

令和 5 年 6 月 7 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究

研究期間：2019～2022

課題番号：19K16240

研究課題名（和文）ゲノムワイド解析によるテナガザル自然交雑集団の遺伝的動態の解明

研究課題名（英文）Genome-wide analysis on a hybrid gibbon population in the wild

研究代表者

松平 一成（Matsudaira, Kazunari）

京都大学・アジア・アフリカ地域研究研究科・研究員

研究者番号：60813441

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 3,200,000円

研究成果の概要（和文）：GRAS-Diと全ゲノムシーケンシングによって、Hylobates属のテナガザルの系統関係と分岐年代、交雑と遺伝子浸透について調査した。Hylobates属が東南アジア大陸部に共通祖先をもち、スンダ諸島に分布を拡大しながら、種分化してきたことが示された。また遺伝子浸透の痕跡が、現在野外においても交雑が観察されている種間およびその他の種間で検出され、Hylobates属はその進化の過程で、複雑に交雑を繰り返してきたことが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

ヒトに近縁な類人猿であるテナガザルの進化における交雑の様相の一端が解明されたことは、人類進化における交雑・混血の様相の理解の一助になったと考えられる。今後、テナガザルについて更に詳細な研究を進めることで、人類進化の理解がより深まると考えられる。

研究成果の概要（英文）：Phylogenetic relationship, divergence time, hybridization, and introgression of Hylobates gibbons were studied by GRAS-Di and whole genome sequencing analyses. The study revealed that the common ancestor of Hylobates species originated in the mainland of Southeast Asia, and the gibbons expanded their distribution to the Sunda islands with speciation. Introgression was detected between the many pairs of species including the species currently hybridizing in the wild, which suggested that Hylobates species have repeatedly experienced hybridization through their evolution.

研究分野：自然人類学

キーワード：テナガザル 交雑 遺伝子浸透

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生物の系統進化の多くが、交雑によって網目状に進化してきたことが、明らかになりつつある。人類進化も例外ではなく、初期のヒトゲノム研究によって、現生人類のアフリカ単一起源説が支持されていたが、古人骨ゲノムの解読により、現生人類の祖先が、ユーラシアに先に分布していたネアンデルタール人やデニソワ人と混血していたことが明らかとなった。更に、混血によって流入し、現生人類の中に残る遺伝的変異の中には、特定の環境で適応的な形質に関わるものが検出されており、混血が人類進化においても重要な役割を担ってきたことが、示唆されている。しかし、ヒトを除いた他の人類集団は既に地球上から姿を消し、実際にどのように混血が行われていたのか、混血が個体や集団の遺伝的構成、表現型にどのような影響を与えていたのかについて、限られた化石試料から明らかにすることは、容易ではない。その点において、人類に近縁な霊長類の現在進行中の交雑について研究を行うことは、過去の人類進化における混血の様相に示唆を与えると期待される。霊長類の多くの種で交雑が検出されているが、特にテナガザルは、野生下で進行中の交雑が観察できるヒトに最も近縁な生物であり、人類と多くの生物学的特徴を共有しているため、テナガザルの交雑の様相を明らかにすることは、人類進化における混血の様相を明らかにする一助となると考えられる。

2. 研究の目的

本研究では、当初、交雑地帯に住む野生のテナガザルを対象としてゲノムワイドな解析を行うことで、各個体のより詳細なゲノム構成、交雑度を明らかにするとともに、表現型に関わる種特異的な遺伝的変異の検出、そのような変異が交雑個体の表現型に与えている影響、そして交雑を介してどのように遺伝子浸透が起きているのかを明らかにすることを目的としたが、様々な理由により実験に困難な点があったため、飼育個体由来する全ゲノム配列の解析を中心として、主に *Hylobates* 属のテナガザルの種間の交雑の様相を明らかにすることを目的に研究を行った。

3. 研究の方法

本研究に先立ち実施した、47 個体の飼育下にあったテナガザルを対象とした GRAS-Di 解析で得られた一塩基変異ノ一塩基多型 (SNV/SNP) のデータを用いて、テナガザルの系統関係の推定と、*Hylobates* 属の種間における交雑による遺伝子浸透の検出を行った。また、*Hylobates* 属の 7 種の内、6 種の全ゲノム解析を実施し、公共データベースに登録されているテナガザルの全ゲノム配列データと合わせて、系統関係の推定と遺伝子浸透の検出を行った。

