

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 6 月 10 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(B)

研究期間：2012～2014

課題番号：24370098

研究課題名(和文) ヒト上科で種特異的に生じている反復配列増減の比較ゲノム実験に基づく定量的な解析

研究課題名(英文) Fluctuation in the size of species-specific repetitive DNA of hominoids:  
quantitative analysis by comparative genomics

研究代表者

古賀 章彦 (Koga, Akihiko)

京都大学・霊長類研究所・教授

研究者番号：80192574

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,200,000円

研究成果の概要(和文)：反復配列(同じまたは類似の遺伝情報の繰り返し)はゲノム中に大量に存在する。進化の途上で、その構成には大きな変化が起こっていることが推測される。本課題は、ヒト上科(ヒトおよび類人猿)を対象として、構成の変化の具体的な様相を明らかにすることを目的とした。主要な結果および意義は、つぎの3点である。テナガザルで、アルファサテライトDNA(セントロメアの主要成分)が別の反復配列で置換されている。新規のトランスポゾン(動く遺伝因子)が形成されてそれが大量に増幅することが、ヒト上科であり得る。アルファサテライトDNAにみられる高次構造の進化的起源は、従来考えられていた時期を大きく遡る。

研究成果の概要(英文)：Repetitive sequences occupy large fractions of their host genomes, and their organization is thought to undergo considerable changes in evolutionary processes. The purpose of the present study was to reveal actual changes that had occurred in the evolution of hominoids. Main results and their significance were: (1) alpha satellite DNA has been replaced by another repetitive DNA in a gibbon genome, (2) a novel transposon was, and can be in the future, formed and expanded in hominoid genomes, and (3) the evolutionary origin of the higher-order repeat structure of alpha satellite DNA is older than that commonly postulated.

研究分野：分子進化学

キーワード：ゲノム 反復配列 サテライトDNA ヒト 霊長類 分子進化

## 1. 研究開始当初の背景

反復配列は、同じまたは類似の遺伝情報の繰り返しであり、真核生物のゲノム中に大量に存在する。タンパクをコードする遺伝子などと同様に、ホスト生物の進化の過程で、進化の影響を受けて変化し、また変化が進化の原動力となっていると考えられ、それを示す例は少なくない。しかし、反復配列であるがゆえに正確な塩基配列の解読は困難であり、このため進化の影響および進化への貢献の実像は、十分には明らかにされていないものと、我々は推測した。反復配列の正確な塩基配列の解読、またその前段階としての反復配列の同定が容易になれば、進化との関連の様相をより具体的に知ることができるという期待を、我々は抱いた。

## 2. 研究の目的

ヒト上科(ヒトおよび類人猿)でこれまでに生じた反復配列の構成の変遷の実態をとらえ、進化の影響および進化への貢献の様相を明らかにすることを、本課題の目的に設定した。なお、実施中の進展のために、ヒト上科の周辺のグループも合わせて調べることが必要になり、対象を真猿亜目に拡張した。ただし、ヒトへの進化を中心的な視点とする方針は保持した。

## 3. 研究の方法

本研究課題に先立つ挑戦的萌芽研究の課題(平成23-24年度「ヒトでの構成的ヘテロクロマチンの消失:機構解明へ向けた痕跡部分の構造解析」)で、研究代表者は、異なる種の間で量に大きな違いのある反復配列を同定する実験法を、開発していた。本課題の1年目に、この実験法に改良を加え、新規の反復配列を網羅的に同定する手法を確立した(発表論文の欄の論文、)。また、反復配列のクローンの塩基配列を正確に解読する方法も考案し、実験法として確立した(論文)。そしてこれをヒト上科および周辺の多数の種に適用し、増減のあった反復配列の網羅的な探索を行った。その結果として、新規反復配列、および既存の反復配列の派生型を、計12種類同定するに至った。続いて、ホストの進化と重要な因果関係があると考えられるものを3種類選び、それについて構造・分布・変異を詳しく解析し、具体的な因果関係を推測した。

## 4. 研究成果

### (1) セントロメア反復配列の置換

フーロックテナガザル(*Hoolock hoolock*)のゲノム中に大量に存在し、近縁種のゲノムにはない反復配列を、同定した(論文)。約50塩基対を単位とする縦列反復配列(単位が隣接する様式で繰り返す反復配列。対義語は散在反復配列)で、染色体標本上での位置を調べる実験から、セントロメア(細胞分裂の際に染色体の両極への移動の起点とな

