

## Chapter 3. Genetic Diversity

集団は、環境の変化に適応する過程で、遺伝的多様性を獲得する。遺伝的多様性は、分子の配列に対して定量的な手法を用いることで測定される。他系交配する種では高い遺伝的多様性がみられるが、保全の必要があるような集団および種では、遺伝的多様性がたいてい低い。

### ○ Importance of genetic diversity: 遺伝的多様性の重要性

保全生物学において、遺伝的多様性の維持は重要な課題である

IUCN・・・遺伝的多様性保全は地球規模の保全で優先すべき3つのうちの1つ

- 1) 連続的に変化する環境に適応進化するため、集団は遺伝的多様性を獲得する
- 2) 遺伝的多様性の低下は、繁殖適応度の低下や近親交配としばしば関連している

#### 1) 遺伝的多様性は進化的な変化のために獲得される

環境変化 → 種の進化, 絶滅

遺伝的多様性は進化のポテンシャルを反映

- 遺伝的多様性を失った集団・・・短期間で進化することはない
- 遺伝的に多様な集団・・・環境変化に対応できる

#### 2) 遺伝的多様性と繁殖適応度の関係

遺伝的多様性の低下 — 相関 — 適応度 (reproductive fitness) の低下

遺伝的多様性の喪失 → 近親交配の頻度を高める → 近交弱勢による繁殖適応度の低下

長期にわたる遺伝的多様性の維持 = 種が適応的に進化するポテンシャルの維持

短期間 (数世代程度) の遺伝的多様性の維持 = 個体群レベルでの繁殖適応度の維持

ともに保全遺伝学の焦点

#### 保全管理プログラム

- ・ 飼育集団と野生集団

遺伝的多様性の喪失と近親交配の回避

- ・ 飼育集団

血統の管理 (野生集団への再導入のため)

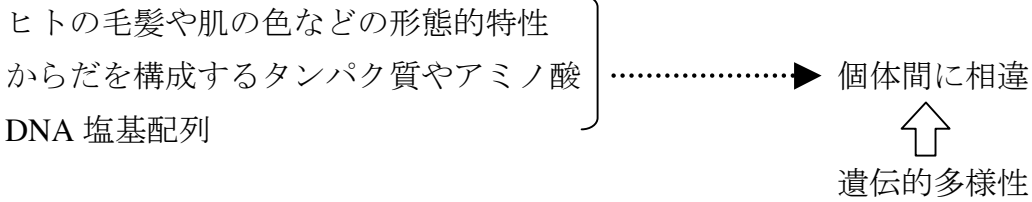
- ・ 野生集団 (絶滅危惧種)

遺伝的多様性の解析とモニタリング (孤立集団間の遺伝子流動を促すため)

**本章の主題**

- 遺伝的多様性の定義とその測定方法
- 絶滅を危惧されている種とそうでない種における遺伝的多様性の差

**遺伝的多様性とは？**



遺伝子 = DNA 1 分子の 1 遺伝子座に配列されたヌクレオチド  
 配列のわずかな違いが遺伝的多様性に相当

DNA 配列の変異 → アミノ酸配列の変異 → タンパク質の変異  
 → 個体の機能に関わる生化学的相違, あるいは形態学的相違  
 .....▶ 個体の繁殖率や生存, 行動

〈遺伝的多様性の研究例〉

・アフリカライオンの遺伝的多様性 (Newman et al. 1985)

アロザイム電気泳動

Enzyme loci	Allele			Heterozygosity
	1	2	3	
ADA	0.56	0.33	0.11	0.564
DIAB	0.61	0.39		0.476
ESI	0.88	0.12		0.211
GPI	0.85	0.15		0.255
GPT	0.89	0.11		0.196
MPI	0.92	0.08		0.147
20 other loci	1.00 (monomorphic)			

