

科学研究費助成事業（科学研究費補助金）研究成果報告書

平成 24 年 5 月 24 日現在

機関番号：14301

研究種目：基盤研究（B）

研究期間：2009～2011

課題番号：21370109

研究課題名（和文） ゲノム多様性を基盤とした霊長類の種内・種間感覚特性の解明

研究課題名（英文） Elucidation of the intra- and inter- species characteristics of sensory functions based on the genome divergence

研究代表者

今井 啓雄（IMAI HIROO）

京都大学・霊長類研究所・准教授

研究者番号：60314176

研究成果の概要（和文）：霊長類の視覚・味覚などの感覚特性について、種内・種間のゲノム多様性をもとに、遺伝子・タンパク質・行動レベルでの研究を行った。特に苦味感覚について、受容体の遺伝子多型が多く発見され、採食行動の地域差や個体差に影響があることが示唆された。また、タンパク質機能の種間比較により、類似の受容体でも感受性の種差があり、採食植物等に含まれる生理活性物質に対する味覚の差が存在することが明らかになった。

研究成果の概要（英文）：We investigated the chemical senses of primates in genetic, protein, and behavior level based on the genomic diversities. Lots of polymorphisms are identified especially in bitter taste receptor genes, which would reflect the regional and individual differences in the feeding behaviors of primates. By interspecies comparison of TAS2R16 functions between human, macaque, chimpanzee, and langur, we found interspecies differences in the sensitivity and selectivity of ligands like salicin contained in bark of willow trees. This result demonstrates the presence of interspecies differences in the sense of bitter taste, based on the genetic and protein functional difference, for the bioactive molecules contained in the feeding plants.

交付決定額

（金額単位：円）

| | 直接経費 | 間接経費 | 合計 |
|--------|------------|-----------|------------|
| 2009年度 | 7,000,000 | 2,100,000 | 9,100,000 |
| 2010年度 | 3,200,000 | 960,000 | 4,160,000 |
| 2011年度 | 2,800,000 | 840,000 | 3,640,000 |
| 年度 | | | |
| 年度 | | | |
| 総計 | 13,000,000 | 3,900,000 | 16,900,000 |

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：人類学・自然人類学

キーワード：霊長類・味覚・苦味・受容体・遺伝子

1. 研究開始当初の背景

これまで霊長類をはじめとした動物の感覚については、視覚研究が先行してきた。行動レベルでは色や形の認識について、あるいは昼行性・夜行性といった行動特性が報告されている。また、受容体分子レベル、受容細

胞レベル、そしてその後の神経連絡レベルそれぞれの特性が古くから研究されている。特に色覚については比較的少数の光受容タンパク質によって波長（色）情報の入力が行なわれていることが、研究の発展に寄与してきた。すなわち、旧世界ザルや類人猿は遺伝的に固

定されている赤・緑・青の三色性の色覚を持つものに対して、新世界ザルや原猿はむしろ、赤・緑の遺伝子多型を基盤とした色覚機構を持つことが示されている。

一方で近年では味覚・嗅覚などについても受容体タンパク質が次々同定されてきている。既にゲノムレベルでは味覚が数十種類、嗅覚が数百種類の受容体タンパク質によって担われていることが示唆されている。しかし、これらの受容体がどのような分子特性を持つのか、細胞レベルで発現しているのかどうか、あるいはどのような行動に寄与しているのかについてはほとんど知見がない。そこで本研究では、霊長類を対象として味覚・嗅覚といった化学感覚応答を分子・細胞・個体・種レベルで解明することを目的とした。特に受容体の遺伝子型とその発現パターンに対する、個体レベルの応答とその背景にある環境の関係を明らかにすることを目指した。

2. 研究の目的

本研究では、(1) 霊長類の味覚、特に約30種類ある苦味受容体遺伝子を対象として、苦味受容における遺伝子型と表現型の関係を精査し、動物、特にヒトを含む霊長類の苦味受容の遺伝的多型と認知多様性の関連を解明することを目指した。この計画の背景には野生の霊長類が様々な状況下で苦味物質を含む植物の葉などを採食しているという観察事実がある。すなわち、これらの成分に含まれる化学物質の生理・薬理機能とゲノム上に存在する多様な受容体の相互作用関係を精査することにより、苦味物質の受容機構と受容体を通じた食性の進化の関連を解明することを目指した。

