

令和 6 年 6 月 20 日現在

機関番号：13801

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2021～2023

課題番号：21K05626

研究課題名(和文)「メス化遺伝子」がオスで発現しても正常に「オス化」できる分子制御機構とは？

研究課題名(英文) The molecular regulatory mechanism that enables normal male development even if the feminizer gene is expressed in males

研究代表者

後藤 寛貴 (Gotoh, Hiroki)

静岡大学・理学部・助教

研究者番号：60737899

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,300,000円

研究成果の概要(和文)：本課題では、昆虫のメス化遺伝子のtransformerを研究した。一般的に昆虫では、メスでは機能的なTraタンパクを発現しメス化を誘導する。一方、オスでは非機能的なタンパクしか発現せず機能を持たない。しかし研究代表者はクワガタムシ科の1種において、雌雄の両方で同じ機能的なTraが発現することを発見した。そこで、オスで機能的なTraを発現しながら、正常にオス分化が起こる機構の解明に取り組んだ。結果、下流遺伝子のdsxの発現パターンや、コファクターのtra2の発現は一般的なパターンであると確かめられた。これらの結果より、雌雄での機能の有無の制御は、翻訳時の制御の差である可能性が見いだされた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では昆虫の性決定の多様性の解明に繋がる。性決定メカニズムの解明は、発生生物学の重要なトピックであるばかりでなく、農業害虫の防除や制御の上でも重要な標的経路である。昆虫の性決定経路の最上流因子は分類群ごとに多様である。一方で、本研究で着目した遺伝子であるtransformerを含む下流因子群は比較的保存性が高かった。しかしながら本研究では、クワガタムシ科のある種では下流因子群のtransformerで、完全変態昆虫ではこれまで知られていない発現パターンを示すことを発見し、その仕組みを研究することで、性決定経路の知られざる多様性の1つを明らかにしたと言える。

研究成果の概要(英文)：In this project, we studied insect feminization gene transformer (tra). Generally, in insects, females express functional Tra proteins to induce female development via sex-specific alternative splicing. Males, on the other hand, express only nonfunctional Tra proteins. However, we found that in one species of stag beetle, the same functional tra likely to be expressed in both sexes. Therefore, we investigated to elucidate the mechanism by which normal male differentiation occurs while functional Tra is expressed in males. As a result, we confirmed that the expression pattern of the downstream gene dsx and the cofactor tra2 showed general expression patterns. From these results, the possibility was found that the regulation of the presence or absence of function in males and females is due to differences in post-transcription regulation such as translation processes.

研究分野：進化発生学

キーワード：性決定 性的二型 クワガタムシ RNA干渉

1. 研究開始当初の背景

昆虫における性決定の分子カスケードは、最上流因子が非常に多様であることが知られる。一方で、性決定カスケードの最下流に位置しマスタースイッチ遺伝子として機能する転写因子 *doublesex* 遺伝子 (*dsx*) および、*dsx* の性特異的スプライシングを制御する *transformer* 遺伝子 (*tra*) については完全変態昆虫において比較的良く保存されている。最も一般的な「機能型の *tra* がメスのみで発現し、機能的な *tra* が *dsx* をメス型へスプライシングすることでメス化が誘導される」という性決定（以降「基本型」）を示す分類群としてハエ目のハエ下目（ショウジョウバエが含まれる）やコウチュウ目が挙げられる。

一方で、同じ完全変態昆虫の中でも、チョウ目やハエ目カ下目では *tra* はゲノムから失われており、*dsx* の性特異的スプライシングは *tra* とは全く異なるオス化遺伝子群が担っている (Geuverink & Beukeboom 2014, Kiuchi et al. 2014, Krzywinska et al. 2016)。また、ハチ目のミツバチでは *tra* が重複して生じた *csd* 遺伝子が性決定の最上流因子として機能する (Hasselmann et al. 2008)。このように、*tra* という遺伝子は、「メス化」を担う重要な遺伝子であり、ある程度の保存性を示す傍ら、特定の分類群でその機能を失ったり（ゲノムからの消失）拡大したり（重複して性決定の最上流因子として機能を獲得）し得る、「性決定制御機構の進化の鍵となる遺伝子 (Verhulst et al. 2010)」である。「メス化」に必須である *tra* の機能が進化的に変化する際には、性決定に関わる遺伝子セット、およびそのネットワークの改変が生じていると考えられる。しかしながら、その実態および移行プロセスはわかっていない。

tra の性分化制御機能の進化的変化を解明する上で、研究代表者は最近、クワガタムシにおいて興味深い実験結果を得た。これまで調べられたクワガタムシ種（ホソアカクワガタ、コクワガタ）では、*tra* の性分化制御様式はカブトムシ (Morita et al. 2019) やコクヌストモドキ (Shukla & Palli 2012) などの他のコウチュウ目の種と同様に「メスのみで機能的な *tra* が発現しメス化を担う」という「基本型」である (Gotoh et al. 2016)。しかしながらノコギリクワガタは、基本型とは異なり、「メスとオスで全く同じ *tra* が発現するが、メスのみメス化が起こる」というパターンを示す「逸脱型」である。この結果は、昆虫の性決定の分子機構に関する既存の知見での説明が困難である。そのため、本種で発見された「雌雄で同じ *tra* が発現するが、*tra* はメスだけでメス化を担うメカニズム」を解明すれば、昆虫の性決定において未知の制御機構を発見できると考え研究に着手した。

