

令和 2 年 6 月 2 日現在

機関番号：22604

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2017～2019

課題番号：17K19430

研究課題名(和文) ショウジョウバエにおけるアキアズミーの遺伝基盤とその進化

研究課題名(英文) Genetic mechanism and evolution of achiasmy in *Drosophila*

研究代表者

田村 浩一郎 (Tamura, Koichiro)

首都大学東京・理学研究科・教授

研究者番号：00254144

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 5,000,000円

研究成果の概要(和文)：ショウジョウバエでは、一般に雄で減数分裂組換えが起こらないアキアズミーが観察される。アカショウジョウバエでも雄組換えは起こらないが、姉妹種のテングショウジョウバエでは雄組換えが起こることが知られている。本研究は、それら2種の雑種を調べ、雑種ではアカショウジョウバエ同様、雄組換えが起こらないことを明らかにし、遺伝的に優性な雄組換え抑制機構の存在を示唆した。また、2種の雑種では性染色体不分離が高頻度で生じることを発見した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

減数分裂組換えには、ゲノムの修復や遺伝的多様性の創出・維持などの生物学的意義があるが、性分化のための性染色体の進化を阻害する副作用もある。多くの生物群では、X染色体とY染色体のような異形性染色体を持つ性でのみ減数分裂組換えを抑制するアキアズミーによって減数分裂組換えと性染色体進化のジレンマを解決している。本研究の学術的意義はアキアズミーの分子機構の解明によって性染色体の進化の仕組みの理解を深めることにある。

研究成果の概要(英文)：In *Drosophila*, meiotic recombination does not generally occur in males. However, it has been known that meiotic recombination occurs in *D. nasuta* males, whereas it does not occur in its sibling species, *D. albomicans*. In this research project, examining male meiotic recombination in their F1 hybrids, we found that meiotic recombination does not occur in the F1 hybrids, suggesting a genetically dominant mechanism of suppressing meiotic recombination in males. We also found that sex chromosome disjunction occurs at a high frequency in the hybrid males.

研究分野：分子進化遺伝学

キーワード：減数分裂組換え アキアズミー 染色体不分離 ショウジョウバエ ネオ性染色体

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

有性生殖を行う生物では、生殖細胞（配偶子）を作る際に行われる減数分裂において、母方、父方からそれぞれ受け継いだ相同染色体間で乗り換えが起こり、母親由来の遺伝子と父親由来の遺伝子の間で組換えが生じる。その結果、父親由来のゲノムと母親由来のゲノムが混ぜ合わさり、新たな構成のゲノムが生じて次世代に遺伝する。この減数分裂組換えによって有害な突然変異遺伝子がゲノムから取り除かれ、また集団中の遺伝的多様度が増すなど、減数分裂組換えには生物にとって有益な効果があることが知られている。

一方、性染色体は、雌雄の性分化を司る遺伝機構として広い範囲の生物群で観察することができるが、多くの分類群で常染色体から独立に何回も進化したと考えられている。性染色体が常染色体から進化するためには、例えば X 染色体と Y 染色体が進化する場合、初期の段階で X と Y の間の減数分裂組換えが抑制される必要がある。そうでなければ組換えによって X と Y が混ぜ合わさり分化が妨げられてしまうからである。このように、性染色体による性分化は、有性生殖にとって有益な仕組みであるがゆえ多くの生物群で独立に何回も進化したと考えられるが、同時に減数分裂組換えという、もう一つの重要な仕組みとは両立しない。

そこで、性染色体の分化と減数分裂組換えの折り合いをつけるため多くの生物が採用しているしくみが、X 染色体を 2 本持つ雌では減数分裂組換えを行う一方、X と Y を持つ雄では減数分裂組換えを抑制するアキアズミーや組換え率を雌よりもずっと低く抑えるヘテロキアズミーである。アキアズミーやヘテロキアズミーによって減数分裂組換えの効果は実現され、性染色体の分化も邪魔されずにすむ。アキアズミーやヘテロキアズミーはどのようなしくみによって実現され、どのように進化してきたかを明らかにすることは、減数分裂組換えや性染色体の進化、ひいては性の進化のしくみを理解する上で重要な課題である。

