

ふりがな たなか けいた
 氏名 田中啓太
 学位 博士 (理学)
 学位記番号 新大院博 (理) 第293号
 学位授与の日付 平成 20年 3月 24日
 学位授与の要件 学位規則第 4 条第 1 項該当
 博士論文名 **Evolutionary studies on the sex chromosome of *Oryzias luzonensis***
-Evidence for the sex-determining gene substitution-
 (ルソンメダカ性染色体の進化的研究 性決定遺伝子置換の証拠)

論文審査委員
 主査 教授 酒泉 満
 副査 教授 濱口 哲
 副査 教授 高橋 正道
 副査 准教授 林 八寿子
 副査 准教授 上井 進也
 副査 准教授 山平 寿智

博士論文の要旨

哺乳類以外の脊椎動物で唯一性決定遺伝子(DMY)が明らかにされているメダカ (*Oryzias latipes*) が属するメダカ属における性決定機構の進化過程に興味をもち、メダカに最も近縁な種の一つであるルソンメダカ(*O. luzonensis*)の性決定機構について研究を行った。要旨は以下の通りである。

1. ルソンメダカの性染色体の同定

DMY は、メダカ以外の種では唯一ハイナンメダカで確認されているが、ハイナンメダカの姉妹種であるルソンメダカにはないとされている。ルソンメダカの性決定遺伝子を同定することを目的として、まず本種の性染色体の同定を試みた。多数のメダカ EST を用いた連鎖解析によって本種の性染色体はメダカの常染色体である 12 番染色体と相同であること発見した。この結果、ハイナンメダカとルソンメダカの種分化の過程で性染色体が置換した可能性が明らかになった。

2. ルソンメダカ性染色体の構造と機能の解析

ルソンメダカ性染色体の連鎖地図を作成したところ、その全長にわたってメダカの 12 番染色体と相同であることが判明し、ルソンメダカから新たな性決定遺伝子が発見される可能性が出てきた。また、ルソンメダカで報告されている DMY 類似配列 *Dmrt1p* は 18 番染色体上に存在し、性とは連鎖しないことが明らかになった。本種の性決定領域周辺は組み換えが抑制されておらず、500 万年前以降に出現した新しい性染色体であることと矛盾しない。ハイナンメダカとの雑種の解析より、ルソンメダカの Y 染色体は性決定において DMY と類似の機能をもつことが示唆された。

3. ルソンメダカ性決定領域の物理地図作成

ルソンメダカの性決定遺伝子を同定する目的で、組換え体の連鎖解析による性決定領域の詳細連鎖地図と、BAC クローンによる物理地図作成を試みた。まず性決定領域を両サイド 1cM のマーカーで挟んだ。次に XX 胚由来の培養細胞を確立し、そのゲノム DNA から BAC ライブラリーを作成した。性決定領域は 4 つのクローンでカバーされ、その大きさは約 350kb であった。この領域の全塩基配列を決定したところ、全長にわたってメダカ 12 番染色体の相同領域と高い相同性が見られた。この領域から 29 個の遺伝子が予測された。Y 染色体の塩基配列は現在解析中である。

審査結果の要旨

申請者は、前期課程で修得した連鎖解析の研究手法を基礎に後期課程における研究テーマを決定した。即ち、メダカで初めて報告された哺乳類以外の性決定遺伝子 *DMY* がメダカ属に共通のものではないことが明らかになり、メダカ属魚類には多種多様な性決定遺伝子が存在する可能性が示唆されていた。そこで申請者は、*DMY* の起源やメダカ近縁種での性決定機構の進化過程を研究するには「メダカに最も近縁でありながら *DMY* をもたない」ルソンメダカの解析が必須であると考えた。本申請論文は「性決定機構の進化モデルとしてのメダカ属魚類」に着目し、新規の性決定遺伝子を同定しようという意欲的なテーマである。

第一部では、網羅的な連鎖解析から、ルソンメダカの性染色体がメダカやハイナンメダカの 1 番染色体とは異なる可能性を示した。近縁種で新しい性染色体の発見はこれが 2 例目である。

第二部では、ルソンメダカ性染色体の連鎖地図を作成し、全長にわたってメダカ 12 番染色体と相同であること、性決定領域も組み換えが抑制されておらず、当該領域の遺伝解析に支障がないことを示した。*DMY* 類似の偽遺伝子 *Dmrt1p* の所在を明らかにしたのも重要な成果である。

第三部では、ルソンメダカの性決定遺伝子同定を目指して詳細連鎖地図と物理地図の作成に取り組んだ。XX 胚由来の培養細胞を確立し、東大の成瀬清氏と理研の藤山秋佐夫氏の協力の下、世界初のルソンメダカ BAC ライブラリーを作成した。BAC クローンと組換え体の解析から性決定領域の詳細な連鎖地図と物理地図を完成させた。その結果、ルソンメダカの性決定領域は 4 つのクローンでカバーされ、350KB の範囲に特定された。成瀬氏と遺伝研の小原雄治氏の協力によりこの全塩基配列を決定したところ、全領域にわたってメダカの 12 番染色体上の相同領域と高い相同性があり、29 個の遺伝子が予測された。これらと Y 染色体上の相同領域との比較からルソンメダカの性決定遺伝子が見つかるはずである。

以上の結果は、メダカ近縁種で初めて性決定遺伝子を同定するための道筋を具体的に示したものであり画期的な成果である。現在、YY 個体由来のゲノムライブラリーを用いた解析が進行しており、近々新規の性決定遺伝子の発見が期待されている。

第一部と第二部については米国遺伝学会の英文誌「GENETICS」に掲載済みである。

以上のように本申請論文は、意欲的なテーマに取り組み、メダカ類の系統・進化、性決定機構の解明に重要な貢献をしている完成度の高いものである。研究成果の公表も順調であり、今後の研究の発展が期待できる。よって本論文は博士（理学）の学位論文として妥当であると認定した。