

PDF issue: 2025-07-16

軟骨魚類の繁殖様式と卵黄タンパク質レパートリの 関連性についての進化学的考察

大石, 雄太

<mark>(Degree)</mark> 博士(理学)

(Date of Degree) 2023-03-25

(Date of Publication) 2024-03-01

(Resource Type) doctoral thesis

(Report Number) 甲第8588号

(URL) https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100482336

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



博士論文

軟骨魚類の繁殖様式と卵黄タンパク質レパートリの

関連性についての進化学的考察

令和5年1月

神戸大学大学院理学研究科

大石雄太

| 要旨3 |
|--|
| 第1章 序論5 |
| 1-1. 軟骨魚類における繁殖様式の多様性5 |
| 1-2. 繁殖様式の移行と卵黄タンパク質ビテロジェニンとの関連性 |
| 1-3. 軟骨魚類における卵黄遺伝子レパートリをどのようにして調べるか |
| 第2章 材料と方法9 |
| 2-1. 生物試料の入手 |
| 2-2. RNA 抽出と RNA-seq による転写産物配列の取得10 |
| 2-3. Trinity プログラムによる <i>de novo</i> トランスクリプトームアセンブリ10 |
| 2-4. RT-PCR による新規遺伝子の単離11 |
| 2-5. 遺伝子の分子系統解析11 |
| 2-6. シンテニー比較による遺伝子のオーソロジーの検証12 |
| 2-7. RNA-seq データを用いた遺伝子発現定量12 |
| 2-8 データ登録情報12 |
| 第3章 結果13 |
| 3-1. シロザメとラブカのトランスクリプトーム情報の取得 |
| 3-2. 軟骨魚類における VTG 相同遺伝子の探索13 |
| 3-3. 軟骨魚類 VTG ホモログの分子系統解析14 |
| 3-4. 軟骨魚類の VLDLR の探索と分子系統樹の推定17 |
| 3-5. 軟骨魚類における VTG と VLDLR の遺伝子レパートリ 19 |
| 3-6. VTG と VLDLR 遺伝子について発現レベルと繁殖様式の関連性 20 |
| 第4章 考察22 |
| 4-1. 多様な繁殖様式をもつ軟骨魚類の VTG 遺伝子レパートリ |

| 4- | 2. 脊椎動物 VTG 遺伝子の分子系統樹推定はシンテニー解析によるオーソロジー | - |
|-----|--|----|
| 判 | 定結果となぜ一致しないのか | 23 |
| 4- | 3. 軟骨魚類 VTG 遺伝子は栄養供給以外の役割をもつか | 24 |
| 4- | 4. 軟骨魚類 VLDLR 相同遺伝子の特殊性とその役割 | 25 |
| 第5 | 章 展望 | 26 |
| 5- | 1. 軟骨魚類における繁殖様式の多様化を紐解くために | 26 |
| 5-3 | 2. サメ類の胎盤形成メカニズムや機能を遺伝子の視点から探るために | 27 |
| 謝辞 | | 29 |
| 引用 | 文献 | 30 |
| 付録 | | 37 |
| A. | 表(補足) | 37 |
| B. | アミノ酸配列アラインメントと分子系統樹 | 44 |
| C. | アラインメントおよび PCR の際にプライマー作成のために用いた配列 | 52 |

要旨

脊椎動物の繁殖様式は、卵生と胎生の2種類に大きく分類される。さらに、胚発生に おける栄養源に着目すると、卵生種と多くの胎生種では卵黄のみであるのに対して、一 部の胎生種では母体からの供給に依存することが知られている。このような繁殖様式は 母体依存型胎生(matrotrophic viviparity)と呼ばれており、様々な動物系統で複数回独立 に獲得されてきた。とくに軟骨魚類では、哺乳類のような胎盤型胎生をはじめとして多 様な繁殖様式が存在することが先行研究によって明らかにされてきた。いっぽうで、軟 骨魚類の多様な繁殖様式を生んだ遺伝子基盤については、全ゲノム配列情報の不足や生 物試料確保の難しさなどの要因からほとんど明らかになっていない。

脊椎動物において、繁殖様式の移行に伴って変化する遺伝子の一つに卵黄タンパク質 ビテロジェニン(VTG)が知られている。とくに、胎生哺乳類(真獣類、有袋類)では、 胎盤や授乳といった母体依存型栄養供給の獲得に伴って卵黄タンパク質である VTG フ ァミリーの遺伝子をゲノム中から完全に喪失したことが知られている。しかしながら、 多様な繁殖様式を持つ軟骨魚類の VTG やその受容体である very low-density lipoprotein receptor (VLDLR)については、その遺伝子レパートリの全容や繁殖様式の違いによる 種差の有無についてほとんど明らかになっていない。本研究では、軟骨魚類における卵 黄関連遺伝子の全容を解明するために、遺伝子配列情報が整備されていない胎生軟骨魚 類であるラブカ(*Chlamydoselachus anguineus*)とシロザメ(*Mustelus griseus*)について トランスクリプトーム情報を取得し、それらを含めたの軟骨魚類 12 種の VTG ならびに VLDLR 遺伝子を同定し分子進化学的解析を行った。その結果、軟骨魚類では、3 種類 から4 種類の VTG パラログをゲノム中に存在することが示された。また、VLDLR は、 軟骨魚類の共通祖先で起きた遺伝子重複によって系統特異的な 3 種類のパラログを保 持していることが明らかになった。また、哺乳類とは異なりそれらの遺伝子レパートリ は繁殖様式の違いによる種差は存在しないことがわかった。

さらに VTG と VLDLR 遺伝子の発現レベルでの種差の有無を調べるために、胎生種 (ラブカ、シロザメ)と卵生種(トラザメ Scyliorhinus torazame)について組織ごとの RNA-seq データを利用して遺伝子発現プロファイルの比較を行った。その結果、ほかの 卵生脊椎動物と同様にトラザメでは VTG 遺伝子が肝臓で高い発現レベルを示すのに対 して、胎生種では肝臓だけでなく子宮でも高い発現レベルを示すことが明らかになった。 このことは、胎生軟骨魚類の VTG タンパク質が卵黄栄養のみではなく、母親から胎児 への栄養供給源としても流用されている可能性を示唆している。以上の結果を総合して、 軟骨魚類における VTG や VLDLR 遺伝子レパートリの全容と繁殖様式ごとの発現レベ ルでの種差は、脊椎動物における繁殖様式の多様性の背景にある遺伝子基盤解明のため の糸口となることが期待される。

第1章 序論

1-1. 軟骨魚類における繁殖様式の多様性

動物の繁殖様式は、卵生と胎生の2種類に大きく分類される。ほとんどの動物種が卵 生であり、胎生は派生的な繁殖様式であると考えられている(Bainbridge, 2014; Blackburn, 2015)。卵生から胎生への繁殖様式の移行は、複数の系統で起こったことが知られてお り、現生脊椎動物では哺乳類で1回、有鱗目(ヘビ・トカゲ類)で115回、両生類で8 回、真骨魚類で13回、軟骨魚類で7回の移行が確認されている(Blackburn, 2015; Mull et al., 2022)。脊椎動物における胎生種のほとんどは胚の発生に必要な栄養を卵黄から摂 取する卵黄依存型胎生(lecithotrophic viviparity)であるが、哺乳類など一部の胎生種で は母親から発生中の胚へ栄養供給を行う母体依存型胎生(matrotrophic viviparity)がみ られる(Blackburn, 2015; Wourms, 1981)。

脊椎動物のうち軟骨魚類は、多様な繁殖様式が見られる系統として知られている。軟 骨魚類は、有顎脊椎動物の一系統で硬骨脊椎動物の姉妹群であり、全頭類(ギンザメ上 目)と板鰓類(サメ上目、エイ上目)によって構成されている(図 1.1)。軟骨魚類の繁 殖様式は卵生と卵黄依存型胎生、さらに3種類の母体依存型胎生(組織栄養型胎生、卵 食・共食い型胎生、胎盤型胎生)に大別される(Buddle et al., 2019; Hamlett et al., 2005; Musick and Ellis, 2005; Penfold and Wyffels, 2019; 佐藤, 2014)。卵生種は、すべての全頭 類と一部の板鰓類(ガンギエイ目やネコザメ目など)でみられ(図 1.1)、その卵殻は独 特の成分と形態から「人魚の財布」と呼ばれるている(Goh et al., 2022; 佐藤, 2014)。 組織栄養型胎生は、子宮内壁からの栄養豊富な液性分泌物を胎仔へ摂取させる繁殖様式 で、トビエイ目やネズミザメ目、メジロザメ目など5つの目で独立に獲得されたことで 知られている(Hamlett et al., 2005; Kina et al., 2021; Sato et al., 2016)(図 **1.1**)。ネズミザ メ目やテンジクザメ目に属するオオテンジクザメ(Nebrius ferrugineus) で確認される卵 食・共食い型胎生は、未受精卵や同じ子宮内の胚を胎仔が捕食することで栄養が供給さ れる (Gilmore, Jr et al., 2005; Sato et al., 2016) (図 1.1)。 胎盤型胎生はメジロザメ目の一 部で見られる繁殖様式で、胎仔の外卵黄嚢が真獣類の胎盤のように子宮内壁へと付着し 栄養供給やガス交換などの機能を果たすと考えられている(Buddle et al., 2019; Hamlett, 1989) (図 1.1)。そのほかの胎生種は、現在は卵黄依存型胎生に分類されており、胎仔 は卵黄栄養のみに依存して発生すると考えられているが、サンプル数や研究例が少ない こともあり今後の研究の進展次第で母体からの栄養供給物質の存在が明らかになる可 能性はある(図 1.1)。

近年、軟骨魚類のゲノム配列が相次いで公開され始めており、ほかの脊椎動物が持つ ゲノム中のさまざまな要素(アミノ酸コード遺伝子、lncRNA、転写制御配列)などの多 くが板鰓類においても進化的に保存されていることが明らかになってきた(Hara et al., 2018; Marra et al., 2019; Rhie et al., 2021; Zhang et al., 2020)。さらに、胎盤型胎生のサメ類 であるヒラガシラ(*Rhizoprionodon taylori*)を含めた 8 種の脊椎動物種の比較トランス クリプトーム解析の結果、妊娠前後の子宮で発現が変動する遺伝子には目立った共通性 がないことが報告されている(Foster et al., 2022)。とはいえ、板鰓類内の繁殖様式の多 様性がどのような遺伝子基盤によって獲得されたのかという問いに対しての十分な理 解はいまだに得られていない。



図 1.1 軟骨魚類の模式的な系統樹と繁殖様式の多様性

図中の系統関係は最新の分子系統学的研究の結果に従った(Aschliman et al. 2012; Naylor et al. 2012)。右側に色分けによって示した軟骨魚類の繁殖様式パターンは Buddle et al. 2019 による総説に基づく。また、矢印で示した胎生獲得のタイミングは、Mull et al. 2022 の解釈を簡略化したものである。

1-2. 繁殖様式の移行と卵黄タンパク質ビテロジェニンとの関連性

ビテロジェニン(Vitellogenin:VTG)は、卵生動物における卵黄に最も豊富に含まれ る蛋白質として知られている。VTG タンパク質はエストロゲン刺激依存的にメスの肝 臓で産生され、血液循環を通じて卵巣まで輸送される。輸送されてきた VTG は、受容 体依存的なエンドサイトーシスによって卵母細胞内取り込まれ、プロテアーゼによる切 断を受けてリポビテリンとホスビチンとして卵黄内栄養源として貯蔵される(Hara et al., 2016)。

VTG 遺伝子は、卵生から胎生の移行に伴って変化が起きた遺伝子のひとつであることも知られている。多くの卵生脊椎動物はゲノム中に複数の VTG 相同遺伝子(ホモログ)を持つ(Carducci et al., 2021)。先行研究では、脊椎動物の VTG ホモログは、有顎脊椎動物の共通祖先で一回の遺伝子重複を経験し、VTG1(S 領域 VTG、VTG-C)と VTG2

(M 領域 VTG、VTG-A)の2種類のオーソログに分類されている(Biscotti et al., 2018; Finn and Kristoffersen, 2007)。とりわけ VTG2 は真骨魚類や両生類などでは系統特異的 な遺伝子重複によってレパートリが増加したことが示唆されている(Biscotti et al., 2018)。 いっぽうで、胎生哺乳類(真獣類、有袋類)では胎盤や授乳といった母体からの栄養供 給様式の獲得に伴って、ゲノム中のすべての VTG 遺伝子が喪失したとされる(Brawand et al., 2008)。それに対して、軟骨魚類の VTG 遺伝子に関しては卵生種のトラザメ (*Scyliorhinus torazame*)で少なくとも1種類の VTG 遺伝子の cDNA 配列情報が報告さ れていること(Yamane et al., 2013)を除けば、遺伝子レパートリの全容や繁殖様式ごと の違いなどほとんど明らかになっていない。

卵母細胞における VTG タンパク質の受容体として very low-density lipoprotein receptor (VLDLR) が卵生脊椎動物では機能している(Bujo et al., 1994; Li et al., 2003; Yamane et al., 2013)。VLDLR はリポタンパク質受容体スーパーファミリーに属する一回膜貫通型 の受容体で、基本的に 8 つのリガンド結合ドメインを持つことで知られている(Yang and Williams, 2017)。VLDLR ホモログは硬骨脊椎動物ではゲノム中に 1 種類ずつ保持し ていることが報告されているが(Morini et al., 2020)、軟骨魚類における VLDLR 遺伝子 レパートリについては全く明らかになっていない。

1-3. 軟骨魚類における卵黄遺伝子レパートリをどのようにして調べるか

本研究では繁殖様式が多様な軟骨魚類に着目し、VTG および VLDLR 遺伝子レパー トリの探索と発現プロファイルを明らかにした。まず、大規模遺伝子情報が整備されて いない胎生軟骨魚類のうち卵黄依存型胎生のラブカ(*Chlamydoselachus anguineus*)と胎 盤型胎生のシロザメ(Mustelus griseus)を選出し、RNA-seq 法による組織ごとのトラン スクリプトーム情報の取得を行った。続いて、それらの2種を含めた12種の軟骨魚類 の全ゲノム配列とトランスクリプトーム配列に対して VTG および VLDLR の遺伝子配 列を探索し、脊椎動物の主要系統の配列を網羅した分子進化学的解析を行うことでそれ らのオーソロジーを判定した。さらに、卵黄関連遺伝子の繁殖様式の違いによる発現レ ベルでの種差を調べるために、胎生種のラブカおよびシロザメと卵生種のトラザメで組 織ごとの遺伝子発現プロファイルの比較を行った。その結果、軟骨魚類では繁殖様式の 違いによる VTG や VLDLR の遺伝子レパートリ数の差は見られなかったが、卵生種で は肝臓で主に発現する VTG 遺伝子が胎生種では子宮でも発現していることが明らかに なった。以上の結果を総合して、これまで遺伝子基盤がほとんど明らかにされていなか った胎生軟骨魚類の多様な繁殖様式を深く理解するための糸口としたい。

第2章 材料と方法

2-1. 生物試料の入手

ラブカ(frilled shark、*Chlamydoselachus anguineus*;カグラザメ目ラブカ科)の組織 サンプルは、東海大学海洋科学博物館にて冷凍保管(-20°C)されていた成熟メス個体 (メス1:全長 158 cm;メス2:全長 168cm)より入手した。サンプリングしたラブ カ個体はどちらも駿河湾にて調査の目的により捕獲されたものである。また、シロザ メ(spotless smooth-hound、*Mustelus griseus*;メジロザメ目ドチザメ科)の組織サンプ ルは、瀬戸内海(兵庫県沿岸)にて捕獲されたメス個体(全長 70cm)より採取し た。なお、子宮組織を採取したラブカ(メス2)およびシロザメは、それぞれ卵もし くは胎仔を妊娠しており、シロザメ胎仔については胎盤が形成されているステージで あることを確認した。いっぽうで、トラザメ(cloudy catshark、*Scyliorhinus torazame*; メジロザメ目トラザメ科)の卵管と子宮については、東京大学大気海洋研究所海洋生 命科学部門生理学グループ(兵藤晋教授)より提供していただいた。なお、本研究に おけるすべての個体の調達および組織のサンプリングについてはその地域の漁業規定 ならびに神戸理研と東京大学大気海洋研究所における動物実験委員会の規定に従っ た。



図 2.1 本研究に供試した軟骨魚

(A) ラブカ成体のホルマリン標本。東海大学海洋科学博物館にて撮影。(B) サンプリ ングをおこなったシロザメメス個体。B'は同個体から摘出された胎仔と胎盤。(C) トラ ザメ成体。理化学研究所神戸キャンパスにて飼育されている個体を撮影。

2-2. RNA 抽出と RNA-seq による転写産物配列の取得

サンプリングした凍結組織はホモジェナイザー(AUTOMILL、TK-AM7)により凍 結破砕したのちに、TRIzol Reagent(Thermo Fisher Scientific 社)および Direct-zol RNA 抽出キット(Zymo Research 社)を用いて total RNA の抽出を行った。抽出手順は、 Direct-zol RNA 抽出キットの製品マニュアルに従った。

抽出した total RNA は、精製水に溶解したのちに Qubit (Thermo Fisher Scientific 社 Thermo)による濃度測定を行い、合計で 25~1000ng の total RNA を確保した。また、 Bioanalyzer 2000(Agilent Technologies 社)による total RNA サイズ分布を測定し、RNA の分解度を評価する RNA Integrity Number(RIN)値が 7 以上のサンプルについてライ ブラリ作成を行った。RNA-seq による配列取得のための mRNA ライブラリは、抽出し た total RNA よりシロザメ・トラザメ組織については TruSeq Stranded mRNA Library Prep キットを、ラブカ組織については Illumina Stranded mRNA Prep キット(ともに Illumina 社)をそれぞれ用いて作成し、HiSeq X(Illumina 社)による RNA-seq データ の取得を行った。なお、HiSeq X による RNA-seq データ取得については Azenta Life Sciences 社に依頼した。

2-3. Trinity プログラムによる de novo トランスクリプトームアセンブリ

取得した RNA-seq データは、TrimGalore v2.13.2 プログラム

(https://github.com/FelixKrueger/TrimGalore)を"--quality 30 --stringency 2 --length 25 -clip_R1 1 --clip_R2 1 --paired"の設定のもとで使用し、アダプター配列などのトリミン グを行った。その後、Trinity v2.13.2 プログラム(Haas et al., 2013)をデフォルト設定 のもと使用して、*de novo*トラスクリプトームアセンブリを行った。出力されたトラン スクリプトームアセンブリの配列網羅率は、OrthoDBに含まれる脊椎動物種の 90%が オーソログを一つ保持しているタンパク質コード遺伝子を検出する BUSCO v5.1.2 パイ プライン(Manni et al., 2021)をウェブサーバ gVolante2(Nishimura et al., 2017)で利用 し検証した。さらに、冗長性を除去したアミノ酸配列は、トランスクリプトームアセ ンブリを TransDecoder v5.5.0 パイプライン

(https://github.com/TransDecoder/TransDecoder) と CD-HIT プログラム (Li and Godzik, 2006) を利用して推定した。

2-4. RT-PCR による新規遺伝子の単離

抽出した total RNA より SMARTer RACE 5'/3'キット(タカラバイオ社)を用いて cDNA を行った。その後、それぞれの新規遺伝子について特異的なプライマー配列を 前述の de novo トランスクリプトームアセンブリを行い取得したコンティグの塩基配列 をもとに設計し、新規遺伝子の単離を行った。なお設計したプライマー配列について は表 2.1 に示す。

| 表 2.1 PCR に用いたプライマー配列 | |
|-----------------------|---|
| | _ |

| 生物種 | 遺伝子 | Forward primer | Reverse primer | | |
|------|-------|------------------------------------|----------------------------------|--|--|
| トラザメ | | GGCTGCCGGAGAAAGGCTTG | AGCCAGCGCCTTGGTTCAGG | | |
| | VTG2α | CAGCCAGCGCGAGAATTGCC | TAGCCTCGCTGTGTGCCGTC | | |
| | | GCCGATGCAGCAATGCCCAG | TGCGCAGGTTTGCCCTGGAT | | |
| | VTG2β | GCGACGTGCGAAGGATCAGC | TGAACACCCTTCCAGGCACCG | | |
| ラブカ | VTG2a | TGCCCATTGTACCAGTTGATTGGAGAG | TGCACCCTAGGCAGTTGAGATGAAATC | | |
| | VTG2β | GACCAGAAGCTCCTCATTCAGTTCCAG | GAAACAGTTCTGGAATCTCAGCAACGC | | |
| | | TTTAAAGCATCGATGGGATATCTTGCAAATCACC | GCATCGATGGGATATCTTGCAAATCACCCGGC | | |
| シロザメ | VTG2β | GCAAGACACCTACCTCCTTAAGATCGC | ATCGACCTGGAGTTTCAGTGGGATACT | | |

2-5. 遺伝子の分子系統解析

各遺伝子の類似アミノ酸配列は、GenBank や Ensembl などの複数のデータベースか ら探索するウェブツール aLeaves (Kuraku et al., 2013)を利用して収集した。収集した アミノ酸配列は、MAFFT v7.487 (Katoh and Standley, 2013)のL-INS-i 法を利用してア ラインメントを行い、TrimAl プログラム(Capella-Gutierrez et al., 2009)の-automated1 もしくは-nogaps 設定を用いてアラインメントできなかったアミノ酸座位のトリミング を行った。上記のアラインメントに基づく分子系統樹は、RAxML-ng v1.1.0 プログラ ム (Kozlov et al., 2019)を利用した最尤法と、PhyloBayes v4.1b プログラム(Lartillot et al., 2009)を利用したベイズ法の2種類の方法で推定を行った。なお、アミノ酸置換モ デルの選択は、Modeltest-ng v0.1.7 プログラム(Darriba et al., 2020)を活用し、赤池情 報量基準 (AIC)およびベイズ情報量基準 (BIC)の値が最も小さくなるモデルを採用 した。また、RAxML-ng による分子系統樹の推定では、試行回数 1,000 回のブートス トラップ解析を行った。

VTG 遺伝子における想定可能な樹形間の統計学的評価には、IQ-Tree v2.1.4-beta プロ グラム d(Minh et al., 2020)を利用した。評価を行うための樹形トポロジーは、硬骨脊 椎動物 VTG1、硬骨脊椎動物 VTG2、軟骨魚類 VTG1、軟骨魚類 VTG2、円口類 VTG、 外群(無脊椎動物 VTG) 6 つの操作的分類単位(Operational taxonomic unit, OTU)を 設定し、想定できる全て、すなわち 105 個の樹形について統計学的評価を行った。

2-6. シンテニー比較による遺伝子のオーソロジーの検証

ゲノム配列上の各遺伝子の周辺遺伝子の並び方であるシンテニー情報の比較には、 NCBI RefSeq に登録されている遺伝子モデルを採用した。なお、近傍の遺伝子のオー ソロジーについての検証は、最尤法およびベイズ法による分子系統樹推定を行った。 本研究で比較に用いた生物種と NCBI の RefSeq に登録されたゲノムアセンブリのアク セッション ID を以下に記す。ヒト:GCF_000001405.39、 タスマニアデビル: GCF_902635505.1、カモノハシ:GCF_004115215.2、 ニワトリ:GCF_016699485.2、ヨ ーロッパウナギ:GCF_013347855.1、スポテッドガー: GCF_000242695.1、ゾウギン ザメ:GCF 018977255.1、ガンギエイの一種(*Amblyraja radiata*):GCF 010909765.2。

2-7. RNA-seq データを用いた遺伝子発現定量

トラザメ、ラブカ、シロザメそれぞれの各組織における遺伝子発現レベルの定量の ために、2-3 でトリミングした RNA-seq データを bowtie2 v2.3.5.1 プログラム

(Langmead & Salzberg 2012)を利用して、VTG と VLDLR の全長配列を含めた de novo トランスクリプトームアセンブリへのリードマッピングを行った。マッピング結果をもとに RSEM v1.3.3 プログラムを利用して、遺伝子ごとの発現レベル(Transcripts per million mapped reads; TPM)を算出した(Li and Dewey, 2011)。

2-8 データ登録情報

本研究で得られた RNA-seq データは DNA Data Bank of Japan (DDBJ) 経由でアクセ ッション番号 DRA014745 として公開されている。また、本研究で新たに同定されたトラザ メの VTG ならびに VLDLR ホモログは、DDBJ 経由でアクセッション番号 LC726232-LC726236 として登録した。

第3章 結果

3-1. シロザメとラブカのトランスクリプトーム情報の取得

胎生軟骨魚類で発現している遺伝子の配列情報を獲得するために、ラブカ(終脳、 小脳、延髄、眼、鰓、心臓、肝臓、筋肉、子宮)とシロザメ(肝臓、子宮)の各組織 より抽出した total RNA から mRNA ライブラリを作成し RNA-seq リードの取得を行っ た(表 A1)。さらに、取得した RNA-seq リードをそれぞれの種ごとに統合して、*de novo*トランスクリプトームアセンブリを行った結果、ラブカでは約 88 万本、シロザ メでは約 17 万本のコンティグ配列が出力された。それらのトランスクリプトームアセ ンブリの中にどの程度の遺伝子が網羅されているかを調べるため、BUSCO v5 パイプ ラインを利用した (Manni et al., 2021)。その結果、部分的なものを含めて脊椎動物の シングルコピー遺伝子(3,291 遺伝子)のうち 90%以上のオーソログとおぼしき配列が 両種のトランスクリプトームアセンブリ中から検出された(表 A2)。以上の結果か ら、今回出力されたトランスクリプトームアセンブリは様々な遺伝子配列の探索にお いて高い網羅性をもつことが期待される。

3-2. 軟骨魚類における VTG 相同遺伝子の探索

軟骨魚類の VTG 遺伝子については、板鰓類のトラザメで一つ(Yamane et al., 2013)、全頭類のギンザメで3つの遺伝子を持つこと(Biscotti et al., 2018)がこれまで 報告されてきたが、軟骨魚類の遺伝子レパートリの全容については明らかになってい ない。これを明らかにするために、3-1 で得たラブカとシロザメの新規配列情報に加 え、先行研究で取得されていたトラザメのトランスクリプトームアセンブリ配列 (Hara et al. 2018)それぞれに対して、ニワトリの VTG1(NP_001004408.2)および VTG2 (NP_001026447.2)を見出し配列に用いて BLAST によるホモロジーサーチを 行った。その結果、それぞれの種について VTG に類似した遺伝子配列断片を 3 つずつ 同定し、ニワトリ VTG 遺伝子配列との類似性をもとにそれらの配列を板鰓類 VTG1、 VTG2α、VTG2βと命名した(図 3.1)。なお、前述した先行研究ですでに報告されてい たトラザメ VTG 遺伝子配列(AEM05867.1)は VTG2αに相当するが、トラザメの VTG1 および VTG2β は VTG2αとは明確に異なる配列であった(付録図 B1)。推定さ れたアミノ酸配列から、ウェブツール InterProScan (Blum et al., 2021) を用いてドメ イン構造の推定を行った結果、リポタンパク質 N 末端ドメイン、VTG オープンβシー トドメイン、VTG β シートシェルドメイン、von Willebrand 因子タイプ D ドメインと いう4つのドメインで構成されていることが明らかとなった(図 3.1)。

さらに、全頭類であるゾウギンザメの VTG 配列についても、ゲノムアセンブリ (GCF_018977255.1)から遺伝子推定された配列中からホモロジーサーチを改めて行 った結果、4 つの類似配列が確認され、それぞれに対して VTG1、VTG2-1、VTG2-2、 VTG2-3 と命名した(図 3.1)。先行研究(Biscotti et al., 2018)では、VTG 2 オーソログ は 2 種類あるとされていたが、今回の探索の結果、3 つの類似配列