多型遺伝子座の割合 (P)

$$P = 6 / 26 = 0.23$$

アフリカライオンの遺伝子座のうち 23%は多型を示す

ヘテロ接合遺伝子座の割合 (H)

$$H = [0.564 + 0.467 + 0.211 + 0.255 + 0.196 + 0.147 + (20 * 0)] / 26 = 0.071$$

アフリカライオン 1 個体における遺伝子座の 7.1%はヘテロ接合している

哺乳類 (普通種) の大集団にみられる代表的な値

対立遺伝子の多様度 (A)

$$A = [(1 * 3) + (5 * 2) + (20 * 1)] / 26 = 1.27$$

アフリカライオンの1遺伝子座には、平均1.27の対立遺伝子が存在する

・アジアライオンの遺伝的多様性 (O'Brien et al. 1994)

Gir lion { 北西インドの Gir forest に生息するアジアライオン  
生息個体数 250 頭  
1900 年代初期に 20 頭たらずにまで減少

50のアロザイム遺伝子座およびDNA fingerprint レベルの多様性について、絶滅危惧種の Gir ライオンと普通種のアフリカライオン個体群を比較

	Allozyme		DNA fingerprints H
	P	H	
Gir lions	0	0	0.038
Africa lion	0.04-0.11	0.015-0.038	0.45

アロザイム、DNA fingerprint 両方のレベルで、Gir ライオンの遺伝的多様性はアフリカライオンよりも低かった。

考えられる理由・・・過去、長期間にわたり個体群サイズが小さかったため  
(ボトルネック効果)

### アロザイム・・・種内変異を調べる際によく用いられる

生体の様々な生理機能を担う酵素タンパク質には、基本的機能は同じだが、アミノ酸配列の一部が異なる変異がしばしば存在する (酵素多型)。そのうち、コードしている遺伝子座による違いによるものをアイソザイムといい、同一遺伝子座の対立遺伝子の違いによるものをアロザイムという。(保全生態学入門, 鷲谷いずみ・矢原徹一, P 130; 保全遺伝学, 小池裕子・松井正文 編, P 94-95)

## Measuring genetic diversity: 遺伝的多様性の測定

遺伝的多様性は様々な形質について測定されてきた

例) 有害対立遺伝子, タンパク質, 核 DNA 遺伝子座, ミトコンドリア DNA (mtDNA), クロロプラスト DNA (crDNA), 染色体など: 連続的に変異し, 定量できる特性

タンパク質には最も多くのデータが含まれ, 以前から用いられた主な手法

↓ 手法の改善とコスト削減

DNA レベルの変異から入手できるデータ量が増加

### 1. 量的形質

体長, 体重, 寿命, 種子生産率, 繁殖開始時期... 定量可能な特性

┌ 遺伝的要因と環境要因の両方に影響を受けている  
└ それらの影響の程度には個体間で差がある

個体の特性に影響を及ぼす遺伝的要因の相違

————— [ 定量化 ] —————→

遺伝的変異として評価

遺伝的変異は進化のポテンシャルを反映 →

定量可能な, 特に繁殖適応度に関わる遺伝的変異は保全生物学上で最も重要な遺伝的多様性

しかし, 測定は困難なうえに時間がかかる

### 2. 有害対立遺伝子

┌ 有害な対立遺伝子の存在はまれ  
└ ほとんどの場合劣性                      ... 他系交配下で発現する可能性は低い

近親交配 → ホモ接合の頻度が高まる → 有害対立遺伝子を発現する可能性が高まる

絶滅危惧種における近親交配は特に有害 → 回避するように管理

近親交配が絶滅危惧種に及ぼす影響に関するデータを入手する機会に限られている

### 3. タンパク質

電気泳動法 (electrophoresis)

物理的特性 (電荷量や分子量) の相違に基づいて特定のタンパク質を分離  
→ タンパク質の構造の違いを区別  
→ タンパク質をコードする遺伝子座における遺伝的変異  
表現型 (タンパク質の構造) から遺伝子型を特定できる

DNA 塩基配列の変異の 30%だけが, タンパク質の電荷を変化させる

このため, タンパク質電気泳動から検出される遺伝的変異はかなり過小評価されている

#### invasive sampling

タンパク質電気泳動法は一般に, 動物の血液や肝臓, 腎臓, そして植物の葉や根の先端のように, 多様な水溶性タンパク質を豊富に含む組織を用いて行われる. 動物からサンプリングする場合はその個体を殺さなければいけないので, 絶滅危惧種に対しては実用的ではない.

