

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 26 年 6 月 2 日現在

機関番号：14303

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2011～2013

課題番号：23570123

研究課題名(和文) 遺伝子の発現制御のシストランス共進化から探る脆弱な精巣の理由

研究課題名(英文) Causes of fragile testes revealed by evolutionary studies of gene expression regulation

研究代表者

高野 敏行 (Takano, Toshiyuki)

京都工芸繊維大学・ショウジョウバエ遺伝資源センター・教授

研究者番号：90202150

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,700,000円、(間接経費) 1,110,000円

研究成果の概要(和文)：種間雑種をつくとメスよりもオスの不妊がずっと頻繁に現れます。つまり精子形成は進化的に脆弱といえます。精巣の遺伝子発現を調べてみると発現遺伝子、系統特異的に高発現、低発現の遺伝子がクラスター化する傾向があり、揺らぎを受け易いことが分かりました。一方で、これまで考えられていたよりもずっと速い速度で遺伝子発現を制御する因子が協調しながら進化していることも明らかにしました。こうした精巣の細胞内環境の特徴が脆弱な精子形成の大きな理由と考えられます。

研究成果の概要(英文)：Spermatogenesis defects are frequently observed in interspecific hybrids of *Drosophila*. Indeed, hybrid male sterility evolves much faster than female sterility. To understand how the hybrid sterility can arise so quickly, we characterized the expression profile of testes of *Drosophila melanogaster* and found that transcribed and translated genes tended significantly to cluster. More importantly, genes exhibiting strain-specific higher or lower expression also tended to cluster. It is conceivable that testis transcription is not strictly controlled and therefore that the testis possesses many noisy transcripts. On the other hand, by using interspecific hybrids, we obtained evidence that hybrid incompatibilities between cis- and trans-regulatory elements are accumulating much faster than generally considered. Taken together, we proposed that regulatory incompatibilities contribute to the fast evolution of hybrid male sterility.

研究分野：集団遺伝学

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 分子共進化 ショウジョウバエ 遺伝子発現 シス調節因子 トランス制御因子

1. 研究開始当初の背景

種間雑種の遺伝学解析から雄(異型性個体)の不妊が交配後隔離機構として最も速く進化すること(Haldane 則)が生物種群を越えた一般法則として明らかになっている。また、精巣で発現する遺伝子の進化速度が速いことも精巣の特徴のひとつに加えられる。しかし、これらの理由は、幾つもの仮説が提唱されているが、今だ不明である。雑種雄不妊の速い進化、脆弱な精巣の原因を明らかにするには、精巣の組織としての特徴、つまり遺伝子発現を制御する細胞内環境をより良く理解することからはじめるべきだと考えた。

しかし遺伝子発現を制御する因子は直接(例、正、負の転写因子)、間接(例、遺伝子量補正やX染色体の不活化を含めたクロマチン制御)に作用し、様々な形態(コンプレックス、修飾等)をとりえて、標的遺伝子を知らなければ同定は困難である。逆にいえば、標的遺伝子が決まればその後の研究は拓かれる。精巣の組織としての特徴を遺伝子発現の制御環境の観点から理解し、速く進化する制御因子の同定へと繋げるべく本研究を提案した。

2. 研究の目的

(1) キイロショウジョウバエ精巣の遺伝子発現プロファイリング:

キイロショウジョウバエの遺伝子発現を転写レベル、翻訳レベルで網羅的に調査することで、精巣の特徴を明らかにする。

(2) 遺伝発現を制御するシス、トランス因子間の相互作用:

遺伝子発現を制御するシス因子、トランス因子間の共進化を示す遺伝子を同定する。

3. 研究の方法

(1) キイロショウジョウバエ精巣の遺伝子発現プロファイリング:

キイロショウジョウバエの3系統について、羽化後2~8時間の30~40頭の雄の精巣を解剖し、RNAを抽出。イルミナ社HiSeq2000を用いたRNAシーケンス(RNA-seq)による精巣トランスクリプトーム解析を行った。

