Plasmodium 抗原変異性遺伝子ファミリーにおける変異発生に関する解析

Analysis of variation mechanism in antigenic variant gene families

京都大学化学研究所バイオインフォマティクスセンター 化学生命科学研究領域　平糠和志

［背景と目的］

病原体ゲノムの抗原遺伝子に変異に起こった場合、その病原体は宿主が持つ獲得免疫を回避することで爆発的に感染規模を広げたり、特定の地域で風土病として存在し続ける。そのような特性はウィルス・細菌・原虫・真菌と多岐に渡って見られるが、それぞれにおいて抗原変異のメカニズムは大きく異なる。マラリアに代表される原虫感染症は世界中でヒトや家畜動物の健康状態に深刻な影響を与えている。原虫は、近年のゲノム解析の結果、数十から数百の抗原変異性の多重遺伝子（パラログ遺伝子）を有していることが明らかになっている。パラログ遺伝子は通常、機能分化(sub-functionalization)や新機能獲得(neo-functionalization)を経て元々の配列状態が変化した状態で現在のゲノム上に存在することが考えられるが、原虫の抗原変異性の遺伝子ファミリーは機能部位を同一に保ちつつ抗原部位のみを多様化させるという点で特殊な選択圧がかかっていると考えられる。本研究ではマラリア原虫である *Plasmodium* 属のゲノムを対象に、抗原変異性遺伝子ファミリーにおける抗原変異現象の解明に向け、特にパラログ遺伝子ファミリーとしての特異性や共通性について配列解析を行った。

［検討内容］

遺伝子変換(gene-conversion)は相同領域間において一方の DNA(ドナー)が他方の DNA 上に上書きされる現象で、組換えもしくは DNA 二重鎖切断の修復時に起こる。このことは遺伝子変換がパラログ遺伝子間で起こるとファミリー内の配列の均質化が起こることを意味するが、遺伝子変換が断片的(segmental)であったり偽遺伝子化した領域が一方的(unidirectional)なドナーとなる場合は、ゲノム上のハプロタイプバリエーションが増加することが示されている[1]。遺伝子変換が抗原変異性遺伝子の抗原多型に寄与している可能性を調べるため配列解析を行った。配列データは varDB データベース[2]（Release 10.0）に登録されている *Plasmodium* 属6種、計7ファミリー分を取得した(Table 1)。

Spesies	Genome	Gene families	Notation	# Seq
Plasmodium berghei	str Anka	bir	pbe-bir	131
Plasmodium chabaudi	str. As	cir	pcb-cir	195
Plasmodium falciparum	3D7	var	pfa-var	67
		rifin / stevor	pfa-rif	226
Plasmodium knowlesi	str. H	kir	pkn-kir	63
Plasmodium vivax	str. Salvador1	vir	pvx-vir	297
Plasmodium yoelii	Str. 17XNL	yir	pyo-yir	877

Table 1. *Plasmodium* 属の抗原変異性遺伝子ファミリーデータ（varDB rel. 10）

各ファミリーにおける遺伝子の翻訳領域に見つかる類似度の高い 33 残基長のセグメントペアを総当たりで割出し、それらペアに対し塩基の同義置換率(*dS*)および非同義置換率(*dN*)を Nei-Gojobori method[3]で計算した。重複イベントが起こった領域のうち、遺伝子変換が起こる領域は塩基の置換率が比較的低い状態で推移していると考えられるため、置換率の低い領域がファミリー遺伝子内でどのような分布傾向があるのかを調べた。

［結果］

Plasmodium 属の抗原変異性遺伝子ファミリー7つのうち5つのファミリーにおいて顕著に低い *dS* 値および *dN* 値(0～0.05)をもつセグメントペア領域が多数存在することが確認された。0.05 を閾値として、それ以下の値を持つセグメントペア領域のファミリー遺伝子間での分布状態を Figure 1 に示す。

