

平成 22 年 6 月 25 日現在

研究種目:基盤研究(B)

研究期間:2005~2009

課題番号:17405022

研究課題名(和文)テナガザル視物質遺伝子の多様性に関する研究

研究課題名(英文)Diversity of the photo-pigment genes in gibbons.

研究代表者

三上 章允(Akichika Mikami)

中部学院大学・人間福祉学部・教授

研究者番号:40027503

研究成果の概要(和文):霊長類の色覚の進化を研究する目的で、東南アジアで飼育されているテナガザル 157 頭の視物質遺伝子を解析した。その結果、色盲個体は1頭も見つからなかった。また、吸収波長決定サイトを持つエクソン3に変異が少なく、イントロン部分に変異の多いことが明らかになった。この結果は、エクソン3の変異に選択圧がかかっている可能性を示唆した。

研究成果の概要(英文):In order to understand the evolution of color vision in primates, we analyzed photo-pigment genes of 157 gibbons in Indonesia and Thailand. As the results, we could not find any color vision abnormalities in Gibbons. In addition, we found that the nucleotide diversity of the exon 3 of the L/M color pigment gene was very low compared to the intron 3 or 4. The results suggested the selection pressure on the variation of the color pigment genes.

交付決定額

(金額単位:円)

	直接経費	間接経費	合計
2005 年度	4,100,000	0	4,100,000
2006 年度	3,300,000	0	3,300,000
2007 年度	3,300,000	990,000	4,290,000
2008 年度	1,750,000	750,000	2,500,000
2009 年度	750,000	0	750,000
総計	13,200,000	1,740,000	14,940,000

研究分野:生物学

科研費の分科・細目:応用人類学

キーワード:霊長類、色覚、視物質遺伝子、進化、テナガザル、色盲、淘汰圧

## 1. 研究開始当初の背景

狭鼻猿類の霊長類(旧世界ザル、類人猿、ヒト)は3種類の錐体視物質を持ち、その色覚は3色型である。3種類の視物質のうち中波長(M)と長波長(L)視物質の遺伝子はX染色体上にタン

デムに配列し、核酸のレベルでは相同性が高い。このため、ヒトでは減数分裂時にしばしば不等交差や遺伝子変換などの遺伝子組換えが起こり、遺伝子の増加や欠損・ハイブリッドの遺伝子を生成する。その結果、ヒトでは多くの多型が見ら

れ、赤緑色覚異常は、白人で 8%、X 染色体上に M 視物質遺伝子を多コピー持つヒトは 66% に達する。一方、申請者らの調査で、カニクイザルやチンパンジーではこの多型が非常に少ないことが分かってきた。この結果を受け、本研究ではテナガザルの視物質遺伝子の多型を調べた。

テナガザルは、類人猿に属するがチンパンジーに比べてヒトとの遺伝的距離が遠い。したがって、ヒトへの進化の過程から考えると、テナガザルは、カニクイザルとチンパンジーの中間に位置する。本研究チームは、すでにチンパンジーとカニクイザルで色覚異常の遺伝子を発見しているため、中間に位置するテナガザルの視物質遺伝子の検討は色覚の進化について貴重な情報を提供するはずである。また、テナガザルは、類人猿の中では多様性が高く、4つの亜属の間の遺伝的距離はヒトとチンパンジーの距離よりも遠い。さらに、テナガザルの亜属間で食性も異なり、色覚異常個体がいた場合の淘汰圧も異なると考えられる。これらの点で、テナガザルには視物質遺伝子の多型を期待できると考えた。

## 2. 研究の目的

テナガザルは、類人猿の中では多様性が高く、4つの亜属の間の遺伝的距離はヒトとチンパンジーの距離よりも遠い。また、亜属間で食性も異なり、色覚異常個体がいた場合の淘汰圧も異なると考えられる。これらの点で、テナガザルには視物質遺伝子の多型を期待できる。そこで、本研究では以下の調査研究により、テナガザルの視物質遺伝子を解析し、色覚の進化についての手掛かりを得ることを目指した。