また(2) 数百種類がゲノム上に散在している嗅覚受容体について、ゲノム情報から遺伝子候補を同定した上で分子・細胞レベルでの特性や多様性を決定することを目指した。

視覚も含めたこれらの感覚が関与する個体レベルの行動について、遺伝子多型を軸に遺伝子型と表現型との相関を決定することを目指した。

3. 研究の方法

(1) 分子実体を基盤にした味覚研究

霊長類の味覚受容体(チンパンジー、ニホンザル等)の遺伝子解析をすすめ、個体ごとに様々な遺伝子多型が存在するかどうかを検討した。多型が存在した場合、これらの遺伝子多型の持つ意味を、集団遺伝学的解析や分子生理学的解析により解明することを試みた。具体的には、大型類人猿ネットワークを通じた類人猿の試料や霊長類研究所内で飼育しているマカク類(ニホンザル、アカゲザル、カニクイザル)、新世界ザル(コモン

マーモセット、タマリンなど)の試料について大規模に遺伝子多型を精査した。

(2) ゲノム情報を基盤とした嗅覚受容体研究

連携研究者の郷らは、チンパンジー、アカゲザル、コモンマーモセットなどのゲノム概要配列がデータベース化されている霊長類について嗅覚受容体の網羅的解析を行い、それぞれの種に特異的な嗅覚受容体を同定している。これらの受容体について個々の特性を解明することにより、それぞれの種・個体が利用している嗅覚情報処理機構を明らかにする。具体的には、味覚受容体と同様にまず個体ごとの遺伝子多型を精査した。

(3) 苦味受容体TAS2Rの多様性を基盤とした霊長類の食性・生存戦略の総合的解明

遺伝子多型の受容体機能に対する影響は培養細胞系を用いて比較検討した。具体的には、HEK293細胞に発現させた受容体にリガンドの候補物質を順次作用させ、細胞内カルシウム濃度の上昇としてイメージング法により検出した。また、苦味物質(リガンド)が同定されている受容体については、アミノ酸置換の効果を検討した。

また、これらの遺伝子産物が舌上の味細胞で発現している量を様々な霊長類種を対象に検討した。研究所内外で死亡・供与された個体についてRNA試料を抽出し、主にリアルタイムPCR法により味細胞中に含まれるmRNA量を計測して遺伝子産物の発現量を確認した。

行動実験としてはチンパンジー(類人猿)、ニホンザル(旧世界ザルなどを対象とした行動実験を展開した。

まず、ヒトを含めて比較的受容体とリガンドと関係が明確な苦味受容体TAS2R38とphenylthiocarbamide(PTC)の系を用いて味覚について実験条件を整備した。これまでは霊長類を対象とした実験にはリンゴなどを苦味物質を含む溶液に浸したものを与え、拒否反応の程度を評価する方法が主流であったが、定量性に疑問が残る。そこで、マウスなどで広く用いられている二瓶法を用いることにより、一塩基多型(SNP)程度の感受性の違いでも検出可能な実験系の構築を目指した。

標準的な実験系が確立した後、既に化学物質が同定されている苦味受容体についての行動実験を行った。

以上の方法により、霊長類の感覚受容体の遺伝子多型と感覚応答を統合的に理解することを目指した。

4. 研究成果

(1) 京都大学霊長類研究所(14 個体)および京都大学野生動物研究センター・チンパンジーサンクチュアリ宇土(約 50 個体)に飼育中のチンパンジー個体、霊長類研究所に飼育中のニホンザル・アカゲザル個体(約 580 個体)の味覚受容体遺伝子型を網羅的に解析した。30 近い遺伝子のうち、20 個近くが非同義置換を含む遺伝子多型を示すことを見いだした。