(ENSCMIT00000018226.1、ENSCMIT000000018289.1、ENSCMIT000000018193.1)が 存在することが明らかになった。これらの配列はそれぞれ Ensembl データベースにお いて転写産物として登録されているが、それぞれの配列をコードしているゲノム領域 が重ならないこと(図 3.2D)とそれぞれ推定されたドメイン構造(図 3.1)から本研 究ではこれらの類似配列が互いに別々の遺伝子であると判断した。



図 3.1 軟骨魚類 VTG のドメイン構成 トラザメとゾウギンザメの VTG 遺伝子の タンパク質ドメイン構造を、ニワトリと トラフグ (*Takifugu rubripes*)の VTG ホモ ログと比較した。4 つのドメインは InterProScan (Blum et al.2021)を利用して 推定した。

3-3. 軟骨魚類 VTG ホモログの分子系統解析

軟骨魚類における VTG 類似配列とそのほかの脊椎動物の VTG ホモログとの分子系統関係を調べるため、最尤法およびベイズ法による分子系統樹の推定を行った(図 3.2A)。先行研究(Biscotti et al., 2018)では、最初の VTG 遺伝子の重複が軟骨魚類と 硬骨脊椎動物の分岐以前に起きたとする仮説が提唱されていた(図 3.2C)。しかし系 統解析の結果をみると、先行研究の仮説に反して、軟骨魚類 VTG1 と VTG2 が近縁であり、最初の VTG 遺伝子の重複が軟骨魚類と硬骨脊椎動物の分岐後に起きたことが示唆された(図 3.2A, B)。しかしながら、硬骨脊椎動物の VTG1 と VTG2 の近縁性については、最尤法における系統樹内のノードの信頼性を示すブートストラップ値が 22 と



図 3.2 脊椎動物の VTG ホモログの分子系統樹とシンテニー解析

(A) 1,195 座位のアミノ酸配列のアライメントをもとに、最尤系統樹の推定を行った。系統樹推定には JTT+I+G4 モデルを使用した。系統樹内のノードの数字は最尤法によるブ ートストラップ値(左)およびベイズ法による事後確率(右)。各ノードにプロットされた 黒丸は、以下の樹形の統計学的評価で固定された6つのグループを表している(表3.1)。 詳細は、「材料と方法」の項を参照。(B)最尤系統樹により支持された、軟骨魚類と硬骨 魚類の分岐後に VTG 遺伝子の遺伝子重複が想定されるシナリオ。(C)シンテニー解析に より、VTG1 と VTG2 を生み出す遺伝子重複が軟骨魚類と硬骨魚類の分岐前に起こった とするシナリオ。B と C 中の黄色のひし形は、遺伝子重複を示す。(D) VTG 遺伝子近傍 領域のシンテニー解析。硬骨脊椎動物 VTG1 オーソログはオレンジ色で、硬骨脊椎動物の VTG2 オーソログは薄緑色で示す。軟骨魚類の VTG 遺伝子は水色で示す。なお、各配列 の詳細は付録表 A3 に示す。 低い値であったことから、この仮説の妥当性については慎重に検討する必要がある。 そこで、6 つの OTU を固定した上で、想定可能なすべての樹形トポロジーについて統 計学的評価を行った。その結果を**表 3.1** に示す。105 の樹形のうち最尤系統樹を含む 8 つの系統樹は対数尤度差(Δ LogL/SE)が 1 σ 以内であり、従来の仮説(図. 3.2C)を支 持するような樹形も含まれていた。また仮説の妥当性を判断するために、AU 検定お よび Kishino-Hasegawa(KH)検定を行った結果、有意水準(p<0.05)よりも大きく、 いずれの仮説も棄却できないことが明らかになった(**表 3.1**)。以上の結果から、遺伝 子配列を元にした分子系統樹推定のみでは、脊椎動物の VTG ホモログのオーソロジー を判断できないことがわかった。

| 順是 | 検知 | 仮説 | $\Delta \log L \pm SE$ | ∆logL/SE | <i>p</i> 値 | | |
|--------|---|--------|------------------------|----------|------------|-------|-------|
| 川貝114. | 1531772 | | | | AU | КН | SH |
| 1 | (((Ost-2,Ost-1),(Cho-1,Cho-2)),Cyc,OG); | 図 3.2B | ML | - | 0.771 | 0.655 | 1.000 |
| 2 | ((((Cho-1,Ost-1),Ost-2),Cho-2),Cyc,OG); | 図 3.2C | 3.20 ± 14.86 | 0.22 | 0.592 | 0.416 | 0.919 |
| 3 | ((((Cho-2,Cho-1),Ost-2),Ost-1),Cyc,OG); | 図 3.2B | 1.53 ± 4.58 | 0.33 | 0.495 | 0.345 | 0.939 |
| 4 | ((((Ost-2,Cho-2),Ost-1),Cho-1),Cyc,OG); | 図 3.2C | 6.75 ± 15.37 | 0.44 | 0.424 | 0.333 | 0.804 |
| 5 | (((Ost-2,Cho-2),(Cho-1,Ost-1)),Cyc,OG); | 図 3.2C | 8.35 ± 15.66 | 0.53 | 0.259 | 0.296 | 0.767 |
| 6 | ((((Cho-2,Cho-1),Ost-1),Ost-2),Cyc,OG); | 図 3.2B | 2.48 ± 4.22 | 0.59 | 0.317 | 0.256 | 0.922 |
| 7 | ((((Ost-2,Cho-2),Cho-1),Ost-1),Cyc,OG); | 図 3.2C | 8.83 ± 15.04 | 0.59 | 0.228 | 0.275 | 0.749 |
| 8 | ((((Ost-2,Ost-1),Cho-1),Cho-2),Cyc,OG); | 図 3.2B | 7.83 ± 8.85 | 0.88 | 0.231 | 0.189 | 0.799 |
| 9 | ((((Cho-1,Ost-1),Cho-2),Ost-2),Cyc,OG); | 図 3.2C | 14.98 ± 14.51 | 1.03 | 0.008 | 0.151 | 0.542 |
| 10 | ((((Cho-1,Ost-1),Ost-2),Cyc),Cho-2,OG); | - | 21.64 ± 17.27 | 1.25 | 0.030 | 0.107 | 0.313 |

表 3.1 拮抗する系統樹トポロジーの統計学的評価

Ost-1:硬骨脊椎動物 VTG1; Ost-2:硬骨脊椎動物 VTG2; Cho-1:軟骨魚類 VTG1; Cho-2: 軟骨魚類 VTG-2; Cyc:円口類 VTG; OG:外群; ΔlogL:最尤系統樹との対数尤度差、 SE:対数尤度の標準誤差; AU:AU 検定 (Shimodaira 2002); KH:Kishino-Hasegawa 検 定 (Kishino & Hasegawa 1989); SH:Shimodaira-Hasegawa 検定 (Shimodaira & Hasegawa 1999) による結果をそれぞれ示す。105の樹形についてΔlogL/SE の小さいものから順に並 べた。樹形トポロジーは Newick 形式で示した。

分子系統解析以外の方法で VTG 遺伝子のオーソロジーを明らかにするために、ゲノ ム配列上の遺伝子の並び(シンテニー情報)を比較した。トラザメのドラフトゲノム アセンブリ(GCA 003427355.1)中には VTG2αおよび VTG2βの全てのエクソンをコー ドしているスキャフォールドは存在しなかったため、板鰓類の中で最も DNA 配列の 連続性が高いゲノムアセンブリが公開されているガンギエイの一種(Amblyraja *radiata*)の全ゲノムアセンブリ(GCF 010909765.2)に対して VTG 遺伝子の配列探索 を行った(Rhie et al., 2021)。その結果、2つの VTG2αを含む4つの VTG に相同な遺 伝子がゲノム中に保持されており(VTG1; XP 032883733.1、VTG2; XP 032883739.1、 XP 032883740.1、XP 032883741.1)、それらすべてが約 70Mbp の「10 番染色体」 (NC 045965.1) と呼ばれる一つの配列上にコードされていることが明らかになった (図 3.2 A,D)。続いて、VTG 遺伝子の近傍のシンテニー情報をカモノハシ、ニワト リ、ヨーロッパウナギ、ゾウギンザメの4種とのシンテニー情報の比較を行った(図 **3.2D**)。さらに、軟骨魚類の VTG 遺伝子近傍に存在する SSX2IP(図 B2A)および ADGRL4(図 B2B)に関する分子系統解析の結果、それらの遺伝子のオーソロジーに ついても確認された。以上の結果から、軟骨魚類の VTG1 と VTG2 がそれぞれ硬骨脊 椎動物の VTG1 と VTG2 それぞれのオーソログであるとする従来の仮説(図 3.2C)の ほうが、妥当性が高いと結論づけた。

なお、VTG 遺伝子探索の中で、先行研究では VTG 遺伝子を完全に喪失したと考え られていた有袋類のタスマニアデビル(*Sarcophilus harrisii*)のゲノムアセンブリ

(GCF_902635505.1) 中に VTG1 (XP_031825161.1) と VTG2 (XP_023357473.2) の 相同遺伝子が「4番染色体」とされる一本のスキャフォールド配列 (NC_045429.1) 上 にコードされていることを副次的に発見した (図 3.2A,D)。特に、タスマニアデビル の VTG1 遺伝子はほかの脊椎動物とは異なりシンテニーが保存されておらず、別のゲ ノム領域への転座によって VTG1 遺伝子が欠失を免れた可能性がある。

3-4. 軟骨魚類の VLDLR の探索と分子系統樹の推定

軟骨魚類の VLDLR 遺伝子レパートリを調べるため、先行研究(Hara et al., 2018) に おいてトラザメのドラフトゲノムアセンブリ(GCA_003427355.1)から推定された遺 伝子配列に対して、ヒトの VLDLR 遺伝子(NP_003374.3)を基に、BLAST によるホ モロジーサーチを行った。その結果、トラザメが VLDLR に類似した 3 種類の遺伝子 (Scyto0020726、Scyto0010396、 Scyto0010397)を有することが明らかになった(図 **3.3A**)。同様にしてガンギエイの一種(*A. radiata*)のゲノム配列に対して探索を行った ところ、3つの VLDLR 類似配列(XP 032873693.1、 XP 032874680.1、

XP_032874678.1)を発見した。軟骨魚類の VLDLR 類似配列についてドメイン推定を 行った結果、VLDLRc1 の構造はほかの脊椎動物の VLDLR オーソログと共通であった が、VLDLRc2 および VLDLRc3 は細胞外ドメインを3回あるいは5回繰り返す構造を していた(図 3.3A)。これらの軟骨魚類の VLDLR 類似配列と脊椎動物の VLDLR ホモ ログとの系統関係を調べるため、VLDLR と近縁な遺伝子(CD320、LRP8、LDLR)を 含めた分子系統樹推定を行った(図 3.3B)。その結果、3種類の類似配列が脊椎動物 の VLDLR オーソログであり、軟骨魚類の通祖先で遺伝子重複したことが示された。 また、軟骨魚類ゲノム上の VLDLR パラログのシンテニー情報を比較した結果、それ らが同一のゲノム領域にタンデムに並んでコードされていることが明らかになった (図 3.3C)。以上の結果を踏まえ、軟骨魚類 VLDLR オーソログをそれぞれ英語の軟骨



図 3.3 軟骨魚類 VLDLR 相同遺伝子の構造と分子系統樹

(A) トラザメの VLDLR とヒトの VLDLR の比較。ドメイン推定は InterProScan (Blum et al. 2021) によって同定した。(B) JTT+I+G4 モデルに基づき 417 座位のアミノ酸アラインメントをもとに作成した最尤系統樹。ノードの支持値は最尤法によるブートストラップ値(左) およびベイズ法による事後確率(右)。各配列の詳細は付録表 A4 に示す。(C) ヒト、ニワトリ、スポッテッドガー、ガンギエイ、ゾウギンザメの間での VLDLR 遺伝子のシンテニー解析。骨魚類の VLDLR 遺伝子は紫色で、軟骨魚類の VLDLR オルソログは緑色でそれぞれ示した。

魚類を意味する chondrichthyan の頭文字に番号を加えて VLDLRc1、VLDLRc2、 VLDLRc3 と命名した。

3-5. 軟骨魚類における VTG と VLDLR の遺伝子レパートリ

ここまでの解析では、脊椎動物全体の VTG と VLDLR の分子系統関係を明らかに した。次に、繁殖様式の異なる 12 種の軟骨魚類について遺伝子レパートリを公開され ているゲノム情報やトランスクリプトーム情報をもとに調査した(表 A5)。まず VTG 遺伝子について配列探索を行い分子系統樹の推定を行った結果、軟骨魚類 VTG1 と板 鰓類 VTG2α、VTG2β、そして全頭類 VTG2 の4つのクレードに分類されることが示さ れた(図 B3)。この結果は、軟骨魚類 VTG2 は板鰓類と全頭類の分岐後にそれぞれの 系統で遺伝子重複したことが推察される。また、いずれの母体依存型胎生種において



図 3.4 軟骨魚類の VTG と VLDLR 遺伝子レパートリの異種間比較

右側の色のついたボックスの数字は、個々の種について、そのゲノムまたはトランスクリプ トームアセンブリで同定されたオーソログの数を示している。「?」は、ゲノム配列が明らか になった際に同定される可能性のあるレパートリを示している。種名の右側には、各生物種 それぞれの繁殖様式を示した。 も VTG 遺伝子は喪失されずに維持されていることが明らかになった。なお、アブラツ ノザメ (*Squalus suckleyi*)の VTG2α については、探索の対象とした配列群がメスの4 つの組織から得られた *de novo*トランスクリプトームアセンブリであり((Chana-Munoz et al., 2017)、今後全ゲノム情報が明らかになれば VTG2α のオーソログが見つか る可能性は高いと考えている。続いて、軟骨魚類の VLDLR 遺伝子についても同様に 配列探索と分子系統樹推定を行った結果 (図 B4)、少なくともゲノム配列が明らかと なっている種では VLDLRc1、VLDLRc2、VLDLRc3 のすべてが確認された(図 3.4)。 以上の結果をまとめると、哺乳類とは異なり、軟骨魚類では繁殖様式の違いに関わら ず卵黄タンパク質関連遺伝子が維持されていることが明らかになった。

3-6. VTG と VLDLR 遺伝子について発現レベルと繁殖様式の関連性

最後に、繁殖様式の異なる軟骨魚類で VTG および VLDLR の遺伝子それぞれがどの 組織で発現しているかを調べるために、RNA-seq データを利用して遺伝子発現レベル の定量解析を行った。今回の解析では、胎生種としてラブカおよびシロザメを、卵生 種として多くの組織のトランスクリプトーム情報がすでに先行研究によって公開され ているトラザメを選択した(Hara et al., 2018)。トラザメでは、VTG 遺伝子はメスの肝 臓と嗅嚢で非常に高い発現レベルが確認できるいっぽうでそれ以外の組織、あるいは オスの全身では発現レベルが低いことが明らかになった(図 3.5A、図 B5)。この結果 は、ほかの多くの卵生脊椎動物でもメスの肝臓で VTG が高い発現を示すことと整合性 がある(Deeley et al., 1975)。それに対して、胎生種であるラブカとシロザメでは、メ スの肝臓で発現しているだけではなく、子宮をはじめとする様々な器官で VTG 遺伝子 の発現レベルが高いことが明らかになった(図 3.5B,C)。特に、胎盤型胎生の繁殖様式 をもつシロザメでは子宮での VTG2αの発現が肝臓よりも高いことは注目に値する(図 3.5C)。

VLDLR 遺伝子についてみてみると、トラザメではすべての VLDLR パラログが卵巣 で高い発現レベルを示すことが明らかとなった(図 3.5A)。とくに VLDLRc2 および VLDLRc3 は、卵巣特異的な発現パターンが確認され、ほかの組織ではほとんど発現が みられなかった(図 3.5A)。以上の結果から、軟骨魚類の 3 種類の VLDLR が卵巣にお ける卵黄形成に関与している可能性が高いと考えられる。これに対して、胎生のラブ カやシロザメでは、卵巣の試料を確保できなかったこともあり、VLDLRc1 はさまざま な組織で遺伝子発現が確認できたが、VLDLRc2 及び VLDLRc3 の完全長の配列につい てはトランスクリプトームアセンブリ中からは見出せなかったために発現を確認でき なかった。しかしながら、VLDLRc1 は子宮でも高い発現レベルを示すことから、肝臓 で産生された VTG タンパク質の子宮内腔への輸送などに関与している可能性が考えら れる(図 3.5B,C)。





図 3.5 軟骨魚類 VTG と VLDLR 遺伝子の発現プロファイルの異種間比較

(A)トラザメ(メス)組織における VTG 遺伝子と VLDLR 遺伝子の発現プロファイル。
(B) ラブカ(メス)の各組織における VTG 遺伝子と VLDLR 遺伝子の発現プロファイル。子宮はメス2から取得し、そのほかの組織はメス1から取得した。(C)シロザメ(メス)の肝臓および子宮の VTG 遺伝子と VLDLR 遺伝子の発現量に関するヒートマップ。これらの発現レベルは log10(TPM+1)で示した。トランスクリプトームアセンブリに含まれない遺伝子(ラブカとシロザメの VLDLRc2と-c3)は、BとCには含まれていない。RNA-seq データの処理に関する技術的詳細については、「2.材料と方法」参照。

第4章 考察

4-1. 多様な繁殖様式をもつ軟骨魚類の VTG 遺伝子レパートリ

これまで、軟骨魚類の VTG 遺伝子レパートリについては、一部の配列情報しか明ら かにされていなかった(Biscotti et al., 2018; Yamane et al., 2013)。本研究では、近年明 らかにされてきた全ゲノム配列情報に加え、新たに 2 種の胎生軟骨魚類のトランスク リプトーム配列を用いることで、全頭類が 4 種類、板鰓類が 3 種類の VTG パラログを ゲノム中に保持していることを示した。(図 3.4)。さらに、一部の種については全ゲノ ム情報を加味できていないことは留意しなければならないが、これらの軟骨魚類にお ける VTG 遺伝子レパートリは、様々な母体依存型胎生種でも胎生哺乳類のように失わ れることなく、保持されていることを明らかにした。胎生哺乳類と軟骨魚類では、胎 盤や液性栄養(子宮ミルク)のように、一見すると類似した母体からの母体依存型栄 養が獲得されている。それにもかかわらず、なぜ VTG 遺伝子レパートリの進化上の運 命が異なるのだろうか。

その要因の一つとして、胚発生初期における両者の卵黄栄養依存度の違いが挙げら れる。真獣類の場合、卵母細胞は卵黄をもたないため、ほかの脊椎動物と比較しても そのサイズは極端に小さいことが知られている(Frankenberg, 2018; Rothchild, 2003)。 いっぽうで、胎生軟骨魚類では母体依存型胎生種においても卵母細胞や初期胚は卵黄 を保持しており、それが初期発生における栄養源として利用されることが知られてい る(Buddle et al., 2019; Furumitsu et al., 2019; Gilmore, Jr et al., 2005)。したがって、軟骨 魚類の母体依存型胎生は真獣類に見られるような完全な母体依存型胎生というわけで はなく、厳密には卵黄依存型胎生と母体依存型胎生の中間的な繁殖様式と考える必要 がある。このような初期発生における卵黄栄養依存度の違いが結果として胎生軟骨魚 類の VTG 遺伝子を保持させ続けた一要因であると考えられる。

また、VTG タンパク質は一部の胎生脊椎動物種では母体供給栄養として転用(Cooption)される例が報告されている。例えば、胎生真骨魚類の一種であるハイランドカ ープ(*Xenotoca eiseni*)では、母親の肝臓で産生された VTG タンパク質を卵巣内の胎 仔(真骨魚類では子宮の相同器官を進化的に失っているため、胎仔は卵巣内で維持さ れる)が栄養源として利用することが知られている(Iida et al., 2019, 2022)。本研究で 行った発現解析の結果、胎生軟骨魚類であるシロザメやラブカでは VTG 遺伝子が肝臓 だけでなく子宮でも発現していることが明らかになった(図 3.5B, C)。これらの結果 は、軟骨魚類においても VTG タンパク質が胎仔への母体供給栄養の一端を担っている 可能性を示している。実際、組織栄養型胎生のアカエイ(Hemitrygon akajei)では、子 宮から分泌される液性栄養の中に VTG タンパク質が含まれていることが報告されてい る(Kina et al., 2021)。胎盤型胎生のシロザメや卵黄依存型胎生のラブカでも、胎盤や 卵黄以外にも子宮から分泌される組織栄養が存在する可能性が示唆されており

(Hamlett, 1989; Tanaka et al., 1990; Teshima, 1975)、そのような栄養成分として VTG タンパク質が機能している可能性は高い。また、卵食型胎生のサメ類(例;ホホジロザメやオオテンジクザメなど)についても、未受精卵の卵黄を胎仔へと栄養として与えるため、組織栄養とは違う形での VTG タンパク質の流用ととらえることもできる

(Gilmore, Jr et al., 2005; Teshima et al., 1995)。以上のような知見を総合すると、胎生軟 骨魚類においても母体供給栄養の一つとして VTG タンパク質が流用されたこともまた 遺伝子レパートリが維持された一つの要因といえるのかもしれない。

4-2. 脊椎動物 VTG 遺伝子の分子系統樹推定はシンテニー解析によるオーソロジー判定

結果となぜ一致しないのか

先行研究では、VTGの最初の遺伝子重複タイミングを軟骨魚類と硬骨脊椎動物の分 岐以前とする仮説が提唱されていたが、ゲノム情報やトランスクリプトーム情報が未 知であったため軟骨魚類、とりわけ板鰓類のVTGホモログについては解析に含められ ていなかった(Biscotti et al., 2018; Carducci et al., 2021; Finn and Kristoffersen, 2007)。本 研究において脊椎動物のVTG遺伝子について、軟骨魚類を含む主要系統を網羅した初 めての分子系統樹推定を行ったが、遺伝子重複のタイミングは軟骨魚類と硬骨脊椎動 物の分岐後であるという従来の仮説と反する結果が示された(図 3.2A,B)。いっぽう で、シンテニー解析の結果は従来の仮説を支持する結果であった(図 3.2D)。分子系 統樹推定がシンテニー解析によるオーソロジー判定の結果と一致しなかった要因とし て、VTG1とVTG2間の遺伝子変換が硬骨脊椎動物や軟骨魚類の共通祖先で起きた可 能性が考えられる。遺伝子変換とは、二本鎖切断の起きた DNA 領域の修復のため、 別の DNA 領域から相同配列が転移する現象である(Chen et al., 2007; Daugherty and Zanders, 2019)。遺伝子変換が発生すると、パラログ間での配列類似性が部分的に上が ることにより、分子系統樹が正しい進化の歴史を反映しないことが知られている

 (Slightom and Blechl, 1980)。真骨魚類の VTG2 の分子系統樹を見てみると、遺伝子重 複を起こした VTG2 パラログ間で、遺伝子変換が最近起きた痕跡が確認できる(図 B6A)。例えば、共に真骨魚類棘鰭上目に属するトラフグとダンゴウオでは VTG2 の遺

23

伝子重複は共通祖先で起きたと考えられるが、ダンゴウオでは VTG2 パラログ間の塩 基配列の類似性がイントロン領域を含めて高いことがわかる(図 B6B,C)。また、両生 類 VTG2 パラログ間でも遺伝子変換が起きたことが先行研究において指摘されている (Carducci et al., 2021)。以上のことを踏まえると、脊椎動物における VTG をコードす るゲノム領域は遺伝子転換が起こりやすい性質を持つ可能性が十分にあり、軟骨魚類 や硬骨脊椎動物の共通祖先でも分岐後に VTG1 と VTG2 間で遺伝子変換が起こること で分子系統樹推定の結果の解釈を難しくした要因ではないかと考えられる(図 4)。



図4遺伝子変換と分子系統樹推定

VTG1 と VTG2 間で遺伝子変換が起き た場合の分子系統樹推定のモデル図。 本来の進化経路を左図に示し、遺伝子 変換による推定結果への影響を右図に 示す。

4-3. 軟骨魚類 VTG 遺伝子は栄養供給以外の役割をもつか

VTG 遺伝子の発現解析の結果、メスの肝臓や子宮などの繁殖に直接的に関わる器官 以外にも、ラブカの脳やトラザメの嗅嚢(嗅上皮)のような、繁殖に直接関連すると は考えにくい器官においても発現していることが明らかになった(図 3.5A,B)。先行研 究では、ゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)においても肝臓外の脂肪細胞での VTG タン パク質の発現が報告されているが、その生理学的機能については明らかになっていな い(Wang et al., 2005)。VTG タンパク質の VTG オープン β-シートドメイン

(DUF1943)には抗菌作用をもつことが報告されおり(Liu et al., 2009; Shi et al., 2006; Sun and Zhang, 2015)、特にミツバチなどの一部の昆虫類では、VTG の系統特異的パラ ログが免疫や抗酸化機能を果たすことが知られている(Corona et al., 2007; Salmela et al., 2015)。このような知見を踏まえると、軟骨魚類の VTG タンパク質も栄養供給とは 異なる免疫機能を有するのかもしれない。今後、軟骨魚類の VTG タンパク質において も、非栄養的な生理学的機能の有無を明らかにする実験的検証を通じて、サメにおけ る VTG 発現の生理学的意義が明らかにされることを期待したい。

4-4. 軟骨魚類 VLDLR 相同遺伝子の特殊性とその役割

軟骨魚類における VLDLR 遺伝子レパートリの全容とその発現プロファイルについ て、本研究で大規模配列情報にもとづいて初めて明らかにすることができた。分子系 統解析の結果、軟骨魚類の共通祖先で起きた遺伝子重複によって生まれた VLDLRc1、 VLDLRc2、VLDLRc3 が系統特異的に保存されてきたことが明らかになった(図 3.3B)。さらに発現レベルの定量により、3種類の VLDLR オーソログはトラザメのメ ス成熟個体において卵巣で高い発現レベルを示した(図 3.5A)。軟骨魚類の VLDLR も ほかの脊椎動物と同様に卵巣で VTG 受容体として機能していると考えられる。さら に、VLDLRc2やVLDLRc3はVLDLRc1の細胞外ドメインを複数繰り返すような構造 を持つことがわかった(図 3.3A)。軟骨魚類の卵は、大型であり卵黄を豊富に含むこ とで知られている(Davenport et al., 2011)。このような VLDLR ドメインの重複は、ひ とつの受容体が複数の VTG リガンドを同時に結合することで、軟骨魚類の大型な卵黄 成熟を促進する可能性があると考えられる。また、ラブカやシロザメの子宮で VLDLRc1 が高く発現していることから、VTG の子宮内部への輸送などにも関与して いるのかもしれない。今後、軟骨魚類における VLDLR と VTG とのリガンド結合実験 結果や卵生熟に伴う時系列的な発現解析データの取得からその生理学的機能が明らか にされることを期待したい。

第5章 展望

5-1. 軟骨魚類における繁殖様式の多様化を紐解くために

軟骨魚類の繁殖様式は、現在おおまかに5種類に分類されていることを序論でふれた が、とくに組織栄養型・卵食型・胎盤型のような複数の母体依存型胎生が存在する系統 は脊椎動物全体を見渡しても多くはない(Blackburn, 2015)。本研究では、軟骨魚類にお ける VTG とその受容体である VLDLR 遺伝子に焦点を当て、その遺伝子レパートリの 全容や遺伝子発現レベルでの種差について明らかにすることができた。しかしながら、 軟骨魚類で多様な繁殖様式が獲得された遺伝子基盤の解明にはまだ多くの謎が残され ている。

哺乳類では、胎生や胎盤の獲得の前後にどのような遺伝子基盤の変遷があったのかが 徐々に明らかになりつつある。例えば、内在性レトロトランスポゾンの転移による遺伝 子ネットワークの再構築やトランスポゾン由来の新規遺伝子の獲得が哺乳類での繁殖 様式の移行を可能とした要因であるとする仮説が提唱されている(Kaneko-Ishino and Ishino, 2010; Lavialle et al., 2013; Lynch et al., 2015, 2011)。このような仮説が提唱される ようになった背景には、マウスやヒトなどでの胎盤や子宮に関する実証実験および臨床 データの蓄積に加え、多様な哺乳類種の全ゲノム配列情報の解明による配列比較解析の 実現による貢献が大きいと考えられる。

