
ヒト温度受容体遺伝子の起源とその多様性

17570004

平成17年度～平成18年度科学研究費補助金
(基盤研究(C))研究成果報告書

平成19年6月

研究代表者 颯田葉子
総合研究大学院大学先導科学研究科教授

はしがき

生物は様々な受容体を通して音、光、匂いなどの外界環境からの情報（刺激）を得て、それに対して適切な反応をしている。これらの受容体が様々な外部環境の変化に呼応して進化してきたこと、また受容体の多様性が、それぞれの生物の棲息環境を規定するうえで重要な役割を担ってきたのは間違いない。温度受容体はこのような受容体の一つである。ヒトやマウスでは現在までに異なる温度に対応する9種類の受容体分子が知られている。本研究ではヒトが、なぜこのような温度に対応する受容体を、いつどのように進化させてきたのか、また脱アフリカ以降世界各地に適応していった過程に温度受容体の多様性がどのような役割を果たしてきたかを明らかにすることを目的とする。そのため、これら温度受容体遺伝子の進化と、ヒト集団における温度受容体の多型に焦点をあてて研究を遂行した。

研究組織

研究代表者：颯田葉子（総合研究大学院大学先導科学研究科教授）
（研究協力者：安芸郁子）
（研究協力者：久野香）

交付決定額（配分額）

（金額単位：円）

	直接経費	間接経費	合計
平成17年度	1,800,000	0	1,800,000
平成18年度	1,700,000	0	1,700,000
総計	3,500,000	0	3,500,000

研究発表

- (1) 学会誌等
颯田葉子、感覚分子からみたヒトの進化、ファルマシア 43 : 405-409. (2007)
- (2) 口頭発表
颯田葉子、脊椎動物温度感受性受容体 TRPV サブファミリーの起源と多様性について、第78回遺伝学会（筑波）、2006年9月25日-27日
Yoko Satta, The origin and diversity of temperature sensory receptors in mammals, Annual meeting of Society of Molecular Biology and Evolution (Tempe, Arizona), 2006. 6. 25-28.

研究成果

<まとめ>

平成17年度

- 1) 温度受容体遺伝子の分子進化：ヒト、チンパンジー、ウシ、イヌ、マウス、ラット、ニワトリ、ゼブラフィッシュのゲノムデータベースから高熱刺激受容体2種および温刺激受容体2種のオーソログあるいはパラログを単離し、分子進化学的解析を行なった。その結果進化速度が受容体のメンバー間で異なること、魚類には2種類の受容体しか存在しないこと等が明らかになった。また哺乳類の温度受容体での正の自然選択の可能性を現在調べている。これらの結果は平成18年度中に国際誌に投稿する予定である。
- 2) ヒト集団の温度受容体遺伝子の多様性：異なる民族集団において、温度受容体の多様性を調べる実験を開始した。今年度は高熱受容体の一つである TRPV1 遺伝子の多様性を調べることにした。イオンチャンネルを形成する膜貫通ドメインを含むおよそ5kbの領域について塩基配列を決定する実験を開始した。平成18年度中には、塩基配列の決定を終え、解析に移行する予定である

平成18年度

- 1) 温度受容体遺伝子の分子進化：ヒト、ウシ、イヌ、マウス、ラット、ニワトリ、ゼブラフィッシュのゲノムデータベースから高熱刺激受容体2種および温刺激受容体2種のオーソログあるいはパラログを単離し、分子進化学的解析を行なった。その結果これらの分子の進化速度は受容体のメンバー間で異なること、魚類には2種類の受容体しか存在しないこと、また、鳥類とほ乳類の祖先へいたる系統で過剰なアミノ酸置換が観察され、機能的分化との関連が示唆された。これらの結果を現在国際誌 (Molecular Biology and Evolution) に投稿中である (添付資料参照)。
- 2) ヒト集団の温度受容体遺伝子の多様性：異なる民族集団において、温度受容体の多様性を調べる実験を開始した。今年度は高熱受容体の一つである TRPV1 遺伝子の多様性を調べた。イオンチャンネルを形成する膜貫通ドメインを含むおよそ5kbの領域について68個体から塩基配列を決定した。現在これらの解析を行っており、平成19年度中には国際誌に投稿予定である。

<口頭発表での講演要旨>

- 1) 脊椎動物温度感受性受容体 TRPV サブファミリーの起源と多様性について
—The origin and diversity of temperature sensory receptors in vertebrates—
第 78 回遺伝学会 (筑波)、2006 年 9 月 25 日—27 日

脊椎動物の温度感受受容体は現在までに 9 種類知られているが、その中でも 30°C 以上の温度に対応している 4 種類の TRPV 分子について、データベース検索により哺乳類、鳥類、両生類、魚類、およびホヤで相同遺伝子の配列を得ることができた。これらの配列を用いて分子進化学的解析を行なったところ、変温動物と分岐した恒温動物の祖先で特にアミノ酸に変化を与える置換の速度が加速されている結果を得た。このアミノ酸置換の起きているアミノ酸座位を特定すると、異なる TRPV 分子間で同じ座位に起きているアミノ酸置換が観察された。これらのアミノ酸座位での置換と体温維持機構の変化との共進化の可能性について議論する。

Vertebrates sense ambient temperature through receptors in endings of primary afferent sensory neurons. Especially the mammalian sensory system is capable of detecting and discriminating thermal stimuli over a broad temperature spectrum, ranging from noxious cold to noxious heat. At present, nine receptors are known to react different ranges of temperature. These receptors belong to the transient receptor potential (TRP) family. Among them four TRPV receptors responsible for temperature over 30 degree (Celsius) are focused in this study. Phylogenetic studies of these thermo-TRPs from mammals, birds, amphibians, fish and tunicates show 1) the presence of orthologs in fish and two ancestral types of sequences in tunicates, 2) acceleration of the amino acid substitution rate in the stem lineage leading to birds and mammals, and 3) the concentration of these amino acid substitutions in the C-terminal region of TRP molecules. Based on these observations, I will discuss the relationship between these amino acid substitutions and acquisition of homeothermy.

- 2) The origin and diversity of temperature sensory receptors in mammals, Annual Meeting of Society of Molecular Biology and Evolution (Tempe, Arizona), 2006. 6. 25-28.

Mammals sense ambient temperature through receptors in endings of primary afferent sensory neurons. The mammalian sensory system is capable of detecting and discriminating thermal stimuli over a broad temperature spectrum, ranging from noxious cold to noxious heat. At present, six receptors are known to react different ranges of temperature. These receptors belong to the transient receptor potential (TRP) superfamily. Phylogenetic studies of these thermo-TRPs from mammals and other vertebrates show 1) a few thermo-TRPs in vertebrate ancestors and subsequent diversification in mammals, 2) evolutionary rate variation among gene families, and 3) amino acid substitutions responsible for functional differentiation.

添付資料:

1) 投稿論文

Amino acids in thermosensory TRP receptors shared between homeothermic animals

2) 発表総説

感覚分子からみたヒトの進化

**Amino acids in thermosensory TRP receptors shared between
homeothermic animals**

Yoko Satta

Department of Biosystems Science, The Graduate University for Advanced Studies

(Sokendai), Shonan Village, Hayama, Kanagawa, 240-0193, Japan.

Key words: transient receptor potential (TRP), vertebrate phylogeny, parallel substitutions,
cold- and warm-blooded animals

E-mail: satta@soken.ac.jp

Running head: Molecular evolution of thermosensory receptors

Title length: 68 characters

Abstract length: 131 words

Total length of text: 10,599 characters

Number of references: 19

Abstract

Animals sense ambient physico-chemical fluctuations through receptors in their sensory systems. These temperature sensors are capable of detecting and discriminating stimuli over a broad spectrum of temperatures. These molecules are members of three subfamilies (TRPV, TRPM and TRPA) of the transient receptor potential (TRP) family. A larger number of TRP paralogs have been found in terrestrial animal genomes than in the fish genome. In mammals, there are nine such receptor genes, of which four (TRPV1~4) are responsible for sensing either warm or hot. Phylogenetic studies of TRPV1~4 in vertebrates have revealed excessive amino acid substitutions in the stem lineage of birds and mammals for each TRPV, suggesting either accelerated substitution rates or frequent occurrences of convergent evolution. These substitutions may be related to the development of body temperature controlling system in warm-blooded animals.

Living organisms sense and respond to environmental fluctuations often through ion channels acting as cellular sensors that transfer ambient signals into cellular signal pathways. One such sensor is the transient receptor potential (TRP) molecule, which was initially identified in *Drosophila* photo-transduction as a light- and Ca^{2+} - sensitive ion channel (Hardie and Minke 1992). Vertebrate *TRP* homologs were first identified from *Xenopus* oocyte and mouse brain cDNA libraries (Patterson et al. 1995), and the full-length human *TRP* homologs have also been reported (Wise et al. 1995). Subsequently, a number of vertebrate *TRP* homologs were cloned and sequenced (for reviews, see Minke and Cook 2002). Although these molecules share the common structure of the six-fold trans-membrane (6TM) domain, they differ in sequence and structure, especially at their C and N termini. These structural differences allow classification of the vertebrate *TRP* gene family into six subfamilies: the classical TRPs (TRPCs), the vanilloid receptor TRPs (TRPVs), the melastin TRPs (TRPMs), the mucolipin TRPs (TRPMLs), the polycystin TRPs (TRPPs), and the ankyrin transmembrane protein 1 (TRPA1). Each subfamily consists of one to eight members, and these members mediate a variety of responses, such as to pheromones, mechanical and/or chemical signals, temperatures, pH, osmolarity, vasorelaxation of blood vessels, and metabolic stresses (Minke and Cook 2002; Clapham 2003; Moran, Xu, and Clapham 2004).

Thermo-TRPs have been most extensively studied with regard to function, structure and ion-gate opening mechanisms. Up until now, nine different molecules (TRPV1, TRPV2, TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4, TRPM5, TRPM8, and TRPA1) have been identified as thermo-receptors in humans and mice (Tominaga and Caterina 2004, Talavera et al. 2005;

Togashi et al. 2006). Temperatures detected by these molecules range from noxious cold (< 15°C) to noxious hot (> 52°C), but the temperature ranges detected are specific to molecules: TRPV3, TRPV4, TRPM2, TRPM4, and TRPM5 for warm (15 to 38°C), TRPM8 and TRPA1 for cold (< 15°C), and TRPV1 and TRPV2 for hot (> 42°C) temperatures. These receptors are expressed, not only at sensory nerve ends, but also in organs or tissues, allowing detection of both internal and external temperatures. Despite progress in physiological studies, very little is known about the evolution of these TRP members. In this letter, phylogenetic studies of available vertebrate thermo-receptors and evolutionary characteristics of these receptors are reported.

Thermo-TRP homologs are present in a wide variety of animal genomes, including tunicate (Supplementary table1, table 1), and worm (data not shown) genomes. By using the full-length amino acid sequences of human thermo-TRPs as queries, two tunicate homologs were identified, but these are paralogous to all vertebrate sequences and were therefore used to root the tree. Thermo-TRP orthologs and paralogs were identified in fish, frog, chicken, and mammal genomes (table 1). In zebrafish (*Danio rerio*), a single *TRPV* sequence is orthologous to both human heat-sensing *TRPV1* and *TRPV2*, so that this gene is tentatively designated as *DareTRPV1/2*. In the fish genome, an ortholog to warm-sensing *TRPV4* is present, but orthologs to another warm-sensing *TRPV3* and cold thermo-sensing *TRPM8* are absent (Table1). Because thermal fluctuation is less severe in aquatic environments than in terrestrial environments, fish may be able to lose several thermo-receptors or may not need to develop them. On the other hand, the western African clawed frog (*Xenopus tropicalis*)

possesses all but the *TRPM5* ortholog of temperature-sensing receptor molecules. In addition, frog *TRPV4* is duplicated several times in the genome (Saitou and Shingai 2006). However, neo-functionalization of these duplicates is still poorly understood. Recently, reptile TRPV1 and TRPM8 sequences have been reported (Seebacher and Murray 2007), but since these sequences are partial (~ 120 a. a.), they are not included in this analysis.

Owing to frequent occurrences of indels and incompleteness of cDNA or genomic DNA sequences, the amino acid sequences that can be compared for all nine TRPs are rather short. Also, owing to the incompleteness of the *TRPM2* sequence in_frog, as well as absences of *TRPM4* in chicken, *TRPM5* in frog and *TRPM8* in fishes, phylogenetic analyses were restricted to the *TRPV* subfamily from vertebrates. The human *TRPV* subfamily consists of six distinct members (*TRPV1~6*), of which *TRPV1~4* are responsible for temperature sensing. Based on the amino acid sequence alignment (Supplementary fig. 1), ME, MP, and NJ trees were reconstructed using MEGA3 (Kumar, Tamura, Nei 2003). Since these trees are nearly identical topologically, only the NJ tree (Saitou and Nei 1987) with JTT-distances (Jones, Taylor and Thornton 1992) is presented (fig. 1).

In this tree (fig. 1), *TRPV1~4* form distinct clusters. Branching of *DareTRPV1/2* occurs earlier than the divergence between *TRPV1* and *TRPV2*, supporting the presence of the common ancestral gene of *TRPV1* and *TRPV2* in the fish genome. On the other hand, chicken lacks the ability to sense heat as mediated by capsaicin (major constituent of hot chili peppers) and which is mediated by *TRPV1* in mammals (Jordt and Julius 2002). In fact, a *TRPV1* ortholog exists in the chicken genome_and the branch length leading to chicken

TRPV1 was found to be as short as that to mammalian *TRPV1*. These findings indicate that chicken *TRPV1* remains functional and that loss of capsaicin sensitivity may be the result of local modifications to the molecule (Jordt and Julius 2002).

Figure 1 shows that the branch lengths leading to the same OTUs for different *TRPV* members varies. This is likely due to different degrees of functional constraint against nonsynonymous substitutions. To quantify these differences, the ratio (f) of nonsynonymous to the synonymous nucleotide divergences was computed for each *TRPV* member separately. In the comparison between chicken and mammals, however, a large number of multiple substitutions prevented the accurate inference of the actual number of synonymous substitutions. So, f was computed for all branches leading from the common mammalian ancestor to the dog, human, mouse and rat (Supplementary table 2). The resulting ratios (0.07 to 0.24) were comparable to or higher than the median value (0.115) in the comparison of orthologous sequences between the human and mouse (Mouse Genome Sequencing Consortium 2002). In particular, with the exception of *TRPV4*, f in each external branch was relatively large in the lineage leading to human sequences (Supplementary table 2). This suggests that relaxation of constraints or the functional alternation of these molecules specifically took place in the lineage leading to humans (Satta 2001, Bakewell, Shi, and Zhang 2007).

