

学 位 論 文 題 名

Studies on karyotype evolution in higher primates by
comparative chromosome mapping of immunoglobulin
C ϵ genes with fluorescence in situ hybridization

(FISH 法を用いた免疫グロブリン C ϵ 遺伝子の染色体比較マッピング
によるヒトおよび高等霊長類の核型進化に関する研究)

学位論文内容の要旨

核型進化の研究には分染バンドによる対比がなされているが、分染バンドと遺伝子座との対応において、種間では必ずしも一致せず矛盾の個所が見られているので、その研究には分染バンドのみならず相同遺伝子の座位に基づいた検討も重要である。近年開発された FISH (fluorescence in situ hybridization) 法は遺伝子マッピングに極めて有用であり、さらに、各染色体毎の彩色 (ペインティング) も可能となり、種間の核型の比較は染色体ペインティング (ZOO-FISH) 法によってより詳細に検討出来るようになってきた。そこで本研究では、遺伝子座として免疫グロブリン CH 遺伝子領域 (IGH@) に着目し、FISH 法による比較マッピングと ZOO-FISH 法により、染色体の相同性と再配列についての分子細胞遺伝学的解析を行い、ヒトおよび高等霊長類の核型進化を検討した。IGH@ はヒト 14 番染色体上の 14q32.33 上に位置し、霊長類の進化の過程で、DNA レベルでの重複、欠失などの大規模な再編成がくり返し起こり、種々の偽遺伝子が生成されてきた領域である。IGH@ には C μ , C δ , C γ , C ϵ , C α の 5 つのクラスが存在し、その中の C ϵ 遺伝子には部分欠失型の C ϵ 2 と加工型の C ϵ 3 の 2 種類の偽遺伝子があり、進化の過程で最も大規模な再編成が生じてきたものと考えられる。加工型偽遺伝子 C ϵ 3 は霊長類ゲノム中では、旧世界ザル、類人猿、ヒトに広く見出される古い遺伝子であるが、ヒトでは 14 番染色体上を離れ、9 番染色体上に存在している。本研究では、IGH@ 遺伝子の中で染色体レベルでの再編成を反映している C ϵ 遺伝子を選び、その比較マッピングと ZOO-FISH 法による染色体ペインティングにより、種分化にともなう染色体の再編成とこれら染色体の進化的生成を考察した。

1. 霊長類における C ϵ 1 遺伝子 (IGHE) の比較マッピング: ヒト 14 番染色体の進化
ヒト C ϵ 1 遺伝子 (IGHE) をプローブとしてヒト上科 6 種 (チンパンジー (*Pan troglodytes*: PTR), ピグミーチンパンジー (*Pan paniscus*: PPA), ゴリラ (*Gorilla gorilla*: GGO), オラン

ウータン (*Pongo pygmaeus*: PPY), シロテテナガザル (*Hylobates lar*: HLA), アジルテナガザル (*Hylobates agilis*: HAG) と旧世界ザル 1 種 (ニホンザル (*Macaca fuscata*: MFU)) の比較マッピングを行なった。IGHEはヒトではテロメア領域 (HSA14q32.33) に存在しており, HSA14をプローブとしたZOO-FISHにより, それぞれの霊長類に対応する染色体領域 (PTR15, PPA15, GGO18, PPY15, HLA17, HAG17, MFU7q) を決めた。IGHEは7種の霊長類すべてにおいてHSA14と対応するそれぞれの染色体上のテロメア領域にマップでき, この遺伝子を含む染色体領域が進化的に高度な保存性を持つことが示唆された。

