

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 20 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22770082

研究課題名（和文）ヘビ類の嗅覚受容体遺伝子の機能とウミヘビの同所的種分化の分子的基盤に関する研究

研究課題名（英文）Studies on molecular basis of snake olfaction and the speciation between two sympatric sibling species of sea snakes.

研究代表者

岸田 拓士（KISHIDA TAKUSHI）

京都大学・大学院理学研究科・研究員（グローバル COE）

研究者番号：40527892

研究成果の概要（和文）：

ウミヘビ類の持つ嗅覚受容体遺伝子のレパートリーを網羅的に解読した結果、海洋環境への適応度合が上がるにつれて嗅覚能力が衰退することが解明された。しかし、完全な海洋性のウミヘビでも副嗅覚系（鋤鼻嗅覚系）の機能は維持されていることが示唆された。さらには、同所的種分化の分子的基盤の解明のために、同所的に生息する 2 種の近縁なウミヘビであるバヌアツアオマダラウミヘビとアオマダラウミヘビの嗅覚受容体遺伝子の比較を行ったが、現時点で顕著な違いは発見できていない。

研究成果の概要（英文）：

Olfactory receptor (OR) gene repertoires in fully aquatic, amphibious and terrestrial snakes were analyzed. As a result, it has been confirmed that aquatic adaptation causes the reduction of the number of OR genes not only in the case of mammals, but also in the case of snakes. However, unlike marine mammals, sea snakes still possess well-developed vomeronasal organs. In addition, the OR gene repertoires between two sympatric sibling sea snake species, *Laticauda colubrina* and *L. frontalis* were compared, but there are no significant differences between them.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010 年度	2,500,000	750,000	3,250,000
2011 年度	800,000	240,000	1,040,000
年度			
年度			
年度			
総計	3,300,000	990,000	4,290,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：基礎生物学、生物多様性・分類

キーワード：嗅覚・進化・海洋性羊膜動物・ヘビ亜目

1. 研究開始当初の背景
同所的な種分化に関しては、ダーウィンが

「種の起源」の中でその可能性に言及して以来、これまでに多くの研究がなされてきた。

特に、海洋生物の多く、中でも小型歯鯨類（イルカ類）やウミヘビ類の多くは同所的に種分化してきたと考えられている。しかしながら、その直接的な証拠はいまだにほとんど得られていない。

2002年にシドニー大学のRichard Shine博士らは、*Laticauda*属の近縁なウミヘビ2種・西部熱帯太平洋の広域に分布する種 *L. colubrina* と、その近縁種である南太平洋のバヌアツ島嶼地域の固有種 *L. frontalis* の同所的種分化のメカニズムを詳細に調べた。その結果、種間の主な生殖隔離機構は体表面のにおい成分の違いに起因しており、交配時にメスがオスの体表面を舌を使って舐めるタンフリック行動によって、*frontalis*のメスは同種のオスを区別していることを解明した(Shine et al. 2002)。

研究代表者はこれまで、クジラやウミヘビなど海洋性羊膜動物の嗅覚受容体(Olfactory receptor, OR)遺伝子の進化に関して研究しており、その結果、それら二次的な海洋性脊椎動物は、海洋環境に適応した時期に、ゲノム中に保持していたOR遺伝子のほとんどを失うことを解明した(Kishida et al. 2007, Kishida & Hikida 2010)。このことは、我々陸上羊膜動物の持つ嗅覚受容体のほとんどは、海中では役に立たない、揮発性の嗅物質を認識するものであることを示唆している。また、ウミヘビを含めた有鱗目での嗅覚受容体の進化に関して調べた結果、ヘビ類に特異的なORサブファミリーが存在すること、およびそのサブファミリーはウミヘビ類でも失われることはなく、むしろ逆に発達していることから水溶性の嗅物質の認知、つまりはタンフリック行動による嗅覚認識に関するという仮説を提案した(Kishida & Hikida 2010)。これらの結果は、研究代表者が新たに発見したORサブファミリーが *colubrina* と *frontalis* の種分化に深く関わっていることを示唆している。

昨年2008年10月に、日本を含めた国際研究チームによって、タンガニーカ湖のシクリッドは同所的に種分化しており、その主な生殖隔離機構は、種ごとに異なるオスの体色に対するメスの種特異的な選好性によること、そしてその分子基盤として、光受容体オプシン遺伝子が種間で適応的に変異していることが報告された(Seehausen et al. 2008)。この報告は、環境受容体が種分化に深く関わることを示した初の事例である。

2. 研究の目的

(1) 従来、胎生ウミヘビ類は主嗅覚系が失われている一方で、副嗅覚系（鋤鼻嗅覚系）は陸上性近縁種と同程度に発達していると考えられてきた。本研究では、組織化学的方法

を用いて、上記仮説を検証する。

(2) 胎生ウミヘビ類の嗅覚器官で発現している嗅覚受容体遺伝子を特定することで、ヘビ類の鋤鼻嗅覚系の分子的基盤を解明する。

(3) 鋤鼻嗅覚系で発現している嗅覚受容体遺伝子を、バヌアツで同所的に種分化した2種の卵生ウミヘビ・*L. colubrina* と *L. frontalis* の間で比較することで、種分化のもととなった遺伝子の存在を突き止める。

3. 研究の方法

(1) 胎生ウミヘビ、*Laticauda*属ウミヘビ数種(*colubrina*, *frontalis*, *laticaudata*)、および彼らに近縁な陸上性ヘビ類のゲノムから嗅覚受容体を増幅し、次世代シーケンサー(Roche 454 GS Jr.)を使って網羅的に解読する。