2. 研究の目的

本研究では、性染色体の進化に深く関わるアキアズミーの遺伝的基盤を明らかにするため、シヨウジョウバエで減数分裂組換えが雌のみで起こり雄では起こらないしくみを分子レベルで解明することを目的とした。作業仮説として、雄では減数分裂組換えに必要な分子機構が正常に機能しないのか、雄では減数分裂組換えを抑制する何らかの機構が機能するのか、大きく分けて二つの仮説を設定し、どちらの可能性が高いか検討した。具体的には、雄の生殖細胞形成時に減数分裂組換えが起こらないアカシヨウジョウバエとその姉妹種で減数分裂組換えが起こるテングシヨウジョウバエを交雑し、得られる F1 について、雄個体で減数分裂組換えが起こるかどうかを、戻し交配世代で組換え体の有無を DNA マーカーを用いて調べることにによって検証した。また、次世代 DNA シーケンサーを用いて多数の DNA マーカーを対象にすることにより、組換えが起こる染色体の部位やその頻度を調べ、雄組換えと雌組換えの共通点、相違点を調べ、雄組換えのしくみと雌組換えのしくみの間の関連を明らかにすることを目的とした。さらに、当初目標としては、カシヨウジョウバエ、テングシヨウジョウバエおよびその F1 の精巣から RNA を抽出し、次世代シーケンサーを用いてトランスクリプトーム解析を行うことにより、テングシヨウジョウバエにおける雄組換えおよびアカシヨウジョウバエにおけるアキアズミーの分子メカニズムを明らかにすることも当初目的とした。

3. 研究の方法

(1) 組換え率の測定

アキアズミーの遺伝的基盤を明らかにするため、アカシヨウジョウバエの NG3 系統、HRS402 系統とテングシヨウジョウバエの VNS23 系統、TNR35 系統を交配し、得られた雑種第 1 代 (F1) における減数分裂組換えを親系統に戻し交配して得られる戻し交配第 1 代 (BC1) の雌雄それぞれ 15 または 16 個体のマーカー遺伝子の配列を決定することによって調べた。研究代表者らの唾腺染色体の観察によって、これら 4 系統の間には組換えを抑制する染色体逆位が存在しないことが確認されており、また、マーカー遺伝子の候補になる 53 遺伝子の塩基配列も決定されている (Satomura & Tamura 2016)。本研究では、その中、第 2 染色体上の 4 遺伝子、第 3 染色体 (ネオ性染色体) 上の 5 遺伝子の中、交配した系統の組合せによって両親の染色体が配列の差異によって識別できるものをマーカーとして用いた。また、F1 雄で組換えが起きる場合を想定し、染色体の部分ごとの組換え率を調べるため、アカシヨウジョウバエ HRS402 系統 にテングシヨウジョウバエ TNR35 系統 を交配して得られた F1 を HRS402 に戻し交配して得られた BC1 について、Fluidigm Access Array 48/48 を用いて 24 マーカー遺伝子の PCR を行い、得られた増幅産物の配列を Illumina MiSeq を用いて決定した。さらに染色体部分ごとの雄組換えの率のパターンを雌組換えの場合のパターンと比較するため、同様の実験をアカシヨウジョウバエ NG3 × テングシヨウジョウバエ VNS23 の F1 に VNS23 を戻し交配して得られた BC1 に対しても行った。

(2) 性染色体不分離の測定

本研究では、アカシヨウジョウバエとテングシヨウジョウバエの F1 の組換え率を測る (1) の過程において、本来、生じるはずのない遺伝子型の個体を数多く観察した。このことから、F1 の減数分裂では性染色体の不分離が高頻度で生じることが予想された。そこで、この F1 における性染色体不分離を検証するため、Y 染色体特異的配列のプライマー・セットを設計し、PCR によ

る Y 染色体特異的配列の増幅の有無によって Y 染色体の有無を調べた。性染色体不分離が生じた場合、XXY 型の雌と X0 型の雄が生じるので、雌での Y 染色体の検出と雄での Y 染色体の不検出によって性染色体不分離が示唆される。VNS23 × NG3 の F1 を NG3 に戻し交配して得た BC1 の雌について検証した。

