

令和 6 年 6 月 9 日現在

機関番号：22604

研究種目：挑戦的研究（萌芽）

研究期間：2021～2023

課題番号：21K19299

研究課題名（和文）ショウジョウバエの核型進化における染色体融合の適応的意義

研究課題名（英文）Adaptative implication of chromosome fusion in Drosophila karyotype evolution

研究代表者

田村 浩一郎（Tamura, Koichiro）

東京都立大学・理学研究科・教授

研究者番号：00254144

交付決定額（研究期間全体）：（直接経費） 5,000,000円

研究成果の概要（和文）：真核生物の染色体数は進化過程で変化し、近縁種間や種内で差異が生じる。このような染色体レベルの進化的変化の適応的意義を明らかにするため、(1)ゲノムの全領域を対象に塩基座単位で自然選択を検出することが可能な進化確率法を、分子系統樹がなくても適用可能な方法に改良し、(2)性染色体と常染色体が融合してできたネオ性染色体をもつアカショウジョウバエを用い、実験進化学的方法によって集団中でネオ性染色体が頻度を拡大し固定した進化過程の再現を試みた。その結果、進化確率法は、精度、計算時間の両面で従来よりも優れた方法に改良することができたが、実験集団を用いてネオ性染色体の進化過程を再現することは成功しなかった。

研究成果の学術的意義や社会的意義

染色体数の適応的意義はゲノム進化を理解する上で基本的な問いであるが、未だよく分かっていない。その理由として、遺伝子領域のみならずゲノムワイドに自然選択を検出する方法が確立していないことが上げられる。本研究で用いた進化確率法はゲノムの全ての塩基座を対象にすることが可能であるが、推定精度が使用する系統樹に強く依存するため、信頼性が限られる。本研究では、系統樹の代わりに配列間距離の共分散行列を使うことで進化確率法を改良した。その結果、推定精度、計算速度の両面で従来の方法を上回ることに成功した。この方法を適用することでゲノムにはたらく多様な自然選択が検出可能となり、疾病関連座位の予測にも利用できる。

研究成果の概要（英文）：The number of chromosomes changes during eukaryotic evolution, resulting in differences between closely related species and within species. To clarify the adaptive significance of such evolutionary changes, we (1) improved the evolutionary probability method, which can detect natural selection at the nucleotide site level over the entire genome, to be applicable without a molecular phylogenetic tree, and (2) used the experimental evolutionary approach to try to reproduce the evolutionary process of neo-X and neo-Y chromosomes in *Drosophila albomicans*, each of which arose from a fusion of a sex chromosome and an autosome and increased in frequency to become fixed in the population. As a result, we were able to improve the evolutionary probability method to be superior to the original method in terms of both accuracy and computational time. On the other hand, we did not succeed in reproducing the evolutionary process of neo-sex chromosomes using an experimental population.

研究分野：分子進化遺伝学

キーワード：ネオ性染色体 染色体融合 進化確率法 自然選択 実験進化 病原変異予想 集団ゲノム解析

1. 研究開始当初の背景

真核生物のゲノムは、通常、複数の染色体に分かれて存在する。その数は進化過程でしばしば変化し、近縁種間や種内でも変異が生じる。例えば、ヒトの体細胞には46本の染色体があるが、チンパンジーでは48本である。ゴリラ、オランウータンも48本なので、ヒトの祖先がチンパンジーから分岐した後、2本の染色体が融合して1本になったと考えられる。しかし、融合した染色体が集団中で増えて固定したのは、それが適応的に有利だったためなのかは分からない。

ショウジョウバエ属の祖先の核型は5対の棒状染色体と1対の点状染色体から構成されていたが、複数の系統の進化過程で独立に融合が起こったと推測されている。例えば、図1にはテングショウジョウバエと姉妹種のアカショウジョウバエの核型を示すが、テングショウジョウバエでは第2、第3染色体それぞれが、2本の棒状染色体が融合してできており、アカショウジョウバエではさらに第3と性染色体が融合してネオ性染色体になっている^[1]。一般にショウジョウバエでは雄で減数分裂組換えが起こらないため、neo-Y染色体上の遺伝子は減数分裂組換えの機会を失うことになり、適応的に不利であると考えられる。テングショウジョウバエとアカショウジョウバエの分岐時間は24万年と短いため、アカショウジョウバエでは融合後ネオ性染色体が急速に固定したことになり、何らかの適応的利点があったことがうかがわれる。neo-Y染色体上の連鎖によって有益な遺伝子の組合せが生じた可能性もあるが、染色体レベルの要因も考えられる。XとY、ZとWのように異型性染色体の間で分化が進めば、やがて相同性が失われて減数分裂時の対合に支障をきたし、結果として染色体不分離が高頻度で生じる可能性がある。しかし、性染色体に常染色体が結合すれば、相同部分の追加によって正常な対合が回復することが期待される。