4. 研究成果

(1) GRAS-Di を用いた研究では、約 200,000 座位の常染色体上の SNV を用いて、*Hylobates* 属 7 種の内 6 種の系統関係と分岐年代を推定した。その結果、*Hylobates* 属内の核ゲノムの系統関係 (図 1) は、それまでミトコンドリア DNA (mtDNA) の全長配列から推定されていた結果と概ね一致し、*Hylobates* 属の共通祖先が約 350 万年前までに東南アジアの大陸部に由来し、大陸部から島嶼部に分布を拡大しながら、種分化が生じたことが示唆された。遺伝子浸透の有無を Patterson の D 統計量 (Green et al. 2010) を用いて調査した結果、*Hylobates* 属の内、シロテナガザルとボウシテナガザル、シロテナガザルとアジルテナガザル、ボルネオシロヒゲテナガザルとミュラーテナガザルの間に、強い遺伝子浸透のシグナルを検出した (図 2)。この組み合わせは、種の分布が隣接していて、現在もしくは最近まで野生下での交雑が報告されてきた組み合わせであった。一方、海によって分布が隔てられている種間の組み合わせでは、遺伝子浸透のシグナルが検出されなかったか、もしくは非常に弱かった。そのため、氷河期の海水面変動によるスンダ大陸の出現で島嶼部が陸続きになることが、

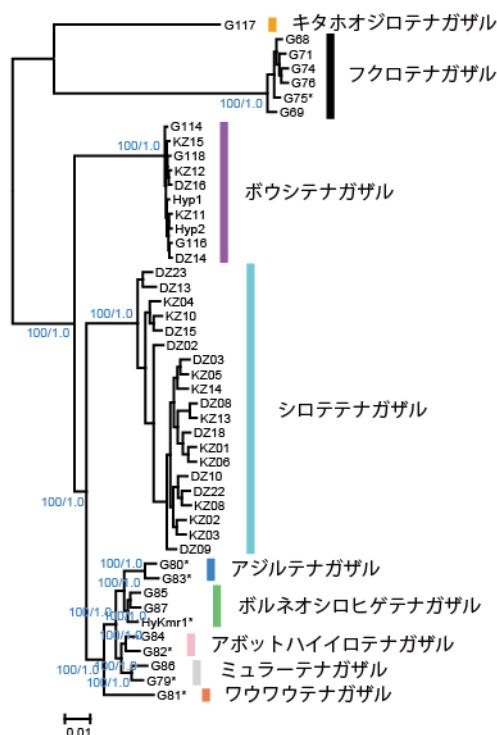


図 1. GRAS-Di による常染色体 SNV に基づく系統樹 (Matsudaira and Ishida 2021 より改変)

テナガザルの交雑を促進する効果はなかったか、あっても非常に弱かったということが示唆された。また、遺伝子浸透のシグナルは、同種であれば、どの個体においても検出されたことから、遺伝子浸透の影響が、種の分布の広範囲に及ぶほど、長期にわたって交雑が生じてきた、もしくは古い時期に交雑が生じたことが示唆された。

(2) 全ゲノムシーケンシング(WGS)を用いた研究では、*Hylobates* 属 7 種の内 6 種の各種各 1 個体を対象に全ゲノム配列を新たに決定し、これまでに公共データベースに登録・公開されていた *Hylobates* 属 6 個体、*Hoolock* 属、*Symphalangus* 属、*Nomascus* 属のテナガザルそれぞれ 1 個体、ヒト、チンパンジー、ゴリラ、ボルネオオランウータン、アカゲザルそれぞれ 1 個体の WGS のデータとともに解析を実施した。新規の 6 個体については、高深度の WGS を行い、キタホオジロテナガザルのリファレンス配列(nomLeu3)に対してマッピングした平均深度が 29.0x から 55.4x となり、中程度の平均深度が多数を占める既存の *Hylobates* 属のテナガザルの WGS データに比べ、より精度の高いデータが得られた。クオリティー・フィルタリング後のヘテロ接合度は、ボウシテナガザルで 0.0011 と最も低く、アボットハイロテナガザル(ミユラーテナガザルの亜種)で 0.0041 と最も高かった(表 1)。