る部位)を構成していることがわかった。

一般にセントロメアの領域は、縦列反復配列が主成分となっている。霊長類では、アルファサテライトDNAとよばれる反復配列がこれを担っている。フーロックテナガザルでは、この新規の反復配列がセントロメアの主成分となっており、大部分のアルファサテライトDNAは縮退していた。霊長類で初めての、セントロメア反復配列の大規模な置換の例である。セントロメアの機能を解析するための格好の材料を、分子生物学の分野に提供することになった。

### (2) 新規トランスポゾンの形成と増幅

ホオジロテナガザル(*Nomascus leucogenys*)で、新規のトランスポゾンが生じていることを、見出した(論文)。ヒトでSVA因子とよばれるトランスポゾンが、以前から知られている。SINE、VNTR、Aluとよばれる要素が組合わさって生じた複合型レトロトランスポゾンである。テナガザルで見つかったトランスポゾンは、このSVA因子と構造は同じで構成要素が一部異なるものであった。SINEの部分でPTGR遺伝子となっており、PVA因子と名付けた。

PVA因子はテナガザルのゲノムの中で、ヒトでのSVA因子と同様に、大量に増幅している。ゲノム全体の機能の調和に影響を与えているであろうことは、容易に想像される。この型の新規トランスポゾンの例が、ヒトの既知のものに加えて2例となったことから、同様な新規形成が広く起こり得ることが推測される。

### (3) アルファサテライトDNAの高次構造の進化的起源

セントロメアの主要DNA成分であるアルファサテライトDNAの基本的な構造は、約170塩基対または約340塩基対の単位の縦列での反復である。ヒトではアルファサテライトDNAの構造の詳しい解析がなされており、単純な縦列反復配列に加えて高次構造をもつものがあることが、30年以上前から知られている。高次構造は、5個や9個など一定の数の基本単位のまとまりが上位の単位となり、それが縦列につながる構造である。

高次構造は、ヒトに加え、大型類人猿(チンパンジー・ゴリラなど)でも発見されていた。ヒトと大型類人猿を合わせたグループがヒト科である。小型類人猿(テナガザル各種)はテナガザル科を構成し、ヒト上科はこの2科からなる。これまでにテナガザル科では、高次構造はみつかっていなかった。このため、高次構造はヒト上科とテナガザル科が分岐した後でヒト科のほうで生じたとの見解が、大勢となっていた。

我々は、独自に開発した正確な塩基配列決定法を用いて、テナガザル科のアルファサテライトDNAの構造を調べ、科を構成する4属のすべてで、高次構造があることを証明した

(論文、 )。みつかった高次構造の反復単位を構成する基本単位の数は、つぎのようであった。Hoolock 属で 31、Hylobates 属で 8 と 13、Nomascus 属で 9、Symphalangus 属で 6 と 9。この時点で、高次構造の進化的起源はヒト上科とテナガザル科の分岐より古いことを示すことになった。さらに、ヒト上科の外に位置するマーモセット (*Callithrix jacchus*) とヨザル (*Aotus azarae*) でアルファサテライト DNA の構造を調べ、明瞭な高次構造があることを証明した(論文)。高次構造の反復単位を構成する基本単位の数は、マーモセットが 12、ヨザルが 9 であった。以上の結果から、高次構造の存在は真猿亜目に共通する現象であることを提唱するに至った。

#### 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 12 件)

Sujiwattanasarat P, Thapana W, Srikulnath K, Hira Y, Hirai H, \*Koga A (2015)  
Higher-order repeat structure in alpha satellite DNA occurs in New World monkeys and is not confined to hominoids (アルファサテライト DNA の高次構造は新世界ザルにもありヒト上科に限定されない)  
Scientific Reports 5: 10315 査読有  
DOI: 10.1038/srep10315

\*Koga A, Hirai Y, Terada S, Jahan I, Baicharoen S, Arsaithamkul V, Hirai H (2014)  
Evolutionary origin of higher-order repeat structure in alpha satellite DNA of primate centromeres (霊長類のセントロメア反復配列にみられる高次構造の進化的起源)  
DNA Research 21 (4): 407-415. 査読有  
DOI: 10.1093/dnares/dsu005

