

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 28 年 6 月 10 日現在

機関番号：12601

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2015

課題番号：23770271

研究課題名(和文) 嗅覚受容体遺伝子ファミリーを用いた遺伝子重複によるゲノム進化の解析

研究課題名(英文) Analysis of the genome evolution by gene duplication using olfactory receptor gene families

研究代表者

新村 芳人(Nimura, Yoshihito)

東京大学・農学生命科学研究科・特任准教授

研究者番号：90396979

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,400,000円

研究成果の概要(和文)：嗅覚は、多くの動物にとって生存に必須の重要な感覚である。本課題では、13種の哺乳類のゲノム配列を解析し、アフリカゾウのゲノム中に、これまでに報告された中で最多の約2千個もの嗅覚受容体遺伝子が存在することを見出した。また、個々の嗅覚受容体遺伝子がたどってきた進化の道筋を明らかにするための新たな手法を確立し、それぞれの種における遺伝子の重複と欠失について解析した。その結果、約1億年もの間、遺伝子の重複や欠失がなく、遺伝子配列もほとんど変化していないような、進化的に安定して維持されてきた嗅覚受容体遺伝子が3種類見出された。それらは、哺乳類に共通した重要な生理機能を担っていることが示唆された。

研究成果の概要(英文)：Olfaction is essential for the survival of many animals. The ability to distinguish different odors depends on the number and type of olfactory receptors (ORs) present in each organism's genome. In this project, we examined the OR genes encoded in 13 mammalian species' genomes and found that African elephants have a surprisingly large number of OR genes, with approximately 2,000. This number is by far the largest among ever characterized. We also invented a novel bioinformatic method to trace the evolutionary trajectories of individual OR genes, and examined their duplications and losses in each species. We then discovered three OR genes that are evolutionarily stable for 100 million years without any duplications and losses and with very little change in sequence. Suggestively, these receptors would have physiologically important functions common to every mammal beyond the detection of odors.

研究分野：分子進化、比較ゲノム、嗅覚

キーワード：嗅覚受容体 化学感覚 遺伝子ファミリー 比較ゲノム 分子進化 哺乳類の進化

## 1. 研究開始当初の背景

五感の中で嗅覚は、餌を探し、外敵から逃れ、交配相手や子を認識するために使われ、多くの動物にとって生存に必須の感覚である。嗅覚受容は、環境中の匂い分子が嗅覚受容体 (olfactory receptor, OR) に結合することにより始まる。OR 遺伝子は 1991 年に Buck と Axel により初めて同定され、哺乳類のゲノム中には約千個もの OR 遺伝子が存在することが明らかになった (引用文献)。嗅覚研究は、現在最も急速に進展している研究分野の一つであるが、匂い分子の構造から知覚される匂いを予測できないことが示すように、嗅覚システムにはまだ解明されていないことが多い。

申請者はこれまでに、OR 遺伝子ファミリーのような巨大な多重遺伝子族がどのように進化してきたかという問題に興味をもち、様々な生物のゲノム配列から同定された OR 遺伝子レパートリーを比較し、分子進化解析を行ってきた。まず、2003 年に公開されたヒト完全ゲノム配列を用いて、ヒトゲノム中には約 390 個の OR 遺伝子が存在することを明らかにした (引用文献)。2005 年には、ヒト・マウスに加え、ゼブラフィッシュ・フグ・カエル・ニワトリの全ゲノム配列から OR 遺伝子を同定し、大規模な分子進化解析を行った (引用文献)。その結果、脊椎動物の共通祖先は多様な OR 遺伝子をもっていたが、四足動物が陸上生活に適應する過程で少数の遺伝子のみが生き残り、それらが多数の遺伝子重複によって爆発的に数を増やしたことを明らかにした。

2007 年に、8 種の哺乳類の全ゲノム配列から決定した OR 遺伝子を用いて解析を行い、哺乳類の各系統で何百回もの OR 遺伝子の獲得・消失が起こっていることを示した (引用文献)。2009 年には、23 種の脊索動物全ゲノム配列を用いて比較解析を行った。その結果、明確な嗅覚器官をもたない頭索動物ナメクジウオのゲノムから脊椎動物型の OR 遺伝子が見出され、OR 遺伝子ファミリーの起源は脊索動物の共通祖先にまで遡ることが明らかになった (引用文献)。

