

氏 名 桂 有加子

学位（専攻分野） 博士（理学）

学位記番号 総研大甲第 1464 号

学位授与の日付 平成 23 年 9 月 30 日

学位授与の要件 先導科学研究科 生命共生体進化学専攻  
学位規則第 6 条第 1 項該当

学位論文題目 Origin and evolution of sex determination  
systems in mammals

論文審査委員 主 査 教授 長谷川 真理子  
准教授 大田 竜也  
教授 颯田 葉子  
准教授 黒岩 麻里 （北海道大学）

## 論文内容の要旨

Sex determination systems are central to the production of offspring and a number of mechanisms have evolved in different organisms. In most organisms, sex is determined by sex chromosomes, which are characterized as having sex determination genes. While these genes are the most fundamental factor affecting gonad differentiation, these genes vary between species. I studied the evolution of sex determination genes and sex chromosomes in mammals, and hereby submit describe findings in this dissertation entitled, “Origin and Evolution of Sex Determination Systems in Mammals”. In Chapter 1, I provide a general introduction to this study and describe the aims of this research.

In mammals, the sex-determining region Y (*SRY*) is a testis-determining gene on the Y chromosome. Chapter 2 describes the molecular evolution of male-determining *SRY* genes. By comparing marsupial and eutherian *SRY* genes, I attempt to elucidate how *SRY* genes evolved and propose a new scenario for explaining how the specialized function of male determination developed independently in marsupials and eutherians. The results reveal that the functional differentiation of the marsupial *SRY* differs from that of the eutherian. The lineage-specific changes that have been observed in the *SRY* and other sex determination-related genes (*SOX9* and *Ad4BP/SF-1*) imply that molecular coevolution of genes has occurred in the sex determination system of eutherians.

In Chapter 3, I propose how therian (marsupial and eutherian) sex chromosomes became differentiated. Essentially, the X and Y chromosomes of these taxa originated from a pair of autosomes, with this differentiation of sex chromosomes being attributable to the suppression of recombination. Although a previous hypothesis proposed that X and Y differentiation in therian ancestors arose through a two-step process (called “evolutionary strata 1 and 2”; Lahn and Page, *Nature* 1999), I posit that this differentiation arose only once and the entire sex chromosome differentiated simultaneously in the therian ancestor. However gene conversion in eutherians reduced the nucleotide divergence between some gametologs, which meant that they could subsequently be categorized as different strata. Based on these findings, I provide a new scenario to explain the differentiation of mammalian sex chromosomes by considering the effects of genomic rearrangements, such as chromosomal inversion, on the sex chromosome. [These findings have been submitted to an international, peer-reviewed journal where they are currently under revision (Katsura and Satta, *Molecular Biology and Evolution*, submitted).]

Chapter 4 clarifies the genome structure and gene family of sex chromosomes. I focused on segmental duplications (SDs) that produce tandem and/or inverted repeats (>50 kb) in neighboring regions; compared to other chromosomes, the X chromosomes of humans possess the highest number of these SDs. Comparisons of mammalian sex chromosomes revealed that the pattern, number and/or size of SDs on the chromosomes differed between each the species examined species (human, mous, opossum, and platypus). In particular, the structural characteristics of these structures in the human and mouse X chromosome are shown to be considerably more complicated than those observed in the opossum and platypus. These findings imply that these SDs accumulated in the X chromosomes of therian ancestors. I then discuss how the complexity of these structures on the eutherian X chromosome may be correlated with the evolution of multigene families, such as cancer testis antigens (CTAs).

In chapter 5, the molecular evolution and genome structure of the melanoma antigen gene (*MAGE*) family, which encodes CTAs and is located on the X chromosome, is examined in primate genomes. I propose that human-specific palindromic sequences, such as the *MAGE-A* genes, are conserved by negative selection. Since the *MAGE-A* genes encode epitopes of cancer cells, the binding capacity of the epitopes to highly divergent human leukocyte antigen (HLA) molecules is preserved. This finding is interesting because it can be used to better understand the significance of genomic structure on the X chromosome. This study was published in an international, peer-reviewed journal (Katsura and Satta, *PLoS ONE* 2011).

Chapter 6 provides a general discussion of the results presented in Chapters 2 to 5, including the evolutionary flexibility and stability of sex determination systems in both mammalian and non-mammalian taxa. In Chapter 7, all of the chapters are summarized and, based on all of the findings presented, I provide a generalized description of the evolution of sex determination systems, and describe the biological significance of such a system having the apparently contradictory characteristics of evolutionary flexibility and stability. It is my hope that the various results and hypotheses presented here will be tested and examined further using a variety of molecular biology and evolutionary tools and that, in so doing, the question of why biological sex evolved, will be resolved.

