

## 科学研究費助成事業（学術研究助成基金助成金）研究成果報告書

平成 25 年 5 月 29 日現在

機関番号：14301

研究種目：若手研究(B)

研究期間：2011～2012

課題番号：23770283

研究課題名（和文） 霊長類における感覚受容体遺伝子の起源と環境応答の進化

研究課題名（英文） The evolution of chemosensory receptors in primates

## 研究代表者

松井 淳 (MATSUI ATSUSHI)

京都大学・霊長類研究所・研究員

研究者番号：70455476

研究成果の概要（和文）：霊長類ゲノムデータから網羅的に嗅覚受容体遺伝子を同定し、さらに夜行性と昼行性、鼻の構造の変化の代表種の霊長類について、遺伝子領域に限ったゲノム配列であるエキソームデータを大規模シーケンサーによって解読し嗅覚受容体遺伝子を比較した。これらの解析の結果、夜行性と昼行性の生態の変化よりも、曲鼻/直鼻猿類という鼻の形態・機能の変化が嗅覚受容体遺伝子の進化に強く影響し、曲鼻猿類の嗅覚への依存度が高いことが示唆された。

研究成果の概要（英文）：We identified the entire olfactory receptor (OR) gene sets from primate genome data. Further, we determined the exome sequences from representatives of primates by high-throughput sequencer. From the comparative analyses using these data, we found that the morphological difference of nose between Strepsirrhine and Haplorhine more strongly affected the evolution of OR genes than the ecological difference between diurnal and nocturnal in primates. This result suggested that Strepsirrhine largely depend on olfaction.

## 交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
交付決定額	3,300,000	990,000	4,290,000

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、感覚受容体、嗅覚、味覚、フェロモン、原猿類、ゲノム、エキソーム

## 1. 研究開始当初の背景

化学感覚受容体遺伝子の研究には 2 つのアプローチがある。1 つはゲノムデータに基づいた受容体遺伝子の比較解析、もう 1 つは行動・表現型の知見を元に受容体のリガンドを特定し受容体タンパク質の応答を比較解析するものである。申請者はこれまで原猿類を対象に霊長類の起源を解明するための研究をおこなってきた(Matsui et al. 2009)。マダガスカルにのみ生息するキツネザル類、アジアからアフリカにかけて生息するロリス類、ヒトを含む真猿類に最も近いメガネザル類、これら三系統の多様な化学感覚に関する研究は極めて乏しい。霊長類におけるヒトの化

学感覚受容体の特性を理解するには、原猿類研究の充実・発展が必要であると考えた。

## (1) ゲノムデータから

2010 年 10 月時点で、霊長類 10 種の全ゲノム配列が公開された。しかし原猿類のゲノム配列を用いた網羅的な化学感覚受容体遺伝子の同定は依然として不十分であった。嗅覚受容体(OR)遺伝子は哺乳類最大の多重遺伝子族であり (Niimura and Nei 2007)、数万ともいわれる匂い物質に対応するため、ヒトではその総遺伝子数が 800 を超える(偽遺伝子を含む) (Niimura and Nei 2003)。このため霊長類の嗅覚受容体遺伝子の全体像を

つかむことが難しかったが、申請者らは近年の霊長類ゲノムデータの蓄積を利用し、全嗅覚受容体遺伝子を網羅的に比較解析した (Matsui et al. 2010)。この研究では5種の霊長類データを詳細に解析し、「色覚の発達が霊長類の嗅覚の退化をもたらした」という従来の仮説を否定する結果を発表した。広鼻猿類のマーマセットは2色型の色覚を持つのに対し、ヒトを含む狭鼻猿類は三色型の色覚を持つ。このため狭鼻猿類は、視覚に頼るところが大きくなり、「嗅覚の機能が衰えた」と言われていたのである (Gilad et al. 2004)。しかしながら、マーマセットを含む5種の祖先段階の嗅覚受容体遺伝子セットから、遺伝子は徐々に失われており、色覚の発達に伴う急激な嗅覚受容体遺伝子の喪失はおこっていないことが示された。また、ヒトの嗅覚受容体遺伝子のレパートリーは5種の祖先段階の遺伝子セットを多く保存していて、他の霊長類と比べて退化していないことが示された。

また、フェロモン受容体(V1R)のゲノム比較解析が哺乳類ゲノムデータを元に相次いで報告された (Young et al. 2010; Wang et al. 2010)。しかしその後、オオガラゴのゲノムデータは完成度が非常に向上したため、未同定の受容体遺伝子が多数存在する可能性がある。他方、苦味受容体遺伝子は霊長類全般に渡って実験とゲノム解析を併用し、ヒトを含む真猿類でそれぞれ数十個の苦味受容体機能遺伝子 (T2R) が報告されているが (Fischer et al. 2005; Go et al. 2005)、原猿類のデータは乏しい。

