

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 4 日現在

機関番号：15401

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2012～2014

課題番号：24657162

研究課題名(和文)XY型からZW型へ性決定機構の進化

研究課題名(英文)Evolutionary mechanism of sex determination from XY to ZW system

研究代表者

三浦 郁夫 (Miura, Ikuo)

広島大学・理学(系)研究科(研究院)・准教授

研究者番号：10173973

交付決定額(研究期間全体):(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文): 遺伝的にオスとメスを決める性決定の仕組みには、大きく2つが存在する。哺乳類に代表されるXX/XY型と鳥類に代表されるZZ/ZW型である。近年、2つのタイプは相互変換が可能であることがわかってきた。我が国に生息するツチガエルは2つのタイプが地域集団に別々に存在しており、性決定機構変換の仕組みを解明する上で、最適な研究材料と言える。本研究では、2つのタイプが接触した近畿地方において、性決定の仕組みがZW型に収束した集団を発見し、その変換の遺伝学的、進化学的仕組みを明らかにした。その際、既に遺伝子退化が始まっていたW染色体がX染色体と入れ替わり、新しいW染色体として若返る現象も明らかにした。

研究成果の概要(英文): Male and female heterogametes are two distinct modes for genetic sex determination. In almost all mammals including humans, male is the heterogametic sex, while female is the heterogametic sex in all birds. Japanese frog *Glandirana rugosa* distributed in Japan has uniquely XX-XY and ZZ-ZW sex determining systems in the separated geographic populations. The distributions of the ZW and XY populations are geographically close to each other and are sympatric at the edges of their respective ranges, located in Kinki district. In this study, I have identified one new ZW geographic group in Kinki district, which was derived from hybridization between the ZW and XY populations, and elucidated the genetic and evolutionary mechanism of the transition of sex determination system. In addition, it was found that the W chromosome in the new ZW group was rejuvenated by replacement of degenerated W chromosome from the original ZW population with X chromosome coming from the XY population.

研究分野：遺伝学

キーワード：性決定 XY型 ZW型

1. 研究開始当初の背景

性的数が、オスとメスの2つに収束した生物では、子孫を次世代に引き継ぐため、常に性比を一定に制御する必要がある。その制御方法の一つが環境要因による性決定である。爬虫類の孵卵温度による性決定や魚類における社会的性転換など、実に巧妙で融通性に富む。一方、受精の段階で性が決まる、いわゆる遺伝的な性決定の場合は、既存の仕組みが破綻して性比にゆがみ生じた場合、性比を回復するには、仕組み自体を変更する必要がある。1990年、ヒトの睾丸決定遺伝子 *SRY* が単離されて以降、さらに10種の脊椎動物で性決定遺伝子が同定され、その多くは *SRY* とは異なる遺伝子であることがわかった。つまり、性決定の遺伝子ヒエラルキーにおいてトップを担う遺伝子を取りかえることが、既存の仕組みを変える一つの方法と考えられ、事実、魚類や両生類では5から6つの候補遺伝子が想定されている。

遺伝的性決定機構是正のもう一つの手段は、ヘテロの性、つまり、ZZ/ZW型とXX/XY型の変換である。哺乳類がXY型、鳥類がZW型であることから、ヘテロの性は非常に安定した仕組みであり、変更は極めて難しいと考えられてきた。しかし、爬虫類以下の脊椎動物を見る限り、両タイプは様々な系統に存在している。両生類ではZW型を基本型とし、XY型への変換が系統進化の過程で少なくとも7回生じたことが知られている。とくに、我が国に生息するツチガエルは2つのタイプが地域集団に別々に存在しており、XY型からZW型への変換が種分化以後に生じたことが明らかとなっている。本種は、まさに、性決定機構変換の進化的、遺伝学的仕組みを解明する上で、最適な研究材料と言える。

2. 研究の目的

我が国には、XY型とZW型の2つの性決定機構を地域集団に有するツチガエルが生息する。とくに関ヶ原付近では両タイプの集団が近接し、まさに雌雄を決する戦いが展開されている。近年、その周辺において、既に両タイプが接触した結果、性決定の仕組みが一方に収束したと予想される集団を発見した。本研究では、この集団を遺伝学的、実験発生学的に解析し、接触によって展開された性決定機構変換の実態を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

ZW型とXY型および、両者の接触後、新たにZW型へ収束した新ZW集団を用いて、次の3つの実験を行い、WとY染色体を排除し、ZとX染色体から構築されるZW型性決定の進化機構を実証する。

