

ゲノムの中の反復配列

佐賀大学農学部

和田康彦

本講義のねらい

- 反復配列を通して脊椎動物のゲノムDNAの構成を理解する
- ゲノム解析における反復配列のはたす役割や問題点について理解する
- 反復配列を通してゲノム進化のあり方を理解する

反復配列とは

- ゲノムDNA上に繰り返し出現する塩基配列の総称
- 2塩基の繰り返しのよう
な単純な構造のものから
数kbpにおよぶもの
までである
- 哺乳類、特にヒトでは
全ゲノムDNA配列の
50%以上が反復配列
である

反復配列

ゲノムDNA

マイクロサテライト

- cacacaなど**2塩基の繰り返し配列**をマイクロサテライトと呼ぶ
- 3, 4塩基の繰り返し配列もマイクロサテライトと呼ぶが、2塩基反復と比較して数が少ない
- ゲノムDNAをコピーして子孫に伝える時に2塩基の**繰り返し数を間違しやすい**

赤字の部分がマイクロサテライト
(9回繰り返し)

atgctcgtcacacacacacacacacattgcatgc

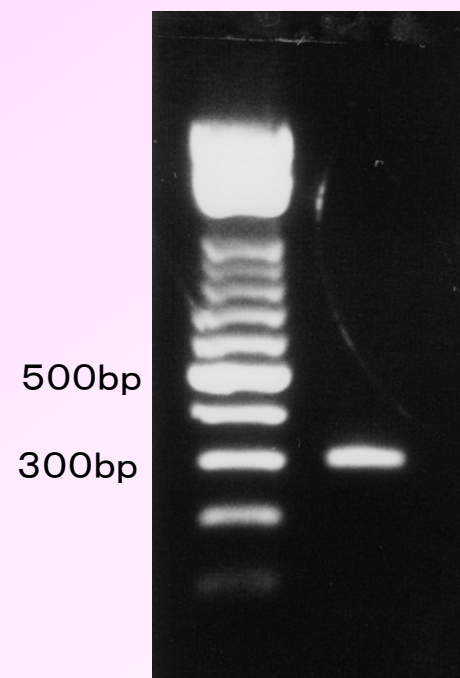
まれに繰り返し回数を間違えてコピーされる

atgctcgtcacacacacacacacacacattgcatgc

電気泳動

- DNAは負に荷電しているので、電圧をかけると一極から＋極に移動する
- アガロースなどのゲル中にDNAをアプライして、電圧をかけて、DNAの移動距離などを調べることを電気泳動と呼ぶ
- 2本鎖DNAは短いものほど速く移動し、長いものほど移動速度は遅い
- 長さが既知のDNA(マーカー)と同時に泳動すると、サンプルの2本鎖DNAの長さがわかる

マーカー サンプル



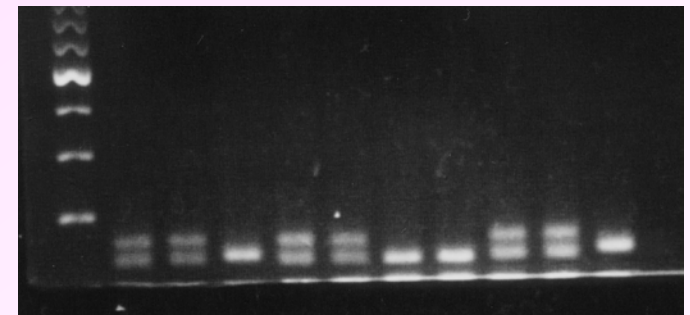
マイクロサテライトを用いた多型解析

- マイクロサテライトは**個体間での長さの変異が大きい**
- 各個体からDNAを抽出する
- あるマイクロサテライト領域を**PCRで増幅**する
- PCR産物を電気泳動すると多型解析できる
- **親子鑑別、遺伝病診断、有用遺伝子探索**などに用いられる

マイクロサテライト

.....
この領域を増幅する

ゲノムDNA



電気泳動結果

マイクロサテライトを用いた親子鑑別

A座位			B座位			C座位			D座位		
父親	母親	子供	父親	母親	子供	父親	母親	子供	父親	母親	子供
—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—	—	—		—	—
						—	—	—			
							—	—			

