

令和 3 年 6 月 6 日現在

機関番号：32607

研究種目：基盤研究(C)（一般）

研究期間：2018～2020

課題番号：18K06389

研究課題名（和文）両生類の異種間雑種から読み解くトランスポゾンが寄与する性システム・種分化

研究課題名（英文）Sex system and species diversity mediated through transposable elements in interspecific hybrids of amphibians

研究代表者

伊藤 道彦 (Ito, Michihiko)

北里大学・理学部・准教授

研究者番号：90240994

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,400,000円

研究成果の概要（和文）：本研究は、異種交配雑種から、性と種を考察することを目的として、異質四倍体アフリカツメガエルあるいはロシアに生息する3種のカエル（ワライガエル、コガタガエルおよびその雑種のヨーロッパトノサマガエル）に関して、トランスポゾンという視点から、性システムやゲノム進化に関する解析を行った。

その結果、前者に関しては、雑種形成後にDNAトランスポゾンが性決定遺伝子の誕生に関与したことが、および異種交配（異種ゲノムの混合）後に多くのDNAトランスポゾンの活性化が示唆された。後者に関しては、親2種のトランスポゾンを含むゲノム配列およびpiRNA配列の決定を行い、生殖細胞で一方種ゲノムの排除との連関を考察した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

脊索動物から脊椎動物への進化では異種間雑種が起こったと考えられており、異種交配という現象は、生命進化や生物多様性という観点から極めて重要と考えられる。本研究の異種間雑種での遺伝子およびゲノム解析の成果は、異種ゲノムが混合した時に、性システムやゲノム進化が誘導されることを強く示唆したもので、生命進化研究にとって学術的な意義が大きいと考える。また、本研究成果は、有性生殖における“種とは何か？”という生命の重大問題を解くための基盤となる研究に十分なりうるもので、学術だけでなく社会的意義が大きいと考えられる。

研究成果の概要（英文）：Molecular evolution in sex system and genomes after interspecific hybridization was examined using allotetraploid *Xenopus* frogs and hybrid water frogs. In the former, the dm-W-driven sex-determining system emerged through a DNA transposon after hybridization. We also found that many kinds of DNA transposons might be activated just after hybridization, and then inactivated maybe by piRNAs. In the latter, we determined the draft genome sequences and piRNAs in the two parent species of the hybrid *Pelophylax esculentus*, which might contribute to the study for recognition between self and nonself genomes.

研究分野：分子進化

キーワード：性決定遺伝子 トランスポゾン 平行進化 異種ゲノム 異質ゲノム 種 異種交配 両生類

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生命進化において、異種間の雑種形成は、ゲノム倍数化等、ゲノム進化を介して種分化・体制進化にも貢献してきた。異種交配に関して、無尾両生類の2系統では、以下のことがわかってきた。

(1) ツメガエル(*Xenopus*)属

異質4倍体のアフリカツメガエルのゲノム解析から、この種は生殖隔離されていた近縁種2種(L種とS種)が、異種交配により異質4倍体化し、その祖先種から分化した種であること、両種由来のサブゲノムは、非対称的進化をしてきたことが示唆された(Nature 2016; 共著者)。また、応募者らが単離したアフリカツメガエルの性()決定遺伝子 *dm-W* (PNAS 2008; 責任著者)は、異種交配後に新たに誕生した性決定遺伝子であることが示唆された(Dev Biol 2017; 責任著者)。

(2) *Pelophylax* 属

ヨーロッパに棲息する *Pelophylax* 属のヨーロッパトノサマガエルは、ワライガエルとコガタガエルとの自然雑種である。極めて興味深いことに生殖細胞形成過程で、片親ゲノムが排除されることが古くから知られ(hybridogenesis[雑種生成]と呼ばれる)ていたが、その分子的理解はほぼ皆無の状況であった。

