T2R2 東京科学大学 リサーチリポジトリ Science Tokyo Research Repository

論文 / 著書情報 Article / Book Information

題目(和文)	│ │ 哺乳類におけるフェロモン受容機構の退化とV1R遺伝子の多様性 │
Title(English)	
著者(和文)	張子聡
Author(English)	Zicong Zhang
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第11668号, 授与年月日:2020年12月31日, 学位の種別:課程博士, 審査員:山村 雅幸,瀧ノ上 正浩,関嶋 政和,二階堂 雅人,廣田 順二
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第11668号, Conferred date:2020/12/31, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,
 学位種別(和文)	博士論文
Type(English)	Doctoral Thesis

令和二年度 博士論文

哺乳類におけるフェロモン受容機構 の退化と V1R 遺伝子の多様性

東京工業大学大学院 総合理工学研究科 知能システム科学専攻 張 子聡 指導教員 山村 雅幸 教授

第一章: 序論	1
1.1 背景	
1.1.1 哺乳類におけるフェロ	モン知覚1
1.1.2 フェロモン受容体遺伝	子の進化
1.1.3 データ駆動型研究と進	化生物学7
1.2 研究目的と論文構成	
図表	9
第二章: 鋤鼻器マーカー遺伝	云子の偽遺伝子化16
2.1 導入	
2.2 材料と方法	
2.2.1 データマイニングと酢	[列アライメント
2.2.2 系統樹構築	
2.2.3 選択圧解析	
2.3 結果と考察	
2.3.1 鋤鼻器退化が既知な種	における偽遺伝子化
2.3.2 半水棲哺乳類における	偽遺伝子化
2.3.3 陸棲哺乳類における偽	遺伝子化
2.3.4 翼手目における偽遺伝	子化
2.4 結論	25
図表	27
第二音, 武率 新 W1D 清仁之	~ 你去で不好的我 / 0
	の抹来と比較/肝例
3.1 導入	
3.2 材料と方法	
3.2.1 データマイニングとア	ライメント
3.2.2 系統樹構築と祖先の持	つレパートリー推定
3.3 結果と考察	
3.3.1 霊長目における V1R 🤅	遺伝子レパートリーの変化51
3.3.2 齧歯目における V1R i	遺伝子レパートリーの変化53
3.3.3 鯨偶蹄目 V1R 遺伝子	-パートリーの変化
3.3.4 食肉目における V1R ;	遺伝子レパートリーの変化58
3.3.5 翼手目と真無盲腸目に	おける V1R 遺伝子レパートリーの変化60
3.3.6 異節上目・アフリカ兽	上目・有袋類・単孔目の V1R 遺伝子レパートリーの変化

3.4 結論	63
図表	65
第四章: 総合討論	89
4.1 鋤鼻器マーカー遺伝子と V1R 遺伝子の探索による鋤鼻器退化の推定	89
4.1.1 鋤鼻器退化が既知な分類群の ancV1R と TRPC2 の偽遺伝子化と V1R 遺伝子の減衰	
4.1.2 遺伝子探索による新規の鋤鼻器が退化した分類群の推定	
4.2 哺乳類の収斂進化と嗅覚系遺伝子レパートリーの多様性	
4.2.1 水棲適応と嗅覚系遺伝子の多様性	
4.2.2 地中棲適応と嗅覚系遺伝子の進化	
4.2.3 麝香腺の獲得と嗅覚系遺伝子の多様性	
4.3 展望	97
図表	99
参考文献	104
謝辞	112

第一章: 序論

1.1 背景

1.1.1 哺乳類におけるフェロモン知覚

"Your nose is before your eyes, then trust it first."とはシートン動物記の一節で、子ギツネに野生の 知恵を教える母ギツネの観察からの一節である(Seton 1898)。動物の仕草を見ると様々な場面で嗅 覚を用いていることがわかる。散歩中のイヌが尿によってマーキングしたり、マーキングされた電 柱の匂いを嗅ぐ行動はよく知られている。また、イヌは他のイヌと出会うと互いに体を嗅ぎ回るこ とで相手がどのような存在なのかの情報を得ることができる。野生のライオンやチーターは地面に 残された匂いを辿って広大なサバンナから獲物となる草食動物の群れを見つける。ネズミなどの齧 歯類のオスは匂いによってメスを引きつける。現在哺乳類で嗅覚がもっとも発達しているとされる ゾウは匂いで人間を区別でき、遠方からでも密猟者を特定できると言われる。

ヒトは外界から情報を得るのを視覚に大きく依存しているため実感のしにくいことであるが、哺 乳類の多くは目があまり良くないため嗅覚を発達させて外界の情報を得ている。これは哺乳類の祖 先が恐竜の時代の長い期間を夜行性で過ごしたため視覚が退化したからである。爬虫類や鳥類は 4 つのフォトプシン遺伝子を持つ 4 色型色覚を持ち紫外線の波長域まで感受するのに対して (Yokoyama and Radlwimmer 2001)、哺乳類の多くは4つのフォトプシンのうち2つが壊れた2色型 色覚である(Bowmaker 1998)。ヒトを含む狭鼻猿類が持つ3番目のフォトプシンは共通祖先が昼行 性への進出の際に再獲得された(Bowmaker 1998)。視覚の代わりに哺乳類の祖先が発達させたのが 嗅覚である。哺乳類の鼻器構造は複雑化しており、例えば特に嗅覚が鋭敏な哺乳類では鼻甲介と呼 ばれる鼻腔中の軟組織をスポンジ状や多層状に発達させ、空気と接する表面積を増やしている (Owerkowicz et al. 2015)。また遺伝的に見ても、爬虫類では嗅覚受容体の遺伝子数は 100 個前後な のに対し(Steiger et al. 2009)、哺乳類はおよそ 200-1000 個ほどになる(Niimura and Nei 2007)。

哺乳類の嗅覚系は主嗅覚系と副嗅覚系の2つに分かれている(図 1.1)。主嗅覚系はいわゆる匂いを 知覚する機構である。鼻腔の主嗅上皮(MOE)に発現する受容体に匂い物質(オドラント)が捕らえら れると刺激が脳にある主嗅球(MOB)に伝達されることで匂いを知覚する(Firestein, 2001; Brennan and Zufall, 2006)。これに対して副嗅覚系はフェロモンを知覚する機構と考えられている。フェロモ ンは個体に対して特定の行動や生理的な変化を引き起こさせる同種間の通信分子として定義されて いる(Karlson and Lüscher 1959)。特にフェロモンは先天的な行動の誘発として社会的な行動や生殖行 動に寄与する(Wyatt 2012)。またオドラントと違って微量でも作用することが特徴である。哺乳類 は鼻腔先端部に鋤鼻器(VNO)を備えており、鋤鼻器官中の鋤鼻上皮に発現する受容体がフェロモン を捕らえると刺激が脳にある副嗅球(AOB)に伝達されることでフェロモンを知覚する(Chamero et al. 2012)。このように、匂いとフェロモンは異なるルートで知覚される。

フェロモンの研究は昆虫から端を発しており、現在も昆虫フェロモンの働きはよく研究が進んで いる。フェロモンという単語が初めて提案されたのは 1959 年の Karlson と Lüscher の論文において であるが、同種間で作用する誘導物質の概念自体はハチやシロアリ等の社会性昆虫の研究や農学分 野の研究で古くから知られていた(Wyatt 2012)。最初に化学物質が同定されたフェロモンはボンビ コールと呼ばれる高級アルコールで(図 1.2)、これはカイコガのメスがオスを誘引するのに用いる性 誘引フェロモンの一つである(Butenandt et al. 1959)。性誘引の字の通り、ボンビコールを探知した オスのカイコガはフェロモンの発生源へと誘導される性質を持つ。このような性誘引フェロモンは 他の昆虫でもいくつか単離されており、誘引性や微量で広い範囲に効く性質を逆手に取って害虫駆 除に利用されている(Resh and Cardé 2009)。性誘引フェロモン以外にも、集合フェロモン、女王フ ェロモン、警報フェロモン、道しるベフェロモンといったフェロモンが昆虫から特定されており、 フェロモンとなる具体的な分子の単離に成功している(Resh and Cardé 2009; 市川 2019)。

哺乳類で発見されているフェロモンが媒介する現象は生殖行動に変化をもたらすものが多いため、 フェロモンという機構は哺乳類の生存戦略においても非常に重要な役割を果たしていることは確か である(Wyatt 2012)。例えば、哺乳類のフェロモンとして以下のブタ、ヤギ、マウスのフェロモンが よく知られている(図 1.2; 市川 2019)。アンドロステノンはブタの唾液に含まれるステロイドの1 つである。妊娠可能な雌ブタは雄ブタを前にするとロードシスという交尾姿勢を取ることが知られ ているが、これはアンドロステノンが誘導する行動である。そのため人工合成されたアンドロステ ノンはブタの繁殖の際に交尾可能かを判断する検査試薬として役立つ。4-エチルオクトナールとい う高級アルデヒドは雄ヤギや雄ヒツジの体臭に含まれる物質である。ヤギやヒツジは季節性繁殖で あり、非繁殖期では雌個体の生殖腺が休止している。ヤギやヒツジは非繁殖期では雄と雌が分かれ た群れで存在するが、非繁殖期の雌の群れに成熟した雄を入れると 4-エチルオクトナールが作用し て雌の内分泌を刺激し、排卵が起こる。フェロモンにはこうした揮発性の低分子化合物のみならず、 ペプチドも用いられる。ESP1 は 70 アミノ酸程度のタンパク質であり雄マウスの涙腺から分泌され る。これは通常雌マウスに対する性誘引フェロモンであるが(Haga et al. 2010)、ブルース効果を引 き起こすフェロモンの1つであることもわかっている(Hattori et al. 2017)。ブルース効果とは、交 尾直後の雌が交尾した雄と異なる個体(系統)の雄のフェロモンに晒されると流産をしてしまう現象 である。マウスには ESP1 を分泌する系統と分泌しない系統が存在し、分泌しない系統の雌に対し て交尾後に分泌する系統の雄を接触させるとブルース効果が生じる。この雌マウスに対して ESP1 を暴露して、ESP1 分泌しない系統の雄を近づけると通常発生しないブルース効果が発生してしまう ことが実験的に明らかになっている。またこれは ESP1 またはそれに協同する分子によって雌マウ スの着床に必要であるホルモン、プロラクチンが抑制されるからであることも示されている。

フェロモンと動物の嗅覚コミュニケーションの研究は具体的な分子や伝達経路の同定の手法的な 難しさも手伝って、全体像の解明には遠い。1959年のフェロモンの提唱とカイコにおける具体的な フェロモン分子の同定以来、これと同様の単一で働くフェロモンが脊椎動物と無脊椎動物の両方で 発見されてきた。それに加えて、近年の研究はフェロモンは混合物で働き、フェロモン混合物の比 がある一定値となったときに作用することも示唆する(図 1.3)。例えば現在雌の蛾の性フェロモンは 脂肪酸やアルコール、エステルなどを含む 5-6種の混合物として同定されており(Cardé and Haynes 2004; de Bruyne and Baker 2008)、これらの組み合わせや混合比は一定である。哺乳類ではこのよう なシナジー効果を持つフェロモンは同定されていないが、いくつかそれを示唆する例が見つかって いる。上記のマウスにおけるブルース効果を起こすフェロモン、ESP1 はその一例である。ESP1 を 妊娠中の雌に単体で暴露してもブルース効果を引き起こさないが、ESP1 と雄との接触の両方を加え るとブルース効果を示すため、雄の匂いや他のフェロモンが ESP1 と協同していると考えられる (Hattori et al. 2017)。さらに、フェロモンによる行動誘発は主嗅覚系つまり匂いと協同して使われ、 脳内で情報を統合して処理されることを示す研究もある。ネズミやシカはストレスを受けると警報 フェロモンとしてその場にフェロモンを放出して仲間に危険を知らせることが知られている(Wyatt 2012)。これはネズミは引っかかったネズミ捕り器に二度引っかからないとしても経験的に古くから 知られる。ラットを用いた実験により、警報フェロモンとなる必須の分子が2つ同定されているが、 片方は従来のフェロモンのように副嗅覚系で受容されるのに対して、もう片方は匂いと同様に主嗅 覚系で受容されることが示されている(Inagaki et al. 2014)。このような匂いとフェロモンの協同は、 フェロモンのもたらす強制力に対する認証機構として、例えば近親交配への抑止力として進化して きた側面も持つであろう。

1.1.2 フェロモン受容体遺伝子の進化

前小節で記載の通り、哺乳類の嗅覚器官は匂いを担当する主嗅上皮とフェロモンを担当する鋤鼻 器に分かれており(図 1.1)、それぞれには匂いおよびフェロモンの受容体を発現した神経細胞(嗅神 経細胞と鋤鼻神経細胞)がある。匂いの受容体は主に OR という遺伝子ファミリーであり、フェロモ ンの受容体は V1R と V2R の 2 ファミリーに分かれる(図 1.4)。脊椎動物におけるフェロモン受容は OR でも報告されていることや V1R と V2R のリガンドのほとんど不明であることから V1R と V2R をフェロモン受容体を断言することはまだできないが、フェロモンを受容していると実験的に確か められた遺伝子のオーソログであることと鋤鼻器に発現しているという観点から本論文ではフェロ モン受容体と記載する。OR、V1R、V2R はすべて 7 回膜貫通型 G タンパク質共役型受容体(GPCR) であるが、これらの遺伝子ファミリーは互いに系統関係はない(Nei et al. 2008)。V2R は Class C GPCR に所属していて味覚受容体 T1Rs などと近縁であるが(Cao et al. 2009)、OR と V1R は起源や 類縁関係が現在でも不明である。V1R は揮発性の低分子や不揮発性のステロイド分子を受容してお り、V2R はペプチドを受容することが前小節でも記載したマウスの実験によって確かめられている。 昆虫を初めとする無脊椎動物のフェロモン受容体と脊椎動物のフェロモン受容体にも系統関係はな く(Brand et al. 2018)、フェロモン受容体の獲得はそれぞれで独立している。

主嗅上皮と鋤鼻器が組織として独立しているのは四足動物、つまり両生類、爬虫類、哺乳類に見 られる特徴である。真骨魚類(一般人がイメージするような魚)では主嗅上皮と鋤鼻器が未分化であ り、その鼻器において哺乳類の嗅神経細胞と鋤鼻神経細胞に相同な神経細胞が混在している(Silva and Antunes 2017)。真骨魚類より原始的ないわゆる古代魚と呼ばれる魚(ポリプテルス、ガー、チョ ウザメ)や軟骨魚類では不明である。四足動物の祖先に当たる肉鰭類シーラカンスでも詳しく同定さ れていないが、同じ肉鰭類である肺魚では嗅上皮から原始的な鋤鼻器に相同な領域が分化している (González et al. 2010; Nakamuta et al. 2012)。そのため鋤鼻器に相同する器官は肉鰭類の祖先で起こ り、両生類の陸上進出に際して気相中の分子を検知するために発達したと考えられる。

このように鋤鼻器の出現は四足動物の祖先とされているが、フェロモン受容体遺伝子の起源は脊 椎動物の祖先にまで遡る(分類用語は図 1.5 参照)。V1R と相同な遺伝子はヌタウナギのような無顎 類(円口類)から哺乳類まで脊椎動物全体に広く保持されている一方で、ホヤやナメクジウオといっ た脊椎動物を除く脊索動物(頭索動物、尾索動物)では保持していない(Grus and Zhang 2009)。ヤツ メウナギでは V1R は鼻器に発現しているため、V1R は誕生からすでに嗅覚系の一部を担っていたと 考えられる。これに対して V2R の出現は顎口類の祖先つまり顎と味覚受容体の発明と重なり、起源 が V1R よりも少し遅いことが示されている(Grus and Zhang 2009)。

V1R ファミリーは 6 つのサブファミリー(V1R1-V1R6)に分かれる(図 1.6; Saraiva and Korsching 2007; Pfister et al. 2007; Nikaido 2019)。サメではこれらの祖先型のようなクレードがいくつか見ら れているが(Sharma et al. 2019; 筆者未発表データ)、概ね6つのサブファミリーとして無顎類、サ メから古代魚、真骨魚類まで保存されている(Nikaido 2019)。サメや真骨魚類では種特異的な重複は あるものの基本的に各サブファミリーに1つずつの6つのV1Rを保持しており、レパートリーの多 様性に乏しい。それに対して、ポリプテルスやガーと言った原始的な条鰭類からアロワナやウナギ のような早い段階で分岐した真骨魚類に限っては V1R2(V1R1 の sister clade 全体をここでは便宜的 上 V1R2 呼ぶ)のみが非常に多くのコピーを持つ(Zapilko and Korsching 2016; 筆者未発表データ)。 この原因は不明であるが、この膨大な V1R2 のコピー数が後に説明する肉鰭類の陸上進出につなが る。原始的な魚類から上位の真骨魚類まで、6 つの V1R 遺伝子ファミリーはいずれも鼻器に発現し ているが(Saraiva and Korsching 2007)、各サブファミリーが何を受容するのか、そもそもフェロモ ンの受容体なのかということさえまだわかっていない。フェロモンは一般的に他種に傍受されない よう種分化のたびにリガンドがマイナーチェンジする。そのため、それに応じて受容体遺伝子の系 統の多くは種特異的な増減が哺乳類の V1R の進化や真骨魚類の V2R1 では観察されている(Grus and Zhang 2004; Grus et al 2005; Hashiguchi and Nishida 2006)。そのため魚類の全体が 6 つの V1R がフェロモンの受容体として祖先から高度に保持されているのは考えづらく、嗅覚系とは異なる機 能を担っている可能性が高い。

一方で、魚類でフェロモン受容を含む嗅覚系を司るのは V2R であると考えられる。マウスの V2R がペプチドを受容することが実験的に確かめられているのに対して(Haga et al. 2010)、真骨魚類の V2R はアミノ酸を受容することが実験的に確かめられている(Speca et al. 1999; Sato et al. 2005; DaMaria et al 2013)。同時に、真骨魚類では種によって異なる V2R サブファミリーの遺伝子が増幅 しており、種間でレパートリーに大きな多様性がある。真骨魚類の V2R のコピー数はおよそ 10-60 個であり(Hashiguchi and Nishida 2006;)、染色体上でタンデムに増幅してクラスタを形成している (Nikaido et al. 2013a; Yang et al. 2019)。このような V2R の遺伝子の振る舞いは軟骨魚類から真骨魚 類まで広く共通する。そうしたことから、真骨魚類の V2R はアミノ酸のみでなく水溶性のペプチド も受容しフェロモン様の振る舞いを行うとも考えられており、実際に真骨魚類では恐怖反応の有無 と V2R レパートリー増減の相関性が指摘されている(Yang et al. 2019)。

このような V1R と V2R の進化的特徴は軟骨魚類を含む古代魚から真骨魚類まで広く共通するが、 陸上進出を果たした四足動物やその1つ手前の肉鰭類ではまったく異なる(図 1.7)。まず V1R では シーラカンスが古代魚と同様の特徴を持つが(Nikaido et al 2013b)、両生類では V1R2 を除いたほと んどの V1R ファミリーが消滅している(Shi and Zhang 2007; Saraiva and Korsching 2007)。そして 残った V1R2 の中から 1 系統のみが哺乳類や爬虫類の V1R につながる。また、V2R においても魚類 の持つ多様な系統 V2R はシーラカンスでも保持されている一方(Picone et al. 2014)、古代魚のみで 保持されていた V2R のある 1 系統がシーラカンスで爆発的に増加しそこから四足動物の持つ V2R

4

の系統が誕生している(筆者未発表データ)。このとき同様に両生類の時点で魚類特有の V2R の系統 はすべて滅亡した。このような魚類の持つ V1R と V2R サブファミリーの大きな滅亡は、水中の化 学物質を捕らえるのに適した受容体が整理された一方で、古代魚がわずかに持っていた気相中の化 学物質を捕らえるに適した受容体の系統が繁栄したことによるものであろう。水陸両方の環境が必 要な両生類は、一方でシーラカンスの持つ膨大な V1R2 と V2R 遺伝子の一部を引き継ぎ、一方でそ こから陸上環境に用いる新規の V1R と V2R を開発した。これは完全陸棲となった有羊膜類(爬虫類 と哺乳類の祖先)で再整理され生き残ったそれぞれ一つの系統から爬虫類と哺乳類の V1R、V2R へ と繋がっていく。

シーラカンスから両生類を経て爬虫類で完全陸棲が実現した四足動物は、陸上で遭遇した新環境 に応じてさらなるフェロモン受容体の取捨選択をしていった。そのため両生類から爬虫類、哺乳類 ではそれぞれ V1R, V2R のコピー数及び V1R 対 V2R の比が大きく異なる(図 1.7)。両生類のフェロ モン受容体の研究は少ないが、よく研究されているネッタイツメガエルでは V1R も V2R もリッチ で V2R に至ってはおよそ 330 コピー存在する(Shi and Zhang 2007)。アカアシサンショウウオ (*Plethodon shermani*)の鋤鼻器は季節によってサイズが変形して繁殖や捕食に役立てると考えられて いる(Dawley et al. 2000)。アカアシサンショウウオの場合は V2R のコピー数が 34 コピーとネッタ イツメガエルよりは少ないが、魚類や他の四足動物と比べると少なくない数である(Kiemnec-Tyburczy et al. 2012)。これらのことからおそらく両生類はフェロモン受容が大きな地位を占めてい ると考えられる。

それに対して爬虫類ではおよそ生息環境によって異なる。爬虫類の中でも陸棲である有鱗目(トカ ゲやヘビ)は発達した鋤鼻器を持つ。有鱗目の鋤鼻器は左右一対で口腔とつながっており、口の中に 入ってきたフェロモンを感知するようになっている。トカゲやヘビが盛んに舌を出し入れするのは そのためである。一方で有鱗目のVIRとV2Rの比率は非常に偏っている。有鱗目は両生類からVIR を大きく減らしており3つ程度にとどまる。しかしV2Rを非常に拡張させていて100-200コピー程 度の遺伝子数を持つ(Brykczynska et al. 2013)。これはV1Rが受容する低分子化合物かV2Rが受容 するペプチドフェロモンのせめぎ合いの中でペプチドフェロモンのほうが有鱗目にとって大きく適 応的だったからだと考えられるが、詳しいことはわかっていない。一方、カメ目とワニ目では鋤鼻 器は退化しており、痕跡器官しか残っていない(Døving and Trotier 1998; Silva and Antunes 2017)。 カメやワニは水棲に二次適応した種であるため、爬虫類祖先で完全に陸棲適応した結果水棲用のフ ェロモン受容体が失われたが、陸棲から水棲に再適応したときに今度は陸棲用のフェロモン受容体 が失われてしまったのだろう。カメとワニにはV1RとV2R遺伝子もほとんど残っていない(Silva and Antunes 2017)。また恐竜から進化してきた鳥類では鋤鼻器が完全に失われており、V1RもV2R もゲノムから見つけることができない。これは同様に飛行能力を獲得したコウモリでもほとんどの 種で鋤鼻器が失われていることから、空へと適応拡散した結果と考えられているが確たる説はない。

哺乳類の祖先は三畳紀の後期に単弓類(古くは哺乳類型爬虫類として爬虫類に含まれたが現在は 爬虫類とは別群)から分岐した。フェロモン受容という観点における哺乳類と爬虫類の違いは、哺乳 類が成立直後から非常に V1R を発達させていることである。これに加えて進化の進んだ有胎盤類で は齧歯目や下位の霊長目などのごく一部の目を除いて V2R が消滅しているという爬虫類と真逆の道 を辿っている。現生哺乳類の中でも最も成立が早いのは単孔目(カモノハシやハリモグラ)である。ゲ ノムが公開されているカモノハシでは、フェロモン受容体遺伝子が V1R を約 300 コピーへ爆発的に 増加している一方で V2R は 15 コピーにまで減少していることが特徴的である(Shi and Zhang 2007)。 現生哺乳類の中で次に分岐の早いのは有袋類であるが、オポッサムでは V1R も V2R も 90 コピー程 度持っておりカモノハシと違って V2R も相当量保持している。これらのことから、哺乳類成立直後 でも V1R の低分子受容と V2R のペプチド受容とで大きなせめぎ合いがあったことがわかる。哺乳 類の祖先で嗅覚系の大きな発達があったのは、哺乳類祖先の存在した三畳紀から白亜紀は恐竜が繁 栄した時代であるため、昼世界に棲む大型恐竜の生息条件を避けるように夜間に適応したためと考 えられている。

白亜紀末の大絶滅に生き残った哺乳類の祖先は、恐竜などの大型動物がいなくなった世界へと爆 発的に拡散した。特に有胎盤類は現在もっとも繁栄している哺乳類である。有胎盤類の進出は昼の 大地のみならず、空や海洋、樹林、地中にまで及ぶ。こうした哺乳類の適応拡散によって、感覚器官 の大きな進化が起こったこととそれに伴うトレードオフで重要度が低下した器官の退化が起こった ことはよく知られており、フェロモン知覚と鋤鼻器もその例外ではない。クジラ類は陸棲であった 祖先が進化して完全水棲となった種である。クジラでは前述のカメとワニと同様に水棲適応の過程 で鋤鼻器は退化しきっており構造的にも残っていない(Meisami and Bhatnagar 1998)。同時に V1R もほぼ存在せず残った僅かなコピーは消滅の真っ只中と考えられる(本文第三章)。その代替のコミ ュニケーション手段としてクジラが発達させたのは音波を用いた反響定位能力である。これはイル カ等の音波による捕食や仲間同士の通信手段として用いられている。音波の解析のためにクジラは 骨格組織や独自組織であるメロン体等様々な組織を発達させた。またメロン体を持たないヒゲクジ ラ類でも低周波の音波を状況把握や交信に用いるとされる。ヒトや類人猿からオナガザル(日本人に 馴染みの深いところではニホンザル)までを含む上位の霊長類ではこれらの共通祖先の段階で鋤鼻 器の退化が始まり、V1Rのコピー数も大きく減衰している(第三章:0-5 コピー程度)。これは上位の 霊長類における3色覚の獲得等により視覚への依存性が増したためと言われるが(Zhang and Webb 2003)、それを否定する研究も存在する(Webb et al. 2004)。ただ、実際の動物を見てみればオナガザ ルのオスは派手な色合いでメスにアピールすることが多いし、我々ヒトも異性に惹かれるときはま ず見た目からである。コウモリは大部分の科で鋤鼻器が退化しており、鋤鼻器が残存している科は 2 科程度に留まる(Bhatnagar and Meisami 1998;後述の筆者の研究では3 科である)。これは鳥類と 同様に飛行能力の獲得により嗅覚への依存性が低下し、視覚や聴覚への依存性が増したとも言われ るが相関のレベルでしかわかっていない。またコウモリは科によって個別に超音波を獲得し、クジ ラ類とは違って聴覚を発達させて反響定位能力を獲得しているが、これは鋤鼻器の退化との相関性 は薄いことが示されている(Yohe et al. 2017)。ちなみに聴覚を発達させたためかコウモリのオスは 歌でメスにアピールする。

爆発的な適応拡散を誇る哺乳類であるが、その適応進化に対してフェロモン知覚がどのように進 化していったのかは解剖学や行動学的な知見に依存しているのが現状である。これは V1R がゲノム 中に散在しているため、ゲノム情報が得られなければ全容を解析するのは困難なことに起因する。 しかし近年のシークエンシングの低価格化や高速化によって、全ゲノムが得られる種はどんどん増 加している。フェロモン受容体遺伝子の研究もこれに伴って、1995 年のマウスとラットでの発見か ら(Dulac and Axel 1995)、2005 年では 6 種(Grus et al. 2005)、2010 年では 37 種と(Young et al.

6

2010)、哺乳類における遺伝的な多様性を発見してきた。だが近年の研究は霊長目、クジラ亜目、コ ウモリ目といった既に鋤鼻器の退化がわかっている種とその周辺の種との比較という文脈で行われ ており(Yoder et al. 2014; Kishida 2015; Moriya-Ito et al. 2018; Yohe et al. 2019)、他の哺乳類ではサ ンプル数の増大に対して研究数が乏しい。現存の哺乳類の多様性を考えれば、例えば鋤鼻器を保持 している種間でもそれぞれの適応進化の結果でフェロモン関連遺伝子に大きな多様性があるといっ た、解剖学的な手法では発見できなかった潜在的な多様性が遺伝子解析の側面から発見できるかも しれない。

1.1.3 データ駆動型研究と進化生物学

生物の多様性は遺伝子の変異によってもたらされるが、具体的にどのような変異や分子機構から 生み出されるものかは現在も部分的な理解に留まる。このような問題に対してはゲノム情報を網羅 的に比較し解析するアプローチが必要不可欠である。シークエンシング技術が確立された当初はゲ ノムの決定が非常に高コストであったためにモデル動物のゲノムが中心として読まれた。そのため ゲノム情報を用いた研究は主に社会貢献度のわかりやすい疾患関連遺伝子に対して行われていた。 しかし次世代シーケンサーの開発競争が加熱するとゲノムを決定するコストが格段に下がったこと により、世界中の研究機関で低コストにゲノムを決定することができるようになった。そして現在 では哺乳類のほぼすべての分類群を網羅した比較ゲノム解析が可能になりつつある。2019 年 10 月 に筆者が調べたところでは、NCBI に登録されている哺乳類の全ゲノムの数でおよそ 330 種存在す る。これは哺乳類の総種数のおよそ 6000 には遠い数であるが、科にすると 115 科と現存の 156 科 の 70%以上を含んでいる計算となり、目レベルでは有袋類の一部を除くすべての哺乳類の目を含む。 こうして大量に読まれた動物のゲノム情報はデータベースに登録されビッグデータとなっている。

科学研究の方法論はしばしば仮説駆動型とデータ駆動型の2つに分けられる。すなわち設定した 仮説に対して実験的に検証するアプローチと、データベースの中から発見的な探索を行うアプロー チである。生物学におけるデータ駆動型研究はゲノム情報が読まれる頃から提唱された。これは具 体的にはゲノムやトランスクリプトームを始めとするオミックス情報を統合的に解析することで生 命科学の発展に役立てる研究を指す。現在、生命科学に関するデータベースの大規模化や多様化が 進んでいることから、データ駆動型の研究はこれからの生命科学における中核分野の一つとして期 待される。

データ駆動型研究は仮説生成研究であるという指摘もある通り、仮説駆動型研究の前段階の研究 として位置づけられる(科研費.com 2017)。仮説生成の重要性としては例えば種や個体の差異を生み 出す遺伝的変異が何かについて事前に当たりをつけなければ無駄な検証に時間を費やされることが 挙げられる。こうした仮説生成を行うデータ駆動型研究は生物のデータベース化の拡張とともに重 要度が増すであろう。

こうしたデータ駆動型研究の営みは博物学によく似ている。かつての博物学者は自然界に存在す る生物や鉱石、さらには天体などのあらゆる物の性質を記録し分類した。そして整理した記録を元 に自然を支配する法則を推定した。これはひとえに人間が自然に対してまったく無知であったこと に起因しており、そのために徹底的な調査を必要としたのだ。博物学は現代では古典的という印象

7

を受けるが、21世紀に入ってからは次世代シーケンサーに端を発する新たな観察手段が考案され続けていると共に未知である領域はむしろ広がり続けている。そこで研究者たちは博物学で用いられたアナログな情報取得と処理の手段を、データ駆動型研究で用いられるデジタルな情報取得と処理の手段へと変化させて未知へと挑むことになった。生物学における博物学の営みは配列解析やオミックス解析という形で現代でも受け継がれておりそこにあるのは手段の違いしかない。

進化生物学は博物学的なアプローチが重要な地位を占める研究分野の一つである。これは生物の 進化が実験的に証明できないという性質から来ている。生物の進化は遺伝子にかかるランダムな変 異と表現型にかかる生存バイアスによって規定されるため、表現型の変化はときには非合理的で、 再現性がない。また、個体の寿命と比べたら非常に多くの時間を必要とする。進化の法則を実証で きない以上は実際に存在する生物から証拠を集め分析する必要がある。

現代では前述の通り、次世代シーケンサーの登場により地球上のあらゆる生物のゲノム配列が現 在得られるようになり始めている。これは進化生物学の研究にはおいては、あらゆる生物の多様な 表現型を遺伝子型の違いに落とし込んで理解する研究の潮流が形成され始めていることを意味する。 本研究は、現代の博物学研究またはデータ駆動型の研究手法を駆使した進化生物学研究の先駆けと して、哺乳類の中でも遺伝子型の多様性が特に豊かなフェロモン受容体遺伝子群の網羅的な比較解 析をすることで、今後の科学的発見に役立てたい。

1.2 研究目的と論文構成

本研究の目的は、哺乳類の多様な適応進化とフェロモン知覚の関係を明らかにすることである。 そのために研究当時に公開されている全哺乳類のゲノム情報に対して、①鋤鼻器マーカー遺伝子と ②フェロモン受容体遺伝子 V1R の網羅的な探索と比較解析を行った。フェロモン知覚の退化は鋤鼻 器の退化から考察されてきたが、鋤鼻器の退化は解剖による構成組織の退化の観察から決定されて きた。これに対して、①では鋤鼻器で中心的な機能を担うと考えられる ancV1R と TPRC2 の 2 遺 伝子の配列を探索して配列に含まれる有害な変異と自然選択圧の消失の両方を吟味することで偽遺 伝子化を決定し、そこから潜在的な鋤鼻器の退化および適応進化との関係を考察した。②では多重 重複遺伝子である V1R を包括的に取得してそれぞれの系統関係を解析することで、哺乳類進化のど の時点で V1R のコピー数が増加または減少したのかを解析した。その結果から V1R の増減が哺乳 類の適応進化とどのように相関するのかを考察した。

本論文では、第二章と第三章の導入で①と②についてそれぞれ先行研究について述べた後に研究 結果と考察を述べる。第四章では①と②の結果を総括し、鋤鼻器が退化した種におけるフェロモン 知覚の退化と適応進化の関係および、鋤鼻器を保持した種間における嗅覚コミュニケーションの多 様性と適応進化の関係を考察する。さらに、こうして網羅的な解析で得られた仮説の数々は検証さ れることによってどのような科学的発見に役立てることができるかの展望を述べる。



図 1.1 主嗅覚系と副嗅覚系の組織図。主嗅覚系は鼻腔から入った物質が主嗅上皮(MOE)で受容され、 その刺激が脳の一部である主嗅球(MOB)に伝わるのに対して、副嗅覚系は鋤鼻器(VNO)で受容され、 その刺激が副嗅球(AOB)へ伝わる。図では鋤鼻器に通じる穴(鼻口蓋管や切歯管、内鼻孔と分野によ って呼ばれ方が異なる)が鼻腔側に開口しているが、これは齧歯目において見られる特徴であり、爬 虫類や哺乳類の大部分は口腔内に開口している。画像は Nikaido et al. 2019 より。



図 1.2 実際に物質として単離されているフェロモン。フェロモン研究は昆虫から始まっており多く の揮発性物質がフェロモンとして無脊椎動物で単離されている(左)。哺乳類のフェロモンは特定が あまり特定が進んでいないが、実際にいくつかのフェロモンが知られており主に農学分野に役立て られている(右)。画像は市川 2019 より。



図 1.3 線虫において発見されているフェロモンの多重性。特に研究の進んでいる無脊椎動物のフェ ロモンの分野では図のようないくつかのフェロモン物質による複合効果が知られる。このような複 合的なフェロモンは哺乳類では発見例に乏しいが、将来的には哺乳類フェロモン研究においても重 要な分野になることが予想される。画像は Wyatt et al. 2014 より。



図 1.4 鋤鼻神経細胞における神経伝達系のモデル図。鼻腔に入ったフェロモン(Ligand)は V1R 受容体によって捕えられると G タンパク質を介して刺激が下流に伝わり、最終的には TRPC2 がイオン チャネルとして駆動し鋤鼻神経細胞の脱分極が行われる。画像は Zufall et al. 2005 より。



図 1.5 脊椎動物の系統樹。本論文中に用いた系統学用語とその系統関係をまとめた。フェロモン受容体遺伝子である V1R 遺伝子は脊椎動物の共通祖先で、V2R 遺伝子は顎口類の共通祖先で誕生しており、脊椎動物の進化にしたがって V1R 数対 V2R 数の比率を大きく遷移させている。フェロモン 受容器官とである鋤鼻器が組織として独立するのは四足動物以降である。具体的な V1R と V2R の コピー数の遷移については図 1.7 を参照。



図 1.6 V1R 遺伝子の進化系統樹。V1R 遺伝子の起源は脊椎動物の共通祖先であり、おおよそ6つの サブファミリー(V1R1-V1R6)として脊椎動物の共通祖先から条鰭類まで保存されている。四足動物 などの陸上で用いるとされる V1R 遺伝子のレパートリーは V1R2 サブファミリーから出現しており 特に完全陸棲を達成した爬虫類と哺乳類では V1R2 サブファミリー以外のサブファミリーが消滅し ている。例外的に ancV1R サブファミリーだけは一部の分類群を除く硬骨魚類で全体で保持されて いる。画像は Suzuki et al. 2018 より。



図 1.7 V1R 遺伝子と V2R 遺伝子の比率の変遷。低分子化合物を受容するとされる V1R 遺伝子とア ミノ酸やペプチドを受容するとされる V2R 遺伝子のレパートリーは脊椎動物の進化とともに比率を 大きく変えている。脊椎動物共通祖先から条鰭類までの水棲動物は、V1R 遺伝子がおよそ6 コピー 前後で高度に保持されているのに対して、V2R 遺伝子は種によって多様でありおよそ 10-50 コピー 程度保持する。しかし水陸両棲の両生類では V1R 遺伝子が爆発的に増加した結果、V1R 遺伝子も V2R 遺伝子もリッチである。完全陸棲を達成した爬虫類と哺乳類では、爬虫類では V1R 遺伝子がほ とんど退化しているのに対して V2R 遺伝子が多い。逆に哺乳類では有袋類や齧歯目を除くほとんど の分類群で V2R 遺伝子が退化しており代わりに V1R 遺伝子がメジャーである。図は Silva and Antunes 2017 より。

第二章: 鋤鼻器マーカー遺伝子の偽遺伝子化

2.1 導入

鋤鼻器(VNO)の解剖学的な説明と哺乳類での退化については 1.1 節で書いた通りである。鋤鼻器 は鼻器の先端にあるフェロモンを捕らえる組織で、匂いを捕らえる主嗅上皮(MOE)とは組織として 独立している(Firestein 2001; Brennan and Zufall 2006)。MOE でもいくつかのフェロモンを捕らえ ることが示唆されているが(Mandiyan et al. 2005; Ohara et al. 2009)、フェロモン受容は主に鋤鼻器 で行われていると考えられており、その機能は生存に欠かせないものである。例えばマウスを用い た実験では鋤鼻器の存在が特に生殖行動や社会的な行動において重要であることが示されている (Meredith 1986; Wysocki and Lepri 1991)。そのため、鋤鼻器は多くの哺乳類が保持しているが (Doving and Trotier 1998)、一方でいくつかの種では退化していることが知られる(図 2.1)。クジラ 類やジュゴン、マナティのような海牛類では水棲適応によって鋤鼻器を失っている(Lowell and Flanigan 1980; Switzer et al. 1980; Mackay-Sim et al. 1985; Oelschläiger 1989)。半水棲哺乳類である |鰭脚類(アザラシ科、アシカ科、セイウチ科)ではアシカ科とセイウチ科では鋤鼻器を保持している一 方、アザラシ科では鋤鼻器が失われており、同じ鰭脚類の中でも差がある(Mackay-Sim et al. 1985)。 狭鼻猿類は昼行性への移行と3色覚の獲得によって視覚の重要性が増したトレードオフで鋤鼻器を 失ったとされる(Dixson 1983; Bhatnagar and Meisami 1998)。狭鼻猿類の近縁である広鼻猿類は鋤 鼻器を保持するが、いくつかの組織の縮小が指摘されている(Hunter et al. 1984; Smith et al. 2011)。 コウモリ類では Phyllostomidae と Miniopteridae の2 科を除くすべての種で鋤鼻器が退化している (Wible and Bhatnagar 1996)。コウモリ類における鋤鼻器は各科ごとに独立して退化したとされるが、 退化した理由については未だはっきりしない。

TRPC2(transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 2)は鋤鼻神経細胞に特異的に発現するチャネル遺伝子であり、鋤鼻器の機能に欠かせないことが示されている(Stowers et al. 2002; Liman and Dulac 2007)。TRPC2の探索を行った先行研究では、狭鼻猿類(Liman and Innan 2003; Zhang and Webb 2003)、クジラ類(Yu et al. 2010)、コウモリ類(Zhao et al. 2011; Yohe et al. 2017, 2018)、カワウソ類とアザラシ類(Yu et al. 2010, Hecker et al. 2019)において TRPC2 の偽遺伝子化と鋤鼻器の退化がよく相関している(図 2.1)。そこで、TRPC2 は鋤鼻器が機能しているかどうかを判定する遺伝子マーカーとして用いられてきた。

最近、ancV1R という鋤鼻器特異的に発現する遺伝子が新たに同定され、鋤鼻器の遺伝子マーカー として提案されている(Suzuki et al. 2018)。ancV1R は V1R 遺伝子ファミリーに属しているが、ほと んどの硬骨魚類で1コピーとして保存され、また鋤鼻神経細胞で他の V1R 遺伝子と同時に発現して いるという通常の V1R 遺伝子とは極めて異なる特徴を持つ(Suzuki et al. 2018)。このことから、 ancV1R は通常の V1R 遺伝子のようなフェロモン受容体ではなく TRPC2 と同様に鋤鼻器の機能の 中枢を担う遺伝子だと考えられる。

本章の研究では、研究当時に NCBI データベースに登録されたすべての脊椎動物のゲノム情報を 用いて ancV1R 遺伝子を網羅的に取得し解析した。配列の解析では以下の 2 点の検出を遺伝子機能

