

平成 22 年 5 月 24 日現在

研究種目：基盤研究（C）

研究期間：2007～2009

課題番号：19570093

研究課題名（和文）遺伝的に分化した集団の再会合による染色体変異の誘起

研究課題名（英文）Caused by the emergence of Robertsonian rearrangements in intersubspecies hybrid

研究代表者原田 正史（HARADA MASASHI）

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授

研究者番号：20117964

研究成果の概要（和文）：日本列島はアジア大陸に近接しているため、氷河期における海水面の上下変動によってしばしば大陸との接続と分離を繰り返してきた。そのため日本列島への生物の再侵入が起こり、亜種レベルに分化した集団が再会合する機会があったと考えられる。亜種レベルに分化した集団が交雑すると、遺伝的に不安定な集団を形成し、それが新たな染色体の Robertsonian rearrangements を起こす原因になることを明らかにした。

研究成果の概要（英文）：Four types of chromosome variations in Sika deer *Cervus nippon* were recognized in Japan. These chromosome variations were due to the Robertsonian fusion of two acrocentric pairs of autosomes, resulting in the formation of one metacentric pair. Different acrocentric pairs were involved in the formation of a metacentric pair between Kyushu type (nos. 4 & 5) and Goto type (nos. 18 and 27). Considering the distribution pattern of these types and hybrid and the direction of chromosome changes, it could be inferred that 1) Northern type first and then Chugoku type came into Japan from the Asian continent, and 2) Kyushu type and Goto type were independently differentiated from Chugoku type in Japan.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2007年度	1,200,000	360,000	1,560,000
2008年度	1,100,000	330,000	1,430,000
2009年度	1,100,000	330,000	1,430,000
年度			
年度			
総計	3,400,000	1,020,000	4,420,000

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

キーワード：多様性

1. 研究開始当初の背景

(1) 日本列島はアジア大陸に近接しているため、氷河期における海水面の上下変動によってしばしば大陸との接続と分離を繰り返し

てきた。大陸との接続時には多くの動物が侵入し、その後再び島が成立すると、それらは孤立個体群となって特有の進化をとげたものと考えられている。しかし、亜種レベルに

分化した集団が再度侵入して、再会合し、交雑することにより、遺伝的に不安定な集団を形成することについては、あまり着目されていなかった。亜種レベルに分化した集団の再会合が遺伝的に不安定な新たな遺伝的集団を形成、これが種分化に重要な働きをすることについて研究した。

2. 研究の目的

(1) 亜種レベルに分化した集団が再会合し、交雑することにより、不安定な遺伝的集団が形成される。このことが染色体変異を誘起するのではないかとこの仮説をニホンジカの染色体研究を進めている時に気が付いた。その仮説を明らかにすることを目的とした。

(2) 染色体変異集団を維持する生物学的なメカニズムの解明

(3) 亜種レベルに遺伝的分化した集団の繁殖生理の解明

3. 研究の方法

(1) できるだけ多くの地点および個体についてニホンジカの染色体構成を明らかにするため、各地の研究者および猟友会と連絡を取り、サンプルの提供の協力を求めた。

(2) 入手したサンプルは組織培養のため、組織を滅菌して、培養をした。細胞が増殖した組織から染色体の標本を作製した。また、培養細胞は液体窒素に保存し、更なる研究に備えた。

(3) 染色体の分析をすると共に、G-band 染色を行い、問題の染色体の同定を行った。

(4) 入手した個体の繁殖生理を明らかにするため、解剖を行った。

(5) DNA 分析を行うため、入手したサンプルはアルコール固定をして、共同研究者に提供した。

4. 研究成果

(1) 今回の科学研究費補助金により、広く日本各地からニホンジカのサンプルを集め (36 地点、771 頭)、分析することができた。その結果、日本に生息するニホンジカには奈良以北 (奈良県、岐阜県、長野県、神奈川県、栃木県、岩手県、北海道) には $2n=68$, $FN=68$ の核型をもつグループが生息することを明らかにした。これらは中型メタセントリック (M) 染色体 1 対を持つことにより特徴付けられる。これを北タイプと名付けた。興味あることに、この核型を持つ集団は屋久島・種子島および愛媛県南宇和にも飛び石的に分布していることを明らかにした。