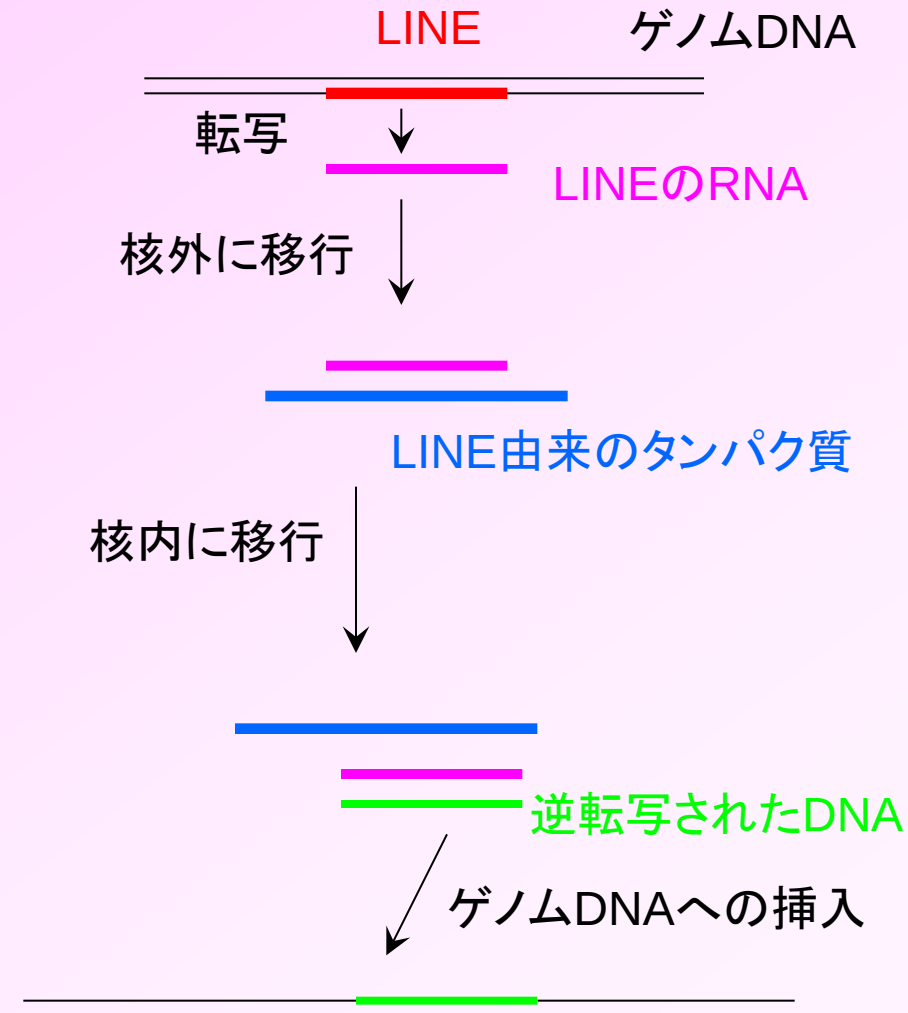
子供は必ず父親と母親のバンドを1本持っているはず

レトロポゾンとトランスポゾン

- RNAに転写されてからDNAに逆転写されることで増幅される反復配列をレトロポゾンと呼ぶ
- ゲノムDNAから切り出されて、他のゲノム上の位置に再挿入されて、ゲノム上を移動するものをトランスポゾンと呼ぶ

長鎖散在性反復配列 (LINE)

- ゲノム中に**ほぼランダムに分布**している約6kbpの反復配列
- ポリメラーゼⅡプロモーターを持ち、ゲノム上の遺伝子と同様に**RNAに転写**される
- このRNAは自身から翻訳されたタンパク質と会合して**核に戻る**
- この複合体はゲノムDNAに切れ目を入れて、RNAは**DNAに逆転写され**、ゲノムDNA中に**挿入される**



LINEの構造

- ポリメラーゼ II プロモーターを持つ
- タンパク質に翻訳される2つの領域を持つ
- 逆転写酵素(pol)をコードしている
- ポリAテールを持つ

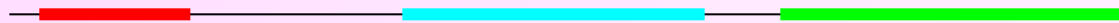
ポリメラーゼ II
プロモーター

ORF1

ORF2(pol)

