

## 無顎類のゲノムと免疫系

● 笠原 正典

北海道大学大学院医学研究科

### <研究の目的と進め方>

メクラウナギとヤツメウナギによって代表される無顎類は脊椎動物の一員でありながら、顎をもった脊椎動物（有顎類）とは多くの点で根本的に異なっている。本計画では、この差異を比較ゲノム学的アプローチにより明らかにする。具体的には、メクラウナギ類に属するスタウナギ *Eptatretus burgeri* とヤツメウナギ類に属する *Lethenteron japonica*、ウミヤツメ *Petromyzon marinus* を用いて、以下の2課題に取り組む。

- 1) 2R (two-round) ゲノム重複仮説を検証するためのモデル領域として、ゲノムパラロジを示す典型領域である MHC (主要組織適合遺伝子複合体) 領域を選び、BAC クローニングにより、MHC 前駆領域のゲノム構造を解析する。これにより、無顎類と有顎類ではゲノムの複雑性が異なることを実証する。また、*P. marinus* のドラフトゲノム配列を解析することにより、無顎類のゲノムが 2R 仮説で予想されている通りに、1 回のゲノム重複を経ているか否かを検討する。
- 2) 無顎類と有顎類はまったく異なる分子を抗原受容体として用いていることが明らかになった。無顎類の抗原受容体である variable lymphocyte receptor (VLR) が多様性を創出するゲノム基盤を解明する。

### <2008 年度の研究の当初計画>

- 1) *E. burgeri* の MHC 前駆領域の解析  
2R ゲノム重複仮説を検証するためのモデル領域として MHC 領域を選び、BAC クローニングと FISH 法を用いて、*E. burgeri* の MHC 前駆領域を解析する。BAC クローンは、2004 年度に藤山秋佐夫教授とともに作成した BAC ライブラリーより単離する。
- 2) *P. marinus* のゲノム解析  
ヤツメウナギ類に属するウミヤツメ *P. marinus* のゲノム解読がほぼ終了している。Annotation team の一員として参加し、免疫系とゲノム重複について解析する。具体的には、脊索動物の出現後、硬骨魚類の出現前に誕生したパラログ（いわゆる Ohnolog）を体系的に抽出し、これらの遺伝子を硬骨魚類、尾索類、頭索類の対応遺伝子と比較する。これにより、無顎類のゲノムが 2R 仮説で予想されている通りに、1 回のゲノム重複を経ているか否かを検討する。また、有顎類で 4 セットのパラロガス領域をもつ遺伝領域 (HOX, MHC, insulin/relaxin paralogy group など) に着目し、対応する遺伝領域が *P. marinus* ゲノムに何セット存在するのかを明らかにする。
- 3) 無顎類の免疫系の解析  
VLR は LRR (leucine-rich repeats) を module として遺伝子

再構成を行う抗原レセプター遺伝子である。これまで、無顎類では 2 個の VLR 遺伝子 (VLR-A, -B) が同定されていたが、われわれは、さらにもう一個の VLR 遺伝子がヤツメウナギゲノムに存在するのを見いだした。*L. japonica* の 3 個の VLR 遺伝子のゲノム構造、発現制御機構、染色体局在を決定し、メクラウナギの VLR ファミリーと比較することにより、無顎類における VLR 遺伝子ファミリーの全貌を明らかにする。