の損失として定義した: ①遺伝子機能を破壊する有害な変異(フレームシフト変異、ナンセンス変異) の探索、②遺伝子にかかる選択圧の弛緩(み/な値の上昇)と統計有意性の検定。この2点は機能が失 われた遺伝子に見られる特徴であり、片方だけでは偽陽性の可能性がある(①はアッセンブリーエラ 一等に起因する可能性があり、②はランダム変異によるノイズや正の自然選択に起因する可能性が ある)。そのため一般的には偽遺伝子と言えば①のみを指す場合が多いが、本稿では偽遺伝子化を 元々は機能的だった遺伝子が現在機能が失われている状態であると定義してこの2点に基づいた判 定を行った。この判定基準に基づいて、まずは鋤鼻器退化が既知なクジラ類、海牛類、狭鼻猿類、コ ウモリ類で解析を行ったところ、基準として設けた両方が検出された。これにより、ancV1Rの機能 が損失していることは鋤鼻器が退化していることを示すのに十分であることを示した(図 2.1)。これ によって ancV1R が新規の遺伝子マーカーとして TRPC2 と同様に有効であることを確認した。次 にこの2点が検出された種を網羅的に探索したところ、アザラシ科、カワウソ亜科、フォッサ、ヨ ザルとハーテビースト亜科で ancV1R の遺伝子機能が失われているを発見した。これらの種では鋤 鼻器の機能や退化が未知または十分に研究されていない種である。これらの種における鋤鼻器退化 の可能性をより深く評価するために、TRPC2 の配列も取得し同様の解析を行ったところ、TRPC2 も ancV1R と同様に機能が失われていることが示唆された。以上のことにより、本章の研究ではこ れらの種を鋤鼻器が退化した種として新たに提案する。

2.2 材料と方法

2.2.1 データマイニングと配列アライメント

ancV1Rの配列取得には、先行研究(Suzuki et al. 2018)で特定された ancV1R の配列をクエリーと し、NCBI whole-genome shotgun contig database に登録されたすべての脊椎動物のゲノム配列に対 して tBLASTn で検索をかけた。tBLASTn の検索は目ごとに行い、検索を行った目に所属する代表 1種の配列をクエリーとしてそれぞれ用いた。その結果、ancV1R は古代魚4目(ポリプテルス、ガ ーパイク、チョウザメ、シーラカンス)、両生類 2 目、爬虫類 4 目、哺乳類 23 目を含む全 341 種で '特定された(表 2.1)。さらに取得できた配列の中から下記の配列を解析から取り除いた。まず、配列 中に N を含む種はアッセンブリー時にエラーがあるため除いた。次に、同属に属する種同士の配列 は冗長性を排除するため代表 1 種の配列を残しすべて除いた(表 2.1)。その結果、残った 298 種の配 列を解析に用いた。解析に用いた配列はすべてアミノ酸に翻訳し、配列途中に終止コドンが含まれ る配列は偽遺伝子化した配列候補として振り分けた。この操作は Biopython (Cock et al. 2009)で自 動化し、有害な変異を持つ配列は目で見て確認をした。配列途中に終止コドンを含まない配列は完 全な配列(intact)として MAFFT(Katoh et al. 2002)の linsi(Katoh et al. 2005)のデフォルトパラメー ターを用いて配列アライメントをした。アライメントしたアミノ酸配列は PAL2NAL(Suyama et al. 2006)で元の核酸配列と照合してコドンのアライメントデータを生成した。有害な変異が入っていた 種の核酸配列は MAFFT の--add オプション(Katoh and Frith 2012)を用いてこのコドンアライメン トへと挿入した。この統合したアライメントを用いてフレームシフト変異やナンセンス変異などを もたらした変異を特定した。このような変異はアッセンブリーエラーに起因する場合があるので、

各種のゲノム情報の元となった次世代シーケンサーの生データである DNA 断片(NCBI short read archive [SRA] data: https://www.ncbi.nlm.nih.gov/sra/)を megaBLAST で検索し、生データ上に所 定の変異が本当に存在するかをすべての種で調べた。

ancV1R に有害な変異の入った種が TRPC2 でも変異しているのかを確かめるために同様の操作 を TRPC2 についでも行った。TRPC2 はイントロン-エキソン構造が複雑なため、1 エキソンとして は最も長く保存性も高い exon 12 の配列を用いた。TRPC2 exon 12 は 720bp かつ翻訳フェイズが 0 から始まる。配列の取得では Ensembl データベース上にあるウシとマウスの TRPC2 の配列データ (Ensembl ID: ENSBTAE00000396459 and ENSMUSE00001323118)をクエリーとしてアフリカ獣上 目、霊長目、食肉目、コウモリ目のゲノム配列上を検索した。取得した TRPC2 の配列は ancV1R と 同様にアライメントし変異を確認した。

2.2.2 系統樹構築

ancV1R 遺伝子の系統樹は RAxML 8.2.4 (Guindon and Gascuel 2003)を用いて構築した。系統樹 構築に用いる塩基置換モデルの推定には jModelTest2 (Darriba et al. 2012)を用い、その結果 GTR+I+G モデルが AIC(Akaike Information Criterion)スコア上もっとも適するモデルとして推定 された。各ノードにおける分岐の信頼性は bootstrap 法で 1000 個のブートストラップを生成して評 価した(図 2.2 および図 2.4)。ancV1R 遺伝子の外群には先行研究(Suzuki et al. 2018)に基づいて V1R5 と V1R6 を用いた。

2.2.3 選択圧解析

遺伝子に対する変異は、アミノ酸配列を変える変異である非同義置換とアミノ酸配列を変えない 同義置換に分けることができる。非同義置換が起こり得る場所の数に対する実際の同義置換数(d_0)を局義置換が起こり得る場所の数に対する実際の同義置換数(d_0)を考えるとする。遺伝子は常に 変異に晒されているが、非同義置換は遺伝子の機能に悪影響を与える確率が高いため、機能を持つ 遺伝子に非同義置換が入った個体は集団から排除される確率が高く、その結果置換が起きてもその 集団全体の平均的な遺伝子配列として残らない。それにより、遺伝子配列を観察すると非同義置換 が排除されている力が働いているように見えるので、この見かけ上の力を選択圧という。機能を持 つ配列は選択圧が働いているため遺伝子配列を観察すると $d_0 < d_0$ となる。しかし遺伝子が機能を失 った場合、遺伝子の領域には自由かつランダムに変異が入るため、理論上 $d_0 = d_0$ となる。また、適 応進化によって遺伝子の機能が刷新される場合、集団の平均的な配列としては非同義置換が多く導 入されるため、 $d_0 > d_0$ となる。

ancV1R 遺伝子と TRPC2 遺伝子にかかる選択圧(ω 値、 d_N/d_s 値)の最尤推定には PAML4.8(Yang 2007)を用いた。偽遺伝子化に伴う d_N/d_s 値の上昇の有意性を検定するために、PAML 中に実装され ている branch model (Yang 1998; Yang and Nielsen 1998)を用いた。branch model は系統樹上で機 能を失った種(または類)の枝を foreground branch とし、機能を維持している種の枝を background branch としたときの両者の値が異なると仮定してそれぞれの d_N/d_s 値を推定としたときの尤度、つ

まり d_N/d_s 値が foreground branch で上昇したと仮定したとき(対立仮説)の尤度と、foreground branch と background branch の d_N/d_s 値が同じ値である、つまり d_N/d_s 値の上昇が発生しなかった と仮定したとき(帰無仮説)の尤度を尤度比検定し、統計的有意性を調べる方法である。これら一連の 選択圧解析は、偽遺伝子化した ancV1R または TRPC2 を持つ種を含む目単位で行った。つまり foreground には偽遺伝子化した分類群を設定し、background には機能を維持していると考えられる intact な配列を持つ同目内の種すべてを設定した。

各目ごとのデータセットは配列のアライメントと系統樹で構成される。配列アライメントは前述 のアライメントから任意の目に所属する種の配列を抜き出して目ごとの配列アライメントを再構築 した。配列アライメントの入力はコドンアライメントでなければいけないため、フレームシフト挿 入変異が入ったカラムはアライメントから削除した。各系統樹の樹形は ancV1R や TRPC2 の遺伝 子から構築された系統樹ではなく Open Tree of Life database (Hinchliff et al. 2015)に登録されてい る全ゲノム情報などに基づいて構築された種の系統樹を用いた(図 2.5)。ハーテビースト亜科を含む アンテロープの樹形は Open Tree of Life database に登録されていなかったため Bärmann et al. (2013)と Chen et al. (2019)で決定した樹形を参照した。

d_№ / d_∞値の最尤推定に用いるコドン頻度のモデルは、以下 4 つのモデルの尤度を求め AIC 値に基 づいて最適なモデルを決定した: CF0 (どのコドンの頻度も均等であると仮定する)、CF1(コドンの 頻度を塩基の出現頻度の平均値から算出する)、CF2(コドンの頻度を第三コドンに登場する塩基の 頻度から算出する)、CF3(コドン頻度もフリーパラメーターとして推定する)。コドン頻度モデルの 決定には intact な配列を持つ哺乳類の種全体を用いた。その結果、CF0 が ancV1R(表 2.4)で支持さ れ、CF1 が TRPC2(表 2.5)で支持された。

2.3 結果と考察

2.3.1 鋤鼻器退化が既知な種における偽遺伝子化

本章の研究では、合計で脊椎動物 298 種の ancV1R の配列を解析した。先行研究(Suzuki et al. 2018)同様に、真骨魚類と鳥類では ancV1R は発見できなかった。また、ワニ類とカメ類では ancV1R の配列に多くの挿入と欠失が入っており遺伝子としての機能を失っていた(表 2.3)。これらの分類群 における結果は解剖学的にこれらの分類群では鋤鼻器(VNO)を保持していないことによく合致している(Silva and Antunes, 2017)。一連の配列取得では ancV1R はほとんどすべての生物で 1 コピーで 保存されており遺伝子重複が起きていないことを確認した。例外はアフリカツメガエルであり、アフリカツメガエルでは intact な遺伝子(機能を保持している遺伝子)を 1S 染色体に、偽遺伝子化した遺伝子を 1L 染色体に保持していた。これはアフリカツメガエルが異種交配によって誕生したが異 種の染色体がそのまま倍数体として存在し続けた結果、2 つのサブゲノムが混在していることによ ると考えられる。

ancV1R 遺伝子が intact であると判定された哺乳類 201 種うち、長さの最頻値は 972bp であり 167 種の哺乳類はこの長さで保存されている(表 2.2)。残りの 34 種はインフレームな挿入や欠失が見ら れた。ancV1R の遺伝子から作成した最尤系統樹(図 2.2)は偽遺伝子を含む状態でも概ねゲノム情報 全体から構築された種の系統樹と一致している。一般に遺伝子から作成した系統樹は種の分化について十分な情報量を持たないため上目や目単位でもまとまりが崩れやすい。ancV1R の遺伝子から 作成した系統樹は少なくとも上目単位の分岐は確立された種の系統樹と一致しており、目単位のす べてが単系統としてクラスタリングされているため、1kbp 弱の長さの遺伝子としては系統に対する 情報量が豊富であると言える。また、遺伝子の系統樹は特に遺伝子重複が起きると樹形が種の系統 樹から崩れてしまうことが知られている。そのため今回の系統樹推定の結果は ancV1R が遺伝子重 複を経験せずに 1 コピーで保存されていることおよび今回取得した遺伝子はすべてオーソログであ ることを示す。

哺乳類において鋤鼻器が退化している種としては海牛目、クジラ亜目、狭鼻猿類(狭鼻小目)が知ら れており(コウモリである翼手目については後述)、これらの分類群で ancV1R に有害な変異が入っ ていることが先行研究で示されている(図 2.1; Suzuki et al. 2018)。本研究ではより詳細に各偽遺伝 子化をもたらした変異を特定した。海牛目のマナティは2つのフレームシフト挿入と1つのフレー ムシフト欠失および2つのナンセンス変異が入っている(図 2.3A)。クジラ亜目では各系統で個別に 多くの変異が入っているが、亜目内で一つのフレームシフト欠失を共有している(図 2.3B)。狭鼻小 目では3つの科(ヒト科、テナガザル科、オナガザル科)それぞれで独立に変異が入っている(図 2.3C)。 ヒト科は1つのナンセンス変異を共有する。テナガザル科は1つのフレームシフト欠失と1つのナ ンセンス変異を持つ。オナガザル科は1つのフレームシフト欠失と1つのフレームシフト挿入を共 有する。

本章の研究では変異に加えて、鋤鼻器が退化した分類群の持つ配列にかかる選択圧($\omega = d_h / d_h$)の最尤推定とこれらの分類群で選択圧が有意に弛緩していることを解析した。選択圧の比較解析では(i)偽遺伝子を持つ分類群と(ii)intact な遺伝子を持つ分類群の2カテゴリーで d_h/d_h 値を推定したときの尤度と、(i)と(ii)の d_h/d_h 値をイコールとして d_h/d_h 値を推定した1カテゴリーでの尤度を 尤度比検定して、(i)における選択圧弛緩の統計的な有意性を確認した(図 2.3A-C)。2カテゴリーで 推定したときの(i)であるマナティ(1.99)、クジラ亜目(1.09)、狭鼻小目(1.08)の d_h/d_h 値はいずれも (ii)であるアフリカ獣上目(0.38)、鯨偶蹄目(0.46)、霊長目(0.44)よりも上昇していた。尤度比検定の 結果いずれの d_h/d_h 値の上昇も有意($P = 2.7 \times 10^{-4}$, 1.4 × 10⁻⁷および 1.0 × 10⁻⁵; 表 2.6)であった。 偽遺伝子には機能的制約による選択圧がかからないため、 d_h/d_h 値はほぼ1になってお りおおよそ理論値の通りになっていることがわかる。マナティの d_h/d_h 値はほぼ1になってお りおおよそ理論値の通りになっていることがわかる。マナティの d_h/d_h 値は1.99 と 1 よりも 2 倍大 きい値であるがこれはおそらく最尤推定時のパラメーター推定(枝の長さの推定、核酸やコドンの置 換率の推定等)に誤りがあったからであろう。

海牛目、クジラ亜目、狭鼻小目において、TRPC2 遺伝子(12 番エキソンのみ)についても同様の解 析を行い、ancV1R の結果を補強した。TRPC2 における各分類群の変異と d_h / d_h 値は図 2.6A-C の 通りである。これらの分類群における d_h / d_h 値の上昇はすべて有意であるため($P = 5.0 \times 10^{-6}$, 3.2 × 10⁻²¹および 1.4 × 10⁻²¹; 表 2.7)、ancV1R と同様に TRPC2 においても機能的制約による選択圧 が失われていることがわかる。TRPC2 の d_h / d_h 値は偽遺伝子と intact な配列の両方で ancV1R より も低い値が出ているが、これは TRPC2 にかかる選択圧が ancV1R よりも強いことを示しているで あろう。

20

これらの結果から、ancV1Rの機能は未だ不明であるが ancV1Rの偽遺伝子化は TRPC2の偽遺伝 子化と強く相関しており、TRPC2 と同様に鋤鼻器における重要な機能を担うと考えられる。このこ とは ancV1Rの偽遺伝子化が鋤鼻器の退化を推定するのに十分であることを示している。

2.3.2 半水棲哺乳類における偽遺伝子化

前小節で示したような ancV1R の先行研究(Suzuki et al. 2018)で変異が示されている種に対する 偽遺伝子化の判定に加え、今回の探索では新たに半水棲哺乳類であるカワウソ亜科とアザラシ科で ancV1R の偽遺伝子化を発見した。

カワウソ亜科では、オオカワウソとラッコの両方ともフレームシフト変異によって遺伝子配列が 壊れていた。この変異はどちらも1塩基の挿入であるが、オオカワウソとラッコで異なる場所に入 っていることから、ancV1R は水棲適応が行われたカワウソ亜科の共通祖先よりも後に独立して変 異が入ったことが示唆される(図 2.3D)。カワウソ亜科全体の d_h / d_b 値(0.88)は background である 食肉目全体の推測値(0.40)よりも大きく、P<0.05水準で有意である(P=0.029; 表 2.6)。そのため 偽遺伝子化はカワウソ亜科の共通祖先が水棲適応した後に起きたが、変異はあくまでランダムに入 るためたまたま共通祖先のときに配列を壊すような変異が入らなかったのだろう。

アザラシ科では解析に用いた4種のうち1種(キタゾウアザラシ)にフレームシフト欠失があるが、 他の3種の配列は intact であった(図 2.3E)。そのため、選択圧解析では変異が入っているキタゾウ アザラシのみが偽遺伝子化して他のアザラシでは偽遺伝子化していない可能性を考慮するために、 キタゾウアザラシ、他のアザラシの枝、background(他の鰭脚類および食肉目)の3つのカテゴリー に分けて d_n/d_n 値を最尤推定しその尤度を求めた。キタゾウアザラシの d_n/d_n 値の推定値である 999 はキタゾウアザラシに同義置換が見つからず非同義置換しか存在しないことを示す。配列の変異は 非同義置換となる場合の数のほうが多いため、分岐から時間が十分に経過していない枝ではこのよ うに同義置換が見つからない場合がある。他のアザラシ科の枝では d_n/d_n 値が 1.28 と background(0.40)より高く、アザラシ科での選択圧の弛緩は有意である(P = 0.0068,表 2.6)。その ためアザラシ科では配列の見た目が intact でも偽遺伝子化して機能を失っていると考えられる。な お、アザラシ科の近縁であるアシカ科とセイウチ科も同様に水棲適応しているが、ancV1R の配列は intact であり d_n/d_n 値も 0.40 前後で background と同等である(data not shown)ため、アシカ科とセ イウチ科の ancV1R は機能を保っている。このアザラシ科とアシカ科、セイウチ科の鋤鼻器機能退 化の違いは、水棲適応度合いの違いが反映されていると考えられる。

次にカワウソ亜科とアザラシ科について TRPC2 でも同様の解析を行った。カワウソ亜科では配 列を壊す変異は2種とも見られなかったが、カワウソ亜科の d_h/d_s 値(0.49)は background(0.12)と 比べて有意に上昇している($P=4.2 \times 10^{-4}$; 表 2.7)。先行研究ではカワウソ亜科について本研究で用 いた TRPC2 の 12番エキソン以外の場所での変異が報告されている。Yu et al. 2010 ではユーラシア カワウソ(*Lutra Lutra*)の 11番エキソンにナンセンス変異があることを指摘している。また、Hecker et al. 2019 ではラッコ TRPC2 の1つのスプライシングサイトに変異があることを指摘している。こ れらのことから、カワウソ亜科の TRPC2 が偽遺伝子化していることがわかる。一方アザラシ科で は、1つのナンセンス変異が4種すべてに共通しており(図 2.6D)、 d_h/ds 値が有意に上昇している $(P = 8.7 \times 10^{-7}; 表 2.7)$ ため、TRPC2の偽遺伝子化は明らかである。このように、TRPC2の結果は ancV1R の結果と一致しており、ancV1R での知見を補強する。

2.3.3 陸棲哺乳類における偽遺伝子化

陸棲哺乳類では新たにフォッサ(マダガスカルマングース科)、ヨザル(ヨザル科)、ハーテビースト 亜科で ancV1R の偽遺伝子化を発見した。TRPC2 や ancV1R の先行研究においてもこれらの種での 偽遺伝子化は確認されていないため、これらの種における遺伝子の側面からの鋤鼻器退化の示唆は 新規の結果である。水棲哺乳類では水棲適応に伴って鋤鼻器が退化するのに対して、陸棲哺乳類で の鋤鼻器の退化には体系的な因果関係を見いだせない。例えば、先行研究までに(飛行可能なコウモ リを除く)陸棲哺乳類で唯一鋤鼻器の退化が指摘されている霊長目では、他の哺乳類に対して際立っ た生態的特徴は3 色覚の獲得等の視覚の発達である。この視覚の進化によって視覚の重要性が増し たトレードオフのために鋤鼻器が不必要になったと考えられるが、発達した鋤鼻器を持つ有袋類で も 3 色覚は独立に獲得している。そのため陸棲哺乳類での鋤鼻器の退化は、体系的な因果関係を持 っというよりは各系統における個別の事情による結果という側面が強いであろう。

フォッサは食肉目マダガスカルマングース科に属する大型の肉食動物である。マダガスカルマン グースはマダガスカル島に渡ったマングース科の祖先が適応拡散した一群であり(Yoder et al. 2003)、 生態も形態もネコ科に類似する。ネコ科はフレーメン反応や様々なフェロモン様の仕草で知られる ので発達した鋤鼻器を持つと考えられるが、フォッサでは鋤鼻器が退化しているという示唆は驚き である。フォッサの ancV1R は 1 つのナンセンス変異と 1 つのフレームシフト欠失によって壊れて いる(図 2.3F)。フォッサの d_N/d_s 値(1.52)は background の食肉目(0.40)より上昇しているが、これ は P < 0.05 水準では有意でなかった(P = 0.055; 表 2.6)。一方フォッサの TRPC2 では、一つのナン センス変異を確認した(図 2.6E)。また、その d_N/d_s 値(0.45)は background(0.12)と比較して有意に 上昇している(P = 0.0055; 表 2.7)。よって ancV1R と TRPC2 の両方の結果から、フォッサではど ちらの遺伝子も機能を失っており鋤鼻器が退化していると考えられる。フォッサにおける鋤鼻器退 化の因果関係は不明であり鋤鼻器の解剖学的な研究も存在しない。また、マダガスカルマングース 科のゲノムデータがフォッサしか存在しないため、マダガスカルマングース科と鋤鼻器退化の関係 を探るためにはさらなるサンプルが必要である。

ヨザルは新世界ザル(広鼻小目)と呼ばれる南米で適応拡散した霊長目の一群である。新世界ザル はアジア・アフリカ大陸で適応拡散した旧世界ザル(狭鼻猿類)と同様に昼行性であるが、旧世界ザル と違い大部分の種が 2 色型色覚である。新世界ザルの中でもヨザル科は夜行性に再適応しているこ とで知られる。そのためヨザルの視覚は更に退化した 1 色型色覚である。夜行性適応は 1.2 節で哺 乳類祖先に言及したときに触れたように、一般的には視覚の退化と嗅覚の発達を伴うが、ヨザルで の鋤鼻器退化の示唆はこの結果と逆行している。ヨザルの ancV1R の配列一つのフレームシフト欠 失が入っており(図 2.3G)、その $d_{\rm N}/d_{\rm s}$ 値(0.83)は background である霊長目(0.40)と比較して上昇し TRPC2 における $d_{\rm N}/d_{\rm s}$ 値の上昇は先行研究(Liman and Innan 2003)でも指摘されている。以上の結 ているが、この上昇は有意でない(P = 0.26;表 2.6)。ヨザルの TRPC2 には変異はなかったが、 $d_{\rm N}/d_{\rm s}$ 値(0.83)が background(0.13)と比べて有意に(P = 0.0055;表 2.7)上昇している。このヨザルの果 から、ヨザルの ancV1R には有害な変異が入っているが、ancV1R と TRPC2 のどちらも変異か有意 な d_h / d_b値の片方しか見られないため偽遺伝子化しているとは確定できない。

ハーテビースト亜科(鯨偶蹄目ウシ科)は他のアンテロープ(ウシ科からウシ亜科とヤギ亜科を除 いた分類群)と同様にアフリカ大陸の特にサバンナに生息する。ハーテビースト亜科は4属(ハーテ ビースト属、ダマリスクス属、ヒロラ属、ヌー属)で構成される。ハーテビースト亜科で特徴的なの はフレーメン反応の消失である。フレーメン反応は哺乳類において見られる匂い(フェロモン)を嗅 ぎ取った際に唇を引き上げたり舌を晒したりする生理現象であり、イエネコでは変顔を作る反応と して知られる。一般にウシ科は発達した鋤鼻器を保持し実際にフェロモンが特定されている科でも ある。ハーテビースト亜科では4属のうち、ヌー属を除く3属でフレーメン反応の消失が確認され ており、口腔から鋤鼻器へと通じるトンネル(鼻口蓋管)が退化して閉じている(ハーテビースト属) またはごく小さなものになっている(ダマリスクス属; ヒロラ属は未確認)ことが確認されている (Hart et al. 1987)。他に鋤鼻器の退化とつながるようなハーテビースト亜科の特性は現在報告され ていない。ハーテビースト亜科4属はどれも1種ずつゲノム配列が登録されている。研究に用いた ハーテビースト亜科4種のうち、ハーテビーストの ancV1R にはスタートコドン変異(図 2.3H)が見 られ、このスタートコドンの前後 100bp 以内に代わりとなるインフレームな ATG が見つからなか ったため、この変異によってハーテビーストの ancV1R の機能が失われていると推測できる。他の 3 種では配列が intact であった。フレーメン反応の消失と鋤鼻器関連器官がヌーを除く 3 属で見ら れるのに対して ancV1R の変異はハーテビーストでのみ発見されたため、 d_N / d₂解析は(i)ハーテビ ースト、(ii)残り2 属(ヒロラ: ヒロラ属; トピ: ダマリスクス属)、(iii)オグロヌー(blue wildebeest; ヌー属)、(iv)background(鯨偶蹄目)、の4カテゴリーでそれぞれ d_N/d_s 値を推定した。ハーテビー ストの d₄ / d₅値は 999 でこれは同義置換が存在しなかったことを示しており、ハーテビーストの分 岐から十分な時間が経っていないためにうまく d₄ / d₅ 値が推定できなかったことを意味する。トピ とヒロラの枝では1.77と大きく上昇している。これに対してオグロヌーでは0.44であり background の値が 0.45 であることを考えるとほとんど同じ値である。しかしながらこの d_N/d_s 値変化は P <0.05 水準で有意ではない(P = 0.091; 表 2.6)ので、ancV1R が偽遺伝子化しているとは断定できな い。また、トピとヒロラでは配列が intact であり d_N / d₂値の上昇には噛み合っていない。これに加 えて TRPC2 もほぼ同じ結果を示している。TRPC2 の配列は 4 種すべてで intact であり変異が見つ からなかった。しかしながら d_N / d_x値は ancV1R と同様にヌー属を除くハーテビースト亜科 3 属で 上昇しておりこの上昇は統計的に有意である(P=0.001;表 2.7)。以上の結果からハーテビースト亜 科におけるそれぞれの み / d。値はハーテビースト亜科におけるヌー属を除くフレーメン反応の消失 をよく反映しているが、ancV1R と TRPC2 のいずれの結果も配列に対する変異と d_N/d₃値上昇が明 確に一致しているわけではない。ancV1R と TRPC2の両方の結果からハーテビースト属では鋤鼻器 が退化しているかもしれないが、トピ(ダマリスクス属)とヒロラ(ヒロラ属)ではさらなる検証が必 要である(第3.3.3小節)。

2.3.4 翼手目における偽遺伝子化

コウモリ(翼手目)は前肢が翼に変形し哺乳類の中で唯一飛行可能な分類群である。飛行能力の獲

得により世界中に適応拡散した結果、コウモリは現存の哺乳類の中で2番目に大きな分類群でもあ り豊富な多様性を持つ。コウモリの特徴としては飛行能力の他に超音波による反響定位能力が挙げ られる。この反響定位能力のためにコウモリの聴覚が大きく発達しており、周囲の状況確認から捕 食まで用いられる。しかし反響定位能力はコウモリの共通祖先で獲得したわけではなく、おおよそ コウモリの科ごと、場合によっては種ごとに独立して獲得したと言われる(Yohe et al. 2017)。その ため科同士や科内でも複雑な多様性がある。同様に、2 科(Miniopteridae: ユビナガコウモリ科, Phyllostomidae: ヘラコウモリ科)を除くコウモリの大部分で鋤鼻器は退化しているが、おおよそ科 ごとに独立して鋤鼻器が退化しているとされる(Yohe et al. 2017)。鋤鼻器退化の原因は反響定位能 力の獲得とも飛行能力の獲得とも言われるが、いずれも鋤鼻器のありなしとは相関しないため定説 はない。

ancV1R についての先行研究(Suzuki et al. 2018)では解析した 8 種 5 科(下記 3 科+ Miniopteridae, Phyllostomidae)のうち 3 科(Vespertilionidae, Rhinolophidae, Pteropodidae)で配列の変異を発見し た。今回の研究では 11 科 33 種のより広い探索を行った。その結果、ancV1R および TRPC2 の偽遺 伝子化はいくつかの種で鋤鼻器退化と相関しているが、いくつかの種ではそうではなく、複雑なコ ウモリの進化過程を伺わせる(表 2.8)。ancV1R に偽遺伝子化をもたらす変異の入った科は Vespertilionidae, Molossidae, Noctilionidae, Rhinolophidae, Pteropodidae の5科である(図 2.3I)。 Vespertilionidae(ヒナコウモリ科)では同一のサイトに種ごとに異なる塩基数のフレームシフト挿入 が入っている。Molossidae (オヒキコウモリ科)ではスタートコドン変異と終止コドン変異の両方が 存在する(それぞれの代替候補は 16bp 下流、25bp 下流である)。Noctilionidae(ウオクイコウモリ科) では終止コドン変異があり、100bp 下流以内には代替候補が存在しない。Rhinolophidae(キクガシラ コウモリ科)と Pteropodidae(オオコウモリ科)ではそれぞれ異なる位置にフレームシフト挿入が入 っている。残りの6科は配列レベルでは intact であった。TRPC2の変異については煩雑なため結果 のみを表 2.8 に記述した。ancV1R と TRPC2 では変異の結果が 3 科(+種)で食い違っている。TRPC2 では ancV1R で有害な変異が入っていた 5 科に加えて、Mormoopidae(クチビルコウモリ科)、 Hipposideridae(カグラコウモリ科)、Megadermatidae(アラコウモリ科)の3科で変異が見つかって いるが、これらの科の ancV1R は intact である。また、鋤鼻器を保持する Miniopteridae と Phyllostomidae に加えて鋤鼻器の存在が不明な Craseonycteridae(ブタバナコウモリ科)の 3 科が ancV1RとTRPC2の両方で intact である。

このようにコウモリにおける鋤鼻器退化の過程には不明な点が多いので、ancV1R と TRPC2 の d_N/d_s 値の推定にはそれぞれの科にカテゴリーを割り当てて科ごとの d_N/d_s 値を計算した。この科 ごとに d_N/d_s 値を分割したモデルは ancV1R と TRPC2 の両方で統計的に有意であり($P=4.8 \times 10^{-4}$, 2.3 × 10⁻¹³; 表 2.7)、それぞれの科が分岐後に十分な変異を蓄積していると考えられる。まずは ancV1R と TRPC2 で配列にかかる変異の結果が両方とも有害な変異が入っている 5 科と両方とも intact である 3 科について記載する。ancV1R では background(比較的近縁な奇蹄目を用いた)の 0.43 の値と比較して、配列に変異の入っている Pteropodidae (0.90), Rhinolophidae (0.73), Molossidae (1.93)と Vespertilionidae (1.06)では大きく d_N/d_s 値が上昇しており変異によって偽遺伝子化してい ることが確認された(図 2.31)。TRPC2 でも background が 0.11 なのに対して Pteropodidae (0.86), Rhinolophidae (0.83), Molossidae (1.56)のすべてが大きく d_N/d_s 値が上昇しているところは ancV1R と同様である(Vespertilionidae では TRPC2 の配列が未発見)。しかし Noctilionidae は ancV1R も TRPC2 も d_N/d_s 値の上昇が微量で(0.56, 0.27)で判別が難しい。また、配列が両方 intact な Phyllostomidae(0.54, 0.15), Miniopteridae(0.48, 0.10), Craseonycteridae(0.63, 0.12)ではそれぞれの background と比較して微量もしくはほとんど変わらない値である。これらの種は鋤鼻器を保持して いることを考えるとこれらの種における d_N/d_s 値の微量な上昇はノイズによるものであろう。同時 に Craseonycteridae は鋤鼻器の解剖学的記述が存在しないが、これらの結果からおそらくコウモリ の中で鋤鼻器を保持する 3 番目の科であると推測できる。

ancV1R と TRPC2 とで有害な変異があるかないかが食い違う 3 科の結果はいずれもはっきりし ない。Hipposideridae(0.62, 0.54)と Megadermatidae(0.55, 0.35)は ancV1R が intact で TRPC2 には 変異が入っているが、それらの d_{N}/d_{e} 値はいずれも background や鋤鼻器を保持する 3 科と比較し て上昇が軽微である。この 2 つの科はいずれも鋤鼻器を保持していないため、ancV1R も TRPC2 も 偽遺伝子化していると考えられるが、配列からだけでは決めるのが難しいため鼻器における遺伝子 発現解析などが必要である。Mormoopidae では科内で多様性がある。今回用いた Mormopidae に所 属する 2 種のうち Parnell's mustached bat は鋤鼻器を保持しており、Antillean ghost-faced bat では 鋤鼻器が退化していると報告されている(Yohe et al. 2017)。これに対して、ancV1R は両種で intact である。TRPC2 は今回の調べた範囲ではどちらも intact であるが、Antillean ghost-faced bat では 有害な変異があるという報告がある(表 2.8)。また ancV1R と TRPC2 の d_{N}/d_{e} 値は Parnell's mustached bat では 0.92 と 0.25 で、Antillean ghost-faced bat では 0.68 と 0.63 であり d_{N}/d_{e} 値の上 昇と ancV1R, TRPC2 の配列への変異および鋤鼻器の保持とが相関していない。そのため、 Mormopidae においても遺伝子発現解析や他の関連遺伝子の探索による再検討が必要と考える。

2.4 結論

本研究では偽遺伝子化を遺伝子配列が機能を失うことと定義し、ancV1R と TRPC2 という 2 つの 鋤鼻器マーカー遺伝子に対する(i)有害な変異と(ii) & /& 値上昇の統計的な有意性の 2 つの観点か ら偽遺伝子化の判定を行うことで鋤鼻器の退化を推測した。(i)はアッセンブリーエラーに起因する 可能性があり、(ii)はランダム変異によるノイズや正の自然選択に起因する可能性があるため、この 2 点両方を基準とする理由は偽陽性をなるべく減らすための措置である。

哺乳類全体を網羅的に探索したところ、海牛目、クジラ亜目、狭鼻小目、翼手目といった解剖学的 に鋤鼻器の喪失が示されている種以外にも、水棲哺乳類であるカワウソ亜科、アザラシ科および陸 棲哺乳類であるフォッサ(マダガスカルマングース科)、ヨザル(ヨザル科)、ハーテビースト亜科で偽 遺伝子化の兆候を発見した。同時に、翼手目内でも鋤鼻器の退化に関するさらなる多様性を発見し た。この中で、(i)と(ii)の両方の基準を満たすのは鋤鼻器退化が既知な種以外ではカワウソ亜科、ア ザラシ科およびフォッサであり、ヨザルとハーテビースト亜科は今回の探索では不十分であったた め更なる鋤鼻器関連遺伝子の比較解析が必要である。

ヨザルは ancV1R が(i)を満たすが(ii)を満たさず、TRPC2 が(i)を満たさず、(ii)を満たす。この場合、ancV1R の(i)変異がゲノムデータ生成時のアッセンブリーエラーである可能性があるため、例

25

えばヨザルの生体サンプルから ancV1R の領域を取ってシーケンシングし、実際に変異が入ってい るかどうかを確認する必要がある。

ハーテビースト亜科はもっと複雑である。生態としてハーテビースト亜科ではヌー属を除く3属 でフレーメン反応の消失と鋤鼻器の組織の一部縮小が確認されている。しかし ancV1R ではハーテ ビースト(属)のみが(i)を満たし(ii)を満たさない。TRPC2 では(i)を満たさず(ii)を満たす。ハーテビ ースト亜科3属はヌー属からの分岐を考えると分岐から有意性を確保するだけの十分な変異が蓄積 していない可能性が高い。また、ancV1R への変異がハーテビースト属にのみ入っていることがハー テビースト属のみ鼻口蓋管が退化していることに合致することから、ハーテビースト3属内にも鋤 鼻器退化における多様性がある可能性がある。

翼手目では、鋤鼻器を保持している既知の2科に加えて、新たに1科(Craseonycteridae)で鋤鼻器 を保持している可能性を示した。他の翼手目では鋤鼻器の退化が示されているが、ancV1RとTRPC2 ではいくつかの科で(i)変異における食い違いがあり、また退化が示されている科でも(ii) $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ 値が すべて中立進化の理論値までは上昇しておらず値もまばらである。これは翼手目内での多様化にお ける鋤鼻器退化時期のばらつきを示唆するかもしれない。

図表





: nonfunctional (inactivating mutation, elevated d_N/d_S)

: putatively nonfunctional (elevated d_N/d_S)

: no data

図 2.1 哺乳類の鋤鼻器の退化と TRPC2・ancV1R の偽遺伝子化。本研究における ancV1R 遺伝子と TRPC2 遺伝子の探索結果を図示し鋤鼻器退化の知見と比較した。偽遺伝子化は配列の翻訳を阻害す る変異と & /& 値の上昇の両方が観測されたときに配列を"nonfunctional"として機能を失っている とした。また、片方しか見られない場合は"putatively nonfunctional"として判定を保留した。アザラ シ科では鋤鼻器が退化していると総括的な論文で表記されているため absent としたが、解剖学的に 調査した論文に行き当たらなかった。"VNO"の列および"previous studies"の列における具体的な参 考文献はより詳しく比較した表 2.3 を参照。



図 2.2 ancV1R の遺伝子配列から作成した哺乳類の系統樹。最尤推定に基づいた系統樹構築に基づい たアライメントは、有害な変異のない ancV1R の配列のコドンアライメントを作成し、変異のある ancV1R の配列を挿入することで構築した。スケールバーは系統樹の枝の長さにおいて置換率を示 す。また、ノードについている円はブートストラップによるノードの信頼性を示している(色は凡例 に従う)。





(B)



(D) $\frac{d_N/d_S}{d_S}$						
ancV1	R TRPC2	ancV1R	570	580	850	860
0.00	0.40	Giant_otter	AGCTC-T	GATT	AGCTCTTC	GAGT
0.88	0.49	Sea_otter	AGCTCTT	GATT	AGCTC-TC	GAGT
		American mink	AGCTC-TGATT AGCTC-TGAGT			
0.40	0.40 0.12	Ferret	AGCTC-T	GATT	AGCTC-TC	GAGT
		Other Carnivorans (24)				
		Sunda pangoiin				
(E) <u>9</u>	d _N ∕ds					
(-)	ancV1R TRF	PC2 ancV1R		500		
<u> </u>	999	Northern_elephant_s	eal TCA	C - GGAT	ГТТ	
	0.5	57 Weddell_seal	TCA	CAGGAT	ГТТ	
	1.28	Hawaiian_monk_seal	TCA	CAGGAT	ГТТ	
		Harbor_seal	TCA	CAGGAT	ГТТ	
		California_sea_lion	i taa	CAGGAT	ГТТ	
		Steller_sea_lion TAACAGGATTT				
		Antarctic_fur_seal TAACAGGATTT				
	9.40 0.1	.12 Northern_fur_seal TAACAGGATTT			ГТТ	
		Walrus TAACAGGATTT				
		Other Carnivorans (21)				
		Sunda pangolin				
(-) d/d						
(F) $\frac{d_N/d_S}{ancV10}$	R TRPC2	ancV1R	570	580	020	
1.52	0.45	Fossa	TTGACAC	TTCA	<u>CA</u> GA	
		Meerkat	TCTCCAC	ττςΔ		
14-		Banded mongoose	TTTCCAC	TTCA	CAGAGAGGG	iAA
	0 1 2 I	Dwarf mongoose	TCTCCAC	ТТСА	CAGAGAGG	
0.40	0.12 (Other Carnivorans (23)	. c. cere			
		Sunda pangolin				

 $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ (G) ancV1R TRPC2 ancV1R 50 60 0.83 CCTTT-TGAGC 0.83 Owl_monkey _ Tamarin TCTTTGTGAGC Marmoset TCTTTGTGAGC Squirrel_monkey White-headed_capuchin Other Primates (16) Sunda_flying_lemur TCTTTGTTAGC 0.45 0.13 TCTTTGTGAGC





図 2.3 ancV1R の偽遺伝子化。(A)マナティ、(B)クジラ亜目、(C)狭鼻小目、(D)カワウソ亜科、(E) アザラシ科、(F)フォッサ、(G)ヨザル、(H)ハーテビースト亜科、(I)翼手目における ancV1R の変 異を図示した。濃い灰色は遺伝子に入っている有害な変異を示す。黄色と青色はそれぞれスタート コドンに対する変異と終止コドンに対する変異で、必ずしも有害とは限らないが前後に代替となる コドンがなければその遺伝子は正常に翻訳できないため偽遺伝子化していると見なされる。黒色の 枝は ancV1R または TRPC2 の d_N/d_s 値を最尤推定するときの"background"を示しており、機能的 な遺伝子配列であるときの d_A/d_s 値の基準値を表す。色付きの枝(灰色など)は"background"と比べ て d_N/d_s 値が変化したと仮定している"foreground"の枝である。各"background"と"foreground"の d_N/d_s 値は表中に示されている。



図 2.4 ancV1R の遺伝子配列から作成した脊椎動物の系統樹。今回探索した脊椎動物すべての ancV1R を用いて系統樹を最尤推定した。ancV1R の外群としては先行研究(Suzuki et al. 2018)から ancV1R と系統的に近いことがわかっている魚類の V1R5 と V1R6 遺伝子を用いた。図 2.2 の哺乳類 の系統樹はこの系統樹から哺乳類の系統群を抜き出して再描写したものである。スケールバーと凡 例は図 2.2 と同様にそれぞれ枝の置換率とブートストラップによるノードの信頼性を示す。