AAAAAA

polyA tail



LINEによる遺伝子重複

- 一部のLINE配列は3'側が壊れている
- そのためLINEの外側まで転写される
- まれにLINEの外側の遺伝子までゲノム上にコピーされる

3'側が壊れている

LINE

別の遺伝子

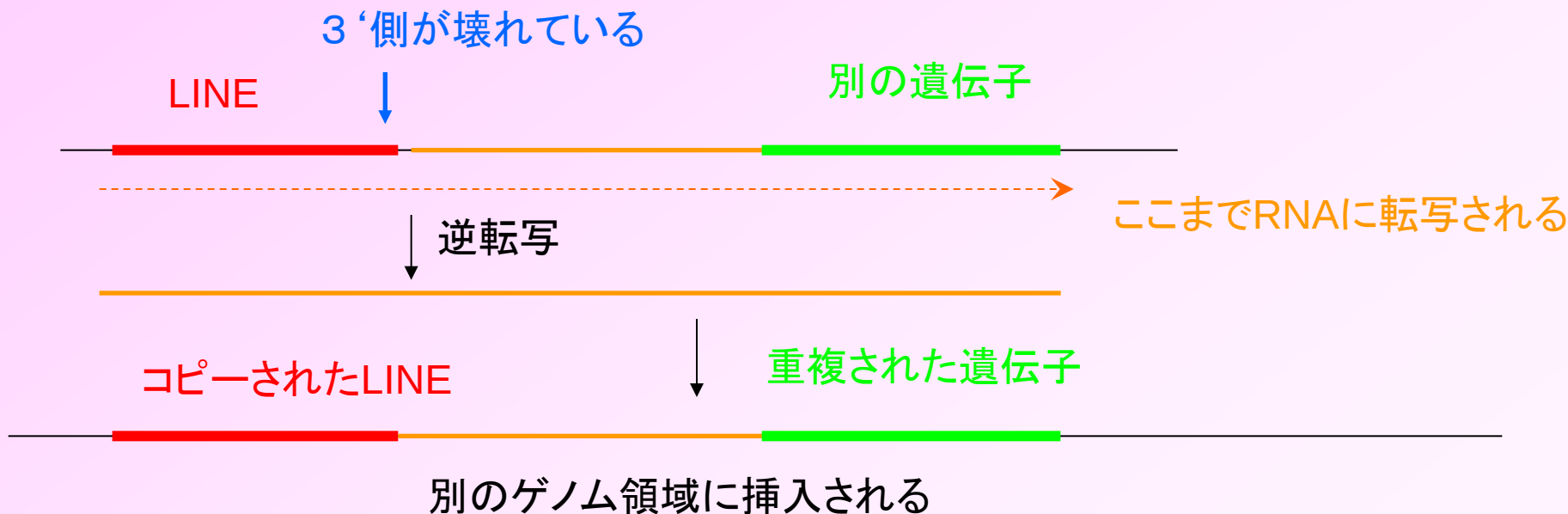
逆転写

ここまでRNAに転写される

コピーされたLINE

重複された遺伝子

別のゲノム領域に挿入される



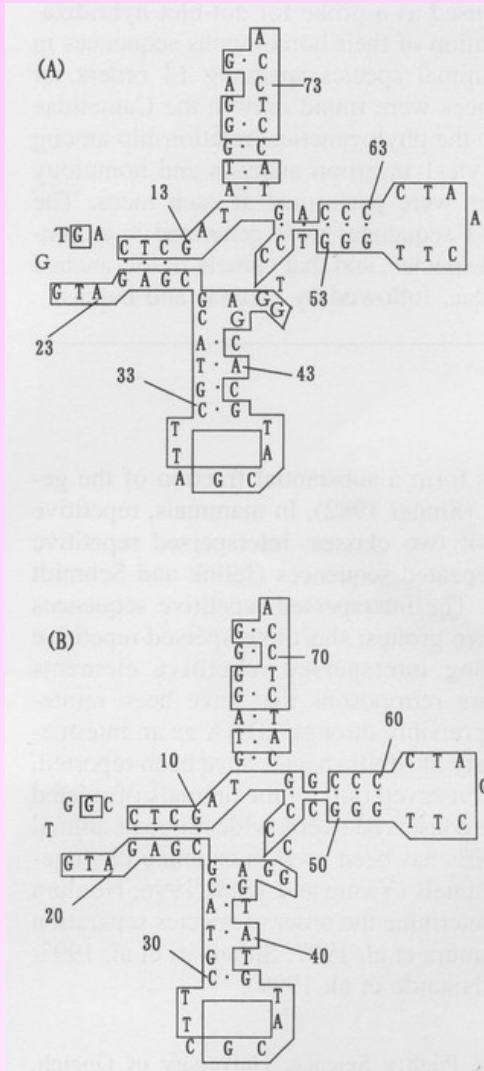
短鎖散在性反復配列 (SINE)

- 100－400bp程度の短い反復配列
- ポリメラーゼⅢスプリットプロモーターを持つ
- LINEの増幅機構に便乗して増えている
- 多くのSINEはtRNA由来である
- LINEよりも起源が新しいものが多い

ポリメラーゼⅢ
スプリット
プロモーター

A horizontal line representing a linear DNA molecule. On the left side, there are two red rectangular segments. On the right side, the line ends with a poly-A tail, represented by the text 'AAAAAA'.

SINE RNAの2次元構造

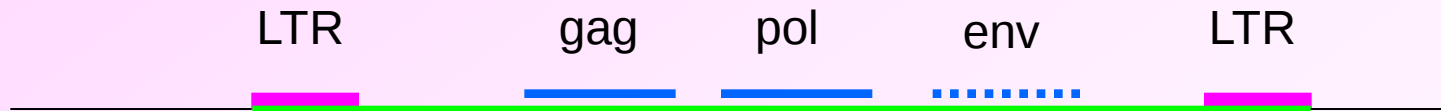


マウスのアラニンのtRNA

SINE (Vic-1) の該当領域

LTRレトロ転移因子

- 両端に長い繰り返し配列(Long Terminal Repeat)を持っている
- **細胞質内**のウイルス様粒子の中で自らがコードする逆転写酵素を使って逆転写する
- LTRレトロ転移因子の中で**外被タンパク質を獲得したものがレトロウイルス**(HIVなど)らしい
- 自立的に転移できなくなった「化石配列」が多い