いっぽう軟骨魚類では、上記のような哺乳類でのアプローチをそのまま流用すること はまだ難しい。また、モデル生物で行われるような逆遺伝学的な解析手法は、軟骨魚類 ではいまだ確立されていない。その障壁となっているのは、種によっては 10 年近いと いう性成熟までの長さが挙げられる。とはいえ、近年トラザメの胚に対する *in vivo* の 遺伝子導入も試みられており (Fujimori et al., 2022)、今後、継続的に個体を飼育し続け られるような拠点ができれば、軟骨魚類でも遺伝子導入や遺伝子ノックダウン/ノック アウト実験などの逆遺伝学的なアプローチがとれる可能性は考えられる。また、軟骨魚 類の培養細胞を確立するような研究も進められており、*in vitro* 実験系の確立によって ホホジロザメなど飼育実験が困難な種においても実験生物学的検証を行うことが実現 する可能性は高いと考えている。

また、軟骨魚類における全ゲノム配列情報やトランスクリプトームデータは現段階では ほかの脊椎動物系統と比較しても不足している。近年のシーケンス技術の向上により、軟骨 魚類の全ゲノム情報についても徐々に明らかにされつつある(Kuraku, 2021; Pearce et al., 2021)。その背景には、地球上の真核生物の全ゲノム配列情報の充足を目指す国際プロジェ

26

クトである Earth BioGenome Project (EBP)の存在が大きい(Lewin et al., 2018)。実際、申 請者が所属する研究室ではこのプロジェクト傘下として Squalomix と銘打ち、これまで手つ けずのまま残されていた複数の軟骨魚種の全ゲノム配列情報の読み取りを進めている (Nishimura et al., 2022)。もちろん、哺乳類と比べると種間の分岐年代が古い傾向にあるた め(Hara et al., 2018)、哺乳類と同じ解析方法が応用可能かという点については検討の余地 はあるものの、ゲノム生物学的な側面からも軟骨魚類の遺伝子基盤の解明にアプローチが 可能となる時代はそう遠くはないと期待している。

5-2. サメ類の胎盤形成メカニズムや機能を遺伝子の視点から探るために

広義に胎盤とは「母体(あるいは父体)と胎仔の組織同士が近接して存在しており、その 間で何らかの生理学的な交換が行われる器官」であると定義されており(Mossman, 1937)、 とくに真獣類の胎盤は胚と親との間で酸素、栄養、老廃物の受け渡しの場であるとともに、 ホルモン生産の場として機能する(Griffith and Wagner, 2017)。一部の軟骨魚類でみられる胎 盤もこの定義に当てはまるが、哺乳類の胎盤とは形成時期や形成メカニズムが異なると考 えられている。

真獣類の胎盤は、一般的に胚盤胞の外側に位置する栄養芽細胞が子宮内膜内間葉に浸潤 したのちに母体側の細胞と複雑に相互作用しながら、既存の血管系を再構築していくこと で形成されていく(Hemberger et al., 2020)。いっぽう、軟骨魚類の胎盤は胎仔の外卵黄嚢と いう胚体外組織と子宮内表皮細胞で構成される点は哺乳類の胎盤と類似しているが、ほと んどの場合、その間には卵膜(非常に薄い卵殻)が挟まり、母体側と胎仔側の細胞が直接的 には接していないことや、胎盤自体の形成が発生の後期に起こる点などで哺乳類の胎盤と 異なる(Buddle et al., 2019; Hamlett, 1989)。本研究で扱ったシロザメも胎盤をもつサメ類の 一種であり、例にもれず卵膜を挟んだ胎盤をもつ(Teshima, 1975)。

2-1 でも記したが、本研究で組織サンプリングを行ったシロザメメス個体は幸運にも胎盤 をもつ胎仔を妊娠していた。そこで、胎盤組織を胎仔側と母体側の組織を含むようにパラフ ィン切片を作成し、ヘマトキシリン・エオシン(HE)染色とアルシアンブルー染色を行っ た(図 5A,B)。先行研究ですでに報告されているように、母体側と胎仔側細胞間に卵膜が存 在することや胎仔側の血管が子宮内膜に近接することが見て取れる(Teshima, 1975)(図 5B)。 これに対して、メジロザメ科の一種であるヨシキリザメ(*Prionace glauca*)の胎盤は組織学 的に大きく異なる(図 5C,D,E)。ヨシキリザメの胎盤では、シロザメの胎盤と比較して胎仔 側の細胞が肥大化しており、母体側の子宮内膜細胞との間に卵膜は存在しない(図 5D)。ヨ シキリザメの胎盤の電子顕微鏡観察を行った先行研究では、母体側の細胞と胎仔側の細胞 が直接的に接しており、それぞれの間で物質的なやり取りが行われている可能性があるこ とが報告されている(Otake and Mizue, 1985)。また、近縁種のヒラガシラ(*Rhizoprionodon taylori*)でも報告されているようにアルシアンブルーにより染色される分泌腺様の構造も観 察された(Buddle et al., 2021)(図 5E)。

このような胎盤の組織学的特徴は、さまざまな先行研究において報告されてきたが、どの ような分子メカニズムにより胎盤構造の種差が生み出されるのかという点についてはまっ たく明らかにされていない。哺乳類や爬虫類で見られる胎盤とは異なる遺伝子基盤で動い ていることが報告されているものの(Foster et al., 2022)、これらの軟骨魚類の胎盤がどのよ うな生理学的機能をもち、胎仔や母体にどのような影響を与えているのかという点につい てはほとんど明らかになっていない。今後、メジロザメ目に属する様々な有胎盤軟骨魚類の 全ゲノム配列情報やトランスクリプトーム解析データが蓄積されていくことで、この領域 に対して分子メカニズムレベルで切り込む研究報告が増えていくことを期待したい。



図5シロザメ胎盤とヨシキリザメ胎盤の組織学的観察

(A) シロザメ胎盤の組織切片の染色像。(B)シロザメ胎盤組織内に見られる卵黄嚢血管の拡大図。(C) ヨシキリザメ胎盤の組織切片の染色像。(D) ヨシキリザメ胎盤における卵 黄嚢表層細胞と子宮内膜細胞の接着面の拡大図。赤い点線で卵黄嚢表皮細胞と子宮内膜細胞の境界線を示す。子宮内膜細胞が楔形になっているのは二次的変形の可能性が疑われる。

(E) ヨシキリザメ胎盤の卵黄膜とチューブ状の分泌腺。全ての切片組織は 10% ホルマリン固定後にパラフィン包埋後に厚さ 8 μ m で切片化したのちに、ヘマトキシリン+エオシン+アルシアンブルー(HE+AB)によって染色した。uct;子宮結合組織、ys;卵黄嚢、yct;卵黄嚢結合組織、yep;卵黄嚢表皮細胞、uep;子宮内膜表皮細胞、tg;チューブ様分泌腺、v;血管、em;卵膜。スケールバー=500 μ m(A、E)、200 μ m(B、C)、100 μ m

謝辞

本研究は、申請者を学問的・精神的側面、および実験・解析の基盤となる技術的側面 で支えてくださった方々、そして環境や材料を提供してくださった方々のご協力の賜物 です。

まず、申請者を博士課程学生として受け入れてくださり、指導教官として学問的・技術的基礎から指導してくださった工樂樹洋チームリーダー(現・国立遺伝学研究所教授) には非常にお世話になりました。また、神戸大学理学研究科発生生物学連携講座にて博 士課程在籍最後の2年間、理研神戸キャンパスや神戸大学での研究環境を提供してくだ さった倉谷滋チームリーダーと井上邦夫教授に対して、心から感謝申し上げます。

さらに、理研神戸キャンパスの分子配列比較解析チームの皆様(門田満隆博士、西村 理博士、種子島千春氏、辰見香織氏)には RNA ライブラリ調整や in silico 解析をサポ ートしてくださいました。また、分子系統解析や発現データの作図など様々なバイオイ ンフォマティクス解析については、山口和晃博士に大変お世話になりました。ラブカ組 織のサンプリングについては、東海大学海洋科学博物館の山田一幸氏および東海大学の 堀江琢准教授、アクアマリンふくしまの山内信弥氏から、提供をしていただきました。 また、シロザメ組織のサンプリングについては、中谷雅昭氏と桝本泰雅氏から提供して いただきました。ヨシキリザメの胎盤は水産研究・教育機構国際水産資源研究所の仙波 靖子博士よりご提供いただいた。また、東京大学大気海洋研究所の海洋生命科学部門生 理学グループの兵藤晋教授ならびに同研究グループの下山紘也氏と有村省吾氏にはト ラザメの子宮と卵管組織の提供やトラザメ VLDLR レパートリの RT-PCR 実験のご協力 のみならず、本研究内容について様々なアドバイスをいただきました。また、佐藤圭一 博士や富田武照博士(ともに沖縄美ら海水族館)、黒田春也博士(元神戸大発生生物学 講座)には日ごろからの研究に関する議論のみに限らず大変お世話になりました。この 場を借りてお礼を申し上げます。誠にありがとうございました。

29

引用文献

Bainbridge, D.R.J., 2014. The evolution of pregnancy. Early Hum. Dev. 90, 741-745.

- Biscotti, M.A., Barucca, M., Carducci, F., Canapa, A., 2018. New Perspectives on the Evolutionary History of Vitellogenin Gene Family in Vertebrates. Genome Biol. Evol. 10, 2709–2715.
- Blackburn, D.G., 2015. Evolution of vertebrate viviparity and specializations for fetal nutrition: A quantitative and qualitative analysis. J. Morphol. 276, 961–990.
- Blum, M., Chang, H.-Y., Chuguransky, S., Grego, T., Kandasaamy, S., Mitchell, A., Nuka, G., Paysan-Lafosse, T., Qureshi, M., Raj, S., Richardson, L., Salazar, G.A., Williams, L., Bork, P., Bridge, A., Gough, J., Haft, D.H., Letunic, I., Marchler-Bauer, A., Mi, H., Natale, D.A., Necci, M., Orengo, C.A., Pandurangan, A.P., Rivoire, C., Sigrist, C.J.A., Sillitoe, I., Thanki, N., Thomas, P.D., Tosatto, S.C.E., Wu, C.H., Bateman, A., Finn, R.D., 2021. The InterPro protein families and domains database: 20 years on. Nucleic Acids Res. 49, D344–D354.
- Brawand, D., Wahli, W., Kaessmann, H., 2008. Loss of Egg Yolk Genes in Mammals and the Origin of Lactation and Placentation. PLoS Biol. 6, e63.
- Brodie, R., Roper, R.L., Upton, C., 2004. JDotter: a Java interface to multiple dotplots generated by dotter. Bioinformatics 20, 279–281.
- Buddle, A.L., Van Dyke, J.U., Thompson, M.B., Simpfendorfer, C.A., Murphy, C.R., Dowland, S.N., Whittington, C.M., 2021. Structure of the paraplacenta and the yolk sac placenta of the viviparous Australian sharpnose shark, Rhizoprionodon taylori. Placenta 108, 11–22.
- Buddle, A.L., Van Dyke, J.U., Thompson, M.B., Simpfendorfer, C.A., Whittington, C.M., 2019. Evolution of placentotrophy: using viviparous sharks as a model to understand vertebrate placental evolution. Mar. Freshw. Res. 70, 908.
- Bujo, H., Hermann, M., Kaderli, M.O., Jacobsen, L., Sugawara, S., Nimpf, J., Yamamoto, T., Schneider, W.J., 1994. Chicken oocyte growth is mediated by an eight ligand binding repeat member of the LDL receptor family. EMBO J. 13, 5165–5175.
- Capella-Gutierrez, S., Silla-Martinez, J.M., Gabaldon, T., 2009. trimAl: a tool for automated alignment trimming in large-scale phylogenetic analyses. Bioinformatics 25, 1972–1973.
- Carducci, F., Biscotti, M.A., Canapa, A., Barucca, M., 2021. The vitellogenin genes in Cynops orientalis : New insights on the evolution of the vtg gene family in amphibians. J. Exp. Zoolog. B Mol. Dev. Evol. jez.b.23067.
- Chana-Munoz, A., Jendroszek, A., Sønnichsen, M., Kristiansen, R., Jensen, J.K., Andreasen, P.A., Bendixen, C., Panitz, F., 2017. Multi-tissue RNA-seq and transcriptome characterisation of

the spiny dogfish shark (Squalus acanthias) provides a molecular tool for biological research and reveals new genes involved in osmoregulation. PLOS ONE 12, e0182756.

- Chen, J.-M., Cooper, D.N., Chuzhanova, N., Férec, C., Patrinos, G.P., 2007. Gene conversion: mechanisms, evolution and human disease. Nat. Rev. Genet. 8, 762–775.
- Corona, M., Velarde, R.A., Remolina, S., Moran-Lauter, A., Wang, Y., Hughes, K.A., Robinson, G.E., 2007. Vitellogenin, juvenile hormone, insulin signaling, and queen honey bee longevity. Proc. Natl. Acad. Sci. 104, 7128–7133.
- Darriba, D., Posada, D., Kozlov, A.M., Stamatakis, A., Morel, B., Flouri, T., 2020. ModelTest-NG: A New and Scalable Tool for the Selection of DNA and Protein Evolutionary Models. Mol. Biol. Evol. 37, 291–294.
- Daugherty, M.D., Zanders, S.E., 2019. Gene conversion generates evolutionary novelty that fuels genetic conflicts. Curr. Opin. Genet. Dev. 58–59, 49–54.
- Davenport, I.R., Weaver, A.L., Wourms, J.P., 2011. A novel set of structures within the elasmobranch, ovarian follicle. J. Morphol. 272, 557–565.
- Deeley, R., Mullinix, D., Wetekam, W., Kronenberg, H., Meyers, M., Eldridge, J., Goldberger, R., 1975. Vitellogenin synthesis in the avian liver. Vitellogenin is the precursor of the egg yolk phosphoproteins. J. Biol. Chem. 250, 9060–9066.
- Finn, R.N., Kristoffersen, B.A., 2007. Vertebrate Vitellogenin Gene Duplication in Relation to the "3R Hypothesis": Correlation to the Pelagic Egg and the Oceanic Radiation of Teleosts. PLOS ONE 2, e169.
- Foster, C.S.P., Van Dyke, J.U., Thompson, M.B., Smith, N.M.A., Simpfendorfer, C.A., Murphy, C.R., Whittington, C.M., 2022. Different Genes are Recruited During Convergent Evolution of Pregnancy and the Placenta. Mol. Biol. Evol. 39, msac077.
- Frankenberg, S., 2018. Pre-gastrula Development of Non-eutherian Mammals, in: Current Topics in Developmental Biology. Elsevier, pp. 237–266.
- Fujimori, C., Umatani, C., Chimura, M., Ijiri, S., Bando, H., Hyodo, S., Kanda, S., 2022. In vitro and in vivo gene transfer in the cloudy catshark *Scyliorhinus torazame*. Dev. Growth Differ.
- Furumitsu, K., Wyffels, J.T., Yamaguchi, A., 2019. Reproduction and embryonic development of the red stingray *Hemitrygon akajei* from Ariake Bay, Japan. Ichthyol. Res. 66, 419–436.
- Gilmore, Jr, R.G., Putz, O., Dodrill, J.W., 2005. Oophagy, Intrauterine Cannibalism and Reproductive Strategy in Lamnoid Sharks, in: Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. Science publishers, inc., pp. 435–462.
- Goh, R., Yoshida, E., Schaible, E., Behrens, R., Monnier, C.A., Killingsworth, B., Kong, K.W., Hiew, S.H., Miserez, A., Hoon, S., Waite, J.H., 2022. Nanolattice-Forming Hybrid Collagens in Protective Shark Egg Cases. Biomacromolecules 23, 2878–2890.
- Griffith, O.W., Wagner, G.P., 2017. The placenta as a model for understanding the origin and evolution

of vertebrate organs. Nat. Ecol. Evol. 1, 0072.

- Haas, B.J., Papanicolaou, A., Yassour, M., Grabherr, M., Blood, P.D., Bowden, J., Couger, M.B., Eccles, D., Li, B., Lieber, M., MacManes, M.D., Ott, M., Orvis, J., Pochet, N., Strozzi, F., Weeks, N., Westerman, R., William, T., Dewey, C.N., Henschel, R., LeDuc, R.D., Friedman, N., Regev, A., 2013. De novo transcript sequence reconstruction from RNA-seq using the Trinity platform for reference generation and analysis. Nat. Protoc. 8, 1494–1512.
- Hamlett, W.C., 1989. Evolution and morphogenesis of the placenta in sharks. J. Exp. Zool. 252, 35–52.
- Hamlett, W.C., Kormanik, G., Storrie, M., Stevens, B., Walker, T.I., 2005. Chondrichthyan Parity, Lecithotrophy and Matrotrophy, in: Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks, Batoids, and Chimaeras. Science publishers, inc., pp. 395–434.
- Hara, A., Hiramatsu, N., Fujita, T., 2016. Vitellogenesis and choriogenesis in fishes. Fish. Sci. 82, 187–202.
- Hara, Y., Yamaguchi, K., Onimaru, K., Kadota, M., Koyanagi, M., Keeley, S.D., Tatsumi, K., Tanaka,
 K., Motone, F., Kageyama, Y., Nozu, R., Adachi, N., Nishimura, O., Nakagawa, R.,
 Tanegashima, C., Kiyatake, I., Matsumoto, R., Murakumo, K., Nishida, K., Terakita, A.,
 Kuratani, S., Sato, K., Hyodo, S., Kuraku, S., 2018. Shark genomes provide insights into
 elasmobranch evolution and the origin of vertebrates. Nat. Ecol. Evol. 2, 1761–1771.
- Hemberger, M., Hanna, C.W., Dean, W., 2020. Mechanisms of early placental development in mouse and humans. Nat. Rev. Genet. 21, 27–43.
- Iida, A., Arai, H.N., Someya, Y., Inokuchi, M., Onuma, T.A., Yokoi, H., Suzuki, T., Hondo, E., Sano, K., 2019. Mother-to-embryo vitellogenin transport in a viviparous teleost Xenotoca eiseni. Proc. Natl. Acad. Sci. 116, 22359–22365.
- Iida, A., Nomura, J., Yoshida, J., Suzuki, T., Yokoi, H., Hondo, E., 2022. Endocytosis-mediated vitellogenin absorption and lipid metabolism in the hindgut-derived placenta of the viviparous teleost Xenotoca eiseni. Biochim. Biophys. Acta BBA - Mol. Cell Biol. Lipids 1867, 159183.
- Kaneko-Ishino, T., Ishino, F., 2010. Retrotransposon silencing by DNA methylation contributed to the evolution of placentation and genomic imprinting in mammals: Evolution of placenta and imprinting. Dev. Growth Differ. 52, 533–543.
- Katoh, K., Standley, D.M., 2013. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. Mol. Biol. Evol. 30, 772–780.
- Kina, T., Masuda, T., Asahina, K., Suzuki, M., 2021. Composition of uterine milk and its changes with gestational period in red stingrays (*Hemitrygon akajei*). J. Fish Biol. 99, 240–252.
- Kozlov, A.M., Darriba, D., Flouri, T., Morel, B., Stamatakis, A., 2019. RAxML-NG: a fast, scalable and user-friendly tool for maximum likelihood phylogenetic inference. Bioinformatics 35, 4453–4455.

- Kuraku, S., 2021. Shark and ray genomics for disentangling their morphological diversity and vertebrate evolution. Dev. Biol. 477, 262–272.
- Kuraku, S., Zmasek, C.M., Nishimura, O., Katoh, K., 2013. aLeaves facilitates on-demand exploration of metazoan gene family trees on MAFFT sequence alignment server with enhanced interactivity. Nucleic Acids Res. 41, W22–W28.
- Langmead, B., Salzberg, S.L., 2012. Fast gapped-read alignment with Bowtie 2. Nat. Methods 9, 357– 359.
- Lartillot, N., Lepage, T., Blanquart, S., 2009. PhyloBayes 3: a Bayesian software package for phylogenetic reconstruction and molecular dating. Bioinformatics 25, 2286–2288.
- Lavialle, C., Cornelis, G., Dupressoir, A., Esnault, C., Heidmann, O., Vernochet, C., Heidmann, T., 2013. Paleovirology of ' syncytins ', retroviral env genes exapted for a role in placentation. Philos. Trans. R. Soc. B Biol. Sci. 368, 20120507.
- Lewin, H.A., Robinson, G.E., Kress, W.J., Baker, W.J., Coddington, J., Crandall, K.A., Durbin, R., Edwards, S.V., Forest, F., Gilbert, M.T.P., Goldstein, M.M., Grigoriev, I.V., Hackett, K.J., Haussler, D., Jarvis, E.D., Johnson, W.E., Patrinos, A., Richards, S., Castilla-Rubio, J.C., van Sluys, M.-A., Soltis, P.S., Xu, X., Yang, H., Zhang, G., 2018. Earth BioGenome Project: Sequencing life for the future of life. Proc. Natl. Acad. Sci. 115, 4325–4333.
- Li, A., Sadasivam, M., Ding, J.L., 2003. Receptor-Ligand Interaction between Vitellogenin Receptor (VtgR) and Vitellogenin (Vtg), Implications on Low Density Lipoprotein Receptor and Apolipoprotein B/E. J. Biol. Chem. 278, 2799–2806.
- Li, B., Dewey, C.N., 2011. RSEM: accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. BMC Bioinfo. 12 (323), 16.
- Li, W., Godzik, A., 2006. Cd-hit: a fast program for clustering and comparing large sets of protein or nucleotide sequences. Bioinformatics 22, 1658–1659.
- Liu, Q.-H., Zhang, S.-C., Li, Z.-J., Gao, C.-R., 2009. Characterization of a pattern recognition molecule vitellogenin from carp (*Cyprinus carpio*). Immunobiology 214, 257–267.
- Lynch, V.J., Leclerc, R.D., May, G., Wagner, G.P., 2011. Transposon-mediated rewiring of gene regulatory networks contributed to the evolution of pregnancy in mammals. Nat. Genet. 43, 1154–1159.
- Lynch, V.J., Nnamani, M.C., Kapusta, A., Brayer, K., Plaza, S.L., Mazur, E.C., Emera, D., Sheikh, S.Z., Grützner, F., Bauersachs, S., Graf, A., Young, S.L., Lieb, J.D., DeMayo, F.J., Feschotte, C., Wagner, G.P., 2015. Ancient Transposable Elements Transformed the Uterine Regulatory Landscape and Transcriptome during the Evolution of Mammalian Pregnancy. Cell Rep. 10, 551–561.
- Manni, M., Berkeley, M.R., Seppey, M., Simão, F.A., Zdobnov, E.M., 2021. BUSCO Update: Novel and Streamlined Workflows along with Broader and Deeper Phylogenetic Coverage for

Scoring of Eukaryotic, Prokaryotic, and Viral Genomes. Mol. Biol. Evol. 38, 4647–4654.

- Marra, N.J., Stanhope, M.J., Jue, N.K., Wang, M., Sun, Q., Pavinski Bitar, P., Richards, V.P., Komissarov, A., Rayko, M., Kliver, S., Stanhope, B.J., Winkler, C., O'Brien, S.J., Antunes, A., Jorgensen, S., Shivji, M.S., 2019. White shark genome reveals ancient elasmobranch adaptations associated with wound healing and the maintenance of genome stability. Proc. Natl. Acad. Sci. 116, 4446–4455.
- Minh, B.Q., Schmidt, H.A., Chernomor, O., Schrempf, D., Woodhams, M.D., von Haeseler, A., Lanfear, R., 2020. IQ-TREE 2: New Models and Efficient Methods for Phylogenetic Inference in the Genomic Era. Mol. Biol. Evol. 37, 1530–1534.
- Morini, M., Lafont, A.G., Maugars, G., Baloche, S., Dufour, S., Asturiano, J.F., Pérez, L., 2020. Identification and stable expression of vitellogenin receptor through vitellogenesis in the European eel. Animal 14, 1213–1222.
- Mossman, H.W., 1937. Comparative morphogenesis of the fetal membranes and accessory uterine structures, Carnegie Institution Contributions to embryology. Carnegie Institution of Washington publicatio.
- Mull, C.G., Pennell, M.W., Yopak, K.E., Dulvy, N.K., 2022. Maternal investment evolves with larger body size and higher diversification rate in sharks and rays. bioRxiv 2022.01.05.475057.
- Musick, J.A., Ellis, J.K., 2005. Reproductive evolution of chondrichthyans., in: Reproductive Biology and Phylogeny of Chondrichthyes: Sharks Batoids, and Chimaeras. Science publishers, inc., pp. 45-79.
- Nishimura, O., Hara, Y., Kuraku, S., 2017. gVolante for standardizing completeness assessment of genome and transcriptome assemblies. Bioinformatics 33, 3635–3637.
- Nishimura, O., Rozewicki, J., Yamaguchi, K., Tatsumi, K., Ohishi, Y., Ohta, T., Yagura, M., Niwa, T., Tanegashima, C., Teramura, A., Hirase, S., Kawaguchi, A., Tan, M., D'Aniello, S., Castro, F., Machado, A., Koyanagi, M., Terakita, A., Misawa, R., Horie, M., Kawasaki, J., Asahida, T., Yamaguchi, A., Murakumo, K., Matsumoto, R., Irisarri, I., Miyamoto, N., Toyoda, A., Tanaka, S., Sakamoto, T., Semba, Y., Yamauchi, S., Yamada, K., Nishida, K., Kiyatake, I., Sato, K., Hyodo, S., Kadota, M., Uno, Y., Kuraku, S., 2022. Squalomix: shark and ray genome analysis consortium and its data sharing platform. F1000Research 11, 1077.
- Otake, T., Mizue, K., 1985. The Fine Structure of the Placenta of the Blue Shark, Prionace glauca. Jpn. J. Ichthyol. 32, 52–59.
- Pearce, J., Fraser, M.W., Sequeira, A.M.M., Kaur, P., 2021. State of Shark and Ray Genomics in an Era of Extinction. Front. Mar. Sci. 8, 744986.
- Penfold, L.M., Wyffels, J.T., 2019. Reproductive Science in Sharks and Rays, in: Comizzoli, P., Brown, J.L., Holt, W.V. (Eds.), Reproductive Sciences in Animal Conservation, Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer International Publishing, Cham, pp. 465–488.
- Rhie, A., McCarthy, S.A., Fedrigo, O., Damas, J., Formenti, G., Koren, S., Uliano-Silva, M., Chow, W., Fungtammasan, A., Kim, J., Lee, C., Ko, B.J., Chaisson, M., Gedman, G.L., Cantin, L.J., Thibaud-Nissen, F., Haggerty, L., Bista, I., Smith, M., Haase, B., Mountcastle, J., Winkler, S., Paez, S., Howard, J., Vernes, S.C., Lama, T.M., Grutzner, F., Warren, W.C., Balakrishnan, C.N., Burt, D., George, J.M., Biegler, M.T., Iorns, D., Digby, A., Eason, D., Robertson, B., Edwards, T., Wilkinson, M., Turner, G., Meyer, A., Kautt, A.F., Franchini, P., Detrich, H.W., Svardal, H., Wagner, M., Naylor, G.J.P., Pippel, M., Malinsky, M., Mooney, M., Simbirsky, M., Hannigan, B.T., Pesout, T., Houck, M., Misuraca, A., Kingan, S.B., Hall, R., Kronenberg, Z., Sović, I., Dunn, C., Ning, Z., Hastie, A., Lee, J., Selvaraj, S., Green, R.E., Putnam, N.H., Gut, I., Ghurye, J., Garrison, E., Sims, Y., Collins, J., Pelan, S., Torrance, J., Tracey, A., Wood, J., Dagnew, R.E., Guan, D., London, S.E., Clayton, D.F., Mello, C.V., Friedrich, S.R., Lovell, P.V., Osipova, E., Al-Ajli, F.O., Secomandi, S., Kim, H., Theofanopoulou, C., Hiller, M., Zhou, Y., Harris, R.S., Makova, K.D., Medvedev, P., Hoffman, J., Masterson, P., Clark, K., Martin, F., Howe, Kevin, Flicek, P., Walenz, B.P., Kwak, W., Clawson, H., Diekhans, M., Nassar, L., Paten, B., Kraus, R.H.S., Crawford, A.J., Gilbert, M.T.P., Zhang, G., Venkatesh, B., Murphy, R.W., Koepfli, K.-P., Shapiro, B., Johnson, W.E., Di Palma, F., Marques-Bonet, T., Teeling, E.C., Warnow, T., Graves, J.M., Ryder, O.A., Haussler, D., O'Brien, S.J., Korlach, J., Lewin, H.A., Howe, Kerstin, Myers, E.W., Durbin, R., Phillippy, A.M., Jarvis, E.D., 2021. Towards complete and error-free genome assemblies of all vertebrate species. Nature 592, 737-746.
- Rothchild, I., 2003. The Yolkless Egg and the Evolution of Eutherian Viviparity. Biol. Reprod. 68, 337–357.
- Salmela, H., Amdam, G.V., Freitak, D., 2015. Transfer of Immunity from Mother to Offspring Is Mediated via Egg-Yolk Protein Vitellogenin. PLOS Pathog. 11, e1005015.
- Sato, K., Nakamura, M., Tomita, T., Toda, M., Miyamoto, K., Nozu, R., 2016. How great white sharks nourish their embryos to a large size: evidence of lipid histotrophy in lamnoid shark reproduction. Biol. Open 5, 1211–1215.
- Shi, X., Zhang, S., Pang, Q., 2006. Vitellogenin is a novel player in defense reactions. Fish Shellfish Immunol. 20, 769–772.
- Slightom, L., Blechl, A.E., 1980. Human Fetal Gy- and Ay-Globin Genes: Complete Nucleotide Sequences Suggest That DNA Can Be Exchanged between These Duplicated Genes. Cell 21, 627–638.
- Sun, C., Zhang, S., 2015. Immune-Relevant and Antioxidant Activities of Vitellogenin and Yolk Proteins in Fish. Nutrients 7, 8818–8829.
- Tanaka, S., Shiobara, Y., Hioki, S., Abe, H., Nishi, G., Yano, K., Suzuki, K., 1990. The Reproductive Biology of the Frilled Shark, *Chlamydoselachus anguineus*, from Suruga Bay, Japan. Jpn. J. Ichthyol. 37, 273–291.

