

平成 21 年 6 月 5 日現在

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2007～2008

課題番号：19770070

研究課題名(和文) マウス亜種間の生殖隔離に関わる遺伝子群の同定と生殖隔離の遺伝的メカニズムの解明

研究課題名(英文) Study of genetic mechanism of reproductive isolation between house mouse subspecies.

研究代表者

木曾 彩子 (AYAKO KISO) (岡彩子・AYAKO OKA)

大学共同利用機関法人情報・システム研究機構(新領域融合研究センター及びライフサイエンス統合データベースセンター)・新領域融合研究センター・融合プロジェクト特任研究員

研究者番号：80425834

研究成果の概要：生物の種分化において重要な生殖隔離が形成される過程やその遺伝的基盤については未だ明らかでない部分が多い。マウスの亜種分化を例に生殖隔離を研究した本研究では、生殖隔離に関わる X 染色体と常染色体上の遺伝子群の詳細なマッピングに成功し、その遺伝的基盤の解明に一步踏み込むことができた。また、減数分裂期の細胞周期チェックポイント機構が生殖隔離の形成に深く関わっており、このことはマウスのみならず幅広く生物に共通する特徴である可能性がある。

交付額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2007 年度	1,800,000	0	1,800,000
2008 年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	450,000	3,750,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学・生物多様性・分類

キーワード：種分化

1. 研究開始当初の背景

種が形成される過程において、集団間では様々な程度の繁殖障害がおり、これを生殖隔離と呼ぶ。生殖隔離は、集団間の遺伝子の交流を妨げ独自の進化へと導くことから、種分化において最も重要な過程であると考えられている。生殖隔離現象の一つとして Hybrid sterility や Hybrid breakdown があるが、これらは(亜)種間 F1 雑種やその後の雑種世代に見られる繁殖力低下などの現象を指す。興味深いことにこれらの生殖隔離はヘテロガメティックな性に現れる場合が殆どで、哺乳類の場合はオスが影響を受けや

すい。生殖隔離は、雑種の体内で異なる(亜)種由来の遺伝子アレルが同時に存在したときに、遺伝子間不和合が発生しておくと考えられている。遺伝子間不和合が最初に生殖系に現れる理由は、生殖に関わる遺伝子の進化速度が速く、特にオスでは激しい精子競争にさらされていることからその傾向が強いためと考えられている。生殖隔離の研究はショウジョウバエで先行しており、現在までに3つの原因遺伝子が同定されている。これらの遺伝子は進化速度が速いという点では一致しているが機能的な共通性は見つかっていない。哺乳類における生殖隔離の研究は、100 万年前に分岐して生殖隔離が成立してい

るマウス亜種 *Mus musculus domesticus* と *M. m. musculus* を用いて行われたものが多い。これまでのショウジョウバエやマウスなどの研究から、生殖隔離の形成に X 染色体が大きく関わっていることが示されたが、その遺伝的基盤の全容は不明であった。

2. 研究の目的

(1) マウスの亜種分化を研究対象とし、生殖隔離に関わる遺伝子群の同定、および生殖隔離の遺伝的基盤の全容の解明。

(2) 様々な種間雑種の表現型解析を行い、生殖隔離の普遍的特徴を見つけ出すことから生殖隔離の成立過程を推測する。

3. 研究の方法

(1) **B6-ChrX^{MSM} 系統を用いた研究**
ゲノムの大半が *M. m. domesticus* 由来である実験用系統 C57BL/6J(B6)と、*M. m. musculus* の近縁亜種 *M. m. molossinus* 由来の MSM/Ms(MSM) 系統の間に成立している生殖隔離を対象として研究を行った。実際には B6 系統の遺伝的背景に MSM 系統の X 染色体を導入して作製されたコンソミック系統 B6-ChrX^{MSM} で、オスの生殖能力が欠失することを利用し、その原因遺伝子の探索を行った。また、詳細な表現型解析を行い、生殖隔離の形成過程について推察を行った。

(2) **PGN-ChrX^{MSM} 系統や種間・亜種間 F1 雑種を用いた研究**

B6-ChrX^{MSM} 系統の研究であきらかになった現象が、生殖隔離が成立している他の(亜)種間雑種においても共通しているかどうかを調べた。またこれにより生物全体に共通する生殖隔離のメカニズムの推測を試みた。

4. 研究成果

(1) **B6-ChrX^{MSM} 系統の生殖隔離の原因遺伝子領域の特定**

以前の研究成果より、B6-ChrX^{MSM} 系統の精子形態異常や精巣重量低下の原因遺伝子が X 染色体上に存在することが QTL 解析により示されていたが、同染色体上に複数の原因遺伝子が存在していたため、QTL 解析によって原因遺伝子の詳細な位置を特定することは困難であった。そこで、X 染色体を二分してそれぞれセントロメア側に MSM 系統由来の染色体領域を持った B6-XC 系統と、テロメ