DNA転移因子

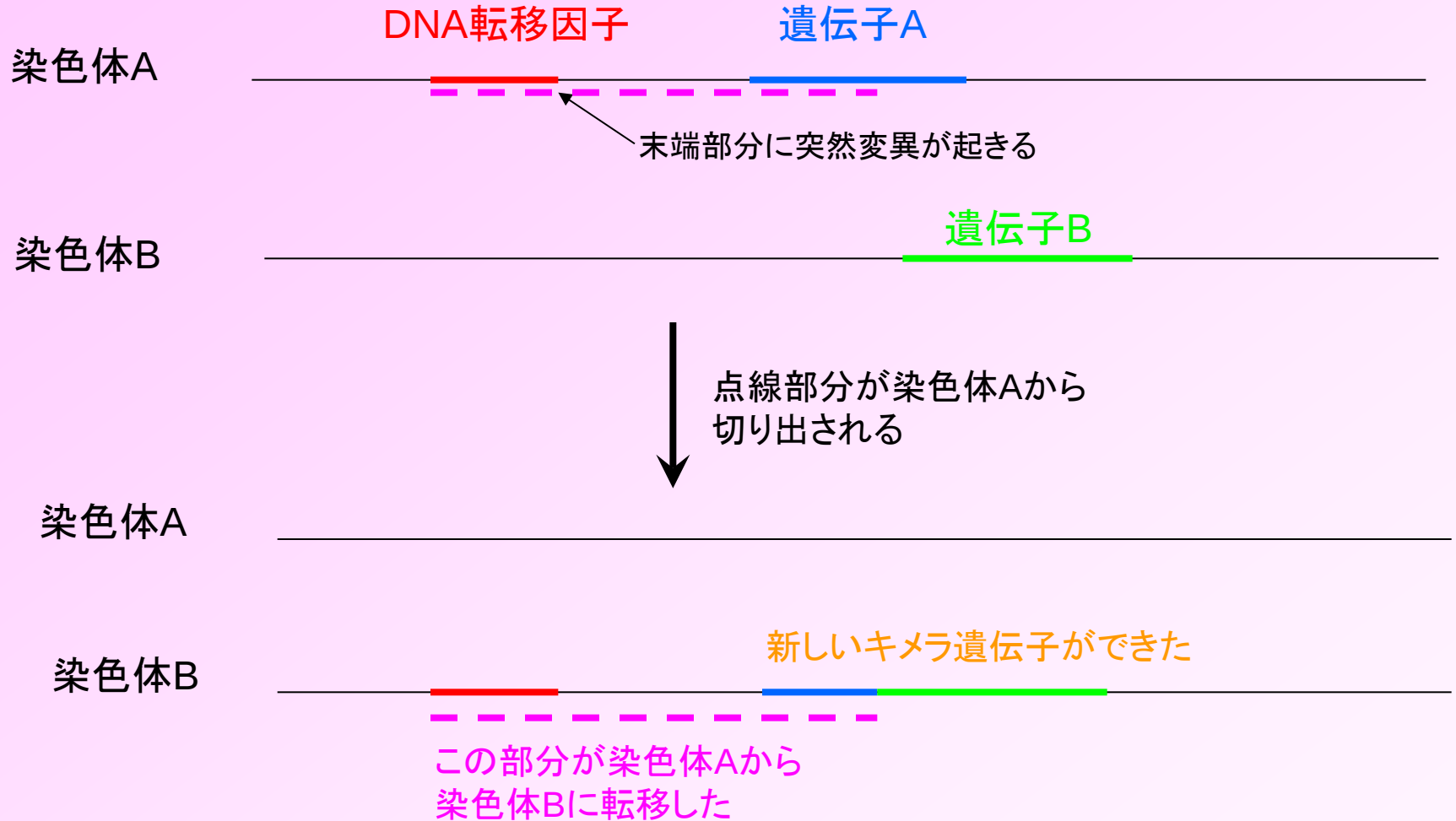
- ゲノムからDNAが切り出されて、他の場所に再挿入される**トランスポゾン**
- 切り出し、再挿入を司るトランスポナーゼをコードしている
- 自立的に転移できなくなった「化石配列」が多い

