

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 28 年 6 月 29 日現在

機関番号：13101

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2013～2015

課題番号：25440178

研究課題名(和文) Dmyをもたないメダカ近縁種の性決定機構

研究課題名(英文) Sex-determining mechanism in medaka-related species lacking Dmy

研究代表者

酒泉 満 (Sakaizumi, Mitsuru)

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号：40175360

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,100,000円

研究成果の概要(和文)：メダカ(*O. latipes*など)の性決定遺伝子Dmyをもたないセレベスメダカグループの性決定機構を解析した結果以下のことが判明した。(1)すべてXX-XY型の性決定様式をもつが、種分化の過程で性染色体が24番から10番に転換した。(2)性染色体が10番である2種の性決定遺伝子はSox3が有力である。(3)Y染色体上のSox3の下流にあるY特異的な430bpの挿入が性決定機能獲得と関連する可能性が高いこと、(4)インドメダカの性決定遺伝子もY上のSox3であるが、インドメダカのSox3とセレベスメダカグループのSox3は独立に性決定機能を獲得したと考えられる。

研究成果の概要(英文)：We investigated the sex determination system and sex chromosomes in six celebensis group species. Our sex-linkage analysis demonstrated that all species had an XX-XY sex determination system, and that the *Oryzias marmoratus* and *O. profundicola* sex chromosomes were homologous to *O. latipes* linkage group (LG)10, while those of the other four species, *O. celebensis*, *O. matanensis*, etc., were homologous to *O. lat.* LG 24. The phylogenetic relationship suggested a turnover of the sex chromosomes from *O. lat.* LG 24 to LG 10 within this group. Sex-linkage maps suggested that the LG 24 acquired the SD function in a common ancestor of the celebensis group, and that the LG 10 SD function appeared in a common ancestor of *O. mar.* and *O. pro.* after the divergence of *O. matanensis*. Fine mapping and association analysis in the former two species revealed that Sox3 on the Y chromosome is a prime candidate for the SD gene, and that the Y-specific 430-bp insertion might be involved in its SD function.

研究分野：遺伝学

キーワード：発生遺伝 性決定 性染色体 性決定遺伝子 進化 メダカ

1. 研究開始当初の背景

筆者らは、哺乳類以外の脊椎動物で最初の性決定遺伝子 *Dmy* を報告した (Matsuda et al., 2002) が、*Sry* が哺乳類の性決定遺伝子として普遍的であることと対照的に、*Dmy* はミナミメダカ複合体 (*O. latipes* species complex) の 4 種 (*Oryzias latipes*, *O. sakaizumii*, *O. sinensis*, *O. sp.*) とそれらに最も近縁な 2 種の片方 (*O. curvinotus*) でのみ性決定機能を果たしており、その起源が極めて新しいことが判明した。

これは、上記 5 種以外のメダカ近縁種が *Dmy* 以外の性決定遺伝子をもつことを示唆し、それらの性決定遺伝子を同定することで、メダカ類における性決定機構の多様性の分子基盤および進化過程を明らかにできると考えた。その後、ミナミメダカ複合体に最も近縁な 2 種のもう一方 (*O. luzonensis*) から新しい性決定遺伝子 *Gsdf^Y* が同定され、本遺伝子が *Dmy* よりもさらに起源が新しいことが判明した。*Gsdf* は、ミナミメダカ複合体の性決定カスケードにおいて *Dmy* の下流に位置する遺伝子であることも明らかになった (Myosho et al., 2012)。

2. 研究の目的

ミナミメダカ複合体とその近縁種の性決定遺伝子 (*Dmy* と *Gsdf^Y*) および両者の関係が明らかになったことから、同じメダカ属でもミナミメダカ複合体が属するミナミメダカグループとは遠縁のセレベスメダカグループに着目した。本グループは多くの種を擁する一方、その性決定機構については情報が皆無だったからである。そこで、本研究の目的を「セレベスメダカグループ種群の性決定機構を明らかにする」こととした。

日本産の野生メダカでは、約 1% の割合で XX 雄や XY 雌が出現し、それらの原因遺伝子を探ることで *Dmy* に始まる性決定カスケードの詳細が明らかになることが期待される。本研究では、平戸産および京丹後産の XX 雄の原因遺伝子を明らかにすることを目指した。

