

## 二国間交流事業 共同研究報告書

令和6年4月23日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

[日本側代表者所属機関・部局]  
国立研究開発法人 産業技術総合研究所・  
バイオメディカル研究部門  
[職・氏名]  
主任研究員・稲垣英利  
[課題番号]  
JPJSBP 120229944

1. 事業名 相手国: 台湾 (振興会対応機関: OP) との共同研究

2. 研究課題名

(和文) 東アジア・アオガエル科カエルの泡巣構成タンパク質群の包括的機能解明

(英文) Comprehensive and functional analysis of foam nest components from the species East Asian frogs in the family Rhacophoridae

3. 共同研究実施期間 2022年4月1日 ～ 2024年3月31日 (2年0ヶ月)【延長前】   年  月  日 ～   年  月  日 (  年  ヶ月)

4. 相手国側代表者(所属機関名・職名・氏名【全て英文】)

Taipei Zoo・Assistant Research Fellow・Nian-Hong Jang-Liaw

5. 委託費総額(返還額を除く)

|                 |          |             |
|-----------------|----------|-------------|
| 本事業により執行した委託費総額 |          | 3,900,000 円 |
| 内訳              | 1年度目執行経費 | 1,900,000 円 |
|                 | 2年度目執行経費 | 2,000,000 円 |
|                 | 3年度目執行経費 | - 円         |

6. 共同研究実施期間を通じた参加者数(代表者を含む)

|          |      |
|----------|------|
| 日本側参加者等  | 14 名 |
| 相手国側参加者等 | 8 名  |

\* 参加者リスト(様式 B1(1))に表示される合計数を転記してください(途中で不参加となった方も含め、全ての期間で参加した通算の参加者数となります)。

7. 派遣・受入実績

|      | 派遣  |     | 受入    |
|------|-----|-----|-------|
|      | 相手国 | 第三国 |       |
| 1年度目 | 2   | 0   | 0 ( ) |
| 2年度目 | 4   | 0   | 0 ( ) |
| 3年度目 |     |     | ( )   |

\* 派遣・受入実績(様式 B1(3))に表示される合計数を転記してください。

派遣:委託費を使用した日本側参加者等の相手国及び相手国以外への渡航実績(延べ人数)。

受入:相手国側参加者等の来日実績(延べ人数)。カッコ内は委託費で滞在費等を負担した内数。

## 8. 研究交流の概要・成果等

### (1)研究交流概要(全期間を通じた研究交流の目的・実施状況)

本研究は、東アジア・アオガエル科カエルの泡巣構成タンパク質群の包括的機能解明を目的とするもので、すなわち、日本国内と台湾内に生息する泡巣をつくるカエルから、網羅的に泡巣構成タンパク質を同定することを目的としていた。

2022 年度は新型コロナウイルスの影響で、台湾への渡航人数を当初予定していたよりも人数から、3名(稲垣英利、絹見朋也、※茂里康は別予算で負担)に絞って実施した。稲垣(2023年2月12日～2月15日)、絹見、茂里(2023年2月12日～2月18日)は、長庚大学(桃園市)の Yi-Ting Chen 准教授と台北市立動物園の Nian-Hong Jang-Liaw 博士を訪問し、共同研究の進行状況について報告をうけるとともに、次年度の計画について話し合った。また、長庚大学では産総研・稲垣がセミナーを行い日本側の研究進行状況について報告した。

2023 年度は、台湾へ4名(稲垣英利、絹見朋也、新海陽一、※茂里康は別予算で負担)が渡航した。稲垣、新海(2023年12月10日～12月16日)は、台北市立動物園の Nian-Hong Jang-Liaw 博士と Tai Wei-Yu 博士とモルトレヒトアオガエル、ホンコンシロアゴガエル(*Polypedates megacephalus*)の採集を試みた。その後、稲垣(2024年1月28日～1月31日)は台北市立動物園において、モルトレヒトアオガエルの泡巣を採取するとともに、輸卵管から totalRNA を抽出し、輸卵管 totalRNA は現地で次世代シーケンス解析に供された。これらの解析作業と相前後して、絹見(2024年1月28日～2月3日)、茂里(2024年1月27日～1月31日)が、長庚大学の Yi-Ting Chen 教授(教授に昇進)の下で、泡巣構成タンパク質の質量分析計による計測を行った。

