

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 6月19日現在

機関番号：82612

研究種目：若手研究（B）

研究期間：2010～2011

課題番号：22770233

研究課題名（和文） 味覚受容体を指標とした霊長類の環境適応の分子機構の解明

研究課題名（英文） Molecular mechanisms of adaptive evolution in primate taste receptors

研究代表者

菅原 亨（TORU SUGAWARA）

独立行政法人国立成育医療研究センター 生殖・細胞医療研究部 研究員

研究者番号：70553460

研究成果の概要（和文）：苦味は、Gタンパク質共役受容体（GPCR）の1種であるT2Rを介した経路で伝わる。チンパンジーやニホンザルにおいて機能的なT2Rの多型解析をおこない、T2Rの高度な種内多様性をあきらかにした。本研究により、T2Rの種内多型の保持が多種多様な苦味物質を限られた数の受容体で認識する機構のひとつであることが示唆された。また、ヒト・チンパンジー・ニホンザルにみられるPTC感受性における個体差は、T2R38に独立に起こった変異が原因であることをあきらかにした。

研究成果の概要（英文）：Bitter taste is mediated by *T2R* genes, which belong to the G protein-coupled receptors. We investigated the intraspecies variations of functional *T2R* genes in chimpanzees and Japanese macaques, and found that they showed high nucleotide diversity along with a large number of amino acid substitutions. These trends result in the occurrence of various divergent alleles of *T2Rs* within the primate populations and in heterozygous individuals who might have the ability to taste a broader range of substances. In addition, we revealed that phenotypic polymorphism of sensitivity to PTC was caused by the independent mutations of *T2R38* in humans, chimpanzees and macaques.

交付決定額

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
2010年度	1,700,000	510,000	2,210,000
2011年度	1,500,000	450,000	1,950,000
年度			
年度			
年度			
総計			4,160,000

研究分野：生物学

科研費の分科・細目：進化生物学

キーワード：遺伝子・進化・ゲノム・チンパンジー・ニホンザル

1. 研究開始当初の背景

味覚は、食物を選択する際に必要な能力であり、味覚の違いが生物の採食行動の形成に重要な役割を果たしてきた。実際、ヒトとマウスの味覚受容体遺伝子の比較から、味覚の種特異性が示唆されている。しかし、これまでヒト以外の霊長類の味認識機構は詳細な

解析がほとんどおこなわれていない。

2. 研究の目的

チンパンジー・ニホンザル・アカゲザルを対象として味覚受容体遺伝子の種間・種内個体間の多様性を調べ、味覚多様化のゲノム基盤解明を目指す。

3. 研究の方法

(1) 甘味・うま味は、栄養・カロリーの高い食物を認識するために進化したと考えられる。甘味・うま味を受容する T1R は、およそ 3000bp の長さを持つ遺伝子で、N 末端に非常に長い細胞外ドメインを持つ。前述したように、苦味は、植物に含まれる毒物を認識するために進化したと考えられる。苦味受容体 T2R は、およそ 900bp の長さでイントロンがない遺伝子である。一方、酸味は、未熟な食物や腐敗した食物を認識するために進化したと考えられる。酸味を受容する PKD1L3 は、11 回膜貫通構造を持つおよそ 5000bp の長さの遺伝子で、N 末端に長い細胞外ドメインを持つ。また、PKD2L1 は、およそ 2400bp の長さの遺伝子で 6 回膜貫通構造を持つ。各味覚受容体遺伝子についてそれぞれ数十個体の遺伝子型を解析する。

(2) 遺伝子の数がそのまま味覚の能力と比例関係にあるとは限らない。そこで各味覚受容体の機能を解析する。方法としては、カルシウムイメージング法である。受容体を培養細胞に強制発現させる際に、GPCR に反応する G 蛋白質も同時に発現させることで、受容体の活性を細胞内のカルシウム濃度の上昇という形で検出することができる。