また、ヒト・チンパンジーの OR 遺伝子レパートリーの詳細な比較の結果、従来の説とは異なり、両者の間で OR 機能遺伝子の数、偽遺伝子の比率、偽遺伝子化の速度に有意差はないことを明らかにした (2008 年、引用文献)。しかし、全体の約 1/4 はそれぞれの種に特異的であった。霊長類の中で、狭鼻猿類のみが三色色覚を有することから、三色色覚の獲得に伴って嗅覚の重要性が低下し、OR 遺伝子が失われたとする仮説がある。この仮説を検証するため、霊長類 5 種間の相同遺伝子を用いた解析を行った結果、狭鼻猿類の各系統で OR 機能遺伝子は徐々に失われており、三色色覚の獲得により OR 遺伝子が急激に失われたとする仮説は支持されないことを示

した (2010 年、引用文献)。

## 2. 研究の目的

遺伝子重複は、ゲノム進化の原動力である。本研究の目的は、ゲノム中の遺伝子レパートリーが外部環境に応じてどのように変化してきたかを知ることである。そのために、脊椎動物最大の多重遺伝子族である OR 遺伝子ファミリーに着目し、多数の生物種の全ゲノム配列を用いて比較ゲノム・分子進化解析を行う。具体的には、以下のような解析を行う。(1) 環境に応じた OR 遺伝子レパートリーの多様性とその進化過程を明らかにする。哺乳類は、樹上に棲むもの、飛翔するもの、水棲のもの、地中に棲むものなど地球上の多様な環境に適應している。申請時、40 種以上の哺乳類の全ゲノム配列がウェブ上で公開されていたが、大部分はゲノム配列の精度 (カバーレッジ) が低く、多数の断片配列を含んでいた。そこで、精度の低いゲノム配列からゲノム中の全 OR 遺伝子数を推定する手法を開発することも目的とした。(2) OR 遺伝子の重複・欠失の起こりやすさと、進化速度・機能的制約の強さや、遺伝子のクラスター構造、リガンド (結合する匂い分子) との関連性について調べる。(3) 多種間で OR 遺伝子クラスターの非コード領域を比較することにより、OR 遺伝子の発現制御領域を同定する。

## 3. 研究の方法

データベース上にある様々な生物種の全ゲノム配列を利用し、OR 遺伝子を網羅的に同定する。そのために必要なコンピュータプログラムを開発し、より精度の高い遺伝子同定法を確立する。また、そのようにして得られた遺伝子データを、多数の種間で比較して進化的な解析を行うためのツールを開発する。そのようにして得られた新たな知見に対し、必要に応じて、共同研究により実験的に機能解析を行う。

## 4. 研究成果

(1) 高精度ゲノム配列が利用可能な 13 種の有胎盤類から OR 遺伝子の網羅的探索を行った。その結果、アフリカゾウのゲノム中には、これまでに報告されたどの生物よりも多い約 2000 個もの OR 機能遺伝子がコードされていることが明らかになった (図 1)。それらの遺伝子は巨大な遺伝子クラスターを形成していた。

次に、個々の OR 遺伝子の進化ダイナミクスの多様性を明らかにすることを目的として、オーソログス遺伝子グループ (orthologous gene group, OGG) の同定を行った。OGG とは、複数種の最近共通祖先のもっていた単一の祖先遺伝子に由来するような遺伝子群のことである。OR 遺伝子のように、遺伝子数

が非常に多く、重複・欠失が頻繁に起きているような遺伝子ファミリーに対して OGG を同定することは容易ではない。本研究では、そのような遺伝子ファミリーに対しても適用可能な、遺伝子系統樹に基づくコンピュータプログラムを作成した。