上記と同様、羽化後2~8時間の20頭の雄の精巣を解剖し、タンパク質を抽出。1次元SDSポリアクリルアミドゲル電気泳動によって分離後、液体クロマトグラフ質量分析計(日立NanoFrontier eLD mass spectrometer)による精巣プロテオーム解析を行った。

(2) 遺伝発現を制御するシス、トランス因子間の相互作用:

ショウジョウバエ近縁種(*D. mauritiana*, *D. simulans*, *D. sechellia*)間の正逆イントログレッション系統を作出、ヘテロ接合にある2種のアレルの相対発現量比を2種の遺伝的背景で測定した。アレルの相対発現量はパイロシーケンス法(キアゲン社)を用いた。

4. 研究成果

(1) キイロショウジョウバエ精巣の遺伝子発現プロファイリング:

精巣のトランスクリプトーム、プロテオーム解析を行い、以下の知見を得た。1) X染色体には高転写の遺伝子は少ない、しかし翻訳される遺伝子には染色体間のばらつきは認められない、2) 転写レベルの変異量はX染色体の遺伝子で常染色体のものより小さい、3) 転写量の多い遺伝子、翻訳される遺伝子ともにクラスターで存在する傾向がある、4) 系統特異的に高転写、低転写の遺伝子もクラスター化する傾向がある、5) 高転写の遺伝子であっても翻訳されている証拠が得られない遺伝子がある一方、mRNAが検出できないタンパク質遺伝子を10個同定した。以上の結果は精巣の遺伝子発現は厳格に制御されたものでなく、揺らぎを受け易いことを示唆する。

同定した染色体上の領域特異的な制御を受けていることが推測されるクラスター化遺伝子群は、今後、速く進化するシス因子、トランス因子の同定・発見のための研究材料となる。

(2) 遺伝発現を制御するシス、トランス因子間の相互作用:

D. mauritiana と *D. simulans*, *D. mauritiana* と *D. sechellia* 間の正逆イントログレッション系統を作出、同一細胞内でヘテロ接合にある2種のアレルの発現量比を2種の遺伝的背景で比較した。解析した7つの遺伝子のうち3つでアレルの発現量比が2種の背景間で有意に異なった。例えば、*vlc* 遺伝子は *simulans* の遺伝的背景では *simulans* のアレルの発現量が高く、*mauritiana* の背景では逆に *mauritiana* のアレルの発現量が相対的に高くなった。こうした結果は発現を調節するシス、トランスの両方が2種間で違って、しかもトランスの作用がアレル(種)特異的であることを示している。これをシス、トランスが協調しながら変化する、“シス・トランス共進化”と呼ぶこととした。これら3種はわずかに数十万年前に分岐したと考えられている。これまで考えられていたよりもずっと速い速度で遺伝子発現を制御するシス因子とトランス因子が協調しながら進化していることを示している。

“共進化”の結果のひとつは雑種においてはシスとトランスの間で不具合が生ずるため雑種不全の原因となることである。解析した7つの遺伝子のうち6つは精巣で高発現する遺伝子で、雑種において発現が低下することが知られている。実際、この *mauritiana* の背景へのイントログレッション系統はホモで雄不妊となる。

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7件)

Tanaka, K. M., Takahashi, A., Fuse, N., and Takano-Shimizu-Kouno, T. (2014) A novel cell death gene acts to repair patterning defects in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* 197 (in press) 査読有.

Shirata, M., Araye, Q., Maehara, K., Enya, S., Takano-Shimizu, T., and Sawamura, K. (2014) Allelic asymmetry of the *Lethal hybrid rescue (Lhr)* gene expression in the hybrid between *Drosophila melanogaster* and *D. simulans*: confirmation by using genetic variations of *D. melanogaster*. *Genetica* 142, 43-48. DOI: 10.1007/s10709-013-9752-3, 査読有.