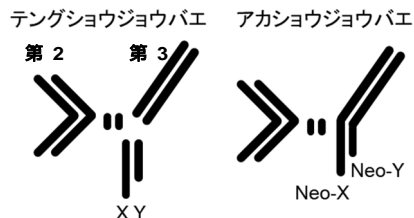


図1 ショウジョウバエ2種の核型

2. 研究の目的

本研究では、核型の進化過程で生じる染色体融合の適応的意義を明らかにするため、ネオ性染色体にはたらく染色体レベルの自然選択を調べることを目的とする。このような染色体レベルの進化的変化の適応的意義はゲノム進化を理解する上で基本的な問いであるが、それに対する自然選択を検出する方法が確立していないため答えはまだ得られていない。そこで本研究では、(1) タンパク質コード領域以外でも適用可能な自然選択検出法を開発し、(2) アカショウジョウバエの祖先集団を模倣した実験集団を構築して進化実験を用い、ネオ性染色体が集団中で固定した進化過程の実験室内での再現し、染色体レベルの自然選択の有無を検証する。

3. 研究の方法

(1) 改良型進化確率法の開発

ゲノム配列の比較解析によって自然選択を検出する方法としては、同義・非同義置換比率(d_N/d_S)が広く用いられる。しかし、この方法の対象はタンパク質コード領域に限られる。本研究では、セントロメアなど特定の染色体構造に関連した部位にはたらく自然選択を検出するため、近縁種の配列データから対象種に期待される配列を中立進化モデルで最尤推定し、実際に観察される対象種の配列における中立進化からの有意性を検出する「進化確率法 (EP^[2])」を用いた (図2)。この方法による自然選択の検出は対象種と近縁種の系統樹に依存するが、本研究では配列間距離の分散・共分散行列を用いることによって系統樹に依存しない方法に改良した。

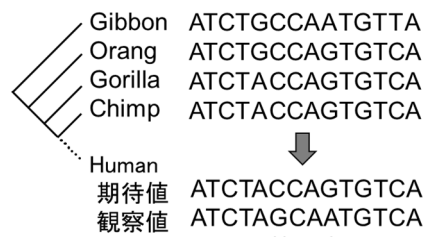


図2 進化確率法による現存配列の解析例
**: $P < 0.01$, *: $P < 0.05$

(2) ネオ性染色体適応進化の実験室内再現

アカショウジョウバエの祖先集団において、ネオ性染色体と融合前の性染色体・第3染色体が多型的に存在する状況を再現するため、ネオ性染色体をもつアカショウジョウバエと性染色体・第3染色体をもつテングショウジョウバエを混合したケージ集団を構築、継代し、その間の各染色体の頻度変化を Pool-seq によってゲノム全領域の配列を決定することによって調べた。

4. 研究成果

(1) 改良型進化確率法の開発

本研究では、染色体レベルの自然選択をゲノム DNA 塩基配列から検出するための方法として、進化確率法 (EP) を、系統樹の代わりに配列間距離の間の共分散行列を用いる方法 (EPuCoM) に改良した。この EPuCoM の推定精度と計算速度を評価するため、ヒトゲノムの疾患関連変異のデータベース (ClinVar) から配列をダウンロードし、遺伝子の非翻訳領域 (UTR) の変異について疾患関連性の予測を行った。配列内で自然選択がはたらく座位は高確率で疾患関連座位であることから、疾患関連座位の予測能力で自然選択の検出能力を測ることができる^[2]。疾患関連

変異 2,505、非関連変異 16,887 を含む 787 遺伝子の非翻訳領域 (UTR) 合計 1,958,592 塩基座の配列データを用いた。塩基置換モデルとして Jukes-Cantor モデルを用い、塩基座間で置換率が一定であると仮定した場合 (CRM) と置換率の変異をガンマ分布で近似した場合 (VRM) について、EPuCoM と EP の疾患関連座位の予測精度と計算速度の比較を行った。

