

論文審査の結果の要旨

氏名 趙 然

本論文は、軟体動物二枚貝類のマガキ(*Crassostrea gigas*)とアコヤガイ(*Pinctada fucata*)の幼生殻に含まれる貝殻基質タンパク質(Shell Matrix Proteins: SMPs)を網羅的に解析し、それぞれの成体殻や他種の SMPs と比較することで、機能的に重要な SMPs を同定するとともに、これらの SMPs の進化史を解明した先駆的研究である。これまでに成体殻の SMPs に関する研究は数多くなされてきたが、幼生殻の SMPs については本研究において世界で初めて解析が行われた。

全5章からなる本論文の第1章は General introduction であり、軟体動物における成体殻と幼生殻のそれぞれの形成メカニズムや形態的・生体鉱物学的特徴の違い、および成体殻に含まれる SMPs に関する先行研究について広範なレビューがされている。さらに第4章で扱う SMPs の機能解析に関連した遺伝子編集技術等に関する紹介がなされ、最後にこれらの先行研究の問題点が指摘され、幼生殻を対象とする本研究の目的が述べられている。

第2章では、マガキとアコヤガイの幼生殻の SMPs を同定する方法、結果とそれぞれの成体殻との比較結果が述べられている。本研究の結果、マガキとアコヤガイの幼生殻から、それぞれ 111 個と 31 個の SMPs がそれぞれ同定された。これらを先行研究でマガキとアコヤガイの成体殻からすでに同定されているそれぞれ 71 個と 159 個の SMPs と比較した結果、幼生殻と成体殻とで共通する SMPs は、マガキとアコヤガイでそれぞれ 4 個のみであることが分かった。また、これら共通する SMPs においてもそれらをコードする遺伝子は別々のパラログが用いられており、これらの二枚貝は、幼生殻と成体殻の形成に 2 つの全く異なる SMP 遺伝子のセットを用いていることが明らかになった。一方、フォン・ヴィレブラント因子タイプ Aド

メイン(VWA)、キチン結合ドメイン(CB)、炭酸脱水酵素ドメイン(CA)などいくつかのドメインは幼生殻と成体殻の SMPs で共通して見られることから、これらのドメインは貝殻形成で不可欠な役割を果たしていることが推定された。

第3章では、マガキとアコヤガイの両者で幼生殻と成体殻に共通して見られる3つのSMPs(WVA-CB-dcp、CA-SMP、キトビアーゼ-SMP)に含まれるドメインのアミノ酸配列に着目し、それぞれのドメインの系統解析を行うことで、それぞれのSMPの進化史を推定した。その結果、WVA-CB-dcpとキトビアーゼ-SMPについては、マガキとアコヤガイの共通祖先の段階ですでに幼生殻と成体殻のそれぞれのSMPに機能分化して存在していたことが推定された。一方、CA-SMPについては、マガキとアコヤガイが分化した後で、それぞれの系統においてCA-SMP遺伝子の重複が起き、それぞれ独立に幼生殻と成体殻のSMPsとして進化したことが推定された。

第4章では、SMPsのin vivo機能解析を行う前段階として予察的に行われた、アコヤガイおよび巻貝類のクサイロアオガイ(*Nipponacmaea fuscoviridis*)の胚への遺伝子導入の実験結果が述べられている。

第5章は、General discussionであり、これまでの章の研究で明らかとなった二枚貝類幼生殻のSMPsの特徴を総括し、その機能的、進化的意義を考察した。今回の研究結果から、成体殻と幼生殻のどちらが祖先的であるかは解明できなかった。しかし、幼生殻のSMP遺伝子には、成体殻のSMP遺伝子との「移行期」と解釈できる遺伝子発現パターンを示すものが見られたことから、今後、これらの遺伝子発現を制御する上流遺伝子の解析を進めることで、このヘテロクロニックな進化過程を解明できる可能性が指摘された。また、軟体動物のSMPsの起源については、カンブリア紀まで遡る古い起源(ancient heritage)説と、ごく最近進化したとする急速進化説(recent heritage and fact evolution)説とが提唱されていたが、第3章で

CA-SMP が示した結果は後者を強く支持するものである。

以上述べたように、本論文は、軟体動物の幼生殻 SMPs の網羅解析をもとに、貝殻形成の機構とその進化を論じた独創的な研究成果である。なお、本論文の第 2 章と第 3 章は、竹内猛、Yi-Jyun Luo、石川彰人、小林立至、小柳亮、Alejandro Villar-Briones、山田力志、澤田均、岩永俊介、永井清仁、佐藤矩行、遠藤一佳との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。したがって、博士（理学）の学位を授与できると認める。