

令和元年6月5日現在

機関番号：34504

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2017～2018

課題番号：17H07279

研究課題名(和文) ミナミヤモリにおける性染色体と性決定機構の進化過程の解明

研究課題名(英文) Study on evolution of sex chromosome and sex determination system in Hokou gecko

研究代表者

松原 和純 (Kazumi, Matsubara)

関西学院大学・理工学部・助教

研究者番号：90399113

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,100,000円

研究成果の概要(和文)：ミナミヤモリにおける性染色体(ZZ/ZW型)の進化過程を解明することを目的として、性染色体連鎖遺伝子ACO1、DMRT1についてZとWホモログの塩基配列の同定を試みた。その結果、形態的に分化した性染色体をもつ沖縄本島産の個体群では両遺伝子でZとWホモログ間の分化が生じている事が明らかとなった。一方、未分化な性染色体をもつ石垣島産個体群ではDMRT1のみにZとWホモログ間の分化が同定され、ZとWホモログ間の塩基配列の多型は両島間で保存されていた。これらの事から、両個体群の共通祖先においてDMRT1の対立遺伝子が分化したことでZとW染色体への分化が始まり、遺伝性決定が確立されたと推測された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

沖縄本島産と石垣島産ミナミヤモリの性染色体の比較解析から、両島の個体群の性染色体は共通祖先に端を発し、各島に個体群が定着した後に独自の構造変化を蓄積したことが示唆された。島嶼など小さな隔離地域に生息する個体群では独自の性決定様式や生物学的特徴を獲得した可能性があり、これら隔離個体群の調査や保護の重要性が示される。ミナミヤモリの性染色体の分化の開始には、脊椎動物の性分化関連遺伝子であるDMRT1の対立遺伝子間での分化が切掛となったことが示唆された。この事は、脊椎動物の性染色体は多様な起源を持ちつつも、その誕生には性分化関連遺伝子の収斂進化といった共通原理があることを支持する。

研究成果の概要(英文)：Hokou gecko exhibits genotypic sex determination with ZZ/ZW sex chromosome. In this study, to infer the evolutionary process of the sex chromosomes, sequences of Z and W homologs of two sex chromosome-linked genes, ACO1 and DMRT1, were analyzed for two populations of Hokou gecko, the populations from Okinawa and Ishigaki islands. The former population has morphologically differentiated ZW chromosomes and the latter has undifferentiated ZW chromosomes. Sequences of ACO1 were differentiated between the Z and W homologs in Okinawa population while those were identical between the Z and W homologs in Ishigaki population. In contrast, sequences of DMRT1 were differentiated between the Z and W homologs in commonly both populations. These results suggest that an initial step of sex chromosome differentiation was allelic differentiation of DMRT1 (a sex determining gene in Vertebrate) in the common ancestor. Then, inversions independently occurred in the W chromosome of Okinawa population.

研究分野：細胞遺伝学

キーワード：性染色体の分化 ヤモリ 収斂進化 性決定遺伝子 DMRT1

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

我々ヒトを含む哺乳類や鳥類では個体の性は遺伝的に決定され(遺伝性決定、GSD: genotypic sex-determination) 性決定に関わる染色体は性染色体と呼ばれる。哺乳類は雄ヘテロ型 (XX/XY 型) の性決定様式をもち、鳥類はそれとは反対の雌ヘテロ型 (ZZ/ZW 型) の性決定様式をもち、一方、脊椎動物全体に目を向けると GSD 以外に個体のおかれた環境によって性が決まる種も見られる。代表例として、爬虫類で見られる温度依存性決定 (TSD: temperature-dependent sex-determination) が挙げられ、TSD では卵の温度によって性が決まる。爬虫類においてはワニ目の全種、ムカシトカゲ目の全種、カメ目の多くの種、有鱗目の一部の種が TSD をもち、これらの種では核型に雌雄差はみられない。その他の種では遺伝的に性が決定され、カメ目と有鱗目には TSD、雄ヘテロ型 GSD、雌ヘテロ型 GSD を持つ種が混在しており、系統分化の様々な段階で性決定様式の変遷が起きたと考えられる。脊椎動物における性決定機構に着目すると、これまでに哺乳類(単孔類を除く)、鳥類、両棲類のアフリカツメガエル、魚類9種で性決定遺伝子が同定されている。それに対して、当研究分野において長年にわたり注目を集めてきた分類群であるにも関わらず、爬虫類においては性決定機構や性決定遺伝子は明らかにされていない。

