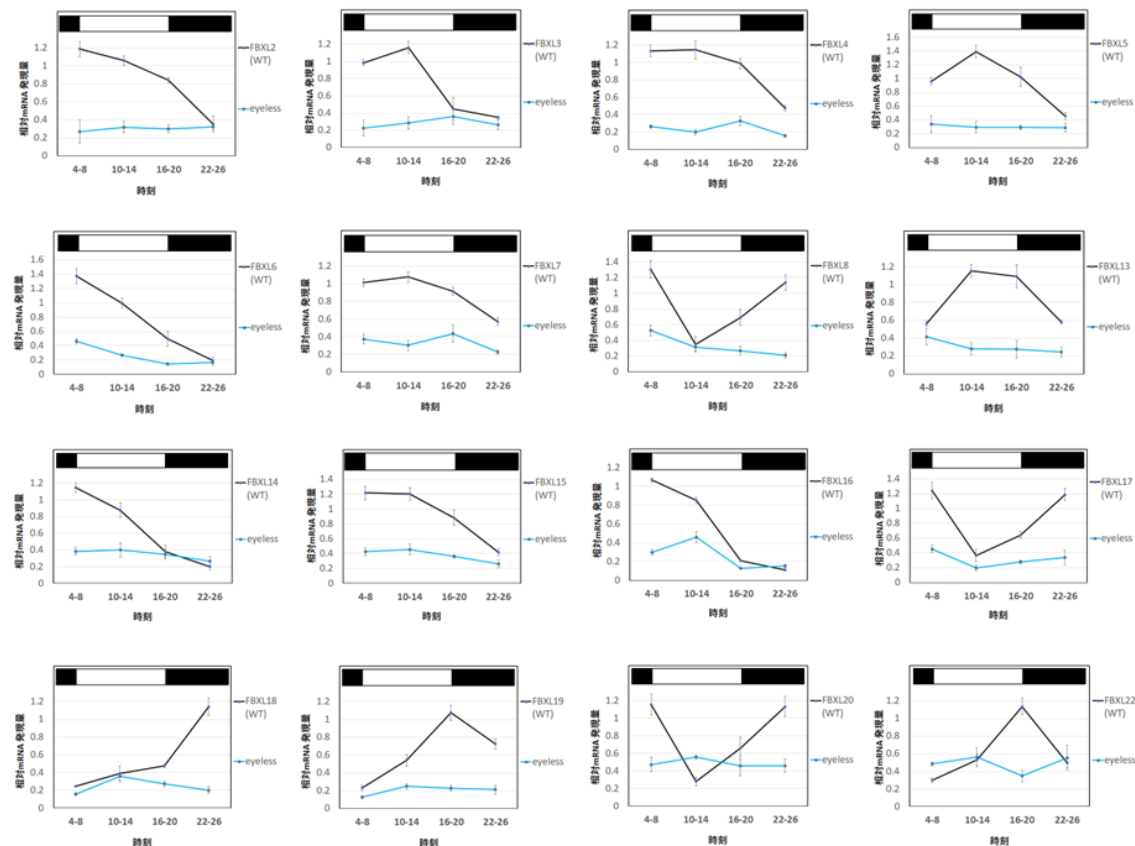


図 11-7: アホロートルのアルビノ系統における関連遺伝子の発現動態 7

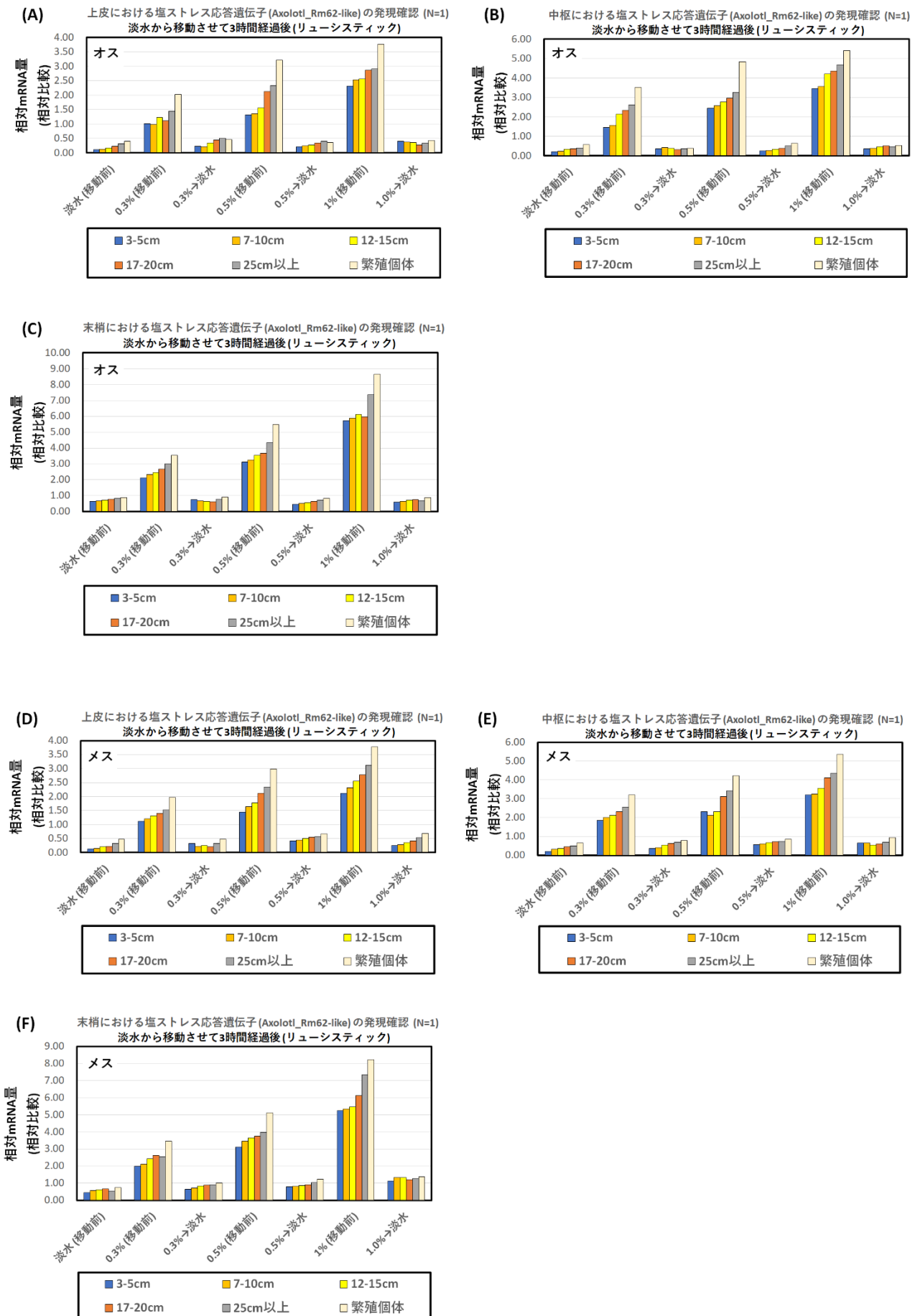


図 12-1: アホロートルにおける塩ストレス応答関連遺伝子の発現動態

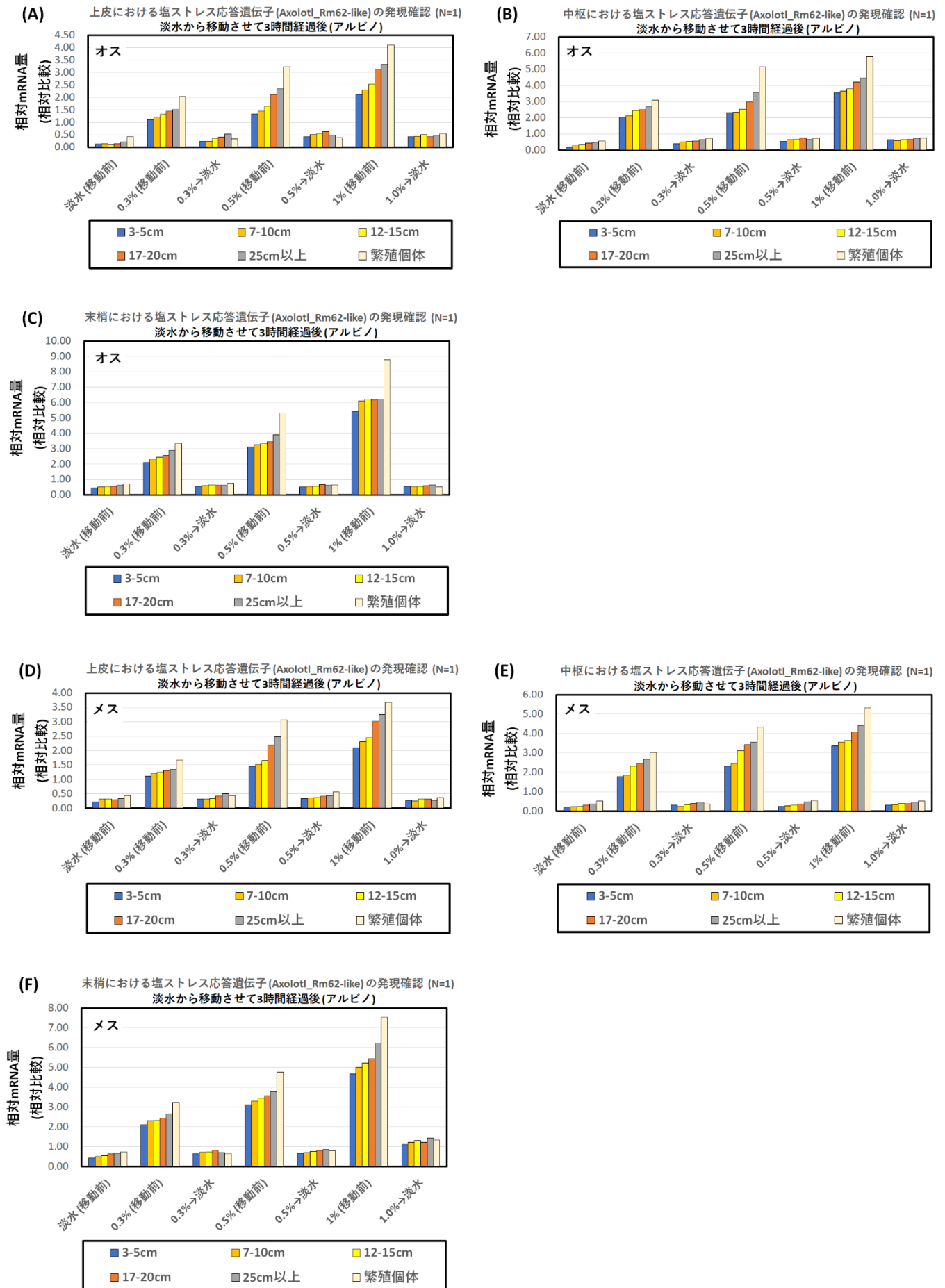


図 12-2: アホロートル (アルビノ) における塩ストレス応答関連遺伝子の発現動態

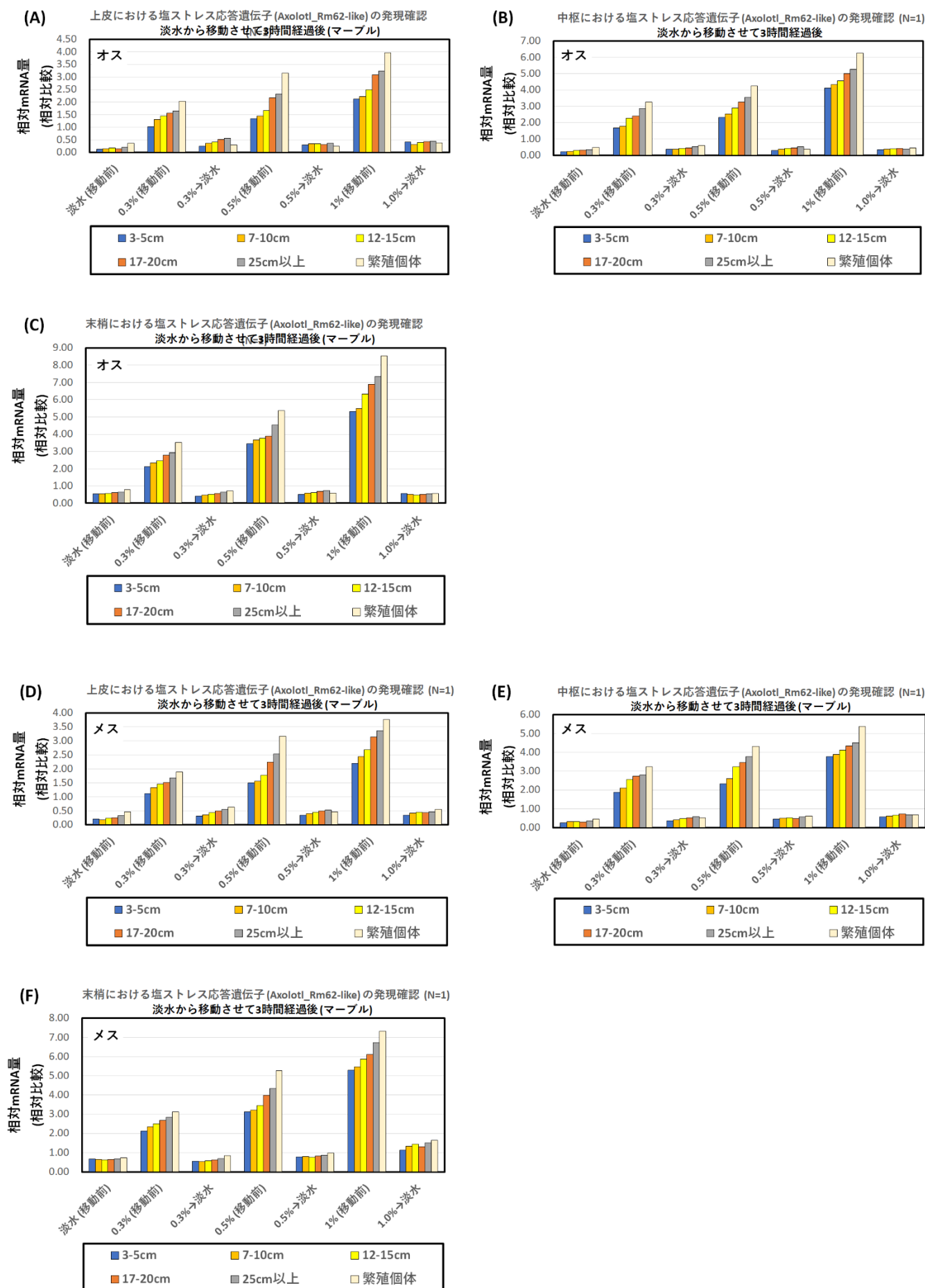


図 12-3: アホロートル (マール) における塩ストレス応答関連遺伝子の発現動態

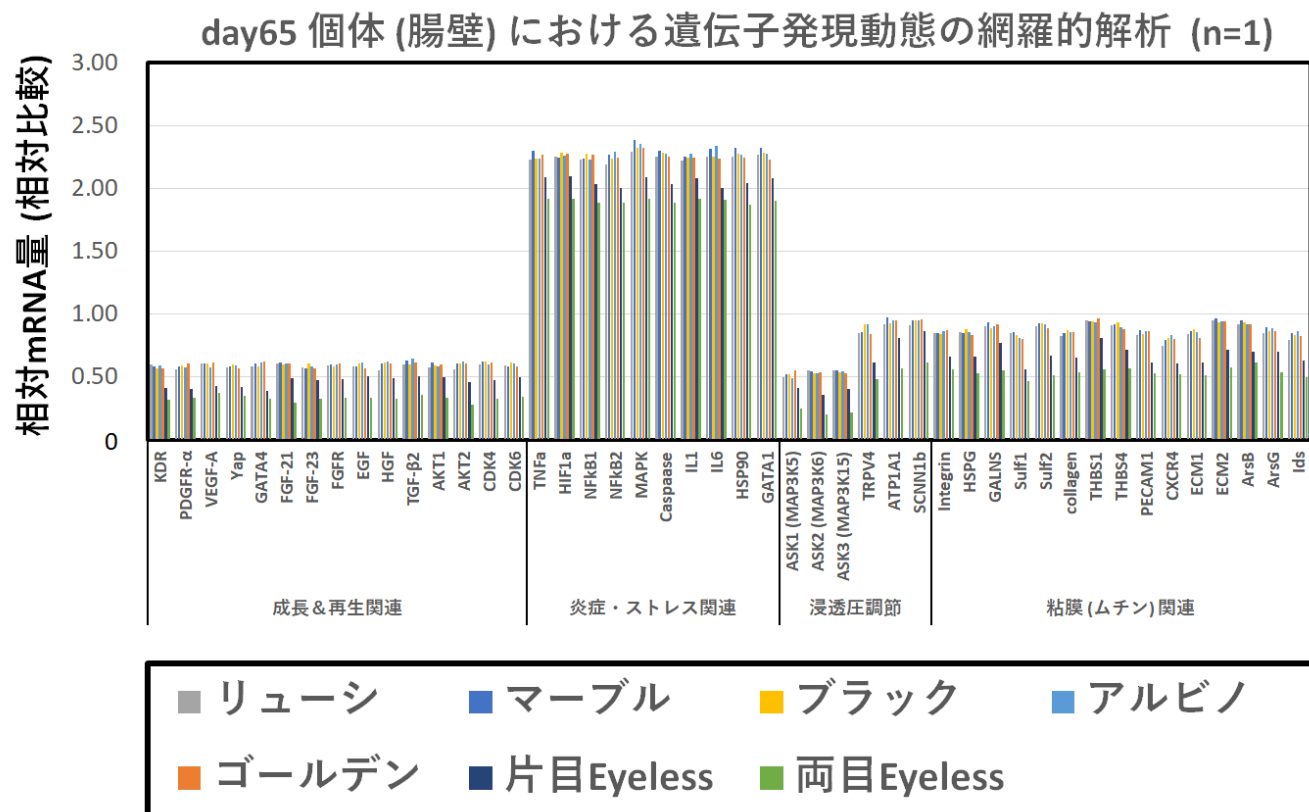
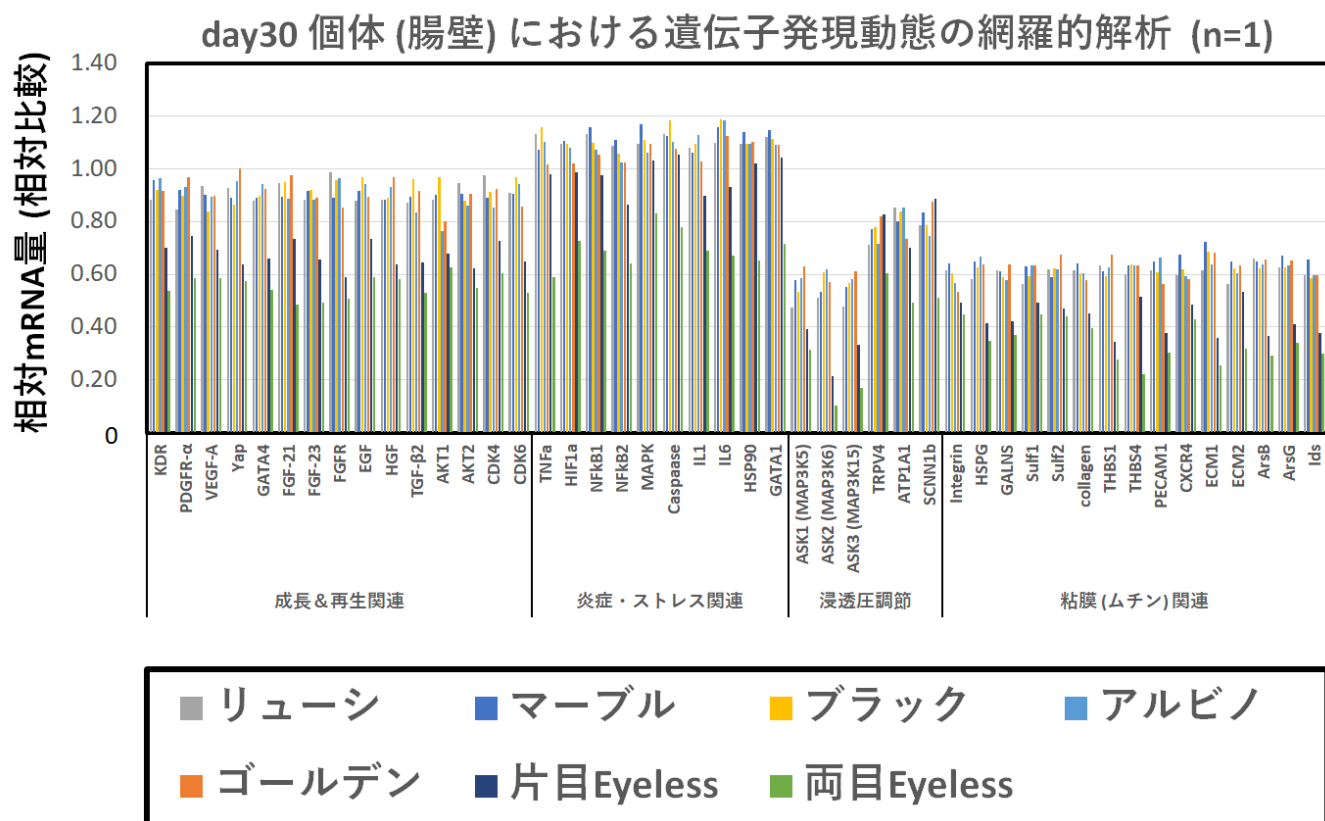


図 13-1: アホロートルにおける成長および炎症・再生に関連する遺伝子群の発現動態 1
(18~20℃, DD, 9:00 AM)

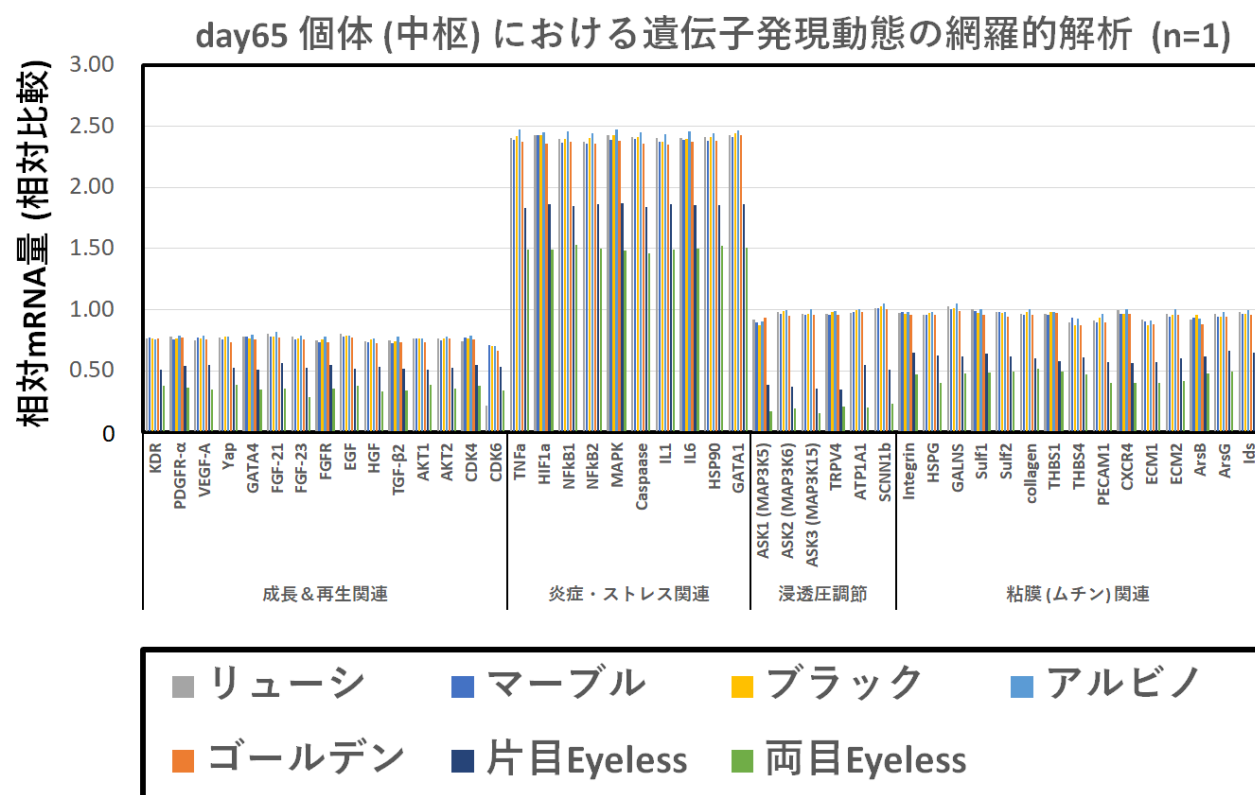
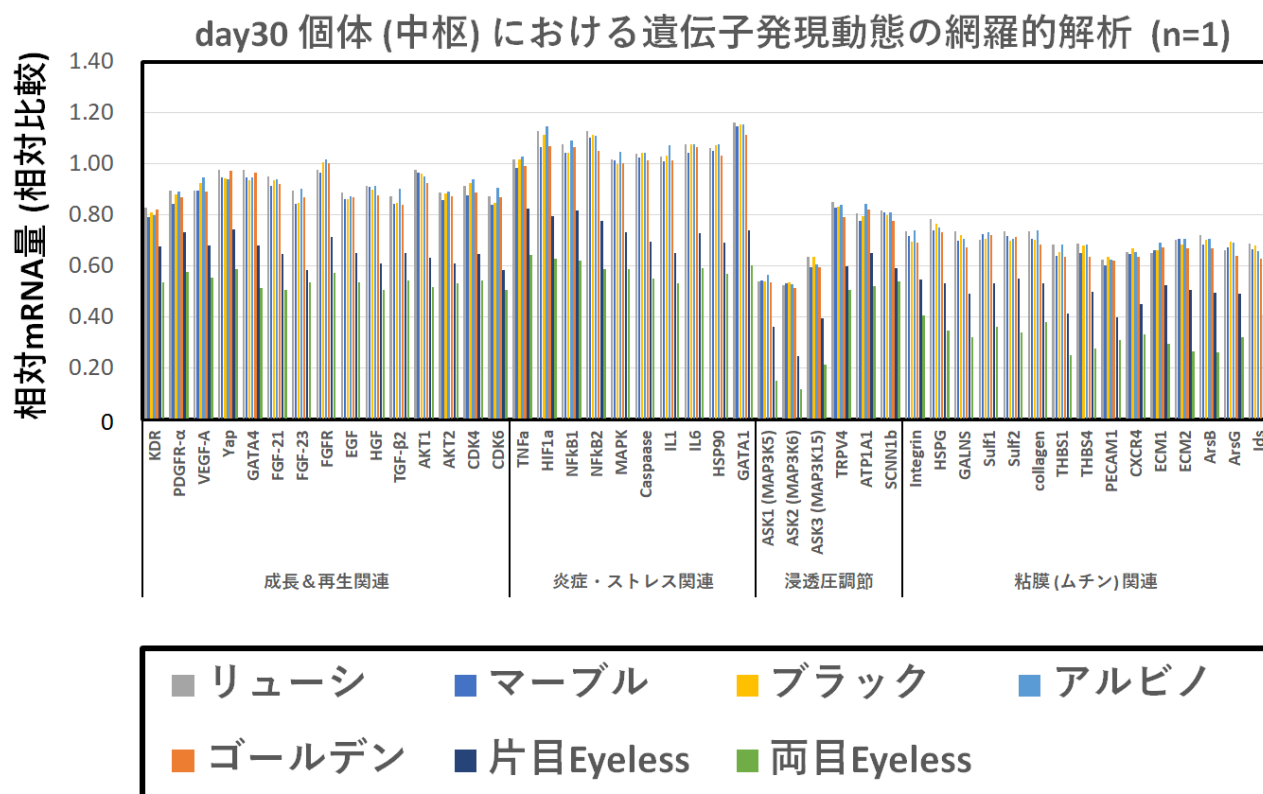


図 13-2: アホロートルにおける成長および炎症・再生に関連する遺伝子群の発現動態 2
(18~20℃, DD, 9:00 AM)

