

Trends in Genetics 26 (4), 2010, pp 177-187

Conservation genetics in transition to conservation genomics

NJ Ouborg, C Pertoldi, V Loeschcke, R Bijlsma, PW Hedrick.

abstract

過去 20 年、保全遺伝学は集団生物学に基づく理論ベースの分野から発展し、経験的な分野として十分に成長した。分子遺伝学の技術革新によって、マイクロサテライトのような中立マーカを保全生物学の研究に大量に使うことが可能になった。これによって遺伝的変異に対する遺伝的浮動の影響・集団内の近親交配の程度・集団間/内の遺伝子流動の大きさの評価が可能になった。次世代シーケンス・全ゲノムスキャン・遺伝子発現解析を含む、近年のゲノミクス技術の発展によって、限られた数の中立マーカによる評価から適応遺伝子の変異のゲノムワイドな推定へとステップアップした。本論文では、保全遺伝学から保全ゲノミクスへの移行によって、自然選択に重要な変異の動態や環境条件と適応遺伝子の相互作用、そしてその相互作用の背後のメカニズムに対してどのような新しい視点をもたらされるかに焦点を当てる。

The conservation genetics paradigm

● 保全遺伝学の理論的枠組み

- ・ 小さく分断化された集団…遺伝的な理由により絶滅しやすい
- ・ 遺伝的変異の空間的・時間的動態…遺伝的浮動と近親交配に強く支配される

● 遺伝的浮動と近親交配

- ・ 遺伝的浮動…対立遺伝子のランダムな消失と固定を引き起こす
- ・ 近親交配…集団中で対立遺伝子がホモ接合しやすくなる

● 遺伝的浮動と近親交配がもたらす 3 つの帰結

1. ホモ接合と弱有害対立遺伝子頻度の増加→近交弱勢→短期的な集団の存続性の低下
2. 遺伝的変異の消失→進化適応能力の低下→長期的な集団の存続性の低下
3. 集団の分断化→浮動の影響で遺伝的分化→分化した集団間の交配による異系交配弱勢

● マイクロサテライトや AFLP のような超多型性中立マーカの有用性 (Figure 1)

- ・ 集団サイズと遺伝的変異・近親交配の関係…超多型性中立マーカで検証可能
- ・ 多くの検証…集団サイズと遺伝的変異→正の相関、集団サイズと近親交配→負の相関
- ・ 残された疑問…自然選択や適応遺伝子の効果、近交弱勢や局所適応のメカニズム

- ゲノミクスのアプローチによる保全遺伝学上の未解決問題への挑戦 (Figure 2)
- 1. 自然選択に重要な遺伝的変異は、どれくらい小集団化・分断化の影響を受けるのか？
- 2. 遺伝的変異の動態と適応を結ぶメカニズムは何か？
- 3. 分断化された集団において、遺伝的効果と環境要因の相互作用はどれくらいか？
- 4. 近親交配と遺伝的浮動が遺伝子発現にどのように影響するのか？

Developments in conservation genetics

- これまでの保全遺伝学における3つの大きな成果
- 1. 中立な遺伝的変異に対する小集団化の効果の解明
 - ・ 集団サイズと遺伝的変異は正の相関
 - ・ 遺伝的変異の分布はあらゆる種で解析されてきた
- 2. 様々な遺伝的パラメータの推定
 - ・ 人口統計学的動態、遺伝子流動、有効集団サイズ、メタ集団構造、系統地理 etc...
 - ・ 新たな統計手法の導入
コアレセント、最尤法、MCMC、ベイズ etc...
 - STRUCTURE、GENELAND、父性・血縁解析
- 3. 進化生物学など他分野への重要な洞察
 - ・ 最も顕著なのは近交弱勢の研究…近交弱勢は繁殖システムの進化においても重要
 - ・ 近交弱勢：「浮動による変異の消失」→「絶滅確率の増大」というプロセスを仲介
 - ・ 近交弱勢は遺伝子型や集団に特異的な現象⇔環境との相互作用の可能性も指摘
 - ・ 種の存続への近交弱勢の影響は不明点が多い

What are the major unresolved questions in conservation genetics

- 保全遺伝学で未解決の4つの疑問
- 1. 適応遺伝子の変異に影響するプロセス
- 2. 近交弱勢の背景にあるメカニズム
- 3. 局所適応と表現型可塑性
- 4. エピジェネティックな変異（遺伝子発現の変異）

