

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 4 月 10 日現在

機関番号：16201

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2010～2012

課題番号：22570093

研究課題名（和文）

近縁種ゲノム比較によるマイクロサテライト遺伝子座の進化の研究

研究課題名（英文）

A study on evolution of microsatellite DNA loci by comparison of species of closely related species

研究代表者 竹崎 直子 (TAKEZAKI NAOKO)

香川大学・総合生命科学研究センター・教授

研究者番号：30398036

研究成果の概要（和文）：マイクロサテライト DNA 遺伝子座およびその他の遺伝的マーカーを用いた、集団間の進化的関係を推定するソフトウェアの作成、マイクロサテライト DNA 遺伝子座のレピート数のヒト集団間での違いとそのゲノムサイズへの影響の推定、ヒト、チンパンジー間のマイクロサテライト DNA 遺伝子座の突然変異のパターンの違いについての研究を行った。

研究成果の概要（英文）：

We developed a software to estimate evolutionary relationships of populations using microsatellite DNA loci and other genetic markers and investigated the difference of repeat numbers of microsatellite DNA loci among human populations and its effect on human genome size, and the difference of the mutational pattern of microsatellite loci in human and chimpanzee genomes.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,600,000	480,000	2,080,000
3011 年度	700,000	210,000	910,000
3012 年度	600,000	180,000	780,000
年度			
年度			
総計	2,900,000	870,000	3,770,000

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：集団・種多様性、マイクロサテライト DNA、ゲノム進化、集団系統樹

1. 研究開始当初の背景

マイクロサテライト DNA は広く、進化学の分野だけでなく様々な分野で遺伝的マーカーとして用いられている。様々な分野の研究者が、マイクロサテライト DNA データを簡単に解析するソフトウェアが必要とされている。また、集団間や近縁種間のマイクロサテライト遺伝子座における突然変異のパターンの違いは、集団内の遺伝的変異の程度や集団間の進化的関係の推定にバイアスを与える可能性がある。このような問題がある

にもかかわらず、種間のマイクロサテライト DNA の突然変異のパターンの違いについては、少数の遺伝子座のデータなどからの推測はあったものの、よくわかっていない状況にあった。また、近縁種間や集団間でどれほどのマイクロサテライト遺伝子座が保存されているのかもマーカーとしての有用性を知る上で重要である。

2. 研究の目的

本研究では、近縁種のゲノム塩基配列データ

等を用いてマイクロサテライト遺伝子座の進化のパターンを調べるとともに、これを用いた集団間の進化的関係を推定するためのソフトウェアを開発する。

3. 研究の方法

ヒト、チンパンジー、オランウータンのゲノム塩基配列データを UCSC Genome Browser web site より入手し解析を行った。このデータは BLASTZ (大量配列データ用に開発された BLAST) による、アラインメントである。信頼性の低いアラインメントの領域や、最近になって重複の起きた領域、挿入したトランスポゾン領域を除外するために、まず、ヒトの配列データからチンパンジーの配列データに BLASTZ を行った結果と、チンパンジーの配列データから、ヒトのデータに BLASTZ を行ったものを比較して、両者にそれぞれ、一度しか含まれていない領域を選んだ。これらには、リピート配列の多い、セントロメア、テロメアのヘテロクロマチン領域は含まれていなかった。これ以外の 13、14、15、21、22 番染色体のヘテロクロマチン領域もまた含まれていなかった。しかし、1 番染色体と 3 番染色体のヘテロクロマチン領域が含まれていたため、これは除外した。また、信頼性の低い可能性のある短いアラインメント (1000 bp 以下) も除外した。この領域に対応するヒトとオランウータンのゲノム配列のアラインメントの領域を探索し、この領域で、マイクロサテライト DNA の探索を行った。これは常染色体の領域のみに限るが、総計で 2.2 Gb となった。

探索を行ったマイクロサテライトは 1-5 bp の塩基配列の繰り返しである。同じ配列でも複数の繰り返しのモチーフをもつと認識される場合がある。例えば、CACACAC は 3 回 CA の繰り返しとも、3 回の AC の繰り返しとも数えることができるが、この場合はヒト、チンパンジー、オランウータンの繰り返し数の総計を最大にするものとし、それが複数のモチーフである場合には、alphabetical に早い順番をもつモチーフ (上記の場合 AC) とした。interrupted repeats は、高い突然変異率をもつといわれているので除外した、これは同じグループ (上記の例では CA と AC) の繰り返しモチーフが繰り返し単位 X2 (例では 4 bp) 以内の距離にあるものと定義した。また、異なるグループの繰り返しのモチーフをもつリピートでも、大きな繰り返し単位よりも近い距離にあるものは、それぞれの遺伝子座が独立に進化していない可能性があるため、除外した。これは例えば、CACACATATATATA のような場合である、マイクロサテライト遺伝子座のリピート領域の外側の領域で、塩基置換によりリピートとして認識されなくなったもの、リピートもモチーフと一塩基の違いしかない場合は、塩基