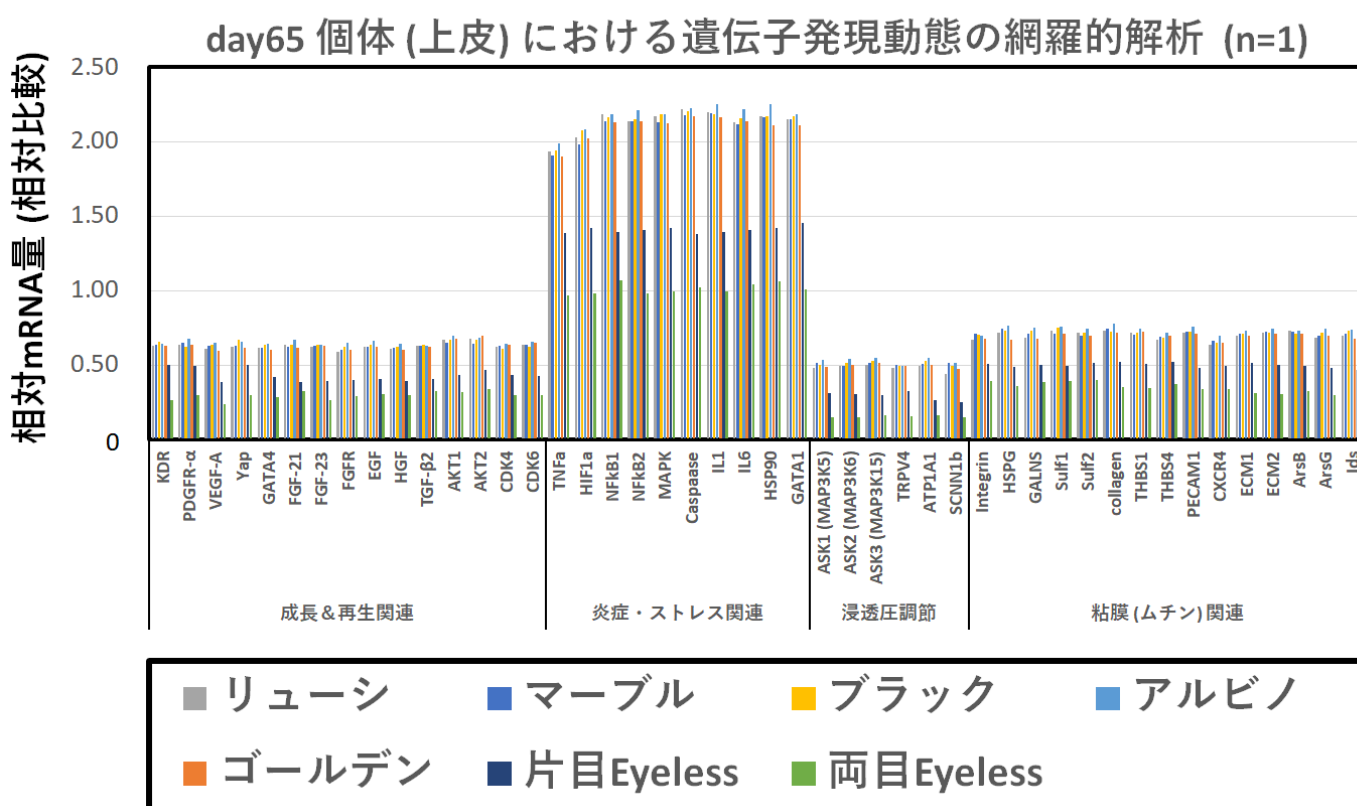
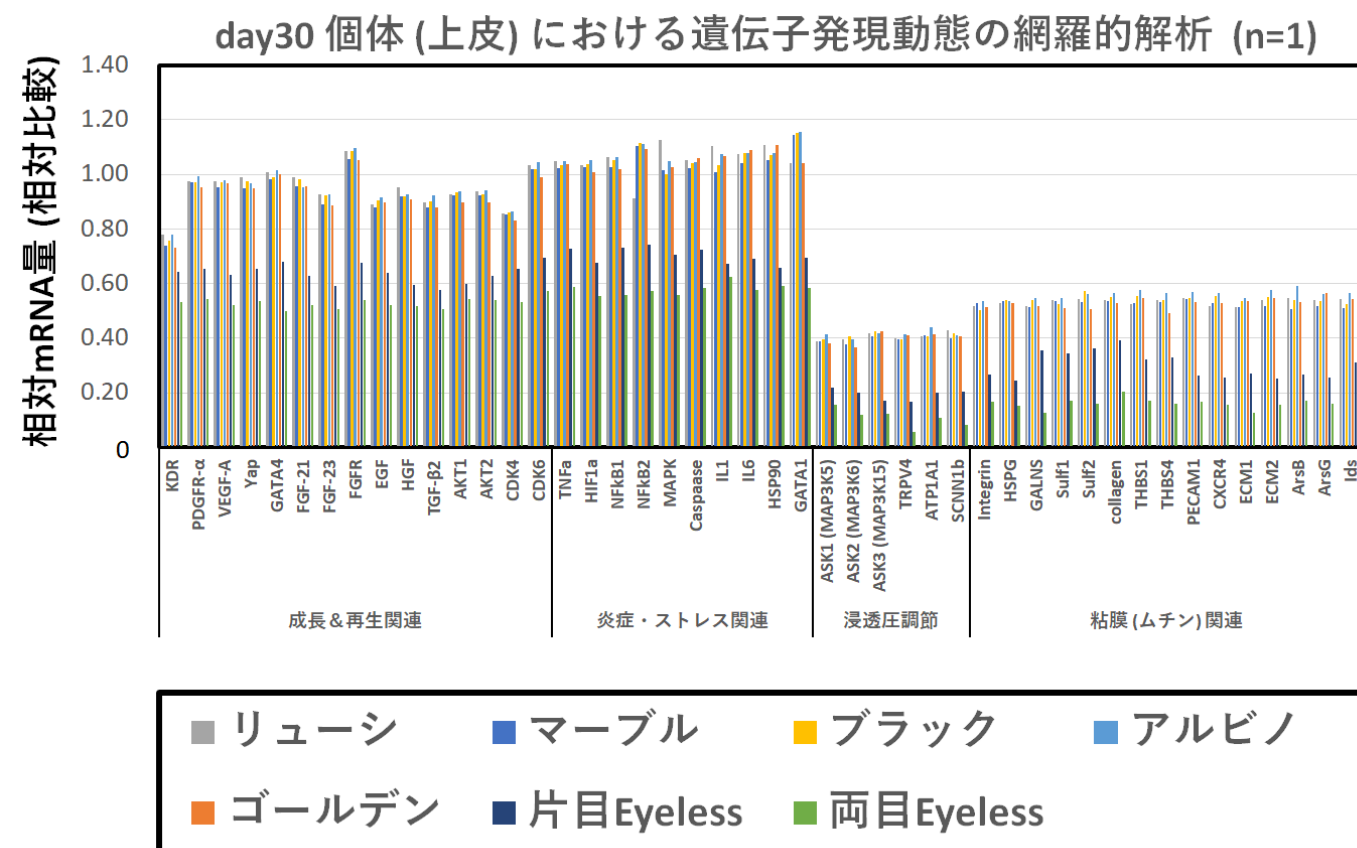
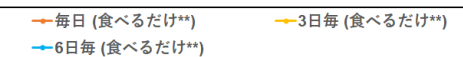
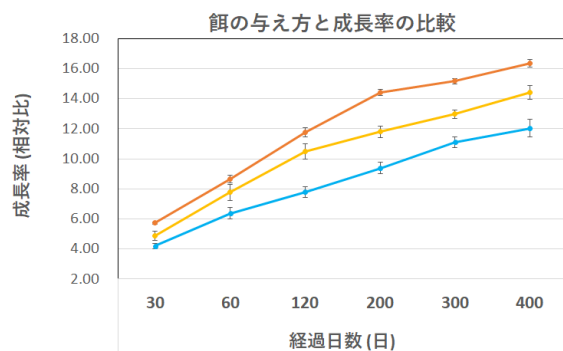
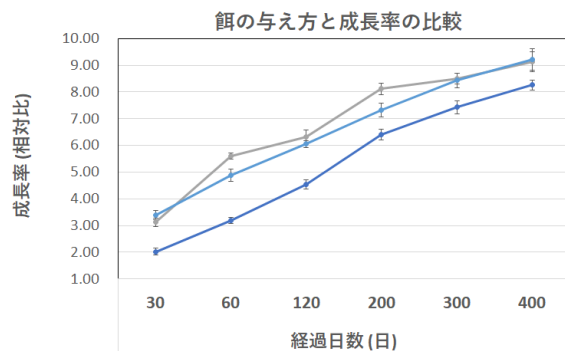
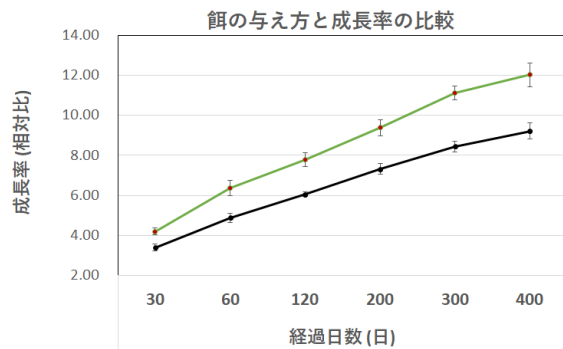
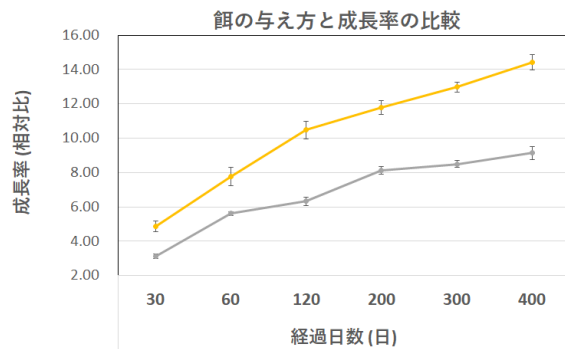
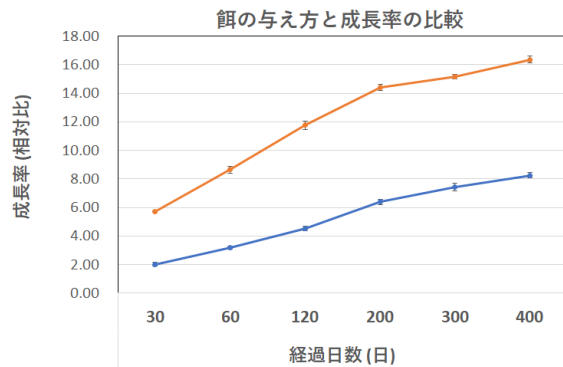
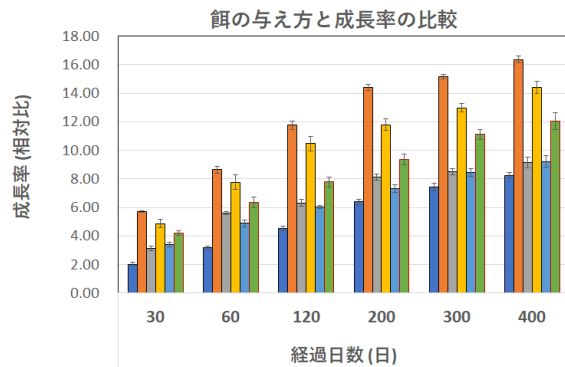


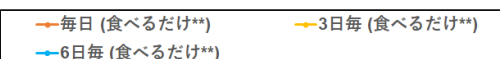
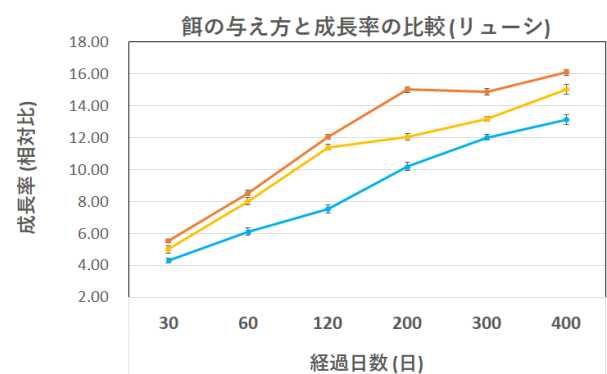
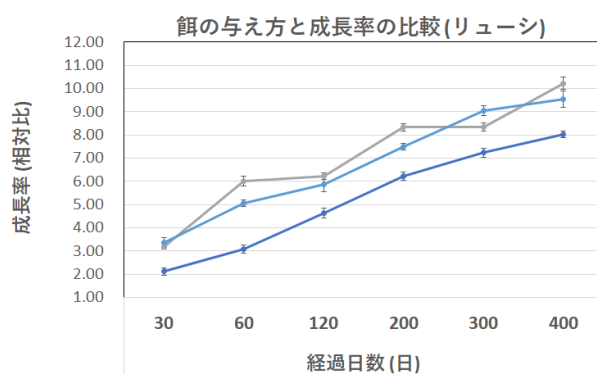
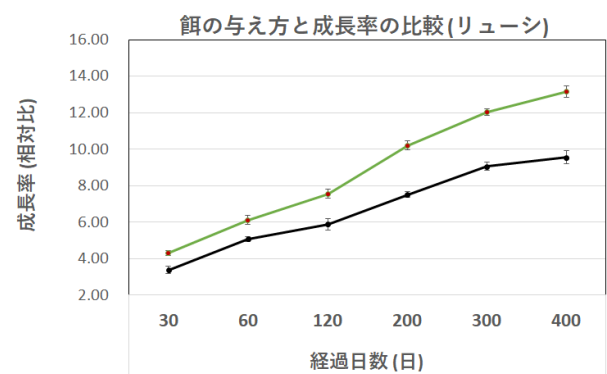
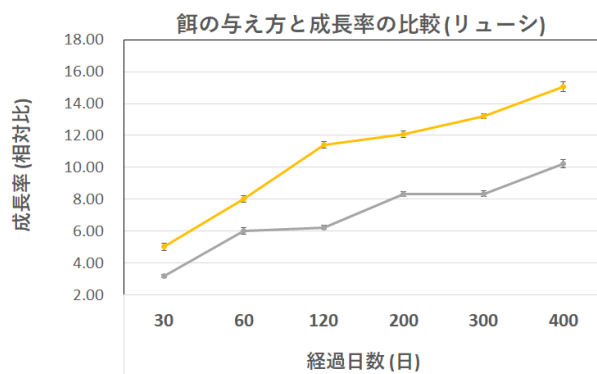
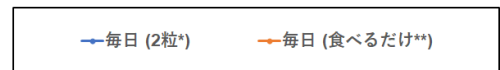
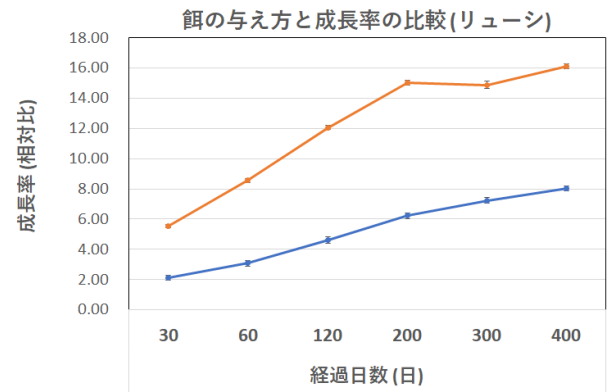
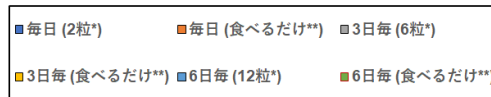
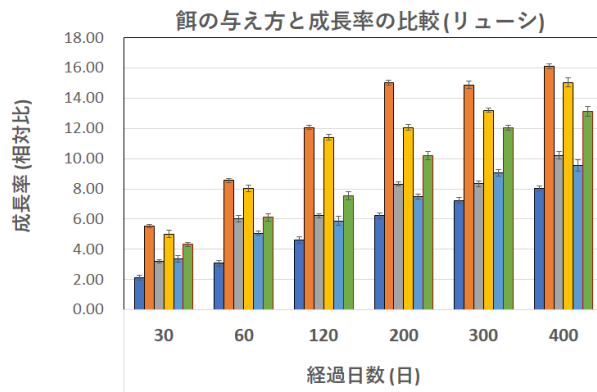
図 13-3: アホロートルにおける成長および炎症・再生に関連する遺伝子群の発現動態 3
(18~20℃, DD, 9:00 AM)

リューシ、マーブル、ブラック、アルビノ、ゴールデン
の混合



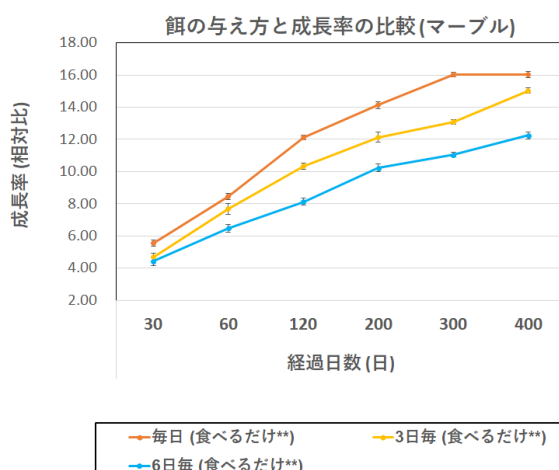
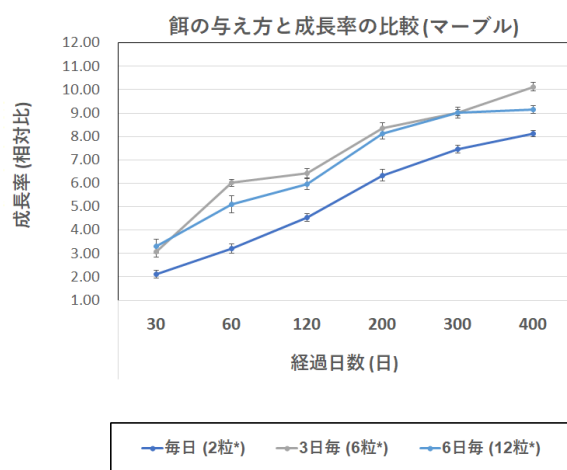
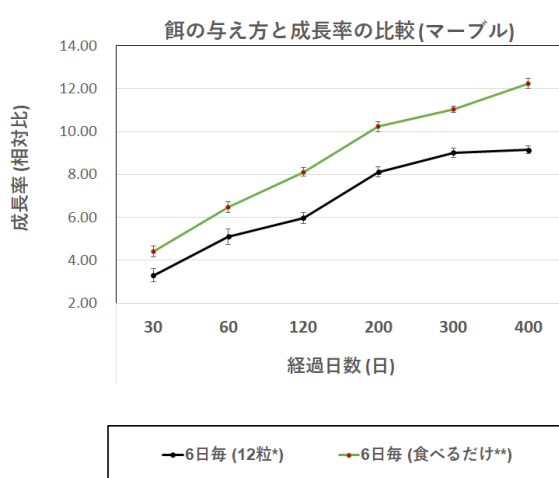
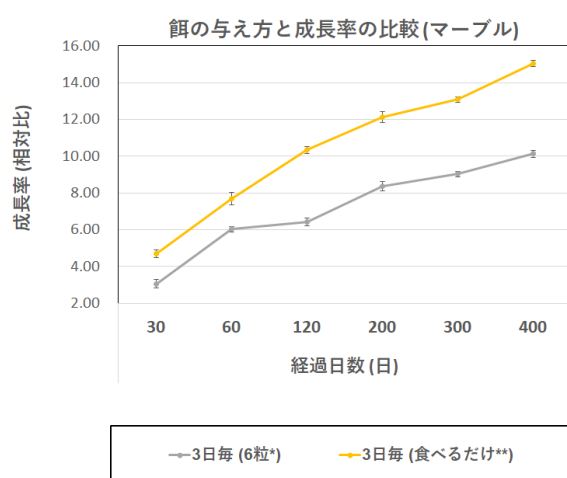
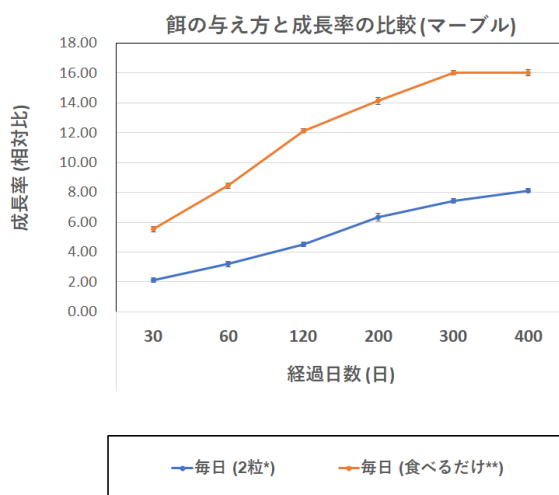
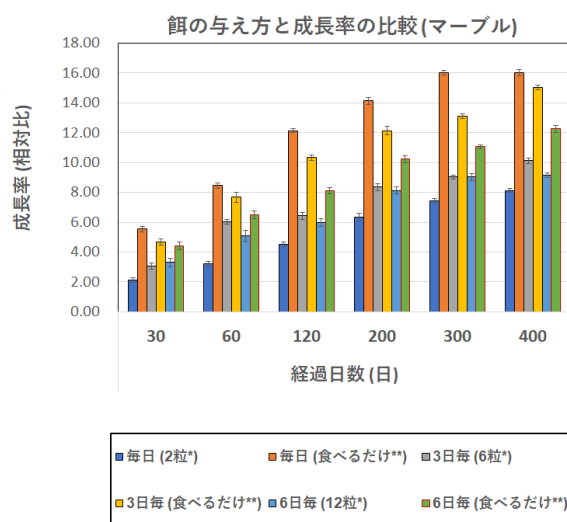
** 30～60 日; 6～30 粒程度
120～200 日; 30～40 粒程度
300～400 日; 35～50 粒程度

図 14-1: アホロートルの系統毎における餌の与え方と成長率の比較 (混合, 18～20℃)



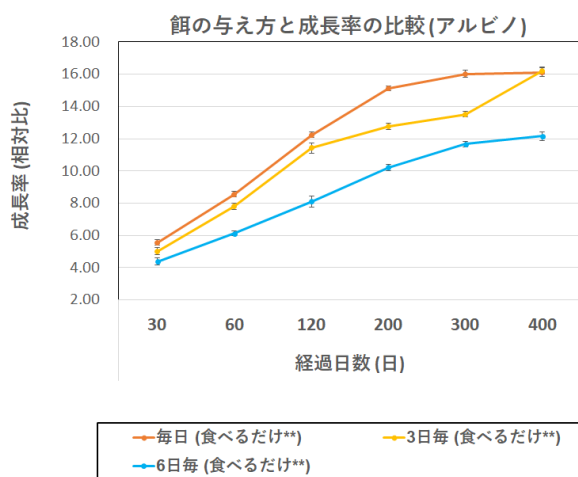
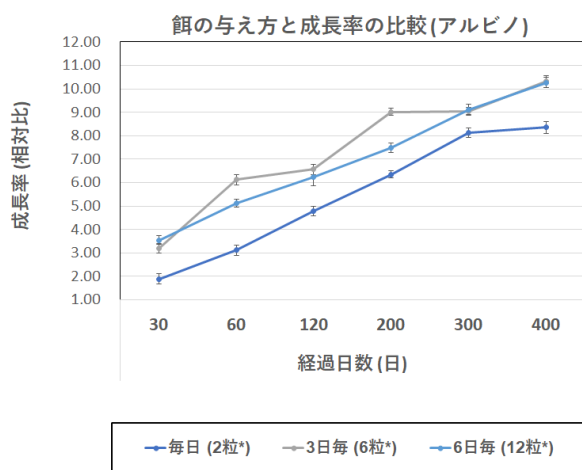
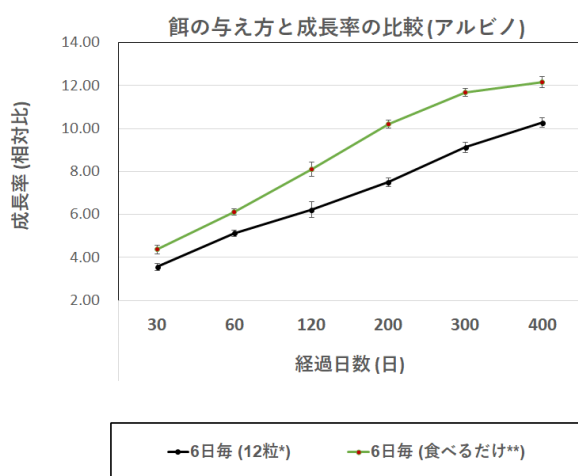
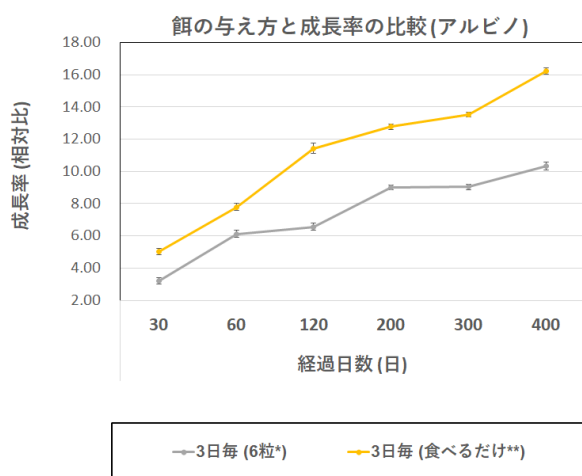
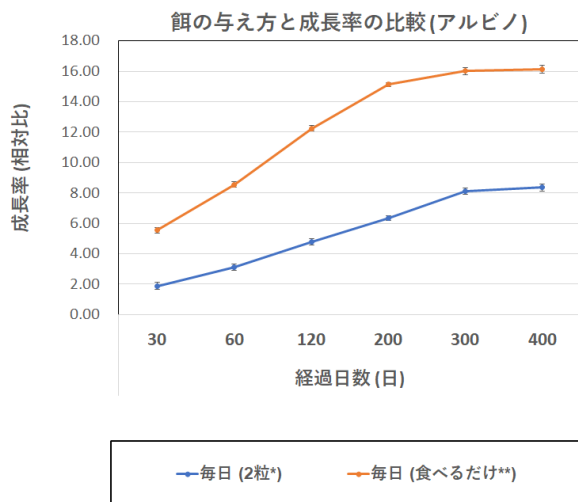
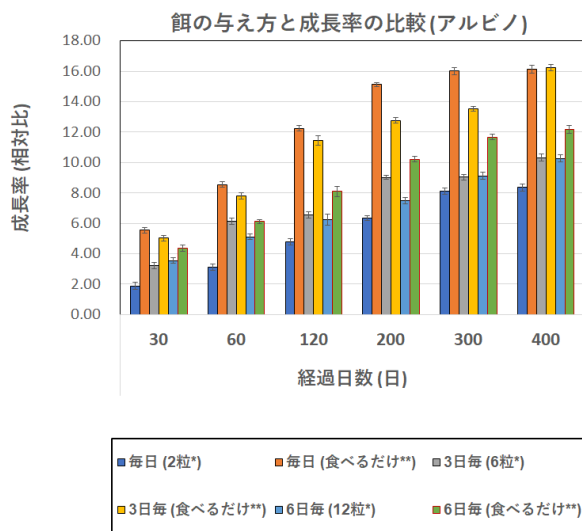
** 30～60 日; 6～30 粒程度
 120～200 日; 30～40 粒程度
 300～400 日; 35～50 粒程度

図 14-2: アホロートルの系統毎における餌の与え方と成長率の比較 (リュージ, 18～20℃)



** 30～60 日; 6～30 粒程度
120～200 日; 30～40 粒程度
300～400 日; 35～50 粒程度

図 14-3: アホロートルの系統毎における餌の与え方と成長率の比較 (マール, 18～20℃)



** 30～60 日; 6～30 粒程度
120～200 日; 30～40 粒程度
300～400 日; 35～50 粒程度

図 14-4: アホロートルの系統毎における餌の与え方と成長率の比較 (アルビノ, 18～20℃)

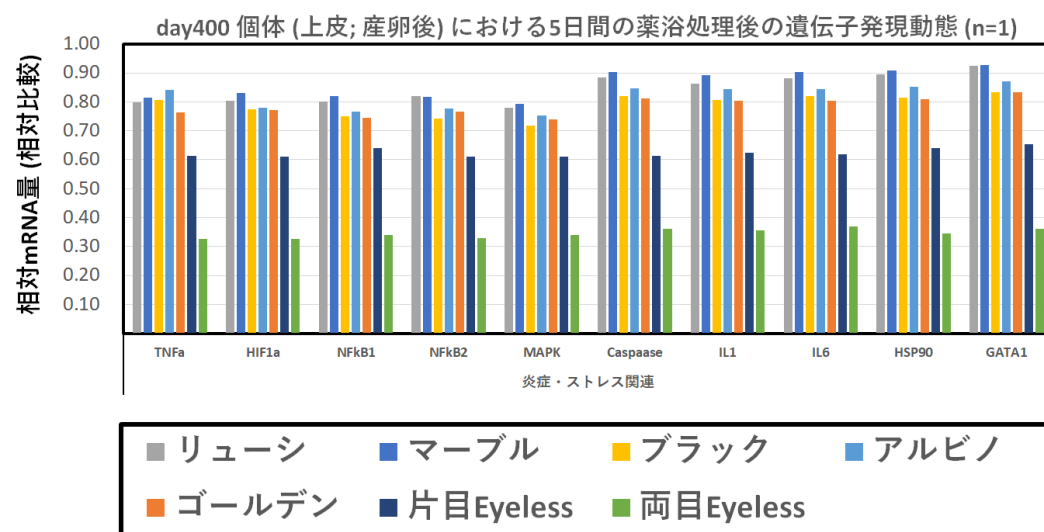
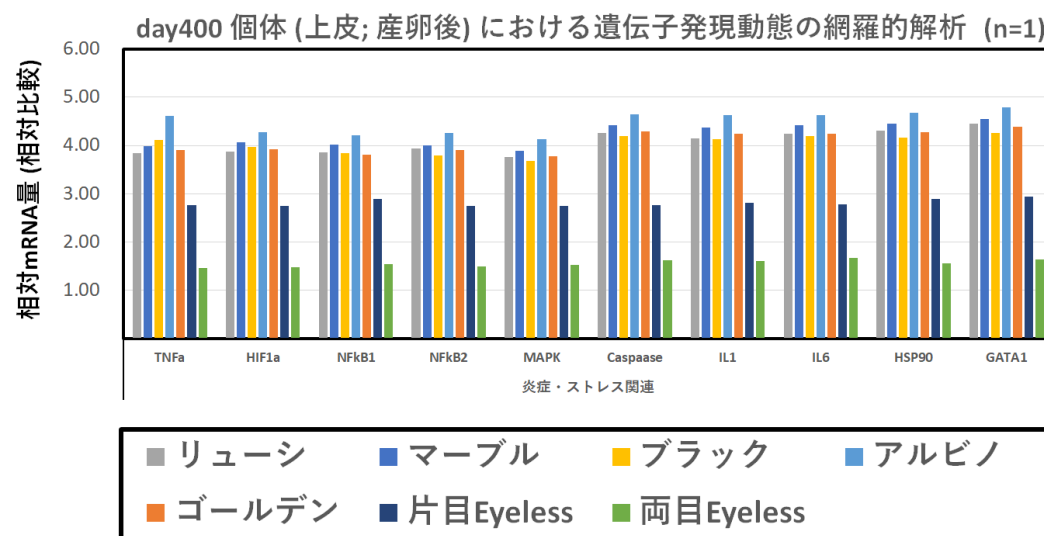
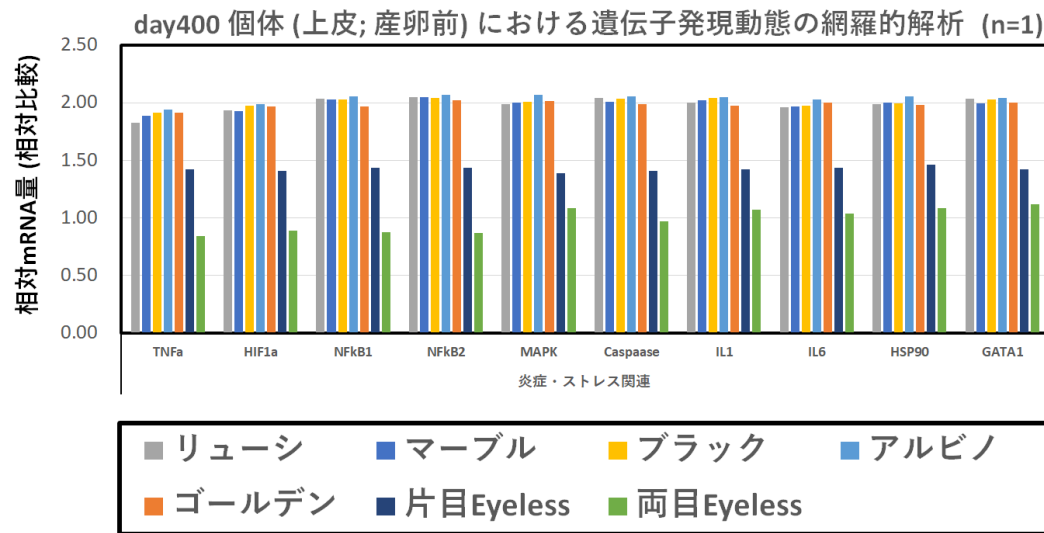


図 15-1: 産卵前後のアホロートルにおける免疫応答の変化 1
(産後の肥立ち, 18~20℃, DD, 9:00 AM)

