

令和 4 年 6 月 17 日現在

機関番号：13801

研究種目：挑戦的研究(萌芽)

研究期間：2020～2021

課題番号：20K21368

研究課題名(和文) 親世代の配偶者選択が制御する子世代の形質発現

研究課題名(英文) Expression of phenotype in the offspring controlled by parental mating preference

研究代表者

笹浪 知宏 (Sasanami, Tomohiro)

静岡大学・農学部・教授

研究者番号：80322139

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,900,000円

研究成果の概要(和文)：生殖活動は次世代に自身の子孫を残す為に必須である。本研究では、雌に好まれる雄の実際の受精能力や、その子孫の形質の調査を行なった。雌に好まれる雄と好まれない雄の受精能力を比較したところ、血中テストステロン濃度の高低に関わらず、精子鞭毛長の長い雄の精子が受精に有利であることが判明した。加えて、鞭毛長の長い精子を作る系統と、短い精子を作る系統からF2世代を作出し、両者の鞭毛長の調査およびゲノムDNAのQTLseq解析を行なった。その結果、精子の鞭毛長は次世代に遺伝し、環境要因の影響は受けなかったことが判明した。つまり、雌に好まれる雄の受精能力は必ずしも高くないことがわかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

雄の個体の血中男性ホルモン濃度は、その雄個体の質を反映するという仮説が種々の動物で提唱されてきた。しかし、雌に好まれる雄の実際の受精能力や、その子孫の形質の調査はほとんど行われてこなかった。本研究結果は、この仮説は個体の繁殖能力に対しては正しいと言えるが、次世代の形質に関しては必ずしも正しくないことを示唆するものである。このことは、優秀な家畜・家禽を作出するために重要な雄の形質を調べる上で、精子の運動性や受精能力以外にも注目しなければならないことを意味する。

研究成果の概要(英文)：Reproduction is essential for the generation of offspring in the next generation. In this study, I investigated the actual fertilization ability of males preferred by females and the traits of their offspring. Comparing the fertilization ability of males preferred by females and males not preferred by females, it was found that males with longer sperm flagellum length had an advantage in fertilization, regardless of the testosterone concentration in their blood. In addition, F2 generation was produced from the quail line that produced sperm with long flagella and another quail line that produced sperm with short flagella, and both were examined for flagellar length and QTLseq analysis of genomic DNA was performed. The results showed that sperm flagellar length is inherited from one generation to the next and is not affected by environmental factors. In other words, the fertilization ability of males preferred by females was not necessarily high.

研究分野：繁殖生物学

キーワード：ウズラ 精子 受精 精子鞭毛長

1. 研究開始当初の背景

生殖活動は次世代に自身の子孫を残す為に必須であり、生物にとっての最重要課題と言える。加えて、優秀な形質を有した子孫を残す為には、優秀なパートナーを選ぶことが重要である。そのため、雄は雌に対する多様な求愛行動や形質を進化させてきたと考えられる。一方、雌側も、雄の形質を区別するための感覚機能を発達させてきたと考えられるが、雌の雄に対する嗜好性を左右する要因やその作動機序に関しては不明であった。これまでの研究で、ウズラを用いて雌の雄に対する嗜好性を調査してきた。その結果、この嗜好性は血中テストステロン(T)濃度と統計学的に有意に相関し、精巣除去や、非繁殖条件での飼育によって雌の雄に対する嗜好性を変えることができた。また、血中T濃度の高いオスでは、頬羽のメラニン含量が高く、赤みと黄みが強くなり、これらのパラメータと雌の雄に対する嗜好性も有意な相関を示すことがわかった。さらに雌も、繁殖期には網膜の光受容体のうち、赤色光を受容する red opsin の発現が高まり、雄の羽装色の変化に鋭敏になることが判明し、雌雄に起こる季節変化が、協調的に繁殖成功率を向上させる新たなメカニズムを発見した (Hiyama *et al.*, *Sci. Rep.*, 2018)。

雄の個体の血中 T 濃度は、その雄個体の質を反映するという仮説が種々の動物で提唱されている。しかし、雌に好まれる雄の実際の受精能力や、その子孫の形質の調査はほとんど行われてこなかった。

2. 研究の目的

雌に好まれる魅力的な雄の受精能力は高く、その子孫は優秀なのであろうか？本研究では、雌に好まれる雄と好まれない雄の実際の受精能力およびその子孫の形質を調べ、生物の進化と生殖システムとの関連を明らかにすることを目的とした。

