

令和 6 年 5 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19166

研究課題名（和文）共生細菌と宿主のせめぎ合いが生み出す性決定カスケードの多様化

研究課題名（英文）Diversification of the sex-determination cascade created by the struggle between symbiotic bacteria and their hosts

研究代表者

鈴木 雅京（Suzuki, Masataka）

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・准教授

研究者番号：30360572

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）：本研究により、1世紀以上もの間謎であったマイマイガの雌決定因子と雄決定因子がそれぞれFet-WとLdMascであることを明らかにすることができた。Fet-WはLdMascを標的とするpiRNAを産生し、LdMascのmRNAを分解することにより雌における雄分化を抑制することで雌分化が達成されることを突き止めた。野生地域集団を対象とした解析を実施することにより、Fet-Wのコピー数とその発現量に地域差が見られることを発見した。同様の地域差はLdMascにも見られた。LdMascから派生したW染色体上の遺伝子を多数見出し、それが雌決定遺伝子として機能しうる可能性を示唆する証拠を得ることができた。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究によりマイマイガの性決定遺伝子には種内多型がみられることが分子レベルで解明された。この発見は、性決定機構に驚異的な多様性が生まれる仕組みを理解する上で重要な手がかりを与える。また、性決定遺伝子の多型は性決定能の多型を生み出し、その結果異なる地域集団の交配が性転換をもたらす事例を発見した。この発見は、性決定機構が多様性を示す適応的意義の理解に繋がる。本研究により、雄決定遺伝子から派生したW染色体上の遺伝子が雌決定能を有する可能性が見出された。本発見は、雄決定遺伝子から派生した遺伝子が新たに雌決定遺伝子としての機能を獲得する進化のプロセスを理解する上で重要な手がかりとなる。

研究成果の概要（英文）：This study has revealed that the female and male determinants of the sponge moth, *Lymantria dispar*, which have been a mystery for more than a century, are Fet-W and LdMasc, respectively, and that Fet-W produces piRNAs that target LdMasc, which in turn degrades LdMasc mRNA, thereby suppressing male differentiation in females. and that female differentiation is achieved by suppressing LdMasc mRNA. By carrying out analyses on wild-region populations of the sponge moth, we found regional differences in Fet-W copy number and its expression. Similar regional differences were also found for LdMasc. We also found a number of genes on the W chromosome derived from LdMasc, and obtained evidence suggesting that they may function as female-determining genes.

研究分野：性差生物学・分子生物学・遺伝学・発生学

キーワード：性決定 性分化 雄決定遺伝子 雌決定遺伝子 piRNA W染色体 マイマイガ embryonic RNAi

1. 研究開始当初の背景

生物間で普遍的なプロセスに関わるメカニズムやその責任遺伝子には強固な保存性がみられることは生物学において常識として受け入れられている。ところが、性はあらゆる多細胞生物にとって普遍的にみられるにも関わらず、性を決めるプロセスには驚異的な多様性がみられる。性決定機構にはなぜ驚異的な多様性がみられるのか、その進化プロセスや生物学的意義を明らかにすることは、性決定研究に従事する世界中の科学者にとって共通の課題であった。

森林害虫として知られる鱗翅目昆虫の一種マイマイガは雌ヘテロ型(ZZ=オス/ZW=メス)の性決定様式を採用し、W染色体に雌決定遺伝子Fが、Z染色体上に雄決定遺伝子Mが存在することを Goldschmidt は今から 100 年以上前に報告している(Goldschmidt, 1923)。そればかりでなく、彼は独自に行った交配実験結果に基づき、マイマイガのFとMには多数のアレルが存在し、それらの遺伝子産物(F因子、M因子)の性決定活性に差がみられるとの仮説を提唱した。それによると、M因子の活性がF因子を上回る場合、ZW個体であってもオスになるというのだ。2011年、東浦らは、北海道産と本州産のマイマイガを用いた交配実験により、Goldschmidtの仮説が正しいことを証明した(Higashiura et al., 2011)。これらの事実は、マイマイガの性決定遺伝子には種内多型が見られることを支持すると同時に、マイマイガが性決定の多様化機構を理解する上で好都合なモデルとなり得ることを意味する。

数理モデルによると、性比にバイアスをもたらす利己的遺伝子の存在を仮定すると性決定遺伝子の急速な多様化が起こるとの報告がある。共生細菌ボルバキアやスピロプラズマは宿主の雄殺しや、雌から雄への性転換を誘発し、結果的に宿主の性比は雌に偏ることが知られている。近年、アワノメイガに感染するボルバキアが宿主の雄決定遺伝子(Masc)と直接相互作用することにより宿主の雄殺しを誘発するメカニズムが明らかにされた。