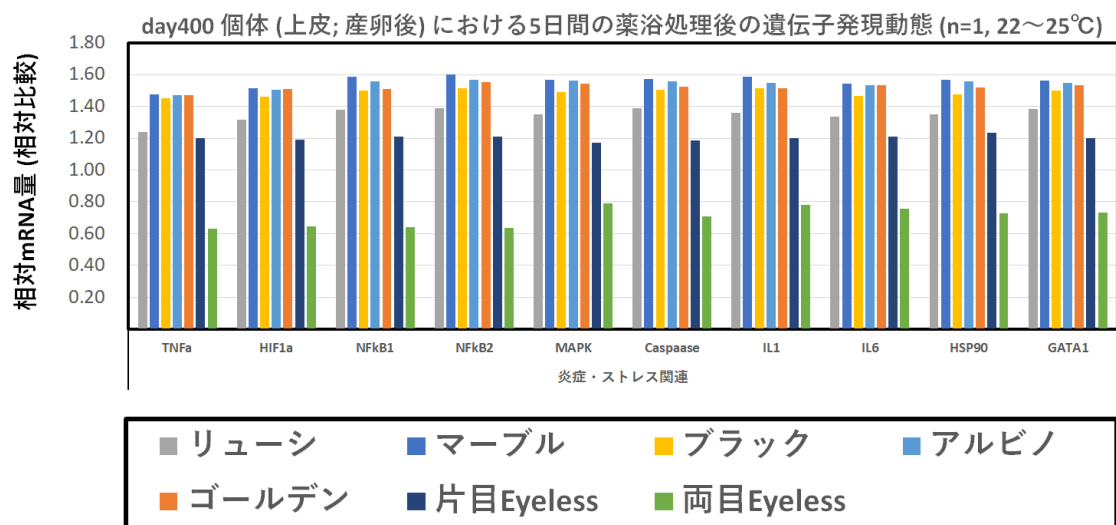
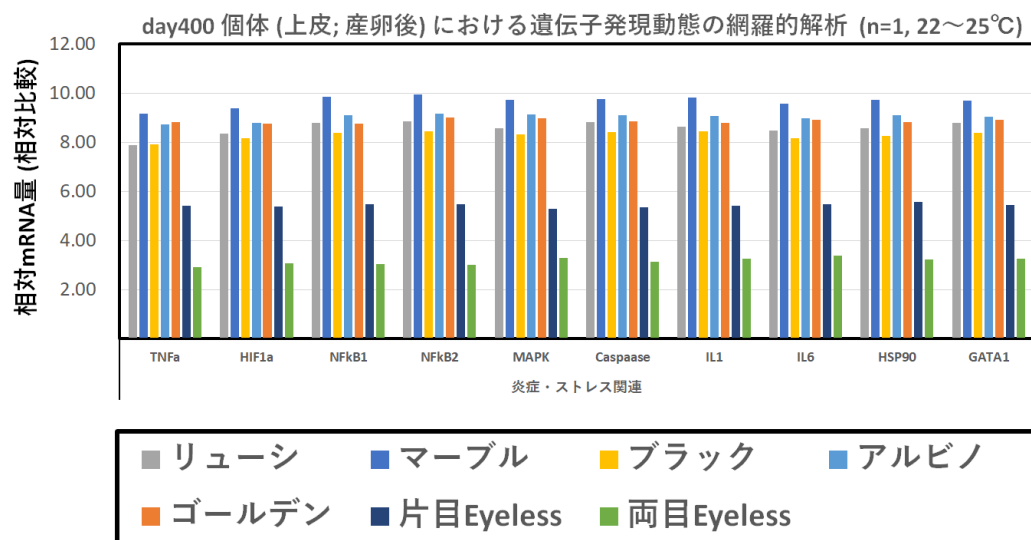
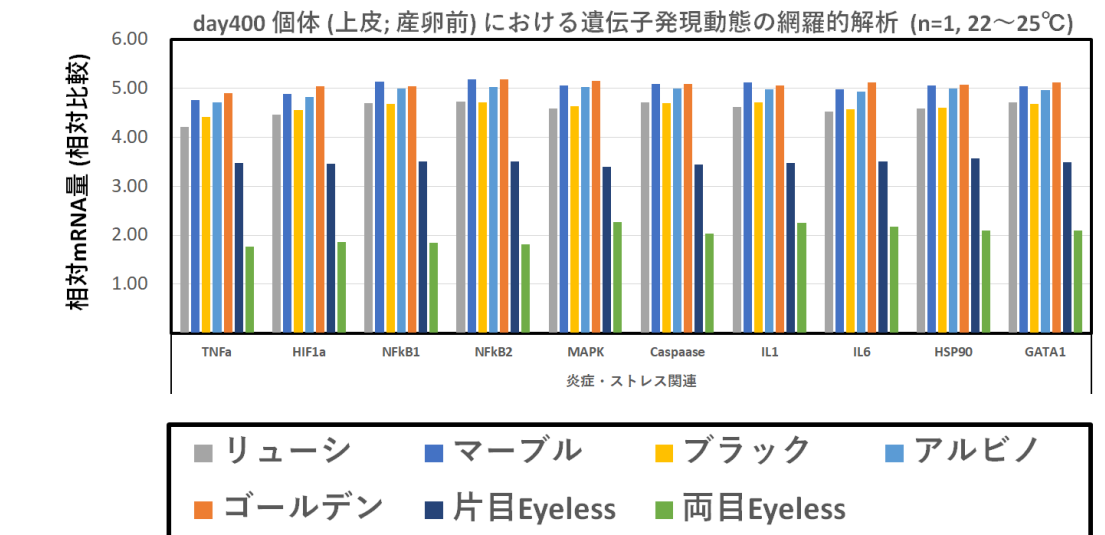


図 15-2: 産卵前後のアホロートルにおける免疫応答の変化 2
(産後の肥立ち, 22~25℃, DD, 9:00 AM)

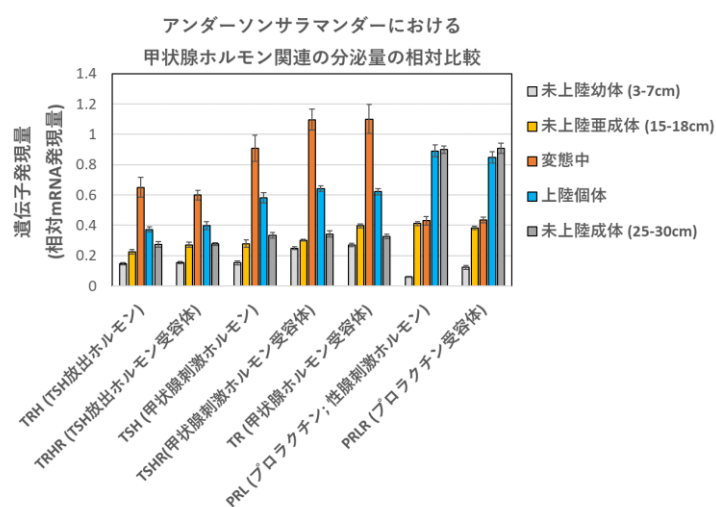
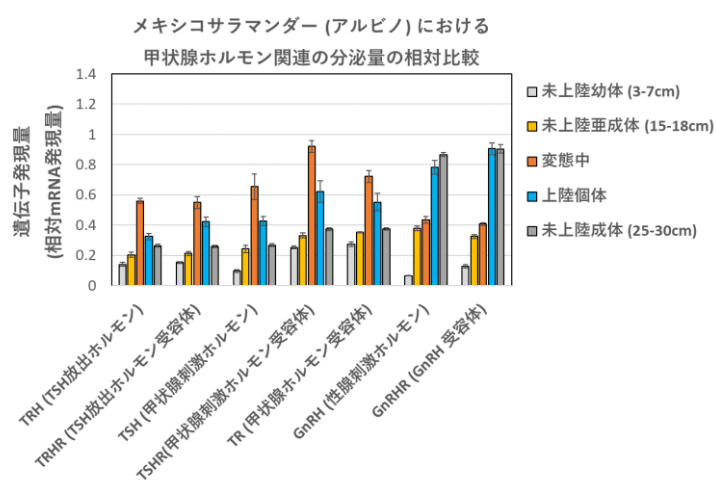
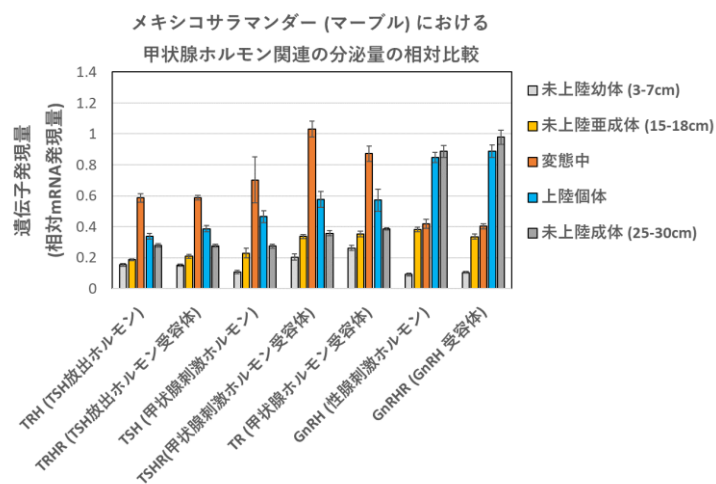
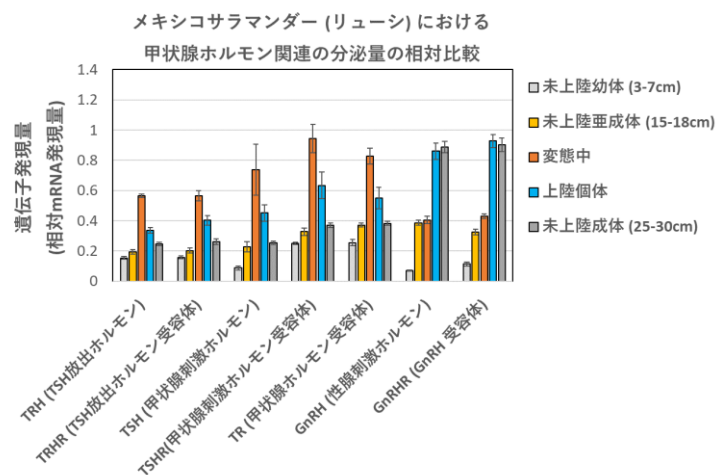


図 16-1: 上陸化に伴った体内ホルモンの分泌機序 (N=5, 18~20℃)

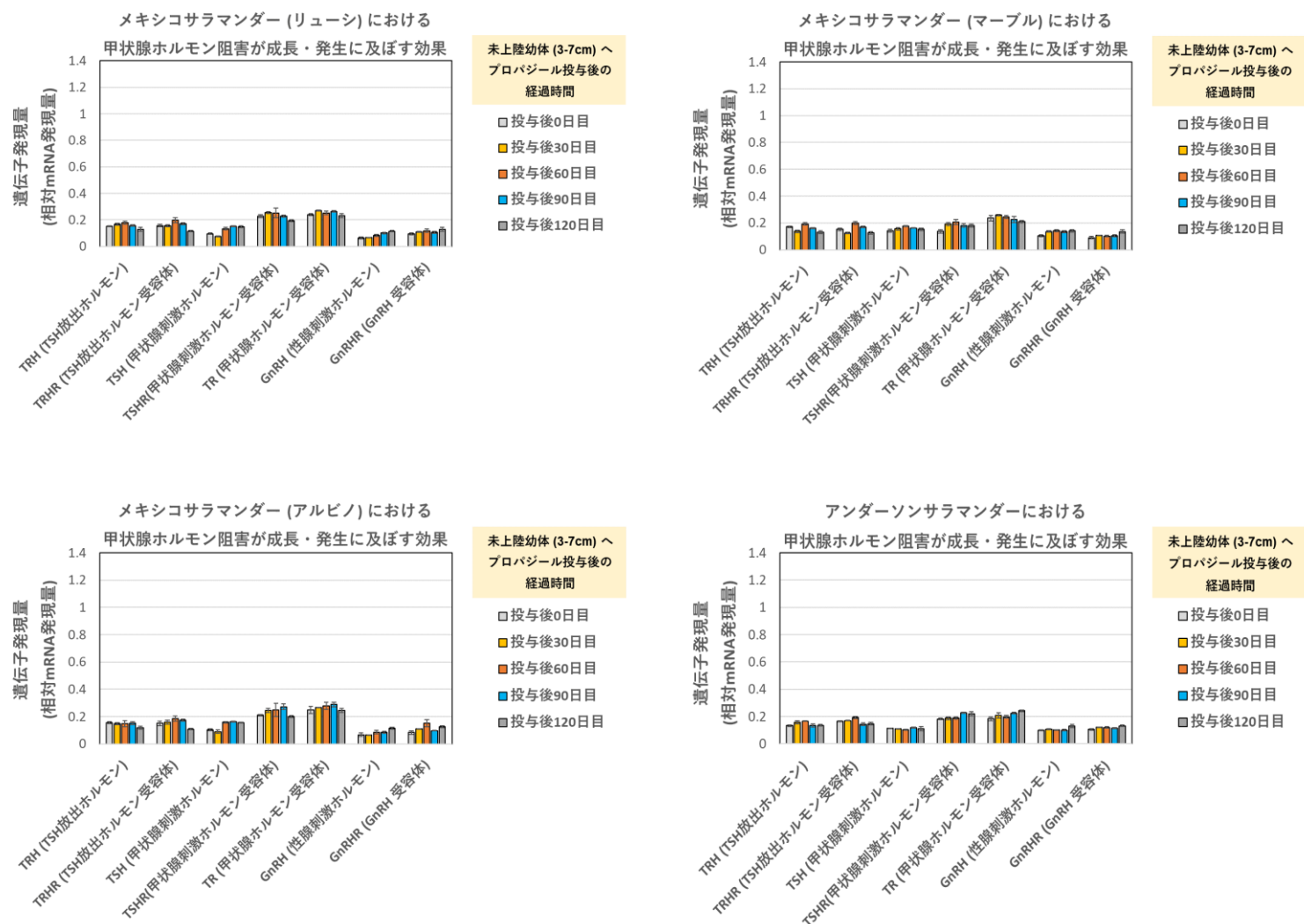


図 16-2: 上陸化に伴った体内ホルモンの分泌機序 (N=5, 18~20℃)

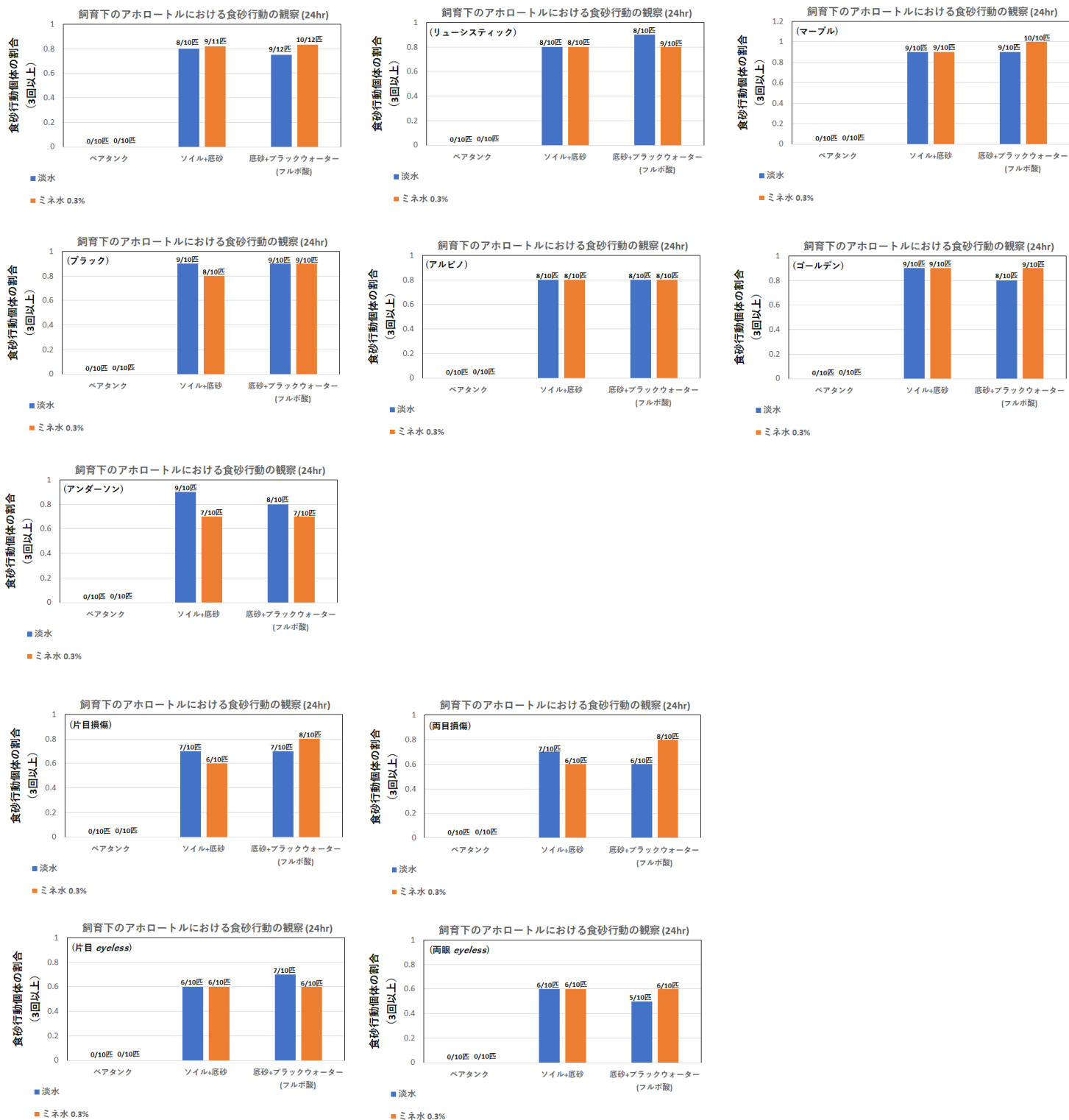
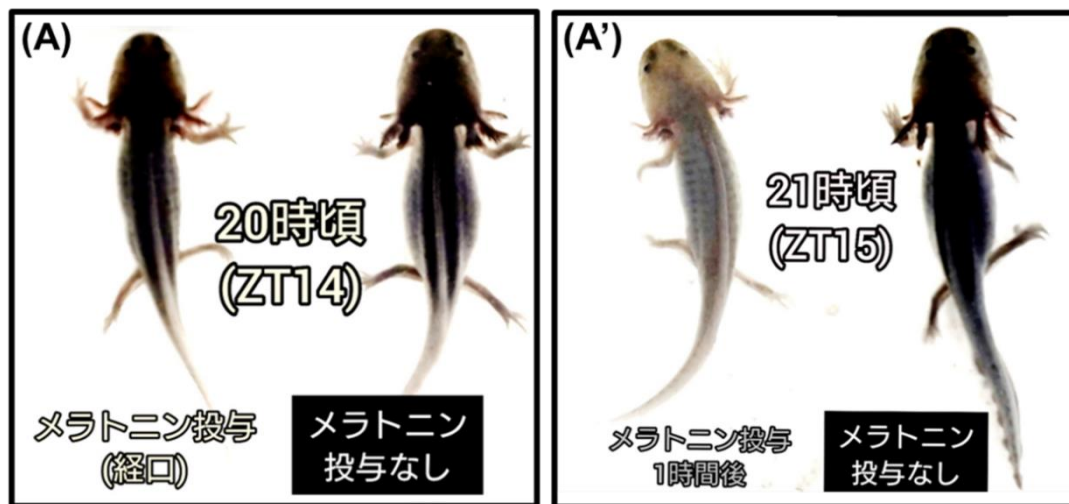


図 17: 各アホロートルの系統毎における食砂行動の比較 (N=5, 18~20℃)



* 2-3mg 程度を経口摂取させた.
 摂取量の参照 <http://www.myojin-kan.jp/meratonin/>

(B)

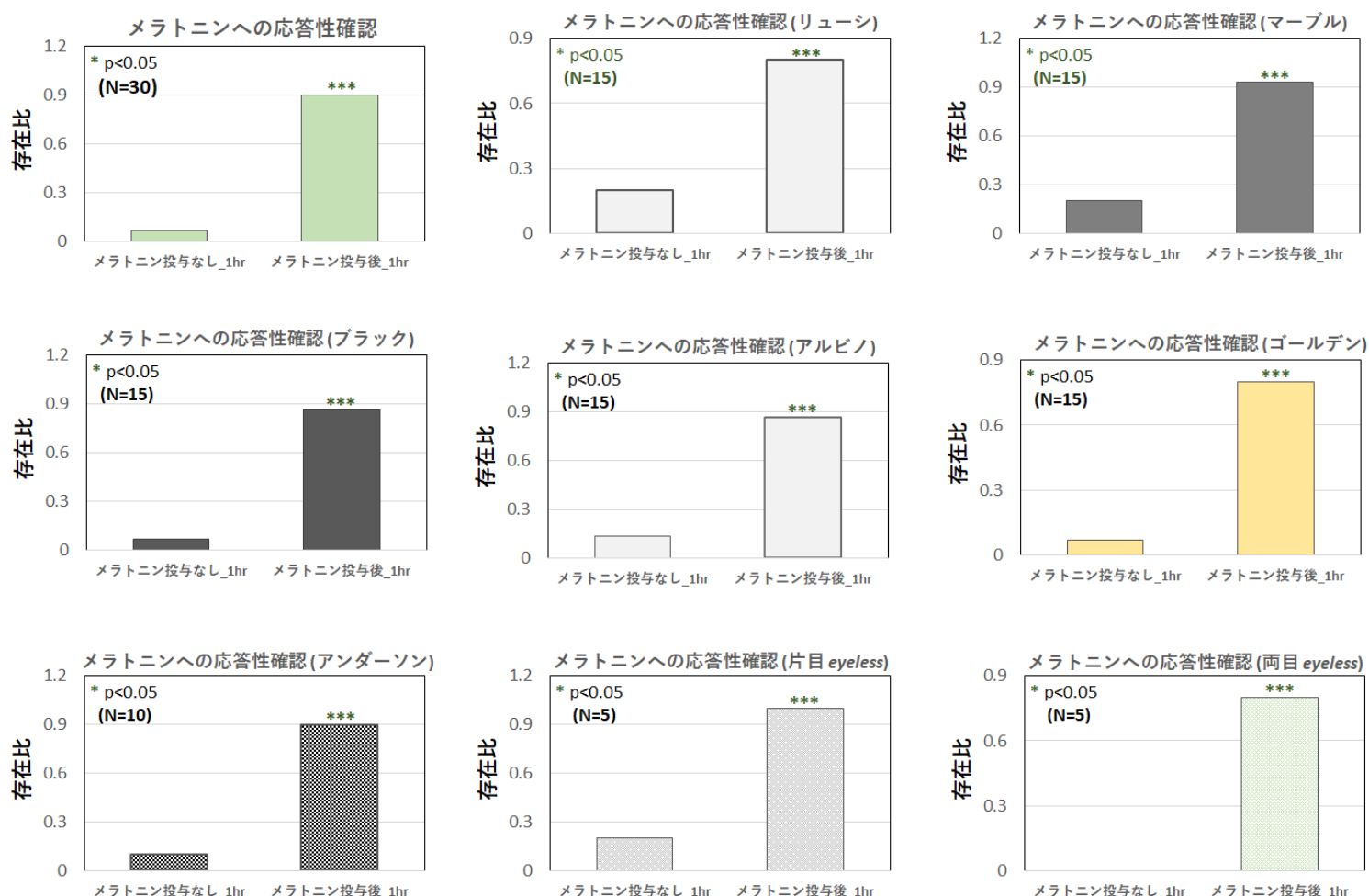
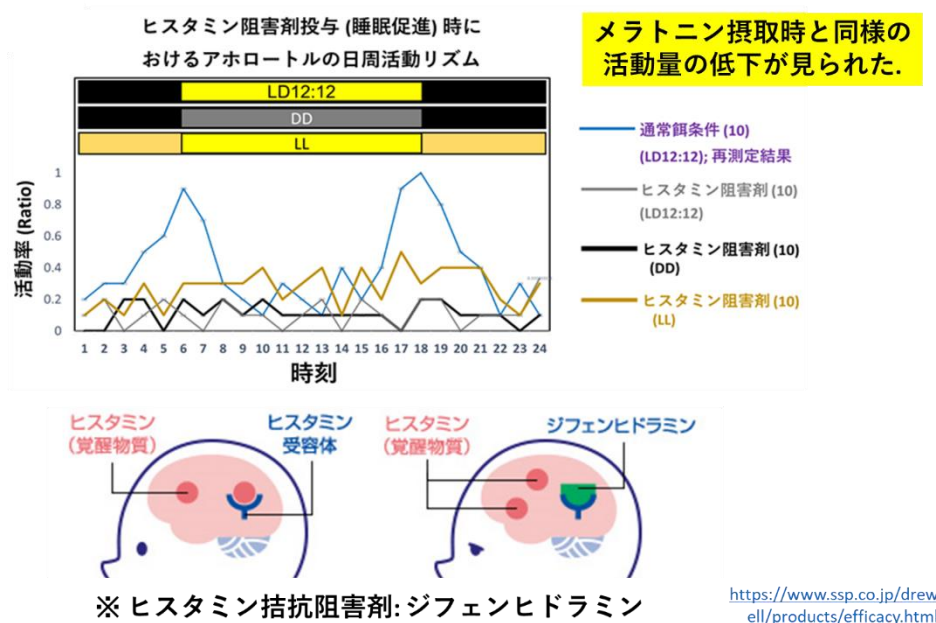


図 18-1: 各アホートルの系統毎におけるメラトニンへの応答性の比較

(18~20°C, 運動性成果での評価)

(A)



(B)

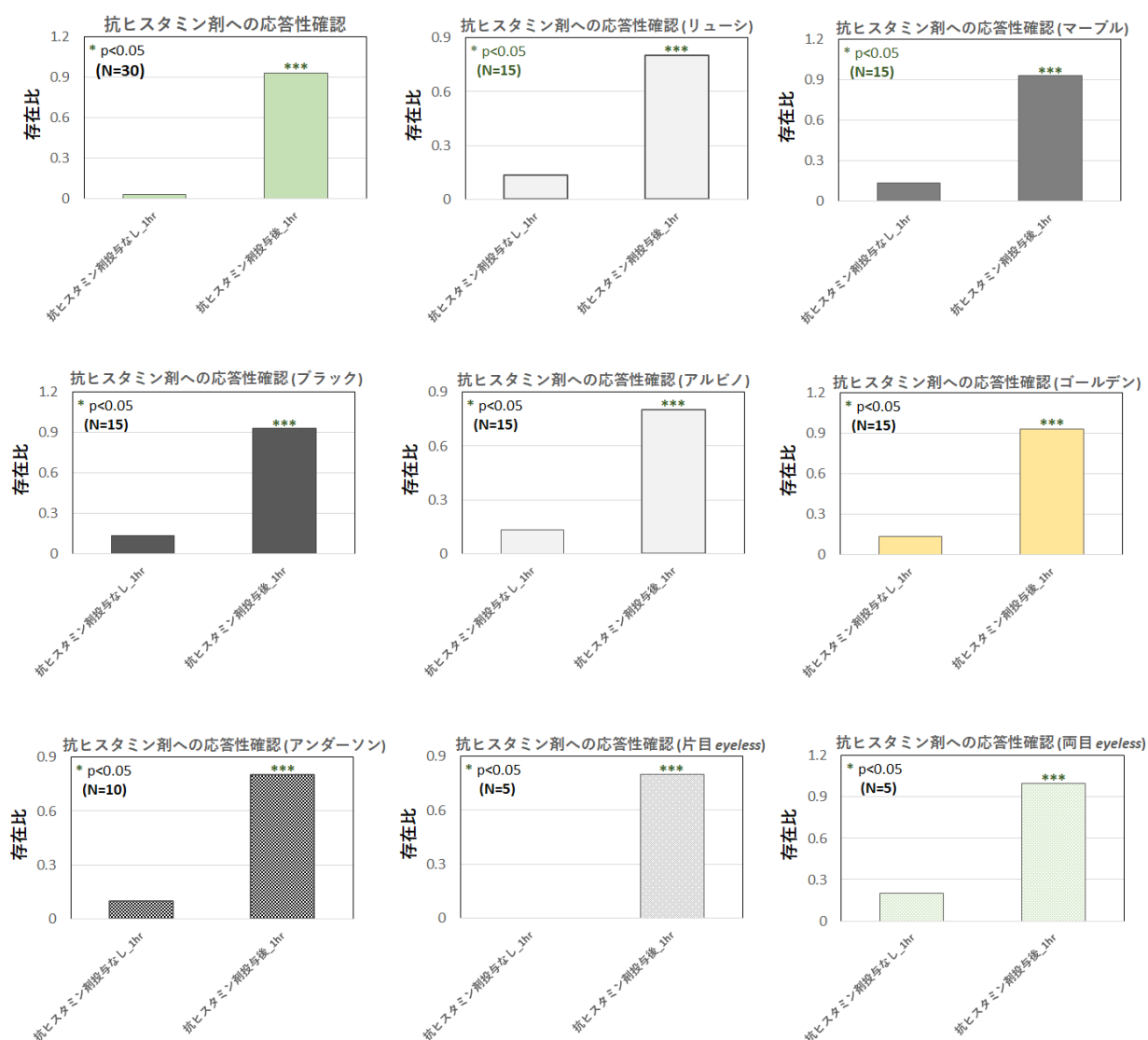
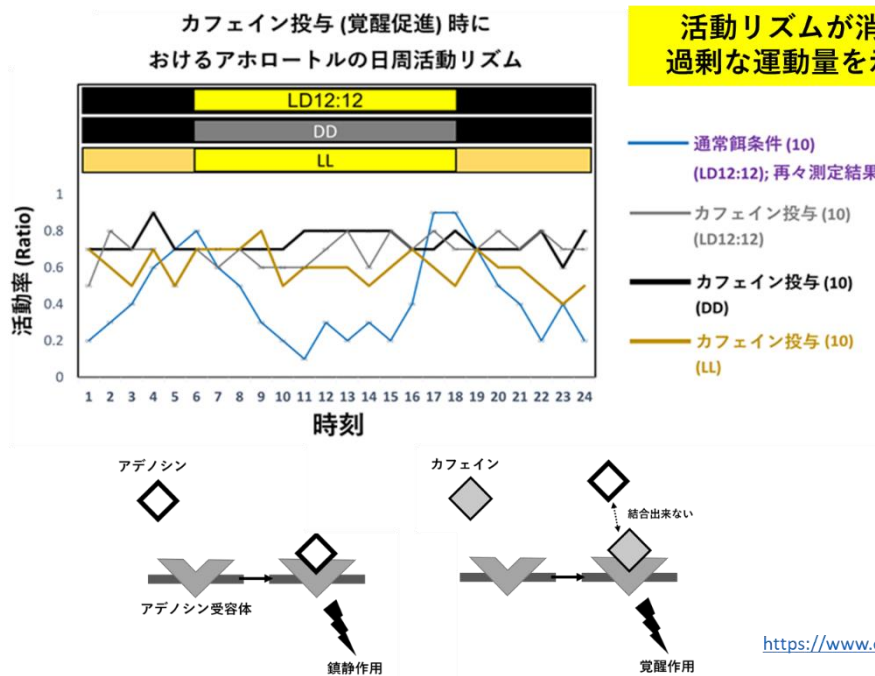