### <2008 年度の成果>

- 1) *E. burgeri* の MHC 前駆領域の解析  
*E. burgeri* 血球の metaphase spread を用いた FISH 法を開発した (北海道大学 創成科学研究機構ゲノムダイナミクス研究部門 松田洋一教授との共同研究)。次いで、BAC クローンをプローブとして、FISH 法により MHC パラロガス領域アンカー遺伝子のマッピングをおこなった。この結果、*E. burgeri* ゲノムには少なくとも 2 個のパラロガス領域が存在することを示唆する結果を得た。パラロガス領域 1 には *RXR*, *BRD*, *PBX*, *TN* 遺伝子が、パラロガス領域 2 には *TN*, *BATI* 遺伝子が存在する。したがって、無顎類のゲノムでは少なくとも 1 回のゲノム重複が起きていることが示唆された。さらに、10 個程度のアンカー遺伝子をマッピングする予定である。
- 2) ヤツメウナギ VLR 遺伝子ファミリーの解析  
日本産カワヤツメ *L. japonica* の VLR 遺伝子ファミリーの構造解析、発現解析をおこなった。特に、我々が新たに同定した三番目の VLR 遺伝子については、詳細なゲノム構造解析、多様性解析、発現解析をおこなった。新規 VLR 遺伝子は、既知の VLR 遺伝子 (メクラウナギ VLR-A, VLR-B, ヤツメウナギ VLR-A, VLR-B) のいずれとも異なるゲノム構造を有していること、VLR-B 遺伝子の発現を誘導する抗原刺激を与えても、発現が誘導されないこと、などが明らかになった。
- 3) ナメクジウオの免疫系遺伝子、特に LLR module を有する遺伝子族の網羅的解析  
ナメクジウオのドラフトゲノム配列を使用して、LLR module を有する遺伝子族の網羅的解析をおこなった。その結果、ナメクジウオでは VLR と類似した構造をもった intronless LRR-containing genes がきわめて多数存在することが明らかになった。これらの遺伝子は、ドメイン構造の違いから、1) VLR と同様に、複数の連結された LRR module の上流と下流に LRRNT または LRRCT を有するもの (230 遺伝子)、2) 上記ドメインに加えて LRRCT の下流に Ig ドメインを有するもの (147 遺伝子)、3) 上記のいずれにも属さないものに分類された。これらの遺伝子は pattern recognition receptor として機能している可能性が示

唆された。

#### <国内外での成果の位置づけ>

無顎類はゲノム進化、免疫系の進化を理解する上で重要な位置を占める生物である。われわれは、早くから無顎類の重要性に着目し、そのゲノムと免疫系に焦点を当てて、研究を進めてきた (*Trends Immunol.* 25, 105-111, 2004)。本研究計画は、これらの実績に立脚し、比較ゲノムの観点から、無顎類のゲノムならびに免疫系の包括的理解を目指すものである。国内はもとより、国際的にも無顎類を対象とする研究者は少なく、オリジナリティの高い貢献が可能である。

#### <達成できなかったこと、予想外の困難、その理由>

*P. marinus* ゲノムの annotation 作業は予定より遅れており、年初の計画を達成できなかった。

#### <今後の課題>

*E. burgeri* ゲノムにおける MHC パラログ領域の解析に関しては、FISH 法によるマッピングをできるだけ迅速におこなう必要がある。VLR は免疫グロブリンに匹敵する特異性と免疫グロブリンを凌駕する結合親和性を有し、さらに免疫グロブリンによっては認識されがたい糖鎖の認識に優れていることが示唆されている。今後は VLR の抗体としての応用も視野に研究を進めて行く予定である。

#### <成果公表リスト>

##### 1) 論文／プロシーディング (査読付きのものに限る)

###### 1. 0806161459

Kasahara, M., Kasamatsu, J. and Sutoh, Y.: Two types of antigen receptor systems in vertebrates. *Zool. Sci.* 25: 969-975 (2008) .

###### 2. 0806161618

Holland, L.Z. et al.: The amphioxus genome illuminates vertebrate origins and cephalochordate biology. *Genome Res.* 18: 1100-1111 (2008) .

###### 3. 0901061225

Kasahara, M.: Polyploid origin of the human genome. In: D. N. Cooper and H. Kehrler-Sawatzki (eds.) : *Handbook of Human Molecular Evolution*, John Wiley & Sons, New York (2008)

##### 2) データベース／ソフトウェア

なし

##### 3) 特許出願

###### 1. 0901061207

国内特許出願 特願 2008-305003