The numbers of amino acid substitutions on the internal and external branches in the tree (fig. 1) are plotted (fig. 2a, b) against length of time for the vertebrate evolution (Kumar and Hedges 1998, Hedges and Kumar 2003). Numbers of substitutions were roughly proportional

to lengths of time of individual branches. The sole apparent exception is the large number associated with branch AB that corresponds to ~ 55 myr. In four TRPVs, 59 amino acid substitutions took place on branch AB. To examine the statistical significance of this observation, the proportion of the number of amino acid substitutions on AB to BM branches in each *TRPV* was tested against the inferred length of time. Given the expected proportion of 1:4 (AB = ~ 55 myr and BM = ~ 215 myr), the number of substitutions on the AB branch for *TRPV1* and 2 were found to be significantly larger ($P < 0.005$ for *TRPV1* and $P < 0.01$ for *TRPV2*, Table 2). On the other hand, for housekeeping genes (malate dehydrogenase 1: *MDH1* and phosphoenolpyruvate carboxykinase 1: *PKC1*, Supplementary fig. 2), the number of amino acid substitutions on these branches were 5:15 for *MDH1* and 4:19 for *PKC1* and these are not significantly different from the expectation ($X^2=0.32$, $P > 0.8$). For *TRPV3* and *TRPV4*, the tendency for more substitutions in AB branch than expectation was observed, although differences were not significant.

The number of substitutions exceeding the expectation is likely due to either accelerated amino acid substitution rates on branch AB or parallel substitutions in different lineages leading to birds and mammals. Whatever the reason, it is likely that some of these amino acid substitutions could cause functional changes in these molecules. In fact, 47 amino acids are shown to be identical in birds and mammals but differ from those in any other TRPVs (Supplementary fig. 3), and 28 (~60%) of them physico-chemically differ from those of the frog ortholog. In particular, amino acids at positions 153, 339, 346 and 947 are bird-mammal specific in different TRPVs. These sites might be involved in the functional divergence

between frog and birds/mammals. Interestingly, both birds and mammals developed homeothermy and these bird-mammal specific amino acids may be related to the evolution of the body temperature-controlling system: from poikilothermy to homeothermy.

Literature Cited

- Bakewell MA, Shi P, Zhang J. 2007. More genes underwent positive selection in chimpanzee evolution than in human evolution. Proc. Natl. Acad. Sci. USA. (published on line)
- Clapham DE. 2003. TRP channels as cellular sensors. Nature 426:517-524.
- Hardie RC, Minke B. 1992. The *trp* gene is essential for light-activated Ca²⁺ channel in *Drosophila* photoreceptors. Neuron 8:643-651.
- Hedges B, Kumar S. 2003. Genomic clocks and evolutionary timescales. Trends in Genet. 19: 200-206.
- Jones DT, Taylor WR, Thornton JM. 1992. The rapid generation of mutation data matrices from protein sequences. Comput Appl Biosci 8:275-282.
- Jordt S-E, Julius D. 2002. Molecular Basis for species-specific sensitivity to "hot" Chili peppers. Cell 108:421-430.
- Kumar S, Hedges B. 1998. A molecular timescale for vertebrate evolution. Nature 392: 917-920.
- Minke B, Cook B. 2002. TRP channel proteins and signal transduction. Physiol. Rev. 82:429-472.
- Mora MM, Xu H, Clapham DE. 2004. TRP ion channels in the nervous system. Curr. Opin. Neurobiol. 14: 362-369
- Mouse Genome Sequencing Consortium. 2002. Initial sequencing and comparative analysis of the mouse genome. Nature 420:520-562.
- Perterson CCH, Berridge MJ, Borgese MF, Bennett DL. 1995. Putative capacitative calcium

- entry channels: expression of *Drosophila trp* and evidence for the existence of vertebrate homologues. *Biochem. J.* 15: 41-44.
- Saitou N, Nei M. 1987. The neighbor-joining method: A new method for reconstructing Phylogenetic trees. *Mol. Biol. Evol.* 4:406-425.
- Saito S, Shingai R. 2006 Evolution of thermo TRP ion channel homolog in vertebrates. *Physiol. genomics* 27: 219-230.
- Satta Y. 2001 Comparison of DNA and protein polymorphisms between humans and chimpanzees. *Genes Genet. Syst.* 76: 159-168.
- Seebacher F, Murray SA. 2007 Transient receptor potential ion channels control thermoregulatory behaviour in reptiles. *PLoS One* 2:e281.
- Talavera K, Yasumatsu K, Voets T, Droogmans G, Shigemura N, Ninomiya Y, Margolskee RF, Nilius B. 2005. Heat activation of TRPM5 underlies thermal sensitivity of sweet taste. *Nature* 438:1022-1025.
- Togashi K, Hara Y, Tominaga T, Higashi T, Konishi Y, Mori Y, Tominaga M. 2006 TRPM2 activation by cyclic ADP-ribose at body temperature is involved in insulin secretion. *EMBO J.* 25: 1804-1815.
- Tominaga M, Caterina MJ. 2004 Thermosensation and Pain. *J. Neurobiol.* 61: 3-12.
- Wise PD, Chevesich J, Jeromin A, Rosenberg C, Stettem G, Montel C. 1995 *Trpl*, a human homolog of *Drosophila* store-operated channel. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 92:9652-9656.

Figure Legends

Figure 1. NJ tree of vertebrate TRPV amino acid sequences.

The number of amino acid substitutions for each branch was estimated using the JTT model (Jones, Taylor, Thornton 1992) under the option of complete deletion (MEGA 3: Kumar, Tamura, Nei 2003). The total number of amino acids compared was 311 residues. Abbreviations are the same as in Supplementary Table 1.

Figure 2. The inferred time frame of vertebrate evolution (a) and the number of amino acid substitutions for each branch (b).

Assumed divergences in time are based on Kumar and Hedges (1998) and Hedges and Kumar (2003). The number of substitutions for each branch was estimated under the JTT model and is plotted against the actual lengths (in years) of the branches.

Table 1 Presence (+) of human TRP orthologs in vertebrate and invertebrate genomes

	TRPV1	TRPV2	TRPV3	TRPV4	TRPM2	TRPM4	TRPM5	TRPM8	TRPA1
Mammals	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Birds (chicken)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Amphibians (clawed frog)	+	+	+	+ ^e	+	+	N.D. ^d	+	+
Fishes (zebra fish)	+ ^a		N.D	+	+	N.D	+	N.D	+
Tunicates		+ ^b			+ ^c	N.D	N.D	N.D	N.D

a: The sequence is an ancestral type of *TRPV1* and *TRPV2*. Reciprocal blast hits both as the most homologous sequences

b: All six *TRPV* sequences including *TRPV5* and *TRPV6* show the similarity to two sequences (Cin *TRPV1* and *TRPV2*) in *Ciona intestinalis*.

c: This homolog sequence is found in *Ciona savignyi*.

d: N.D. means "not detected".

e: Several homologs are found. Functional differentiation is suggested (Saitou and Shingai 2006).

Table 2. The observed (expected) number of amino acid substitutions in branch AB and BM.

	<i>TRPV1</i>	<i>TRPV2</i>	<i>TRPV3</i>	<i>TRPV4</i>	<i>PCK1</i>	<i>DMHI</i>
L ^a	311	311	311	311	333	622
Branch AB	16 (8)	24 (14.8)	14 (9.4)	5 (3.0)	4 (4.6)	5 (4.0)
Branch BM	24 (32)	50 (59.2)	33 (37.6)	10 (12.0)	19 (18.4)	15 (16.0)
P ^b (1:4)	$P < 0.005$	$P < 0.01$	$0.05 < P < 0.1$	$0.1 < P < 0.5$	$P > 0.5$	$P > 0.5$

a: The number of compared amino acid residues

b: The statistical significance is examined by the chi-square test. For *TRPV4*, *PCK1* and *DMHI*, Fisher's exact test gives the similar result.