1) 性染色体連鎖遺伝子のRFLPとマイクロサテライト解析により、新ZW集団のZとW染色体がもとのX、Y、Z、W染色体

のいずれに由来するのか、その起源を明らかにする。

- 2) ZW型とXY型集団を人為的に正逆に交配し、性染色体の4つの組み合わせ、WY、WX、ZY、ZXの性を明らかにする。
- 3) 戻し交配を行い、WWおよびYYの致死性から、WとY染色体の遺伝子退化を確認する。

4. 研究成果

1) 性決定のタイプ

近畿地方を中心に分布する32集団について、合計305個体の性染色体型を調べた(図1、円内の色)。鈴鹿山脈を含む東方の集団はオスヘテロ(青色)、つまりXX/XY型であり、琵琶湖以西はメスヘテロのZW/XY型(赤色)であった。そして、両者の境界に位置する地域では、オスヘテロとメスヘテロが共に見られる混在集団であることがわかった。

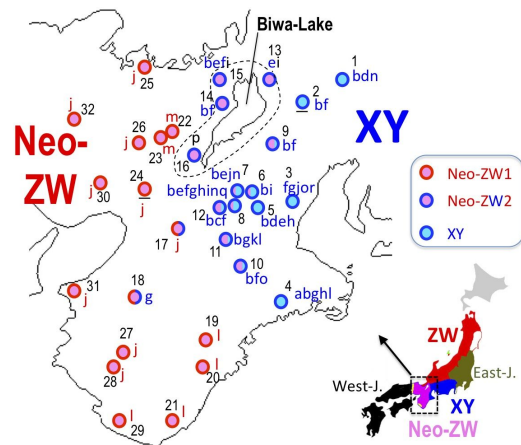


図1 ツチガエル近畿地方の集団におけるヘテロな性、ミトコンドリアCyt-Bのハプロタイプ、WおよびX染色体のマイクロサテライトの対立遺伝子の分布

2) ミトコンドリア遺伝子

10の集団について、ミトコンドリアのシトクロームB遺伝子の塩基配列を決定したところ、4つのハプロタイプが同定され、それらは大きく2つのハプログループ、Cyt-WとCyt-Eに分けることができた。そこで、32集団すべてについてそのハプログループを調べた(図1、円の外周の色)。オスヘテロの集団と混在集団はCyt-E(青)、一部を除くメスヘテロの集団はCyt-W(赤)であった。琵琶湖を囲むメスヘテロの4集団はCyt-Eであり、ミトコンドリアはオスヘテロ集団に由来することが示唆された(点線で囲まれた集団)。そして、残り2つの集団(P17とP18)では2つのハプログループが集団内に混在していた。ここでCyt-Wのハプロタイプをもつメスヘテロの集団をNeo-ZW1、Cyt-Eをもつ集団をNeo-ZW2と名付ける。

### 3) ZおよびY染色体由来のマイクロサテライトDNA

ZとY染色体上にあるSOX3遺伝子の上流領域にマイクロサテライトを同定し、その遺伝子型の構成を各集団について調べた。図2では、XY型集団特異的対立遺伝子を青、Neo-ZW1特異的を赤で示してある。Neo-ZW2集団には、自身特異的対立遺伝子(ピンク)に加え、赤と青の対立遺伝子が共に存在する。この結果とミトコンドリア遺伝子の結果に基づき、Neo-ZW2集団はNeo-ZW1とXY集団が接触し、入り交じった結果生じた新しい集団であることがわかった。

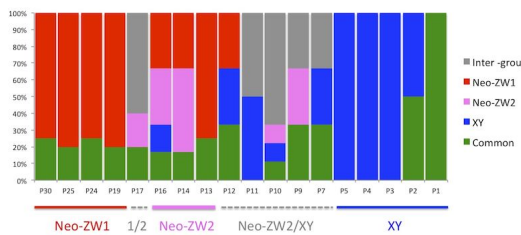


図2 ZとY染色体のSOX3遺伝子マイクロサテライトの対立遺伝子の分布

### 4) WおよびX染色体由来のマイクロサテライトDNA

W染色体とX染色体上のSOX3遺伝子とアンドロゲンレセプター(AR)遺伝子の上流域にあるマイクロサテライトを同定し、その遺伝子型を各集団について調べた(図1、円の脇にアルファベットで示す)。Neo-ZW集団では、各集団がすべて単一の対立遺伝子から構成されていた。一方、XY型集団では複数の対立遺伝子が見られた。Neo-ZW2の集団では複数の対立遺伝子が見られ、いくつかはXY集団と共有されていたが、Neo-ZW1集団に共通する対立遺伝子はひとつも見つからなかった。以上の結果から、Neo-ZW2ではNeo-ZW1集団からW染色体を引き継いでおらず、XY集団のX染色体が新たにW染色体へ進化したことが示唆された。

