メダカの飢餓の度合いによる性転換の発生率

岡田太郎

要旨

本研究は、メダカの性決定における栄養状態の影響を解明するため、飢餓の「形態」が性転換率に及ぼす差異を検証したが結果が出なかった。

キーワード：メダカ　性転換

Ⅰ. はじめに

メダカの性は遺伝的に XX（雌）/XY（雄）の組み合わせで決定されるが、発生過程における環境要因の変化によって、遺伝的な性とは異なる表現型を示す「性転換」が起こることが知られている。

野生環境下におけるメダカの性転換については、篠宮（2004, 2010）の研究により、自然界でも頻繁に観察される現象であることが報告されている 。

環境要因の中でも、特に栄養状態は性分化に大きな影響を及ぼす。榮ほか（2020）の研究では、飢餓状態が脂質代謝の変化を引き起こし、それが引き金となって雌から雄への性転換を誘発することが分子レベルで明らかにされた。

しかし、先行研究の多くは極端な飢餓条件における影響に主眼が置かれており、飢餓の「質」や「期間」が性転換の発生率にどのような差異をもたらすかについては、いまだ十分な知見が得られていない。すなわち、短期間に急激な栄養不足に陥る「急性的な飢餓」と、長期間にわたり不十分な栄養状態が続く「慢性的な飢餓」とでは、メダカの生理状態や性転換のトリガーとなる脂質代謝への負荷が異なる可能性がある。

そこで本研究では、これらの飢餓形態の違いが性転換率に及ぼす影響を評価し、環境ストレスと性決定の関係性をより深く解明することとした。

Ⅱ. 手法

実験動物および飼育環境

- 供試個体: 孵化前のメダカの卵を計 100 個用意し、実験に使用する 。
- 飼育設備: 実験には専用の水槽 および規定の餌 を使用する。
- 群分け: メダカが孵化した順に、A、B、C、D の 4 つのグループに振り分けを行う 。これにより、個体ごとの発育段階の差が実験結果に与える影響を最小限に抑える 。

孵化後、各グループに対して異なる頻度で餌を与え、飢餓の度合いを操作する 。各群の給餌頻度は以下の通りである。

各個体より尾鰭の一部を採取し、遠心分離を得られた抽出液を PCR の鋳型として供した。

以下の 2 種のプライマーセットを用いた PCR を構成した。

- DMY（DM　domain gene on the Y chromosome）遺伝子　1000bp
- DMRT　（DM-related transcription factor 1）

反応液 50μL を調整し、サーマルサイクラーを用いて増幅を行った。尚、反応液の組成（図 2）とサーマルサイクラーのプログラム（図 3）は以下のとおりである

試薬	分量
2×PCRbuffer	25μL
2mM dNTPs(ヌクレオチド)	10μL
10pmpl/μL　F プライマー	1.5μL
10pmpl/μL　プライマー	1.5μL
KOD　FX（DNA ポリメラーゼ）	1 μL
DW	6μL
メダカの DNA サンプル	5μL
合計	50μL

図 2.反応液の組成

1. 94℃ 2 min
2. （98℃, 10 sec→58℃, 30 sec→68℃, 60 sec）×30 サイクル
3. 68℃, 5 min

図 3.サーマルサイクラーのプログラム

3.1 電気泳動による解析

PCR 産物を アガロースゲルにて電気泳動（100V）し、エチジウムブロマイドにて染色後、UV トランスイルミネーター下で観察した。

3.2 判定基準

- 雄（Male）: DMY 由来のバンドおよびコントロールバンドの計 2 本が検出される。
- 雌（Female）: コントロールバンドのみの計 1 本が検出される。

III. 結果

結果は出なかった。

IV. 考察

結果が出なかった理由として試薬が正常に働かなかったということが考えられる。

V. 結論

現時点で特に明らかになったということはない。

謝辞

本研究を進めるにあたり貴重なご助言をいただいた庵原先生には深く感謝いたします。

文　献

M.Kondo. and I.Nanda. and M.schmid and M.Schartl（2009）: Sex Determination and Sex Chromosome Evolution: Insights from Medaka. Journal of Sex Dev (2009) 3 (2-3): 88–98.

Ai Shinomiya, Hiroyuki Otake, Ken-ichi Togashi, Satoshi Hamaguchi, Mitsuru Sakaizumi "Field Survey of Sex-Reversals in the Medaka, Oryzias latipes: Genotypic Sexing of Wild Populations," Zoological Science, 21(6), 613-619, (1 June 2004)

Shinomiya, A., Otake, H., Hamaguchi, S. et al. Inherited XX sex reversal originating from wild medaka populations. Heredity 105, 443–448 (2010).

Yuta Sakae, Akira Oikawa, Yuki Sugiura, Masatoshi Mita, Shuhei Nakamura, Toshiya Nishimura, Makoto Suematsu, Minoru Tanaka: Starvation causes female-to-male sex reversal through lipid metabolism in the teleost fish, medaka (Olyzias latipes). Biol Open 15 April 2020; 9 (4): bio050054