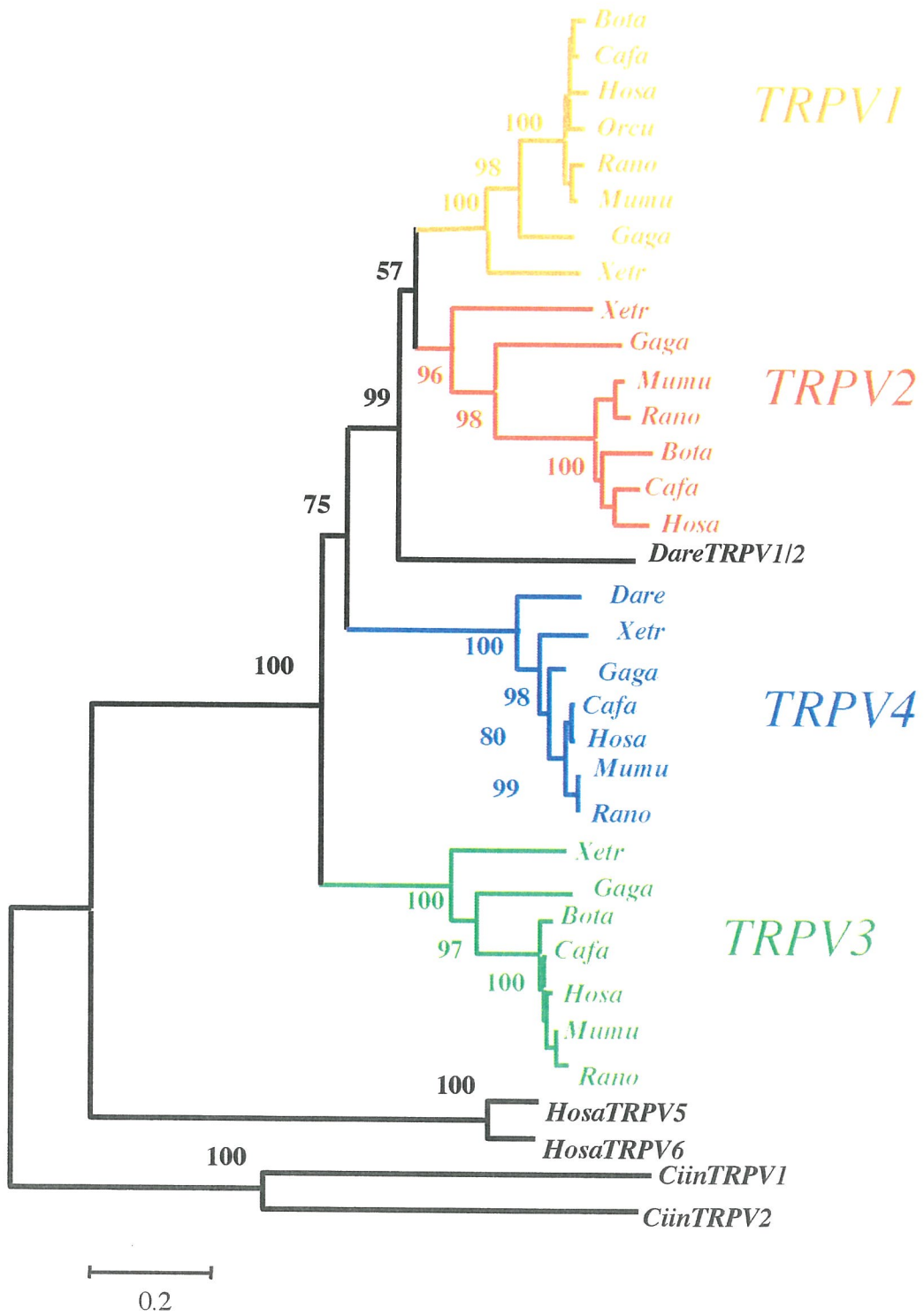


Figure 1

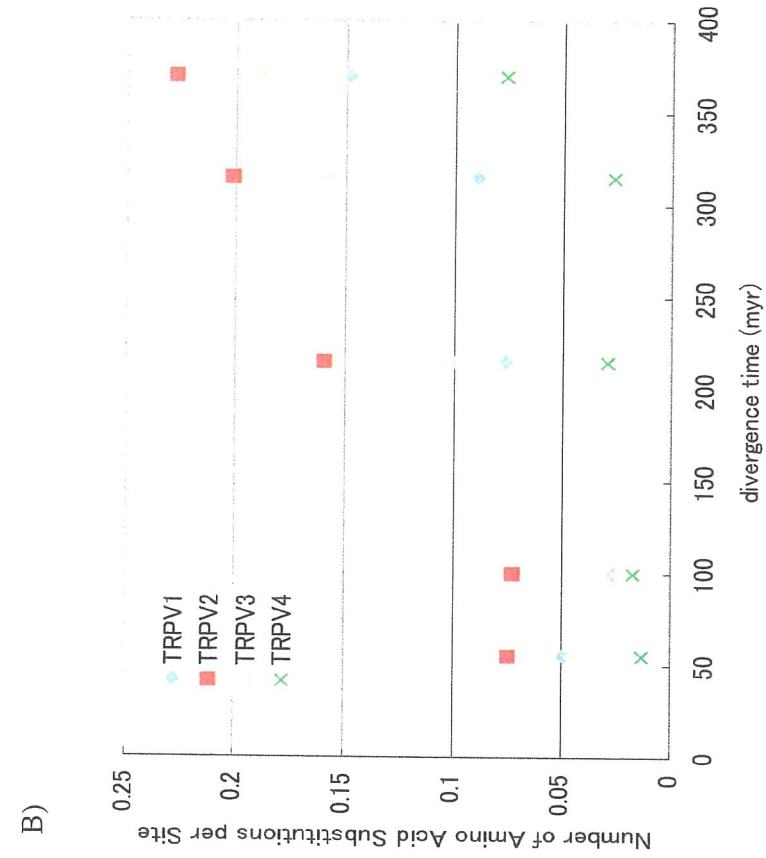


Figure 2

Supplementary Table 1. Accession numbers of sequences used in this study

Gene	Accession number	Gene	Accession number
Bota TRPV1	XP_868940	Bota TRPV2	XP_584319
Cafa TRPV1	XP_855597	Cafa TRPV2	XP_546641
Orcu TRPV1	AAR34458	Rano TRPV2	NP_058903
Rano TRPV1	NP_114188	Mumu TRPV2	NP_035836
Mumu TRPV1	XP_112546	Hosa TRPV2	NP_057197
Hosa TRPV1	NP_542435	Gaga TRPV2	XP_415848
Gaga TRPV1	NP_989903	Xetr TRPV2	ENESCAN00000076067
Xetr TRPV1	ENSXETG00000005790	Dare TRPV1/2	XP_689695
Bota TRPV3	XP_601838	Cafa TRPV4	XP_543434
Cafa TRPV3	XP_548338	Rano TRPV4	NP_076460
Rano TRPV3	XP_573134	Mumu TRPV4	NP_071300
Mumu TRPV3	NP_659567	Hosa TRPV4	NP_067638
Hosa TRPV3	NP_659505	Gaga TRPV4	NP_990023
Gaga TRPV3	ENSGALG00000004660	Xetr TRPV4	FGENESH00000004971
Xetr TRPV3	FGENESH00000119294	Dare TRPV4	ENSDARG00000061941
Hosa TRPV5	NP_062815	Ciin TRPV1	FGENESH00000073452
Hosa TRPV6	XP_499382	Ciin TRPV2	SNAP_CIONA00000053090
Hosa TRPM2	AB166745	HosaTRPM4	AF497623
Cafa TRPM2	XM_544924	Cafa TRPM4	XM_541500
Mumu TRPM2	AJ344343	Mumu TRPM4	AJ575814
Rano TRPM2	AY749166	Rano TRPM4	XM_574447
Hosa TRPV5	NM_014555	Hosa TRPM8	NM_024080
Cafa TRPV5	XM_540789	Cafa TRPM8	XM_543296
Mumu TRPV5	NM_620277	Mumu TRPM8	NM_134252
Rano TRPV5	XM_344979	Rano TRPM8	NM_134371
Hosa TRPA1	NM_007332		
Cafa TRPA1	XM_544123		
Mumu TRPA1	NM_177781		
Rano TRPA1	NM_207608		

Abbreviation: Bota, *Bos Taurus*; Cafa, *Canis familiaris*; Hosa, *Homo sapiens*; Mumu, *Mus musculus*; Orcu, *Oryctolagus cuniculus*; Rano, *Rattus norvegicus*; Gaga, *Gallus gallus*; Xetr, *Xenopus tropicalis*; Dare, *Danio rerio*; Ciin, *Ciona intestinalis*

Supplementary Table 2 The proportion of neutral fraction (f_n) in the external and internal branches in the phylogeny of four mammalian species ((mouse, rat), (dog, human))

Branches ^a	gene			
	<i>TRPV1</i>	<i>TRPV2</i>	<i>TRPV3</i>	<i>TRPV4</i>
External branch 1 (H)	0.21 ^{***c}	0.32 ^{***}	0.14 ^{***}	0.03
External branch 2 (D)	0.11	0.24	0.08	0.05
External branch 3 (M)	0.12	0.18	0.07	0.03
External branch 4 (R)	0.21	0.27	0.06	0.04
Internal branch	0.17	0.19	0.12	0.11
Fraction of neutral substitutions (f_n) ^b	0.16	0.24	0.09	0.07

- a: (H), (D), (M), and (R) means a branch leading to humans, dogs, mice and rats, respectively
- b: The value is defined as the ratio of total number of nonsynonymous substitutions to that of synonymous ones under a given tree. The tree is given based on the consensus tree of mammalian phylogeny. (((mice, rats), humans) cows)
- c: *** indicates the significance level of 0.1%. The null hypothesis of the test is that the ratio on the branch (H) is the same as that on the branch (M)

Supplementary Figure 1. Alignment of vertebrate TRPV protein sequences

```

BotaTRPV1 -----MKKW GSESERESQD LPQEDSCDDP LDGDPNYRPA PTKPHSFTTA KSRRLFG-- --KGSSEDTS
CafaTRPV1 -----N. . . .D.GG.E. P. . . . .L. . . . .S.V .A. . . .I. . . . . . . . . . . . . . . . . .C. . . .-EA
OrcuTRPV1 -----R. V.LD.G.E. P.LP.T. . . .L . . . .S.AK.P .A. . . .I.S. . . . . . . . . . . . . . . . . .E. . . .E. .
RanoTRPV1 -----EOR A.LD.E. .ES P. . .N. .I. . . P.R. . .CK.P .V. . .I.T.R SR-T. . . . . . . . . . . . . . . . .EA.
MumuTRPV1 -----E. . A.LD.D. .EP PA. .N. . . . . P.R. . .SK.P .A. . . .I.A.R SR-T. . . . . . . . . . . . . . . . .EA.
HosaTRPV1 -----S. TDIGAAA. PL.K.T. . . . . . . . . . . . . . . . .S. P .A. .QLS- . . . .T. . . . . . . . . . . . . . . . .EAF
GagaTRPV1 -----MSSILE.M KKFG.SDIEE SEVT.EHT.G E.SALETADN LQTF.NKVO P.K.NI.A-- --RRGRFVMG
XetrTRPV1 -----K. . . .M . . . .TDIDEYE ETCASVET.E SHS.DTN.ST QENRKKLKFC QAKYSI.SSP KP. .RRFGKA
BotaTRPV2 -----M.T.S.S.AF RLETS.DG.DE DGAQGDGTGNG
CafaTRPV2 -----MAS.S.S. .F RLETS.DG.QE DGSEVDRKKA
HosaTRPV2 -----M.S.S.S.S.VF RLETL.DG.QE DGSEADRGL
MumuTRPV2 -----M.SASN.P.AF RLETS.DGDEE GSAEVNKGN
RanoTRPV2 -----M.SAS.P.AF RLETS.DGDEE GNAEVNKGKQ
GagaTRPV2 -----MDNF TNDQSGPCQR NRVGLLE.D.IQEDKPTS ST.EERSGQY
XetrTRPV2 -----
DareTRPV1/2 -----M SKSMD.SVSS F.LETDDQTE EERTKAKQMK
CafaTRPV3 -----MNAHPK EMVPLMGERRA AVPSGNPAIL QEKRP.AEIT. TKKSAHFFLE IEGFDPN. .V SKT.PPIFSK PMDSNIRQCL
BotaTRPV3 -----MNAHPK EMVPLTGRRA TIFVNPALM QEKRP.EIT. TKKSAHFFLE IEGFEPN. .V AKT.PPIFSK PMDSNIRQCV
HosaTRPV3 -----MNAHPK EMVPLMG.RV AAPSGNPAIL PEKRP.AEIT. TKKSAHFFLE IEGFEPN. .V AKT.PPVFSK PMDSNIRQCI
MumuTRPV3 -----MNAHPK EMVPLMG.RT TAPGGNPVVL TEKRPADLT. TKKSAHFFLE IEGFEPN. .V TKT.PPIFSK PMDSNIRQCL
RanoTRPV3 -----MNAHPK EMVPLMG.RT TAPGGNPVAVL TEKRPADLT. TKKSAHFFLE IEGFEPN. .V TKT.PPIFSK PMDSNIRQCL
GagaTRPV3 -----MNAHPK EVVPLMG. .T NPPGAPP.NQ QEKKPTTEST. TKKSSHFFLE IEGFE.NA.P NNT.PPVFSK PMDSNIRPCA
XetrTRPV3 -----
CafaTRPV4 MADPSEGPH T GPGEVAETPG DESGTPGSEA FPLS.LANL.F EGEDG.PSPS PADTGRPAGP GDGRPNLRMK FQGAFRK.VP NPIDLL.S.I
HosaTRPV4 MADSSGPR A GPGEVAEIPG DESGTPGGEA FPLS.LANL.F EGEDG.LSPS PADASRPAGP GDGRPNLRMK FQGAFRK.VP NPIDLL.S.I
MumuTRPV4 MADPDGPR A APGEVAEPPG DESGTSGGEA FPLS.LANL.F EGE.G.SSL S PVDASRPAGP GDGRPNLRMK FQGAFRK.VP NPIDLL.S.R
RanoTRPV4 MADPDGPR A APGDVAEPPG DESGTSGGEA FPLS.LANL.F EGE.G.SSL S PVDASRPAGP GDGRPNLRMK FQGAFRK.VP NPIDLL.S.L
GagaTRPV4 -----MADPEDR DAGDVLGDSS FPLS.LANL.F EVEDTFS.AE PSRG--PPG. GDGKQNLRMK FHGAFRK.PP KPMELL.S.I
XetrTRPV4 -----NDS FPLS.LANL.F ENE.S.A.NE --.VRSPQVP GDNKQNLRLR FQGFPRK.IS NPMDLL.S.I
DareTRPV4 -----
HosaTRPV5 -----MG
HosaTRPV6 -----MG
CiinTRPV1 -----
CiinTRPV2 -----

```

BotatrPV1 LMDCSYEEGQ LASCPAITIS PVVIQRSGD GPT-----CV RQLSQD-SAA TEN---LKLY DRRKIFEAVA QNCCLEESL LFLQKSKK-
 CafatrPV1 S.....V.....M.PKHE.....A.P...-VT AGSEKS.....Q.....
 OrcutrPV1 P.....E.P.....V.S.I.V.....AGAEXP.....R.....Q.....C...R...-
 RanoTRPV1 PL...P...G.....I.V.S.LT...P...A-----S.PS...-VS AGER-PPR...S.D...S.Q.....P...R...-
 MumuTRPV1 P...P...G.....I.V.S.TL...V.....L.T...-VS GVETPPR...S.D...S.Q.....S.....
 HosatrPV1 PV...PH...E.D...T.V...IT...P...-----GA.L.....V.ASTKTR...S.....QD.....
 GagarTRPV1 DC.KDMAPMD SFYQMDHLMA S.KFHANM ERG-----KL HK.LSTD.IT GCSEKAF.F...R.D...RGSTKD.DD...Y.NRTL.-
 XetrTRPV1 ET.RNIAPMD SVQIESKVM SPT.KFORNL EKGLCNQL...S.SLE.TT SCKRTF...Q.R.D.A.YGD.D.DD...VY.LRTH.-
 BotatrPV2 GRSSEPPME SRFQSEDRN.SPQ.KVNLNF RRAAG-----ASQDPNRF G.DRL.S...RGAP.D.AG.PEY.RRTS.-
 CafatrPV2 GFGAGPPME SPFQGEDRKC SPQ.KVNLNF RKG-----GVSQDPNRF...DRL.SV..RGVP.D.AG.PEY.SRTS.-
 HosatrPV2 DFGSGLPPME SQFQGEDRKF APQ.KVNLNY RKG-----T GASQDPNRF...DRL.N..S.RGVP.D.AG.PEY.S.TS.-
 MumuTRPV2 EP-----PPME SPFQGEDRNF SPQ.KVNLNY RKG-----L GPSQDPNRF...DRL.SV.S.RGVP...TG..EY.RRTS.-
 RanoTRPV2 EP-----PPME SPFOREDRN.SPQ.KVNLNF IKRPPK-----NTS APSQEPDRF...DRL.SV.S.RGVP...TG..EY.RWNS.-
 GagarTRPV2 GKKGEPRLPE SPYQKESDY SPKVMINLNY R.G-----F VS.QKDPNRF...DRL.S..S.RGSP.A.DG..EY.RRTS.-
 XetrTRPV2 -----
 DareTRPV1/2 KVKDKRPM DSNVDDVVEP SST.KFNLFH DRGIRN-----LKE EPAQDNDRF TIKRL...S.SGDVSKMQG.HEY.H.NM.-
 CafatrPV3 SGN.DDMDSP QSPQDDV.ET.SNENSP.AN VAK-----EQRK.KR LKRR..A.S.EGCVG..LE..VE..ELC.R
 BotatrPV3 SGN.DDMDSP QSPQDDV.ET.SNENSP.AN LAK-----EQRK.KR LKRR..T.S.EGCV...LE..GE..ELC.R
 HosatrPV3 SGN.DDMDSP QSPQDDV.ET.SNENSP.AQ LAK-----EQRK.RR LKRR..A.S.EGCV...VE..VE..ELCRR
 MumuTRPV3 SGN.DDMDSP QSPQDDV.ET.SNENSP.AN LAK-----EQRK.KR LKRR..A.S.EGCV...RE..QD..DLCRR
 RanoTRPV3 SGN.DDMDSP QSPQDDV.ET.SNENSP.AN LAK-----EQRK.KR LKRR..A.S.EGCV...RE..QD..ELCRR
 GagarTRPV3 SANGEDMDSP QSLQDDV.EY SPNVDS CGAN IAQG-----NYRQ.RKP-----PEQTGARKK LKYY..R..S.EG.V...QG..AE.KERSNV
 XetrTRPV3 -----
 CafatrPV4 YESSVVP GK K.PMDSLFDY GTYRHHP.DN KRWR-KKVE K.PQSPKAP.POPPI..VF N.PIL.DI.S.RGSTTD.DG..P.LTH...-
 HosatrPV4 YESSVVP GK K.PMDSLFDY GTYRHHS.DN KRWR-KKIE K.PQSPKAP.POPPI..VF N.PIL.DI.S.RGSTAD.DG..P.LTH...-
 MumuTRPV4 YESSVVP GK K.PMDSLFDY GTYRHHP.DN KRWR-RKVE K.PQSPKAP.POPPI..VF N.PIL.DI.S.RGSTAD.DG..S.LTH...-
 RanoTRPV4 YESSVVP GK K.PMDSLFDY GTYRHHP.DN KRWR-RKVE K.PQSPKAP.POPPI..VF N.PIL.DI.S.RGSTAD.DG..SY.LTH...-
 GagarTRPV4 YESSVVP APK K.PMDSLFDY GTYRQHP.EN KRWR-RRVE KPVAGTKGP.PNPPV..VF N.PIL.DI.S.RGSPDG..G..S.LTH...-
 XetrTRPV4 YES---SAPK K.PMDSLFGY ETYHHHTEN RRKRKILLE KENLNSQAPS PDPPVI.MF N.HML.DI.S.RGSTA...GF.P.LAQ...-
 DareTRPV4 -----MSCDEG SPEPV..VF N.WML...S.RADPRA.DG..QY...SHE.-
 HosatrPV5 GFLPKA.GPG SOLQKLLPSF L.REQDWDQH LDKL-----HMLQQ.RI LESPLLR.SK E.DLSV.RQ...DCTCDVR-
 HosatrPV6 .SLPKKGLI.CLWSKFCRW FORRESWAQS RDEQ-----LLQQ.RI WESPLLL.AK D.DVQA.NK..KYEDCKVH-
 CiiinTRPV1 -----I ASLATV.KPF NEHMVAWKL.KRGA-----VGETPMHL LFLNNT.NHT NIARVL..QC PELAKDIYE-
 CiiinTRPV2 -----LGETALHV CFLNNSHTEN MLAK.MMKVF PNLVVVDIYL-

