

論文審査の結果の要旨および担当者

| | | | |
|------|---|---|---|
| 報告番号 | ※ | 第 | 号 |
|------|---|---|---|

氏 名 ISLAM Fhamida Binte

論文題目

Molecular cytogenetic studies on hybrid sterility and chromosome evolution in Anseriformes

(カモ目における雑種不妊と染色体進化に関する分子細胞遺伝学的研究)

論文審査担当者

| | | | |
|----|----------|----|----|
| 主査 | 名古屋大学教授 | 松田 | 洋一 |
| 委員 | 名古屋大学教授 | 堀尾 | 文彦 |
| 委員 | 名古屋大学教授 | 吉村 | 崇 |
| 委員 | 名古屋大学准教授 | 石川 | 明 |
| 委員 | 名古屋大学助教 | 山縣 | 高宏 |

人類は、古くから様々な家畜を用いて種間・属間交配を行い、雑種強勢（ヘテロシス）効果によって有用な家畜を作出して農業に役立ててきた。しかし、異なる種や属間の雑種では、多くの場合、発育不全や不妊をともなう。このような生殖後隔離は、種の分化や維持のための重要なメカニズムのひとつである。この現象は両親種の染色体・ゲノムの不適合性に起因すると考えられているが、その詳細はほとんど不明である。イスラム・ファミダ・ビンテは、鳥類の雑種に見られる不妊現象の遺伝的メカニズムを明らかにする目的で、アヒル(*Anas platyrhynchos*)とバリケン(*Cairina moschata*)の雑種（ドバン）に着目し、雑種雄における精子形成と減数分裂について解析を行った。また、カモ目の染色体構造や核型進化を明らかにするために、アヒル、バリケン、ガチョウ(*Anser cygnoides*)を対象に、FISH (Fluorescence *in situ* hybridization)法を用いた比較染色体マッピングによってカモ目3種間ならびにニワトリ-カモ目間に生じた染色体構造変化を調べ、核型進化の過程について考察した。さらに、動原体ヘテロクロマチンを構築する反復配列を単離してその構造と特徴を明らかにし、動原体ヘテロクロマチンが減数分裂時の染色体対合に及ぼす影響について考察した。

第1章では、アヒルとバリケンの雑種が不妊となる原因について、組織学、細胞学、細胞遺伝学的手法を用いて解析した。精巣組織切片の観察の結果、精巣上皮は正常に発達し精母細胞は存在するが、第一精母細胞で精子形成は停止し、第二精母細胞ならびに精細胞、精子は存在しなかった。減数分裂の解析から、細胞の退縮は主にパキテン期で起こり、移動期から第一減数分裂中期でも退縮した細胞が観察され、これらの細胞はアポトーシスによって消失することを明らかにした。体細胞を用いた核型解析の結果、アヒルとバリケンの染色体数はともに80本であるが、1番染色体の動原体の位置と3番染色体とZ染色体の形態に違いが見られた。これらの結果から、2種間の雑種では、染色体構造の違いによって第一減数分裂の染色体対合が阻害され、その結果、染色体組換え、キアズマの形成、それに続く染色体の分離が正常に進行せず、染色体対合期以降に精子形成が停止する可能性が示唆された。

第2章では、分子細胞遺伝学的手法を用いた比較染色体マッピングによって、アヒル、バリケン、ガチョウ3種の染色体構造を比較し、カモ目内及びキジ目-カモ目間の染色体相同性と核型進化について解析した。ニワトリの1-9番染色体とZ染色体特異的DNAプローブを用いた染色体ペインティングでは、ニワトリ4番染色体がカモ目3種の4番染色体とマイクロ染色体に対応した以外は、各染色体がニワトリの1対の染色体に対応し、3種間で同じ遺伝連鎖群をもつことが分かった。18S-28SリボソームRNA遺伝子のクラスターは、アヒルとバリケンでは4対、ガチョウでは8対のマイクロ染色体に存在した。また、バリケンのマイクロ染色体では、染色体テロメアの繰り返しTTAGGG配列がアヒルのそれらに比べて大きく増幅していた。よって、アヒルとバリケンのマイクロ染色体におけるTTAGGG配列のコピー数の違いが、雑種の減数分裂における染色体対合に何らかの障害を引き起こす可能性が考えられた。さらに、機能遺伝子の染色体マッピングによって、ニワトリとカモ目3種間で2番染色体