図 2.5 解析に用いた種の系統樹の樹形。図 2.2 で示した ancV1R の遺伝子系統樹は種の系統関係を 正しく反映していないため、公共のデータベースである Open Tree of Life database (Hinchliff et al. 2015)に登録されたゲノムに基づく種の系統関係をダウンロードし d₄/d₆値の解析に用いた。







- - -



図 2.6 TRPC2 exon 12 の偽遺伝子化。(A)マナティ、(B)クジラ亜目、(C)狭鼻小目、(D)アザラシ科、 (E)フォッサの TRPC2 における有害な変異(濃い灰色)を図示した。TRPC2 はエキソンとイントロ ンを複数持つため、簡単のために TRPC2 の中でも最長(720bp)のエキソンである 12 番エキソンの みを用いた。図 2.3 の場合と異なり、今回探索した TRPC2 の範囲ではカワウソ亜科、ヨザルおよび ハーテビースト亜科における有害な変異を見つけることができなかった。枝の色および表は図 2.3 と同様に d₄/d₆ 値推定に用いた"backgorund"と"foreground"の位置とそれぞれの値を示す。

表 2.1 今回用いたすべての種とゲノムアッセンブリーの一覧表

Latin name Mammalia

Common name ancV1R Genome assembly name

	Primates			
	Alouatta palliata	Mantled howler monkey	intact	AloPal_v1_BIUU
	Aotus nancymaae	Owl monkey	pseudogene	Anan 2.0
	Ateles geoffroyi	Black-handed spider monkey	intact	AteGeo v1 BIUU
	Callithrix jacchus	Marmoset	intact	C jacchus3.2
	Carlito syrichta	Tarsier	intact	tarSyr2
\checkmark	Cebus albifrons	White-fronted capuchin	intact	CebAlb_v1_BIUU
	Cebus capucinus	White-headed capuchin	intact	Cebus imitator-1.0
	Cercocebus atys	Sooty mangabey	pseudogene	Caty_1.0
	Cercopithecus neglectus	De Brazza's monkey	pseudogene	CertNeg v1 BIUU
	Cheirogaleus medius	Lesser dwarf lemur	intact	CheMed v1 BIUU
	Chlorocebus sabaeus	Vervet monkey	pseudogene	ChlSab1.1
	Colobus angolensis	Angola colobus	pseudogene	Cang.pa 1.0
	Daubentonia madagascariensis	Aye-aye	intact	DauMad v1 BIUU
	Erythrocebus patas	Red guenon	pseudogene	EryPat v1 BIUU
\checkmark	Eulemur flavifrons	Blue-eyed black lemur	intact	Eflavifronsk33QCA
\checkmark	Eulemur fulvus	Brown lemur	intact	EulFul v1 BIUU
	Eulemur macaco	Black lemur	intact	Emacaco refEf BWA oneround
	Gorilla gorilla gorilla	Western Lowland gorilla	pseudogene	gorGor4
	Homo sapiens	Human	pseudogene	GRCh38.p7
	Indri indri	Indri	intact	IndInd v1 BIUU
	Lemur catta	Ring-tailed lemur	intact	LemCat v1 BIUU
\checkmark	Macaca fascicularis	Crab-eating macaque	pseudogene	M fascicularis 5.0
\checkmark	Macaca fuscata	Japanese macaque	pseudogene	macFus 1.0
	Macaca mulatta	Macaque	pseudogene	Mmul 8.0.1
\checkmark	Macaca nemestrina	Southern pig-tailed macaque	pseudogene	Mnem_1.0
	Mandrillus leucophaeus	Drill	pseudogene	Mleu.le_1.0
	Microcebus murinus	Mouse lemur	intact	Mmur_3.0
	Mirza coquereli	Coquerel's mouse lemur	intact	MizCoq_v1_BIUU
	Nasalis larvatus	Long-nosed monkey	pseudogene	Charlie1.0
	Nomascus leucogenys	Gibbon	pseudogene	Nleu_3.0
	Nycticebus coucang	Slow loris	intact	NycCou_v1_BIUU
	Otolemur garnettii	Bushbaby	intact	OtoGar3
\checkmark	Pan paniscus	Bonobo	pseudogene	panpan1.1
	Pan troglodytes troglodytes	Chimpanzee	pseudogene	Pan_tro 3.0
	Papio anubis	Olive baboon	pseudogene	Panu_3.0
	Piliocolobus tephrosceles	Ugandan red colobus	pseudogene	ASM277652v1
	Pithecia pithecia	White-faced saki	intact	PitPit_v1_BIUU
	Plecturocebus donacophilus	Bolivian titi	intact	CalDon_v1_BIUU
	Pongo abelii	Orangutan	pseudogene	PPYG2.0.2
	Prolemur simus	Greater bamboo lemur	intact	Prosim_1.0
	Propithecus coquereli	Coquerel's sifaka	intact	Pcoq_1.0
	Pygathrix nemaeus	Red shanked douc langur	pseudogene	PygNem_v1_BIUU
,	Rhinopithecus roxellana	Golden snub-nosed monkey	pseudogene	Rrox_v1
V	<i>Rhinopithecus bieti</i>	Black snub-nosed monkey	pseudogene	ASM169854v1
	Saguinus imperator	Tamarın	intact	SagImp_v1_BIUU
	Saimiri boliviensis	Squirrel monkey	intact	SaiBoll.0
	Therepitheous colada	Glada	pseudogene	Teel 1.0
	ineropunecus geiada	Gicua	pseudogene	1gei_1.0
	_			

Dermoptera Galeopterus variegatus

Sunda flying lemur

G_variegatus-3.0.2

intact

Rodentia

Acomys cahirinus Allactaga bullata Aplodontia rufa ✓ Âpodemus speciosus Apodemus sylvaticus Capromys pilorides Castor canadensis ✓ Cavia aperea Cavia porcellus

✓ Cavia tschudii Chinchilla lanigera Cricetomys gambianus Cricetulus griseus Ctenodactylus gundi Ctenomys sociabilis Cuniculus paca Dasyprocta punctata Dinomys branickii Dipodomys ordii

✓ Dipodomys stephensi Dolichotis patagonum

✓ Ellobius lutescens Ellobius talpinus Fukomys damarensis Glis glis Graphiurus murinus Heterocephalus glaber Hydrochoerus hydrochaeris Hystrix cristata Ictidomys tridecemlineatus Jaculus jaculus ✓ Marmota flaviventris

Marmota marmota marmota Meriones unguiculatus Mesocricetus auratus Microtus ochrogaster

✓ Mus caroli Mus musculus

✓ Mus pahari

✓ Mus spicilegus

✓ Mus spretus Muscardinus avellanarius Myocastor coypus Myodes glareolus Nannospalax galili Octodon degus Octomys mimax Ondatra zibethicus Onychomys torridus Peromyscus maniculatus bairdii ✓ Peromyscus polionotus subgriseus Oldfield mouse Petromus typicus Phodopus sungorus Psammomys obesus Rattus norvegicus Rhizomys pruinosus

Sigmodon hispidus Spermophilus dauricus Thryonomys swinderianus Tympanoctomys barrerae Urocitellus parryii

Xerus inauris Zapus hudsonius

Lagomorpha

Lepus americanus Ochotona princeps Oryctolagus cuniculus

Egyptian spiny mouse Gobi jerboa Mountain beaver Large Japanese field mouse Long-tailed field mouse Desmarest's hutia North American beaver Brazilian guinea pig Guinea pig Montane guinea pig Long-tailed chinchilla Gambian giant pouched rat Chinese hamster Northern gundi Social tuco-tuco Lowland paca Punctate agouti Pacarana Kangaroo rat Stephens's kangaroo rat Patagonian cavy Transcaucasian mole vole Northern mole-vole Damaraland mole-rat Fat dormouse Woodland dormouse Naked mole-rat Capybara Crested porcupine Suquirrel Lesser Egyptian jernboa Yellow-bellied marmot Marmot Mongolian gerbil Golden hamster Prairie vole Ryukyu mouse Mouse Gairdner's shrewmouse Steppe mouse Algerian mouse Hazel dormouse Nutria Bank vole Upper Galilee mountains blind mole rat intact S.galili_v1.0 Octodon Viscacha Rat Muskrat Southern grasshopper mouse Deer mice Dassie-rat Dzungarian hamster Fat sand rat Rat Hoary bamboo rat Hispid cotton rat Daurian ground squirrel Greater cane rat Golden vizcacha rat Arctic ground squirrel South African ground squirrel

intact AcoCah v1 BIUU intact AllBul v1 BIUU intact AplRuf_v1_BIUU intact Aspe_assembly01 intact ASM130590v1 intact CapPil_v1_BIUU intact C.can genome v1.0 intact CavAp1.0 intact cavPor3 intact CavTsc_v1_BIUU intact ChiLan1.0 intact CriGam v1 BIUU intact CriGri 1.0 intact CteGun_v1_BIUU intact CteSoc_v1_BIUU intact CunPac v1 BIUU intact DasPun_v1_BIUU intact DinBra_v1_BIUU intact Dord 2.0 intact DipSte v1 BIUU intact DolPat v1 BIUU intact ASM168507v1 intact ETalpinus_0.1 intact DMR v1.0 intact GliGli v1 BIUU intact GraMur v1 BIUU intact HetGla_female_1.0 intact HydHyd_v1_BIUU intact HysCri_v1_BIUU intact spetri2 intact JacJac1.0 intact ASM367607v1 intact marMar2.1 intact MunDraft-v1.0 intact MesAur1.0 intact MicOch1.0 intact CAROLI EIJ v1.1 intact GRCm38.p4 intact PAHARI EIJ v1.1 intact MUSP714 intact SPRET_EiJ_v1 intact MusAve_v1_BIUU intact MyoCoy v1 BIUU intact ASM436859v1 intact OctDeg1.0 intact Oct_mimax_AO248_v1 intact OndZib v1 BIUU intact OnyTor_v1_BIUU intact Pman 1.0 intact HU Ppol 1.3 intact PetTyp_v1_BIUU intact Psun0.5 intact ASM221593v1 intact Rnor 6.0 intact RhiPru_v1_BIUU intact SigHis_v1_BIUU intact ASM240643v1 intact ThrSwi v1 BIUU intact Tym_barrerae_AO245_v1 intact ASM342692v1 intact XerIna v1 BIUU intact ZapHud_v1_BIUU

intact LepAme_v1_BIUU intact OchPri3.0 intact OryCun2.0

Scandentia

Tupaia chinensis

Chinese Tree Shrew

Meadow jumping mouse

Snowshoe hare

Pika

Rabbit

intact TupChi_1.0

Cetartiodactyla Ammotragus lervia

Aepyceros melampus Alcelaphus buselaphus Antidorcas marsupialis Antilocapra americana Axis porcinus Balaena mysticetus Balaenoptera acutorostrata ✓ Balaenoptera bonaerensis Beatragus hunteri Bison bison ✓ Bos grunniens ✓ Bos indicus ✓ Bos mutus Bos taurus Bubalus bubalis ✓ Camelus bactrianus Camelus dromedarius ✓ Camelus ferus ✓ Capra aegagrus Capra hircus √ Capra sibirica Capreolus capreolus Catagonus wagneri Cephalophus harveyi ✓ Cervus albirostris Cervus elaphus hippelaphus Connochaetes taurinus Damaliscus lunatus Delphinapterus leucas Elaphurus davidianus Eschrichtius robustus Eubalaena japonica Eudorcas thomsonii Giraffa camelopardalis Hemitragus hvlocrius Hippopotamus amphibius Hydropotes inermis Inia geoffrensis Kobus ellipsiprymnus Kogia breviceps Lagenorhynchus obliquidens Lipotes vexillifer Litocranius walleri Madoaua kirkii Megaptera novaeangliae Mesoplodon bidens Monodon monoceros ✓ Moschus berezovskii ✓ Moschus chrysogaster Moschus moschiferus Muntiacus crinifrons ✓ Muntiacus muntiak ✓ Muntiacus reevesi Nanger granti Neophocaena asiaeorientalis Neotragus moschatus Neotragus pygmaeus Odocoileus hemionus hemionus ✓ Odocoileus virginianus Okapia johnstoni Orcinus orca Oreotragus oreotragus Orvx gazella Ourebia ourebi ✓ Ovis ammon Ovis aries ✓ Ovis canadensis Pantholops hodgsonii Phocoena phocoena Physeter catodon Platanista minor Procapra przewalskii Pseudois navaur Rangifer tarandus Raphicerus campestris Redunca redunca Saiga tatarica Sousa chinensis Sus scrofa Sylvicapra grimmia Syncerus caffer Tragelaphus buxtoni Tragelaphus eurycerus Tragelaphus imberbis Tragelaphus oryx Tragelaphus scriptus Tragelaphus spekii Tragelanhus strensiceros

Tragulus javanicus Tragulus kanchil ✓ Tursiops aduncus Tursiops truncatus Vicugna pacos Ziphius cavirostris

Barbary sheep Impala Hartebeest Springbok Pronghorn Hog deer Bowhead whale Northern minke whale Southern minke whale Hirola American bison Domestic yak Zebu Yak Cow Water buffalo Bactrian camel Arabian camel Wild Bactrian camel Wild goat Goat Siberian ibex Roe Deer Chacoan peccary Harvey's duiker White-lipped deer Red deer Blue wildebeest Topi Beluga Pere David's deer Grav whale North Pacific right whale Thomson's gazelle Giraffe Nilgiri tahr Hippopotamus Chinese water deer Boutu Waterbuck Pygmy sperm whale Pacific white-sided dolphin Yangtze river dolphin Gerenuk Kirk's dik-dik Humpback whale Sowerby's beaked whale Narwhal Chinese forest musk deer Alpine musk deer Siberian musk deer Black muntjac Muntiak Reeves' muntjac Grant's gazelle Yangtze finless porpoise Suni Royal antelope s Mule deer White-tailed deer Okapi Killer whale Klipspringer Gemsbok Oribi Argali Sheep Bighorn sheep Chiru Harbor porpoise Sperm whale Indus river dolphin Przewalski's gazelle Bharal Reindee Steenbok Bohar reedbuck Saiga Indo-pacific humpbacked dolphin Pig Bush duiker African buffalo Mountain nyala Bongo Lesser kudu Eland Bushbuck Sitatunga Greater kudu Java mouse-deer Lesser mouse-deer Indo-pacific bottlenose dolphin Bottlenose dolphin Alpaca Cuvier's beaked whale

A_lervia_NAZ_v1.0 IMP intact intact pseud HBT SGB intact AntAmePen_v1_BIUU ASM379854v1 intact intact pseudogene *http://www.bowhead-whale.org pseudogene BalAcu1.0 pseudogene ASM97880v1 BeaHun_v1_BIUU Bison_UMD1.0 intact intact LU_Bosgru_v3.0 intact Bos_indicus_1.0 BosGru_v2.0 intact intact Bos taurus UMD 3.1.1 intact intact UMD_CASPUR_WB_2.0 Ca_bactrianus_MBC_1.0 PRJNA234474 Ca_drome intact intact nedarius V1.0 CB1 intact intact CapAeg_1.0 intact ARS1 ASM318261v2 intact kmer631 intact CatWag_v1_BIUU intact intact HVD intact WLD CerEla1.0 intact intact BWD CTB intact pseudogene ASM228892v2 Milu1.0 intact pseudogene EschrichtiusRobustus1.0 pseudogene EubJap_v1_BIUU TMG intact intact ASM165123v1 HemHyl_v1_BIUU ASM299558v1 intact intact NPU_HINE_1.0 intact pseudogene IniGeo_v1_BIUU intact DFW pseudogene KogBre_v1_BIUU pseudogene ASM367639v1 pseudogene Lipotes_vexillifer_v1 GRK intact intact KDD pseudogene megNov1 pseudogene MesBid_v1_BIUU pseudogene MonMon_v1_BIUU intact FMD intact NPU_MCHR_1.0 MosMos_v1_BIUU intact intact BMJ CMJ intact CIJ intact GTG intact Neophocaena_asiaeorientalis_V1 SUN pseudo intact intact RAL UofA Ohem 1.0 intact Ovir.te_1.0 ASM166083v1 intact intact pseudo Oorc_1.1 KSP intact UCDavis_Ogaz_1 intact intact ORB O_ammon_KGZ_v1.0 Oar_v4.0 OviCan_v1_BIUU intact intact intact intact PHO1.0 pseudogene ASM307100v1 ocephalus-2.0.2 pseudogene Physeter_macrocep pseudogene PlaMin_v1_BIUU intact PLG ASM318257v1 intact RanTarSib_v1_BIUU intact SNB intact BHR intact SaiTat v1 BIUU intact pseudo ASM352133v1 Sscrofa11.1 intact intact CMD ABF MTN intact intact BNG intact intact LEK CME BUB intact intact STG intact intact GTK TraJav_v1_BIUU LMD intact intact pseudogene ASM322739v1 pseudogene NIST Tur_tru v1 intact Viouerintact Vicugna_pacos-2.0.1 pseudogene ZipCav_v1_BIUU

	Perissodactyla			
V	Ceratotherium simum cottoni	Northern white rhinoceros	intact	CerCot_v1_BIUU
	Ceratotherium simum simum	Rhinoceros	intact	CerSimSim1.0
	Dicerorninus sumairensis	Sumatran minoceros	intact	ASM284483VI
	Eanus asimus	Black minoceros	intact	ASM130575v1
•	Equus asinus Equus caballus	Horse	intact	Fou Cab 2
\checkmark	Equus cubunus Equus przewalskii	Przewalski's wild horse	intact	Burgud
	Tapirus indicus	Asiatic tapir	intact	TapInd v1 BIUU
\checkmark	Tapirus terrestris	Brazilian tapir	intact	TapTer v1 BIUU
	1	1		1
	Chiroptera			
	Anoura caudifer	Tailed tailless bat	intact	AnoCau_v1_BIUU
	Artibeus jamaicensis	Jamaican fruit-eating bat	intact	ArtJam_v1_BIUU
	Carollia perspicillata	Seba's short-tailed bat	intact	CarPer_v1_BIUU
	Craseonycteris thonglongyai	Hog-nosed bat	intact	CraTho_vI_BIUU
	Eidolon hohum	Straw coloured fruit bat	nsaudogana	ASM294091V2 ASM46528v1
	Enovoteris spelaea	Lesser dawn bat	pseudogene	ASIM40528V1 Esne v1
	Epitesicus fuscus	Big brown bat	intact?	EptFus1.0
	Hipposideros armiger	Great roundleaf bat	intact	ASM189008v1
\checkmark	Hipposideros galeritus	Cantor's roundleaf bat	intact	HipGal v1 BIUU
	Lasiurus borealis	Red bat	pseudogene	LasBor v1 BIUU
	Macroglossus sobrinus	Long-tongued fruit bat	pseudogene	MacSob_v1_BIUU
	Megaderma lyra	Greater false vampire bat	intact	ASM46534v1
	Micronycteris hirsuta	Little big-eared bat	intact	MicHir_v1_BIUU
	Miniopterus natalensis	Natal Long-fingered bat	intact	Mnat.v1
V	Miniopterus schreibersii	Schreibers' long-fingered bat	intact	MinSch_v1_BIUU
	Mormoops blainvillei	Antillean ghost-faced bat	intact	MorMeg_v1_BIUU
,	Murina aurata feae	Little tube-nosed bat	pseudogene	MurFea_v1_BIUU
√ ./	Myotis brandtii Muotia davidii	Brandt's bat	pseudogene	ASM41265V1 ASM22724v1
¥ ./	Myotis lugifuque lugifuque	Lavid S myous	pseudogene	ASINIS2/34V1 Myoluc2.0
۲	Myous incijugus incijugus Myotis myotis	Greater mouse eared bat	pseudogene	MyoMyo v1 BILII
	Noctilio leporinus	Greater hulldog bat	intact	NocLen v1 BIUU
	Phyllostomus discolor	Pale spear-nosed bat	intact	mPhyDis1_v1.p
	Pinistrellus ninistrellus	Common pipistrelle	nseudogene	PipPip v1 BIUU
	Pteronotus parnellii	Parnell's mustached bat	intact	ASM46540v1
\checkmark	Pteropus alecto	Black flying fox	pseudogene	ASM32557v1
	Pteropus vampvrus	Java fruit bat	pseudogene	Pvam 2.0
	Rhinolophus ferrumeauinum	Greater horseshoe bat	pseudogene	ASM46549v1
\checkmark	Rhinolophus sinicus	Chinese rufous horseshoe bat	pseudogene	ASM188883v1
	Rousettus aegyptiacus	Egyptian fruit bat	pseudogene	Raegyp2.0
	Tadarida brasiliensis	Brazilian free-tailed bat	pseudogene	TadBra_v1_BIUU
	Tonatia saurophila	Stripe-headed round-eared bat	intact	TonSau_v1_BIUU
	Carnivora			
	Acinonyx jubatus	Cheetah	intact	aciJubl
	Alluropoda melanoleuca	Panda	intact	ASM200/44V1
	Atlurus fulgens	Lesser panda	intact	ASM200/46v1
	Arciocepnaius gazeita	Antarctic fur seal	intact	ArcGazv1.4
.7	Canio hunuo dingo	Dingo	intact	ASM225472:1
•	Canis lupus familiaris	Dingo	intact	CanFam2 1
	Cryptoprocta ferox	Fossa	nseudogene	CryFer v1 BIUU
	Enhydra lutris	Sea otter	nseudogene	ASM228890v2
	Eumetonias iubatus	Steller sea lion	intact	ASM402803v1
	Felis catus	Cat	intact	Felis catus 8.0
\checkmark	Felis nigripes	Black-footed cat	intact	FelNig v1 BIUU
	Helogale parvula	Dwarf mongoose	intact	HelPar v1 BIUU
	Hyaena hyaena	Striped hyena	intact	ASM300989v1
	Leptonychotes weddellii	Weddell Seal	intact	LepWed1.0
	Lycaon pictus	African wild dog	intact	LycPicSAfr1.0
	Lynx pardinus	Iberian lynx	intact	*http://denovo.cnag.cat/genomes/iberian_lynx
	Mellivora capensis	Ratel	intact	MelCap_v1_BIUU
	Mirounga angustirostris	Northern elephant seal	pseudogene	MirAng v1 BIUU
	Mungos mungo	Banded mongoose		
	Mustela putorius furo	F / F	intact	MunMun_v1_BIUU
	Manual I I I I	Ferret	intact	MunMun_v1_BIUU MusPutFur1.0
	Neomonachus schauinslandi Naovison visor	Ferret Hawaiian monk seal	intact intact intact	MunMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNOGC v01
	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobemus rosmanus dinam	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walays	intact intact intact intact	MumMun_vI_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0
	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera ovec	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jamar	intact intact intact intact intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PenOpe_v1_BUU!
v	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leonard	intact intact intact intact intact intact intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1_0
√ √	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera tieris	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger	intact intact intact intact intact intact intact intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0
√ √	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera tigris Paradoxurus hermanhroditus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet	intact intact intact intact intact intact intact intact intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOne_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 Partler v1 BIUU
~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera nea Panthera igris Paradoxurus hermaphroditus Phoca viulina	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal	intact intact intact intact intact intact intact intact intact intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanDre_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HEeal_1.0
~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Panathera tigris Panatoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronyne braviliensis	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter	intact intact intact intact intact intact intact intact intact intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 Prefra v1_BIUU
√ √	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera tigris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pieronura brasiliensis Puma concolor	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma	intact intact intact intact intact intact intact intact intact intact pseudogene intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanFur_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PreBra_v1_BIUU PreBra_v1_BIUU
√ ✓	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera tigris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk	intact intact intact intact intact intact intact intact intact intact pseudogene intact intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanHer_v1_BIUU GSC_HSea_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU
√ ✓	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Panatera tigris Panadoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pheronura brasiltensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat	infact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 Partier_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU
~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Panatera tigris Panatera tigris Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOne_v1_BIUU PanFur_0 Parfig1.0 Parfire_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM369799v1
~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera tigris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus americanus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American black bear	infact intact intact intact intact intact intact intact intact intact pseudogene intact intact intact intact intact intact intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOne v1_BIUU PanPar1.0 Partler v1_BIUU GSC_HSea1.0 PreBra v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM369709v1 ASM34442v1
~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Phoca vitulina Pieronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus ametcanus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American black bear Brown bear	intact in	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM3569799v1 ASM334442v1 ASM35476v1
~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Panatera tigris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus americanus Ursus arctos horribilis Ursus maritimus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger American badger Brown bear Polar bear	intact intact intact intact intact intact intact intact intact pseudogene intact intac	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc v1_BIUU PanPar1.0 PanFig1.0 ParHir_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PteBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SAM358476v1 UrsMar_1.0
~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera pardus Panthera tigris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus arctos horribilis Ursus arctis horribilis Ursus maritimus Vulpes lagopus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger Brown bear Polar bear Arctic fox	intact in	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanFig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM360799v1 ASM334442v1 ASM358476v1 UrsMar_1.0 VulLag_v1_BIUU
~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Partadoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus americanus Ursus arctos horribilis Ursus maritimus Vulpes lagopus Yulpes vulpes	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American black bear Brown bear Polar bear Arctic fox Red fox	intact in	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGC.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM354442v1 ASM354442v1 ASM354442v1 ASM354442v1 ASM354476v1 UrsMar_1.0 VulLag_v1_BIUU VulVul2.2
~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Phoca vitulina Phoca vitulina Pieronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus areitos horribilis Ursus mericanus Ursus maritimus Vulpes tulpes Zalophus californianus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American bladger American bladger America	intact in	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 Partfer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PteBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM369799v1 ASM35442v1 ASM354476v1 UrsMar_1.0 VulLag_v1_BIUU VulVul2.2 zalCal2.2
~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera tigris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus arctos horribilis Ursus arctos horribilis Ursus arctos horribilis Ursus arctimus Yulpes lagopus Yulpes vulpes Zalophus californianus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger American badger American badger Arotic fox Red fox California sea lion	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SM35476v1 UrsMar_1.0 VulLag_v1_BIUU VulVul2.2 zalCal2.2
~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus arctos horribilis Ursus arctos horribilis Ursus maritimus Viulpes lagopus Viulpes vulpes Zalophus californianus Pholiota	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American bladger American bladger American bladger American black bear Brown bear Polar bear Arctic fox Red fox California sea lion	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOne_v1_BIUU PanTer_v1_BIUU ParHer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PreBra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SaM334442v1 ASM35979v1 VusMar_1.0 VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v2_ ValCal2.2
~ ~ ~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Pantara igris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Phoca vitulina Pheronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus americanus Ursus arctos horribilis Ursus maritimus Vulpes lagopus Vulpes upes Zalophus californianus Pholidota Manis pentadactyla Manis javanica	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American black bear Brown bear Polar bear Arctic fox Red fox California sea lion	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HScal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM35476v1 UrSMar_1.0 VulLag_v1_BIUU VulVul2.2 zalCal2.2
~ ~ ~ ~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera tigris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiltensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus americanus Ursus americanus Ursus americanus Ursus anctos horribilis Ursus maritimus Vulpes lagopus Vulpes lagopus Vulpes alifornianus Pholidota Manis pentadactyla Manis javanica	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger Chinese pangolin	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanFir_v1_BIUU ParHir_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PteBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SAM369799v1 ASM358476v1 UrsMar_1.0 Vullval2_z zalCal2.2
~~ ~~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera pardus Panthera pardus Panthera pardus Panthera pardus Panthera pardus Panta concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus arctos horribilis Ursus arctos horribilis Ursus arctos horribilis Ursus arctimus Vulpes vulpes Zalophus californianus Pholidota Manis pentadactyla Manis javanica	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger American badger American badger American badger Arctic fox Red fox California sea lion	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOne_v1_BIUU PanPar1.0 Pariter_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SMM334442v1 ASM35979v1 UrsMar_1.0 VulLag_v1_BIUU VulVul2.2 zalCal2.2
~~ ~~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Partadoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus americanus Ursus arctos horribilis Ursus martifunus Vulpes lagopus Vulpes upes Zalophus californianus Pholidota Manis pentadactyla Manis javanica	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American black bear Brown bear Polar bear Arctic fox Red fox California sea lion Chinese pangolin Star-nosed mole	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanTig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HScal_1.0 PreBra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM3540769v1 ASM35476v1 UrsMar_1.0 VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU ConCri1.0
~~ ~~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Paradavarus hermaphroditus Phoca vitulina Phoca vitulina Pieronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus areitata Ursus americanus Ursus areitos horribilis Ursus maritimus Vulpes vulpes Zalophus californianus Pholidota Manis pentadactyla Manis pentadactyla Manis javanica	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger Chinese pangolin Sunda pangolin	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPart_0 PanOnc_v1_BIUU ParHer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU SwrSur_J_BIUU SwrSur_J_BIUU ASM358476v1 UrsMar_1.0 Vullvalz_v1_BIUU VulVul2.2 zalCal2.2 ConCri1.0 ConCril_BIUU
~~ ~~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera pardus Punta concolor Punta concolor Panta concolor Panta concolor Panta concolor Punta concolor Punta concolor Punta concolor Punta concolor Punta concolor Varus arcos horribilis Ursus arcitos horribilis Ursus arcitos horribilis Ursus arcitos horribilis Ursus arcitos horribilis Ursus arcitos horribilis Ursus maritimus Yulpes vulpes Zalophus californianus Pholidota Manis panaica Eulipotyphla Condylura cristata Crocidura indochinensis Erinaceus europaeus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger American badger American badger Artici fox Red fox California sea lion Chinese pangolin Star-nosed mole Indochinese shrew Hedgehog	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOne_v1_BIUU PanPat.0 PanTig1.0 Partir_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SM358476v1 UursMar_1.0 VulVu2_2 zalCal2.2 M_pentadactyla-1.1.1 ManJav1.0
~~ ~~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera tigris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Pteronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus anericanus Ursus arctis horribilis Ursus maritimus Viulpes lagopus Viulpes ulgopus Zalophus californianus Pholidota Manis pentadactyla Manis pentadactyla Manis pentadactyla Condylura cristata Croidura indochinensis Erinaceus europaeus Scalopus aquaticus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American black bear Brown bear Polar bear Arctic fox Red fox California sea lion Chinese pangolin Sunda pangolin Star-nosed mole Indochinese shrew Hedgehog Eastern mole	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanTig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HScal_1.0 PreBra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU ASM354476v1 UrsMar_1.0 VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU ConCri1.0 CroBart_0.0 ScaAqu_v1_BIUU VulUU_2.0 VulUU_2.1
~~ ~~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera igris Pantava igris Paradoxurus hermaphroditus Phoca vitulina Phoca vitulina Pieronura brasiliensis Puma concolor Spilogale gracilis Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus arictata Taxidea taxus jeffersonii Ursus areicanus Ursus areicanus Ursus areicos horribilis Ursus maritimus Vulpes vulpes Zalophus californianus Pholidota Manis pentadactyla Manis javanica Eulipotyphla Condylura cristata Crocidura indochinensis Erinaceus europaeus Scalopna aquaticus Solenodon paradoxus woodi	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger Chinese pangolin Star-nosed mole Indochinese shrew Hedgehog Eastern mole Hispaniolan solenodon	intact in	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQ6G.v01 Oros_1.0 PanOnc_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 ParHer_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PteBra_v1_BIUU SptGra_v1_BIUU SurGar_v1_BIUU SurGar_v1_BIUU ASM358476v1 UrsMar_1.0 Vullval2_z zalCal2.2 ConCri1.0 Concri.1.0 Concri.1.0 Crolnd_v1_BIUU ASM290108v1
~~ ~~ ~	Neomonachus schauinslandi Neovison vison Odobenus rosmarus divergens Panthera onca Panthera pardus Panthera pardus Suricata suricatta Taxidea taxus jeffersonii Ursus ancicolor Ursus arcitos horribilis Ursus arcitos horribilis Ursus maritimus Vulpes lagopus Vulpes lagopus Vulpes vulpes Zalophus californianus Pholidota Manis pentadactyla Manis javanica Eulipotyphla Condylura cristata Crocidura indochinensis Erinaceus europaeus Scalopus aquaticus Scolenodon paradoxus woodi Sorex araneus	Ferret Hawaiian monk seal American mink Pacific walrus Jaguar Leopard Tiger Asian palm civet Harbor seal Giant otter Puma Western spotted skunk Meerkat American badger American badger American badger American badger American badger American badger Chinese pangolin Star-nosed mole Indochinese shrew Hedgehog Eastern mole Hispaniolan solenodon Shrew	intact intact	MumMun_v1_BIUU MusPutFur1.0 ASM220157v1 NNQGG.v01 Oros_1.0 PanOne_v1_BIUU PanPar1.0 PanTig1.0 Partir_v1_BIUU GSC_HSeal_1.0 PreBra_v1_BIUU PumCon1.0 SpiGra_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU SurSur_v1_BIUU VulLag_v1_BIUU VulVu2_2 zalCal2.2 M_pentadactyla-1.1.1 ManJav1.0 ConCri1.0 ConCrid_v1_BIUU SaXau_v1_BIUU SaXM_V1_BIUU SaXM_V1_BIUU SaXM_V1_BIUU SaxM_V1_BIUU SaxM3068v1

	Sirenia			
	Trichechus manatus	Manatee	pseudogene	TriManLat1.0
	Hyracoidea			
	Heterohyrax brucei	Yellow-spotted hyrax	intact	HetBruBak v1 BIUU
	Procavia capensis	Hyrax	intact	Pcap_2.0
	D 1 1			
	Proboscidea	Flenhant	intact	Lovafr3 0
	Loxodonia ajricana	Exeptiant	intact	Loxan5.0
	Macroscelidea			
	Elephantulus edwardii	Cape elephant shrew	intact	EleEdw1.0
	A Guaraniai da			
	Chrvsochloris asiatica	Cape golden mole	intact	ChrAsi1.0
	Echinops telfairi	Lesser hedgehog tenrec	intact	EchTel2.0
	Microgale talazaci	Talazac's shrew tenrec	intact	MicTal_v1_BIUU
	Tubulidentata			
	Orvcteropus afer afer	Aardvark	intact	OrvAfe1.0
	·			,
	Pilosa	at 1	• • •	<u></u>
~	Choloepus hoffmanni Choloepus didaatulus	Sloth	intact	C_hoffmanni-2.0.1
	Mvrmeconhaga tridactyla	Giant anteater	intact	MyrTri v1 BIUU
	Tamandua tetradactyla	Southern tamandua	intact	TamTet_v1_BIUU
	Cingulata	6	:	Ch-W-L1 DILIU
	Dasymus novemcinctus	Nine-banded armadillo	intact	Dasnov3.0
	Tolypeutes matacus	Southern three-banded armadillo	intact	TolMat_v1_BIUU
	Diprotodontia	XX7 11 1	• • •	NZ 11
	Macropus eugenii Phascolarctos cinereus	Wallaby Koala	intact	meug_1.1
	Vombatus ursinus	Common wombat	intact	bare-nosed wombat genome assembly
	Dasyuromorphia			
	Sarcophilus harrisii	Tasmanian devil	intact	Devil_ref v7.0
	Didelphimorphia			
	Monodelphis domestica	Opossum	intact	monDom5
	Ornithorhynchus anatinus	Platynus	intact	Ornithorhynchus anatinus-5.0.1
	Sirenia			
	Trichechus manatus	Manatee	pseudogene	TriManLat1.0
	Huracoidea			
	Heterohyrax brucei	Yellow-spotted hyrax	intact	HetBruBak v1 BIUU
	Procavia capensis	Hyrax	intact	Pcap_2.0
	D 1 1			
	I orodonta africana	Elenhant	intact	Lovafr3.0
	Lonodonia dynedina	Enephant	maer	Lonanyio
	Macroscelidea			
	Elephantulus edwardii	Cape elephant shrew	intact	EleEdw1.0
	Afrosoricida			
	Chrysochloris asiatica	Cape golden mole	intact	ChrAsi1.0
	Echinops telfairi	Lesser hedgehog tenrec	intact	EchTel2.0
	Microgale talazaci	Talazac's shrew tenrec	intact	MicTal_v1_BIUU
	Tubulidentata			
	Orycteropus afer afer	Aardvark	intact	OryAfe1.0
./	Pilosa Choloanus hoffmanni	Sloth	intest	C hoffmanni 2.0.1
Ŷ	Choloepus didactvlus	Southern two-toed sloth	nseudogene?	ChoDid v1 BIUU
	Myrmecophaga tridactyla	Giant anteater	intact	MyrTri_v1_BIUU
	Tamandua tetradactyla	Southern tamandua	intact	TamTet_v1_BIUU
	Circulate			
	Chaetophractus vellerosus	Screaming hairy armadillo	intact	ChaVel v1 BIUU
	Dasypus novemcinctus	Nine-banded_armadillo	intact	Dasnov3.0
	Tolypeutes matacus	Southern three-banded armadillo	intact	TolMat_v1_BIUU
	Diprotodontia			
	Macropus eugenii	Wallaby	intact	Meug 1.1
	Phascolarctos cinereus	Koala	intact	phaCin_unsw_v4.1
	Vombatus ursinus	Common wombat	intact	bare-nosed wombat genome assembly
	Dassuromorphic			
	Sarcophilus harrisii	Tasmanian devil	intact	Devil ref v7.0
	Didelphimorphia	-		
	Monodelphis domestica	Opossum	intact	monDom5
	Monotremata			
	Ornithorhynchus anatinus	Platypus	intact	Ornithorhynchus_anatinus-5.0.1

Amphibia		
Anura		
Rana catesbeiana	American bullfrog	intact RCv2.1
Nanorana parkeri	High Himalaya frog	intact ASM93562v1
Xenopus tropicalis	Western clawed Frog	intact Xenopus_tropicalis_v9.1
Xenopus laevis	African clawed frog	intact Xenopus_laevis_v2 chromosome 1S
Caudata		
Ambystoma mexicanum	Axolotl	intact ASM291563v1
Cynops pyrrhogaster	Japanese fire belly newt	intact *http://antler.is.utsunomiya-u.ac.jp/imori/
Ancient fishes		
Coelacanthiformes		
Latimeria chalumnae	Coelacanth	intact LatCha1
Lepisosteiformes		
Lepisosteus oculatus	Spotted Gar	intact LepOcu1
Acipenseriformes		
Acipenser sp.	Sturgeon	intact *PCR amplified at Suzuki et al. (2018)
Polypteriformes		
Polypterus senegalus	Polypterus	intact *PCR amplified at Suzuki et al. (2018)

*チェックの入った種は同属に同一の配列があるため解析に用いなかった種

表 2.2 intact な ancV1R 配列の長さ

Sequence length (bp)	Number of species	Taxon
924	1	Bolivian titi
936	1	White-faced saki
939	1	Marmoset
954	1	Asian palm civet
957	1	Cape Golden Mole
963	3	Hispaniolan solenodon, Wallaby, Gracile shrew mole
966	3	Star-nosed Mole, Shrew, Natal Long-fingered Bat
969	5	Eastern mole, Pale spear-nosed bat, Sebas short-tailed bat, Sunda flying lemur, Tarsier,
972	167	Most mammals
975	10	Aardvark, Koala, Great roundleaf bat, Perissodactyls (5 species), Ratel, Southern grasshopper mouse
978	2	Gambian giant pouched rat, Parnell's Mustached Bat
990	1	Southern three-banded armadillo
993	4	Xenathra (4 species)
1044	1	Greater bulldog bat

表 2.3 脊椎動物の鋤鼻器の退化と TRPC2・ancV1R の偽遺伝子化

				VNO	ancV1R(This study)
Chondrichthyes				-	not found
	Teleostei			-	not found
	Gar			-	intact
	Polypterus			-	intact
	Sturgeon			-	intact
	Lungfish			P? ^{k,1}	-
	Coelacanth			-	intact
Ortaishthara			Anura	P ^a	intact
Osteicnthyes		Amphibians	Caudata	P ^a	intact
			Gymnophiona	-	-
	Totronodo		Squamates	P ^a	intact
	Tetrapous	Reptiles	Crocodilians	R ^a	vestigial
			Testudines	R ^a	vestigial
		Birds		A ^a	not found
		Mammals		see bel	ow

* P: Present; A: Absent; R: Rudimentary a Bhatnagar and Meisami 1998 b Mackay-Sim et al. 1985 c Meisami and Bhatnagar 1998 d Switzer et al. 1980 e Wible and Bhatnagar 1996 f Oelschläiger 1989 g Smith et al. 2011 h Yu et al. 2010 i Yohe et al. 2017 j Liman and Innan 2003

k González et al. 2010

- l Nakamuta et al. 2012
- m Heart et al. 1987
- n Hecker et al. 2019

								TRPC2		ancV1R (Th	nis study)
							VNO	sequence	selective pressure	sequence	selective pressure
	Platypus						P ^a	intact h		intact	
	Marsupials					P ^a	intact h		intact		
		A functionin	Manatee				A ^b	pseudogene n	neutral ⁿ	pseudogene	e neutral
		Allotheria	other afrotheria	ns			Р°	intact ⁿ		intact	
		Xenarthra					P°	intact ⁿ		intact	
				Otters			-	pseudogene h,	ⁿ neutral ^{h,n}	pseudogene	neutral
					walrus		P ^d	intact n	negative n	intact	negative
		Laurasiatheria	Carnivora	Pinnipeds	fur seals		P ^d	intact h	negative h	intact	negative
			Carmivola		true seals		A ^d	pseudogene h	nerutral ^h	both	neutral
				Fossa			-	-	-	pseudogene	e neutral
				other carnivorans			P ^d	intact h		intact	
Mammals			Chiroptera				various ^e	various ⁱ	various ⁱ	see Table S	8
	Eutherians			Cetaceans			A ^{d,f}	pseudogene h	neutral h	pseudogene	e neutral
			Cetartiodactyla	Topi, Hartebeest, Hi	rola		P ^m	-	-	both	neutral
				Artiodactyls			P ^{d,m}	intact h		intact	
			Perissodactyla				P ^d	intact h		intact	
			Other laurasiath	ierians			P ^d	intact ⁿ		intact	
				Catarrhines			R ^a	pseudogene ^j	neutral ^j	pseudogene	e neutral
			Primates	New world monkey	owl monkey		R? ^{a,g}	intact ^j	neutral ^j	pseudogene	e neutral
		Eusrchontoglires	rimates	new world monkeys	other New World	monkeys	R? ^{a,g}	intact ^j		intact	
		Educionognics		other primates			P ^a	intact ^j		intact	
			Rodentia				P ^a	intact ^j		intact	
			Other Euarchon	toglires			P ^a	intact n		intact	

表 2.4 ancV1R の d_N/d_e解析における最適なコドン置換モデルの探索

	lnL	np ^a	AIC ^b	ΔΑΙϹ	Relative weight ^c
CF0	-42295.31	0	84590.61	0	1
CF1	-42930.30	3	85866.61	-1275.99	8.35E-278
CF2	-42962.92	9	85943.85	-1353.24	1.41E-294
CF3	-43405.77	60	86931.54	-2340.92	0

表 2.5 TRPC2 の d_N/d_e解析における最適なコドン置換モデルの探索

	lnL	np ^a	AIC ^b	ΔAIC	Relative weight ^c
CF0	-11268.84	0	22537.69	-64.84	8.3E-15
CF1	-11233.43	3	22472.85	0	1
CF2	-11292.30	9	22602.60	-129.75	6.7E-29
CF3	-11281.71	60	22683.43	-210.58	1.9E-46

Abbreviations,

CF0 = frequencies for each codon are assumed to be equal; CF1 = codon frequencies are calculated from average nucleotide frequencies; CF2 = codon frequencies are calculated from average nucleotide frequencies at each of three codon positions; CF3 = codon frequencies are treated as free parameters.