BotatRPV1 -----HLM DSEFKDPETG KTCLLKAMLN LHNGQNDTIP LLEIARQTD SLKELVNASY TDSYKQGQFA LHIAIERRNM ALVTLLVENG
CafatRPV1 -----R.TD.....
OrcutRPV1 -----R.TS.....F.....
RanoTRPV1 -----R.TA.DV.K.QF.....T.....
MumuTRPV1 -----R.TA.D.K.QF.....
HosaTRPV1 -----T.N.....D..T.....
GagatRPV1 -----T.D..E.....D.K.....D.KK.G.T...F...E..N.....Y.K...Q...
XetrTRPV1 -----K.T.NE..EK.....E.M.S...F...EK.NI..FI.SA.R.N.R.....D.E.LQH.
BotatRPV2 -----Y.T.YREGS...M.L...RD.A.AC.E.P.Q.D.D.SG.NPHP...QC.M.E.R.HS.....K.SL.VC.K.....
CafatRPV2 -----Y.T.YTEGS...M.V...RD.A.AC.L.P.Q.D.D.SG.NPOP...QC.E.R.HS.....K.SL.QC.K.....
HosaTRPV2 -----Y.T.YTEGS...M.V...KD.V.AC.L.P.Q.D.D.SG.NPOP...QC.D.R.HS.....K.SL.QC.K.....
MumuTRPV2 -----Y.T.AYTEGS...M.V...QD.V.AC.L.P.Q.D.D.SG.NPOP...QC.EF.R.HS.....K.SL.WC.K.....
RanoTRPV2 -----Y.T.AYTEGS...M.V...QD.V.AC.M.P.Q.DKDSG.NP.P...QC.I.EF.Q.HS.....K.SL.QC.K.....
GagatRPV2 -----F.T.N..Y-----T.....K.SL.D..KV...H.
XetrTRPV2 -----RTK-----R.....K...H.Q.IKS.
DareTRPV1/2 -----R.T..QY.--SN..A...L...RQ.E...E.Q.D.D.EKMG.D.NFI.A.....V.....S.KF.QM..KK.
CafatRPV3 RRGLDVADFL MHKLTASD...M.L...INPKKEIVR.I.AF.EEN.I.DRF..A.EEA.E...N.....QG.D.TA..IAA.
BotatRPV3 RHSLDVPDFL MHKLTALD...M.L...INPKKEIVR.I.AF.EEN.I.DRFI..E.EEA.E...N.....QG.DITAA.IAA.
HosaTRPV3 RHDEDVPDFL MHKLTASD...M.L...INPKKEIVR.I.AF.EEN.I.GRFI..E.EEA.E...N.....QG.DIAA..IAA.
MumuTRPV3 RRGLDVDPDFL MHKLTASD...M.L...INPKKEIVR.I.AF.EEN.I.DRFI..E.EEA.E...N.....QG.DITAV.IAA.
RanoTRPV3 RRGLDASDFL MHKLTASD...M.L...INPKKEIVR.I.AF.EEN.I.DRFI..E.EEA.E...N.....QG.DITAV.IAA.
GagatRPV3 CTNMTVPDYL MKK.TASD...M.L...IN.NT.QIVN.M..SF.EENG.I.ERFI..A.EEA.R...N.....QF.EITQT.I.K.
XetrTRPV3 YSVTQAKEFF MHKLTAKD...M.L...INEKTEPVVR.S..TF.EEN.I.EFI..E.EEN.....N.....QV.E..KY.I.K.
CafatRPV4 -----R.T.E..RE.S...P.L...S.R.....V.D..ER.G.NMR.FI.SPF.R.I..R.....CK.HY.E...AQ.
HosaTRPV4 -----R.T.E..RE.S...P.L...S.R.....V.D..ER.G.NMR.FI.SPF.R.I..R.....CK.HY.E...AQ.
MumuTRPV4 -----R.T.E..RE.S...P.L...S.R.....V.D..ER.G.NMR.FI.SPF.R.I..R...S.....CK.HY.E...AQ.
RanoTRPV4 -----R.T.E..RE.S...P.L...S.R.....V.D..ER.G.NMR.FI.SPF.R.I..R.....CK.HY.E...AQ.
GagatRPV4 -----R.T.E..RE.S...P.L...S.A.R.....I.D..EK.G.NMR.FI.SPF.R.V..R.....CK.HY.E...K.
XetrTRPV4 -----R.T.E..REAS...T.LM..NG.K.....M.ID..EK.G.N.R.FI.SPF.R.V..R.....CK.HY.E...K.
DareTRPV4 -----R.T.E..ELS...P.L...I.VD.E.G.N.R.FI.TPF.R.V..R.M.....CK.QY.E...K.
HosaTRPV5 -----RQ.LGE.TALHIAALYD.N.EAALVME.AAP...FEPT.CE.AFA...VVNQ.V.N..RA.LTRR
HosaTRPV6 -----RQ..GE.TALHIAALYD.N.EAAMVME.AAP...FEPM.SEL.E...VVNQ..N..RA.LARR
CiinTRPV1 -----GEYYICE.SCLHIAIQQ.NVGVKILLN.TNN-----VN.VHERAR.KFF.PVD.K----R.GDVKL
CiinTRPV2 -----GDEYYICE.NVLEHTIANE.DIEMTRYFLK.QR..INAPLN.LEERCC.SFF.CPADQQ-----S.DARI

ANVQAAANGD FFKKTKGRPG FYGELPLSL AACINQLGIV KFLLONSWQP ADISARDSVG NTVLHALVEV ADNTADNTKF VTSMYNEILLI
 BotaTRPV1
 CafatRPV1
 OrcuTRPV1
 RanoTRPV1
 MumuTRPV1
 HosatRPV1
 GagatRPV1
 XetrTRPV1
 BotatRPV2
 CafatRPV2
 HosatRPV2
 MumuTRPV2
 RanoTRPV2
 GagatRPV2
 XetrTRPV2
 DareTRPV1/2
 CafatRPV3
 BotatRPV3
 HosatRPV3
 MumuTRPV3
 RanoTRPV3
 GagatRPV3
 XetrTRPV3
 CafatRPV4
 HosatRPV4
 MumuTRPV4
 RanoTRPV4
 GagatRPV4
 XetrTRPV4
 DareTRPV4
 HosatRPV5
 HosatRPV6
 CiinTRPV1
 CiinTRPV2

D.....
 D.....A.....P.....
 D.....A.....V.....
 D.....A.....N.....
 D.....H.....T.....M.....
 D.H.R.C.E.R.I..K..E.PY.A.A.E.M.M.T..I..K...N...
 D.H.R.D.E.R.A.KA..TAM.QY...QYS..NMA.K.TF.....DI...QE.T..K.....V
 D.H.R.C.Q.Q.RREETC...Q.WDV.TY.K.TH..SLO.T.L.....MI...SPE.SML.H..DRL.Q
 H.Q.C.Q.Q.KSQTGTC...K.WDV.TY.E.PH..SLO.A.L..A.....MI...S.E.SAL.IR..DAL.R
 H.R.C.R.Q.-GQTC...K.WDV.SY.E.PH..SLO.T.Q.....MI S.S.E.IAL.....DGL.Q
 HIR.C.R.Q.-HQTC...K.WDV.TY.E.PH..SLE.T.L.....MI...SPE.SAL.IH..DSL.Q
 D.HIR.C.R.Q.-HQTC...K.WDV.TY.E.PH..SLE.T.L.....MI...SPE.SAL.IH..DGL.Q
 D.H.R.H.E.R.K.EGVC...FEV.EY.N.PH.K.RLQEQ.TQ.....MI..D.EE...STV.V..K
 DLR.M.E..Q.K.KGIS...NY.D---KK..LA...H.....F.S.EE.EI..K.D..K
 D.H.K.C.K.QP-NQKMC...OD..D.ME.PH.A.V.VRE.CH.....S.....IA.DH...
 D.N.H.R.V.NPKYQHE...T.A.....PE..QL.ME.EQTD.ITS--Q.R.NI...T..EDFKTQND.KR..DM..L
 D.N.H.K.V.NPKYQHE...T.A.....PE..QM.ME.EQTD.ITS--Q.R.NI...T..EDFKTQND.KR..DM..L
 D.N.H.K.A.NPKYQHE...T.A.....PE..QL.MEHEQTD.ITS--R.NI...T..EDFKTQND.KR..DM..L
 D.N.H.K.V.NPKYQHE...T.A.....PE..QL.ME.EQTD.ITS--Q.R.NI...T..EDFKTQND.KR..DM..L
 D.N.H.K.V.NPKYQHE...T.A.....PE..QL.ME.EQTD.ITS--Q.R.NI...T..EDFKTQND.KR..DM..L
 D.N.H.Q.I.NPKHKHE...TA.A.....PD.I.EL.MD.TRTN.IAA--Q.R.NI...T..EDFKTQND.IR..DM..L
 KIDVR.Q.R.NPKNKYE...T.A.....PE..QLIMDK.PTI.GT.--Q.L.....N...SEAQND.IIG..DT..R
 D.H.Q.R.R.QPKDEGGY...PH..NY.TE.PHKK..MRRQ..R.....AI...RE...K.DLL.L
 D.H.Q.R.R.QPKDEGGY...PH..NY.TE.PHKK..MRRQ..R.....AI...RE...K.DLL.L
 D.H.Q.R.R.QPKDEGGY...PH..NY.TE.PHKK..MRRQ..R.....AI...RE...K.DLL.L
 D.H.Q.R.R.QPKDEGGY...PH..NY.TE.PHKK..MRRQ..R.....AI...RE...K.DLL.L
 D.H.Q.R.R.QPKDEGGY...PH..HY.TE.GHKQ..LRRQ..R.....AI...RE...K.DLL..
 D.H.Q.R.R.QPKDEGGY...PD..HY.TE.AHKK..RRQ..R.....AI...RE...KV.DLLV.
 D.H.Q.R.R.QPKDEGGY...PDM..HY.TE.GHKK..LRRQ..R.....HI...R...R..K.FDLL..
 S.S.R.T.T.A.RRSRNL-I...H...F...V.SEE..RL.IEHG---R.Q.L.....I.ILO-----P.KT.ACQ...LL.S
 S.S.R.T.T.A.RRSRNL-I...H...F...V.SEE..RL.IEHG---R.Q.L.....I.ILO-----P.KT.ACQ...LL.S
 R-----HKVEGF-A.Y.Y...F..SVGNHE.Y.DL.IDHG---S.PTLT.RF.N...MT.IH-----NQP---G.YYV.K
 DQSNKE.PLL.QPETWVSGI-L.W.Y.Y.FF...AM.VEAF.AL..REG---...VQ..N.N...MM.IH-----N.K---E.F.FAYN

BotatRPV1 LGAKIHP TLK LEELTNKKGL TPLALARS G KIGVLAYILQ REIQEPECRH LSRKFTWAY GPVHSSLYDL SCIDTCEK ---NSVLEVI
 CafatRPV1L.....G.....
 OrcutRPV1L.....I.....G.....L.....R.....
 RanoTRPV1L.....I.....R.....S.....H.....
 MumuTRPV1L.....I.....S.....H.....
 HosaTRPV1L.....M.....GT.....
 GagaTRPV1N.I.....T.....KT.....IF.....R.....KD.....
 XetrTRPV1Q.R.S.....IM.....S.....KT.....F.....R.....KNF.....GV.Y.....
 BotaTRPV2 V.G-----Q.DM.LQ.....K.....KE.....EIFRH.....LP.-YQS.....S.....RV.....ASV.SW.E.....
 CafatRPV2 A..RLC.KVQ..DIP.LQ.....K.....KE.....EIFRH.....FSG.-QS.....C.....RV.....ASV.SW.E.....
 HosaTRPV2 A..RLC.VQ..DIR.LQD.....K.....KE.....EIFRH.....FSG--LS.....C.....RV.....ASV.S.E.....
 MumuTRPV2 M..RLC.VQ..DIC.HQ.....K.....KE.....EIFRH.....FSGL-YQP.....C.....RV.....SV.SW.....
 RanoTRPV2 M..RLC.VQ..Is.HQ.....K.....KE.....EIFRH.....FSG.-YQP.....C.....RV.....SV.SW.....
 GagaTRPV2 A.V.TD.V.....IV.YD.N.Q.....KT.VEIFRH.I.....KD.VY.....T.I.V.....SL.SF.E.....IL
 XetrTRPV2 KSV.TD....I..I.WE.....K.....KT.ELFKH.R.VT..YK.....T.....T.....SV.H.A----D.....T.
 DareTRPV1/2 KADQL.KT.....IE.NE.....IT..KK.L.LFKH.V..LMG-----I.....C.....SL.Y.....A.IV
 CafatRPV3 RSG-----WE..TMH.ND.....Q.....KM.AEI.K.S.....K.KPL.S.....D.....S.....TNV.TTD-----I.
 BotaTRPV3 RSR-----WE..TTR.ND.....Q.....KM.AEI.K.S.....KDKRL.S.....D.....S.....TNV.TTD-----I.
 HosaTRPV3 RSG-----NWE..TTR.ND.....Q.....KM.AEI.K.S.....K.KRL.S.....D.....S.....TNV.TTD-----IT
 MumuTRPV3 RSG-----NWE..TMR.ND.....Q.....KM.AEI.K.S.....K.KPL.S.....D.....S.....TNV.TTD-----I.
 RanoTRPV3 RSG-----NWE..TMR.ND.....Q.....KM.AEI.K.G.....K.KPL.S.....D.....S.....TNV.TTD-----I.
 GagaTRPV3 KSK-----DRN..KVK.E.....Q.....KT.LE.K.S.....RDKPN.S.....D.....Q.....TEL.TAD-----IV
 XetrTRPV3 NCK-----NKS..QIP.NE.....SMQ..KL.TEI.H.S.....K.K.NMV.....D.....S.....TS...WP-----EASVLE.
 CafatRPV4 KC.RLF.DSN..AVL.SD..S.MM.KT.....FQH.IR..VTDEDT.....K.D.....Y.....SL...GE-----EASVLE.
 HosaTRPV4 KC.RLF.DSN..AVL.ND..S.MM.KT.....FQH.IR..VTDEDT.....K.D.....Y.....SL...GE-----EASVLE.
 MumuTRPV4 KCSR.LF.DSN..TVL.ND..S.MM.KT.....FQH.IR..VTDEDT.....K.D.....Y.....SL...GE-----EVSVLE.
 RanoTRPV4 KCSR.LF.DSN..TVL.ND..S.MM.KT.....FQH.IR..VTDEDT.....K.D.....Y.....SL...GE-----EVSVLE.
 GagaTRPV4 KC..LF.DTN..A.L.ND..S.MM.KT.....IFQH.IR..ADEDV.....K.D.....Y.....ML...GE-----EVSVLE.
 XetrTRPV4 KCV.LY.DSS..AIF.NDSM.S.MM.KL.....IFQH.IR.L.KDE.A.....RD.....Y.....ML...GE-----EVSVLE.
 DareTRPV4 KC..LY.DCN..NIL.ND.M.S.MM.KL.....FQH.IR..KDE.A.....KD.....Y.N.....SL...GE-----EVSVLE.
 HosaTRPV5 YDGHGDLQP..DLVP.HQ.....FK.GVE.NTVMFQHLM.....K.RHIQ.T..LT.I.....TE..SWGE-----ELSFLE
 HosaTRPV6 YDRHGDLQP..DLVP.HQ.....FK.GVE.NTVMFQHLM.....K.H.Q.T..LT.T.....TE..SSGD-----EQSILLE
 C.i.inTRPV1 HSKRSFDPN- ---AK..EN.....SFL..QHMFKE..E-----ISAKQY.S.NT.TC.V.P.RSL.SIGE-N GETDWSALM
 C.i.inTRPV2 QAGEVDLLS- ---QR.RQ.F...T.S.KLS NKEM.DH.ME-----LKRDIS.QF.D.TCAT.P..DV..INH TD GSI.NKSALS

