

霊長類ゲノムの多様性と反復配列進化

● 植田 信太郎

東京大学大学院理学系研究科

<研究の目的と進め方>

ヒトの進化をもたらした遺伝的背景を探る研究は1960年代より進められてきたが、ヒトとヒトに最も近縁なチンパンジーの間の塩基配列での違いは1%余りに過ぎず、逆にその謎は深まるばかりである。そこで本研究では膨大な情報量からなるヒト全ゲノム情報の中からヒトへの進化の背景となったゲノム情報を探り出すことを目的として、上述の1%という値を求めた「ゲノム中の単一コピー配列」ではなく、ヒトと他の霊長類の間でのゲノム情報の違いを、反復配列に着目して比較解析をおこなった。

研究の進め方としては2つの方法を用いる。一つは、ヒトのアミノ酸をコードする遺伝子において、単一のアミノ酸リピード構造をもつ遺伝子に着目して、原猿から新世界ザル・旧世界ザル・類人猿に至る様々な霊長類におけるその orthologous 遺伝子での様相を明らかにし、ヒトへの進化の過程における単一アミノ酸リピード構造の多様性とその進化動態を、単一のアミノ酸リピード構造をもつ様々な遺伝子について比較解析を進め、最終的には単一のアミノ酸リピード構造をもつ遺伝子全体の動態とヒトへの進化の係わりを探る。もう一つは、種に特異的に存在する単一アミノ酸リピード構造が蛋白ネットワークの中で果たす機能的役割ならびに表現型レベルでの役割を、*in vitro* での再構成系実験および遺伝子ノックインにより遺伝子を人為的に改変したモデル実験動物により明らかにする。

<2007年度の研究の当初計画>

前年度までの研究成果を受け、“霊長類進化の過程でヒトへ向かって複雑化していった変異（反復配列構造の獲得）”は、ある特定の遺伝子（DNA領域）に限定的な現象であるのか、それともゲノム全体に渡る現象であるのか、を検証するために、霊長類における単一アミノ酸リピード構造の多様性とその進化動態を明らかにする解析を網羅的に進める必要がある。そこで、2007年度は、前年度までに解析を重ねてきたヒトゲノム・データベースより抽出した約700の、ヒトにおいて単一アミノ酸リピード構造をコードしている遺伝子、そして、比較 *in silico* 解析から霊長類の系統で特異的な反復となっていることが明らかとなった、その中の約1割の遺伝子に関して、霊長類の様々な分類群でのゲノム比較からヒトに至る進化過程での変異を俯瞰する計画を立てた。

一方、これら“霊長類進化の過程でヒトへ向かって複雑化していった変異”の機能的意味の理解も不可欠である。このために、ヒト SCAI 遺伝子のグルタミンリピードと相互作用する蛋白が、ヒトとは異なる反復配列構造をもっていた非ヒト型 SCAI 遺伝子とどのような相互作用をするのかの検証を継続して進める。また、哺乳類においては非常によく保存されているにもかかわらず、哺乳類以外の脊椎動物では完全に欠失している転写因子の単一アミノ酸リピード構造を人為的に完全欠失させたノックインマ

ウスを、脳で特異的に発現している転写因子について作出し、このモデル動物に何らかの変異が生じるのか否かを含めての、個体レベルの表現型へ及ぼす効果の解析をおこない、“ヒトへの進化の過程で複雑化していったと言える反復配列”が“ヒトへの進化”で果たした生物学的な役割を考察する計画である。

<2007年度の成果>

霊長類における単一アミノ酸リピード構造の多様性とその進化動態ならびに機能的意味に関して、以下の成果をこれまでに得ている。(1) ヒトゲノム・データベースよりヒトにおいて連続して7残基以上、同一のアミノ酸が並ぶ“単一アミノ酸リピード構造”をコードしているものとして678の遺伝子を抽出した。“単一アミノ酸リピード構造”を構成するアミノ酸残基の種類を見ると、グルタミン酸、グルタミン、ロイシン、プロリン、アラニン、グリシン、セリン、それぞれからなる単一アミノ酸リピードが多数を占めていた。また、その多くは転写ならびに翻訳に係わっている遺伝子であった。進化的視点から見ると、約85%は哺乳類の系統で単一アミノ酸リピードの長さが保存され、霊長類の系統だけで保存されていたのは約10%であった。“単一アミノ酸リピード構造”の構造的特徴を抽出するべく様々な解析をおこなった結果、構造の安定性に関しての特徴が示唆された。現在、“単一アミノ酸リピード構造”の進化的不安定との関連で、霊長類進化過程における特徴の抽出を試みている。(2) ヒトにおいてCAGトリプレットリピードによってコードされるグルタミンリピードをもち、その異常なりピード回数の拡張により脊髄小脳変性症1型を引き起こすSCAI 遺伝子の産物であるAtaxin-1タンパク質の進化機能的多様性を、ヒトAtaxin-1タンパク質のグルタミンリピードを特異的に認識し結合する因子として知られているPQBP-1タンパク質との相互作用の比較から解析した。大腸菌内にて強制発現させた組換えタンパク質を精製し、表面プラズモン共鳴法によって、両者間の相互作用を *in vitro* で解析した。その結果、ヒト型PQBP-1タンパク質はヒト型Ataxin-1タンパク質のグルタミンリピードと類似した構造をもつ旧世界ザル型のAtaxin-1タンパク質は認識して結合できるものの、新世界ザル型のAtaxin-1タンパク質（モザイク型リピード構造からなる）とは結合できないことが判明した。霊長類進化とくに新世界ザル分岐後のヒト上科とオナガザル上科（旧世界ザル）の共通祖先すなわち狭鼻類が分岐する前に、Ataxin-1タンパク質の機能変異が起こったと考えられる。(3) 昨年度までに明らかにした「Hoxd-13転写因子における単一アミノ酸リピード構造の人為的欠失が表現型に及ぼす影響」の研究成果を踏まえ、単一アミノ酸リピード構造の欠失が表現型に影響を及ぼすことが他の転写因子においても観察できるのかどうかを検証するために、ヒトにおいて蛋白コード内