3. 研究の方法

繁殖が比較的容易な 6 種 (*O. celebensis*, *O. matanensis*, *O. wolasi*, *O. woworae*, *O. marmoratus*, *O. profundicola*) を材料とし、ミナミメダカ複合体で開発された DNA マーカーを用いた連鎖解析によって、それらの性決定様式、性染色体を探索した。性染色体上の性決定領域が絞り込めた場合には、メダカゲノム情報を利用して性決定遺伝子候補の同定も試みた。

平戸および京丹後産の XX 雄個体由来する平戸 XX 系統および京丹後 XX 系統の雄個体

と近交系の雌個体を用いた遺伝解析により XX 雄の原因遺伝子を探索した。

4. 研究成果

連鎖解析の結果、4 種 (*O. celebensis*, *O. matanensis*, *O. wolasi*, *O. woworae*) の性染色体が、*O. latipes* の 24 番染色体 (LG24) と相同である一方、残りの 2 種 (*O. marmoratus*, *O. profundicola*) の性染色体は *O. latipes* の LG10 と相同であり、6 種すべて XX-XY 型の性決定様式をもつことが判明した。また、以上 6 種を含むセレベスメダカグループ種群の分子系統樹から、性染色体は、LG24 から LG10 に転換したことが明らかになった。

LG10 を性染色体にもつ 2 種のうち、性決定領域内で組替えが頻繁に起こる *O. marmoratus* について詳しい連鎖地図を作製し、両種の多数個体を用いた関連解析を行ったところ、Y 染色体上の *Sox3* (*Sox3^Y*) が性決定遺伝子の有力候補であり、アミノ酸コード領域の下流にある 430bp の挿入が性決定機能獲得と関係する(原因である?) ことが示唆された。*Sox3* は、メダカ属のジャワメダカグループに属する *O. dancena* の性決定遺伝子であることが判明している (Takehana et al., 2015) が、分子系統樹および塩基配列から、*O. dancena* の *Sox3^Y* と *O. marmoratus*, および *O. profundicola* の *Sox3^Y* は独立に性決定機能を獲得したと考えられた。つまり、*Sox3* はメダカ属内で 2 回、哺乳類の *Sry* を加えると脊椎動物で少なくとも 3 回性決定機能を獲得したことになる。

連鎖解析の結果、平戸 XX 雄の原因遺伝子は LG12 の *Gsdf* 付近にマップされた。*Gsdf* の発現量を qPCR 法により調べた結果、平戸 XX 系統雄の LG12 (neo-Y) をもつ neo-X neo-Y 個体では neo-X ホモ個体に比べて *Gsdf* の発現が有意に高く、*Gsdf* が原因遺伝子である可能性が支持された。京丹後 XX 雄の原因遺伝子は、LG9 の *Dmrt1* 付近にマップされた。また、京丹後 XX 系統の neo-Y 染色体をホモでもつと 80% の個体が雄に、ヘテロ個体は 20% が雄になることが判明した。

このように、野生メダカの中には、複数の性決定遺伝子が共存する集団(平戸では *Dmy* と *Gsdf^Y*, 京丹後では *Dmy* と *Dmrt1^Y*) があり、ルソンメダカの種分化過程で生じたと考えられる *Dmy* から *Gsdf^Y* への転換のような、性決定遺伝子交代の現場をとらえることができる。

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)

Takahashi, H., Sato, T., Ikeuchi, T., Saito, K., Sakaizumi, M., Sakamoto T. : High levels of plasma cortisol and impaired hypoosmoregulation in a mutant medaka deficient in P450c17 α . Reviewers have. Mol. Cell. Endocrinol., in press

Takehana Y., Matsuda Y., Ikuta J, Suzuki H., Tsuchiya K., Miyashita M., Alexei P. Kryukov A. P., Sakaizumi M.: Genetic population structure of the Japanese grass lizard, *Takydromus tachydromoides* (Reptilia: Squamata), inferred from mitochondrial cytochrome *b* variations. Curr. Herpetol., Reviewers have. 35:22-32 (2016)