^a Number of free parameters

^b AIC = 2*np - 2*lnL

^c Relative weight = $\exp(0.5*\Delta AIC)$

foreground		lnL	np ^a	<i>P</i> value
manatee	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-3453.81	0	
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-3447.17	1	model0 vs model1 2.7E-04
cetarceans	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-7539.31	0	
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-7525.44	1	model0 vs model1 1.4E-07
otters	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-5350.47	0	
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-5348.07	1	model0 vs model1 0.029
true seals	model0: one d_N/d_S category	-5386.64	0	
	model1: three d_N/d_S categories	-5381.64	2	model0 vs model1 0.0068
fossa	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-5216.94	0	
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-5215.11	1	model0 vs model1 0.055
catarrhines	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-5505.28	0	
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-5495.53	1	model0 vs model1 1.0E-05
owl monkey	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-4659.74	0	
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-4659.10	1	model0 vs model1 0.26
alcelaphine antelopes	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-6182.77	0	
	model1: four $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-6179.59	3	model0 vs model1 0.095
chiropterans	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-7660.35	0	
	model1: thirteen d_N/d_S categories	-7642.88	12	model0 vs model1 4.8E-04

表 2.6 偽遺伝子化した ancV1R の d_N/ds値上昇の統計的有意性

^a Number of free parameters relative to each one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category model.

foreground		lnL	np ^a		P value
manatee	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-2310.67	0		
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-2300.25	1	model0 vs model1	5.0E-06
cetarceans	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-5143.43	0		
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-5098.73	1	model0 vs model1	3.2E-21
otters	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-3044.20	0		
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-3037.99	1	model0 vs model1	4.2E-04
true seals	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-3180.58	0		
	model1: three $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-3168.47	2	model0 vs model1	8.7E-07
fossa	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-2972.72	0		
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-2968.87	1	model0 vs model1	0.0055
catarrhines	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-3801.31	0		
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-3742.13	1	model0 vs model1	1.4E-27
owl monkey	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-2744.00	0		
	model1: two $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ categories	-2741.60	1	model0 vs model1	0.028
alcelaphine antelopes	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-4201.17	0		
	model1: four d_N/d_S categories	-4193.13	3	model0 vs model1	0.0010
chiropterans	model0: one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category	-3638.00	0		
	model1: thirteen d_N/d_S categories	-3595.92	11	model0 vs model1	2.3E-13

表 2.7 偽遺伝子化した TRPC2 の d_N/ds値上昇の統計的有意性

^a Number of free parameters relative to each one $d_{\rm N}/d_{\rm S}$ category model.

表 2.8 翼手目における鋤鼻器の退化と TRPC2・ancV1R の偽遺伝子化

				b TRPC2		V1D	A
			VNO or AOB	Yohe et al. 2017	This study*	-anc VIR	Assembly name
Vespertilionidae	Murina aurata feae	Little tube-nosed bat				pseudogene	MurFea_v1_BIUU
-	Myotis davidii	David's Myotis				pseudogene	ASM32734v1
	Myotis myotis	Greater mouse-eared bat				pseudogene	MyoMyo_v1_BIUU
	Myotis lucifugus	Little Brown Bat	1	0	1	pseudogene	Myoluc2.0
	Myotis brandtii	Brandt's Bat	absent	<i>:</i>	not tound	pseudogene	ASM41265v1
	Eptesicus fuscus	Big Brown Bat				intact??	EptFus1.0
	Pipistrellus pipistrellus	Common pipistrelle				pseudogene	PipPip v1 BIUU
	Lasiurus borealis	Red bat				pseudogene	LasBor v1 BIUU
Miniopteridae	Miniopterus natalensis	Natal Long-fingered Bat	· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·	?	intact	intact	Mnat.v1
	Miniopterus schreibersii	Schreibers' long-fingered bat	present	intact	intact	intact	MinSch v1 BIUU
Molossidae	Tadarida brasiliensis	Brazilian free-tailed bat	absent	pseudogene	pseudogene	intact(pseu)	TadBra v1 BIUU
Phyllostomidae	Artibeus jamaicensis	Jamaican fruit-eating bat		intact	intact	intact	ArtJam_v1_BIUU
	Carollia perspicillata	Seba's short-tailed bat		intact	truncated	intact	CarPer_v1_BIUU
	Phyllostomus discolor	Pale spear-nosed bat		?	intact	intact	mPhyDis1_v1.p
	Tonatia saurophila	Stripe-headed round-eared bat	present	?	intact	intact	TonSau_v1_BIUU
	Anoura caudifer	Tailed tailless bat		intact	intact	intact	AnoCau_v1_BIUU
	Desmodus rotundus	Common vampire bat		intact	intact	intact	ASM294091v2
	Micronycteris hirsuta	Little big-eared bat		?	intact	intact	MicHir v1 BIUU
Mormoopidae	Pteronotus parnellii	Parnell's mustached bat	present	intact	intact	intact	ASM46540v1
	Mormoops blainvillei	Antillean ghost-faced bat	absent	pseudogene	intact	intact	MorMeg v1 BIUU
Noctilionidae	Noctilio leporinus	Greater bulldog bat	absent	pseudogene	pseudogene	intact(pseu)	NocLep v1 BIUU
Rhinolophidae	Rhinolophus ferrumequinum	Greater Horseshoe Bat	absent	pseudogene	pseudogene	pseudogene	ASM46549v1
	Rhinolophus sinicus	Chinese rufous horseshoe bat		?	pseudogene	pseudogene	ASM188883v1
Hipposideridae	Hipposideros galeritus	Cantor's roundleaf bat	absent	?	intact	intact	HipGal_v1_BIUU
	Hipposideros armiger	Great roundleaf bat	ausem	pseudogene	pseudogene	intact	ASM189008v1
Craseonycteridae	Craseonycteris thonglongyai	Hog-nosed bat	?	?	intact	intact	CraTho v1 BIUU
Megadermatidae	Megaderma lyra	Greater false vampire bat	absent	pseudogene	pseudogene	intact	ASM46534v1
Pteropodidae	Macroglossus sobrinus	Long-tongued fruit bat		?	pseudogene	pseudogene	MacSob_v1_BIUU
	Eidolon helvum	Straw-coloured fruit bat		?	not found	pseudogene	ASM46528v1
	Pteropus alecto	Black Flying Fox	1	?	pseudogene	pseudogene	ASM32557v1
	Pteropus vampyrus	Java Fruit Bat	absent	?	pseudogene	pseudogene	Pvam_2.0
	Rousettus aegyptiacus	Egyptian Fruit Bat		?	not found	pseudogene	Raegyp2.0
	Eonycteris spelaea	Lesser dawn bat		pseudogene	not found	pseudogene	Espe.v1

^a Bhatnagar and Meisami 1998 *based on exon 12 (720bp)
^b Wible and Bhatnagar 1996

第三章:哺乳類 V1R 遺伝子の探索と比較解析

3.1 導入

V1R は非常に動的に変異する遺伝子で、遺伝子重複や遺伝子欠失、偽遺伝子化、リガンドの遷移 といった変異蓄積の速度が非常に速い。そのため近縁種同士で比べてもまったく同じレパートリー を持っていることはほぼない(Grus and Zhang 2004)。このような V1R の性質は V1R の進化とフェ ロモン受容の多様化が哺乳類の種分化に大きく貢献していることを示している。また、種の現在の フェロモン依存性に迅速に対応して V1R 遺伝子レパートリーが増減するために、その種のフェロモ ン依存度合いとも相関すると考えられる。

V1R遺伝子はゲノム中に分散しているため、その全容の解明には全ゲノムの解読が必要である。 そのために、様々な種で研究されだしたのも 2000 年代初頭に哺乳類のゲノムが解読され始めてから となる。2005 年に Grus らは当時ゲノムが解読されたばかりのマウス、ラット、ヒト、ウシ、イヌ、 オポッサムの6種について V1R遺伝子を解析し、V1R遺伝子のレパートリーは種によって大きく 異なることおよびそれらの系統も複雑に入り組んでいることを発見した。この研究では哺乳類の中 でより発達した鋤鼻器を持つマウス、ラット、オポッサムではコピー数が 50-190 個程度と非常に多 いのに対して、鋤鼻器の構造がそれらに比べて単純なウシでは 30 個程度、イヌでは 8 個、鋤鼻器が 退化しているヒトでは 4 個と鋤鼻器の構造的複雑さとの相関が見られた。2010 年に Young らはよ り広範な 37 種(17 目)のゲノム情報を探索した。この結果は 2005 年の Grus らの結果を概ね支持す るが、V1R 遺伝子レパートリーの減衰と鋤鼻器の退化は強く相関する一方、レパートリー増加と鋤 鼻器の発達はあまり相関していないことを示した。例えば鋤鼻器の退化した上位の霊長類、コウモ リ、クジラでは V1R が 0-4 個程度に減衰しており、鋤鼻器の退化に伴って V1R 遺伝子も全体的に 退化の途中であることが伺える。一方で、鋤鼻器の発達がウシと同程度にカテゴライズされている 原猿類(ガラゴやコビトキツネザル等)では、鋤鼻器が最も発達した齧歯目と同程度に V1R が大きく 増加している(100 個程度)のに対して、鋤鼻器の発達が原猿類と同程度とされる新世界ザル(リスザ ルやマーモセット等)では V1R が 10 個程度である。こうした哺乳類における包括的な解析は、V1R 遺伝子の増減は様々な生態や条件が複雑に絡み合った結果であり、何かしらの条件一つで説明でき るものではないことを示している。

近年では次世代シーケンサーの普及により様々な哺乳類ゲノムが登録されるようになっている。 それによって、鋤鼻器退化以外の要因においても V1R 遺伝子レパートリーが大きく変化しているこ とがわかり始めている。齧歯目はハダカデバネズミ、メクラネズミ、モグラレミングの 3 系統で収 斂的に地中適応していることが知られる。これらの種ではモグラのように地中適応によって視覚が 退化しており、代わりに嗅覚や聴覚を発達させて捕食や仲間同士の通信に用いてると考えられてい る。しかし、V1R 探索の結果、こうした地中適応している系統は通常の齧歯目が V1R を 50-100 個 程度持つのに対してどれも 20 個程度まで減少していた(Jiao et al. 2019)。一方でこうした地中適応 した齧歯目は社会性を発達させ、その媒介としてフェロモンを用いていることが知られる。そのた めこうした地中適応した種における V1R コピー数の減少は、フェロモン知覚の退化を示すものでは なく従来の陸上で用いていたレパートリーが一部不要となったからと推測できる。霊長目は原猿類 と真猿類の大きく2つに分かれる。原猿類は霊長目の中でも早くに分岐した一群でありキツネザル やロリス等を含む。またこれらと単系統ではないがメガネザルも含まれる。真猿類は原猿類以外の 霊長目の総称でサルと言われてイメージするのは通常こちらである。原猿類の一部には昼行性から 夜行性に再適応した種が存在する。これら夜行性に再適応した種では V1R が 50-100 個程度に大き く増えているのに対して、昼行性の原猿類では V1R が 20-30 個程度である (Hunnicut et al. 2019)。 こうした夜行性と昼行性での違いは、夜行性による視覚の重要性の低下と嗅覚の重要性の上昇と考 えられるが、他の哺乳類ではこのような昼行性と夜行性による差は見られない。

哺乳類のゲノム情報は整備され始めたばかりであるため、V1R 遺伝子のレパートリーは未だ多く 種で未知である。V1R 遺伝子の進化の過程を辿ることで、哺乳類の適応拡散においてフェロモン知 覚が感覚系の一部として進化戦略にどのように関連したのかを知ることができる。本章の研究では、 研究当時に NCBI に登録された哺乳類の全ゲノム 332 種 115 科 23 目分すべてにおいて V1R 遺伝子 を探索した。哺乳類全 27 目のうち齧歯目、翼手目、霊長目、鯨偶蹄目、食肉目の5 目は特に適応拡散し ており、この5 目に属する種数だけで哺乳類全体の種数の8 割以上を占める。そしてゲノム情報の登録 も非常に盛んである。今回はこの5 目とその近縁の目で1 つのグループとして、それぞれのグループに おいて科からそれぞれ代表1種を選んでそれぞれの持つ V1R の系統関係を最尤推定した。さらに各 グループ内で V1R遺伝子のレパートリーが種の分岐に際してどのように変化したのかを最節約的に 求めた。こうした V1R 遺伝子の進化の解析によって、鋤鼻器退化による V1R 遺伝子の減少のみな らず、鋤鼻器を保持している種においても適応進化に応じて V1R 遺伝子レパートリーが多様な変化 を遂げていることがわかった。

3.2 材料と方法

3.2.1 データマイニングとアライメント

V1R を取得するクエリーには既知のマウス V1R の配列を用いた。アノテーション済みのマウス V1R の配列は ARSA DDBj(http://ddbj.nig.ac.jp/arsa/)で検索をした結果、1183 件のヒットを得た。 これには多くの重複した配列が多く含まれるので、CD-HIT(Li and Godzik 2006)を用いて、80%の 類似度にクラスタリングしてそれぞれのクラスタの代表の配列(最も長い配列)をクエリーとした (48 個)。検索先である哺乳類のゲノムアッセンブリーは NCBI Assembly に登録された同種を除く 哺乳類のゲノムアッセンブリーすべてをダウンロードし(表 3.1)、以下の手順で各種のゲノムアッセ ンブリーに対して検索を実行した。まずは(i)マウスの配列をクエリーとしてゲノムアッセンブリー に対して tBLASTn で検索した。(ii)この検索でヒットした領域を対象に遺伝子予測をかけ (Exonerate; Slater and Birney 2005)、遺伝子の取得と分類(intact な配列、偽遺伝子や不完全な配列 の3 種類)を行った。(iii)これらの核酸配列をクエリーとして、タンパク質のデータベース(Uniref50) に対して GHOSTZ(Suzuki et al. 2015)で類似性検索をかけ、もし検索のヒット上位 10 位以内の既 知の配列に「V1R」「vomeronasal」のキーワードが含まれていればその検索に用いた配列を V1R の 候補遺伝子とし、含まれていなければ捨てた。(iv)出力された V1R 候補遺伝子の配列のうち 800bp より長く配列内に配列を intact な配列と判定しこれより短い配列は見かけ上 intact でも偽遺伝子と して判定した。(v)この intact として判定された配列をクエリーとして同じゲノムアッセンブリーに 再度 tBLASTn の検索をかけた。(ii)から(v)の過程を3回繰り返し、最終的な出力結果をその種の結 果として解析に用いた(表 3.1)。これらの操作は FATE (https://github.com/Hikoyu/FATE)および shell スクリプトで自動化した。

ORの探索でも同様の操作を行って配列を取得した。ORの場合は既存研究でアノテーションされている哺乳類のORの配列を80%類似性でクラスタリングしたものをクエリーとして(i)からの操作を行った。(iii)の段階のキーワードとしては「olfactory」の単語を用いた。

サンプリングの均一性を保つために、ゲノムアッセンブリーの質(Scaffold N50 値)を元に各科か らそれぞれ代表 1 種を選び、解析にはこれらの種の配列を用いた(115 科分)。配列のアライメント には核酸配列をアミノ酸配列に翻訳し、MAFFT(Katoh et al. 2002)の linsi(Katoh et al. 2005)のデフ ォルトパラメーターを用いてアライメントを行ったあとに PAL2NAL(Suyama et al. 2006)で核酸配 列へと戻してコドンのアライメントを構築した。サンプルのうちわけとしては霊長目、齧歯目、偶 蹄目、食肉目、翼手目の 5 つがメジャーな集団であり、これらだけでサンプルのほとんどすべてを 占めているため、(A)霊長目+皮翼目、(B)齧歯目+ウサギ目+ツパイ目、(C)鯨偶蹄目+奇蹄目、(D) 食肉目+有鱗目、(E)翼手目+真無盲腸目の近縁同士の目を同じカテゴリーとしこれらの分類群に含 まれない分類群の集合を(F)単孔目+有袋類+アフリカ獣上目+異節目として、それぞれのカテゴリー ごとに intact な配列のみをアライメントし、一連の解析に用いた。

3.2.2 系統樹構築と祖先の持つレパートリー推定

V1Rの遺伝子系統樹は上記の A-F の各カテゴリーごとに推定した。系統樹の構築には種特異的な 挿入を削除したコドンアライメントを入力として、RAxML(Guindon and Gascuel 2003)で GTR+I+G モデルを用いて最尤推定を行った。各ノードにおける分岐の信頼性は 1000 個のブート ストラップを生成し評価した。V1R 遺伝子系統樹のルートを確定するため、外群には魚類の V1R2 遺伝子を用いた。

V1R は多重重複遺伝子であるため、進化によってレパートリーが遷移する。そのため、どの祖先 の時点でどれだけ V1R が重複したのか(または欠失したか)を推定すれば進化と V1R 重複の相関を 調べることができる。祖先枝での増減数の推定には Notung 2.9(Chen et al. 2000)を用いた(表 3.2 の gain と loss の列)。Notung 2.9 はルート付き遺伝子系統樹に表れる局所的な遺伝子の系統関係と、 種の系統樹における系統関係を比較することで、種の系統樹の各ノードで遺伝子がどれほど重複ま たは欠失したのかを再節約的に推定する。入力として用いる各カテゴリーの V1R 遺伝子系統樹はブ ートストラップ値が 70%以下の部分を多分岐として系統関係の束縛を緩めた。また、各カテゴリー における種の系統樹は Open Tree of Life (https://tree.opentreeoflife.org/)から全ゲノム情報に基づ いて構築された種の系統関係をダウンロードして用いた(図 3.4)。

さらに V1R 遺伝子の増減を評価するために、系統樹の各枝での遺伝子の増減速度定数を推定した。 このとき、Notung 2.9 からの推定データでノードごとの遺伝子の増加数と減少数がすでにわかって いるため(図 3.4, 表 3.2)、簡単のために遺伝子の増加速度定数と減少速度定数を互いに独立に計算 する。遺伝子の増減速度定数は以下のように定義した。まずある *t*時点のノードの遺伝子数を x_t としたときにその一つ前の祖先のノードの遺伝子数を x_{t-t} とする。 x_{t-t} からの遺伝子数の増加量を α 、減少量を β とし($x_t = x_{t-t} + \alpha - \beta$ である)、速度定数は増加速度定数 a_i 、減少速度定数を a_d とすると増加側と減少側をそれぞれ

$$\frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}t} = a_{\mathrm{i}}x , \qquad \frac{\mathrm{d}x}{\mathrm{d}t} = -a_{\mathrm{d}}x$$

とモデル化した。これを時間 t-tから tまでを積分すると

$$\int_{x_{t-t'}}^{x_{t-t'}+\alpha} \frac{1}{x} dx = \int_{t-t'}^{t} a_i dt, \qquad \int_{x_{t-t'}}^{x_{t-t'}-\beta} \frac{1}{x} dx = \int_{t-t'}^{t} -a_d dt$$

より

$$a_{i} = \frac{\log(x_{t-t'} + \alpha) - \log(x_{t-t'})}{t'}, \qquad a_{d} = \frac{\log(x_{t-t'}) - \log(x_{t-t'} - \beta)}{t'}$$

となる。定性的に言えば x_t は注目する種(ノード)の遺伝子数で x_{t-t} が一つ手前の祖先が持つ遺伝子数であり、t'が祖先から注目する種(ノード)への分岐時間である。ノードからノードへの分岐時間は分岐時間のデータベースである TimeTree (http://www.timetree.org/)から用いる種名をクエリーとして取得した(表 3.2)。

計算したノードごとの増加速度定数や減少速度定数は正規分布にはならないため、箱ひげ図とし てカテゴリーごとにプロットした(図 3.2)。このとき

区間 [$Q_{1/4}$ -1.5IQR, $Q_{3/4}$ +1.5IQR] where IQR = $Q_{3/4}$ - $Q_{1/4}$

よりも外にある値を外れ値とし、外れ値となった枝を他の枝と比べて有意に V1R の増減速度が変化 した枝として定義した。t' < 3Mya のときは増減速度定数にt'の値が大きく影響してしまうため、t' <3Mya となる枝はプロットから除外した。また鋤鼻器が退化した種は、鋤鼻器を保持する種とは明 らかに V1R の増減の仕方に変化が生じていると考えられるため、プロットからは除外した。(F)グ ループは互いに系統関係が遠いその他の集合でありt'の値が枝によって大きく異なるため、増減速度 定数および有意性は求めていない。

3.3 結果と考察

3.3.1 霊長目における V1R 遺伝子レパートリーの変化

霊長目の中でも狭鼻小目(通称上位の霊長目)は鋤鼻器が退化していることはこれまでの章でも述 べてきた通りである。狭鼻小目はヒト科、テナガザル科、オナガザル科の3科に分かれるが、すべ ての科で intact な V1R 遺伝子が大きく減衰しているため、鋤鼻器の退化と V1R 遺伝子の減衰の相 関がはっきり見て取れる(図 3.1A; ヒト科: Human、テナガザル科: Gibbon、オナガザル科: Ugandan red coclobus)。祖先枝における V1R レパートリーの推定では鋤鼻器を持たない狭鼻小目とその近縁 で鋤鼻器を持つ広鼻小目との共通祖先では 20 個の V1R を持つと推定される。これに対して狭鼻小 目の共通祖先では V1R が 8 個まで減少しており、またそこから各科に分岐した後も、鋤鼻器を保持

している分類群で見られるようなV1R遺伝子の重複による増加を経験せずに減少し続ける(図3.3A)。 これらのことから狭鼻小目での鋤鼻器の退化と共に V1R 遺伝子は機能を失い、時間経過によるラン ダムな変異によって偽遺伝子化していっていると考えられる。しかし狭鼻小目が含む3科ではそれ ぞれの科で V1R 遺伝子の減衰度合いが微妙に異なる。ヒト科では 3-6 個と完全には失われておらず どの種でもいくつかのV1R遺伝子を残している(表 3.1A 中 Hominidae)。テナガザル科(Hylobatidae) では2個であるが1種しかゲノム情報がなかったため科全体としてどうなっているかわからない。 オナガザル科(Cercopithecidae)ではほとんどの種(19 種中 17 種)で V1R 遺伝子が消滅または 1 個の みを残している状態であることから、V1R 遺伝子が消滅の途中にあることがわかる。こうした各科 での違いの原因はよくわからないが、ヒト科では V1R 遺伝子が鋤鼻器の代わりに主嗅上皮で発現し ているという報告がある(Rodriguez et al. 2000)。また、ヒト科は他の科と比較して嗅覚受容体が100 個ほど多いことが報告されており(ヒト科: 293-398 個, オナガザル科: 143-375 個; Niimura et al. 2018)、今回の研究における OR 遺伝子の探索でもヒトで 552 個なのに対してテナガザルでは 250 個、コロブスでは 236 個ほどと大きな差が見られた(表 3.3A)。これらの比較から、ヒト科では主嗅 「覚系を独自に発達させていると考えられている(Niimura et al. 2018)。そのためヒト科で V1R 遺伝 子が完全には失われておらず主嗅覚系で発現していることは、ヒト科の主嗅覚系の発達によって V1R遺伝子が主嗅覚系の遺伝子としてリクルートされていることを示すのかもしれない。

2.3.3 小節での研究結果より、霊長目で新たにヨザル科の鋤鼻器の退化が示唆された。本小節では V1R 遺伝子の側面からこれを検証する。 第二章での記載の通り、ヨザル科は新世界ザル(上記の広鼻 小目の通称)と呼ばれる南米に適応拡散したサルの中でも唯一昼行性から夜行性に適応した種であ る。哺乳類の祖先がそうであったように、一般的に夜行性適応には視覚の退化と嗅覚の発達を伴う が、ヨザルでも視覚の退化が観察されている。そのため、嗅覚系の一部である鋤鼻器の退化の示唆 はこうした予想から外れる。ヨザルの V1R 遺伝子を調べてみると 12 個ほどである(図 3.1A 中 Owl monkey)。しかし新世界ザルの V1R 遺伝子数の変化を見ると、昼行性の種でも 8-16 個と全体的に 少ない(表 3.1A 中 Callittrichidae、Cebidae、Atelidae、Pitheciidae)ことがわかる。新世界ザルの祖 先枝での遺伝子数の推移を見ると、広鼻小目と狭鼻小目の共通祖先から広鼻小目へは+8 個-5 個の 増減と異常は見られないが、そこから各科へと分岐するに従って V1R 遺伝子が減少の一辺倒である ことがわかる(図 3.3A)。この原因は生態学的にもわかっていないが、新世界ザルの鋤鼻器は全体的 に縮小傾向であるという解剖学的知見(Hunter et al. 1984; Smith et al. 2011)に一致する。そのため ヨザルの V1R 遺伝子数はこれら昼行性の科と比較して多いとも少ないとも言えない数値である。し かし、ヨザルの V1R 遺伝子はヨザル科への分岐後でも遺伝子重複が観察されており、これは鋤鼻器 の機能が失われていないことを示すと考えられ、2.3.3 小節での ancV1R から示唆されたヨザル鋤鼻 器の退化を否定するものである。

古典的な分類では、霊長目は真猿類と原猿類の2つに分かれる。この2つの形態学的な大きな違いは、原猿類は真猿類と比べて嗅覚が大きく発達しており嗅覚組織が複雑化しているのに対して、 真猿類は嗅覚組織が単純化しておりその代わり視覚が真猿類と比較して発達していることである。 原猿類は嗅覚の発達と相関して嗅覚系遺伝子もよく発達しており、ORもV1Rも真猿類と比較する とコピー数が全体的に2倍以上多い(Niimura et al. 2018; Hunnicut et al. 2019)。現在では分子系統 学の発展により、かつて原猿類とされていたメガネザルは現在真猿類と単系統となっている。その

ため真猿類と原猿類というのは正式な分類群ではなくなったのだが、嗅覚の進化について言及する ときには便利である。

これまでの本小節の研究は、狭鼻小目と広鼻小目という真猿類の 2 つの大きな分類群における V1R遺伝子の変遷を述べてきた。さらに鋤鼻器退化以外による V1R遺伝子数の多様性を探索したと ころ、夜行性の原猿類で V1R が有意に増えていることがわかった。原猿類には昼行性の科と夜行性 に再適応した科が存在する。今回用いた原猿類のなかでは、コビトキツネザル科(図 3.3 中: Mouse lemur)、アイアイ科(Aye-aye)、ロリス科(Slow loris)、ガラゴ科(Bushbaby)が夜行性適応した科に当 たる。メガネザル科(Tarsier)も夜行性である。これらの科はその系統関係からロリス科とガラゴ科 以外はそれぞれが独立に夜行性適応したと考えられる。昼行性適応している科はインドリ科 (Coquerels sifaka)とキツネザル科(Ring-tailed lemur)である。鋤鼻器を保持している種のうちで V1R 遺伝子の増加速度が有意に大きい枝はコビトキツネザル科の枝および、ロリス科とガラゴ科の祖先 枝であることにより(図 3.3A、表 3.2A)、V1R 遺伝子の増加とこれらの分類群の夜行性適応が相関し ている可能性は非常に高い。アイアイ科の枝の増加速度定数は有意となる範囲から外れているもの の、一つ前の祖先が 39 個の V1R を持つと推定されるのに対して、そこからアイアイ科の枝で 18 個 もの V1R を増やしている。また、メガネザル科も祖先枝の 28 個と比較して 21 個の増加と大部分の V1R 遺伝子が刷新されている。メガネザル科と真猿類の共通祖先では有意に V1R が減少しているた め、おそらくここで昼行性適応が起きてメガネザル科で夜行性に再適応したのだろう。こうした原 猿類の夜行性適応による V1R 遺伝子の増加は、夜行性による嗅覚への依存度増加によく合致してい る。 昼行性適応しているインドリ科とキツネザル科は V1R のコピー数が他の原猿類と比較して明ら かに少なく(図 3.1A)、遺伝子重複も夜行性の種と比較して少ない。真猿類でも昼行性の新世界ザル (広鼻小目)は鋤鼻器を保持しながらも V1R 遺伝子数を減少させていっていることを合わせると、昼 行性における鋤鼻器の重要度の低下は霊長目全体に言えるように思える。一般に霊長目は熱帯や亜 熱帯の森林に生息する種であるが、昼の樹上生活と V1R の(ゆっくりとした)減少の因果関係はよく わからない。昼行性真猿類における嗅覚の重要度低下は果実を見分けるために視覚の依存性が増し たためと考えられるが、昼行性原猿類もこうした捕食やコミュニケーションの様式の変化によるも のかもしれない。

3.3.2 齧歯目における V1R 遺伝子レパートリーの変化

齧歯目は哺乳類の中でも爆発的に多様化した種で、その種数は哺乳類全体の約半数に及ぶ。その 生息域は陸上のほぼすべてに及び様々な環境に適応しており、例えば地中棲のハダカデバネズミや 半水棲に適応したビーバーなどが有名である。しかしながら少なくとも鋤鼻器についてはすべての 種が鋤鼻器を退化させることなく所持していると考えられる。また、これらを支持する事実として、 齧歯目は哺乳類の中でも嗅覚を大きく発達させており、どの種もおおよそ 1000 個程度の OR 遺伝 子のレパートリーを持つ(OR遺伝子多様性については後にV1R遺伝子と共に議論する)。そのため、 齧歯目は V1R 遺伝子レパートリーも多く持つと考えられており、実際に探索されたマウスの V1R 遺伝子は 200 個超と哺乳類の中でカモノハシを除いて最多であり、齧歯目も全体としておよそ 100 個程度と他の目と比較しても明らかに多くの V1R 遺伝子を持つ(図 3.1B)。このように嗅覚の発達し た齧歯目において、V1R遺伝子がどのように多様化しているのかを本小節では探索した。

V1R 遺伝子の増減数を推定した結果、今回探索した目の中でも齧歯目の増加速度定数の中間値が もっとも大きかった(図 3.2)。齧歯目における大きな V1R 遺伝子数とその増加速度定数は齧歯目の 種分化のたびに V1R 遺伝子のレパートリーの大きな割合で変化していることを意味し、 フェロモン のレパートリー変化が近縁種との種分化に大きく貢献していることを示唆する。こうした中で、V1R 遺伝子が有意に増減している枝はまばらに現れているため(図 3.3B)、その増減の有意性と生態の相 関性を見出すことができなかった。しかしマウス(Mus musculus)の枝は有意に V1R 遺伝子が増加し ている枝の一つだが、Mus 属を詳しく調べると属内でマウスのみが V1R を大きく増加させているこ とがわかった。マウス以外の Mus 属では 100 個程度(103-122)の V1R を保持しているが、マウスの みが倍の 222 個の V1R を保持している(表 3.1B)。V1R 遺伝子レパートリーが拡張されてもそれは 即座にフェロモン依存の行動の拡張を意味するとは限らないが、こうしたマウスの種特異的に大き なレパートリーは、マウスから更に細かく種分化するのに貢献するかもしれない。例えばマウスで は実験用マウスで発見されているフェロモン依存の行動が野生型では観察できないといった実験用 と野生型の違いが報告されているが(Hattori et al. 2017) 、実験用マウスと野生型マウスの地理的隔 離が進めば、マウス特異的なこの大きなレパートリーはこのような実験用マウスにのみ見られるフ ェロモン依存の行動を生み出すのを促進することで、将来の実験用マウスと野生型マウスの生殖的 隔離に貢献するかもしれない。

鋤鼻器の退化と哺乳類の適応進化を調べるにあたり、第二章では水棲適応による鋤鼻器の退化を 示した。齧歯目には完全水棲に適応した種はいないが、いくつかの種が水辺に生息し半水棲に適応 した形態を持つ。このような半水棲の齧歯目はビーバー科(図 3.3 中: Northern American beaver)、 ヌートリア科(Nutria)、テンジクネズミ科カピバラ属(図 3.3 中表記なし;表 3.3)の 3 科(属)におい て独立して存在する。これらの種は主に外敵から身を守るために水中生活へと適応したと考えられ ており、ほとんどの時間を水中で過ごして水棲植物などを捕食する。形態的に収斂しているのは水 かきや潜水性能の発達である。第二章の内容から水棲適応が鋤鼻器の退化に強く相関することを示 したが、一方で半水棲である鰭脚類はアザラシ科とアシカ科・セイウチ科で差が見られた。こうし た科では水棲適応を果たした共通祖先でV1R 遺伝子のコピー数が大きく減少しており(3.3.4 小節参 照)、水棲適応とV1R 遺伝子レパートリー減少の強い相関関係が伺える。

しかしながら、水辺に生息する齧歯目 3 種の V1R 遺伝子数の特定と解析の結果、いずれの種も近 縁種や祖先枝と同水準であり系統特異的な減少が見られなかった。ビーバー科は齧歯目の中でも最 小の 17 個の V1R 遺伝子しか持たなかったが(図 3.1B)、これは V1R 遺伝子の増減解析の結果、一つ 前の祖先枝で大幅な減少があったことに由来しており(図 3.3B)、ビーバー科の分岐後では祖先と比 較して大きな変化はないことがわかった。ビーバー科の祖先で起こった有意な V1R 遺伝子減少の原 因は不明であるが、ビーバー科の近縁であるポケットマウス科(図 3.3B 中: Kangaroo rat)が祖先で 20 個まで減ったレパートリーから 67 個へと大きく V1R 遺伝子を増やしていることから、もしかし たら水棲適応はビーバー科とポケットマウス科を含むビーバー小目の共通祖先で起き、その後ポケ ットマウス科が陸棲へと再適応したのかもしれない。これを検証するためには他のビーバー小目の 科および種の V1R 遺伝子レパートリーを調べる必要があるだろう(現時点では他種のゲノムは読ま れていない)。ヌートリア科の V1R 遺伝子の数は 58 個であり近縁種のフチア科(Desmarests hutia) が 86 個持つのと比較すると少ないが絶対数としては多い。祖先からヌートリア科への分岐による V1R 遺伝子の増加は9個でありこれは齧歯目として見ればかなり少ない増加量であるが、水棲適応 との相関と見るには厳しい。テンジクネズミ科カピバラ属の保持する V1R 遺伝子数は 78 個であり これは他の陸棲のテンジクネズミ科(Guinea pig)の 85 個と同程度である。カピバラは水陸両方で生 活をするが、嗅覚系のふるまいとしては陸棲のテンジクネズミ科と変化はないように思える。

陸棲から大きく生育環境を変える哺乳類の適応進化として、水棲適応や飛行能力の獲得以外では 地中棲適応が挙げられる。地中への適応は真無盲腸目のモグラやアフリカ獣上目のキンモグラの他 に齧歯目のいくつかの科や属で独立に進化している。この小節では齧歯目で地中棲適応を果たした キヌゲネズミ科モグラレミング属(図 3.3B 中:Transcaucasian mole vole)、メクラネズミ科(Northern Israeli blind subterranean mole rat)、デバネズミ科(Damaraland mole-rat)について扱う。地中への適 応で見られる収斂的な特徴としては視覚の退化である。その代わりとして、地中棲の種は嗅覚や触 覚が発達させて捕食やコミュニケーションに役立てていると考えられており、例えばハダカデバネ ズミは女王を頂点とした社会を構築してハチのようにフェロモンで社会性を維持していると考えら れている。そのため、地中棲はフェロモン知覚を発達させていると考えられてきた。しかし実際に V1R 遺伝子の数を調べると一般的な齧歯目と比較して非常に少ないことがわかる(図 3.1B)。

先行研究では単に地中棲種の V1R 遺伝子のレパートリーが少ないことのみが指摘されたが(Jiao et al. 2019)、本研究では近縁種との比較や祖先枝の推定結果を含めて議論する。今回の V1R 遺伝子 特定の結果は先行研究と同様、これら地中棲適応をした 3 科(属)は近縁種と比較して少ないレパー トリーを持つことを示す(図 3.1B)。また、これらの種での増減数の推定では、種へと分岐する過程 で V1R 遺伝子が半減したのと同時に 4-6 個の遺伝子重複を経験していること示した(図 3.3B)。これ らのことから、地中棲適応によって鋤鼻器の重要性が低下し、機能が縮小していると推定する。ま た、地中棲適応によって新しい V1R がほどんど誕生していないことから、地中棲適応には鋤鼻器を 介したフェロモン行動は適応的ではないことを示唆する。地中棲適応と嗅覚系の関係をさらに調べ るために、OR 遺伝子を探索したところこの 3 科(属)で異なる進化の兆候を発見した(表 3.3B)。ま ずモグラレミングの OR 遺伝子数(552 個)は所属するキヌゲネズミ科(Deer mice)の OR 遺伝子数 (1030 個)と比較して大きく減少している。他の近縁種でも同様に 1000 個程度の OR 遺伝子を持つ ことからこの減少はモグラレミング属に特有のものである。V1R 遺伝子の結果も合わせると、モグ ラレミングでは地中棲適応に際して嗅覚系が全体的に退化していることを示す。これに対して、メ クラネズミ科(1133 個)では近縁のアシナガマウス科(Gambian giant pouched rat; 1061 個)と比較し て、OR 遺伝子が同等または微増しており地中棲適応の影響は見られない。デバネズミ科(1198 個) では近縁種のヨシネズミ科(Greater cane rat; 595 個)やアフリカイワネズミ科(Dassie-rat; 647 個)と 比較して大きく OR 遺伝子を増加させている。これらのことから、地中棲適応によって 3 科(属)は それぞれ異なった進化戦略を持っていることがわかる。モグラレミングではおそらく嗅覚系以外の 感覚系(触覚や聴覚)に対する依存度を強めた結果、嗅覚系にはそれに伴う依存性の低下が生じてい ると考えられる。これは 3.3.5 小節でも議論するが、 真無盲腸目のモグラ科でも同様の傾向が見られ る。これに対してメクラネズミ科とデバネズミ科は触覚などを発達させながらも引き続き嗅覚に依 存していると考えられる。特にハダカデバネズミで見られるフェロモンを用いた社会性の媒体は V1R遺伝子ではなく、OR遺伝子が主体であると推定する。

3.3.3 鯨偶蹄目 V1R 遺伝子レパートリーの変化

鯨偶蹄目は偶数個の蹄を持つ動物の分類群で地球上のあらゆる場所に拡散し豊富な多様性を持つ。 その中でもクジラ類は鯨偶蹄目の一部から水棲へと進化した分類群として知られる。クジラ類は完 全水棲であるため、鋤鼻器が完全に退化しており痕跡も残っていない。クジラ類に対する V1R 遺伝 子の先行研究ではV1R遺伝子がすべて偽遺伝子化しており intact なものは見つからなかった(Young et al. 2010)。しかし今回の探索ではクジラ類全体においていくつかの intact な V1R 遺伝子を発見し ている(図 3.1C; 0-3 個)。クジラ類の V1R 遺伝子は同科内などのごく近縁でも 0 個の種とわずかな 種でまばらに分布している(表 3.1C; Lipotidae から Balaenidae)。クジラ類はハクジラ小目とヒゲク ジラ小目の2つに分かれているが、ハクジラ小目では主嗅覚系も完全に退化しているのに対して、 ヒゲクジラ小目は主嗅覚系を保持しており水中での捕食に用いると考えられている(Springer and Gatesy 2017)。このようにクジラ内でも嗅覚に差があるが、V1R 遺伝子の個数はどちらの小目でも 差が見られなかった。そのため、クジラ類で見られる V1R 遺伝子は何かしらの機能を持つわけでは なく壊れていく過程にあるのだろう。V1R遺伝子数の増減推定の結果、クジラ類の共通祖先では28 個から 6 個に大きく減少しており(図 3.3C)この減少速度定数(0.076)も陸棲の鯨偶蹄目全体と比較 してもはるかに大きい(図 3.2)。クジラ類と最も近縁なのはカバ科である。カバ科は水中と陸上の両 方に生息しているがカバ科は 32 個とウシ亜目と同程度に V1R 遺伝子を発達させており、水棲適応 の影響は見られない。

