

平成 30 年 6 月 6 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2017

課題番号：15K07184

研究課題名(和文) ウミヘビ類の比較ゲノムに基づく海洋環境適応進化の分子的基盤の解明

研究課題名(英文) Studying aquatic adaptation of amniotes based on the comparative genomics of sea snakes

研究代表者

岸田 拓士(Kishida, Takushi)

京都大学・野生動物研究センター・特定助教

研究者番号：40527892

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：本研究では、両棲および海棲のウミヘビ類のゲノム解読や行動観察を行った。ウミヘビ類は、陸産のヘビ類と比べて化学感覚に関与する受容体遺伝子を多く失っていることが解明された。だが、残された受容体遺伝子に関して、両棲種ではまだ各嗅覚器官において発現している一方で、陸地を必要としない海棲種では、嗅上皮における発現が確認されなかった。こうした化学感覚受容体遺伝子の機能喪失は鯨類の進化でも確認されており、羊膜類の海洋環境への適応進化に伴う普遍的な現象であることが示唆された。しかしその一方で、海棲ウミヘビ類は、嗅覚のみで魚種を判別できることも示された。これは、羊膜類が水中で機能する嗅覚を持つ、初の報告である。

研究成果の概要(英文)：In this study, whole-genomes of amphibious and fully aquatic sea snakes were sequenced and assembled, and compared with that of terrestrial snakes. As a result, it is suggested that many chemosensory receptor genes were lost from the genomes of sea snakes. In addition, expression of RNA sequences of remaining chemosensory receptor genes is not confirmed in the nasal cavity of fully aquatic sea snakes. Degeneration of the chemosensory receptor genes is also confirmed in the case of cetaceans, suggesting convergent evolution being caused by aquatic adaptation. However, unlike cetaceans, it is revealed that fully aquatic sea snakes can smell underwater. No fully aquatic amniotes are known to be able to smell underwater and sea snakes are the only exception from this rule.

研究分野：進化生物学

キーワード：デノボアセンブル 感覚受容体遺伝子 嗅覚 AQP2

1. 研究開始当初の背景

海洋環境から陸上環境へ、あるいはその逆への適応進化は、生物の進化において非常に重要なイベントの一つである。その過程を解明することは進化生物学の重要な課題であるとともに、我々ヒトはどこから来たのか、という生物学の根本的な問いに答える上でも重要な手がかりを与えてくれる。申請者らは、羊膜動物におけるこうした適応進化研究のモデルとして、始新世に陸上から海洋へと移行した鯨類が有効であることを示した。現在では、多くの鯨類種のゲノムが報告され、海洋環境適応進化という観点からの比較ゲノム研究が盛んに行われている。しかしながら、海洋環境適応進化の分子的基盤を考える上で、鯨類だけを研究対象とすることには2つの理由で限界がある。すなわち、

1. 陸上近縁種と分岐後に、鯨類のゲノム上の多くの遺伝子が劇的に変化したことを、これまでの研究は示している。しかし、こうした変化が海洋環境への適応進化に伴って必然的に起こることなのかどうかを理解するためには、鯨類とは独立に海洋環境へと適応した動物群を調べる必要がある。
2. 羊膜動物が海洋環境へと進出する際には、一般的に両棲的な段階を経る。例えば鯨類も、始新世のおよそ2000万年間にわたって両棲的な生活をしてきた。従って、海洋環境適応の進化過程を考える上で、祖先的(両棲的)な種のゲノムの比較は重要である。だが両棲的な鯨類種は現在までに全て絶滅しており、そのゲノムを読むことができない。

現生の羊膜動物の中で、真の海洋性を獲得したグループが3つ存在する。一つは上に挙げた鯨類である。そして海牛類(ジュゴン類)とウミヘビ類。海牛類は近縁な陸上種(ゾウ)との遺伝的な距離が離れているため、十分な精度で比較ゲノム学的な解析を行うことが難しい。ウミヘビ類は陸上性のコブラ類から約1000万年に分岐した海洋性のヘビ類であり、卵生で陸上に産卵する「両棲」種と、胎生で一生涯を海中で過ごす「海洋性」種の両方が現存する。昨年、陸上近縁種であるキングコブラのゲノムが報告された。

2. 研究の目的

本研究は、具体的には次に上げる3つの目的を通して、羊膜動物の海洋環境適応進化の分子的基盤を解明することを大きな目的とする。

本研究ではまず、海洋性のウミヘビおよび両棲的なウミヘビを採集してゲノムを解読し、比較解析を行うことで、ヘビ類が海洋環境へと適応進化を遂げた際に大きく変化し

たゲノム領域を網羅的に解明する。さらには、両棲的なウミヘビ類のゲノムは、どのような点で陸上性のヘビ類に近く、どのような点で海洋性のヘビ類に近いのかを解明する[目的1]。海洋性羊膜動物に関する従来の研究では、ウミガメやアザラシなど両棲的な種の扱いが定まっておらず、研究者によって解釈が異なる状態となっている。ウミヘビ類を用いた本研究によって、海洋環境適応進化における両棲的な種の立ち位置が明瞭になるものと期待される。