図 18-2: 各アホロートルの系統毎における抗ヒスタミン薬への応答性の比較
(18~20℃, 運動性成果での評価)

(A)



(B)

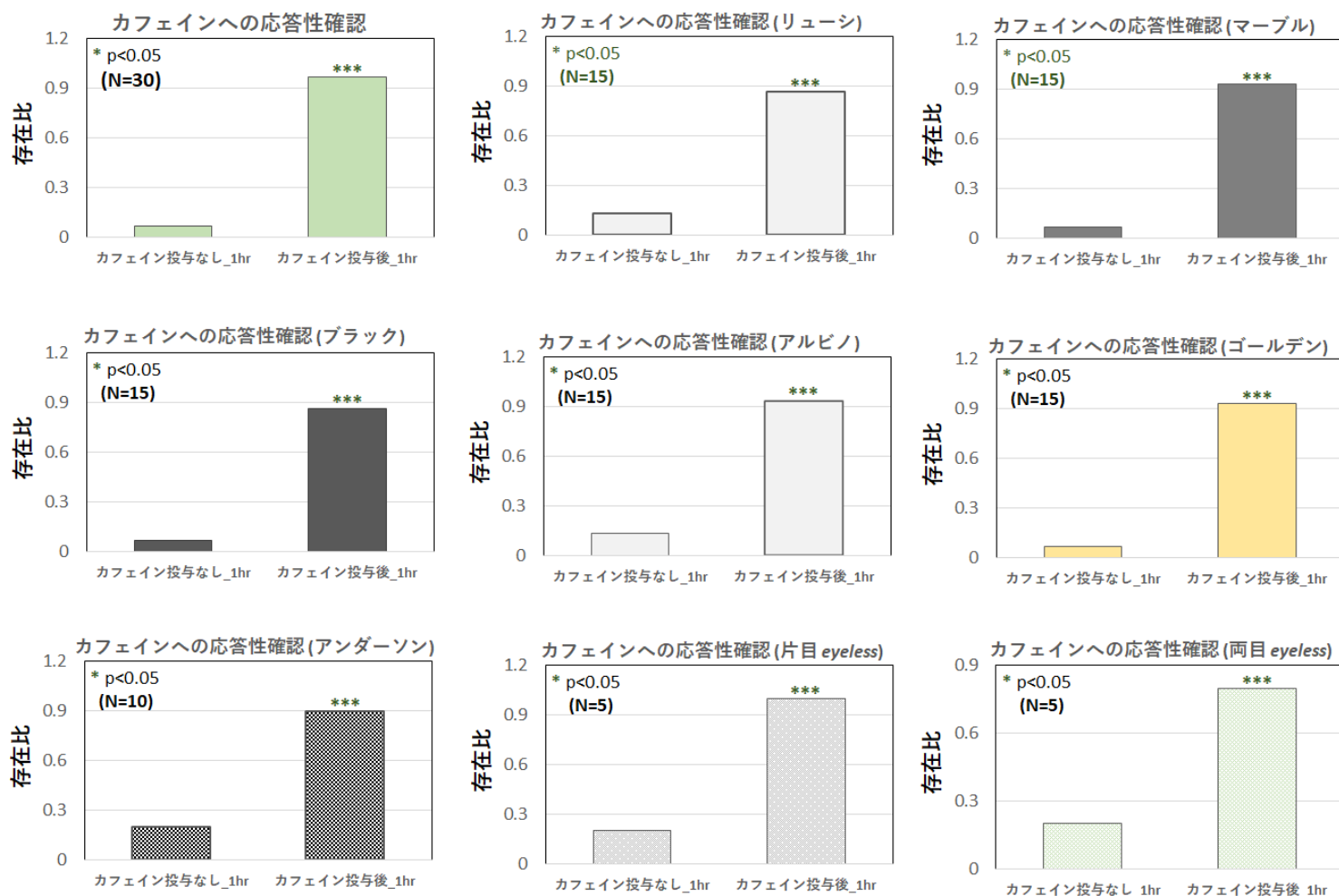


図 18-3: 各アホロートルの系統毎におけるカフェインへの応答性の比較

(18~20℃, 運動性成果での評価)

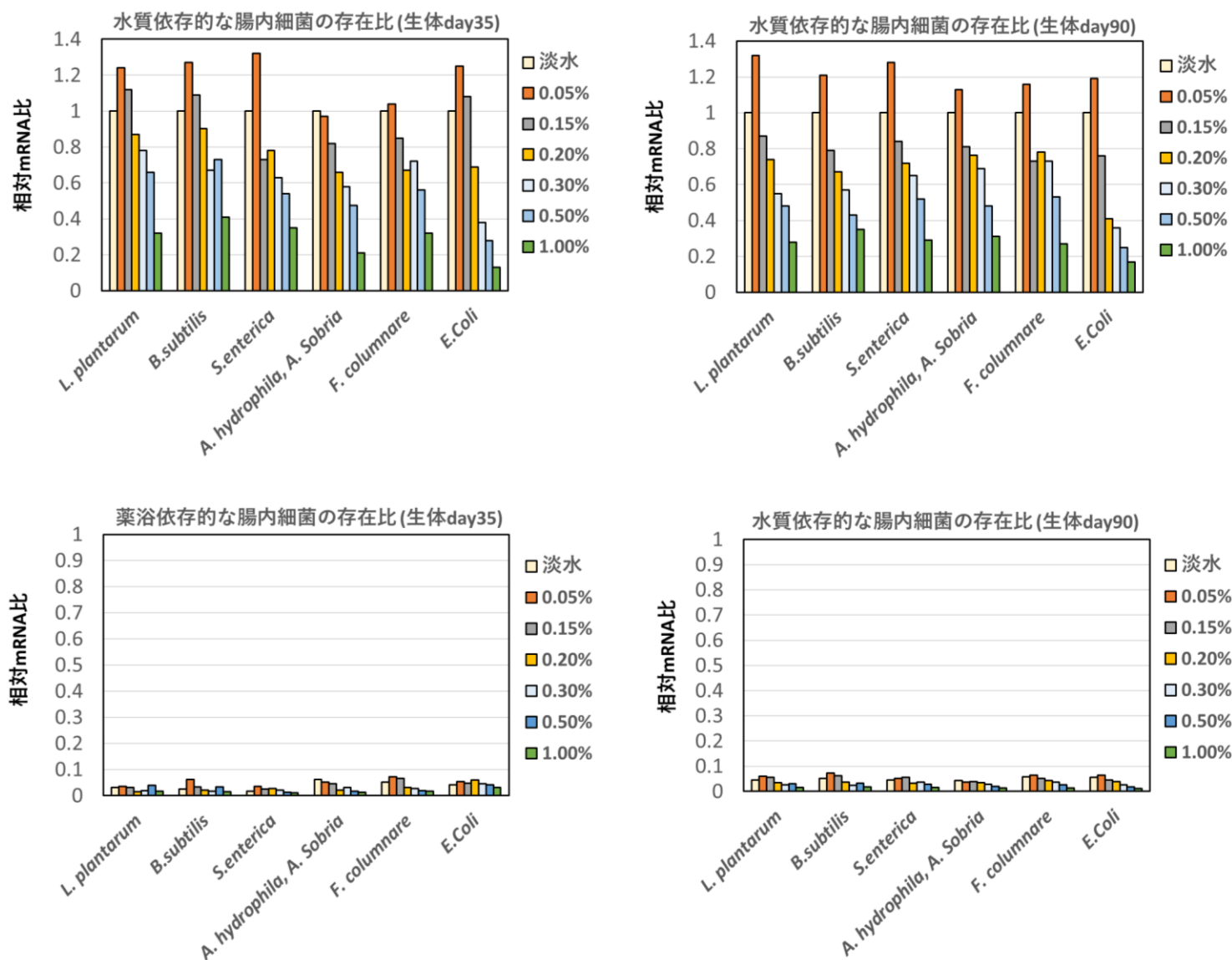


図 19-1: 各アホロートルの系統毎における腸内細菌含有量(率)の比較 1 (18~20℃)

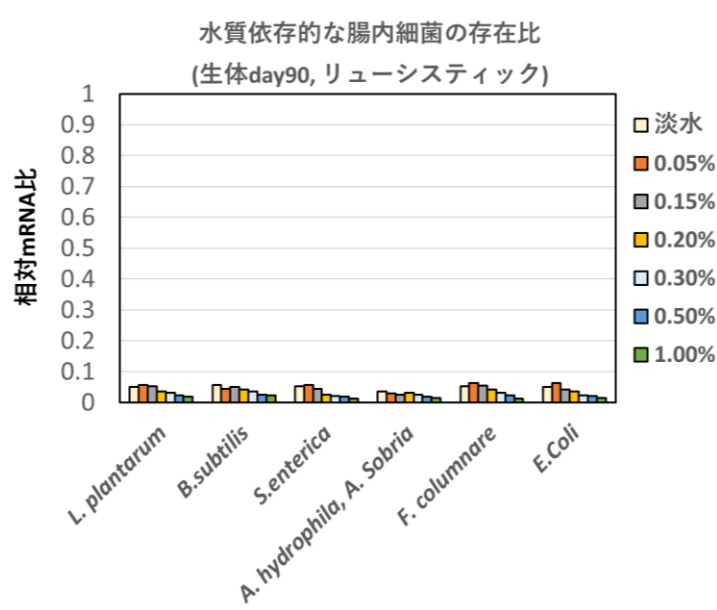
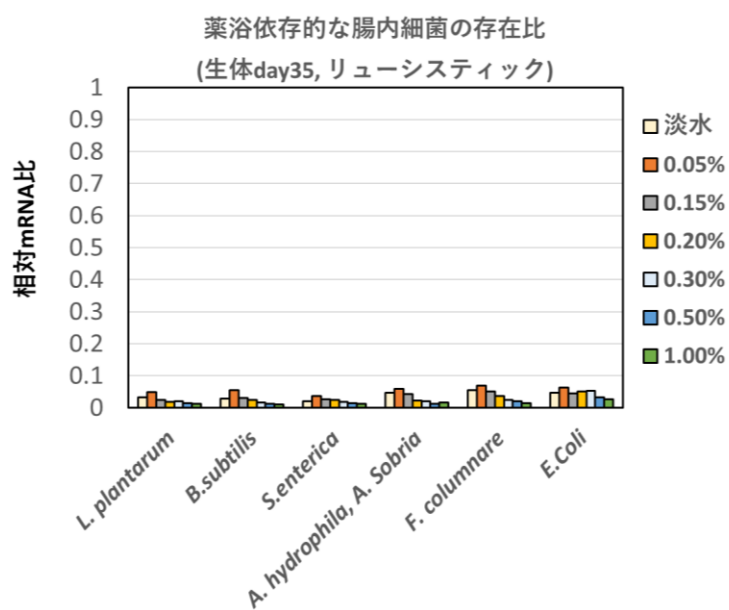
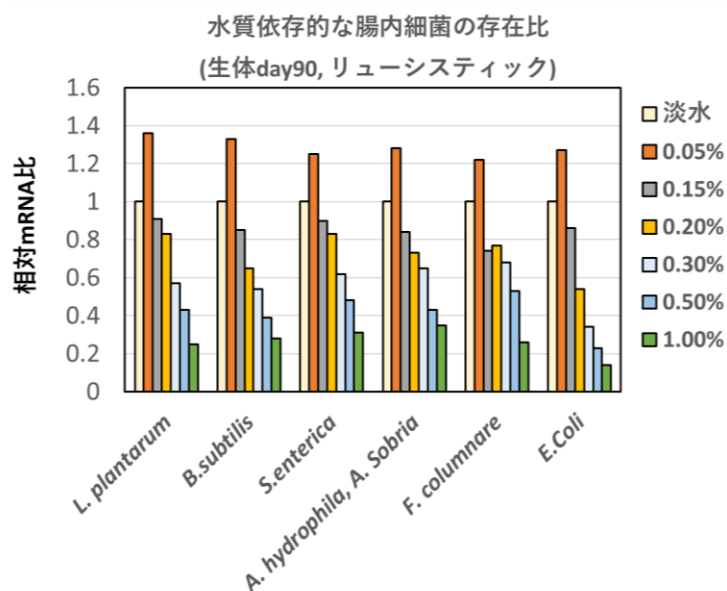
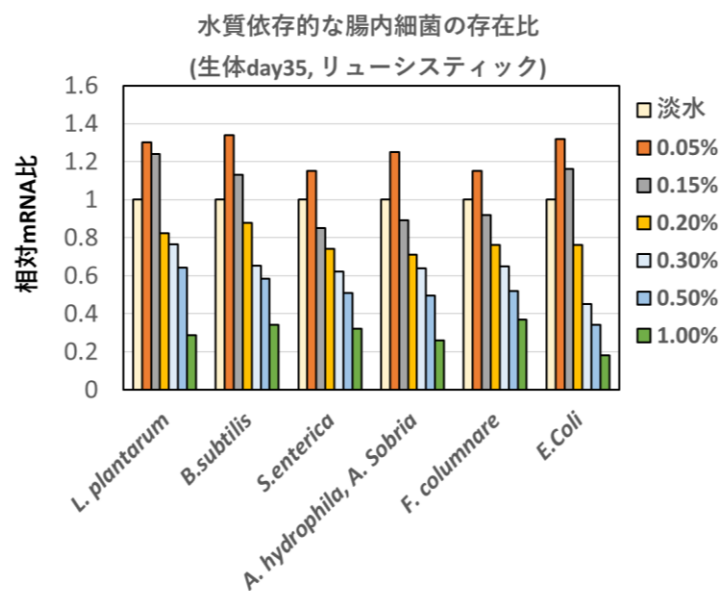


図 19-2: 各アホロートルの系統毎における腸内細菌含有量(率)の比較 2 (18~20℃)

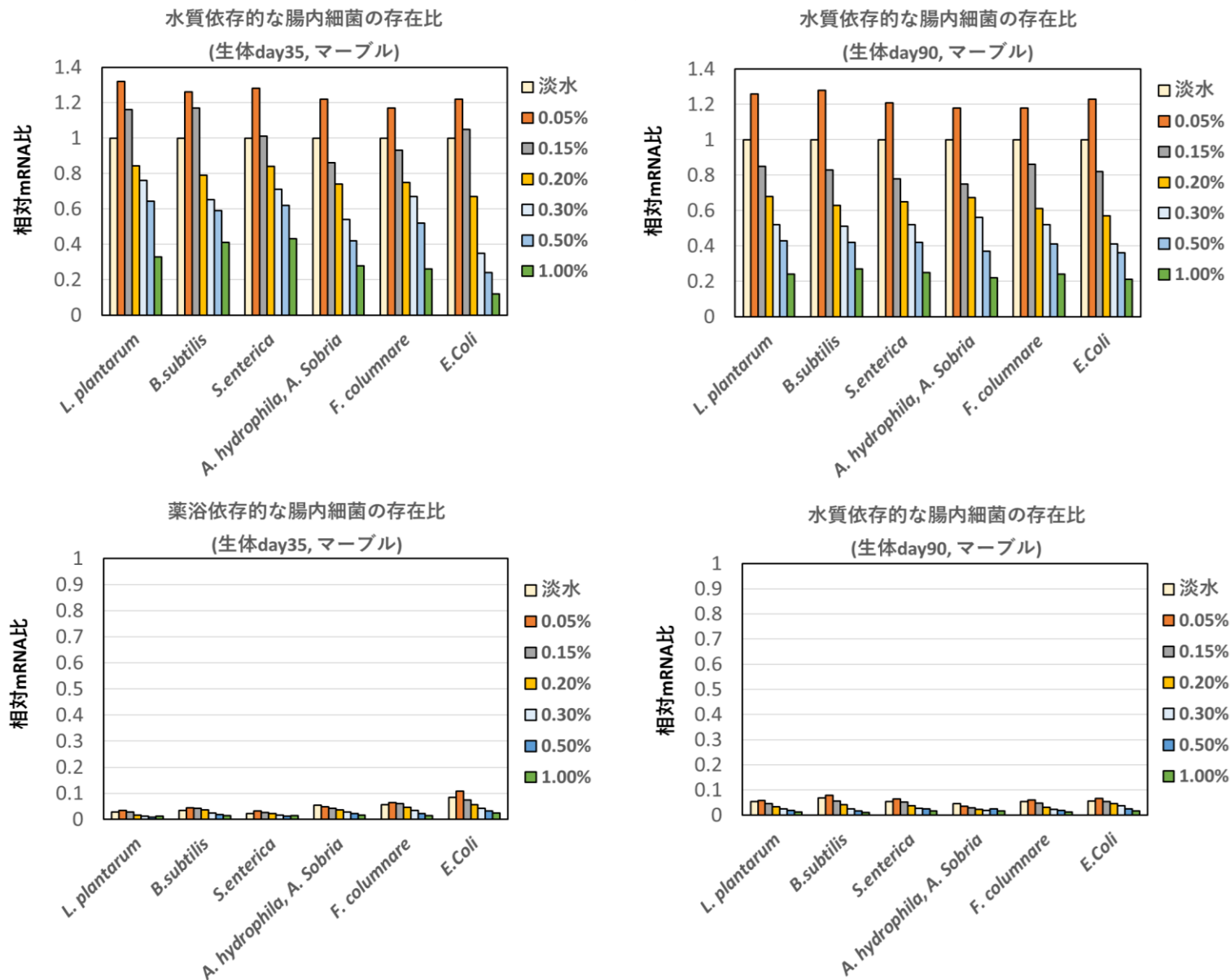
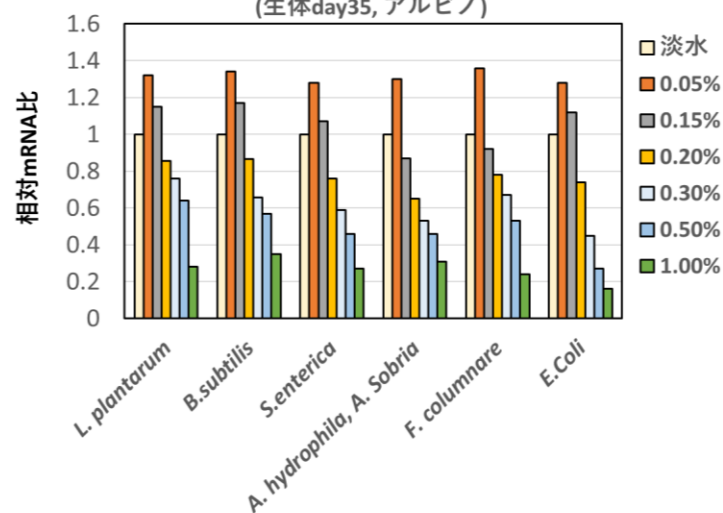
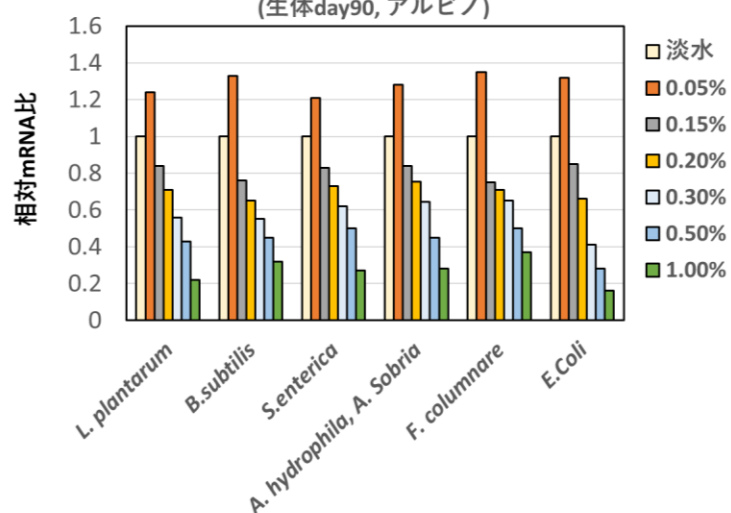


図 19-3: 各アホロートルの系統毎における腸内細菌含有量(率)の比較 3 (18~20℃)

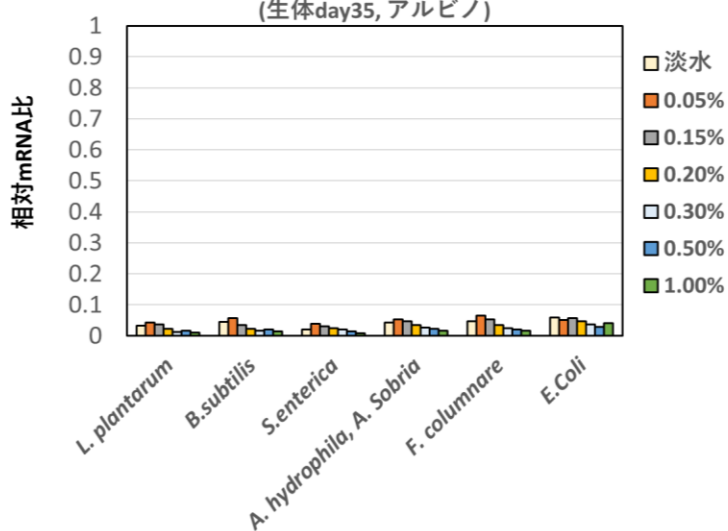
水質依存的な腸内細菌の存在比
(生体day35, アルビノ)



水質依存的な腸内細菌の存在比
(生体day90, アルビノ)



薬浴依存的な腸内細菌の存在比
(生体day35, アルビノ)



水質依存的な腸内細菌の存在比
(生体day90, アルビノ)

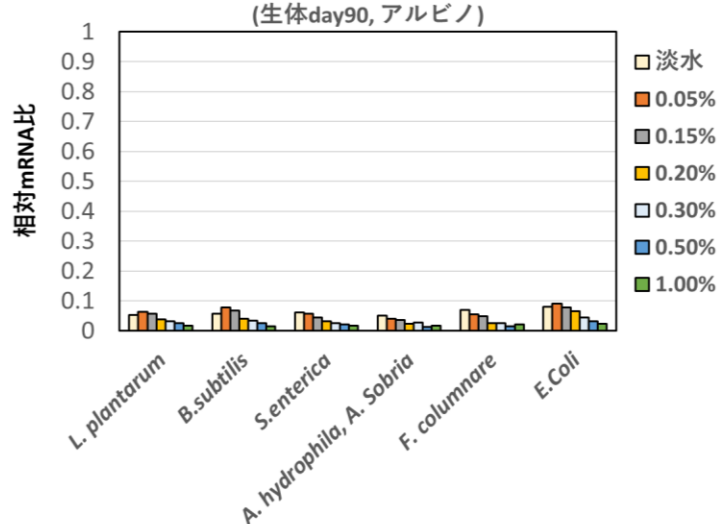


図 19-4: 各アホロートルの系統毎における腸内細菌含有量(率)の比較 4 (18~20℃)

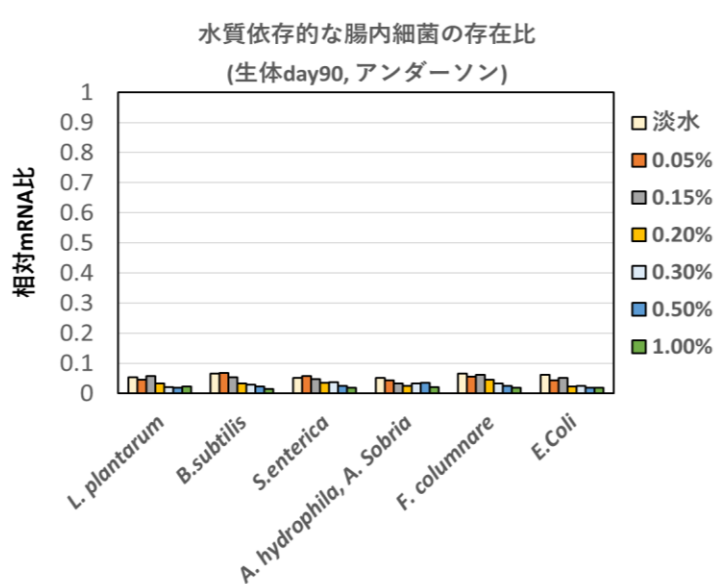
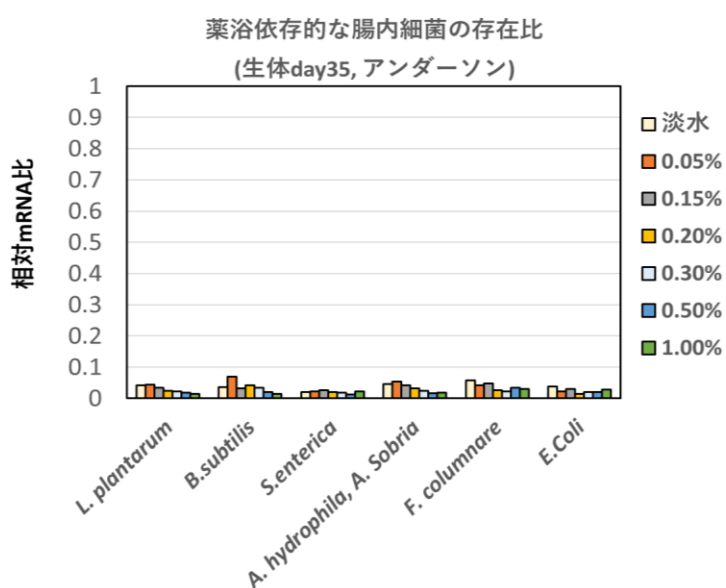
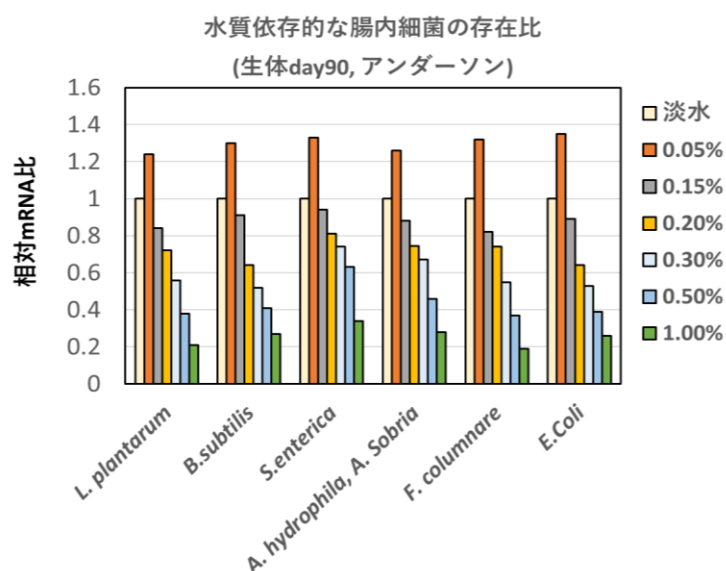
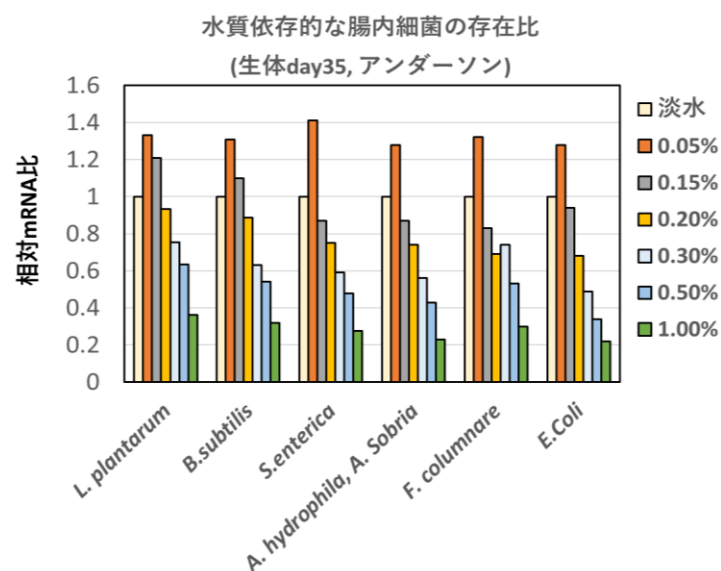


図 19-5: 各アホロートルの系統毎における腸内細菌含有量(率)の比 5 (18~20℃)

