



HOKKAIDO UNIVERSITY

Title	Studies on the functional differentiation of UBAP2 genes linked to the sex chromosomes in Japanese quail (<i>Coturnix japonica</i>)
Author(s)	程田, 大智
Degree Grantor	北海道大学
Degree Name	博士(生命科学)
Dissertation Number	甲第16784号
Issue Date	2026-03-25
DOI	https://doi.org/10.14943/doctoral.k16784
Doc URL	https://hdl.handle.net/2115/99629
Type	doctoral thesis
File Information	Daichi_Hodota_abstract.pdf, 論文内容の要旨 https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/



学 位 論 文 内 容 の 要 旨

博士の専攻分野の名称: 博士(生命科学) 氏 名 程田 大智

学 位 論 文 題 名

Studies on the functional differentiation of *UBAP2* genes linked to the sex chromosomes in Japanese quail
(*Coturnix japonica*)

(ニホンウズラにおける性染色体連鎖遺伝子 *UBAP2* の機能分化に関する研究)

オスとメスを有する多くの生物種は主に 2 つの性染色体システムを進化させてきた。1 つは、哺乳類で見られるオスヘテロ型の XY 型システムで、もう 1 つは、鳥類で見られるメスヘテロ型の ZW 型システムである。XY 型と ZW 型どちらも同様のメカニズムで進化してきたと考えられており、もともとは 1 対の常染色体であった。この常染色体に性決定遺伝子が出現し、組み換えが抑制されることで性特異的な Y 染色体と W 染色体が退縮してきた。染色体の退縮に伴い、Y 染色体と W 染色体は多くの遺伝子を失ってきた。現在もこれらの性染色体に保存されている遺伝子はそれぞれの性に有利な遺伝子が蓄積していると考えられているが、鳥類の W 染色体に関する研究は少なく、メス特異的な機能を獲得している W 染色体の遺伝子は確認されていない。そこで、私は、ニワトリよりも体長が小さく、孵卵日数や性成熟の期間が短いニホンウズラを対象として、卵巢で有意に発現している W 染色体遺伝子 Ubiquitin associate protein 2 (*UBAP2W*) に着目した。本研究では、*UBAP2W* がメス特異的な機能を獲得していることを明らかにすることを目的とした。

哺乳類の Y 染色体に存在する遺伝子は精巣特異的に発現する遺伝子とさまざまな組織に発現する遺伝子に分類される。精巣特異的に発現する遺伝子はオス特異的な機能を果たし、幅広く発現する遺伝子は祖先遺伝子の発現量を維持するために保存されてきたと考えられている。一方で、鳥類の W 染色体の遺伝子には卵巢特異的に発現する遺伝子はなく、メスにおける Z-W ペアの総発現量がオスにおける Z 染色体 2 コピー分の発現量に相当することから、祖先遺伝子の発現量を維持するために保存されてきたと考えられている。しかし、W 染色体遺伝子がメス特異的な機能を果たすかは検証されていない。そこで、第 1 章では、*UBAP2W* が *UBAP2Z* から分化していることを明らかにすることとした。はじめに、ニホンウズラのゲノム情報は不十分であるため、RNA-seq データを用いた *in silico* 解析により、*UBAP2Z* と *UBAP2W* の塩基配列を予測した。予測された *UBAP2Z* 及び *UBAP2W* の CDS 配列は、それぞれ 3,342 bp と 3,315 bp であり、相同性は 88.53% であった。また、アミノ酸配列の相同性は 86.39% であり、どちらも N 末端に UBA ドメインと DUF3697 が保存されていた。RT-PCR と WISH による mRNA 発現解析によって、*UBAP2Z* 及び *UBAP2W* は胚の幅広い組織で発現していることが確認された。しかし、RNA-seq データに基づく TPM による発現解析の結果、生殖腺における *UBAP2Z* と *UBAP2W* の発現パターンに差異が見られた。*UBAP2Z* の発現はメスよりもオスで高く、HH27 から HH31 にかけて発現上昇し、HH31 から HH38 にかけて発現減少を示した。一方で、*UBAP2W* はメスのみで発現し、HH27 から HH38 にかけて発現減少を示した。この発現パターンの違いは、*UBAP2W* が *UBAP2Z* と異なる転写制御を受けており、生殖腺発達において異なる機能を担っている可能性を示唆している。また、哺乳類 2 種、爬虫類 2 種、鳥類 10 種の *UBAP2* アミノ酸配列を用いた分子系統解析では、鳥類における *UBAP2* の分化は種分化前に発生したことが示唆された。ニホンウズラが属するキジ目とスズメ目、ハト目において *UBAP2W* の枝が *UBAP2Z* よりも長く、アミノ酸置換率が高いことから、*UBAP2W* が *UBAP2Z* から進化的分岐を遂げていることが示された。一方で、AlphaFold3 を用いた立体構造予測では、両者の UBA ドメインの構造に顕著な差は見られなかった。