と Z 染色体に挟動原体逆位が、ガチョウと他のカモ目 2 種の間で 4 番染色体と Z 染色体に挟動原体逆位が存在することを明らかにした。このようにキジ目とカモ目における遺伝連鎖群は非常に保存的であり、同一染色体内の構造変化は低頻度で生じているが、異なる染色体間での構造変化は生じていないことを明らかにした。

3 章では、アヒルの染色体の動原体ヘテロクロマチンを構築するサテライト DNA をクローニングし、その構造と種間の塩基配列の保存性について調べた。制限酵素で消化したゲノム DNA から *HaeIII* の認識サイトをもつ 190 bp の新規反復配列 (*AFL-HaeIII*) が得られた。*AFL-HaeIII* は縦列型高度反復配列であり、FISH 解析の結果、動原体 C-ヘテロクロマチンの分布と一致することから、この反復配列は major サテライト DNA であり、そして強いメチル化を受けていることを明らかにした。これまでに報告されているダチョウ目とキジ目の動原体特異的反復配列はすべてマイクロ染色体特異的であり、染色体サイズに依存したゲノム構造の区画化が見られるが、*AFL-HaeIII* はマクロ染色体とマイクロ染色体の両方に分布する新たなタイプの動原体反復配列であった。また、この配列はカモ目 (バリケン、ガチョウ、ヒシクイ、オオハクチョウ) 特異的に存在し、他の目では検出されないことから、アヒルから得られた *AFL-HaeIII* は、塩基置換率の速いカモ目特異的な動原体反復配列であることを明らかにした。また、マクロ-マイクロ染色体間で均質化が起こっていることから、カモ目鳥類の染色体では動原体反復配列の染色体サイズ依存的な区画化が消失している可能性が示唆された。また、バリケンとの間で高い塩基配列の相同性が認められたことから、動原体反復配列がアヒル-バリケンの雑種の減数分裂における染色体の対合異常の直接の原因ではないと考えられた。

以上のように、イスラム・ファミダ・ビンテの博士学位論文は、分子細胞遺伝学的手法を用いてアヒルとバリケンの染色体構造の違いを明らかにし、そして、染色体構造の不適合性によって減数分裂の染色体対合に異常が生じ、減数分裂を停止した精母細胞のアポトーシスによって配偶子形成が停止し雑種の不妊が引き起こされることを明らかにした。この結果は、1900 年半ばからほとんど進展がなかった鳥類の雑種不妊の研究において新たな知見をもたらした。また、これまで遺伝連鎖群の情報が乏しかったカモ目において 3 種の比較染色体地図の作製に成功し、キジ目とカモ目の間では染色体と遺伝連鎖群の保存性が非常に高いことを示すとともに、これらの種の間で生じた染色体構造変化の過程を明らかにした。さらに、カモ目で初めて動原体特異的サテライト DNA の単離に成功し、その塩基配列の進化速度が速いこと、そしてマクロ-マイクロ染色体間の染色体サイズ依存的な動原体反復配列の区画化がカモ目鳥類では消失している可能性を示した。このように、本博士学位論文で得られた知見は、鳥類におけるゲノム・染色体の進化、そして、それにとまなう生殖後隔離と種の維持機構の解明に重要な情報を提供するものとして高く評価できる。また、試問によって、今後これらの研究をさらに発展させるのに必要な知識と研究能力を確認できたことから、審査の結果、合格と判定した。