ア側に MSM 系統由来の染色体領域を持った B6-XT 系統を利用して、新たにマッピング用の個体を作製した。これらの個体を用いて QTL 解析することで、図 1 にあるようにそれぞれの原因遺伝子のより詳細な染色体上の位置が示され、精子形態異常の原因遺伝子の一つは、マイクロサテライトマーカー *DXMit81* 付近、そしてもう一つは *DXMit4* 付近に候補領域が絞られた。これらの染色体領域は非常に特殊な構造をしており、含まれる遺伝子は増幅してクラスターを形成し、精子形成期に高発現しているものが多い。このことから、B6-ChrX^{MSM} 系統の生殖隔離が、特定の遺伝子のアリル多型によるものではなく、特定の染色領域全体の発現調節の違いが原因である可能性が示唆された。また、これらの染色体領域は常染色体の 1 番、11 番染色体と強い相互作用を持つことが示された。従って、B6-ChrX^{MSM} 系統のオスに見られる精子の異常形態は、1 番、11 番、X 染色体間の相互作用が、亜種の異なるゲノムが混ざったことにより破綻して起こると考えられる。

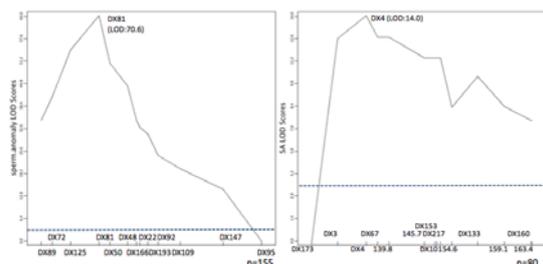


図 1 精子形態異常の QTL 解析結果。左図は X 染色体のセントロメア側に限局した解析結果、右図はテロメア側に限局した解析結果を示す。

(2) **B6-ChrX^{MSM} 系統の精子形成における減数分裂期の表現型**

B6-ChrX^{MSM} 系統には、顕著な精子数の減少が見られるが、これは減数分裂期の異常に起因している。そこで減数分裂期の表現型を詳細に調べたところ、体細胞分裂から減数分裂への移行が顕著に抑制されていることが分かった(図 2)。また、減数分裂に移行できた一部の精母細胞は、相同染色体間のシナプス形成を行う第一分裂のパキテン期において、シナプス形成異常を起こし(図 3)、異常な精母細胞はアポトーシスにより除かれることが分かった。B6-ChrX^{MSM} 系統で異常が見られた発生ステージは、いずれもチェックポイントと呼ばれる細胞周期のモニタリング機構が存在するステージと一致していた。

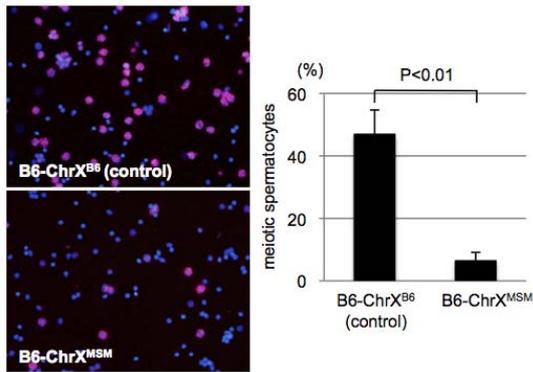


図2 左写真上はコントロール、左写真下は B6-ChrX^{MSM} 系統の精巢の細胞を用いた免疫染色実験の結果。ピンク色は第一減数分裂前期に発現する SCP3 を発現している核を示す。ヘキスト (青色) で核の対比染色を行った。右図は、SCP3 を発現している細胞の割合。B6-ChrX^{MSM} 系統では極端に SCP3 陽性の精母細胞が少ない。

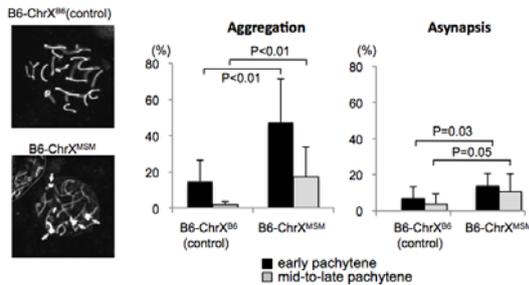


図3 左写真上はコントロール、左写真下は B6-ChrX^{MSM} 系統の精母細胞を、SCP3 抗体を用いて免疫染色した結果。B6-ChrX^{MSM} 系統の SCP3 のシグナルには凝集が多く見られる。グラフ左とグラフ右はそれぞれ SCP3 の観察による、凝集と不対合部分の割合。B6-ChrX^{MSM} 系統で、シナプス異常が多いことが分かる。