第一の疑問：適応遺伝子の変異を決定するプロセス

- 適応遺伝子の変異は中立マーカーの変異と同じプロセスで変動するのか？
 - ・ 集団サイズと非中立な遺伝的変異の間には相関はあるのだろうか？
 - ・ 保全遺伝学の予測…集団サイズと遺伝的変異・適応度の間にはどの種でも正の相関
 - ・ アリー効果・種間相互作用・ハビタットの質など非遺伝的プロセスの影響も受ける
- 遺伝的浮動が非中立マーカーに及ぼす影響
 - ・ 遺伝的浮動の影響は有効集団サイズに比例
 - ・ 有効集団サイズが小さいとき：非中立マーカーも基本的に中立な変異と同じ振る舞い

- ・ 有効集団サイズが大きいとき：非中立マーカーは遺伝的浮動の影響を受けにくい
- **ゲノムワイドな遺伝的変異をどう評価すべきか？**
- ・ これまでの保全遺伝学的研究の多くは中立マーカーを使用
- ・ 有効集団サイズが適応遺伝子の変異にどのような影響を及ぼすかはまだ不明
- ・ マイクロサテライトの変異はゲノムワイドな変異を反映しているのか？
- ・ マイクロサテライトと一塩基多型 (SNP) の比較…微妙な結果
大西洋サケでは相関あり、オオカミ・コヨーテでは相関なし
- ・ ゲノムワイドな遺伝的変異や適応遺伝子の変異の評価法が必要
→良い評価法があれば小さく分断化された集団の適応可能性評価できる

第二の疑問：近交弱勢の背景にあるメカニズム

- **近交弱勢の複雑さ**
- ・ 近交弱勢の遺伝的背景は不明な点が多い
- ・ 近交弱勢はかなり複雑に変化する
ex. 集団間・遺伝子型間・生活史段階間・環境間
→集団に単一の値を算出して使うのは危険
- **近交弱勢の遺伝的経路を明らかにする必要性**
- ・ 本当に弱有害アレルの固定の帰結なのか？
- ・ 集団間で作用する遺伝子は同じなのか？
- ・ 年齢のような適応度を変動させるプロセスと遺伝子発現に関係はあるのか？
- ・ 近親交配の速度は遺伝的変異の維持に関係するだろうか

第三の疑問：局所適応と表現型可塑性

- **局所適応と表現型可塑性の効果はまだよくわかっていない**
- ・ 保全遺伝学のアプローチ：分断化に関連した遺伝的浮動と遺伝子流動の評価
- ・ 集団の絶滅は他のプロセスも影響 ex. 環境の劣化、気候変動、生物間相互作用
- ・ 非遺伝的な効果と遺伝的な過程の相互作用：遺伝子型×環境 (G×E) …不明な点多い
- ・ 環境の変化に対し、遺伝的浮動と近親交配がどのような影響を与えるかは大きな謎
- ・ 強い局所適応があった場合は、個々の集団を分ける管理シナリオが必要
- ・ 表現型可塑性と遺伝的浮動・近親交配の相互作用もよくわかっていない
- ・ 遺伝的変異が激減した集団では、可塑性によって短期的に適応する可能性
- ・ 可塑性と近親交配の複雑な効果
ex. サカマキガイにおいて捕食者が多い条件で近交弱勢の効果が大きい

第四の疑問：遺伝子発現の変異

- ・ 多くの研究は塩基配列の変異に注目
⇨塩基配列の変異と遺伝子発現は必ずしも一致しない（エピジェネティックな変異）
- ・ 乾燥・高温・栄養など環境ストレスは遺伝子の発現経路に変化をもたらす
- ・ 近親交配によって遺伝子発現が変わる（図f）
- ・ 遺伝子発現の調整…DNAメチル化やヒストン修飾
→塩基配列の変化がないエピジェネティックな要素
- ・ 遺伝的浮動や近親交配がエピジェネティックな要素に与える影響は不明

