

## 論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	第	号
------	---	---

氏 名 IMAEDA YASSUMOTO Tamiris

論 文 題 目

Variation of body weight and seasonal reproduction in populations from different latitudes: genetic analyses using wild-derived medaka fish

(異なる緯度に由来する集団における体重と季節繁殖の変異：野生由来メダカを利用した遺伝学的解析)

論文審査担当者

主 査	名古屋大学教授	吉村 崇
委 員	名古屋大学教授	山本 直之
委 員	名古屋大学教授	大蔵 聡
委 員	名古屋大学准教授	石川 明
委 員	名古屋大学准教授	大川 妙子

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

地球は1年をかけて太陽の周りを公転しているが、その際、地軸が傾いているため、季節の変化が存在する。環境の季節変化は、低緯度地域よりも高緯度地域で劇的である。それにもなつて、冬眠や渡り、換羽・換毛、さらには繁殖活動など、動物のさまざまな生理機能の季節変化も緯度に依存して顕著になる。本研究では、さまざまな緯度に由来するメダカに着目して、体重と短日条件下での繁殖抑制の緯度による表現型の違いの仕組みを、順遺伝学的なアプローチから明らかにすることを目的とした。

体重は多因子に由来する複雑な形質であり、動物の生産性やヒトの肥満に関連する。そのため、体重の制御機構の解明は、農学や医学などの幅広い分野に貢献することが期待されている。高緯度地域では低緯度地域に比べて、身長や体重が大きくなる「ベルクマンの法則」が知られているが、その遺伝学的基盤は不明であった。本研究ではベルクマンの法則と体重制御の遺伝的基盤を理解するために、異なる緯度に由来する野生メダカに着目して研究を行うこととした。まず、高緯度地域に由来し、体重の大きな集団と、低緯度地域に由来し、体重の小さな集団を交配して得られた126個体のF2世代を使用して、量的形質遺伝子座(QTL)解析を実施した。その結果、4番染色体上に有意なQTLが見つかり、その領域内には141個の遺伝子が位置していることを見出した。これらの遺伝子について解析したところ、12個については、過去の知見から体重や成長に関係があることが明らかになった。さらに、その中の8個の遺伝子については2つの集団間でアミノ酸置換が存在していた。特に、Sned1のアミノ酸置換はタンパク質の機能に大きな影響を与えることが予測された。本研究で得られた成果は緯度によって変化する体重の遺伝的基盤を明らかにしただけでなく、将来、有用魚種を選抜する際の遺伝子マーカーとして役立つことが期待される。

動物の繁殖活動も緯度の影響を受けることが知られている。1年を通して温暖で食料が豊富な地域では動物は年間を通して繁殖活動を行なう「周年繁殖」をする。一方、高緯度地域では特定の季節にのみ繁殖活動を行なう「季節繁殖」を示す。メダカにおいても高緯度地域では春から夏にかけて季節繁殖するのに対して、沖縄や宮崎などの低緯度地域では1年を通して周年繁殖する。そこで愛知県に由来し、短日条件下で繁殖活動を停止する清須のメダカと、短日条件下で繁殖活動を停止しない宮崎のメダカを使ってQTL解析を行ったところ349個の候補遺伝子が抽出された。その中で繁殖活動の短日応答性に関与する候補遺伝子を探索したところ、32個の候補遺伝子が見つかった。2つの集団間の一塩基多型を分析したところ、機能に影響を与えると予測されたアミノ酸置換を持つ遺伝子が二つ見つかった。

さらに遺伝子発現量の違いが表現型に影響を及ぼしている可能性を検討するために、RNA-Seq解析を行い、2つの集団間で発現の異なる遺伝子(DEG)を明らか

## 論文審査の結果の要旨

別紙 1 - 2

にしたところ、*klf9* 遺伝子が有力な候補として浮上した。*klf9* 遺伝子は QTL のピーク近傍に位置し、2 つの集団の間にアミノ酸置換が存在していた。また、過去の研究から概日リズムの制御や繁殖活動に関連することが知られていた。そこで CRISPR / Cas9 を使用したゲノム編集で *klf9* ノックアウトメダカを作成し、*klf9* の機能について検討した。その結果、*klf9* KO メダカは正常に交配をして、次世代も正常に生育したため、*klf9* が繁殖、生存に必須ではないことが明らかになった。次に *klf9* が短日への応答性に不可欠であるかどうかをテストするために、6 か月令のメダカで短日応答性を検討した。その結果、*klf9* ノックアウトメダカと野生型のメダカの間で、短日応答性に違いは認められず、周年繁殖、季節繁殖を決定しているわけではないことが明らかになった。

*klf9* は繁殖活動以外にもストレス反応に関与することが報告されていたため、野生型とノックアウトメダカにおいて、新規水槽試験を行い、不安様行動を評価した。その結果、*klf9* ノックアウトメダカのメスは、野生型のメスよりも有意に高い不安様行動を示した。この結果は、メダカのストレス応答に *klf9* が関与していることを示した。

本研究では異なる緯度に由来するメダカをモデルとして、順遺伝学的なアプローチ、トランスクリプトーム解析を実施することで体重や繁殖活動の季節性を制御する量的形質遺伝子座を同定した。本研究の成果は今後、動物の生産性の向上に貢献することが期待されるため、当審査委員会は、本論文が博士（農学）の学位を授与するに値すると認め、合格と判定した。