節足動物の約8割がボルバキアやスピロプラズマに感染していると言われており、性比が極端に雌に偏った結果、地域集団が絶滅した例も知られる。性比にバイアスをもたらす共生細菌に対抗するため、宿主はさまざまなスピードで性決定遺伝子を多様化させている可能性がある。性決定遺伝子に多様性が見られるマイマイガを用いればこの可能性を検証することができるかも知れない。このアイデアが本研究の発端となった。

2. 研究の目的

あらゆる多細胞生物において普遍的にみられる性を決めるプロセスに驚異的な多様性がみられるのはなぜなのだろうか。上述したように、性比にバイアスをもたらす利己的遺伝子の存在を仮定すると、性決定機構の急速な進化を説明できるとの数理モデルが提唱されている(Gardner & Ross, 2014; Ubeta et al., 2015)。しかしそれらはあくまでシミュレーションによる推測の域を出ず、1)その因子の分子実体は何か、2)その因子が宿主の性決定機構にどのように作用するのか、3)その作用の結果性決定機構はどのように変遷したのか、具体的に明らかにされた例は存在しない。本研究課題の目的は、これらの問いに答えることである。世界中の性決定研究者が取り組んできた長年の謎を明らかにしようとする点で本研究課題は極めて挑戦的である。

上述したように、節足動物の多くに感染するボルバキアやスピロプラズマなどの共生細菌が宿主の性比にバイアスをもたらすことが知られているが、似たような現象は、鳥類においても確認されている(Olsen & Marsden, 1954; Olsen & Buss, 1967)。興味深いことに、類似の現象がフランスに在住する女性多産のヒト集団においても報告されている(Lienhart & Vermelin, 1946)。植物では、黒穂菌の感染がヒロハノマンテマの雌花に雄蕊の形成をもたらすことが知られている(Uchida et al., 2003, 2005)。これらの知見は、共生細菌や寄生微生物が節足動物からヒト、植物に至る広範な生物の性比にバイアスをもたらすことを示唆する。最近になって、ボルバキアが雄化遺伝子に直接相互作用し、蛾類昆虫のオス殺しを達成することが明らかにされた(Hirota et al., 2021)。以上の知見に基づき、本研究課題では性比にバイアスをもたらす利己的遺伝子の正体が共生細菌であると考え「共生細菌と宿主のせめぎ合いが性決定機構に多様性をもたらす」とのユニークな仮説を立て、これを実証することにした。

3. 研究の方法

上述したように、いくつかの先行研究によりマイマイガの性決定遺伝子は地域毎に分岐しており、故にマイマイガが性決定の多様化機構を理解する上で好都合なモデルとなり得る。この点に着目し、本研究課題では、マイマイガに見られる性決定遺伝子の多様化が、共生細菌とのせめぎ合いの結果もたらされたかどうかを検証することによって研究目的の達成を図る。このためにまず、マイマイガのFとMを決定する。次に日本各地に生息するマイマイガからFアレルとMアレルをできるだけ多く同定し、独自に樹立したマイマイガ初代培養細胞を用いたin vitro アッセイ系によりそれらの雌化活性、雄化活性を評価する。次に、マイマイガに感染し、宿主の雄殺しや性転換を誘発することでマイマイガの性比にバイアスをもたらす共生細菌を探索する。こうして同定されたFアレルとMアレルの中から、マイマイガ共生細菌による性転換やオス殺し作用に耐性を示すアレルを見だし、耐性アレルを組込んだマイマイガが共生細菌による性比

干渉作用から逃れることを証明する。研究協力者の勝間進 教授(東京大学)の助言のもと共生細菌と F 因子、M 因子の相互作用メカニズムを明らかし、F アレルと M アレルに認められた多様化が、共生細菌による作用への対抗戦略として獲得されたことを分子レベルで説明する。日本各地から得られた F アレルと M アレルの分子系統解析を行い、共生細菌と宿主のせめぎ合いの変遷を明らかにする。なお、日本各地からのマイマイガ採取は蛾類 昆虫採集のエキスパートである中秀司准教授(鳥取大学, 分担者)が担当する。それ以外の研究部分は応募者と応募者の研究室所属の大学院生が担当する。

4. 研究成果

(1) マイマイガの M 因子を明らかにした

令和 4 年度：本研究において、マイマイガの F 因子と M 因子の分子実体を同定することは、研究遂行上、絶対にクリアしなければならない課題である。そこで研究初年度となる令和 4 年度は、マイマイガの性決定遺伝子を同定することに専念した。本申請課題が始動した時点で、我々はいくつかの鱗翅目昆虫において雄化に関わることが知られる遺伝子 Masculinizer のマイマイガオルソログ LdMasc を同定し、この遺伝子が性決定時期において雄で高発現することを既に明らかにしていた。そこで令和 4 年度は LdMasc がマイマイガの雄化遺伝子として機能しうるか機能解析を行うことから始めた。マイマイガ産下卵を対象とした顕微注射法を確立し、dsRNA を卵に注入することにより embryonic RNAi を可能にした。この手法を用いて性決定時期(産下後 3 日目の卵)における LdMasc の発現を抑制したところ、雄において性分化制御遺伝子 dsx の発現が雌型にシフトすることが判明した。LdMasc をカイコの卵巣由来培養細胞で過剰発現させたところ、雄型 dsx の発現が誘導された。以上の結果から、LdMasc はマイマイガの雄化遺伝子であると結論した。