How can genomics advance conservation genetics

- ゲノミクス技術の非モデル生物・自然集団への拡張
 - ・ ここ数年で、ゲノミクスの技術を自然集団に適用する動きが広がっている
 - ・ モデル生物や実験室条件の結果は必ずしも野外で適用できない
 - ・ 実験室から野外へ、モデル生物から非モデル生物へ
 - ・ モデル生物のゲノム情報やツールの利用はかなり有効（エコゲノミクス）
- 保全遺伝学へのゲノミクスの応用
 - ・ 保全遺伝学的な背景でエコゲノミクスを試みる例は急増
 - ・ これらの発展は次世代シーケンス技術に支えられている
 - ・ 多くの野生生物は利用可能なシーケンス情報がない
→mRNAサンプルを次世代シーケンサーで読む方法が最も現実的
→複数個体から成るサンプルを使って SNPs や EST マイクロサテライトを探す
454 (Roche) のランで 5,000 の SNPs、1,063 のマイクロサテライト (Wheat 2010)
 - ・ 次世代シーケンスを使ったゲノミクス解析の例は急増している

Population genomics

- ・ ゲノミクスアプローチの有用性
- 1. SNP・SSRによる詳細な遺伝的変異の評価
 - ・ 特にSNPsはSSRやAFLPよりもゲノムワイドな評価が可能
→個体群動態、遺伝子流動、近親交配など
のより高解像度な研究が可能
- 2. 「自然選択の軌跡」をピックアップできる
 - ・ アウトリヤー（外れ値）と連鎖する遺伝子座は選択の影響を受ける
 - ・ ゲノムスキャンや連鎖解析による適応遺伝子の探索は非常に有効
 - ・ 保全遺伝学で最初にできるのは非中立なマーカーを探すこと

Box 1. Population genomic approaches available for conservation

- 保全遺伝学への集団ゲノミクスの応用 (保全ゲノミクス)
 - ・ 集団ゲノミクスの目的…ゲノムワイドな効果と遺伝子座特異的な効果を分離
ゲノムワイド…浮動、近親交配、遺伝子流動⇔遺伝子座特異的…自然選択、突然変異
 - ・ 集団ゲノミクスを実施するための3条件
 1. ゲノム全体をカバーするたくさんのマーカーが必要 (20 遺伝子座以上)
 2. 中立マーカーと非中立マーカーが必要
 3. 信頼できる中立性の検定が必要
 - ・ 集団ゲノミクスのステップ
多数個体を多数のマーカーでジェノタイピング→アウトライヤーの検定
 - ・ 様々なアプローチ：候補遺伝子、ゲノムスキャン、連鎖解析、
- Population transcriptomics
 - ・ 塩基配列の違いではなく、遺伝子発現の違いを評価するアプローチ
 - ・ 主な手法はマイクロアレイ…遺伝子の発現の評価が可能
 - ・ マイクロアレイは種特異的なツール…モデル生物の近縁種でしか使えない
 - ・ RNA-seq のような新テクニックは集団トランスクリプトミクスのブレイクスルー？
 - ・ 環境の変化に反応する遺伝子をもっと探索できるようになるかも

Population transcriptomics

- ・ これまでの保全遺伝学…DNA の塩基配列の変異に焦点
- ・ 集団トランスクリプトミクス…遺伝子の発現量に注目
小さく分断化された集団は遺伝子の発現量が変わるのか？
これまでとは全く異なる結果が出てくるかもしれない
- ・ 近縁種のマイクロアレイや RNA-seq などのアプローチが中心
- ・ トランスクリプトミクスが保全遺伝学にもたらすもの
ハビタット分断化による「不適応」のメカニズム
近交弱勢の背景にあるプロセスの解明
移動分散に伴う行動や表現型の変化のメカニズム
遺伝子と環境の相関 (G × E)
- ・ 「オミクス分野」への発展…集団プロテオミクス、集団メタボロミクス
- ・ メチル化やヒストン修飾などエピジェネティックなプロセスの遺伝子発現作用は？

Box 2. Epigenetics and conservation

● エピジェネティックな変異

- ・ これまでの生物学の重要な仮定…塩基配列の多型が遺伝変異のソース
→環境変動に対する種の適応能力は塩基配列の変異の存在に依存
- ・ 塩基配列の変異がなくてもメチル化などによって遺伝変異が生じる (epiallele)
- ・ Epiallele の変異は遺伝子発現や表現型の発現に強く作用する
- ・ メチル化のような修飾は酵素活性で決定…本質的には可逆的
- ・ メチル化は個体間・集団間で変異があり、一部は塩基配列から独立し、遺伝する
- ・ 動植物の急速な適応はエピジェネティックな変異が作用しているかもしれない

