

平成 2 2 年 4 月 9 日現在

研究種目：基盤研究（C）  
研究期間：2007～2010  
課題番号：19570223  
研究課題名（和文）有顎脊椎動物生体防御の要、主要組織適合遺伝子複合体（MHC）分子の分子進化の解明  
研究課題名（英文）Elucidation of the molecular evolution of the major histocompatibility complex (MHC) molecule, critical for the defense system of the jawed vertebrates  
研究代表者  
橋本 敬一郎（HASHIMOTO KEIICHIRO）  
藤田保健衛生大学・総合医科学研究所・教授  
研究者番号：70192268

研究代表者の専門分野：分子進化生物学  
科研費の分科・細目：生物科学・進化生物学  
キーワード：進化、遺伝子、ゲノム、生体分子、免疫学

#### 1. 研究計画の概要

魚類 MHC 分子の遺伝子レベルでの網羅的単離解析を実施する。新規 MHC 遺伝子の解明を、実際の軟骨魚類及び硬骨魚類ゲノム等からの単離解析と、データベース解析を組み合わせて行なう。我々は、これまで軟骨魚類ドチザメ、エイ、硬骨魚類ニジマス、コイを扱っており、また、軟骨魚類のサメ、エイ、硬骨魚類ニジマス、フグ、メダカ、ゼブラフィッシュ等の各種データベースが利用可能である。現在、既に解析対象としうる MHC 遺伝子の部分情報を複数得ている。新規 MHC 遺伝子を明らかにし、発現解析、遺伝子構造解析を実施する。本研究で明らかになる MHC 分子の配列情報に基づき、重要な系統発生的位置を占める動物である魚類のゲノムから MHC 分子の起源に関わる配列情報を解明し、また MHC 分子群における構成分子の分子進化を解明する。

#### 2. 研究の進捗状況

MHC 分子の分子進化に関して、重要な結果が得られている。最終年度に最も重要な成果の総括がされる予定である。

##### (1) 魚類 MHC 遺伝子配列の新規解明

ゲノム DNA 及び cDNA より、遺伝子断片を実際に単離する方法と、データベース解析で候補遺伝子断片を得る方法の両者を実施した。実験による遺伝子単離方法は、

基本的に PCR 法を用いるが、使用するプライマーは最新の情報を基に degenerated primers を設計して適宜用いている。基質は、軟骨魚類ドチザメ、硬骨魚類ニジマス等の DNA 及び cDNA を用いた。データベース解析では、NCBI BLAST search 等を用いて、条件設定を行ない、解析を実施する。Assembly の状態のものとしては、*Takifugu rubripes* (torafugu)、*Tetraodon nigroviridis*、*Oryzias latipes* (Japanese medaka) が解析可能であり、利用している。また、In Progress の状態のものとしては、*Danio rerio* (zebra danio)、*Leucoraja erinacea* (little skate) 等が利用可能である。

##### (2) 魚類 MHC 分子の完全な遺伝子配列解析

得られた MHC 遺伝子の部分配列を基に、遺伝子全体の配列の解析を進めている。種々の組織、細胞の mRNA を用い RT-PCR により発現解析を行ない、発現が検出される場合には、さらに RACE 法を用いて、cDNA の全体配列を明らかにすることを実施している。データベース解析から遺伝子情報が得られる場合には、できる限り完全に近い遺伝子配列の構築を試みている。

##### (3) 魚類 MHC 分子配列比較解析

得られた遺伝子情報に基づき、既知の MHC

C分子群構成メンバー等との配列比較解析を行なっている。遺伝子産物のアミノ酸配列の alignment 解析を実施しているが、配列によっては、相当 alignment が難しい場合も見られる。系統樹解析をおこない、新規MHC分子のMHC分子群中での分子進化的位置づけの解析が進行中である。

### 3. 現在までの達成度

おおむね順調に進展している。

(理由)

最終年度に、総括的な論文を作成する予定であり、その準備が着実に進んでいる。MHC分子の分子進化に関して、重要な成果を得ていると考えている。

### 4. 今後の研究の推進方策

研究計画の変更はなく、研究を遂行する上での問題点もない。最終年度の総括が順調に進んでいる。

### 5. 代表的な研究成果

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計2件)

1. Hayashi N, Takeuchi M, Nakanishi T, Hashimoto K, Dijkstra JM. Zinc-dependent binding between peptides derived from rainbow trout CD8alpha and LCK. Fish Shellfish Immunol. 28, 72-76 (2010) 査読有り

2. Ohtani M, Hayashi N, Hashimoto K, Nakanishi T, Dijkstra JM. Comprehensive clarification of two paralogous interleukin 4/13 loci in teleost fish. Immunogenetics 60, 383-397 (2008) 査読有り

[学会発表](計3件)

1. Dijkstra JM Molecular characteristics of the leukocyte markers CD4-1, CD4-2, LAG-3, CD8alpha and CD8beta in teleost fish. 日本比較免疫学会 2009年8月4日 藤沢

2. Dijkstra JM Evolution of cytokines important for T helper cell

differentiation. 日本分子生物学会  
2008年12月9日 神戸

3. Dijkstra JM Unique features of major histocompatibility complex (MHC) genes in fish. 日本分子生物学会 2007年12月11日 横浜

[図書](計0件)

[産業財産権]  
出願状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
出願年月日:  
国内外の別:

取得状況(計0件)

名称:  
発明者:  
権利者:  
種類:  
番号:  
取得年月日:  
国内外の別:

[その他]  
なし