

令和 3 年 6 月 11 日現在

機関番号：13701

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2020

課題番号：19K16490

研究課題名(和文) 哺乳類の胎子期に生殖腺で活性化する代謝が性決定に及ぼす影響の解明

研究課題名(英文) EFFECT OF MATERNAL DIET AND NUTRITIONAL STATUS ON MAMMALIAN SEX DETERMINATION

研究代表者

宮脇 慎吾 (Miyawaki, Shingo)

岐阜大学・応用生物科学部・助教

研究者番号：70756759

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,200,000円

研究成果の概要(和文)：哺乳類には雌雄の性が存在する。Sryはほ乳類の性を決める遺伝子である。Sryが発見されてから30年間、Sryはひとつのエキソンで構成されると考えられてきた。本研究では、性が決まる時期のマウスの遺伝子発現を解析することにより、Sryにはこれまで見過ごされてきた第2エキソンが存在し、このエキソンが性決定因子であるTwo-exon type SRY (SRY-T)をコードしていることを発見した。このエキシオンをゲノム編集により欠損させたオスのマウスはメスへと性転換し、逆に、SRY-Tを強制発現させたメスのマウスはオスへと性転換した。以上から、SRY-Tが生体内で必要かつ十分な性決定因子であると言える。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、マウスの性決定遺伝子Sryにはこれまで知られていなかった“隠れエキソン”が存在し、そのエキソンは真の性決定因子であるSRY-Tをコードしていることを世界で初めて明らかにした。生物学の大きなテーマのひとつである性決定において、鍵となる重要な遺伝子Sryの全体像が解明されたことになる。この発見はほ乳類の性決定の仕組みの解明と、性決定遺伝子の進化の理解につながると期待される。

研究成果の概要(英文)：The mammalian sex-determining gene Sry induces male development. Since its discovery 30 years ago, Sry has been believed to be a single-exon gene. Here, we identified a cryptic second exon of mouse Sry and a corresponding novel transcript, two-exon Sry (Sry-T). XY mice lacking Sry-T were sex-reversed, and ectopic expression of Sry-T in XX mice induced male development. Sry-T mRNA is expressed similarly to that of canonical, single-exon Sry (Sry-S), but SRY-T protein is expressed predominantly, due to the absence of a degron which we identified in the C-terminus of SRY-S. Sry exon2 appears to have evolved recently in mice, through acquisition of retrotransposon-derived coding sequence to replace the degron. Our findings suggest that in nature, SRY-T, not SRY-S, is the bona fide testis-determining factor.

研究分野：発生生物学

キーワード：Sry 性決定 ゲノム編集 マウス Cryptic exon

1. 研究開始当初の背景

哺乳類にはオスとメスの性が存在する。どのように性が決まるのかは古代ギリシア時代より議論されており、性決定の研究分野は生物学の大きなテーマのひとつである。ほ乳類の性は性染色体の組み合わせで決まることが知られており、XX型はメスになり、XY型はオスになる。1991年にKoopmanらのグループにより、Y染色体に存在する*Sry*が性決定遺伝子であると示された¹。すなわち、Y染色体を有していれば、*Sry*が活性化することでその個体はオスになる。*Sry*が発見されて以降の30年間、「*Sry*は、単一のエクソンで構成される遺伝子(単一エクソン遺伝子)であり、たった一種類のタンパク質SRYをコードする」と考えられてきた。

2. 研究の目的

これまでに*Sry*が発現する細胞を選択的に集める方法を用いて²、*Sry*が発現する細胞の網羅的遺伝子発現解析(RNA-seq)をした結果、*Sry*の近傍に未知の転写産物が存在することを発見した。本研究課題では、この未知の転写産物の性決定における役割を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

未知の転写産物の性決定における役割を明らかにするために、最新のトランスクリプトーム解析や、ゲノム編集技術を使った遺伝子改変マウスを作製することで、*in vivo*における解析を実施した。

4. 研究成果

はじめに、転写開始点を網羅的に解析する手法(CAGE-seq)や、転写されたRNAを長い状態のまま網羅的に解析する手法(long-read RNA-seq)などの最新の手法を用いて*Sry*近傍の転写産物を解析した。結果として、この未知の転写産物が*Sry*の第2のエクソン(隠れエクソン)であることを明らかにした。この発見により、マウスの*Sry*遺伝子の転写産物には、以前から知られていた単一エクソン型 Single-exon type *Sry* (*Sry-S*) と、新たに発見した Two-exon type *Sry* (*Sry-T*) が存在することが明らかになった(図1)。

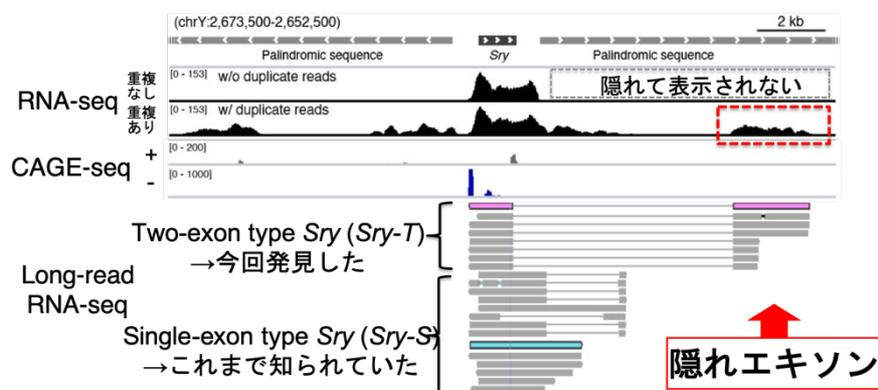


図1: *Sry*を発現する細胞のトランスクリプトーム解析の結果。上段が通常のRNA-seqで、中断がCAGE-seq、下段がlong-read RNA-seqの結果をゲノムに表示したものである。これまでに知られていない隠れエクソン(赤枠)がコードするTwo-exon type *Sry* (*Sry-T*)を発見した。

