

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 24 年 4 月 2 日現在

機関番号：11301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2010～2011

課題番号：22710190

研究課題名（和文） 相同組替えがヒト遺伝子に与える有害な影響

研究課題名（英文） Deleterious effect to human genes by meiotic recombination

研究代表者

牧野 能士 (Makino Takashi)

東北大学・大学院生命科学研究科・助教

研究者番号：20443442

研究成果の概要（和文）：相同組替えは遺伝的多様性を生み出す重要な機構であるが、同時にエラーを起こし突然変異を生じさせやすい。本研究により、高い組替え率をもつヒトゲノム上の領域では有害な突然変異が起きやすく、そのためそのような領域が原因となって遺伝子的疾患を起こしやすいことが明らかとなった。特に、このような疾患と原因となる突然変異は極めて希な遺伝的変異であることも分かった。

研究成果の概要（英文）： The results in this study suggest that those functional regions of the human genome which are subject to high recombination rates may experience an elevated rate of deleterious point mutation and hence are more likely to become implicated in inherited disease, particularly in the case of those diseases that are caused by rare genomic variants.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011 年度	1,400,000	420,000	1,820,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,100,000	930,000	4,030,000

研究分野：複合新領域

科研費の分科・細目：ゲノム科学・ゲノム医科学

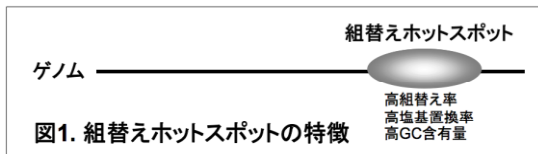
キーワード：相同組替え

1. 研究開始当初の背景

これまでに 2000 以上の遺伝子が疾患関連遺伝子としてヒト遺伝病データベース OMIM(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim/>) に登録されている。複製エラー等によって生じる突然変異のほとんどは適応度に影響を与えない中立な変異である一方、有害な突然変異は疾患の原因となり適応度を低下させる。これまでに、有害な突然変異が特定のメカニズムによって生じているといった報告はなされていない。近年、ゲノム上の突然変

異率には座位によって偏りがあることが明らかとなってきた。例えば、ゲノム中の塩基組成を示す GC 含有量の偏りは、遺伝子変換の偏り (Biasd Gene Conversion; BGC) と強い相関があることが報告されており、これは遺伝子変換過程において水素結合強度の弱い AT 塩基より水素結合の強い GC 塩基が好んでゲノム上に保持されることに起因すると考えられている (Duret and Arndt 2008)。そして、相同組替えが頻繁に起きているヒトゲノム中の領域 (組替えホットスポット) では

GC 塩基への置換率が高いため GC 含有量が高い(図 1; Duret and Arndt 2008)。また、霊長類の直系遺伝子を比較した解析では、ヒトの系統において進化速度が上昇した遺伝子の多くは、正の選択を受けたためではなく、BGCのような組替え過程によってAT塩基からGC塩基へ高頻度で置換されたため進化速度が上昇したと報告している (Berglund et al. 2009)。このように組替えホットスポットで突然変異率が高いことは、この領域に疾患関連遺伝子が多く存在する可能性が考えられる。しかし、相同組替えがヒト遺伝子上で有害な影響を持つかについては全く分かっていない。



2. 研究の目的

真核生物ゲノム上では一部の例外を除き遺伝子が無作為に並んでいると考えられてきたが、近年、真核生物ゲノム上においても機能的な遺伝子クラスターの存在が多数報告されている(Hurst et al. 2004)。その多くは遺伝子発現データを用いて同定された共発現遺伝子クラスターである。ただし、遺伝子の転写は意図せず近隣遺伝子の転写を促すことが知られており(遺伝子発現漏出)、共発現遺伝子クラスターが生物学的に意味があるか判断するのは困難である。一方、タンパク質間相互作用は翻訳産物であるタンパク質間の関係を示すものであり、共発現遺伝子クラスターの同定で問題となる遺伝子発現漏出の影響を受けない。我々はこの点に着目し、タンパク質間相互作用データを用いてヒトゲノム上のタンパク質間相互作用クラスターを同定し、ヒトゲノム上にはタンパク質間相互作用遺伝子クラスターが期待されるよりも多く存在することをシミュレーションにより明らかにした(Makino and McLysaght 2008)。このことは、ヒトゲノムが遺伝子を収納している箱の役割を果たしているだけではなく、ヒトゲノム構造自身に生物学的な意義があることを強く示唆している。遺伝子が特定の領域(相互作用パートナーの近隣)に存在することで機能的な恩恵を受けることについて発表したこの研究を踏まえて、特定の領域に存在することで不利益