3. 研究の方法

(1) 精子鞭毛長の調査と鞭毛長が受精に及ぼす影響の観察：

Wild type, dominant black, yellow, albino, silver, panda, fawn2, DVD および rb の 9 系統の雄ウズラから交尾中断法によって射出精子を採取し、ハンクス平衡塩類溶液に懸濁して実験に使用した。ホルマリンで固定後、スメア標本を作成し、顕微鏡下で鞭毛長を測定した。Wild type および dominant black から射出精子を採取し、等量ずつ混合した精液を人工授精した。7日間受精卵を回収し、15日間孵卵後、割卵して羽装色から父性を判定した。Wild type および dominant black 精子の運動を computer assisted sperm motility analysis system (CASA) で分析した。また、両者の精子をヘキスト 33342 または pHrodo-red で別々に染色し人工授精を行い、SST 内の精子の分布を調べた。

(2) 血中テストステロン濃度が精子の鞭毛長に及ぼす影響：

鞭毛長の長い系統である dominant black および鞭毛長の短い系統である fawn2 の 3 個体ずつから F2 世代を作出し、作出した F2 雄の鞭毛長を計測した。またこれらの F2 世代の血中 T 濃度を測定し、鞭毛長との相関を調べた。またこれらの雄から射出精子を採取し、精子運動速度を調べた。

(3) 精子鞭毛長を制御する QTL の探索：

作出した F2 世代の雄から、鞭毛長の長い雄と短い雄のそれぞれ 10 匹ずつ選別し、ゲノム DNA を抽出した。これらのゲノム DNA を混合し、QTL-seq 解析を行い、精子鞭毛長の制御する責任領域を調べた。

4. 研究成果

(1) 精子鞭毛長の調査と鞭毛長が受精に及ぼす影響の観察：

Wild type, dominant black, yellow, albino, silver, panda, fawn2, DVD および rb の鞭毛長を測定した。その結果、Wild type は 141 μm 、dominant black は 144 μm 、yellow は 153 μm 、albino は 142 μm 、Silver は 132 μm 、panda は 144 μm 、fawn2 は 129 μm 、DVD は 129 μm 、rb は 138 μm であった。今回調べた系統で、もっとも鞭毛が長いのは yellow であり、逆にもっとも鞭毛が短いのは DVD および fawn2 であったが、yellow 系統はホモ個体で致死となる変異

を有し、ヘテロ個体として維持されているため、交配実験には使用できないと判断した。また、dominant black と wild type の組み合わせを用いると、F1 の父性を羽装で簡便に判別できるため、人工授精実験に使用した。

人工授精後 1 日から 7 日目まで卵を回収し、父性を調べたところ、dominant black 由来の胚が高い割合を占めた。SST 貯蔵精子は dominant black 精子の割合が有意に高かった。培養液の粘性を変化させて精子の曲線速度を調べたところ、粘性が増加するにつれ低下した。回帰直線を求め、傾きを比較したところ、Wild type と比較して、dominant black が有意に小さかった。精子の各部位長は、dominant black 精子は全長および中片部長が有意に長く、尾部では有意差は見られなかった。以上の結果から dominant black 精子は Wild type 精子よりも鞭毛が長いこと、粘性の高い輸卵管内においても運動性を維持しやすく、SST への侵入に有利であるため受精に有利になると予想された。

(2) 血中テストステロン濃度が精子の鞭毛長に及ぼす影響：

作出した F2 世代は 185 匹であり、これらの雄から得た精子の鞭毛長の平均値は 112.3～158.9 μm の範囲であった。すべての個体の血中 T 濃度を測定し、精子鞭毛長との相関関係を調べたところ、統計学的に有意な相関は認められなかった。一方、血中 T 濃度と精巣重量との間には統計学的に有意な正の相関が認められた。加えて、精子鞭毛長と精子の運動との間には正の相関が認められたが、血中 T 濃度との間に相関関係は認められなかった。

(3) 精子鞭毛長を制御する QTL の探索：

F2 世代の雄から鞭毛長の長い雄と短い雄をそれぞれ 10 匹選び、ゲノム DNA を抽出し、QTL-seq 解析を行なった。その結果、Z 染色体上にスニップインデックスの高い領域が検出され、精子鞭毛長を制御する QTL が Z 染色体上に存在する可能性が示唆された。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計7件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 4件）