BotaTRPV1	AYSSETPNR HDMLLVEPLN RLLQDKWDRF VKRIFYFNFF VYCLYMIIFT TVAYYRPA	-----GR PPFKPKHTVG
CafaTRPV1V.....I.....A.....VD-L..Y.L.....
OrcuTRPV1V.....A.....VD-L..Y.LRNLP.
RanoTRPV1AA.....VE-L..Y.L.N...
MumuTRPV1A.....VE-L..Y.LNN...
HosaTRPV1MA.....VD-L.....MEK.G-
GagaTRPV1AIHS.L..A.....VOK GDK...AFG.ST.
XetrTRPV1VA.....VD-GSPFPVQPN
BotaTRPV2K..KA.SNLL IP-R.L...L C.LT..L...A.T.Q..L- E	-----KD FLP-LEV.A.
CafaTRPV2A..A..LL IP-R.F...L C.LT..F...A..HQ..L- G	-----KA FLPPTVT.G-
HosaTRPV2A..A..LL IP-K.FL..L CNLI..F...A..HQ..TL- K	-----KQ AAPHL.AE..
MumuTRPV2K..E...L IP-R.F...A C.IV...I...HQ..SL- E	-----QP AIPSS.A.F.
RanoTRPV2K..E...L S-R.F...A C.IV..F...V..HQ..SL- D	-----QP AIPSS.A.F.
GagaTRPV2K..Q..ET. ASKR...S.I S.LSF...A.I..Q..LR- V	-----KP SFP-VEF.A.
XetrTRPV2T..EE..EN. AGK...IK.L.L.I.....VT..H..LQ- G	-----QP..FP-LEG.AK
DareTRPV1/2E IP..QI...IEE...Q. AH.MVL..LL D.VI..LY...AS.F.HEE.-	-----
CafaTRPV3E..TL...H T..HM..KK. A.YM.FLS.C L.FF.N.TL. L.S...REE E	-----AL..HPLALTHKM
BotaTRPV3E..TL...H T..HM..KK. A.YM.FLS.C F.FF.N.TL. L.S...REE E	-----AL..HPLALTHKM
HosaTRPV3E..TL...H T..HM..KK. A.HM.FLS.C F.FF.N.TL. L.S...REE E	-----AI..HPLALTHKM
MumuTRPV3E..TL...H T..HT...KK. A.YM.FLS.C F.FF.N.TL. L.S...RED E	-----DL..HPLALTHKM
RanoTRPV3E.V.TL...H T..HM..KK. A.YM.FLS.C F.FS.N.TL. L.S...REG E	-----AL..HPLALTHKM
GagaTRPV3E..TL...S..RM..K.. ARHMLFMSCC F.F.NVTI. L.S.H..NEN E	-----AP..YPLALTRGV
XetrTRPV3E.L.TL...H T...M..KK. ARYM.FLS.L ISFT.N.AL. L.S...R-G E	-----QD VYPLNLSYEN
CafaTRPV4E..A..I..E..R...RK. GAVS..I.VV S.LCA.V...LT..Q..LE-	-----G T.PY.YR.TV
HosaTRPV4E..A..I..E..R...RK. GAVS..I.VV S.LCA.V...LT..Q..LE-	-----G T.PY.YR.TV
MumuTRPV4E..A..I..E..R...RK. GAVS..I.VV S.LCA.V...LT..Q..LE-	-----G T.PY.YR.TV
RanoTRPV4E..A..I..E..R...RK. GAVS..I.VV S.LCA.V...LT..Q..LE-	-----G T.PY.YR.TV
GagaTRPV4E..A..I..E..R...RK. GAVS..ISVV S.LCA...LI...ME-	-----G..PY.YT.TI
XetrTRPV4E..A..I..E..R...QK. GAVS..ISVV S.LIA...LI...MD-	-----G T.PY.YR.TM
DareTRPV4E..A..I..E..RA..QK. AAVT..ISV. S.LVT...L...SV-	-----G K.PYAYD.TE
HosaTRPV5	LVV..DKREA ROI.EQT.VK E.VSF..NKY GRPY.CILAA L.L...C..CCV...LKF R---	GGNRTH SRDITILQOK LLOEAYE.RE
HosaTRPV6	LIITTKREA ROI.DQT.VK E.VSL..K.Y GRPY.CMLGA I.L..I.C..MCCI...LKP R---	TNNRTS PRDNTILQOK LLOEAYM.PK
CiinTRPV1	KTIRGTD.H L..ISNNVH...NE..EK. GRNK..RLLA AFL.HILFL. IAV.L.N---	-----LA SDLRHGSSS.
CiinTRPV2	IIL.A.SNEH L...DG-L.F.Q..HE..KQY A.VR..RGA FFFF.LVA.I..AV.LQ..PT	RFVVTNTST GLVNLFSVNO CYLLDASSNN

BotaTRPV1	DYFRITGEII SVAGGIYFFS RGIQYFLQRR PS-----	-----	--LKTFLVDS YSEMFLFMQS
CafaTRPV1V...L...L...V...F.....	-----	-----V..
OrcuTRPV1V...L...V...V...F.....	-----	--M.A.....V.A
RanoTRPV1V...L...S...V...F.....	-----	---S.....I...V..
MumuTRPV1V...L...S...V...F.....	-----	---S.....I...V..
HosaTRPV1V...L...L...V...F.....	-----	--M.....I...
GagaTRPV1	E...V...L...L...L...F.....V...	-----	---I.....V...VH.
XetrTRPV1	S.L.TC.L. T.I.....F.....T...	-----	---A.IA..Y.F...A..
BotaTRPV2	NTMLLL.HVL LLL.VNLLM GOLW..WR.. LF	-----	--IWIS.M..F.I..LV.A
CafaTRPV2	.SMLLL.H.L ILL.V.LLV GOLW..WR.. LF	-----	--IWIS.....F.L..LV.A
HosaTRPV2	NSMLL.H.L ILL...LLL GOLW..WR.H VF	-----	--IWIS.I..F.I..LF.A
MumuTRPV2	.SMLLL.H.L ILL...LLL GOLW..WR.. LF	-----	--IWIS.M..F.I..LV.A
RanoTRPV2	ESMLLL.H.L ILL...LLL GOLW..WR.. LF	-----	--IWIS.M..F.I..LL.A
GagaTRPV2	GFLWVS.L.. ILL.V.LIF AQSL.LRR.. Q.	-----	---MCS..CV.I.I.I.A
XetrTRPV2	GNL.VI....MMF.A..ILI CQ.I..WK...	-----	---QI.MM.G.F.I..L.A
DareTRPV1/2	-----KDYA NQIDMVRK..R-----	-----	--FQS.II.G.TDQ...V.G
CafaTRPV3	GWLQLL.RMF VLIWAMCISV KEGIAIFLL..D	-----	---QSILS.A.WFHV.V.A
BotaTRPV3	GWLQLL.RMF VLIWAMFISV KEGIAIFLL..D	-----	---QSILS.A.WFHV..A.A
HosaTRPV3	GWLQLL.RMF VLIWAMCISV KEGIAIFLL..D	-----	---QSILS.A.WFHV..I.A
MumuTRPV3	SWLQLL.RMF VLIWATCISV KEGIAIFLL..D	-----	---QSILS.A.WFHV..V.A
RanoTRPV3	SWLQLL.RMF VLIWAMCISV KEGIAIFLL..D	-----	---QSILS.A.WFHVI.G.A
GagaTRPV3	GWLQLS.QVM VML.A.FLAI KESVAIFLL..D	-----	---QSILS.A.WHFA..I.A
XetrTRPV3	GWLQLV.QMF IIVCAT.LMV KE-----	-----	-----
CafaTRPV4	..L.LA...TLFT.VL..F.TN.KDLFMKK CPG	-----	--VNS..I.G.SFQL.Y.IY.
HosaTRPV4	..L.LA..V.TLFT.VL..F.TN.KDLFMKK CPG	-----	--VNS..I.G.SFQL.Y.IY.
MumuTRPV4	..L.LA..V.TLFT.VL..F.TS.KDLFTKK CPG	-----	--VNS....G.SFQL.Y.IY.
RanoTRPV4	..L.LA..V.TLLT.VL..F.TS.KDLFMKK CPG	-----	--VNS....G.SFQL.Y.IY.
GagaTRPV4	..L.LA...TLLT..L..F.SN.KDLFMKK CPG	-----	--VNSF.I.G.SFQL.Y.IY.
XetrTRPV4	..M.LA...V.TLLT.VV..I.TN.KDLFMKK CPG	-----	--VNS..I.G.SFQL.Y.IY.
DareTRPV4	.KV.LA...T.GS.LF..V.TN.KDLFMKK CPG	-----	--VNSI...G.SFQL.Y.IY.
HosaTRPV5	.II.LV..LV.IV.AVIILL.LE.PDIFRVG A.	-----	---R YFG..ILGGP FHVLIITVA.
HosaTRPV6	.DI.LV..LV.T.I.A.IILL.VEVPDIFRVG VT	-----	---R FFGQ..ILGGP FHVLIITVAF
CiinTRPV1	.IA.YVF.SL.VIFISLFLVLY.FAVKEVLEH I.GYLTN	-----	-----IATIP SRLIYITIGCL
CiinTRPV2	QIL.FVL.C.IIV.AVMYLV.LAGMEIHHE.SNGIKKTKKN	-----	-----DRGKQKGGKR TFWW.IYNAP MKGSFLISCV