2. 霊長類におけるCε3遺伝子(IGHEP2)の比較マッピング: ヒト9番染色体の進化

加工型偽遺伝子Cε3(IGHEP2)はHSA9上に存在することが知られていたが, その位置をテロメア領域のHSA9p24.2→p24.1に決定した。この結果により, IGHEP2はテロメア領域のDNAマーカーとして, 染色体同定に利用できることが示唆された。IGHEP2をプローブとして7種の霊長類 (チンパンジー, ピグミーチンパンジー, ゴリラ, オランウータン, シロテテナガザル, アジルテナガザル, ニホンザル) の比較マッピングを行なった。またHSA9をプローブとしたZOO-FISHの結果, IGHEP2はHSA9と対応するそれぞれの染色体 (PTR11, PPA11, GGO13, PPY13, HLA8q, HAG8q, MFU14) 上に存在することが分かった。ヒトおよび大型類人猿のHSA9相同染色体の由来を考えた場合, これらの染色体は2回の腕間逆位を伴う内部構造の再編成により形成されてきたことが示唆された。すなわち, ヒトおよび大型類人猿の共通祖先型染色体はゴリラ・オランウータン型の端部着糸型染色体であるGGO13/PPY13で, GGO13q22/13p13またはPPY13q16/13p13を切断点とした1回目の腕間逆位の結果, ヒト・チンパンジー共通祖先型染色体が生じ, さらにその内部で2回目の腕間逆位が生じた後, 現在のPTR11/PPA11が形成されたものと考えられた。さらに, 2回目の腕間逆位の切断点を明らかにするために, HSA9由来の3種のコスミドDNAマーカー, cCI9-37 (9q22.1→q22.2), cCI9-135 (9q22.32→q22.33), およびcCI9-208 (9p13.3→p13.2) を用いた比較マッピングの結果, 切断点はPTR/PPA11p11およびPTR/PPA11q22より動原体側の領域であることが分かった。

以上のように, それぞれの動物種により詳細な染色体地図を作成することにより, これまでの染色体分染法や染色体ペインティング(ZOO-FISH)法のみでは不可能であった染色体構造の再配列を明らかにすることができ, これに基づいて染色体の進化的生成の考察が可能となった。今後, 核型進化に関しては, このような染色体比較マッピングによって研究が進むものと思われる。

学位論文審査の要旨

主 査 教 授 高 橋 孝 行

副 査 教 授 吉 田 勉 弘

副 査 教 授 高 木 信 夫 (大学院地球環境科学研究科)

副 査 助 教 授 阿 部 周 一 (大学院地球環境科学研究科)

学 位 論 文 題 名

Studies on karyotype evolution in higher primates by comparative chromosome mapping of immunoglobulin C_ε genes with fluorescence in situ hybridization

(FISH 法を用いた免疫グロブリン C_ε 遺伝子の染色体比較マッピング
によるヒトおよび高等霊長類の核型進化に関する研究)

著者は、近年開発されたFISH (fluorescence in situ hybridization) 法および染色体彩色 (ペインティング:ZOO-FISH) 法を用いた比較マッピングの手法により、ヒトおよび高等霊長類8種 [ヒト(*Homo sapiens*), (チンパンジー (*Pan troglodytes*), ビグミーチンパンジー (*Pan paniscus*), ゴリラ (*Gorilla gorilla*), オランウータン (*Pongo pygmaeus*), シロテテナガザル (*Hylobates lar*), アジルテナガザル (*Hylobates agilis*), ニホンザル (*Macaca fuscata*)] の核型進化を、特に免疫グロブリン C_ε 遺伝子領域に注目して分子細胞遺伝学的に検討した。その結果、従来の手法では困難であった種間における染色体間の相同性ならびに染色体の構造変化の検出が可能となり、染色体の進化的生成機構をより詳細に分析することができた。これらの成果は、いずれも新たな知見として核型進化の研究に対して貢献するところ大なるものがある。今後、核型進化に関しては、このような染色体比較マッピングによって研究が進むものと思われ、その先駆的な研究として高く評価できるものである。

さらに、参考論文は主論文の内容に直接関与した3編の論文(英文)の他に、分子進化、癌細胞の核型に関した8編の論文など計11編を国内外の国際学術専門誌に公表し、それらの内容はいずれも新知見を含むものとして関連分野において高く評価されている。

よって著者は、北海道大学博士(理学)の学位を授与される資格あるものと認める。