図 3A には予測精度を表す ROC カーブを示す。ROC カーブは左上に大きく曲がるほど真陽性率が高く偽陽性率が低く予測精度が高いことを表す。座位間に置換率に差が無い CRM を用いた場合でも、EP に比べて EPuCoM が左上に大きく曲がっていることが分かる。さらに、より現実的に則した VRM を用いた場合は CRM より予測精度が上がった。一方、図 3B には、コンピューターシミュレーションによって生成した脊椎動物 46 種のアミノ酸配列を解析した場合の計算時間を示す。CRM を用いた場合、EPuCoM は EP の約 100 倍の速度で計算が終わり、CRM の 10 倍近く計算時間がかかる VRM を用いた場合でも CRM を用いた EP の 10 倍程度の計算時間となった。以上の結果から、本研究で開発した改良型の進化確率法は、従来よりも精度と速度の両面で大きく性能が向上したことが明らかになった。

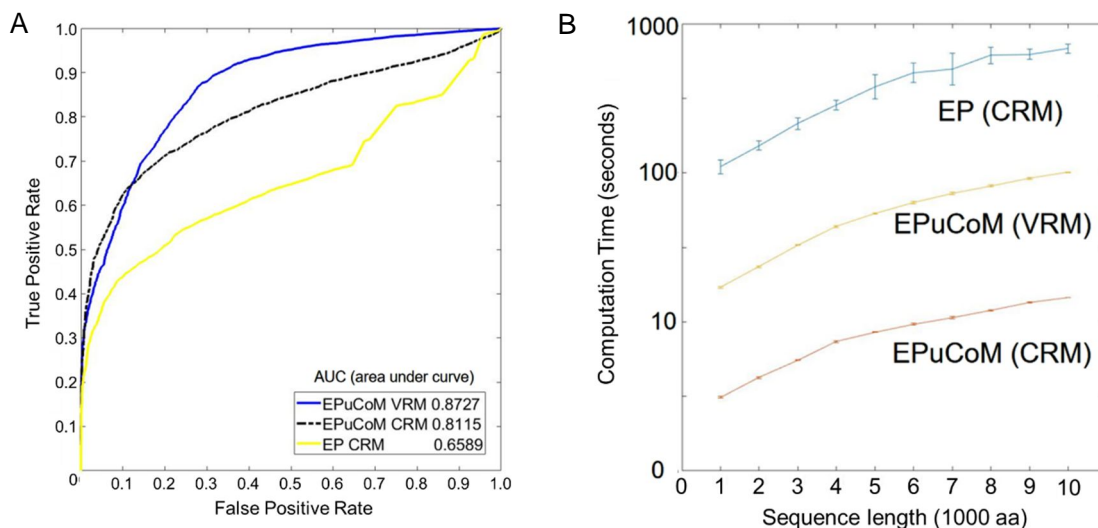


図 3 改良型進化確率法 (EPuCoM) と従来の進化確率法 (EP) による非翻訳領域の疾患関連変異推定精度 (A) とアミノ酸置換モデルを用いた場合の計算時間 (B)

CRM は置換率一定モデル、VRM は置換率可変モデルを示す。

次に EPuCoM の疾患変異予測精度を、機械学習の手法を用いて予測する CADD^[3] と比較した。図 4A は、図 3A と同一の ClinVar データベースの UTR 配列を用いて疾患関連座位の予測能力を調べた結果であるが、CADD の予想能力は疾患関連座位の特徴を事前学習した効果で EPuCoM を遥かに凌ぐ結果になった。しかし、CADD の予測能力は事前学習に用いるデータに依存することが知られている。そこで、マウスの試験データを用い、ヒトの疾患関連変異を事前学習してマウスの突然変異形質を予想した場合 (hCADD) とマウスの突然変異形質を事前学習して突然変異形質を予想した場合 (mCADD) の結果を EPuCoM と比較した (図 4B)。その結果、事前学習データと試験データが共にマウスの mCADD は EPuCoM よりわずかに高い予測精度を示したが、事前学習データがヒトの hCADD の予測精度は EPuCoM より大きく下回った。この結果は、非