逆位反復配列

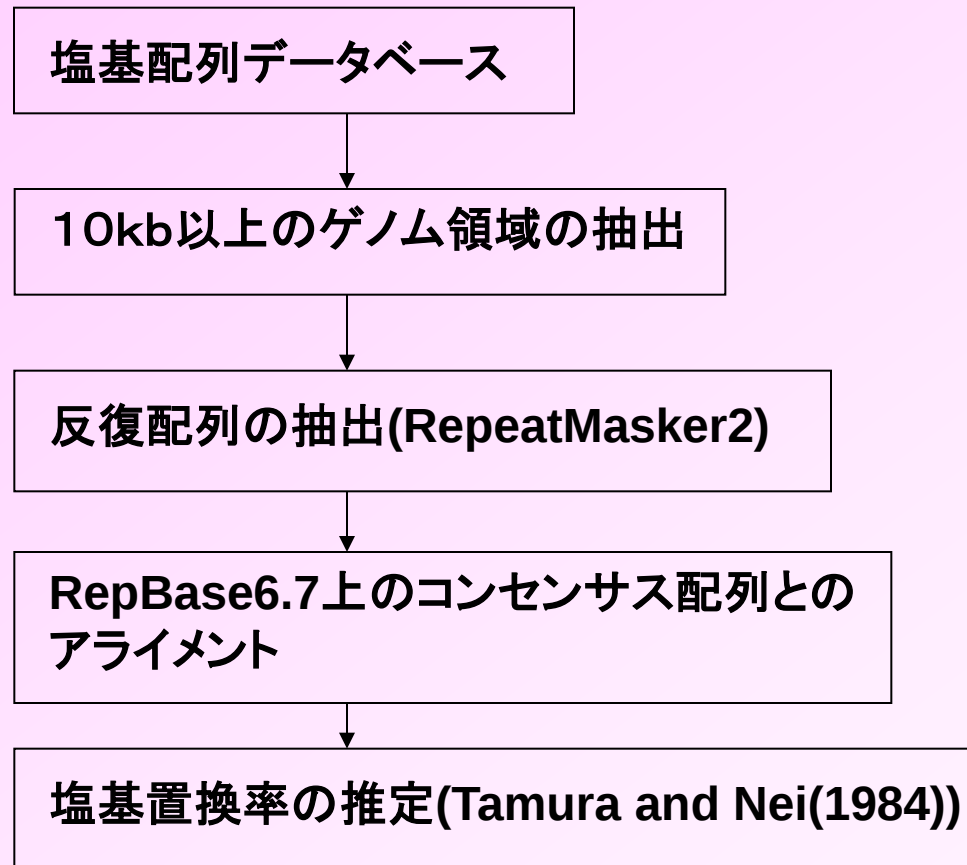
逆位反復配列



DNA転移因子によるゲノムの再構成



家畜家禽のゲノム領域における反復配列の 存在割合と分化パターン



ゲノム領域に対する反復配列グループ別の領域割合(%)

	エキソン領域	SINE	LINE	LTR	その他の反復配列
ヒト	<5.0	13.1	20.4	8.3	2.9
ブタ	13.6	16.8	9.9	2.7	4.8
ウシ	11.7	7.8	15.2	1.3	2.2
ニワトリ	13.1	0	4.5	0	1.1