4. 研究成果

(1) ニシチンパンジー約 100 個体を対象とした苦味受容体(T2R)の多様性解析

苦味の感知は、有毒な物質や消化吸収の困難な食物の摂食に対して警告を発する生物にとって非常に重要な感覚入力の一つである。苦味は、七回膜貫通型構造を持つ典型的な GPCR の 1 種である T2R を介した経路で伝わる。ヒトゲノム中には、T2R が 36 コピー存在し、その中で機能遺伝子が 25 個あり、多型解析からヒト T2R の塩基多様度、それに伴うアミノ酸置換の割合が非常に高いことがわかっている。本研究で我々は、46 個体のニシチンパンジーを対象に T2R の機能遺伝子全 28 種類の配列を解析し、ヒトの T2R 遺伝子との対比から苦味受容能の進化について考察した。二つのことが明らかになった。第 1 は、ニシチンパンジー個体間で機能を保持している T2R 遺伝子のコピー数は異なるが、多くのニシチンパンジーがヒトより 2~3 コピー多くの T2R 遺伝子を持つこと。第 2 は、ヒトと同様に T2R 遺伝子の個体間での多様性が高いことである。進化的傾向を調べるため、中立的進化の指標として非コード領域の配列を同一個体で決定し T2R 遺伝子群と比較した。その結果、ヒトと同様にニシチンパンジーにおいても T2R 遺伝子群の機能的制約が緩んでいることが示された。機能的制約が緩むことで機能的に分化した多様な対立

遺伝子が集団内に存在することになる。それらの対立遺伝子をヘテロで持つ個体は、結果として、多くの苦味受容体のレパトリーを持ち、多様な苦味物質を認識できることから生存に有利であると考えられた。対立遺伝子をヘテロで持つことの有意性は、進化的な解析から平衡選択の傾向が示唆されたことから支持された。

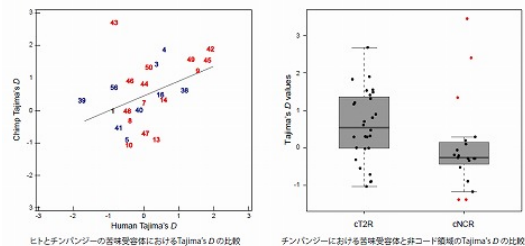


図 1 ヒトとニシチンパンジーの相同遺伝子の比較 (左)。チンパンジーとヒトでの相同遺伝子は比較的進化の傾向が似ていることがわかった。ニシチンパンジーにおける T2R 遺伝子と遺伝子非コード領域の比較 (右)。T2R における遺伝子変異はランダムではなくいくつかの機能を持った対立遺伝子が集団内に保持される傾向があることがあきらかとなった。

(2) ニホンザル・アカゲザル 300 個体を対象とした T2R の多様性解析

最も広く知られており、研究が進んでいる苦味物質としてフェニルチオカルバミド (PTC) が挙げられる。PTC は T2R の一種である T2R38 によって受容される。ヒトにおいて PTC 感受性の「Taster」と PTC を認識できない「Non-taster」の表現型多型が存在することが古くから知られており、その原因は T2R38 の点変異であることがあきらかとなっている。またニシチンパンジーにおいても PTC 感受性の多型が知られており、その原因は T2R38 のスタートコドンの喪失であることがあきらかとなっている。本研究で我々は、約 400 個体のニホンザル・アカゲザルから T2R38 の配列を解析し、新たにニホンザルにおいても PTC を認識できない「Non-taster」の存在を見出し、それがヒトやニシチンパンジーにおける変異とは独立にニホンザルの T2R38 に起こった点変異で説明できることをあきらかにした。進化的に非常に距離があるヒト・チンパンジー・マカク類において T2R38 における機能損失の多型が独立に起こったことは驚くべき事実であり、これらの種全体に同じような進化的選択圧がはたらいた可能性を示唆している。