クジラ類を除く鯨偶蹄目において、2.3.3 小節ではハーテビースト亜科の3 属における鋤鼻器の退 化を示唆した。ancV1RとTRPC2の解析から、ハーテビースト亜科3属の鋤鼻器には機能制約に弛 緩が見られるが、配列に変異が見られるのはハーテビースト属のみであった。そのためこれら 3 属 に見られる選択圧の弛緩は潜在的な鋤鼻器の退化を示すのかははっきりしなかった。V1R 遺伝子の 解析の結果、ハーテビースト亜科の持つ V1R 遺伝子のレパートリーとその増減は、ハーテビースト 属での鋤鼻器退化のみを支持した(図 3.3C)。ハーテビースト亜科のうち鋤鼻器を保持するヌー属 (Blue wilde beest)は 32 個の V1R 遺伝子を保持しておりこれはウシとほぼ同等である(図 3.1C)。こ れに対してダマリスクス属(Topi)とヒロラ属(Hirola)はぞれぞれ 19 と 14 個まで減少しており、ハ ーテビースト属では更に減少して2個しか残っていない。これらハーテビースト亜科内での V1R 遺 伝子レパートリーの差に対して、V1R 遺伝子の増減解析はこの3 属内での段階的な減少を示唆する。 最初の減少はヌー属からこれら3属への分岐の枝でありこの段階で32個から21個へ減少したと推 定され(図 3.3C)、これは 3 属でのフレーメン反応の消失や鼻口蓋管の縮小に相関する(Hart et al. 1987)。しかしこの減少が起きた直後に分岐したダマリスクス属では V1R に種特異的な重複が観測 されているためダマリスクス属では鋤鼻器が機能を保持していることを示唆する。そのため、この 3属の祖先枝で起きた大きな V1R 遺伝子の減少とフレーメン反応の消失は鋤鼻器の退化を意味しな いと考えられる。次の大きな減少はハーテビースト属の分岐においてであり、ヒロラ属とハーテビ ースト属の共通祖先の15個から2個に減少している。これはハーテビースト属における鼻口蓋管の 閉鎖に相関し、また第二章の解析おける ancV1R の変異が入った時期に一致する。以上ハーテビー スト亜科における V1R 遺伝子と第二章の結果を総括すると、ハーテビースト亜科における鋤鼻器退

化はハーテビースト属においてのみ起こっており、ダマリスクス属とヒロラ属では鋤鼻器組織が縮 小傾向でありながらも機能を維持していることを示唆する。ただし、ハーテビーストのゲノムの質 は荒く、intact な V1R 遺伝子が 2 個に対して truncated(途中で遺伝子が切れている配列)となってい る遺伝子が 17 個も存在するのに注意が必要である(表 3.1C)。ハーテビーストの OR 遺伝子を調べ ても intact な遺伝子が 116 個(truncated で 500 個)しかないので(表 3.3C)これは水棲哺乳類のよう に嗅覚が大きく退化していないとありえない数字である。そのため、ハーテビーストゲノムの読み 直しが必要である。

こうした鋤鼻器退化と V1R 遺伝子減少の相関の他にも V1R 遺伝子の多様性をいくつかの分類群 で発見した。鯨偶蹄目で最大の V1R 遺伝子レパートリーを持つ種はシカ(図 3.1C 中: Hog deer)であ ったが、本研究で用いたシカ科 12 種では V1R 遺伝子の数が 11-59 個と種によって大きく異なった (表 3.1C 中 Cervidae)。同様に、ウシ科 45 種においても V1R 遺伝子の数が 7-52 個(表 3.1C 中 Bovidae; ハーテビースト亜科は含まず)と多様性があった。このような科内における多様性は、属や 種の分岐という比較的短い時間の中で V1R遺伝子のレパートリーが大きく変化していることを示し ており、こういった分類群の種分化がフェロモン知覚に強く影響されていることを示唆する。

さらに、鯨偶蹄目の中にはコミュニケーション手段として匂いを司る器官を発達させた種である ジャコウジカ科がある。ジャコウジカはシカ科ではなくウシ科の近縁として単独で一つの科として 成立する。ジャコウジカの雄は下腹部に麝香腺と呼ばれる芳香物質を溜める器官を持つ。この芳香 物質は繁殖期のメスを引きつけるフェロモンであると言われている。しかしながら、ジャコウジカ の V1R 遺伝子の 21 個であり(図 3.1C 中 Siberian musk deer)、近縁のシカ科やウシ科と比較すると 少ない。V1R 遺伝子の増減推定では、ジャコウジカ特異的に増えている V1R 遺伝子は4 コピーであ り、逆にウシ科との共通祖先からジャコウジカた分岐するに当たり 20 コピーと約半数の V1R 遺伝 子が消滅している(図 3.3C)。また、OR 遺伝子の解析ではジャコウジカは 852 個の OR 遺伝子を持 つが(表 3.3C)、これはウシ科(1060 個)やシカ科(1201 個)と比較すると、嗅覚が特異的に発達してい るとは言えない。そのため、ジャコウジカの麝香腺の発達によって、芳香物質が多様化しているの ではなく特定芳香物質の検出感度が上昇したり等、受容体とは異なる部分で進化をしているのかも しれない。また、現在発表されているジャコウジカのゲノムは荒く、truncated とされる V1R 遺伝 子が 109 個、OR 遺伝子の方が 804 個と大量の truncated な遺伝子が見られる。将来的にゲノムの 質がよくなればこれらのジャコウジカから V1R 遺伝子や OR 遺伝子の有意な増加が発見できるかも しれない。

ジャコウジカと同様の匂いを分泌する組織を発達させた鯨偶蹄目としてはブタ科とペッカリー科 が挙げられる。ブタ科とペッカリー科はそれぞれ姉妹群の近縁であり、どちらの肛門の周りに臭腺 を発達させている。臭腺から分泌する匂いは個体を識別するのに用いると言われており、動物が互 いの肛門を嗅ぐ仕草をするのはよく知られていることであろう。また、ブタは実際にフェロモンが 特定され化学合成したものが市販されている種でもある(第一章)。そのため、鋤鼻器を用いたコミュ ニケーションも発達していると考えれるが、ブタ科もペッカリー科も V1R 遺伝子が 17 個と 16 個と 鋤鼻器を保持する鯨偶蹄目の中ではもっとも少ない(図 3.1C)。V1R 遺伝子の増減予測ではブタ科と ペッカリー科の共通祖先へと分岐した段階で 35 個から 16 個へと大きく減少している(図 3.3C、表 3.2C)。一方でブタ科では OR 遺伝子が 1434 個に増加しており、これは鯨偶蹄目の中でもっとも多

い(表 3.3C)。ペッカリー科の OR 遺伝子は intact なもので 784 個であったが、truncated なものが 775 個あるため、ゲノムアッセンブリーがきれいなものになればブタ科と同等の OR 遺伝子の数に なる可能性が高い。このようにブタ科(もしくはペッカリー科もかもしれない)は主嗅覚がもっとも 発達しているが、V1R 遺伝子が減少していることから、主嗅覚と鋤鼻器の間で何かしらのトレード オフがあるのかもしれない。

3.3.4 食肉目における V1R 遺伝子レパートリーの変化

食肉目では 2.3.2 小節においてカワウソ亜科とアザラシ科の半水棲動物 2 種の鋤鼻器退化を示唆 した。アザラシ科とその近縁であるアシカ科とセイウチ科を加えた鰭脚類は足をヒレ状に進化させ て海中での遊泳に適応した動物である。しかしアザラシ科で鋤鼻器マーカー遺伝子の偽遺伝子化が 見られる一方で、アシカ科とセイウチ科は鋤鼻器マーカー遺伝子の偽遺伝子化が見られなかった。 それに対して、カワウソ亜科は鰭脚類と比較すると四肢がしっかりしていて水棲適応度合いは低い が、鋤鼻器マーカー遺伝子は偽遺伝子化していた。そのため、前小節ではクジラの完全水棲適応に よる鋤鼻器の退化と同時に V1R 遺伝子がほぼすべて失われたことを示したが、食肉目の半水棲動物 の適応進化にはそれぞれの分類群での戦略に違いがあることが伺える。

カワウソ亜科(図 3.1D 中: Sea otter)の V1R 遺伝子レパートリーはカワウソとラッコのいずれも7 個である。カワウソ亜科はイタチ科の動物が水棲適応した種であるが、他のイタチ科が7-12 個の V1R 遺伝子を持つことを考えると(表 3.1D)水棲適応によって明確に V1R 遺伝子が減少していると は言えない。むしろイタチ科が含まれるイヌ亜目は全体的に V1R 遺伝子が減少傾向であり、カワウ ソ亜科を含むイタチ科の少ない V1R遺伝子の数はこうした祖先から続いている減少傾向に影響され ているように思える(図 3.3D 上半分)。しかし OR 遺伝子を見ると、イタチ科(Ferret)とその近縁の レッサーパンダ科(Lesser panda)やスカンク科(Western spotted skunk)では 809-867 個程度の OR 遺 伝子を持つのに対してカワウソ亜科では 500 個に減少していることから、水棲適応の影響は V1R 遺 伝子よりもむしろ OR 遺伝子で強く現れている(表 3.3D)。水棲適応における OR 遺伝子への影響と カワウソ亜科では鋤鼻器が退化しているという前提に立てば、おそらく V1R 遺伝子は退化の途中に あると考えられる。しかし、そもそもカワウソ亜科の陸棲祖先の時点で V1R 遺伝子が少なくなって いた可能性とカワウソ亜科が分岐からあまり時間が経過していない(6.6-15.4Mya; Beichman et al. 2019)ことを考えると減少数としては明確に表れていないのかもしれない。

アザラシ科では解析に用いた 4 種のうち Northern elephant seal では V1R 遺伝子が 0 個で消滅し ており、他の 3 種でも 1-2 個であることから、アザラシ科すべてで V1R 遺伝子は消滅の途中にある と考えられる(表 3.1D 中 Phicidae)。これに対して、アシカ科 4 種(Otariidae)では 3-12 個、セイウ チ科(Odobenidae)1 種では 6 個であることからアシカ科とセイウチ科でも V1R 遺伝子が減少してい るがアザラシ科とは減少の度合いが異なる。鰭脚類の共通祖先の枝では V1R 遺伝子が 18 個から 10 個に減少しており、このときの減少速度定数は約 0.59 である(図 3.3D、表 3.2D)。これは他の食肉 目の枝と比べて有意な値であることから、鰭脚類共通祖先時点での水棲適応と V1R 遺伝子減少の強 い相関を示す。同様に OR 遺伝子においてもアザラシ科で 296 個なのに対して、アシカ科とセイウ チでも 367 個と 404 個と V1R 同様に水棲適応によって大きく減少している(表 3.3D)。一方で、ア ザラシ科の枝の V1R 減少速度定数が 0.053 で有意な値なのに対して、アシカ科とセイウチ科では減 少速度定数が 0.015 と他の食肉目と同程度の値になっていることからも、アシカ科とセイウチ科で V1R の減少速度が減速していることを支持する。アザラシ科で鋤鼻器が退化しており、アシカ科と セイウチ科で鋤鼻器が維持されていることを考えると、アシカ科とセイウチ科で残っている V1R 遺 伝子は生存戦略に必要最低限な機能を持つ V1R 遺伝子であることが考えられる。

第2.3.3 節における陸棲哺乳類の遺伝子マーカーの研究から、食肉目ではフォッサの鋤鼻器退化を 示した。生態の観点からフォッサはおよそ鋤鼻器の退化と結びつくような生態は見つからないのだ が、鋤鼻器の退化は V1R 遺伝子の観点からも支持された。フォッサの V1R 遺伝子レパートリーは 5 個であり(図 3.1D)、近縁種であるマングース科(Banded mangoose)との共通祖先から 13 個の減少 しておりフォッサ分岐後では新規に V1R 増加していない(図 3.3D)。このときの減少速度定数は 0.052 でありこれは他の食肉目と比較して有意に大きな値である。これに対してフォッサの OR 遺 伝子は 752 個であり(表 3.3D)これは近縁種であるマングース科の 1088 個やハイエナ科の 778 個と 比較すると少なくとも大きな減少は起きていない。そのため、フォッサの嗅覚系の退化は、フェロ モン知覚のみに見られる現象であり、水棲哺乳類や霊長目に見られるような主嗅覚系の退化を伴わ ない。これは既知の鋤鼻器が退化した種のどれとも状況が異なる。フォッサを含むマダガスカルマ ングース科は希少動物であり解剖学的な研究や生態の研究が少ないためさらなる研究が期待される。

食肉目は大きくイヌ亜目とネコ亜目の2つに分かれる(図 3.3D 中イヌ亜目は Ferret から Dog で ネコ亜目は Banded mangoose から Cat)。カワウソ亜科の議論で一度触れたことだが、食肉目の V1R 遺伝子のレパートリー全体を見渡したときに、ネコ亜目とイヌ亜目ではイヌ亜目のほうが明らかに V1R 遺伝子が少ないことがわかる。実際に V1R 遺伝子の減少速度を見ても、イヌ亜目の共通祖先で V1R 遺伝子が有意に減少している(図 3.3D)。さらに、イヌ亜目のどの枝を見てもほとんど V1R 遺 伝子の増加が起きておらず、イヌ亜目全体で単調に減少していることがわかる。この現象に対して、 以前はイヌ亜目の長く伸びた鼻腔とネコ亜目の短く平たい鼻腔から、主嗅覚系の拡張と鋤鼻器の縮 小のトレードオフ関係が提唱されていたが、現在はイヌ亜目でもネコ亜目でも同様な OR 遺伝子数 を持っていることから否定されている(Montague et al. 2014 および表 3.3D)。そのためイヌ亜目で の V1R 遺伝子減少を説明できる定説はない。

イヌ亜目の中では唯一クマ科(Brown bear)が V1R 遺伝子を大きく増加させており、増減数で見る とクマ科への分岐で 20 個から+17 個-10 個の増減が推定される(図 3.3D)。つまりクマ科は 27 個(パ ンダを除いて 23-27 個)のレパートリーのうち半分以上がクマ科特有の V1R 遺伝子であり、この増 加は有意である。ジャイアントパンダのみが 10 個と V1R 遺伝子が他のクマ科と比べてかなり少な い(表 3.1D)。ジャイアントパンダの増減数推定の結果、ジャイアントパンダでは V1R 遺伝子が減少 したのではなく増えなかったことが推定される(data not shown)。そのため、V1R 遺伝子の大きな増 加はクマ科の中でも Ursus 属特有のものである。Ursus 属では鋤鼻器の形がわん曲しており独特に 発達しているため(Tomiyasu et al. 2017)、この V1R 遺伝子の増加はこの観察に合致する。また、OR 遺伝子探索の結果、クマ科では 989 個に増加しており(表 3.3D)同じイヌ亜目内のイヌ科の 790 個や スカンク科の 867 個と比べても 100 個以上多い。そのため、クマ科ではジャイアントパンダを除い て全体的に主嗅覚系が独自に発達していると考えられる。同様の種特異的な V1R 遺伝子と OR 遺伝 子の増加として、ネコ亜目のマングース科でも観測された。マングース科での V1R 遺伝子の増加も

他と比較して有意であり、また OR 遺伝子も近縁と比較して 300 個ほど増加している。マングース 科における詳細な鋤鼻器の知見は見当たらなかったため、今後の解剖学的な研究が期待される。

第3.3.3 小節のジャコウジカの項目で触れたように、哺乳類ではいくつかの種で麝香腺と呼ばれる 分泌腺を収斂的に獲得している。食肉目ではジャコウネコ科(図3.3D中: Asian palm civet)がこれに 該当する。ジャコウネコは性器周辺に麝香腺を持ち、ジャコウジカ同様に性誘引フェロモンである と考えられるが生態については詳しくわかっていない。ジャコウネコの V1R 遺伝子は 29 個である がこれは近縁のネコ科と比べても同程度で、ジャコウネコ科への分岐で大規模な遺伝子重複も観察 されなかった。その代わりジャコウネコの OR 遺伝子は近縁種と比較して発達しており、ネコ科の 766 個やハイエナ科の 778 個に対して 1015 個である(表 3.3D)。そのため、鯨偶蹄目のブタ科とペ ッカリー科の臭腺の発達と同様に麝香腺の発達は V1R 遺伝子ではなく OR 遺伝子に相関している。

3.3.5 翼手目と真無盲腸目における V1R 遺伝子レパートリーの変化

翼手目ことコウモリは多くの科で鋤鼻器を失っており、鋤鼻器の保持が確認されている科はユビ ナガコウモリ科とヘラコウモリ科の2科しかいない(Bhatnagar and Meisami 1998; Yohe et al. 2017)。 第2.3.4 小節の鋤鼻器マーカー遺伝子における探索では、これら2つにブタバナコウモリ科を加え た3科が鋤鼻器を維持していると推定した。他の科では科内で鋤鼻器の進化に多様性がある場合が あり、例えば今回解析に用いたクチビルコウモリ科では Parnell's mustached bat が鋤鼻器を保持し ているとされる一方、同科の Antillean ghost-faced bat では鋤鼻器を失っているとされる(Yohe et al. 2017)。こうした翼手目の複雑な鋤鼻器退化の判定や過程を知るために、本小節の V1R 遺伝子の探 索は役に立つであろう。また、本小節では翼手目と同じくローラシア獣上目であり、ローラシア獣 上目で最も早くに分岐した(翼手目はその次に早い)真無盲腸目も扱う。

翼手目で鋤鼻器を失っている科の V1R 遺伝子レパートリーはすべて 0-3 個程度であり(図 3.1E、 表 3.1E)、鋤鼻器を失っていることに合致する。こうした科に残存している V1R 遺伝子はクジラ類 などのときと同様に消滅の過程にあると考えられる。ヒナコウモリ科(表 3.1E 中 Vespertilionidae)、 オヒキコウモリ科(Molossidae)、キクガシラコウモリ科(Rhinolophidae)の 3 科では V1R 遺伝子が完 全に消滅している。

鋤鼻器を保持していると推定される3科(ヘラコウモリ科、ユビナガコウモリ科、ブタバナコウモ リ科)では V1R 遺伝子の個数に多様性があるが、いずれの枝においても V1R 遺伝子の重複が見られ た(図 3.3E 中 Pale spear-nosed bat、Natal long-fingered bat、Hog-nosed bat)。第2.3.4 小節で鋤鼻 器を保持している可能性を提示したブタバナコウモリ科での V1R 遺伝子の重複は鋤鼻器マーカー遺 伝子の結果を支持する。V1R 遺伝子がもっとも多いヘラコウモリ科(Phyllostomidae)では同科内で も 8-24 個と多様性がある(表 3.1E)。ヘラコウモリ科は競合相手の少ない新大陸(南米)に渡って爆発 的に適応拡散した科であり、例えば食性は一般的なココウモリの食性である虫食に加えて果実食や 吸血食と多様である。ヘラコウモリ科は科内でも鋤鼻器を保持する種としない種が混在するが、鋤 鼻器を保持しない種は今回の解析に含まれていないので今後鋤鼻器を保持しないヘラコウモリを解 析することでコウモリにおける鋤鼻器退化の謎に迫れるかもしれない。こうした V1R 遺伝子の多様 性はこのようなヘラコウモリ科の多様性を直接反映していると考えられる。 同科内で鋤鼻器保持に多様性があるクチビルコウモリ科では、鋤鼻器を保持するとされる Parnell's mustached bat でも V1R 遺伝子の重複は見られず(図 3.3E)、そのレパートリーも 4 個と少 ないため、V1R 遺伝子重複の観点からは機能的な鋤鼻器保持が疑わしい。

真無盲腸目は哺乳類の中でも齧歯目と翼手目に次いで多様な分類群である。その形態はネズミに 類似するが進化的な起源はまったく異なる。その種の多様性に反して、全ゲノム情報は現在10種程 度しか解かれていないので今後の研究が期待される。今回取り扱うのは真無盲腸目のうちソレノド ン科、ハリネズミ科、トガリネズミ科、モグラ科の4つであるが、いずれも大きく異なる形態とV1R 遺伝子レパートリーを持つ。

形態として最もネズミに似るトガリネズミ科(図 3.3E 中: European shrew)では 53 個の V1R 遺伝 子を持つがそのうち 44 個が種特異的であり、他の真無盲腸目と同じ V1R 遺伝子をほとんど共有し ていない。また、これはハリネズミ科でも同様で、ハリネズミ科(Western European hedgehog)の場 合は V1R 遺伝子 60 個のうち 50 個が種特異的である。こうした V1R 遺伝子の種特異性は科での種 分化に V1R 遺伝子レパートリーが大きく貢献することを示す。この 2 科に対して、ソレノドン科 (Hispaniolan solenodon)では V1R 遺伝子が大きく減少しており、そのレパートリーは 4 個に留まる。 トガリネズミ科とハリネズミ科のような大きな種特異性に対して、ソレノドン科での重複は 1 つの みであることから、鋤鼻器には最低限の機能しか残っていないことが示唆される。ソレノドン科の 鋤鼻器に関しては記述がないものの、ソレノドンの鼻器は前面に大きく突出しておりこの長い鼻器 で獲物の探索や土を掘り返す。そのためいかにも嗅覚が発達していそうであるが、ソレノドンの OR 遺伝子も 763 個でありトガリネズミの 1129 個やハリネズミの 1001 個と比較すると多くはない(表 3.3E)。こうしたソレノドンの形態と嗅覚系遺伝子のギャップは魅力的な研究対象であるが、ソレノ ドンはカリブ地域の希少動物であるため鼻器の詳細な解剖調査は難しそうだ。

モグラ科は地中棲適応した哺乳類の中でも最も有名であろう。3.3.2 節で触れた齧歯目の地中棲適 応種と同様、モグラ科では視覚が退化している代わりに触覚などの他の感覚系が発達している。V1R 遺伝子の側面から見るとモグラ科の V1R 遺伝子は 8-14 個であり(表 3.1E)、およそ発達していると は言えない。ただトガリネズミ科やハリネズミ科ほどではないが、モグラ科の V1R 遺伝子は 14 個 のうち 7 個が種特異的であるため(図 3.3E)、鋤鼻器の機能としては保持されていると考えられる。 モグラ科の OR 遺伝子については 662 個であり 真無盲腸目の中では最も少ないが(表 3.3E)、水棲適 応種などの嗅覚が明らかに退化した哺乳類と比較すると少なくない。そのため議論は難しいが、も しかしたら触覚や聴覚の進化によって嗅覚系全体の重要性の低下が起きているのかもしれない。

ジャコウジカやジャコウネコと同様、真無盲腸目トガリネズミ科にはジャコウネズミと呼ばれる 麝香腺を獲得した種が存在する。今回用いた Asian musk shrew と Indochinese shrew の 2 種(2 属) がこれに当たるが(表 3.1E)、この 2 属は単系統でありトガリネズミ科の中では最も早くに分岐した。 ジャコウジカやジャコウネコのときは V1R 遺伝子の増加が見られなかったことから、これらの種の 麝香の受容体は OR 遺伝子にあると考えたが、ジャコウネズミ 2 属の持つ V1R 遺伝子は 108 個と 104 個でありどちらもトガリネズミと比べて倍加している(表 3.1E)。また、OR 遺伝子で比較しても ジャコウネズミ 2 属の持つ OR 遺伝子はそれぞれ 1227 個と 996 個である(表 3.3E)。トガリネズミ の OR 遺伝子が 1129 個であることを考えるとおおよそジャコウネズミでは OR 遺伝子が微増して おり、これが麝香の発達とどこまで相関するかはわからない。そのため、少なくとも麝香腺と V1R

遺伝子の重複には相関が見られることはジャコウジカやジャコウネコの麝香腺とジャコウネズミの 麝香腺との潜在的な違いを示唆するだろう。

3.3.6 異節上目・アフリカ獣上目・有袋類・単孔目の V1R 遺伝子レパートリーの変化

これまでの小節で述べてきた分類群はすべて北方真獣類と呼ばれる有胎盤類の中でも特に多様化 した分類群である。この他にも有胎盤類にはアフリカ大陸で多様化したアフリカ獣上目、南米大陸 で多様化した異節上目がある。また、現世哺乳類の主流である有胎盤類とは異なり、胎盤ではなく 育児嚢で子育てをする有袋類や卵生である単孔目も現存する。これらの分類群は北方真獣類よりは 現存する種数がかなり少ないものの、それぞれの種は特殊性が強く独自の進化を遂げている(特殊な もの以外は北方真獣類との生存競争に負けて絶滅したと言うほうが適切か)。

アフリカ獣上目はアフリカで誕生し現在も主にアフリカに生息する分類群である。おもしろいこ とにアフリカ獣上目内ではほとんど形態の類似性がなくむしろそれぞれが北方真獣類に強く収斂し ている。そのため、形態を用いた系統分類では多くの誤りを招いた。現在も命名にその名残があり、 例えばハネジネズミはジネズミやトガリネズミの仲間ではないし、キンモグラはモグラの仲間では ない。アフリカ獣上目の単系統性が示されたのは DNA を用いた系統分類が確立してからである。 嗅覚系の研究としてはゾウ目が長い鼻に相関して哺乳類でも最も多い 2000 個程度の OR 遺伝子を 持つことで有名である(Niimura and Nei 2007)。しかしゾウの嗅覚系の発達には鋤鼻器の発達は伴っ ていない(表 3.3F)。今回の探索の結果、ゾウは 35 個の V1R 遺伝子を保有しており、これは近縁の イワダヌキ(Hyrax)と同程度である。アフリカ獣上目でもっとも多くの V1R 遺伝子を保持している のはハネジネズミ(Cape elephant shrew)の 67 個であり、このうち 50 個がハネジネズミ特有である (図 3.3F)。齧歯目やトガリネズミ科でも多くの V1R 遺伝子が種特異的で増えていたように、これら に形態が収斂しているハネジネズミでは V1R 遺伝子の増加やその依存性も収斂しているようだ。

アフリカ獣上目において鋤鼻器退化が観察されているのは海牛目のみである。海牛目はジュゴン やマナティという完全水棲に適応した分類群なのでクジラ亜目と同様に鋤鼻器が退化している。ま た、2.3.1 小節でも確かめたように、鋤鼻器の遺伝子マーカーも偽遺伝子化している。そのため、V1R 遺伝子もクジラ亜目同様にほとんど消滅しているものと考えられる。しかし今回の結果ではマナテ ィの V1R 遺伝子は機能していることが示唆された。マナティの V1R 遺伝子は 9 個で、これはアフ リカ獣上目の中でも最も少ないが、水棲哺乳類全体で比較すると最も多い。海牛目の水棲適応はク ジラ亜目と同様に 5000 万年前と推定されるので、これほどの数の機能を持たない遺伝子がまだ偽遺 伝子化していないとは考えにくい。また、V1R 遺伝子の増減推定では海牛目祖先の水棲適応と同時 に多くの V1R 遺伝子が消滅したと推定されるが、同時にマナティの分岐後でも特異的な遺伝子重複 が起きていることが確認された(図 3.3F 中 Manatee)。そのため、他の水棲哺乳類と違ってマナティ の V1R 遺伝子は機能を持つと考えられる。マナティの鋤鼻器は退化しており、また鋤鼻器の遺伝子 マーカーも鋤鼻神経細胞で中心的な役割を果たすので、鋤鼻神経細胞が残存しているとは考えづら い。肉食で嗅覚が(ほぼ)退化したクジラ亜目とは異なり、海牛目は草食性で嗅覚を用いて捕食をす る。これに加えてマナティの OR 遺伝子の探索では 478 個と水棲哺乳類としては大きな数を確認し た(表 3.3F)。そのため、マナティの V1R 遺伝子は主嗅覚系の発達とともにその一部に組み込まれて いるかもしれない。

アフリカ獣上目でも北方真獣類のモグラや齧歯目の一部と同様に、地中棲適応した種が存在する。 アフリカトガリネズミ目キンモグラ科がこれに当たり、モグラ科などと収斂して目が退化している。 キンモグラ(Cape golden mole)の V1R 遺伝子レパートリーは 18 個であり、北方真獣類の地中棲適 応種と同様に少なく、またアフリカ獣上目の中ではマナティの次に少ない(図 3.1F)。遺伝子重複に よってキンモグラで特異的なレパートリーが 6 個見られることから、鋤鼻器への依存度は低いが機 能的であると考えられる(図 3.3F)。キンモグラの保有する OR 遺伝子は 1101 個であるがこれは近 縁であるテンレックの 1152 個やハネジネズミの 941 個と比較して同程度である(表 3.3F)。そのた め、キンモグラの地中棲適応において嗅覚系ではフェロモン受容の重要性のみが低下して主嗅覚系 の重要性は特に変化はないと考えられる。

有袋類と単孔目はどちらも主にオーストラリア大陸と南米大陸にのみ生息する分類群である。こ れらはオーストラリア大陸や南米大陸の分裂によりユーラシア大陸などから隔絶された結果、有胎 盤類との生存競争から生き残った種として知られる。こうした分類群は哺乳類の古い形態を維持し ており独自に適応拡散している。V1R 遺伝子の側面から見ると、有袋類も単孔目も多くのV1R 遺伝 子を維持しておりフェロモンによるコミュニケーションが活発であることが伺える(図 3.1F)。単孔 目のカモノハシは 256 個の V1R 遺伝子を持ちこれは哺乳類の中でも最大である。これらの V1R 遺 伝子はほとんど有胎盤類とは単系統のものがなく、カモノハシ特異的である(data not shown)。ま た、カモノハシと有胎盤類の共通して持つごく少数の V1R 遺伝子から有胎盤類の用いる V1R 遺伝 子の系統が爆発的に広がったことが示唆される。単孔目のゲノムは現在カモノハシしか公開されて いないが、ハリモグラのゲノムが直近で読まれているため、ハリモグラの V1R 遺伝子とも比較解析 することで有胎盤類の V1R 遺伝子の起源がより鮮明になるだろう。有袋類は V1R 遺伝子が最少の もので 41 個のコアラ、最大のものでオポッサムの 94 個まで分布しており V1R 遺伝子の増減も多い (図 3.3F)。こうした有袋類での V1R 遺伝子の増減は有袋類全体での活発なフェロモン活動を示唆し ており、有胎盤類ほどの鋤鼻器への依存性に多様性が無いと考えられる。

3.4 結論

この章では、現在公開されているすべての哺乳類ゲノムに対して V1R 遺伝子の網羅的な探索と系 統解析、系統関係を元にしたレパートリーの増減推定を行うことで、哺乳類の多様化による V1R 遺 伝子レパートリーの遷移やフェロモン知覚への依存性が多様化する過程を明らかにした。

鋤鼻器が退化している海牛目、クジラ亜目、霊長目狭鼻猿類、翼手目の大部分では近縁の鋤鼻器 が機能している種と比較して V1R 遺伝子の数が少ない。また、V1R 遺伝子のレパートリーの遷移を 推定すると、翼手目以外は鋤鼻器が退化した時点で V1R 遺伝子レパートリーが大きく減少していた。 これに対して翼手目では目の成立後にそれぞれの枝で独立に V1R 遺伝子が減少していた。これらの V1R 遺伝子の大きな減少はそれぞれの水棲適応、3 色覚獲得、飛行能力獲得などの適応進化に強く 相関している。この結果は既知の知見を遺伝子の増減解析の観点からも確認したとともに、V1R 遺 伝子の増減で十分適応進化に対する V1R 遺伝子レパートリーの影響を明らかにすることができるこ とを示す。 また、二章の結果から新たに鋤鼻器退化が示唆されたヨザル科、フォッサ科、ハーテビースト亜 科の3つの分類群について V1R 遺伝子から検討したところ、フォッサとハーテビーストでは V1R 遺伝子全体の退化の兆候が確認されたが、ヨザルとハーテビースト亜科の他の種では V1R 遺伝子の 重複などが確認されたことから V1R 遺伝子が機能していると考えられる。これらの種では二章で用 いた遺伝子マーカーの再検討や解剖学的な検討が必要である。

こうした鋤鼻器退化と V1R 遺伝子減少の相関関係に加え、本章では鋤鼻器を保持する種において も V1R 遺伝子進化がの多様性を明らかにした。例えば、霊長目では夜行性適応と昼行性適応による V1R 遺伝子レパートリーの大きな差、齧歯目では Mus 属の中でもマウス(*Mus musculus*)のみに見ら れる種特異的な V1R 遺伝子重複、鯨偶蹄目ではシカ科、ウシ科内での V1R レパートリーの多様性 やブタとペッカリーでの主嗅覚の発達とフェロモン知覚のトレードオフ、食肉目ではイヌ亜目とネ コ亜目での V1R 遺伝子レパートリーの大きな違いやクマ科とマングース科での種特異的な V1R 遺 伝子と OR 遺伝子の拡張、真無盲腸目ではソレノドンの鼻器の発達に反する嗅覚系遺伝子の減少な どが挙げられる。こうした鋤鼻器を保持する種における V1R 遺伝子レパートリーの多様性は、それ ぞれの種の適応進化によるフェロモン知覚に対する依存性の変化の結果だと考えられる。また、シ カ科やウシ科などの科内部での多様性はこうした分類群の進化には種分化の原因としてフェロモン 知覚が大きく関わっていることを示唆する。









図 3.1 各分類群における V1R 遺伝子のレパートリー。(A) 霊長目+皮翼目、(B) 齧歯目+ウサギ目+ ツパイ目、(C) 鯨偶蹄目+奇蹄目、(D) 食肉目+有鱗目、(E) 翼手目+真無盲腸目、(F) 単孔目+有袋類+ アフリカ獣上目+異節目の V1R 遺伝子のコピー数を図示した。縦軸は V1R 遺伝子のコピー数を示し ている。各点の色は凡例に従い第二章で探索した ancV1R 遺伝子が壊れている種とそうでない種と で色分けした。各グループで左からコピー数が少ない順に並べたところ、ancV1R 遺伝子が壊れてい る種はほとんどが集団内で最も少ない V1R 遺伝子レパートリーを持つことがわかる。



図 3.2 哺乳類の各グループにおける V1R 遺伝子の増減速度定数。それぞれのグループ(A-E グルー プまで)の系統樹の各枝における V1R 遺伝子の増減速度定数(赤の箱は増加速度定数、青の箱は減少 速度定数)をそれぞれ箱ひげ図でプロットした。各点はそれぞれの実際の速度定数の値を示している。 今回の解析では各箱ひげ図のそれぞれの第一四分位点を $Q_{1/4}$ 、第三四分位点を $Q_{3/4}$ とし IQR を $Q_{3/4}$ $Q_{1/4}$ としたときに、区間[$Q_{1/4}$ - 1.5IQR, $Q_{3/4}$ - 1.5IQR]より外の値を外れ値として定義している。こ の外れ値は他の枝と比較して V1R 遺伝子が有意に増減している枝として図 3.3 で図示した。












図 3.3 哺乳類の V1R 遺伝子レパートリーの変化。(A) 霊長目と皮翼目(B) 齧歯目とウサギ目(C) 鯨偶 蹄目と奇蹄目(D) 食肉目と有鱗目(E) 翼手目と真無盲腸目(F)アフリカ獣上目、異節上目、有袋類、単 孔目における V1R 遺伝子のレパートリーと系統樹の各ノードにおける増減数の推定結果。黄色は鋤 鼻器が退化した枝や ancV1R が偽遺伝子化した枝を示す。赤色は図 3.2 にて V1R 遺伝子が有意に増 加していると判定された枝、青色は V1R 遺伝子が有意に減少していると判定された枝を示す。(F) グループは A-E に含まれないその他のグループでありそれぞれの種の系統的な距離の差が大きいた め有意性については求めていない。



図 3.4 V1R 遺伝子の増減推定に用いた樹形とノード名。ノードごとの V1R 遺伝子コピー数の推定と 増減速度を求めるために便宜上各ノードに名前をつけている。この名前は表 3.2 で使用している。

表 3.1 解析した全種と V1R 遺伝子レパートリーの一覧表(分類群 A-F のグループごと) (A)

family	Latin name	common name	assembly name	scaffold N50	intact	t truncated	l pseudogene
Hominidae	Pan paniscus	Bonobo	panpan1.1	8,197,324	3	2	89
	Pan troglodytes troglodytes	Chimpanzee	Pan tro 3.0	26,972,556	5	0	147
	Homo sapiens	Human	GRCh38.p7	67,794,873	4	0	139
	Gorilla gorilla gorilla	Western Lowland gorilla	gorGor4	81,227,029	4	6	141
	Pongo abelii	Orangutan	Susie PABv2	98,475,126	6	1	117
Hylobatidae	Nomascus leucogenys	Gibbon	Nleu 3.0	52,956,880	2	1	81
Cercopithecidae	Macaca mulatta	Macaque	Mmul 8.0.1	4,193,270	0	1	67
*	Macaca fuscata	Japanese macaque	macFus 1.0	94,905	0	1	60
	Macaca fascicularis	Crab-eating macaque	M fascicularis 5.0	88,649,475	0	0	64
	Macaca nemestrina	Southern pig-tailed macaque	Mnem 1.0	15,219,753	0	3	67
	Theropithecus gelada	Gleda	Tgel 1.0	130,230,028	0	1	69
	Papio anubis	Olive Baboon	Panu 3.0	585,721	1	5	70
	Mandrillus sphinx	Mandrill	BGI mandrill 1.0	3,577,924	0	7	64
	Mandrillus leucophaeus	Drill	Mleu.le 1.0	3,186,748	0	4	65
	Cercocebus atys	Sooty mangabey	Caty 1.0	12,849,131	0	4	61
	Ervthrocebus patas	Red guenon	EryPat v1 BIUU	34,535	1	18	88
	Chlorocebus sabaeus	Vervet monkey	ChlSab1.1	81,825,804	1	0	71
	Cercopithecus neglectus	De Brazza's monkey	CertNeg v1 BIUU	10,270	2	18	75
	Piliocolobus tephrosceles	Ugandan red colobus	ASM277652v2	10,172,280	3	1	82
	Colobus angolensis	Angola colobus	Cang.pa 1.0	7.840.981	0	1	47
	Semnopithecus entellus	Hanuman langur	SemEnt v1 BIUU	29,955	1	11	71
	Rhinopithecus roxellana	Golden snub-nosed monkey	Rrox v1	1,549,224	1	2	70
	Rhinopithecus bieti	Black snub-nosed monkey	ASM169854v1	2,225,337	1	6	73
	Nasalis larvatus	Long-nosed monkey	Charlie1.0	137,426,304	0	7	46
	Pvgathrix nemaeus	Red shanked douc langur	PvgNem v1 BIUU	68,569	1	2	85
Callitrichidae	Saguinus imperator	Tamarin	SagImp v1 BIUU	65,636	8	50	179
	Callithrix jacchus	Marmoset	ASM275486v1	129,239,660	9	2	59
Aotidae	Aotus nancymaae	Owl monkey	Anan 2.0	8,268,663	12	0	59
Cebidae	Saimiri boliviensis	Squirrel monkey	SaiBol1.0	18,744,880	16	1	44
	Cebus albifrons	White-fronted capuchin	CebAlb v1 BIUU	31,156	12	3	81
	Cebus capucinus	White-headed capuchin	Cebus imitator-1.0	5,274,112	12	1	68
Atelidae	Ateles geoffroyi	Black-handed spider monkey	AteGeo v1 BIUU	73,111	16	1	59
	Alouatta palliata	Mantled howler monkey	AloPal v1 BIUU	72,427	11	6	84
Pitheciidae	Pithecia pithecia	White-faced saki	PitPit v1 BIUU	83,104	16	9	79
	Plecturocebus donacophilus	Bolivian titi	CalDon v1 BIUU	46,445	9	10	84
Tarsiidae	Carlito syrichta	Tarsier	Tarsius syrichta-2.0.1	401,181	37	25	270
Cheirogaleidae	Microcebus murinus	Mouse lemur	Mmur 3.0	108,171,978	105	13	129
e	Mirza coquereli	Coquerel's mouse lemur	MizCoq v1 BIUU	79,947	87	75	108
	Cheirogaleus medius	Lesser dwarf lemur	CheMed v1 BIUU	118,572	95	114	135
Indriidae	Propithecus coquereli	Coquerel's sifaka	Pcoq 1.0	5,604,909	29	11	77
	Indri indri	Indri	IndInd v1 BIUU	28,620	29	89	310
Lemuridae	Eulemur flavifrons	Blue-eyed black lemur	Eflavifronsk33QCA	413,352	23	14	81
	Eulemur fulvus	Brown lemur	EulFul v1 BIUU	22,561	30	72	411
	Eulemur macaco	Black lemur	Emacaco refEf BWA oneround	405,987	25	11	91
	Prolemur simus	Greater bamboo lemur	Prosim 1.0	2,710,671	24	25	176
	Lemur catta	Ring-tailed lemur	LemCat_v1_BIUU	215,715	28	9	130
Daubentoniidae	Daubentonia madagascariensis	Aye-aye	DauMad v1 BIUU	379,919	47	23	193
Lorisidae	Nycticebus coucang	Slow loris	NycCou v1 BIUU	19,724	74	185	292
Galagidae	Otolemur garnettii	Bushbaby	OtoGar3	13,852,661	63	9	59
	-						
(Dermoptera)	Galeopterus variegatus	Sunda flying lemur	G_variegatus-3.0.2	245,189	48	39	119