チンパンジーは、アフリカでの生息地域により西、中央、東などの亜種に分類される。それぞれの生息地での採食活動を含めた行動の違いは報告されているが、その原因はまだ解明されていない。そこで我々は、味覚受容体の遺伝子多型による影響を検討するため、各亜種での多型分布を比較した。その結果、西亜種では苦味受容体について平衡選択の傾向が観察された(Sugawara et al., 2011; Sugawara and Imai, 2012)。平衡選択は、複数の遺伝子型が共存する状態であるため、それぞれの遺伝子産物の機能が異なれば、ヘテロ個体や集団中では苦味受容体の遺伝子数が見かけ上多くなるような効果を示す。このことから、我々は、数十種類の苦味受容体で数千種類の苦味物質を認識するための機構として、「遺伝子多型の存在によるタンパク質の機能的多数化」を提案した。また、西亜種に比べると少数であるが、東亜種等の苦味受容体の遺伝子配列も決定し、亜種によって遺伝子型が異なることが明らかになった。

ニホンザルについては、多くの苦味受容体の中でも人工苦味物質 PhenylThioCarbamide を受容する苦味受容体 TAS2R38 の遺伝子多型が顕著であった。特に、紀伊半島由来の個体から開始コドン ATG が ACG に変異している個体が約 30% の割合で発見された。ハプロタイプ解析の結果、この変異は、約 50 万年前にニホンザルとアカゲザルが分岐してから生じたものであることが示唆された。同様の変異は、チンパンジーで ATG が AGG に変異した個体が存在することが報告されている。興味深いことに、我々が調べたチンパンジー個体の中ではこのような変異は西亜種に限定され、東亜種等では観察されなかった。チンパンジーの亜種の分岐も約 50 万年前と推定されていることから、チンパンジーとニホンザルで TAS2R38 の偽遺伝子化という同様の表現型を生み出す別々の変異が同時期に生じたことが示唆される。ヒトで PTC の感受性が弱くなる変異も同様の時期に生じていることから、地球レベルでこの遺伝子の機能に対する制約が変化している現象が起こったのかもしれない。

(2) チンパンジーとニホンザルで、苦味受容体の遺伝子多型が見いだされたことから、これらの受容体機能に対する影響を、培養細

胞系を用いて比較検討した。具体的には、苦味受容体を HEK293 細胞に発現させた受容体にリガンドの候補物質を順次作用させ、細胞内カルシウム濃度の上昇としてイメージング法により検出した。その結果、TAS2R38 の開始コドンに生じた変異は受容体の機能を著しく低下させることがわかった。さらに、個体レベルで行動実験を行った結果、開始コドンの変異をホモ接合で持つ個体は PTC の苦味を見分けることができないことがわかった。

(3) 苦味受容体や関連 G タンパク質 (gustducin) の遺伝子産物が舌上の味細胞で発現している量を、RT-PCR 実験により確認した。チンパンジーの試料は舌前方の茸状乳頭を用いた結果、2005 年~2007 年に死亡・供与され冷凍した状態で保存していた 3 個体についてほぼ全ての TAS2R の発現を確認した。また、ニホンザルの試料については、舌前方の茸状乳頭、後方の有郭乳頭についてリアルタイム PCR 法により味細胞中に含まれる mRNA 量を計測して遺伝子産物の発現量を確認した。また、興味深いことに消化管でもいくつかの臓器で苦味受容体の発現が観察された。

(4) チンパンジー、マカク類(ニホンザル、アカゲザル)、コロブス類 (white-headed langur) 等の苦味受容体 TAS2R16 について、種間での遺伝子比較解析を行った。これらのアミノ酸置換により受容体の特性が変化する可能性が予測されたので、様々な種や個体の遺伝子配列比較から候補となるアミノ酸残基を抽出し、細胞レベル・個体レベルの実験により検証した。具体的には、苦味受容体として樹皮等に含まれる苦味物質 β グルコシド等を受容する TAS2R16 を対象に、このような種間の反応性の違いを行動レベルで検討した。タンパク質・細胞レベルの特性を検討するカルシウムイメージング装置によるリガンド結合実験によると、ヒトとチンパンジー、ラングール、ニホンザルといった種間で相同遺伝子産物でも受容体の反応性が異なることがわかった。特に、ヤナギの樹皮に含まれるサリシンに対する反応性はヒトとニホンザルで大きく異なり、ニホンザルはヒトよりも 10 倍近く感受性が低いことがわかった。そこで前年度までに整備した二瓶法 (two bottle test) を用いた行動実験によりその傾向を検証した結果、行動レベルでもニホンザルはサリシンに対する感受性がヒトよりも 10 倍近く低いことがわかった。これらの原因となるアミノ酸残基を同定するために、マカク類特異的に変異が起きている部位を対象としてヒト受容体の部位特異的変異体を作成し、効果を検討した。その結果、3 番目の膜貫通領域に存在する 86 番目のグ