● 様々な疑問

- ・ エピジェネティックな変異を引き起こす cue (合図) は何か?
- ・ エピジェネティックな変異のうちどれぐらいが次世代へ引き継がれるのか?
- ・ 環境変異やストレスがなくなった後、エピジェネティックな変異はどうなるのか?
- ・ 遺伝的浮動や近親交配がエピジェネティックな変異に与える影響は?
- ・ 塩基配列の変異にエピジェネティックな変異は作用するのか?
これらの疑問に答えられたとき生物進化や保全にブレイクスルーがおこるかも

Challenges and limitations

● 保全ゲノミクスはやっぱ敷居が高い

- ・ 遺伝子と適応の関係の理解…進化生物学や機能ゲノミクスでも難解なチャレンジ
- ・ 集団遺伝学、生態学、個体群統計学、環境生物学、バイオインフォマティクスなど多様なアプローチが必要
- ・ 保全ゲノミクスのモデルとなる生物を絞って研究すべき
小集団化や分断化の影響や絶滅のプロセスなどをゲノミックに評価できるモデル
たくさんの絶滅危惧種の個々の研究は後回しにした方がいい

● 野生生物におけるゲノムスキャン・連鎖解析・トランスクリプトミクスの課題

- ・ ゲノムスキャンと連鎖解析…環境変異が複雑な野生生物ではとにかく数が必要
- ・ 小さくなった集団では遺伝的浮動の効果が大きい…「自然選択の軌跡」の探索は難航
- ・ 「同一種の大集団でゲノムスキャン→候補遺伝子を探索→小集団に適用」が現実的
- ・ 形質と連鎖するマーカーを見つけても、原因遺伝子の特定は難しい
- ・ QTL (量的形質遺伝子座) から発現遺伝子を特定できた研究は決して多くない
- ・ 候補遺伝子があれば特定できる可能性はかなり上がる (Slate 2005)
- ・ まずは表現型と連鎖したマーカーを見つけて中立マーカーと挙動を比較するのが重要
- ・ 多くの遺伝子が近親交配により発現量を変える
⇔近交弱勢を示す形質と連鎖した遺伝子座はその原因遺伝子を明らかにできない
→遺伝子発現の変化は二次的に別の遺伝子発現に作用する

- 直接のターゲットでない遺伝子発現を拾っているかもしれない
- ・ トランスクリプトミクスは組織特異的で時間による転写の変異も大きい
さらには高コスト→これらの問題はテクニックのブレイクスルーでなんとかなる

Concluding remarks and future prospects

- 保全ゲノミクス的なアプローチの必要性
- ・ 保全遺伝学のジレンマ
中立マーカーが示したパターンは適応的/有害な変異のパターンと同じか？
中立マーカーを用いた研究は集団の適応度や進化ポテンシャルを評価できるのか？
- ・ ゲノミクスのテクニック
自然選択に重要な変異と中立な変異の両方をゲノムワイドに推定
小集団化が適応に与える効果のゲノミクスなメカニズムを解明
- ・ 塩基配列の変異の効果から遺伝子発現の効果へのスケールアップ
→遺伝子と環境の相対的な評価が可能になる
- ・ モデル生物に近縁な絶滅危惧種を使った研究がやりやすい
⇨次世代シーケンス技術は非モデル生物でもゲノミクスの解析を可能にしつつある

Box 3. Conservation genomics in wolf populations

- ・ 欧米のハイイロオオカミやアメリカアカオオカミは保全遺伝学の研究対象
中立：遺伝構造、遺伝子流動、交雑、人口統計学史、適応：MHC、K-locus（体毛の色）
- ・ ハイイロオオカミと犬は近縁（図 h）→ゲノム情報の転用が可能な生物
- ・ 有名な研究例…アメリカアカオオカミにおいて、K-Locus と関連した黒色型の個体は森林で多く生息しており、この黒色型アليلは過去に飼い犬と浸透交雑することでオオカミ集団に広まった（図 i, j, k）
- ・ マイクロサテライトに加え、インデル多型や SNPs などのゲノムワイドなマーカー
→家畜化の歴史や交雑イベントなどをより詳細に推定
- ・ ゲノムスキャン→ハイイロオオカミで選択に関わる 21 遺伝子座を特定
- ・ 集団トランスクリプトミクス→移動が自由/不自由の違いで遺伝子発現が異なる
インスリンシグナルやトリプトファン代謝経路などのストレス反応遺伝子の過剰発現