得られたゲノム配列を、タンパク質のコード領域と非コード領域に分け、それぞれ短い領域(コード領域は遺伝子ごと、非コード領域は 2kb または 5kb の断片)について、個々の領域の系統樹を最尤法で推定し、その後、ASTRAL (Zhang et al. 2018) を用いて種系統樹を推定した。その結果、*Hylobates* 属の種の系統関係は、コード領域でも非コード領域でも変わらず、GRAS-Di によって得られた SNV から推定された系統関係とも一致するものであった。一方で、DiscoVista (Sayyari et al. 2018) によって ASTRAL で得られた種系統樹の検証を行ったところ、*Hylobates* 属内のいくつかの分岐のパターンについて、種系統樹と一致しない樹形を持つ領域が多数みられた(図 3)ことから、インコンプリート・リネージ・ソーティング(ILS)や交雑による遺伝子浸透が示唆された。同じ短い配列を基に、BPP (Flouri et al. 2018) によって、*Hylobates* 属の系統樹を推定したところ、ASTRAL と同様の系統樹が推定された。

遺伝子浸透については、Patterson の D 統計量、QuIBL (Edelman et al. 2019)、3s (Zhu and Yang 2012) など、様々なプログラムで、種間の遺伝子浸透・遺伝子流動の有無、方向、量について推定を行った。その結果、ボルネオシロヒゲテナガザルとミユラーテナガザル(アボットハイロテナガザル含む)の間での遺伝子浸透は、どの解析においても一貫して検出されたが、その他の組み合わせについては、解析手法の違いや解析領域の違いによって、まちまちの結果となった。その為、どの結果が妥当であるか更なる検証が必要である。

特に明らかになった傾向として、同一種の平均深度が中深度の個体のデータと高深度の個体のデータを用いて Patterson の D 統計量を計算すると、高深度の個体と他種との間に遺伝子浸透が検出された。高深度の同種個体同士の比較では検出されず、また中深度と高深度の個体のデータが存在した種ではどれも同じ傾向を示したため、平均深度が低いことが、ジェノタイピングの際に祖先アリル、つまりマッピングしたリファレンス配列のもつアリルに偏るために起こると考えられる。このジェノタイピングバイアスが、Patterson の D 統計量以外の解析にどの程度影響を与えるか、未知であるため、今後の検証が必要であるとともに、テナガザルについては、可能な限り中深度、低深度の WGS データは用いず、高深度の WGS データのみを用いるべきと示唆された。

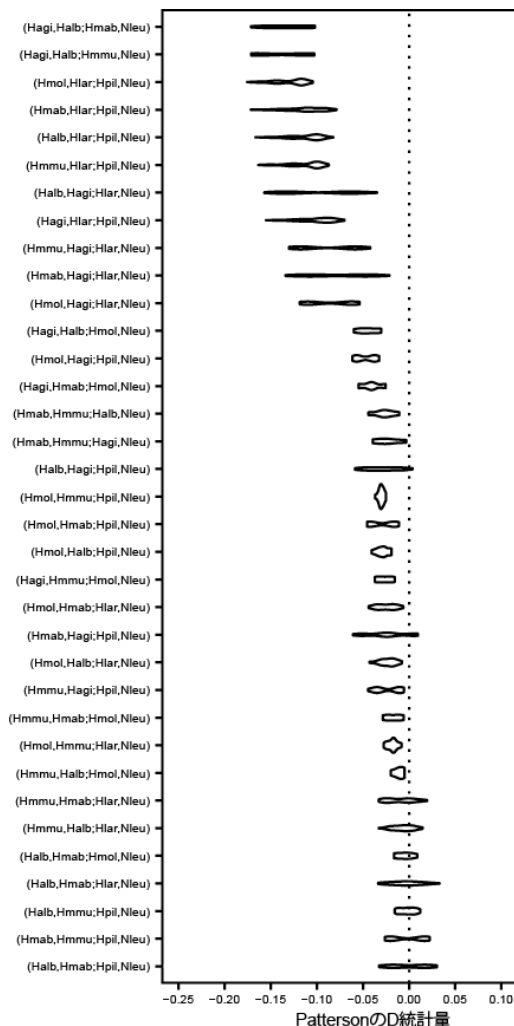


図2. PattersonのD統計量 (Matsudaira and Ishida 2021より改変)  
Hpi1: ボウシテナガザル、Hlar: シロテナガザル、  
Hmol: ワウワウテナガザル、Hagi: アジルテナガザル、  
Halb: ボルネオシロヒゲテナガザル、  
Hmmu: ミユラーテナガザル、  
Hmab: アボットハイロテナガザル、  
Nleu: キタホオジロテナガザル