ルタミン酸 (E) をマカク型 (T) にすると感受性が大きく下がることが分かった。この部位をマカク型 (T) にしたラングール受容体でも感受性が低下し、逆にその他の霊長類型 (E) にしたマカク受容体では感受性が増加した。これらの結果、ニホンザルなどのマカク類ではこの部位のアミノ酸置換により TAS2R16 の感受性が低下し、その結果、樹皮などの苦味を感じにくいため採食対象となりうることを示唆された。

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 8 件)

1. *H. Imai, N. Suzuki, Y. Ishimaru, T. Sakurai, L. Yin, W. Pan, K. Abe, T. Misaka, and H. Hirai (2012) Functional diversity of bitter taste receptor TAS2R16 in primates. *Biology Letters* in press. 査読有 10.1098/rsbl.2011.1251.
2. K. Katayama, Y. Furutani, H. Imai, and H. Kandori (2012) Protein-Bound Water Molecules in Primate Red- and Green-Sensitive Visual Pigments. *Biochemistry* 51, 1126-1133. 査読有 10.1021/bi201676y
3. H. Nagai, Y. Terai, T. Sugawara, H. Imai, H. Nishihara, M. Hori, and N. Okada (2011) Reverse evolution in RH1 for adaptation of cichlids to water depth in Lake Tanganyika *Mol. Biol. Evol.* 28, 1769-1776. 査読有 10.1093/molbev/msq344
4. *T. Sugawara, Y. Go, T. Uono, N. Morimura, M. Tomonaga, H. Hirai, and *H. Imai. (2011) Diversification of bitter taste receptor gene family in western chimpanzees. *Mol. Biol. Evol.* 28, 921-931. 査読有
5. N. Suzuki, T. Sugawara, A. Matsui, Y. Go, H. Hirai, and *H. Imai (2010) Identification of non-taster Japanese macaques for a specific bitter taste. *Primates* 51, 285-289. 査読有
6. K. Katayama, Y. Furutani, H. Imai, H. Kandori. (2010) An FTIR Study of Monkey Green- and Red-Sensitive Visual Pigments. *Angewandte Chemie* 49, 891-894. 査読有
7. T. Matsuyama, T. Yamashita, H. Imai, and Y. Shichida (2010) Covalent Bond between Ligand and Receptor Required for Efficient Activation in Rhodopsin. *J. Biol. Chem.* 285, 8114-8121. 査読有
8. T. Sugawara, H. Imai, M. Nikaido, Y. Imamoto, and N. Okada. (2010) Vertebrate Rhodopsin Adaptation to Dim Light via Rapid Meta-II Intermediate Formation. *Mol. Biol. Evol.* 27, 506-519. 査読有

[学会発表] (計 31 件)

