

論文審査の結果の要旨

氏名 山西（吉崎） 史子

本論文は二部からなり、第一部では尾索動物カタユウレイボヤドラフトゲノム配列からのヒト補体遺伝子オルソログの同定、第二部ではカタユウレイボヤ *Bf* 遺伝子の構造とゲノム構成の解析を行っている。

補体系はこれまで主に哺乳類を使って研究され、自然免疫の主役を担う高度に複雑化したシステムであることが明らかになっている。近年の研究から、補体系は脊椎動物だけではなく、ウニやホヤなどの後口無脊椎動物、さらには節足動物カブトガニなどの前口動物にも存在することが明らかになった。しかしながら、一つの生物種から補体系遺伝子の全セットを明らかにした研究は哺乳類以外ではこれまでは存在せず、システム全体の進化を捉えるためには情報が不足していた。

第一部では cDNA ライブラリを作成しておこなった EST 解析、および京都大学で行われた発生段階をおっての EST 解析の結果を利用して、尾索動物カタユウレイボヤから補体遺伝子のクローニングが行なわれた。また、2002年に公表されたカタユウレイボヤドラフトゲノム配列を対象に補体遺伝子の網羅的な探索が行なわれた。ゲノム配列からの探索には、従来よく用いられる配列の相同性を利用した検索とともに、ドメイン構造に基づき、あるドメインを持つ遺伝子候補をすべて抽出した後に組み合わせから補体遺伝子候補を探索するという新規な方法が併用された。その結果、外来異物の認識、中心因子 C3 の限定加水分解による活性化、膜破壊複合体の形成という各反応に関わる遺伝子が存在することが明らかになり、哺乳類補体系に使われている遺伝子の基本セットは尾索動物と脊椎動物の共通祖先ですでに確立されていたことが示唆された。さらに、カタユウレイボヤから同定した遺伝子と既知の脊椎動物補体遺伝子の比較を行うことで、尾索動物と脊椎動物が分岐した後には脊椎動物の系統で生じた変化を特定し、脊椎動物補体系がドメインの追加や挿入、遺伝子重複などの変化を積み重ねて進化したと考察している。第一部の解析結果は、脊椎動物以外で初めて補体系遺伝子の全貌を明らかにしたものとして高く評価され、その結果脊椎動物補体系がどのように複雑な反応系として進化してきたかが判明した。

第二部では、脊椎動物 MHC クラス III 領域で保存されている補体遺伝子 *Bf*、*C2*、*C4* の連鎖に注目し、MHC 遺伝子を持たない尾索動物でそれらのオルソログ同士が連鎖しているか否かを明らかにしている。カタユウレイボヤ EST データベースに対する相同性検索、cDNA

ライブラリのスクリーニング、ゲノム配列からの予測に基づく RT-PCR により、哺乳類 MHC クラス III 補体遺伝子 *Bf/C2* オルソログ、*CiBf-1*、*CiBf-2*、*CiBf-3* の cDNA がクローニングされた。*CiBf* 遺伝子領域の詳細な解析により、3 遺伝子が約 50kb の範囲に存在し、遺伝子間で非常に保存性の高い領域がモザイク状に存在することが明らかになった。また、発現様式は 3 遺伝子の間で異なることが、ノザンブロットティング、RT-PCR の結果から示された。*Bf* 遺伝子の構造、発現パターンは、ホヤにおける遺伝子重複による補体系の機能拡張を示唆した。*CiBf* と、脊椎動物 *C3/C4/C5* のオルソログ *CiC3-1*、*CiC3-2* の間の連鎖解析は、染色体 Fluorescent *in situ* hybridization (FISH) 法による、染色体上への物理的マッピングにより行われた。その結果、カタユウレイボヤではこれら 3 遺伝子座が別々の染色体上にあり、連鎖はないことが明らかになり、MHC 領域における補体遺伝子の連鎖は尾索動物の分岐後に脊椎動物の系統で成立したことが示唆された。この結果から論文提出者は、新たな反応経路である古典経路の C3 転換酵素(C4C2)が、第二経路の C3 転換酵素(C3Bf)の遺伝子重複で生じた後、連鎖が共進化を助けたのではないかと考察している。機能関連遺伝子の集積した MHC 領域の進化過程の解明に、重要な手がかりをあたえるものと評価できる。

本研究は、ホヤにおいて哺乳類以外の動物としては初めて補体遺伝子群の全体像を明らかにし、*Bf* 遺伝子構造の詳細な解析により C3 遺伝子との連鎖がないことを示した。その結果、脊椎動物の補体系の進化過程の大筋が明らかになるとともに、MHC の成立過程にも重要な情報がもたらされた。現在さまざまな動物でのゲノムプロジェクトが進行しつつあるが、本研究で示された道筋に従い、今後同様の解析を行うことで、補体系の進化過程がより詳細に明らかにされると期待される。

なお、本論文第一部は、安住薫ら 18 名、第二部は、井川俊太郎ら 4 名との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったものであり、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。