海洋環境適応進化は一般的に、形態の劇的な変化を伴う。海洋性のウミヘビは、陸上歩行に必要なウロコである腹板が著しく退化しており、陸上を歩行することはできない。また、海洋性のウミヘビは脳の嗅球が著しく退化している(申請者の未発表データ)。鼻孔には蓋が備わっており、潜水中に蓋を閉じることで鼻道への海水の侵入を防ぐ。鯨類もまた、陸上歩行に必要な後肢を失っており、陸上を歩行することができない。ハクジラ類は脳に一切の嗅球を持たず、ヒゲクジラ類は副嗅球を持たない。鯨類もやはり、鼻孔に蓋が備わっている。このような、形態進化に見られる収斂進化が、ゲノム進化でも起きているのかどうか。例えば、鯨類とウミヘビ類それぞれの系統で、海洋環境適応に伴って嗅覚受容体が大規模に喪失していることを、申請者らは報告している。本研究では、陸上性ヘビ類のゲノムとウミヘビ類のゲノムの相違点を、陸上性偶蹄類と海洋性の鯨類のゲノムの相違点と比較することで、ゲノム上の収斂進化を網羅的に解明する[目的2]。

海洋環境 陸上環境適応進化に伴って、四肢の獲得/退化だけでなく、嗅覚能力が大きく変化することが、申請者の研究等によって広く知られるようになった。嗅覚能力は、1受容体1系球ルールによって、ゲノム上の遺伝子レパートリーと脳構造とが強くリンクする。ゲノム進化だけでなく脳の嗅球構造の表現型進化に関して、多くの両棲的あるいは海洋性の羊膜動物の脳を調べる。嗅覚能力を一つのモデルケースとして、海洋環境適応にともなうゲノムと表現型の進化の共通点を解明する[目的3]。

3. 研究の方法

1. 既に公表されているキングコブラその他陸産ヘビ類のゲノムデータをダウンロードして、本研究でアセンブルした海洋性および両棲的ウミヘビ類のゲノムデータと比較解析を行う。ゲノムワイドの大規模な欠失領域や、非同義置換率/同義置換率比が1に近い遺伝子を、計算機上で網羅的に探索する。
2. シークエンスしたショットガン配列を、アセンブルしたゲノム配列にマッピングする。ヘテロ塩基多型の頻度と分布

の片寄り情報を利用して、わずか1個体の全ゲノムデータから、その生物の有効集団サイズの進化的変遷を求める集団遺伝学的方法(PSMC法)が開発されている。分布の広さのために、ウミヘビ類を血縁バイアスなく多数個体サンプリングすることは難しい。海洋性の種と両棲的な種の両方でPSMC法による解析を行い、氷期などの地球環境の変動との関連性を考察する。陸上環境に依存する/しない、という点が、これらの環境変動とどのように関わるのかを推測することで、「海洋性」であることと「両棲的」であることの進化的な差異を考察する。

3. 申請者は現在、鯨類のゲノムアセンブルを行い、陸上性偶蹄類ゲノムとの比較解析を行っている。また、申請者以外にも多くの研究グループが、鯨類のゲノム進化に関する研究を行っている。これらの研究で得られた結果を、上記1で得られた結果と比較することで、海洋環境適応進化に際して必然的に変わると推測されるゲノム領域をあぶりだす。また、そのゲノム領域と密接に関わる表現型に関して、様々な海洋性羊膜動物と陸上性羊膜動物を調べる。
4. 申請者はこれまでに、鯨類とウミヘビ類とで収斂的に嗅覚受容体遺伝子を喪失していることを報告した。1受容体1系球ルールにより、受容体数の減少はそのまま、脳の嗅球上の系球体数の減少につながる。嗅球上の系球体は、その場所により機能が異なることが報告されている。鯨類と海洋性ウミヘビ類とでは、同じ場所に位置する系球体が失われる傾向にあるのだろうか。鯨類とウミヘビ類の嗅球の冠状切片を作成し、OMPやOMACSなどといった嗅球の領域を決定するタンパクの抗体を用いて免疫染色して比較する。一見「収斂進化」に見える現象が本当に収斂進化と言えるのかどうか、嗅覚をモデルとして検証する。

4. 研究成果

本プロジェクトでは、エラブウミヘビ族およびウミヘビ族からそれぞれ2種を選んでゲノム解読を行った。これら4種のゲノム解読を行う上で、使用するシーケンサーやDNAライブラリなどを種ごとに換えることで、現時点で一般に行われているゲノムのデノボアセンブルの各手法の評価も行った。また、これらゲノム解読を行った種のうち、エラブウミヘビ族およびウミヘビ族各1種の各組織のRNAも抽出して網羅的な解読を行った。

