

イルカの血清アルブミンは 定説では説明できない抗酸化能の高さを示す

研究成果のポイント

- ・イルカの血清アルブミン（以下 SA）では、他の哺乳類 SA において主たるラジカルスカベンジャーとして働くフリーのシステイン（³⁴Cys）がセリンに置換されていた（以下、C34S）。しかし、この置換にも関わらず、イルカ SA がヒト SA よりも高い抗酸化作用をもつ、という定説では説明できない現象が認められた。
- ・生化学性状および構造解析により、イルカ SA では表面の疎水性が減じる残基置換が起きており、17 対ある SS 結合のうち 2 対で結合が不安定になる原子の配置が認められた。これらのデータは、イルカ SA がヒト SA よりも不安定で、SS 結合が乖離することによりフリーのチオール基を提供して抗酸化力を高めていることを示唆している。
- ・以上のことから、バンドウイルカ SA は高い抗酸化作用を発揮し、繰り返し潜水をすることによりおきる酸化ストレスに対抗していると結論づけられた。なお、C34S 置換は複数系統の水生哺乳類で平行して起きており、この置換が哺乳類の水中適応になんらかの重要な役割を果たしたことも併せて示唆された。

研究成果の概要

（背景）海生哺乳類たちは優れたダイバーである。潜水すると組織が虚血状態になり、浮上後の呼吸によって再灌流が起きるが、この時、酸素が一気に流入するために酸化ストレスが生じる。これに対抗するため、彼らは高い抗酸化能をもつと推測されている。血清アルブミン（SA）は血中にもっとも多く存在するタンパク質であり、浸透圧調節や血圧調節など、多岐にわたる役割を担っており、抗酸化能をもつことが知られている。しかし、海生哺乳類の SA の抗酸化能を調べた知見は存在しなかった。我々は、バンド

イルカの SA について、知見が豊富なヒト SA と構造や生化学的性状を比較することを通して、その抗酸化力を評価することをめざした。

(研究手法) バンドウイルカの SA の構造について、まず2頭のイルカ血清から SA を抽出して N 末端プロテインシーケンスを行ない、ヒト SA と同じプロセッシングを受けていることを確認した上で、ゲノム配列データベースから演繹アミノ酸配列を取得し、多種の哺乳類と一次構造を比較した。さらに三次元ホモロジーモデルを構築し、ヒト SA と分子配列の違いを検討した。続いて、5頭のイルカおよび市販のヒト血清 (n=3) から SA を抽出して脱脂し、抗酸化能 (DPPH, ABTS, PAO 試験)、チオール活性、2次および3次構造、蛍光スペクトルアッセイ、熱安定性、表層の疎水性について各々比較した。

(研究成果) 実験の結果、以下のことが判明した。

- (1) イルカ SA では、他の哺乳類 SA では主たるラジカルスカベンジャーとして働き、SA の抗酸化力に大きく寄与するフリーのシステイン (^{34}Cys) がセリン (Ser) に置換されていた (以下, C34S)。
- (2) C34S 置換があるにも関わらず、いずれの抗酸化能試験においても、イルカ SA がヒト SA よりも高い抗酸化作用をもつことが明らかとなった。また、イルカ SA はヒト SA よりも 2.7 倍高いチオール活性を示した。また、血清全体でもイルカ血清の方がヒト血清よりも 2.1 倍高いチオール活性を示した。
- (3) イルカ SA はヒト SA と異なる蛍光スペクトルと熱安定性を示し、また、タンパク質表面の疎水性がヒト SA よりも弱いことが判明した。3D ホモロジーモデルをヒト SA の結晶構造モデルと比較した結果、表面の疎水性が減じる残基置換が起きていること、ならびに、17対ある SS 結合のうち、2対でシステイン残基の硫黄原子と炭素原子の角度が通常よりも大きくなっており、結合が不安定になると示唆された。
- (4) 興味深いことに、鯨類および海牛類とそれらの近縁種、鰭脚類など、単系統ではない水棲哺乳類の SA において、軒並み ^{34}Cys が Ser に置換されていた。

これらのデータは、C34S 置換をもつにも関わらず、バンドウイルカ SA が高い抗酸化作用を発揮し、繰り返し潜水をすることで生じる酸化ストレスに対抗して体を守っていることを示唆している。ホモロジーモデルの解析結果から、この抗酸化力の高さは2対の SS 結合が乖離することによってシステイン残基がフリーとなり、チオール活性を発

揮することにより起きると推測されるが、詳細については今後の研究を待たねばならない。

(今後の展望) SA の C34S 置換が海生哺乳類だけに、系統独立的に平行進化して起きた、という我々が見つけた現象は、この置換が哺乳類の水中適応に何かしらの大きな役割を果たしたことを強く示唆している。今後は ^{34}Ser 型と ^{34}Cys 型の海生哺乳類型リコンビナントタンパク質を合成し、結晶構造や生化学的性状を比較することなどにより、アルブミンの残基置換が哺乳類の水中適応に寄与したという仮説を検証していく予定である。また、イルカ SA のタンパク質としての不安定さの意味について調べることで、イルカ SA の生理的意義が明らかになると考える。

発表論文の概要

Suzuki M, Anraku M, Hakamata W, Kishida T, Ueda K, Endoh T. 2020. Antioxidative potency of dolphin serum albumin is stronger than that of human serum albumin irrespective of substitution of 34 cysteine with serine. *Frontiers in Physiology* 11:598451.

(doi: 10.3389/fphys.2020.598451)

公表日：2020年11月2日

*この研究は、日本大学と崇城大学、京都大学、海洋博公園、しながわ水族館の共同研究成果として発表した。

お問い合わせ先

日本大学生物資源科学部海洋生物資源科学科 海洋生物生理学研究室

鈴木美和 (すずき みわ)

TEL/FAX 0466 (84) 3677

E-mail: suzuki.miwa@nihon-u.ac.jp

文責：海洋生物生理学研究室 教授 鈴木美和