### 4. 核 DNA

DNA 塩基配列レベルでの変異を測定するには, いくつかの手法がある

DNA sequencing (塩基配列決定法) . . . 分類学的な目的で用いられる

マイクロサテライト . . . 個体群を対象とした研究に用いられる

DNA fingerprints や RFLP (制限酵素断片長多型) . . . 以前はよく用いられていたが, より高感度で簡便な手法に置き換えられた

アロザイム (酵素多型) と比べると . . .

マイクロサテライトは 1 遺伝子座からより高水準の遺伝的変異を検出できる

RAPDs, AFLPs, DNA fingerprints はより多くの遺伝子座について解析できる.

利点

non-invasive sampling . . . 対象動物を傷つけることなくサンプリングができる.  
PCR (Fig. 3.1) を使用した DNA 増幅により遺伝子型を特定できること.

安全に得られる少量のサンプル (体毛や皮膚, 羽, 糞尿, 卵殻, 魚の鱗, 標本, または化石) から, PCR によって DNA を増幅させ, その遺伝子型を特定することができる. 保全生物学にとって実用的な手法である.

#### Box. 3.3 DNA レベルでの遺伝的多様性の計測技術

マイクロサテライト . . . 1-5 塩基対の短い塩基配列の繰り返し 反復数の変異大きい

DNA 複製の間の slipping により反復回数が増減 PCR を用いた DNA 増幅により検出

利点: 共優性遺伝の核に結合, non-invasive sampling

不利点: 種ごとにプライマー設計の必要あり

DNA fingerprint・・・10-100 塩基対の塩基配列の繰り返し 不均等な交差により生じる

多型交配する種では個体間で大きく変異する

利点：核 DNA 遺伝子座を大きな範囲で評価できる。

不利点：個体識別不可（断片がゲノム中の異なる場所に由来するため）

RAPD・・・10-20 塩基対のランダムな塩基配列をプライマーとして PCR

各プライマーから 100-200 塩基対の断片が増幅され、複数のバンドが得られる

AFLP・・・RAPD に類似、プライマーの配列はランダムではない

RFLP・・・PCR で目的領域を増幅

PCR 産物中の点突然変異の有無を、制限酵素の消化で確認

利点：優性遺伝 既知遺伝子の変異を追跡できる 変異は小さくはない

不利点：大量のサンプル必要 invasive sampling

SNP・・・DNA 塩基配列中にみられる 1 塩基多型

SSCP・・・1 本鎖 DNA の高次構造の違い 1 塩基の違いから検出可

DNA sequencing：遺伝的多様性を測定する最も直接的な方法 塩基配列の決定

コストも時間もかかる

## 5. ミトコンドリア DNA (mtDNA)

ミトコンドリアは母系遺伝する環状 DNA をもつ

mtDNA における遺伝的多様性は RFLP, SSCP, sequencing により検出可

1 つの細胞に複数のミトコンドリアが含まれるため、1 細胞か複数のセットが得られる  
(核 DNA は 1 細胞から 1 セットのみ)

利点

- non-invasive sampling
- mtDNA は突然変異率が高く変異が大きい  
雌の血統や移動パターン解析に用いることができること

不利点

- 高価
- 母系遺伝する単一の単位でしか追跡できない
- mtDNA は 1 つの遺伝子座としてしか考えられず、情報量が少ないこと

## 6. 染色体

染色体の数および形態・・・種内ではほぼ一定. 種間ではしばしば異なる  
種の区別のために用いられる

染色体のバンドパターンには, 同種個体間でも変異がみられる

染色体の再配列の際, 繁殖力が低下することがある

(形態が異なるなど, 異なるタイプの染色体とヘテロ接合することが原因)