本研究の結果、陸産のヘビ類と比べて、ウミヘビ類は化学感覚に必要とされる受容体遺伝子を多く失っていることが解明された。ヘビ類は一般に嗅覚がよく発達している。ヘ

ビの嗅覚は大きく二つの神経系：鼻腔の嗅上皮を介した主嗅覚系と鋤鼻器官を介した鋤鼻嗅覚系とに分けられる。エラブウミヘビ族、ウミヘビ族ともに、主嗅覚系で使われる受容体遺伝子と鋤鼻嗅覚系で使われる受容体遺伝子の両方が、ゲノムから大幅に失われていた。エラブウミヘビ族の嗅覚受容体遺伝子はまだ各組織において発現しており、機能を保持していると推測されたが、陸地を必要としないウミヘビ族においては、嗅上皮において一切の嗅覚受容体遺伝子の発現が見られなかった。こうした化学感覚受容体遺伝子の喪失は鯨類の進化でも確認されており、羊膜類の海洋環境への適応進化に伴う普遍的な現象だと考えられる。しかしその一方で、行動学的実験を行ったところ、海棲ウミヘビ類は、嗅覚のみで魚種を判別できることが示された。これまで、海棲種に関してこうした事例は報告されておらず、これは、羊膜類が水中で機能する嗅覚を持つ、初の報告である。

海水は、陸水と異なり高濃度の塩分を含む。このため、羊膜類は海洋環境への進出に際して高濃度塩分環境への適応をせまられる。腎臓における浸透圧調節に重要な役割を果たす水チャネルタンパク・アクアポリン2(AQP2)の遺伝子がコードされているゲノム領域を複数の鯨類および偶蹄類で調べたところ、本来はアミノ酸をコードしないイントロン領域が鯨類のゲノムではアミノ酸をコードするように進化していたことが解明された。この配列の発現をRNA-iで阻害した鯨類の培養細胞は、阻害しない細胞と比べて、高濃度の塩分を含んだ培地における生存率が低下する。ウミヘビ類のAQP2遺伝子を調べたところ、相同な進化は確認されなかった。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

Kishida T, Population history of Antarctic and common minke whales inferred from individual whole-genome sequences, *Marine Mammal Science*, 33巻, 2017, 645-652 <https://dx.doi.org/10.1111/mms.12369> / DOI: 10.1111/mms.12369

② Kishida T, Suzuki M, Takayama A, Evolution of the *alternative AQP2* gene: acquisition of a novel protein-coding sequence in dolphins, *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 118巻, 54-57 <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.09.012> / DOI: 10.1016/j.ympev.2017.09.012

[学会発表](計7件)

岸田 拓土、鯨類の嗅覚受容体遺伝子レパートリーの解析～ヒゲクジラの嗅覚能力を分子から探る～、日本進化学会第 17 回大会、東京、2015、8/20-23

② 岸田 拓土、1 個体全ゲノム配列に基づいた

ミンククジラの個体数変動推定と種分化、日本進化学会第 18 回大会、東京、2016、8/25-28

清古 貴、岸田 拓土、戸田 守、颯田 葉子、寺井 洋平、ウミヘビ類の視覚における段階的な海棲適応、日本進化学会第 18 回大会、東京、2016、8/25-28

沓間 領、笹井 隆秀、岸田 拓土、飼育下におけるウミヘビ類の捕食行動の解析、平成 28 年度日本爬虫類両棲類学会、沖縄、2016、11/26-27

岸田 拓土、工樂 樹洋、辰見 香織、戸田 守、ウミヘビゲノムに探る羊膜類の海洋環境適応と嗅覚の進化、日本進化学会第 19 回大会、京都、2017、8/24-26

岸田 拓土、偶蹄類から鯨類へ：哺乳類の海洋環境適応に伴う生理的な変化、およびその背後にある遺伝子の進化、日本哺乳類学会 2017 年度大会、富山、2017、9/8-11

Kishida T, Olfactory capability of mysticetes inferred from the olfactory receptor repertoires and the functional regionalization of olfactory bulbs, Sensory Workshop, 22nd Biennial Conference on the Biology of Marine Mammals、ハリファックス、カナダ、2017、10/29

〔図書〕(計 2 件)

岸田 拓土、慶應義塾大学出版会、クジラの鼻から進化を覗く、2015、123

② Kishida T, Springer Japan, Evolution of the mammalian brain with a focus on whale olfactory bulbs. *In*: Brain evolution by design (eds., Shigeo S., Murakami Y. and Nomura T.), 2017, 329-342

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

取得状況 (計 0 件)

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岸田 拓土 (KISHIDA, Takushi)
京都大学・野生動物研究センター・特定助教

研究者番号： 40527892

(2) 研究分担者

なし

(3) 連携研究者

戸田 守 (TODA, Mamoru)
琉球大学・熱帯生物圏研究センター・准教授

研究者番号： 40378534

(4) 研究協力者

なし