これと並行して、沖縄に生息するシロアゴガエルから複数の泡巣構成タンパク質を精製し、その機能を解明した。

### (2)学術的価値(本研究交流により得られた新たな知見や概念の展開等、学術的成果)

我々はこれまでに、日本に生息するモリアオガエル(*Zhangixalus arboreus*)から、22種類の泡巣構成タンパク質を同定し、論文発表を行っている。これらのタンパク質のほとんどのオルソログは、日本のシロアゴガエル(*Polypedates leucomystax*)と台湾のモルトレヒトアオガエル(*Zhangixalus moltrechti*)の泡巣の中にも見出すことができた。一方で、泡巣構成タンパク質は、いくつかの点で種間に違いが見られた。例えば、主要構成タンパク質の一つである Ranasmurfin は、シロアゴガエルには亜鉛イオンと配位するものと、配位しないものがあることが、アミノ酸配列上から予測される。反面、アオガエル属のモリアオガエルやモルトレヒトアオガエルは、亜鉛イオンと配位しない Ranasmurfin しか持たない。また、シロアゴガエル泡巣の主要構成タンパク質である Regenerating Islet-derived Protein 4-2 などは、モリアオガエルやモルトレヒトアオガエルでは主要成分ではない。さらに、WAP(Whey Acidic Protein)モチーフを持つプロテアーゼ阻害タンパク質群は、種間でアミノ酸配列が大きく異なることが明らかとなった。

我々はシロアゴガエル泡巣構成タンパク質の精製にも取り組んだ。シロアゴガエル泡巣を PBS に浸漬すると、茶褐色の上清が得られる。これを硫酸沈殿、限外ろ過膜、イオン交換樹脂などを用いることで、Ranasmurfin, EC-SOD, Ovostain, WAP などいくつかの泡巣構成タンパク質を精製することができた。精製したシロアゴガエルの Ranasmurfin は  $Zn^{2+}$  配位する青色タンパク質で、280 nm の励起光、340 nm の蛍光をもつタンパク質であった。シロアゴガエルは2種類の EC-SOD を持っている。泡巣に含まれる EC-SOD については、スーパーオキシドジスムターゼとしての酵素活性を有することが確認できた。我々はこのように泡巣の紫外線遮蔽、活性酸素の除去といった機能を生化学的に解明することができた。

同時に、モリアオガエルの Ranasmurfin, EC-SOD, Hylaserpin, VMOLP, Fuclectin cDNA を単離し、これらの

タンパク質の組換え体での発現・精製を目指した。EC-SOD についてはアフリカツメガエル卵母細胞、大腸菌、酵母での発現・精製に成功したが、得られた組換え体は酵素活性を示さなかった。

(3)相手国との交流(両国の研究者が協力して学術交流することによって得られた成果)

・モルトレヒトアオガエル泡巣構成タンパク質の同定と台湾の生物資源へのアクセス・ルートの構築

本共同研究を通して、台湾の固有種であるモルトレヒトアオガエルの泡巣構成タンパク質を網羅的に同定することに成功した。この過程で、日本と台湾の研究者の間で信頼関係を構築し、台湾での生物資源の分析が可能となった。今後、台湾の他の生物資源を利用する場合にもこのアクセス・ルートを利用することが可能となった。

・日台研究者のネットワークの強化

本共同研究を通して、日本と台湾の研究者が、サンプリング、サンプル調製、機器測定などを共同作業で行い、両国の研究者のネットワークを強化することができた。

(4)社会的貢献(社会の基盤となる文化の継承と発展、社会生活の質の改善、現代的諸問題の克服と解決に資する等の社会的貢献はどのようにあったか)

・生物多様性条約に関連する諸問題の解決

社会基盤の整った台湾の研究者をパートナーとしたこともあって、現地でサンプルを調製、分析(トランスクリプトーム、プロテオームのデータを取得)することができた。このことは、海外の生体サンプルを日本国内に持ち込むことなしに、研究することが可能となることを意味し、生物多様性条約に関連する諸問題を解決することにつながる。

・特定外来種の駆除

本研究の結果、日本の沖縄への侵入種であるシロアゴガエルの泡巣構成タンパク質を同定することによって、泡巣をつくる日本固有種との泡巣構成タンパク質の違いが明確となり、シロアゴガエルの駆除の一助になると考えられる。また、台湾もシロアゴガエルの姉妹種であるホンコンシロアゴガエルが中国本土からの侵入し、駆除の対象となっている。本研究は駆除に資する情報を提供することにもなる。

(5)若手研究者養成への貢献(若手研究者養成への取組、成果)

新型コロナウイルスの影響もあって若手研究者(新海)の台湾への渡航は限定的なものとなってしまった。一方で、日台研究者のネットワークは維持されており、本研究のフォローアップのために、今後、若手研究者の派遣を予定している。

(6)将来発展可能性(本事業を実施したことにより、今後どのような発展の可能性が認められるか)

2024年度日本台湾交流協会の日台若手研究者共同研究事業に、「アオガエル科カエルの泡巣構成タンパク質のカエル・マイクロバイオームに及ぼす影響の包括的研究」というタイトルで研究申請を行った。今後も、本研究で培った日台研究者のネットワークを使って、本共同研究の内容を発展させていきたいと考えている。

(7)その他(上記(2)～(6)以外に得られた成果があれば記載してください)

特になし。