4. 研究成果

(1) アカショウジョウバエとテングショウジョウバエの雑種第 1 代(F1)における減数分裂組換え率測定の結果を表 1 に示す。アカショウジョウバエ、テングショウジョウバエ、それぞれ 2 系統を用いたため、F1 を得るための親系統の組合せは正逆交配を含めて 8 通りあるが、十分な個体数が得られた 4 通りの F1 について組換えの有無を戻し交配第 1 代(BC1)の遺伝子型を塩基配列レベルで調べた。その結果、第 2 染色体、第 3 染色体(アカショウジョウバエでは性染色体と融合したネオ性染色体)いずれにおいても、雄組換えは検出されなかった。この結果は、Fluidigm Access Array 48/48 と Illumina MiSeq DNA シーケンサーを用いて 19 個体 22 マーカー遺伝子から得られた結果でも確認された。これらの結果から、先行研究(Satomura & Tamura 2016)で示されたテングショウジョウバエの雄組換えは姉妹種のアカショウジョウバエとのヘテロ接合体では表現型として表れない劣性形質であることが分かった。一方、アカショウジョウバエの HRS402 系統 × テングショウジョウバエ VNS23 系統 の F1 では第 2、第 3 いずれの染色体においても組換えが観察された。すなわち、雑種では減数分裂組換えの仕組みに障害が生じて雄組換えが起こらなくなったのではなく、雄組換えを抑制する仕組みがはたらいっているためと考えられる。以上の結果から、アキアズミーの背景には、雄組換えを抑制する遺伝学的に優性な分子機構の存在が示唆され、今後、網羅的遺伝子発現解析などによるアキアズミーの分子機構解明に向けた展望が開けたと言うことができる。

表 1. BC1 の組換え体、非組換え数と F1 雄での減数分裂組換え率

親()	親()	第 2 染色体			第 3 染色体/ネオ性染色体		
		r	n/r	R(%)	r	n/r	R(%)
VNS23	F1(NG3 × VNS23) ¹	0	27	0	0	29	0
NG3	F1(VNS23 × NG3) ²	0	27	0	0	31	0
NG3	F1(TNR35 × NG3) ³	0	30	0	0	30	0
HRS402	F1(VNS32 × HRS402) ⁴	—	—	—	0	31	0
F1(VNS23 × HRS402) ⁵	VNS23	2	30	6.7	16	16	50.0

r: 組換え体数、n/r: 非組換え体数、R(%): 組換え率(%)

¹ マーカー遺伝子: 第 2 染色体 *Rrr1*, *Droj2*, 第 3 染色体/ネオ性染色体上 *rry*, *Thiolrse*

² マーカー遺伝子: 第 2 染色体上 *eIF-3p40*, *Sty1*, *Droj2*, 第 3 染色体/ネオ性染色体上 *Trngo7*, *Uch-L3*

³ マーカー遺伝子: 第 2 染色体上 *Rrr1*, *Droj2*, 第 3 染色体/ネオ性染色体上 *rry*, *GstS1*

⁴ マーカー遺伝子: 第 3 染色体/ネオ性染色体上 *Trngo7*, *Uch-L3*

⁵ マーカー遺伝子: 第 2 染色体上 *Tango7*, *Uch-L3*, 第 3 染色体上/ネオ性染色体上 *CaBP1*, *Surf4*

(2) テングショウジョウバエとアカショウジョウバエの F1 をアカショウジョウバエの雌に戻し交配すると、得られる BC1 個体のマーカー遺伝子の遺伝子型は、では全てアカショウジョウバエのアレルのホモ接合体 (a/a) になり、では全てヘテロ接合体 (a/n) になることが期待される(図 1)。ところが、本研究で行った交配実験では、NG3 × VNS23 の F1 を用いたところ 30 個体中 17 個体、VNS23 × NG3 の F1 では 32 個体中 10 個体、TNR35 × NG3 の F1 では 30 個体中 15 個体、VNS23 × HRS402 の F1 では 32 個体中 17 個体の BC1 個体が a/n ヘテロ接合体のまたは a/a ホモ接合体であった。これは、F1 の減数分裂時にテングショウジョウバエの性染色体とアカショウジョウバエの性染色体と第 3 染色体が融合したネオ性染色体が不分離を起こし、XXY 型の および X0 型の が生じたためであると予想された。そこで、これら

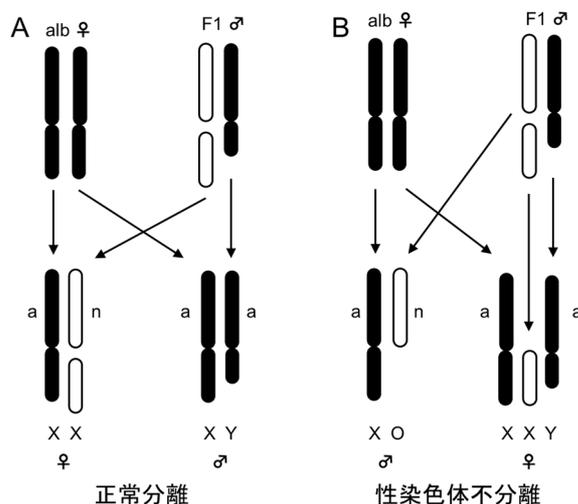


図 1 F1 におけるテングショウジョウバエの X 染色体(白抜き)とアカショウジョウバエのネオ Y 染色体(黒塗り)との正常分離と不分離 a と n はアカショウジョウバエとテングショウジョウバエのマーカーアレルを示す。alb: アカショウジョウバエ