2. 研究の目的

本研究の核心をなす問いは、有性生殖における“性とは何か?”あるいは“種とは何か?”である。本研究は、無尾両生類の近縁種の異種交配系の解析により、この問いを答えることを目的とする。具体的には、(1)非対称的サブゲノム進化してきたツメガエル属のアフリカツメガエル、および、(2)配偶子形成過程で片方種のゲノムが一方向的に排除されるヨーロッパトノサマガエルを用い、性決定遺伝子あるいは利己的核酸であるトランスポゾンに注目し、異種交配を介した遺伝子あるいはゲノム進化を明らかにする。

3. 研究の方法

(1) ツメガエル(*Xenopus*)属

性決定システム: 異種交配後の初期に誕生した性決定遺伝子 *dm-W* に関して、この遺伝子を保持するアフリカツメガエルを含むツメガエル種3種を用いて、遺伝子進化を解析した。

トランスポゾン-piRNA システム: 異質4倍体2種(アフリカツメガエルおよびボレアリスツメガエル) および異種交配していない近縁種のネッタイツメガエルの卵巣および精巣のRNAを用いて、small RNA-seq を行い、全 piRNA 情報とゲノム情報との比較解析を行った。

(2) *Pelophylax* 属

雑種のヨーロッパトノサマガエル、その親のワライガエルとコガタガエルの卵巣および精巣のRNAを抽出し、small RNA-seq を行い、全 piRNA 情報を得た。また、ワライガエルとコガタガエルはゲノムが未解析であるので、それぞれオスゲノムを赤血球から単離し、ゲノム配列の決定を行った。

4. 研究成果

(1) ツメガエル(*Xenopus*)属

性決定遺伝子 *dm-W* のトランスポゾンを経た分子進化

異種交配後に誕生した新機能獲得型の性決定遺伝子 *dm-W* は、4つのエクソンからなり、エクソン 2, 3 は *dmrt1* 遺伝子の部分重複によって誕生していることがわかっていたが、本研究での進化学的解析の結果、エクソン 1, 4 共に、*dmrt1* 遺伝子由来でなく、トランスポゾンが関与することが示唆された。特に、エクソン 4 は、DNA トランスポゾンの配列の中で、アミノ酸コード領域に相当しない配列が、アミノ酸コード領域に分子進化してきたことがわかった。また、*in vitro* 解析で、そのアミノ酸コード領域は、DM-W の転写因子としての機能をサポートする配列であることがわかった (Hayashi, ----, Ito. in preparation)。すなわち、異種交配後の不安定な性決定システムの集団の中で、安定した性決定システムのために、トランスポゾンが新性決定遺伝子誕生に重要な機能を果たしたのではないかと予想される。

dmrt1 オートログの重複によって誕生した2種の性決定遺伝子、メダカ *dmy* とアフリカツメガエル *dm-W* は、それぞれツメガエルおよびメダカの種分化過程で独立に誕生した収斂型性決定遺伝子である。2遺伝子に関して、分子進化機構を比較解析したところ、同じアミノ酸置換を検出した。このアミノ酸置換(平行分子進化)は、分子進化的に正の選択下にあること、さらに、*in vitro* の解析から、この置換が性決定遺伝子産物としての転写因子としてのタンパク質機能に貢献したことが強く示唆された [Ogita, -----, Ito. iScience 23,100757,2020]。

異種交配後のトランスポゾン動態：異質4倍体2種(*X. laevis*と*X. borealis*)のゲノム配列を用いたトランスポゾン解析から、異種ゲノムが混合した交配直後に、DNA トランスポゾンの多くが活性化し、その後、抑制されてきた可能性が示唆された。すなわち、生殖細胞内での異種のゲノムの混合は、[トランスポゾン-piRNA]システムの大変化を誘導する可能性が示唆された (Suda, ----, Ito. in preparation)。

