

Title	Genetic variations of Cadherin-related Neuronal Receptors/Protocadherin $\alpha$ (CNR/Pcdh $\alpha$ ) gene cluster in <i>Mus musculus</i> subspecies.
Author(s)	田口, 祐介
Citation	大阪大学, 2005, 博士論文
Version Type	
URL	<a href="https://hdl.handle.net/11094/46460">https://hdl.handle.net/11094/46460</a>
rights	
Note	著者からインターネット公開の許諾が得られていないため、論文の要旨のみを公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 <a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed">〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉</a> 大阪大学の博士論文について <a>〉</a> をご参照ください。

***Osaka University Knowledge Archive : OUKA***

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

氏 名 田 口 祐 介

博士の専攻分野の名称 博士(理学)

学位記番号 第 19733 号

学位授与年月日 平成17年6月30日

学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当

理学研究科生物科学専攻

学位論文名 Genetic variations of Cadherin-related Neuronal Receptors/  
Protocadherin $\alpha$  (*CNR/Pcdh $\alpha$* ) gene cluster in *Mus musculus*  
subspecies.  
(マウス亜種間における CNR/プロトカドヘリン $\alpha$  遺伝子クラスターの遺  
伝的多様性)

論文審査委員 (主査)

教授 八木 健

(副査)

教授 安永 照雄 教授 升方 久夫 教授 品川日出夫

## 論文内容の要旨

## 序論

多重遺伝子族にとって遺伝子変換は遺伝情報を混合するための重要なメカニズムであると考えられている。*CNR/Protocadherin $\alpha$*  (*Pcdh $\alpha$* ) 遺伝子ファミリーはマウス、ヒト、ゼブラフィッシュそれぞれのゲノムにおいて領域特異的に遺伝子変換を受けていることが明らかとなっている。*CNR/Pcdh $\alpha$*  のゲノム構造は遺伝子クラスターを形成し、それぞれの可変領域エクソンはシグナルペプチド、6つのカドヘリンリピート (EC1~EC6)、膜貫通領域と細胞内領域の一部を、定常領域は残りの細胞内領域をコードしている。本研究は、マウス亜種間に存在する遺伝的多様性に着目し、これを明らかにすることで DNA 進化の方向性を探ることを目的としている。現在のマウス (*Mus musculus*) には *domesticus*、*musculus*、*castaneus*、*bactrianus* の4つの亜種があり、互いに交配可能であるが隔離によってそれぞれの亜種独自の遺伝的進化を遂げてきている。本研究では、上記4亜種を含む野生由来マウス 12系統、および実験室マウス4系統を用いて、マウス亜種間における *CNR/Pcdh $\alpha$*  コーディング領域での遺伝的多型を解析し、遺伝子変換を介した DNA 協調進化のメカニズムと DNA 塩基置換の方向性の確認を試みた。

## 結果と考察

## 遺伝的多型の検出

各マウス系統の *CNR/Pcdh $\alpha$*  エクソンに対して特異的なプライマーを用いて PCR を行い、得られた産物を精製後、さらに産物内部に対して特異的なプライマーを用いてダイレクトシーケンスを行った。得られたデータをアセンブリし、マウス系統毎の遺伝的多型の検出を行った。その結果、*CNR/Pcdh $\alpha$*  全コーディング領域 (36492 bp x 16 系統 = 583872 bp) 中、可変領域エクソンで 889 箇所、定常領域で 3 箇所の 1 塩基置換 (cSNP)、2 箇所の 3 塩基欠失、1 箇所の 1 塩基欠失、1 箇所の 1 塩基挿入、および 1 箇所のトランスポゾン挿入を検出した。また、全ての 1 塩基置換中、588 箇所が同義的置換、301 箇所が非同義的置換で Ka/Ks 値は 0.51 であった。