- Teshima, K., 1975. Studies on sharks-VIII. Placentation in *Mustelus griseus*. Jpn. J. Ichthyol. 22, 7– 12. https://doi.org/10.11369/jji1950.22.7
- Teshima, K., Kamei, Y., Toda, M., Uchida, S., 1995. Reproductive Mode of the Twny Nurse Shark Taken from the Yaeyama Islands, Okinawa, Japan with Comments on Individuals Lacking the second Dorsal Fin. Bull. Seikai Natl. Fish. Res. Inst. 1–12.
- Wang, H., Tan, J.T.T., Emelyanov, A., Korzh, V., Gong, Z., 2005. Hepatic and extrahepatic expression of vitellogenin genes in the zebrafish, *Danio rerio*. Gene 356, 91–100.
- Wourms, J.P., 1981. Viviparity: The Maternal-Fetal Relationship in Fishes. Am. Zool. 21, 473-515.
- Yamane, K., Yagai, T., Nishimiya, O., Sugawara, R., Amano, H., Fujita, T., Hiramatsu, N., Todo, T., Matsubara, T., Hara, A., 2013. Characterization of vitellogenin and its derived yolk proteins in cloudy catshark (*Scyliorhinus torazame*). Fish Physiol. Biochem. 39, 373–390.
- Yang, T., Williams, B.O., 2017. Low-Density Lipoprotein Receptor-Related Proteins in Skeletal Development and Disease. Physiol. Rev. 97, 1211–1228.
- Zhang, Y., Gao, H., Li, H., Guo, J., Ouyang, B., Wang, M., Xu, Q., Wang, Jiahao, Lv, M., Guo, X., Liu, Q., Wei, L., Ren, H., Xi, Y., Guo, Y., Ren, B., Pan, S., Liu, C., Ding, X., Xiang, H., Yu, Y., Song, Y., Meng, L., Liu, Shanshan, Wang, Jun, Jiang, Y., Shi, J., Liu, Shiping, Sabir, J.S.M., Sabir, M.J., Khan, M., Hajrah, N.H., Ming-Yuen Lee, S., Xu, X., Yang, H., Wang, Jian, Fan, G., Yang, N., Liu, X., 2020. The White-Spotted Bamboo Shark Genome Reveals Chromosome Rearrangements and Fast-Evolving Immune Genes of Cartilaginous Fish. iScience 23, 101754.

佐藤圭一, 2014. サメ・エイ類に見られる繁殖様式の多様性. 比較内分泌学 40, 79-82.

付録

A. 表(補足)

表 A1 RNA ライブラリー覧と RNA-seq で得られたリードデータ

| 生物種 | 組織 | ライブラリー | 利用 | トリミング前 | トリミング後 | ピーク | Acc. No. |
|------|------|-------------------|-----|-------------|-------------|-------|-----------|
| | | プレップキット | 目的 | のリードペア | のリードペア | インサート | |
| | | | | 数 | 数 | サイズ | |
| | | | | | | (bp) | |
| トラザメ | 卵管 | Illumina Stranded | Е | 37,029,467 | 35,785,290 | 291 | DRR400763 |
| | 子宮 | mRNA Prep | Е | 47,805,413 | 45,860,412 | 292 | DRR400764 |
| ラブカ | 終脳 | TruSeq Stranded | A/E | 28,085,764 | 27,548,139 | 284 | DRR400765 |
| | | mRNA Library | А | 28,754,065 | 28,153,740 | 277 | DRR400766 |
| | 小脳 | Prep | A/E | 28,595,309 | 28,051,936 | 296 | DRR400767 |
| | | | А | 29,397,372 | 28,949,636 | 293 | DRR400768 |
| | 延髄 | | A/E | 32,645,289 | 32,121,080 | 290 | DRR400769 |
| | | | А | 30,761,392 | 30,280,028 | 289 | DRR400770 |
| | 眼 | | A/E | 34,946,264 | 34,302,314 | 294 | DRR400771 |
| | | | А | 31,446,647 | 30,806,149 | 289 | DRR400772 |
| | 鰓 | | А | 31,519,047 | 30,992,892 | 290 | DRR400773 |
| | | | A/E | 31,156,721 | 30,647,321 | 294 | DRR400774 |
| | 心臓 | | A/E | 33,422,117 | 32,675,187 | 287 | DRR400775 |
| | | | А | 27,837,341 | 27,347,509 | 279 | DRR400776 |
| | 肝臓 | | A/E | 26,281,202 | 25,830,939 | 279 | DRR400777 |
| | | | А | 31,168,000 | 30,587,297 | 278 | DRR400778 |
| | 筋肉 | | A/E | 30,892,214 | 30,271,145 | 291 | DRR400779 |
| | | | А | 26,066,494 | 25,586,752 | 278 | DRR400780 |
| | 子宮 🕯 | | Е | 137,445,669 | 133,901,965 | 269 | DRR400781 |
| シロザメ | 肝臓 | Illumina Stranded | A/E | 35,904,094 | 34,414,812 | 297 | DRR400782 |
| | 子宮 | mRNA Prep | A/E | 33,340,361 | 31,968,755 | 296 | DRR400783 |

a ラブカの子宮はメス2よりそのほかの組織についてはメス1から取得した(2. 材料と方法を参照)。データ作成の目的は以下の略語で記載した。A: *de novo*トランスクリプトームアセンブリ、E: 組織ごとの発現比較

| | | 保存されたシングルコピー | | | | N50 7 Y |
|------|---------|--------------|----------|--------------|--------|----------------|
| 生物種 | コンティグ数 | タンパク質コード | オーソログ数 ª | | | N30 コン ティが트 |
| | | コンティグ数 | 完全一致の | 部分一致 | 土桧山 | (hn) |
| | | | み | 本快日 十完全一致 | | (op) |
| | | | 3,223 | 2 201 | 63 | |
| ラブカ | 884,087 | 96,931 | (96.09 % | (98.12 %) | (1.88% | 1,642 |
| | | |) | |) | |
| | | | 2,890 | 2052 | 302 | |
| シロザメ | 178,907 | 37,700 | (86.17 % | (91.00%) | (9.00% | 2,009 |
| | | |) | |) | |

表 A2 de novo トランスクリプトームアセンブリの結果

^a遺伝子網羅度の探索には、BUSCO v5 の脊椎動物コアオーソログを採用した(3,354 遺伝子)

| グループ | 図 3.2A 内の番 号 | 生物名 | 遺伝子名 | Accession ID | Data source |
|--------|--------------------|------------------|----------|----------------------|----------------|
| 硬骨脊椎 | 1 | タスマニアデビル | vtg1 | XP_031825161.1 | NCBI |
| 動物 | 2 | ニワトリ | vtg1 | NP_001004408.2 | NCBI |
| VTG1/C | 3 | ハコガメ | vtg1 | XP_039342136.1 | NCBI |
| | 4 | ムカシトカゲ | vtg1 | 付録配列 C2 | This study |
| | 5 | アシナシイモリ | vtg1 | XP_030063303.1 | NCBI |
| | 6 | インドネシア シーラカンス | vtgABI | CCG55372.1 | NCBI |
| | 7 | スポテッドガー | vtg3/C | XP_015211181.1 | NCBI |
| | 8 | ヨーロッパウナギ | vtg3/C | XP_035270553.1 | NCBI |
| 軟骨魚類 | 9 | ゾウギンザメ | vtg3 | XP_007885428.1 | NCBI |
| VTG1 | 10 | A. radiata | vtg1 | XP_032883733.1 | NCBI |
| | 11 | ラブカ | vtg1 | 付録配列 C1 | This Study |
| | 12 | トラザメ | vtg1 | 付録配列 C1 | This Study |
| | 13 | シロザメ | vtg1 | 付録配列 C1 | This Study |
| 硬骨脊椎 | 14 | タスマニアデビル | vtg2 | XP_023357473.2 | NCBI |
| 動物 | 15 | カモノハシ | vtg2 | XP_028919417.1 | NCBI |
| VTG2 | 16 | ニワトリ | vtg2 | NP_001026447.2 | NCBI |
| | 17 | ニワトリ | vtg3 | NP_001385236.1 | NCBI |
| | 18 | ハコガメ | vtg2 | XP_039342075.1 | NCBI |
| | 19 | ハコガメ | vtg2 | XP_039342603.1 | NCBI |
| | 20 | ムカシトカゲ | vtg2 | 付録配列 C2 | This study |
| | 21 | ムカシトカゲ | vtg3 | 付録配列 C2 | This study |
| | 22 | アシナシイモリ | vtgA2 | XP_030061631.1 | NCBI |
| | 23 | アシナシイモリ | vtgA2 | XP_030061650.1 | NCBI |
| | 24 | インドネシア | vtaADII | CCG55272 1 | NCPI |
| | 24 | シーラカンス | vigAbli | 00035373.1 | NCDI |
| | 25 | インドネシア シーラカンス | vtgABIII | CCG55374.1 | NCBI |
| | 26 | スポテッドガー | vtg | XP_015211994.1 | NCBI |
| | 27 | スポテッドガー | vtg | XP_015211416.1 | NCBI |
| | 28 | ヨーロッパウナギ | vtg2 | XP_035271712.1 | NCBI |
| | 29 | ヨーロッパウナギ | vtg | XP_035271713.1 | NCBI |
| | 30 | ゾウギンザメ | vtg | ENSCMIT00000018226.1 | Ensembl |

表 A3 分子系統解析に用いた VTG アミノ酸配列

| | 31 | ゾウギンザメ | vtg | ENSCMIT00000018289.1 | Ensembl |
|---------|----|------------|---------|-----------------------------|------------------------|
| | 32 | ゾウギンザメ | vtg | ENSCMIT000000018193.1 | Ensembl |
| | 33 | A. radiata | vtg2a-1 | XP_032883739.1 | NCBI |
| | 34 | A. radiata | vtg2a-2 | XP_032883740.1 | NCBI |
| あらみを | 35 | A. radiata | vtg2β | XP_032883741.1 | NCBI |
| ♥'F' 忠親 | 36 | ラブカ | vtg2a | 付録配列 C1 | This Study |
| VIG2 | 37 | ラブカ | vtg2β | 付録配列 C1 | This Study |
| | 38 | トラザメ | vtg2a | AEM05867.1 | NCBI |
| | 39 | トラザメ | vtg2β | 付録配列 C1 | This Study |
| | 40 | シロザメ | vtg2a | 付録配列 C1 | This Study |
| | 41 | シロザメ | vtg2β | 付録配列 C1 | This Study |
| | 42 | ウミヤツメ | vtg | XP_032820771.1 | NCBI |
| 円口類 | 42 | マクウナギ | | E. the 0022292 | Nishimura |
| VTG | 43 | スメリアモ | vig | Ерюш0025582 | et al. 2022 |
| | 44 | ヌタウナギ | vtg | ENSEBUG0000003292.1 | Ensembl |
| | 45 | クビナガギボシムシ | vtg | XP_006811255.1 | NCBI |
| 無脊椎動 | 46 | クビナガギボシムシ | vtg | XP_006812698.1 | NCBI |
| 物 VTG | 47 | ヒメギボシムシ | vtg | pfl_40v0_9_20150316_1g17040 | Simakov et al. 2015 |
| | 48 | ヒメギボシムシ | vtg | pfl_40v0_9_20150316_1g22904 | Simakov et al. 2015 |

| グループ | 図 3.4B 内 | 生物名 | 遺伝子名 | Accession No. | Data |
|-------|----------|------------|---------|----------------|------------------------|
| | の番号 | | | | source |
| VLDLR | 1 | ヒト | VLDLR | NP_003374.3 | NCBI |
| | 2 | ニワトリ | VLDLR | NP_990560.1 | NCBI |
| | 3 | ネッタイ | VLDLR | XP_002934223.1 | NCBI |
| | | ツメガエル | | | |
| | 4 | スポテッドガー | VLDLR | XP_015195729.1 | NCBI |
| | 5 | ゾウギンザメ | VLDLRc1 | XP_007890802.1 | NCBI |
| | 6 | ゾウギンザメ | VLDLRc2 | XP_042202743.1 | NCBI |
| | 7 | ゾウギンザメ | VLDLRc3 | XP_042202724.1 | NCBI |
| | 8 | A. radiata | VLDLRc1 | XP_032873693.1 | NCBI |
| | 9 | A. radiata | VLDLRc2 | XP_032874680.1 | NCBI |
| | 10 | A. radiata | VLDLRc3 | XP_032874679.1 | NCBI |
| | 11 | ジンベエザメ | VLDLRc1 | Rhity1003076 | Squalomix † |
| | 12 | ジンベエザメ | VLDLRc2 | Rhity1003075 | $Squalomix^{\dagger}$ |
| | 13 | ジンベエザメ | VLDLRc3 | Rhity1003074 | $Squalomix^{\dagger}$ |
| | 14 | シロザメ | VLDLRc1 | 付録配列 C1 | This study |
| | 15 | トラザメ | VLDLRc1 | Scyto0020726 | Squalomix [†] |
| | 16 | トラザメ | VLDLRc2 | Scyto0010396 | Squalomix [†] |
| | 17 | トラザメ | VLDLRc3 | Scyto0010397 | Squalomix [†] |
| | 18 | ラブカ | VLDLRc1 | 付録配列 C1 | This study |
| CD320 | - | ヒト | CD320 | NP_057663.1 | NCBI |
| | - | ネッタイ | CD320 | XP_002938609.3 | NCBI |
| | | ツメガエル | | | |
| | - | スポテッドガー | CD320 | XP_015220751.1 | NCBI |
| | - | ゾウギンザメ | CD320 | XP_007909401.1 | NCBI |
| | - | トラフザメ | CD320 | Stefa0023857 | Squalomix [†] |
| LRP8 | - | マウス | LRP8 | NP_444303.2 | NCBI |
| | - | ニワトリ | LRP8 | NP_990517.1 | NCBI |
| | - | ネッタイ | LRP8 | XP_004914072.1 | NCBI |
| | | ツメガエル | | | |
| | - | スポテッドガー | LRP8 | XP_015211098.1 | NCBI |
| | - | ジンベエザメ | LRP8 | Rhity1033667 | Squalomix [†] |
| | - | A. radiata | LRP8 | XP_032884011.1 | NCBI |
| LDLR | _ | ヒト | LDLR | NP_000518.1 | NCBI |

表 A4 分子系統解析に用いた VLDLR アミノ酸配列

| | - | リクガメ | LDLR | XP_024055786.2 | NCBI |
|--------------|---|---------|-------|--------------------------|------------------------|
| | - | ネッタイツメガ | LDLR | XP_002942891.1 | NCBI |
| | | エル | | | |
| | - | スポテッドガー | LDLR | XP_015204644.1 | NCBI |
| | - | ゾウギンザメ | LDLR | XP_042200596.1 | NCBI |
| | - | ジンベエザメ | LDLR | Rhity1033440 | $Squalomix^{\dagger}$ |
| | - | ラブカ | LDLR | 付録配列 C1 | This study |
| cyclostome | - | ウミヤツメ | VLDLR | XP_032826857.1 | NCBI |
| VLDLR | - | ウミヤツメ | VLDLR | XP_032822198.1 | NCBI |
| | - | ヌタウナギ | VLDLR | Eptbu0022314 | Squalomix [†] |
| | - | ヌタウナギ | VLDLR | Eptbu0034890 | Squalomix [†] |
| invertebrate | - | ナメクジウオ | VLDLR | XP_006824968.1 | NCBI |
| VLDLR | - | ヒメギボシムシ | VLDLR | pfl_40v0_9_20150316_1g85 | Simakov et |
| | | | | 64 | al. 2015 |
| | - | クビナガ | VLDLR | XP_006824968.1 | NCBI |
| | | ギボシムシ | | | |

[†]Squalomix については以下のウェブサイトにて公開されている配列データを用いた

(<u>https://transcriptome.riken.jp/squalomix/</u>) 。

| 生物種 | 情報タイプ | Accession ID | データの由来 |
|------------|---------------|-----------------|------------------------------------|
| シロザメ | transcriptome | - | This study |
| トラザメ | genome | GCA_003427355.1 | NCBI |
| ホホジロザメ | genome | GCF_017639515.1 | NCBI |
| ジンベエザメ | genome | GCF_021869965.1 | NCBI |
| トラフザメ | genome | GCF_022316705.1 | NCBI |
| イヌザメ | genome | GCA_003427335.1 | NCBI |
| アブラツノザメ | transcriptome | - | Chana-Munoz et al. 2017 |
| ラブカ | transcriptome | - | This study |
| アカエイ | genome | - | $\operatorname{Squalomix}^\dagger$ |
| A. radiata | genome | GCF_010909765.2 | NCBI |
| アカギンザメ | genome | GCA_012026655.1 | NCBI |
| ゾウギンザメ | genome | GCF_018977255.1 | NCBI |

表 A5 本研究で用いた軟骨魚類遺伝子配列データの引用元

[†]Squalomix については以下のウェブサイトにて公開されている配列データを用いた

(<u>https://transcriptome.riken.jp/squalomix/</u>) 。

B. アミノ酸配列アラインメントと分子系統樹







図 B2. SSX2IP 遺伝子と ADGRL4 遺伝子の分子系統樹

(A) SSX2IP 遺伝子とその近縁種の分子系統樹。JTT+I+G4 モデルに基づき 417 座位のアミノ 酸アラインメントをもとに推定した最尤系統樹。(B) ADGRL4 遺伝子とその近縁種の分子系統 樹。LG+I+G4 モデルに基づき、471 座位のアミノ酸アラインメントをもとに推定した最尤系統 樹。両樹のノードにおける支持値は、それぞれ最尤法によるブートストラップ値、ベイズ推定に よる事後確率を順に示している。



図 B3. 軟骨魚類 12 種を含めた VTG アミノ酸配列の分子系統樹

JTT+F+I+G4 モデルを利用して、928 座位のアミノ酸配列のアラインメントを用いて推定した最尤系統樹。ノードにおける支持値は、それぞれ最尤法によるブートストラップ値(右) とベイズ法による事後確率(左)として示す。



0.1 substitutions/site

図 B4. 軟骨魚類 12 種を含めた VLDLR アミノ酸配列の分子系統樹

JTT+I+G4 モデルに基づいて 1,835 座位のアミノ酸配列のアラインメントを用いて推定した 最尤系統樹。ノードにおける支持値は、それぞれ最尤法とベイズ法に基づくブートストラッ プ値(右)と事後確率(左)に示す。



図 B5. トラザメオス(成体)における VTG および VLDLR 遺伝子の発現プロファイル

すでに先行研究で公開されている生体トラザメからサンプリングした発現プロファイル (Hara et al. 2018)。発現レベルは log₁₀ (TPM+1) で示した。なお、発現レベルの色付けのグ ラデーションは図 3.4A のトラザメメス (成体) で作成したものに基づく。RNA-seq データ による発現レベルの定量方法に関する詳細は「2. 材料と方法」を参照とする。



0.1 substitutions/site

図 B6A.条鰭類 VTG2 の分子系統樹と遺伝子変換の痕跡

(A) LG+I+G4 モデルに基づいて 1,301 座位のアミノ酸配列のアラインメントを用いて推定 した最尤系統樹。ノードにおける支持値は、それぞれ最尤法とベイズ法に基づくブートスト ラップ値と事後確率を順に示す。各ノード上にプロットされた白い円は、遺伝子変換が疑わ れる痕跡を示す。



図 B6B,C. 条鰭類 VTG2 の分子系統樹と遺伝子変換の痕跡

(B) ダンゴウオとトラフグでの VTG2 遺伝子周辺の配置。(C) ダンゴウオとトラフグにおける VTG2 パラログ間の塩基配列の保存性。ドットマトリックスは JDotter (Brodie et al., 2004)を利用して出力した。

C. アラインメントおよび PCR の際にプライマー作成のために用いた配列

C1. 本研究で取得された cDNA 配列

> トラザメ VTG1

ATGATGAGGGGCATCATTTTTGCACTGGCGTTCGCTCTTGTGGGAAGCCAACAATATGAGCCTTCTTTCAGCCACGGCA TAACCAGCAAAGTGCAAATTGGTTCAGTCGGTCAGAGGAAACATCTACTCAAGATTATCTCAACCTCAAAATTCAAGAGTA CAGCGGGATTTGGCCAAATGCTCAATTCATCCCAGCTCGGAAGCTAACTCGAAAGCTGAACGCACAACTGAGCAAGCC TATTGAGTTTGACTACAGCCATGGCCGAGTGGGAAATATATACGCCCAGGCAGACCTGCCAGAAAATATCCTCAACATC TACAGGGGCATCCTGAATATGTTGCAGATCAGTATTAAAAAGTCGCAGAATATTTACGAGTTGCAAGAGAATGGAGTGG AAGGCATCTGCCACGCAAGCTATGTAATTCAGGAAAAACAAGAAGAGTGGGATTGTCACAGTCACAAAATCCAAGGATC TGAACAAGTGCCAGGAGAAAATCTTCGAGAACCAGAGTTCAGCTTATACTCAGCTCTGTGAAACCTGCCAGCTGAAA GGTAAGAACCTGCGGAGTGTCTCCACCTACTCATATGCTATCAGAAATACGGAAGGCGAGGCAGTGATTATCGAAGTCG TAAGTAAAGAGACACATCAATTCACACCATTTAATGAACTTGATGGTGCGGCCATCACAGAGTCCAGGCAGCACCTCGT CTTCTTGGAAAGCAAAGAGCAGTCGCCACCCGTGCCAACCGAGCACCTGGCGAAGCGGGGAACTCTGCGGTATCAGT TTTCCAATGAACTGCAGCAGATGCCCATGCAGTTGACCAGACCTTCGAATAACGACACTAATAAGATTGCCACAGCTTT GGAAAACCTGATTCAAATGAACCAAGAGAGGGCTCATCCCGACGCTCCGCGGAGATTCCTGCAGCTCATTCAACTCCT GCGTTCGGCAACTTTGGAAAAACCTTCAAAGCATTTGGGAAAAGAATGCACGCGCATTGGATCACAGGCGCTGGATATG GGATACTTTGCCGACCGCAGCAACCCCTGAAGCAATTCAGTTCATCCAGACCAAAATTGAGGAGGAGGAGAACTCAGGA ACGGGGAAGCAGCCAAGGCCTTGATTTTTGTGCTACATTCCATCAACGCCGACTGCCATGGTGTGGATAATGCAACGGT AAATACTGTGCCACACTCCGGGTTTGCCCCGATGAAGCTCTCCGGCCACTCCACGAGCTCGTTGTTGAAGCTGGCAGC AGAGGCCATGAAGATGAAACTATCCTCGGCCTCAAAGCCATCGGCAATGCAGGACAGCCGTCCAGTCTGAAGCGCATC CAGAAACTCCTGCCGGGGTTTGGCACAGTCGCCGGCAGCGTCTCGAACAGGATCCACATTGAGGCCGTGCTGGCATTA CGCAACATCGCCAAGAAGGAGCCACGGAAGGTGCAAGCCATCACCCTTCAGATATTCATGAACAAACGGGCCCCTGGT AGCTTACGGATGAAAGCCTTCATCGTCTTGCTGGAAACCCCAGCCATCCTTGCCTTTAATTGTAATAGTTGCTGACACACT GTCCAGAGAGACCAACATACAAGTGACCAGTTTCGCTTATTCCTACATGAAGTCTCTAGCGGGATCCTCGGAACCAGA ACTCCAGTCGCTGGCTGCTAGTTGCAATATCGCCATCAAACGTTTGAACCAAAAGTGCGACGCGCTCGGTTATCGGTAC AGCAAAGGCTTCCATTTTGGAACGTTTAAAGATAAGCTTTTAGCTGGAATCAATGCCAATGTTTACCTCATAAAGAGGT CAGAGGGCATTCTGCCAACGACAGCCATCACCAACATCCACCTTTATGGCCTTGGAGTCTCCTCGGATTTTCTGGAGAT CGGTATCCATATAGAGGGAGAATGGAGAAAAAATCAGCCCCACCAGAGGGGGCCGAGGAATGAACGTATAGCGAGGA AGGTGCCTGGATGGAAATCCATACCCACAACTAAGCCACTCGCAGTCGCCTGGATCAAGTTGTTTGGTCAAGAACTTG TCATGCTTCAGAATGGAGTAACAATGCACTGGACTAAACCCTTGCTGGCATCCGAGATTCGGCACATTGTGCCAACATC GCTTGGCCTGCCAATGGAGATGGCGTTTTATTACACCGTCGTTTCAGCAGCACAGGCCAAAGTGAAGTTCACTCTACGC