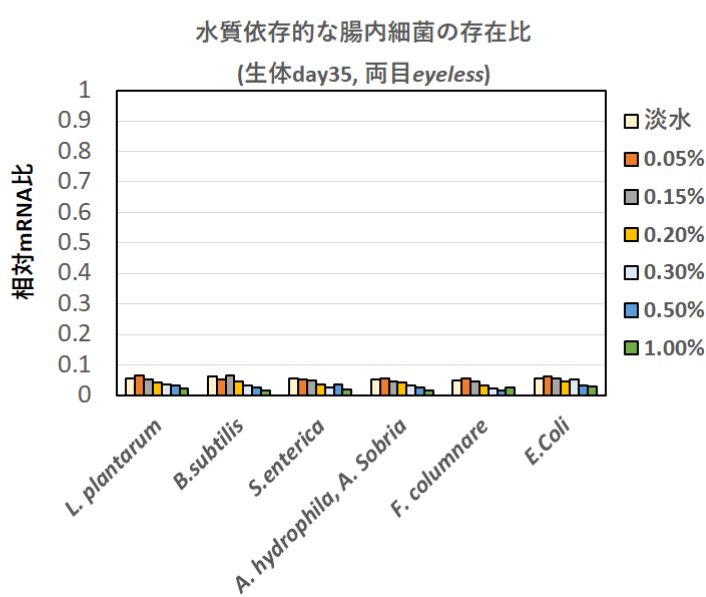
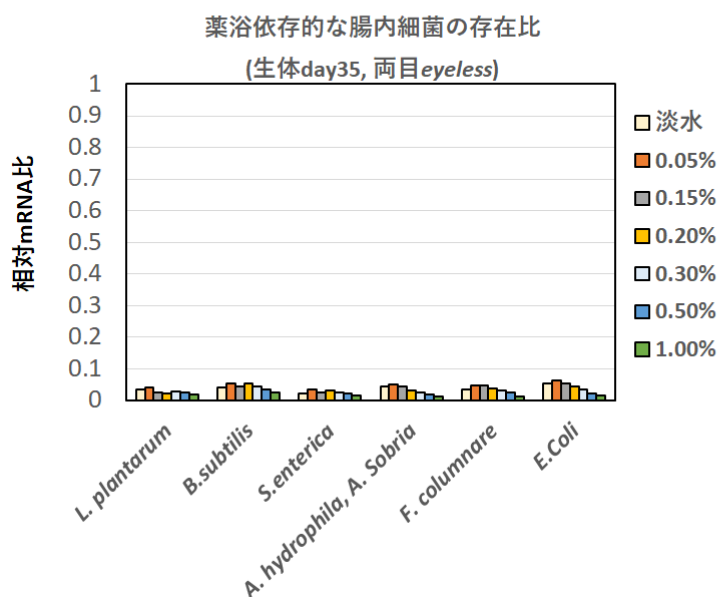
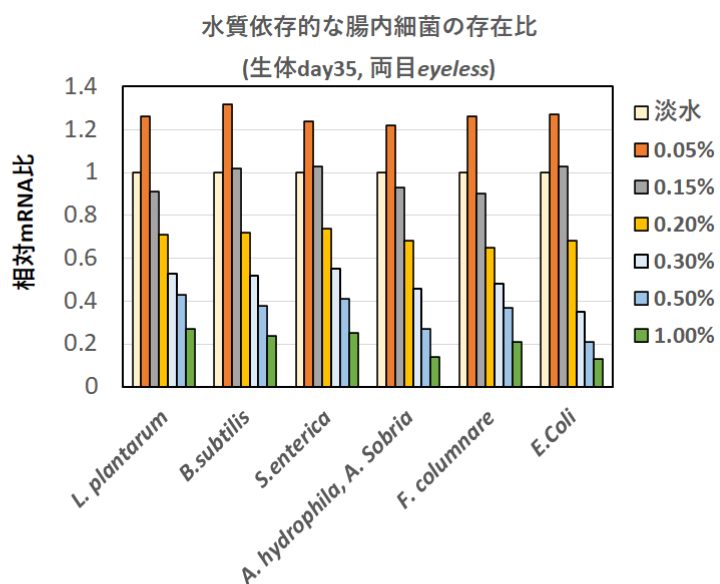
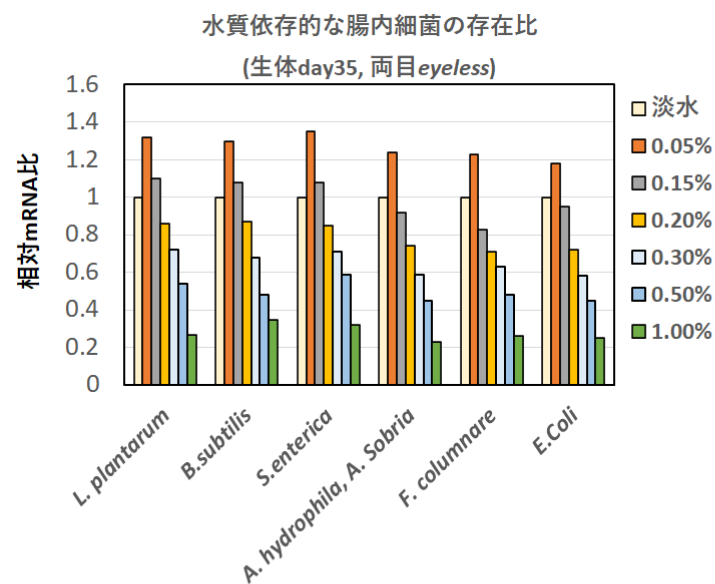


図 19-6: 各アホロートルの系統毎における腸内細菌含有量(率)の比較 6 (18~20℃)

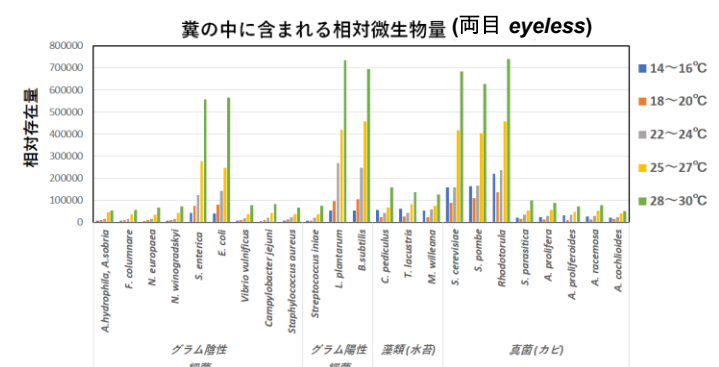
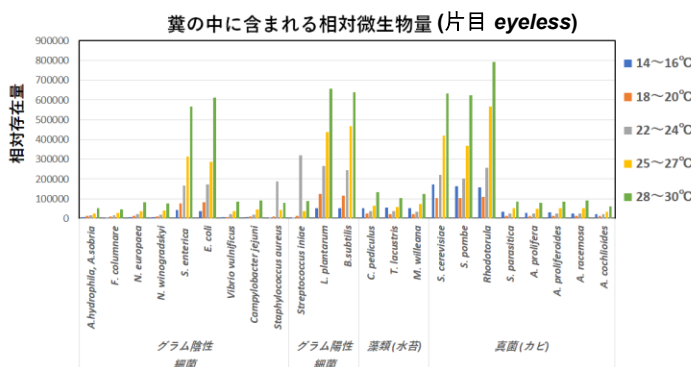
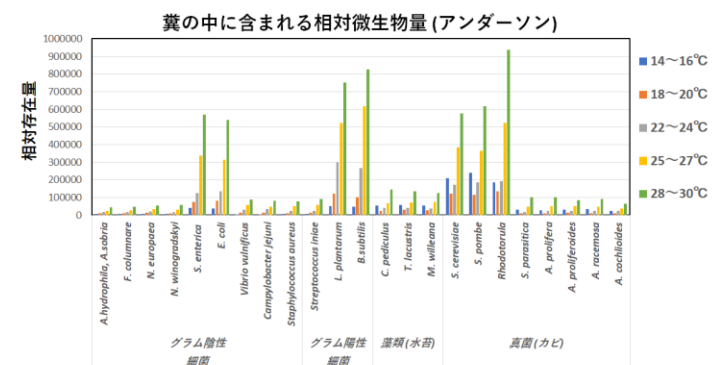
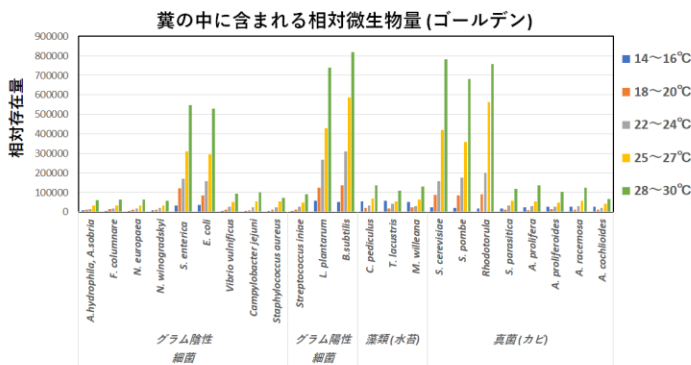
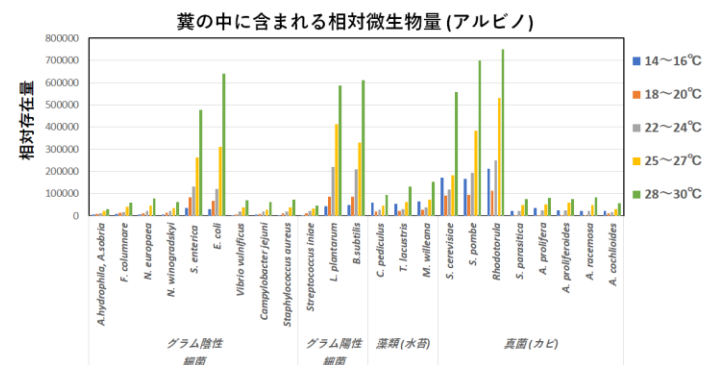
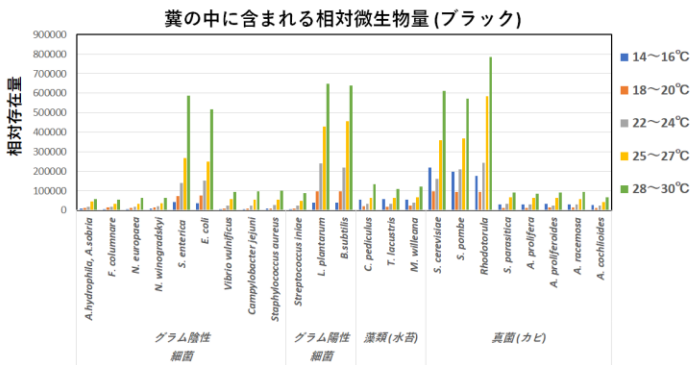
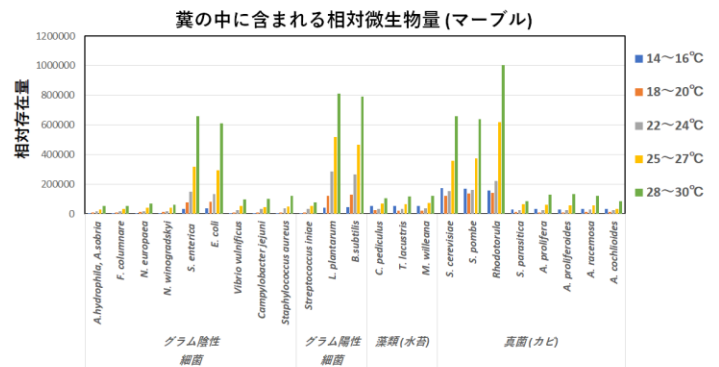
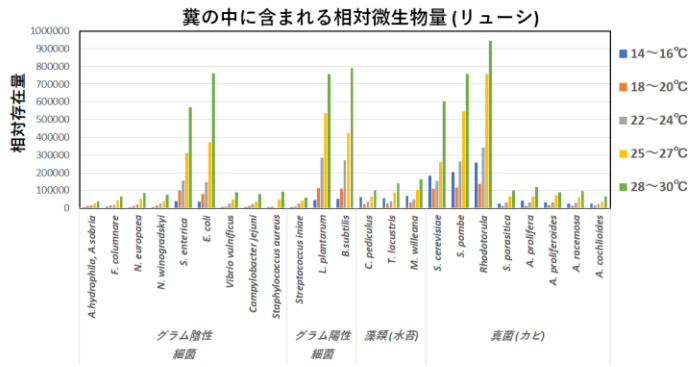


図 19-7: 各アホロートルの系統毎における腸内細菌含有量(率)の比較 7 (18~20°C)

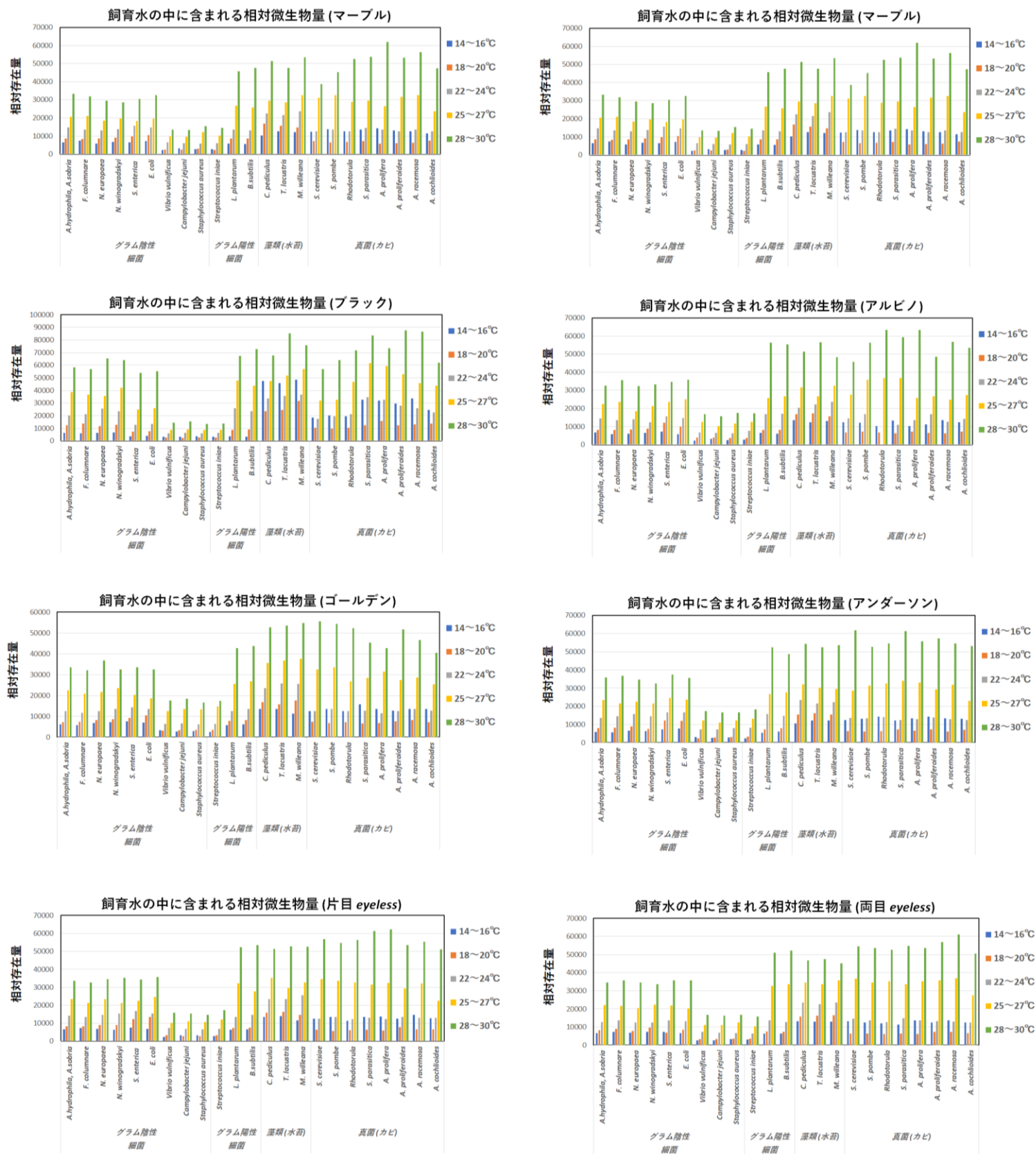


図 19-8: 各アホロートルの系統毎における腸内細菌含有量(率)の比較 8 (18~20°C)

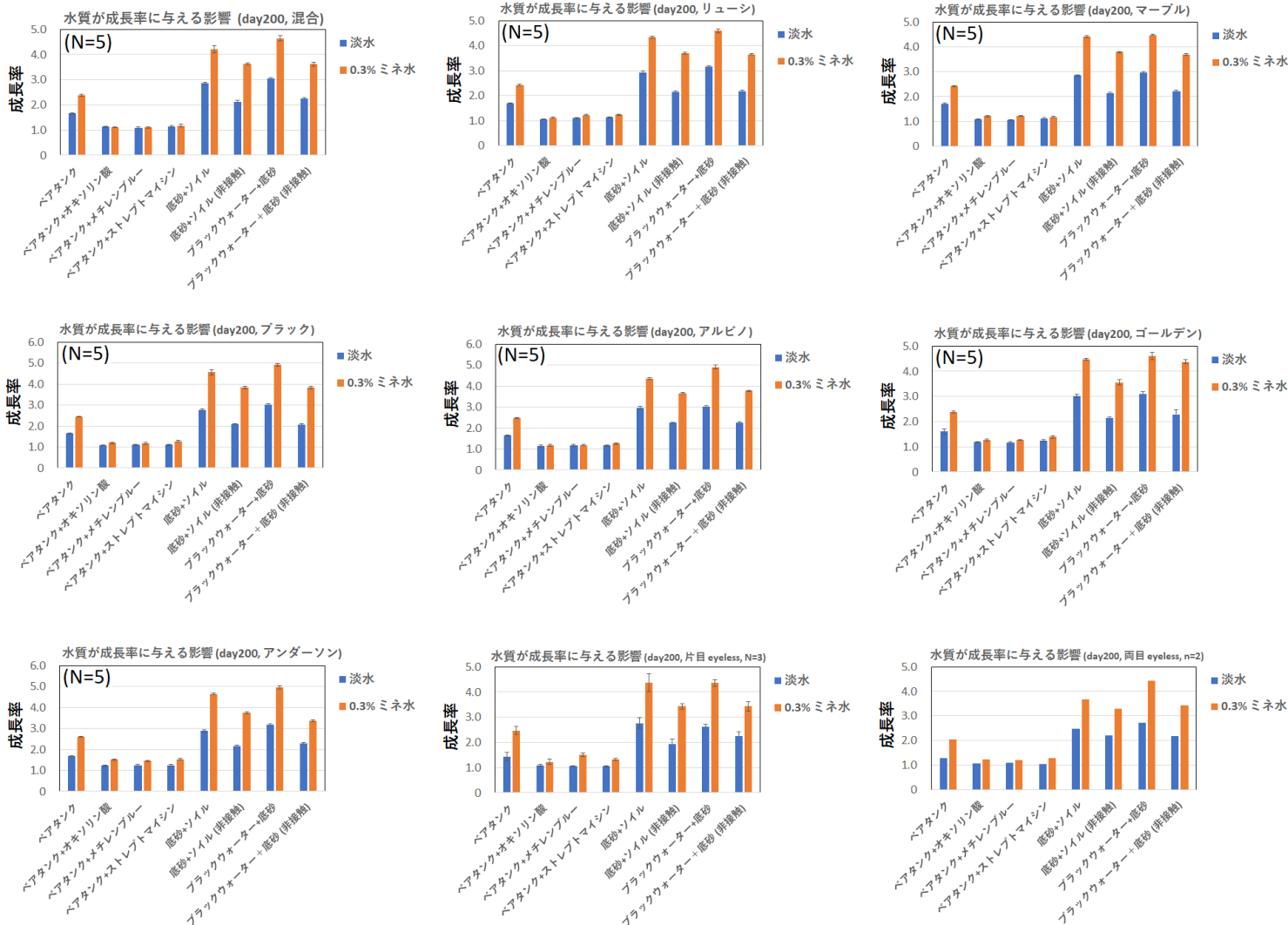


図 20: 各アホロートルの系統毎における食砂行動と成長率の比較 (18~20℃)

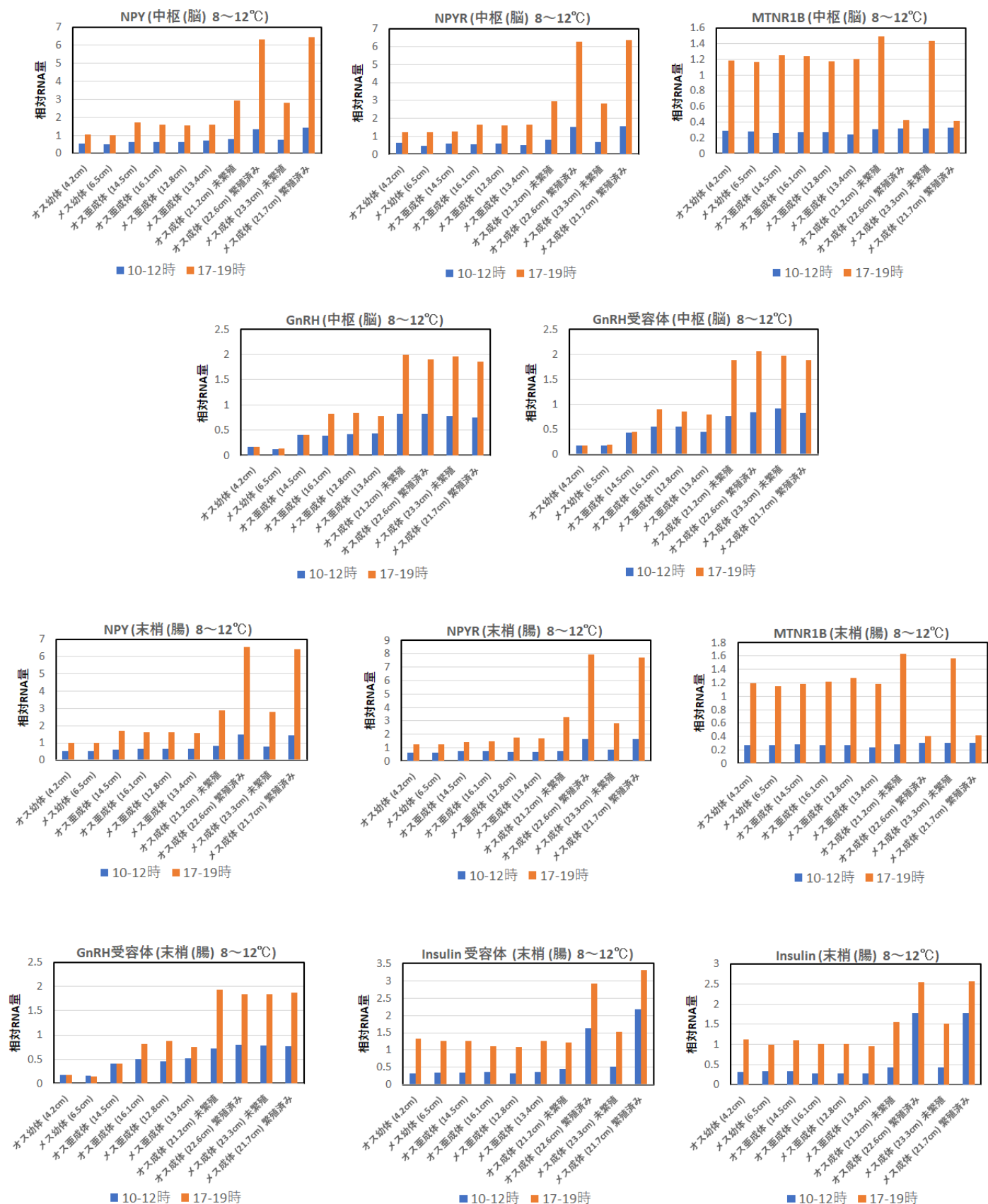


図 21-1: アホロートル NPY mRNA の明暗周期と連動した発現動態と繁殖・成熟関連遺伝子発現動態 1
(リューシスティック, LD12:12)

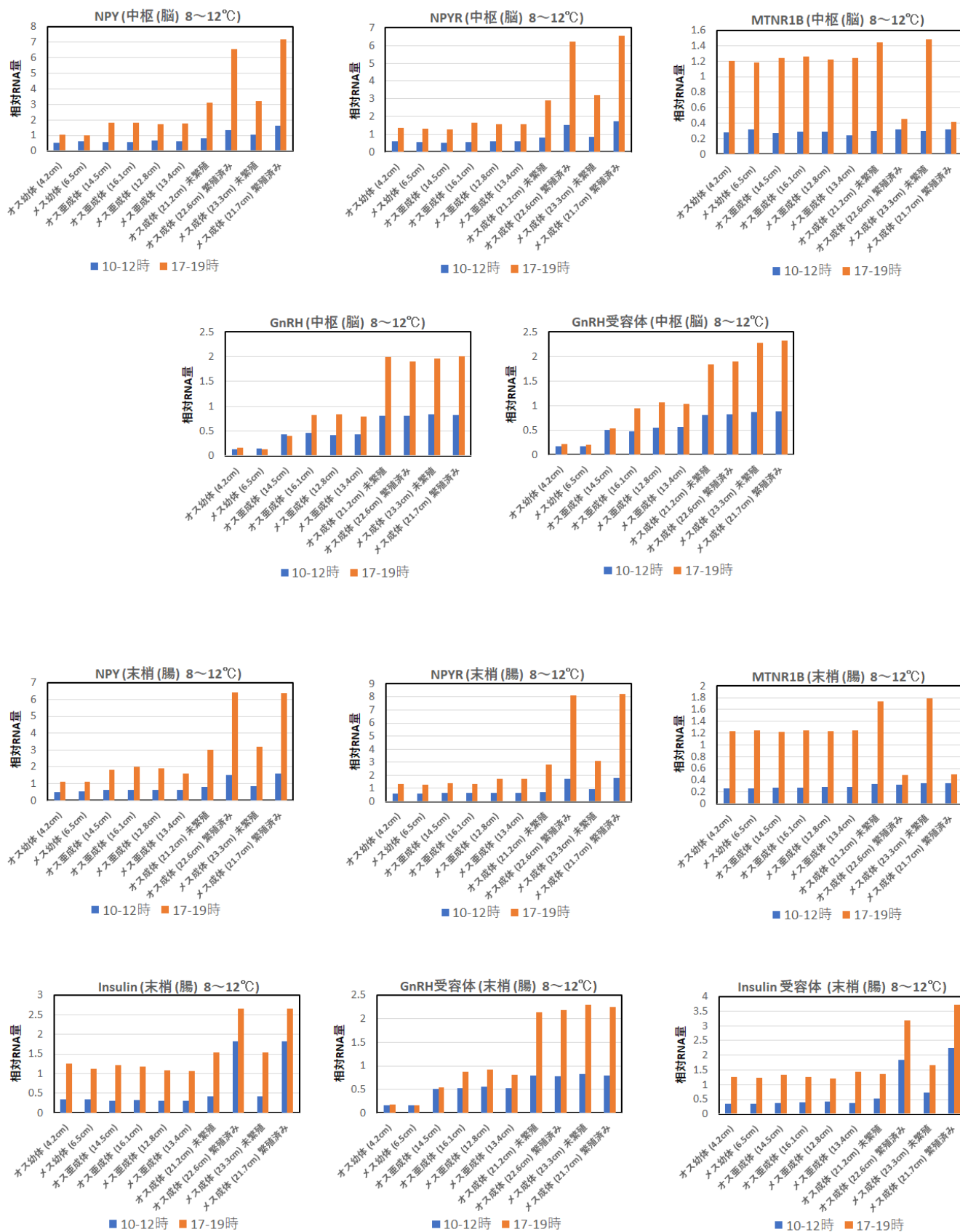


図 21-2: アホロートル NPY mRNA の明暗周期と連動した発現動態と繁殖・成熟関連遺伝子発現動態 2
(マーブル, LD12:12)

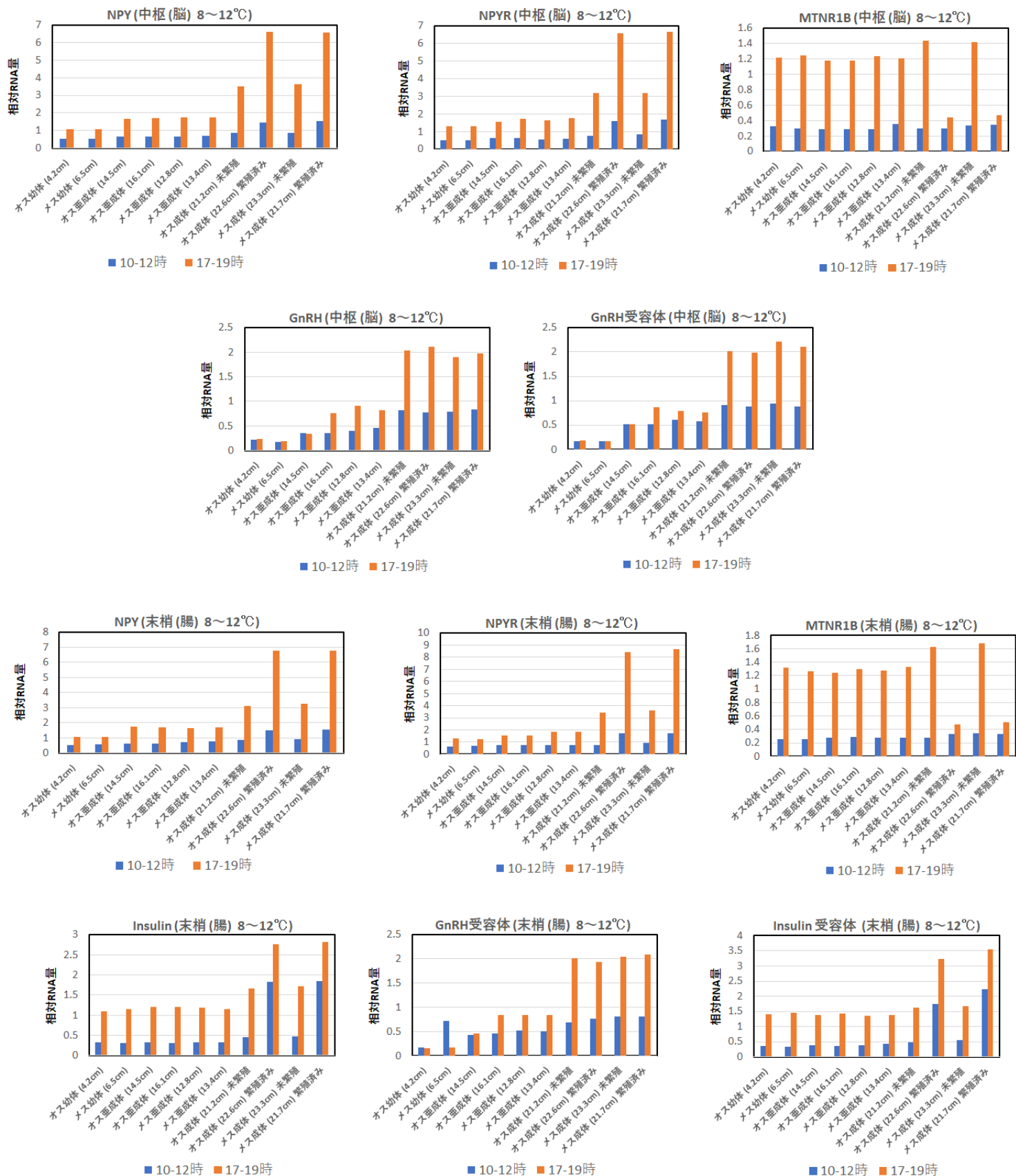
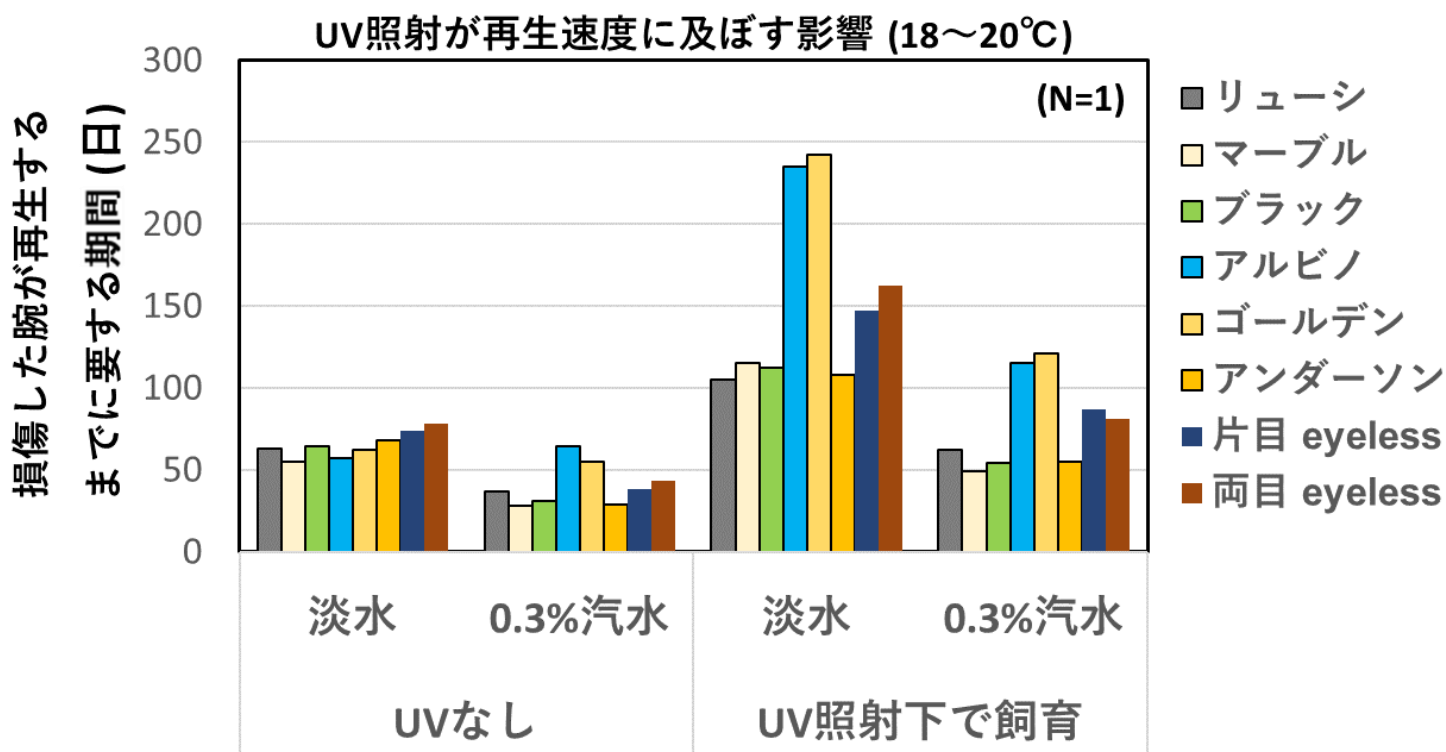