保全ゲノミクスで何がわかるか？

1. 中立変異から推定されるパラメータの改善

- ・ ゲノムワイドなマーカーの使用→中立変異の情報量も保全遺伝学よりも増える
遺伝的多様性、遺伝構造、集団の成長率、遺伝子流動、メタ集団構造
- ・ マイクロサテライト 10 座と SNPs 1000 座の集団解析の比較とかはおもしろい

2. 中立・非中立な変異と集団サイズの関係の検証

- ・ 数千の SNPs による研究は、中立・非中立な変異と集団サイズの関係を明らかにする
- ・ 進化ポテンシャルに対する小集団化の効果も検証可能になる
- ・ 局所適応の体系化

3. 適応の背景にある「メカニズム」の解明

- ・ トランスクリプトミクスなどの研究は適応の背景にあるメカニズムの理解に繋がる
- ・ 様々な疑問に対する答えが得られるはず
どれぐらいのどういった機能の遺伝子がどういう条件下で近親交配に反応するのか？
近交弱勢は異なる集団でも同じ遺伝子が作用するのか？
移住・分散過程に関わる遺伝子はどの遺伝子か？
ランドスケープ構造と適応遺伝子の動態の関係は？
環境の劣化や気候変動が小集団化と遺伝子の相互作用に与える影響は？
- ・ これらの疑問に答えてはじめて保全遺伝学は保全ゲノミクスになったと言える
- ・ 保全ゲノミクスが達成できれば、過去の推定だけでなく未来予測も可能になる

おまけ

Frankham の”Introduction to Conservation Genetics” Second Edition ができました。
”Population Genomics” と”Genetic issue in introduced and invasive species” の 2 つの章
が加わりました。

**Box 4. Unresolved questions and possible conservation genomic approaches
for tackling them**

- **自然選択に重要な変異に対するハビタットの分断化の影響評価**
 1. 遺伝的変異パターンの推定のためのゲノムワイドな SNPs の利用
 2. 非中立マーカーから中立マーカーを識別するためのゲノムスキャンの実行
 3. 中立な変異 (microsatellite, AFLP) と非中立な変異 (上述) のパターンの比較
 4. 適応に重要な形質とマーカーの間の相関を見つけるための連鎖マッピング (QTL)
 5. 環境変動と関連するアレルの頻度の変化を調べるための候補遺伝子研究

- **近交弱勢の基盤となる遺伝的メカニズムの同定**
 1. 集団トランスクリプトミクスは異なる生活史段階や異なる遺伝子型における近交弱勢と関連した遺伝子の同定に役立つ
 2. QTL マッピングは近交弱勢の表現型と関連したゲノムの領域を特定するのに役立つ
 3. 遺伝子発現に関連した表現型における選択実験

- **遺伝子-環境 (G x E) の相互作用の役割の特性の解明**
 1. 集団トランスクリプトミクスは、遺伝子と環境 G x E の効果を特定するための要因評価実験と組み合わせて行うとよい
 2. メチル化特異的 AFLP や解析能の高い bisulfite シーケンス (メチル化されたシトシンを認識) を用いて、大集団と小集団、高質ハビタットと低質ハビタットのエピジェネティックな変異のスクリーニングを行う

- **環境に対抗するための反応における表現型可塑性の役割の特定**
 1. メチル化レベルでのエピジェネティック操作実験 (5-アザシチジンの利用) と集団サイズや近親交配の程度、環境変異と関連した表現型効果の研究
 2. 近親交配の程度と関連した表現型可塑性の機能を評価するためのメチル化レベルのスクリーニング

- **遺伝子発現とゲノムの経路におけるハビタットの分断化の効果の検証**
 1. 近親交配や集団サイズと関連したゲノムワイドな遺伝子発現データの変化を評価するためのマイクロアレイや RNA シーケンスの使用
 2. 遺伝子の効果を直接理解するための高い多様性・遺伝子型や低い多様性・遺伝子型における遺伝子発現の変異の評価