

令和 6 年 4 月 27 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2022～2023

課題番号：22K19198

研究課題名（和文）メダカの求愛パフォーマンスを規定する性染色体遺伝子の同定

研究課題名（英文）Search for a sex chromosome gene that impacts courtship performance in medaka

研究代表者

大久保 範聡 (Okubo, Kataaki)

東京大学・大学院農学生命科学研究科（農学部）・教授

研究者番号：10370131

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）：我々は最近、性染色体がメス型（XX）のオスのメダカは、通常のXYのオスよりもメスに「モテない」ことを見出した。この発見を素直に解釈すると、メダカの性染色体上に、オスの求愛パフォーマンスを規定する中枢性の遺伝子が存在することになる。そこで本研究では、その遺伝子の同定を試みた。XXオスとXYオスの脳でトランスクリプトーム解析を行い、それらのオスの脳の間で発現量に差があり、かつ性染色体上に存在する遺伝子を探索した結果、XXオスで発現が低下している性染色体上の遺伝子が34種類見出された。これらの中に、求愛パフォーマンスを規定する遺伝子が存在することが期待される。

研究成果の学術的意義や社会的意義

本研究では、オスの生殖パフォーマンスを規定する性染色体上の遺伝子を同定するまでは至らなかったが、本研究で得られた手がかりをもとに引き続き研究を進めることで、そう遠くない将来に、その目的が達成されると期待している。そうなれば、真骨魚類では性染色体構成が生殖パフォーマンスに影響しないというこれまでの通説を覆すだけでなく、性染色体の進化プロセスにも重要な示唆を与えることになるだろう。

研究成果の概要（英文）：We recently found that male medaka with XX sex chromosomes are less sexually attractive to females than normal males with XY sex chromosomes. A straightforward interpretation of this finding would be that a gene acting in the brain to regulate male courtship performance exists on the sex chromosomes of medaka. Therefore, in this study, we attempted to identify this gene. We performed transcriptome analysis on the brains of XX and XY male medaka and searched for genes that are differentially expressed in these males and that are located on the sex chromosomes. This led us to identify 34 genes on the sex chromosomes that were down-regulated in XX males. One or a few of these genes may be responsible for male courtship performance.

研究分野：魚類生殖生理学

キーワード：性染色体 魚類 生殖パフォーマンス 脳

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 男性の中には、まれに性染色体の構成が女性型 (XX) の人がいるが、そのような男性は機能的な精子を作ることができない。精子形成に必要な遺伝子が Y 染色体上に乗っているため、Y 染色体をもっていないと、機能的な精子を作れないのである。ところが真骨魚類では、性染色体がメス型 (XX もしくは ZW) でも機能的な精子を作ることができる。同様に、性染色体がオス型 (XY もしくは ZZ) でも機能的な卵を作ることができる。卵や精子だけでなく、生殖行動を含めた行動の表現型も、性染色体構成によらず、完全なオス型にも完全なメス型にもなれるとされている。だからこそ、真骨魚類は脊椎動物の中では例外的に、性転換することもできると考えられている。

(2) この現象の背景には、真骨魚類特有の性染色体構造があるとされている。真骨魚類はそれぞれの種が固有の性染色体をもつが、いずれの種でも、性染色体が誕生してからの歴史が浅い。そのため、X 染色体と Y 染色体の間、あるいは Z 染色体と W 染色体の間に違いがほとんどない。例えば、本研究でモデル魚として用いたメダカ (*Oryzias latipes*) では、X 染色体と Y 染色体は形態的に区別することができないほど似ており、実質的な違いは、性決定遺伝子の有無だけだとされている (文献 1、2)。トラフグ属やブリ属の魚種などでも同様に、2 本の性染色体の違いは、性決定遺伝子座のみであることが報告されている (文献 3、4)。つまり真骨魚類では、性染色体がオス型であろうとメス型であろうと、もっている遺伝子はほとんど変わらない。そのため、性染色体構成が、雌雄それぞれの生殖パフォーマンスに影響することはないと考えられてきた。

2. 研究の目的

(1) ところが、我々はごく最近、性染色体がメス型 (XX) のオスのメダカは、通常の XY のオスよりもメスに「モテない」ことを見出した。メスに求愛してからメスに受け入れられるまでの時間が、通常の XY オスと比べて顕著に長かったのである。XX オスは機能的な精子を作り、外部形態 (体サイズ、体色、ヒレの形状) や求愛の頻度も、通常の XY オスと変わらない。にも関わらず、明らかにメスから受け入れられにくいのである。この発見は、性染色体の構成が、オスの求愛行動に関する何らかのパフォーマンスを左右し、オスのモテ度 (つまり、適応度) に影響することを意味する。前述の通り、真骨魚類では従来、性染色体構成は雌雄の生殖パフォーマンスに影響しないとされてきたが、その通説に一石を投じる可能性がある発見であると言える。