→ 飼育下で繁殖が困難な動物に対する細胞学的な検査に応用

## ○ Extent of genetic diversity: 遺伝的多様性の程度

### 1. 定量的な変異

ランダムに交配する種の中では, すべての定量的特性が遺伝的多様性を表している  
繁殖特性, 成長率, 化学組成, 行動, 病気への耐性

### 2. 有害対立遺伝子

突然変異: mutation・・・機能的な対立遺伝子に起こる機能の低下が大部分

有害対立遺伝子は突然変異により一定の頻度で生じ, 選択により除去される

他系交配する大きな集団・・・有害対立遺伝子は多少なりとも存在

ヘテロ接合により発現が抑えられる

近親交配する小さな集団・・・ホモ接合により発現, 近交弱勢

ほとんどの有害対立遺伝子に進化的なポテンシャルはない

・異なる環境では有利に働くもの

・ヘテロ接合することにより有利に働くものもまれに存在

例) 鎌状赤血球貧血症を引き起こす遺伝子, マラリアへの耐性をもつ

### 3. タンパク質の変異

1960-1980年代, 遺伝的多様性を測定する分子的なツールとして主に用いられた

その後, マイクロサテライトなど, DNA塩基配列を直接調べる方法が開発される

→ 急速に置き換わられた

アロザイムに関するヘテロ接合度の比較

脊椎動物 (6.4%)は無脊椎動物 (11.2%)や植物 (23%)に比べて小さかった

(集団サイズが違うためと考えられる)

他系交配する大きな集団のほとんど・・・

タンパク質をコードする遺伝子座に高い遺伝的多様性が存在  
小さい集団やボトルネックを受けた集団・・・遺伝的多様性がしばしば低下

#### 4. 核 DNA

他系交配をしている種・・・同種個体間では DNA 塩基配列に高い遺伝的多様性

- ┌ 遺伝的多様性の高い領域・・・DNA 塩基配列中の機能的でない部分
- └ 遺伝的多様性の低い領域・・・転写産物の機能に強く影響する領域

遺伝的多様性の高い領域

1) タンパク質をコードしていない非コード領域

遺伝子座内に存在する領域（イントロン）と遺伝子座間に存在する領域

2) コード領域ではあるが配列の変化が転写産物の機能に影響を与えない領域、

アミノ酸をコードするトリプレットで三番目にあたる塩基、など

これらの変異をタンパク質電気泳動により検出することはできない。

生物のもつ DNA の大半は機能的産物をコードしてない

→ 塩基組成の変化は自然選択の影響を受けにくい（中立である）

→ 変異が蓄積されやすく、遺伝的多様性が高く保たれる

例外) 自然選択の結果、

重要な機能をもつ配列にもかかわらず遺伝的多様性（対立遺伝子頻度）が高い

- ┌ 脊椎動物の免疫系に重要な MHC (主要組織適合性抗原複合体)
- └ 植物の自家不和合性遺伝子座

MHC・・・免疫系タンパク質。組織中に存在するタンパク質に関する自他認識機能を担う（病原体の検知，選択的な流産に関与）。

低下すると，病原体に対する抵抗性が低下するなどの悪影響を及ぼす。

自家不和合性遺伝子座・・・自家不和合性とは，花粉とめしべの遺伝的な同一性によって自家受粉による種子生産を妨げる性質，自他認識機構。

自家不和合性遺伝子座の対立遺伝子頻度が低くなると，受精の際，同一の遺伝子型によるホモ接合が起りやすくなる（繁殖適応度の低下）。通常は少なくとも数十の対立遺伝子座をもつ

