

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成25年 6月11日現在

機関番号：13701

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2010～2012

課題番号：22570087

研究課題名（和文） 大陸辺縁部における遺伝的多様性の解析：家畜化プロセスの解明をめざして

研究課題名（英文） Analysis of genetic diversity at the peripheral area of the Asian continent: implications for domestication processes

研究代表者

松村 秀一（MATSUMURA SHUICHI）

岐阜大学・応用生物科学部・准教授

研究者番号：30273535

研究成果の概要（和文）：本研究では、日本在来のイヌ、ネコ、ウマのDNA分析を通じて、在来品種の起源を明らかにするとともに、家畜化プロセスへの理解を深めることを目的とした。ミトコンドリアDNAやY染色体DNAのSNP（一塩基多型）だけでなく、毛色や尾型等に関連する遺伝子多型を分析することで、これまで知られていない、日本在来品種固有の変異を発見することができた。

研究成果の概要（英文）：The objective of the project is to provide insights into the domestication processes of dogs, horses and cats, and to clarify the origin of Japanese native breeds in dogs and horses as well as Japanese feral cats. DNA sequences of mitochondrial DNA, Y chromosomal DNA, and other genetic regions associated to their characteristic phenotypes were studied. Some novel polymorphisms unique to Japanese breeds were detected.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2011年度	1,300,000	390,000	1,690,000
2012年度	1,000,000	300,000	1,300,000
総計	3,600,000	1,080,000	4,680,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生物多様性・分類（5706）

キーワード：ミトコンドリアDNA、Y染色体DNA、家畜化、日本犬、遺伝的多様性

1. 研究開始当初の背景

近年盛んにおこなわれるようになった世界各地の家畜DNA資料の比較解析は、家畜の起源の研究に新たな光を当てた。加えて、考古学遺跡から発見された骨などから古代DNAを抽出・分析することができるようになったことから、家畜化初期の遺伝的多様性の様相についての情報も得られるようになった。こうした遺伝学上の知見が考古学や形

態学などと結び付き、家畜の起源に関する研究は著しく活発化している。

特にミトコンドリアDNAの多型に基づく分析は、ある動物がどこで特定の野生種から家畜化されたか（一元的起源）もしくは世界の複数の場所で家畜化されたか（多元的起源）について、有力な情報をもたらした。例えば、ミトコンドリアDNAの系統樹に見られるクラスターは、ウシは中東とインドで、ブタはヨーロッパとアジアで、それぞれ独自

に家畜化されたということを示唆している。一方、家畜によってはミトコンドリア DNA の多型が著しいため、その系統樹の解析からだけではその起源・伝播のパターンが解明されにくい。このタイプには、ウマ・イヌ・ネコが含まれる。

2005 年にはイヌゲノムが解読された (Lindblad-Toh et al. 2005) のに引き続き、2007 年にはネコのゲノム概要が出版され (Pontius et al. 2007)、2007 年にはウマのゲノム概要がデータベースとして公表されている。当該動物種および他の動物種のゲノム情報を利用することで、マイクロサテライトなどの反復配列多型や SNP (一塩基多型) を新たに見つけることや、性格や毛色等の表現型を決定する遺伝子を検索することが容易になりつつある。これまでのミトコンドリア DNA の分析を中心とした系統関係の探求に加えて、核 DNA 上の多型、形質をコードする遺伝子の多型を併せて解析することで、ウマ、イヌ、ネコの起源に関する新たな光が当たることが期待できる。

この点で、日本在来品種は興味深い位置にある。大陸辺縁の島嶼部に孤立していたからか、他地域と異なった選択圧を受けてきたのか、あるいは野生種との交雑の有無が影響したのか、日本への渡来は相対的に新しいのにも関わらず家畜化初期の古い特徴を保っている可能性がある。

2. 研究の目的

本研究では、特にイヌ・ネコ・ウマに焦点をあて、進化的に中立である遺伝マーカーや、性格や体色など形質に関する遺伝子の多型にも着目して解析することを目的とした。得られた遺伝的多様性に関するデータに含まれている情報を、空間明示型シミュレーション等を用いて引き出し、それぞれ種がいつどのように家畜化されたか、日本へはいつどのように渡来したか、それぞれの形質にどのような選択圧がかかったかの解明をめざした。