Takehana Y., Sakai M., Narita T., Sato T., Naruse K. Sakaizumi M.: Genetic population structure of the boundary populations in the medaka, *Oryzias latipes* species complex. Zool. Sci., Reviewers have. 33:125-131 (2016)

Matsuda M., Sakaizumi M. : Evolution of the sex-determining gene in the teleostean genus *Oryzias*. Gen. Comp. Endocrinol., Reviewers have. in press (2015)

Myosho T., Takehana Y., Hamaguchi S., Sakaizumi M.: Turnover of sex chromosomes in *celebensis* group medaka fishes. Reviewers have. G3, 5:2685-2691 (2015)

Takehana Y., Matsuda M., Masuyama H., Myosho T., Shin-I T., Kohara Y., Kuroki Y., Toyoda A., Fujiyama A., Hamaguchi S., Sakaizumi M., Naruse

K.: Co-option of *Sox3* as the the male-determining factor in the fish *Oryzias dancena*. Nature Communications, Reviewers have. 5:4157 (2014) DOI: 10.1038/ncomms5157

Uno Y., Asada Y., Nishida C., Takehana Y., Sakaizumi M., Matsuda Y.: Divergence of repetitive DNA sequences in the heterochromatin of medaka fishes: Molecular cytogenetic characterization of constitutive heterochromatin in two medaka species: *Oryzias hubbsi* and *O. celebensis* (Adrianichthyidae, Belontiiformes). Cytogenet. Genome Res., Reviewers have. 141:2-3 : 212-226 (2013)

〔学会発表〕(計10件)

明正大純, 酒泉満 メダカにおける性決定機構の多様性 ワークショップ 11 日本遺伝学会第 87 回大会 2015.9.24 東北大学(仙台市)

明正大純, 佐藤忠, 濱口哲, 酒泉満, 長崎県平戸集団には2つの性決定遺伝子が共存している 日本動物学会第 86 回大会, 2015.9.17 朱鷺メッセ(新潟市)

佐藤忠, 今井拓人, 松田勝, 酒泉満, 濱口哲 XX メダカの性転換誘導における性決定関連遺伝子 *Gsdf* の役割 日本動物学会第 85 回大会, 2014.9.13 東北大学(仙台市)

堀江好文, 明正大純, 佐藤忠, 酒泉満, 濱口哲, 小林亨 メダカにおける XX 性転換誘起機構 日本動物学会第 85 回大会, 2014.9.13 東北大学(仙台市)

明正大純, 濱口哲, 酒泉満 *Sox3* がマーマラタスメダカの性決定遺伝子の有力候補である 日本動物学会第 85 回大会, 2014.9.11 東北大学(仙台市)

永井宏明, 富井充, 佐藤忠, 明正大純, 濱口哲, 酒泉満 ハイナンメダカとメダカの雑種を用いた性転換原因遺伝子の探索 日本動物学会第 85 回大会, 2014.9.11 東北大学(仙台市)

大坪沙都希, 佐藤忠, 明正大純, 酒泉満, 濱口哲 長崎県平戸産 XX 変異体の性転換原因遺伝子の探索 日本動物学会第 85 回大

会，2014.9.11 東北大学（仙台市）

明正大純，松田勝，濱口哲，酒泉満 ルソ
ンメダカの雄分化には GsdY が必要である
日本動物学会第 84 回大会，2013.9.27 岡山
大学（岡山市）

佐藤忠，小池由麻，酒泉満，濱口哲 新潟
県長岡産野生メダカ由来 XX の発生遺伝学
的解析 日本動物学会第 84 回大会，
2013.9.26 岡山大学（岡山市）

永井宏明，佐藤忠，富井充，濱口哲，酒泉
満（ハイナンメダカ X メダカ）F1XY 個
体の性転換機構 日本動物学会第 84 回大会，
2013.9.26 岡山大学（岡山市）

〔図書〕（計 1 件）

『ぜんぶわかる！メダカ』（監修）ポプ
ラ社（2015）

〔産業財産権〕

出願状況（計 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 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

6．研究組織

(1)研究代表者

酒泉 満（SAKAIZUMI Mitsuru）

新潟大学・自然科学系・教授

研究者番号：40175360

(2)研究分担者

（ ）

研究者番号：

(3)連携研究者

（ ）

研究者番号：