ヒトは概要配列からの実測値、他はゲノムシーケンスからのサンプリングによる推定

ブタの反復配列の塩基置換率の分布

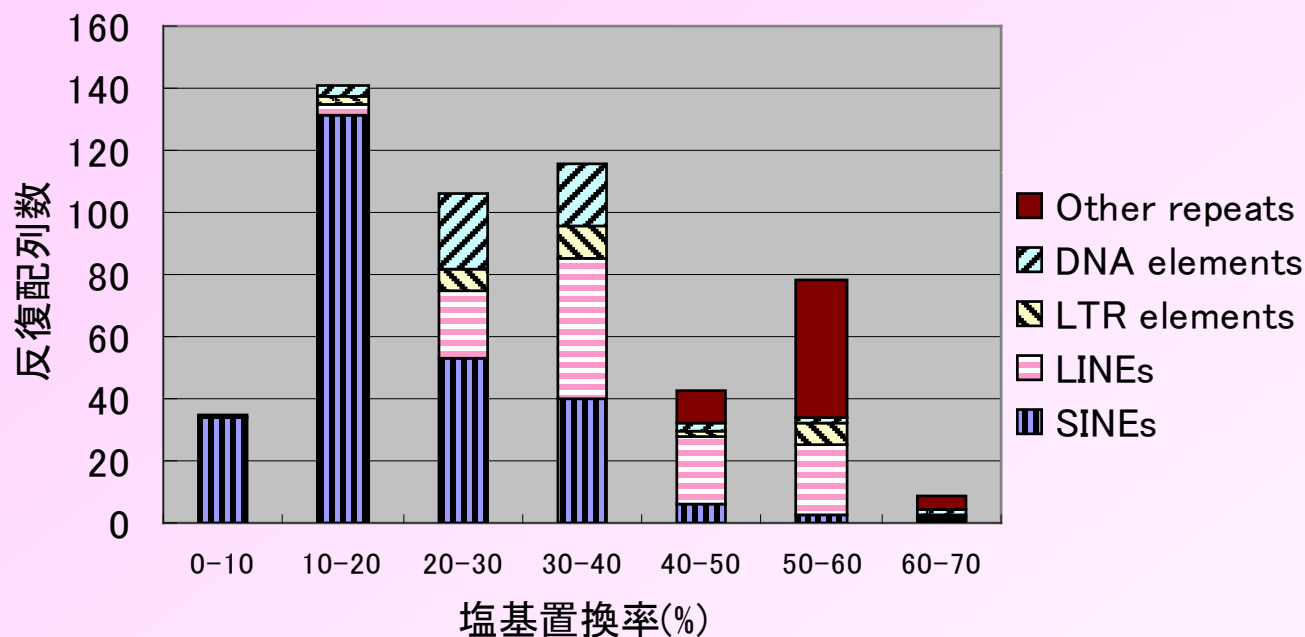


図1 塩基置換率の分布(ブタ)

コンセンサス配列からの塩基置換率を求めて度数分布表を作成した

ウシの反復配列の塩基置換率の分布

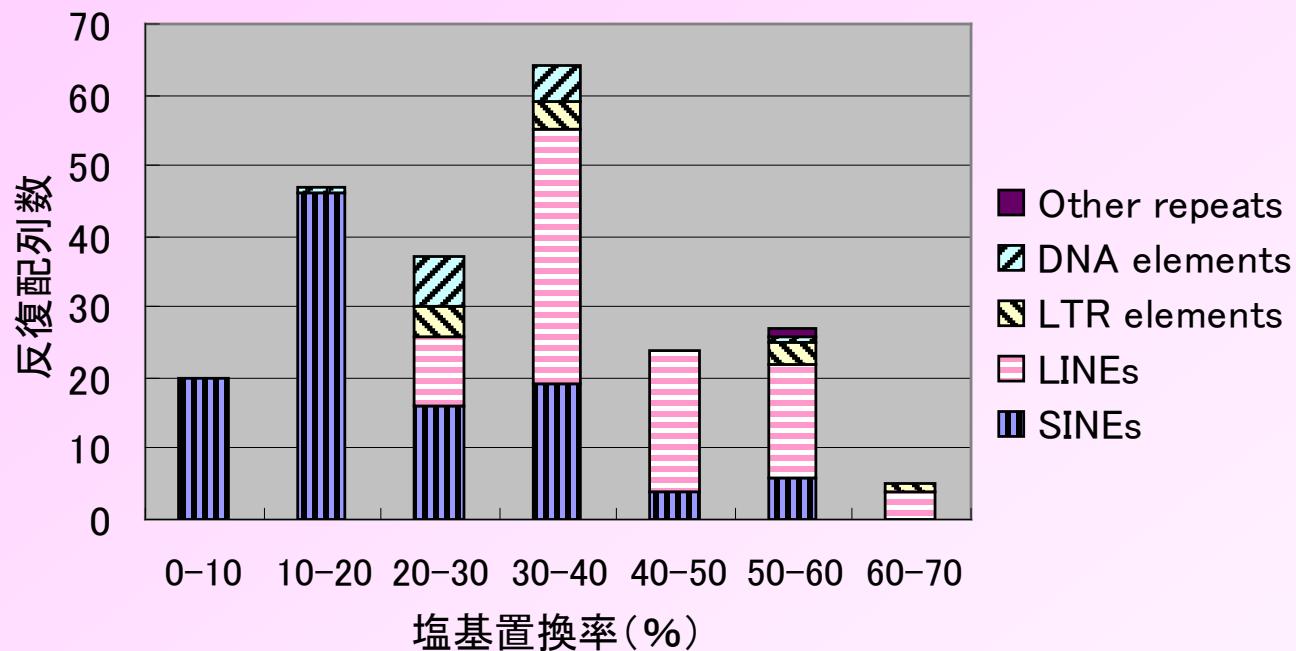
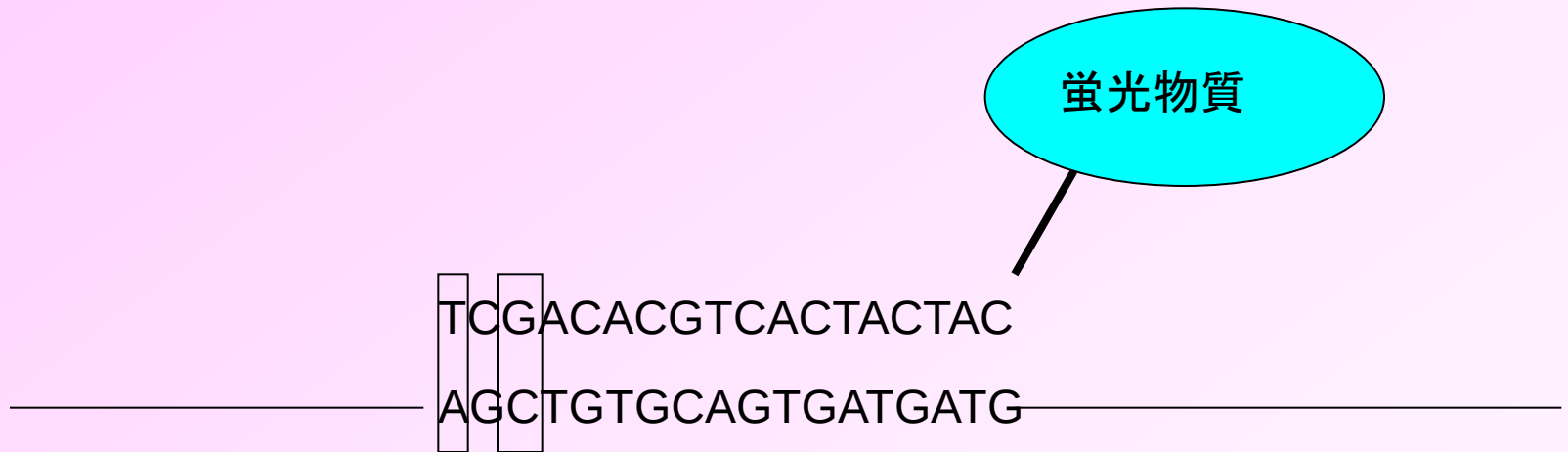