- (1) テナガザルの 4 亜属、*Hylobates* 亜属、*Bunopithecus* 亜属、*Nomascus* 亜属、*Symphalangus* 亜属について東南アジアで、動物園の展示動物やペットなどとして飼育されているテナガザルを中心に血液サンプルを採取する。
- (2) 血液サンプルから得たテナガザルの視物質遺伝子とヒトの視物質遺伝子を比較し、ヒトとの相違、亜属間、種間の相違を明らかにする。その際、特に、吸収波長に影響する遺伝子座位に注目して調べる。また、M 視物質遺伝子を多コピー持つかどうかについても調べる。
- (3) 色覚異常と思われる遺伝子型が見つかった場合は、行動実験により表現型を確認する。

## 3. 研究の方法

テナガザルは家族で行動し、大きな集団で行動しない。また、森林地帯の樹上で生活する。そのため、野生テナガザルの捕獲調査は困難である。そこで本研究では、動物園で飼育するテナガザルや個人がペットとして飼育するテナガザルからのサンプル採取をおこなった。

採取地域は、タイで 3 か所 (56 頭)、インドネシア (ジャワ島およびカリマンタン島) で 4 か所 (49 頭) である。インドネシアで採取したサンプルは、ボゴール農科大学に持ち帰り、DNA 抽出キットを用いて DNA を抽出した。タイで採取した血液サンプルは、チュラロンコン大学に持ち帰り、独自プロトコールにより DNA を抽出した。DNA サンプルの一部は日本に持ち帰り DNA 配列の詳細を検討した。その他に、故竹中修氏が採取した DNA として保管していたインドネシア (スマトラ島およびカリマンタン島) のサンプル (52 頭) も使用した。

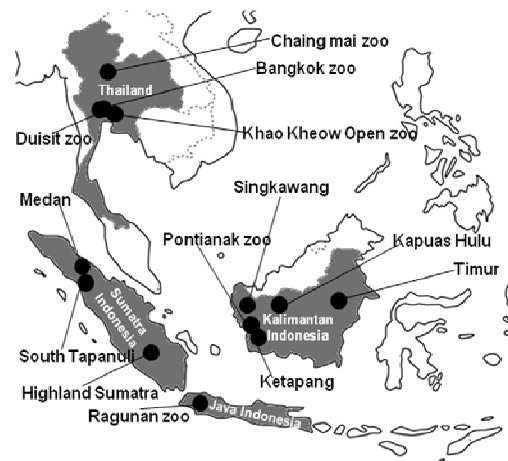


図 1 サンプル採取地域

## 4. 研究成果

テナガザル 3 属 8 種 158 個体に対し吸収波長決定に関与する exon 3 および exon 5 の 3 サイトの塩基配列の確認を行うことで、L オプシンと M オプシンの遺伝子型を判定した。遺伝子型の結果からテナガザルにおいては、欠失型やキメラ型は存在しなことが分かった。テナガザルでは、色盲・色弱個体は見つからなかったため、行動実験は実施しなかった。

そこでテナガザルの視物質遺伝子とヒトの視物質遺伝子の詳細を比較するために、L-M オプシン遺伝子塩基配列の系統ネットワークをテナガザルとヒトで比較した。

テナガザルの系統ネットワークの形状とヒトの系統ネットワークの形状の比較を行なった。ヒトは東京大学大学院新領域創成科学研究科の白井によって作成された日本人、フィリピンネグリティ集団(アエタ)、アフリカ人(ハウザ)、デンマーク人の exon3,4,5 の塩基配列情報をもとに作成したものを用いた(白井修士論文 2008)。テナガザルの系統ネットワークの形状から 1 つの配列タイプを複数の属が共有しているため、テナガザルでは 3 属の分岐以前にこれらの配列タイプが存在することが示唆される結果となった。L オプシン、M オプシンとも配列の変化に保守的であり L と M 間の組み換えの痕跡は見られなかった。

