

論文審査の結果の要旨

氏名 黄 慶輝

本論文は、爬虫類における免疫プロテアソームサブユニット *PSMB8* 遺伝子の二型性の進化について述べている。免疫プロテアソームは、主要組織適合抗原複合体 (MHC) クラス I 分子によって提示されるペプチドを生成するマルチサブユニットのプロテアーゼである。プロテアーゼ活性を持つサブユニットの一つをコードする *PSMB8* 遺伝子は顎口類に固有で、条鰭類、両生類の多くの種で二型性を示すことが知られている。二型は切断特異性を決定すると考えられる 31 番目の残基が、Ala など比較的小さな疎水性側鎖をもつ A 型と、Phe など芳香族の大きな側鎖をもつ F 型からなっている。分子系統解析の結果は、*PSMB8* は二つの系統、一部の条鰭類とポリプテルスの F 型のみからなる F 系統とその他全てを含む A 系統、に分かれることを示した。この結果は古くから存在した二系統のうち、F 系統が上位条鰭類 (メダカ)、及び四足類 (ゼノパス、イモリ) において失われ、その後 F 型のアシルが A 系統内で再形成されたことを示唆しており、A 系統内での F 型の再形成は何度も独立に起きているように見えた。これまで、爬虫類の *PSMB8* 遺伝子の配列はアノールトカゲ A 型 (C³¹) が知られていたに過ぎないので、本研究では爬虫類の主要 3 目における二型性の有無を検討し、その進化過程を推測した。

材料には台湾のワニ牧場で購入した爬虫綱ワニ目のメガネカイマン (学名、以下同様) とイリエワニ、東京都東京大学三四郎池で採集した爬虫綱カメ目のアカミミガメと福岡県のスッポン牧場で購入したスッポン、及び東京都谷中霊園で採集した爬虫綱有鱗目のニホンヤモリを用いた。まず脾臓及び肝臓等組織から total RNA を抽出し、他の動物の *PSMB8* 遺伝子の配列をもとに、31 番目のアミノ酸をはさむ位置に作成した縮退プライマーを用いて、RT-PCR を行った。5' 及び 3' RACE 法により *PSMB8* 遺伝子の全長配列を決定し、MEGA5 を用いて系統解析を行った。その結果、五種類の爬虫類全てにおいて *PSMB8* 遺伝子の二型性が認められ、系統解析の結果、これらの配列は全て A 系統に属すること、および二型の配列は各種群毎にクラスターを形成することが明らかとなった。この結果は F 型が四足類の中で少なくとも五回独立に再形成されたことを示唆し、*PSMB8* 遺伝子の二型性は非常に強い平衡選択を受けていることが示された。野生

個体を用いて推定したヤモリでの *PSMB8* 遺伝子の二型のアレル頻度は A:F=0.51:0.49 であり、カイマン、アカミミガメからも少数個体から両型が検出された事実は、両型の頻度をほぼ等しく保つ非常に強い平衡選択の存在を示唆しており、遺伝子多型の進化の理解に重要な貢献をしたものと評価される。

続いて、爬虫類の *PSMB8* 遺伝子配列から inter-allelic homogenization の痕跡を探索するために、exon ごとの遺伝子配列比較、系統解析を行ったところ、ヤモリを除く各種では exon 6 の二型間の類似度が他の exon に比べて著しく低く、爬虫類の共通祖先にはかなり配列の異なる二型が存在し、その後、カメ、ワニの系統で独立に exon 6 を除く部分での homogenization が起きたことが示唆された。また、*Xenopus laevis* の *PSMB8* 遺伝子の二型の配列の間にも部分的な homogenization の痕跡が発見された。これらの結果より、爬虫類と両生類の *PSMB8* の二型は、F 型を消失したことはなく、homogenization を繰り返しながら存在しつづけたものと推測された。

本論文では爬虫類の *PSMB8* 遺伝子の二型の解析を通して、これまで知られていたものよりはるかに強力な平衡選択の存在を明らかにし、進化過程における見かけ上の二型の喪失、再形成が inter-allelic homogenization による可能性を示唆した。強力な自然選択の存在を明らかにした本論文は、遺伝子多型の進化機構の理解を飛躍的にすすめたといえる。

なお、本論文は野中勝、藤戸尚子、田中雄太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、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。