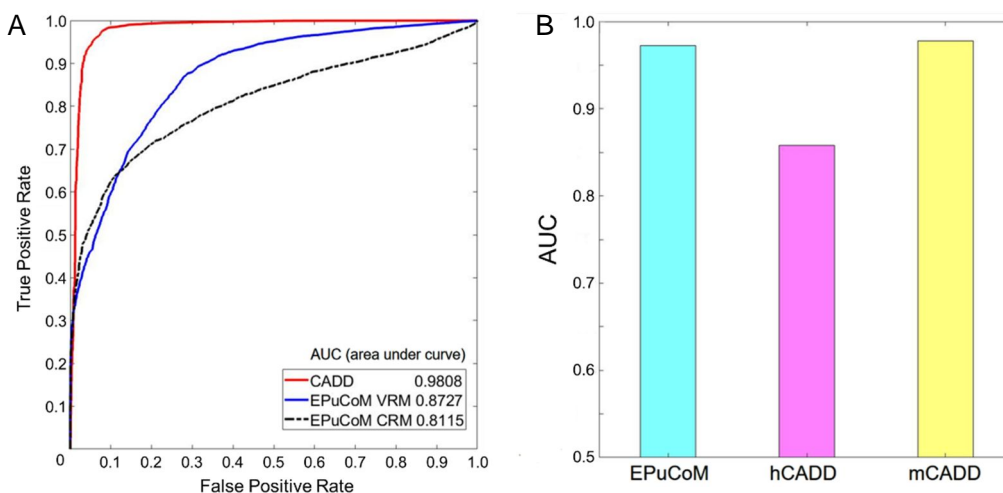


図 4 EPuCoM と CADD によるヒトの疾患関連変異推定精度 (A) とマウスの突然変異推定精度 (B) hCADD は CADD の事前学習にデータヒト、mCADD はマウスのデータを用いた場合。AUC は Area Under Curve の略で、ROC カーブの右下の相対面積を表す。

機械学習の方法である EPUCoM の利点を示し、事前学習のためのデータが無い、または乏しい、非モデル生物においても EPUCoM は十分な予測能力を発揮できることが分かった。今後、配列データの蓄積に伴って機械学習を用いた方法が主流になる可能性があるが、幅広い種を対象とするためには、非機械学習の方法の利用価値も十分あることが示された。

(2) ネオ性染色体適応進化の実験室内再現

アカショウジョウバエのネオ性染色体は、姉妹種のテングショウジョウバエがもつ性染色体と第3染色体が融合してできた後、最長でも24万年の間にアカショウジョウバエ集団中に急速に広まり固定した。染色体が融合したことによる選択的有利性が生じたのか、実験集団を用いた検証を試みた。ネオ性染色体と融合前後の染色体が多型的に存在したアカショウジョウバエ祖先集団を模倣するため、姉妹種のテングショウジョウバエとの雑種集団を10集団構築した。そして、30世代継代して染色体頻度の遷移を Pool-seq によって集団ゲノムを決定して調べた。

ネオ性染色体・第3染色体の真正クロマチンのほぼ全領域に渡る55Mbのコンティグの塩基配列をアカショウジョウバエ2系統、テングショウジョウバエ2系統、合計4系統の間で比較したところ、合計1,495,464の一塩基多型(SNP)座位が検出された(図5)。その中、785,425座位で2系統のネオX、ネオY、2系統の第3染色体が特異的に識別でき(系統・染色体特異的SNP)、その他の215,467座位では、2系統のいずれかは識別できなかったが、3種類の染色体のいずれかは識別できた(染色体特異的SNP)。これら染色体特異的SNP座位は両端のセントロメアとテロメア付近で多く、染色体レベルの分化が示唆される。一方、中央部で染色体特異的座位が少ないのは、組換えによって染色体間の分化が妨げられたためと考えられる。

次に雑種実験集団を30世代継代し、系統・染色体特異的SNPの頻度を各染色体の500の区分(bin)ごとに調べた。図6には親世代と30世代目における10集団の平均頻度を示す。親世代では500区分間の差がほとんど無く、系統・染色体特異的SNPの頻度は染色体頻度を正確に反映することが分かる。一方、30世代目では、ネオY特異的SNPがセントロメアとテロメア付近ではほぼ消失する結果となった。このことは、ネオY染色体自体が消失したことを示唆する。中央付近でネオY特異的SNPの頻度がある程度維持されたのは、ネオY特異的SNPが組換えによって他の染色体に移動したためであると考えられる。また、ネオX染色体特異的SNPの頻度も全領域で低下の傾向が見られた。