3. 研究の方法

日本在来のイヌ、ネコ、ウマを対象とし、ゲノム情報データベースを利用して、マイクロサテライト多型や SNP 等の新たな遺伝マーカーの開発、性格や体毛等の形質に関連する遺伝子の検索をおこなった。また、日本在来種の多型の程度を DNA 実験によって明らかにし、世界レベルの多型の中で位置づけをめざした。さらに、最新の集団遺伝学的シミュレーションプログラムを利用して、集団と遺伝子の時間的空間的ダイナミクスの推定を試

みた。

4. 研究成果

(1) イヌ

① 日本在来犬

公益社団法人日本犬保存会、天然記念物柴犬保存会の協力を得て、柴犬、甲斐犬、四国犬、紀州犬の DNA サンプルを収集することができた。

ミトコンドリア DNA の分析からは、日本犬は世界他地域の犬種と共通するハプロタイプを示すことが確認された。調査個体の中には、これまで世界中で 3 個体の犬のみから見つかっている、ニホンオオカミと共通するハプログループ (クレード F) に属する個体は発見されなかった。Y 染色体 DNA の SNP 解析からは、甲斐犬の中に他とは異なるタイプが見つかった。

柴犬の毛色変異に関連する遺伝子の解析をおこない、*MC1R* と *ACIP* の両遺伝子の変異のパターンから、赤毛、黒毛、白毛の 3 つの表現型が説明できることがわかった。

表 1. *MC1R*、*ACIP* の遺伝子型 (アミノ酸) と毛色表現型との関係

	<i>MC1R</i> (306)	<i>ASIP</i> (82,83)
赤	R/R or R/ter	SH/SH or SH/AR
黒	R/R or R/ter	AR/AR
白	ter/ter	SH/SH or SH/AR or AR/AR

巻き尾と非巻き尾の違いに関連する遺伝子の特定をめざして、先行研究の GWAS (全ゲノム関連解析) で候補遺伝子の一つとして挙げられた *RCL1* 遺伝子の多型解析をおこなった。その結果、この遺伝子のタンパク質コード領域およびその前後の領域は、巻き尾、非巻き尾の違いに関連していないことが確認された。

表 2. *RCL1* において発見された多型、およびそこでの遺伝子型と尾型表現型との関係

	3' UTR		Exon 9		
	-380	-234	1568	1748	1766
巻き尾個体					
1	T/T	G/G	G/G	T/T	G/G
2	C/C	C/C	--	--	--
3	C/C	C/C	G/G	T/T	T/T
4	C/T	C/G	G/G	T/T	T/G
5	C/T	C/G	G/G	T/T	G/G
6	C/T	C/G	G/G	T/T	T/G
7	C/C	C/C	T/G	T/T	T/T

8	T/T	G/G	G/G	T/T	T/G
垂れ尾個体					
1	C/T	C/G	--	--	--
2	T/T	G/G	--	--	--
3	T/T	C/C	G/G	T/T	G/G
4	--	--	G/G	T/T	G/G
5	C/C	C/C	T/G	C/C	T/T
6	T/T	G/G	G/G	T/T	G/G
7	C/C	C/C	G/G	C/C	T/T
8	C/C	C/C	T/T	C/C	T/T
9	C/T	C/G	G/G	C/T	T/G

② ニホンオオカミとの関係

データベース上に登録されているニホンオオカミのミトコンドリア DNA ゲノムの解析をおこない、ニホンオオカミと他のハイロオオカミ亜種との関係、ニホンオオカミと日本在来犬との関係や、ニホンオオカミの日本列島への渡来時期について推定をおこなった。ニホンオオカミが日本列島に渡来したのは 54,200-123,400 年前頃であると推定された。

(2) ネコ

岐阜大学周辺地域に生息するネコ（野良猫）100 頭以上から DNA サンプルを収集した。ミトコンドリア DNA の一部領域の配列を比較した結果、この集団のハプロタイプ構成は、アメリカ合衆国各地の集団で報告されているものとよく似ていた。

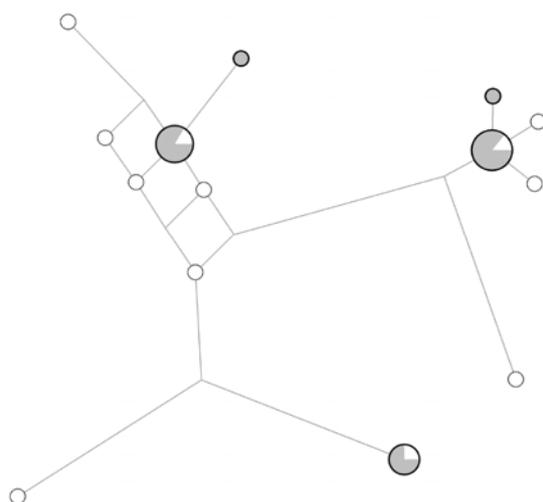


図 1. ミトコンドリア DNA 一部領域に基づくハプロタイプネットワーク。白色がアメリカ合衆国で報告されているタイプを、灰色が今回発見されたタイプを、それぞれ表す。