Koide, T., Goto, T., and Takano-Shimizu, T. (2012) Genomic Mixing to Elucidate the Genetic System of Complex Traits. *Experimental Animals* 61, 503-509. DOI: 10.1538/expanim.61.503, 査読有

Nishimura, A., Ishida, Y., Takahashi, A., Okamoto, H., Sakabe, M., Itoh, M., Takano-Shimizu, T., and Ozaki, M. (2012) Starvation-induced elevation of taste responsiveness and expression of a sugar taste receptor gene in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Neurogenetics* 26, 206-215. DOI: 10.3109/01677063.2012.694931, 査読有

Takahashi, A., Fujiwara-Tsujii, N., Yamaoka, R., Itoh, M., Ozaki, M., and Takano-Shimizu, T. (2012) Cuticular hydrocarbon content that affects male mate preference of *Drosophila melanogaster* from West Africa. *International Journal of Evolutionary Biology* Volume 2012, Article ID 278903. <http://dx.doi.org/10.1155/2012/278903>, 査読有.

Takahasi, K. R., Matsuo, T., and Takano-Shimizu-Kouno, T. (2011) Two types of *cis-trans* compensation in the evolution of transcriptional regulation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 108, 15276-15281. DOI: 10.1073/pnas.1105814108, 査読有.

Takahashi, A., and Takano-Shimizu, T. (2011) Divergent enhancer haplotype of *ebony* on inversion *In(3R)Payne* associated

with pigmentation variation in a tropical population of *Drosophila melanogaster*. *Molecular Ecology* 20, 4277-4287. DOI: 10.1111/j.1365-294X.2011.05260.x, 査読有.

〔学会発表〕(計13件)

Takano-Shimizu, T., Gene expression profiling of *Drosophila* testis. 55th Annual *Drosophila* Research Conference, 2014年3月26~30日, 米国サンディエゴ

Takano-Shimizu, T., Gene Expression Profiling of Testis in *Drosophila melanogaster*. SMBE satellite Meeting, NIG International Symposium: The Causes of Genome Evolution, 2014年3月14日~17日, 国立遺伝学研究所, 三島市.

高野敏行, 子どもを作れないオス, その理由を解く-脆弱な精巢の遺伝子発現プロファイリング, 第3回4大学連携研究フォーラム, 2013年12月9日, 京都医科大学, 京都.

高野敏行, Genomes から掬う細胞内の変化, ショウジョウバエ多様性研究会ミニシンポ, 2013年9月30日, 国立遺伝学研究所.

都丸雅敏, キイロショウジョウバエ精巢の遺伝子発現プロファイリング, 日本遺伝学会第85回大会, 2013年9月19日~21日, 慶応大学, 東京.

白田美香, ショウジョウバエ雑種致死救済効果を抑制する遺伝子の解析, 日本遺伝学会第85回大会, 2013年9月19日~21日, 慶応大学, 東京.

高野敏行, 生命システムの頑健性(ロバストネス)の遺伝基盤, 九州大学・システム生命科学府セミナー, 2013年7月5日, 九州大学, 福岡.

Takano-Shimizu, T., Expression noise in the *Drosophila* testes, 国立遺伝学研究所ワークショップ「Evolution of Junk DNA」, 2013年6月22日, 国立遺伝学研究所, 三島市.

Takano-Shimizu, T., Two types of *cis-trans* compensation in the evolution of transcriptional regulation, The 53rd Annual *Drosophila* Research Conference, Mar 7 - 10, 2012, 米国シカゴ.

〔図書〕(計1件)

斎藤成也他, 悠書館, 遺伝子図鑑, 2013年, 120~121, 146~147, 148~149.

6. 研究組織
(1) 研究代表者

高野 敏行 (TAKANO TOSHIYUKI)
京都工芸繊維大学・ショウジョウバエ遺伝
資源センター
研究者番号：90202150