## (2) リガンドと受容体遺伝子

苦味、匂い物質に対する受容体の応答が近年さかんに研究され始めた。これらはヒトやマウスを対象に主に研究され、ヒト苦味受容体 20 個について数種類づつのリガンドが同定された (Meyerhof et al. 2010)。一方、ヒト 10 個とマウス 53 個の嗅覚受容体について 63 のリガンドが同定されている (Saito et al. 2009) が他の霊長目の報告は非常に限られた状況にある。

## 引用文献

- Fischer et al., (2005) *Mol Biol Evol.*, 22:432-436.  
Gilad et al., (2004) *PLoS Biol.*, 2:E5.  
Go et al., (2005) *Genetics*, 170:313-326.  
Matsui et al., (2009) *Gene*, 441:53-66.  
Matsui et al., (2010) *Mol Biol Evol.*, 27:1192-1200.  
Meyerhof et al., (2010) *Chem Senses.*, 35:157-170.  
Niimura and Nei, (2003) *Proc Natl Acad Sci U S A.*, 100:12235-12240.

- Niimura and Nei, (2007) *PLoS One*, 2:e708.  
Saito et al., (2009) *Sci Signal.*, 2:ra9.  
Wang et al., (2010) *Genome Biol Evol.*, 2:277-283.  
Young et al., (2010) *Genome Res.* 20:10-18.

## 2. 研究の目的

原猿類を含む最新の霊長類ゲノムデータを用いて、受容体遺伝子の比較解析を行い、霊長類における化学感覚受容体遺伝子の全体像を描き出すことを目的とした。

原猿類は霊長類において最も古い時代に分岐し、霊長類全体の多様性や起源を考えるうえで非常に重要な一群である。匂い・フェロモン・味の受容体は、生物と環境をつなぐ7回膜貫通型のタンパク質であり、原猿類では匂い・フェロモンに関する様々な行動、独特の食性が知られている。本研究では、これら原猿類の受容体およびその遺伝子を、ヒトを含む他の霊長類と比較解析し、霊長類における感覚受容体の進化の道筋を明らかにすることを目的とする。

### (1) ゲノム比較研究から

霊長類の嗅覚受容体遺伝子のレパートリーが劇的に変化する系統を探し出し、嗅覚受容体がたどった進化の道筋を明らかにする。ここで、フェロモン受容体遺伝子が関連してくる。真猿類ではフェロモン受容体 (V1R) の機能遺伝子は数個しかないのに対し、原猿類のメガネザル 40 以上、オオガラゴでは 70 以上、キツネザルでは 200 以上の機能遺伝子がゲノム中に存在するという。フェロモン受容体 (V1R) のレパートリーは、直鼻猿類・曲鼻猿類という鼻の形態の差よりも、生態の差に強く関連があることになる。匂い、フェロモンにかかわるリガンドには、どちらも揮発性の化学物質が多く、夜行性の動物では、より重要な環境認知を担っている可能性もあり、あわせて考える必要がある。また、原猿類に種特異的な嗅覚・フェロモン・苦味受容体遺伝子を探し出す。

### (2) リガンドと受容体遺伝子

生態研究などをもとに、原猿類特異的な匂い・フェロモン行動や食性から、リガンドとなりうるような化学物質を発見・選定し、ゲノム研究で浮かび上がってきた種特異的受容体遺伝子の応答を生理学的に解析する。これによって千種類以上あるとされている天然苦味物質、数万にも及ぶ匂い物質から受容体レベルの新たな応答を見出し、ゲノムレベルの研究から受容体の分子特性や細胞レベルで発現の様相を明らかにする研究へ発展させていく。

## 3. 研究の方法

(1) 現在公開されている霊長類ゲノムデータから網羅的に嗅覚受容体遺伝子、苦味受容体遺伝子を同定し(フェロモン受容体遺伝子については、ゲノムデータの更新にともない必要に応じて受容体遺伝子を再同定し)、相同遺伝子の同定など分子進化的解析を進める。遺伝子重複や各系統で失った遺伝子を把握し、霊長類内部で受容体遺伝子のレパートリーがどのように進化してきたのかを描き出す。またこれにより、種特異的遺伝子をピックアップする。