2. 研究の目的

本研究では、ノコギリクワガタを材料に、雌雄で同じ機能型 *tra* が発現しているにも関わらず、メスだけで *tra* によるメス化が起こる分子制御機構を明らかにする。これにより、昆虫の性決定において未知の制御機構を発見することを目的とする。

3. 研究の方法

他の昆虫種では *tra* が *dsx* をスプライシングするには、co-factor として *transformer-2* (*tra-2*) という別の遺伝子が必要である。ノコギリクワガタにおいては、研究代表者が構築した発現遺伝子カタログより *tra-2* の存在が既に確かめられているが、発現解析はされていない。そこで、RNA-seq により、*tra-2* および *tra-2* と共通するドメインを持つ遺伝子 (*tra* に結合し co-factor になりうる未知の遺伝子) の雌雄間の発現比較を行う。*tra-2* (または未

知の *tra* の co-factor) の発現がメス特異的であれば、雌雄で同じ *tra* を発現しながら、メスでだけ *dsx* がメス型にスプライシングされる理由を説明できる。併せて *tra-2* (または未知の *tra* の co-factor) の RNAi による機能解析も行い、実際にメス化に必須の遺伝子であるか検証する。

また、オス化を促進する「オス化因子」の存在を仮定することでも現象を説明可能である。ノコギリクワガタでは *tra* の重複により、2 つの *tra* 遺伝子パラログ (*tra-paralog 1*, *tra-paralog 2*) の存在が、研究代表者により確認されている。予備的な発現解析より、*tra-paralog 1* の発現はオス特異的であり、「オス化因子」として機能している可能性がある。これを検証するため、RNAi による遺伝子機能阻害を行い、*tra-paralog 1* と *tra-paralog 2* の機能解析を行う

4. 研究成果

雌雄での *tra-2* の発現解析の結果、雌雄で *tra-2* はほぼ同等の発現を示した。つまり、*tra-2* が異なる発現パターンを示すことで、メス化が生じるかどうかが決まる、という仮説は否定された。また、*tra-2* の機能阻害実験により、*tra-2* を機能阻害するとメスがオス様の表現型を示すという結果が得られたことから、*tra-2* が *tra* と結合してメス化するという機能自体も他の昆虫と同様であると示唆された。オス化を促進するオス化因子の探索に関しては、*tra* のパラログの機能阻害を行ったが、オスでメス化が誘導されることはなかった。つまり、これらの *tra* パラログがオス化因子として機能するという仮説は否定された。

以上の結果より、オスで機能的な *tra* をコードする転写産物が発現したあと、翻訳時の制御などを含む転写後制御に性特異性がある可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 2件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 1件）

1. 著者名 Ohtsu I, Chikami Y, Umino T, Gotoh H.	4. 巻 22
2. 論文標題 Evaluation of Body Size Indicators for Morphological Analyses in Two Sister Species of Genus <i>Dorcus</i> (Coleoptera, Lucanidae).	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Journal of Insect Science	6. 最初と最後の頁 5
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/jisesa/ieac054	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Hagiwara J, Nozawa L, Ohtsu I, Shinohara T, Gotoh H.	4. 巻 26
2. 論文標題 Pupal RNAi methods for analyzing adult development in stag beetles.	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Entomological Science	6. 最初と最後の頁 e12548
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/ens.12548	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計7件（うち招待講演 1件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 大津 樹, 道羅 英夫, 後藤 寛貴
2. 発表標題 クワガタムシにおけるオス特異的な大顎発達に關与する遺伝子群のRNA-seq を用いた探索
3. 学会等名 動物学会中部支部大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大津 樹, 山内 花音, 後藤 寛貴
2. 発表標題 クワガタムシ科におけるメス化遺伝子transformer 遺伝子の解析
3. 学会等名 日本昆虫学会第82回大会 (招待講演)
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大津 樹, 山内 花音, 後藤 寛貴
2. 発表標題 クワガタムシ科におけるtransformer 遺伝子の解析
3. 学会等名 日本進化学会第24回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 大津樹・後藤寛貴
2. 発表標題 クワガタムシ科における形態測定を通じた体サイズ指標の探索
3. 学会等名 動物学会中部支部大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 山内 花音, 大津 樹, 千頭 康彦, 後藤 寛貴
2. 発表標題 コクワガタにおける羽化後の生殖巣発達過程の観察
3. 学会等名 日本動物学会中部支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 近藤 颯人, 大津 樹, 千頭 康彦, 道羅 英夫, 後藤 寛貴
2. 発表標題 クワガタムシ科におけるtransformer 遺伝子の重複タイミングの推定
3. 学会等名 日本動物学会中部支部大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 大津 樹, 近藤 颯人, 千頭 康彦, 道羅 英夫, 後藤 寛貴
2. 発表標題 クワガタムシ科におけるメス化遺伝子transformer の遺伝子重複
3. 学会等名 応用動物昆虫学会 第68回大会
4. 発表年 2023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

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関