一方、ヒトでも複数の地域集団で配列タイプの共有が見られた。このことは変異の起源が集団ごとではなく集団分岐前から存在していることを示唆する。しかし、テナガザルと異なり 1 種であるのに関わらず、テナガザル 3 属よりも多くの配列タイプが存在している。また、L オプシン、M オプシンのクラスターの中に数多くのパラレルミュートーションが見られた。中には L オプシンと M オプシンを繋ぐようなパラレルミュートーションも見られた。パラレルミュートーションとは 2 つの異なった進化系統において、相同なアミノ酸サイトに起こる同じ突然変異である。極端に高い突然変異率によるパラレルミュートーションは通常考えにくいいため、この系統ネットワークの形状は遺伝子変換を含めた L-M オプシン間の組換えを示唆する結果である。

このことから、テナガザルでは 3 色型色覚を維持するような強力な淘汰圧が働いていると考えられる。しかし、対照的にヒトでは組換えが多く観察され、さらに 3 サイトの変化を含むような多くのタイプが存在していることがわかった。

さらに、L-M オプシンおよび中立対照遺伝子の塩基配列多様性を調べた。取得したテナガザルの 3 属 5 種 101 個体の塩基配列情報から L オプシン、M オプシンと中立対照領域についてそれぞれ種ごとに塩基多様度の算出を行った。比較対照としてのヒト、アフリカ-非アフリカ集団の L オプシンのデータを Verrelli and Tishkoff (2004) より引用した。また、L と M オプシンの塩基多様度の領域による違いを見るという視点から、exon、intron ごとに算出し、それぞれ 5 種の平均値を求めた(図2)。その結果、intron の塩基多様度の値は中立対照領域と同程度かあるいはそれよりもやや低いことがわかった。一方、exon では intron と中立対照領域よりも塩基多様度の値が非常に低いことがわかった。また、このような傾向は一般

的な機能を持つ遺伝子の傾向と一致し、exon では変異が自然選択で排除される傾向を示している。

ヒトに着目すると、中立対照領域の塩基多様度はテナガザルよりも低いことがわかった。これはヒトにおいて、過去にヒトがボトルネックを経験しており、霊長類の中でも有効集団サイズが小さいことを反映していると考えられる(Takahata and Satta, 1997)。ヒトの exon 5 では多型が極めて低く、テナガザルと同様な傾向にあった。しかし、exon 4 と intron 3 そして特に exon 3 は塩基多様度が顕著に高くなる傾向が観察された。このことから、ヒトでは exon 3 かその近傍で L と M の間で遺伝子変換の頻度が高く L から M へ、M から L への配列の導入が著しいことを示唆する。特に exon 3 では遺伝子変換が自然選択によって排除されていない可能性が示唆される。テナガザルに関しては塩基多様度のデータのみでは L と M の間で遺伝子変換は起きていることを積極的に支持する結果ではなかった。

つぎに、L と M の配列間の塩基相違度を求め、各領域での比較を行った。この塩基相違度の値を各領域で比較した結果、exon の違いが、intron での違いより大きいことがわかった。これは L-M オプシン遺伝子の領域ごとの塩基多様度の場合や一般的な遺伝子に期待されるパターンと全く逆の傾向であった。このことは intron での L と M の相違が遺伝子変換により打ち消され、両遺伝子間で塩基配列の均一化が生じていることを示唆する。さらに exon は自然選択により遺伝子変換の均一化が排除されていることを示唆する。しかし、ヒトの exon 3 ではそれでも L-M 間の相違がテナガザルに比べ低く、遺伝子変換が自然選択により許容されていることを示唆している。これは塩基多様度が exon 3 で高かったことと整合する。しかも、ヒトの exon 3 では L-M 間での相違の程度と塩基多様度が同程度になっている。このこともヒトにおける exon 3 の L-M 間の遺伝子変換を支持している。そしてこれこそがヒトにおける色覚多型の源泉であることを強く示唆している。

