

論文題目 海産動物の二価金属イオン輸送体の機能と進化的意義に関する研究  
(Studies on the function and evolutionary significance of  
divalent metal transporters in marine animals)

本学位論文は、序論、第一章～第四章および総合考察から構成される。第一章において、

二枚貝類の環境適応における DMT の機能を解明するために、イガイ科二枚貝類であるシチヨウシンカイヒバリガイ *Bathymodiolus septemdierum* およびマガキ *Crassostrea gigas* を研究対象に選び、DMT の単離および機能解析を試みた。その結果、シチヨウシンカイヒバリガイおよびマガキから、それぞれ二つずつの DMT 様配列の取得に成功した。両者を用いて分子系統解析を行った結果、これらは異なるクレードに属し、片方は既知のヒト DMT 等と同じクレードに属したが、もう一方は独立したクレードを形成した。この得られた二つの DMT 様配列を DMT-1 と DMT-2 として、重金属曝露による遺伝子発現応答解析および組織内金属濃度測定を行った。しかしこれら解析によって、明確な傾向を見出すことはできなかった。

そこで第二章において、オニヒトデを対象生物として DMT の探索を行ったところ、同種においても二つの DMT 様配列 (ApDMT-1 と ApDMT-2) の単離に成功した。そこでこれら DMT 様配列 ApDMT-1 および ApDMT-2 の構造・機能解析を試みた。また、立体構造の 3D モデルを作成し、そのモデル上で、金属輸送における機能的に重要なアミノ酸残基と金属の距離を比較した。これらの結果は、両タンパク質の類似性を示唆し、機能に違いがあると結論付けるには至らなかった。一方シンテニー解析の結果、ApDMT-1 と ApDMT-2 は同一の scaffold 上に存在していたもののその距離は 900 kb 以上離れており、これら遺伝子の分岐はとて古いことが考えられた。

第三章においては、両遺伝子の起源と分布を探るべく、オニヒトデのみならず、全ゲノムが読まれている多くの生物を対象とし、データベースを用いた探索を行い、さらにこれにより得られた配列を用いて分子系統解析を行った。その結果、動物において DMT 様配列は二つのクレードに分かれることが明らかとなった。片方のクレードにはヒトやラットの DMT といった既知 DMT が含まれ、このクレードに ApDMT-2 も含まれたため、ApDMT-2 がオニヒトデ DMT であると考えられた。一方のクレードは ApDMT-1 と未知の DMT 様配列で構成されていた。このため、こちらのクレードに属する配列は新規タンパク質であると判断し、DMT に関連するなんらかのタンパク質であるとして、DMT-related protein, DMTRP と命名した。DMTRP を保有する生物は全て海産動物であった。このことから、DMTRP は海産動物特異的な輸送体であることが示された。

第四章においては、DMT と DMTRP の機能を、アフリカツメガエル卵母細胞上での電気生理学的解析、組換え酵母を用いたスポットアッセイ、および組換え酵母を各種重金属を含む培地中で培養して金属取込量の測定を行うことで解析した。電気生理学的手法においては機能に関する明確な結果は得られなかったが、スポットアッセイにより、両者の機能が異なる可能性が示された。金属取込量測定の結果、オニヒトデ DMT は既報の DMT において輸送が報告されている金属に関して、細胞内濃度が上昇する傾向が見られたが、オニヒトデ DMTRP は、金属濃度、とくに亜鉛の細胞内濃度を低下させることが明らかとなった。亜鉛は、いくつかの生理機能に必須の金属である一方、細胞内濃度が上昇すると毒性を示す。また、亜鉛は陸上や淡水環境中よりも、海洋環境中において豊富であることが知られている。このため、海洋環境中では、淡水中や陸上に比べて細胞内の亜鉛濃度を適正範囲内に維持する努力が

必要であり、海産動物特異的な DMTRP はその機能を担っている一方、淡水や陸上ではその機能はむしろ不利に働くと考えられた。

進化的な観点から分子系統解析の結果を見ると、脊椎動物や昆虫の系統からの DMTRP 遺伝子の消滅は、独立したイベントであると考えられる。例えば、DMTRP はナメクジウオからは検出されたが、進化の過程で海洋環境以外への進出経験のないヌタウナギからは検出されなかったことから、DMTRP の消失は、淡水に移行する前の脊椎動物の祖先で起こったと考えられた。また、DMTRP は海産の甲殻類や昆虫にも存在しないことから、その消失は節足動物に共通していると考えられ、さらに、線虫からも DMTRP が検出されないことから、DMTRP の消失は脱皮動物の祖先でも起こったことが示唆された。本研究の結果は、淡水および陸生動物が DMTRP を失った系統のみから進化したことを示唆している。DMTRP は進化的に、淡水・陸上進出における障害となっており、動物を海洋環境に限定している、「進化的足かせ」であると考えられる。