(2) *Pelophylax* 属

ロシア生息のワライガエル、コガタガエルの雑種ヨーロッパトノサマガエルでは、多くが生殖細胞でコガタガエルのゲノムが特異的に排除されることが明らかになった (Miura, -----, Ito. Genes 12, 244, 2021)。また、ワライガエルとコガタガエルのゲノムのドラフト配列の決定を行い、さらに、3種で卵巣および精巣で発現する piRNA 情報を網羅的に調べ、それぞれ特異的 piRNA 分子を同定した。現在、ゲノムと piRNA 情報の比較解析から、コガタガエルゲノムに特異的なゲノム排除(自己・非自己ゲノム認識機構)に関わるトランスポゾンあるいは piRNA 分子の同定を行っている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計4件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 2件）

1. 著者名 Ogita Yusaku, Mawaribuchi Shuuji, Nakasako Kei, Tamura Kei, Matsuda Masaru, Katsumura Takafumi, Oota Hiroki, Watanabe Go, Yoneda Shigetaka, Takamatsu Nobuhiko, Ito Michihiko	4. 巻 23
2. 論文標題 Parallel Evolution of Two dmrt1-Derived Genes, dmy and dm-W, for Vertebrate Sex Determination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 iScience	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.isci.2019.100757	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 Mawaribuchi Shuuji, Ito Yuzuru, Ito Michihiko	4. 巻 8
2. 論文標題 Independent evolution for sex determination and differentiation in the DMRT family in animals	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Biology Open	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1242/bio.041962	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 伊藤 道彦	4. 巻 9
2. 論文標題 栄枯盛衰の性決定遺伝子：遺伝子界の下克上	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 遺伝子医学	6. 最初と最後の頁 142-149
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 Miura Ikuo, Vershinin Vladimir, Vershinina Svetlana, Lebedinskii Andrei, Trofimov Alexander, Sitnikov Ivan, Ito Michihiko	4. 巻 12
2. 論文標題 Hybridogenesis in the water frogs from western Russian territory: intrapopulation variation in genome elimination	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Gene (Basel)	6. 最初と最後の頁 -
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.3390/genes12020244	査読の有無 有
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 該当する

〔学会発表〕 計5件（うち招待講演 1件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 須田 皓介, 鈴木 貴大, 林 舜, 田村 啓, 高松 信彦, 伊藤 道彦
2. 発表標題 ツメガエル属 2 種ゲノムにおけるpiRNAクラスターおよびトランスポソンの比較解析
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 林 舜, 藤川 真琴, 須田 皓介, 藤村 楓雅, 回淵 修治, 田村 啓, 高松 信彦, 伊藤 道彦
2. 発表標題 トランスポソンを介したツメガエル属性決定遺伝子dm-Wの誕生と分子進
3. 学会等名 第42回 日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Michihiko Ito
2. 発表標題 Default sex in frog gonads in terms of genetics, hormones, morphogenesis, and germ cells
3. 学会等名 5th NASCE (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 伊藤道彦
2. 発表標題 下剋上遺伝子進化仮説 ~ 性決定の可塑性
3. 学会等名 日本進化学会 (招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 藤村楓雅、林舜、荻田悠作、塚本大輔、田村啓、高松信彦、伊藤道彦
2. 発表標題 Molecular evolution of two convergent duplication-type sex determining genes, <i>Xenopus dm-W</i> and <i>medaka dmy</i> : verification for a “Jump-Corruption evolution” hypothesis
3. 学会等名 日本進化学会
4. 発表年 2020年

〔図書〕 計3件

1. 著者名 Yuan-Chuan Chen, Michihiko Ito, Aleksandr F. Smirnov and Antonina V. Trukhina etc.	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Intecopen (open book)	5. 総ページ数 -
3. 書名 Gene expression and phenotypic traits	

1. 著者名 伊藤道彦など	4. 発行年 2019年
2. 出版社 一色出版	5. 総ページ数 542
3. 書名 遺伝子から解き明かす「性」の不思議な世界	

1. 著者名 Michihiko Ito など	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Springer	5. 総ページ数 789
3. 書名 Reproductive and Developmental Strategies: The Continuity of Life	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

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	田村 啓 (Tamura Kei) (50458767)	北里大学・理学部・講師 (32607)	

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