表 1. 全ゲノムシーケンシングによる各試料のヘテロ接合度とミッシングサイトの割合

試料のID	ホモ接合 (リファレンスアレル) のサイト数	ホモ接合 (非リファレンスアレル) のサイト数	ヘテロ接合 のサイト数	ヘテロ接合度	ミッシングサイトの 割合
HPIL_Hyp2	2042084912	30563903	2338346	0.00113	0.048
HPIL_SAMN02850875	1948796092	28663320	2140087	0.00108	0.091
HLAR_LarMale	2042809197	28809723	5268744	0.00254	0.047
HLAR_SAMN12702554	1994499238	27029728	6116226	0.00302	0.069
HMOL_G81	2043543334	29422316	4175528	0.00201	0.047
HMOL_SAMN02388241	2018359671	28440169	4451855	0.00217	0.058
HMOL_SAMN12702585	2043631118	29109537	4831379	0.00233	0.046
HAGI_G83	2043324279	28763599	5114042	0.00246	0.047
HAGI_SAMN21582240	2037588716	28779735	4807694	0.00232	0.049
HALB_G87	2042781672	27345124	7702016	0.00371	0.046
HMUE_G79	2042871647	27552624	7360680	0.00354	0.046
HMAB_G84	2043265786	27104344	8437354	0.00406	0.046
HMUE_SAMN12702581	2042654488	26577621	9490559	0.00457	0.046
NLEU_SAMN12702564	2072946590	2939598	5495024	0.00264	0.045
SSYN_SAMN29758779	2034011118	28651064	4884420	0.00236	0.051
HLEU_SAMN02850873	2031798240	29030953	2410258	0.00117	0.053
HSAP_SAMEA3302835	1966671180	73411508	3431506	0.00168	0.062
PTRO_SAMN01920534	1926013435	70482992	4992252	0.00249	0.081
GGOR_SAMN01920485	1930124906	71434114	4638035	0.00231	0.079
PPYG_SAMN01920551	1944243139	71908861	4571602	0.00226	0.072
MMUL_SAMN03264639	1809342042	103655287	6865307	0.00358	0.119

HPIL: ボウシテナガザル、HLAR: シロテナガザル、HMOL: ワウワウテナガザル、HAGI: アジルテナガザル  
 HALB: ボルネオシロヒゲテナガザル、HMUE: ミュラーテナガザル、HMAB: アボットハイロテナガザル、  
 NLEU: キタホオジロテナガザル、SSYN: フクロテナガザル、HLEU: ヒガシフーロックテナガザル、  
 HSAP: ヒト、PTRO: チンパンジー、GGOR: ゴリラ、PPYG: ボルネオオランウータン、MMUL: アカゲザル