を被る遺伝子が存在するのではないかと考えた。そこで上述した組替え率のゲノム上での不均一性に着目し、組換えホットスポットと疾患関連遺伝子の関係性を調査するという着想に至った。本研究では、組替えホットスポットに存在する遺伝子上に疾患の原因となる有害突然変異が多く含まれるかを調査し、相同組替えがゲノムに与える有害な影響の立証を目的とする。

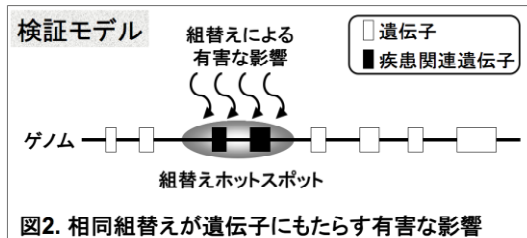


図2. 相同組替えが遺伝子にもたらす有害な影響

3. 研究の方法

(1) 有害突然変異の分布

疾患に関ることが知られている疾患突然変異を Human Gene Mutation Database より収集し(www.hgmd.org)、ヒトゲノム上の組替えホットスポットと組替えコールドスポットのそれぞれにおける出現頻度を比較した。具体的には HapMap プロジェクトで得られた組替えホットスポットデータを取得し、組替えホットスポットと重なるエクソンをホットエクソン、それ以外をコールドエクソンと定義し、ホットエクソンとコールドエクソン内の疾患原因突然変異の出現頻度を比較した。

組替え率は様々な要因によって決まると考えられている。例えばGC含有量が高い領域では組替え率が高いとの報告があり(Duret and Arndt 2008)、また、DNAのメチル化頻度と組替え率には正の相関があることが分かっている(Sigurðsson et al. 2009)。そこで、遺伝子に有害な影響を与える可能性のある他の要因についても検証し、相同性組替えそのものが遺伝子にとって有害な影響を持つことを確かなものにする。具体的には、全エクソンをGC含有量やDNAメチル化レベルに応じて分類し、同一カテゴリ内(例えば同一メチル化レベル)においても疾患原因突然変異がホットエクソン内に多いか検証した。

(2) 疾患関連遺伝子と組替えホットスポットとの関係

疾患に関するヒト遺伝子をヒト疾患データベース OMIM より収集し(<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/omim>)、組替えホットスポットオーバーラップしている遺伝子は疾患関連遺伝子の傾向が強いかを

調査した。

4. 研究成果

(1) 疾患突然変異のヒトゲノム上の分布

1694 のヒト遺伝子のエキソン領域から 41033 の疾患突然変異を得た。疾患突然変異の出現頻度は平均で約 24 で、多いもので 1000 以上の疾患突然変異が報告されている遺伝子も存在していた。これら遺伝子を組替えホットスポット中に存在している (図 3 赤線)、存在していない (図 3 青線) に分類し、それぞれの疾患突然変異頻度を求めた (有害突然変異数 / 1kb)。また、突然変異率は塩基配列の GC 含有量の影響を強く受けることが知られているため、GC 含有量によって 6 のグループに細分化した (図 3)。その結果、どの GC 含有量のグループでも組替えホットスポット中に存在する遺伝子は疾患突然変異を多く含むことが明らかとなった。このことは相同組替えが疾患の原因となる有害突然変異を生み出していることを示唆している。