本研究でヒトとテナガザルの視物質遺伝子の多様性について得られた知見は色覚の進化、なぜ、ヒト以外のアジア・アフリカの霊長類で色盲・色弱が少ないかを考える上で新たな手掛かりを提供するとともに、色盲または色弱個体の見つかった他の種においても同様の検討が必要なことを示した。

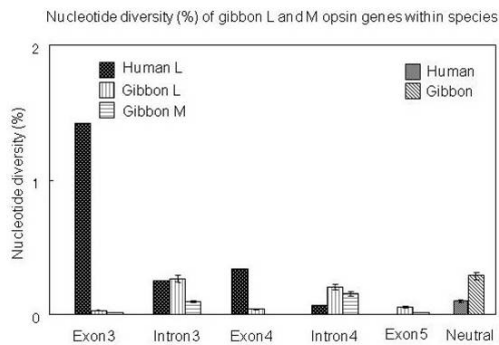


図2 LとMオプシン遺伝子の各領域における塩基多様度

取得したテナガザルの3属5種101個体の塩基配列情報からLオプシン、Mオプシンと中立対照領域についてそれぞれ塩基多様度の算出を行った。さらに、比較対照としてのヒト、アフリカと非アフリカ集団のLオプシンのデータを Verrelli and Tishkoff (2004)より引用し、exon, intron ごとに算出し、平均値を求めた。縦軸は塩基多様度を示し、横軸は領域を示している。また、薄赤色のバーはヒトのLオプシン遺伝子の塩基多様度を示し、薄青色のバーはヒトの中立対照領域の塩基多様度を示している。また、赤色と緑色のバーはテナガザルのLとMオプシン遺伝子の塩基多様度を示し、青のバーはテナガザルの中立対照領域の塩基多様度を示している。

## 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3件)

Saito A, Mikami A, Hosokawa T, Hasegawa T (2006) Advantage of dichromats over trichromats in discrimination of color-camouflaged stimuli in humans. *Perception and Motor Skills* 102: 3-12

Saito A, Mikami A, Kawamura S, Ueno Y, Hiramatsu C, Widayati KA, Suryobroto B, Teramoto M, Mori Y, Nagano K, Fujita K, Kuroshima H, Hasegawa T (2005) Advantage of dichromats over trichromats in discrimination of color-camouflaged stimuli in non-human primates. *American Journal of Primatology* 67: 425-436.

Saito A, Kawamura S, Mikami A, Ueno Y,

Hiramatsu C, Koida K, Fujita K, Kuroshima, H, Hasegawa T (2005) Demonstration of genotype-phenotype correlation in polymorphic color vision of a non-callitrichine new world monkey, capuchin *Cebus apella*. *American Journal of Primatology* 67: 471-485.

[学会発表] (計7件)

Mikami A, Onishi A, Hanazawa A, Terao K, Saito A, Widayati KA, Suryobroto B, Hiwatashi T, Kawamura S, Goto S, Siriaronrat B, Malaivijitnond S, Color Vision of Non-human Primates. 3rd International Congress on the Future of Animal Research (Bangkok, Thailand, Nov 2009)

Widayati KA, Suryoburoto B, Saito A, Mikami A, Color vision of color-blind gnen carrier monkeys. 3rd International Congress on the Future of Animal Research (Bangkok, Thailand, Nov 2009)

樋渡智秀、白井裕介、三上章允、後藤俊二、Bambang Suryobroto, Dyah Perwitasari-Farajallah, Suchinda Malaivijitmond, Boripat Siriaronrat、太田博樹、河村正二、テナガザルL-Mオプシン遺伝子の属を越えた非多様性、第25回日本霊長類学会、(各務原、2009年7月)