TCTTCCAATTTGACCATGGTTCAACTCCTGAATACCAGCATTGAGACTGATGTCCAGTTCACCTCAAGCTCAGTCAAAG ATGTTATTGCCGTTATGGGAATAAACACACCTCTGATTCAGACAGGAGTAGAAGTGCAGTTGAAAACGAGCGCCGTTAT CCCTGTGAACTTCACCGCAAGAGTAAACTTGAAGAAGAGCAATGTCAAAATTGAAAGACTCCCATGGCAACAGGAAG ATCAGCTGTTTTCGGCTAGGTCTCGGGCATTTGCATTCGCAAGAAATATTGAAGATTTGGCTGCAGAGAAAGTCACTCC ACTGCTATCGAGAGAAGAGTTTCGATTAATGAACAGTGAATTGAGTTTAGTGAAGAATTCAACATTGGATCACCAGGAT GCGATGGAGAAAGTGTTGCCTCTTGCTATACCACGGGGATCTGTGTGCTCTGCTGAAGATACACCAGACGTACCAAGC CCAACAGTCCACCAGGCTTGTACAAGCTCCAACACATTCGGAGGTCGAGGTTTGTTACAAGACAAGTATGGAAAAACACC GCTTTCACCACTGACTCTCCACTGTACAAAATGGTTGGAGATAAATCGATTGAAGTCACAATCAAACCAGTTACCACAT CGATTGCAATCAAAAAGTTACAAGTCGAATTCCAGTTGCACAGAGGCAATCAAATCAGTGCCGGTGTTCATCACTTGAT GAGGAAGAGTAATGGGAGTGACTCAGCTTTCTCAGAACCCACACCGCTCGACGGCAAATTAGCCCTTCTGAAATTGAA GAAACTCTTTTCTGGAAATGCTCGGCATCAGGATAGGCAAGAACACAGATATACCATGGGCAGCTCGACATCAAGTTCC CAGAAACGTTCCAGTACCAAGGACCAGAGAAATTGGGCATGGGAGTGACCATAAGAATGCTAAACGCAATCAGCGGG ATCAGCGTAACAAGCACGAGCAACCTACGTCATCAGGGTTGTTATCTTCAACTCAAAGGGTGAGCATTATAGGCG TCCTCAGCAAGGGTTGTCGAAGTCAATGACTCATCATTCGATCTCCTCCAGCTCACCATCAGCACAATTAAGGGAAGAA TATGGTTCGCATCCTCAAAACAGAAGGTTAAGAACAAAGACTCGTCATTCGATCTCCTCCAGCTCGTCATCAGCACAGT CAAGGGAAGAGGATGGTGCACGTTACCGTGAAGGATCATCAAGGAAAGTCGGTAACTATCGATTCTCCAGCAGTTCAT CTTCAGCTCAGTCAAGGCGCAAGAAAGGAACCACCCAGTCATCTCATCTCCGCAGCAGCGTCGAAAAGTGTAATGAC AGCAACTGCAGGGACAAACACCTCGGCAAACCTGCCTACAGGCCCTCGGTCAGAAACGACACCTTGCCTTCAACTGC ATCAAGCTCATCATCTTCGAGTGAATCTAGCTCCAGCCGCTCATCGTCACAGCAGCCAAAACATCGGCGCAGCCAACA CTCCGGGCAACAGAGATCTGGCTCTTCGTCAAGAGTTGAAGCTTCCAGTAGTTCCATGTCTTGGCACCACAGGACGAT AAACATAGGGCCATCCACAAAGCATCGCACCAGCACCAGAACATGTAAAAACGGTAAATGTATCCACAAGTATACCAA ATCACGTTCAACCACTATTCGCCGATATGAATCAGACCGCAGTACCTGGATCTTCAACTCAAAATCAGCAGAATGGGAA GGAGCCAATGCAAACATCTTCCAGCTTCGTTTCAAGCCATCTGAAAGTAGCCTGTCAGAAAACAAAGGTCGATTAAGC TACGAGTCATCATCTGAACCCAGTTCGAGGTCCAGAATGAGTTTCTCCAGCTCATCTTCGTCTTCATCTTCGTCACAGCA GTCCTTGTCCCTTGCAGACTCAGTGCCACCACTATTCTCATTGCTAACCCGAGCCATCACGGTGGATAACAAGGAGAAA GGTTACCAGACAAAGGCCTACATAGACAATTCAATGGAGCAGCGAGCAGTACAACTATTTGTGGACGAACTTCAAGAA GGAGGCAGCTGGAGAGCCTGTATTGGTGCTGAGATGCCCAATGTGCACAGAGCAGTGGCATTATTGAAATGGGGGAAA AATTGCCAAGATTACAAGATTGGAGCAAAGGCAACTACTGGTCACTTTCAGCATCATCCTGCGGTACTGGTCAAAGCA CAATGGGACAAGATACCTCAAACCCTAAAGGAAACGGCAGCAATTGTGGCTGACCAGTTGGCAGGGATCGCCTTCATG CTGGGATTCTCGGAGAGACATCAGAAGAGTGCTGCTCACCAGATTTCAGTGATTGCTGCCGCAACGTCTCAACGCACA CTTGATGTTGTCGTGAAAACCCCCCAAGCATGTATTTAGTCGGCAATCGATTCAAATCCCAGCACCATTACCTTTTAATGT AAACTCTCCCTCAGTGCAGCAAAGAGGATTACTTGTCTTTGCGGATTTACCTGACATCATTTCAGCAACATCCACAGCC GAATGCACAGTTGTGCAAAAACCAATTCACCCCATTTACCAAGGATAGCTTTGAGTACCAAATGCCTGAAGGGTGTGCTC ATGTGTTGGTCCAAGACTGTACACCTGAACTGCAGTTCATCACCACTAATAAGACGCAGTGCAGAATCGCTGGTTGTACA

>トラザメ VTG2β

ATGAGGGCTATCATATTCATGTTGATTGTATCCCTTGTGGGCAGTCAAAAGTTTAAGTATGAACCCAGTTTTACCGAAGG CATGATGAATGTTTACACGTACGAAGGTATTATTCTAACTGGACTGCCAGAGAGTGGCTTAAACAGAGCTGGTGTGAGA ATTAATTGTGGAGTGAATATTGTTCCATTGGGGCAGAACACGTACCTTCTTAAGGTCACGCACCCTCAGATTCAGGAGT CCGTGAAATTTGAGTACAACAAGGGCCAAGTGGGAAAGATCCAAGCCCCAGCAGACTTACTGGAAGATATCCTGAAC ATCCACAGAGGAATCCTCAACATTTTTCAAATCACCATGAAGAAGTCACAAAAATTTCTATGGGTTGCAAGAGGTTGGAA TTGAAGGTATTTGCCTCACAAATTACATTGTTCAGGAACACAAGAAAGCTCAACGGATTACGATCACCAAATCAAAAG GAAGTAGAAATATACGGGCATCTGCTACTTCCACCCTTGTCCTGAAACCTACCGCAACTGGGGCAATTCTTCAGGAAGC CAAGGTTCGAGAAGTGCATCAGTTTACACCATTCCATGAACGTGAGGGAGCCGCCATATTGGAAGCAAGGCAACACCT CACGCTGGTTGCTATCAAGGCTGCAGTAATACGCGAACTGCAACTTGAGTCTGTGGAACGAGGAACATTGAAATATCA CTTTGACAAGAAAATACTGCACAGACCAATAAAATTAATGAAACCCCAGAATGTGGAAAAAGTGATTCTGGAGACCCT GAAAAACTTGGAATTGCACAACCAGGAGAAGGTCCATGCTGACACACCCCGCTAAATTTCTGCAGCTTGTACAACTTCT TCGCTCCACAACAGATGAGACCATTGCTTCCGTATGGAGACATTCCGACAGCAGCCAGTTACGGCGCTGGATTCTGTTT GCACTTCCTGCTGTCGGAACTACTGGCGCACTGAGATTTCTCAAAAATCAAAATTCAAAATTTGGACATCACCATGGTTG ACGCAGCTCAGGCGTTAGGCGTTGCAATGCACCAAACCACAGCCAACCTTCAAAGCCTATTGATGGTCAGAGACCTAT TTCAAATGCATCAGGTGCAGCAGTTCTCAATTCTTCGCCAGATCGTTCACCTTGGATATGGCTCTATGCTTTTCAGATACT GTGCAGCGCAGGCCGCATGTCCTGATACTCTGCTGAAGCCACTCCACGACTTGCTGACTGCAGCTACTGCTCAGGCTA TATTACCTGGATTCGGCACGGCAGCTGCCAGTATCCCACTGAAACTCCAGGTTGATGCGCTCATGTCGCTGCGCAACAT TGCAAAGAAAGACCCAGCAAAGGTACAAGCCATCACTATTCAGGTCTTCATGAATCGACGGAATCACCCTGAATTACG AGCCCAGTTTGCAGGTGGCAAGCTTTGCTTATTCGCAATTCAGATCGCTTGCAAGGAGCTCACTCCCATCCCTCAGTTC TTTGGCGGCTGGCTGCAGTATAGCTGCGAAACTCTTAAGTCCCAGATTTGACCAGCTTGGCTTACGATTCAGCCAAGTA

TTTCACCCTGACATTTTTAGCTACAAGCTGATGTCGGGACTATCTGCCAAAACCATCATAATGAACAATGTTGGGAGCCT CATCCCGACATTAGCAGCAGCCAGAGTGAGATGTCACACGTTGGGATCTGCCGCCAATCTTGCCGAGGTTGGATTCCG AATGGAAGGTCTCCAGGAGGTCATGACGAAAAGTCGTGCAGGAGTCAGACGAGTTCCTGATATGAGACAAATTCATCG TATTTTAAATGGGTTCCCAGACTGGAAATCCTTGCCAGAAAAAGTACCGCTAGCTTCAGCGTACATGAAACTACTTGAT CAAGAGATAGCTTTTGTGGAGTTCCGGAAGGACGATATTCGCAAAGCCATTCAATCAGTGACTGATACACACGGGAAA CTCAGCACTTTGAGAAAGATACTCAACCGGCTCCAGAAACCAATTGAAATGCATCCTGCGGCAGCATTACTGACAGCT ATCTCAACATTGATGCGAAAGTCCCTTCCTCCATCTCTTTCTCAATTGCTCAATGCCAACATCCAGCTGAAGGTT CAGATAAGCCCAAGTGTGGCTGTATACAGCAAAGCTATCATGGGAATAAATTCGCTCATCATCCAATCTGGTTTGGAATT CGAGGTAAAAATCCACTCCGCTTTCCCGATGGATATATCTGCAAATATAAATCTTCATGAAAGGAATTTGAAGATTGACA GTCCAGCACCTCAGGAGGAGAATCGAATTATATCTTTCACGTCAGAGGTTCTCGCTGTTTCAAGAAATATTGAGAATCT GTCTGCAGAGAAATTGACTCCAGTTGTGCCTGAAGCAAAGGAACCGAGCATTGCAAATCAAAAATTCAAGTCATCCGG ACATAGTCAAACAAATCCAGATCTTTGTTCAAGAATCATAACAGATGAAGCTGAATGTTATGATGAAGCACAGAATCCC GCACCAAGGCCCTCTGTGGCTAACATTTGTACGAGGATGACTACCTTTGGCTTTGACCTGTGCCTGGATGCAAAGTCGG CAGATGCTGTTTTCATTCGTCATGGACCACTGCATAGATTGATGGGAGCGCACACTGCCAAAGTTTCAATCAGGCCAGT CCTGGACATAGAGGAACCACTACCTGAGAGAATCCGTAGCCATACCGGCCTGTTCAAAGAATATCGCTCACAGACCGG AATGAAAAACCAGACTTGGGCCAGCAGCTCCTCGTCCAGTTCGATTTCCAAAAGCTATTCAAGAAGCAGGGCTACCGC TCAAAGGCCTTCATTATCGAGTGGCCGATCAAACAAGCGACACCACAACGTTGACCAGAAGCAAGATCAACCGGGTG GGATTTCCAGAAAGCGAAAACGACAGCACAAAACACCCTCGCAGTTCCAGCTCCAGCAGATACATGTTTCCCGACAGC ACTCGGGGAATAATCCAACAACTCATGGATATGGAGTTCAAATCAGCCGGAAGCAGTGAGACGACTCACAGGGGGAA ACCAGCCAGGAACAAGCCACACTCCAGACTAAGACACAGACATGGTAGCTCGAGCAGTAGACAATCTTCTGAACAGC GTGATCTCATCAGGGACATTGGTACTCCCTCACTCATCGTTCTTGCTCGGGCTAGAAGGTCTGATGGAATACAGCAAGG CAGCATATGGAAAATGTGTGTGGATGCTGCTGTCCCTAAGCCACACAAAGCAATGATAATGTACAGATGGGGTGAAAA CTGCCAGACGTATAAGATGTCTTTTAAAGCATCGATGGGACATCTCGCAAATCACCCAGCTTTGAAAATTCGAACTAGG TGGTCGGAAATTCCTCGTGCGATGATAACCGGCGGAAGGATGATAGGATCTGGAGCTGCTTATCTGTTAGGATTTTCCA GTAGCTTTGAAGGTAACCCTTATCAGCAGATAACGCAGCTGATAGCACTAACATCACCCCGGACCATTGATACAATTGTT AAACTACCCAGGTTTACTATCATTATCAAGGCTTCGAGCTCCCTTTGCCAGTCCGCGTCCAAACAATGGCTCCAATCAT ACGGAAACGCGGATTCAAAGGCATCACTGAAGTTGCACGTCTGCTTCTGACCATCAACCAGCGGGAATGTATTGCTGA GAGTGAGCGAGTTGTTACATTCGATAGCAATGAACTGAAATATAAAATTGTTAATGATTGCCACTACGTCCTCACCAAA GATTGCTCACCAACTCCAAAGTTTGTTCTACTGATGCGACGTGCGAAGGATCAGCTGAGAAAGAGGGCAATCAAGCTG CTGATATCAGTGCCCAATATCGTAATTGAAGCATATCCTACAACAGATGGAATAAAACTCTTGGTGGATAACGTTGAAAC CACTCTGAGTAAACAAGGAAATGTTATCCAAAATCTTGTAACGATCCAACAGAATGGGACTGGAATTACTTTAGAAGCA CCCTCAATCAATATTGACCAATTGTCCTTTGACGGAGACAGAATACAGATTGTACTTGATCAGATGAGAAGACATG TGGTATTTGTGGACATAATAATGGTGAGCGTAAAATGATGAAACCAAATCAAGAGGAAGCCAGAGATGTTGAGGATCTT

TTTGAATCATGGACATATCCAGGGCAAACCTGCACAGATGATTGCAAAGTTAGACAAAATTTTGTGGAACTAGGAAAA ACTGTCAACGTTGAAGGGCAGGAATCCAGATGTTACTCAGTTGAACCAGTTCAACGGTGCCTGGAAGGGTGTTCACCC ATTGAAACACTCTCGCGCATTGTCAATTTCCACTGTGTACCAGCCAATCAACCTGTGGATGCAGCCGTCATATTCAGTTC CCGAAAGAAGTCTGTGGATACGAGTCACCCTGTGGATTCTCACACGGACTGTTTGTGTCGCTGTACAGAAATATGA

>ラブカ VTG1

ATGAGGGGGATTATTTTTGCACTGGCCTTTGTCCTCGTGGGGAGCCAACAAGTGCACCACGAGCCTGTTTTCAGTCAA AGGAAGACATACATTTACCAGTATGAAGGGATCATTCTGACCGGCCTTCCAGAAGATGGCTTGGCTAAGGGAGGTCTTA AGATAACCAGCAAAGTGCAAATTAGTTCAATGGGGCAGCAGCAGCACCACCTCCTTAAGATGATCTCACCTCAAATTCAAG AGTACAGCGGGATTTGGCCAGACAATCAATTTATTCCAGCTCGGAAGCTGACTCGGAAGCTGAGCGTGCAACTGAACA AACCTATAAAGTTTGAATACAGCCATGGCCGGGTTGGAAACATTTACGCCCCTCCAGACCTATCCGAGAATATTCTCAA CATCTACAGAGGCATTCTGAACATCCTGCAGATCAGTATTAAAAAGGCGCAGGATATTTATGAGTTGCAAGAGAATGGG GTGGAAGGCATCTGTCACGCAAGCTATGTAATTCAGGAAGATAAGAAGGCCGGACGCATCACTATCACAAAATCCAAG AAGGCAAGAACCTGCGGAGTGTTTCCACTTACACTTATGCCATGAAAAGTACAGAAGACGGGGCCGAGATTTCCGAAG TCATAGGCCAGGAAACACATCAGTTCACCCCGTTTAATGAACTTGATGGTGCCGCCAGTACAGAGTCAAGGCAGCATC TTTTCTTGTTGGAACTCAAAAATCAGTCGCCATCCATGCCATCTGAGCCCATGGAGAAGCGGGGGGACTCTGAGATATCA ATTTTCCAATGAATTATTGCAGATGCCAATGCACTTAGTCAAGACCTCACATAATGATACTCAGATTGCCGAAGTACTGG TTGAAGCAGCTCAGGCTTTGGTTTTTGTATTATATTCCATCAAAGCCGACTGCCATGGTGTGGATAATGCTACGATGCTTTTGTCCAGCCCTTACATGCAGAGAATGCCCTTCCTTCGCAGAATTACGTTGCTCGCTTACGGATCGTTGATCCAAAGGTA ${\tt TTGCATGACTCTCCGGACTTGCCCTGACGAAGCTCTCCAGCCACTCCACGAGCTCATCGTTGAAGCCAGGAGCAGATC}$ AACTCCTGCCGGGATTTGGAAATGGCGCCAGCGGCATCCCGAGCAGAATCCAAGGGGAGGCCGTGATGGCCTTGTGC AACATCGCTAAGAAGGAGCCGCGCAAGGTGCAAGGCATCACCATACAGTTACTTATGGACAAAAGGATCCATGCCGAA CCAGAGAGTCCAATTTACACTTGACCAGCTTCGTTTATTCCTACATGAAATCTCTAGCAGGAACCTCGCTGCCCGATCTC CAGTCACTGGCCGCTACCTGCAACATCGCAGTCAAACGATTGAATCAAAGGTGCGACAGGCTCAGTTATCGGTACAGC AAAGGCCTGCATTTCGGCGCGTTTAAAGATAAGTTTTTGGCTGGGATCGATGCCAACTTTTACTTAATAAAGAGGTCAG AGGGTATTCTCCCGACTGCAGCCGTGGCCAATTTGAAGGTTTATGGCCTTGGAGTCTCCACAGATTTTCTGGAGATCGG TATCCAAGCAGAAGGACTGCAACAGGCCTTGTGGAGAAACAGTCCACCCTACAGGAGAGGATCGAGGAACAACAGCT CTCAACGCATTATGGGGAAGGTGTCTGGATGGAAACCAATGCCCACAATTAAGCCCTTGGCGATCGCCTACATCAAGTTGTTTGGTCAAGAGCTTGCTTTTGTCGAACTTAACCAGAATGATATTCAAGAGGCTGTAAAGTTAATGAACAACCAAGCA

AGAAAGGACGGACTAATAAAGAAATTCATAAACCAGCTACAGCGTGGAATCACAACACAATTGACCAAACCCTTGCTG GCAACCGAGATTCGGCACATTGTGCCAACAGCACTCGGCCTGCCAATGGAGCTGGCGTTTTACTATACTGTCGTCTCAG CAGCTGCAGTACAGGCCAAAAGTGCGGTTCACACCAGTCCCTTCCGATTTTACACTACCTCAGCTCCTGAATACCAGCAT TCAGCTTGATGCTCAGCTCACCCCAAGTTCAGTCAAAGATGTTATAGCCGTCATGGGAATAAACACGCCTTTGATTCAG ACAGGAGTGGAAGTGCAGTTGAAAACAAGCACTGTCATCCCTGTGAACTTTACTGCGAGACTAAACTTGAAGAATAGC AACGTCAAAATTGAAACCACCCCATGGCAACAGGAGTATAAGCTGTTCTCTGCTAGGTCACGGGCTTTTGCCTTCTCAA AAAGAATTCATCGGCAGACCACGAGCAAGTGATGGAGAGAGTGTTGCCTCTTACCATACCACGGGGATCTGTGTGCTC TGCTGAAGATACACCAGACATATCAAGCCCAACCGTCTACCAGGCTTGCGCGAAGGCCAACACGTTCGGATTTGAAGT TTGTTACAAAACCATTACAGAAAACATTGCCTTCGCCACCGACTCCCCGTTGTACAAAGTGTTTAGAGAGAAATCAATT GAAGTCGCAATCAAACCAGTTATTACACCAATCGCAATCAAAAAGTTACAACTAGAACTCCAGGCGCAAACAGGGGAC CAATTCATTGCAAAAGCAAGTCGCTTGATGAAGAAGAAGAGTGACAGGATTGACACAGAAACAACAACAGCCTGAGGGTAA ATTAGTCCTTCTGAAAATTGAACAAAACTCTTTCGTGCAAAAGATGAGCATCAGGCTAAAAGAGAACACAGATATACCATG AGCAGCTCAGCATCAAGCAGAAGGTCAACAGATTTCACCAGACAATCTGATGAAAATAAGAAAAGAGCACCACGAGCAC TCGGCATCAATATGCACCAAAAAGCAGAGAGAGAGAGAGGGGGGATCATGGTAATCGTGGCAAGCACGGTCCTAATCAGGA ACTGGACATGGGCTATTTAGCTCTTCAGCGAGAGCTGGCACCTCCAGCAGCTCATCATCTTGGCAGCGCAAGACAGTA AATAAATGGCCATCCACAAAGCATCGCACCAGCATCAGCGAAACATGTAAAAATGGCAAATGTACCCTCAAATATAGCA AATCAAACTCAACCATTATGCATAGATCTGAGCTGGAAATTAGTCCCTGGGCCACCGACCCAAAATCAACAGAACAGG GAGCAACCAATGCAAACATCTTCCAGCTTAATTTCAAGCCATCTTATGTTGACCTGTCACAAAACAAAGGGCAATTAAG CTTTGAGTTATCATCTGAATCCAGTTCGGAGTCCAGAATCAGATTCTCCAGCTCATCTTCATCTTCATCGCAGCAGTCCT GGCGTACATGGACAGCTTAATGGAGCAGCAAGCAGTGCAACTGTTTGTGGATGAACTTGAAGAAGGAGGCAGCTGGA GAGCTTGTGTTGACGCTGAGATGCCCAATGTGCACAGAGCAGTGGCAGTATTGAAATGGGGCAGAGATTGCCGAGACT ACAAGATTGCAGCAAAAGCAACTACTGGTCATTTTGAGCATCATCCCGCCTTACTGGTCAAAGCACAGTGGGACAAGA TACCTCAATCCCTAAAAGAAACTGCAGAAGCGGTGGCTGACGAGCTAGCAGGGGTTGCCATCATGTTAGGGTTCTCCG AAAGGCATCAGAAAAGTCCTGCTCATCGGCTTTGGGTGATTGCGTCTGCAACATCTCAACGGACGCTCGATGTTGTGG TTAAAACTCCAAAGCATATATTCAGTCGCCGAGCCCTTCTCATCCCAGCACCATTACCTTTTGATGTAAGCTCCCCCTCA GTGCAACAAAGAGGATTACATGTCCTTACTGATTTACCTGCCATGATTTCAGTAACATCCACAGCTGAGTGCACAGTTG TGCAAAACAAATTCACCCCATTTAGTGAGAACAGTTTTGAGTACCAAATGCCTGAAGACTGTGCCCACGTATTAGTCCA AGACTGTACACCTGAACTGAAGTTCATAACACTGATAAGACGCAGTGCAGAATCGCTGTGTGTAGAGCTGAGTCTGCC TTTCAGGATAGAAATCAATTCTACAATGATAGGAAACCTCCAACTGTTCATCAACGGAAGCAAGACGTCATTGGCAAGC CTTCCATCCTTGACCATTGAGAGAAGTGACAATGGGCTGATAATAAAAGCACCTCACGTCGGCCTTGAAAAGCTTTACT TCCCAGGGGAGAAATGAGTATCAACAACCAAATAGACGCAACACCAAGGAGATTCTCAAATTTGCGACCTCGTGGTTA CTGCCAGGGGAAAACTGCAAAGACACTTGTAAACTGACGAAAAGAACTGTGAAACTAGAGAAACCGGTTAGCTTACA

CGGACAGGAATCCAAATGCTACTCAGTTGAACCAGTTTTACGCTGTCAGTTTATATGTTCACCAATCGAAACGGTCTCA GTTGCCTATGGCTTCCACTGCCTTACAGCCGATT

>ラブカ VTG2α

ATGAGGGCAATTATCTTCTTGTTGACTCTCGCCTTTGCGGAGAGTGAACATGACAAAAGATATGAACCCAGCTTCTCTG AAGGCAAGATGTATATTTACAAGTATGAAGGCGTGGTTCAGACTGGGATGCCGGAAAGAGGCTTGAACAGCGCTGGAG TGAAAATAAGCTCCAAAGTGATAATCAAGGCAGTAGGACAACTGCAGCACATTCTTCAAATTGAAGATCCTCAGGTTC AAGAGCTCAATGGAATTTATCAAAAAGGCCGGTTCTCTACAGCCCATAAGCTGACAGAAAGACTGGCCCCGCAACTTA CCAAACCCGTGAAGTTTGAGTACAACAAAGGCCGAGTGGGAAGTATTCAGGCTCCTGCGAACTTGCCTGAAGATGTCC TGAACATCCACAGAGGAATCCTGAACGCTTTACAAATCACCATCAAGAAGTCGCAAAATTTCTACGATTTACAAGAGG GCCAAAGACCTGACCAACTGTCAGGACAAGTTCGTGAAGCACACTGGTATGGCCTACAGCCAAATCTGCCCTCTCT CAGCAGAGAGGCAAGAATATACGTGCGTCTGCTACTTACACCTATGTCCTAAAACCTACAGCAGCTGGTGCAGTCCTTC AGGGAGCCACGGTTCGAGAGGTGCATCAGGCTACACCATTCCATGAACTCGACGGAGTTATTAAGGTGGAGGCAAGAC AAATCCTTATCCTGCAGCAGGTCACAACGGCATCGGCTAGTGTAGTAGCGGACTTGCAGAGTCGTGGAGACTTGCAAT ACCGTAGTGATCGCAGCGTACTCCAGCATCCATTCAGGCTGATAAAGGACCAAAGTGTCATCACCCAGATAAAAGATAC CTTGAATCACATGGCCCAGCACAACGTGCAGGATATTCATGCTGATGCTCCATATAAATTCTTGCAACTTGTCCAACTTC TCCGTTTTGTTCAATACAAAGCTTTCTCAGACATTTGGAGACAGGTTGAAAAAACAACCCCGAACAGAGGCGTTGGTTCC TTGAGGCACTTCCTGCTGTAGCAACATATGACTCCCTGAGATTCCTCAAGAGCAAAATTGAAGAGGATCTCATCAACCG ATCCTTGATCTTACGCAAGTAAAACAATGCCAGTTTCTTCGCAGAGCTGCACACCTTGCATATGGTTCTCTGGTTTTCAA ACACTGTGCAGATAAGTCAACTTGCCCCGACGATATACTGAAGCCACTCCATGACTTGCTCGCCGAGGCTAGCAGTCG GCCCAACAGTAAGGACATTGTTCTCGGCCTCAAAGCGATCGGCAATGCAGGGCAACCATCGAGCATCAAGGCTATCAC GAAAATGATACCTGGATTTGGAATGATGGCTTCAAGTTTCCCACTGAAAGTCCGAGTTGATGCTATCATGGCACTGATTA ACATTGCAAAGAAAGACTCGCGCAATGTGCAACGAATCACTATGCAGATATTCTTCAATAAAAAGAATCAGCCTGAAG AACGAATGATGGCTTGTGAGGTACTGTTTGCTACCAAACCACCTTTGACCTTGGTAGCCGCAGTGGCTAATTCACTGTT ACAAGAGACCAGTTTGCAGGTGGCAAGTTTTACCTATACGTACTTGAGAACTCTGTCCAGAAGTTCACTTCCATCCCTC AATTCGCTAGCTGCCTGCAATCTAGCCCTGAATTTCTTGAGTGTCAAACTTGACCAGCTTGGTTACCGATTCAGCA TTCGGGCAGAAGGTCTCCAGGAAGTTATAATGAAAGTTCGTGCACCAAGCATTAGAAGAGCTGAGAGTAAAACTATAC GACAGATCTTAAGTAAGATTATAAATTGGAAAGACTTGCCAGAAGAGGAACCTTTGGCTTCAGCGTACATCAAACTGTT GATGCGACAACTCACACCTACAACAGTTGGTCTGCCAATGGAACTGGGCATCGTTTCATCTGCTCTAGCAGCGTCCAA