### 4) 雑種の性

Neo-ZWとXY集団が交雑する場合、4つの異例な性染色体型が生じる。Neo-ZW2集団の形成期を想定して、人為的に交配を行い、異例な性染色体型をもつ個体の性を調べた。ZWメスにXYオスを交配した結果、ZYはオス、WXはメスとなり、ZXとWYはオスないしメスのどちらにも分化し、その比率は交配によって異なっていた。一方、XXメスにZZ雄を交配して生じたXZ個体の多く(83.1%)がメスに分化したが、もどし交配では雌雄がほぼ半数となった。

### 5) WW胚とYY胚の致死性

遺伝子型WYの個体はメスにもオスにも分化する。WYオスはZWメスあるいはWYメスと

交配することが予想され、その場合、WW胚やYY胚が誕生する。戻し交配によってそれらの胚の発生を調べた。その結果、WW胚はすべて孵化後に死滅した(図3)、YY胚は正常に発生したが、変態後の成体の比率は期待値よりも明らか



図3 WW胚  
受精後6日目まで致死となる

に低かった。これは、YY個体も弱いながら致死遺伝子を含んでいることを示唆している。

以上の結果から、2つの興味深い現象が導かれる。一つは、ZW型とXY型が交雑した結果、W染色体が集団から消失し、X染色体が新たにW染色体として進化したことである(図4)。Neo-ZW1集団のW染色体はすでに致死遺伝子が蓄積しており、遺伝子退化が見られる。これに対しNeo-ZW2集団ではそれと異なる致死遺伝子が存在するW染色体と、遺伝子退化が生じていないW染色体が存在する(Ogata et al., 2008)。すなわち、Neo-ZW2集団ではW染色体の若返りが起きたことになる。W染色体やY染色体の進化的運命として遺伝子退化に伴い、次第に矮小化していくことが知られており、すでにY染色体を失った種も報告されている。しかし、一方で今回のツチガエル集団のように、退化の始まっているW染色体が致死遺伝子をもっていない相

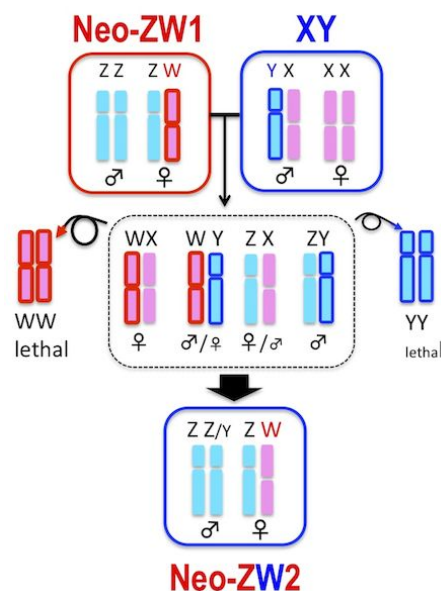


図4 ZW型とXY型の交雑と新しいW染色体の誕生

同染色体と入れ変わるにより、若返る現象のあることがわかった。性染色体の若返りはこれが初めての報告である。

2つ目は、ZW型とXY型が交雑した場合、その雑種集団の性決定機構がZW型に収束した現象である。その理由については、交雑が繰り返される場合、WW胚が致死性のためにW染色体は集団から消失していくと予想される。その結果、残る遺伝子型は、ZY, ZX(XZ), XX, ZZ, XY, YYとなる。さらに、ZYは期待値より高い比率で誕生することも本研究で観察された。これら生き残る遺伝子型の中でメスとして分化するのは、XXとZXの約半数のみであることから、集団全体の性比は大きくオスに偏ることが予想される。このような背景では、X染色体上に強力なメス決定機能をもつ遺伝子が発現した場合、そのX染色体を中心に性決定の仕組みが再構築されると予想される。これが、雑種集団の性決定機構がZZ/ZW型に収束したひとつの要因として考察できる。2つの性決定機構が混じり、ZW型に収束するという現象とその進化学的理由に言及する仮説はこれが初めてとなる。