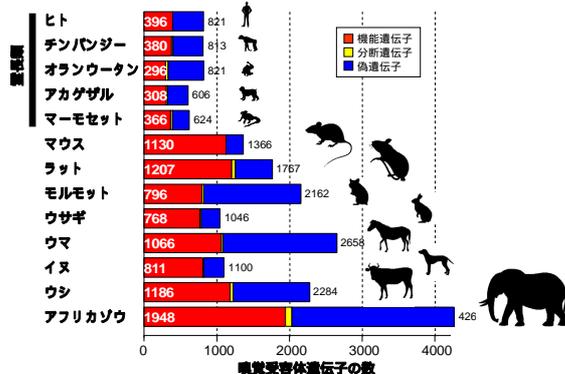


図 1 . 13 種有胎盤類のもつ OR 遺伝子数。文献 5 より改変

その手法を 13 種の有胎盤類から同定された 1 万個以上の OR 遺伝子に適用した結果、781 個の OGG が同定された。それらの OGG を比較解析した結果、以下のことが明らかになった。OR 遺伝子の進化ダイナミクスは遺伝子ごとに多様であり、1 個の祖先遺伝子が多数の遺伝子重複を起こして、100 個以上の子孫を生み出した例がある反面、進化の過程で重複も欠失もせず、一対一のオーソログの関係を保持しているものは非常にまれであり、781 個中 3 例しかなかった (図 2)。

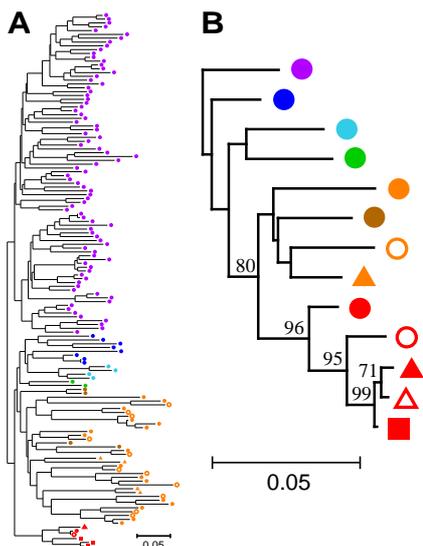


図 2 . OR 遺伝子の進化ダイナミクスの多様性。(A) アフリカゾウの系統で特異的に多数の遺伝子重複を起こした例。(B) 13 種間で一対一のオーソログの関係が保存されている例。異なる色は異なる種を表す。文献 5 より改変

後者は、種間でのアミノ酸配列の保存性も際立って高いことから、有胎盤類の種を超えて保存された重要な機能を担っていることが示唆された。のちに、それら OR のうちの一つが、頸動脈小体で高発現し低酸素状態のセ

ンサーとして機能することが報告された (文献 8) 。重複・欠失数の多い OR 遺伝子ほど進化速度が速く、多様な匂い分子に結合する傾向があった。また、配列の保存性、重複・欠失の速度、機能的制約の強さなどの観点から、クラス 2 OR 遺伝子のほうがクラス 1 よりもダイナミックに進化していることが示された。

本論文は 2014 年 7 月に *Genome Research* 誌に掲載された (文献 5) 。ワシントン・ポスト、ナショナル・ジオグラフィック、毎日新聞、東京新聞など、国内外の多数のメディアで取り上げられ、大きな話題となった。

(2) 霊長目は、視覚環境の異なる昼行性・夜行性の種を含み、色覚システムも多様である。また、曲鼻猿類・直鼻猿類間で鼻の構造が大きく異なる。引用文献の結果を踏まえて、霊長類の OR 遺伝子がいつどのようにして失われていったのかを明らかにするため、霊長目 24 種と皮翼目・登攀目各 1 種の OR 遺伝子レパートリーの比較解析を行った。霊長目間での OGG を用いた解析の結果、霊長目の進化過程において急激に OR 機能遺伝子のレパートリーが減少した系統があったことが示された。一方、昼行性・夜行性の差は OR 遺伝子レパートリーの減少にはあまり寄与していないことも明らかになった。このことから、霊長目の進化過程で嗅覚から視覚への急激なシフトが起きたことが推定された。本解析については、現在論文を執筆中である。

(3)(1) を拡張させ、データベース上にある 100 種を超える哺乳類の全ゲノム配列を用いて、OR 遺伝子レパートリーと生育環境との関連性について解析を行った。本研究課題の申請時に比べて、ゲノム配列の決定の精度と速度が飛躍的に向上したため、低精度のゲノム配列から OR 遺伝子の総数を推定する手法を開発する必要がなくなった。同定された OR 遺伝子のうち完全長のとれる配列と分断された配列との比が、ゲノム配列の精度を表す N50 の値と相関することから、この値がゲノム中に存在する OR 遺伝子レパートリーの正確さの指標として有用であることを示した。