(B)

family	Latin name	common name	assembly name	scaffold N50	intact	truncate	d neeudogene
Muridae	Mus caroli	Ryukyu mouse	CAROLI FIL v1 1	122 627 250	103	10	a pseudogene
Wundae	Mus musculus	Mouse	GRCm38 n6	54 517 951	222	3	143
	Mus nahari	Gairdner's shrewmouse	PAHARI EII v1 1	111 406 228	110	8	89
	Mus spicilagus	Steppe mouse	MUSP714	2 108 966	122	21	140
	Mus spicitegus	Algorian mouse	SDDET EI v1	121 045 406	100	57	140
	Anodamus sylvaticus	Long-tailed field mouse	ASM130590v1	245 082	09	241	76
	Apodemus sylvancus	Lorge Japanese field mouse	Aspa assambly01	40.021	65	241	20
	Rattus norvagicus	Rat	Rpor_6.0	14 986 627	107	59	82
	Cummonia and actor	A fairson was diand this last not	NULL TR 1.0	8 004 007	107	12	129
	Grammomys suradster	Airican woodland thicket rat	NIH_IK_I.0	8,094,907	150	12	119
	Meriones unguiculatus	Fot cond not	ASM221502v1	3/4,08/ 76 208(contion)	92	37	106
	r sammomys obesus	Fat sand rat	ASM221393V1	70,598(coning)	114	22	98
Chinefile	Acomys cahirinus	Egyptian spiny mouse	AcoCah VI BIUU	65,411	1(2	28	62
Cricetidae	Sigmoaon nispiaus	Hispid cotton rat	Sighis_VI_BIUU	101,373	102	1/4	227
	Onychomys torridus	Southern grasshopper mouse	OnyTor_v1_BIUU	20,878	104	376	445
	Peromyscus maniculatus bairdii	Deer mice	Pman_1.0	3,760,915	162	20	149
	Peromyscus polionotus subgriseus	Oldfield mouse	HU_Ppol_1.3	117,603,569	115	45	125
	Phodopus sungorus	Dzungarian hamster	Psun0.5	2,392(contig)	28	101	41
	Mesocricetus auratus	Golden hamster	MesAur1.0	12,753,307	54	26	81
	Cricetulus griseus	Chinese hamster	CriGri_1.0	1,147,233	92	57	96
	Myodes glareolus	Bank vole	ASM436859v1	1,590,265	94	7	95
	Microtus ochrogaster	Prairie vole	MicOch1.0	17,270,019	95	17	73
	Ellobius talpinus	Northern mole-vole	ETalpinus_0.1	15,246	20	25	61
	Ellobius lutescens	Transcaucasian mole vole	ASM168507v1	242,123	19	15	65
	Ondatra zibethicus	Muskrat	OndZib_v1_BIUU	89,093	41	63	71
Nesomyidae	Cricetomys gambianus	Gambian giant pouched rat	CriGam_v1_BIUU	110,049	60	44	59
Spalacidae	Rhizomys pruinosus	Hoary bamboo rat	RhiPru_v1_BIUU	2,627	33	168	289
	Nannospalax galili	Northern Israeli blind subterranean mole rat	S.galili_v1.0	3,618,479	22	2	80
Dipodidae	Jaculus jaculus	Lesser Egyptian jernboa	JacJac1.0	22,080,993	84	16	68
	Allactaga bullata	Gobi jerboa	AllBul_v1_BIUU	36,308	73	278	51
	Zapus hudsonius	Meadow jumping mouse	ZapHud_v1_BIUU	26,350	87	309	99
Heteromyidae	Dipodomys stephensi	Stephens's kangaroo rat	DipSte v1 BIUU	36,811	58	10	169
	Dipodomys ordii	Kangaroo Rat	Dord_2.0	11,931,245	67	6	131
Castoridae	Castor canadensis	North American beaver	C.can genome v1.0	317,708	17	4	143
Ctenomyidae	Ctenomys sociabilis	Social tuco-tuco	CteSoc v1 BIUU	49,073	86	6	83
Octodontidae	Octodon degus	Degu	OctDeg1.0	12,091,372	121	8	83
	Tympanoctomys barrerae	Golden vizcacha rat	Tym barrerae AO245 v1	4,698	74	117	104
	Octomys mimax	Viscacha rat	Oct mimax AO248 v1	4,874	92	105	92
Capromvidae	Capromys pilorides	Desmarest's hutia	CapPil v1 BIUU	4.081	86	126	109
Mvocastoridae	Myocastor covpus	Nutria	MyoCoy v1 BIUU	35,982	58	66	49
Chinchillidae	Chinchilla lanigera	Long-tailed chinchilla	ChiLan1.0	21,893,125	96	14	74
Dinomvidae	Dinomys branickii	Pacarana	DinBra v1 BIUU	77.918	83	125	149
Cuniculidae	Cuniculus paca	Lowland paca	CunPac v1 BIUU	3 892	61	335	157
Dasyproctidae	Dasyprocta punctata	Punctate agouti	DasPun v1 BIUU	43 703	106	152	78
Erethizontidae	Frethizon dorsatum	North American porcupine	GSC porc 1.0	16 680 019	61	21	93
Caviidae	Cavia porcellus	Guinea pig	cavPor3	27,942,054	85	4	165
Cuvindue	Cavia aperea	Brazilian guinea nig	CavAn1 0	27 928 671	30	98	75
	Cavia tashudii	Montono guinos nig		01 426	85	10	204
	Dolichotis patagonum	Patagonian cavy	DolPat v1 BILIU	31,430	171	230	204
	Hydroahoanus hydroahaanis	Capyhara	Hudhud vi BIIII	202 224	79	100	286
Bathvergidae	Fukomys damarensis	Damaraland mole-rat	DMR v10	5 314 287	33	4	46
Sampergidae	Heterocenhalus glaber	Naked mole-rat	HetGla female 1.0	20 532 749	20	1	46
Thruonomuidaa	Theorem service and the servic	Greater cane rat	ThrSwi v1 DUUI	21 523	40	14	70
Petromuridae	Patromus typicus	Dassie-rat	PetTyp v1 PILIU	35 766	+U 67	50	38
Hyetricideo	Hystrix cristata	Crested porcupine	HyeCri v1 PUU	64 768	20	10	56
Ctenodactulidae	Ctanodactulus andi	Northern gundi	CteGun v1 DIUU	354 549	60	14	45
Sainrida	Marmota marmota marmota	Marmot	marMar2 1	31 340 621	59	2	122
Sciuridae	Marmola marmola marmola	Wallion hall's harmont	CCC VDM 20	11 407 078	38	5	123
	Marmota flaviventris	renow-bellied marmot	USU_YBM_2.0	11,407,078	01	1/	181
	Marmota himalayana	Himaiayan marmot	ASM328016V1	1,497,034	49	3	110
	Orocitellus parryii	Arcuc ground squirrel	ASM342092V1 SpoTri2.0	3,964,291 8 102 784	40	25	112
	Sname and the day is the	Department and appriment	Spe1112.0	0,192,/80	/0	20	1//
	Spermophilus dauricus	Daurian ground squirrel	ASIN1240043V1	1,/01,345	61	51	173
	Xerus inauris	South African ground squirrel	XerIna vl BIUU	83,865	79	217	108
Aplodontiidae	Aplodontia rufa	Mountain beaver	AplRuf_v1_BIUU	37,811	25	115	63
Gliridae	Graphiurus murinus	Woodland dormouse	GraMur_v1_BIUU	28,463	116	64	115
	Glis glis	Fat dormouse	GliGli_v1_BIUU	30,338	60	15	109
	Muscardinus avellanarius	Hazel dormouse	MusAve_v1_BIUU	59,013	76	109	198
Leporidae	Oryctolagus cuniculus	Rabbit	OryCun2.0	35,972,871	141	10	172
	Lepus americanus	Snowshoe hare	LepAme_v1_BIUU	16,725	108	237	123
Ochotonidae	Ochotona princeps	Pika	OchPri3.0	26,863,993	62	21	47
		C11	TT 01:40	a (80 101			

(C)

family	Latin name	common name	assembly name	sccafold N50) intac	t truncate	d pseudogene
Bovidae	Tragelaphus imberbis	Lesser kudu	LEK	1,775,046	53	34	71
	Tragelaphus oryx	Eland	CME	1,262	12	177	62
	Tragelaphus strepsiceros	Greater kudu	GTK	511,483	50	68	110
	Tragelaphus scriptus	Bushbuck	BUB	890,554	52	14	59
	Tragelaphus spekii	Sitatunga	STG	46,427	29	136	85
	Tragelaphus buxtoni	Mountain nyala	MTN	7,367	9	210	70
	Iragelaphus eurycerus	Bongo A faisan huffala	ADE	12,5/4	15	151	50
	Buhalus hubalis	Water buffalo	LIOA WB 1	1 412 388	34	0	37
	Bison bison	American bison	Bison UMD1.0	7 192 658	28	47	51
	Bos taurus	Cow	ARS-UCD1.2	103.308.737	38	0	43
	Bos grunniens	Domestic vak	LU Bosgru v3.0	114,386,978	30	0	43
	Aepyceros melampus	Impala	IMP	344,542	7	0	53
	Neotragus moschatus	Suni	SUN	952,090	20	7	42
	Kobus ellipsiprymnus	Waterbuck	DFW	779,552	31	2	30
	Redunca redunca	Bohar reedbuck	BHR	423,407	27	5	33
	Oryx gazella	Gemsbok	UCDavis_Ogaz_1	1,579,191	25	5	36
	Connochaetes taurinus	Blue wildebeest	BWD	366,224	32	1	34
	Damaliscus lunatus	Topi	CTB	1,166,796	19	3	38
	Aiceidphus buseidphus	Hartebeest	HBI Baallum vi BUUU	12,034	2	1/	15
	Pantholops hodasonii	Chiro	PHOL0	2 772 860	28	1	40
	Hemitragus hylocrius	Nilgiri tahr	HemHyl v1 BIUU	85 340	28	8	35
	Ovis aries	Sheep	Oar v4.0	100,009,711	32	õ	38
	Ovis ammon	Argali	O ammon KGZ v1.0	72,289,505	22	2	24
	Ovis canadensis	Bighorn sheep	OviCan_v1_BIUU	69,397	28	9	33
	Ammotragus lervia	Barbary sheep	ALER1.0	1,301,762	31	3	33
	Capra hircus	Goat	ARS1	87,277,232	31	0	33
	Capra aegagrus	Wild goat	CapAeg_1.0	91,317,560	28	8	38
	Capra sibirica	Siberian ibex	ASM318261v2	15,190,720	31	5	35
	Pseudois nayaur	Bharal	ASM318257v1	21,385	28	3	39
	Neotragus pygmaeus	Royal antelope	KAL	363,895	24	9	39
	Dreotragus oreotragus	Kupspringer Maxwall's duiltar	NSP MYD	282 000	32 24	2	25
	1 muanomoa maxwellii Cenhalophus harvesi	waxwen's duiker	HVD	265 A66	20 20	9 1	23 23
	Sylvicapra grimmic	Bush duiker	CMD	583 330	20	6	29
	Syrvicapra grimmia Madoaua kirkii	Kirk's dik-dik	KDD	27.730	12	5	49
	Raphicerus camnestris	Steenbok	SNB	537,161	21	8	37
	Procapra przewalskii	Przewalski's gazelle	PLG	5,522,907	18	ŏ	26
	Ourebia ourebi	Oribi	ORB	1,259	9	64	40
	Saiga tatarica	Saiga	SaiTat v1 BIUU	6,453	22	22	43
	Nanger granti	Grant's gazelle	GTG	528,456	29	5	36
	Eudorcas thomsonii	Thomson's gazelle	TMG	1,581,717	27	2	36
	Litocranius walleri	Gerenuk	GRK	3,126,223	31	1	37
	Antidorcas marsupialis	Springbok	SGB	694,905	24	4	41
Cervidae	Elaphurus davidianus	Pere David's deer	Milu1.0	2,844,142	43	32	52
	Cervus elaphus hippelaphus	Red deer	CerEla1.0	107,358,006	19	12	51
	Axis porcinus	Hog deer	ASM379854v1	20,764,858	59	22	61
	Odocoileus virginianus	White-tailed deer	Ovir.te_1.0	850,721	29	1	33
	Odocoileus hemionus hemionus	Mule deer	UotA_Ohem_1.0	838,758	29	0	29
	Capreolus capreolus	Roe Deer	kmerb31	10,458	20	110	41
	Rangijer taranaus Hudropotas inarmis	Chinasa watar daar	NDU HINE 10	89,002	29	12	49
	Muntiacus crinifrons	Black muntiac	BMI	1 305 444	33	5	70
	Przewalskium albirostris	White-lipped deer	WLD	3 769 372	54	34	88
	Muntiacus reevesi	Reeves' muntiac	CIL	1 221 377	35	25	49
	Muntiacus muntjak	Muntjak	CMJ	1,258,210	41	16	45
Tragulidae	Tragulus javanicus	Java mouse-deer	ASM402496v2	14.082.842	19	40	29
0	Tragulus kanchil	Lesser mouse-deer	LMD	243,497	15	16	52
Moschidae	Moschus moschiferus	Siberian musk deer	MosMos v2 BIUU UCD	11,728,851	21	109	51
	Moschus berezovskii	Chinese forest musk deer	FMD	2,509,225	17	3	28
	Moschus chrysogaster	Alpine musk deer	NPU_MCHR_1.0	100,428	11	8	32
Giraffidae	Giraffa tippelskirchi	Giraffe	ASM165123v1	212,164	21	4	31
	Okapia johnstoni	Okapi	ASM166083v1	111,538	24	25	33
Antilocapridae	Antilocapra americana	Pronghorn	AntAmePen v2 BIUU UCD	18,845,065	27	91	70
Lipotidae	Lipotes vexillifer	Yangtze river dolphin	Lipotes_vexiliare_vi	2,419,148	2	1	48
Delphinidae	Inta geogrensis	Indo pacific humphacked dolphin		20,707	1	0	28
Deipinnidae	Sousa chinensis Tursions truncatus	Bottlenose dolphin	S_cninensis_ine_genome_map	9,008,030	2	1	31
	Tursiops in uncatus	Indo-pacific bottlenose dolphin	ASM222720v1	1 225 788	1	1	33
	Lagenorhynchus obliguidens	Pacific white-sided dolphin	ASM367639v1	28 371 583	2	1	38
	Orcinus orca	Killer whale	Oorc 1.1	12,735,091	1	0	26
Phocoenidae	Phocoena phocoena	Harbor porpoise	ASM307100v1	27,499,337	0	7	20
	Neophocaena asiaeorientalis	Yangtze finless porpoise	Neophocaena_asiaeorientalis_V1	6,341,296	1	0	39
Pontoporiidae	Pontoporia blainvillei	La Plata dolphin	PonBla_v1_BIUU	2,541	0	1	28
Platanistdae	Platanista minor	Indus river dolphin	PlaMin_v1_BIUU	23,933	2	0	35
Monodontidae	Delphinapterus leucas	Beluga	ASM228892v2	19,885,328	1	1	50
pl	Monodon monoceros	Narwhal	MonMon_v1_BIUU	88,921	2	0	49
rnyseteridae	r nyseter catodon	Sperm whate	ASM285/1/V2	122,182,240	1	2	39
Zinhiidaa	Kogla Dreviceps	r yginy sperm whale	MacDid v1 DILU	20,012	1	4	43
zipinidae	viesopiouon Diaens Zinhius coniverteis	Sowerby's beaked whate	ZinCay v1 BIUU	3 608	1	0 16	30
Balaenontaridaa	Megantera novaeanaliae	Humphack whale	megNov1	9 138 802	0	4	40
Salachopteridae	Balaenontera honaerensis	Southern minke whale	ASM97880v1	20.082	2	2	44
	Balaenoptera acutorostrata	Northern minke whale	BalAcu1.0	12,843.668	3	0	51
Eschrichtiidae	Eschrichtius robustus	Gray whale	EscRob v1 BIUU	94,414	2	0	53
Balaenidae	Balaena mysticetus	Bowhead whale	Bowhead_Whale genome resource v1.0	876,686	2	2	38
	Eubalaena japonica	North pacific right whale	EubJap_v1_BIUU	39,813	2	3	48
Hippopotamidae	Hippopotamus amphibius	Hippopotamus	HipAmp_v2_BIUU_UCD	4,444,377	32	3	72
Suidae	Sus scrofa	Pig	Sscrofal1.1	88,231,837	17	0	58
Tayassuidae	Catagonus wagneri	Chacoan peccary	CatWag_v1_BIUU	91,723	16	0	27
Camelidae	Vicugna pacos huacaya	Alpaca	VicPac3.1	24,022,313	20	4	27
	Camelus dromedarius	Arabian camel	Cdrom64K	1,482,444	27	2	31
	Camelus bactrianus	Bactrian camel	Ca_bactrianus_MBC_1.0	8,812,066	24	1	34
	Camelus ferus	wiid Bactrian camel	СВІ	2,005,940	28	U	30
Phinosen 1	Constathout	Month and wilder of the	CarCat vi DEUI	22.005	50	25	185
runocerotidae	Ceratotherium simum cottoni	Northern white rhinoceros	CarSimSim1.0	23,003 26,277 727	28 55	20	185
	Disavorhinus simum simum	Sumatran thinggaras	A SM284482v1	614 400	50	26	127
	Dicerorninus sumairensis	Black rhinoceros	DieBieMie v1 PUUI	115 504	54	20	215
Equidae	Eauus asinus	Donkey	ASM130575v1	3.776.412	36	1	66
1	Equus caballus	Horse	EquCab2	46,749.900	35	1	61
	Eauus przewalskii	Przewalski's wild horse	Burgud	513,800	33	2	60
Tapiridae	Tapirus indicus	Asiatic tapir	TapInd v1 BIUU	308,930	47	16	97
		· · · ·		10/ 204	50	~ 1	100

(D)

family	Latin name	common name	assembly name	scaffold N50	intac	t truncated	l pseudogene
Mustelidae	Gulo gulo	Wolverine	Gulo 2.2 annotated	178,272	7	6	48
	Enhydra lutris	Sea otter	ASM228890v2	38,751,465	7	1	54
	Pteronura brasiliensis	Giant otter	PteBra v1 BIUU	119.023	7	0	55
	Mustela putorius furo	Ferret	MusPutFur1.0	9.335.154	10	2	57
	Neovison vison	Mink	NNQGG.v01	6,814,223	10	3	47
	Taxidea taxus ieffersonii	American badger	ASM369799v1	54,556	12	2	46
	Mellivora capensis	Ratel	MelCap v1 BIUU	59,143	10	8	64
Ailuridae	Ailurus fulgens	Lesser panda	ASM200746v1	2,983,736	12	3	44
Mephitidae	Spilogale gracilis	Western spotted skunk	SpiGra v1 BIUU	85,970	11	1	57
Ursidae	Ailuropoda melanoleuca	Giant panda	ASM200744v1	9,947,519	10	0	87
	Ursus americanus	American black bear	ASM334442v1	189,900	23	7	89
	Ursus arctos horribilis	Brown bear	ASM358476v1	36,708,181	27	4	78
	Ursus maritimus	Polar bear	UrsMar 1.0	15.940.661	25	9	85
Phocidae	Neomonachus schauinslandi	Hawaiian monk seal	ASM220157v1	29,518,589	2	1	60
	Leptonychotes weddellii	Weddell seal	LepWed1.0	904.031	2	4	49
	Phoca vitulina	Harbor seal	GSC HSeal 1.0	41.024.070	1	0	56
	Mirounga angustirostris	Northern elephant seal	MirAng v1 BIUU	64.640	0	3	48
Otariidae	Callorhinus ursinus	Northern fur seal	ASM326570v1	31.506.801	12	2	113
	Arctocephalus gazella	Antarctic fur seal	arcGaz3	139,181,869	3	2	62
	Fumetonias jubatus	Steller sea lion	ASM402803v1	14 018 600	6	5	61
	Zalophus californianus	California sea lion	zalCal2 2	143 424 588	6	1	69
Odobenidae	: Odobenus rosmarus	Walrus	Oros1.0	2.616.778	6	1	71
Canidae	Canis lupus dingo	Dingo	ASM325472v1	34.446.301	8	0	47
	Canis familiaris	Dog	CanFam3 1	45 876 610	9	Õ	46
	Lycaon pictus	Lycaon	LycPicSAfr1.0	63.240.551	4	7	35
	Vulnes vulnes	Fox	VulVul2.2	12.472.085	6	3	53
	Vulnes lagonus	Arctic fox	Vullag v1 BIUIU	102.053	7	45	79
Felidae	Felis catus	Cat	Felis catus 90	83 967 707	27	1	85
	Felis nigrines	Black-footed cat	FelNig v1 BIUU	18.631	25	13	73
	Prionailurus hengalensis euntilurus	Amur leonard cat	Prionailurus bengalensis euptilurus v01	152.598	21	7	85
	Puma concolor	Puma	Pco k61	193 865	24	9	75
	Acinonyx iubatus	Cheetah	acilubl	3 122 036	22	4	77
	Panthera pardus	Leonard	PanPar1 0	21 701 857	21	16	96
	Panthera tioris	Tiger	PanTig10	8 860 407	18	4	82
	Panthera onca	Iaguar	PanOne v1 BILIU	116 574	22	13	111
Viverridae	Paradoxurus hermaphroditus	Asian nalm civet	ParHer v1 BIUU	71 823	29	2	72
Hyaenidae	Hvaena hvaena	Hyaena	ASM300989v1	2 001 327	18	1	65
Hernestidae	Helogale parvula	Dwarf mongoose	HelPar v1 BILIU	179 119	25	29	49
rierpestidue	Mungos mungo	Banded mongoose	MunMun v1 BIUIU	236 501	27	14	53
	Suricata suricatta	Meerkat	meerkat 22Aug2017 6uvM2 HiC	141 453 419	14	8	47
Eupleridae	Cryptoprocta ferox	Fossa	CryFer v1 BILIU	173 473	5	0	75
	c. proprocra jerox	1 0004		,	5	0	, .
Manidae	Manis pentadactyla	Chinese pangolin	M_pentadactyla-1.1.1	117,920	17	13	49
	Manis javanica	Sunda pangolin	ManJav1.0	204,728	23	28	41
	Manis tricuspis	Tree pangolin	ManTri_v1_BIUU	25,241	18	143	52

(E)

family	Latin name	common name	assembly name	scaffold N50	intact	t truncated	pseudogene
Vespertilionidae	Murina aurata feae	Little tube-nosed bat	MurFea_v1_BIUU	26,051	0	0	15
	Myotis davidii	David's myotis	ASM32734v1	3,454,484	0	0	10
	Myotis myotis	Greater mouse-eaRed bat	MyoMyo_v1_BIUU	21,824	0	0	23
	Myotis lucifugus	Little brown bat	Myoluc2.0	4,293,315	0	0	13
	Myotis brandtii	Brandt's bat	ASM41265v1	3,225,832	0	0	18
	Eptesicus fuscus	Big brown bat	EptFus1.0	13,454,942	0	1	9
	Pipistrellus pipistrellus	Common pipistrelle	PipPip_v1_BIUU	33,992	0	0	4
	Lasiurus borealis	Red bat	LasBor_v1_BIUU	38,543	0	0	6
Miniopteridae	Miniopterus natalensis	Natal long-fingered bat	Mnat.v1	4,315,193	6	0	5
	Miniopterus schreibersii	Schreibers' long-fingered bat	MinSch_v1_BIUU	108,707	6	0	4
Molossidae	Tadarida brasiliensis	Brazilian free-tailed bat	TadBra_v1_BIUU	24,311	0	0	18
Phyllostomidae	Artibeus jamaicensis	Jamaican fruit-eating bat	ArtJam_v1_BIUU	35,347	15	33	36
	Carollia perspicillata	Seba's short-tailed bat	CarPer_v1_BIUU	10,739	11	24	38
	Phyllostomus discolor	Pale spear-nosed bat	mPhyDis1_v1.p	110,241,909	21	1	60
	Tonatia saurophila	Stripe-headed round-eared bat	TonSau v1 BIUU	165,561	16	5	37
	Anoura caudifer	Tailed tailless bat	AnoCau_v1_BIUU	185,021	24	16	52
	Desmodus rotundus	Common vampire bat	ASM294091v2	26,869,735	12	3	18
	Micronycteris hirsuta	Little big-eared bat	MicHir v1 BIUU	68,868	8	13	23
Mormoopidae	Pteronotus parnellii	Parnell's mustached bat	ASM46540v1	22,675	4	8	31
	Mormoops blainvillei	Antillean ghost-faced bat	MorMeg v1 BIUU	156,292	3	3	21
Noctilionidae	Noctilio leporinus	Greater bulldog bat	NocLep v1 BIUU	191,494	2	2	9
Rhinolophidae	Rhinolophus ferrumequinum	Greater horseshoe bat	mRhiFer1_v1.p	88,025,743	0	0	27
	Rhinolophus sinicus	Chinese rufous horseshoe bat	ASM188883v1	3,754,400	0	0	29
Hipposideridae	Hipposideros galeritus	Cantor's roundleaf bat	HipGal_v1_BIUU	37,985	5	28	38
	Hipposideros armiger	Great roundleaf bat	ASM189008v1	2,328,177	2	0	31
Craseonycteridae	Craseonycteris thonglongyai	Hog-nosed bat	CraTho_v1_BIUU	25,762	8	4	21
Megadermatidae	Megaderma lyra	Greater false vampire bat	ASM46534v1	16,881	1	2	37
Pteropodidae	Macroglossus sobrinus	Long-tongued fruit bat	MacSob_v1_BIUU	453,401	0	0	36
	Eidolon helvum	Straw-coloured fruit bat	ASM46528v1	27,684	0	0	38
	Pteropus alecto	Black flying fox	ASM32557v1	15,954,802	0	0	37
	Pteropus vampyrus	Java fruit bat	Pvam_2.0	5,954,017	0	0	31
	Rousettus aegyptiacus	Egyptian fruit bat	rouEgy_v1.4		1	0	37
	Rousettus leschenaultii	Leschenault's rousette	rouLes150624		1	0	38
	Eonycteris spelaea	Lesser dawn bat	Espe.v1	8,002,591	0	0	33
Solenodontidae	Solenodon paradoxus woodi	Hispaniolan solenodon	ASM290108v1	110,915	4	3	56
Erinaceidae	Erinaceus europaeus	Western European hedgehog	EriEur2.0	3.264.618	60	4	45
Soricidae	Sorex araneus	European shrew	SorAra2.0	22,794,405	53	7	45
	Suncus murinus	Asian musk shrew	r150910	7,100,000	108	1	100
	Crocidura indochinensis	Indochinese shrew	CroInd v1 BIUU	4,929	104	214	240
Talpidae	Scalopus aquaticus	Eastern mole	ScaAqu v1 BIUU	94,879	14	52	16
	Uropsilus gracilis	Gracile shrew mole	UroGra v1 BIUU	55.035	8	0	20
	Condylura cristata	Star-nosed mole	ConCri1.0	55,520,359	14	2	12

family	Latin name	common name	assembly name	scaffold N50	pseudogene		
Ornithorhynchidae	Ornithorhynchus anatinus	Platypus	mOrnAnal.p.vl	83,338,043	256	6	444
Macropodidae	Macropus eugenii	Wallaby	Meug 1.1	36,602	50	33	97
Phascolarctidae	Phascolarctos cinereus	Koala	phaCin_unsw_v4.1	11,587,828	41	0	48
Vombatidae	Vombatus ursinus	Common wombat	bare-nosed wombat genome assembly	28,503,419	56	6	73
Dasyuridae	Sarcophilus harrisii	Tasmanian devil	Devil_ref v7.0	1,847,106	79	14	62
Didelphidae	Monodelphis domestica	Opossum	monDom5	59,809,810	94	2	38
Trichechidae	Trichechus manatus	Manatee	TriManLat1.0	14,442,683	9	1	87
Procaviidae	Procavia capensis	Cape rock hyrax	ProCapCap_v2_BIUU_UCD	9,071,062	39	40	108
	Heterohyrax brucei	Yellow-spotted hyrax	HetBruBak_v1_BIUU	67,904	38	22	78
Elephantidae	Loxodonta africana	Elephant	Loxafr3.0	46,401,353	35	1	108
Macroscelididae	Elephantulus edwardii	Cape elephant shrew	EleEdw_v1_BIUU	17,713	67	76	51
Tenrecidae	Echinops telfairi	Lesser hedgehog tenrec	EchTel2.0	45,764,842	10	4	23
	Microgale talazaci	Talazac's shrew tenrec	MicTal_v1_BIUU	65,143	33	16	35
Chrysochloridae	Chrysochloris asiatica	Cape golden mole	ChrAsi1.0	6,492	18	18	22
Orycteropodidae	Orycteropus afer afer	Aardvark	OryAfe1.0	7,875,832	23	10	55
Megalonychidae	Choloepus hoffmanni	Hoffmann's two-toed sloth	C_hoffmanni-2.0.1	366,442	24	4	46
	Choloepus didactylus	Southern two-toed sloth	ChoDid_v1_BIUU	7,289	16	41	56
Myrmecophagidae	Myrmecophaga tridactyla	Giant anteater	MyrTri_v1_BIUU	41,255	26	75	194
	Tamandua tetradactyla	Southern tamandua	TamTet_v1_BIUU	19,789	27	195	283
Dasypodidae	Chaetophractus vellerosus	Screaming hairy armadillo	ChaVel_v1_BIUU	1,606	44	515	289
	Dasypus novemcinctus	Nine-banded armadillo	Dasnov3.0	1,687,935	54	12	139
	Tolypeutes matacus	Southern three-banded armadillo	TolMat_v1_BIUU	10,217	36	253	248

表 3.2 V1R 遺伝子増減速度定数の推定に用いたパラメーターと結果(分類群 A-E のグループごと)

(A)
---	---	---

node	X(t-t')	X(t)	gain	loss	MYa(t')	gain rate	loss rate
Aye-aye	39	47	18	10	54.70	6.94E-03	5.42E-03
Black-handed_spider_monkey	24	16	1	9	20.66	1.98E-03	2.27E-02
Bushbaby	62	63	9	8	37.79	3.59E-03	3.66E-03
Coquerels_sifaka	40	29	3	14	30.15	2.40E-03	1.43E-02
Gibbon	6	2	0	4	20.19	0	5.44E-02
Human	6	4	0	2	20.19	0	2.01E-02
Marmoset	17	9	0	8	18.40	0	3.46E-02
Mouse_lemur	40	105	69	4	30.15	3.32E-02	3.49E-03
Owl_monkey	17	12	2	7	18.40	6.04E-03	2.88E-02
Ring-tailed_lemur	40	28	6	18	38.36	3.64E-03	1.56E-02
Slow_loris	62	74	17	5	37.79	6.41E-03	2.23E-03
Squirrel_monkey	23	16	0	7	19.68	0	1.84E-02
Sunda_flying_lemur	30	48	27	9	76.00	8.45E-03	4.69E-03
Tarsier	28	37	21	12	67.06	8.35E-03	8.35E-03
Ugandan_red_colobus	8	3	0	5	29.44	0	3.33E-02
White-faced_saki	23	16	1	8	21.88	1.95E-03	1.95E-02
n6376	8	6	0	2	9.25	0	3.11E-02
n6378	20	8	0	12	13.71	0	6.68E-02
n6381	23	17	0	6	1.28	0	2.36E-01
n6383	24	23	1	2	0.98	4.17E-02	8.88E-02
n6385	23	24	3	2	1.22	1.00E-01	7.46E-02
n6387	20	23	8	5	21.27	1.58E-02	1.35E-02
n6388	28	20	0	8	23.91	0	1.41E-02
n6390	37	28	1	10	6.78	3.93E-03	<mark>4.65E-02</mark>
n6393	40	40	5	5	8.21	1.43E-02	1.63E-02
n6395	39	40	6	5	16.33	8.76E-03	8.40E-03
n6397	41	39	2	4	4.63	1.03E-02	2.22E-02
n6400	41	62	36	15	21.54	<mark>2.93E-02</mark>	2.11E-02
n6401	37	41	8	4	14.51	1.35E-02	7.88E-03
n6402	30	37	8	1	2.20	1.07E-01	1.54E-02

灰色: 鋤鼻器が退化または ancV1R が偽遺伝子化しているノードや ť < 3 MYa のノードといった 図 3.2 の箱ひげ図には含めていないノード

黄色: 箱ひげ図を用いた解析の結果、増加または減少が有意であった数値

*n+数字と言ったノード番号が指すノードについては図 3.4 を参照

(B)

node	X(t-t')	X(t)	gain	loss	MYa(t')	gain rate	loss rate
Chinese_tree_shrew	19	20	11	10	90.00	5.08E-03	8.30E-03
Crested_porcupine	53	20	0	33	46.53	0	2.09E-02
Damaraland_mole-rat	58	33	6	31	40.12	2.45E-03	1.91E-02
Dassie-rat	54	67	19	6	26.94	1.12E-02	4.37E-03
Deer_mice	51	162	118	7	32.66	3.67E-02	4.52E-03
Degu	117	121	21	17	20.84	7.92E-03	7.53E-03
Desmarests_hutia	76	86	27	17	17.59	1.73E-02	1.44E-02
Gambian giant pouched rat	49	60	29	18	32.99	1.41E-02	1.39E-02
Greater cane rat	54	40	6	20	26.94	3.91E-03	1.72E-02
Guinea pig	64	85	47	26	28.28	1.95E-02	1.84E-02
Hazel dormouse	28	76	55	7	59.00	1.84E-02	4.88E-03
Kangaroo rat	20	67	56	9	63.25	2.11E-02	9.45E-03
Lesser Egyptian iernboa	31	84	60	7	54.80	1.97E-02	4.67E-03
Long-tailed chinchilla	93	96	12	9	24.07	5.04E-03	4.23E-03
Lowland paca	65	61	18	22	28.94	8.45F-03	1.43E-02
Mountain beaver	20	25	12	7	48 29	9 73F-03	8 92F-03
Mouse	51	222	186	, 15	32.66	4.70F-02	1.07F-02
North American beaver	20	17	5	8	63.25	3 53F-03	8 08F-03
North American porcupine	7/	£1	12	25	32.86	1.57E-03	1 25E-02
North_American_porcupine	74 E2	60	20	12	52.00	7 765 02	1.232-02
Northern kraali blind subterranean mele rat	52 24	22	29 1	12	57.10	7.70E-U3	4.59E-05
Notthern_israeli_blind_subterrailean_inole_rat	54 76	22 F 0	4	27	45.27	2.402-03	1.40E-02
Nutria	/0	20	9	27	17.59	0.30E-03	2.50E-02
Pacarana	93	83	23	33	24.07	9.18E-03	1.82E-02
Pika	33	62	44	15	51.43	1.65E-02	1.18E-02
Punctate_agouti	64	106	50	8	28.28	2.04E-02	4.72E-03
Rabbit	33	141	110	2	51.43	2.85E-02	1.22E-03
Social_tuco-tuco	117	86	11	42	20.84	4.31E-03	2.13E-02
Squirrel	20	70	51	1	48.29	2.62E-02	1.06E-03
n25426	49	51	4	2	0.33	2.38E-01	1.26E-01
n25428	34	49	16	1	12.28	3.14E-02	2.43E-03
n25430	31	34	8	5	9.53	2.41E-02	1.85E-02
n25432	31	31	7	7	15.10	1.35E-02	1.69E-02
n25435	31	20	1	12	6.64	4.78E-03	7.37E-02
n25436	43	31	1	13	2.98	7.71E-03	1.21E-01
n25439	113	117	12	8	4.04	2.50E-02	1.82E-02
n25442	113	76	6	43	7.29	7.10E-03	6.57E-02
n25443	88	113	38	13	7.97	4.50E-02	2.01E-02
n25446	88	93	12	7	8.79	1.45E-02	9.43E-03
n25447	87	88	10	9	2.92	3.73E-02	3.74E-02
n25450	65	64	4	5	0.65	9.19E-02	1.23E-01
n25452	74	65	4	13	3.93	1.34E-02	4.92E-02
n25454	87	74	0	13	2.92	0	5.54E-02
n25455	77	87	18	8	7.58	2.77E-02	1.45E-02
n25458	58	54	8	12	13.18	9.80E-03	1.76E-02
n25460	77	58	0	19	3.24	0	8.75E-02
n25461	53	77	24	0	3.17	1.18E-01	0
n25463	52	53	8	7	10.57	1.35E-02	1.37E-02
n25465	43	52	19	10	15.78	2.32E-02	1.68E-02
n25466	43	43	1	1	0		
n25469	28	20	4	12	10.71	1.25E-02	5.23E-02
n25471	43	28	1	16	13.88	1.66E-03	3.35E-02
n25472	40	43	6	3	9.26	1.51F-02	8.42F-03
n25475	40	33	7	14	30.71	5.25E-03	1.40E-02
n25476	19	40	21	0	7.86	9.47E-02	0
		.0		-		2	-
Transcaucasian mole vole	47	19	4	32			
n25424	51	47	1	5			
<u>n25478</u>			18	0			

(C)

node	X(t-t')	X(t)	gain	loss	MYa(t')	gain rate	loss rate
Cow	37	38	8	7	24.60	7.96E-03	8.53E-03
Siberian musk deer	37	21	4	20	24.60	4.17E-03	3.16E-02
Hog_deer	40	60	31	11	27.31	2.10E-02	1.18E-02
Java mouse-deer	28	19	4	13	43.97	3.04E-03	1.42E-02
Giraffe	31	21	4	14	27.31	4.44E-03	2.20E-02
Pronghorn	31	27	5	9	27.31	5.48E-03	1.26E-02
Yangtze river dolphin	2	2	0	0	25.42	0	0
Bottlenose dolphin	2	2	0	0	18.39	0	0
Yangtze finless porpois	1	1	0	0	14.29	0	0
Indus_river_dolphin	3	2	0	1	32.07	0	1.26E-02
Beluga	1	1	0	0	14.29	0	0
Sowerbys_beaked_whale	3	1	0	2	32.07	0	3.43E-02
Northern_minke_whale	3	3	0	0	15.54	0	0
Gray_whale	3	2	0	1	15.54	0	2.61E-02
Bowhead_Whale	3	2	0	1	25.90	0	1.57E-02
Hippopotamus	28	32	6	2	53.75	3.61E-03	1.38E-03
Pig	16	17	4	3	37.03	6.03E-03	5.61E-03
Chacoan_peccary	16	16	4	4	37.03	6.03E-03	7.77E-03
Bactrian_camel	35	24	7	18	64.18	2.84E-03	1.13E-02
Rhinoceros	43	55	21	9	49.56	8.02E-03	4.74E-03
Horse	38	35	9	12	54.40	3.91E-03	6.98E-03
Asiatic_tapir	43	47	13	9	49.56	5.33E-03	4.74E-03
n5944	40	37	0	3	2.71	0	2.88E-02
n5946	37	40	4	1	0		
n5949	37	31	0	6	0		
n5950	28	37	12	3	16.66	2.14E-02	6.80E-03
n5952	37	28	4	13	11.99	8.56E-03	3.61E-02
n5955	2	1	0	1	4.10	0	1.69E-01
n5957	2	2	0	0	7.03	0	0
n5959	4	2	0	2	7.62	0	9.10E-02
n5962	4	3	0	1	0.97	0	2.97E-01
n5963	6	4	0	2	0.46	0	8.79E-01
n5966	3	3	0	0	10.37	0	0
n5968	6	3	0	3	7.60	0	9.12E-02
n5969	28	6	0	22	20.25	0	7.61E-02
n5971	37	28	0	9	2.21	0	1.26E-01
n5972	35	37	5	3	6.01	2.22E-02	1.49E-02
n5975	35	16	2	21	24.94	2.23E-03	3.67E-02
n5976	35	35	3	3	2.22	3.70E-02	4.04E-02
n5978	34	35	6	5	13.57	1.20E-02	1.17E-02
n5981	38	43	10	5	4.84	4.83E-02	2.91E-02
n5983	34	38	10	6	23.35	1.10E-02	8.32E-03
Blue_wildebeest	32	32	1	1			
Торі	21	19	3	5			
Hartebeest	15	2	0	13			
Hirola	15	14	0	1			
n5936	21	15	0	6			
n5938	32	21	0	11			
n5940	38	32	1	7			
n5942	37	38	2	1			
n5984			33	0			
1000			55	0			

(D)

node	¥(+_+')	Y(+)	gain	loss	$MV_{2}(+')$	gain rate	loss rate
Asian nalm sivet	20	20	o 80111	7	20.00		
Asian_paim_civet	20	29	0	7	39.90	0.30E-03	7.21E-03
Banded_mongoose	18	27	11	2	24.56	1.94E-02	4.80E-03
Brown_bear	20	27	1/	10	39.89	1.54E-02	1./4E-02
California_sea_lion	8	6	0	2	19.47	0	1.48E-02
Cat	30	27	5	8	39.90	3.86E-03	7.77E-03
Dog	22	9	2	15	45.53	1.91E-03	2.52E-02
Ferret	16	10	1	7	33.98	1.78E-03	1.69E-02
Fossa	18	5	0	13	24.56	0	5.22E-02
Hawaiian_monk_seal	8	2	0	6	25.99	0	5.33E-02
Hyaena	26	18	1	9	33.40	1.13E-03	1.27E-02
Lesser_panda	16	12	4	8	33.98	6.57E-03	2.04E-02
Sunda_pangolin	17	23	10	4	75.00	6.17E-03	3.58E-03
Walrus	8	6	0	2	19.47	0	1.48E-02
Western_spotted_skun	15	11	5	9	34.95	8.23E-03	2.62E-02
n2626	15	16	1	0	0.97	6.65E-02	0
n2628	18	15	1	4	4.88	1.11E-02	5.15E-02
n2631	8	8	0	0	6.52	0	0
n2633	18	8	0	10	13.84	0	5.86E-02
n2634	20	18	0	2	0.07	0	1.51E+00
n2636	22	20	0	2	5.63	0	1.69E-02
n2638	32	22	1	11	8.79	3.50E-03	4.79E-02
n2641	26	18	0	8	8.85	0	4.16E-02
n2643	28	26	1	3	6.50	5.40E-03	1.74E-02
n2645	30	28	2	4	0		
n2647	32	30	2	4	14.42	4.20E-03	9.26E-03
n2648	17	32	16	1	20.68	3.21E-02	2.93F-03
				-	20.00		
n2624	16	15	1	2	4.30	1.41E-02	3.11E-02
Sea otter	15	7	0	8	10.10	0	7.55E-02
n2650		17					