#### 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 10件)

欧文はすべて査読あり、和文は査読無し

1. Miura I, Ohtani H, Ogata H, Ezaz T (2015) Evolutionary changes in sensitivity to hormonally induced gonadal sex-reversal in a frog species. *Reproduction*, in press.
2. Xia Y, Zheng Y, Miura I, Wong PB, Murphy RW, Zeng X. (2014) The evolution of mitochondrial genomes in modern frogs (Neobatrachia): nonadaptive evolution of mitochondrial genome reorganization. *BMC Genomics* 15:691.
3. Miura I, Ogata M (2013) Change of heterogametic sex from male to female: Why so easy in the frog? *Chromosome Science* 16: 3-9.
4. Sekiya K, Miura I, and Ogata M (2012) A new frog species of the genus *Rugosa* from Sado Island, Japan (Anura, Ranidae). *Zootaxa* 3575: 49-62.
5. Ohtani H, Sekiya K, Ogata M, and Miura I (2012) The postzygotic isolation of a unique morphotype of frog *Rana rugosa* found on Sado Island, Japan. *J. Herpetol.* 46(3):325-330.
6. Miura I, Ohtani H, and Ogata M (2012) Independent degeneration of the W and Y sex chromosomes in frog *Rana rugosa*. *Chromosome Res.* 20:47-55.
7. 三浦郁夫 (2015) オオサンショウウオ

の遺伝的地域分化 -西側の集団は過去に一度絶滅を経験したという仮説- *SUZUKURI* 44: 10-11.

8. 三浦郁夫 (2013) 新種サドガエル -その誕生と進化の謎- *生物工学会誌* 91: 161-164.
9. 三浦郁夫 (2013) 朱鷺がみつけた新種のサドガエル *私たちの自然* 3: 5-7.
10. 土井敏男, 三浦郁夫 (2012) 神戸市で観察された局所的に尾が赤いニホンアマガエルの幼生 *両生類誌* 23: 11-12.

〔学会発表〕(計 12件)

1. 三浦郁夫, 尾形光昭, 長谷川嘉則, 大谷浩己 ツチガエルW染色体のSOX3遺伝子はメスを決定する 日本進化学会第16回大会 8月22日 2014年 大阪
2. 尾形光昭, 三浦郁夫 ツチガエルのXY型とZW型の人工交雑 日本爬虫両生類学会第53回大会 11月8日 2014年 神戸
3. 三浦郁夫, 尾形光昭, 長谷川嘉則, 大谷浩己 XY型とZW型ツチガエルにおけるSOX3遺伝子の性決定に関する機能解析 染色体学会第65回年会 10月24日 2014年 倉敷
4. 三浦郁夫, 尾形光昭 ツチガエルのヘテロな性はなぜ容易に変化するのか? 日本遺伝学会第85回大会 9月19日 2013年 横浜市
5. 尾形光昭, 三浦郁夫 ツチガエルのXY型とZW型集団の接触地帯における性決定機構の進化 日本進化学会第14回大会 8月21日 2013年 東京
6. 三浦郁夫, 尾形光昭 ツチガエルの性決定機構はなぜ変化するのか? 日本爬虫両生類学会第52回大会 11月2日 2013年 札幌
7. 尾形光昭, 百崎孝男, 三浦郁夫 ツチガエルのXY型とZW型集団の交雑 日本爬虫両生類学会第52回大会 11月3日 2013年 札幌
8. 尾形光昭, 三浦郁夫 ツチガエルのXY型とZW型集団の接触地帯における性決定機構の進化 日本進化学会 8月21日 2012年 東京
9. 三浦郁夫, 大谷浩己, 尾形光昭, 長谷川嘉則 ツチガエルの性決定に関する性連鎖遺伝子SOX3とARの機能解析 日本動物学会 9月13日 2012年 大阪市
10. 三浦郁夫, 尾形光昭 XY型とZW型性決定機構: 天下分け目の戦い 染色体学会 10月5日 2012年 旭川市
11. 三浦郁夫, 大谷浩己, 藤谷武史 ヌマガエルの性比と性決定 日本爬虫両生類学会第51回大会 11月10日 2012年 豊田市(愛知県)
12. 尾形光昭, 三浦郁夫 ツチガエルのXY型とZW型集団の接触地帯における遺伝的調査 日本爬虫両生類学会第51回大

会 1 1 月 1 1 日 2012年 豊田市(愛  
知県)

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕  
出願状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況(計 0 件)

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕  
ホームページ等  
[http://home.hiroshima-u.ac.jp/amphibia/  
miura/first.html](http://home.hiroshima-u.ac.jp/amphibia/miura/first.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三浦 郁夫(MIURA IKUO)  
広島大学・大学院理学研究科・准教授  
研究者番号：10173973

### (2) 研究分担者

なし ( )

研究者番号：

### (3) 連携研究者

なし ( )

研究者番号：