

DNA を用いたチンパンジーの年齢推定に成功

—野生動物の生態解明研究に画期的な進歩—

概要

京都大学野生動物研究センターの伊藤英之 特任研究員（兼：京都市動物園研究教育係長）、鶴殿俊史 特任研究員、平田聡 教授、村山美穂 教授（同センター長）らの研究グループは、チンパンジーについて、DNA のメチル化を検出することによって、これまで困難と考えられてきた年齢推定を可能にしました。年齢の判明している飼育チンパンジー20 試料（採取時の年齢 2-39 才）について、ヒトで年齢とメチル化の関連が報告されている遺伝子 ELOVL2、CCDC102B、ZNF423 のメチル化の割合を調べたところ、ELOVL2 は年齢と正の有意な相関がありました。CCDC102B と ZNF423 は有意ではありませんでしたが、年齢と共に減少する傾向がみられました。これらの傾向は、ヒトに関する先行研究も一致していました。8 個体の 20 年間の比較では、メチル化割合の増減に個体差が見られました。相関が低かった ZNF423 を除いて、ELOVL2 と CCDC102B の 2 遺伝子の 5 か所と年齢の相関係数は 0.74 と高く、誤差は 5.4 年でした。これらの遺伝子を指標として、ある程度の年齢推定が可能と考えられます。寿命の長い種においては、対象個体の年齢や集団の年齢構成を推定することができれば、生態の解明に大きく貢献することが期待できます。

本研究は、2018 年 7 月 3 日に英国の科学誌「Scientific Reports」にオンライン掲載されました。



今回資料を提供したチンパンジーの一匹、アキナ（提供：京都大学）

1. 背景

直接観察が困難な野生動物の研究において、フンや羽根から得られる DNA は、性別、個体識別、血縁関係など様々な情報が得られる貴重な手がかりです。しかしながら、DNA 配列の情報は生涯にわたって不変なため、年齢の情報を知ることは、困難と思われてきました。ところが最近、年齢によって DNA のメチル化の程度が異なることが注目され、DNA から年齢推定ができる可能性がでてきました。ヒトにおいては法医学への

応用の可能性が検討されていますが、野生動物については報告数が少ないのが現状でした。

2. 研究手法・成果

本研究は、京都大学野生動物研究センター熊本サンクチュアリにおいて飼育しているチンパンジー12 個体について、健康診断時に採取し冷凍保存した血液から DNA を抽出しました。そのうち 8 個体は、比較のために 20 年前から保存していた試料も用いました。ヒトで年齢とメチル化の関連が報告されている遺伝子 ELOVL2、CCDC102B、ZNF423 を PCR 増幅し、塩基配列の相同性を確認しました。DNA300ng（ナノグラム：10 億分の 1 グラム）をバイサルフェイト処理した後、配列にもとづいて設計したメチル化対応プライマーで PCR 増幅し、塩基配列を解析しました。

その結果、ELOVL2 は年齢と正の有意な相関がありました。CCDC102B と ZNF423 は有意ではありませんでしたが、年齢と共に減少する傾向がみられました。これらの傾向は、ヒトに関する先行研究とも一致していました。8 個体の 20 年間の比較では、メチル化割合の増減に個体差が見られました。相関が低かった ZNF423 を除いて、ELOVL2 と CCDC102B の 2 遺伝子の 5 か所と年齢の相関係数は 0.74 と高く、誤差は 5.4 年でした。したがって、これらの遺伝子を指標として、ある程度の年齢推定が可能と考えられます。

3. 波及効果

DNA から年齢推定ができれば、対象とする動物集団の年齢構成がわかります。寿命の長い種については、例えば保全に必要な遺伝的多様性が、どの年齢集団、どの世代の個体間のものなのかは、大変重要であり、年齢推定が実現できれば、野外での生態学的研究に画期的な進歩をもたらすことが期待できます。