(E)

node	X(t-t')	X(t)	gain	loss	MYa(t')	gain rate	loss rate
Egyptian_fruit_bat	9	1	0	8	58.08	0	3.78E-02
Great_roundleaf_bat	9	2	0	8	52.22	0	4.21E-02
Greater_bulldog_bat	8	2	0	6	43.04	0	3.22E-02
Greater_false_vampire_bat	6	1	0	5	41.05	0	4.36E-02
Hog-nosed_bat	6	8	2	0	41.05	7.01E-03	0
Natal_long-fingered_bat	9	6	1	4	52.64	2.00E-03	1.12E-02
Pale_spear-nosed_bat	9	21	13	1	37.06	2.41E-02	3.18E-03
Parnells_mustached_bat	9	4	0	5	37.06	0	2.19E-02
European_shrew	13	53	44	4	66.77	2.21E-02	5.51E-03
Hispaniolan_solenodon	14	4	1	11	79.27	8.70E-04	1.94E-02
Star-nosed_mole	13	14	7	6	66.77	6.45E-03	9.27E-03
Western_European_hedgehog	16	60	50	6	66.77	2.12E-02	7.04E-03
n2144	8	9	1	0	5.98	1.97E-02	0
n2146	9	8	1	2	9.61	1.10E-02	2.62E-02
n2148	13	9	0	4	9.02	0	4.08E-02
n2151	9	6	0	3	11.17	0	3.63E-02
n2153	9	9	0	0	5.86	0	0
n2155	13	9	0	4	3.58	0	1.03E-01
n2156	11	13	4	2	27.34	1.13E-02	7.34E-03
n2159	16	13	0	3	0		
n2161	14	16	2	0	12.50	1.07E-02	0
n2163	11	14	4	1	9.73	3.19E-02	9.80E-03
n2164			10	0			

表 3.3 V1R 遺伝子と OR 遺伝子のレパートリーの比較(分類群 A-F のグループごと)

(A)

			V1R			OR		
family	Latin name	common name	intact	truncated	pseudogene	intact	truncated	pseudogene
Hominidae	Homo sapiens	Human	4	0	139	552	2	679
Hylobatidae	Nomascus leucogenys	Gibbon	2	1	81	250	27	378
Cercopithecidae	Piliocolobus tephrosceles	Ugandan_red_colobus	3	1	82	236	18	346
Callitrichidae	Callithrix jacchus	Marmoset	9	2	59	381	29	304
Aotidae	Aotus nancymaae	Owl_monkey	12	0	59	410	31	267
Cebidae	Saimiri boliviensis	Squirrel_monkey	16	1	44	284	13	234
Atelidae	Ateles geoffroyi	Black-handed_spider_monkey	16	1	59	355	94	285
Pitheciidae	Pithecia pithecia	White-faced_saki	16	9	79	320	126	341
Tarsiidae	Carlito syrichta	Tarsier	37	25	270	426	67	724
Cheirogaleidae	Microcebus murinus	Mouse_lemur	105	13	129	797	33	415
Indriidae	Propithecus coquereli	Coquerels_sifaka	29	11	77	637	101	276
Lemuridae	Lemur catta	Ring-tailed_lemur	28	9	130	632	323	260
Daubentoniidae	Daubentonia madagascariensis	Aye-aye	47	23	193	838	426	484
Galagidae	Otolemur garnettii	Bushbaby	74	185	292	776	161	797
Lorisidae	Nycticebus coucang	Slow_loris	63	9	59	654	447	265
Dermoptera	Galeopterus variegatus	Sunda_flying_lemur	48	39	119	684	556	865

(B)

			V1R			OR		
family	Latin name	common name	intact	truncated	pseudogene	intact	truncated	pseudogene
Muridae	Mus musculus	Mouse	222	3	143	1324	3	495
Cricetidae	Peromyscus maniculatus bairdin	Deer_mice	162	20	149	1030	139	403
(Arvicolinae)	Ellobius lutescens	Transcaucasian mole vole	19	15	65	552	475	534
Nesomyidae	Cricetomys gambianus	Gambian_giant_pouched_rat	60	44	59	1061	958	426
Spalacidae	Nannospalax galili	Northern_Israeli_blind_subterranean_mole_rat	22	2	80	1133	378	6376
Dipodidae	Jaculus jaculus	Lesser_Egyptian_jernboa	84	16	68	459	75	331
Heteromyidae	Dipodomys ordii	Kangaroo_rat	67	6	131	842	126	479
Castoridae	Castor canadensis	North_American_beaver	17	4	143	729	5	2460
Ctenomyidae	Ctenomys sociabilis	Social_tuco-tuco	86	6	83	664	146	424
Octodontidae	Octodon degus	Degu	121	8	83	739	148	405
Capromyidae	Capromys pilorides	Desmarests_hutia	86	126	109	1153	1119	703
Myocastoridae	Myocastor coypus	Nutria	58	66	49	694	495	215
Chinchillidae	Chinchilla lanigera	Long-tailed_chinchilla	96	14	74	719	195	3661
Dinomyidae	Dinomys branickii	Pacarana	83	125	149	955	252	650
Cuniculidae	Cuniculus paca	Lowland_paca	61	335	157	905	1786	662
Dasyproctidae	Dasyprocta punctata	Punctate_agouti	106	152	78	2064	700	1948
Erethizontidae	Erethizon dorsatum	North_American_porcupine	61	21	93	813	129	622
Caviidae	Cavia porcellus	Guinea_pig	85	4	165	813	47	1869
(Caviidae)	Hydrochoerus hydrochaeris	Capybara	78	109	286	767	484	2353
Bathyergidae	Fukomys damarensis	Damaraland_mole-rat	33	4	46	1198	827	43208
Thryonomyidae	Thryonomys swinderianus	Greater_cane_rat	40	44	70	595	615	174
Petromuridae	Petromus typicus	Dassie-rat	67	50	38	647	430	226
Hystricidae	Hystrix cristata	Crested_porcupine	20	10	56	836	713	345
Ctenodactylidae	Ctenodactylus gundi	Northern_gundi	69	14	45	388	280	219
Sciuridae	Ictidomys tridecemlineatus	Squirrel	70	26	177	977	347	805
Aplodontiidae	Aplodontia rufa	Mountain_beaver	25	115	63	823	270	369
Gliridae	Muscardinus avellanarius	Hazel_dormouse	76	109	198	760	166	256
Leporidae	Oryctolagus cuniculus	Rabbit	141	10	172	770	32	377
Ochotonidae	Ochotona princeps	Pika	62	21	47	545	129	292
Tupaiidae	Tupaia chinensis	Chinese_tree_shrew	20	22	54	1183	387	1257

(C)

			V1R			OR		
family	Latin name	common name	intact	truncated	pseudogene	intact	truncated	pseudogene
Bovidae	Bos taurus	Cow	38	0	42	1060	2	1280
(Alcelaphinae)	Connochaetes taurinus	Blue wildebeest	32	1	34	810	110	807
(Alcelaphinae)	Damaliscus lunatus	Торі	19	3	38	936	212	1015
(Alcelaphinae)	Alcelaphus buselaphus	Hartebeest	2	17	15	116	500	180
(Alcelaphinae)	Beatragus hunteri	Hirola	14	2	36	756	183	645
Cervidae	Axis porcinus	Hog_deer	60	22	55	1201	454	1156
Tragulidae	Tragulus javanicus	Java_mouse-deer	19	40	29	1150	1033	476
Moschidae	Moschus moschiferus	Siberian_musk_deer	21	109	51	852	804	1023
Giraffidae	Giraffa camelopardalis	Giraffe	21	4	31	657	423	543
Antilocapridae	Antilocapra americana	Pronghorn	27	91	70	760	794	825
Hippopotamidae	Hippopotamus amphibius	Hippopotamus	32	3	72	1240	970	1090
Suidae	Sus scrofa	Pig	17	0	58	1434	12	2064
Tayassuidae	Catagonus wagneri	Chacoan_peccary	16	0	25	784	775	808
Camelidae	Camelus bactrianus	Bactrian_camel	24	2	35	610	157	439
Rhinocerotidae	Ceratotherium simum simum	Rhinoceros	55	5	106	1016	96	1322
Equidae	Equus caballus	Horse	35	1	61	1064	43	1945
Tapiridae	Tapirus indicus	Asiatic_tapir	47	16	97	1063	481	1357

(D)

			V1R			OR		
family	Latin name	common name	intact	truncated	pseudogene	e intact	truncated	pseudogene
Mustelidae	Mustela putorius furo	Ferret	10	2	57	843	124	515
(Lutrinae)	Enhydra lutris	Sea otter	7	1	54	500	67	628
Ailuridae	Ailurus fulgens	Lesser_panda	12	3	44	809	62	377
Mephitidae	Spilogale gracilis	Western_spotted_skunk	:11	1	57	867	558	498
Ursidae	Ursus arctos horribilis	Brown_bear	27	4	78	989	239	509
Phocidae	Neomonachus schauinslandi	Hawaiian_monk_seal	2	1	60	296	56	499
Otariidae	Zalophus californianus	California_sea_lion	6	1	69	367	88	546
Odobenidae	Odobenus rosmarus	Walrus	6	1	71	404	11	611
Canidae	Canis familiaris	Dog	9	0	46	790	17	460
Felidae	Felis catus	Cat	27	1	85	766	1	478
Viverridae	Paradoxurus hermaphroditus	Asian_palm_civet	29	2	72	1015	754	261
Hyaenidae	Hyaena hyaena	Hyaena	18	1	65	778	57	414
Herpestidae	Mungos mungo	Banded_mongoose	27	14	53	1088	644	366
Eupleridae	Cryptoprocta ferox	Fossa	5	0	75	752	586	354
Pholidota	Manis javanica	Sunda_pangolin	23	28	41	411	1528	1274

(E)

			V1R			OR		
family	Latin name	common name	intact	truncated	pseudogene	intact	truncated	pseudogene
Vespertilionidae	Eptesicus fuscus	Big_brown_bat	0	1	9	401	66	172
Miniopteridae	Miniopterus natalensis	Natal_long-fingered_bat	6	0	5	355	49	178
Molossidae	Tadarida brasiliensis	Brazilian free-tailed bat	0	0	18	389	613	317
Phyllostomidae	Phyllostomus discolor	Pale_spear-nosed_bat	21	1	60	667	1	385
Mormoopidae	Pteronotus parnellii	Parnells_mustached_bat	4	8	31	275	125	240
Noctilionidae	Noctilio leporinus	Greater_bulldog_bat	2	2	9	398	154	221
Rhinolophidae	Rhinolophus ferrumequinum	Greater horseshoe bat	0	0	27	385	1	311
Hipposideridae	Hipposideros armiger	Great roundleaf bat	2	0	31	305	88	241
Craseonycteridae	Craseonycteris thonglongyai	Hog-nosed_bat	8	4	21	165	73	218
Megadermatidae	Megaderma lyra	Greater_false_vampire_bat	1	2	37	208	93	234
Pteropodidae	Rousettus aegyptiacus	Egyptian_fruit_bat	1	0	37	624	83	526
Solenodontidae	Solenodon paradoxus woodi	Hispaniolan_solenodon	4	3	56	763	383	973
Erinaceidae	Erinaceus europaeus	Western_European_hedgehog	60	4	45	1001	118	379
Soricidae	Sorex araneus	European_shrew	53	7	45	1129	234	578
(Soricidae)	Suncus murinus	Asian_musk_shrew	108	1	100	1227	165	9379
(Soricidae)	Crocidura indochinensis	Indochinese shrew	104	214	240	996	824	295
Talpidae	Condylura cristata	Star-nosed_mole	14	2	12	662	103	252

(F)

			V1R			OR		
family	Latin name	common name	intact t	truncated	pseudogene	intact	truncated	pseudogene
Trichechidae	Trichechus manatus	Manatee	9	1	87	478	68	816
Elephantidae	Loxodonta africana	Elephant	35	1	108	1988	131	2696
Macroscelididae	Elephantulus edwardii	Cape elephant shrew	67	76	51	941	63	329
Tenrecidae	Microgale talazaci	Talazac's shrew tenrec	33	16	35	1152	496	458
Chrysochloridae	Chrysochloris asiatica	Cape golden mole	18	18	22	1101	295	692
Orycteropodidae	Orycteropus afer afer	Aardvark	23	10	55	1039	335	936

第四章:総合討論

4.1 鋤鼻器マーカー遺伝子と V1R 遺伝子の探索による鋤鼻器退化の推定

哺乳類の形態や表現型の多様性を DNA レベルから理解するのは分子進化学の中心的な取り組み である。特定の遺伝子と特定の形態の特徴が同時に消失(または偽遺伝子化)するのはそのような形 態の多様性をもたらした分子メカニズムの解明において重要な見識を与える(Sharma et al. 2018)。 近年特に哺乳類のゲノム情報が整備されていくにつれてそうした研究がいくつかの遺伝子で報告さ れ始めている。例えば C4orf26 遺伝子は歯の退化に(Springer et al. 2016)、MC5R 遺伝子は皮脂腺の 退化に(Springer and Gatesy 2018)、OMP 遺伝子は嗅覚の退化に(Springer and Gatesy 2017)に相関 していることが確かめられた。ancV1R は 2018 年に新規に発見された遺伝子である。その機能はま だ未解明であるが、鋤鼻器のほとんどの鋤鼻神経細胞で発現し、フェロモン受容体である V1R や V2R と共発現することから鋤鼻神経細胞において中心的な機能を果たすと考えられている(Suzuki et al. 2018)。ancV1R の偽遺伝子化と鋤鼻器の退化を比較することは、ancV1R が重要な機能を担う ことを実証する意味と、鋤鼻器を解剖学的に調べられない種において退化を検証する意味との 2 つ の点において重要である。

本研究では ancV1R 遺伝子を用いた研究時に取得できた全哺乳類ゲノムにおける ancV1R の網羅 的な探索に加え、鋤鼻神経細胞における陽イオンチャネルとして中心的な機能を持つことが確認さ れている TRPC2(transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 2)と、フェロモ ン受容体である V1R遺伝子のコピー数の減少の探索をすることによって、より正確な検証を行った。 こうした遺伝子の網羅的な探索によって ancV1R 偽遺伝子化と鋤鼻器退化の関係がより明確に示さ れたと共に、鋤鼻器の状態が未知または議論中である分類群において、鋤鼻器退化の分子進化学的 証拠を新規に発見した。

4.1.1 鋤鼻器退化が既知な分類群の ancV1R と TRPC2 の偽遺伝子化と V1R 遺伝子の減衰

霊長目のうち類人猿(ヒト上科)とオナガザル上科は単系統であり狭鼻猿類(狭鼻小目)と呼ばれる。 私達がサルと言われて連想するものの多くはこの狭鼻猿類である。狭鼻猿類はすべての種が鋤鼻器 と AOB(accessory olfactory bulb; 副嗅球)を失っていることから、狭鼻猿類の共通祖先において副嗅 覚系の退化が起きたとされる(Wysocki 1979; Bhatnagar and Meisami 1998; Smith et al. 2014)。この 鋤鼻器の退化は、樹上生活と果実食による3色覚の獲得などの視覚の進化により視覚への依存性を 強めた結果起こった生殖などの個体間コミュニケーションにおけるフェロモン受容系の依存度の減 少と考えられている。3色覚の発達と鋤鼻器の退化の相関は薄いとする研究もあるが(Webb et al. 2004)、色覚を含む視覚の発達によって狭鼻猿類の生殖行動が大きく視覚依存になったことは、狭鼻 猿類のオスの派手な色合いやヒトの行動を見ても明らかであろう。

狭鼻猿類のancV1RとTRPC2はすべての種で遺伝子に対する有害な変異と統計的に有意な d_N/ds 値の上昇が見られており、完全に機能を失っている。TRPC2における偽遺伝子化は過去の研究とも 一致している(Liman and Innan 2003; Zhang and Webb 2003)。これらの遺伝子に対する有害な変異 自体は科ごとに独立に入っているが、V1R 遺伝子が狭鼻猿類の共通祖先で大きく減少していること から、鋤鼻器自体は狭鼻猿類の共通祖先で不要になった結果 ancV1R と TRPC2 に対する機能制約 が消滅し、その後各科への分岐後に直接的な変異が入ったと考えられる。また、狭鼻猿類のいくつ かの種で現在も intact で残っている V1R 遺伝子は直接的な変異は入っていないが機能をすでに失っ ており、偽遺伝子化の途中にあると考えられる。ただし、ヒトの V1R 遺伝子は主嗅上皮で発現して いるという研究もある(Rodriguez et al. 2000)。これを信じるならば、ヒト科はオナガザルと比べて 主嗅覚が特異的に発達しているため(Niimura et al. 2018)、嗅覚発達の過程で V1R 遺伝子の一部が 主嗅覚系の遺伝子としてリクルートされたのかもしれない。

クジラ類では ancV1Rと TRPC2 のどちらもクジラ類の間で共通の有害な変異を持ち有意な d_N/ds 値上昇が示されたことから、クジラ類の共通祖先で両方の遺伝子が偽遺伝子化したと考えられる。 TRPC2の偽遺伝子化については過去の研究でもイルカについて報告されているが(Yu et al. 2010)、 クジラ類全体に渡る解析をしたのは今研究が初である。また、V1R 遺伝子も同様にクジラ類の共通 祖先で大きく減少しており、現在クジラ類ではいくつかの種で V1R 遺伝子が少量残っているが、系 統的にもまばらであることから、V1R 遺伝子はクジラ類全体で機能を失っていて退化の途上にある だろう。クジラ類の共通祖先での ancV1R と TRPC2 の偽遺伝子化は鋤鼻器や AOB の退化(Lowell and Flanigan 1980; Mackay-Sim et al. 1985)ともよく相関しており、これらはすべて水棲適応と同時 に起こったと考えられる。ただし、副嗅覚系の退化がクジラ類の共通祖先で起きているのに対して、 クジラ類の主嗅覚系の退化はハクジラのみで起きておりヒゲクジラでは部分的に主嗅覚の機能が残 っていることが示されている(Kishida et al. 2015; Springer and Gatesy 2017)。このようなハクジラ とヒゲクジラの間での嗅覚系の差は、ハクジラでは反響定位能力が発達して捕食を担う一方、ヒゲ クジラでは反響定位能力が発達しておらず捕食が今も嗅覚依存であると考察されている(Springer and Gatesy 2017)。副嗅覚系はハクジラとヒゲクジラの両方で退化していることから、副嗅覚系の V1R 遺伝子は主嗅覚系の OR 遺伝子よりも揮発性物質に特化しており、水棲環境では機能しないこ とが考えられる。

翼手目も鋤鼻器が退化した種として多くの生物学者の興味を引いてきた。コウモリでの鋤鼻器の 保持と退化は系統的にもまばらであるため、鋤鼻器の進化は科や種属による独自色が強いと考えら れる。コウモリにおける ancV1R と TRPC2 の偽遺伝子化は煩雑であり、明確に解釈できるもので はない。鋤鼻器が退化している種では ancV1R と TRPC2 の偽遺伝子化が一致するものもあれば一 致しないものもあり、また d_N/da 値の上昇も明瞭ではない種がある。ただし、鋤鼻器を保持が既知 であるヘラコウモリ科(Phyllostomidae)、ユビナガコウモリ科(Miniopteridae)では V1R 遺伝子の重 複が起きており、他の鋤鼻器が退化した種では V1R 遺伝子の重複がなく保持するコピー数も 0-3 個 であることから、V1R 遺伝子の進化のほうが鋤鼻器マーカー遺伝子よりも明確にコウモリでの鋤鼻 器の進化に相関していると考えられる。また、鋤鼻器マーカー遺伝子の結果から新たにブタバナコ ウモリ科(Craseonycteridae)が鋤鼻器を保持すると推定されており、V1R 遺伝子の重複の面からもこ の推定は支持される。逆に、科内で鋤鼻器の保持と退化に多様性があるブタバナコウモリ科 (Craseonycteridae)では、鋤鼻器を保持しているとされる Parnell's mustached bat の鋤鼻器マーカー 遺伝子の配列は intact であるものの、選択圧の大きな弛緩が観察された。V1R 遺伝子ではこの種で

90

V1R 遺伝子の重複が見られずコピー数も 4 個と少ない。これらの結果から Parnell's mustached bat の鋤鼻器が機能していることは疑わしい。

コウモリの鋤鼻器退化に相関する適応進化については現在わかっていないが、考察するならばコ ウモリの完全飛行能力の獲得に関係しているだろう。同じく完全飛行能力を持つ鳥類でも鋤鼻器が 退化しておりこれは鳥類の共通祖先で起きたと見積もられる。揮発性のフェロモンは空気中に拡散 してしまうため、特に空中を移動する飛行動物には都合が悪いのではないだろうか。ただしコウモ リでまばらに鋤鼻器が保持や退化が行われていることから、飛行能力による副嗅覚系の重要度低下 は水棲適応ほど強いものではなく、コウモリの進化に従って徐々に起きたと考えられる。この飛行 能力とフェロモン知覚の退化の関係についての考察は、フェロモンの研究がもともと昆虫で行われ ていることを考えると奇妙であるようにも思える。昆虫は飛んで移動するため、フェロモンの微量 でも効くなどの性質はむしろそうした移動手段に対して都合が良いように思える。しかし無脊椎動 物のフェロモンと脊椎動物のフェロモンは受容体の起源がそもそも異なるので、無脊椎動物のフェ ロモンと脊椎動物のフェロモンが同じ性質を持つとは限らない。コウモリにおけるフェロモン研究 はこうした脊椎動物のフェロモンの性質を調べるという意味でもおそらく重要である。脊椎動物の フェロモンは大部分が未知なため今後の研究に期待する。

4.1.2 遺伝子探索による新規の鋤鼻器が退化した分類群の推定

前小節で示した鋤鼻器退化が既知の分類群からの知見により、ancV1R と TRPC2 の偽遺伝子化は 十分鋤鼻器の退化を反映していることがわかった。これらの遺伝子マーカーを用いたさらなる哺乳 類ゲノムの網羅的探索によって、いくつかの鋤鼻器退化に関する新規の示唆を得た。また同時に、 V1R 遺伝子レパートリーの増減推定の観点からもこれらの結果を検証した。鋤鼻器マーカー遺伝子 が偽遺伝子化したと見込まれるのは水棲哺乳類ではアザラシ科とカワウソ亜科である。また、V1R 遺伝子からの検証も鋤鼻器マーカー遺伝子の結果を支持する。これら水棲哺乳類に加えて今回は陸 棲哺乳類でも新規の発見があった。陸棲哺乳類で鋤鼻器マーカー遺伝子の退化が示唆されたのはヨ ザル科、フォッサ属、ハーテビースト亜科の3つである。しかし V1R 遺伝子からの検証ではヨザル 科での退化を支持しない。また、ハーテビースト亜科内でも V1R 遺伝子が大きく減少しているのは ハーテビースト属だけであった。そのため、本研究ではフォッサ属とハーテビースト属の鋤鼻器の 退化を新規に提案する。

食肉目鰭脚類は水棲適応した代表的な哺乳類の一つである。その形態はクジラ類でも見られるように足がほとんど退化しており遊泳に適したヒレを形成している。クジラ類でも示した通り、水棲適応と鋤鼻器の退化は特に強く相関していると考えられているが、これに反して鰭脚類の鋤鼻器退化は多様性があり、アザラシ科では退化している一方、アシカ科とセイウチ科では鋤鼻器を保持していることが報告されている(Switzer et al. 1980; Meisami and Bhatnagar 1998)。しかし文献調査したところ、こうした文献にはアザラシ科での鋤鼻器がないと記述されているものの解剖学的な論文は見つからなかったため、鋤鼻器マーカー遺伝子から改めて検証をした。鰭脚類3科のうち、ancV1RとTRPC2の偽遺伝子化はアザラシ科のみで見つかっており、鋤鼻器の報告結果と一致している。そのため、文献での記述の通り、アザラシ科では鋤鼻器が退化している一方、アシカ科とセイウチ

科では鋤鼻器を保持していると考えられる。V1R 遺伝子のレパートリーでは鰭脚類の共通祖先で V1R 遺伝子が大きく減少していることから、水棲適応の影響が伺える。しかしアザラシ科ではいく つかの種で V1R 遺伝子が 0 個まで減少しきっているのに対して、アシカ科とセイウチ科では 6 個程 度の V1R 遺伝子がどの種でも残っている。そのため、アザラシ科では鋤鼻器が退化している一方で、 アシカ科とセイウチ科では最低限の鋤鼻器機能が残っていると思われる。

カワウソ亜科も水棲適応をしているが鰭脚類に比べて適応の度合いが低く、解剖学的な鋤鼻器の 退化も知られていない。検証に用いたカワウソ亜科 2 種ではどちらにも ancV1R の有害な変異と統 計的有意な d_v/d_v値上昇が見られる。TRPC2 では今回探索したエキソンでは有害な変異を見つけら れなかったが、先行研究(Yu et al. 2010; Hecker et al. 2019)では他のエキソンに変異が入っていると 報告されている。TRPC2 の有意な d_v/d_v値の上昇は今回の研究でも示した。このことからこれまで 示してきた水棲哺乳類と同様に、カワウソ亜科共通祖先では水棲適応によって鋤鼻器が退化したと 考えられる。カワウソ亜科の V1R 遺伝子レパートリーはどちらも 7 個であるが、近縁種のイタチ科 が 7-12 個とそもそも V1R 遺伝子が少ないため、水棲適応によって V1R 遺伝子が減少しているかど うかは判別ができない。しかし OR 遺伝子ではイタチ科などの近縁と比較して 300-350 個ほど少な いことから、水棲適応による嗅覚系への影響は受けていると考えられる。カワウソ亜科のうちラッ コはフレーメン反応のような仕草が観察されているが、近縁種とルーチンが異なることから(Island et al. 2017)こうしたラッコのフレーメン反応は行動としては種に残っているがフェロモン受容の機 能を失っているのかもしれない。

ヨザルはアメリカ大陸に拡散した霊長目の中でも夜行性に再適応した種である。同じ霊長目では 原猿類の一部が夜行性に再適応していることが知られており、これらの原猿類では収斂的に V1R 遺 |伝子レパートリーが大きく増加しているのは 3.3.1 小節で示した通りである。 このことから、 霊長目 の夜行性への適応と V1R 遺伝子の増加は相関すると考えられる。しかし、ヨザルを含む新世界ザル では鋤鼻器を保持しているものの、鋤鼻器の部分機能の縮小が指摘されており(Smith et al. 2011)、 原猿類と比べて V1R 遺伝子が大きく減少していることが示されている(Liman and Innan 2003; Yoder et al. 2014; Moriya-Ito et al. 2018)。そのため新世界ザルにおけるフェロモン知覚については 現在はっきりとせず議論中の段階である。本研究における遺伝子マーカーの探索はヨザルでの ancV1R に有害が変異が入っており偽遺伝子化していることを示唆する。しかしこの ancV1R にお ける d₄ / d₅値の上昇は統計的に有意でない。逆に TRPC2 では有害な変異が発見されなかった一方 で、有意な d₄ / d₅ 値上昇が見られた。このようにヨザルの ancV1R と TRPC2 の結果からだけでは |判別がしにくい。ヨザルの V1R 遺伝子レパートリーは近縁の新世界ザルと比較して同程度の数であ り、大きな減少は見られない。さらに、ヨザルの V1R 遺伝子はヨザル分岐後に遺伝子重複を経験し ているため、V1R遺伝子が引き続き機能していることが見込まれる。そのため、V1R遺伝子の観察 結果は遺伝子マーカーの結果を否定している。こうした混乱が起きている原因としてはヨザルの ancV1R に入った変異がシークエンシングエラーに起因する人工物である可能性があるため、ヨザ ル科での生体サンプルを用いた検証や他属における検証が必要である。

フォッサは 2.3.3 小節でも記載の通り、マダガスカルマングース科というマダガスカル島で多様化 した大型肉食動物である。フォッサの ancV1R には有害な変異が入っているが、 d₄ / d₆ 値の上昇は有 意でなかった。しかし、TRPC2 では有害な変異も入っており d₄ / d₆ 値の上昇も有意であるため、

92

ancV1RとTRPC2の両方が偽遺伝子化していることが見込まれる。加えて、V1R遺伝子レパートリ ーはフォッサ分岐後に大きく減少しており、おそらく退化の過程にある。以上のことからフォッサ では鋤鼻器の退化が示唆される。近縁であるマングース科は第3.3.4小節に記載の通りV1R遺伝子 を大きく増加させており、フォッサとは形態が似ているもののまったく対照的である。さらにフォ ッサのOR遺伝子を調べるとマングース科以外の近縁と同程度であることからフォッサの進化では これまでの鋤鼻器が退化した種と違ってフェロモン知覚のみが退化しており主嗅覚系には影響がな いことがわかる。マダガスカルマングース科(フォッサ)での鋤鼻器退化の要因は見つけることがで きなかったが、ネコ亜目全体のV1R遺伝子の推移を見ていくとマングース科とマダガスカルマング ース科の共通祖先においてV1R遺伝子が有意に減少していることがわかる。そのため、ここで何か しらのフェロモンへの依存性低下を引き起こすようなイベントが起きた可能性がある。こうしたフ ォッサでの鋤鼻器退化の発見は、そのネコ科に類似した形態に大きく反したマダガスカルマング ス科の進化の特殊性を示しておりさらなる研究が期待される。

ハーテビースト亜科はウシ科に所属する種でサバンナを中心としたアフリカ大陸に生息する。通 常ウシ科では鼻口蓋管(または切歯管、内鼻孔とも言う)が大きく開口しており口腔と鋤鼻器をトン ネルのようにつなぐ。ハーテビースト亜科では解剖学的にすべての属で鋤鼻器を持つと見込まれる ものの、ヌー属を除く 3 属(ハーテビースト属、ダマリスクス属、ヒロラ属)すべてで鼻口蓋管の縮 小が見られており、特にハーテビースト属では閉口している(Hart et al. 1987)。また、フェロモン知 |覚による生理現象であるフレーメン反応がこの 3 属では消失している(Hart et al. 1987)。ハーテビ ースト亜科における ancV1R と TRPC2 では、有害な変異はハーテビースト属でのみ見つかったが、 d₄ / d₅ 値の上昇はフレーメン反応の有無に相関してダマリスクス属とヒロラ属の両方でも上昇して いる。このフレーメン反応が消失した 3 属はヌー属からの分岐後に十分な時間が経過していないた め(3MYa 程度; Chen et al. 2019)、遺伝子マーカーに対して解析で明確な結果が出るほどの変異が蓄 積していない可能性もある。そのためこの3属での解釈は難しい。これに対して、V1R 遺伝子では ハーテビースト属での大きな減少を示している一方、ダマリスクス属では遺伝子重複を、ヒロラ属 では分岐後の変化はほぼないことを示している。この結果はancV1Rに対する変異に一致しており、 ハーテビースト属のみでの鋤鼻器が退化していることを示唆する。しかし、ハーテビースト属は OR 遺伝子も 100 個程度と他のハーテビースト亜科と比較しても短期間で極端に減少しているため、ゲ ノムアッセンブリーの質自体が疑わしいことに注意が必要である。いずれにしろ、ハーテビースト 亜科3属では嗅覚に関しては他のウシ科と比較したときに嗅覚系の退化につながるような生態の違 いは見られないため、これからの詳細な研究が必要であろう。また、ウシ科は哺乳類の中でも適応 拡散が進んだ種であり、V1R 遺伝子レパートリーから見ても 7-52 個と多様性に富む。 ハーテビース ト亜科での鋤鼻器退化の兆候はこうしたウシ科の適応拡散に関連しているかもしれない。

4.2 哺乳類の収斂進化と嗅覚系遺伝子レパートリーの多様性

4.1 節では鋤鼻器の退化と鋤鼻器マーカー遺伝子の関係を見てきた。第二章で見てきた ancV1R や TRPC2 のような動物の表現型の形成に重要と考えられる遺伝子は、多くが 1 対 1 のオーソロガス として種間で保存されている。そのため遺伝子配列の比較がしやすく偽遺伝子化やポジティブセレ クションの探索がしやすい。こうしたオーソロガスの比較解析は特に現代のゲノムワイドなスクリ ーニング研究で用いられており、様々な哺乳類の表現型の進化を遺伝子レベルで解明することに貢 献してきた。4.1 節冒頭で挙げた各遺伝子の偽遺伝子化とそれに対応する動物の形態の退化の相関 は、こうした進化において厳密に維持されてきたこうしたオーソロガスの解析結果として非常に典 型的でわかりやすい例である。

これに対して、嗅覚系の受容体は多重重複遺伝子であり種間での各遺伝子の系統関係も多対多で あるため、種間で単純な配列比較ができずゲノムワイドなスクリーニングでは省かれている現状が ある。そのため、嗅覚系の受容体の種間比較は個別に議論せねばならず、先に挙げたようなオーソ ロガスの解析よりも研究例が少ない。本節で扱う哺乳類の適応進化と嗅覚コミュニケーションの多 様性については未解明な部分が多い。

第三章では各分類群における個別の進化を扱ったが、本節では適応進化の中でも分類群に横断的 な現象である収斂進化に着目する。収斂進化とは系統の異なる分類群の間で、同様の環境に適応す ることによって類似する形質や形態を獲得する現象である。異なる系統が同様の形質を獲得する(退 化させる)現象であるため、収斂進化は環境への適応を研究する上で環境と進化の因果関係を考察し やすく進化生物学でも特に重要である。収斂進化のもたらす形態の類似性は特に束縛条件の強い環 境への適応に際して見られる。例えば本章でも取り上げている水棲適応は、水棲哺乳類間における 足の退化とヒレ獲得の収斂のみならず、魚類や爬虫類である魚竜とも非常に似た形態に進化する。 こうした収斂進化による形態の類似は系統区分を混乱させてきた原因であるというのは第三章で地 中棲適応の齧歯目やモグラ、キンモグラの部分でも触れた通りである。また、遺伝子や DNA レベル での収斂進化も確認されている。本節で扱う遺伝子レベルでの収斂はそれぞれの小節でも取り上げ るが、例えば聴覚を司る遺伝子であるプレスチンでは、反響定位能力を収斂的に獲得したココウモ リとハクジラにおいて同様の変異が入っているため、プレスチン遺伝子で系統樹を描くとココウモ リとハクジラが単系統であるという間違った結果が導きだされる(Liu et al. 2010)。これは同一遺伝 子の進化における同一サイトに起こる収斂進化として知られており、形態に基づいた系統分類から 分子系統学に基づいて系統分類されるようになった現代でもなお収斂進化が進化学者を悩ませてい る一例である。

形態の収斂に対して遺伝子レベルではどれほど収斂しているのかは興味深い。本節では V1R 遺伝 子と OR 遺伝子を用いて哺乳類の収斂進化における形態の収斂と嗅覚系遺伝子レパートリーの進化 の関係性を探った。哺乳類において鼻器の形状変化と関わりの深い水棲適応、地中棲適応や匂いの 分泌腺の収斂進化である麝香腺の獲得を取り上げて V1R 遺伝子と OR 遺伝子の比較を行った。その 結果、どの収斂進化においても鼻器の形状の類似性に反して、V1R 遺伝子と OR 遺伝子は系統によ って異なる増減のパターンを示した。このことは哺乳類の形態の類似性に反する嗅覚コミュニケー ションの多様性を示しており、嗅覚コミュニケーションは収斂進化の影響を受けていないことを示 唆する。また、それぞれの収斂進化における視覚や聴覚、触覚における遺伝子レベルでの強い収斂 進化に反して、嗅覚系では遺伝子レベルでの多様性を保持することを示している。

4.2.1 水棲適応と嗅覚系遺伝子の多様性

哺乳類では海牛目、クジラ亜目、食肉目鰭脚類、食肉目カワウソ亜科といくつかの分類群で水棲 '適応に進化している(図 4.1AB)。水棲環境は束縛条件が強いため、水棲適応を果たした生物は収斂 '進化により特に同様の形態になりやすい(Uhen 2007)。短い手足や後脚の退化、ヒレの形成、濃い体 色(水中での保護色)等、水棲適応した動物は様々な共通箇所が見られる(図 4.1A)。こうした形態的 な収斂以外にも、特に水棲哺乳類では視覚を司る遺伝子が収斂して退化していることが知られてお り、例えばクジラ類と鰭脚類は通常の2色覚から1色覚まで減少していることで知られる(Emerling et al. 2014: 図 4.2A)。しかしゲノム比較の結果からは他に形態の変化に結びつく遺伝子的な収斂進 化はほとんど発見されておらず、どのような遺伝子的な変化が収斂した形態をもたらしているのか は研究の途上にある(Foote et al. 2015)。また嗅覚系遺伝子の方面においても、水棲哺乳類は近縁の 陸棲種と比較してどれも OR 遺伝子が大きく減少していることが知られている(Kishida et al. 2015; Beichman et al. 2019; Hughes et al. 2018)。また、4.1 節でも見てきた通り、マナティ、クジラ亜目、 カワウソ亜科、アザラシ科等多くの水棲哺乳類の鋤鼻器マーカー遺伝子は偽遺伝子化しており V1R 遺伝子も水棲適応と同時期に大きく減少していることから、主嗅覚系に先立って副嗅覚系が退化し ている。このような水棲適応による副嗅覚系の退化は、V1R 遺伝子の大部分が揮発性物質を受容し ており、それが水中環境では機能しないためと考えられる。そのため、見かけ上 intact な V1R 遺伝 子が残っていてもそれはおそらく偽遺伝子化の過程にある配列である。

こうした水棲哺乳類の収斂的な鋤鼻器の退化に反して、鰭脚類では鋤鼻器の退化と鋤鼻器マーカ ー遺伝子の偽遺伝子化に差があることを2.3.2小節で示した。また、3.3.4小節では鰭脚類の中でも 鋤鼻器が退化しているアザラシ科とそうでないアシカ科およびセイウチ科にV1R遺伝子レパートリ ーとその減少速度に差があることを発見した。アシカ科やセイウチ科は生殖時に陸に上がりハーレ ムを作ることが知られていることから、この生殖はフェロモン依存でありそのために水棲適応して もなお V1R遺伝子が機能していると考えられる。しかし同様にアザラシ科も陸上でハーレムを作り 生殖するため、生殖を始めとする生態においてアザラシ科とアシカ科やセイウチ科とでは潜在的な 違いがあるかもしれない。

海牛目のマナティは完全水棲哺乳類であり、鋤鼻器が退化した動物として知られる。しかしなが ら水棲哺乳類の中ではもっとも V1R 遺伝子が残っており遺伝子重複も観測されるため、水棲哺乳類 の中でも例外的に V1R 遺伝子が機能していることを示唆する。これはおそらくマナティの草食性で 捕食のために嗅覚を用いることに関連している。同時期に完全水棲に移行したクジラ亜目の OR 遺 伝子が 0-100 個程度に減少しているのに対して(Kishida et al. 2015)、マナティは OR 遺伝子を 478 個保持しているため、水棲での捕食活動等のために嗅覚系を独自に発達させている可能性がある。 そのため鋤鼻器が退化しているものの、V1R 遺伝子の一部が主嗅覚系に組み込まれて機能している ことを示唆する。

水棲に近い適応形態として、水辺生息への適応進化が挙げられる。水辺に生息する種は水中と陸 上の両方の生活様式を取っており、水かきの獲得や潜水への適応といった水棲適応への前段階とな る形態が観察される(図 4.1B)。こうした種は哺乳類に点在しており、本章は齧歯目ではビーバーや ヌートリア、カピバラ、鯨偶蹄目ではカバを取り上げた。これらの種ではいずれも水陸両方の生活 を営んでおり、日中の多くは水中に生息する。これは捕食や外敵から身を守るためである。また、鋤 鼻器の退化が見込まれているカワウソ亜科もこのような生活をしている。これらの種のうちカワウ ソ亜科以外の種は近縁種とV1R遺伝子やOR遺伝子のレパートリーが同程度であり、また遺伝子の 増減にも影響が見られなかったため、水辺生息による嗅覚系への影響はないと考えられる。カワウ ソ亜科とこれらの水辺生息の分類群との違いは、おそらく水棲適応度合いによる違いであるが、こ うした水棲適応度によって鋤鼻器が退化しているかはっきり分かれるのは興味深い。水棲適応のど の段階で嗅覚の退化が起きるかをゲノムレベルで比較解析することが次の研究として考えられる。

4.2.2 地中棲適応と嗅覚系遺伝子の進化

哺乳類に見られる特別な環境への適応形態としては、地中棲適応も挙げられる。地中棲適応した 種では形態的な変化として目が皮膚に覆われていたり小さくなっている代わりに皮膚が硬化してい たり、触毛の発達や鼻器が前方に突き出している様子がよく収斂の結果として表れている(図 4.1C; Zuri et al 1999; Davies et al. 2018)。これらのことから視覚の退化と共に、他の感覚器官として特に 触覚や嗅覚が進化していると考えられる。地中棲適応種の視覚の退化の収斂は遺伝子的にも知られ ており、多くの視覚系を司る遺伝子が地中棲適応種で収斂して偽遺伝子化していることが報告され ている(図 4.2A)。またこれらの視覚系遺伝子の退化以外にも、聴覚系遺伝子の進化や耐低酸素スト レス遺伝子の進化といった機能の発達が見られる(図 4.2B; Davies et al. 2018)。しかし、こうした遺 伝子群ではそれぞれの地中棲適応種で正の自然選択が見られるものの、地中棲適応種で収斂してい る遺伝子自体はほとんど見つかっておらず、地中棲適応による収斂は各系統で別々の遺伝子が進化 することで達成している可能性が示されている(Davies et al. 2018)。