置換によって、リピートのモチーフが壊れたものとして、この領域を含めた、リピート数も記録し、遺伝子座ごとのオランウータン、チンパンジー、ヒトの間の、リピート数の変化を調べた。

この探索はリピート数が 3 以上、6 以上、9 以上の遺伝子座に対して行われた。

異なる腫間で、同じリピートモチーフをもち、アラインメント上で位置がオーバーラップする遺伝子座をオーソログな遺伝子座とし、オーソログ遺伝子座と呼び、オーソログ遺伝子座のうち、種間でリピート数が異なる遺伝子座 variable 遺伝子座と呼ぶこととする。

4. 研究成果

マイクロサテライト遺伝子座で 3 以上のリピート数をもち、1-5 bp のリピート単位をもつものは、それぞれ、約 6.8×10^7 , 4×10^6 , 6.7×10^5 , 2.3×10^5 , 7.0×10^4 であった。遺伝子座の数は種間での違いは小さい。ただし、リピート数が多い場合、特にリピート単位が大きいものは、ヒトの遺伝子座の数ほうがチンパンジー、オランウータンに比べて多かった。

ヒトとチンパンジー、ヒトとオランウータンの種分化をそれぞれ 6 百万年前、千 5 百万年前とするとオーソログ遺伝子座の割合はヒト-チンパンジー間よりもヒト-オランウータン間で減少しており、時間軸に対して、指数関数的 ($c(1 - e^{-at})$) に減少していた。減少の速度は、リピート単位が大きくリピート数の多い遺伝子座の方が、リピート単位が小さく、リピート数の少ない遺伝子座よりも速い。4-5 bp の繰り返し単位でリピート数が 6 以上の遺伝子座では、ヒトとチンパンジー間でオーソログ遺伝子座は全遺伝子座の 50% 以下であった。

これと同様に、non-variable 遺伝子座も、時間とともに指数関数的に減少して、リピート単位が大きくリピート数の多い遺伝子座の方が、リピート単位が小さく、リピート数の少ない遺伝子座より大きかった。

ヒト、チンパンジー、オランウータンのオーソログ遺伝子座における、遺伝子座の変化を最大節約法により推定し、オランウータンからヒトとチンパンジーの共通祖先 (共通祖先の系統)、および、ヒトとチンパンジーの共通祖先からヒト (ヒトの系統)、チンパンジー (チンパンジーの系統) までの各系統でリピート数の増加と減少の速度を求めた。これは、リピート数が 3、6、9 以上の場合それぞれにおいて $10^{-1} - 10^{-2}$, $10^{-2} - 10^{-4}$, $10^{-2} - 10^{-5}$ /year/genome region examined であった。遺伝子座増減の速度は遺伝子座のリピート数が少ない場合は、系統間の違いが小さかった。しかし、遺伝子座増減の速度は、リ

ピート数が多い場合、共通祖先の系統のほう
が、ヒト、チンパンジーの系統よりも小さか
った。また、共通祖先の系統では、遺伝子座
の減少の速度のほう、増加の速度よりも大
きかった。これは、オランウータンの遺伝子
座数がヒト、チンパンジーよりも大きかった
ことと一致する結果である。これに対して、
ヒトのチンパンジーの系統では、遺伝子座の
増加の速度のほう、減少の速度よりも高か
った。遺伝子座の増加と減少の速度の違いは
リピート数の多く、リピート単位の大きい遺
伝子座のほう、リピート数の少なくリピート
単位の小さい遺伝子座よりも、大きかった。
1塩基の繰り返しの遺伝子座では、リピート
数が3以上、6以上では遺伝子座の増減の速
度の違いはほとんどなかった。しかし、繰り
返しの単位が2塩基以上の遺伝子座では、リ
ピート数が3以上の場合でも、遺伝子座の増
加の速度のほう、減少の速度よりも1.5-2
倍高かった。共通祖先の系統では、遺伝子座
の増減の速度の違いはヒト、チンパンジーの
系統よりもやや小さいものの、同じようなパ
ターンであった。

遺伝子座の増減の速度はヒトの系統とチ
ンパンジーの系統で似ているが、増加、減少
の速度、共にチンパンジーの方が少し高か
った。しかし、4塩基の繰り返し、5塩基の繰
返しの場合、リピート数が6以上では、ヒト
の系統の遺伝子座の増加の速度がチンパン
ジーの系統よりも高かった。

