

# 京都大学教育研究振興財団助成事業 成 果 報 告 書

2019年 4月 25日

公益財団法人京都大学教育研究振興財団

会 長 藤 洋 作 様

所 属 部 局 野生動物研究センター

職 名 特任研究員

氏 名 伊藤 英之

助 成 の 種 類	<b>2018年度 ・ 研究活動推進助成</b>			
申請時の科研費 研究 課 題 名	ゲノムワイド解析を用いた希少動物飼育個体群の適切な遺伝管理モデルの 確立			
上記以外で助成金 を 充 当 した 研 究 内 容				
助成金充当に関 わる共同研究者	(所属・職名・氏名)			
発表学会文献等	(この研究成果を発表した学会・文献等) 動物遺伝育種学会2018年京都大会 第24回日本野生動物遺伝学会			
成 果 の 概 要	<b>研究内容・研究成果・今後の見通しなどについて、簡略に、A4版・和文で作成し、 添付して下さい。(タイトルは「成果の概要／報告者名」)</b>			
会 計 報 告	交付を受けた助成金額	1,000,000 円		
	使用した助成金額	1,000,000 円		
	返納すべき助成金額	0 円		
	助成金の使途内訳	費 目	金 額	
		需用費(消耗品等)	260,541	
		委託費(遺伝子解析)	737,899	
		委託費(英文校閲)	1,560	
当財団の助成に つ い て	(今回の助成に対する感想、今後の助成に望むこと等お書き下さい。助成事業の参考にさせていただきます。) この度は、研究活動推進助成に採択いただき誠にありがとうございました。本研究活動助成により、研究活動を 推進することができ、次年度への研究活動に向けて実績を積むことができました。 本助成は、助成内定時期が早く1年間を有効に活用することができるため、研究計画が立てやすかったです。			

## 成果の概要 / 伊藤英之

絶滅危惧種の保全において、域外保全は極めて重要であり、多くの絶滅危惧種を飼育する動物園・水族館は重要な域外保全の拠点である。域外保全の繁殖計画において主な遺伝的目標は、①ファウンダーの遺伝的多様性の保持、②近親交配の回避、③異系交配の回避、④有害形質の回避、⑤飼育環境への適応の回避である。

家畜においては集団遺伝学・遺伝育種学が確立し、遺伝的多様性の保持や形質関連遺伝子の特定が行われているが、希少動物においては、まだ個体群管理法が未確立であり、遺伝性と思われる疾患についても関連遺伝子を特定できているものは少ない。また、⑤飼育環境への適応については、動物園動物の遺伝学においてはほとんど行われていない。

希少種の新たな遺伝的管理は、従来の数個から十数個の遺伝子の遺伝子型判定から、より詳細な血縁関係の判定、遺伝構造の解析、形質関連遺伝子の特定などを可能にするために、次世代シーケンサーを用いて数千から数万の遺伝子型判定を実施する必要がある。また、今後、新たに遺伝的管理の指標となりうるエピゲノム修飾や copy number variants (CNV) の解析についても、PCR 産物の遊離温度を測定する High Resolution Melt (HRM) 法や次世代シーケンスなどによる解析が必要となる。これらの領域情報の集積は、表現型との関連解析や遺伝的多様性評価の新たな指標として、今後の遺伝管理に有用な情報を与えると考えられる。

### <成果の概要>

ツシマヤマネコ (*Prionailurus bengalensis euptilurus*) はベンガルヤマネコ (*P. bengalensis*) の亜種であるアムールヤマネコ (*P. bengalensis euptilurus*) の地域集団であり、長崎県の対馬のみに生息し、絶滅が危惧されている。ツシマヤマネコにおいて、次世代シーケンスを行い、得られた塩基情報 (約 130GB) からドラフトゲノムを作製した (カバレッジ x55)。また、さらに 3 個体について次世代シーケンスを実施した (各個体約 90GB)。今後、4 個体のゲノム情報から、機能遺伝子をコードする領域において遺伝子多型 (SNP や CNV) を検索し、各表現型との関連性を解析する予定である。

また、野生下の個体 ( $n=30$ ) について、マイクロサテライト解析と GRAS-Di (Genotyping by Random Amplicon Sequencing-Direct) 解析を実施した。マイクロサテライト解析では、ツシマヤマネコは、同一亜種 (アムールヤマネコ) の韓国の集団と比較して、著しく低い遺伝的多様性を示した。GRAS-Di 解析では、約 11,000 個の SNP を検出した。今後、国内飼育個体についても、GRAS-Di 解析を行い、飼育下・野生個体群の遺伝的多様性の比較・評価を行い、飼育下個体群の遺伝的管理への提言を行う。

フンボルトペンギン (*Spheniscus humboldti*) 1 個体について、次世代シーケンスを実施し、約 300Gb の塩基配列を取得した。また、2 個体 3 検体 (個体 1: 1 歳齢時・8 歳齢時、個体 2: 20 歳齢時) の DNA をバイサルファイト処理後、シーケンスを行い、それぞれ約

100GB の塩基配列情報を取得した。今後、得られたゲノム配列からドラフトゲノムを作成し、年齢によりメチル化率の異なる領域を特定し、DNA メチル化を利用した年齢推定法の確立を試みる予定である。

<学会発表>

日本動物遺伝育種学会 2018 年京都大会

公開シンポジウム 基調講演 「動物園における希少種の遺伝管理」

第 24 回日本野生動物医学会大会

自由集会「研究する動物園」 「京都市動物園における研究・教育体制」

<発表論文>

Estimation of chimpanzee age based on DNA methylation

Hideyuki Ito, Toshifumi Udono, Satoshi Hirata & Miho Inoue-Murayama

Scientific Reports volume 8, Article number: 9998 (2018)