

論文要旨

区分	甲	氏名 稲丸 賢 人
<p data-bbox="197 510 325 544">論文題名</p> <p data-bbox="197 557 1418 640">ハブ血清に含まれるハブ毒中和因子：Small serum proteins (SSPs) をコードする遺伝子の分子進化</p> <p data-bbox="197 701 357 734">論文の要旨</p> <p data-bbox="150 736 1445 1189">日本南西諸島に棲息する毒蛇のホンハブ (<i>Protobothrops flavoviridis</i>, Pf) は、その血液中に自身の毒タンパク質を中和する因子を有している。毒タンパク質中和因子の1つである SSP (Small serum protein) は、ホンハブ血清中から 5 種類 (<i>Pf</i>SSP-1~<i>Pf</i>SSP-5) 単離されている。SSP は、成熟タンパク質に含まれる 5 つのジスルフィド結合を形成する 10 個のシステイン残基の位置が、前立腺がんマーカーとして知られるヒト Prostatic secretory protein 94 (PSP94) のそれらと一致するため、ヒト PSP94 のヘビホモログだと考えられている。また、単離された <i>Pf</i>SSPs はハブ毒タンパク質と結合することが報告されており、<i>Pf</i>SSP-1 と <i>Pf</i>SSP-4 はアポトーシス誘導メタロプロテアーゼ HV1、<i>Pf</i>SSP-2 と <i>Pf</i>SSP-5 は平滑筋収縮を阻害する triflin、<i>Pf</i>SSP-3 は非出血性メタロプロテアーゼ Flavorase、と結合する。さらに、これらをコードする遺伝子の内、<i>Pf</i>SSP-1、<i>Pf</i>SSP-2 をコードする遺伝子 (<i>Pf</i>SSP-1、<i>Pf</i>SSP-2) とその 2 つの遺伝子間領域 (Intergenic Region : I-Reg) の塩基配列が決定されており、<i>Pf</i>SSP-1 と <i>Pf</i>SSP-2 が染色体上でタンデムに並んで存在していることが示唆されていた。興味深いことに、これら 2 つの遺伝子の数理解析の結果から、毒タンパク質をコードする遺伝子で観察される「加速進化」が観察された。加速進化とは、イントロン、タンパク質非コード領域及びタンパク質コード領域の同義座位に比べて、タンパク質コード領域の非同義座位への突然変異導入率が異常に高い現象である。この現象によって、毒タンパク質は多様なアミノ酸配列をもち、特有の生理活性を獲得したと考えられている。つまり、SSP は非毒タンパク質にも関わらず、毒タンパク質と同様の過程で多様な生理活性を獲得したと考えられる。しかし、これまで、SSP の分子進化過程についてはほとんど明らかになっていなかった。</p> <p data-bbox="150 1191 1445 1296">そこで、本研究では、1) <i>Pf</i>SSPs が形成していると考えられる遺伝子アレイの塩基配列の完全解読、2) 決定した <i>Pf</i>SSPs の構造比較解析、3) 無毒のヘビを含めた 7 種類のヘビドラフトゲノムデータ解析から再現された各ヘビの SSP アレイと <i>Pf</i>SSP アレイの比較解析、4) ヘビ SSPs の数理解析、5) SSP の起源遺伝子の推定、を行い、SSP の分子進化過程について考察した。</p> <p data-bbox="150 1299 1445 1404">まず、ホンハブのゲノム断片 46,361 bp を解読し、同じ染色体上に、i) <i>Pf</i>SSP-4、<i>Pf</i>SSP-5、<i>Pf</i>SSP-1、<i>Pf</i>SSP-2、<i>Pf</i>SSP-3 の順に並んでいること、ii) <i>Pf</i>SSP-4 の 12.4 kbp 5' 上流に新奇の SSP : <i>Pf</i>SSP-6 をコードする遺伝子 (<i>Pf</i>SSP-6) が、iii) <i>Pf</i>-Reg64 に偽遺伝子化された <i>Pf</i>SSP-7(ψ)、<i>Pf</i>SSP-8(ψ) が、<i>Pf</i>-Reg51 に断片化された <i>Pf</i>SSP-1 : <i>Pf</i>SSP-1δ(ψ) が、存在して SSP 遺伝子アレイを形成していることを明らかにした。</p> <p data-bbox="150 1406 1445 1590">活性型の <i>Pf</i>SSPs に挿入された塩基配列の違いから、6 つの活性型 <i>Pf</i>SSPs は、i) <i>Pf</i>SSP-6、ii) <i>Pf</i>SSP-1、<i>Pf</i>SSP-2、<i>Pf</i>SSP-5、iii) <i>Pf</i>SSP-3、<i>Pf</i>SSP-4、のサブグループに分類でき、各サブグループで最初に獲得された SSP が、<i>Pf</i>SSP-6、<i>Pf</i>SSP-5、<i>Pf</i>SSP-4、であることを明らかにした。また、<i>Pf</i>SSPs の数理解析から、1) <i>Pf</i>SSP-1 と <i>Pf</i>SSP-5 または <i>Pf</i>SSP-2 と <i>Pf</i>SSP-5 は分岐してから長い時間が経過し、それぞれの分岐は中立的な進化過程を経たこと、2) <i>Pf</i>SSP-1 と <i>Pf</i>SSP-2 は分岐してから短い時間で加速度的に多様化したこと、3) <i>Pf</i>SSP-3 と <i>Pf</i>SSP-4 がごく最近分岐し、加速度的に分化していること、が示唆された。つまり、加速進化は遺伝子重複の直後に生じ、その後、ランダムな突然変異によって徐々にその痕跡が減少していくと考えられた。</p> <p data-bbox="150 1592 1445 1803">ヘビドラフトゲノムデータの解析からは、無毒ヘビと有毒ヘビが分岐する以前に SSP-6、SSP-5 が獲得されており、その後、SSP-4 が獲得されたことが明らかになった。また、コブラ科ヘビとクサリヘビ科ヘビの SSP アレイの比較から、クサリヘビ科ヘビのゲノムでは SSP-1、SSP-2 を含む領域で逆位が生じていることが明らかになった。興味深いことに、この領域に含まれるコブラ科ヘビの SSP-5 のホモログでは「中立的な」進化を、クサリヘビ科ヘビの SSP ホモログでは「加速度的な」進化を、それぞれ経ていることが推察された。すなわち、本来、加速進化の痕跡が減少するはずだった SSP-5 のパラログは、クサリヘビ科ヘビのゲノムで逆位が起きたことで加速進化が維持され、SSP-1、SSP-2 へと派生し、最後に SSP-4 から SSP-3 が獲得されたと考えられた。</p> <p data-bbox="150 1805 1445 1908">ガーターヘビ、キングコブラ、ヨーロッパクサリヘビ、セイブガラガラヘビ、ヒヤッポダ、タイワンハブ、ホンハブのゲノムから始めて PSP94 のオルソログをコードする塩基配列を見出し、脊椎動物の共通祖先のゲノムにおいて PSP94 を含むゲノム領域の重複が起き、その際に生じた PSP94 のパラログが SSP-6 の起源となり、爬虫類ゲノム、特にヘビゲノムにおいて高度に多様化してきたことを明らかにした。</p>		