(2) マイマイガの F 因子を明らかにした

次に雌化遺伝子を同定するため、複数の組織において雌でのみ発現し、雌ゲノムにしか存在しない遺伝子をスクリーニングした結果、4 つの unigene を得ることができた。これらは互いによく似た塩基配列をコードしており、雌ゲノムの特定の領域において推定で 107 コピーから成るタンデムリピートを形成していた。そこでこれらの unigene を Fet-W 名付け、その発現を解析したところ、性決定時期において雌特異的な発現を示すことがわかった。embryonic RNAi により Fet-W の発現を抑制すると、雌における LdMasc の発現量が増加し、dsx の発現が雄型にシフトすることが判明した。Fet-W のゲノム上の存在様相が piRNA クラスターに特徴的な様相呈していること、並びに Fet-W が LdMasc の exon9~10 に局在する塩基配列と相補的な 21 nt の配列をコードしていたことから、Fet-W mRNA の発現を RNAi で抑制すると LdMasc mRNA 量の増加が見られることから、Fet-W はカイコの W 染色体上の雌決定遺伝子 Fem と同様、piRNA を介して LdMasc mRNA を分解することで雌における雄化を抑制し、結果的に雌化を誘導すると予想された。この可能性を検証するため、マイマイガの性決定時期の中期に相当する産下後 3 日目の雌雄の卵から RNA を抽出し、small RNA-seq 解析を実施した。その結果、Fet-W から LdMasc を標的とする piRNA が産生されていること、さらに LdMasc から Fet-W を標的とする piRNA が作られていることを突き止め、マイマイガにおいても piRNA がメス決定において鍵分子として働くことを明らかにできた。

(3) マイマイガの F 因子と M 因子の性決定能には亜種間で異なることを明らかにした

いくつかの先行研究によりマイマイガの性決定遺伝子は地域毎に分岐しており、その性決定能に違いがあるとの仮説が提唱されてきたが、その分子基盤は全く不明であった。そこで本研究では、北海道北見市で採取されたマイマイガと福島県福島市で採取されたマイマイガを交配し、その F1 における性比を調査することにした。その結果、北見産マイマイガ♀×福島産マイマイガ♂の交配によって得られた F1 のみ全てオス分化を遂げることを発見した。これらのオスの遺伝学的性別を W 特異的プライマーを用いたゲノム PCR により調査したところ、約半数の個体が遺伝学的にはメス(ZW 個体)であることが判明した。このことは、これらの F1 においてメスからオスへの性転換が起きたことを示している。そこで、Fet-W と LdMasc の塩基配列やコピー数、それらの発現量について北見産マイマイガと福島産マイマイガとの間で比較したところ、北見産マイマイガの Fet-W のコピー数が福島産のそれに比べ約 1/3 に減少していることがわかった。Fet-W と LdMasc の発現量も福島産に比べ、北見産において半分以下に減少していることが判明した。以上の結果から、古くから言われていたマイマイガの性決定遺伝子の多様性の正体とは、メス決定遺伝子のコピー数にみられる多様性と、それに伴う性決定遺伝子の発現量の変動であることが明らかとなった。

(4) LdMasc から分岐した W 染色体上の遺伝子が性決定時期に雌特異的に発現することを明らかにした

一方で、マイマイガのゲノム情報整備にも取り組み、性決定機構の解明に不可欠な性染色体の塩基配列情報(Z 染色体 44MBp, W 染色体 20Mbp)を決定することにも成功した。その結果、LdMasc の第 8 イントロンから第 11 エクソンまでのゲノム配列とほぼ完全に一致する塩基配列が W 染色体に少なくとも 57 コピー存在することが判明した(便宜上 LdMasc-W 遺伝子と命名)。それらのうち少なくとも 19 個が性決定時期に転写産物を雌特異的に産生することを突き止めた。これらのことから、LdMasc-W が第二のメス決定遺伝子として機能している可能性があることが支持された。本発見は、雄決定遺伝子から派生した遺伝子が新たに雌決定遺伝子としての機能を獲得す