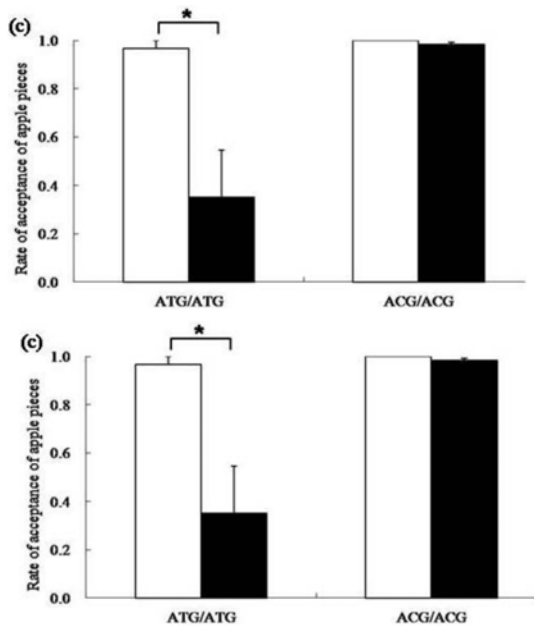


図2 ニホンザルのスタートコドン変異個体 (Non-taster) における PTC 感受性試験。白抜きの棒がコントロール、黒抜きの棒が PTC 含有食物。T2R38 機能遺伝子を保有する個体 (左: taster) は PTC 含有食物を口にする頻度が未処理の食物に比べ低い。一方、T2R38 のスタートコドン変異個体 (右: Non-taster) は PTC の有無にかかわらず食物を口にすることがわかる。

(3) 味覚受容体機能解析に向けた実験系の構築

293T 細胞で苦味受容体を強制発現させ細胞に苦味物質を添加し細胞内のカルシウム濃度の上昇を測定する方法や霊長類個体に実際に苦味物質を与えその行動をみる方法によって苦味受容体の機能解析をすすめている。この実験系の問題として、ヒト細胞内で他の種の受容体を発現させているヘテロの系である点が挙げられる。そこで本研究では、それぞれの生物で味細胞を作製し機能解析にもちいることができないかと考え、幹細胞から味細胞を分化誘導する新たな実験系の構築を試みた。ヒトの iPS 細胞を用いて味覚受容体を発現する細胞の誘導をおこなった。現在までのところ神経幹細胞への分化誘導に成功し今後さらに分化を誘導することで味覚受容体発現細胞の作製が期待される。最終的にはそれぞれの霊長類の体細胞から iPS 細胞を作製し、霊長類の細胞での味細胞分化を試みることを計画している。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 5 件)

- ① Miyagi R, Terai Y, Aibara M, Sugawara T, Imai H, Tachida H, Mzighani SI, Okitsu T,

Wada A, Okada N. Correlation between nuptial colors and visual sensitivities tuned by opsins leads to species richness in sympatric Lake Victoria cichlid fishes. *Mol Biol Evol*. 査読有, 2012.

doi: 10.1093/molbev/mss139

- ② Sugawara T, Nishino K, Umezawa A, Akutsu H. Investigating cellular identity and manipulating cell fate using induced pluripotent stem cells. *Stem Cell Res Ther*. 査読有, 3(2):8, 2012.

doi: 10.1186/scrt99

- ③ Nagai H, Terai Y, Sugawara T, Imai H, Nishihara H, Hori M, Okada N. Reverse evolution in RH1 for adaptation of cichlids to water depth in Lake Tanganyika. *Mol Biol Evol*. 査読有, 28(6):1769-1776, 2011.

doi: 10.1093/molbev/msq344

- ④ Sugawara T, Go Y, Udono T, Morimura N, Tomonaga M, Hirai H, Imai H.

Diversification of bitter taste receptor gene family in western chimpanzees. *Mol Biol Evol*. 査読有, 28(2):921-931, 2011.

doi: 10.1093/molbev/msq279

- ⑤ Suzuki N, Sugawara T, Matsui A, Go Y, Hirai H, Imai H. Identification of non-taster Japanese macaques for a specific bitter taste. *Primates*. 査読有, 51(4):285-289, 2010.

doi: 10.1007/s10329-010-0209-3

〔学会発表〕 (計 2 件)

- ① 今井啓雄、鈴木南美、早川卓志、菅原亨、松井淳、郷康広、櫻井敬展、石丸喜朗、Lijie Yin, Wenshi Pan, 阿部啓子、三坂巧、平井啓久。霊長類味覚受容体の進化。第 89 回日本生理学会大会 2011

- ② Sugawara T, Go Y, Udono T, Morimura N, Tomonaga M, Hirai H, Imai H.

Diversification of bitter taste receptor gene family in chimpanzees. International Primatological Society XXIII Congress Kyoto 2010

〔図書〕 (計 1 件)

- ① “Post genome biology of primates focusing on taste perception” Tohru Sugawara and Hiroo Imai in *Post Genome Biology of Primates* (ISBN 978-4-431-54010-6), pp79-91, Springer, 2012

6. 研究組織

(1) 研究代表者

菅原 亨 (SUGAWARA TOHRU)

独立行政法人国立成育医療研究センター・生殖・細胞医療研究部・研究員

研究者番号: 70553460