ゲノムからの受容体遺伝子の同定、相同な遺伝子の同定はそれぞれ、過去に行った解析方法を応用し行う。原猿類や近縁目ツパいのゲノムデータの精度は低く、染色体レベルで連続していないため、細切れのゲノム断片の集合であるのが実態である。そのため、受容体遺伝子がゲノム断片の末端に位置した場合、配列が途切れてしまっている。そこで Ligation - mediated PCR (LM-PCR) などの方法で、断片化している遺伝子周辺の未知配列を増幅する PCR を行い、既存のゲノムデータからは得られなかった受容体遺伝子の完全配列を実験的に補い、精度の高い受容体遺伝子比較を行う。このシークエンスの作業はそれぞれの原猿類について数百遺伝子にわたって行わなければならないことも予想され、比較的時間を要する。こうして霊長類における感覚受容体レパートリーの進化を詳細に明らかにする。

(2) 一方で、尿や臭腺、野生環境中で食物にしている植物などから匂い、フェロモン、苦味受容体のリガンドとなる物質を収集する。

嗅覚・フェロモン受容体遺伝子においては遺伝子数が膨大であるため、嗅覚受容体とリガンドを結びあわせるには非常に困難を伴うと予想されるが、両面から研究を進めることによって、今後計画する研究の重要な手がかりをつかむことができると考える。苦味受容体の解析では受容体遺伝子数が少なく、また特定の植物のみ食べるキツネザル類が知られるなど絞込みが比較的容易なため、両者がリンクして種特異的受容体のリガンド特定に至る可能性は高いと考える。

これまでに予備的なゲノム解析によって、ガラゴ・ロリスの T2R10、原猿類(キツネザル、ガラゴ・ロリス、メガネザル)の T2R67、メガネザル、ツパいの T2R65 遺伝子に種特異性が予想されるが、それらが種内でどのような多型を持つのか確かめる。さらに、これまでに収集した様々な霊長類の舌サンプルを用いて RNA レベルの発現パターンを明らかにする。

(3) 生態データや行動データからは、原

猿類の匂いづけやフェロモン由来の行動が観察されるとあるが、具体的に性ホルモン関連物質等をリガンドとして同定した例は少なく、匂い・フェロモンのリガンド候補物質を尿や臭腺から採取し、化学分析装置によって成分分析を行い、リガンド探索を進める。種特異的な嗅覚・フェロモン受容体遺伝子は多数に上ることも予想され、RNA レベルの発現解析も考慮にいれ、嗅上皮や鋤鼻器の霊長類サンプリングを行い、実験的な面からも特異性のある遺伝子候補のスクリーニングを行う。ある地域にしか自生しない植物サンプルから抽出した微量成分が、リガンドの候補になることも大いに考えられ、フィールド調査を含め、生息環境のデータを集めていく。

#### 4. 研究成果

霊長類の進化において鼻の形態は分類群の定義となるまでに重要である。また一方で、現生の霊長類の生態は夜行性・昼行性を含み多様である。これらの二つの要素と霊長類の嗅覚がどのように関わりながら進化してきたのかを明らかにするため、嗅覚受容体遺伝子の比較解析を行った。

(1) 霊長類で最も古い時代に分岐した曲鼻猿類と直鼻猿類の二大分類群間では、曲鼻猿類のゲノム配列を用いた化学感覚受容体遺伝子の研究は依然として不十分であった。新たに霊長類 8 種のゲノムデータから網羅的に嗅覚受容体遺伝子を同定し、これまでに解析を行った 7 種の霊長類データとあわせたゲノム比較解析を行った。

(2) ゲノム解析による受容体の遺伝子比較では、夜行性の直鼻猿類や昼行性の曲鼻猿類など、系統と生態の代表種となりうる霊長類ゲノムデータを欠いていた。そこで、夜行性と昼行性、鼻の構造の変化(曲鼻猿類/直鼻猿類)の代表種となりうる 4 種の霊長類について、遺伝子領域に限ったゲノム配列であるエキソームデータを大規模シークエンサーによって解読し、嗅覚受容体遺伝子を比較した。これらのエキソームデータは嗅覚受容体遺伝子にとどまらず、他の遺伝子コード領域を網羅的に含むため、ゲノムデータに準ずる有用データとして、今後の研究にも活用できる。

(3) これら(1)、(2)のゲノムデータ、エキソームデータの比較解析の結果、曲鼻猿類のほうが直鼻猿類よりも多くの嗅覚受容体機能遺伝子を持つことが示唆された。視覚との相関から嗅覚の重要度が異なると想像される夜行性と昼行性の生態の変化よりも、曲鼻/直鼻猿類という鼻の形態・機能の変化が嗅覚受容体遺伝子の進化に強く影響し、曲