Thapana W, Sujiwattanasarat P, Srikulnath K, Hirai H, \*Koga A (2014)  
Reduction in the structural instability of cloned eukaryotic tandem-repeat DNA by low-temperature culturing of host bacteria (低温での培養は反復配列クローンの崩壊の軽減をもたらす)  
Genetics Research 96: e13. 査読有  
DOI: 10.1017/S0016672314000172

Choi Y, Jung YD, Ayarpadikannan S, Koga A, Imai H, Hirai H, Roos C, \*Kim HS (2014)  
Novel variable number of tandem repeats of gibbon MAOA gene and its evolutionary significance (テナガザル MAOA 遺伝子に

みられる新規反復配列とその進化的意義)  
Genome 57 (8): 427-432. 査読有  
DOI: 10.1139/gen-2014-0065

Baicharoen S, Miyabe-Nishiwaki T, Arsaithamkul V, Hirai Y, Duangsa-ard K, Siriaroonrat B, Domae H, Srikulnath K, Koga A, \*Hirai H (2014)  
Locational diversity of alpha satellite DNA and intergeneric hybridization aspects in the *Nomascus* and *Hylobates* genera of small apes (テナガザル科 *Nomascus* 属と *Hylobates* 属でのアルファサテライト DNA の所在の変化および属間雑種での様相)  
PLOS ONE 9 (10): e109151. 査読有  
DOI: 10.1371/journal.pone.0109151

Terada S, Hirai Y, Hirai H, \*Koga A (2013)  
Higher-order repeat structure in alpha satellite DNA is an attribute of hominoids rather than hominids (アルファサテライト DNA の高次構造はヒト科に限定されずヒト上科に広くみられる)  
Journal of Human Genetics 58 (11): 752-754. 査読有  
DOI: 10.1038/jhg.2013.87

Prakhongcheep O, Chaiprasertsri N, Terada S, Hirai Y, Srikulnath K, Hirai H, \*Koga A (2013)  
Heterochromatin blocks constituting the entire short arms of acrocentric chromosomes of Azara's owl monkey: formation processes inferred from chromosomal locations (ヨザルのアクロセントリック染色体短腕を構成するヘテロクロマチン: 染色体上の配置から推測される形成過程)  
DNA Research 20 (5): 461-470. 査読有  
10.1093/dnares/dst023

Prakhongcheep O, Hirai Y, Hara T, Srikulnath K, Hirai H, \*Koga A (2013)  
Two types of alpha satellite DNA in distinct chromosomal locations in Azara's owl monkey (ヨザルの染色体上で異なる部位に存在する 2 種類のアルファサテライト DNA)  
DNA Research 20 (3): 235-240. 査読有  
DOI: 10.1093/dnares/dst004

Chaiprasertsri N, Uno Y, Peyachoknagul S, Prakhongcheep O, Baicharoen S, Charernsuk S, Nishida C, Matsuda Y, Koga A, \*Srikulnath K (2013)  
Highly species-specific centromeric repetitive DNA sequences in lizards: molecular cytogenetic characterization of a novel family of satellite DNA sequences

isolated from the water monitor lizard (*Varanus salvator macromaculatus*, Platynta) (トカゲにみられる種特異的なセントロメア反復配列)  
Journal of Heredity 104 (6): 798-806. 査読有  
DOI: 10.1093/jhered/est061

Baicharoen S, Arsaithamkul V, Hirai Y, Hara T, Koga A, \*Hirai H (2012)  
In situ hybridization analysis of gibbon chromosomes suggests that amplification of alpha satellite DNA in the telomere region is confined to two of the four genera (テロメア領域でアルファサテライトDNAが増幅する現象はテナガザル科4属のうち2属のみで起こっていると推測される)  
Genome 55 (11): 809-812. 査読有  
DOI: 10.1139/gen-2012-0123

Hara T, Hirai Y, Jahan I, Hirai, \*Koga A (2012)  
Tandem repeat sequences evolutionarily related to SVA-type retrotransposons are expanded in the centromere region of the western hoolock gibbon, a small ape (類人猿のフロックテナガザルのセントロメア近辺でSVAレトロトランスポゾンに関連した縦列反復配列が増幅している)  
Journal of Human Genetics: 57 (12): 760-765. 査読有  
DOI: 10.1038/jhg.2012.107