BotaTRPV1	LFMLATVVLV FCHRKEYVAS MVFSLAMGWT NMLYTRGFQ QMGYAVMIE KMILRDLCRF MFVYLFLFG FSTAVVTLIE DEKNDVSVSVE	
CafaTRPV1H.....S.C.....T.....L.I.....	
OrcuTRPV1S.Q.....S.....S.....L.....I.....	
RanoTRPV1S.L.....GQEL.....L.A.....S.A.....	
MumuTRPV1I.L.LSTM.....G.N.....F.L.IC.....S.A.V.....L.S.MV.....L.....L.....	
HosaTRPV1LTVLSQ..R.LAV.G.IPL.L.C.VL.L.L.M.....YT..S..Q.V.....L.G.....AA.L.....	
GagaTRPV1LTVLSQ.C.LAVEW.IPL.L.S.VL.L.L.....HT..S..Q.V.....L.LL.....	
XetrTRPV1LTVVSQ..C.LAIEW.IPL.L.SA.VL.L.L.....HT..S..Q.V.....L.LLI.....	
BotaTRPV2LTVLSQ..R.VETEW.IPL.L.S.VL.L.L.....HT..S..Q.V.....L.LL.....	
CafaTRPV2LTVLSQ..R.METEW.IPL.L.S.VL.L.L.....HT..S..Q.V.....L.LL.....	
HosaTRPV2FSL.LSA...GASSEN..V.....LL.L.V.....RI..S..Q.T.....L.LL.II.....AA.L...MG.AP..SL..QNKS	
MumuTRPV2IL.CSGAT.LAGSEV..L.....VI..V.D.....T..S..Q.T.....ML..L.....AA.L...NG.EA.PQAANG-	
RanoTRPV2LF..S...CYGQY..L.F.L.C.LS.I.L.FS.SK.NL..N..Q..V.VEIR..IV.M..I..A.L..LD.Q.SI..G.TR	
GagaTRPV2VLVLS.F..LFAY...L.C.L.LAM.L.A.....S.M.S..Q.V..H.VLK.L..I..L..GV.LAS...KPCS.NKDCS	
XetrTRPV2VLVLS.F..LFAY...L.C.L.LAM.L.A.....S.M.S..Q.V..H.VLK.L..I..L..GV.LAS...KCPKSHENCS	
DareTRPV1/2VLVLS.F..LFAY...L.C.L.LAM.L.A.....S.M.S..Q.V..H.VLK.L..I..L..GV.LAS...KCPK.NKDCS	
CafaTRPV3VLVLS.F..LFAY...L.C.L.LAM.L.A.....S.M.S..Q.V..H.VLK.L..I..L..GV.LAS...KCSK.KKDCS	
BotaTRPV3VLVLS.F..LFAY...L.C.L.LAM.L.A.....S.M.S..Q.V..H.VLK.L..I..L..GV.LAS...KCSK.KKDCS	
HosaTRPV3VLVLS.F..LSSY..HLVC.L.LAM.L.A.....F.....S.....S..Q.V..N.VIK.IV.I..L..GV.LAA...TCQ.G-GECL	
MumuTRPV3	-----V..N.VLK.L..IL..L..GV.LAS.L.NCE---DG.	
RanoTRPV3VLVVSAA..LAGIEA.L.V...A.VL..M.A..F..LK.LT.T.SI..Q.IILFK..F..LL..L.MI.YAS.L.S.LN.PCA.MK.CS.	
GagaTRPV3VLVVSAA..LAGIEA.L.V...A.VL..M.A..F..LK.LT.T.SI..Q.IILFK..F..LL..L.MI.YAS.L.S.LN.PCA.MK.CN.	
XetrTRPV3VLVVSAA..LAGIEA.L.V...A.VL..M.A..F..LK.LT.T.SI..Q.IILFK..F..LL..L.MI.YAS.L..LN.PCT.MK.CD.	
CafaTRPV4VLVVSAA..LAGIEA.L.V...A.VL..M.A..F..LK.LT.T.SI..Q.IILFK..F..LL..L.MI.YAS.L..LN.PCT.MK.CN.	
HosaTRPV4VLVIV.AG..LGGVEA.L.V...A.VL..M.A..F..LK.LT.T.SI..Q.IILFK..F..LL..L.MI.YAS.L.S.LN.PCFSES.SCS.	
MumuTRPV4VLVII.A...LVGIES.L.V...A.VL..M.A..F..LK.LT.T.SI..Q.IILFK..F..LL..L.MI.YAS.L.S.LN.PCTSQES.SCI.	
RanoTRPV4VLV.VSAA..LSGIEA..SV...A.TL..M.T..F..LK.LT.T.SI..Q.IILIK..F..LL.VL.MI.YAS.L.S.IT.ICPKDCKTCK.	
GagaTRPV4VLVVTM.MRL.TN-TNGE.VP..S.A.VL..C.SVM.F...M.PFTI..Q...FG..M.CW.LMA.VIL..AS.FYIIFQ.T.DFT.LGQF	
XetrTRPV4HosaTRPV5MVLVTM.MRL.IS-ASGE.VP..S.A.VL..C.VM.FA...M.PFTI..Q...FG..M.CW.LMA.VIL..AS.FYIIFQ.T.DPEELGHF
HosaTRPV5CifaTRPV6IL.CIPMRF.TELYAVEDWL.L..AVPGI.S.YL.FFL.NSS.LT.PFIT..Y..LAT.MA..GVI.III.TT.S.V.FFYQFT.GQNVFAFLT.
CifaTRPV6CifaTRPV2MVLAIIPCRF.T.NLISENVF.LTICICTCIP.YS.FFC...K.IV.PFI.A.Y.N..FG..L..LIL.SI..M..Q.MYIVFR.GTDHPLF.HP

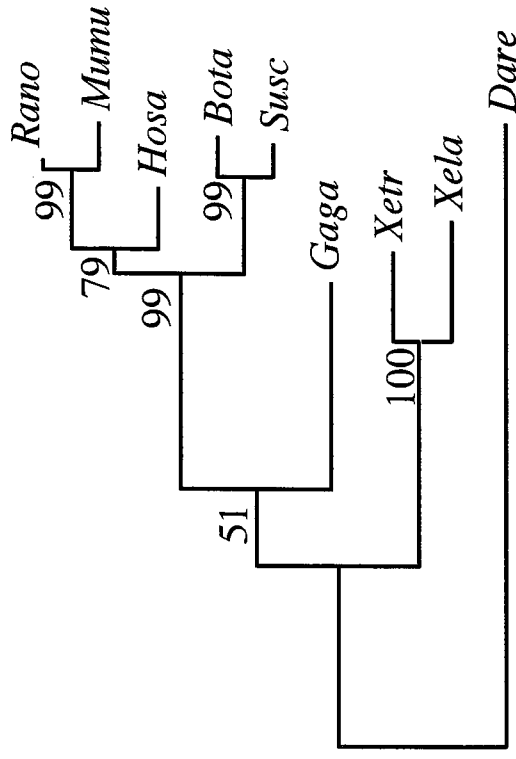
BotatRPV1	LSQHRWRGHG CRS	-----	ADS-YNSLYS TCLELFKFTI GMGDLEFTEN -YDFKAVFVI
CafatRPV1	STL.....P..P	-----	P..S.....I.
OrcuTRPV1	STS.....F.	-----	S..S.....I.
RanoTRPV1	STP.KC..SA.K	-----	PGNS.....I.
MumuTRPV1	SPP.KC..SA..	-----	PGNS.....I.
HosaTRPV1	STS.....PA..P	-----	P..S.....I.
GagaTRPV1	N.SEYA.CSH TKR	-----	GRTS.....Y.....R.S.....
XetrTRPV1	TCG-----RRC.KP	-----	EPAS.N.Y.Q.....A.....D..-KY.P..IF
BotatRPV2	SNTTRVA.KE DK	-----	-EAP.RGILD.S.....E.A.QDQ -LH.RG.VLL
CafatRPV2	PNVTAAQS. AGQDEE	-----	-G SS.P.GGILD AS.....E.A.QDQ -LR.RG.VLL
HosaTRPV2	PNATESVQPM EGOEDE	-----	-G NGAQ.RGILE AS.....E.A.Q.Q -LH.RGMVLL
MumuTRPV2	SNTTVEKPT LGQEEE	-----	-PVP.GGILD AS.....E.A.Q.Q -LR.RG.VLL
RanoTRPV2	NNSVTEOPT VGQEEE	-----	-PAP.R.ILD AS.....E.A.Q.Q -LR.RG.VLL
GagaTRPV2	VA.MENA.--	-----	SHAM.GG.L.V.....I.....D.H.H -AR.RYFVML
XetrTRPV2	---TQSE--	-----	SG.S.GG..I.S.....N..-LK..HF.MF
DareTRPV1/2	DFRLSEDIPS LNPDPSSNP QSRMTHOPT	-----	TARDGRFRG LTTDNQYEVK KNI.F.T.....DH -KY.E..YV
CafatRPV3	S-----	-----	..G.FSD AV.....L..L..NIQQ. -SKYPIL.LF
BotatRPV3	S-----	-----	..G.FSD AV.....L..L..NIQQ. -SKYPIL.LF
HosaTRPV3	S-----	-----	..G.FSD AV.....L..L..NIQQ. -SKYPIL.LF
MumuTRPV3	S-----	-----	..G.FSD AV.....L..L..NIQQ. -STYPIL.LF
RanoTRPV3	S-----	-----	..G.FSD AV.....L..L.G.NIQQ. -STYPIL.LF
GagaTRPV3	S-----	-----	..NS..GP VLMD..L.L.L..IQQ. -SKYPVL.LL
XetrTRPV3	E-----	-----	..CQ..ST AI...EL..LRG..MDKD -PKYPVL.LF
CafatRPV4	DHTNCTVPTY PSCR	-----	---DSETFST FL.D..L..MLSS -TKYPV..I.
HosaTRPV4	DQTNCTVPTY PSCR	-----	---DSETFST FL.D..L..MLSS -TKYPV..I.
MumuTRPV4	DQSNCTVPTY PACR	-----	---DSETFSA FL.D..L..MLSS -AKYPV..IL
RanoTRPV4	DQSNCTVPSY PACR	-----	---DSETFSA FL.D..L..MLSS -AKYPV..IL
GagaTRPV4	DHSNCTLPTY PSCR	-----	---DSQTFST FL.D..L..ML.S -AKYPG..I.
XetrTRPV4	T.SNCTVPEY PSCR	-----	---DSSTFSK FL.D..L..MINS -AKYP...I.
DareTRPV4	N-----CPTY PEGR	-----	---DT.TFSE FL.D..L..I...DNMLK GAQYP...I.
HosaTRPV5	Y-----	-----	---DYPM ALFTT.ELFL TVI.APANYD -V.LPFM.S.
HosaTRPV6	Y-----	-----	---DYPM ALFST.ELFL TII.GPANY. -V.LPFMYS.
CiinTRPV1	S-----	-----	---GTFM .LIQMSFGEF S--YDDVLN- -GKYQ.ISI.
CiinTRPV2	F-----	-----	---QSIM GMFITIGEF QDLY.D.DR- -SRHPTAAKT

BotaTRPV1 LLLAYVILTY ILLLNMLIAL MGETVNKIAQ ESKNIWKLQR AITILDTEKS FLKCMRKAFR SGKLLQVGYT PDGKDDYRWC FRVDEVNWT
 CafaTRPV1S.....C.....
 OrcuTRPV1S.....G.....C.....
 RanoTRPV1F.....F.....
 MumuTRPV1F.....F.....
 HosaTRPV1F.....F.....
 GagaTRPV1S.....I.N.Y.N.L.RS...RVL.I...Q.....S.
 XetrTRPV1S.V...I...NSF.DT...SVL.F...E.....NK
 BotaTRPV2S.V.T.D.WS...K.SV.EM.G.YWW.R.OQ.A.VK.T.SR...SP.E...E...AA
 CafaTRPV2S.S.D.WS...K.SV.EM.NG.YWW.R.KQ.A.VK.T.TR...SS.E...E...AA
 HosaTRPV2S.T.D.WS...K.SV.EM.NG.YWW.R.KQ.A.VM.T.TK...SP.E...E...AS
 MumuTRPV2S.T.D.WS...K.SV.EM.NG.YWW.R.RH.A.R.K.TK.G.IP.E...E...AA
 RanoTRPV2S.H.V.D.N.WS...K.SV.EM.NG.YWW.R.KH.E.R.K.K.TR.G.TP.E...E...VA
 GagaTRPV2S.TD.SG.Y.SV...A.EI..A.W.WRQGGKR..C.MS.--LN.K.E...E.IK..S
 XetrTRPV2S.S.SS...S...I.RF.IPRFI..KLK.I.QW.T.KS...NP.K...E.MV.GS
 DareTRPV1/2M.NQS.EMMSV..TS...T.M.WI.LP..LQKLI..E--EKDLG.GQEP.R...S.E.....Q
 CafaTRPV3F.V...ENVSK.ER.R...R.EF.M.LPEWL.SR..M.-----ELC.KVAEE.F.L.L.IN.K..E
 BotaTRPV3F.V...ENVSK.ER.R...R.EF.I.LPEWL.SR..M.-----ELC.KVAE..F.L.L.IN.K..E
 HosaTRPV3F.V...ENVSK.ER.R...R.EF..M.LPEWL.SR..M.-----ELC.KVAE..F.L.L.IN.K..E
 MumuTRPV3F.V...ENVSK.ER.R...R.EF..M.LPEWL.SR..M.-----ELC.KVAE..F.L.L.IN.K..E
 RanoTRPV3F.V...AENVSK.ER.R...R.T.EF..M.LPEWL.SR..M.-----ELC.KVAE..F.L.L.IN.K..E
 GagaTRPV3F.V...ED.SK.EH.....R...EF.F.LP.SL..K.Q.L.-----ERC.KVAEN.T.V.L.IN.R..E
 XetrTRPV3F.V...-D.-----
 CafaTRPV4GQVSK..H...W.T...I.R..PVFL.....EMVT.KS.S.TP.R...E.....SH
 HosaTRPV4GQVSK..H...W.T...I.R..PVFL.....EMVT.KS.S.TP.R...E.....SH
 MumuTRPV4GQVSK..H...W.T...I.R..PVFL.....EMVT.KS.S.TP.R...E.....SH
 RanoTRPV4GQVSK..H...W.T...I.R..PVFL.....EMVT.KS.S.TP.R...E.....SH
 GagaTRPV4GQVSK..H...W.T...I.R..PLFL.R...EMVT.KG.T.TP.R...E.....SH
 XetrTRPV4GQVSK..Q...W.T...I.R..PV.....EMVT.KN.L.TP.R...E.....SH
 DareTRPV4GQVSK..K...V.RG-----
 HosaTRPV5 VNF.FA.IAT.L.M.LF..M.D.HWRV..RDEL.RA.V.VA.TVML.RK.LP---CLWP.RSGICGCFG.LGDRWFL.VE.NHN.QNPLRV
 HosaTRPV6 TYA.FA.IAT.L.M.L..M.D.HWRV.H.RDEL.RA.I.VA.TVML.RK.LP---CLWP.RSGICGRE.G.LGDRWFL.VE.D.Q.LNRQRI
 CiinTRPV1 .FIIFML.VH.V..S...M.TR.YE..YK.KAEKV.RK.W.SMVIIM.R.-----
 CiinTRPV2 .F.V.MVIVT.L..T...M..S.F...E.T-RWE.QR.W.KIV.VM.R.VSPEH.IRKO.RL.YSQFESKG.NGRRFV.VF.NFIGSICKYM