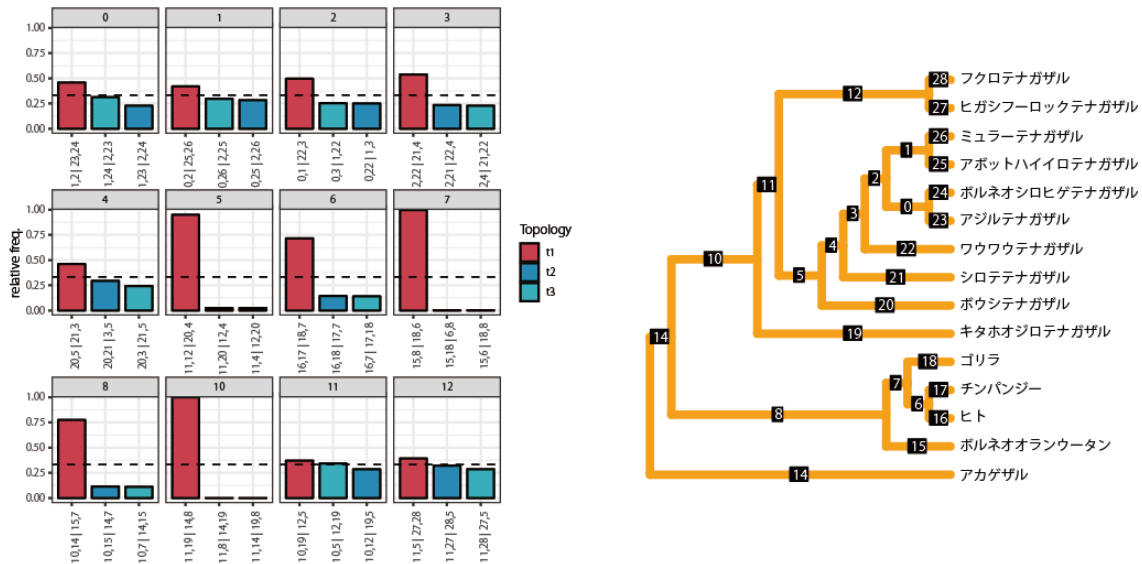


図 3. 非コード領域 (2kb の 31,348 領域) に基づく ASTRAL と DiscoVista の結果

参考文献

Edelman et al. 2019. Genomic architecture and introgression shape a butterfly radiation. *Science* 366:594-599.  
 Flouri et al. 2018. Species tree inference with BPP using genomic sequences and the multispecies coalescent. *Molecular Biology and Evolution* 35:2585-2593.  
 Green et al. 2010. A draft sequence of the Neandertal genome. *Science* 328:710-722.  
 Matsudaira and Ishida 2021. Divergence and introgression in small apes, the genus *Hylobates*, revealed by reduced representation sequencing. *Heredity* 127:312-322.  
 Sayyari et al. 2018. DiscoVista: Interpretable visualizations of gene tree discordance. *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 122:110-115.  
 Zhang et al. 2018. ASTRAL-III: polynomial time species tree reconstruction from partially resolved gene trees. *BMC Bioinformatics* 19:153.  
 Zhu and Yang 2012. Maximum likelihood implementation of an isolation-with-migration model with three species for testing speciation with gene flow. *Molecular Biology and Evolution* 29:3131-3142.



5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計3件（うち査読付論文 3件/うち国際共著 1件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 松平一成、前田洋一、幣原奈央子、石田貴文	4. 巻 26
2. 論文標題 日本で飼育されているテナガザルのミトコンドリアDNA (cytochrome b遺伝子) による種判定	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 日本野生動物医学会誌	6. 最初と最後の頁 35-42
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5686/jjzwm.26.35	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 Matsudaira K, Reichard UH, Ishida T, Malaivijitnond S.	4. 巻 17
2. 論文標題 Introgression and mating patterns between white-handed gibbons ( <i>Hylobates lar</i> ) and pileated gibbons ( <i>Hylobates pileatus</i> ) in a natural hybrid zone	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 PLoS ONE	6. 最初と最後の頁 e0264519
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1371/journal.pone.0264519	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Matsudaira K, Ishida T	4. 巻 127
2. 論文標題 Divergence and introgression in small apes, the genus <i>Hylobates</i> , revealed by reduced representation sequencing	5. 発行年 2021年
3. 雑誌名 Heredity	6. 最初と最後の頁 312 ~ 322
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1038/s41437-021-00452-7	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計1件（うち招待講演 0件/うち国際学会 0件）

1. 発表者名 松平一成、石田貴文
2. 発表標題 テナガザルの多様な交雑と遺伝子浸透
3. 学会等名 第73回日本人類学会大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計2件

1. 著者名 松平一成	4. 発行年 2023年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 2
3. 書名 「小型類人猿」日本霊長類学会（編）『霊長類学の百科事典』	

1. 著者名 松平一成	4. 発行年 2023年
2. 出版社 丸善出版	5. 総ページ数 2
3. 書名 「種内の遺伝的多型」日本霊長類学会（編）『霊長類学の百科事典』	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究協力者	石田 貴文  (Ishida Takafumi)	京都大学  (14301)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関		
タイ	チュラロンコーン大学		
米国	南イリノイ大学カーボンデール校		