

崇城大学大学院
工学研究科委員会
研究科長 小野長門 殿

論文審査委員
主査 千々岩 崇仁



論文審査結果の報告 (甲)

論文提出者 稲丸 賢人 (1819D01)

論文題名 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

審査委員 主査 教授 千々岩 崇仁

副査 教授 山本 進二郎

副査 教授 原島 俊

論文審査結果の要旨

日本南西諸島にはクサリヘビマムシ亜科ハブ属のホンハブ (*P. flavoviridis* : Pf) をはじめ、サキシマハブ (*P. elegans*)、トカラハブ (*P. tokarensis*)、ヤマハブ属に属するヒメハブ (*Ovophis okinavensis*) の 4 種類が棲息する。ハブ類へび咬傷時にみられる主な臨床学的知見は様々であり、主な生理活性を担う毒タンパク質の一つにホスホリパーゼ A₂ (PLA₂) が挙げられる。PLA₂ は 3-*sn*-ホスホグリセリドの 2-*sn*-アシルエステル結合を Ca²⁺ 依存的に加水分解する酵素であり、ハブ粗毒には PLA₂ が複数含まれており、全て構成するアミノ酸残基数、システイン残基の位置が保存されている。一方で、これらは互いに 30% 程度異なるアミノ酸残基を含むことで溶血や浮腫、筋壊死などそれぞれ固有の生理活性を発揮するアイソザイム系となっている。これはタンパク質コード領域における突然変異が同義座位よりも非同義座位に優位に起きる加速進化によって形成されたこともわかっている。一方で、ハブは誤って互いを噛んでしまっても重症化しないことが知られている。これは、ハブ血液中に自身の毒タンパク質を阻害あるいは中和するタンパク質が含まれているからであり、HSF (Habu serum factor) や PLI (Phospholipase A₂ inhibitor)、SSP (Small serum protein) が良く研究されている。SSP は、ヒト Prostatic secretory protein 94 (PSP94) のへびホモログとされ、ハブ血清から単離された 5 つの PfSSPs (PfSSP-1~PfSSP-5) は異なる親和性でハブ毒タンパク質と結合することが報告されている。また、PfSSP-1 と PfSSP-2 をコードする遺伝子 : PfSSP-1 と PfSSP-2 の塩基配列の相互の数理解析から、これらが加速進化していることも明らかとなっている。

こうした背景をもとに、本研究ではホンハブのゲノム断片 46,361 bp を解読し、1) 同じ染色体上に PfSSP-4、PfSSP-5、PfSSP-1、PfSSP-2、PfSSP-3 がこの順に並んでいること (Biosci. Rep. 2019, 39)、2) PfSSP-4 の 12.4 kbp 5' 上流に新奇の SSP : PfSSP-6 をコードする遺伝子 (PfSSP-6) が存在すること (Toxins 2020, 12, 177)、3) PfSSP-6 と PfSSP-4 の遺伝子間領域にかつて SSP をコードしていたと考えられる遺伝子断片 : PfSSP-7(ψ)、

*PfSSP-8(ψ)*が存在していることを見出し、SSP 遺伝子のアレイが形成されていることを明らかにした。また、活性型の6つの *PfSSPs* の構造とヘビ類の生物学的系統関係との比較解析からヘビの *SSP-1*~*SSP-6* が派生してきた順番と進化過程を考察した。さらに、7種類のヘビのドラフトゲノムデータの解析から、ヘビ SSPs の起源と考えられる爬虫類の PSP94 をコードする遺伝子を見出し、その遺伝子が載っているゲノム断片が重複し、そのパラログ遺伝子が突然変異を受け入れて SSP 遺伝子となったことを考察した。この発見により、動物が毒を獲得するには、まず構成性分子から毒活性を中和する分子が派生してから、毒分子が派生してきたとする新しい仮説を考案した。

以上のように、本研究は、ハブ毒中和因子である SSP 遺伝子の進化の分子機構、特に遺伝子重複の機構及び加速進化を示す事実の詳細を明らかにした。

最終試験結果の要旨

本研究の内容は、ハブ毒中和因子である SSP 遺伝子の進化の分子機構について、新たな知見を与え、多重遺伝子族の進化機構一般にとっても価値あるものと考えられる。また、審査委員会での口頭発表及び口頭試問により、最終試験に合格したものと認められた。よって、本論文提出者は、博士（工学）の学位を取得する資格があるものと認める。