図 21-3: アホロートル NPY mRNA の明暗周期と連動した発現動態と繁殖・成熟関連遺伝子発現動態 3
(アルビノ, LD12:12)

(A) アルビノ系統はメラニン色素が少なく、UV 照射 (LD12:12) の影響を受けやすい。



(B) 関連遺伝子の発現動態 (18~20℃, UV 照射まで DD)

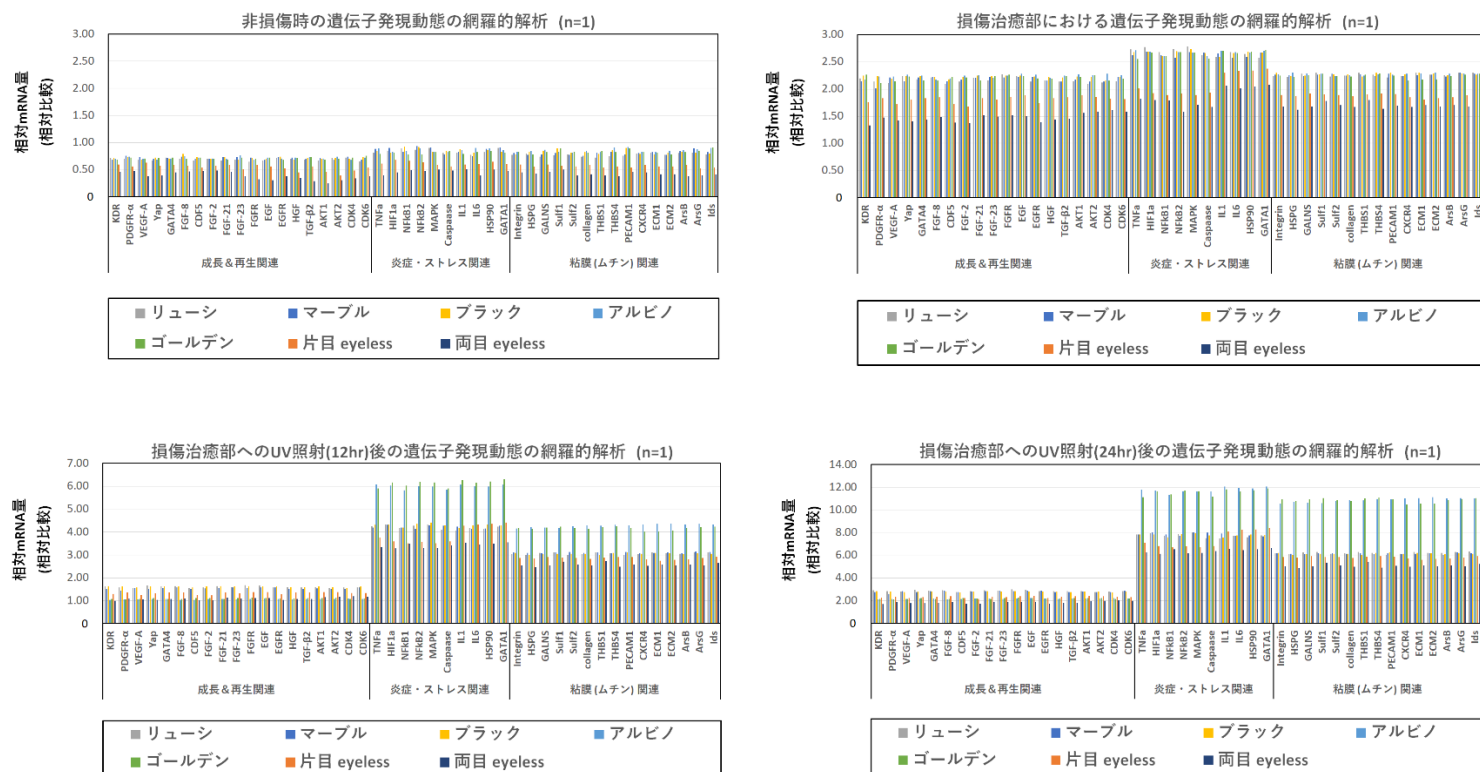
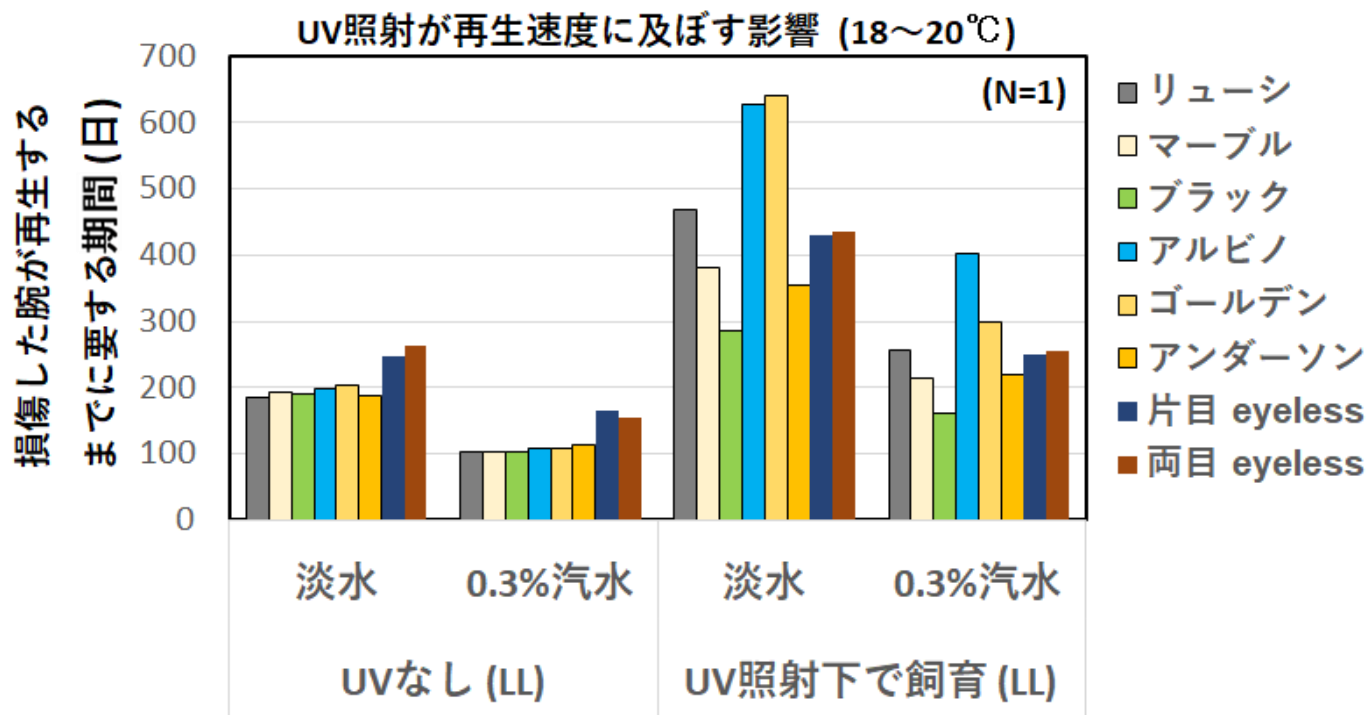


図 22-1: アホロートル系統毎における再生組織における UV 感受性の比較 1

(A) UV 照射 (LL) 条件下では、ブラック > マーブル > リューシの順に影響を受けにくい。



(B) UV 照射 (120 hr) 条件下における関連遺伝子の発現動態 (18~20℃)

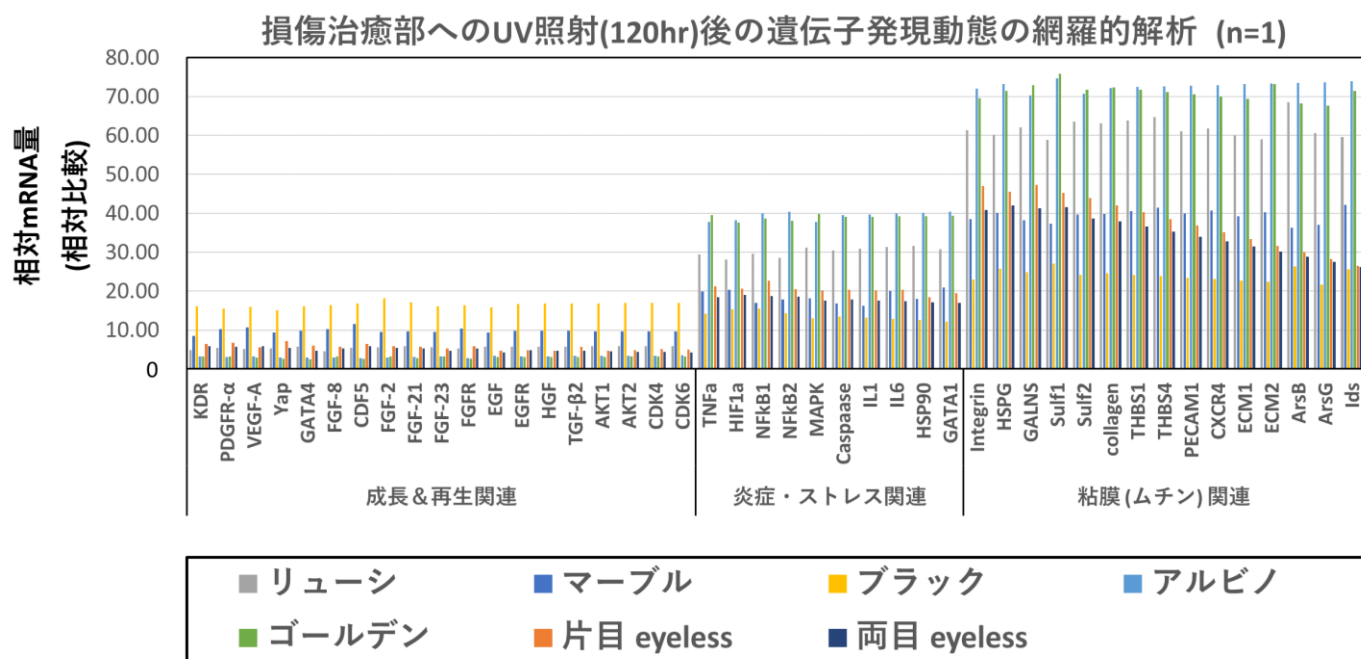


図 22-2: アホロートル系統毎における再生組織における UV 感受性の比較 2

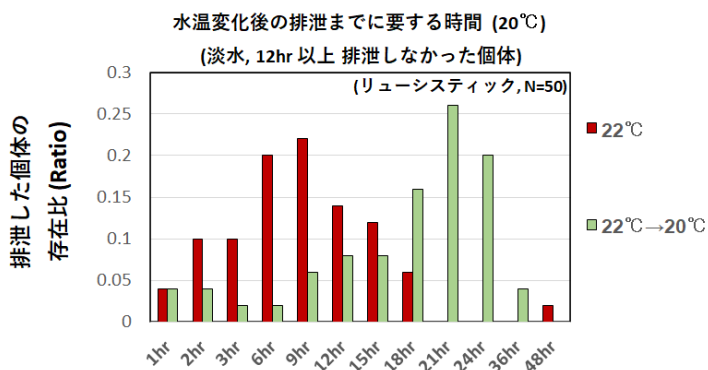
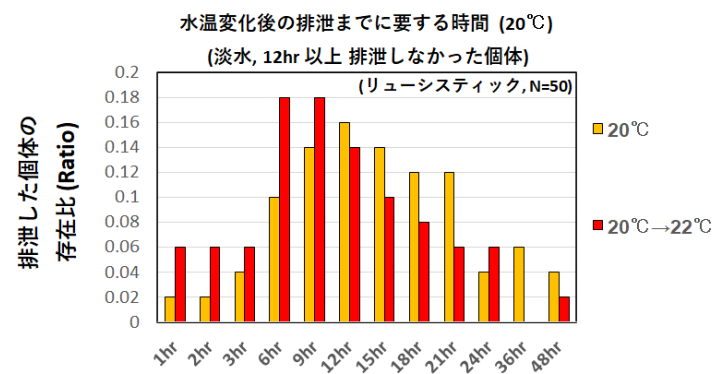
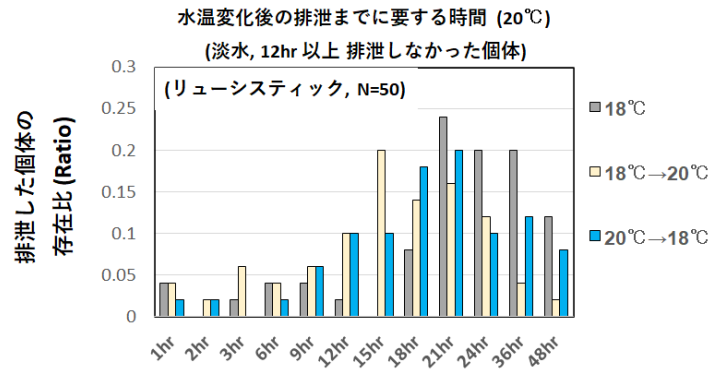
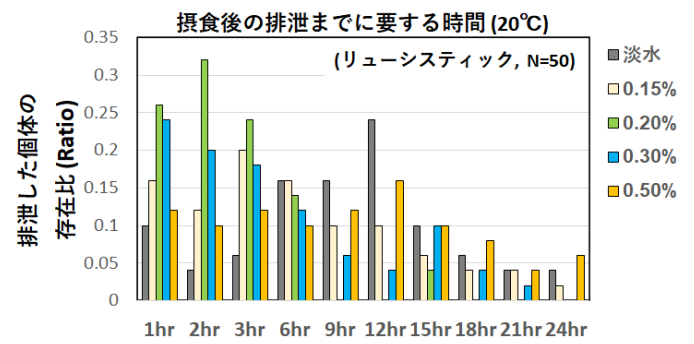
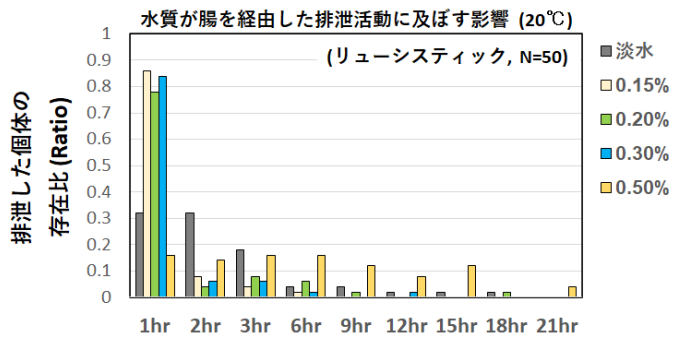


図 23-1: アホロートルの系統ごとにおける排泄頻度の比較 1 (リューススティック)

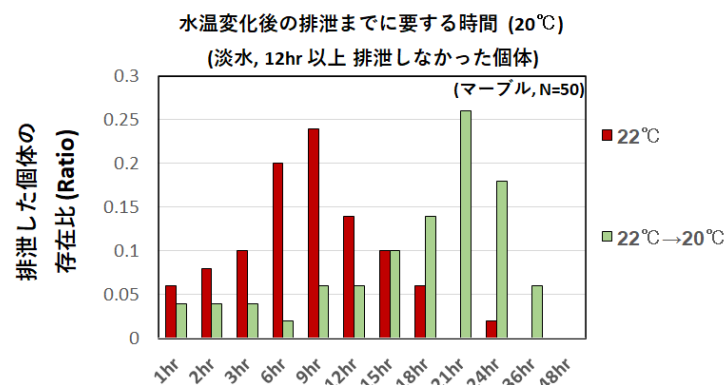
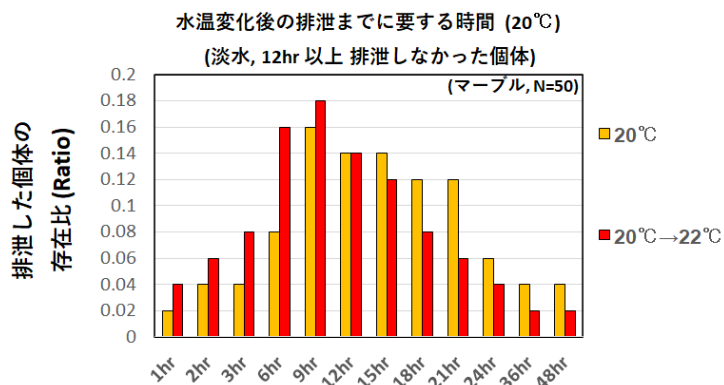
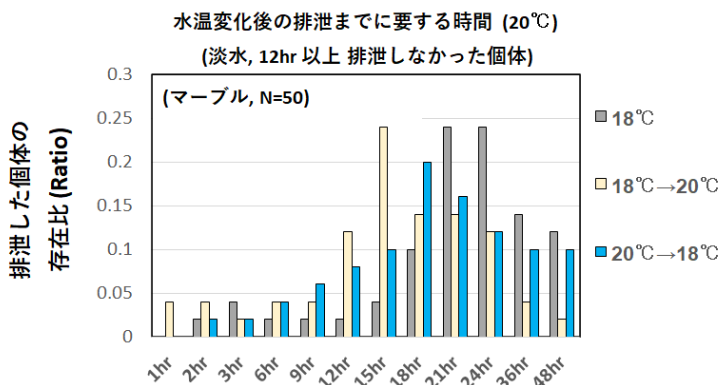
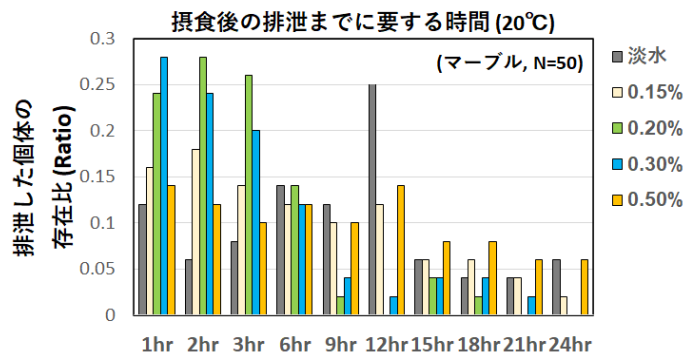
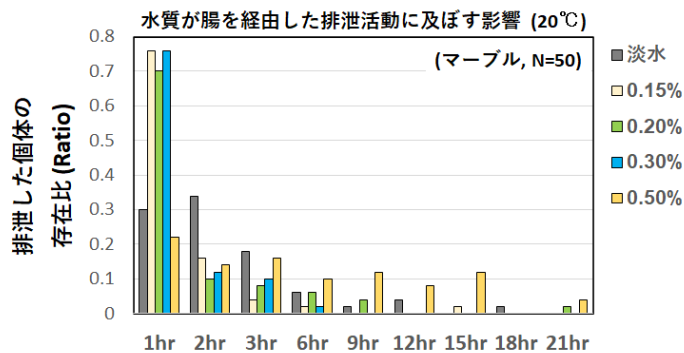


図 23-2: アホロートルの系統ごとにおける排泄頻度の比較 2 (マーブル)

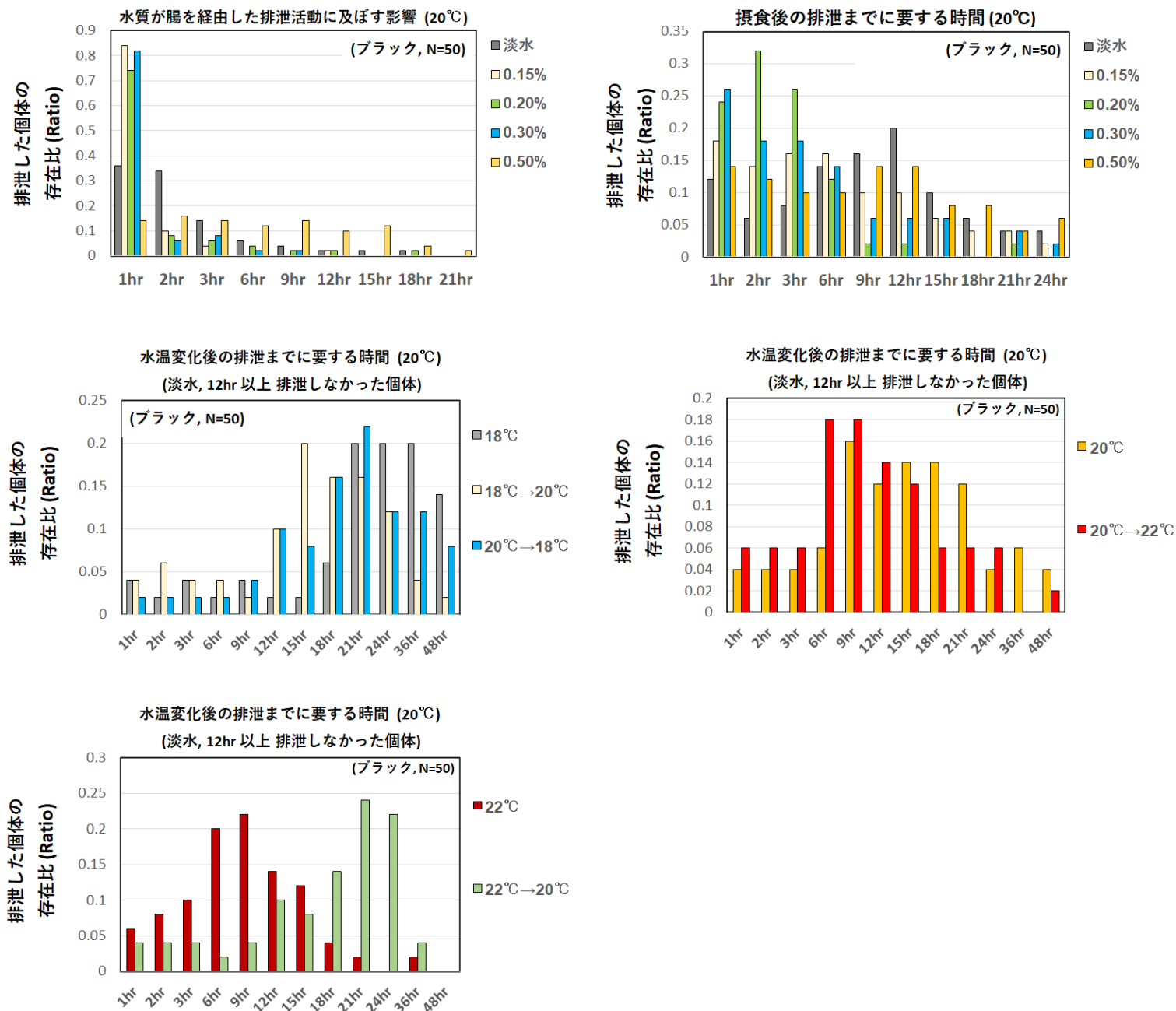


図 23-3: アホロートルの系統ごとにおける排泄頻度の比較 3 (ブラック)

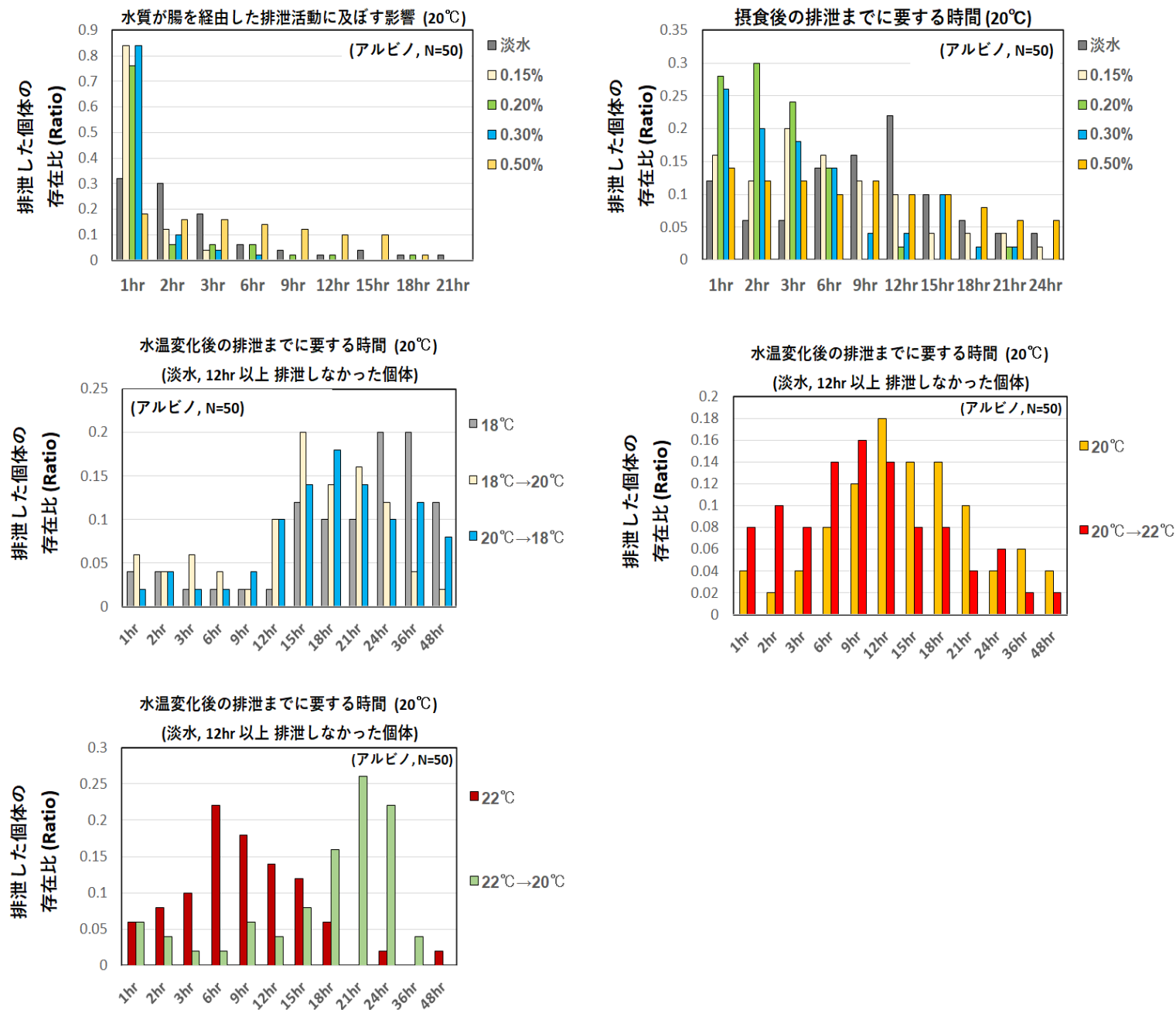


図 23-4: アホロートルの系統ごとにおける排泄頻度の比較 4 (アルビノ)

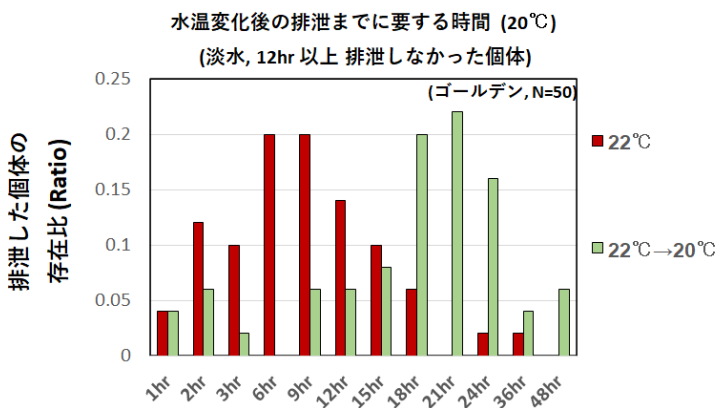
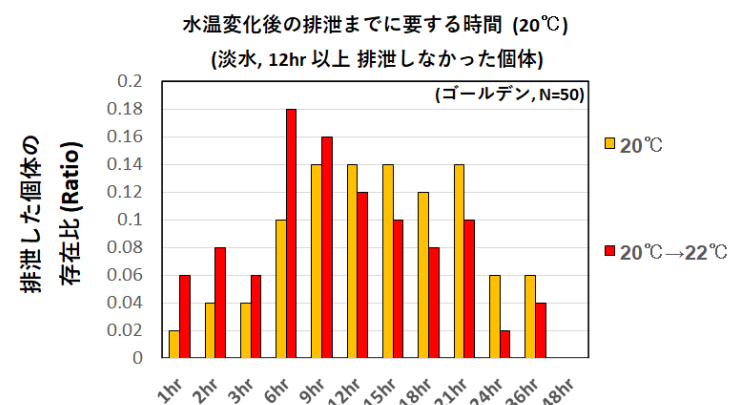
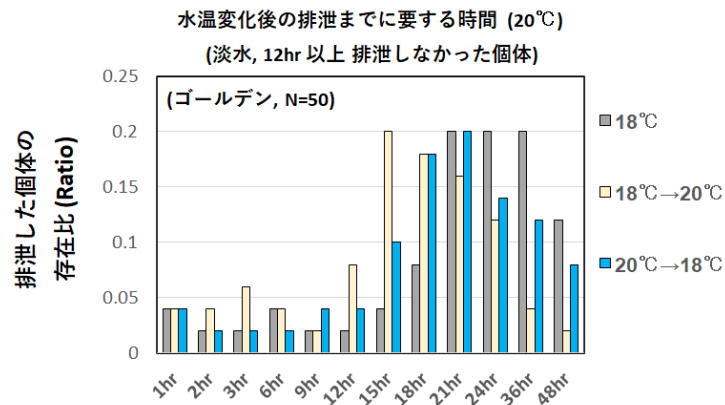
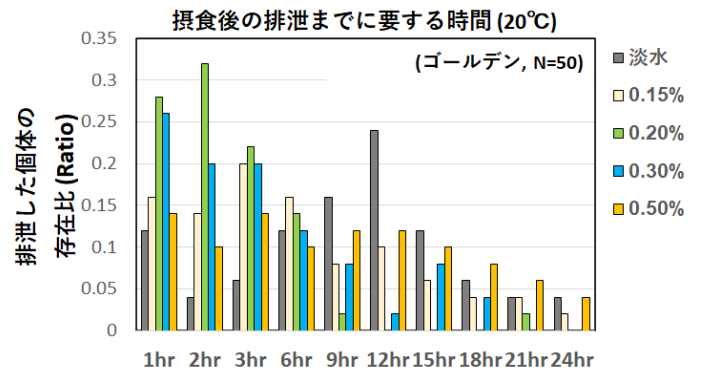
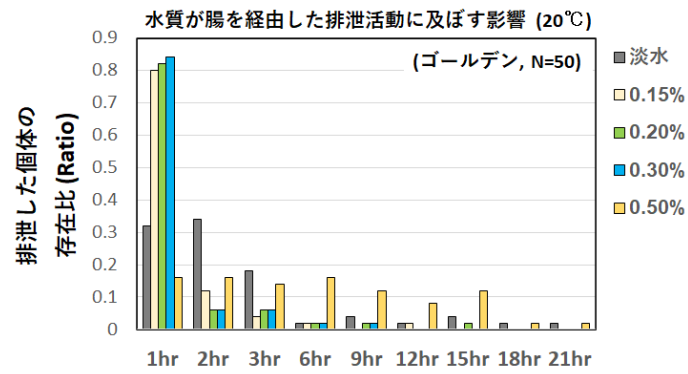