次に広島、島根に $2n=66$, $FN=68$ の核型を持つグループが生息することを明らかにした。これを中国タイプと名付けた。彼らは中型 1 対の M 染色体に加えて、大型の M 染色体 1 対を持っている。G-band 分染法により、これは Nos. 2 と 3 のアクトセントリック (A) 染色体が融合してできたことを明らかにした。

引き続き調査を進めたところ、九州の熊本

県人吉および鹿児島県湧水において、更に大型の M 染色体 (中型 M 染色体 1 対、大型 M 染色体 2 対) を持つ集団がいることが明らかとなった。新たに形成された大型の M 染色体は no. 4 および no. 5 の A 染色体の動原体融合であることを明らかにした。この集団を九州タイプと名付けた (図 1)。

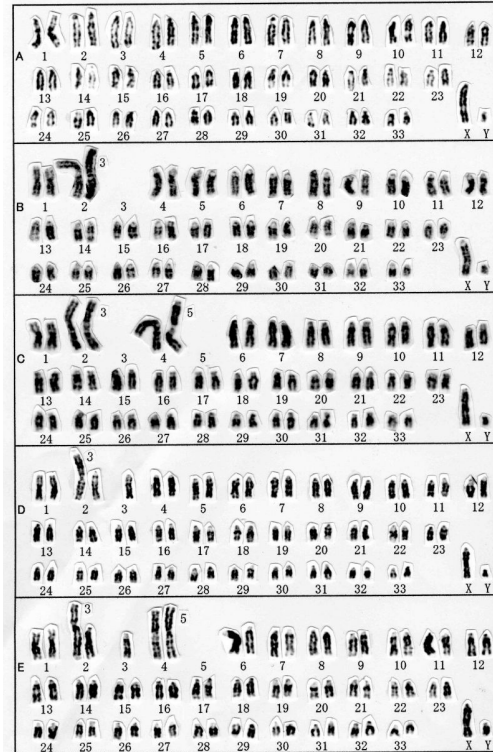


図 1. G-band 染色による染色体の同定 (A) 北タイプ、(B) 中国タイプ、(C) 九州タイプ、(D) 北タイプと中国タイプの交雑、および (E) 中国タイプと九州タイプの交雑

また、これら 3 グループの境界には交雑帯があり、北タイプと中国タイプの交雑帯では $2n=68$, 67 , 66 を持つ個体が見られ、地域としては福井県、滋賀県、大阪府、兵庫県および徳島県であった。また中国タイプと九州タイプの交雑帯では $2n=66$, 65 , 64 を持つ個体が見られ、地域としては山口県、福岡県、大分県および宮崎県であった (図 2)。

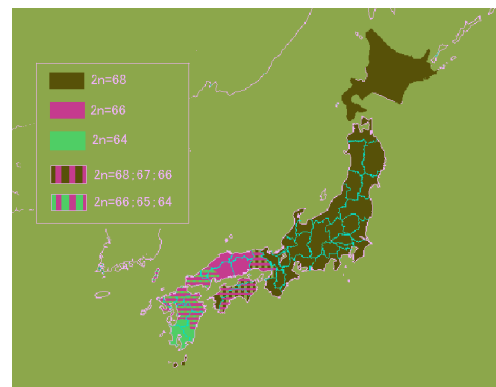


図 2. ニホンジカの染色体地理的変異

(2) 新たな染色体変異を持つ集団の発見
 長崎県五島列島中通島および福江島のニホンジカの染色体を分析したところ、 $2n=64$, $FN=68$ で、常染色体に3対のM染色体（中型M染色体2対および大型M染色体1対）がみられた。そのため、M染色体3対を持つ九州タイプとは染色体構成が異なっている。九州タイプとは異なるA型染色体の動原体融合によって形成されたものと推定された。G-band 分析の結果、この中型M染色体は nos. 18 と 27 のA型染色体が融合してできたことを明らかにした(図3、4)。

