

機関番号：13101

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2008～2010

課題番号：20370086

研究課題名（和文） メダカ近縁種を用いた性決定遺伝子の進化機構の解明

研究課題名（英文） Evolution of the sex-determining gene using medaka fish and its related species

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

研究成果の概要（和文）：

メダカの性決定遺伝子 *Dmy* は、メダカ、ハイナンメダカ、ルソンメダカの共通祖先で生じ、ルソンメダカの種分化の過程で失われたと考えられた。我々は、ルソンメダカの性染色体が 12 番染色体であることを確認したのち、ポジショナルクローニングと遺伝子導入実験によって、Y 染色体に連鎖した TGF $\beta$  スーパーファミリーの遺伝子 *Gsdf* が本種の性決定遺伝子であることを解明した。*Gsdf* は X,Y の両方に存在するが、Y 染色体上の対立遺伝子 *GsdfY* が性分化時に雄特異的高発現を示した。メダカの性決定カスケードにおいて *Gsdf* は、*Dmy* の下流に位置することから、*Dmy* に依存しない新規の対立遺伝子 *GsdfY* の出現によって、メダカでは常染色体にある *Gsdf* がルソンメダカにおいては性決定遺伝子となり、12 番染色体が新規の性染色体になったことが判明した。

研究成果の概要（英文）：

In most vertebrate, sex is determined genetically. Mammals and birds with cytogenetically well-differentiated sex chromosome have common sex determination system in each class, while various sex-determination mechanisms have evolved independently in fishes, and most species with genetic sex determination have undifferentiated sex chromosomes. The sex-determining gene *Dmy* has only been found in medaka fish (*Oryzias latipes*) and one of its closest relatives *O. curvinotus*. Molecular phylogenetic analysis of these species suggested that *Dmy* evolved in the common ancestor of *O. latipes*, *O. curvinotus* and *O. luzonensis* and then disappeared in *O. luzonensis*.

Here we demonstrated that Y-linked allele of a TGF- $\beta$  superfamily gene, *Gsdf* (gonadal soma derived growth factor) functions as the sex-determining gene in *O. luzonensis*. Although *Gsdf* exists on both of the sex chromosomes (*GsdfY* and *GsdfX*), only *GsdfY* shows male specific high expression during sex determination period. *Gsdf* is a downstream gene of *Dmy* in the sex determination cascade of medaka fish, suggesting that emergence of new allele of *Gsdf* independent of *Dmy* signal has lead to appearance of a novel sex determining gene in *O. luzonensis*.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2008年度	4,500,000	1,350,000	5,850,000
2009年度	4,100,000	1,230,000	5,330,000
2010年度	4,300,000	1,290,000	5,590,000
年度			
年度			
総計	12,900,000	3,870,000	16,770,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：生物科学・発生生物学

キーワード：性決定、発生・分化、遺伝子、進化、メダカ

1. 研究開始当初の背景

魚類においては、唯一メダカの *Dmy* が性決定遺伝子として同定されている。分子系統解析の結果は、*Dmy* がメダカ、ハイナンメダカ、ルソンメダカの交通祖先で生じたことを示した。しかし、*Dmy* は、ハイナンメダカでは性決定遺伝子として機能しているが、ルソンメダカでは見つからず、さらに、*Dmy* が 1 番染色体上にあるのに対し、ルソンメダカの性染色体は 12 番であることが判明した。これは、ルソンメダカの種分化の過程で性決定遺伝子が *Dmy* から新規の性決定遺伝子に転換したことを示しており、性決定遺伝子と性染色体の転換・多様化の機構を解明する良いモデルとなると考えられた。

2. 研究の目的

- ① ルソンメダカの性決定遺伝子を同定することにより、メダカ/ハイナンメダカの性決定システム (XX-XY 型、1 番染色体上の *Dmy* が性決定遺伝子) からルソンメダカのシステム (XX-XY 型、12 番染色体の新規性決定遺伝子) に転換した分子機構を明らかにする。
- ② 性決定機構が不明なメダカ近縁種の性決定様式や性染色体を同定することにより、メダカ近縁種における性決定機構の多様性の全容を明らかにする。

3. 研究の方法

- ① ルソンメダカ性決定領域の詳細な遺伝地図を作成するとともに、XX 個体の BAC ライブラリーと YY 個体の Fosmid ライブラリーを用いて当該領域の物理地図を作る。
- ② 候補領域の全塩基配列を決定し、X、Y 染色体間で比較する。さらに、遺伝子探索プログラムを用いて遺伝子候補を探索する。
- ③ 遺伝子候補の発現を性決定時期の XX および XY 個体間で比較することにより性決定遺伝子候補を絞り込む。

④ 遺伝子導入実験より最終遺伝子候補が性決定遺伝子であるかの確認を行う。

⑤ 性決定カスケードにおけるルソンメダカの性決定遺伝子と *Dmy* との関係を明らかにするため、候補遺伝子をメダカに導入し性転換が起こるか否かを調べる。

⑥ メダカ EST マーカーを用いた性連鎖解析によりペクトライスメダカを始めとする他のメダカ近縁種の性決定様式と性染色体を同定する。

4. 研究成果

*Dmy* をもたないメダカ近縁種ルソンメダカの性決定遺伝子をポジショナルクローニング法によって探索した結果、メダカの性分化時において雄特異的な高発現を示す *Gsdf* (12 番染色体) のオーソログ (*GsdfY*) がルソンメダカの性決定遺伝子であることが判明した。また、メダカに遺伝子導入された *GsdfY* は XX 個体を雄に性転換させた。メダカの性決定カスケードにおいて *Gsdf* は *Dmy* の下流に位置することを考え合わせると、ルソンメダカでは、自律的高発現を獲得した対立遺伝子 *GsdfY* の出現によって 12 番染色体が性決定機能を獲得し、常染色体から性染色体に転換したことが明らかになった。本成果は、脊椎動物で初めて性決定遺伝子転換の分子機構を明らかにした点で画期的である。また、*GSDF* が TGF- $\beta$  スーパーファミリーの増殖因子であることは、脊椎動物では初の非転写因子の性決定遺伝子であるという点でも重要な発見である。さらに、性決定が、Y 染色体特有の遺伝子でなく、X と Y の両方に存在する対立遺伝子の組み合わせによって行われるという事実もルソンメダカが脊椎動物で初めての例である。