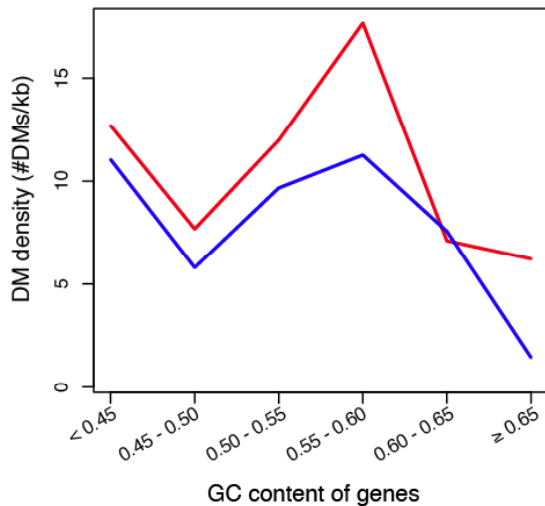


図 3

(2) 疾患関連遺伝子と組替えホットスポットとの関係

OMIM データベースより 2548 のヒト疾患関連遺伝子を取得し、疾患関連遺伝子は、その他の遺伝子と比較して組替えホットスポット上に存在する傾向が強いかを調査した。その結果、ヒト疾患関連遺伝子は、他の遺伝子と比較して有意に組替えホットスポット上に存在していることが分かった。また、長い遺伝子の方が組替えホットスポット上に存在しやすいというバイアスを排除するため、遺伝子を遺伝子長によって分類し、それぞれの長さ毎にホットスポットに存在する遺伝子の割合を比較した。その結果、いずれの遺伝子長においても疾患関連遺伝子は (図 4 黒線)、

その他の遺伝子 (図 4 灰色線) よりも組替えホットスポット上に存在する傾向が強いことが分かった。このことは、相同組替えが原因となり、遺伝子が疾患関連遺伝子となる確率を上昇させていることを示唆している。

以上の結果から、組替え率の高いヒトゲノムの機能的な領域は、有害な突然変異率が上昇しており、そのため疾患遺伝子として同定されやすいことが示された。

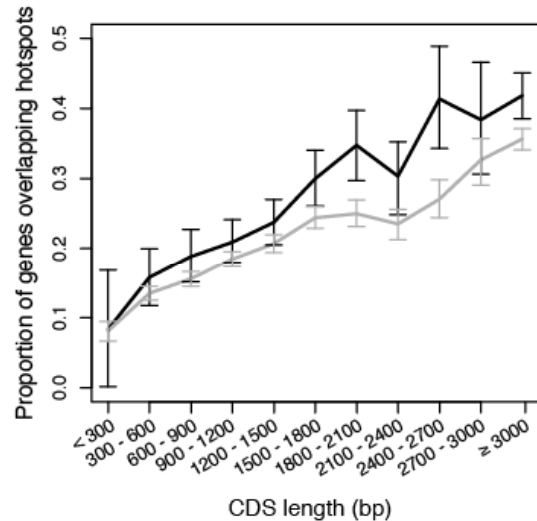


図 4

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 Tezuka A, Matsushima N, Nemoto Y, Akashi HD, Kawata M and Makino T. (2012) Comprehensive Primer Design for Analysis of Population Genetics in Non-Sequenced Organisms. PLoS ONE, 7(2):e32314. 査読有

[学会発表] (計 4 件)

① Makino T and Kawata M. Drosophila species distributions correlate with their genomic structure. Young Researchers Conference on Evolutionary Genomics, 2011.8, Tokyo, Japan

② Makino T. Genome-Wide Coldspots For Gene Copy Number Variation In Vertebrates. Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE), 2011.7, Kyoto, Japan

③ Matthew T, Makino T, McLysaght A, Necsulea A, Ball EV, Cooper DN and Duret L. Evidence that meiotic recombination causes deleterious point mutations in humans. Society for Molecular Biology and

Evolution (SMBE), 2010.7, Lyon, France

④ Makino T and McLysaght A. Ohnologs in the human genome are dosage balanced and frequently associated with disease. Society for Molecular Biology and Evolution (SMBE), 2010.7, Lyon, France
〔図書〕 (計 0 件)

〔産業財産権〕

○出願状況 (計 0 件)

○取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://meme.biology.tohoku.ac.jp/klabo-wiki/index.php?Klabo-Wiki>

6. 研究組織

(1) 研究代表者

牧野 能士 (Makino Takashi)

東北大学・大学院生命科学研究科・助教

研究者番号：20443442