AGGAAACATTGAAGCCAGCTTCAAAACCCCCCATTTTAAAATTTCCTGAGTTGTTAAATTCCAGGATTCAGTTGAAGGCC CCATACAAATGTCCGTTTAACTATTCCTGTGGATGTAACTGCAAAGGTCACTTTAAAAGAGGGAAATTTGAAGATCGAC AGTGCACCAGCTGAACAAGAGCACAGGATCCTATCTATGACTTCCCAGGTTTATGCTGTTTCAAGAAATGTCGAGAATT TGTCTGCAGAAAAAATGACCCCGATTTTACCTCTGACACGAAAGTCACATTACAAGACAAAACTTTCAGTCTTCATC CACGTCAGCTAGGGCAGCAGACGAGGGAATTGCTGCACATTCAGGCATGCTGCATGACCAAATTCTGAGCTCTGAAGA CCAACAAAGGTCACGTGTCCCCAGTCGCTTGGCCTATCACACGTGTGTGCAAGCAGCTAAACTCGGGTTCCAAGCTTG CCTGGACGCCAAAATGGAAAATGCTCTCTCCTTCAAACATTGCCCATTGTACCAGTTGATTGGAGAGCATGTTTTAAAT TCGAAGATGGTCCGACTCACAGACAAAGAGTCAAAGACGGAGAGAATTCATGAAGACATGCGTCAAGGTGGAGTGAA CCAAATCCTGAAGAAATCATCACAGACTAAACCAAACAATAATACTTGGATCGGCGGCTACTCGTCCAGTTCAAGCGC GTATCAAGACTCAGGTAGGCCGTTCACCTCTCGAAGCTTTTCATCCTCAAGTGACCGGTCACACTCTCATCCGAAAAGA GGTGATGAGGAAGGCCAACGACAGAGAATAAGAGGAAACAGATACAGTGGTAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCA AACGTTATGAATTTTGAGTTCGAGTCAGCCGAAACAAGTCAGTACACAGTCAGAAAGCAGAACAGAACAAAGCAGTAC CTCCATGTCAAGAGACACTTCAAAATTTATCATCAAGGAAAAACATATCTCTGGGTCAAAGGAAAGGCGCATCAGCCG AATCTAAAAGGACTGATGACAGACTGCAAGGCTATCAGCTCACTGGATATGGGAAGATTTCATCTCAACTGCCTAGGGT GCACTTGCGTTTGGTGGAACTGGACAGAAAAAGCAATTGGAGAATCTGTGCTGATGCGGCAATGCCCAGCTCACACA AATTATTGGCCTTAGCGAGATGGGGTGAAAAACTGCGAGAACTACAGGGCTTCCGTTAAGGTATCAAATGGTCAGCTTGC AAGCCACCCAGCCCTTAAGGTCAAAATCCAATGGTCCAAGATTCCTGAGTATCTGAAATATAATGCAAGATTCATTTGC AACTATATACCAGGATTGGCCTACAGCTTAGGATTTTCTCAAATGTACCAACGTAATCCTTCTCATCAGATTACAGCATTG GTGGCTGTAACAACTCCACGAACCATCGATGCAATCTTCAAACTGCCCAAGATGACAGCCTATTATCAGGGTTTGCAGA TCACCACAGAACTGCCCTTCCATGAAATAGGTGCACAATTGCAGGAAAGAGGTTTCGGCTGCATGACATTCCGG TCCTGTTTCTGACAATGAACCAACGTGAGTGTATTGCAGAAAATGAAATTGTTACGTCGTTTGACGGGGGTACAGTTAAA ATATCGGCTACCTAACGATTGCTACCACATCCTCACCCAAGATTGTTCACAAGTTCCAAAGTTTATGTTATTGATGAAAAC GCGCTGAAATCGATAAGACAAAGAAGGCAATAAAATTGCTGCTGTCCTTGAATAATATAAGCATTGAAGCAATGCCTAC GCAAAGTGGAATAAGACTGTTAGTTAATGGTGTAGAAAGACCTCTGGACCAGCAAATTCCAAGTCTAAGTGATATTGTA AGTGCAGATCGTACTTGACCAGATGATGAGTAAGACATGTGGTATTTGTGGACTTAATAACGGTGAGAGAAAAATGATG ATGCCAAATCAAGAGGAAGCCGGGAATGTTGAGGGTCTTTTCCAATCATGGATACGTTCAGGGAAATCCTGCAAAGAT GACTGCAAAGTTGGACAACAATTTGTGGAACTAGGAAAGGTTACTGAAGTTGACGGGGTGCAAACCAAATGCTACTC AGTTGAACCAGTTCAACGGTGCCTAGCAGAATGTTCACCAATTGAAACAGTCTCTTTAAACGTCGATTTCCACTGTGTA CCAAGGGATTCCATAGTGTCTGACCTTACATTGTTCAATAAGAAGTCTACGGACATCAGACGGCAAGTGGATTCCCATA GTGATTGTTTGTGCAGGTGTACTGAAGCATAA

>ラブカ VTG2β

ATGAGGGGAATCATTTTCATGTTGATTGTATCCCTTGTGGGTAGTCAAAAGTTAAAGTATGAACCCAGTTTCACCGAAG GCATGATGCATGTTTACACGTATGAAGGTATTATTCTGACTGGACTTCCAGAAAGTGGTTTAAACAGAGCTGGTGTGAG TACAATGGCATTTGGCCGAGGGAACCCTTCACCTCAGCACGTAAGCTGACGCAGAAACTGGCTCCAGAGCTGACGAA GCCCGTGAAATTTGAATACAATAATGGCCGAGTCGGAAATATTTACGCCTCTGCAGACTTGCCTGGAGATATTTTGAAC ATCCACAGAGGCATTCTCAACATTTTTCAAATCAATATGAAAAAGTCGCAAAATTTCTACGAGTTGCAAGAGGCTGGAA TTGAAGGTGTTTGCCTCACAAATTACATCATTCAGGAAAACAAGAAAGCCAACCGAATTACGGTCACCAAGTCGAAAG GAGGCAGGAATATACGTGCGTCTGCTACTTACACCTACGTCCTAAAACCTACAGCAGTTGGTGCAATTCTTCAGAGAGC CACGGTTCGAGAAGTGCATCAGTTTACACCATTCCATGAACTTGACGGAACTGCTATAATGGAGGCAAGACAAAACCT CGTTCTGGTTAATACCAAGGCTGCAGTAATACATCTGTTGCAAGTTCAGTTTGTGGAACGAGGAACTTTGAAATATCAC TGTGACGAGGATTTATTTCGGAAACCGATACAATTAATGAAACACCAAAACGTGGAAAAGGCGATAATTGAAACCCTG AAAAACTTGGCACTGCACAAACCTGGAGAAAATCCATTCCAACGCCCCAGCTAAATTTCTGCAGCTTGTCCACCTTCTTC GTTCAGCACCAGATGAAACCATTGCTAACCTGTGGGCAAATGACAACAGAAACCAGTTCAGGCGCTGGATTATGTTTG CACTTCCTGCTGTAGGAACAACTGGTGCGCTGAGATTTCTCAAAACCAAAATTCAGCAGATTGAAGTCACAAAGGCTG AGGCAGCTCGGGCTTTAGTAGTCGCAATGCATCAAATCACAGCTGACCTTCAAAGCCTATCGGTAGTCAGAGAACTACT CGTTATTGCTCACGTGCAACAGTTCTCCGTCCTTCGCCAGATTGTTTACCTTGGATACGGCTCTATGGTTTTCAGATACT GTGCAGGGCAGTCATCTTGCCCCAGTGGTATACTTAAGCCGCTCCATGACATGCTCACTGAGGCTACTGCTCAGGCCAA TGAGGAGGACGTCGTTCTCAGCCTTAAAGCGATCGGTAATGCTGGGCAGCGAGAGAGCATCAAGCGGATTATTAAACT GTTACCTGGATTTGGGACAGCGGCTGAGCGCCTTCCACTGAAAATCCAAGTTGATGCTCTAATGGCGCTGCGTAACATT ATAAGGAAAGAGCCAGGAAAGGTACAAGCCATCACTATAAAGTTATTATGAATCGAAGGAATCATCCTGAATTACGAA ACCAGTTTGCAAGTGGCAAGCTTTGCCTATTCACAGTTCAGATCTCTTGCGAGAAGTTCACTCCCATCTCTCAATTCCCT GGCTGCTGGCTGCAATGTAGCGGCGAAACTCTTGAGTCCCAGCTTTGACAAACTTGGTTTCCAATTCAGCCGGGTTTTT CATCCTGACCTCTTTAACTATAAGCTGATGGCAGGAGCATCTGCCAAAGTCATTCTAATTAACAATGCTGGCAGCCTCAT CCCAACAGTAGCAGCAGCCAAACTCATGGGCCACGCTCTGGGAGCTTCCGCAGATCTTGTCGAGGTTGGCTTGCGAGAT GGAAGGTCTCCAGGAGGTCATAATGAAAAGCCGTGTATTAGCCAGGGGAGTTCCTGATATGAAACAAATTCAACGGAT TATGAATATGTTTCCAGATGGGAAATCCTTGCCAGAAAAAGTACCTCTCGCTTCAGCATACATGAAGCTATTTGGCCAAG TACATTGAGGAAACTTGTCGACCGGCTCCGAAAACCGGTCGAATTGCGCCCTGACGGCGCATTACTGACGGTGGAGTT GAGGCGACTTGTACCTACGTGCCTGGGGCCTGCCCATGGAACTGTCCTTGCATTCCGCTGCAGTCGCAAGGGCCACGCT CAATGTCGCAGCAAAACGTCCCTTCTTCCATCTCTAACCTTTCTCAGTTGCTCAATGCCAACATTCAGCTGAAGTATCAGA ACACCGTCTCAAGAGGAGTGTCAGATAATATCTTTGAAAATCTGAAGTGTTTGTCGTTTCAAGAAATATTGAGAAATTGG

CAGCAGCAAAATTGACACCGATTTTACCTGACATAAAAGAAGCTAGAATTACAAGTCAAAAATTCGTGTCACCGTGGC ACAATCAGAAAAATGCACAGCTTTATTCAGGAATAGGAGCAGATGGAGCTGAAGGCCCTCAAGGACCACAGCTGCGA ACACCACGGCCCTCTGTGTATAACACTTGTATGAGAACGACTAAATTTGGGTTTGAGGTTTGCCTGGATGCAAAAATGG AAAATGCTATTTCGTTCGACATAGTCCACTGTACAGGCTGATCGGAGTTCACACTGCCAAAGTATTAATCAGACCAGG TTCGGCTTCTGGAGGAAGAGGAACTCCTACATGAAAGAATTGATGGTCGTTTAGTTCTGACAAAAGAATCCCGTTCAC AGACTGGAAAGCAAAACCACACTTGGACCAGAAGCTCCTCATTCAGTTCCAGTTCCAGAAGTTCCTCGGGAAGCAAG GTCACCTCTCGAAGATCTTCATCTTCAAGTGACCAATCGCTCAGCAGAGTTTACGAGAACGAAGACCGACAGGGTCGG GTGTGCAGAAAGAAATTGAGAAAACAACTGCACAAGTCAAGACTCTAGCTCTAGCATGTCATCCGCCAGTACATGGGCA GTGATCTCATTGGAGACATAGATACTCCTGCACTCATCCTTGCTCAATCCAGAAGGACTGACGGCAAGCAGCAAGG CTATCAGGTCACTGGGTCTGTGGAAAGTTCAGGGGGGCAGGCCTAAAATTCACCTGCGCGCCGTCGAGCTGGCAGAAG ACAGCAGGTGGAAAATGTGTGTTGATGCTGCCATCCCTAAAGCACACAAAGCGATGATAATGTACAGGTGGGGTGAAA ACTGTCAGAGGTATAAGATGTCTTTTAAAGCATCGATGGGATATCTTGCAAATCACCCGGCTATGAAAATTAAAGCTGAG TGGTCCCAGATTCCTGATGCGATGATGTCCGCTGCAATAACGATTGGGCCAGGAGTTGCCTTTCTATTGGGATTTTCTAA CAGATTGAAAAGTAATCCTTCTCATCAGATTACAACATTGGTCGCTCTAACATCTCCATGGACTATCGATACAATCGTTA AACTGCCCAGGTTTACAATCTATTATCAAGGCTTCGAACTCCCTTTGCCAGTGCTCGTTCATGCAGTAGCCCCAATAGTA CAGGCACGAGGATTCGAAAGCGTTGCTGAGATTCCAGAACTGTTTCTGACAATGAACCAACGGGAGTGTATTGCAGAA AACGAGCGAGTTGTCACATTTGACAGCAACGAGTTAAAATATAAAGTACCTAATGATTGCCACTACGTTCTGACCAAAG ATTGTTCACCTACTCCAAAATTTGTTTTATTGATCAGACGCGTGGATAATCAGCAGACAAAGAAGGCAATAAAGCTACT CATGTCAGTGCCCAATATCACCGTTGAAGCATATCCTACACAGGATGGAATAAAACTCTTGGTTGACAATGTAGAAACC ACTCTGAGTAATCAAGCAAAAGTGATACAAAATATTGTAACTTTTCGGCATAATGGCACTGGAATTACTTTAGAAGCTCC GGTATTTGTGGACTTAATAACGGTGAGAGAAAAATGATGATGCCAATCAGAGGAGCCAAAGATGTTGAGGGCCTCTTC CAATCGTGGATACGTTCAGGGAAATCCTGCAAAGGTGATCGCCCCGTGTATAGAACTCCCAGATTCGTAAGAAGCCTGT CGACATGA

>シロザメ VTG1

ATGGTGAGGGGGATCATTTTTGCACTGGCCTTCGCTCTTGTGGGGAGCCAGCAATATGAGCCTTCTTTCAGTCAAGGCA AGACCTACATCTACCAGTACGAAGGAATCGTTCTGACTGGCCTACCCGAAAATGGCTTGGCTAAGGGAGGTCTCAAAA TAACCAGCAAAGTTCAGATTAGTTTAATTGATCAGAGGAAGCATCTCCTGAAGATCATCTCACCTCAAATTCAAGAGTA CAGCGGGATATGGCCAAATGCTCAATATTTCCCAGCTCGGAAGCTGACTCGGAAGCTGAACGCACAGCTGAGCAAGCC CGTCGAGTTCGAATACAGCCGTGGCCGAGTGGGGGAACCTATACGCCGATCCAGACCTGTCTGAAAACATCCTCAACAT CCACCGAGGCATCCTGAATATGCTGCAGATCAGTATCAAAAAGTCGCAGAATATTTATGAGTTGCAAGAGAATGGGGTG GAAGGAATCTGCCACACGAGCTATGTAATTCAGGAAAACAAGAAGAGTGGAATTGTTACTATCACAAAATCCAAAGCAT CTGAACAAGTGCCAGGAGAAAATCTCAGAGAACCAGGGTTCTGCTTATACTCAGCTATGTGAAACCTGCCAGCTGAAA GGTAAGAATCTGCGGAGTCTCTCCACCTACTCGTACGCTATCAAACTTATAGAAAATGAGGCGGTGATTATCGAAGTGG TCAGTAAAGAGACACCACCAGTTCACACCATTCAATGAACTTGATGGCGCGGCCAACACGGAATCCAGGCAACACTTTG TCTTCTTGGAGAGCAAAAGTCAGTCGTCACCAAATCCAACCGAGCATCTGGATAGGCGGGGAACCCTGAAATACCAGT TTTCCAATGAACTGCTGCAGATCCCAATGCAACTGATCAGACCTTCAAATAATGACACTAATAAGATTGTCACAACATTG GAAAATCTGGTTCGGATGAACCGAGAGAGGGGCTCACCCTGACGCTCCGCAGAAGTTCCTGCAGCTCATTCAGCTCCTA CGCTCAGCAACTTTGGAAAACCTTCAAAGCATTTGGGAAACCAGTGCACCCACATTAGATCACAGGCGCTGGATATGG GATACCTTACCGACTGCAGCAACCCCGGAAGCAATTCAATTCATCCAAGCTAAAGTTGAACAGGGCGACCTCACGCAG CCGGAAGCGGCCAAGGTTCTGATTTTGTGTTACATTCCATCAAAGCCGACTGCCACGGTGTGGATAATGCAACGGTCC ATATTGCACGACTCTTCAAGTTTGCCCCGAAGAAGCTCTCCGGCCGCTCCACGAACTCGTTGTTGAGGCCGGGAGCCA AGAAACTCCTGCCGGGGTTTGGCACTATGGCCAGCAGCGTTTCCAGCCGAGTCCACGGGGAGGCGGTGATGGCCTTGC GTAACATCGTCAAGAAGGAGCCACGCAAGGTGCAAGCCATTACCGTTCAGTTATTCATGAACAAAAGGCTCCCCGCTG AATTACGAATGAAAGCTTTTGTCGTCCTGCTGGAAAGCAGGCCATCTTTAGCTCTGATCGCAACAGTTGCCAACTCGCT GGTCAGCGAGGCCGACTTACAAGTGACCGGTTTTGCGTATTCCTACATGAAGTCTCTGGCAGCATCTTCGGTACCAGAA CTCCAGCCACTGGCTGCCAGTTGCAACATTGCCGTCAAACATTTGAACCAAATGTGCAACGCGCTCAGTTATCGGTACA AGAGGGTATTCTACCAACCACCGCCATAGCCAACTTCCATCTTTATGGCCTTGGAGTCTCTTCGGATTTCCTAGAGATCG GCATCCAAGCAGAGGGACAGTGGAGCAAAAGTCAGTCCTATCTGAGGGGACCGAGGAGTGAACGTCTAATAAGGAAG GTGCCTGGGTGGAAATCAATACCAATGATTAAGCCCTTCACAGTCGCCTACATCAAGTTGTTTGGTCAGGAATTATCTTT GGCCTGCCAATGGAGATGGCGTTTTATTACACTGTCGTTTCAGCAGTACAGGCCAAAGTGAAGCTTACTCTCGGTTCTT CCAACTTTACAATGGATCAGCTCCTGAACACCAGCATTCAGAGCGAATTTCAGTTCACCTCAAGTTCGGTCAAAGATGT TATTGCTATTATGGGGGATAAACACCCCTCTGATTCAGACAGGAATTGAAGTGCAGTTGAAGACAAGTACCGTGCTACCT ATGAACTTCACGGCAAGAGCAAACTTGAAGAAGGGAAACATCAAAATTGAAAACACCCCCTTGGCAACAGGGAGATCA GCTGTTCTCTGCTAGGTCACGAGCTTTTGCATTCGTAAGAAATATTGAAGATTTGTCTGCAGAGAAAGTCACTCCACTG CTATCAAGAGATGGGTTTCGATTAATGAACAGAGAATTGAGTTTAGCAAAGAATTCAACAATGGATCAAAAGGGAGTG AAGGTCCAGCAGGCTTGTGCAAGCTCCAACACATTCGGAGTCGAAATTTGTTACATGGCCAGTGTGGAAAGCGCCGTC TTTGCCAGTGACTCCCCACTGTACAAAATGGTTGGAGATAAATCAATTGAAGTCACAATCAAACCAGTTTCCACACCAG TTGCAATCAAGAAGTCACAAATCGAATTGCAGTTGCACGGAGGGGAGCAAATCAGTGCAAGAGTTCGTCACTTGGTG AGGAAGAGTAATGTGACAGACACGGATTTCTCAAACACATCTCACGAAGGCAAATTAGCCCTTCTGAGAATGAAGAAA ACCTATCCTAAAGATGGTCAGCATCAGGAAAGGCCGGAACACAAATATACCATGAGCAACGTGGCATCAAATTCCCAG GCATTGGGTAGGAGGTCAACAAGCGTCACCAGAGAGTCAAGCAAAAATAAGAGAGATCACATGAAGAACAAGCACG

GAGGTTCACCCATACCAGAGACCAGAGACACTGGGCACAGGGCTCAACACAGGTCTGATAAACGCAATAGGCAGGAT GAACGCAACAAGCACGAGCAACCTATGTCCTCAAGATTATTATCTTCAACTCAGTCAAAGGACAAGCATTATAGGCACA CTCAGCGTGGATCATCAAAGCCCAATGACTCATCATCAACCTCCTCTAGTTCATCTTCAGCTCAGTCAAGAGAGGAATA TGGTTCATATCCTCAGAATAGAAGATTAAGACCAAAGGTTCATCAGTCATCACAGTCAAGGAAAGACATTGGTGCA CTCGGCAAACCTGCCGCCCGGCACTCGATCAGAAACACCTCCTTGTCTTCAACTGCCTCCATTAGCCGGTCCAGGTCCC ATTCATCCTCAGCCCAGTTGCATGCCAAGTTTGGTGAAAGTGCTGAGCATGCGTCATCAAGCGCATCATCTTCGAGTGA ATCAAGCTCTGGCCGCTCATCGTCGGAGCAGTCCAAACGTCGACGCAGCAAACACTCTAGACAACAGCAGTCTAGCTC TTCATCAATGGTTGACACTTCCAGTAGTTCCATGTTTTGGAACCACAGGACCGTAAATACAAGGCCATCCACAAAGCAT CACACCAGCACCAGAAAATGTAAAAATGGTAAATGTATCTACGAGCATGCCAAATCACGCTCAACCACCATACACAAC GTTTCGCTTCAAGCCATCTGAAATTAGCCTGTCACAAAACAGAGGTCGATTCAGCTTTGAGTCATCATCTGAATCCAGT TCGGGATCCAGAATGAGTTTCTCTAGCTCATCTTCATCCTCATCTTCGTCAAAGCAGTCCTTGTCCCTCGAAGA CTCTGTGTCACCAATATTCTCGATACTAACCCGAGCCATCACAATTGATAGCAAAGACAAAGGGTACCAGGCAAAGCTC TGCATTGGTGCTGAGATGCCCAACGTGCACAGAGCAATGGCCTTATTGAAATGGGGCAAAAATTGCCGAGACTACAAG ATCGCGGCAAAGGCAACGACTGGTCACTTTCAGCATCATCCTGCAGTACTGGTCAAAGCACAATGGGACAGGATACCT CAGTCCCTAAAAGAGACTGCAGGAATCCTGGCTGACCAGCTGGCAGAGATTGCCTTCATGTTGGGATTCTCGGAGCGA CATCAGAAGAGCCCAAGCCCATCAGATTTCAGTGATTGCTGCTGCAACATCTCAACAACAATTGACATTGTCGTGAAA ACTCCAAAGCATATATTTAGTCACCAGACTCTTCGCATCCCAGCACCATTACCTTTTAATGTGAACTCTCCCTCGGTGCA GCAAAGAGGTTTGCTGGTCTTTGCGGATTTACCTGCCATGATTTCTGCAAAATCCACAGTTGAATGCACAGTTATACAA AACCAGTTCACCCCATTTACCAAGGACAGTTTTGAGTACCAGATGCCTGAAGGCTGTGCTCACGTGTTGGTCCAAGAC TGTACACCTGAACTAAAGTTCATCACACTAATAAGACGCAGTGCAGAATCGCTGTTTGTACAGCTGCATTTGCCTTCGA GTGAAATAGAAATGCAATCGACAACAACAGGAAAAATCCAACTGTTTATCAACGGGACCAGGAAGTCAATCACAAGC CTTCCATTTACAGGCCCAAGTTCCTTGGCCATCGAGAGATATGACAATGGGCTGAAGATAAAAGCACCAGAACTCGGTC GTGGGCGAAGCGATTCCCAGAGGAGGGATGAGTATCAACAACCAAATAAACGCAGCACCAGTGACATTCTCAAATTTG CTCACTCGTGGTTACTGCCAGGGGAAAACTGCAAAGATGCTTGTAAACTAATGAAAAGAACTGTGAAAACTGGAGAAC ${\tt CCCGTTAAGATACACGGTCAGGAATCTAAATGCTACACGATTGACCTGGCTTTACGCTGCCAGACTGAATGTTCACCAG}$ TGAGAACAGCCCCGGTTGTCTATGGCTTCCACTGCCTTCCAGCTGATTCTCAAGCGAATCCAAGCGACGACAGCTGG TGTCGGCCAACTTTGGTCAGAAGAGTGAAGACGTGACAGGCACAGTTGAAGCCCACACCACCTGTTCATGCCCTTCTC AATGCAGCTAA

> シロザメ VTG2α

ATGAAAGGCTTTATCTTCTTGTTGGCACTCACCTGTGCGGGGAGTGAAGATTTCAGCAGATATGATCCCAACTTCTCTC AAACCAAGATGCATATTTACAAGTATGATGGTGTGATTCTGACTGGGCTGCCAGAGAAAGGCTTGAATAGAGCTGGTAT GAGAATAACCAGCAGAGTGAAGATCTGGGGGACTAGGATCAAGCCAGTACCTTCTACAACTTGAAAATCCTCAACTTCA AGAGCTGAATGGAATTTGGCCCAAGGACCCATTTTCCTCACTCCGCAAGTTGACAGAAAGATGGACCCCACACCTGAC CAAACCAGTGAAATTTGTGTATTTCAAAGGCCGAGTGGGAAATATCTACACCTCAGAAAACTTCCCTGAAGATATTTTA AACATCCACAGAGGAATCATCAACATTTTCCAAATCACCAACAAGAAATCCCAAAACTTCTATGATTTACAAGAGGCTG GAATTGAAGGAATCTGCCATACAAGATATATAGTTCAAGAGGACAAGAGAAAGGAACGCCTGGTCATAACAAAATCTA AGAGAGGCAGGAATATCCGTGCATCTACTGCTTCCACCATCGTCCTGAAACCTACAGCACTTGGTGCAATTGTTCAGGA AGCTAGGGTTCGAGAAGTGCATCAGTTTACACCGTTCCACGAACTTGATGGGACTTTTCGATTGGAGGCAAGACAAAG CCTTATCTTGGAGAAGATCACATCAGCGCAGATGGAACAAATCCCAGACATGAAAAGTCAACGAAGTTTGCAGTACCG CAGTGAGAGAAATGTTCTCCAGCAGCCATTCAAATTGCTGAAGGACCAAAGTGTGATCACCCAGATTAAAGACACCTT GAATCACATGGCGCAGCACAATGTGCAGGATATCCATATGGATGCTCCAATGAGACTCCTGCAGCTTGTGCAGCTTCTC CGTTTTGCTCCACACAGAGCCTTCTCTGAAATTTGGAACTGGGTTAAAACACAACCTGAACAAAGGCACTGGTTACTT GAGGCAATCCCCGCTGTCGGGACAATAGAAACGATGAAATTCATCAAGAGCAGAATTCAAGAAAGTGAAAAAATCCC ATCATAGACCTAGACCAAGTTAAACGTTGTCAGCTGACTCGCAAACTTACAATTCTTGCATATGGTTCCATGGTCTTCAG ACACTGCGCAGAGAAGCCAACTTGTCCCGACGACATATTGAAACCCATCCACGCTTTACTGATTGACGCCAGCAGTCG AAAGCTATTGCCTGGATTCGGCATAGCCGCTCCTAATTTCCCACTGAAAGTCCGGGTTGATGCTATCATGGCGCTATGGA ACATTGCCAAGAAAGACCCAAAGACTGTACAACGTCTCGCTGTACAGACGTTCCTCAACCGAAAGAACCATCCCGAA GAGCGAATGATGGCCTGTGCGGTTCTGTTCGCTACCAAGCCACCTCTAACTTTAATATCTATGGTAGCGAACTCACTGCT CACCGAGACCAGTCTGCAGGTGGCCAGTTTCACCTATTCGCATATTAGAGCTCTGTCTCGAAGTTCACTCCCATCTATCA ATTCGATGGCTGCTGCCAGCATCTTGCACTGCACATCTTAAGTCCCAAACTTGAGCAACTTGGCCATCGTTTCAGCAA AGTTTACCGTGTGGACACATTTATCTACCGGATGATGGCAGGAGCATCTGCTAAAGCCCTTTTCTTTAAGACTTCCAGCT GCATCATTCCCACAGCAATGCTGGCCAAAGTCAGAGGTCATGCTCTGGGAGGCTCCTCAGACCTGATAGAGTTTGGCTT ACGGGCAGAAGGTCTCCAGGAGGTCATGATGAAGGATCGTGCAGGAGACCTTAGAAAAACTGACAGTAGATCTATTCG TGGACAAGAATTGGCGTTCGCTCAACTGAGAAAGGAAGACCTTGATATAATTAAACAGAAAATTTCTAGCCCAGTCGA CAGTTACGTGAACAAACTTAAAGATGGAATCAGTTTCACTCCTTCCAAGGCACTGATGGCAGTTGAGATGCGTCATGTT GTACCTAGTGTTGTTGGTCTGCCAATGGAACTGGGCATCACTTCAACAGCTGTAGCACTCTCCAATATAAAAGTTGATG CCCGCTCTGACCCTCCCATTTCTAAACTTCCTCAGTTCTTCACTTCCAGGATTCAGCTGAATGCTCGCCTCAACCCAAGT GTGTTCATACATATCAGGGTATTCATCGGAATCAGTATGCCTCACTTCCAGTCAGGTGTGGAACTCCGAGTGAATGTCCG TTTACTTATTCCCGTGAGCATAACTGCAAAGATTAACTTAAAAGAGGGGAACTTCAGGATTGACACTTCCCCAGCCGAT ATAACCCCGATTTTACCTTCGACTCCAGAGAGAGACGCATTTCAACACACGTTTTAGATCTTCAGCAGGGTCATCCCCTG