## 実験室マウス間でのみ存在する多型

これまでの研究から、マウス *CNR/Pcdh $\alpha$*  領域において、実験室系統間ではほとんど遺伝的多型が存在しないことが示されている。本研究の結果、*CNR/Pcdh $\alpha$*  コーディング領域において実験室系統 C57BL/6、DBA/1、DBA/2、BALB/c 間でのみ存在する SNP は 13 箇所検出されたが、そのうち非同義置換となる SNP は 11 箇所あり、Ka/Ks 値は 5.5 となった。これらの塩基置換はおそらく実験室系統形成以前に生じたものであると考えられるが、実験室系統内では非同義置換を伴う遺伝的多型が負の選択を受けていないことが示唆された。

## 各 EC ドメインにおける SNP 構成

次に、同義置換および非同義置換それぞれを伴う遺伝的多型の割合を *CNR/Pcdh $\alpha$*  各ドメイン別に調べたところ、非同義置換となる遺伝的多型は 10 kb あたり 50~100 個 (平均 88.5 SNP/10 kb) と全てのドメインであまり変化がなかったが、同義置換となる遺伝的多型は EC1 と EC5 領域でのみ高い頻度で見られた。(EC1 : 211.6、EC5 : 278.6 SNP/10 kbp、平均 158.6 SNP/10 kb) また、全ての可変領域エクソンにおける EC1、および EC5 領域の配列を用いて系統樹を作成すると、マウス亜種でそれぞれ異なる挙動を示した。さらに実際の配列を確認すると、各亜種固有に高い相同性を持つ配列が EC1、EC5 領域で検出された。これらの結果から、マウス *CNR/Pcdh $\alpha$*  EC1、EC5 領域では亜種特有の遺伝子変換が生じていることが示唆された。

## SNP 形成における方向性の検討

マウス亜種における遺伝的多型形成の方向性を検討するため、共通祖先と考えられるラット (*Rattus norvegicus*) *CNR/Pcdh $\alpha$*  遺伝子との比較を行った。マウス亜種同一遺伝子座のアミノ酸置換を伴わないコドンの 3 番目の塩基置換に対して、ラットと同じ塩基を祖先型と仮定することで塩基置換に方向性を与えた。*CNR/Pcdh $\alpha$*  ドメイン毎に傾向を調べた結果、EC1、EC5、膜貫通領域でのみ AT から GC への塩基置換の方向性が確認された。これまでの研究から遺伝子変換を受けた領域ではコドン 3 番目の GC 含量 (GC3) が増加していることが示されていたが、本研究結果より、実際に遺伝子変換と GC3 増加の関連を示すことができた。

## まとめ

以上の結果から、*CNR/Pcdh $\alpha$*  の EC1、EC5 領域では遺伝子変換の結果、GC3 の増加を伴った各亜種固有の配列を獲得することが明らかとなった。遺伝子重複によって生じるパラログ遺伝子とは異なり、多重遺伝子族である *CNR/Pcdh $\alpha$*  では、可変領域遺伝子クラスター内での遺伝子変換による分子進化が起これ、この進化は各亜種で独自に相同性が高められる協調進化も含まれることが示唆された。

## 論文審査の結果の要旨

申請者は、マウス亜種間における *CNR/プロトカドヘリン $\alpha$*  遺伝子クラスターの遺伝的多様性について解析を行い、*CNR/プロトカドヘリン $\alpha$*  が特徴ある分子進化をしていることを明らかにした。特に、*CNR/プロトカドヘリン $\alpha$*  のカドヘリン領域ごとに異なる分子進化が示唆された結果は、興味深いものがある。EC1、EC5 領域では、1 塩基置換率が多く、遺伝子変換、コドン 3 番目の GC 量の増加が認められた。この進化はマウス亜種ごとに独自の配列となる協調進化を示唆するものであり、協調進化による遺伝的変換と分子進化の方向性を示したものである。本研究は、脳神経系で発現する多重遺伝子族である *CNR/プロトカドヘリン $\alpha$*  多様化の分子進化を理解する上で極めて重要な知見を示したものであり、意義深く、博士 (理学) の学位に値するものと認める。