予想外の遺伝子型を示す個体が性染色体不分離によって生じたものであるかどうかを確かめるため、アカショウジョウバエのゲノム塩基配列を基に Y 染色体特異的な配列部分にプライマー・セットを設計し、PCR による Y 染色体特異的配列の増幅の有無を調べた。図 2 は BC1 における Y

a/n a/a a/a a/n a/a a/n a/n a/a M a/a a/a a/n a/a a/n a/a a/a a/n

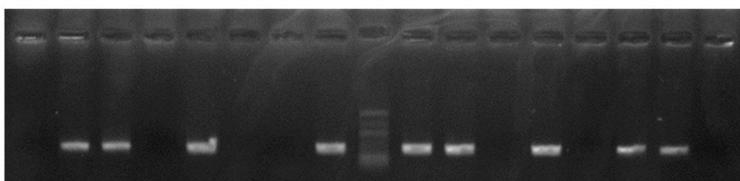


図2 VNS23 ×NG3 の F1 を NG3 に戻し交配して得た BC1 における Y 染色体特異的配列の PCR 増幅産物のアガロース電気泳動像

染色体特異的配列の PCR 増幅産物の電気泳動像を示す。正常に分離が行われた場合に生じる a/n ヘテロ接合型個体では Y 染色体特異的配列の増幅は認められなかったが、a/a ホモ接合型個体では Y 染色体特異的配列の増幅が認められた。この結果から、a/a ホモ接合型個体は、F1 における性染色体不分離によって生じた XXY 性染色体型であることが示唆された。このように、本研究では当初予期していなかった性染色体の不分離がアカショウジョウバエとテングショウジョウバエの F1 において高頻度で生じることが分かった。減数分裂時に生じる染色体不分離はダウン症候群やクラインフェルター症候群などのヒトの遺伝病の原因としても知られており、その分子機構の解明はそれら遺伝病の予防にもつながる重要課題である。本研究で見つかった種間雑種において高頻度で生じる性染色体不分離は、その課題研究に有用な材料となることが期待でき、本研究の大きな成果の一つと言える。

<引用文献>

K Satomura, K Tamura (2016). Ancient male recombination shaped genetic diversity of neo-Y chromosome in *Drosophila albomicans*. Molecular biology and evolution 33:367-374.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 2件）

1. 発表者名 Tamura K
2. 発表標題 Genetic analysis of meiotic recombination in two <i>Drosophila</i> species using their F1 hybrid
3. 学会等名 Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 寺川凌平, 小川佳孝, 野澤昌文, 田村浩一郎
2. 発表標題 RNA-Seq uncovering the genetic mechanism of achiasmy in the <i>Drosophila nasuta</i> subgroup
3. 学会等名 日本進化学会第21回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Inuyama A, Seto Y, Ogawa Y, Nozawa M, Tamura K
2. 発表標題 Genetic mechanism of achiasmy in <i>Drosophila albomicans</i>
3. 学会等名 Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 犬山愛莉香, 小川佳孝, 野澤昌文, 田村浩一郎
2. 発表標題 アキアズミーの進化: テングショウジョウバエ亜群を用いたアプローチ
3. 学会等名 日本進化学会第20回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 犬山愛莉香, 小川佳孝, 野澤昌文, 田村浩一郎
2. 発表標題 アカショウジョウバエにおけるアキアズミーの遺伝機構
3. 学会等名 日本遺伝学会第90回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 犬山愛莉香, 田村浩一郎
2. 発表標題 ショウジョウバエにおけるアキアズミーの遺伝機構
3. 学会等名 日本遺伝学会第89回大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 犬山愛莉香, 田村浩一郎
2. 発表標題 テングショウジョウバエ亜群の2種におけるアキアズミーの進化
3. 学会等名 日本進化学会第19回大会
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
---------	---------------------------	-----------------------	----