*Gsdf* がメダカ、ハイナンメダカ、ルソンメダカの性決定カスケードにおいて鍵となる位置を占めることが判明したため、上記

3 種以外の種における *Gsdf* と性との連鎖を調べたところ、メコンメダカに近縁なペクトラリスメダカで *Gsdf* のパラログ *Gsdfy* が Y 染色体上に存在することが判明した。*Gsdfy* はペクトラリスメダカの有力な性決定遺伝子候補である。

近縁種については、新たにセレベスメダカグループ 2 種の性決定様式と性染色体が明らかになった。共に性決定様式は XX-XY 型でセレベスメダカが 24 番染色体、プロファンディコラメダカが 10 番であった。新たに入手したラオス産のメダカはハイナンメダカに近縁であること、性決定様式は XX-XY 型で性染色体は 4 番であることが判明した。本種は、ルソンメダカ同様、性決定遺伝子/性染色体転換の機構を解明するモデルとして非常に興味深い。

#### 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)

- ① Kato M., Takehana Y., Fukuda Y., Naruse K., Sakaizumi M., Hamaguchi S.: An autosomal locus controls sex reversal in interspecific XY hybrids of the medaka fishes. *Heredity*, in press
- ② Otake H., Masuyama H., Mashima Y., Shinomiya A., Myosho T., Nagahama Y., Matsuda M., Hamaguchi S., Sakaizumi M.: Heritable artificial sex chromosomes in the medaka, *Oryzias latipes*. *Heredity*, 105:247-256 (2010).
- ③ Kato M., Takehana Y., Sakaizumi M., Hamaguchi S.: A sex-determining region on the Y chromosome controls sex reversal ratio in interspecific hybrids between *Oryzias curvinotus* females and *Oryzias latipes* males. *Heredity*, 104:191-195 (2010)

- ④ Shinomiya A., Hamaguchi S., Sakaizumi M.: Inherited XX sex reversal originated from a wild medaka population. *Heredity*, 105:443-448 (2010)
- ⑤ Selim K. M., Shinomiya A., Otake H., Hamaguchi S., Sakaizumi M.: Effect of high temperature on sex differentiation and germ cell population in medaka, *Oryzias latipes*. *Aquaculture*, 289:340-349 (2009).
- ⑥ Takehana Y., Hamaguchi S., Sakaizumi M.: Different origin of ZZ/ZW sex chromosomes in closely related medaka fishes, *Oryzias javanicus* and *O. hubbsi*. *Chromosome Res.*, 16:801-811 (2008).
- ⑦ Nagai T., Takehana Y., Hamaguchi S., Sakaizumi M.: Identification of the sex chromosomes in the Thai medaka fish, *Oryzias minutillus*. *Cytogenet. Genome Res.*, 121:137-142 (2008)

[学会発表] (計 8 件)

- ① 福田弥生、佐藤忠、酒泉 満、濱口 哲、メダカ-ハイナンメダカの種間雑種で生じる XY 性転換機構の解明、日本動物学会第 81 回大会 2010 年 9 月 23 日 東京
- ② 竹花祐介、明正大純、成瀬 清、濱口 哲、酒泉 満、ルソンメダカの性決定遺伝子はインドメダカでも機能する、日本動物学会第 81 回大会 2010 年 9 月 23 日 東京
- ③ 明正大純、深町幸宏、濱口 哲、酒泉 満、ペクトラリスメダカでは重複した *Gsdf* が性決定領域に存在する、日本動物学会第 81 回大会 2010 年 9 月 23 日 東京
- ④ 明正大純、成瀬 清、濱口 哲、酒泉 満、ルソンメダカの性決定遺伝子 *GsdfY* は性分化時期の高発現を獲得したことによって *Dmy* の性決定機能を奪った、日本遺伝学会第 82 回大会 2010 年 9 月 21 日 札幌
- ⑤ 明正大純、成瀬 清、大竹博之、濱口 哲、酒泉 満、ルソンメダカの性決定遺伝子の同定と性決定遺伝子交代のシナリオ、

日本動物学会第 80 回大会 2009 年 9 月  
19 日 静岡

- ⑥ 明正大純、成瀬 清、濱口 哲、酒泉 満、  
ルソンメダカ性決定領域の物理地図の  
作成と性決定候補遺伝子の探索、日本動  
物学会第 79 回大会 2008 年 9 月 7 日 福  
岡
- ⑦ 竹花佑介、成瀬 清、濱口 哲、酒泉 満、  
ハブスメダカ W 染色体ヘテロクロマチ  
ンを構成する反復配列の同定、日本動物  
学会第 79 回大会 2008 年 9 月 7 日 福  
岡
- ⑧ 大竹博之、真島佑佳、松田勝、濱口 哲、  
酒泉 満、人工性染色体を持つメダカ系  
統の作出、日本動物学会第 79 回大会  
2008 年 9 月 7 日 福岡

## 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：

