

研究種目： 特定領域研究
 研究期間： 2005 ～ 2009
 課題番号： 17018016
 研究課題名（和文） メダカゲノム情報にもとづく脊椎動物染色体再編の比較ゲノム解析
 研究課題名（英文） Comparative genomics of chromosome rearrangement in vertebrates based on medaka genome information

研究代表者
 堀 寛 (HORI, Hiroshi)
 名古屋大学・大学院理学研究科・名誉教授
 研究者番号： 60116663

研究成果の概要（和文）：ヒトやサカナなどの脊椎動物は、そのゲノムサイズが大きく変わっている。ヒトゲノムサイズが 3×10^9 塩基対であるのに、硬骨魚類のメダカはその四分の 1 (800 Mb)、フグは八分の一 (400 Mb) しか持っていない。この課題ではとくにメダカ LG22 染色体の DNA 一次配列を BAC clone 配列コンテイング法によって決定し、フグの LG22 と比較し、両者のゲノムサイズが何によって変化しているかを決定した。その結果、コードされる遺伝子は両者にほとんど差がなく、両者のゲノムサイズの差は多数の反復配列の存在量の差であることが判明した。

研究成果の概要（英文）： Evolution of the genome size in vertebrates is often affected by changes in the noncoding sequences, for which insertions and deletions (indels) of small nucleotide sequences and amplification of repetitive elements are considered responsible. In this project, we especially compared the genomic DNA sequences of two kinds of fish, medaka (*Oryzias latipes*) and fugu (*Takifugu rubripes*), which show two-fold difference in the genome size (800 Mb vs. 400 Mb). We determined a contiguous DNA sequence of 790 kb from the medaka chromosome LG22 (linkage group 22). The sequence was aligned common between two fishes, and were found abundant in various repetitive elements including many types of unclassified low copy repeats, all of which accounted for more than a half (54%) of the genome size difference. These results strongly indicated that amplification of repetitive elements and compilation of indels are major driving forces to facilitate changes in the genome size.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	20,000,000	0	20,000,000
2006 年度	18,700,000	0	18,700,000
2007 年度	18,800,000	0	18,800,000
2008 年度	18,000,000	0	18,000,000
2009 年度	18,000,000	0	18,000,000
総計	93,500,000	0	93,500,000

研究分野：比較ゲノム

科研費の分科・細目：ゲノム科学、基礎ゲノム科学

キーワード：メダカ,ゲノム, BAC ライブラリー, 染色体再編, 比較ゲノム

1. 研究開始当初の背景

先の特定研究（ゲノム C）で明らかにされたメダカ WGS (whole genome shotgun sequencing)による全ゲノム概要配列の情報を有効利用すれば、既知のヒト、マウス、フグのゲノム情報と比較すれば、魚類を中心にした脊椎動物染色体再編の比較ゲノム解析を行うことが可能となる

2. 研究の目的

この研究課題では、上記のように先の特定研究（ゲノム C）で明らかにされたメダカ全ゲノム概要配列の情報を有効利用し、それを基盤にして、魚類を中心にした脊椎動物染色体再編の比較ゲノム解析を行うこと、さらにメダカが脊椎動物のモデル動物の一つとして、マウス同様にヒトの遺伝病のモデルとなりうることを多くのメダカ突然変異体を解析することで証明することが目的である。

3. 研究の方法

上記のメダカ WGS と、それを補完するためのメダカ BAC ライブラリーを用いたクローン by クローン法を用いたゲノム構造の解析

4. 研究成果

ヒトやサカナなどの脊椎動物は、そのゲノムサイズが大きく変わっている。ヒトゲノムサイズが 3×10^9 塩基対であるのに、硬骨魚類のメダカはその四分の 1 (800 Mb)、フグは八分の一(400 Mb)しか持っていない。

この課題では初年度、とくにメダカ LG22 染色体の DNA 一次配列を BAC clone 配列コンテイング法によって決定し、フグの LG22 と比較し、両者のゲノムサイズが何によって変化しているかを決定した。その結果、コードされる遺伝子は両者にほとんど差がなく、両者のゲノムサイズの差は多数の反復配列の存在量の差であることが判明した。

一方、ヒトやトリ、カエルなどの四足動物のゲノムは基本的に二倍体ゲノムであることが知られている。これに対して、硬骨魚類のゲノムは、上記のような小さいゲノムを持つにも関わらず、偽四倍体であることが知られている。その典型例が体作りの基本をなす *hox* クラスターである。メダカの *hoxAa* と *hoxAb* は硬骨魚類が出現した後、

重複した *hox* クラスターの一つである。四足動物は *hox A, B, C, D* の 4 クラスターであるが、硬骨魚類は 8 クラスターとなっている。哺乳類では *hoxA* クラスターは 1 つしか存在していないが魚類は *hoxAa, hoxAb* の二つを持っている。これを見ても分かるように、ゲノム進化の原動力であるゲノム重複の意義を調べるには、この *hox* の系は典型的なモデル系となる。哺乳類の *hoxA* クラスターの *AbdB family* に属する *hox9* ~ *hox13* の遺伝子群は、マウスやニワトリの系で研究され、四肢の原基で筋肉組織と間充組織で両者を区別することなく発現していることが知られている。これに対してメダカにおいて、これらメダカの *AbdB family genes* は、*hoxAa* クラスターと *hoxAb* クラスターでは大きくその発現が相違していた。これらは枝芽ではその筋肉組織と間充組織との間に別々に分化して発現し、哺乳類や鳥類よりも、より進化した発現様式をしめしていた。