毛色に関連する主要遺伝子であるが、ネコにおいてはこれまで表現型との関わりがあ

まり知られていない *MC1R* 遺伝子の多型解析をおこなった結果、これまで未報告の SNP が発見された。

(3) ウマ

在来品種である木曾馬（計 32 頭）および対州馬（計 28 頭）のサンプルを分析した。

対州馬の分析の結果、近交化がかなり進行していること、一方で多様な毛色に関する劣性アレルがまだ保持されていることが確認された。筋肉成長量や距離適性と関連すると言われる *MSTN* 遺伝子の多型について分析した結果、世界的に見るとサラブレッド種に多く在来品種に少ないタイプは、対州馬においてはきわめて少数派だった。このタイプは、明治維新以降に行われた外来品種との交雑によって導入された可能性がある。

(4) 選択圧の強さの定量化に関する研究

それぞれの種、品種の異なる形質にかかった選択圧を比較して議論するためには、選択圧の強さを標準化 (standardize) して比較可能にする必要がある。これまで比較のために用いられてきた様々な指標の長所・短所についてまとめ、ふさわしい標準化の方法について提案をおこなった。

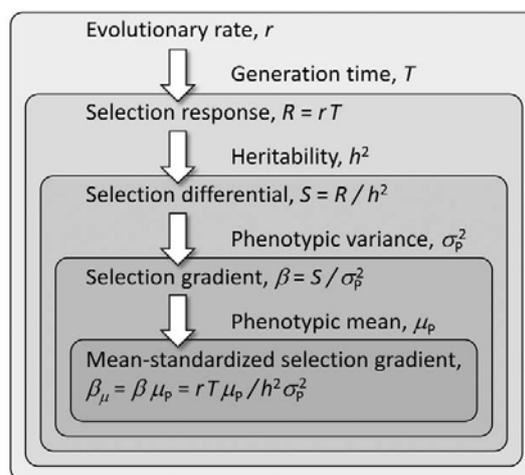


図 2. 平均によって標準化された選択勾配 (mean-standardized selection gradient) が、自然選択や人為選択の比較の際に有用であると考えられる。

なお、分析から得られた成果のほとんどは、現時点で学術雑誌に投稿中ないしは投稿準備中である。成果の一部は、研究代表者が指導した学生による、以下の卒業論文としてまとめられている。

イヌ

- ・ミトコンドリア DNA と Y 染色体 DNA からみた日本在来犬種の系統関係と起源 (2010 年度)
- ・ *MC1R* と *ASIP* の両領域が関与する柴犬の毛色変異について (2011 年度)
- ・イヌの尾型に関わる遺伝子の探索 - *RCL1* における多型解析 - (2012 年度)
- ・探知犬に有用な嗅覚受容体遺伝子の犬種間比較 (2011 年度)
- ・グリア細胞由来神経栄養因子 (GDNF) がイヌのストレス耐性に与える影響 (2011 年度)
- ・盲導犬におけるストレス耐性とグリア細胞由来神経栄養因子 (GDNF) との関連性 (2012 年度)

ネコ

- ・ネコにおける毛色関連遺伝子 *MC1R* と *Mitf* の多型解析 (2012 年度)

ウマ

- ・希少品種の対州馬における形態学および遺伝学的研究 (2011 年度)
- ・対州馬の筋肉生長量に関与する *MSTN* 遺伝子の解析 (2012 年度)

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 1 件)

1. Matsumura S, Arlinghaus R, Dieckmann U (2012) Standardizing selection strengths to study selection in the wild: a critical comparison and suggestions for the future. *BioScience*, 62:1039-1054. 査読有

[学会発表] (計 1 件)

1. 松村秀一 (2012) 古代 DNA とシミュレーションが明らかにする動物個体群の過去. 日本 DNA 多型学会公開シンポジウム「DNA が明かす生き物の謎」2012 年 11 月 7 日、京都

[その他]

ホームページ等

<http://www1.gifu-u.ac.jp/~genetics/>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

松村 秀一 (MATSUMURA SHUICHI)
岐阜大学・応用生物科学部・准教授
研究者番号：30273535

(2) 研究分担者

無し

(3) 連携研究者
無し