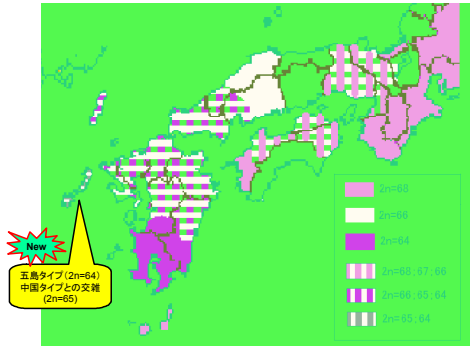


図3. 五島列島産ニホンジカにみられる新たな核型

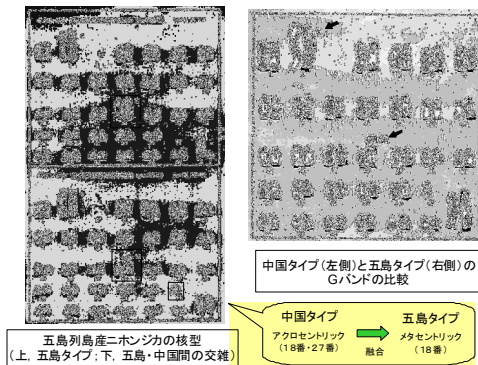


図4. 新たに五島列島で発見されたニホンジカの核型

(3) 日本に生息するニホンジカは染色体変異から4つのグループ（北タイプ、中国タイプ、九州タイプおよび五島タイプ）に分けられることを明らかにした。 $2n=68$, $FN=68$ を持つ北タイプは日本の北部を中心に分布し、また屋久島・種子島および愛媛県愛南に飛び石的に分布することから、約50万年前のミンデル氷期に大陸と陸続きになったとき、大陸から渡来し、日本全土に広く分布したと考えられる。その後、海侵により日本列島は孤立した。その間に大陸のニホンジカの染色体は $2n=68$ から $2n=66$ に分化したと考えられる。染色体の変化だけではなく、遺伝的にも亜種レベルの分化も平行して起こったと推定される。約1万年前ウルム氷期に再度陸橋が

アジア大陸と日本列島の間ででき、多くの種が再度渡来したと考えられる。ニホンジカについては $2n=68$ 集団が分布する日本列島に $2n=66$ の集団が侵入することになった。両集団の遺伝的分化については mtDNA の分析から日本列島に生息するニホンジカは北タイプとそれ以外の生息地（中国タイプ、九州タイプおよび五島タイプ）を境に大きな変異が認められることを報告しており、その変異はミンデル氷期とウルム氷期による集団の侵入を裏付けている (Tamate et al., 1998; Nagata et al., 1999; Yamada et al., 2006; 2007) . 両集団の間には F1 は出来るが、約50万年隔離されていたことによる遺伝的分化のため繁殖障害があると考えられる。マウスの亜種間交雑において、雑種が生存できない、あるいは生殖能力が欠失する現象が知られている (Oka et al., 2004)。そのため日本において中国タイプの仲に新たなロバートソン型染色体融合が発生し、九州・山口地域で混沌とした状態が続いたと考えられる。その中の一つが九州タイプで、これが現在九州南部（熊本・鹿児島県）で固定されつつあると推定される。また、五島列島中通島および福江島のものは、更に異なる染色体の変異個体が固定され、新たな集団を作りつつあるものと考えられた (図5)。