4. 今後の予定

年齢推定に応用可能な規準を作るためには、個体数を増やして検証する必要があります。しかしパイロシーケンスは高額なため、安価な方法の開発が必要です。ヒトの ELOVL2 でリアルタイム PCR を用いた方法が報告されており、それをチンパンジーでも試す予定です。先日記者発表のあった京都大学医学研究科法医学研究室内の玉木教授、濱野博士と共同研究を進めています。

さらに、野外調査に役立てるため、身体を傷つけない試料での応用可能性を探ります。そのようなチンパンジーの試料としてはフンが考えられます。また哺乳類から鳥類までの多様な種に応用することを目指して、鳥類でもこれらの遺伝子の解析を進めていきます。すでに、年齢が既知のヤンバルクイナやペンギンを用いた解析を開始しています。

<用語解説>

メチル化：DNA のメチル化とは、塩基配列中のシトシンにメチル基が付加され、メチル化シトシンになることである。哺乳類のメスの片方の X 染色体の不活化、片親由来の遺伝子が不活化されるインプリンティング、臓器によって異なる遺伝子発現、癌やその周辺細胞での特異的な遺伝子発現、などがメチル化によって制御されている。

PCR 増幅：DNA の対象領域を 10 億倍以上に増幅し、解析に用いるための手法。

バイサルフェイト処理：処理後に塩基配列を解読すると、メチル化されていないシトシンはチミンとして読まれることから、メチル化の有無を解析することができる。

<論文タイトルと著者>

タイトル： Estimation of chimpanzee age based on DNA methylation

著者： Ito H, Udono T, Hirata S, Inoue-Murayama M

伊藤英之 (いとう・ひでゆき)、鵜殿俊史 (うどの・としふみ)、平田 聡 (ひらた・さとし)、村山美穂 (むらやま・みほ)

掲載誌： Scientific Reports DOI : 10.1038/s41598-018-28318-9

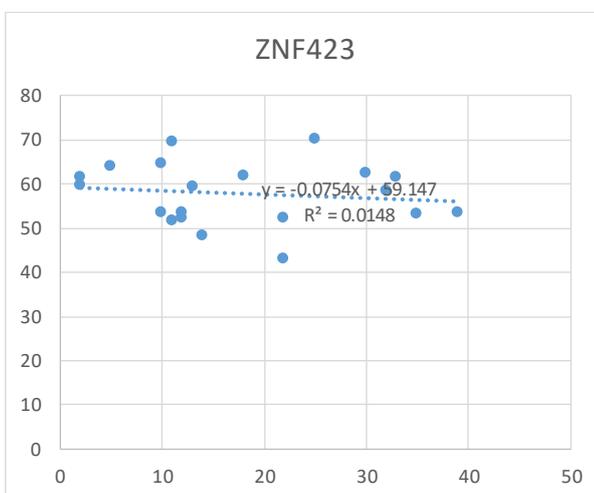
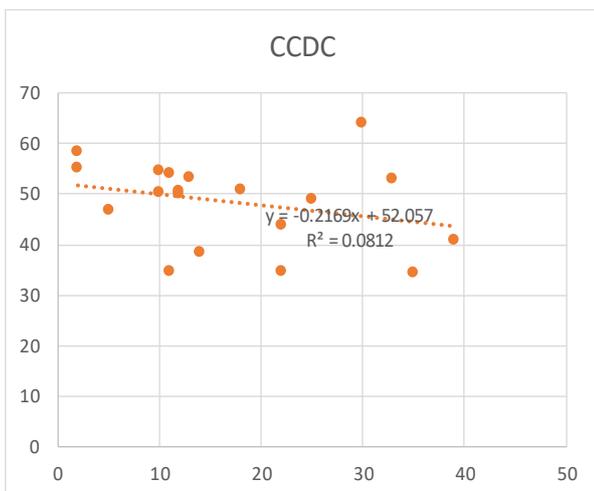
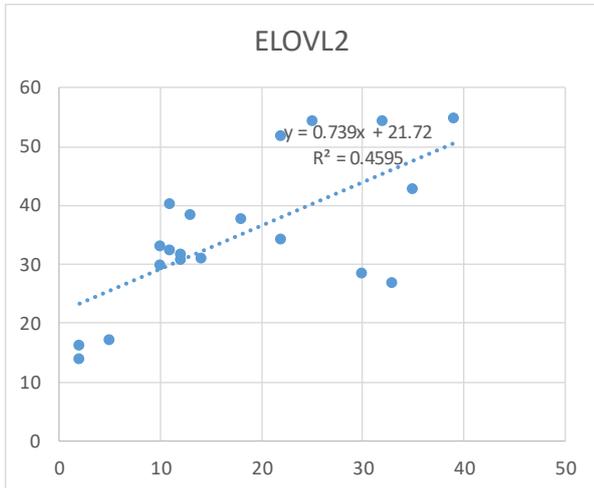