また、文献 5 の手法を改良し、7 万個以上の OR 遺伝子を OGG に分類した。その結果を用い、有胎盤類の進化過程において大規模な OR 遺伝子の欠失が起きた時期を推定した。また、種間での OR 遺伝子レパートリーの比較を行い、進化的に近縁な種のもつ OR 遺伝子同士が似ているとは限らないことを明らかにした。本解析については、現在論文を準備中である。

(4) 国際的カメゲノムコンソーシアムのメンバーとして、スッポンとアオウミガメの 2 種のカメゲノムの解析を行った。その結果、

スポンは脊椎動物で最大級の OR 遺伝子レパートリーをもつこと、親水性リガンドと結合するクラス 1 OR 遺伝子がカメ特異的に増加していることを見出した。この結果は *Nature Genetics* 誌に発表され(文献 5 )、様々な新聞や雑誌で取り上げられて大きな反響を呼んだ。

( 5 )( 1 ) で得られた 13 種間 OGG の情報を用い、種間で保存された OR 遺伝子クラスターの上流にある非コード領域の解析を行った。その結果、OR 遺伝子の発現制御配列と考えられる新規のゲノム領域を発見した。現在、共同研究者のグループによる実験結果と合わせて、論文を準備中である。

#### < 引用文献 >

- Buck L, Axel R. *Cell* 1991, 65:175-187.  
Niimura Y, Nei M. *Proc Natl Acad Sci USA* 2003, 100: 12235-12240.  
Niimura Y, Nei M. *Proc Natl Acad Sci USA* 2005, 102: 6039-6044.  
Niimura Y, Nei M. *PLoS ONE* 2007, 2: e708.  
Niimura Y. *Genome Biol Evol* 2009, 1: 34-44.  
Go Y, Niimura Y. *Mol Biol Evol* 2008, 25: 1897-1907.  
Matsui A, Go Y, Niimura Y. *Mol Biol Evol* 2010, 27: 1192-1200.  
Chang AJ, Ortega FE, Riegler J, Madison DV, Krasnow MA. *Nature* 2015, 527: 240-244.

#### 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 1 6 件 )

Sato-Akuhara N, Horio N, Kato-Namba A, Yoshikawa K, Niimura Y, Ihara S, Shirasu M, Touhara K. Ligand specificity and evolution of mammalian musk odor receptors: Effect of single receptor deletion on odor detection. *J Neurosci* 2016, 36: 4482-4491. [査読有]

新村芳人 「哺乳類嗅覚受容体遺伝子の分子進化」日本味と匂学会誌 2016, 23: 3-10. [査読無]

新村芳人 「乳酸により活性化される嗅覚受容体は低酸素状態のセンサーとして機能する」細胞工学 2016, 35: 223. [査読無]

新村芳人 「嗅覚受容体遺伝子の進化」におい・かおり環境学会誌 2015, 46: 261-263. [査読無]

新村芳人 「ゲノムから読み解く嗅覚の進化」アロマリサーチ 2015, 16: 164-171. [査読無]

新村芳人 「嗅覚受容体遺伝子—その進化と機能の多様性」医学のあゆみ 2015, 253: 473-479. [査読無]

Niimura Y, Matsui A, Touhara K. Extreme expansion of the olfactory receptor gene

repertoire in African elephants and evolutionary dynamics of orthologous gene groups in 13 placental mammals. *Genome Res* 2014, 24: 1485-1496. [査読有]

新村芳人 「アフリカゾウは巨大な嗅覚受容体遺伝子ファミリーをもつ -13 種有胎盤類を用いたオースロガス遺伝子グループの比較進化解析-」アロマリサーチ 2014, 15: 366-368. [査読無]

新村芳人 「嗅覚受容体遺伝子と匂い知覚の多様性」実験医学 2014, 32: 2898-2904. [査読無]

新村芳人 「ゲノムから読み解く嗅覚の進化」現代化学 2014, 522: 38-39. [査読無]

Niimura Y. Identification of chemosensory receptor genes from vertebrate genomes. *Methods Mol Biol* 2013, 1068: 95-105. [査読無]