哺乳類の Y 染色体の遺伝子には高いアミノ酸相同性を示す一方で、機能的に分化していることが示唆されている遺伝子が存在する。鳥類の W 染色体遺伝子で最も解析が行われている HINTW においても、ホモログである HINTZ と異なる機能を果たすと推測されている。しかし、その他の W 染色体遺伝子の機能に関する研究はなく、HINTW を含め内在性のタンパク質が解析されたことは

ない。そこで、第2章では、生殖腺における UBAP2Z 及び UBAP2W のタンパク質発現と局在を明らかにすることを目的とした。はじめに、UBAP2Z 及び UBAP2W をタンパク質レベルで区別して解析を行うために、共同研究によって、UBAP2Z 及び UBAP2W モノクローナル抗体を作製した。作製したモノクローナル抗体は UBAP2Z 及び UBAP2W リコンビナントタンパク質を用いて、ウェスタンブロットリング法と免疫組織化学法でスクリーニングを行い、最も特異的に反応し、バックグラウンドが低い抗体を選択した。作製した抗体を用いた生殖腺における発現解析の結果、UBAP2Z は雌雄ともに HH 27 から HH38 において、180 kDa にバンドが検出された。一方で、UBAP2W はメスのみ HH27 から HH38 において、180 kDa にバンドが検出された。次に、ファーストウェスタンブロットリングによるタンパク質相互作用解析の結果、UBAP2Z と相互作用するタンパク質として、雌雄ともに約 50kDa にバンドが検出された。一方で、UBAP2W と相互作用するタンパク質として、メスのみで約 52kDa にバンドが検出された。最後に、免疫組織化学による局在解析を行った。オスの生殖腺において、UBAP2Z は HH27 から HH38 における生殖細胞の細胞質で生殖細胞マーカーである DDX4 との共局在が確認された。さらに、UBAP2Z とセルトリ細胞マーカーである SOX9 の二重染色では、UBAP2Z と SOX9 のシグナルは重なり合わなかったが、核で見られる SOX9 のシグナルの周囲に細胞質で見られる UBAP2Z のシグナルが確認されたことから、UBAP2Z はセルトリ細胞の細胞質においても発現していることが明らかになった。また、メス生殖腺における UBAP2Z の発現は HH27 と HH31 では、生殖腺全体の細胞質でシグナルが確認されたが、HH34 と HH38 においては、髄質に発現は限定されていた。DDX4 との二重染色の結果、HH27 と HH31 のメス生殖腺において、UBAP2Z は DDX4 と共局在していたが、HH34 と HH38 のメス生殖腺では、UBAP2Z と DDX4 の共局在は確認されなかった。一方で、メス生殖腺における UBAP2W の発現は HH27 から HH34 にかけて生殖腺全体の細胞質で確認された。HH38 のメス生殖腺における UBAP2W は皮質に発現が限定されていた。UBAP2W と DDX4 の二重染色の結果、UBAP2W と DDX4 は HH27 から HH38 において、共局在していることが明らかになった。HH38 のメス生殖腺において、UBAP2W は皮質の生殖細胞で発現していたのに対し、UBAP2Z は髄質の体細胞で発現していたことから、UBAP2W は UBAP2Z とは異なる細胞で機能することが示唆された。

以上の結果から、UBAP2W は UBAP2Z とは異なる転写制御および細胞特異的発現様式を示し、相互作用するタンパク質も異なる可能性が示唆された。本研究は、鳥類 W 染色体遺伝子がメス特異的な機能を獲得していることを示す初めての実験的証拠を提供するものであり、性染色体進化および卵巣発生機構の理解に新たな知見を与える。今後は、CRISPR/Cas9 を用いた UBAP2W ノックアウト解析や、質量分析による相互作用タンパク質の同定を通じて、UBAP2W の分子機構をさらに解明する必要がある。