上記と同様に、最大節約法の考え方を
用いて、オーソログス遺伝子座における、共
通祖先、ヒト、チンパンジーの系統でのリ
ピート数の変化を推定した。リピート数の増
減の速度は、リピート数が3以上、6以上、
9以上の場合、それぞれ、 $10^{-9} - 10^{-8}$ 、 $10^{-8} - 10^{-7}$ 、 10^{-7} / 遺
伝子座/年であった。

リピート数が3以上の場合、リピート単
位の大きい遺伝子座のほう、リピート単位
の小さい遺伝子座よりも、リピート数増減
の速度が高かったが、リピート数が6以上
の遺伝子座では必ずしもそうではなかった。

遺伝子座の増減の速度と同じように、共
通祖先の系統では、リピート数の減少の速
度のほう、増加の速度よりも高かった。し
かし、リピート数が大きくなると、増加の速
度のほう、減少の速度よりも高くなる傾向
があった。また、遺伝子座の増減の速度と
同様にヒトの系統では、1塩基の繰り返し
以外で増加の速度のほう、減少の速度より
も高かった。しかし、遺伝子座の増減の速
度と異なり、チンパンジーの系統でも、増
加の速度のほう、減少の速度よりも高く、
リピート単位の大きい遺伝子座で、減少
の速度のほう、増加の速度よりも高くなる
傾向があった。また、リピート数の増加、

減少ともに、ヒトの系統の方がチンパン
ジーの系統よりもやや高かった。

この研究で探索した、ヒト、チンパン
ジー、オランウータンのゲノム配列のオー
ソログス領域に探索されたマイクロサテ
ライト遺伝子座は、ヒト、チンパンジー
間のオーソログス領域に探索されたマイ
クロサテライト遺伝子座と共に、そのゲ
ノム上の塩基の位置情報を2塩基から5
塩基の繰り返しをもつマイクロサテライト
遺伝子座について web site での公開を
進めている。Hg18 のヒトのゲノム配列
を用いた場合についてはこの作業は終わ
っているが、今後 hg19 についても同
じ解析を行う予定である。

マイクロサテライト遺伝子座およびその
他の遺伝マーカーの対立遺伝子頻度デー
タを用いた進化的解析を行うソフトウェア
の開発を行った。このソフトウェアは、対
立遺伝子頻度データから、集団間のコード
距離改変距離尺度 D_a 、標準遺伝距離 D_s 、
マイクロサテライト遺伝子座のリピート
数を考慮した $\Delta \mu^2$ 距離などの距離尺
度を計算し、この距離尺度の値を用いて、
近隣結合系統樹、UPGMA 系統樹を作成
することができる。非常に簡単に系統樹
の画像が表示され、また、ブートストラ
ップ検定の値も表示される。系統樹の画
像の形状やアウトグループの選択、画像
上の集団の位置の入れ換えなどを *inter
active* に画面上で行うことができる。
系統樹作成だけでなく、ヘテロ接合度、
対立遺伝子の数、集団文化係数 GST など
も計算し、結果を表示させることができ
る。距離そのものの値も表示可能であ
る。このソフトウェアは Windows PC 用
に開発されたものであるが、Mac, Linux
などのユーザーでも使用できるように、
このソフトウェアの web version を開
発中である。Web version でも *inter
active* な系統樹画像の表示、扁形がで
きるようにする。現在、開発の最終段
階にあり、テストを行っているところ
である。開発が完了すれば、web server
で一般に公開する予定である。

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)

① Naoko Takezaki, Masatoshi Nei, and Koichiro Tamura, *Molecular Biology and Evolution*, Oxford Journal, 査読有、

② Naoko Takezaki, Masatoshi Nei, *Molecular Biology and Evolution*, Oxford Journal, 査読有、
〔雑誌論文〕(計 3 件)

〔学会発表〕(計 6 件)

- ① 竹崎直子、日本遺伝学会、2010年9月22日
- ② 竹崎直子、日本進化学会、2011年7月31日、京都大学
- ③ 竹崎直子、SMBE、2011年7月29日、京都大学

〔図書〕（計 1 件）

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.kms.ac.jp/~genomelb/takezaki/poptree2/index.html>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

竹崎 直子 (TAKEZAKI NAOKO)

香川大学・総合生命科学研究センター・教授

研究者番号：30398036

(2) 研究分担者

田村 浩一郎 (TAMURA KOICHIRO)

首都大学東京・理工学研究科・教授

研究者番号：00254144