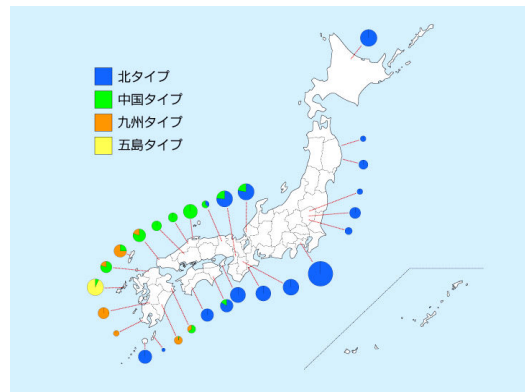


図5. 染色体のハプロタイプからみたニホンジカの分布

マウスは通常 $2n=40$ のA染色体を持っているが、ヨーロッパの一部集団には動原体融合し、著しく染色体数を減じた野生マウスが生息している。 $2n=22$ とほとんどのA染色体が動原体融合し、別種のマウスと考えられた時期もあった (Gropp et al., 1970) . Moriwaki et al. (1984) はヨーロッパにおいて見られる野生マウスの染色体多型集団について、mtDNA の分析から亜種レベルに分化したものが交雑した集団であることを明らかにした。そして、これに基づき、亜種レベルに分化した集団が交雑すると、ロバートソン型染色体融合を引き起こす引き金にな

るのではと推定している。今回、ニホンジカで明らかにされた染色体の地理的変異ハヨーロッパ産マウスにおけるロバートソン型染色体融合の多型の結果とよく一致している。

今後、更にニホンジカの繁殖生理学、形態学、音声学および分子生物学の解析等を共同研究者と共におこない、地理的変異集団形成の成因について多面的に研究を継続していきたい。また、これらの研究を通して、個体数が過剰に増えているニホンジカなどについて、個体数をコントロールする応用的な方法を模索したい。

参考文献

Gropp, A., Tettenborn U., Lehmann E.: 1970; Cytogenetics, 9, 9-23.

Moriwaki K., Yonekawa H., Gotoh O., Minezawa M., Winking H., Gropp A.: 1984; 43, 277-287.

Nagata J., Masuda R., Tamate H. B., Hamasaki S-I., Ochiai K., Asada K., Tatsuzawa S., Suda K., Tado H., Toshida M.C.: 1999; Molecular Phylogenetics and Evolution 13, 511-519.

Oka A., Mita A., Sakura-Yamatani N., Yamamoto H., Takagi N., Takano-Shimizu T., Toshimori K., Moriwaki K., Shiroishi T.: 2004; Genetics 166, 913-924.

Tamate H. B., Tatsuzawa S., Suda K., Izawa M., Doi T., Sunagawa K., Miyahira F., Tado H.: 1998; J. Mammalogy 79, 1396-1403.

Yamada M., Hosoi E., Tamate H. B., Nagata J., Tatsuzawa S., Tado H., Ozawa S.: 2006; Mammal Study 31, 23-28.

Yamada M., Hosoi E., Nagata J., Tamate H. B., Tado H.: Mammal Study: 2007; 32: 121-127.

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)

[学会発表] (計4件)

- ① Harada Masashi, Ando Akiro et al., Geographic variations of the sika deer *Cervus nippon*, in Japan with a note on the karyotype evolution. 日本哺乳類学会, 2009年11月21日、Taiwan University, Taipei
- ② 原田正史、安藤彰朗、長崎県五島列島にみられるニホンジカの新たな染色体変異集団、日本哺乳類学会、2008年9月12日、山口大学
- ③ 桐原崇、篠原明男、土屋公幸、原田正史、その他、ミトコンドリア DNA および核遺伝子配列からみたコウベモグラ *Mogera wogura* の遺伝的構造、日本哺乳類学会、

2008年9月12日、山口大学

- ④ 原田正史、安藤彰朗、その他、染色体からみたニホンジカの地理的変異、日本哺乳類学会、平成19年9月14日、東京農工大学

6. 研究組織

(1) 研究代表者

原田 正史 (HARADA MASASHI)

大阪市立大学・大学院医学研究科・准教授
研究者番号: 20117964

(2) 研究分担者

安藤 彰朗 (ANDO AKIRO)

島根県立大学・短期大学部・教授

研究者番号: 10212664

(3) 連携研究者

なし