本年度においては、昨年度の延長の計画として、性分化に関与する遺伝子の同定とその発現を性分化発生過程で追った。とりわけメダカ生殖腺の初期発生で最も早く発現される転写因子の一つである *fig-alpha* に注目した。この *fig-alpha* が卵細胞成熟に必須の *zpc4* や *zpb* の発現を支配している事や、減数分裂を支配する遺伝子 *scp3* の発現と同調していることを明らかにした。さらに *fig-alpha* 遺伝子の発現を支配しているシス配列部分を同定する目的で、代表的な脊椎動物のゲノム比較を行った。フグ、カエル、マウス、ヒトでは *fig-alpha* 翻訳領域は保存されているが、保存度の高いシス配列は検出されなかった。配列の相似度はなかったが、この遺伝子のフグ *fig-alpha* の 5' 領域をもつ GFP でその活性をしらべた結果、メダカ卵内でもフグ配列は正常に機能することが判明し、配列の相似性によらない転写活性領域の共通性が示唆された。

また、メダカ多発性嚢胞腎の変異株 *pc* の責任遺伝子が *Gli-Similar3 (glis3)* であることを橋本との共同研究で明らかにした。これはヒトの多発性嚢胞腎疾患の原因遺伝子の一つであった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文] (計 26 件) すべて査読あり

① Kanamori, A., Toyama, K., Kitagawa, S., Kamehara, A., Higuchi, T., Kinoshita, M., and Hori, H. (2008).

Comparative genomics approach to the expression of *fig_alpha*, one of the earliest marker genes of oocyte differentiation in medaka (*Oryzias latipes*).

Gene 423:180-187.

② Takamatsu N, Kurosawa G, Tanaka M, Takahashi M, Inokuma R, Kanamori A., Hori H. (2008).

Duplicated Abd-B class genes in medaka *hoxAa* and *hoxAb* clusters exhibit differential expression patterns in pectoral fin buds.

Development, Genes and Evolution 217 : 263-273.

③ Sasaki T., Shimizu A, Ishikawa SK, Imai S, Asakawa S, Murayama Y, Khorasani MZ, Mitani H., Furutani-Seiki M, Kondoh H, Nanda I, Schmid M, Schartl M, Nonaka M, Takeda H, Hori H., Himmelbauer H, Shima A., Shimizu N. (2007).

The DNA sequence of medaka chromosome LG22.

Genomics 89(1):124-133.

④ Fukamachi S, Wakamatsu Y, Mitani H. (2006).

Medaka double mutants for color interfere and leucophore free: characterization of the xanthophore-somatolactin relationship using the leucophore free gene.

Dev. Genes Evol. 216(3):152-157.

⑤ Kondo M, Hornung U, Nanda I, Imai S, Sasaki T., Shimizu A., Asakawa S, Hori H., Schmid M, Shimizu N, Schartl M. (2006).

Genomic organization of the sex-determining and adjacent regions of the sex chromosomes of medaka.

Genome Res. 16(7):815-26 (2006).

⑥ Kurosawa G, Takamatsu N, Takahashi M, Sumitomo M, Sanaka E, Yamada K, Nishi K, Matsuda M, Asakawa S, Ishiguro K, Kurosawa Y, Shimizu N, Kohara Y, Hori H. (2006).

Organization and structure of *hox* gene loci in medaka genome and comparison with those of pufferfish and zebrafish genomes.

Gene 370, 75-82

[学会発表] (計 20 件)

① Obara M, Furukawa M, Murayama T, Hori H. Syntheny and chromosome evolution in the Lepidoptera: Interspecies cross mapping between *Papilio polytes* and *P. alphenor*.

8th International Workshop on the Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera, Orthodox Academy of Crete Kolympari, Crete, Greece, 23th-29th, Aug. (2009).

② Hori H., Takeda A, Inokuma R, Takahashi K, Sakamoto N, Furumoto A, Ae S.

Molecular phylogenetic structure of a mimetic butterfly species, *Papilio polytes*.

7th International Workshop on the Molecular Biology and Genetics of the Lepidoptera, Orthodox Academy of Crete Kolympari, Crete, Greece, 20th-26th, Aug. (2006).

[図書] (計 2 件)

① 高松尚文、堀 寛. 脊椎動物のゲノム進化. 「海洋の生命史」(西田睦編)、pp. 227-242、東海大学出版会 (2009) .

② 堀 寛. 小型魚類がわかる. 「研究をささえるモデル生物—実験室いきものガイド」(吉川寛・堀寛編)、化学同人 (2009) .

[産業財産権]

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

[その他]

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

堀 寛 (HORI, Hiroshi)

名古屋大学・大学院理学研究科・名誉教授

研究者番号 : 60116663

(2)研究分担者

三谷 啓志 (MITANI, Hiroshi)

東京大学・大学院新領域創成科学研究科・教授

研究者番号 : 70181922

佐々木 貴史 (SASAKI, Takashi)

慶応大学・医学部・助手

研究者番号 : 70306843

清水 厚志 (SHIMIZU, Atsushi)

慶応大学・医学部・助手

研究者番号 : 30327655

金森 章 (KANAMORI, Akira)

名古屋大学・大学院理学研究科・助教

研究者番号 : 40324389

(3)連携研究者

なし ()