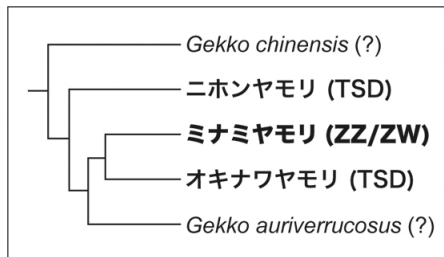


図 1. *Gekko* 属 5 種の系統樹と性決定様式。系統樹は Pyron et al. (2013) を参考に作成。

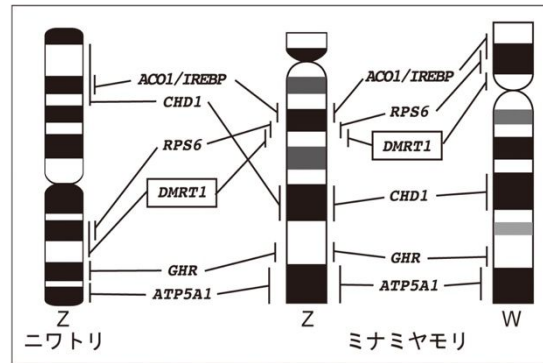


図 2. ミナミヤモリとニワトリにおける性染色体の比較地図。Kawai et al. (2009) より改変。

2. 研究の目的

本研究課題では、琉球諸島に生息する有鱗目ヤモリ科の 1 種ミナミヤモリ (*Gekko hokouensis*) における性染色体の進化過程や性決定機構を解明することを目的とする。ミナミヤモリを研究対象とすることには、進化生物学的に二つの大きな興味深い点がある。一つは、ミナミヤモリの近縁種であるニホンヤモリ (*Gekko japonicus*) とオキナワヤモリ (*Gekko* sp.) が TSD を持つことである。図 1 において、これら 3 種の外群にあたる種の性決定様式は不明であるが、系統樹に沿って推定するとミナミヤモリの系統において比較的最近に ZW 型の GSD に変遷した可能性が高い。そのことから、ミナミヤモリを研究することで温度依存性決定から遺伝性決定への変遷メカニズムを解明できると期待される。

もう一つの興味深い点は、図 2 に示されるようにミナミヤモリの性染色体はニワトリの性染色体と相同性を持つことである。ヤモリ科と鳥類は遠縁な関係にあるので、同じ常染色体が性染色体に収斂進化したと推定される。図 2 において四角で囲った DMRT1 遺伝子はニワトリにおける性決定遺伝子の最有力候補として考えられており (Smith et al. 2009)、また、魚類のニホンメダカと両棲類のアフリカツメガエルにおいては各系統で DMRT1 の重複遺伝子が独自に性決定遺伝子に進化したことが判明している (Matsuda et al. 2002, Yoshimoto et al. 2008)。ミナミヤモリの Z と W 染色体間では逆位が生じており、DMRT1 は逆位が生じた領域に位置する (図 2)。仮にミナミヤモリにおいて DMRT1 が性決定を担っているのであれば、染色体構造変化によって DMRT1 の Z と W ホモログ間で配列や機能の分化が誘引されたと推定され、非常に興味深い事例となる。

3. 研究の方法

(1) 先行研究において性染色体上に同定された遺伝子の Z と W ホモログの塩基配列の決定
沖縄本島産ミナミヤモリ雄 4 個体、雌 6 個体および石垣島産ミナミヤモリ雄 3 個体、雌 1 個体の肝臓からゲノム DNA を抽出した。