に単一アミノ酸反復配列を有し、かつ、脳に特異的に発現しているBrain-2転写因子の単一アミノ酸反復配列のうちで哺乳動物に特徴的な複数の単一アミノ酸反復配列のみを人為的に完全欠失させたノックインマウスの作出をおこない、不致死であるノックイン・ホモ個体においてどのような表現型レベルにおける変異が現れるかを探った。その結果、ホモマウス雌において野生型マウスと比較して、その自発運動量に統計的に有意な差が観察された。基本的行動指標以外、特に哺乳動物に特徴的な行動指標に変異が生じていないか、現在精査中である。

<国内外での成果の位置づけ>

ヒトに続いてヒトに最も近縁な現生霊長類であるチンパンジーの全ゲノム配列のドラフト解読も発表されるなど、世界のゲノム研究は日々邁進しているが、反復配列に着目した比較研究は、非反復配列に関する研究の場合と比較すると相対的に著しく少ない。過去にはゲノム中に散在する反復配列についての個別的研究が進んだ時期があったが、近年はすっかり隅に追いやられた感があった。しかし、再び反復配列が見直され始めている。特に、その進化上の機能的意味に注目が集まっている。この機能進化の本質の解明には連続した生物種（最も近縁な生物から遠い系統関係の生物種まで一連の生物種）を用いた網羅的比較解析が不可欠であり、本研究はその意味で貴重なデータを提供するものである。

<達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

特になし

<今後の課題>

これまでに“霊長類進化の過程でヒトへ向かって複雑化していった変異”の解析に関し、DNAデータベースからアミノ酸をコードする遺伝子においてヒトでは単一アミノ酸反復配列をもつものに対しマウスでは相同な位置に単一アミノ酸反復配列をもたない遺伝子を抽出し、それらの反復配列領域に着目し、原猿から新世界ザル・旧世界ザル・類人猿に至る様々な霊長類のゲノム情報を明らかにしてきた。今後は、この生物学的意味を（1）哺乳動物と他の脊椎動物との比較、（2）霊長類と他の哺乳動物との比較、（3）高等霊長類と他の霊長類との比較、そして、（4）ヒトと類人猿との比較、すなわち生物分類段階を追った比較をおこない、進化の系譜との関連を探る。また、単一アミノ酸リピートが蛋白立体構造に及ぼす影響、とくに、“進化的影響の変化”の意味を中心に情報解析をおこなう。これにより、ヒトへの進化の過程で単一アミノ酸反復配列が果たした意味を考察する。また、種に特異的に存在する単一アミノ酸リピート構造の個体レベルにおける機能的意味を理解するために、昨年度までにHoxd-13転写因子を対象として、“哺乳類においては非常によく保存されているにもかかわらず、哺乳類以外の脊椎動物では完全に欠失している転写因子の転写活性化ドメイン上に存在する単一アミノ酸リピート構造を人為的に欠失させたノックインマウス”を作出し、たった一つの単一アミノ酸リピート構造の欠失だけでも表現型に影響を及ぼすことを世界で初めて示した。しかし、これが普遍的な意味をもつ（他の転写因子でも同様あるいは同等以上の機能的影響を示す）のかどうかを明らかにする必要がある。今後は、さらに別の転写因子を用いた解析による結果を示す。具体的には、これまでの研究期間中に新たに作出した「ヒトにおいて蛋白コード内に単一アミノ酸反復配列を有し、かつ、脳に特異的に発

現しているBrain-2転写因子の単一アミノ酸反復配列を人為的に完全欠失させたノックインマウス」を用いる。何らかの変異が生じるのかに関して、生理的あるいは表現型（行動）レベルでの予備的な観察・解析は2007年度までに進め、その結果、単一アミノ酸リピート構造の欠失が表現型に影響を及ぼすことが確かめられた。そこで、今後は本格的な解析をおこなっていく。以上の課題に加え、かなりの解析結果が得られ蓄積しているので、論文として成果をまとめて公表する作業にも力点を置いていく。

<成果公表リスト>

1) 論文

1. 701131023

Anan K., Yoshida N., Kataoka Y., Sato M., Ichise H., Nasu M., and Ueda S.: Morphological change caused by loss of the taxon-specific polyalanine tract in Hoxd-13. *Mol. Biol. Evol.* 24, 281-287 (2007)

2) データベース/ソフトウェア

なし

3) 特許など

なし

4) その他顕著なもの

なし