(2) この発見を素直に解釈すると、メダカの性染色体上に、オスの求愛パフォーマンスを規定する中枢性の (脳で作用し、行動に影響を及ぼす) 遺伝子が存在することになる。そこで本研究では、その遺伝子の同定を試みることにした。

3. 研究の方法

(1) 求愛パフォーマンスの解析: XX オスは XY オスと同じ頻度でメスに求愛するが、なかなかメスに受け入れてもらえない。求愛の様子を観察したところ、XX オスは XY オスよりも求愛のダンスがゆっくりな印象を受けた。そこで、このことを定量的に示すため、両オスの求愛行動をビデオ撮影し、ダンス中の遊泳スピードを比較解析した。

(2) 候補遺伝子の探索: XX オスと XY オスの求愛パフォーマンスの違いを生み出す性染色体上の遺伝子を探索する目的で、両オスの脳でトランスクリプトーム解析 (RNA-seq) を行った。両オスのトランスクリプトームを比較することで、発現量に差があり、かつ性染色体上に存在する遺伝子を探索した。その後、得られた遺伝子のそれぞれについて、*in silico* クローニングと分子系統樹解析によってアノテーションを行った。それにより、各遺伝子の正体を明らかにした。

(3) 脳内の性ステロイド環境の解析: 真骨魚類を含め、脊椎動物の配偶行動は、性ステロイドの制御下にある。このことを踏まえ、XX オスと XY オスの求愛パフォーマンスの違いはもしかしたら脳内の性ステロイド環境の違いによるかもしれないと考えた。このアイデアのもと、両オスの脳内のアンドロゲンとエストロゲンの量を液体クロマトグラフ質量分析計により測定した。また、XX オスと XY オスの脳内のアンドロゲン受容体とエストロゲン受容体の発現を *in situ* ハイブリダイゼーションによって調べた。

4. 研究成果

(1) 求愛パフォーマンスの解析: XX オスと XY オスの求愛行動のスピードを比較解析した結果、XX オスの方がスピードが有意に遅いことが明らかとなった。加速度やメスとの距離など、さらに詳細な解析が必要だが、この結果は、事前の印象の通り、XX オスの方が求愛のダンスがゆっくりであることを示唆しており、このことが XX オスが「モテない」原因となっている可能性が考えられた。

(2) 候補遺伝子の探索: XX オスと XY オスの脳でのトランスクリプトーム解析の結果, XX オスで発現が低下している性染色体上の遺伝子が 34 種類見出された。これらの遺伝子の *in silico* クローニングと分子系統樹解析を進めたところ、そのうちの少なくとも 13 種類がタンパク質をコードする遺伝子であることが分かった。その中には、微小管結合タンパク質の一種をコードする *map9* (microtubule associated protein 9) (図 1) やコリン輸送体様のタンパク質をコードする *ctl1* (choline transporter-like 1) 転写コアクチベーターの一種をコードする *psip1* (PC4 and SRSF1-interacting protein 1) (図 2) 繊毛タンパク質の一種をコードする *iqce* (IQ domain-containing protein E) などが含まれていた。今後は、同定された遺伝子の脳での発現パターンの解析やノックアウトメダカを用いた機能の解析を進めていく予定である。

(3) 脳内の性ステロイド環境の解析: XX オス

と XY オスの脳内のアンドロゲン (11-ケトテストステロン、およびテストステロン) とエストロゲン (エストラジオール-17 β) の量を測定したところ、いずれについても両オスの間に有意な差は認められなかった。したがって、XX オスと XY オスの求愛パフォーマンスの違いは脳内の性ステロイド量の違いに起因する可能性は排除された。一方、まだ予備的なデータではあるが、脳内の特定の領域 (視索前野や視床下部といった配偶行動に重要だとされる脳領域) でのエストロゲン受容体 (*esr1* と *esr2b*) の発現が XY オスよりも XX オスで低くなっていることが分かった。我々の最近の研究によって、オスの配偶行動の発現にはエストロゲンが脳に作用する必要があることが示されている。このことから、もしかしたら XX オスでは、脳でのエストロゲンの作用の低下が、求愛パフォーマンスの低下をもたらしているかもしれないと考えられた。

(4) 以上、本研究では、生殖パフォーマンスを規定する性染色体上の遺伝子を同定するまでは至らなかったが、本研究で得られた手がかりをもとに引き続き研究を進めることで、そう遠くない将来にその目的が達成されると期待している。そうなれば、真骨魚類では性染色体構成が生殖パフォーマンスに影響しないというこれまでの通説を覆すだけでなく、性染色体の進化プロセスにも重要な示唆を与えることになるだろう。