Wang Z, Pascual-Anaya J, Zadissa A, Li W, Niimura Y, et al. The draft genomes of soft-shell turtle and green sea turtle yield insights into the development and evolution of the turtle-specific body plan. *Nat Genet* 2013, 45: 701-706. [査読有]

Niimura Y. Identification of olfactory receptor genes from mammalian genome sequences. *Methods Mol Biol* 2013, 1003: 39-49. [査読無]

Matsumae H, Hamada M, Fujie M, Niimura Y, Tanaka H, Kawashima T. A methodical microarray design enables surveying of expression of a broader range of genes in *Ciona intestinalis*. *Gene* 2013, 519: 82-90. [査読有]

Niimura Y. Olfactory receptor multigene family in vertebrates: from the viewpoint of evolutionary genomics. *Current Genomics* 2012, 13: 103-111. [査読有]

Johnson TA, Niimura Y, Tanaka H, Nakamura Y, Tsunoda T. hzAnalyzer: detection, quantification, and visualization of contiguous homozygosity in high-density genotyping datasets. *Genome Biol* 2011, 12: R21. [査読有]

##### [ 学会発表 ] ( 計 3 6 件 )

( 申請者が発表したもののみ記す )

Yoshihito Niimura "Dynamic evolution of olfactory receptor genes in mammals", Germany & Japan Workshop on Evolutionary Genomics, 2016 年 3 月 23 日、国立遺伝学研究所( 三島 )

新村芳人 「遺伝子が解き明かす匂いの最前線～生物進化と嗅覚～」Allergy Summit in Kanagawa, 2016 年 2 月 13 日、ホテルプラム ( 横浜 )

新村芳人 「遺伝子が解き明かす匂いの最前線～生物進化と嗅覚～」東海アレルギーフォーラム、2016 年 2 月 6 日、ANA クラウンプラザグランコート名古屋 ( 名古屋 )

新村芳人 「遺伝子が解き明かす匂いの最前線～生物進化と嗅覚～」Allergic Rhinitis Outlook 2016, 2015 年 11 月 28 日、品川プリンスホテル ( 東京 )

新村芳人 「ゲノム、進化、嗅覚：7 億年に

わたる嗅覚受容体遺伝子進化の物語」日本味と匂学会第 49 回大会、日本味と匂学会研究奨励賞受賞記念講演、2015 年 9 月 25 日、岐阜

Yoshihito Niimura "Evolution of olfactory receptor genes in primates and other mammals" 第 17 回日本進化学会大会、シンポジウム "Sensory genetics, ecology and evolution of primates", 2015 年 8 月 21 日、中央大学後楽園キャンパス (東京)

新村芳人「嗅覚の多様性と進化 ~ 哺乳類から植物まで ~」第 17 回日本進化学会大会、2015 年 8 月 20 日、中央大学後楽園キャンパス (東京)

Yoshihito Niimura "Expansion and contraction of the olfactory receptor gene universe in mammals: -Superior sense of smell in African elephants?" The 4th International Seminar on Biodiversity and Evolution, 2015 年 6 月 9 日、京都大学野生動物研究センター (京都)

新村芳人「ゲノムから読み解く嗅覚の進化」アロマ・サイエンス・フォーラム 2014、2014 年 12 月 12 日、東京

新村芳人、松井淳、東原和成「アフリカゾウは巨大な嗅覚受容体遺伝子ファミリーをもつ -13 種有胎盤類を用いたオゾンガス遺伝子グループの比較進化解析-」平成 26 年度農学系研究科研究交流会、2014 年 11 月 17 日、東京大学 (東京)

Yoshihito Niimura, Atsushi Matsui, Kazushige Touhara "Expansion and contraction of the olfactory receptor universe: Orthology among 13 placental mammals highlights the evolutionary fate of genes" SMBE 2014 (Annual Meeting of the Society for Molecular Biology and Evolution), 2014 年 6 月 8 日, San Juan (Puerto Rico, USA)

新村芳人「ゲノムから読み解く化学感覚の進化」ERATO 東原化学感覚シグナルプロジェクト公開シンポジウム、2014 年 5 月 30 日、東京大学 (東京)

Yoshihito Niimura, Atsushi Matsui, Kazushige Touhara "Expansion and contraction of the olfactory receptor universe: Orthology among 13 placental mammals highlights the evolutionary fate of genes" 第 14 回東京大学生命科学シンポジウム、2014 年 4 月 26 日、東京大学

