

No.	23-3025	
Project Title	Analysis of venom protein gene expression in Habu snake, Protobothrops flavoviridis	
Principal Investigator	Hiroki Shibata (Kyushu University・Associate professor)	
Project Member(s)	IMSUT Host Researcher	Tomoji Mashimo (The Institute of Medical Science, The University of Tokyo・Professor)
	Project Member (s)	横田伸一 (奄美病害動物研究施設・助教)
	Project Member (s)	小川智久 (東北大学 農学研究科・教授)
	Project Member (s)	上田直子 (崇城大学 薬学部・教授)
	Project Member (s)	千々岩崇仁 (崇城大学 生物生命学部・教授)
	Project Member (s)	汪 趙楠 (九州大学生体防御医学研究所ゲノミクス分野・大学院生)
	Project Member (s)	佐藤拓郎 (東北大学大学院・大学院生)
	Project Member (s)	亀岡咲月 (東北大学大学院・大学院生)

東京大学医科学研究所国際共同利用・共同研究拠点事業
共同研究報告書（年次終了・研究完了）【国内】

共同研究報告（研究完了）

結果1（主に2025年度）

これまでのゲノム解析からハブ（*Protobothrops flavoviridis*）の毒液を構成する 60 種の毒タンパク質（SV（snake venom））遺伝子を同定していた（Shibata et al. 2018; Ogawa et al. 2019）。これらの遺伝子の毒腺における発現調節機構の全容解明を目指した研究を進めている。まず毒腺を含む 20 組織の RNAseq から、毒腺特異的に発現している転写因子のセット 17 個を同定した。さらにそのうちすでに一部の SV 遺伝子領域との相互作用が知られていた ETS（Erythroblast transformation-specific）転写因子ファミリーの 3 種の転写因子（ESE1-3）に着目し、毒タンパク質遺伝子の発現活性化能を、ルシフェラーゼアッセイにより検討した。その結果、ESE3 は検討した 7 種すべての SV 遺伝子の転写を活性化することを確認した。対照的に、ESE1 および ESE2 特定の SV 遺伝子のみを活性化した。このことから ESE3 は SV 遺伝子を全般的に発現活性化する基盤因子であること、および ESE1 と ESE2 は、より遺伝子特異的な発現活性化に関わっていることがわかった。（論文準備中）

結果2（主に2025年度）

ハブ幼体と成体では捕食する獲物が異なるため、毒の組成は成長に伴って年齢依存的に変化すると可能性を検討した。幼体（50cm 以下）と成体の毒タンパク質を二次元ゲル電気泳動で比較し、幼体の毒にのみ存在するタンパク質スポットを同定した。質量分析により、このタンパク質はホスホリパーゼ A₂（PLA₂）遺伝子 pgPLA1b/2b の産物であることを明らかにした。毒腺から RNA を抽出し RTPCR で解析した結果、pgPLA1b/2b は 0 歳と 1 歳の個体で発現し、2 歳ではほとんど検出されず、成体では発現していないことが示された。一方、他の PLA₂ アイソザイム遺伝子は年齢に関係なく恒常的に発現していた。これらの結果から、pgPLA1b/2b は幼若期特異的に発現する毒タンパク質遺伝子であると結論した。また、ここで見出した毒タンパク質遺伝子の成長段階依存的な発現調節は、成長段階に伴った生態（食性）の変化への適応であると推論された。（Nakamura et al. *Toxicon*. 2026. doi: 10.1016/j.toxicon.2025.108663）

結果3（主に2024年度）

ハブ毒の主要なタンパク質であるホスホリパーゼ A₂（PLA₂）アイソザイムは、それぞれが固有な性質を有している。そのうち、高酵素活性型の PLA₂ と塩基性の不酵素活性型の BPII に着目した。蛇毒の PLA₂ アイソザイムは、とても安定性が高いため、金属錯体との結合により、新しいバイオミメティック素材の創出に寄与できるのではないかと考えた。アニオン性 [Pt(CN)₄]²⁻ 錯体の存在下で、PLA₂ と BPII の scaffold は類似しているにもかかわらず、興味深いことに、前者は、ファイバー状に、後者は、ロッド状の構造体を形成した。それらの詳細な化学的分析の結果、[Pt(CN)₄]²⁻ イオンのタンパク質表面でのオリゴマー化は、特に PLA₂ のアミノ酸残基との相互作用によって主に駆動されており、タンパク質表面のアミノ酸残基とその表面に蓄積する金属錯体の存在が、タンパク質表面のアミノ酸残基と白金錯体間の金属親和性相互作用に影響を与えることを示した。タンパク質の配列や構造のわずかな違いが、ハイブリッド材料の形態や性質に影響するという知見は、新規なバイオミメティック素材の設計、開発に貢献できると期待される。（Kuroiwa et al. *ACS Appl Mater Interfaces*. 2024. doi: 10.1021/acsami.4c09837）

結果4（主に2023年度）

ハブが進化の過程で獲得した多様な毒成分の中で、ヒトに存在し、Aβ 非産生経路にも関与する ADAMs（a disintegrin and metalloproteinases）ファミリータンパク質と共通の祖先でもある蛇毒メタロプロテアーゼ（snake venom metalloproteinases, SVMPs）に着目し、アミロイド前駆体タンパク質（APP）に対する影響を調べた。その結果、APP の分解断片（APP_{C83} もしくは APP_{C99}）の量は変わらず、APP への作用は見られなかったものの、有毒な Aβ を α 部位で特異的に切断し短いペプチド（p3）に変換することを明らかにし、ヒト細胞からの Aβ 生産を大幅に減少させることを明らかにした。さらに試験管内で Aβ のアミロイド線維を生成させる実験から、SVMPs が Aβ を分解しアミロイド線維の生成を抑制することも明らかにした。Aβ 分解プロテアーゼとして SVMPs を用いた新たなアルツハイマー病の治療法の開発が期待されるとして、特許出願済みである。（特願 2023-190410 号 / PCT/JP2024/039563）（Futai et al. *Toxins*. 2023. doi: 10.3390/toxins15080500）