

メダカを用いた遺伝子型 - 表現型相関の解明

メダカは小川や水田に生息する日本在来の野生動物で、東南アジアにはメダカの近縁種が20種以上分布している。また、日本オリジナルのモデル動物でもあり、近交系や突然変異体など、これまでに様々な性質を備えた系統が作出されてきた。本研究室では、これらの多様な生物遺伝資源（バイオリソース）を用いて、近縁種間における性染色体・性決定遺伝子の進化、体色突然変異体の原因遺伝子同定と色素細胞分化機構の解明など、メダカ近縁種を用いた性的二型発現の分子遺伝基盤の解析など幅広い生命現象の理解を目指している。また、本研究室はメダカバイオリソースプロジェクト（NBRPメダカ）の中核機関として、メダカバイオリソースの整備を積極的に進めるとともに、様々なメダカ系統やゲノムリソースの収集・整備を行うとともに、それを国内外の研究者に広く提供している。



Members

特任教授
成瀬 清

助教
安齋 賢

特別協力研究員
漆谷 博志

研究員
小林 弘子
金子 裕代
原 郁代

技術支援員
味岡 理恵
小池 知恵子
小池 ゆかり
高木 千賀子
手嶋 祐子
鳥居 直子
山崎 瞳子
矢野川 梓

事務支援員
鈴木 登貴子

バイオリソース研究室で維持しているメダカ系統と近縁種

メダカ属魚類における性決定遺伝子の進化

性染色体は分類群によって異なり、性染色体上に存在する性決定遺伝子の実体は多くの動物において明らかにされていない。このような性決定遺伝子の多様化をもたらした分子基盤を解明するため、近縁な種間で性染色体が異なるメダカ属魚類を用いて性決定機構の解析を行っている。これまでの研究から、インドメダカではY染色体上のSox3遺伝子がオス決定遺伝子であることを明らかにした。哺乳類の性決定遺伝子SryもSox3から進化したと考えられていることから、同じ遺伝子が繰り返し性決定に利用されてきたことが明らかとなった。また、他の近縁種との比較から、下流の性決定カスケードは種間で保存されていることも判明した。インドメダカではY染色体上のSox3が下流遺伝子gsdfの発現を活性化するという、新たなパスウェイを獲得することによってオス分化を誘導することが明らかとなった。

体色突然変異体の原因遺伝子同定と色素細胞分化機構の解明

魚類は哺乳類と異なり複数の色素細胞を持つ。メダカでは哺乳類と共通な黒色素胞に加え黄色素胞、白色素胞、虹色素胞の4種類をもつ。メダカで発見された体色突然変異体を用いてその原因遺伝子を同定したところ、白色素胞は黄色素胞と共通の幹細胞から分化し、その運命決定にはsox5遺伝子が重要な役割を果たすことが明らかとなった。また虹色素胞の変異体guaninlessの原因遺伝子はpnp4aであることを明らかにした。一連の研究から現在ではゲノム編集を用いて色素形成を制御することで体色を自由にコントロールすることも可能となった。

性的二型の多様化をもたらす分子遺伝基盤の解明

性的二型、すなわち雌雄間での表現型の違いは生物において広く観察されるが、時に近縁種間であっても顕著に多様化する。しかしながら、性的二型の多様化について、その原因となる遺伝的変化を同定し、その機能までを実証的に検証した例はほとんどない。メダカ科魚類のうち、インドネシア・スラウェシ島の固有種群は、近縁種間で多様化した二次性徴形質を示すことから優れたモデル系になると考え、性的二型の多様化に関わる分子遺伝基盤の詳細な解明を進めている。現在、ウォウォールメダカ (*Oryzias woworae*) の雄が示す、鮮やかな赤色の胸鰭というユニークな性的二型に着目して研究を行っている。体色表現型に関する量的遺伝子座位 (QTL)

マッピングやトランスクリプトーム解析から、常染色体上に存在する有力な候補遺伝子を見出しており、その機能解析のための変異体作製をCRISPR/Cas法により進めている。加えて現在、候補遺伝子のウォウォールメダカ雄の胸鰭における高発現を担う調節領域変異の同定や、胸鰭色彩の配偶者選択における機能解明を進めている。

メダカバイオリソースプロジェクトの推進

基礎生物学研究所はメダカバイオリソースプロジェクトの中核機関であり、我々はこのプロジェクトを推進するための中心研究室の役割を担っている。突然変異体、遺伝子導入系統、近縁種等600を越える系統についてライブ及び凍結精子として保存し、リクエストに応じて提供をおこなっている (図1参照)。また、131万を越えるBAC/Fosmid/cDNA/ESTクローンも保存・提供をおこなっている。2010年からはTILLING法によって作製された突然



図1. メダカバイオリソースプロジェクトで提供しているメダカ系統
近交系 Hd-rR (上段), actin-DsRed 遺伝子導入系統 (中段)、透明メダカ Quintet (下段)。

変異体の同定システム及びCRISPR-Cas9によるゲノム編集システムを共同利用研究者に提供することで、逆遺伝学的手法による解析の普及を推進している。まだドナーベクターを用いたCRISPR-Cas9によるノックインシステムの開発なども行っ

参考文献

1. Watakabe, I., Hashimoto, H., Kimura, Y., *et al.*, (2018). Highly efficient generation of knock-in transgenic medaka by CRISPR/Cas9-mediated genome engineering. *Zoological Letters*, 4(1), 3.
2. Murakami, Y., Ansai, S., Yonemura, A., & Kinoshita, M. (2017). An efficient system for homology-dependent targeted gene integration in medaka (*Oryzias latipes*). *Zoological letters*, 3(1), 10.
3. Kimura, T., Takehana, Y. and Naruse, K. (2017). Pnp4a is the causal gene of the medaka iridophore mutant guaninless. *G3*: 7(4), 1357-1363.
4. Kirchmaier, S., Naruse, K., Wittbrodt, J. and Loosli, F. (2015). The genomic and genetic toolbox of the teleost medaka (*Oryzias latipes*). *Genetics*, 199(4), 905-918.
5. Kimura, T., Nagao, Y., Hashimoto, H. *et al.* (2014). Leucophores are similar to xanthophores in their specification and differentiation processes in medaka. *Pro. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(20), 7343-7348.
6. Takehana, Y., Matsuda, M., Moshio, T. *et al.* (2014). Co-option of Sox3 as the male-determining factor on the Y chromosome in the fish *Oryzias dancena*. *Nat. Commun.* 5, 4157.

特任教授
成瀬 清



助教
安齋 賢

