

(生物圏生命科学学専攻長 奥村 克純



(副専攻長 福崎 智司



学位論文審査の結果の要旨

専攻	生物圏生命科学専攻	氏名	かわせ じゅんや 川瀬 純也
審査委員	主査教授	河村 功一	
	副査教授	古丸 明	
	副査教授	田丸 浩	
	副査 水産研究機構増養殖研究所・研究専門員	荒木 和男	
論文題目 (題目変更の有無) 有・無	Studies on genome evolution and gain of sex determination system in <i>Seriola</i> species (ブリ類のゲノム染色体進化と性決定様式の獲得に関する研究)		
<p>(論文審査の結果の要旨)</p> <p>硬骨魚類は陸棲脊椎動物の祖先であり、進化の過程においてWhole Genome Duplication (WGD: 全ゲノム重複) を2-4回経験した種が存在する。遺伝子の数を倍化させるWGDが起きた場合、ある遺伝子に有害な突然変異が生じて、残りの相同遺伝子は正常に機能する。このため、WGDを経験した種においては突然変異が生命機能に支障を来す確率は低く、結果的には遺伝的多様性が増加することとなる。様々な環境に生息する硬骨魚類の多くは、ほ乳類よりも1回多い3回のWGDを経験することにより高い適応能を獲得したと考えられている。次世代シーケンサーを用いた近年のゲノム解析の結果から、コイ科魚類とサケ科魚類の一部では、進化の過程において他の硬骨魚類よりも更に1回多い4回のWGDを経験していることが証明されている。その一方で硬骨魚類においては2回のWGDしか経験していないスポットテッドガー (<i>Lepisosteus oculatus</i>) の様な種も存在するため、魚類はゲノム進化を考える上で最適の研究対象である。</p> <p>非モデル生物であるブリ類はメダカ (<i>Oryzias latipes</i>) やゼブラフィッシュ (<i>Danio rerio</i>) といったモデル生物とは進化的位置と生態が大きく異なることから、魚類のゲノム進化の関係を理解する上で有意義な研究対象種であると考えられる。また、魚類の性決定様式は魚種によって異なっており、ブリ類の性決定様式の解明はゲノム進化上極めて興味を持たれる。こうした背景を元に本論文ではブリ類を対象にゲノム解析を行った。</p> <p>全ゲノムの比較を行う進化の研究において染色体上に並ぶ遺伝子の順番を示した遺伝子地図の作成は必須である。従来の研究においては主に連鎖情報をベースとしたものが用いられてきた。連鎖情報に基づく遺伝子地図は家系解析や交雑解析といった遺伝学的手法により作製されることから、マッピングされた遺伝子間の距離が遺伝学的距離により表現され、性染色体のように減数分裂時に染色体の組換えを起ささない領域ではマッピングが不可能であり、ゲノム配列を整列化するには正確性と解像度に欠けるという問題があった。これに対し、近年開発された物理地図の一つであるRadiation hybrid map (RHマップ) は染色体上のマーカー間の物理的距離を正確に反映し、染色体の組換えを起ささない領域でも遺伝子のマッピングが可能という長所を備えている。このことから本論文ではRHマップを用い、魚類の高精度遺伝子地図を作成することにより、魚類のゲノム進化とブリ類 (<i>Seriola</i>) の染色体の性決定領域の進化の解明を目的とした。</p>			

第二章では、まず、先行研究により作出されたブリ (*Seriola quinqueradiata*) のRHマップに新たに181マーカーをマッピングし、計1,713マーカーからなる遺伝子地図を作成した。次にこの地図にブリのゲノム配列をアセンブリした200個のscaffold (計601Mbp) ならびに13,977個のEST配列を物理地図上にマッピングし、高密度遺伝子地図を作成した。この作成された遺伝子地図と整理化されたゲノム配列を用い、ブリとスポットテッドガー、メダカ、イトヨ (*Gasterosteus aculeatus*)、ミドリフグ (*Dichotomyctere nigroviridis*) の5種の間でゲノム構造を比較したところ、ブリとメダカの染色体の間では、幾つかの遺伝子からなるブロックの転座が認められたが、染色体上のほぼすべての領域において発現遺伝子の並び (synteny) は保存されていることが明らかにされた。