鼻猿類の嗅覚への依存度が高いことが示唆された。これは脳サイズに対する嗅球の比率の研究とも一致する。また、フェロモン感覚と嗅覚の進化は独立であった可能性が極めて高い。

(4) 霊長類を含む哺乳類のゲノム比較解析によって、哺乳類における霊長類の嗅覚受容体遺伝子のレパートリーを詳細に比較した。霊長類の嗅覚受容体遺伝子のレパートリーは他の哺乳類に比べて非常に少なく、また遺伝子の重複も少ないことから、霊長目は大きく嗅覚機能を失っていることが示唆された。この解析の過程で相同遺伝子群を網羅的に抽出し、哺乳類全般に保存されていると推定する嗅覚受容体遺伝子グループを同定することで受容体のリガンド探索への道を切り拓いた。

(5) 霊長類のなかでも原猿類・ツパイを中心にゲノムデータから苦味受容体 (T2R) 遺伝子の同定と、他の霊長類・齧歯類との比較解析を行った。これまでの苦味受容体遺伝子の解析において不足しがちだった霊長目とその他の哺乳類における比較を可能としたことにより、霊長類の苦味感覚について新たな視点を獲得した。

#### 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 2 件)

① Hayakawa T., Tachibana S., Hikosaka K., Arisue N., Matsui A., Horii T., Tanabe K., Age of the last common ancestor of extant Plasmodium parasite lineages, *Gene*, 査読有, 502, (2012) pp.36-39, 10.1016/j.gene.2012.04.037

② Kitazoe Y., Kishino H., Hasegawa M., Matsui A., Lane N., and Tanaka M., Stability of mitochondrial membrane proteins in terrestrial vertebrates predicts aerobic capacity and longevity, *Genome Biology and Evolution*, 査読有, 3, (2011) pp. 1233-1244, 10.1093/gbe/evr079

[学会発表] (計 16 件)

① Matsui A., Jahan, I., Islam, Md. A., Rahman, ZMM, Hirai, H., Molecular phylogeny and evolution of gibbons, The 3rd International Symposium of Southeast Asian Primates features: Diversity and Evolution of Asian Primates, 27th-29th August (2012) Bangkok, Thailand

② 松井淳, 郷康広, 豊田敦, 会津智幸, 石崎比奈子, 今井啓雄, 藤山秋佐夫, 平井啓久,

新村芳人 Exome データを利用した霊長目の嗅覚受容体遺伝子の比較解析, 第 14 回日本進化学会大会, 2012 年 8 月, 東京

③ 松井淳, 郷康広, 新村芳人 哺乳類における霊長類の嗅覚受容体遺伝子レパートリーの進化, 第 28 回日本霊長類学会大会, 2012 年 7 月, 名古屋

④ 松井淳, 新村芳人, 霊長類の嗅覚受容体遺伝子のレパートリーは少ないのか?, 第 13 回日本進化学会, 2011 年 7 月, 京都

⑤ 松井淳, Israt Jahan, Md. Anwarul Islam, Zahed Mohammad Malekur Rahman, 平井啓久, ミトコンドリアゲノムによるテナガザルの分子系統進化, 第 27 回日本霊長類学会, 2011 年 7 月, 犬山

⑥ Matsui, A. and Niimura, Y., Comparative evolutionary analyses of olfactory receptor gene repertoires among five primates and eight non-primate mammals, The 5th International Symposium of the Biodiversity and Evolution Global COE project "Evolutionary Consequences of Biological Interactions -genome to ecosystem-", 9-10th July (2011), Kyoto, Japan

他 10 件

[図書] (計 2 件)

① Matsui, A. and Hasegawa, M., Springer, Molecular phylogeny and evolution in primates, IN: "Post-genome Biology of Primates." Eds: Hirai, H., Imai, H., and Go, Y. (Series Editors: Matsuzawa, T., and Yamagiwa, J.) (2012) pp. 243-267

② 松井淳, 京都通信社, 匂いを感じする遺伝子から、ヒトの嗅覚の特異性をさぐる, 「日本のサル学のあした—霊長類研究という「人間学」の可能性 (WAKUWAKU とときめきサイエンスシリーズ 3)」中川尚史, 友永雅己, 山極寿一編 (2012) pp. 16-21

[その他]

ホームページ等

研究機関 HP

[http://www.pri.kyoto-u.ac.jp/sections/molecular\\_biology/index.html](http://www.pri.kyoto-u.ac.jp/sections/molecular_biology/index.html)

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

松井 淳 (MATSUI ATSUSHI)

研究者番号: 70455476