マイクロサテライト・・・高水準の多型を示し，一遺伝子座あたりの対立遺伝子数が多い

→ 遺伝的多様性を測定するため様々な種に対して利用されている

→ 現在，希少種に対して最も強力かつ実用的な方法の1つ



マイクロサテライトを用いた遺伝的多様性の種間比較は、アロザイムほど容易ではない理由

- 1) マイクロサテライトの突然変異率が種間で異なる
- 2) 反復の多いマイクロサテライトは、少ないもの比べて変異が大きい
- 3) 系統の離れた種のために開発されたプライマーを使用した場合、変異が小さく検出されてしまう可能性がある。

## **5. DNA fingerprints (minisatellites), RAPD and AFLP**

普通種の大集団では、DNA fingerprints, RAPDs, AFLP について高い多様性がみられる  
DNA fingerprints・・・他系交配する大きな集団に対して、高確率で個体識別が可能  
RAPDs と AFLP・・・動物よりも植物に対して広く利用されている  
バンドの共有率を同種個体間で比較するために有効  
バンド共有率の増加 = 血縁度の増加 = 遺伝的多様性の低下

個体群間や種間、特に系統の離れた種間での遺伝学的解析は困難（優性遺伝するため）

### **絶滅危惧種における遺伝的多様性の低さ**

アロザイム、マイクロサテライト、DNA fingerprints, RAPD そして AFLP を分析した結果、絶滅が危惧されている種では、そうでない種に比べて遺伝的多様性が低い。

### **どのレベルでの遺伝的多様性が進化の可能性を決めるのか？**

進化的なポテンシャルの定量には、定量的な遺伝的変異の測定が最も直接的

進化的ポテンシャルの維持には、どのレベルの変異について遺伝的多様性を保全すべきか？

最も重要な変異は繁殖適応度に関わる変異

測定は最も困難

特に希少種に対してはそれらの遺伝的多様性の情報がほとんど得られていない  
したがって・・・

DNA やアロザイムは、それらの多様性が進化的ポテンシャルを本当に反映していれば、保全生物学にとって重要な意味をもつ

### **空間的あるいは時間的な変異**

動物の集団間あるいは集団内では、遺伝的構成に空間的な変異がある

集団間の遺伝的変異は、その種がもつ移動・分散能力と負の相関がある

長距離分散（高い分散能力）により、集団間での遺伝子流動が促進される

(集団間の遺伝的分化が小さくなる) ため

植物は一般的に、局地的な環境に適応

集団間、特に自家受精する種では、アロザイムの相違がしばしばみられる

大きな集団がもつ遺伝的多様性・・・数十年の間ほとんど不変

小さな集団がもつ遺伝的多様性・・・時間とともに急速に低下

### 何が遺伝的多様性の違いを説明するのか？

要約すると、以下の要因が遺伝的多様性に影響を与えている。

1. 過去および現在の集団サイズ
2. ボトルネック効果
3. 繁殖システム
4. 自然選択
5. 突然変異率
6. 集団間の移出入
7. 上記要因の間で起こる相互作用

### 種間の遺伝的差異

種間の遺伝的分岐はそれらの系統をだいたい反映

DNA やタンパク質の相違から、高次の分類階級での系統関係を推測

——▶ 形態に基づいて決められた系統関係と類似

同属多種間での遺伝的変異の違いは、より高次の分類階級(属, 科, 目・・)間で異なる(Fig.3.3)

分類群間で遺伝的多様性を比較 ——▶ 分類学の不確かさを解消できるだろう

### Summary

1. 遺伝的多様性は種が環境の変化に対応するために、進化的に重要なポテンシャルを表している。
2. 量的形質や有害対立遺伝子, タンパク質, DNA の計測により, 遺伝的多様性を評価することができる。
3. 集団内の DNA 変異を調べるために最近用いられる分子生物学的手法として, マイクロサテライトは最も実用的かつ有益である。
4. 絶滅を危惧されていない種における大きな集団は一般的に, 大きな遺伝的多様性をもつ。
5. ほとんどの絶滅危惧種では, 絶滅を危惧されていない近縁種と比較して, 遺伝的多様性が減少してしまっている。
6. 分類群間における遺伝的多様性は, その分類群の分岐の時期をだいたい反映している。