図 23-5: アホロートルの系統ごとにおける排泄頻度の比較 5 (ゴールデン)

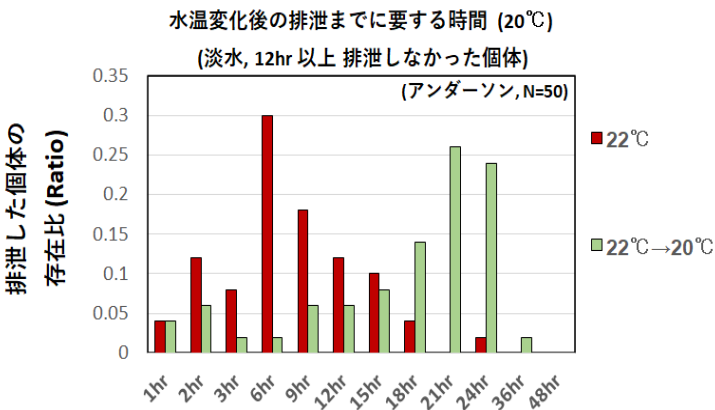
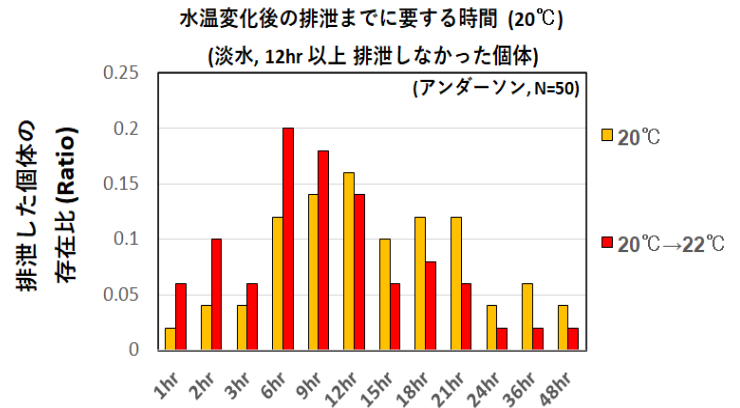
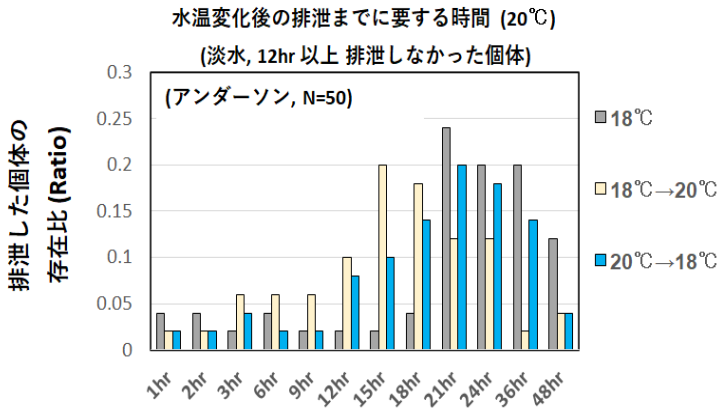
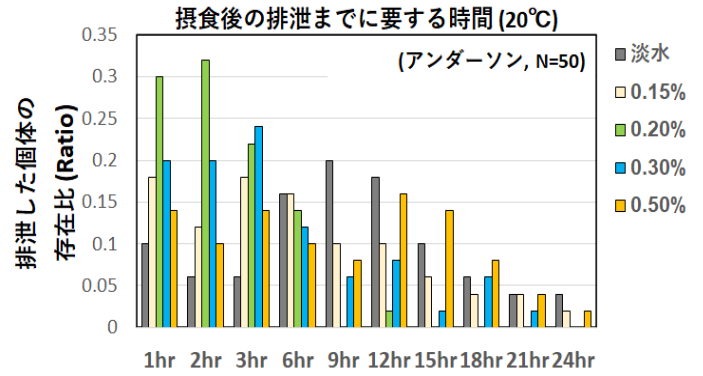
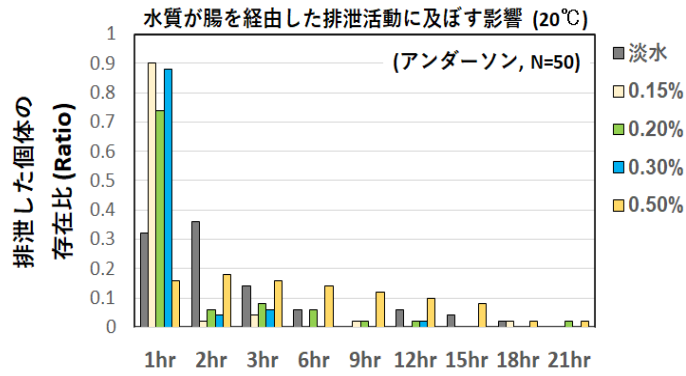


図 23-6: アホロートルの系統ごとにおける排泄頻度の比較 6 (アンダーソン)

Ambystoma mexicanum は他の両生類と比較して免疫力が低い傾向にある

Table 1 Some Immunological Features of adult <i>Xenopus</i> and <i>A. mexicanum</i> ¹	<i>Xenopus</i>	<i>A. mexicanum</i>
Thymus morphology: cortex/medulla	defined	undefined
Thymus: <i>thymus</i>	defined	undefined
Spleen morphology: red/pale pulp	defined	undefined
Graft rejection (thymectomy)	acute (allogeneic)	chronic (xenogeneic)
In vitro MLR (thymectomy)	strong	poor
T-cell mitogen response	good (PHA or ConA)	poor (PHA)
B-cell mitogen response (LPS)	moderate	poor (LPS or PHA)
PHA response	good	poor (PHA or PHA)
Antibody response (thymectomy)	good (restricted diversity)	poor (restricted diversity)
Antibody response (thymectomy)	yes	no
Antibody response (thymectomy)	yes	no
Affinity maturation	moderate	none
MHC class II antigens	B cells, T cells, thymocytes	thymocytes, dendritic cells, thymocytes
MHC class I antigens	ubiquitous cell surface	ubiquitous cell surface

(参照: Ching et al., 1967 & Cohen et al., 1994)

<治療のタイミングと再発率>

・炎症（充血）発症の段階で塩浴・薬浴治療（計100日：聞き取り調査含む） 5～7日 → 1/21 10～14日 → 0/18 18～21日 → 0/19 25～30日 → 13/20 60日以上 → 18/22	・エラ腐せ、身体痩せ ※ 療法 → 飼育槽底、餌の投与後下（餌の投与後、下痢等を行う） 一方で、薬浴（外薬に買付）の飼育も確認できる。 5～7cm の個体で採活機能を確認（qPCR）
・炎症（充血）確認後も塩浴・薬浴なし 30日以上放置 → 再発率（38日/56日） ここから30日間治療（38日）後、再発率 5～7日 → 0/8 10～14日 → 4/7 18～21日 → 7/11 25～30日 → 5/6 60日以上 → 6/6	・細菌感染・炎症のプロセス（推定） 感染 炎症マーカー増加 腸機能低下 嚥下不全（巧く呑み込めない） 衰弱死（痩せ）

(杉山 ほか, 2022-2023)

Ambystoma mexicanum は汽水・硬水の環境下で免疫力を補っていた可能性がある

(B) 損傷・失血等の影響で不健康なセミアダルト 約200日目（依頼にて治療を引き受けた個体）

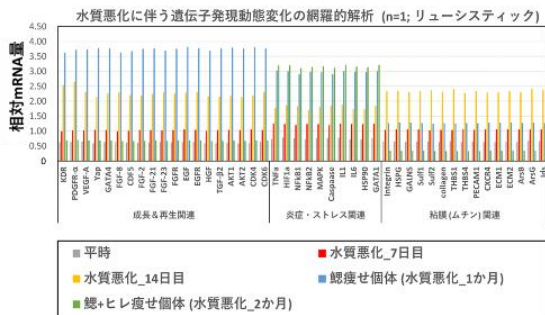


(B') 一週間程度の薬浴* + 0.3%ミネ水* での長期飼育（100日間）によって健康な状態にまで回復した例



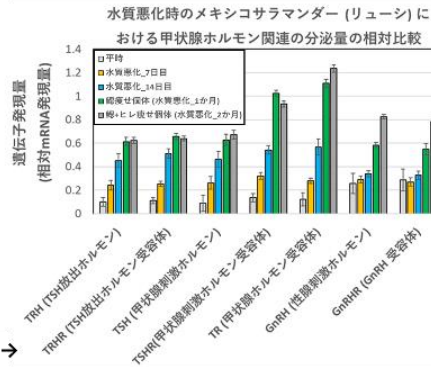
※ ミネ水 = Na, K, Mg, Ca を一定の比率で含む汽水

Ambystoma mexicanum の水質悪化に伴った再生・ストレス応答・粘膜関連因子の発現動態



↑ マールやアルビノでも同様の傾向が見られている→

Ambystoma mexicanum は生育環境が悪化することでストレス応答を示し、疑似的に変態を進行させてしまう



<環境悪化によるストレスと変態促進の機構>



症状	件数	主な要因	対策・治療方針
裂傷・傷 など	35	混泳個体同士の攻撃・誤食 水槽中の設置物による損傷	繁殖期（低水温）の解消・オスの隔離 飼育水槽への仕切り・単独飼育化 角のある石や表面の粗い土管などの除去 ろ過装置の吸入口へのスポンジカバー装着
炎症・赤み 浮腫・腹水症	38	過不足によるアンモニア中毒 アンモニア分解物（亜硝酸塩）中毒 細菌・ウイルス・寄生虫感染 に対する免疫応答	【グラム陰性菌による感染症】 汽水飼育・オキシリン酸薬による治療 【他の要因による感染症】 汽水飼育・ポビドンヨード薬による治療 濾過環境強化や換水頻度を増やすことで 根本的な要因を除去できる → 水槽内の微生物叢の改善 汽水環境は亜硝酸塩の影響を緩和する
ぶかぶか病 転覆	52	消化不良(特にデンプン質) による消化器官へのガス蓄積 腸内細菌叢異常によるガス蓄積	【腸内洗浄】 ・繊維質の多いアカムシやイトミミズ ・治療薬に浸した餌（食べやすいもの） 水温を+2℃程度上昇させる → 代謝の向上
鰓や身体の変色 餌の吐き戻し	34	浮袋・肺の異常、中枢神経障害 (浮力制御不良 や 平衡覚異常) 寄生虫による栄養失調 腸内フローラ異常からの摂食障害 腸管腫瘍による摂食障害 各種ストレス起因の変態誘導	淡水飼育であれば汽水飼育へ切り替える 汽水飼育であれば淡水飼育へ切り替える 感染症を優先し治療期間中は断食させる 水質を良質に保つことで機能回復を優先する 食欲が改善すれば毎日少量ずつ与えていく ※ 改善しない場合は腫瘍の可能性あり → 病院に早急に受診させる

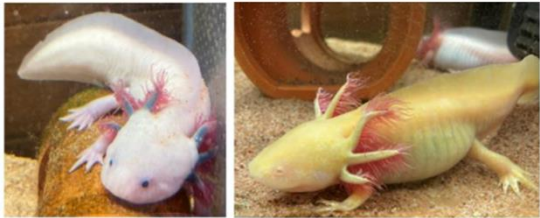
合計 159 件

※ 各症状には重複あり

補足図 6-1: アホロートルにおける疾患と治療の例 1

(杉山; 三太子, 2023, 第 46 回分子生物学会年会)

(A) 健康な頃 (アカムシや固形餌で飼育)



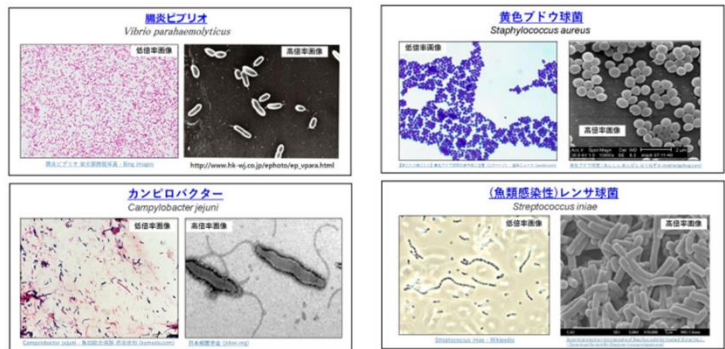
(B) 衛生的に良くなかったと思われるマグロを摂食した場合 (数か月経過後)



(C) 類似の症状を発現した生体の腸内環境および水槽の底材に棲む微生物一覧

性質・種類	学名	属・分類	備考
グラム陰性細菌	<i>A. hydrophila</i> , <i>A. sobria</i>	エロモナス属	感染症の原因菌
	<i>F. columnare</i>	カラムナリス属	感染症の原因菌
	<i>N. europaea</i>	ニトロソモナス属	アンモニア硝化菌
	<i>N. winogradskyi</i>	ニトロバクター属	亜硝酸酸化菌
	<i>S. enterica</i>	サルモネラ属	腸内細菌
	<i>E. coli</i>	大腸菌属	腸内細菌
	<i>Vibrio vulnificus</i>	副溶血性弧菌属	吐き戻しの原因 (好塩性菌)
グラム陽性細菌	<i>Campylobacter jejuni</i>	カンピロバクター属	肉類に付着 (好塩性菌)
	<i>Staphylococcus aureus</i>	黄色ブドウ球菌属	皮膚の化膿・腐敗など (好塩性菌)
	<i>Streptococcus iniae</i>	レンサ球菌属	細菌突出、腎臓や臓器の腐敗、心臓病など
	<i>L. plantarum</i>	乳酸菌属	腸内細菌
藻類 (水苔)	<i>B. subtilis</i>	枯草菌属	過剰バクテリア
	<i>C. pediculus</i>	コッコネイス属	球藻類
	<i>T. lacustris</i>	テトラスポラ属	球藻類
	<i>M. williana</i>	ミクスボラ属	糸状菌類
真菌 (カビ)	<i>S. cerevisiae</i>	出芽酵母	パン酵母
	<i>S. pombe</i>	分裂酵母	ビール酵母
	<i>Rhodotorula</i>	赤色酵母	赤色酵母
	<i>S. parasitica</i>	ミズカビ属	
	<i>A. proliferans</i>	ワタカビ属 (糸状菌)	水質浄化
	<i>A. proliferans</i>	ワタカビ属 (糸状菌)	増えすぎると
	<i>A. racemosa</i>	ワタカビ属 (糸状菌)	水カビ病の原因
	<i>A. cochlioides</i>	アファノマイセス属 (糸状菌)	

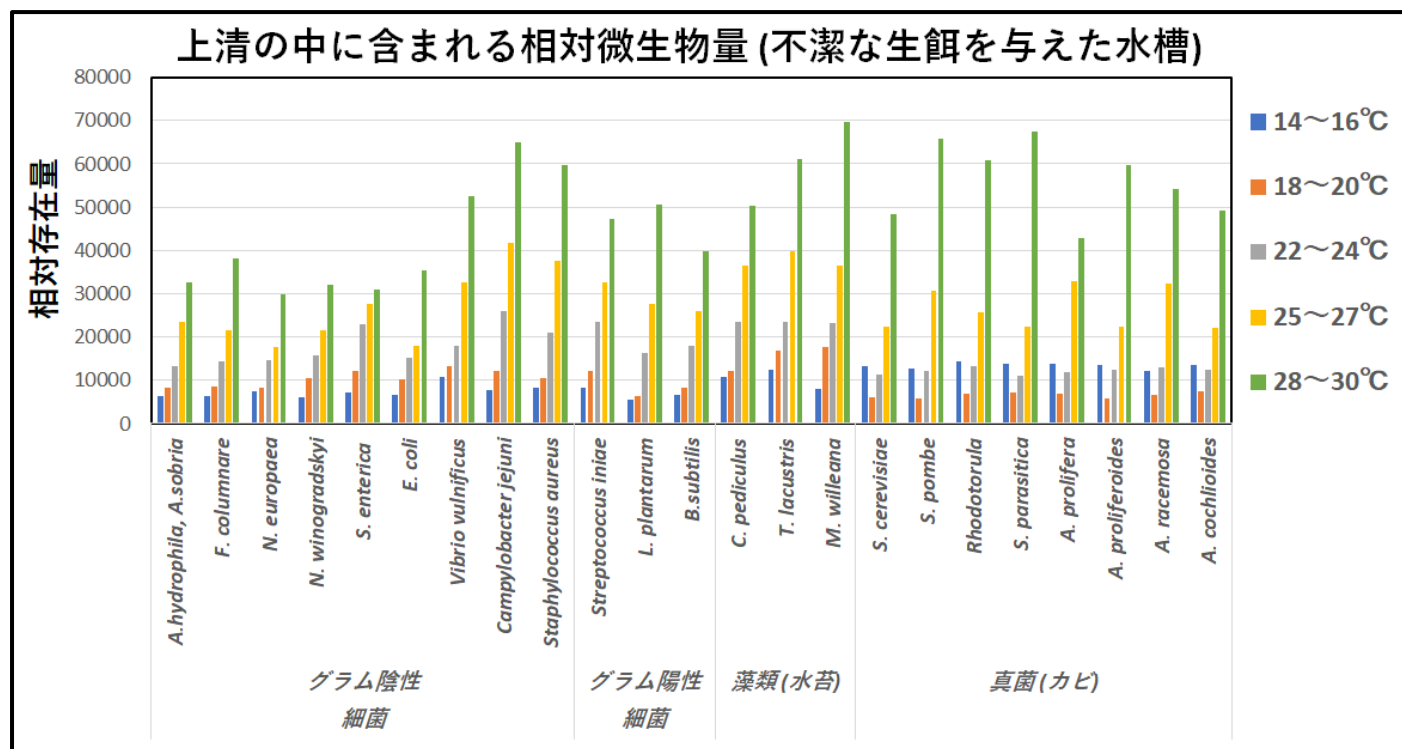
市販の刺身から検出される
有害な細菌類 (塩にも強い)



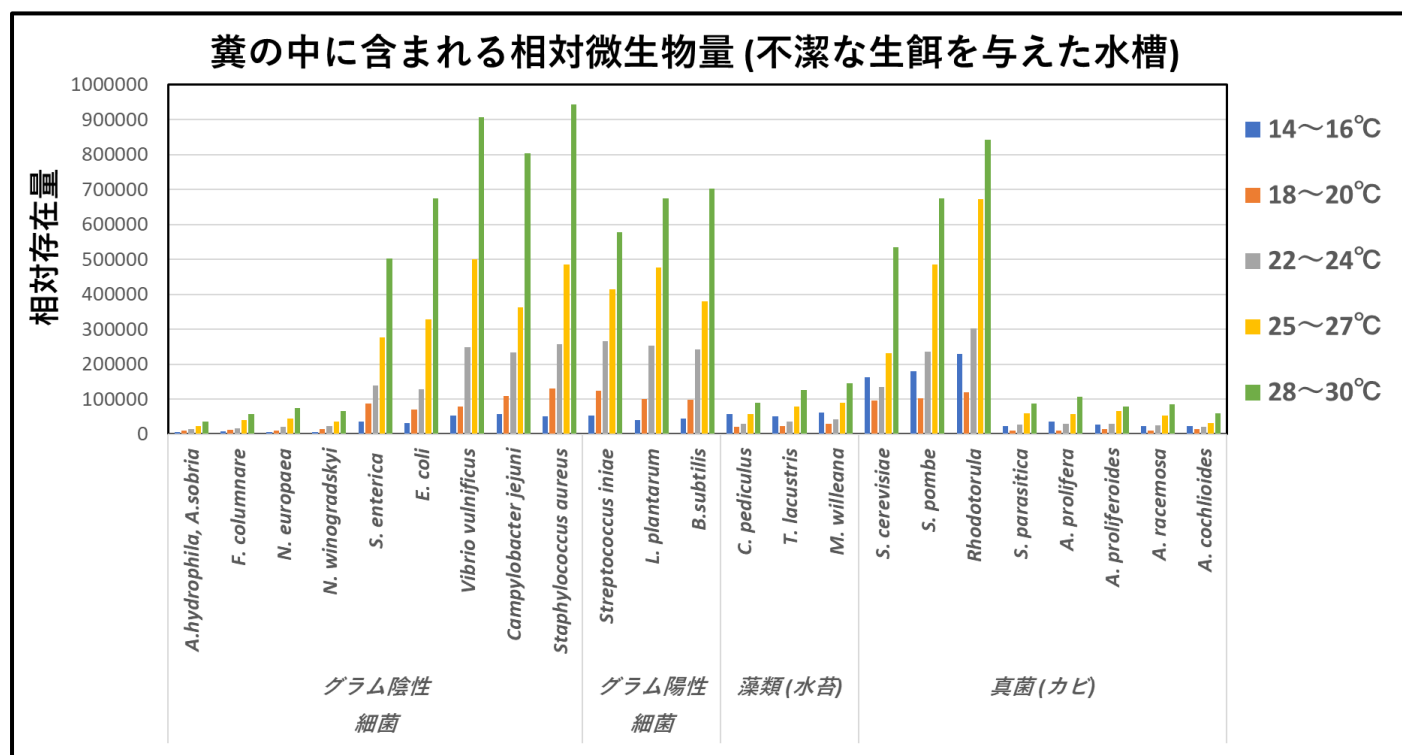
補足図 6-2: アホロートルにおける疾患と治療の例 2

(杉山, 萩原 ほか, 2023)

(A)



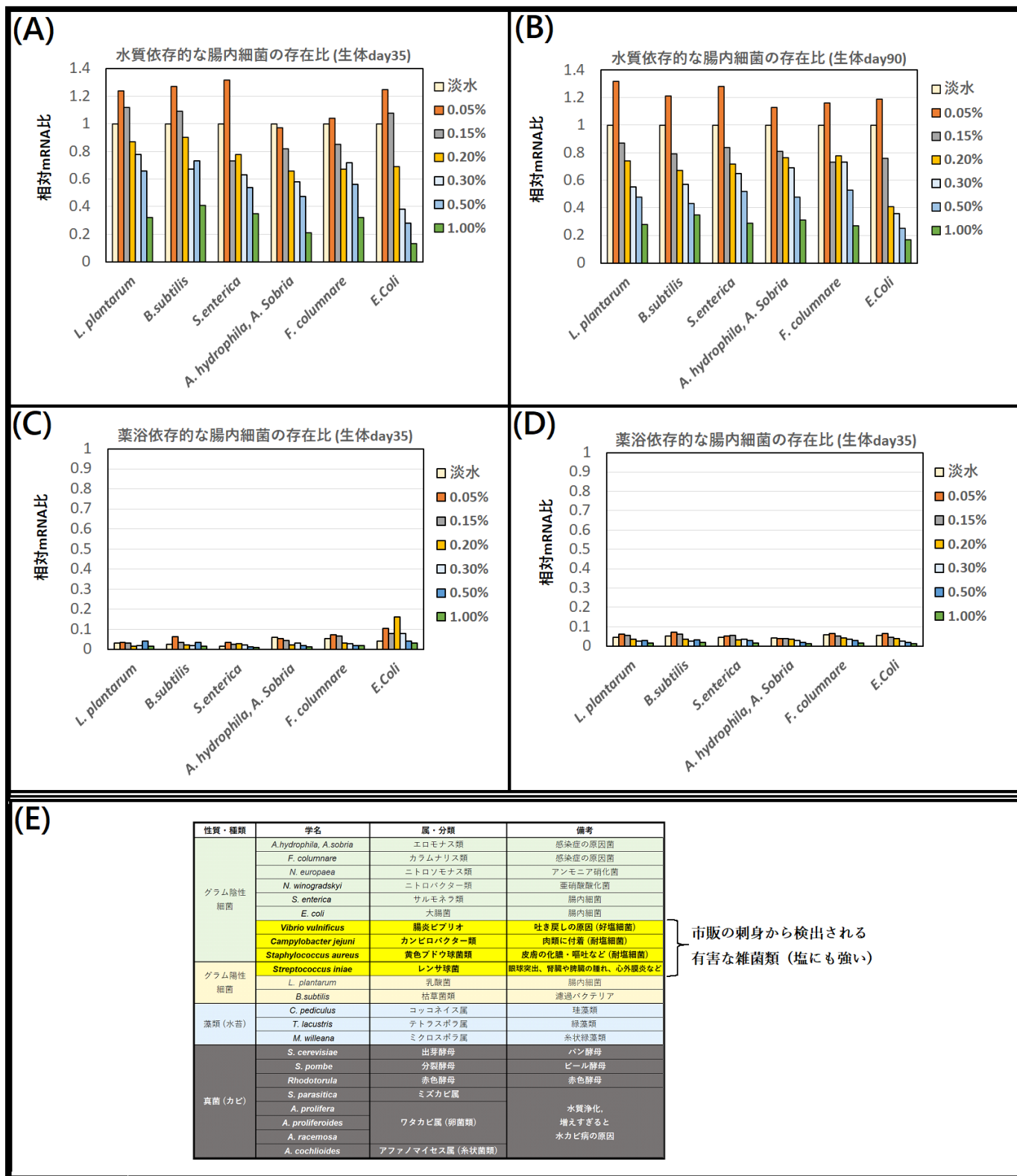
(B)



補足図 6-3: 飼育水槽における生餌由来の耐塩性の雑菌の存在率・存在比 (マープル)

(杉山, 萩原 ほか, 2023)

※ リューシ、アルビノにおいても同様の傾向あり



補足図 6-4: アホローの腸内における耐塩菌の塩分濃度依存的な存在比 (マール)

(杉山, 萩原 ほか, 2023)

