

様式3

愛媛大学沿岸環境科学研究センター  
共同利用・共同研究拠点「化学汚染・沿岸環境研究拠点」  
共同研究報告書

平成 29年 2月 28日

化学汚染・沿岸環境研究拠点 拠点長 殿

申請者（研究代表者）

所属機関 帯広畜産大学

職 助教

氏名 川合 佑典

下記の共同研究について、別紙の通り報告します。

1 研究課題

海棲鳥類と海棲哺乳類の異物代謝関連遺伝子の収斂進化

2 研究組織

氏名	所属	職	分担研究課題
代表者 川合 佑典	帯広畜産大学 畜産衛生学研究部門	助教	
分担者 久保田彰	帯広畜産大学・畜産衛生学研究部門	准教授	
拠点対応教員 岩田久人	愛媛大学・沿岸環境科学研究センター	教授	

3 研究内容（別紙）

研究課題名：海棲鳥類と海棲哺乳類の異物代謝関連遺伝子の収斂進化  
Convergent evolution of genes of xenobiotic metabolism enzymes between marine birds and marine mammals

【共同研究者名】

代表者：川合佑典 帯広畜産大学 畜産衛生学研究部門  
分担者：久保田彰 帯広畜産大学 畜産衛生学研究部門  
拠点对応教員：岩田久人 愛媛大学 沿岸環境科学研究センター

【研究目的】

生物は外来からの異物を代謝する機構を発達させている。鳥類と哺乳類、離れた系統の動物で食性により異物代謝酵素に収斂進化が起こっているという仮説をたて、検証を行う。本研究では、鳥類と哺乳類の食性による異物代謝関連遺伝子の収斂進化の有無について検証することを目的に海棲鳥類の異物代謝関連遺伝子の調査を行う。

【研究内容】

多様な食性を示す鳥類の異物代謝関連遺伝子 Cytochrome P450 (CYP) などの発現パターンを明らかにし、哺乳類と比較を行う。またその発現パターンが代謝活性に影響を与えるものかどうか、検証する。

すでに申請者らは、植物食（穀物食）のダチョウ(Kawai et al. 2013)、雑食のニワトリ(Watanabe et al. 2013)において、肝臓での CYP 遺伝子発現パターンを明らかにしていた。

さらに多様な食性の鳥類を対象とし、比較を行うため、湿地帯に棲息し雑食性であるタンチョウ、海棲鳥類種として魚、甲殻類、昆虫などを採食するウミネコを対象とし、遺伝子の機能解析を行う。今回の研究では、ウミネコのサンプルは生物環境試料バンク (es-BANK) から提供されたウミネコ・成鳥・肝臓サンプル（メス・サンプル番号：01BTG-515, 01BTG-523, 01BTG-524, 01BTG-525, 01BTG-526、オス・サンプル番号：01BTG-502, 01BTG-505, 01BTG-506, 01BTG-519, 01BTG-901）を使用した。

【研究成果】

まずタンチョウの肝臓に発現する CYP 遺伝子について、高機能シーケンサー (Illumina, HiSeq 2500) で配列解析及び、発現パターン解析を行った。その結果、9種類の CYP 遺伝子(CYP1A5, 2C23, 2C45, 2D49, 2F1, 2U1, 2AC1, 3A4, 3A7) の配列を明らかにした。また FPKM (Fragments Per Kilobase Million) を計算し、肝臓での遺伝子発現パターンを推定した。タンチョウ肝臓での発現パターンと他の鳥類で報告されている肝臓での遺伝子発現パターンを比較したところ、鳥類における CYP 遺伝子発現パターンの多様性が明らかとなった (図 1)。タンチョウの肝臓では他の鳥類では発現が報告されていない CYP2F1 が、ダチョウの肝臓では CYP2G19 が発現していた。さらにタンチョウでは CYP2AC1 の発現量が多いことが示唆された。これらの分子種は種特異的な異物

代謝活性に貢献している可能性がある。

さらに、この発現パターンが実際の肝臓での活性にどのように影響を与えているかを知るため、ミクロソーム調製を行い、**AROD** 活性を測定した。その結果、ばらつきが大きいものの、**CYP1A** 遺伝子が代謝に関わると考えられる **EROD** 活性がすべての個体において最も高値を示す結果となった (図 2)。

次に鳥類の異物代謝第 II 相反応に関わる **UGT** 遺伝子に着目し、鳥類内での **UGT** 遺伝子の多様性を明らかにした (図 3)。GeneBank に登録されている **UGT1 family** 遺伝子の配列を用い、系統解析を行ったところ、哺乳類の **UGT1 family** とのオーソログな関係は見られず、鳥類の系統内で遺伝子重複が起こり多様性を獲得していることが明らかとなった。この結果から哺乳類と鳥類の **UGT** 遺伝子で食性による遺伝子発現パターンや機能について類似があった場合、系統的類似ではなく収斂進化が示唆される。