先行研究においてミナミヤモリの性染色体に 6 つの遺伝子、ACO1、RPS6、DMRT1、CHD1、GHR、ATP5A1 が同定されており、そのうち ACO1、RPS6、DMRT1 が Z と W 染色体間で逆位が生じた領域に位置する (図 2)。これらの遺伝子のマッピングに用いられた cDNA クローンは精巢から単離されたので、Z ホモログである (Kawai et al. 2009)。そこで、各遺伝子についてイントロンを挟むように設計したプライマーを用いて PCR を行い、Z と W ホモログ間でのイントロンの多型を利用して W ホモログの配列を同定した。

(2) 精巢および卵巣由来転写産物の次世代シーケンス解析

石垣島産ミナミヤモリ雄 1 個体の精巢と雌 1 個体の卵巣から total RNA を抽出し、次世代シー

ケンサーを用いて de novo transcriptome 解析を行った。精巣と卵巣で発現する転写産物から上記 6 つの性染色体連鎖遺伝子を同定し、精巣由来ホモログと卵巣由来ホモログの間における塩基配列の差異や、沖縄本島産ミナミヤモリの配列との差異を解析した。

4. 研究成果

(1) AC01、RPS6、DMRT1 についてイントロンを挟むように複数のプライマーペアを設計し、沖縄本島産ミナミヤモリの雄、雌のゲノム DNA に対して PCR を行った。その結果、AC01 の PCR 産物の電気泳動において雄では 1 本のバンドが見られたのに対して雌では 2 本のバンドが観察された(図 3)。雌雄に共通するサイズの PCR 産物は Z ホモログ、雌に特異的な PCR 産物は W ホモログに由来し、AC01 は Z と W ホモログ間で分化が生じている事が明らかとなった。Z と W ホモログ間で配列を比較した結果、89.1%の相同性が見られた。また、ニホンヤモリの相同配列とも比較したところ、W ホモログの配列の方が祖先配列に類似していることが推定された。一方、RPS6 については Z と W ホモログ間で多型は検出されなかった。また、DMRT1 の PCR 産物の電気泳動において雌特異的な PCR 産物は検出されなかったが、PCR 産物の塩基配列を解読したところ、第 3 エクソンに一つの雌特異的な塩基置換が同定された。従って、DMRT1 の Z と W ホモログ間で分化が生じている事が明らかとなった。通常、塩基配列の進化はエクソンよりもイントロン領域の方で速く進む。DMRT1 の Z と W ホモログ間では分化が生じているが、その塩基配列や遺伝子構造の差異は小さいと予想された。また、AC01 は W 染色体短腕の末端領域に位置し、その領域以外では Z と W 染色体間の塩基配列の分化はあまり進んでいないと考えられる。

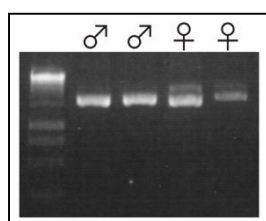


図 3. AC01 増幅産物の電気泳動

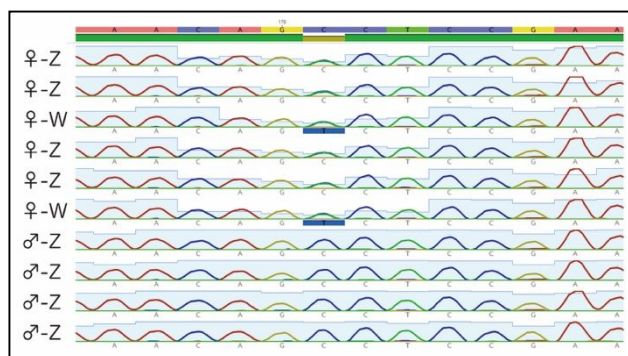


図 4. DMRT1-Z と W ホモログに同定された 1 塩基多型

(2) 石垣島産個体のゲノム DNA に対しても同様に PCR を行い、増幅産物の塩基配列を解読した結果、沖縄本島産個体とは異なり AC01 の PCR 産物に雌特異的な増幅産物は同定されなかった。一方、DMRT1 については沖縄本島産個体と同様に、Z と W ホモログ間において第 3 エクソンに塩基置換が同定された。また、塩基置換の位置とパターンは 2 個体群間で保存されていた。