1. 著者名 Sato Noriyosi, Tsuda Sei-Ichiro, Nur E. Alam Md., Sasanami Tomohiro, Iwata Yoko, Kusama Satoshi, Inamura Osamu, Yoshida Masa-aki, Hirohashi Noritaka	4. 巻 10
2. 論文標題 Rare polyandry and common monogamy in the firefly squid, <i>Watasenia scintillans</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Scientific Reports	6. 最初と最後の頁 10962
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1038/s41598-020-68006-1	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 Matsuzaki Mei, Hirohashi Noritaka, Tsudzuki Masaoki, Haqani Mohammad Ibrahim, Maeda Teruo, Mizushima Shusei, Sasanami Tomohiro	4. 巻 100
2. 論文標題 Longer and faster sperm exhibit better fertilization success in Japanese quail	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Poultry Science	6. 最初と最後の頁 100980 ~ 100980
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.psj.2021.01.003	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 Suzuki Tomohiro, Nakamura Luna, Inayoshi Satomi, Tezuka Yuki, Ono Akiko, Choi Jae-Hoon, Dohra Hideo, Sasanami Tomohiro, Hirai Hirofumi, Kawagishi Hirokazu	4. 巻 85
2. 論文標題 An efficient heterologous <i>Escherichia coli</i> -based expression system for lectin production from <i>Pleurocybella porrigens</i>	5. 発行年 2020年
3. 雑誌名 Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry	6. 最初と最後の頁 630 ~ 633
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1093/bbb/zbaa058	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 -
1. 著者名 Sarkar Prodip Kumar, Egusa Ai, Matsuzaki Mei, Sasanami Tomohiro	4. 巻 58
2. 論文標題 Effect of Anserine and Carnosine on Sperm Motility in the Japanese Quail	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 The Journal of Poultry Science	6. 最初と最後の頁 186 ~ 191
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.2141/jpsa.0200071	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 Matsuzaki Mei, Hirohashi Noritaka, Mizushima Shusei, Sasanami Tomohiro	4. 巻 227
2. 論文標題 Effect of sperm surface oligosaccharides in sperm passage into sperm storage tubules in Japanese quail (<i>Coturnix japonica</i>)	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Animal Reproduction Science	6. 最初と最後の頁 106731 ~ 106731
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.anireprosci.2021.106731	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 Mizushima Shusei, Sasanami Tomohiro, Ono Tamao, Matsuzaki Mei, Kansaku Norio, Kuroiwa Asato	4. 巻 476
2. 論文標題 Cyclin D1 gene expression is essential for cell cycle progression from the maternal-to-zygotic transition during blastoderm development in Japanese quail	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Developmental Biology	6. 最初と最後の頁 249 ~ 258
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ydbio.2021.04.005	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 -

1. 著者名 Khoi Hoang Xuan, Shimizu Kenji, Yoneda Yoshitaka, Minagawa Itaru, Abe Yasuyuki, Kuwabara Yasushi, Sasanami Tomohiro, Kohsaka Tetsuya	4. 巻 53
2. 論文標題 Monitoring the reactive oxygen species in spermatozoa during liquid storage of boar semen and its correlation with sperm motility, free thiol content and seasonality	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Andrologia	6. 最初と最後の頁 e14237
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1111/and.14237	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 -

〔学会発表〕 計7件 (うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件)

1. 発表者名 笹浪知宏、青島優香、松崎芽衣、水島秀成
2. 発表標題 ウズラの性比に影響を及ぼす要因
3. 学会等名 第44 回鳥類内分泌研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 水島秀成、塚田光、笹浪知宏、小野珠乙、黒岩麻里
2. 発表標題 ウズラ初期胚におけるDAZL (deleted in azoospermia-like) の発現解析
3. 学会等名 第44 回鳥類内分泌研究会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 市川 佳伸、松崎芽衣、水島秀成、笹浪知宏
2. 発表標題 ウズラの精子-卵子相互作用におけるAnnexin6の役割
3. 学会等名 日本家禽学会 2021年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 松崎 芽衣、水島秀成、広橋教貴、堀内浩幸、笹浪知宏
2. 発表標題 ウズラ精子表面の糖鎖が精子貯蔵管への精子侵入へ果たす役割
3. 学会等名 日本家禽学会 2021年度春季大会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 笹浪知宏・松崎芽衣・水島秀成
2. 発表標題 ウズラの精子表面で精子貯蔵管への精子侵入に関与するタンパク質
3. 学会等名 日本家禽学会 2022年度春季大会
4. 発表年 2021年～2022年

1. 発表者名 笹浪知宏・松崎芽衣・高塚夢々・水島秀成
2. 発表標題 精子貯蔵管への精子侵入を阻害するタンパク質
3. 学会等名 第45回鳥類内分泌研究会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 水島秀成・塚田光・笹浪知宏・小野珠乙・黒岩麻里
2. 発表標題 ウズラDAZL (deleted in azoospermia-like) mRNAの3'-UTRに結合するタンパク質の解析
3. 学会等名 第45回鳥類内分泌研究会
4. 発表年 2021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
---------	---------