地中棲適応した種は齧歯目キヌゲネズミ科モグラレミング属、メクラネズミ科、デバネズミ科、 真無盲腸目モグラ科、アフリカトガリネズミ目キンモグラ科と哺乳類で広く観察される。これらの 種の V1R 遺伝子レパートリーを調べたところ、近縁種と比較してどれも少ないことがわかった。し かし V1R 遺伝子レパートリーの増減推定の結果を見ると必ずしも地中棲適応と V1R 遺伝子の減少 が相関しているわけではなく、地中棲適応種の中でも嗅覚系の進化に多様性が見られる。各地中棲 適応種の分岐後に大きな(祖先と比較して半分以上の V1R 遺伝子の消滅)が見られるのはモグラレミ ング属、メクラネズミ科、デバネズミ科の齧歯目 3 分類群に集中しており、モグラ科やキンモグラ 科では祖先の段階で V1R 遺伝子レパートリーが少なく、そこから分岐後に大きな増加が行われなか った様子が観察された。また、OR 遺伝子のほうも調べると同様の多様性が見られた。モグラレミン グ属とモグラ科はどちらとも V1R 遺伝子と OR 遺伝子の両方が近縁種と比較して少ない。 このこと は、他の感覚系の発達による嗅覚系の重要度低下を思わせる。メクラネズミ科とデバネズミ科、キ ンモグラ科は近縁種と比較して V1R 遺伝子のみが少なく、OR 遺伝子が同等または微増しているこ とから、地中棲適応によってフェロモン知覚の重要性のみが低下しているが、主嗅覚系の重要度に はおそらく影響を与えていない。これらのことから地中棲適応種は形態としては強く収斂している が、モグラレミング属とモグラ科およびメクラネズミ科、デバネズミ科、キンモグラ科の間には感 覚器官の発達度合いに差があるかもしれない。

4.2.3 麝香腺の獲得と嗅覚系遺伝子の多様性

嗅覚系に関連する形態の進化としては一部の哺乳類で見られる麝香腺の発達も興味深い。麝香腺 は匂い物質を貯蔵したり分泌したりする分泌腺であり腹部から局部に収斂して形成される。麝香腺 から発せられる匂いは性誘引フェロモンの役割を持っていると考えられているが(Agosta 1992)、哺 乳類の生態の研究では特異な匂いは基本的にどれも性誘引フェロモンと見なされるため、つまりは 役割が未だに解明されていないのだろう。

麝香腺の収斂進化と嗅覚系の関係を明らかにするために、本研究では鯨偶蹄目ジャコウジカ科、 食肉目ジャコウネコ科、真無盲腸目ジャコウネズミ属の3つの分類群を扱った(図 4.1D)。これらの 分類群の V1R 遺伝子と OR 遺伝子の進化としては、麝香腺の収斂に反して 3 つの分類群それぞれで 多様性があり、受容体側としては収斂していないところが興味深い。ジャコウジカは V1R 遺伝子が 近縁と比較して半分弱に減少しており OR 遺伝子は近縁と同程度ある。そのため麝香腺の発達と嗅 覚系遺伝子の拡張が相関していない。ジャコウジカの OR 遺伝子の先行研究では本研究と同等の 864 個の OR 遺伝子を発見しており、これらのうちのわずか 2 系統が麝香腺から分泌する匂いと相同な 物質を受容することが示されている(Shirasu et al. 2014; Bu et al. 2019)。受容側に多様性がないとす るとおそらく分泌側も多様な物質を分泌していないと考えられるので、なぜジャコウジカは特定の 匂い分泌のためにわざわざ分泌腺を発達させたのか謎である。または、V1R 遺伝子や OR 遺伝子以 外の遺伝子が受容体として働き、麝香を受容するのかもしれない。ジャコウネコでは V1R 遺伝子が 近縁のネコ科と同程度であり大きな増減もない代わりに、OR 遺伝子がネコ科の 766 個やハイエナ 科の 778 個に対して 1015 個と OR 遺伝子が大きく拡張している。ジャコウネコの OR 遺伝子の拡 張と麝香腺の形成が相関しているかどうかはわからないが、率直に考えればジャコウネコの麝香の 受容先は V1R ではなく OR であり、麝香も多様なオドラントを分泌しているのかもしれない。これ に対して、ジャコウネズミでは OR 遺伝子が近縁と同程度である代わりに V1R 遺伝子レパートリー が系統特異的に拡張している。このことからジャコウネズミの麝香腺の発達はフェロモン受容に関 与すると考えられる。こうした収斂的な麝香腺の発達に対して受容の様式が多様化していることは、 麝香腺の潜在的な多様性を示唆する。

4.3 展望

本研究は進化生物学におけるデータ駆動型研究という立場から、鋤鼻器マーカー遺伝子やフェロ モン受容体である V1R 遺伝子、嗅覚受容体である OR 遺伝子を哺乳類で網羅的に探索することによ って哺乳類のフェロモン知覚に関する様々な示唆を得た。こうした一部の遺伝子の網羅的な解析か ら得た結果はまだ仮説に過ぎないので、これから嗅覚系に関連する遺伝子群の解析や動物行動学的 な研究を行うことでより詳細な検証が行われることが期待される。それによってこれまで謎であっ た動物の生態や未解明だった進化戦略の発見などについて役立てることができるだろう。特に本研 究で取り扱ったフェロモン知覚は、動物の種の保存に関わる社会行動に深く関与する感覚であるた め、それを補完する感覚器官の進化や動物の社会行動の存在が示唆される。

第 4.1 節において本研究で新たに鋤鼻器退化を示唆したカワウソ亜科、アザラシ科はどちらも水

棲哺乳類であるため鋤鼻器退化が既知であるマナティやクジラ類と同様に鋤鼻器退化の因果関係が
わかりやすい。しかし、本研究でも示したようにマナティが嗅覚を発達させているのに対してクジ
ラ類は嗅覚全体を退化させ代わりに反響定位能力といった聴覚を発達させているように、束縛力が
強い水棲適応においても異なる感覚系遺伝子の進化を遂げている。そのためカワウソ亜科やアザラ
シ科の感覚系遺伝子をさらに比較解析することによって、マナティやクジラ類とは違った感覚を発
達させてフェロモン知覚の代わりに繁殖や捕食を担うといった発見があるかもしれない。

本研究で新たに鋤鼻器退化を示唆したフォッサとハーテビーストはどちらも希少動物であり生態 があまり知られておらず実地調査も難しい。こうした希少動物における新たな進化の発見は、網羅 的なゲノム探索によって思いもよらぬ発見があるかもしれないことを示している。また、本論文で はハーテビースト亜科についてフレーメン反応の消滅や鼻口蓋管の退化を示す文献を紹介した。こ の Hart らの研究は 1987 年に出版された以降後続の研究が存在せず、鋤鼻器マーカー遺伝子が盛ん に探索され鋤鼻器の退化が遺伝子レベルで再確認され始めた近年の論文でもまったく触れられてい ないためおそらく近年では忘れられていた研究であった。筆者は文献調査の途中に偶然この論文を 発見し、さらに最初に投稿した論文がリジェクトされ再投稿の原稿を書いている途中に偶然ハーテ ビースト亜科 4 属のゲノムを解読した研究者がいたことによって約 30 年ぶりにハーテビースト亜 科の鋤鼻器退化が検証されるに至った。このように過去の研究を現在へとつなげることができるの も研究の魅力の一つである。動物行動学は過去から盛んに行われている研究の一つであるため、今 後も遺伝子解析によって埋もれていた動物行動学研究の再発見ができるだろう。

こうした鋤鼻器退化への示唆に加え、第 3.3 節では鋤鼻器を維持している種でもそれぞれの分類 群で V1R 遺伝子レパートリーの多様性があることを示した。こうした V1R 遺伝子レパートリーの 多様性の原因はおおよそ 2 つ考えられる。例えばシカ科やウシ科のような同科内というごく近縁の 同士で V1R 遺伝子レパートリーが大きく違うことは、科内での種分化にフェロモン知覚が大きく関 わっていることを示唆する。こうした分類群ではフェロモンの単離や具体的な受容体の特定をする ことによってフェロモンの進化原理に対する知見を深めることができるだろう。また、イヌ亜目や ネコ亜目、夜行性霊長目と昼行性霊長目の V1R 遺伝子レパートリーの違いのような科以上の分類群 における変化は適応進化の結果によってフェロモン知覚と何かしらの感覚とのトレードオフや重要 性の変化が起きているかもしれない。こうした分類群対分類群での関係はさらなる感覚系遺伝子の 比較解析や生態の研究によってこれまでの研究で気づかなかった進化の多様性を発見できるかもし れない。

今回の研究で示した動物の適応進化に対する遺伝子解析からのアプローチは、観察や解剖からで はわからなかった遺伝子レベルでの多様性という動物に対する新たな側面の理解につながる。恐竜 や巨鳥の時代から生き延びた哺乳類の祖先は、それらのいなくなった世界へ爆発的に拡散し、新天 地へと適応するためにゲノムを書き換え形態を進化させていった。そうして現在に生きている哺乳 類のゲノム情報には数々の環境で生き抜くための知恵と経験が詰まっているので、それらを解析す ることによって製薬や遺伝子治療へと役立てる知見を得ることができる。現在、DNA シーケンシン グの発達によって様々な生物のゲノム情報が高解像度で得られるようになった。そのため今まで以 上に生物の遺伝的な多様性が注目されるだろう。

98

図表

(A)



(B)







(D)



図 4.1 哺乳類の形態の収斂。(A)完全水棲のマナティ、クジラ類と半水棲の鰭脚類の収斂。マナテ ィとクジラ類は完全水棲である一方、鰭脚類は生活の一部に陸上への依存性を残した半水棲であ る。しかし鰭脚類の遊泳能力は高く、生活の大半を水中で過ごすため形態が完全水棲の哺乳類に収 斂している。これらの分類群に共通する形態的特徴として、後ろ足の完全退化、ヒレの獲得、耳介 (耳の外側に出ている部分)の消滅などが上げられる。マナティと鰭脚類は体型がよく類似しており

どちらも胴長で手足が短い。これに対してクジラ類は魚や魚竜に近い流線型の体型をしている。 (B)半水棲であるがより陸上での生活への依存度が強いカワウソ、ビーバー、カピバラ、ヌートリ ア。こうした動物は水辺に生息しており捕食や外敵から身を守るために生活が一部水中に依存す る。共通して見られる形態の特徴としては手足に水かきの形成が挙げられる。また、水を弾く固く て長い体毛を持ち、水中での体温維持などにも役立てている。鰭脚類やマナティほどではないがど の動物も胴長であり手足が短い。耳介は縮小しているものの形が残っている。(C)地中棲適応へと 進化したハダカデバネズミ、モグラレミング、メクラネズミ、モグラ、キンモグラ。形態の収斂と しては第一に目が挙げられる。地中棲適応種の目は完全につぶれているか極端に縮小しており退化 している。また手足が土を掘るために進化しており皮膚が硬化している。胴体はどれも胴長で手足 が短い。これは地中のトンネルを行き来するのに便利な体型である。鼻腔は長く伸びており鼻面が 前に突き出ている。(D)麝香腺を獲得したジャコウジカ、ジャコウネコ、ジャコウネズミ。姿形は 収斂していないが、共通して下腹部に麝香腺と呼ばれる芳香腺を持つ。ジャコウジカでは雄しか麝 香腺を持たないことから麝香腺は雌への誘引物質と考えられている。しかし本文でも書いたとおり 受容体側が種特異的に増加しているわけではなく、麝香腺から放つ芳香を受容する嗅覚受容体はご くわずかである。そのためなぜ特別に麝香腺という組織が形成されているのかはわかっていない。 画像出典:

(A)

- マナティ(By NASA Public Domain, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=112006)
- イルカ(By NOAA Public Domain, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=25240111)
- クジラ(By Ahodges7 Own work, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=9752992)
- アザラシ(By CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=461549)
- $\mathcal{T} \diamond \mathcal{D}$ (By Brian M Hunt., CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=227477)
- セイウチ(By Joel Garlich-Miller, Public Domain, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=31314788) (B)
- カワウン(By Bernard Landgraf Own work, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=41335)
- ビーバー(By Steve from washington, dc, usa / CC BY-SA https://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.0)
- カビバラ(By Petar Milošević / CC BY-SA https://creativecommons.org/licenses/by-sa/3.0)
- $\mathcal{R} \mathcal{F} \mathcal{Y} \mathcal{T}$ (By Bob Johnson / CC BY-SA https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0)
- (C)
- ハダカデバネズミ(By Roman Klementschitz, Wien https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=252701)
- モグラレミング(By Bassem18, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=3032473)
- メクラネズミ(By Didier Descouens, CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=25679841)
- モグラ(Ву Михайло Колесніков https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=9973101)
- キンモグラ(By JonRichfield / CC BY-SA https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0)
- (D)
- ジャコウジカ(By CC BY-SA 3.0, https://commons.wikimedia.org/w/index.php?curid=657641)
- ジャコウネコ(By Dr. Raju Kasambe / CC BY-SA (https://creativecommons.org/licenses/by-sa/4.0))
- ジャコウネズミ(By L. Shyamal / CC BY-SA (https://creativecommons.org/licenses/by-sa/2.5))



図 4.2 水棲哺乳類と地中棲哺乳類の遺伝子レベルでの収斂。(A)哺乳類における視覚伝達系遺伝子の 退化。哺乳類の中では狭鼻猿類の視覚が発達しており3色覚を持つことが知られているが、多くの 哺乳類は2色覚である。その中でも水棲哺乳類と地中棲哺乳類は目が退化しており、例えば鰭脚類 とクジラ類は1色覚となっていることが知られている。遺伝子レベルで見ても水棲哺乳類と地中棲 哺乳類は視覚伝達系における遺伝子の偽遺伝子化が共通して見られる。図中のホシバナモグラは表 記の遺伝子の範囲では偽遺伝子化が観測されていないが、ほぼ明暗しか見分けられないとされてい る。図は Emerling et al. 2014 より一部改訂。(B)地中棲適応種における遺伝子レベルでの収斂。赤 文字は地中棲適応種のどれかで正の自然選択が見られる遺伝子、青文字は地中棲適応種すべてで正 の自然選択が働いている遺伝子を指す。遺伝子の収斂進化は一部の機能では見られるものの、多く の遺伝子が種によって個別に進化しており共通するものは少ない。これは地中棲適応が遺伝子の収 斂にまで及んでおらず、地中棲適応種はおおよそ別々の遺伝子を進化させて地中棲適応を達成して いることを示す。画像は Davies et al. 2018 より。

参考文献

Agosta, W.C. (1992). Chemical Communication: The Language of Pheromones. (New York: Sci. Am. Library).
 Bärmann EV, Rössner GE, Wörheide G. 2013. A revised phylogeny of Antilopini (Bovidae, Artiodactyla) using combined mitochondrial and nuclear genes. *Mol Phylogenet Evol.* 67:484-493.

Beichman AC, Koepfli KP, Li G, Murphy W, Dobrynin P, Kilver S, Tinker MT, Murray MJ, Johnson J, Lindblad-Toh K, Karlsson EK, Lohmueller KE, Wayne RK. (2019) Aquatic adaptation and depleted diversity: a deep dive into the genomes of the sea otter and giant otter. *Mol Biol Evol*. (in press)

- Bhatnagar KP, Meisami E. 1998. Vomeronasal organ in bats and primates: extremes of structural variability and its phylogenetic implications. *Microsc Res Tech*. 43:465–475.
- Bowmaker, J. K. (1998). Evolution of colour vision in vertebrates. Eye. 12 (3b): 541-547.
- Brand, P., Robertson, H. M., Lin, W., Pothula, R., Klingeman, W. E., Jurat-Fuentes, J. L., & Johnson, B. R. (2018). The origin of the odorant receptor gene family in insects. *Elife*, 7, e38340.
- Brennan PA, Zufall F. 2006. Pheromonal communication in vertebrates. *Nature* 444:308–315.
- Brykczynska, U., Tzika, A. C., Rodriguez, I., & Milinkovitch, M. C. (2013). Contrasted evolution of the vomeronasal receptor repertoires in mammals and squamate reptiles. *Genome Biology and Evolution*, 5(2), 389-401.
- Bu, P., Jian, Z., Koshy, J., Shen, Y., Yue, B., & Fan, Z. (2019). The olfactory subgenome and specific odor recognition in forest musk deer. *Animal genetics*, 50(4), 358-366.
- Butenandt, A., Beckmann, R., Stamm, D. & Hecker, E. (1959) Uber den sexual-lockstoff des seidenspinners Bombyx mori – reindarstellung und konstitution. Zeitschrift Fur Naturforschung Part B-Chemie Biochemie Biophysik Biologie Und Verwandten Gebiete 14: 283–4.
- Cao, J., Huang, S., Qian, J., Huang, J., Jin, L., Su, Z., ... & Liu, J. (2009). Evolution of the class C GPCR Venus flytrap modules involved positive selected functional divergence. *BMC evolutionary biology*, 9(1), 1-12.
- Cardé, R T & Haynes, K F (2004) Structure of the pheromone communication channel in moths. In: Cardé, R
 & Millar, J G (eds.) Advances in Insect Chemical Ecology. pp. 283–332. Cambridge: Cambridge University Press.
- Chamero, P., Leinders-Zufall, T., and Zufall, F. (2012) From genes to social communication: molecular sensing by the vomeronasal organ. *Trends Neurosci.* 35, 597–606.
- Chen L, Qiu Q, Jiang Y, Wang K, Lin Z, Li Z, Bibi F, Yang Y, Wang J, Nie W, Su W, Liu G, Li Q, Fu W, Pan X, Liu C, Yang J, Zhang C, Yin Y, Wang Y, Zhao Y, Zhang C, Wang Z, Qin Y, Liu W, Wang B, Ren Y, Zhang R, Zeng Y, Fonseca RR, Wei B, Li R, Wan W, Zhao R, Zhu W, Wang Y, Duan S, Gao Y, Zhang YE, Chen C, Hvilsom C, Epps CW, Chemnick LG, Dong Y, Mirarab S, Siegismund HR, Ryder OA, M. Gilbert MTP, Lewin HA, Zhang G, Heller R, Wang W. 2019. Large-scale ruminant genome sequencing provides insights into their evolution and distinct traits. *Science* 364: eaav6202
- Chen, K., Durand, D., & Farach-Colton, M. (2000). NOTUNG: a program for dating gene duplications and optimizing gene family trees. *Journal of Computational Biology*, 7(3-4), 429-447.
- Cock PA, Antao T, Chang JT, Chapman BA, Cox CJ, Dalke A, Friedberg I, Hamelryck T, Kauff F, Wilczynski
B, de Hoon MJL. 2009. Biopython: freely available Python tools for computational molecular biology and bioinformatics. *Bioinformatics* 25:1422–1423.

- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nat Methods* 9 :e772.
- Davies, K. T., Bennett, N. C., Faulkes, C. G., & Rossiter, S. J. (2018). Limited evidence for parallel molecular adaptations associated with the subterranean niche in mammals: a comparative study of three superorders. *Molecular Biology and Evolution*, 35(10), 2544-2559.
- Dawley EM, Fingerlin A, Hwang D, John SS, Stankiewicz CA. 2000. Seasonal cell proliferation in the chemosensory epithelium and brain of red-backed salamanders, Plethodon cinereus. *Brain Behav. Evol.* 56:1–13
- de Bruyne, M & Baker, T C (2008) Odor detection in insects: volatile codes. J Chem Ecol 34: 882-97.
- DeMaria, S., Berke, A. P., Heravian, A., Ferreira, T., & Ngai, J. (2013). Role of a ubiquitously expressed receptor in the vertebrate olfactory system. *Journal of Neuroscience*, 33(38), 15235-15247.
- Dixson AF. 1983. Observations on the evolution and behavioral significance of "sexual skin" in female primates. *Adv Study Behav.* 13:63–106.
- Døving KB, Trotier D. 1998. Structure and function of the vomeronasal organ. J Exp Biol. 201:2913–2925.
- Dulac, C., and Axel, R. (1995) A novel family of genes encoding putative pheromone receptors in mammals. *Cell* 83, 195–206.
- Emerling, C. A., & Springer, M. S. (2015). Genomic evidence for rod monochromacy in sloths and armadillos suggests early subterranean history for Xenarthra. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 282(1800), 20142192.
- Firestein S. 2001. How the olfactory system makes sense of scents. Nature 413:211-218.
- Foote, A. D., Liu, Y., Thomas, G. W., Vinař, T., Alföldi, J., Deng, J., ... & Khan, Z. (2015). Convergent evolution of the genomes of marine mammals. *Nature Genetics*, 47(3), 272-275.
- González A, Morona R, López JM, Moreno N, Northcutt RG. 2010. Lungfishes, like tetrapods, possess a vomeronasal system. *Front Neuroanat*. 1:e4.
- Grus WE, Shi P, Zhang YP, Zhang J. (2005). Dramatic variation of the vomeronasal pheromone receptor gene repertoire among five orders of placental and marsupial mammals. *Proc Natl Acad Sci USA*. 102:5767– 5772.
- Grus, W. E., & Zhang, J. (2004). Rapid turnover and species-specificity of vomeronasal pheromone receptor genes in mice and rats. *Gene*, 340(2), 303-312.
- Grus, W. E., & Zhang, J. (2009). Origin of the genetic components of the vomeronasal system in the common ancestor of all extant vertebrates. *Molecular Biology and Evolution*, 26(2), 407-419.
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A simple, fast and accurate method to estimate large phylogenies by maximumlikelihood. *Syst Biol.* 52:696–704.
- Haga S, Hattori T, Sato T, Sato K, Matsuda S, Kobayakawa R, Sakano H, Yoshihara Y, Kikusui T, Touhara K (2010) The male mouse pheromone ESP1 enhances female sexual receptive behaviour through a specific vomeronasal receptor. *Nature* 466:118–123.

- Hart BL, Hart LA, Mania JN. (1987). Alteration in Vomeronasal System Anatomy in Alcelaphine Antelopes: Correlation With Alteration in Chemosensory Investigation. *Physiology and Behavior*. 42:155-162.
- Hashiguchi, Y., & Nishida, M. (2006). Evolution and origin of vomeronasal-type odorant receptor gene repertoire in fishes. *BMC evolutionary biology*, 6(1), 76.
- Hattori T, Osakada T, Masaoka T, Ooyama R, Horio N, Mogi K, Nagasawa M, Haga-Yamanaka S, Touhara K, Kikusui T (2017) Exocrine gland-secreting peptide 1 is a key chemosensory signal responsible for the Bruce effect in mice. *Curr Biol* 27(20):3197–201.
- Hecker N, Lächele U, Stuckas H, Giere P, Hiller M. 2019. Convergent vomeronasal system reduction in mammals coincides with convergent losses of calcium signalling and odorant-degrading genes. *Molecular Ecology* 28:3656–3668.
- Hinchliff CE, Smith SA, Allman JF, Burleigh JG, Chaudhary R, Coghill LM, Crandall KA, Deng J, Drew BT, Gazis R, Gude K, Hibbett DS, Katz LA, Laughinghouse HD 4th, McTavish EJ, Midford PE, Owen CL, Ree RH, Rees JA, Soltis DE, Williams T, Cranston KA. 2015. Synthesis of phylogeny and taxonomy into a comprehensive tree of life. *Proc Natl Acad Sci USA*. 112:12764–12769.
- Hughes, G. M., Boston, E. S., Finarelli, J. A., Murphy, W. J., Higgins, D. G., & Teeling, E. C. (2018). The birth and death of olfactory receptor gene families in mammalian niche adaptation. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1390-1406.
- Hunnicutt, K. E., Tiley, G. P., Williams, R. C., Larsen, P. A., Blanco, M. B., Rasoloarison, R. M., ... & Yoder, A. D. (2020). Comparative genomic analysis of the pheromone receptor Class 1 family (V1R) reveals extreme complexity in mouse lemurs (genus, Microcebus) and a chromosomal hotspot across mammals. *Genome Biology and Evolution*, 12(1), 3562-3579.
- Hunter AJ, Fleming D, Dixson AF. 1984. The structure of the vomeronasal organ and nasopalatine ducts in Aotus trivirgatus and some other primate species. *J Anat.* 138:217–225.
- Inagaki H, Kiyokawa Y, Tamogami S, Watanabe H, Takeuchi Y, Mori Y (2014) Identification of a pheromone that increases anxiety in rats. *Proc Natl Acad Sci.* 111(52): 18751-18756.
- Island HD, Wengeler J, Claussenius-Kalman, H. 2017. The Flehmen Response and Pseudosuckling in a Captive, Juvenile Southern Sea Otter (Enhydra lutris nereis). *Zoo Biology* 36: 30–39
- Jefferson TA, Webber MA, Pitman RL. 2008. Marine Mammals of the World: A Comprehensive Guide to Their Identification. *Academic Press/Elsevier*, 573 pp.
- Jiao, H., Hong, W., Nevo, E., Li, K., & Zhao, H. (2019). Convergent reduction of V1R genes in subterranean rodents. *BMC Evolutionary Biology*, 19(1), 1-9.
- Karlson, P., & Lüscher, M. (1959). 'Pheromones': a new term for a class of biologically active substances. *Nature*, 183(4653), 55-6.
- Katoh K, Frith MC. 2012. Adding unaligned sequences into an existing alignment using MAFFT and LAST. *Bioinformatics* 28:3144–3146.
- Katoh K, Kuma K, Toh H, Miyata T. 2005. MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic Acids Res.* 33:511-518
- Katoh K, Misawa K, Kuma K, Miyata T. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment

based on fast Fourier transform. Nucleic Acids Res. 30:3059-3066.

- Kelley, N. P., & Motani, R. (2015). Trophic convergence drives morphological convergence in marine tetrapods. *Biology Letters*, 11(1), 20140709.
- Kiemnec-Tyburczy KM, Woodley SK, Watts RA, Arnold SJ, Houck LD. 2012. Expression of vomeronasal receptors and related signaling molecules in the nasal cavity of a caudate amphibian (Plethodon shermani). *Chem. Senses* 37:335–46
- Kishida, T., Thewissen, J. G. M., Hayakawa, T., Imai, H., & Agata, K. (2015). Aquatic adaptation and the evolution of smell and taste in whales. *Zoological letters*, 1(1), 1-10.
- Li, W., Godzik, A., 2006. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. *Bioinformatics* 22, 1658–1659.
- Liman ER, Dulac C. 2007. Trpc2 and the molecular biology of pheromone detection in mammals. In: Liedtke WB, Heller S, editors. TRP ion channel function in sensory transduction and cellular signaling cascades. Boca Raton: CRC Press. p. 45–53.
- Liman ER, Innan H. 2003. Relaxed selective pressure on an essential component of pheromone transduction in primate evolution. *Proc Natl Acad Sci USA*. 100:3328–3332.
- Liu, Y., Cotton, J. A., Shen, B., Han, X., Rossiter, S. J., & Zhang, S. (2010). Convergent sequence evolution between echolocating bats and dolphins. *Current Biology*, 20(2), R53-R54.
- Lowell WR, Flanigan WF. 1980. Marine mammal chemo-reception. Mamm Rev. 10:53-59.
- Mackay-Sim A, Duvall D, Graves BM. 1985. The West Indian manatee (Trichechus manatus) lacks a vomeronasal organ. *Brain Behav Evol*. 27:186–194.
- Mandiyan VS, Coats JK, Shah NM. 2005. Deficits in sexual and aggressive behaviors in Cnga2 mutant mice. *Nat Neurosci.* 8:1660–1662.
- Meisami E, Bhatnagar KP. 1998. Structure and diversity in mammalian accessory olfactory bulb. *Microsc Res Tech.* 43:476–499.
- Meredith M. 1986. Vomeronasal organ removal before sexual experience impairs male hamster mating behavior. *Physiol Behav.* 36:737–743.
- Montague, M. J., Li, G., Gandolfi, B., Khan, R., Aken, B. L., Searle, S. M., ... & Driscoll, C. A. (2014). Comparative analysis of the domestic cat genome reveals genetic signatures underlying feline biology and domestication. *Proc Natl Acad Sci USA*., 111(48), 17230-17235.
- Moriya-Ito, K., Hayakawa, T., Suzuki, H., Hagino-Yamagishi, K., & Nikaido, M. (2018). Evolution of vomeronasal receptor 1 (V1R) genes in the common marmoset (Callithrix jacchus). *Gene*, 642, 343-353.
- Nakamuta S, Nakamuta N, Taniguchi K, Taniguchi K. 2012. Histological and ultrastructural characteristics of the primordial vomeronasal organ in lungfish. *Anat Rec.* 295:481–491.
- Nei, M., Niimura, Y., and Nozawa, M. (2008) The evolution of animal chemosensory receptor gene repertoires: roles of chance and necessity. *Nat. Rev. Genet.* 9, 951–963.
- Niimura Y, Nei M. 2007. Extensive gains and losses of olfactory receptor genes in mammalian evolution. *PLoS One* 2(8):e708.
- Niimura, Y., Matsui, A., & Touhara, K. (2018). Acceleration of olfactory receptor gene loss in primate evolution:

possible link to anatomical change in sensory systems and dietary transition. *Molecular Biology and Evolution*, 35(6), 1437-1450.

- Nikaido (2019) Evolution of V1R pheromone receptor genes in vertebrates: diversity and commonality. *Genes Genet Syst.* 94:141–149
- Nikaido, M., Noguchi, H., Nishihara, H., Toyoda, A., Suzuki, Y., Kajitani, R., Suzuki, H., Okuno, M., Aibara, M., Ngatunga, B. P., et al. (2013) Coelacanth genomes reveal signatures for evolutionary transition from water to land. *Genome Res.* 23, 1740–1748.
- Nikaido, M., Suzuki, H., Toyoda, A., Fujiyama, A., Hagino-Yamagishi, K., Kocher, T. D., ... & Okada, N. (2013). Lineage-specific expansion of vomeronasal type 2 receptor-like (OlfC) genes in cichlids may contribute to diversification of amino acid detection systems. *Genome Biology and Evolution*, 5(4), 711-722.
- Oelschläiger H. 1989. Early development of the olfactory and terminalis system in baleen whales. *Brain Behav Evol.* 34:171–183.
- Ohara H, Nikaido M, Date-Ito A, Mogi K, Okamura H, Okada N, Takeuchi Y, Mori Y, Hagino-Yamagishi K. 2009. Conserved repertoire of orthologous vomeronasal type 1 receptor genes in ruminant species. BMC Evol Biol. 9:e233.
- Owerkowicz, T., Musinsky, C., Middleton, K. M., & Crompton, A. W. (2015). Respiratory turbinates and the evolution of endothermy in mammals and birds. *Great Transformations in Vertebrate Evolution*, 143-165.
- Pfister, P., Randall, J., Montoya-Burgos, J. I., and Rodriguez, I. (2007) Divergent evolution among teleost V1r receptor genes. *PLoS One* 2, e379.
- Picone, B., Hesse, U., Panji, S., Van Heusden, P., Jonas, M., & Christoffels, A. (2014). Taste and odorant receptors of the coelacanth—a gene repertoire in transition. *Journal of Experimental Zoology Part B: Molecular and Developmental Evolution*, 322(6), 403-414.
- Prieto-Godino LL, Rytz R, Bargeton B, Abuin L, Arguello JR, Peraro MD, Benton R. 2016 Olfactory receptor pseudo-pseudogenes. Nature 539:93–97.
- Resh, V. H., & Cardé, R. T. (Eds.). (2009). Encyclopedia of insects. Academic press.
- Rodriguez, I., Greer, C. A., Mok, M. Y., and Mombaerts, P. (2000) A putative pheromone receptor gene expressed in human olfactory mucosa. *Nat. Genet.* 26, 18–19.
- Saraiva, L. R., and Korsching, S. I. (2007) A novel olfactory receptor gene family in teleost fish. *Genome Res.* 17, 1448–1457.
- Sato Y, Miyasaka N, Yoshihara Y. 2005. Mutually exclusive glomerular innervation by two distinct types of olfactory sensory neurons revealed in transgenic zebrafish. *J Neurosci*. 25:4889–4897.
- Seton, ET. (1898). Wild animals I have known: The Springfield Fox (II). *Internet Archive*. https://archive.org/details/wildanimalsihave00seto
- Sharma V, Hecker N, Roscito JG, Foerster L, Langer BE, Hiller M. 2018. A genomics approach reveals insights into the importance of gene losses for mammalian adaptations. *Nat Commun.* 9:e1215.
- Sharma, K., Syed, A. S., Ferrando, S., Mazan, S., & Korsching, S. I. (2019). The chemosensory receptor repertoire of a true shark is dominated by a single olfactory receptor family. *Genome Biology and Evolution*, 11(2), 398-405.

- Shi, P., and Zhang, J. (2007) Comparative genomic analysis identifies an evolutionary shift of vomeronasal receptor gene repertoires in the vertebrate transition from water to land. *Genome Res.* 17, 166–174.
- Shirasu, M., Yoshikawa, K., Takai, Y., Nakashima, A., Takeuchi, H., Sakano, H., & Touhara, K. (2014). Olfactory receptor and neural pathway responsible for highly selective sensing of musk odors. *Neuron*, 81(1), 165-178.
- Silva L, Antunes A. 2017. Vomeronasal Receptors in Vertebrates and the Evolution of Pheromone Detection. *Annu Rev Anim Biosci.* 5:353-370.
- Slater, G.S., Birney, E., 2005. Automated generation of heuristics for biological sequence comparison. BMC *Bioinformatics* 6, 31.
- Smith TD, Garrett EC, Bhatnagar KP, Bonar CJ, Bruening AE, Dennis JC, Kinznger JH, Johnson EW, Morrison EE. 2011. The vomeronasal organ of new world monkeys (platyrrhini). *Anat Rec.* 294:2158–2178.
- Smith TD, Laitman JT, Bhatnagar KP. 2014. The shrinking anthropoid nose, the human vomeronasal organ, and the language of anatomical reduction. *Anat Rec.* 297:2196–2204.
- Speca, D. J., Lin, D. M., Sorensen, P. W., Isacoff, E. Y., Ngai, J., & Dittman, A. H. (1999). Functional identification of a goldfish odorant receptor. *Neuron*, 23(3), 487-498.
- Springer MS, Gatesy J. 2017. Inactivation of the olfactory marker protein (OMP) gene in river dolphins and other odontocete cetaceans. *Mol Phylogenet Evol*. 109:375–387.
- Springer MS, Gatesy J. 2018. Evolution of the MC5R gene in placental mammals with evidence for its inactivation in multiple lineages that lack sebaceous glands. *Mol Phylogenet Evol.* 120:364–374.
- Springer MS, Starrett J, Morin PA, Lanzetti A, Hayashi C, Gatesy J. 2016. Inactivation of C4orf26 in toothless placental mammals. *Mol Phylogenet Evol*. 95:34–45.
- Steiger, S. S., Kuryshev, V. Y., Stensmyr, M. C., Kempenaers, B., & Mueller, J. C. (2009). A comparison of reptilian and avian olfactory receptor gene repertoires: species-specific expansion of group γ genes in birds. *BMC Genomics*, 10(1), 446.
- Stowers L, Holy TE, Meister M, Dulac C, Koentges G. 2002. Loss of sex discrimination and male-male aggression in mice deficient for TRP2. *Science* 295:1493–1500.
- Suyama M, Torrents D, Bork P. 2006. PAL2NAL: robust conversion of protein sequence alignments into the corresponding codon alignments. *Nucleic Acids Res.* 34:W609–W612.
- Suzuki H, Nishida H, Kondo H, Yoda R, Iwata T, Nakayama K, Enomoto T, Wu J, Moriya-Ito K, Miyazaki M, Wakabayashi Y, Kishida T, Okabe M, Suzuki Y, Ito T, Hirota J, Nikaido M. 2018. A single pheromone receptor gene conserved across 400 million years of vertebrate evolution. *Mol Biol Evol*. 35:2928–2939.
- Suzuki, S., Kakuta, M., Ishida, T., Akiyama, Y., 2015. Faster sequence homology searches by clustering subsequences. *Bioinformatics* 31, 1183–1190.
- Switzer RC, Johnson JJ, Kirsch JAW. 1980. Phylogeny through brain traits: relation of lateral olfactory tract fibers to the accessory olfactory formation as a palimpsest of mammalian descent. *Brain Behav Evol*. 17:339–363.
- Tomiyasu, J., Kondoh, D., Sakamoto, H., Matsumoto, N., Sasaki, M., Kitamura, N., ... & Matsui, M. (2017). Morphological and histological features of the vomeronasal organ in the brown bear. *Journal of Anatomy*,

231(5), 749-757.

- Uhen, M. D. (2007). Evolution of marine mammals: back to the sea after 300 million years. The Anatomical Record: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology: Advances in Integrative Anatomy and Evolutionary Biology, 290(6), 514-522.
- Webb, D. M., Cortés-Ortiz, L., & Zhang, J. (2004). Genetic evidence for the coexistence of pheromone perception and full trichromatic vision in howler monkeys. *Molecular Biology and Evolution*, 21(4), 697-704.
- Wible JR, Bhatnagar KP. 1996. Chiropteran vomeronasal complex and the interfamilial relationships of bats. *J Mammal Evol.* 3:285–314.
- Wyatt TD. (2012) Pheromones and animal behavior. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Wysocki CJ, Lepri JL. 1991. Consequences of removing the vomeronasal organ. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 39:661–669.
- Wysocki CJ. 1979. Neurobehavioral evidence for the involvement of the vomeronasal system in mammalian reproduction. *Neurosci Biobehav Rev.* 3:301–341.
- Yang Z, Nielsen R. 1998. Synonymous and nonsynonymous rate variation in nuclear genes of mammals. J Mol Evol. 46:409–418.
- Yang Z. 1998. Likelihood ratio tests for detecting positive selection and application to primate lysozyme evolution. *Mol Biol Evol.* 15:568–573.
- Yang Z. 2007. PAML 4: a program package for phylogenetic analysis by maximum likelihood. *Mol Biol Evol*. 24:1586–1591.
- Yang, L., Jiang, H., Wang, Y., Lei, Y., Chen, J., Sun, N., ... & He, S. (2019). Expansion of vomeronasal receptor genes (OlfC) in the evolution of fright reaction in Ostariophysan fishes. *Communications Biology*, 2(1), 1-12.
- Yoder AD, Burns MM, Zehr S, Delefosse T, Veron G, Goodman SM, Flynn JJ. 2003. Single origin of Malagasy Carnivora from an African ancestor. *Nature*. 421:734–737.
- Yoder, A.D., Larsen, P.A., 2014. The molecular evolutionary dynamics of the vomeronasal receptor (class 1) genes in primates: a gene family on the verge of a functional breakdown. *Front. Neuroanat.* 8, 153.
- Yohe LR, Abubakar R, Giordano C, Dumont E, Sears KE, Rossiter SJ, Dávalos LM. 2017. Trpc2 pseudogenization dynamics in bats reveal ancestral vomeronasal signaling, then pervasive loss. *Evolution* 71:923–935.
- Yohe LR, Hoffmann S, Curtis A. 2018. Vomeronasal and Olfactory Structures in Bats Revealed by DiceCT Clarify Genetic Evidence of Function. *Front Neuroanat*. 12: e32.
- Yohe, L. R., Davies, K. T., Rossiter, S. J., & Dávalos, L. M. (2019). Expressed vomeronasal type-1 receptors (V1rs) in bats uncover conserved sequences underlying social chemical signaling. *Genome Biology and Evolution*, 11(10), 2741-2749.
- Yokoyama, S., and Radlwimmer, BF. (2001). The molecular genetics and evolution of red and green color vision in vertebrates. *Genetics Society of America*. 158: 1697-1710.
- Young JM, Massa HF, Hsu L, Trask BJ. 2010. Extreme variability among mammalian V1R gene families.

Genome Res. 20:10–18.

- Yu L, Jin W, Wang JX, Zhang X, Chen MM, Zhu ZH, Lee H, Lee M, Zhang YP. 2010. Characterization of TRPC2, an essential genetic component of VNS chemoreception, provides insights into the evolution of pheromonal olfaction in secondary-adapted marine mammals. *Mol Biol Evol*. 27:1467–1477.
- Zapilko, V., & Korsching, S. I. (2016). Tetrapod V1R-like ora genes in an early-diverging ray-finned fish species: the canonical six ora gene repertoire of teleost fish resulted from gene loss in a larger ancestral repertoire. *BMC Genomics*, 17(1), 83.
- Zhang J, Webb DM. 2003. Evolutionary deterioration of the vomeronasal pheromone transduction pathway in catarrhine primates. *Proc Natl Acad Sci USA*. 100:8337–8341.
- Zhao H, Xu D, Zhang S, Zhang J. 2011. Widespread losses of vomeronasal signal transduction in bats. *Mol Biol Evol.* 28:7–12.
- Zufall, F., Ukhanov, K., Lucas, P., & Leinders-Zufall, T. (2005). Neurobiology of TRPC2: from gene to behavior. *Pflügers Archiv*, 451(1), 61-71.
- Zuri, I., Kaffe, I., Dayan, D., & Terkel, J. (1999). Incisor adaptation to fossorial life in the blind mole-rax Spalax ehrenbergi. *Journal of Mammalogy*, 80(3), 734-741.
- 科研費.com (2017) 仮説駆動型とデータ駆動型 https://xn--w8yz0bc56a.com/hypothesis-driven/
- 市川 眞澄. (2019) フェロモン. 脳科学辞典 https://bsd.neuroinf.jp/wiki/フェロモン

謝辞

本研究の当たり多大なるご支援とご指導を頂きました山村雅幸教授と二階堂雅人准教授に感謝いた します。博士課程3年生の後期から研究室を変えるという思い切った決断はお二方の理解がなけれ ば実現しませんでした。このような決断を理解していただいた両親にも感謝いたします。本研究の 遺伝子解析手法はマサチューセッツ工科大学 Dr. Greg P. Fournier に技術指導いただきました。感謝 いたします。また、大学院生活の約10年間で誰よりも長い時間を一緒に過ごした山村研究室の在学 生・卒業生の皆様に感謝いたします。