< 引用文献 >

- Matsuda M, Nagahama Y, Shinomiya A, Sato T, Matsuda C, Kobayashi T, Morrey CE, Shibata N, Asakawa S, Shimizu N, Hori H, Hamaguchi S, Sakaizumi M (2002) DMY is a Y-specific DM-domain gene required for male development in the medaka fish. *Nature* 417:559–563
- Kondo M, Nanda I, Hornung U, Schmid M, Schartl M (2004) Evolutionary origin of the medaka Y chromosome. *Curr Biol* 14:1664–1669
- Kamiya T, Kai W, Tasumi S, Oka A, Matsunaga T, Mizuno N, Fujita M, Suetake H, Suzuki S, Hosoya

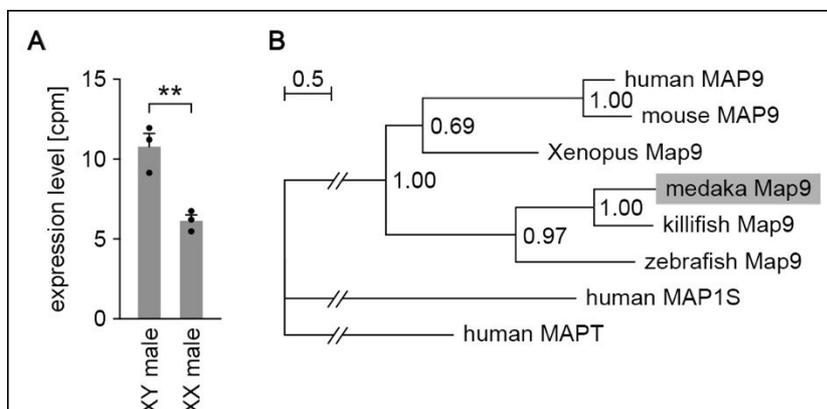


図 1. 本研究で見出された候補遺伝子の一つである *map9* (microtubule associated protein 9)。 (A) RNA-seq によって明らかとなった XY オスと XX オスの脳での *map9* 発現レベルの差。XX オスでの発現レベルは、XY オスよりも有意に低い。 (B) 脊椎動物の MAP9 の分子系統樹。分岐点の数字は Shimodaira-Hasegawa-like local support を、スケールバーは遺伝距離を示す。本研究で得られた遺伝子が、確かにメダカの *map9* であることを示している。

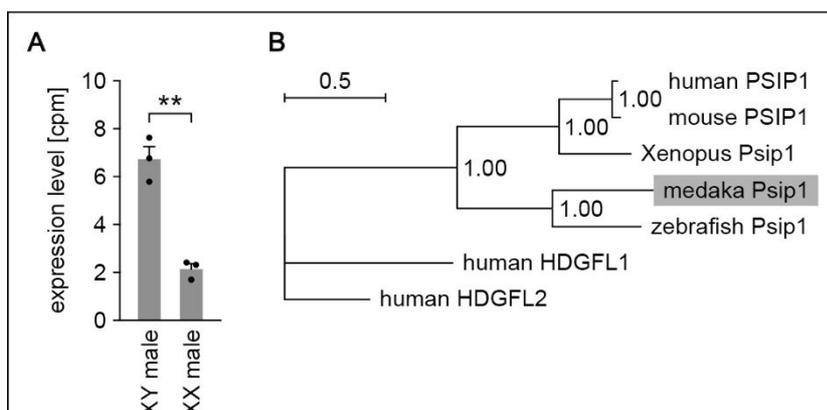


図 2. 本研究で見出された候補遺伝子の一つである *psip1* (PC4 and SRSF1-interacting protein 1)。 (A) RNA-seq によって明らかとなった XY オスと XX オスの脳での *psip1* 発現レベルの差。XX オスでの発現レベルは、XY オスよりも有意に低い。 (B) 脊椎動物の PSIP1 の分子系統樹。分岐点の数字は Shimodaira-Hasegawa-like local support を、スケールバーは遺伝距離を示す。本研究で得られた遺伝子が、確かにメダカの *psip1* であることを示している。

S, Tohari S, Brenner S, Miyadai T, Venkatesh B, Suzuki Y, Kikuchi K (2012) A trans-species missense SNP in *Amhr2* is associated with sex determination in the tiger pufferfish, *Takifugu rubripes* (fugu). *PLoS Genet* 8:e1002798

Koyama T, Nakamoto M, Morishima K, Yamashita R, Yamashita T, Sasaki K, Kuruma Y, Mizuno N, Suzuki M, Okada Y, Ieda R, Uchino T, Tasumi S, Hosoya S, Uno S, Koyama J, Toyoda A, Kikuchi K, Sakamoto T (2019) A SNP in a steroidogenic enzyme is associated with phenotypic sex in *Seriola* fishes. *Curr Biol* 29:1901–1909

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計0件

〔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
---------	---------