次に、*Sry-T*の性決定における役割を調べるために、*Sry*の第2エクソンをゲノム編集により削除した*Sry-T*欠損マウスを作製した。*Sry-T*欠損マウスは*Sry-S*を発現しているにも

かかわらずメスに性転換した（図2）。このことから *Sry-T* はオスへの性決定に必須であることが明らかになった。さらに、今回発見した *Sry-T* とこれまでに知られていた *Sry-S* を、XX 型のマウスで活性化させると、*Sry-T* を活性化させたマウスのみがメスからオスへ性転換した（図2）。以上の実験から、生体では、これまでに知られていた *SRY-S* ではなく、*SRY-T* が性決定因子として働いていることが明らかになった。

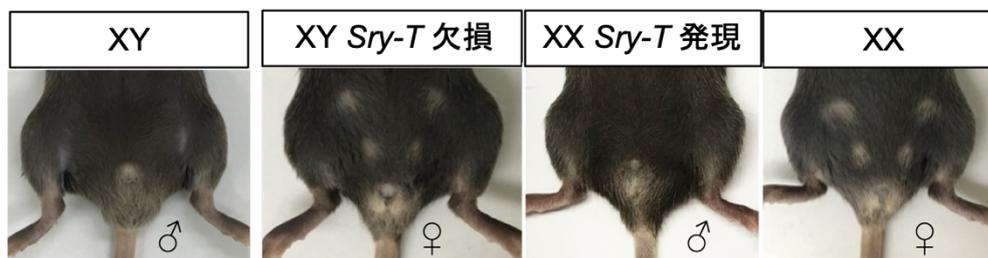


図2：*Sry-T* を欠損すると、オスからメスへ性転換する。*Sry-T* を活性化するとメスからオスに性転換する。

次に、*Sry-S* は実験的にマウスをオス化する能力を持つにもかかわらず、生体ではオス化できない原因を調べた。*SRY-S* と *SRY-T* のアミノ酸配列を比べると、後方のアミノ酸配列が異なる。この違いを解析した結果として、デグロンと呼ばれるタンパク質を分解する配列が *SRY-S* にのみ存在することが判明した。デグロンの最後から2番目のアミノ酸をバリンからプロリンに変えると、デグロンは不活性化される。そこで、*SRY-T* の欠損に加えて *SRY-S* の最後から2番目のアミノ酸をバリンからプロリンに置換したマウスを作製したところ、*SRY-S* タンパク質の分解が抑えられ、このマウスはオスになることが分かった。以上の実験から、*SRY-S* は自身のデグロン配列によりタンパク質が不安定になり、生体でのオス化能力がないことが明らかになった。

以上の実験から、生体では、これまでに知られていた *SRY-S* ではなく、本研究で新たに同定した *SRY-T* が真の性決定因子として働いていることを明らかにした。

本研究成果により、生物学の大きなテーマのひとつである性決定において、鍵となる重要な遺伝子 *Sry* の全体像が解明された。今後、他の生物における *SRY-T* や、*SRY-S* のデグロンの存在を検証することで、ほ乳類の性決定の仕組みの解明と、性決定遺伝子の進化の理解につながると期待される。

<参考文献>

1. Koopman P, Gubbay J, Vivian N, Goodfellow P, Lovell-Badge R. Male development of chromosomally female mice transgenic for *Sry*. *Nature*.351(6322):117-21,1991.
2. Kuroki S, Matoba S, Akiyoshi M, Matsumura Y, Miyachi H, Mise N, Abe K, Ogura A, Wilhelm D, Koopman P, Nozaki M, Kanai Y, Shinkai Y, Tachibana M. Epigenetic regulation of mouse sex determination by the histone demethylase *Jmjd1a*. *Science*.341(6150):1106-9, 2013.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計2件（うち査読付論文 1件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Miyawaki Shingo, Kuroki Shunsuke, Maeda Ryo, Okashita Naoki, Koopman Peter, Tachibana Makoto	4. 巻 370
2. 論文標題 The mouse Sry locus harbors a cryptic exon that is essential for male sex determination	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Science	6. 最初と最後の頁 121 ~ 124
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1126/science.abb6430	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

1. 著者名 宮脇慎吾、立花誠	4. 巻 Vol. 71 (4)
2. 論文標題 遺伝子改変マウスの作製の歴史と技術進歩	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 生産と技術	6. 最初と最後の頁 15-20
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 -

〔学会発表〕 計2件（うち招待講演 1件/うち国際学会 1件）

1. 発表者名 Miyawaki, S., Okashita, N., Kuroki, S. and Tachibana, M
2. 発表標題 THE EFFECT OF MATERNAL DIET AND NUTRITIONAL STATUS ON MAMMALIAN SEX DETERMINATION
3. 学会等名 International Society for Stem Cell Research Annual Meeting 2019 (Los Angeles) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Miyawaki, S
2. 発表標題 A novel sex determination region in inverted repeat sequence of mouse Y chromosome.
3. 学会等名 日本分子生物学会年会 (招待講演)
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計0件

〔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
--	---------------------------	-----------------------	----

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			
オーストラリア	クイーンズランド大学			