る進化のプロセスを理解する上で重要な手がかりとなる。

以上本研究により、100年以上もの間謎であったマイマイガのF因子とM因子の分子実体を解明することができただけでなく、それらの性決定能に地域差があることを分子レベルで明らかにすることに成功した。さらに、新たな性決定遺伝子が誕生する仕組みの理解に繋がる重要な発見をもたらすことができた。なお、本研究課題のもう一つの重要な目的として、マイマイガの性比にバイアスをもたらす共生細菌の発見を掲げたが、研究期間内に同定することはできなかった。しかしながら、本研究で得られた成果に基づき新たに申請した研究課題(令和6年度～令和8年度 基盤研究B「共生生物からみた性決定機構の多様化とその適応的意義」)が採択され、令和6年度から研究を開始したところ、北海道北部に生息するマイマイガスピロプラズマに感染していることを突き止めた。スピロプラズマは雄殺しにより宿主の性比を雌に偏らせることが知られている。従って、今後の研究により、本研究において当初掲げた「宿主と共生細菌のせめぎ合いが性決定遺伝子の多様化をもたらす」との仮説を検証することができるだろう。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計5件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Misato Hattori, Dan Takase, Fugaku Aoki, Masataka G. Suzuki	4. 巻 6
2. 論文標題 Role of doublesex-dependent phosphodiesterase 1c expression in gustatory receptor neurons in male courtship behavior of <i>Drosophila melanogaster</i>	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 International Journal of Neurobiology	6. 最初と最後の頁 1-8
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.36266/IJN/175	査読の有無 無
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 鈴木 雅京	4. 巻 59
2. 論文標題 性行動に関わるdsx標的遺伝子の同定	5. 発行年 2024年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 34-37
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 Suzuki Yukihiro, Yamada Takafumi, Suzuki Masataka G.	4. 巻 11
2. 論文標題 In Vitro Comparison of Sex-Specific Splicing Efficiencies of fem Pre-mRNA under Monoallelic and Heteroallelic Conditions of <i>csd</i> , a Master Sex-Determining Gene in the Honeybee	5. 発行年 2023年
3. 雑誌名 Journal of Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 10~10
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/jdb11010010	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 鈴木 雅京	4. 巻 57
2. 論文標題 雌雄モザイクカイコを用いた性分化の細胞自律性についての検証	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 昆虫と自然	6. 最初と最後の頁 41-44
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） なし	査読の有無 無
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 -

1. 著者名 鈴木 雅京	4. 巻 7
2. 論文標題 性決定研究におけるマイマイガの魅力	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 アグリバイオ	6. 最初と最後の頁 45-48
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 2件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 鈴木 雅京, 庄司 輝介, 笠原 良太, 中 秀司
2. 発表標題 マイマイガ雑種第1世代にみられる性転換現象の分子基盤について
3. 学会等名 日本昆虫学会第84回大会・第68回日本応用動物昆虫学会大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 庄司 輝介, 鈴木 雅京
2. 発表標題 マイマイガゲノムに多数見出された雄化遺伝子LdMasc部分配列の機能解析
3. 学会等名 令和6年度蚕糸・昆虫機能利用学術講演会 日本蚕糸学会第94回大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 庄司 輝介, 鈴木 雅京
2. 発表標題 マイマイガゲノムに多数見出された雄化遺伝子LdMasc部分配列の機能解析
3. 学会等名 第8回蚕糸昆虫機能利用関東支部学術講演会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木 雅京
2. 発表標題 昆虫は性ホルモンをもつか？雌雄モザイクカイコを用いた解析
3. 学会等名 ポストリソソーム脂肪酸代謝経路の解明（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木 雅京
2. 発表標題 昆虫の性は細胞自律的に決まるのか？
3. 学会等名 第47回日本比較内分泌学会大会（招待講演）
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 諸貫 優人, 笠原 良太, 青木 不学, 鈴木 雅京
2. 発表標題 マイマイガにおける性決定遺伝子の同定とその機能解析
3. 学会等名 日本蚕糸学会第93回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 鈴木 雅京, 諸 貫優人, 笠原 良太, 中 秀司
2. 発表標題 北見産及び福島産マイマイガ間交配によって得られた性転換雄について
3. 学会等名 日本蚕糸学会第93回大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計0件

〔産業財産権〕

〔その他〕

東京大学大学院新領域創成科学研究科先端生命科学専攻ホームページ
https://www.ib.k.u-tokyo.ac.jp/faculty/bio_resource_regulation/
資源生物制御学分野ホームページ
<https://webpark1599.sakura.ne.jp/seigyo/researchmap> 鈴木 雅京
https://researchmap.jp/gakyo_page
google scholar 鈴木 雅京
<https://scholar.google.co.jp/citations?user=mD4jN3QAAAAJ&hl=ja>
researchgate Masataka G Suzuki
<https://www.researchgate.net/profile/Masataka-Suzuki-6>

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
研究分担者	中 秀司 (Naka Hideshi) (00443846)	鳥取大学・農学部・准教授 (15101)	

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
---------	---------