Hara T, Hirai Y, Baicharoen S, Hayakawa T, Hirai H, \*Koga A (2012)  
A novel composite retrotransposon derived from or generated independently of the SVA (SINE/VNTR/Alu) transposon has undergone proliferation in gibbon genomes (SVAトランスポゾンからの派生または類似の機構で別に生じたと考えられる新規のレトロトランスポゾンが、テナガザルのゲノムで増幅している)  
Genes & Genetic Systems 87 (3): 181-190. 査読有  
DOI: <http://doi.org/10.1266/ggs.87.181>

[学会発表](計10件)

古賀章彦・平井百合子・オーン プラコンチ・平井啓久  
ヨザルのヘテロクロマチンを構成する切れやすそうな縦列反復配列：染色体構成の急速な変化への関与に関する仮説(一般口頭発表)  
日本遺伝学会第84回大会、2012年9月26日、九州大学(福岡市)

寺田祥子・平井百合子・平井啓久・古賀章彦

反復配列の増減を指標としたテナガザル科4属の系統関係推定の試み(一般口頭発表)  
日本進化学会第14回大会、2012年8月21日、首都大学東京(東京都八王子市)

原暢・古賀章彦・スダラ バイシャルン・平井百合子・平井啓久  
テナガザルにみられるトランスポソンのゲノムへの影響：新規因子の形成と増幅(一般口頭発表)  
第28回日本霊長類学会大会、2012年7月7日、椋山女学園大学(名古屋市)

Toru Hara, Hirohisa, Yuriko Hirai, Akihiko Koga  
Possible genomic impact of SVA retrotransposon in humans similar to that in gibbons (Poster presentation)  
Annular Meeting of the American Society of Human Genetics、2012年11月8日、Moscone Center (San Francisco, USA)

寺田祥子、平井百合子、平井啓久、古賀章彦  
ヒト科とテナガザル科におけるセントロメア反復配列高次構造の起源(一般口頭発表)  
第29回日本霊長類学会、2013年9月8日、岡山理科大学(岡山市)

古賀章彦、平井百合子、寺田祥子、平井啓久  
セントロメアを構成する反復配列の高次構造はヒト科ではなくヒト上科の特性である(一般口頭発表)  
日本遺伝学会第85回大会、2013年9月20日、慶応義塾大学日吉キャンパス(横浜市)

古賀章彦、オーン プラコンチ、ナンペチャイパセルチ、平井百合子、平井啓久  
ヨザルの染色体変異に関与したと考えられる大規模反復配列(一般口頭発表)  
第30回日本霊長類学会大会、2014年7月5日、大阪科学技術センター(大阪市)

Akihiko Koga, Yuriko Hirai, Israt Jahan, Sudarath Baicharoen, Visit Arsaithamkul, Hirohisa Hirai  
Incredible gibbon alpha-satellite: evolutionary origin of higher-order repeat structure (Oral presentation)  
25th International Primatological Society Congress、2014年8月13日、Melia Hanoi Hotel (Hanoi, Vietnam)

Akihiko Koga  
DNA-based transposable elements as natural mutators in vertebrate genomes (Invited talk)  
2014 International Conference of the Korean Society for Molecular and Cellular

Biology、2014年10月23日、COEX (Seoul, Korea)

Penporn Sujiwattanarat, Watcharaporn Thapana, Kornorn Srikulnath, Girohisa Hirai, Akihiko Koga  
Higher-order repeat structure in centromeric repetitive DNA is not confined to central regions (Oral presentation)  
日本進化学会第16回大阪大会、2014年8月21日、高槻現代劇場(大阪府高槻市)

〔図書〕

該当なし

〔産業財産権〕

該当なし

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.pri.kyoto-u.ac.jp/index-j.html>

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

古賀 章彦 (KOGA, Akihiko)  
京都大学・霊長類研究所・教授  
研究者番号：80192574

### (2) 研究分担者

島田 敦子 (SHIMADA, Atsuko)  
東京大学・大学院理学系研究科・助教  
研究者番号：20376552  
(平成24年度に参加)

### (3) 連携研究者

該当なし