Widayati KA, Suryoburoto B, Saito A, Mikami A, Color vision of color-blind gnen carrier monkeys. The 2nd International Symposium for the GlobalCOE Program: Formation of a strategic base for biodiversity and evolutionary research (Kyoto, Japan, Nov 2008)

樋渡智秀、白井裕介、三上章允、後藤俊二、Bambang Suryobroto, Dyah Perwitasari-Farajallah, Suchinda Malaivijitmond, Boripat Siriaronrat、太田博樹、河村正二、テナガザルL-Mオプシン遺伝子の塩基配列多型調査、第80回日本遺伝学会、(名古屋、2008年9月)

樋渡智秀、三上章允、後藤俊二、Bambang Suryobroto、Dyah Perwitasari-Farajallah、Suchinda Malaivijitnond、Boripat Siriaronrat、

河村正二、L-M オプシンの遺伝子型調査に基づくテナガザル3色型色覚の普遍性の検討、第24回日本霊長類学会、(東京、2008年7月)

Mikami A, Onishi A, Hanazawa A, Koike S, Takenaka O, Goto S, Saito A, Widayati K, Angelika P, Jayadi A, Perwittasari-Farajallah D, Farajallah A, Ida-Hosonuma M, Komatsu H, Koida K, Yamamori T, Shichida Y, Hasegawa T, Kato K, Kondo A, Suryobroto B (2005) Color Blind Monkeys Found in Indonesia. International Symposium on Southeast Asian Primate Research, The Natural History Journal of Chulalongkorn University Supplement 1: 100. (Bangkok, Thailand, Oct 2005)

[図書] (計2件)

三上章允 (2009) サルにも色盲はあるか、生き物たちのつづれ織り. 京都大学グローバルCOE プログラム「生物の多様性と進化研究のための拠点形成ーゲノムから生態系までー」p.40-50.

三上章允 (2006) サルで色覚異常を探す. 竹中 修企画, 村山美穂, 渡邊邦夫, 竹中晃子編「遺伝子の窓から見た動物たちーフィールドと実験室をつないで」. P.313-327 京大出版会, 京都.

[その他]

ホームページ

[http://web2.chubu-gu.ac.jp/web\\_lab/mikami/brain/index.html](http://web2.chubu-gu.ac.jp/web_lab/mikami/brain/index.html)

## 6. 研究組織

### (1) 研究代表者

三上 章允 (MIKAMI AKICHIKA)  
中部学院大学・人間福祉学部・教授  
研究者番号：40027503

### (2) 研究分担者

後藤 俊二 (GOTO SHUNJI)  
野生生物研究所・主任研究員  
研究者番号：90093343  
小池 智 (KOIKE SATOSHI)  
東京都神経科学総合研究所・副参事  
研究者番号：30195630

### (3) 連携研究者

なし

### (4) 研究協力者:

齋藤 慈子 (SAITO ATSUKO)  
東京大学総合文化研究科・助教  
Dyah Perwittasari-Farajallah,  
ボゴール農科大学・講師  
樋渡 智秀 (HIWATASHI AKIHIDE)  
東京大学大学院新領域創成科学研究科・大学院生  
白井 祐介 (SHIRAI YUSUKE)  
東京大学大学院新領域創成科学研究科・大学院生  
太田 博樹 (OTA HIROKI)  
東京大学大学院新領域創成科学研究科・大学院生  
河村 正二 (KAWAMURA SHOUJI)  
東京大学大学院新領域創成科学研究科・准教授  
Kanthi Arum Widayati,  
インドネシア、ボゴール農科大学・講師  
Bambang Suryobroto,  
インドネシア、ボゴール農科大学・講師  
Suchinda Malaivijitnond,  
タイ、チュラロンコン大学・准教授  
Sudarath Baicharoen,  
タイ、バンコク動物園・主任研究員  
Boripat Siriaroonrat,  
タイ、バンコク動物園・研究員