次にWGDを他の硬骨魚類より1回少ない2回しか経験していないスポットテッドガーをリファレンスとし、WGDを3回経験しているブリ、メダカ、イトヨ、ミドリフグの4種の間で進化の過程で生じた組換えによる染色体構造の変化を推定した。その結果、ブリの染色体間の転座は他の3魚種と比べ、1.5-2倍の高頻度で生じていることを明らかにした。また、本論文において作成された遺伝子地図と整理化されたゲノム配列は今後のゲノム研究だけでなくブリ育種においても大いに役立つことが考えられた。

第三章では、ブリの性決定領域が12連鎖群の末端にあり、通常の遺伝学的解析では性決定領域を狭めることが難しいことから、ブリの同属種であるカンパチ (*Seriola dumerili*) を用い、性と相関のある一塩基多型 (SNP) の特定を行った。本論文において同定されたSNPsは主に第12連鎖群上のcontig43とcontig168に位置し、遺伝子型は全メス個体においてヘテロ接合であったことから、カンパチはメスヘテロ型 (ZW型) の遺伝的性決定様式を持つことが推定された。また、カンパチの発現遺伝子のマッピングの結果から、性相関SNPsの近傍には複数の性分化に関わる遺伝子 (estradiol 17-beta-dehydrogenase 1, Sox8, Sox9など) が存在することが確認された。なお、カンパチの第12連鎖群とメダカの第8染色体は同祖的な染色体であるものの、メダカの場合、性決定因子は第1染色体に位置し雄ヘテロ型 (XY型) の遺伝的性決定様式を持つことから、カンパチの性決定はメダカとは異なるメカニズムにより制御されていることを本論文は明らかにした。また、カンパチとブリの第12連鎖群全体のsynteny (染色体上に遺伝子が並ぶ順番) の比較から、性決定遺伝子が存在する性決定領域 (SD領域) は種間で保存されていることが解明された。先行研究のブリの同属種であるカリフォルニアアイエローテール (*S. dorsalis*) の研究で性決定遺伝子と推定されたestradiol 17-beta-dehydrogenase 1が存在するscaffoldとの塩基配列の比較からカンパチとカリフォルニアヒラマサの間でも性決定領域が保存されていた。以上のことから、ブリ属の性決定領域は本属の共通祖先において成立し、種分化後もそれぞれの種で保存され、ブリ類は安定した性決定システムを保持していることが本論文により示唆された。

本論文によりブリとこれまでにゲノム解析が行われた魚種のゲノム構造の比較からブリはゲノム進化的にメダカに近いこと、2回のWGDを起こしたspotted garのゲノム配列を参照配列にした進化的な染色体間の転座の比較から、回遊するブリでは他の魚種に比べてより多くの転座を起こしているという極めて興味深い知見を得ることができた。さらに、本研究で特定されたカンパチの性決定領域とブリ及びカリフォルニアヒラマサの性決定領域の比較からブリ類では性決定領域が保存されており、同じZW式の性決定機構を持っていることを新たに明らかにした。本ブリ類のゲノム解析の研究からゲノム進化的に非常に興味深い新たな知見を得たことから、魚類ゲノム進化の研究の進歩に貢献することが期待される。さらに、本研究で得られたゲノム塩基配列がマッピングされたブリの高密度物理地図は、今後ブリ類のゲノム育種に貢献することが期待される。このことから、平成30年10月25日に開催された学位論文審査において審査委員会は本論文が十分に学位論文に値するものであると全会一致で認めた。

なお、最終試験において審査委員から論文は十分に改訂が行われているものの、図表の説明の追加と分かり易さに向けた改良が必要との意見が出された。