1. 今井啓雄 霊長類味覚受容体の進化、日本生理学会大会第 89 回大会シンポジウム、2012 年 3 月 31 日、松本
2. 今井啓雄 「ゲノム多型の機能解析：霊長類」第二回脳表現型の分子メカニズム研究会、2011 年 11 月 19 日、東京
3. 早川卓志 チンパンジーの味覚に地域差はあるか？～分子遺伝学からの考察～、SAGA14、2011 年 11 月 12 日、熊本
4. Nami Suzuki, Region specific dysfunction of bitter taste receptor TAS2R38 in Japanese macaques, The 9th International Symposium on Molecular and Neural Mechanisms of Taste and Olfactory Perception、2011 年 11 月 6 日、福岡
5. 今井啓雄 「霊長類バイオリソースの現状と展望」熊本大学第 16 回遺伝子実験施設セミナー「バイオリソース最前線」2011 年 10 月 12 日、熊本
6. 権田彩 コモンマーモセットにおける消化器系での味覚情報伝達物質の定量的解析、第 45 回大会、金沢、2011 年 10 月 6 日
7. 今井啓雄 霊長類ゲノムスクリーニングによる自然発生的遺伝子変異モデルの探索、第 34 回日本神経科学学会大会シンポジウム、横浜、2011 年 9 月 18 日
8. Hiroo Imai, Functional evolution of primate TAS2Rs, シンポジウム「環境適応の最前線：感覚受容体の機能進化」Adaptive molecules: functional evolution of sensory receptors、日本進化学会第 13 回大会、京都、2011 年 7 月 30 日
9. 鈴木南美 ニホンザルにおける地域特異的な苦味感受性変異、日本進化学会第 13 回大会、京都、2011 年 7 月 30 日
10. 早川卓志 チンパンジー-3 亜種における苦味受容体遺伝子ファミリーの分子進化、日本進化学会第 13 回大会、京都、2011 年 7 月 30 日
11. 鈴木南美 ニホンザルにおける苦味受容体 TAS2R38 の地域特異的な感受性変異第 27 回日本霊長類学会大会、犬山、2011 年 7 月 17 日
12. 早川卓志 チンパンジー-3 亜種における苦味受容体遺伝子ファミリーの分子進化第 27 回日本霊長類学会大会、犬山、2011

- 年 7 月 17 日
13. 今井啓雄、苦味受容体 TAS2R16 感受性の種間差と分子機構 第 27 回日本霊長類学会大会、犬山、2011 年 7 月 17 日
 14. Hiroo Imai, Polymorphism in Bitter Taste Receptors of Primates. Association for Chemoreception Sciences 2010 annual meeting, St. Petersburg, USA, April 22, 2010,
 15. Hiroo Imai, Differences in bitter taste receptors and behaviors in species and sub-species of primates: Identification of non-taster Japanese macaques for a specific bitter taste. European Chemoreception Research Organization XXth CONGRESS, Avignon, France, September 18, 2010
 16. Hiroo Imai, BITTER TASTE RECEPTORS OF PRIMATES. International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010、2010 年 9 月 13 日、京都
 17. Tohru Sugawara, DIVERSIFICATION OF BITTER TASTE RECEPTOR GENE FAMILY IN CHIMPANZEES. International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010、2010 年 9 月 13 日、京都
 18. Nami Suzuki, REGION-SPECIFIC DISTRIBUTION OF NON-TASTER JAPANESE MACAQUES. International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010、2010 年 9 月 14 日、京都
 19. Takashi Hayakawa, INTRASUBSPECIFIC POLYMORPHISMS AND INTERSUBSPECIFIC DIVERGENCE OF BITTER TASTE RECEPTOR GENES IN CHIMPANZEES. International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010、2010 年 9 月 14 日、京都
 20. Nami Suzuki, Genetic Polymorphism in Sensory Receptor Genes of Primates, The 4th International Symposium of the Biodiversity and Evolution Global COE project "Evolution of Sensor, Communication and Society", Kyoto, 2010 年 9 月 12 日.
 21. 早川 卓志 チンパンジー亜種集団間における苦味受容体遺伝子配列の比較解析 日本進化学会大会、東京、2010 年 8 月 2-5 日
 22. 鈴木南美 苦味受容体遺伝子の多型解析による味覚変異ニホンザルの発見、日本味と匂い学会大会、北九州、2010 年 9 月 8-10 日
 23. 今井啓雄 霊長類苦味受容体から何がわかるか分子研研究会「拡がるロドプシンの仲間から」何がわかるか”何をもたらすか”岡崎、2010 年 3 月 24 日
 24. 鈴木南美 受容体の多型解析による味覚変異ニホンザルの発見 分子研研究会「拡がるロドプシンの仲間から」何がわかるか”何をもたらすか”岡崎、2010 年 3 月 24 日
 25. 菅原亨 苦味受容体の多様性探索 分子研研究会「拡がるロドプシンの仲間から」何がわかるか”何をもたらすか”岡崎、2010 年 3 月 24 日
 26. Hiroo Imai "Sensory receptors as a model system of post-genome primatology" 生物多様性国際会議「霊長類のゲノム多様性研究」、犬山、2010 年 3 月 6 日
 27. 今井啓雄 霊長類苦味受容体の多型解析第 47 回日本生物物理学学会年会、徳島、2009 年 10 月 30 日
 28. 今井啓雄 霊長類苦味受容体の遺伝子多型解析第 7 回国際シンポジウム「味覚嗅覚の分子神経機構」、福岡、2009 年 11 月 3 日
 29. 今井啓雄 霊長類苦味受容体の遺伝子多型解析日本味と匂学会第 43 回大会、旭川、2009 年 9 月 3 日
 30. 今井啓雄 霊長類感覚受容体の遺伝子多型解析とデータベースの構築. 第 32 回日本神経科学大会、名古屋、2009 年 09 月 17 日
 31. 今井啓雄 霊長類苦味受容体の遺伝子多型解析. 第 25 回日本霊長類学会大会、各務ヶ原、2009 年 7 月 19 日
- [図書] (計 3 件)
1. T. Sugawara and H. Imai (2012) Post-Genome Biology of Primates Focusing on Taste Perception. In Post-Genome Biology of Primates, Springer (eds H. Hirai, H. Imai, Y. Go) pp 79-92.
 2. 今井啓雄、松井 淳 (2009) 視覚・嗅覚はサルとヒトでどう違う？サルでもフェロモンは感じるの？「新しい霊長類学」pp323-330 (京都大学霊長類研究所編) 分担執筆、講談社ブルーバックス.
 3. 今井啓雄 (2009) 霊長類の味覚にゲノムから挑む。「生き物たちのつづれ織り」第二巻、pp43-46 (京都大学グローバル COE 広報冊子) .
- [その他]
- 報道
1. 今井啓雄「ニホンザル、苦味に鈍感」(産経新聞、2012 年 4 月 10 日)
 2. 今井啓雄「ニホンザルは苦味に強い!？」(日刊工業新聞、2012 年 3 月 27 日)