(3) 石垣島産個体の transcriptome データから、ATP5A1 を除く 5 つの遺伝子の転写産物が同定された。5 つの遺伝子について両島の個体間で部分塩基配列を比較した結果、AC01 を除く 4 つの遺伝子は同一であった。石垣島産の個体群では Z と W 染色体の形態的分化が生じていない。本研究から推定されるミナミヤモリの性染色体の進化過程として、まず両個体群の共通祖先において DMRT1 の対立遺伝子間で配列が分化したことで Z と W 染色体への分化が起こり、ミナミヤモリの遺伝性決定が確立されたと推測された。その後、各島に個体群が定着した後に、沖縄本島の個体群では W 染色体に構造変化が生じ、AC01 遺伝子周辺領域の分化が進んだと推定された。この事から南西諸島の各島々の個体群で独立して性染色体の分化が進んだことも予想され、今後、他島の個体群の調査に興味を持たれる。

DMRT1 の機能は脊椎動物で保存されており、DMRT1 が高発現すると未分化生殖腺が精巣へと分化する。両個体群の共通祖先において DMRT1 の対立遺伝子間の分化が起きたことから、ニワトリと同様にミナミヤモリにおいても DMRT1 が性決定の主要な役割を果たしていることが示唆された。

< 引用文献 >

- Kawai et al. (2009) Chromosoma, 118: 43-51.
- Matsuda et al. (2002) Nature, 417: 559-563.
- Nomura et al. (2013) Nature Communications, 4: 2206.
- Pyron et al. (2013) BMC Evolutionary Biology, 13: 93.
- Smith et al. (2009) Nature, 461: 267-271.
- Yoshimoto et al. (2008) PNAS, 105: 2469-2474.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計2件)

Kazumi Matsubara: Evolutionary process of sex chromosomes and sex determination systems in reptiles. Chromosome Science, 査読無し, 2019, 印刷中.

Kazumi Matsubara, Yoshinori Kumazawa, Hidetoshi Ota, Chizuko Nishida, Yoichi Matsuda: Karyotype analysis of four blind snake species (Reptilia: Squamata: Scolecophidia) and karyotypic changes in Serpentes. Cytogenetics and Genome Research, 査読あり, Vol.157, 2019, 98-106.

DOI: 10.1159/000496554

〔学会発表〕(計3件)

松原和純: 性染色体相同性の種間比較から推定される爬虫類における性決定様式の進化. 第6回生殖若手の会, 筑波大学下田臨海実験センター, 2018年3月2日.

松原和純: 性染色体相同性の種間比較から推定される爬虫類における性決定様式の進化 ~多細胞生物における性決定システムの多様性と進化~. 2017年度生命科学系学会合同年次大会ワークショップ講演, 神戸ポートアイランド, 2017年12月8日.

松原和純: 爬虫類におけるゲノム構造および性染色体の進化. 染色体学会第68回年会学会賞受賞講演, 広島大学, 2017年10月5日.

〔図書〕(計1件)

田中実(編著) 大久保範聡、宮副大地、三浦郁夫、伊藤道彦、松原和純、戸張靖子、金井克晃、平松竜司、菊水健史、深見真紀、勝間進、赤木剛士、菊池潔(著)、一式出版、遺伝子から解き明かす性の不思議な世界、2019年、544ページ

〔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:
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:
国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名:

ローマ字氏名:

所属研究機関名:

部局名:

職名:

研究者番号(8桁):

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。