(3) その他の (亜) 種間雑種における減数分裂期の表現型。減数分裂チェックポイント機構と生殖隔離との関連性

B6-ChrX^{MSM} 系統の遺伝的背景として用いた B6 系統は、少ない割合ながら *M. m. domesticus* 以外の亜種のゲノムを含んでいる。そのため、B6-ChrX^{MSM} 系統の生殖能力欠失が、親系統の由来となっている亜種同士の生殖隔離を反映したものかどうかは不明であった。そこで、野生の *M. m. domesticus* 由来である PGN 系統を利用してコンソミック系統 PGN-ChrX^{MSM} 系統を新たに作製した。B6-ChrX^{MSM} 系統と同様、PGN-ChrX^{MSM} 系統でもオスの生殖能力欠失が再現された。しかし、B6-ChrX^{MSM} 系統と異なり減数分裂期への移行は正常であり、むしろ第一分裂間期においてアポトーシスが亢進していた。次に B6 系統と、別種の *M. spretus* との F1 雑種を観察したところ、第一減数分裂の間期にアポトーシスの亢進がみられた。また、B6 と野生 *M. m. musculus* 由来の NJL 系統との F1 雑種を観察したところ、今度はパキテン

期にアポトーシスの亢進がみられた。以上の結果を総合すると、雑種に見られる精子形成の障害は、減数分裂チェックポイントが存在する減数分裂移行時 (premeiotic G1/S 期)、パキテン期、第一分裂間期の 3 点に収束し、チェックポイント機構と生殖隔離の関係性が浮かび上がってきた (図 4)。

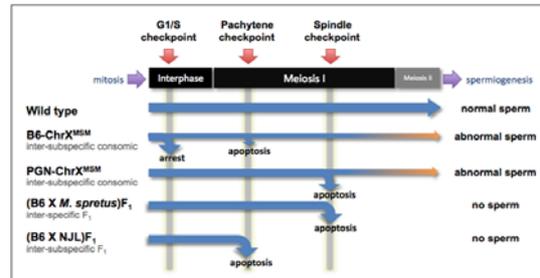


図4 (亜) 種間雑種の細胞周期アレストのみられるステージ。いずれの場合も減数分裂チェックポイントが存在しているステージでアレストやアポトーシスが起きていることが分かる。

(4) まとめ

哺乳類の生殖隔離は殆どの場合、オスにおこる。これを説明するために今までに提唱された説は主に、「オスにより強い性選択の圧力がかかっている」ことと、その結果「オスの生殖関連遺伝子の進化速度が加速し、その多くが X 染色体に集まる」ことで説明されてきた。しかし本研究から、種間雑種の異常と減数分裂期のチェックポイントとの関連が示唆された。減数分裂期に異常をおこすマウス突然変異系統などの研究から、減数分裂のチェックポイント機構は、オスでより厳密に制御されていることが知られている。このことから、生殖隔離のオス特異性が説明できると考えられる。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 0 件)

[学会発表] (計 4 件)

① 木曾彩子 (岡彩子)、城石俊彦、Meiotic cell-cycle arrests sensing biodiversity: spermatogenesis failure serves as reproductive barrier in mouse speciation 日本発生学会第 42 回大会 2009 年 5 月 29 日 新潟

② 木曾彩子 (岡彩子)、高田幸、古関明彦、森脇和郎、城石俊彦、マウス亜種間における生殖隔離と減数分裂期のチェックポイント機構との関連 日本遺伝学会第 80 回大会 2008 年 9 月 3 日 京都

③ 木曾彩子 (岡彩子)、高田幸、古関明彦、三田旻彦、森脇和郎、城石俊彦、Genetic

Study of the Reproductive Isolation between Two Mouse Subspecies, *Mus musculus domesticus* and *M. m. molossinus* 第20回国際遺伝学会 (20th International Congress of Genetics) 2008年7月16日 ベルリン (ドイツ)

④木曾彩子 (岡彩子)、高木信夫、森脇和郎、城石俊彦、Meiotic arrest in males of the B6.XMSM consomic strain 第21回国際哺乳動物ゲノム学会 (21st International mammalian genome conference) 2007年10月30日 京都

〔図書〕 (計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計0件)

○取得状況 (計0件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

木曾 彩子 (AYAKO KISO) (岡 彩子・AYAKO OKA)

大学共同利用機関法人情報・システム研究機構 (新領域融合研究センター及びライフサイエンス統合データベースセンター)・新領域融合研究センター・融合プロジェクト特任研究員

研究者番号：80425834