BotaTRPV1	WNTNVGIIN- EDPGNCGEGIK RTLSFSLRSS RVAGRNWKNF ALVPLLRDAS TR
CafaTRPV1G .S..... S.....
OrcuTRPV1V.....G .S.....
RanoTRPV1V.....G .S.....
MumuTRPV1V.....G .S.....
HosaTRPV1V.....S.H.....E.. A.
GagaTRPV1CSGDL .NP.YCIKPG .S.K.---T.....G. R.
XetrTRPV1	..S.L...K-H.L. S...A.F.P- ----.GKRWK S...HVKETN VK
BotaTRPV2	.EQTLPTVF- .E.SGRG.PG AIT.PA.A.- -OSSQDSAVE EDHVP.QPLE SH
CafaTRPV2	.EQTLPTVC- .E.SGPAVPA LPNYM.P*--
HosaTRPV2	.EQTLPTLC- ...SGAGVPR TLENPV.A.P PKEDEGASE ENYVPVQLIQ SN
MumuTRPV2	.EKTLPILS- ...SGAGITG YKKNPTS--- -KP.K.SASE EDHLP.QVIQ SH
RanoTRPV2	.EKTLPILS- ...SGGITG NKKNPTS--- -KP.K.SASE EDHLP.QVIQ SP
GagaTRPV2	.AKE..VLK- .E..TNDLE INPEETRSRK Q.POKQLRSA VSEEQSLIQ EL
XetrTRPV2	.EKDLAN.. .E..DT-----
DareTRPV1/2	..R.M...IN ...K.TQDP SPANVQREP. .GVLQTFRRR RRTQRAQTRE GH
CafaTRPV3	.K.H.SFL.- ...PGRRTA DFNKIQDS.R SNSKTTIINA. DEIDFPPET. V*
BotaTRPV3	.K.H.SFL.- ...PGR-RT DSNKIQDS.R SNSKTTIINA. EEIDFPPET. V*
HosaTRPV3	.K.H.SFL.- ...PVR-RT DFNKIQDS.R NNSKTTIINA. EEIDFPPET. V*
MumuTRPV3	.K.H.SFL.- ...PIRRTA DLNKIQDS.R SNSKTTIYA. DELDEFPPET. V*
RanoTRPV3	.K.H.SFL.- ...PIRRTA DSNKIQDS.R SNSKTTIYA. DELDEFPPET. V*
GagaTRPV3	.K.H.SF.- ...P---T DPSKVQDN.R TNSKNITLNT. EETDD.PET. L-
XetrTRPV3	-----KDT.TASE DELDSFEK---
CafaTRPV4	..Q.L.....KS.NYQ YGFSHTVGR LRRD.WSSVV PR.VE.NKN- SN
HosaTRPV4	..Q.L.....KN.TYQ YGFSHTVGR LRRD.WSSVV PR.VE.NKN- SN
MumuTRPV4	..Q.L.....KS.IYQ YGFSHTVGR LRRD.WSSVV PR.VE.NKN- SN
RanoTRPV4	..Q.L.....KS.IYQ YGFSHTMGR LRRD.WSSVV PR.VE.NKN- SG
GagaTRPV4	..Q.L....S- ...KSDTYQ YGFSHTVGR LRRD.WSTVV PR.VE.NKS- CP
XetrTRPV4	..Q.L.....RND.YQ YGFSQTVGR LRRD.WSVVV PR.VE.NK.P.QH
DareTRPV4	-----E.EGHCMFQ VSTINKA.L.T APTD.WSTVV PR.VE.NRG. RD
HosaTRPV5	LRYVEVFK.S DKEDDQ.HPS EKQPSGAE.G TL.RASLALP TSSLSRTASQ SS
HosaTRPV6	QRYAQAFHTR GSEDLDKDSV EK.ELGCP-- --FSPHLSLP MPVSRSRSTR SS
CiinTRPV1	-----
CiinTRPV2	CFYGRTRCTE KRFVLEHWYS VP-----YITHAHLQ VTTNSSSPYN SN

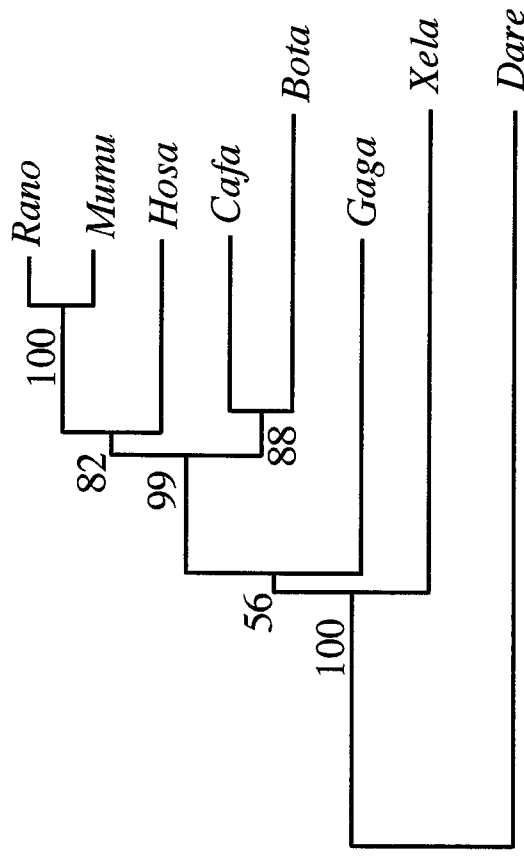
Abbreviations of species name are the same as in supplementary table 1. A dot means the identical amino acid as in the top line. A dash means deletion. Asterisk indicates a stop codon.

MDH1



0.02

PCK1




0.05

Supplementary Figure 2


The number of amino acid residues in MDH1 and PCK1 is 622 and 333, respectively. The JTT-model based distances and complete deletion are options for constructing the tree. Susc: *Sus scrofa*, Xela: *Xenopus laevis* an other abbreviations are the same as in supplementary table 1.


Table 3 shared amino acids in birds and mammals


position ^a	TRPV1		TRPV2		TRPV3		TRPV4	
	F ^b	B & M ^b	F	B & M	F	B & M	F	B & M
59							V	G
69							I	M
74							P	A
111							E	G
114							H	R
119					R	A		
137							Q	K
151					T	L		
153			F	D			H	P
172			T	E				
188					E	D		
190					F	L		
198					S	A		
212							N	S
218					V	I		
244					N	A		
274					D	N		
288					Y	H		
289	A	P						
311	Q	K						
321					G	I		
339	D	E	F	M	N	T		
346	E	D			A	T		
357					T	M		
425			T	V				
432	G	C						
438					P	D		
498					A	T		
568			K	R				
688	V	C						
719					G	C		
798							I	L
799					K	Q		
863			R	W				
887			K	E				
900	K	T						
921	S	R						
933					K	S		
937	K	W						
938	R	K						
945	H	L						
947	K	R			E	P		



Ankyrin repeats

TM1 

TM2 

TM5 

a: position is based on the alignment of vertebrate TRPV (supplementary figure 1)

b: "F" means "frogs" and "B & M" means "birds and mammals"

c: blue arrow and orange arrows mean the location of ankyrin repeats and trans -membrane domain 1, 2, and 5, in the alignment respectively.

Supplementary Figure 3

ファルマシア

別刷

感覚分子からみたヒトの進化

颯田葉子

Yoko SATTA

総合研究大学院大学先導科学研究科教授

1 はじめに

ヒトに最も近い霊長類がチンパンジーであることが分子系統学的解析から明らかになったのは、1995年にチンパンジーなど数種類の霊長類ミトコンドリアの全ゲノム配列が明らかにされてからである。¹⁾その後2001年にヒトゲノムの全塩基配列²⁾が、そして2005年にチンパンジーゲノムの全塩基配列³⁾が報告され、核DNAにコードされている遺伝子の2種での比較が可能となった。

ヒトとチンパンジーは表現型(形態や生理)の違いが大きいのに比べて、その遺伝的な差はさほど大きくない。1970年代半ばに様々な構造タンパク質のアミノ酸配列の比較から2種の遺伝的な違いの程度は1%程度と推定された。⁴⁾近年明らかになったヒトとチンパンジーの核DNAの塩基配列の違いはおよそ1.2%であり、⁵⁾この値は上述のアミノ酸配列の比較と同様に種が遺伝的に近いことを示している。1970年代から、ヒトとチンパンジーの間の表現型の違いは構造タンパク質の変化ではなく、タンパク質の発現量を制御する領域あるいは遺伝子での変異によるのではないかという議論がなされた。⁶⁾

生物は常に環境からの刺激を受容し情報を収集、それに反応することを通して環境との相互作用を続けてきた。生物の生理反応や行動はこの環境との相互作用の結果といっても過言ではない。そして個々の“生物らしさ”は、これらの反応がどれだけその生物に特異的であるかにより決まっていると考えられることができる。環境からの刺激の受容や情報の収集という点で重要な生体の機能は、感覚受容である。例えば、食物を探し摂食するという行動においては、視覚、嗅覚、味覚により得た情報が何を食べるかを

決めるうえで重要だし、また種内の他の個体とのコミュニケーションには聴覚もしくは視覚や嗅覚からの情報あるいは刺激が役立つだろう。また環境を感知するのに手や足の触覚を使うこともある。本稿では、ヒトの進化の過程で起きた感覚受容体遺伝子の変化に注目し詳述する。そして、進化の過程でなぜそのような変化が起きたのかについて、ヒトの生物学的特性をもとに議論する。

2 視覚

感覚分子とはここでは簡単に五感を司る分子、あるいは五感の受容体分子と定義する。五感とは、視覚、嗅覚、味覚、聴覚、触覚をさす(図1)。これらの感覚はそれぞれの感覚器に存在する感覚分子により感知され、その刺激が電気信号に変換されて脳へと送られる。

これらの感覚分子の中で、最も古くから研究の対象とされてきたのが視覚である。光の感受に関わる受容体分子はオプシンと呼ばれ、7回膜貫通型のG

感覚器官	感覚	感覚分子
目	視覚	オプシン(2/3)
耳	聴覚	不明
鼻	嗅覚	嗅覚受容体分子(71/802)
舌	味覚	味覚受容体分子(3/>36)
皮膚	触覚	TRP遺伝子群等(0/>9)

図1 感覚器官、感覚と感覚分子

括弧の中の数値は現在知られているヒトの感覚受容体偽遺伝子数/受容体遺伝子数。偽遺伝子にはヒト集団中で多型的なものも含まれる。

タンパク共役型受容体(GPCR)である。⁵⁾ オプシン分子にもたくさんの種類があるが、視覚と密接に関わりのある目の網膜に発現しているオプシン遺伝子は4種類である。目の網膜上には錐体細胞と杆体細胞という2種類の光を感じる細胞がある。杆体細胞にはロドプシンが発現しており、特に明暗の識別の役割を果たしている。一方、錐体細胞には異なるオプシンを発現する3種類の細胞がある。これらのオプシンは、11-シスレチナルと結合した際の吸収波長が異なり、それぞれ青、緑、赤の光の3原色を吸収する。ヒトの場合青オプシン遺伝子は第7染色体に存在するが、緑と赤のオプシン遺伝子はX染色体に存在する。

霊長類の中でも初期に分岐した原猿は、2色視である。青オプシンは、常染色体上に、赤・緑の祖先となる赤オプシン遺伝子はX染色体にある。このことは霊長類の祖先が2色視だったことを示しており、またほ乳類の祖先が夜行性だったことと関係していると考えられている。この赤オプシン遺伝子の対立遺伝子として緑オプシン遺伝子を持つようになったのがマーモセットやオマキザルの仲間、新世界猿である。これらはX染色体上の対立遺伝子なので、新世界猿の場合には雄は2色視だが雌は3色視の個体がいる。しかし、3色視の個体が生存に有利かどうかは議論の分かれるところである。⁶⁾ 一方ゴリラ、チンパンジーなどの類人猿やニホンザル、カニクイザルの仲間である旧世界猿へ至る系統では、赤オプシン遺伝子が重複を起し、赤と緑のオプシン遺伝子が並列した。この重複により、旧世界猿と類人猿は恒久的な3色視を獲得した。

この領域は、構造的に重複を起しやすい特徴を持っているのかもしれない。実際、民族差は多少あるが、緑オプシン遺伝子を2つ持つ人は1つ持つ人と同じくらいの割合で存在するし、3つ以上の緑オプシン遺伝子を持つ人も20%程度いる。重複によって生じた配列のよく似た隣り合う遺伝子間では、複製の時のミスも起こしやすい。この複製時のミスで緑と赤のキメラの遺伝子が生じたり、あるいは緑オプシン遺伝子を失ってしまうなどの変異が起きる(図2)。この変異は欧米で8%程度、アジア・アフリカで3~5%程度といわれている。^{5,7)} このような

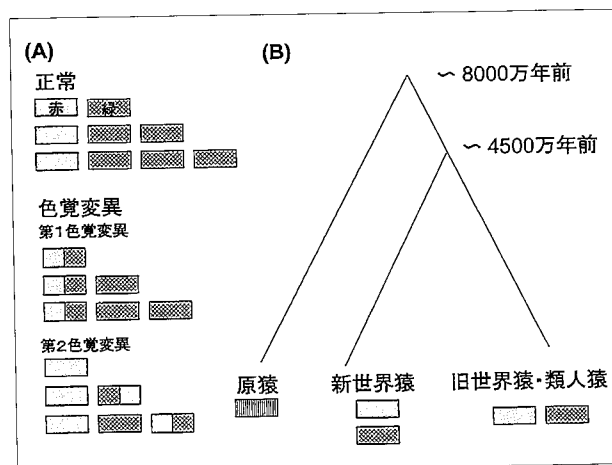


図2 オプシン遺伝子の多型(A)と霊長類でのオプシン遺伝子進化の概要(B)

第1色覚異常は赤色オプシン遺伝子が緑オプシン遺伝子と融合して、赤色オプシン遺伝子が機能を失った場合、第2色覚異常は緑色オプシン遺伝子が機能を失った場合、いずれの場合も、赤と緑が識別しづらい。この他に、青色オプシンが機能を失う第3色覚異常がある。

緑オプシン遺伝子の重複遺伝子の数の増減が他の霊長類、例えばチンパンジーやニホンザルと比較してどの程度の増減か、またヒト以外の霊長類にもキメラ遺伝子が存在するかどうかなどについて調べること、ヒトの生活が視覚、特に色覚にどの程度強く依存しているかを更に明らかにすることができる。

3 嗅覚

嗅覚受容体(OR)も、オプシンのようなGPCRであるが、オプシン遺伝子とは異なりOR遺伝子はイントロンを持たない。ORは、環境中の未知の化学物質と結合してその情報を生体に伝える。そのためこの遺伝子は多数の重複遺伝子を持っている。一個体内につくり出される遺伝子産物の種類の多さという点では、免疫グロブリン、T細胞受容体に次ぐ。

近年、様々な生物のゲノム配列が入手可能となり、これらのOR遺伝子の多様性が比較できるようになった(表1)。水棲の魚類と比較して、陸上に生息する両生類、鳥類、ほ乳類では、明らかにOR遺伝子の数が増えている。環境中の化学物質の種類や数に水中と空気中で大きな違いがあることを示しているのかもしれない。また、ニワトリのゲノムではOR遺伝子数がマウスの約半分であり、しかもその大半