3. 今井啓雄「ニホンザル苦味に鈍感」(朝日新聞、2012年3月23日、朝刊)
4. 平井啓久・今井啓雄「ニホンザル苦味に強い」(京都新聞、2012年3月16日、朝刊)
5. 今井啓雄・早川卓志「チンパンジー、生息地で味覚異なる」(読売新聞中部版、2011年12月28日、朝刊)
6. 今井啓雄・鈴木南美「紀伊のサル苦み去る」(読売新聞全国版、2011年7月27日、夕刊)

ホームページ等

http://www.kyoto-u.ac.jp/ja/news_data/h/h1/news6/2011/120315_2.htm

6. 研究組織

(1) 研究代表者

今井 啓雄 (IMAI HIROO)
京都大学・霊長類研究所・准教授
研究者番号：60314176

(3) 連携研究者

郷 康広 (GO YASUHIRO)
京都大学・霊長類研究所・助教
研究者番号：50377123

(4) 研究協力者

平井啓久(京都大学・霊長類研究所・教授)
松井淳(京都大学・霊長類研究所・研究員)
菅原亨(同上・現成育医療センター)
伯川美穂(同・技術員)
鈴木南美(同・大学院生)
早川卓志(同・大学院生)
友永正己(同・准教授)
鶴殿俊史(京都大学・野生動物研究センター
ー熊本サルクチュアリ・特任研究員)
森村成樹(同・特任助教)
石丸良朗(東京大学・大学院農学
生命科学研究科・特任助教)
桜井敬展(同・共同研究員)
三坂 巧(同・准教授)
阿部啓子(同・特任教授)
Yin Lijie(北京大学・生物多様性研究拠点
・講師)
Wenshi Pan(同・教授)