GCACAAGCGCTAGAATTGCCTCACATCTGTCTCCAGAAACACTGTCTGACCAAGTGCCATGTTCTGAAGATGAGCAGA AGCCGCATGTTCCCAATCGCTCATCCTATCGCTCATGTGCCACAGTAACGGAATTCGGCTTCAAAGCTTGTGTGGACGC CAGAATGGAAAACGCTCTTTCCATCAAACATAGCCCATTGTACCGACTGATTGGCGAACACACTTTTAACGTGTCGATT GCACCAGTGAGTTCAGACCCAGAAATTGAAAAAGATTGTGCTGGAAATACAAGCAGGATCCAAAGCATCTTCGAAACTG ATGCGACTTTCCGACAAACAGTTAGGACCAGACAGAATTCGCAGCAGTGCCGAACGCCTGAGGCTGATGACAAGAGG TTCAAAGCAGAGAATGTACAACACCACTTCGTCCAGTTCCAGCTCCAGCTCCCGCAGCTCGTCGCGACAGTCAGGAAG ATTCAGCACTCGAAGCAGACCCCATTCAAGTAGCTCATCGGAATATACTCGGGGCAGAGCTTCTGCAAGAGCCTTCCCC AGTGGAACAAGAGTCAGCAAGAGGAAAGGAAGCATGAGTAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAGCAAGAGA AGCTTCAGGCACTCCCAAAAATACAGAAGCAGACACATCAGTGGACCTTTGCACAGTGGCAGGGTATTGAGTAGTGGG TTTCAGACAGTAAGCCGGCAGCTCTTGGATCTTGCGTTCAGGCCATTGCAAGAAAGCCGGTACACAGTCCGAAGGACA TCAGCAGGAATTATCCGTGCTTCAACACAGCGCTCTGGATCAAGCCGAATTACCAAGATAGGACGTGATTCTGGCTCAA GGGCAAGTCATGCCAGCCATGGTTCATCCATCCTTCGATCATCTGAGCAGCGCTATTTGATCGGCAGAGCGGGTGCACC TTCCTTGGTTGTCCTCCTTCGATCTCGAAGGACCGACGGCACACAGCGAGGCTACCAGCTGACTGGATACGGGAGGAT GGATACTCGGCTGCCTAGTGTACACTTGCGTGTGGTGGAACTGGATGAGAGGAGCAATTGGAGAAATCTGTGCCGACGC AGCAATGCCTAGTTGGCACAAAGTATTGACACTGGCGAGATGGGGTGAAAACTGTGAGAGGTACAGAGTCTCCGTTAA GGTATCCAATGGACAGCTTGCAACTCACCCAGCAATTAAGGTCAAAATGCAATGGTCCAGGATAAACGAGATCCTGAA ATATAATGCCAAAATGATTGGGGGACTATATTCCAGGATTGGCTTATGCGTTAGGATTCTCTCAAACCTACAGACGTAATCC TTCACGGCAGATTACAGTACTGGTAGCTCTAACATCTCCAAGCACAATTGATACAATCATCAAACTGCCCAAGATGACA GCCTATTATCAGGGTTGGCAGATCCCCACATCATTGCCCATGCACTCAATAAGTGTGCGGGTGCAGCAGAAAGGATTCA CCTTTGATGAGGACGAATTGAAGCATTCATTTACCAATAGGTGCCACTATGTCCTGGCCCAAGACTGTTCAGCATCTCCA AGATTTATACTGATGATGAGACGTGCTGAAATTGATCCGAGTCAGAAGGAAATAAAACTGGTGCTGGCTTCGAATAATG TTGTACTTCGATGGAAAGAGAGTGGAGATTGTACTCAATCAGATGATGAGAAGACATGTGGTATTTGTGGACAAAATA ATGGTGAGCACAAAATGATGAAGCCCAATCAAGAGGAAGCCAGAGATGTTGAAGATCTTTTTGAATCGTGGACATCTC CAGGGCAATCCTGTACAGATGACTGCAAAGTTGGACGAGAATTTGTGCAATTTGGAAAAATTAGTCGAATTTGAAGGAC TGGAATCCAAATGTTTCTCGGTTGAACCAGTTCAACGGTGCCTGGAAGGATGTTCACCCATTGAAACACGCTCTCAGAT GGTCAACTTCCATTGTGTGTCATCCGATTTCACTGTGAGGGACAATACAATGTTCAGTAGGAAGTCTCCAGACGTGCGA CTCTCAGTAGATTCCCATAGCGACTGCATGTGCAAGTGTGCATAA

> シロザメ VTG2β

AGCTGATGAAACCGGTGAAGTTTGAGTACAGCAAAGGCCGTGTGGGAAAGATCCACGCCCCTGCAGACTTGCAGGAA GATGTCCTGAACATCCACAGAGGAATCCTCAACATTTTCCAAAATCACCATGAAGAAGTCACAAAAATTTCTATGGGTTGC AGGAGGCTGGAATTGAAGGTGTTTGCCTCACAAATTACATCGTTCAGGAAAACAAGAAAGCTCAACGAATTACTATCA CCAAATCAAAAGACTTGAACAATTGTCAGGAGAAGGTTATGATGTACACTGGTTCCGTGTATGCAGATCTATGCCCTGT CTGCCAGCAGAGAAGTAGGAATATCCGTGCATCTGCTACTTCCACCCATGTCCTGAAACCTACAGCATCTGGTGCAACC CTTCAGGAAGCCAGGGTTCGAGAAGTGCACCAGTTTACACCGTTCCATGAACGTGAGGGAGTCGCTGTATTGGAAGCA AGGCAACATCTCAGGCTGGTTACTATCAAGGCGGCAGTAATACATGAGCTGCAACTTAAGTTTGTTGAACGAGGAACA TTGAAATATCGCTTTGATGAAAAATATACTTCACAAACCAATAAAATTAATGAAACCCCAGAATTTGGAAAAACTGATCCT AGAAACCTTGAAAAACTTGGAAATTGCACAATCAGGAGAAGGTGCATTCTGACATGCCCGCTAAATTTCTACAGCTTGTA CAACTCCTTCGTTCCACAACAGAGGAGACCATTGCTTCCGTGTGGAGAAATTCCTACAGCAACCAGTTCCGGCGTTGG ATTCTGTTTGCACTTCCTGCTGTCGGAACAACCAGTGCACTGAGATTTCTCAAAATCAAACTTCAGAATTTGGACGTCA CTATGGCTGATGCAGCTCAGGCTCTGGGTGTTGCAATGCATCAAATCACAGCCAACCTTCAAAGCCTAGCCATGGTCAG AGAACTATTTCGAATGCCTCATGTGCAGCAGCTTTGCCATTCTTCGCCGGATTGTTCACCTTGGATATGGCTCGATGGTTT TCAGATATTGTGCAAAGCAAGCCATATGCCCTGAAACTCTCCTGAAGCCGCTCCACGACTTGCTTTCTGCAGCTACTGC ${\sf TCATGAAACTATTACCTGGATTCGGCACCGCAGCTGCCAGTATCCCACTGAAACTCCAGGTCGATGCTCTCATGGCTCT}$ GAGGAATATTGCAAAGAAAGACCCAGGAAAGGTACAAGCCATCACTATTCAGCTATTCATGAATCGAGGAAATCACCC TGAGCTCCGGATGTCTGCCTGTGCAATTTTCCTGCGCACCAAGCCATCTTTGAACTCACTGTTAGTCCTCTCAAATTCCC TGTTAAAGGAGCCCAGTTTGCAGGTGGCAAGTTTTGCTTATTCGCAATTCAGATCTCTCGCAAGGAGTTCACTCCCTTC TCTCAGTTCCCTCGCAGCTGGCTGCAGTATGGCTGCAAAACTCCTAAGTCCCAGATTTGACCGACTTGGCTTCCGATTC AGCCAAGTATTTCACCCTGACCTATTCTGCTACAAGCTGATGTCAGGAGTATCTGCTAAAGCCCTCGTAATGAACAATGC TGGGAGCCTCATCCCAACATTAGCAGCGGGCAGAGTCCAAGGTCACGCTTTGGGATCTTCCGCCAATCTTGCAGAGGT AATTCAACGGATTTTAAATGGGTTTCCAGACTGGAAATCCTTGCCAGAGAAAGTGCCACTAGCTTCAGCATACATGAAA AAGGAAAACACAGTGTATTGAGAAACCTCGTAAACCGGCTCCAGAAACCGGTTGAACTGCATCCTGCAGCAGCCTTAC AAAAGCCAATCTCAACGTTGAAGCAAAGATTCCTTCCTCCATCTCTTCTCTAATTGCTCAAGGCCAACATTCAG ATGAAGGCTCAGATAAACCCAAGTGTGGCTTTATACAGCAAAGCCTTCATGGGAATAACGGCCAGCATCATTCAATCCG GTTTGGAATTCGAGGTAAAAATCCATTCGGCTTTCCCTGTGGACATATCTGCAAATATAAATGTTCAAGAAAGGAATCTG AAGATTGAGAGCGCAGCACTTCAAGAGGAAAACCGAATCATATCGTTCACGTCAGAGACATTCGCTGTTTCAAGAAAT ATAGAGAATCTATCTGCAGCAAAATTAACTCCAATTGTACCTGAGGCTAAAGAACCAAGCATTACAAAGCAAAAATTCA AGTCATCTGGACGTAGTCAAATCAAATCCGGAGCTTTGTTCAGGAGTAATAACAGATGAAGCTGAATGTTATGATGAAGA ACAGCAACTTGCACCGAGTCCCTCTGTGATGAATGTTTGTATGGGGATGACGACATTTGGCTTTGACCTGTGTCTTGAT GCAAAGACGGCCAGTGCTGTTTACATTCGCCACGGGCCACTGCACAGATTGATGGGACTGCACACTGCCAAAGTTTCA ATCAGGCCAGTCCAGACAAAAAATTGAAAGGTTATTGTTCGAAGTACAAACAGGCCCCAAAGCGGATTCCAA

AATGATCCAACCACTGGGGAAAGAGGAACTATTACCTGAAAGAATTCAGAGACGTACAGTCCTGTTCGAGGAGTTTCG CTCACAGACTAGAATGAAAAACCAGACTAGGACCAGCAGCTCCTCATCCAGTTCACTTTCCAAAAAGCTCCTCAAGAAG ${\tt CAGGGCTACCTCTCGAAGATCTTCACTGTCGAGTGACCGAGTACTCAAAGGACACCACATCGCTGACCAGAAGCAAG}$ ATCAACCATTTCGGCTATCCAGAAATCGAAGCAACAGTGCAAGTCCTGATTCCAGTTCCAGCTCCAGCAGATACATGTT CGAGCAGCGTGATCTTATCAGAGACATTGGTGCTCCGTCACTCATCATCCTTGCTCGTGCTAGGAGGACTGATGGAAAA CAGCAAGGATATCAGCTCACTGGATCTGTGCAAAGCTCAGGTGGCAGACCTAAAATGCACCTGCGTATTGTCGATCTGA AGGAAGACAGCACGTGGAAAATGTGCGTGGATGCTGCCATCCCGAAAGCACACAAAGCAATGATGATGTGCAGATGG GGTGAAAACTGTCAGACTTACAAGATGTCTTATAAAGCATCGATGGGATATCTTGCAAATCATCCAGCCTTGAAAATTA ATTTTCCAATAAATTTGAAGTTAATCCTTCTCACCAGATCACACAACTGATAGCCCTCACATCACCGCGGACCATTGATA CAATTGTTAAACTACCCAGGTTTACAATGTATTACCAAGGCTTCGAGCTCCCTATGCCAGTGCACATCCAAACAATGGCC CCAATCGTACGAACGCGAGGATTCAAAGGCATCACGGAAATCACTCGACTGCTTCTGACGACAAACCAACGGGAATGT ATTGCTGAGAAAGAGCGAGTTGTTACATTCGATAGTAATGAACTAACATAAAAATACTTAATGATTGCCACTACATTCT TCAAGCTGCTGATATCAGTGCCCCGTGTCGTAATTGAAGCATATCCCACACCAGATGGAGTAAATCTCTTGGTGAATGAT GTTGAAACCAAGCTAAGTAATCAAGGAAAGATTATTCAAATGTACAGTTCAGTCCACACACCATCCAAGTTACAACCA GCGGCCAGCAGAGGACTTAAAGACCTTGTAACCATTCAGCAGAATGCGACTGGAATTTTATTAGAAGCACCCTCAATC AATATTGACCAACTGTTCTTTGATGGAGACAGAGTGCAGATTGTACTCAATCAGATGAGAGAAGACATGTGGGTATTTG TGGACTAAATAATGGTGAGCAAAAAATGATGAAGCCCAATCAAGAGGAAGCCAGAGATGTTGAAGATCTTTTTGAATC GTGGACATCTCCAGGGCAATCCTGTACAGATGACTGCAAAGTTGGACGAGAATTTGTGCAATTTGGAAAATTAGTCGA ATTTGAAGGACTGGAATCCAAATGTTTCTCGGTTGAACCAGTTCAACGGTGCCTGGAAGGATGTTCACCCATTGAAAC ACGCTCTCAGATGGTCAACTTCCATTGTGTGTGTCATCCGATTTCACTGTGAGGGACAATACAATGTTCAGTAGGAAGTCT CCAGACGTGCGACTCTCAGTAGATTCCCATAGCGACTGCATGTGCAAGTGTGCATAA

>ラブカ VLDLRcl

ATGATTCCTTTTCGTGTGGTGTTTACTGCTGCTAGCAGTGTGTTCATATCAGTGCAGACATATAAATGGCTCAAAAATATCT TGTGAGGCATCACAATTTCAGTGCAGAAATGGACGCTGCATCCCCTCAGTATGGAAATGTGATGGAGATGATGATGAT CTGATGGAAGTGATGAAAGTACCTGTGCTAAGAAGACCTGTGGTGGTGGTTCTGACTTTGTGTGCCAAAAATGGACAATGTT TGCCTAGTAGGTGGCAGTGTGATGGTGATGCTGACTGTGAAGATGGATCTGATGAAAGTCCAGAAGTCTGTCACATGA GAACCTGTCGTGCCAACGAAGTCAGCTGTAGCCCTGGATCTACGCAATGTATTCCTATGCCCTGGAGATGTGATGGAGA AAGGGATTGTGATGATGGTGGTGACGAGGAGGAGAATTGTGGGTGCCCTTACTTGCAGTACACTGGAAATTTACTTGCTCTAGT GGCAGATGCATTTCCAAAACTTTTGTCTGCAATGGTGAAGATGACTGTGGTGATGGAAGTGATGAAAAAGGCTGTACT CCACCTACCTGTGGCCCACATGAATTTCAGTGCAATAATTCAGAATGTATCCCACTGCAGTGGCTATGCGACTATGATAT CGACTGCACTGACCAGTCTGATGAATCTCCAGAACACTGTGGCCGCACCCTTCCTCCCCCTCATAAAATGCTCTGCTGGC GAGATCCAGTGTGATTCAGGTGAATGCATCCACCGCAGATGGTACTGTGATGGAGATGCTGACTGCAAAGATGGAAGT GATGAAGTAAATTGCCCTCCTCGGACTTGTAGACCAGATAACGTCAGATGTGGTGATGGCAGCTGCATCCATGGAAGCA GGCAATGTAATGGGTTTAGAGACTGTCCTGATGGCACTGATGAGCTTAACTGTAGCAATGTTTCAGAGTGTACAGGGCC AACTAACTTCAAGTGTCATAGTGGAGAATGCATAGATATGACTCAAGTGTGTAATCAGCAGAAGGATTGCAGGGACTG GAGTGATGAGCCTCTCAAAGAATGTGATTTGAATGAATGTTTAGTGAACAATGGAGGTTGCTCTCATATCTGCAGAGAT GCCAAAATCCTGGGATATGTAGTCAAATTTGTATCAACCTAAAAGGAGGCTATAAATGTGAATGTTACAAAGGATATCAA ATGGATCCAACTAATGGAGTTTGTAAGGCAGTAGGTAAAGAGCCCTATTTAATGTTCACTAATCGCCGTGACATCAGGC AAATAGGACTAGAGCACAAAGAGTATACTCAAGTAGTTGAGCAGCTAAGAAATGCTGTGGCACTGGATGCTGATATTG CAACCCAAAGAATCTTCTGGGCTGACCTGGGACAGCGGGCAATTTTCAGTACATTCGTGGATCAATTTTCAGCTGGCCA TTCCAGAATTGTTAATGATGTGCAAATCCCTGTGGGAATTGCTGTGGACTGGATTTACAAGAACATCTACTGGACTGATC TGGGTTTTAAAACTCTATCTGTAGCTACATTTGATGGAACCAAAAAGTTGACCCTCTTTGACACTGGTCTAAGAGAACC AGCTTCTATAGCTGTTGATCCACTAACTGGGTTTGTTTACTGGTCAGATTGGGGTGAACCAGCAAAGATAGAAAAAGCA GGAATGAATGGTGTTGATCGCCAACTCCTGGTTACCAGAGATATTCAATGGCCAAATGGAATTGCACTTGATCTTGTGA AAAGCCGCCTCTATTGGGTTGATTCAAAGATGCACACATTGTCCAGTGTGAACCTAAGTGGACAAGATAGAAGAAGGG TGCTTTTGTCACCAGACTTCCTTGCTCATCCTTTTGCTGTTACTGTATTTGAAGACCATGTATTCTGGACTGATGGAGTG AATGAAGCTATCTATGGAGCCAACAAGTTCACAGGAGCAGATGTGGTCCTTTTAGCCTCCAACCTTAACGAACCTCATG ATATCATAGTTTATCACGAACTAGTACAGCCATCAGGCAAAAAACTGGTGCAATGAGAAGCTGAAGAATGGAGACTGTG AATACATGTGTCTGCCTGCTCCTCAAATTAACAGCCATTCACCAAAATATACCTGCCTATGTCCATCTGGAATAGAGCTA GAGCAGGATGGTCAACTGTGTCAAATGGGAACTGGACATGCTCACATTCGCCCATCTACATCTCGAGCACTTTCTGCTC CCCATGTAACTATGTCAACAGTCTTACCTGGCTCTAGAGATGTAAATGGCAGTGTTCCACTTCAAGTGAGCCAGTTTGG GCAACTGGCAAAAACAAGAACACAAAAAGTATGAATTTTGATAATCCAGTCTACTTGAAAAACTACTGAGGATGACTTGA AGCTTGA

>シロザメ VLDLRcl

 TGAGATCAGATGTGATTCAGGTGAATGCATCCACCGCAGATGGTTCTGTGATGGTGAACCTGACTGCAAAGATGAAAG TGATGAAGCAAATTGTCCTCCAAACTTGCAGACCAGATCATTTCCGATGTAGTGATGGTGGCTGCATCCATGGAAGC AGACAATGTAATGGATTCAGAGATTGTACTGATGGCACTGATGAGCTTAACTGCAGAAACATTACAGAGTGTACTGGTC CAACAAACTTCAAATGTCATAGTGGAGAATGTATTGACATGACTCAAGTGTGTAATCAGCAGCAGGATTGCACAGACTG GAGTGATGAACCCCTTAAAGAATGTAACTTGAATGAATGCTTGGAGAAACAATGGAGAATGCTCCCACATCTGCAGAGA TCTTGTCCTTGGTTATGAATGTGACTGCCCTGCTGGTTTCCAGCTGATTGACAGGAAAACATGTGGAGATGTTGACGAA TGTCAAAATCCTGGGGTTTGCAGTCAAAAATGTATCAACTTGAAAGGAGGCTATAAATGTGAATGCTATGATGGATATC AAATGGATCCCACAAATGGAGTTTGCAAGGCAATAGGTAAAGAACCCTATTTAATGTTCACTAATCGTCGTGATATCCGG AAAATAGGACTGGAGCACAAGGAGTATACGGAAGTAGTTGAGCAGCTAAGGAATACTGTAGCCCTGGATGCAGATATT GCAGCACAAAGAATTTTCTGGGCTGACTTGGGACAACGGGCAATTTTCAGCACTTCTGTAGATCCACGGAGTTCAGAC AACCACTCCAGGATTGTTGGTGACCTACGAATCCCTGTGGGTATTGCTGTTGACTGGATTTACAAGAACATTTACTGGA CTGATCTGGGGTTTAAAACTCTATCTGTGGCTACCTTTGATGGAACCAAAAAGAAGATCCTCTTTGACACTGATCTAAG GGAACCAGCTTCTGTAGCTGTTGATCCACTAACTGGTTTTGTTTACTGGTCAGACTGGGGTGAACCAGCAAAGATAGA AAAAGCAGGAATGAATGGTGTTGACCGACAGCTCCTTGTTACCAGAAATATTCAATGGCCCAATGGCATTACACTTGAT CTTGTGAAAAGCCGCCTCTATTGGGTTGACTCAAAAATGCACACATTATCCAGTGTGAACCTAAGTGGACAAGATAGA AGAAGGGTGCTTTTGTCACATGAGTTTCTTGCTCATCCTTTTGCTGTTACAGTATTTGAAGACCGTGTATTCTGGACTGA TGGAGAAAATGAAGCTATTTATGGAGCCAACAAATTCACAGGACTAGATGTAGTCCTTCTTGCTTCAAACCTTAATGAA CCTCAAGATATCATAGTTTACCATGAACTTGTACAGCCTTCAGGCAAAAACTGGTGCAATGAAAGAGTGAAGAATGGA GGCTGTGAACACATGTGTCTACCTGCTCCTCAAATTAACAGCCATTCACCAAAGTACACCTGTGTATGCCTATCTGGAAT GGAGCTAGCACAAGATGGCCAACAATGTATAATGGGAACTGCGAACACTAGGCATACACCCATTCTCCCCCCACAGCT CATCTCATAATGTCCACTATCCGGCCTAGAGATGTAAATACAAGTGTTCCACTTCAAGTGAGCCAGTTTGGGAAAGGAT CAACAGCTGTCTGGATCATCCTTCCTGTTTTGCTGCTGGTGATAGCCTGTGTGGCTGGTTATATTTCATGGCGCAACTGG CAAAACAAGAACACAAAAAAGCATGAACTTTGATAATCCTGTCTACTTGAAAAACTACAGAGGATGACTTGAATATTGATC TCAACAGACAAAGTCAAGCAGTTGGTCATACCTACCTGCAATCTCGATTGTCAACACAGAAGATGACTCAGCTTGA

C2. 本研究で推定されたアミノ酸配列

>ムカシトカゲ VTG1

MKGLILALALTLVGEPDFSTNKVYTYNYESVILTGLQERGLSKAGIRIKSKVEISGIGSKLYLIRIHSLEASEYNGVWPREPFVRSSKLTQSLTAQLNYPVKFEYSNSHVGNLMAPSALSEEALNIIRGILNMLELTMKKTQNLYNLQEAGIGGVCNTTYVIEENRKANQISVTKSKDLNSCDVKAKLVTGAAYVTSCKACQKRNKNFRATATYNYKIKSTQEEALIVQADVLEVHQFTPTNELNG GHLLVEAROKLVLNDVAKRSPOVPSMEFOKRGSLRYHFGNELLOLPIOLLKARNLESOIVENLOYLVEHTREOVPSDAPLK FLRLIQSFRRTNAETFDTIFKQYSSRPAYRFILDAIPAVATHDAMRFLRQKIERKELTDLEAIQALLMGLHFCTPSRDVIDEVMILRKINPHTDTYLHRIAYLGYSSLVQRHCSISDTCPDSALQPLREYLTEVLGKSNEEDIVLAIKALGNIGHTAIIKPLMKVMP GYTSVANYLSVRVQGIVVMALRNLGKKNPQOVOEITLEIFLNHKLHPTVRIIAAMVLLETKPALPILMTLANAMLKEPGOV ASFVYSHLRDLGRSTAPDLQVVASACRMAARILSPKLDRPGYRFSRVFRFNMFRESLMAGMSAKFFILNEASSIVPTFVMSK IRAHFLGNIADVIEVGLGAORLOEMLARSHVHDSDSDSSFDMSEILKOLSDFKSMPADKPIVSGYMKMFGQEVIFGGLGKN SMQSLLQALYGPEEKIPLIKQLIKNLQTGLGTQWTKALMSAEVRRIVPTCTGFPMETSLYHASVTNIAGNVQAHITPAPSSSFRLADIISANVKLRSRMTFSMVKDMIFVMGINTRLVQASLETHAKVTVNLPVNVAATINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKLEIPPCNQETEIFTLRSKLASTINIKEKNLKTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNLKTASTINIKEKNT KASTINIKEKNLKTASTINIKEKNT KASTINIKEKNT KASTINIKEKNTTYAVTRNIEEAPAAKMTPVLLPEAVPDMMKLSFDSDLSSSGESDKIKERLSAEISPGNSYSAGQSSHHTAQVAHVYCFNGSTFGCKPCTEWKGISAEFIKNVPTYYLIGEHALKLTFKPVHTEASIEKIQISIQEGAQAAAKMVRLVTFEDPKTELAASKQAVKK SSNSNSDSSTSSDSSSSRSSHSSSSSSSSSSEPAKRGHHDEKKHAKGASKSDSKTQKVHSKSPFNSQSSEDSDWVTIYHTSFLNI TNFLGDLLPPGLTIVARAVRSDNKNQGYQATAYLNYKGNKVNMQLVMVQLADTNWKACADAALLSFFIKARLRWGKECRQYKIEASATTGQLAQNPAVQVKMEWTKLPSLIRKTTMQYVPGVALLFGFSEAQQHNPSNALVLRAVATSLHTIDTIIKAPGVTFYYOGFSTPVALPFGPSSPYOSREITAWNFLSEMSFLIARODECKCAICKVNEENFKTFDGOWYKTSFNKNCKLLVAODCN TRPKFMIVTRKVNPRLPREVYINTASDNVKIYKNETTIVVEARTQGLTNLTYDGTTLQVTVASWMRGKTCGICGNNDGEKRNDLLLPSRROAHCSTOFVHSWVLPEKDCSEGCKLORRFVKLRROSKVSGRETTCYSTEPILOCMDGFTATERTSIKLGFHCF PTDSVMSLSQWEKSNDRKTASEDVVEDVDAEIACTCPGRCT