以上の結果から、アカショウジョウバエ集団中の進化過程で実際に起こった、ネオ性染色体の急速な頻度拡大と固定は、アカショウジョウバエとテングショウジョウバエの雑種で構築した実験集団を用いて再現することはできなかった。雑種における種間ゲノムの相互作用や、継代中の温度や培地の環境要因がネオ性染色体に不利にはたらいた可能性がある。今後、実験条件を変えて同様の実験を行い、ネオ性染色体の急速な頻度拡大と固定が起こる条件を探索するなどの方策が考えられる。

参考文献

- [1] Wakahama K, Shinohara T, Hatsumi M, Uchida S, Kitagawa O (1983) Jpn. J. Genet. 57:315-326.
- [2] Liu L, Tamura K, Sanderford M, Gray VE, Kumar S (2016) Mol. Biol. Evol. 33:245-254.
- [3] Rentzsch P, Witten D, Cooper GM, Shendure J, Kircher M (2019) NAR 47:D886-D894.
- [4] Fairfield H, Srivastava A, Ananda G, Liu R, Shendure J et al. (2015) Genome Res. 25:717-25.

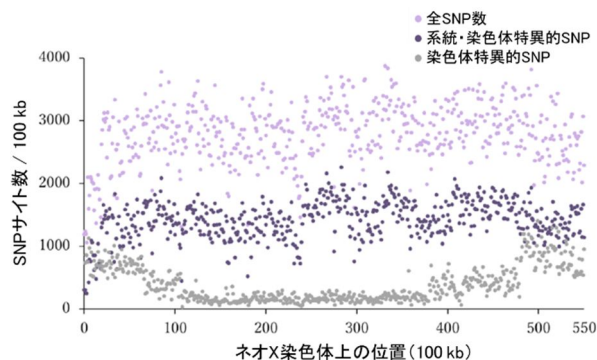


図5 ネオX染色体 / 第3染色体上のSNP分布
アカショウジョウバエ2系統、テングショウジョウバエ2系統、合計4系統の約55Mbの配列間で観察された100kb領域毎のSNP座位数の分布を示す。

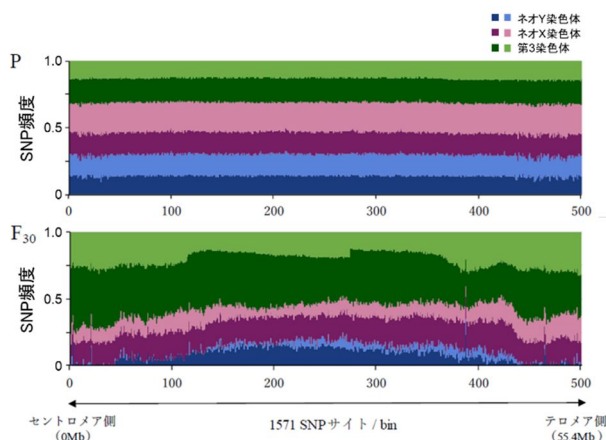


図6 親世代、F₃₀世代における染色体特異的SNPによるネオX、ネオY、第3染色体の頻度分布
全長約55Mbのコンティグを1571SNP塩基座毎に500のbinに分け、bin毎のSNP座位数の相対値を示す。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計0件

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 1件）

1. 発表者名 植田泰地, 小川佳孝, 田村浩一郎
2. 発表標題 性染色体不分離を介したアカショウジョウバエのネオ Y 染色体の遺伝的多様性獲得の検証
3. 学会等名 日本進化学会第25回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 萩野里奈, 田村浩一郎
2. 発表標題 テングショウジョウバエにおける性染色体不分離率の推定
3. 学会等名 日本進化学会第25回大会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 Cai Y, Tamura K
2. 発表標題 EPuCov: a phylogeny-free evolutionary probability method for testing neutrality at amino acid and nucleotide sites
3. 学会等名 日本進化学会第24回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 植田泰地, 小川佳孝, 田村浩一郎
2. 発表標題 性染色体不分離によるアカショウジョウバエのネオY 染色体の遺伝的多様性獲得の検証
3. 学会等名 日本遺伝学会第94回大会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 Cai Y, Tamura K
2. 発表標題 A phylogeny-free evolutionary probability method for testing neutrality at amino acid and nucleotide sites
3. 学会等名 The 2nd AsiaEvo Conference (国際学会)
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 蔡宇佳, 田村浩一郎
2. 発表標題 A phylogeny-free evolutionary probability method for testing neutrality at amino acid and nucleotide sites
3. 学会等名 日本進化学会第23回東京大会
4. 発表年 2021年

〔図書〕 計0件

〔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
---------------------------	-----------------------	----

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
---------	---------