## 博士論文の審査結果の要旨

桂有加子さんは学位論文の中で分子進化学、分子生物学、バイオインフォマティクス等様々な観点から性決定機構および性染色体の進化における柔軟性と普遍性について、特に哺乳類の性決定遺伝子や性染色体の起源とその進化過程について解析をおこなった。また、解析の結果に基づき、新たな性染色体の進化機構・性決定遺伝子の進化過程を明らかにし、従来の仮説とは異なる仮説を提唱している。学位論文全体は7章で構成されている。

第1章では、最初に研究の背景、(1)さまざまな生物、特に哺乳類での性決定機構(2)哺乳類の系統関係等を総説し、その後これらに基づき性染色体あるいは性決定の機構の進化での問題を提起し、本論文の目的を明示している。

第2章では、哺乳類の性決定遺伝子*SRY*の分子進化学的解析とタンパク質の分子動力学的解析により有袋類*SRY*が有胎盤哺乳類*SRY*とは、機能的に異なる可能性を示した。さらに、*SRY*が結合する*SOX9*遺伝子上流の精巣特異的な発現に関与する配列を解析した。その結果*SOX9*の上流配列の進化にも有袋類と有胎盤類*SRY*の機能的な違いが反映されている可能性(*SRY*と*SOX9*の共進化の可能性)があることを示した。

第3章では、*SRY*の機能分化と密接に関わりのある性染色体の分化について、有袋類と有胎盤類の性染色体上の対となる遺伝子(gametolog)間の塩基置換の割合を比較した。従来、有袋類と有胎盤類の性染色体は、その祖先で二度の染色体組み換えの抑制がおきていとされてきたが、この説は有胎盤類の性染色体上のgametologの比較解析の結果から導き出されている。本論文では有袋類の性染色体上では有胎盤哺乳類とは異なる染色体分化が起きたことを明らかにした。有袋類でのgametolog間の塩基置換の割合を比較した結果、有袋類の性染色体は有胎盤類の祖先に類推されるような2段階の組み換え抑制はなく、おそらく1段階の組み換え抑制に由来することを示唆した。この結果をもとに初期の性染色体分化の過程を明らかにした。

第4章では、性染色体が分化した後蓄積された染色体上の逆位や重複、回文構造などさまざまな構造について、単孔類、有袋類、有胎盤類のX染色体を解析した。これまで、有胎盤類のX染色体には、比較的多くの構造が観察されることがわかっていた。本論文では、これらの構造の起源を調査した。その結果、単孔類のX染色体上にはほとんど上記のような構造が見られず、また有袋類でも観察された構造は少なかった。一方、有胎盤哺乳類では、このような構造は高い頻度で広く多くの種で観察された。しかし霊長目、げっ歯目、食肉目それぞれのX染色体上の構造は異なっており、このような構造が有胎盤類の目レベルで特異的であることを示した。これらの構造がみられる染色体上には、CTA(癌・精巣特異的抗体)が多く存在しており、これらの遺伝子の進化との関係が指摘された。

第5章では、このような構造中にある、CTAのひとつとしてのMAGE(黒色腫瘍細胞抗原)遺伝子群の進化と特にこの遺伝子群を含む領域が関係する回文構造の進化学的解析を行った。MAGE遺伝子群を含む回文構造は、霊長類の中でも系統特異的な変化を多く含んでい

ることを明らかにした。この遺伝子群は癌免疫に関与していることから、免疫関連遺伝子との共進化についても論じている。この章の内容は既に国際誌(PLoS One)に掲載されている。

第6章は、上記の解析結果を踏まえてGeneral discussionとして、そして第7章は、第1章で提示された疑問に答える形でGeneral conclusionとしてまとめた。

本論文には、従来の仮説の検証だけでなく、新規の仮説の提唱や、新たな学術的な発見が多く含まれており、その意義は高く評価されるものであり、審査委員は一致して博士学位に値すると判断した。

公開発表会は博士論文の内容に沿い、まず、性決定機構の進化の特徴を紹介し、この論文で扱う問題を明らかにした。その後、具体的に特に哺乳類性染色体の初期分化がどのように進んだのかについて、さらに有袋類と有袋盤哺乳類の性決定遺伝子(SRY)が機能的に異なる可能性について、分子進化学的手法等を中心に用いた解析結果を示した。これらの結果に基づき、最初に提起した問題についての議論でまとめた。発表会において、聴衆からの質問に適切に対応した。

口頭試問では、公開発表会での内容および提出された学位論文の内容に基づき、審査委員との間での質疑応答が活発に行なわれた。質疑応答では適切な応答が行われ、生殖生物学や、分子生物学、細胞生物学、分子進化学など広い分野に関して十分な知識を身につけていると判断された。

学位論文は英語で書かれており、第5章にあたる部分が、国際誌 PLoS ONE に受理され既に掲載されていることから、語学力は十分であると判断した。

以上により、桂有加子氏は総合研究大学院大学の博士（理学）の学位を授与するに十分な水準に達していると審査員一同で判断した。