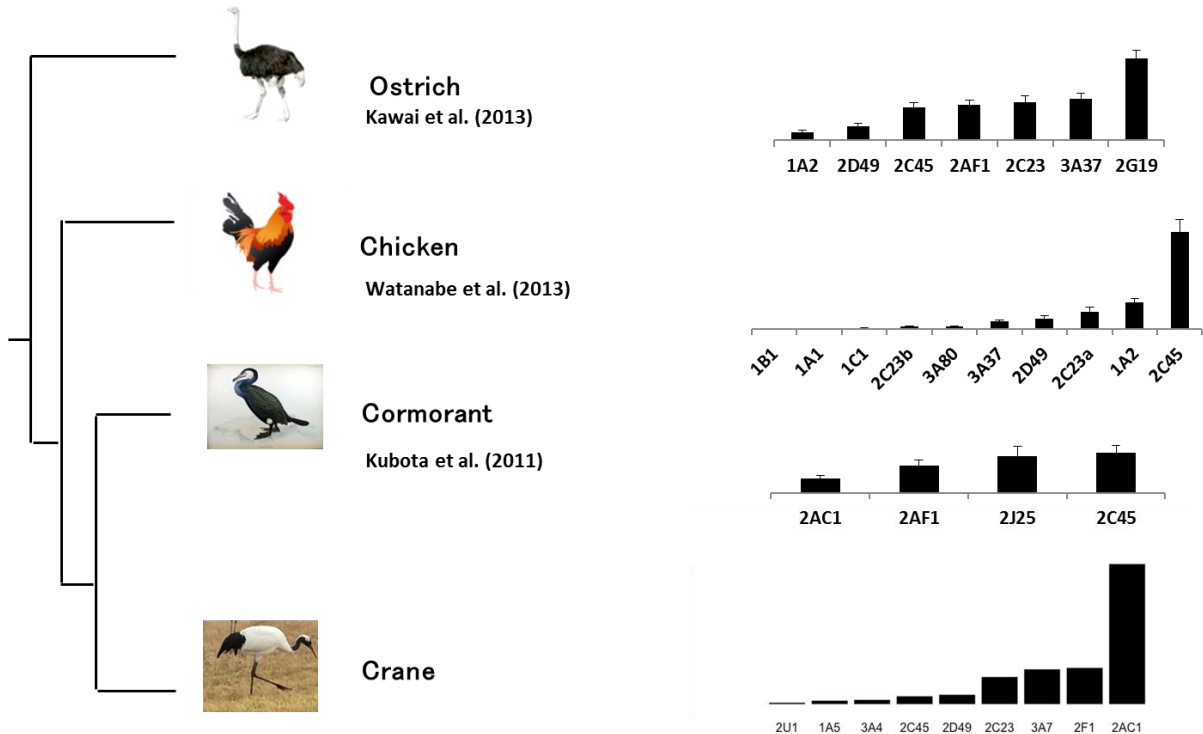


図 1. 各種鳥類の肝臓における CYP 遺伝子発現パターン

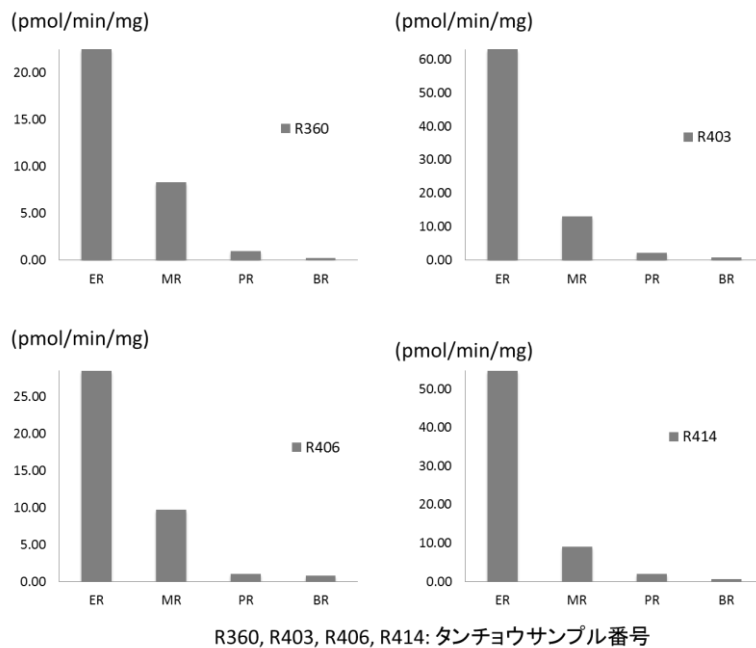


図 2. タンチョウ 4 個体肝臓ミクロソームの AROD 活性比較

【今後の課題】

鳥類、哺乳類での異物代謝遺伝子の収斂進化を検討するために、今後ウミネコの肝臓に発現する異物代謝関連遺伝子のパターンを明らかにし、海棲哺乳類の遺伝子発現パターンと比較を行う必要がある。現在ウミネコサンプルから mRNA を抽出し、高機能シーケンサー (Illumina, HiSeq 2500) を使用した RNA sequence を計画している。

またタンチョウの肝臓での発現パターンについて、定量的 PCR 法を用いてその発現パターンを確定するとともに、タンチョウ肝臓の異物代謝活性についてミクロソームを用いた代謝実験を進める必要がある。

さらに遺伝子発現パターンを明らかにし、ミクロソームを用いた代謝活性を哺乳類、鳥類間で比較を行った後は、実際に同様の発現パターンを示す遺伝子について、タンパク質発現実験を行いその機能を明らかにしていくことが今後の課題となる。

【成果発表リスト】

現時点でなし