図2 塩基置換率の分布(ウシ)

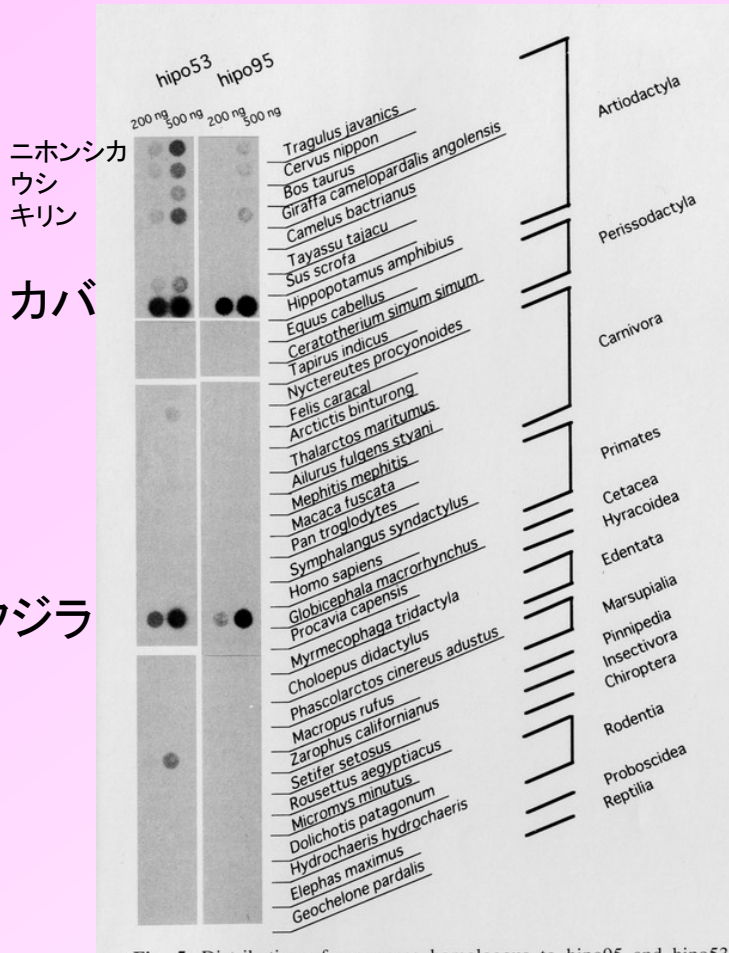
コンセンサス配列からの塩基置換率を求めて度数分布表を作成した

ハイブリダイゼーション

- 相補的な配列を持つ核酸が存在するかどうかを検査する方法



CHR-2のドットブロット ハイブリダイゼーション



カバとクジラに共通のSINE (CHR-2)の発見

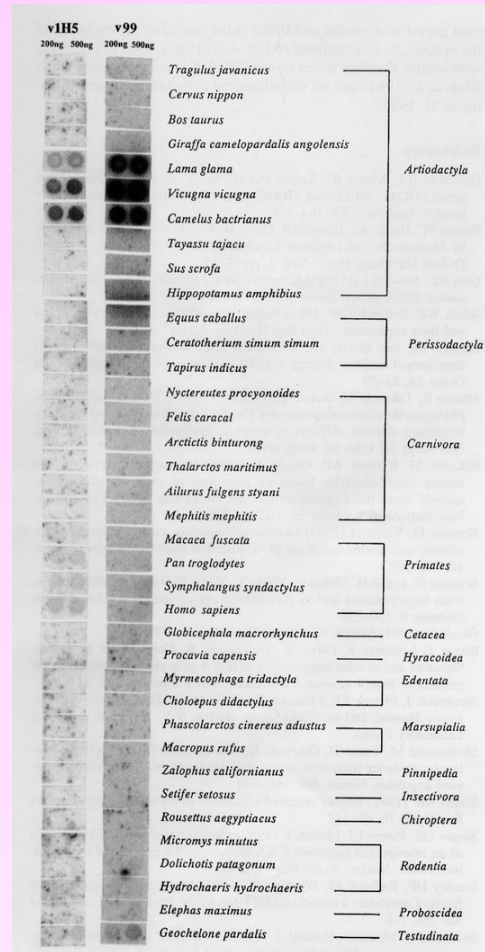
カバとクジラの共通の祖先において
CHR-2が分化した

今までの分類学の修正
カバ(偶蹄目)
クジラ(鯨目)

偶蹄鯨目の新設

Vic-1のドットブロット ハイブリダイゼーション

ラマ
ビクーナ
ラクダ

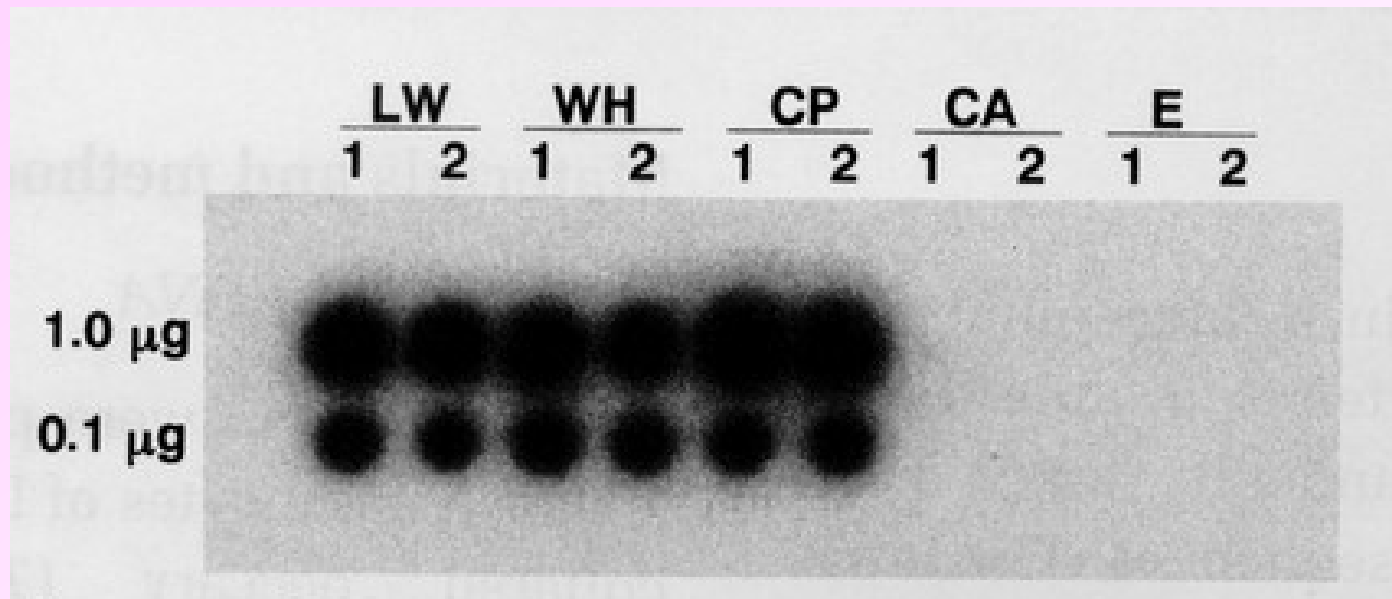


ラクダ科に特有の
SINE (Vic-1)

PRE-1のドットプロット ハイブリダイゼーション

PRE-1はイノシシ類に特異的なSINE

ブタ イボイノシシ ペッカリー ウシ 大腸菌



SINEを用いた動物種の鑑定

- 食肉や剥製などからDNAを抽出する
- ドットハイブリダイゼーションまたはPCRを用いて種特的なSINEの有無を判定できる
- 貴重な保護動物(クジラなど)かどうかを判定できる
- 食肉の動物種をチェックできる

まとめ

- 脊椎動物、特に哺乳類のゲノムDNA中には**反復配列が高頻度で存在している**
- マイクロサテライトは多型解析を通して、**親子鑑別、遺伝病診断、有用遺伝子探索**に利用されている
- SINEは種特異性があり、**食肉などの種鑑別**に利用できる
- LINEなどは**遺伝子重複の原動力**になっている
- DNA転移因子によって**ゲノム再構成**が起こることがある

レポート課題

脊椎動物でよく見られる反復配列の構造と反復配列がコピーされる方法について800字以内で説明してください。