(2) 胎生ウミヘビの頭部の切片を作成し、観察を行う。

(3) 胎生ウミヘビの頭部からRNAを抽出し、次世代シーケンサーを用いて網羅的に解読する。

(4) (1)および(3)により、ヘビの鋤鼻嗅覚系に必要なとされる嗅覚受容体遺伝子レパートリーが解明されるので、それらの遺伝子を *L. colubrina* と *L. frontalis* の間で比較する。

4. 研究成果

バヌアツアオマダラウミヘビ *Laticauda frontalis* やアオマダラウミヘビ *L. colubrina*、ヒロオウミヘビ *L. laticaudata* (以上卵生ウミヘビ)、クロガシラウミヘビ *Hydrophis melanocephalus* (胎生ウミヘビ)、ヒヤン *Sinomicrurus japonicus* (コブラ科陸上性ヘビ)の核DNAから嗅覚受容体遺伝子を増幅して次世代シーケンサーで網羅的な解読を行った。この結果、それぞれのヘビ類の持つ嗅覚受容体遺伝子のレパートリーが明らかとなり、また、海洋環境への適応度合が上がるにつれて嗅覚能力が衰退することが解明された。

さらには、胎生ウミヘビ(クロガシラウミヘビ・イイジマウミヘビ)の頭部を解剖して嗅覚器官(鋤鼻器)を摘出し、その組織化学的観察およびRNAの抽出を行った。鯨類や海牛類など、海洋性羊膜動物のほとんどは主嗅覚系より早くに副嗅覚系(鋤鼻嗅覚系)の機能が失われることが報告されているが、胎生ウミヘビの鋤鼻器は十分に発達していた(図1)。

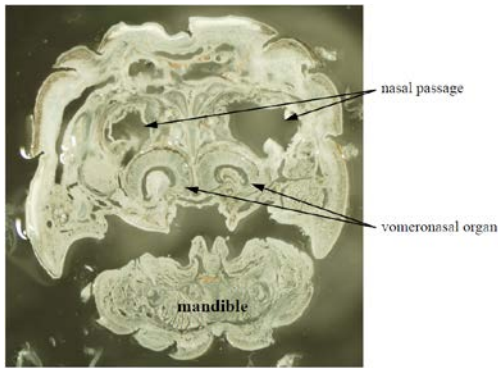


図1 イイジマウミヘビ頭部の横断切片

そのRNAに含まれる嗅覚受容体遺伝子配列の単離を試みた結果、多くの嗅覚受容体遺伝子の取得に成功した。これらの結果は、クロガシラウミヘビの鋤鼻器は陸上性のヘビ類と同じく嗅覚器官としての機能を保持しており、その分子的基盤として一部の嗅覚受容体遺伝子が働いていることが解明された。さらには、同所的種分化の分子的基盤の解明のために、同所的に生息する2種の近縁なウミヘビであるバヌアツアオマダラウミヘビとアオマダラウミヘビの嗅覚受容体遺伝子の比較を行ったが、現時点で顕著な違いは発見できていない。

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)

①岸田拓土、Aquatic adaptation and the evolution of the loss of olfaction in amniotes、Evolution and Senses: SpringerBriefs in Biology、査読有、印刷中。

②岸田拓土、J. G. M. Thewissen、Evolutionary changes of the importance of olfaction in cetaceans based on the olfactory marker protein、Gene、査読有、492 巻、2012、pp. 349-353、DOI: 10.1016/j.gene.2011.11.013
<http://repository.kulib.kyoto-u.ac.jp/dspace/handle/2433/152383>

③岸田拓土、天国に最も近い動物たち、生き物たちのつづれ織り (京都大学理学研究科・生物多様性グローバルCOE発行)、査読無、4巻、2011、pp. 163-164。

[学会発表] (計 5件)

①岸田拓土、有鱗類、特にウミヘビ類の感覚受容体遺伝子レパトリーの進化的解析、日本爬虫両棲類学会第50回記念大会、2011年10月8日、京都大学(京都府)。

②岸田拓土、戸田守、疋田努、The olfactory receptor genes expressed in the vomeronasal organ of fully aquatic hydrophiine sea snakes、6th Triennial conference on secondary adaptation of tetrapods to life in water、2011年6月9日、サンディエゴ(米国)。

③岸田拓土、疋田努、ヘビ類の嗅覚受容体遺伝子の分子進化的解析、日本爬虫両棲類学会第49回大会、2010年10月9日、慶応義塾大学(神奈川県)。

④岸田拓土、Evolution of olfactory systems in whales and sea snakes: same cause but different effects. 4th International symposium of the Biodiversity & Evolution Global COE Project、2010年9月12日、京都大学(京都府)。

⑤岸田拓土、Clement Lamy、戸田守、阿形清和、疋田努、クジラとウミヘビの嗅覚器官とOlfactory Marker Protein(OMP)遺伝子、第12回日本進化学会大会、2010年8月4日、東京工業大学(東京都)。

[その他]

アウトリーチ活動情報:

2011年度京都大学サイエンスコミュニケータープロジェクトに参加

『生物多様性って何だろう? -海を泳ぐ羊膜動物の研究を通して-』という題目で下記4校にて講演。

鈴鹿中学校 /2011年8月1日

和歌山県立田辺中学校 /2011年10月18日

徳島県立富岡西高等学校 /2011年10月25日

山口市立白石中学校 /2011年11月10日

6. 研究組織

(1) 研究代表者

岸田 拓士 (KISHIDA TAKUSHI)
京都大学・大学院理学研究科・研究員(グ
ローバル COE)
研究者番号：40527892

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3) 連携研究者

()

研究者番号：