図 1. 年齢とメチル化の割合の相関

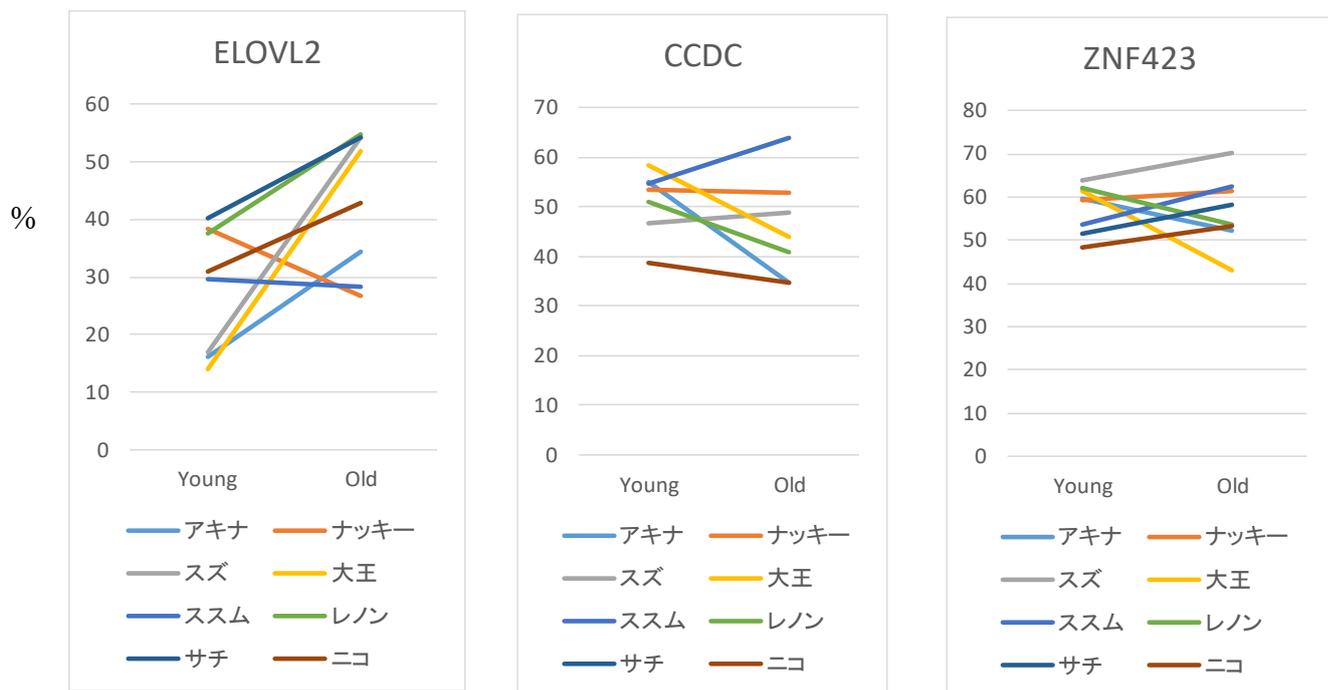


図 2. 同一個体における 3 遺伝子のメチル化の割合の変化