>ムカシトカゲ VTG2

MRGIILALVLTLVGKFICPVEPAFSNSKTYVYNYEGLLLSGMQEKGLARSGLRLTCKLEISGMSQNAHLLKIRSPQLEEYNGI WPRDPFTRNSKLTQTVTSCLTQFFRFDYNSGRVGNIYAPENTPLICVNIVRGILNMLQMTIKKSQNVYDLQEVGIGGVCHTR YVIQEDRKNSRVTIIKTKDLNNCLDKVEKNIGMTLSLHAFLCFQKGKMVRGTASFTYKLKYADAGAVITQAESQQVYQVSP FNEPNGVAVMEARQELSLLDVKSEHVTPPESQLQNQGSLRFHFPAIMPQMPVQLIKTKNPEQRIAETLQHLVQNNQQDIHA DAPYKFLELVQLCRVASADNLEAAWKQFADKPYRRWLLSAVPASGTIEAMKFVKLRFHNGDLNAFEEILVAVATFHLARIN EHIIPELVSSSRIQRSPFLQQLALLAYGSFVDKVCSRSSSCPNEALQVLHDFATEAANKGHEENMVLALKAMGNAGQTASIK RIAKFLSQSSDYSVHVQASAILALRKIGRIDPKKVQEILLQIYVSRSLPPKIRMMACVVIFETRPALPLITTMANVALKETNLQ VASFVYSHMKALAKTTFPHLYNLSAACNIAIKLLSPKLDRLSYRYSKVIHMGVYSVGEYRSGAIGRIFLMNSPKTMFPSAII
>ムカシトカゲ VTG3

EEYNGIWPRDPFTRSSKLTQIVAPCFTQVFKFEYNKGHVGNIHAPEDTSVMCVNKVRGILNMLQMTMKKAQNVYDLQEV GDIGGVCHTRYIVQEDRKNNRITVSKAKDFDNFQDRAVRIGMAYIRPCPTCKARNIRGTAAFTYRLKYADAGALISQAESQ QVYQISPFNEPDGVAVTEARQELNLIDIRSSQVRTSEVQLQNHGSLCFHFAEEQLQMPVHLIKTKNPGSQVVETLQRLIQQN QQGAQADDPAGFLELIELSRVMTQESLESVWKQFSDKHPHREWLLGAVSAAGTIDTFMFLKQRLRNEDINDLESALILTFAIHLTKADDRTLDLLTSYRIQNSPTLHKLACLAYGSMVNRHCSLSLSCPIQVLQPLHNLATEAASKGQEENIVLALKAMGNAG EPASIKRILKFLPVFSPAAKAFPIRIHVEAVLALRKMARKDPAKVREILFQIFMDRSLSPEVRMVACVVFFEAKPALPLVTAMT HSLLMESNLQVASFAYSHIKALSLSWRIPOLYNLSAACSIALKLLSPRLDRLSYRYSKAIQVGDYYRAGAIGRAYLMNSPNT $\label{eq:link} LFPSAFIMKLRGYYANSASDIVEVGLRAEGLTEIIRKQNIPFAEYSTYKKIKEIGKLLGWKELPSEKPLVSAFLKVYGQDIVFG$ DITKELIQQATKVWLEQAASHTLVKKMINAIQQGVAGKWTQPIFAGELRHIIPSCVGIPLEFSLYATGLIQVAANVVKTSPSLS GDFRPSOLFDVNMQVGAEINPHTVATMGINTPHFOSGLEFHAEFHANTPLKFDASISMKDKNMKLETTPLQOETELLAVRH KAFAVSRNIAEIDSEKKTPVLPDGTVSDILQEHFKSSEKTSQEGTGRRSYAQVFCGILPSLGCQTCLNMKLQGAASIKNTYLH KVVGKHEINLVLKPINKIQLEIQAGVRAASKIIQLVSSEEEEDGDSSPDDEVQTKLKKILGIENVFKVQLDLQVGNRSSQQHF SDSWDSSSSSSGRRGSSSSDSESARKQVIQSDSHHCNDYFLGDSTPPVLAVILRTIRNDRRLAGFQFVLYSDLHSLRPRLQVF VSNITAASKWKICADASILHSRKAGSVKWGHNCQDYKIAAKIATGQFAGHPAVQVKLQWPRVPLRVRMPARWLYTFVPGI AYMLRFFQREQNNPSHQATLMVALTSPRSSDVVLKLPDVTIYDSGIRLPVPLPLGPRISVSAQHSHAWSLFSEVPSAVFENLK VETPAESLTYFILLDTSLMIRSESEGLSLAASDYGIDKLYFDGRTFKVQVAFWMAGKTCGICGKYDAEIEQEYQMPSGYLAK

DAVSFAQSWILSEGPCCKLQRTLVTSEKTAGFEKVASKCYSVEPVLRCVEGCSATSAVPVSVGFHCVPSDSTLHEAEIRLDQK PEDLEDVVNAHTACSCEQLQC

>H. affinis VTG1

MRGIILALCLVIVGKEPNFISRRTYTYKYEGVILTGLPEKDLARGGLKIICKVQISSIRQNIHLLKIISPQIQEYSGIWPRAPFLPA WKLTRRLTADLNKPVKFEYNHGRVGNIYAPADLPENILNIYRGILNLLQITIKKTQNIYNLQEMGVEGICHANYLLQEDKKA GOITITKSKDLNNCOEKASKTMGIPFTELCESCOLKGKNLRSFSTYTYTMKTKOGGTOIVEVNSHETHOFTPFNELEGGVLL EARQHLIFLDSTSQSLPTTSYHMENRGTLIYQFSNELLQMPMHLFKTSNNDTQIAEVLENLVQKNQEKAHSDSPSKFLQLIQPYIQRTAFLRRITLLAYGSLVKKYCGTVQVCSEETLQPLHKLLVEASSKSNEEDIILSLKAIGNAGHPASIKRIQKFLPGFGTGAATFPARIQREAIMALRNIANLQPRKVEEITIQLFMNSKNHPEVRMMAFVVFFETKPSMASVAIITDSLIKETNLHVASFTYSF MKALAESSLODLHSVATACNIAIKRLSPKCDQLSYRHSKALHFDTFKDKLLAGLEADFYLINNGASILPTSAIAKFKVYGLG GAANLLEVGIQAEGLKEVIQKSSPPDRKQSDNSQRIMKRLSGWKPLPTIKPLAVAYFKLFGQEVAFVELNENDIQEALKLFNNPVKKNALLMKLIKQLQQGLTTQWSKPLLATEARHIVATGIGLPMDLSLHYSILTAISVNAKAQFTPNPSSNVTAAKLLNSTI QLNVQVTSAVKDIIAIMGINTQLIQTGVQMKVKTRTIIPVDFTAEVNLKDKNINIETSPLQQENYLVSARSQTFAFSRNIEDLA AAKITPILPTAAEIAMINRNFGIARNTSQDSIVMQARESPFMAQQGTVCSAEEALNKRKPTEHKVCVQGSTFGFEVCYQIKA ENTAFIRDSPLHKTIGENAFQVSIRPVATTPPIKKIQIEIQAGEKAGAKVIRSIRKDNMRQSDDSEDTELRGKMSLLNKLRNSKEQIQFLGDSMPPIFVILAQAIMSDNKKMGYQTTAYIDRMAAHPLMQLFVDELEGEGKWRACVEAEMPNEHRAGVLKWGK ${\sf DCKNYMIVAKASTSQYEHHPAMQFKVQWDRIPHYLKHSSEMVAEYLPGVAFMLGFSEKHQQNPSYQLSMTAAATSPRTID$ LKFIIMIKRATESPNSLSLILRLPSGVIGIDSTAAGDLRLFINGNEMSITSLPLPESITFDVDNDKVNIEAAELGLEKLYFDGKRIKVASWMTGRTCGLCGRGDSKTRNKYNLPNGQSTKDVVKFAQSWLLQGERCSDACKLQKKIVKREKQIKLPGQESNCFSIE PVLHCRPGCSPIKTVPVSIGFHCLPEDSFITDLADHRLDNLDQKSEDLQEVIEAHTACSCASDCTRADI

> *H. affinis* VTG2-1

MRGIIFLLILTIVGKPNFSEKHTYVYMYEGVVLTGLPEKGLNRAGVRINAKVKISALSQRNYLMQIIDPQIQELNGVWPNVPS STASKLTQKLAADLTKPITFEYSNGRVGNINAPEDLPENILNIQRGILNMLQITVKNTQNVYELQEGIQGICNTKYVLQEDRK TNQITVTKSKDLSNCQERVQNQLGLAYALPCPACQKNFRSSVVLTHILKPKVSGAIIVEARTREIHQFTPFHELDGTAMMEA KQNLILDDIKVELVREPQERLQNRGSLKYKCTTNLLQKPIQLLKYQSLDAQIIDTVRHMGQYNDHEVHFDAPERFLELIQLL RTASFEENVLTLFPKSRRWFLDALPAAGTADTLRLLKRKIQSSEIKTIEAAQALIFAMQQLKADRQSMPIAKVNQIRQSPILRK IVLLGYGSVVYRFCAERRSCPEDVLQPLHDLLADAGSRSHEQEIVLGLKAVGNAGQSTSIKRIQKFLPGFGSAASSLPLKVQ VDAVASLRNIARRDPRKVQDITIEIFMNRRNHPEVRMVACVVLFSTKPSLTLVTAVADSLLKETSLQVASFTYSHMKALSRSS VHVNRAASCNVAVKLLSPRLDRLGIRYSKVFHIDMFRYNLMTGASARLLLLNNAGSTIPSAILGKIRGHGLGGSMDLVEVG VRAEGLQEALMINRVPLSKRMNTEQMLRILKQLSGWKGLPEEVPLMSAYVRLFGQELAFAEIRRDDIQQATQVQTLSTSAQ NQLKSSMEQLARGIKVRPAKALLVAEIRHVMPTGLGLPMEVSLISSAVAVAKVNPITRISQLLSSTIHISTTIIPSLAIVTKAAM GINAPFMQAGMELQAKVNIKQPINVIARFNVKEQNLKIETKPYAEERRVISLKSQVFVTSINIEDLSSAKRTPILPSANEPSLTA QDFQLSPEIISQETSFSEEQRRIPRASTYHTCALTTKLGLKVCLDARMKSSVFIKNCLLYRLIGQHAVNVTVHSESEIERIVLEI QTGSKAVSKRIRLTDQEDQQSGRIQEERSSTRMSMRSFPGGNPSSGTQRRQSSSSSSILRSSRQVCFLLNSKVPGCLRTETICS PINHFKMYLFVTLGRIPMRFSSSSSSRQTQSSRTQDRRQMSSSTSSSSSSRTWSDQVTILAGPSHWQAIKLITPTKYNNNN LHLCSTTLYTHTHTHTINSLYTIFCEALRDVSASCSATVKHTWTLLCVRDTIEMQVVAVVLTTRSAGSPILTILLRAVSTDRKQ QGYQITGFAEVSDRQPRFHLRVVELAEDSRWKICADGIMPHGNKAMLLRWGQNCQDYKVSAKASIGQLARNPALKIKVQ WSRIPDWLKSSGRMVGGSLPGIAYLSGMSQRYQSNPSRQITVLFALTTPRTIDTIIKVYKMTAYYLGAQIPLAVPVSAIAPRIK ARGFKSITEIPDIFLTVNQRNYYFYSCLAEPGKVQTFDNQTLKYQIPNDCYYVLTQDCSSVPRFVLLMKRAKDQTRKWIKLI LSNPNRVIEAYPEGQDIKLKMNNVELPISSLPRVEQGEIQTNGTGILLVASELNLDSVYFDGNKVQVSVNQMNKRTCGICGY NDGERKMIMPNHNQTQSVDVFFQSWLCSGTTCQDCKVRQEFVEVDSSLSFEGRESRCSPIELVQRCLPGCAPTERVPVSVA FHCVPSSKFFADAFLHTVLYSFWRMLSSFDVRRSVDSHSDCIE

> H. affinis VTG2-2

MRGIIFVLALVLAGKISAPRFDERKTYVYQYEGIILTGLPENGLNQAGLKITCGVQISRLTQRIHLLNITVPQIQELNGVWPNV PLSAANKLTESLAADLTKPVKFEYSNGRVGNINAAEGLPENILNIHKGILNMLQITIKNTQNVYELQETGIEGICHTKYVLQE NRKANHIFVTKSKDLDNCQERALKQIGMAYTMPCPTCKNLRSMATFTYTLKPKESGSLIVQIESREIHQFTPFHELDGTAVM EAKQHFTLNDIIAAKVSEPQVDFQSYGTLKHHWDSDILQKPIQLIKYQTLETQVIETLNHLALNNQEQLHSDAPNQFLQLVQ LLRTANIEQENVFTLFLKCRHWILDALPAVGTADALRFLKHKIQYSEMKATEVAQALILAMQQLKADRQSVSVAKVAHVQH SSILRQIVILGYGSVVMRYCAVHQTCPSDALQPLHNLLIEADRHSHEHDIVLSLRAIGNAGQPSSIKYIKKYLLDFGSAATHLP $\label{eq:linear} LNIQVDAVSTLRNIAMKDPRKVQDITVKIFMNRKNHPEVRIMACAVLFSTKPSLTLVTAVADSLLKETSLQVASFTYSYMRV$ $\label{eq:lsrltihvnraascnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfrnlmtgasaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfrnlmtgasaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfrnlmtgasaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfrnlmtgasaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfrnlmtgasaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfrnlmtgasaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfrnlmtgasaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfrnlmtgasaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfragsaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfragsaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfragsaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrldklgsrysrvfrmdmfragsaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrvfrmdmfragsaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrvfrmdmfragsaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrvfrmdmfragsaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrvfrmdmfragsaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrvfrmdmfragsaemllinnagaemllinnagnaipsailgkihgyalgssvnlvikllssrvfrmdmfragsaemllinnag$ ALTGLRKFVDRLRNQIGLHVSVALLAAEIRHVIATSVGLPMELSFHSSVVTVATANVQARISPSYISSIFQLLNANIQLKTTINPSVVIYTKAFMGIIAPFIQAGVELQAKVCMDHPVNVVVRINLKERNLKIESKPAQKENRIISFKSQVYAVSRNIENLAATKMTP ILPVNTNTSOAFVAQWSSEIISKETEORKRSOVARTSAYKICSRISELGIEFCLDASIEDAACIRLSPLYTMIGEHAFTILVRPESEVETIVLEIQTGSKAASKVIRLMQWENQQTVRIQRKYRVLSSLCDIPKRITEYIVKLIDCIFCGQNFLKMLFDLQSGRRNTSIGSRSSDRRRSSDRRRSSDRRKSSDRRRMSDRRESSDRRGSSDRRRSSDRRRMSDRRESSDRRGSSDRRESSDRRGSSDRRGSSDPILTILLRAVRIDRKQQGYQITGFTEVSEHQPRVHLRLVELTEDSRWKICADGIMPHGHKAMVLLRWGQNCQDYEVSVKASTGEFSSHPAIKVKLQWSRIPDWLKSIAYLSGMSQRYQSNPSRQITMLVILKTPQSIDSVIKVPKMTVYYQGAQFPLAIPISAVSPWIKARGFRSVMEIPDLLLTVNQRCTAEQNKVLSFDNDQLEYQISNNCYYVLTQDCSSAPKFVLLMKRAKIQSKKSIKLLMSNPNLVIEAYPENQDIKLLIDNVECPVSSLPRTEQGIVQIRTNGTGIILEAKHIQLDLLYFDGVKVQVVVNQMNKQTCGICGHNDGERKMIMPNHNQTQSVDIFFQSWLCSGTTCQDECKVQSTFVELESPLRFGGRESRCSPIEPV QRCLPGCQPTEKVPVSVAYHCEPTGKFVAYFAFSADTYMGQLLSFDLHHSVDSHSDCAEA

> *H. affinis* VTG2-3

MRGIIFLLGLTLVGKSQPNFSERQTYVYKYDGVVLTGLPENGLNRAGVKISARVQISALAQTNYLMMIKDPQIQELNGIAPS VPLPTTSKLSQKLAADLTRPVRFEYINGRVGRIDAPETLPDNILNIHRGILNLLQITIKKTQNVYELQEVGIEGICLTRYILQQD RKINQIIVTKSKDLSNCQDRAIQQIGVAYALPCPTCQQRGKNLQGTVAITQLLKPTKSSGALIIEARSQELHQFTPFHERDGSA ILEAKQNLILDDIRAEAVPVPQVKLMPRGSLKYTTDHSVLQKPIQLLKYDNLEAQIVNILRYLAQYNQQEVRMDAPDKFLQ LIQLLRLASFETIALTLFPRCRQWLLEALPAAGTADTLRLLKRKIQSSEIRTIEAAQALVLAMQQLKADRQSMPIELLAIDQIRQSPILRKIVLLGYGSVVYRFCAERQSCPEDVLQPLHDLLADAGSRSHEQEIILGLKAVGNAGQSTSIKRIQKFLPGFGSAASS $\label{eq:lplkvovdavaslrniarrdprkaoeitmoifmnrrnhpevrmmacavlfstopslvlvavvadslloetslovasftyshteelements and the second statement of the second stateme$ MKALSRSSLPSLNSVAAACNVAVKFLSPKLDRLGVRYSKVFRTDMFRNLMTGAAAKVLLMNTAGSAIPTSILAKVRGHALGSSVDLAEVGLRIEGLQEALLRNRVTFSGRLNIEKIQRILKMLSGWKSLPEEVPLASSYFKLFGQEIAFVELRRDDIQQVTQV $\label{eq:polyactical} PDLQNQLKRYAEQLQRGIKARPSKALLLAEVRRVVPTGLGLPMEISLITSAVGVAKINVQAQTTPSSLSRISELVSANIQLDVT$ PSVVTFTKAVMGINTRFIQAGVELQTRVRISQPINVAAKINIKERNLKIESKPSVEERRMSSQVFAVSRNIEELSAAKMTPILPI TSEASITKOEFPSTSTYYTCVKTTKFGLAVCLDARMKSTAFIRNCLLYRLIGOHAVNVTVKPVESEIEKIVLEIOTGSKAASKV LHLCSTTLYTHTHTHTINSLYTIFCEALRDVSASCSATVKHTWTLLCVRDTIEMQVVAVVLTTRSAGSPILTILLRAVRIDRKQOGYOITGYAEVSDDOPRVHLRVVELAEDSRWKICADGIMPHGHKAMVLLRWGENCOSYKMAVKASTGRLASHPAIKVKL QWSRIPEMLTTSGIMVGESLPGIAYALGWSQSYQSNPSRQITLLVALTSPRTIDTIVKVPKMTVSYQGAQIPIAVTISAIPSTIRA RGFKFITEIPDILMKVNQRNYLFHFHLHYSSIPELLDLSRSTLKYQIPNDCHYVLAQDCSQSPSFVLLMKRAKDQTRKSIKLV LSKPNRVIEAQPEGQGIKLLIDGVQCPMSSLPRVEQGEIQTNGTGILLQATEINLDLLYFDGNKVQVVVNQMYKRTCGICGH NDGERKMIMPNLEKTESVDVFFQSWLCAGESCKDCKVRREYVELEELVSYEGVESRCYSVEPVQRCFSGCSPTEKVSVPVS FHCVSSGKVLYHMOGLLLSLLLFSLNLPLLKHIFHISTASSMDRFQEMSFDKKSADLRRYVDSHSDCA

> *H. affinis* VLDLRc1

MLRTCGVNEISCGSASLQCIPSPWRCDGEMDCDNGGDEQNCGQLTCDVLEFTCSSGRCISRTFVCNGEDDCGDESDEQECA PPTCGPHEFHCNSSECIPLRWVCDSDIDCMDQSDESSDHCGHTIPPLVKCSTSEVQCGSGECIHRRWYCDGDADCKDESDET NCPPRTCRPDYFRCGDGSCIHGSRQCNQFRDCIDGSDEISCQNITECTGPTNFKCQTGECVDMTLVCNKQRDCRDWSDEPL KECGLNECLENNGGCSHVCRDLVIGYECHCPPGFKLVDSKTCGDIDECQNPGICSQICLNLKGGYKCECRAGYQMDPANG VCKAIGKEPYLIFTNRRDIRKLGLEHKEYTQVVEQLRNAVALDADIVAQRIFWADVGQRAIFSVSMDRNGRAIETSRVAEVQ MPVGIAVDWIYKHIYWTDMETKTITVATFDGTKMKILFDSDLREPASVALDPLSGFIYWSDWGEPAKIEKAGMNGVDRQLL VSTNIQWPNGIALDLVKNRLYWVDSKLHTLSSVDLNGGDRRRVLLSQRFLAHPFAVAVFEDQAFWTDGENEAIYGANKFT GEDVKLLASNLNEPQDIIIYHELVQAPGKNWCNSSLPNGGCDYLCLPAPQINSHSPKYTCVCPSGDELQKDGHHCRTDSNSS AKVSLVNQSGKAPTAAWVILPILLLAIAGVAGYLSWRNWQSKNLKSMNFDNPVYLKTTEDDLNIDLNRPGQSVGHTYPAIS IVKTEDDMA

> *H. affinis* VLDLRc3

MDHVFWIDGQNEALYGASKLTGENVVILATNLKEPRDIIVYHELIQPPGTNWCNEGVKNGGCEYLCLPAPQINSLSLKYSC VCPPGMQLKADGQMCTNDSSRCHVNEFSCGPRSIRCIPVSWKCDGGKDCDDGSDEDDCAQPTCNPLEFTCSSGQCVSKTY

74

VCNGEDDCDDGSDEQGCRTPTCEPHEFQCNNLECIPLSWVCDAKHDCSDESDESASFCVRTLSPVTCSPHDFQCSSGECTH EYWRCDGDTDCKDGSDEVNCPTQTCRPDYFRCDDGHCIRGGRKCDEFKDCNDGSDEVNCKNVSECKEPNNFRCQSGECI DITKVCNHIQDCRDWSDEPFNGCKVNECLVNNGGCSDICKDLVIDYECDCPPGFELVDGKNCRDIDECQNPGTCSQICINSK GSYKCECRAGYRMDPAYGLCKAVGKEPYLIFTNRHDIRKLGLHHKEYTQVAVQLRNAVALDADIAAHRIFWADLGEQAIFS MSMNKWEGTAGILRPVKVAQMPVGIAVDWIYKHIYWTDRGTKTISVATFDGTKSKMLFDTDLREPASVAVDPITGFIYWSDLGEQAAIEKAGMNGGHRQVLVNTNIQWPNGIALDLVKSRLYWVDSKLHMVSSVDLNGQVRIDFFSQFLVHPYAVALYEDR IFWSDGENNTIYEANKFTGADVFVLASSLKEPRGIIVYHELMOPSGRNWCSESLONGGCEFLCLPAPOINIHSPKYTCVCPSG RNPDKGEPCGTAKATCGASDFRCNNGQCVLGKWRCDGKPDCKDGSDENPELCHTSSCNINEIACGPGSLHCIPVSWKCDG GKDCDDGSDEENCAPFTCSPLEFTCSSGQCISKTFVCNGEDDCFDGSDEHNCAPVVCGPHEFQCSNSECIPFNWVCDDNAD CIDESDESPAFCGHTLPPHVTCSLSEVOCASGECLHQOWYCDGDTDCEDGSDEVDCPPKTCRPDHFRCGDGSCISQNKKCN RFQDCVDGSDEVSCENALECTGPTMFECGSGECIDFNLVCNRRQDCRDWSDEHLKTCNVNECLVSNGGCSHICIDLVIGYE CDCPIGFQLVDERNCDDIDECLNPGTCSQICINSKGSYKCECQAGFHMDSANETCKAVGKEPTLIFTNRHDIRKLGLHHKEY TQVAIHMRNVVALDADVEAQMIFWADVGEHAIFRLSMAKWEGVSKIVDAQMPVGIAVDWIYKHIYWTDRDAKTISVATFD GTKMTILFDTDLTEPASVAVDPLSGFVYWSDCGEPAKIEKSGMNGVDRQVLVTKEIQCPNGIALDLVKSRLYWVDSKLHTLS SVDLNGHVRRTVIQSKDSLVHPNAVSVFEDQVFWIDGQNGTIYGANKYTGEDLVVLASNLKEPQDLIVYHELIQPIGINWC NKSLKNGDCEYLCLPAPQIAGHSLKYACVCPSGMHLDDGQRCRLDIRACPFNTLSCDPGFAHCIPVAWKCDGEKDCENGSD EENCAQSTCSPLEFMCSSGRCVSKTFVCNGEDDCADGSDEQGCSTPICGPHDFQCKNSECIPLTWVCDDNTDCTDQSDESL ENCGHTLPPIMCSFSETQCGSGECVNRSWYCDGDADCKDGSDEVNCPPRTCRPNQFTCTDGTCIQEDWKCNEMRDCVDG SDEVNCANAAECLGPSDFKCQNGECIDVAQVCNQQLDCHDWSDEPSYCNLNECLVDNGGCSHVCRDLPIGSECDCPSGFK LIDGKTCGDIDECLSPGTCSQICINLKGSYKCDCHTGYLVDPATGLCKAAGKEPFLIFTNHHDIRKLGLHHNEYTQLAVQLR NAVALDADIAAORIFWADLTERAIFSMSMDKOSTSGILKVISGVOIHVGLAVDWIYKHIYWTSLNIRAISMATFDGTKVKTLF DTDLREPASIAVDPISGFIYWSDCGEPATIEKSGMNGGGGRQLLVTKGIQRPNDITLDLVKSRLYWVDSKMHVLSSVDLNGQ DRRTIVQSKEFLTHPFGVAIFEDHVFWTDWEKKSVYGANKFTGEDIVNLASNLEEPQDIIIYHELTQPPGENWCNMHFTNGG CEYLCLPAPRIHGYSPKYTCVCPPGMQLEHDEKHCRTVKSTCTISDFMCHNGQCVPERWQCDGNTDCTDGSDESPEVCHM KKCPINEISCGPGSLQCIPVAWKCNGEIDCETGSDERDCGHLTCSPVEFTCSSGRCVSKTFVCNGEDDCGDGSDEQGCAASPCONTUNE CONTUNE CONTUNCO CONTUNE CCGLHEFQCNNSECIPVTWVCDHNADCTDQSDESPGHCGYTLPPPMLCSSSEMQCDSGECIHRQWYCDGDADCKDGSDEID CPPRICKPD0FRCNDGSCIIGSS0CNGIGDCTDGSDEVNCVKA0VCRPD0FRCGDGICIVGSM0CNGFGDCADGSDEVNCE LTVAKCTGPANFKCLSGECINMTQVCNQHQDCKDWSDELLKKCYINECLDNNGGCSDICWDLVIGYECECPSGFELVETKMCEDVDECOTPEICSOICTNIKGSYICECHAGYHMDOTDGVCKTLGKEPFLIFTNRHDIRKLGLHHKVYTOVAVOLRNAVA LDADIAAQRIFWADLGEQAIFSVSTDEQEGEVGISRVVDVETPVGIAVDWVYKHIYWTDRGTKTISVATFDGTKKMILIDTG LREPASVTVDPATGFIYWSDWGEPAAIEKAGLNGGDRQLLVNKKIQWPNGIALDYVKNRLYWVDSKLHTLSSVDLDGQNR RTVLHSPQFLAHPSAVSLFEDRAFWIDEESKAIYASNKFTGEDVVILAFNLNEPRDIIVFHEQVQLSGKNGCTNFKNGSCEYL CLPAPLFNGLSVKYTCVCPSGMELYNGLQCRTASLQYSAPLISTTGQTTAIPTSGGTSTELASNLPTVLPNSRDVNPGASVHK SRNSTVTGWVVLIMMLVAVVGVAGYLKWRSWKSRTHOSMNFENPVFHRDDVVEEK