Yoshihito Niimura "Evolution of Olfactory Receptor Genes in Vertebrates -Interaction between Genomes and Environments-" NBMC-2014 (1st International Conference on Nano-Bio-Medicine Convergence), 2014 年 2 月 24 日、釜山 (韓国)

新村芳人「遺伝子とゲノムで探る化学感覚の進化」第 6 回香りと味に関する産学フォーラム、2013 年 11 月 8 日、東京

新村芳人、松井淳、東原和成「哺乳類進化における嗅覚受容体遺伝子ファミリーの膨張と収縮: 13 種の真獣類を用いた比較解析」日本進化学会第 85 回大会、2013 年 9 月 21 日、

横浜

新村芳人、松井淳、東原和成「哺乳類進化における嗅覚受容体遺伝子ファミリーの膨張と収縮: 13 種の真獣類を用いた比較解析」日本味と匂学会第 47 回大会、2013 年 9 月 6 日、仙台

Yoshihito Niimura "Expansion and contraction of the olfactory receptor universe: What determines the fate of genes?" NIG Workshop: Evolution of Junk DNAs, 2013 年 6 月 22 日、国立遺伝学研究所 (三島)

新村芳人「環境センサーとしての嗅覚受容体の進化~比較ゲノムの視点から~」第 82 回日本寄生虫学会大会、2013 年 3 月 28 日、東京

Takeshi Hase, Yoshihito Niimura "Difference in gene duplicability may explain the difference in overall structure of protein-protein interaction networks among eukaryotes", SMBE 2012, 2012 年 6 月 24 日, Dublin (Ireland)

② 新村芳人「匂いの遺伝学」東京医科歯科大学難治疾患研究所市民公開講座 (最先端生命科学講座シリーズ第 2 回) 2011 年 10 月 28 日、東京

② Yoshihito Niimura, Atsushi Matsui "Diversity of olfactory receptor gene repertoires among 38 mammals" Young Researchers Conference on Evolutionary Genomics, 2011 年 8 月 1 日、東京

③ Yoshihito Niimura, Atsushi Matsui "Diversity of olfactory receptor gene repertoires among 38 mammals" SMBE 2011, 2011 年 7 月 27 日、京都

〔図書〕(計 7 件)

Touhara K, Niimura Y, Ihara S. Vertebrate Odorant Receptors. in Chemosensory Transduction (eds. Frank Zufall & Steven D. Munger), Academic Press, 2016, pp.49-66.

Niimura Y Olfactory Receptor Genes: Evolution. in Encyclopedia of Life Sciences, John Wiley & Sons, Inc., 2014, pp.1-12.

Hase T, Niimura Y Protein-protein interaction networks: Structures, evolution, and application to drug design. Protein Interaction / Book 2 (ed. Weibo Cai), InTech, 2012, pp.405-426.

Niimura Y. Evolution of chemosensory receptor genes in primates and other mammals. Post-Genome Biology of Primates, Primatology Monographs (eds. Hirohisa Hirai, Hiroo Imai, Yasuhiro Go), Springer, 2012, pp.43-62.

新村芳人『興奮する匂い 食欲をそそる匂い ~ 遺伝子が解き明かす匂いの最前線 ~』技術評論社 知りたい! サイエンスシリーズ、2012、304 頁

新村芳人「ゲノムの大きさ」『進化学事典』(日本進化学会 編)、共立出版、2012、pp.570-573.

新村芳人「嗅覚受容体遺伝子ファミリー」『化学受容の科学』(東原和成 編)、化学同

人 DOJIN BIOSCIENCE シリーズ、2012、  
pp.25-40.

〔産業財産権〕

出願状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
出願年月日：  
国内外の別：

取得状況（計 0 件）

名称：  
発明者：  
権利者：  
種類：  
番号：  
取得年月日：  
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ：  
<http://yosniimura.net/>

#### 6. 研究組織

##### (1)研究代表者

新村芳人 ( NIIMURA, Yoshihito )  
東京大学大学院農学生命科学研究科  
特任准教授

研究者番号：9 0 3 9 6 9 7 9

##### (2)研究分担者

( )

研究者番号：

##### (3)連携研究者

( )

研究者番号：