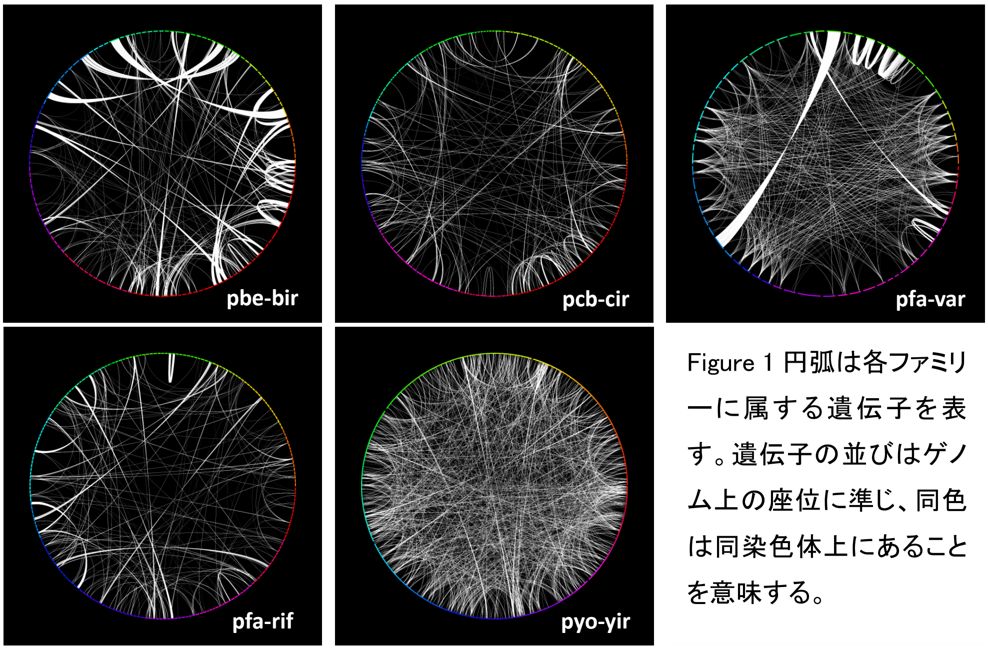

Figure 1 円弧は各ファミリーに属する遺伝子を表す。遺伝子の並びはゲノム上の座位に準じ、同色は同染色体上にあることを意味する。

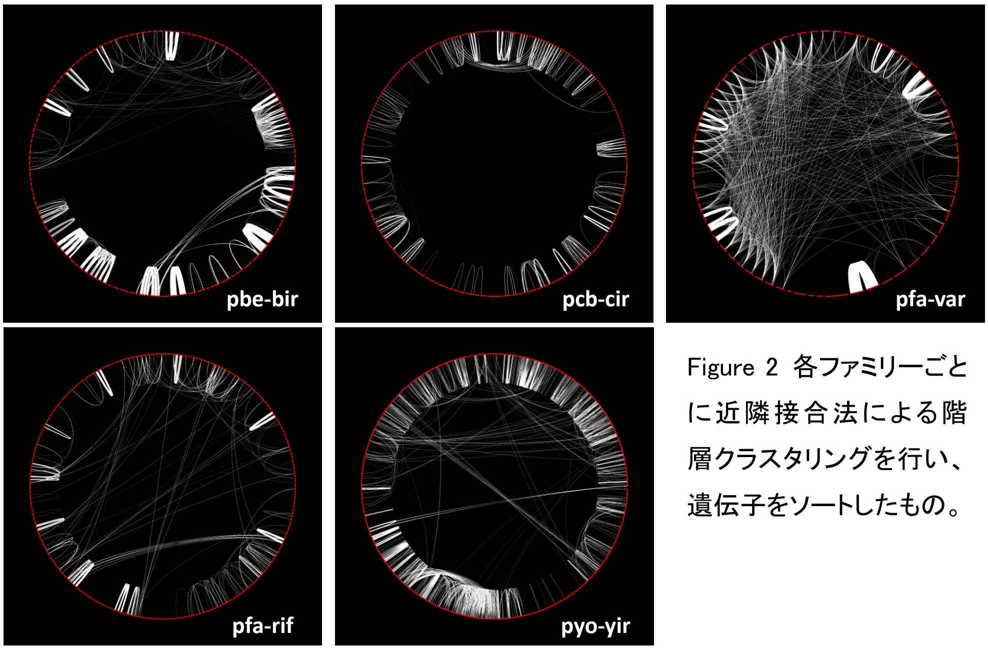

Figure 2 各ファミリーごとに近隣接合法による階層クラスタリングを行い、遺伝子をソートしたもの。

断片的に *dS* 値および *dN* 値の低いセグメントペア領域が存在しており、C末端側に偏って集中している。また遺伝子領域全体がほぼ完全なコピー関係にあるペアもいくつか確認された。更にこれらのペア関係の多くは intrachromosomal ではなく interchromosomal に分布していることがみられる。ペア関係をゲノムポジション非依存的に調べるために、ファミリーごとに近隣接合法による階層クラスタリングを行った(Figure 2)。その結果、ファミリーごとにクラスターのサイズは異なるが、エッジを介さない（*dS* 値が 0.05 以下の領域ペアを含まない）複数のクラスターが内在していることが確認された。

[考察]

本研究では *dS* 値および *dN* 値を遺伝子重複が起こってからの相対時間として用いた。特に同義置換速度は選択圧が異なる遺伝子でも制約を受けずにほぼ一定であると考えられる。通常のパラログ遺伝子ファミリーでは、進化の観点からすでに同義置換や非同義置換が起こっていると考えられ、これまでに解析を行った他の真核生物種パラログファミリーではその状態であることが確認されている。抗原変異性遺伝子ファミリーでは *dS* 値が 0 に近い領域が多く存在し、遺伝子の重複がごく最近に起こったか、そのファミリー内で頻繁に遺伝子変換を起こしている可能性が示唆される。抗原変異性遺伝子ファミリーも形式的にはパラログ遺伝子となるが、本質的には通常のパラログ遺伝子とは異なる選択圧がかかっていると考えられる。すなわち、機能的には同一のタンパク質としてゲノム上に保存されつつ、抗原部位にのみ変異が起こるようなモデルが適切である。今回解析を行った *Plasmodium* 属の抗原変異性遺伝子はC末端側が細胞膜貫通もしくは細胞膜内領域に相当し、*dS* 値の低いセグメントペアがそのC末端側に偏って集中していることは、変異メカニズムにおける「機能部位の保存」を説明する一つの手掛かりになるかもしれない。ファミリー内で、クラスター性が存在していることは、遺伝子変換がファミリー内でランダムに発生するのではなく、何らかの制限がある状態で遺伝子変換や重複イベントが起こってきたと考えることができる。この様なクラスター関係がゲノム上の座位が近いもの同士ではなく、異なる染色体にある遺伝子間でより頻繁に見られたことも、遺伝子変換が起こる条件として核内の空間的な距離が関わっていることが考えられる。

参考論文

[1] Takuno S, Nishio T, Satta Y, Innan H, Preservation of a pseudogene by gene conversion and diversifying selection, *Gnetics.* 180(1):517–31, 2008.

[2] Diez D, Hayes N, Joannin N, Normark J, Kanehisa M, Wahlgren M, Wheelock CE, Goto S, varDB: a database of antigenic variant sequences—current status and future prospects, *Acta Trop..* 114(3):144–151, 2010.

[3] Nei M, Gojobori T, Simple methods for estimating the numbers of synonymous and nonsynonymous nucleotide substitutions, *Mol. Biol. Evol.* 3(5):418–426, 1986.