表1 嗅覚受容体遺伝子群を構成する遺伝子数

種	重複 遺伝子数	偽遺伝子数 (%)	機能遺伝子数 (%)
ゼブラフィッシュ	133	35(26)	98(74)
フグ	94	54(57)	40(43)
カエル	888	478(54)	410(46)
ニワトリ	554	476(86)	78(14)
マウス	1,391	354(25)	1,037(75)
ヒト	802	414(52)	388(48)

(86%)が機能を失っている偽遺伝子である。確かにニワトリがマウスやイヌのように餌の匂いを嗅いでいる姿は見かけないし、鳥類は一般に視覚が優れているといわれている。視覚を発達させた鳥類には、もはや嗅覚は大事ではないのかもしれない。同様の多様性の変化の傾向は、ヒトとマウスにもみてとれる。マウスは1,300余りのOR遺伝子を持ち、その75%が機能を保持している。^{8,9)} 一方ヒトはOR遺伝子の数も800とマウスに比べて少ないが、機能遺伝子はその半数に過ぎず機能遺伝子の数はマウスの3分の1である。^{8,9)} これは前述した霊長類、特にヒトへ至る系統で3色視の獲得により視覚情報が優位になったことと関連しているのかもしれない。¹⁰⁾ この仮説を確かめるには、アカゲザルのゲノム配列と新世界猿、原猿のゲノム配列各々で、OR遺伝子の多様性と偽遺伝子化率を比較する必要がある。

4 味覚

味覚は基本的に、甘味、苦味、旨味、塩味、酸味の基本五味といわれる味覚成分によりつくり出される。これらの味を感知するのは、舌にある味蕾細胞に発現している受容体である。¹¹⁾ この受容体の基本構造や多様性の程度は受容体ごとに大きく異なる(表2)。甘味、苦味、旨味の受容体は視覚や嗅覚と同じようにGPCRである。苦味の受容体はT2Rという遺伝子群で、嗅覚と同じようにイントロンのない遺伝子構造だが、甘味と旨味の受容体はイントロンのあるT1Rという遺伝子である。またT2Rは単体で受容体として機能するが、T1RはT1R1/T1R2あるいはT1R1/T1R3のヘテロ2量体で機能する。T1R、T2RともにGPCRという構造

表2 基本五味(甘味・苦味・旨味・酸味・塩味)の感覚分子

甘味：T1R1/T1R2のヘテロ2量体
旨味：T1R1/T1R3のヘテロ2量体
苦味：T2R(異なる遺伝子座が多数存在する)
酸味：PKD1L3, PKD2L1(候補分子)
塩味：ENaC(候補分子)
T1R1, T1R2, T1R3：Taste receptor type 1, member 1, 2, 3.
T2R：Taste receptor type 2.
PKD1L3：Polycystic kidney disease 1-like 3.
PKD2L1：Polycystic kidney disease 2-like 1.
ENaC：sodium channel, nonvoltage-gated 1 gamma.

の共通性があるので共通の祖先分子から分岐したことは想像に難くないが、そのアミノ酸配列を比較しても、分子間の相同性は極めて低い。¹²⁾ 一方、酸味はPKD1L3とPKD2L1が候補分子としてあげられている。^{13,14)} これらの分子は6回膜貫通型のイオンチャネルであるTRPというタンパク質ファミリーに分類される。¹⁵⁾ このTRPは後述するように生体での温度感受性を担う分子が属しているタンパク質ファミリーでもある。また塩味についてもナトリムのイオンチャネルが関与している可能性が指摘されているが、この点についてはまだ議論が多い^{11,16)}。

味覚は食餌の中に適切な栄養素が含まれているか否かを、または食物が生体にとって害がないかどうかを判断するのに重要と考えられてきた。甘味はカロリー摂取のための糖分、旨味はアミノ酸、塩味は無機塩類の感知である。一方、苦味と酸味は毒物や腐敗物を摂取することがないように発達してきたと考えられている。特に苦味の受容体分子は多様である。このことは酸味に関わる分子構造が基本的には水素イオンという単純な構造のため、受容体の多様性を必要としていないことを反映している。多くのほ乳類は40前後のT2R遺伝子を持っている。マウスではその中の5遺伝子が偽遺伝子化している。

一方、ヒトでは、36のT2R遺伝子が同定されていて、この中で11の遺伝子が偽遺伝子化しており、さらにその中の3遺伝子がヒトでだけ偽遺伝子化している。他の霊長類と比べてみると、ヒトの系統での偽遺伝子化率は統計的にも有意に速いことが明らかになった。ヒトでは苦味の受容体遺伝子の機能退化が進んでいるらしい。¹⁷⁾ また偽遺伝子化ではないが、苦味の受容体がある苦味物質を感知しなくなっ

た例も知られている。昔から、味盲の多型が知られているフェニルチオカーバマイト(PTC)である。この物質は人工の化学物質で自然界には存在しないが、この物質の苦味を感じることでできるヒトとできないヒトがいる。実はチンパンジーにもこの苦味に関する多型性があることが分かっていた。最近この遺伝子の解析が行われ、チンパンジーとヒトで独立に異なる突然変異により同じ遺伝子にそれぞれがPTCに対する感受性を失う変異を起こしていたことが分かった。¹⁸⁾ なぜ、同じ人工の物質に対する感受性を独立に失うように変化しているのかは明らかではないが、他の苦味物質のこの受容体への結合の程度にも違いがあらわれていることは想像される。他にどのような物質が結合できるかを明らかにすれば、このPTCへの感受性を失った変異の生物学的意義も明らかになる。他にも、ヒトでだけで適応的となる突然変異が起きた苦味受容体の存在も知られている。¹⁹⁾

5 触覚と聴覚

今まで見てきた3種類の感覚が離散的な要素(光の3原色, 匂い物質, 基本五味に対応する物質)を入力情報としてきたのとは異なり, 触覚と聴覚の入力情報は連続的である。聴覚については, 受容器が内耳の有毛細胞であることは分かっているが, 物理的な毛の振動をどのようにして音の高低として神経細胞あるいは脳へ伝えるのか, その仕組みの全体像はいまだ明らかでない。一方, 触覚は広義には「皮膚感覚」と同義であり, 皮膚にある受容器に基づく感覚(触・圧・温・冷・痛など)の総称と定義されている。触覚の場合は, 近年その感覚分子の幾つかがようやく明らかになってきた。そのなかでも特に温と冷, 温度感覚に関する受容体の研究の発展はめざましい。^{20~22)}

現在までにヒトには9種類の温度受容体が存在することが知られている(図3)。しかしこれらのすべてが皮膚で主に発現しているわけではなく, 内臓や中枢神経で主に発現している分子もある。TRPは共通に6回膜貫通領域の構造を持つが, そのC末側, N末側にどのような構造があるかで, 6つのサブファミリーに分類される。¹⁵⁾ おもしろいことに,

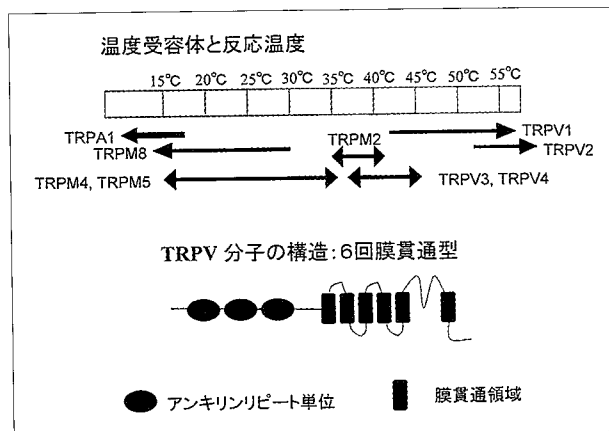


図3 温度受容体と反応温度(A)と温度受容体の分子構造(B)

温度感受性の受容体はこのなかの3つの異なるサブファミリーに存在する。図3にはTRPVというサブファミリーの構造を示している。構造と機能の解析から陽イオンの通過に重要な役割を果たすアミノ酸や, プロテインカイネースによる感受性の増強に関わる部位などは分かってきているが, 温度に反応するアミノ酸を特定するには至っていない。現在チンパンジーとの比較を行っている段階なので, ヒトの遺伝子に起きた特定の変化を論じることはできないが今後の展開として, この遺伝子の多様性とヒトが広い生息域を獲得できたこととの関連を探っていききたい。

6 記憶力・コミュニケーション能力の発達と感覚

感覚分子の中でも, 特に嗅覚, 味覚の受容体の多様性はヒトで減少している傾向にある。上にも述べたようにこの多様性の減少は旧世界猿や類人猿での3色視の獲得と関連があるのかもしれない。ヒトに至る系統では嗅覚, 味覚に頼ってきた環境情報入手を視覚に依存するようになり, 相対的に嗅覚, 味覚の受容体の多様性(重要性)が減少していることは否めない。しかし, 味覚ではヒトは他の霊長類より偽遺伝子化するのが早いし,¹⁷⁾ 嗅覚でもヒトは他の霊長類と比べて偽遺伝子の含有率が高いという報告もある。ヒトで特異的に感覚分子の退化が進行しているのかもしれない。¹⁰⁾ これらの多様性の減少に少なからず影響を及ぼしたヒトの特性の1つに, 記憶力とコミュニケーション能力の発達をあげることがで

きるだろう。

味覚で多様性の減少が見られたのは、苦味の受容体であった。苦味は毒物や腐敗と関連していて、これらを食餌として摂取するのをさまたげる役割を担っている。しかしヒトの場合、例えば山中でみつけたキノコが毒キノコかどうかをいちいち口にしなれば判断できないわけではない。ヒトは口にする前から毒キノコかどうかを見分けることができるし、あるいは見分けるための方法を知ることができる。また、視覚によって得た情報を記憶することで、例えば腐ったものと栄養価のあるものを見分けることができる。これは、ヒトが築いてきた文化の賜物といえるだろう。

ヒトは視覚とともに、記憶力とコミュニケーション能力を発達させることにより、他の個体の経験、歴史的な知識を自分の知識として貯えることを可能とした。それにより、視覚からの入力情報には付加価値が加えられ、一方で、味覚や嗅覚の感覚が退化しているのかもしれない。このことは、特定の遺伝子の偽遺伝子化、すなわち発現がなくなること(あるいは発現量制御の変化)が、ヒトの生理的な特性に貢献している1例とも見ることができる。ヒトの感覚遺伝子の進化は、ヒトとチンパンジーの表現型の

違いを遺伝子の発現量の違いで説明しようとした今から30年前の仮説⁹⁾を検証しているのかもしれない。

本稿の執筆にあたり、ハーバード大学の郷康広さん、総研大の手島康介さん、東京大学の河村正二さんには、ご助言やデータの提供をいただきました。ここに感謝いたします。

文 献

- 1) Horai S. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 92, 532 (1995).
- 2) International Human Genome Sequencing Consortium, *Nature*, 409, 30 (2001).
- 3) The Chimpanzee Sequencing and Analysis Consortium, *Nature*, 437, 69 (2005).
- 4) King M. C., Wilson A. C., *Science*, 188, 107 (1975).
- 5) Nathans J. *et al.*, *Science*, 232, 193 (1986).
- 6) Melin A. D. *et al.*, *Anim. Behav.*, 73, 205 (2007).
- 7) Vogel F., Motulsky A. G., "Human Genetics," Springer, Berlin, 1997.
- 8) Niimura Y., Nei M., *Gene*, 346, 23 (2005).
- 9) Niimura Y., Nei M., *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 100, 12235 (2003).
- 10) Gilad Y. *et al.*, *Plos Biol.*, 2, 120 (2004).
- 11) Chandrashekar J. *et al.*, *Nature*, 444, 288 (2006).
- 12) Matsunami H., Amrein H., *Genome Biol.*, 4, 220 (2003).
- 13) Ishimaru Y. *et al.*, *Proc. Natl. Acad. Sci., U.S.A.*, 103, 12569 (2006).
- 14) Huang A. L. *et al.*, *Nature*, 442, 934 (2006).
- 15) Clapham D. E., *Nature*, 426, 517 (2003).
- 16) Lyall V. *et al.*, *J. Physiol.*, 558, 147 (2004).
- 17) Go Y. *et al.*, *Genetics*, 170, 313 (2005).
- 18) Wooding S. *et al.*, *Nature*, 440, 930 (2006).
- 19) Soranzo N. *et al.*, *Current Biol.*, 15, 1257 (2005).
- 20) Patapoutian A. *et al.*, *Nature Reviews Neuroscience*, 4, 529 (2003).
- 21) Voets T. *et al.*, *Nature*, 430, 748 (2004).
- 22) Reid G., *Eur. J. Physiol.*, 451, 250 (2005).



スキルアップのための漢方薬 の服薬指導(改訂2版)

岡野善郎, 永田郁夫 著

南山堂/A5・284頁・2,520円

漢方薬は、数千年の歴史の荒波にもまれながら構築され、国民の約40%が服用経験を持つ薬剤である。そのため服薬指導が義務付けられている薬剤師にとっては「漢方薬の服薬指導」は避けては通れない状況となっている。本書は2001年発刊の初版と2004年発刊の「漢方薬の服薬説明ガイド」の内容がバージョンアップされ、項目も増補されるなど内

容は充実されている。漢方を極めるための専門書ではないが、病院で得られた数十年の貴重な症例やデータがまとめられており、服薬指導への助言などが大変分かりやすく解説されている。

第I章：服薬指導に重要な漢方医学の基本概念として、診断・治療は、陰陽、虚实、表裏、寒熱、五臓、気・血・水、六病位などのカテゴリーで総合的に捉えることを理解すること。第II章：服薬指導のための基礎知識。第III章：東洋医学におけるEBM。第IV章：漢方治療と服薬指導(疾患別)。第V章：漢方薬に関するQ&A(53項目)。巻末付録として主要漢方製剤の効能・効果一覧で構成され

ている。

本書の目標は、「薬剤師が漢方をよく理解し、患者さんに分かりやすい解説ができること(服薬指導)」と「医療用医薬品と漢方薬との併用に伴う作用を把握することにより、投薬薬量を増減し、処方薬を変更する(適正使用)こと」である。漢方の初学者や薬学生だけでなく、服薬指導の従事者、これから服薬指導に携わる薬剤師、漢方薬を服用する使用者などに大変役立つ内容の書籍である。

芦澤一英 Kazuhide ASHIZAWA

※本書は、日本薬学会「薬学情報コーナー」で閲覧できます。