※ リューシ、アルビノにおいても同様の傾向あり

(A) 水質悪化時の変態制御ホルモンの発現動態

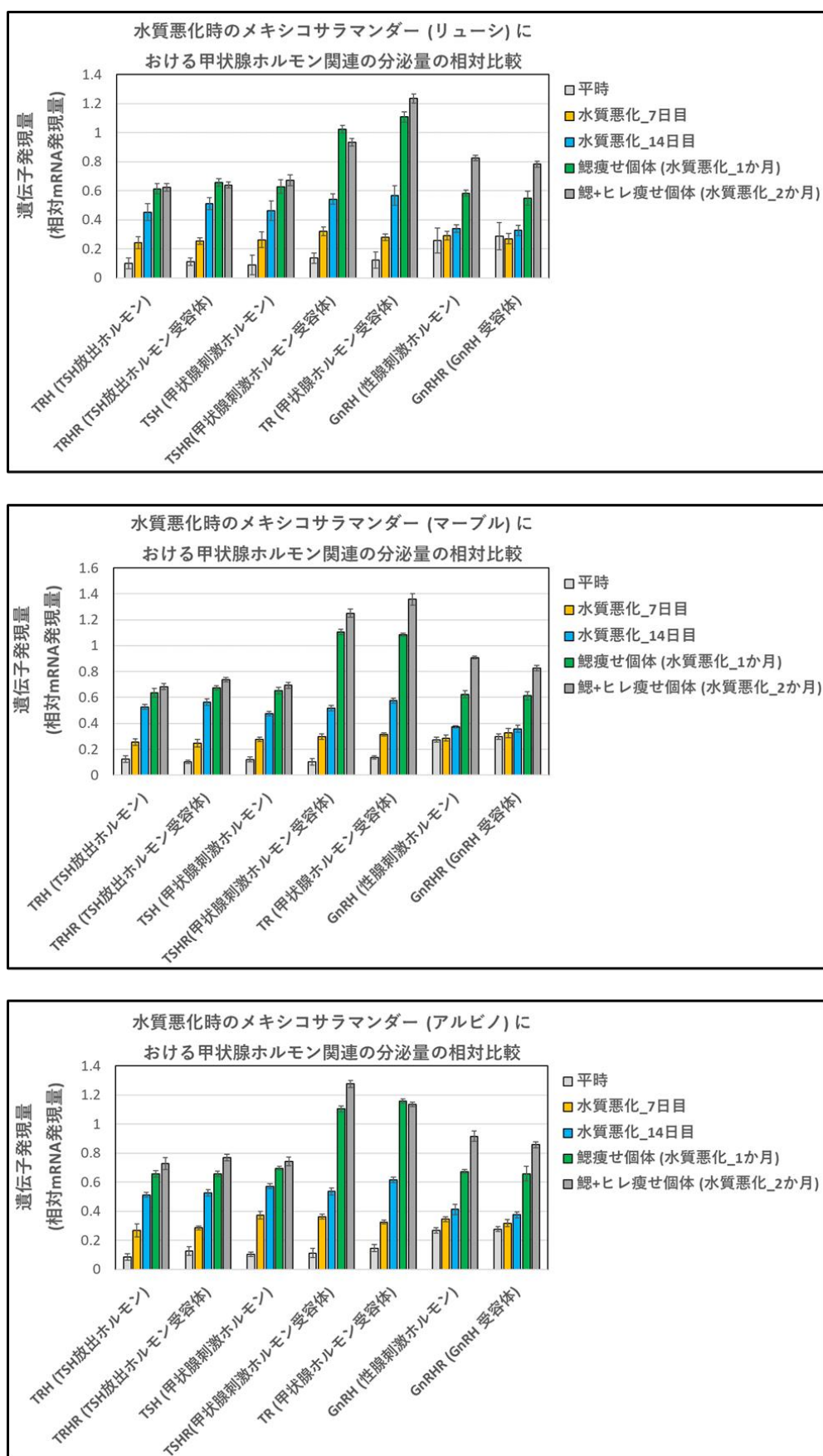


図 24-1: アホロートルの系統ごとにおける水質悪化と変態制御の相関 1

(B) 水質悪化時の再生・ストレス関連因子の発現動態

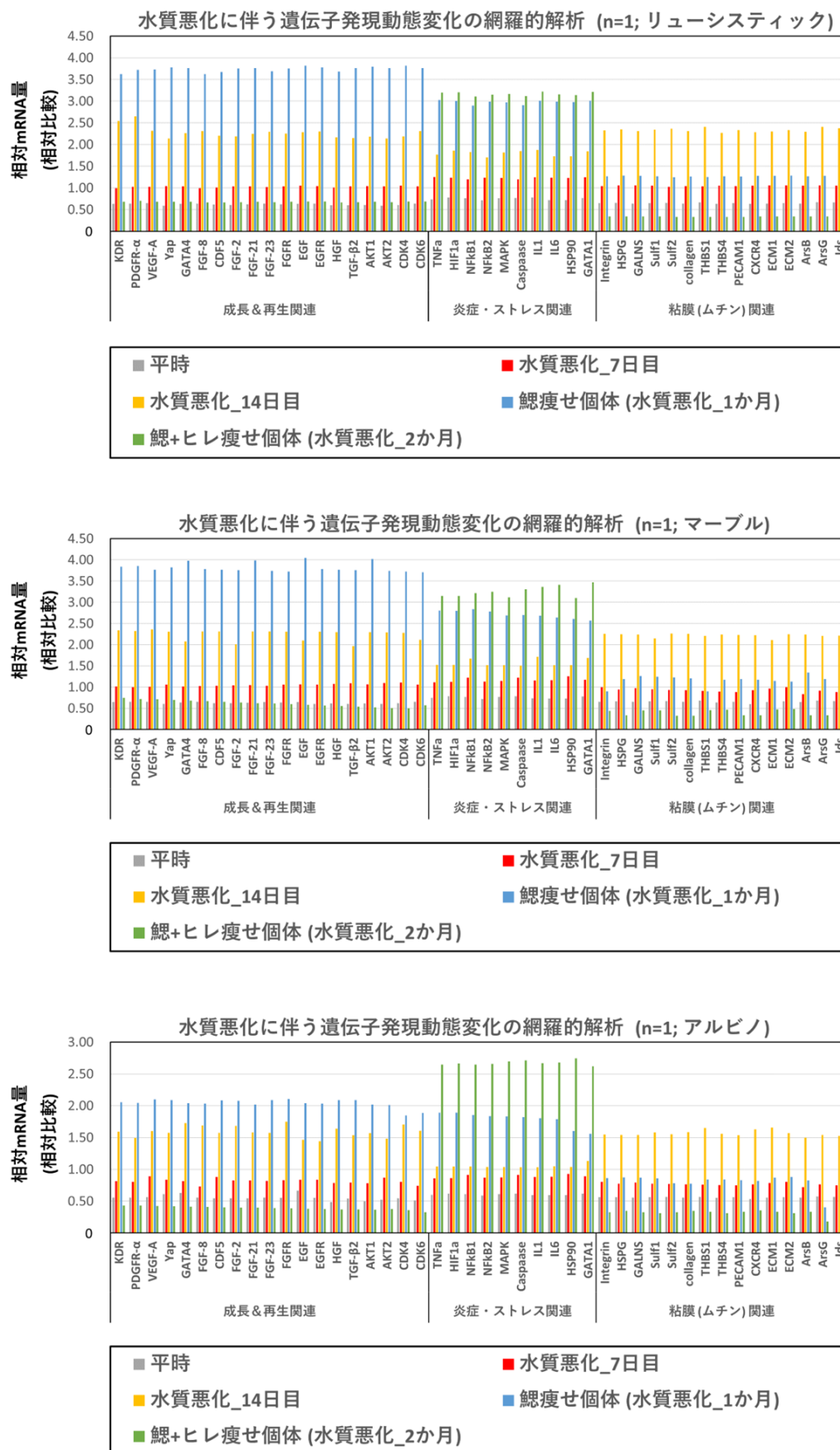


図 24-2: アホロートルの系統ごとにおける水質悪化と変態制御の相関 2

<環境悪化によるストレスと変態促進の機構>

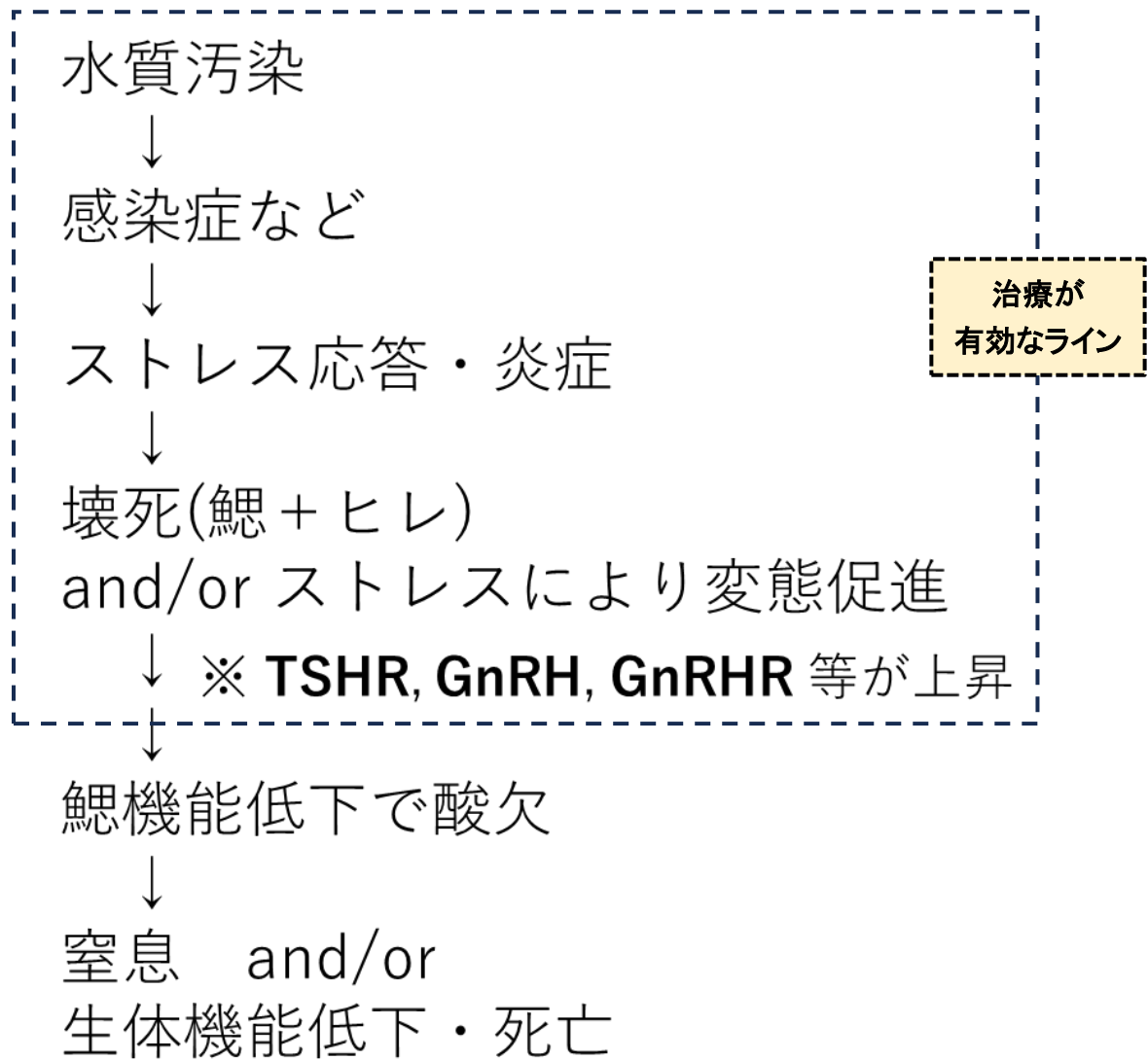
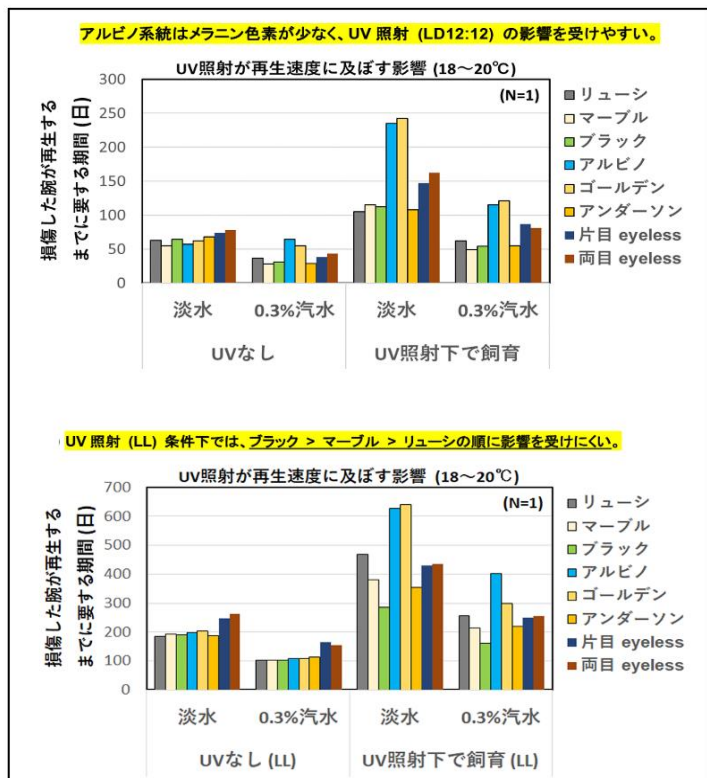


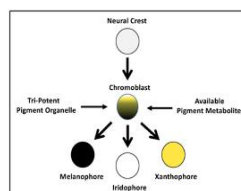
図 25: 水質悪化と変態促進の相関機構予想モデル図



標準系統 (交雑していない、広義には野生型の系統)



アルビノ系統 (タイガーサラマンダーとの交雑)



【野生型体色を構成する色素】

- ・**メラノフォア (黒色素細胞)**... 実際の色素は黒い。光の反射で紫光が見える (金環 ラム)。
- ・**キサントフォア (黄色素細胞)**... 黄色。メラノフォア 近傍で存在し、斑模様を形成する。
- ・**メラノフォア (黒色素細胞)**... 黒色。メラノフォア 同士で隣接する。
- ・**メラノフォア (黒色素細胞)**... 上記3つの色素細胞の元となる細胞 (胚発生過程での神経管由来の細胞)

野生型個体のクロモblastは、均一に3種類の色素細胞へ分化できる能力を持っている (Mirindi et al., 2023)。

メキシコサラマンダーの場合		
	ベアタンク時 (硬度低め)	底砂有り時 (硬度高め)
産卵時 (成体)	淡水~0.30%	淡水~0.40%
卵の孵化 (9割以上)	淡水~0.10%	淡水~0.15%
day30~60 (幼体)	0.10~0.15%	0.10~0.25%
day120以降 (亜成体以降)	0.10~0.20%	0.10~0.30%
※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒玉土) がある方が安定する		
アンダーソンサラマンダーの場合		
	ベアタンク時 (硬度低め)	底砂有り時 (硬度高め)
産卵時 (成体)	淡水~0.20%	
卵の孵化 (9割以上)	淡水	
day30~60 (幼体)	0.05~0.10%	0.05~0.15%
day120以降 (亜成体以降)	0.05~0.15%	0.05~0.20%
※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒玉土) がある方が安定する		
トウブタイガーサラマンダーの場合		
	ベアタンク時 (硬度低め)	底砂有り時 (硬度高め)
産卵時 (成体)	淡水~0.50%	淡水~0.50%
卵の孵化 (9割以上)	淡水~0.25%	淡水~0.30%
day30~60 (幼体)	0.20~0.40%	0.20~0.50%
day120以降 (亜成体以降)	0.20~0.40%	0.20~0.50%
※ いずれも底砂 (ゼオライト + 黒玉土) がある方が安定する		

近縁種: アンダーソンサラマンダー



<http://www.ha.shotoku.ac.jp/~kana/KYO/SEIBUTSU/DOUBUTSU/yousen/anders/02.html>

トウブタイガーサラマンダー (Ambystoma tigrinum)



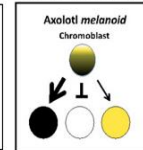
変異体 (モザイク, eyeless)



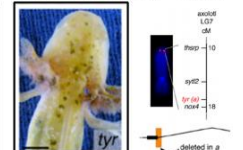
オビタイガーサラマンダー (Ambystoma mavortium)



ゲノム編集によるモザイク系統1 (メラニン過剰 + ラメ抑制 + キサントフォア減少)



ゲノム編集によるモザイク系統2 (tyr欠損 → メラニン蓄積不全 → アルビノ)



アメリカ・テキサス州・メキシコ湾にて釣られた個体 (タイガーサラマンダーの雑種? ネオテニー個体)

参照: <https://www.reddit.com/r/newsokur/comments/>



図 26: アホロートルおよび近縁種の生育環境・制御機構に関する知見の詰め合わせ 2

参考文献

[1] アホロートルおよび近縁種の生態・生息地・最適な水質に関する調査報告 など

[【総説】メキシコサラマンダー および トラフサンショウウオ科の近縁種における生態・生息環境に関する調査報告](#)

[【補足図】アホロートルの生態 生息地に関する知見まとめ+α \(24/1/4 更新; 初稿 24/1/3\)](#)

[総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ② \(2023 年 当ラボメンバーの初学会参加記念 SP\)](#)

[【改訂版】総説: ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 ～飼育の最新情報・学術データまとめ～](#)

[増刊号 \(訂正箇所 + 更新記事のまとめ\) ウーパールーパー / 虫・魚の飼育係 vol.X](#)

[2] 魚類・両生類の体色問題

[カラーメダカ - Wikipedia](#)

[分子内分泌学研究室 - 両生類の体色調節 \(google.com\)](#)

[Morph Guide | Axolotl Central](#)

[エンドセリン \(そばかす形成について\): 花王 | スキンケアナビ | シミ・ソバカスを防ぐケアの研究 \(kao.com\)](#)

https://www.jstage.jst.go.jp/article/endocrine1927/65/12/65_1340/_pdf/-char/ja

[チロシナーゼ \(欠損するとアルビノ\): <https://ja.wikipedia.org/wiki/%E3%82%A2%E3%83%AB%E3%83%93%E3%83%8E>](#)

[Tyrosinase as a multifunctional reporter gene for Photoacoustic/MRI/PET triple modality molecular imaging](#)

https://www.researchgate.net/publication/313090474_Identification_of_Mutant_Genes_and_Introgressed_Tiger_Salamander

[DNA in the Laboratory Axolotl Ambystoma mexicanum](#)

[ルーコサイト \(白血球\) チロシンキナーゼ \(欠損すると黒体色\) \[白血球 - Wikipedia\]\(#\)](#)

[Leukocyte tyrosine kinase functions in pigment cell development - PubMed \(nih.gov\)](#)

[Maps of mitochondrial DNA, Y-chromosome and tyrosinase variation in Eurasian and Oceanian populations \(researchgate.net\)](#)

[ユーメラニン - Wikipedia](#)

https://www.jstage.jst.go.jp/article/suisan/77/4/77_4_578/_pdf/-char/ja

[受容体型チロシンキナーゼ | 一般社団法人 日本血栓止血学会 用語集 \(medical-words.jp\)](#)

<hiroshima-u.ac.jp/system/files/111809/メラニン生成酵素チロシナーゼの詳細な反応機構を解明.pdf>

[3] その他 両性類関連情報・保全活動関連

[オオサンショウウオ - Wikipedia](#) [サンショウウオ - Wikipedia](#)

[オオサンショウウオ／京都府ホームページ \(pref.kyoto.jp\)](#)

[はんだぎセンター | 観光スポット | 岡山観光 WEB【公式】- 岡山県の観光・旅行情報ならココ! \(okayama-kanko.jp\)](#)

[はんだぎセンター | 湯原の観光スポット | 真庭観光 WEB \(maniwa.or.jp\)](#)

[オオサンショウウオ | 動物園の仲間たち | 東山動植物園 \(city.nagoya.jp\)](#)

[野生オオサンショウウオの調査 | オフィシャルブログ | 東山動植物園 \(city.nagoya.jp\)](#)

[オオサンショウウオ生息調査 | オフィシャルブログ | 東山動植物園 \(city.nagoya.jp\)](#)

[絶滅危惧のサラマンダーを救えるか、紙幣にもなったメキシコ文化を象徴する生物 - basswave.jp](#)

[ウーパールーパーが2年で絶滅の危機か、科学者らが再生に尽力 | ロイター \(reuters.com\)](#)

[住み家なきメキシコの象徴 ウーパールーパーの危機 - 日本経済新聞 \(nikkei.com\)](#)

[2022/02/18 ロイター通信「黒いウーパールーパーを放流、メキシコ」Video Ad \(youtube.com\)](#)

[ウーパールーパーを守ろう! メキシコで保護イベント 写真 12 枚 国際ニュース:AFPBB News](#)

[「水の怪獣」ウーパールーパーが絶滅の危機に、メキシコ 写真 16 枚 国際ニュース:AFPBB News](#)



[4] メキシコサラマンダー

【研究報告】メキシコサンショウウオの生活環における汽水環境の重要性

杉山 遥 ほか 2023 年 10 月 28 日 Doi: https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/43901721

[Axolotls - Genetics and Colour](#)

[ウーパールーパーの飼い方・簡単に飼うポイントを考える | 東京アクアガーデン \(t-aquagarden.com\)](#)

[White locus corresponds to edn3. \(A\) Mapping of white mutant phenotype... | Download Scientific Diagram \(researchgate.net\)](#)

[A color atlas of pigment genes in the Mexican axolotl \(*Ambystoma mexicanum*\) - ScienceDirect](#)

Identification of Mutant Genes and Introgressed Tiger Salamander DNA in the Laboratory Axolotl, *Ambystoma mexicanum*.

Ryan et al., Sci. Rep. 2016.

Doi:https://www.researchgate.net/publication/313090474_Identification_of_Mutant_Genes_and_Introgressed_Tiger_Salamander_DNA_in_the_Laboratory_Axolotl_Ambystoma_mexicanum?tp=eyJjb250ZXh0Ijp7ImZpcnN0UGFnZSI6Ii9kaXJlY3QiLCJwYXVwIjoiX2RpcmVjdCJ9fQ

黒体色変異 (melanoid) 関連

Mirindi et al., [Genes \(Basel\)](#), 2023 Apr; 14(4): 904. Published online 2023 Apr 13. doi: [10.3390/genes14040904](https://doi.org/10.3390/genes14040904)

[Leukocyte Tyrosine Kinase \(Ltk\) Is the Mendelian Determinant of the Axolotl Melanoid Color Variant - PMC](#)

Axolotl *Leukocyte Tyrosine Kinase (Ltk)* gene (第 14 染色体上)

[Ltk \[nr\]|Alk \[hs\]|AMEX60DD301011957.5 at chr14q:290814202-290972889](#)

[Ltk \[nr\]|Alk \[hs\]|AMEX60DD301011957.6 at chr14q:290814215-290972889](#)

[Ltk \[nr\]|Alk \[hs\]|AMEX60DD301011957.7 at chr14q:290973071-291080681](#)

[Ltk \[nr\]|Alk \[hs\]|AMEX60DD103011957.1 at chr14q:290813408-290897684](#)

[Ltk \[nr\]|Alk \[hs\]|AMEX60DD103011957.2 at chr14q:290813416-290897684](#)

[Ltk \[nr\]|Alk \[hs\]|AMEX60DD301011957.3 at chr14q:290813421-290897684](#)

[Ltk \[nr\]|Alk \[hs\]|AMEX60DD301011957.4 at chr14q:290813436-290988495](#)

Axolotl *edn3* gene (第三染色体上)

[https://genome.axolotl-omics.org/cgi-](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr3p%3A317673530%2D318184771&hgside=69715_5uEAztFIj0qCx310CTXrTpTbcU5J)

[bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr3p%3A317673530%2D318184771&hgside=69715_5uEAztFIj0qCx310CTXrTpTbcU5J](https://genome.axolotl-omics.org/cgi-bin/hgTracks?db=ambMex60DD&lastVirtModeType=default&lastVirtModeExtraState=&virtModeType=default&virtMode=0&nonVirtPosition=&position=chr3p%3A317673530%2D318184771&hgside=69715_5uEAztFIj0qCx310CTXrTpTbcU5J)

Axolotl *tyr* (tyrosinase) gene (第七染色体上)

[Loc108792810 \[nr\]|Tyr \[hs\]|AMEX60DD301050174.1 at chr7q:1076695326-1076710469](#)

[Tyr|AMEX60DD301050174.2 at chr7q:1076695403-1076946417](#)

[Tyr|AMEX60DD301050174.3 at chr7q:1076936316-1076946417](#)

[Tyr3|AMEX60DD201011946.3 at chr14q:287179469-287226726](#)

[Tyr \[hs\]|AMEX60DD301049620.2 at chr7q:857710461-857937634](#)

[Tyr3|AMEX60DD301011946.1 at chr14q:286505452-287226726](#)

[Tyr3|AMEX60DD201011946.2 at chr14q:286505577-287226726](#)

[Tyrp1|AMEX60DD301043361.1 at chr6p:1225534073-1225543009](#)

[Tyrp1|AMEX60DD301043361.2 at chr6p:1225534111-1225543009](#)

[Tyr \[hs\]|AMEX60DD301049620.1 at chr7q:857710461-857937634](#)



[Tyr \[hs\]||AMEX60DD201049620.3 at chr7q:857710473-857937499](#)

[Loc100158309 \[nr\]||Tyr \[hs\]||AMEX60DD201050173.1 at chr7q:1076183016-1076278310](#)

[Loc100158309 \[nr\]||Tyr \[hs\]||AMEX60DD201050173.2 at chr7q:1076183016-1076278310](#)

[Tyr|AMEX60DD301050176.1 at chr7q:1077558977-1077575341](#)

[41598_2017_59_MOESM1_ESM.pdf \(springer.com\)](#)

[Ambystoma mexicanum tyrosinase gene, complete cds - Nucleotide - NCBI \(nih.gov\)](#)

[5] アンダーソンサラマンダー

[アンダーソンサラマンダー Ambystoma andersoni 【アクアフィールド】熱帯魚・水草の通信販売 | 商品詳細 \(aquafield.jp\)](#)

[Taxonomy browser \(Ambystoma andersoni\) \(nih.gov\)](#)

メキシコ・サカプ湖に生息

[Zacapu - Wikipedia](#)

[Zacapu Lagoon - Wikipedia](#)

[Mexico Map - Guide of the World](#)

[6] タイガーサラマンダー

[Eastern Tiger Salamander, Ambystoma tigrinum tigrinum \(ohioamphibians.com\)](#)

https://researchmap.jp/HAL_lab_Axolotl/published_papers/43949012

[7] アホロートルにおける概日リズム (体内時計) と時計遺伝子に関する報告

[アホロートルにおける睡眠と成長および概日リズムの関係性](#)

[経過報告: アホロートルにおける睡眠・成長・概日リズムを制御する遺伝子群の網羅的解析](#)

[ウーパールーパーの睡眠 \(FBS 博士勉強会・研究発表資料\)](#)

奥付

ウーパールーパーだより vol 4.0

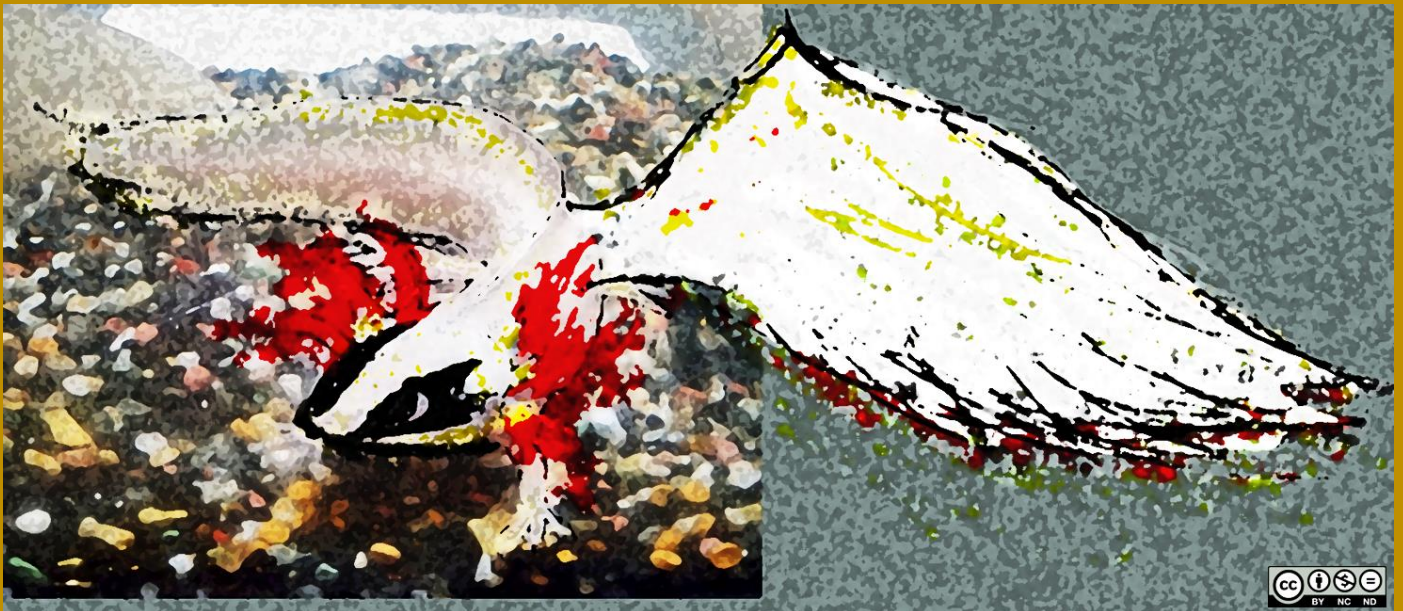
発行日・・・ 2023/1/12

編集・著者 杉山 遥 (PN; Ph.D) ほか

発行元 ウーパールーパー研究室_はるらぼ, HAL_Lab_Axolotl

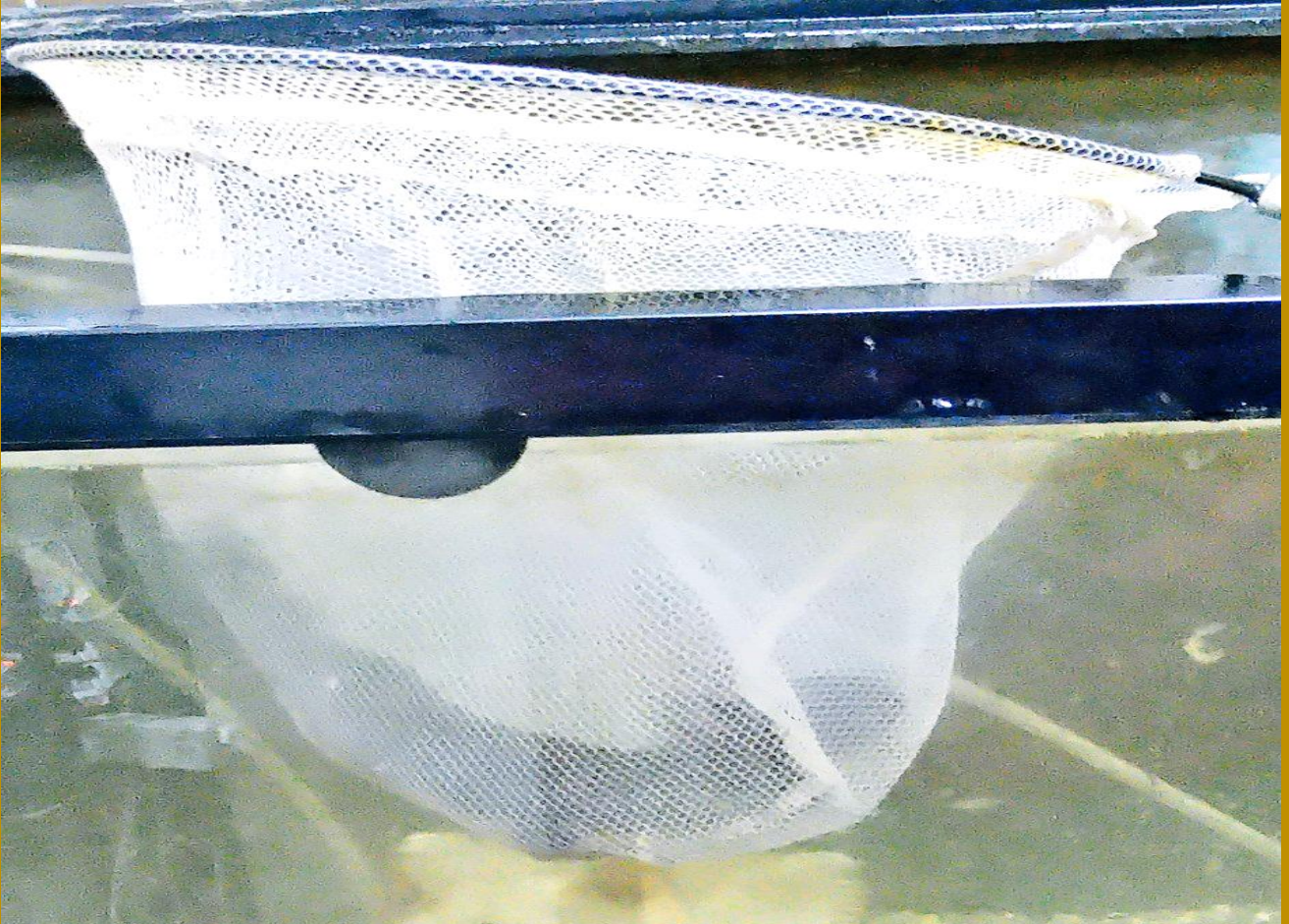
問い合わせ先 sugiyama.haruka.axolotl@gmail.com または Twitter の DM へ

Twitter URL https://twitter.com/lab_new2 (@lab_new2)



良く学び、良く知ろう。

by 杉山 遥



ウーパールーパー研究室・はるらぼ

sugiyama.haruka.axo1tl@gmail.com

since 2020～ (@lab_new2)

Twitter(X): https://twitter.com/lab_new2



※注意

本誌の許可なき改変・商業利用は、
我々は一切認めておりません。

