

論文審査の結果の要旨

氏名 磯和 幸延

本論文は、現生腕足動物の炭酸カルシウム殻体に含まれる基質タンパク質の一次構造、組成、および発現量を、殻体抽出物のプロテオーム解析と殻体を分泌する外套膜のトランスクリプトーム解析により網羅的に明らかにした世界初の成果であり、腕足動物の殻体形成の分子機構とその進化について、新たな描像を示した。

全4章からなる本論文の第1章では、腕足動物の殻体と軟体部の形態的特徴、系統学的位置、殻体有機基質に関する先行研究が紹介され、近年行われた硬組織の基質タンパク質の網羅的研究に関する知見がまとめられている。その上で、本研究が、腕足動物における殻体形成機構と、「カンブリア爆発」における骨格進化過程を理解するうえで重要であることが述べられている。

第2章では、相模湾より採取された腕足動物嘴殻亜門ハウズキョウチンガイ (*Laqueus rubellus*) の殻体タンパク質の網羅解析の結果が議論されている。この解析により、77種の殻体タンパク質が同定された。先行研究で唯一部分配列が報告されていた腕足動物の殻体タンパク質 ICP-1 も同定され、それが本種殻体中でもっとも多く存在するタンパク質であることが解明された。その他にウニとカキの硬組織中でも存在が知られる MSP130 も本種殻体中に見出された。加えて、他の動物門にも配列が知られる細胞外タンパク質、消化酵素及びその阻害タンパク質や、 Ca^{2+} の結合ドメインである EGF-CA と EF-hand をもつタンパク質が同定された。一方で77種のタンパク質のうち48種は既知のタンパク質と類似性を示さない新規タンパク質であることが判明した。これらの中には細胞膜への局在を示す膜貫通領域をもつタンパク質が多く見つかった。特に、膜貫通領域のほかに Ca^{2+} との結合領域と H^{+} との相互作用が予測される NAD(P)結合領域を併せもつマルチドメインタンパク質は石灰化制御の観点から特筆される。また、 HCO_3^- との相互作用が予測される塩基性のアミノ酸を多くもつタンパク質も多く同定された。

第3章では本研究とは独立に分析が進められた腕足動物他種や軟体動物の殻体タンパク質との比較結果が記述されている。炭酸塩骨格をもつ腕足動物嘴殻亜門内での比較では *Laqueus rubellus* と同じ目に属する南半球の *Magellania*

venosa との間で両者の約半数の殻体タンパク質が共通していることがわかった。これらの中には細胞外タンパク質や消化酵素、その阻害タンパク質などが含まれるとともに、多くの新規タンパク質がみられ、その機能的な重要性が推察された。リン酸塩骨格をもつ腕足動物舌殻亜門 *Lingula anatina* の殻体タンパク質との比較からは、活性酸素の分解に関与する Peroxidasin、細胞外タンパク質である P-selectin、SCO-spondin、Fibropellin-1、タンパク質分解酵素である Neurotrypsin が共通することがわかった。一方で、それぞれの分類群で同定された新規殻体タンパク質は全く共通性を示さないことが判明した。軟体動物との比較からは、Peroxidasin、P-selectin、MSP130 が腕足動物と共通しており、これらが進化的に独立にリクルートされた可能性が示された。

第 4 章では本研究で得られた結果を全てまとめ、データの網羅性、腕足動物における殻体石灰化の分子メカニズム、カンブリア紀における殻体の進化が総合的に議論された。網羅性に関しては、完全長配列でないタンパク質の割合 (31/77) や未同定 MS スペクトラムの割合 (90%) に関して改善の余地があるものの、網羅的とされる他の類似研究を上回る数の殻体タンパク質が同定されたことから、本研究の網羅性は高いと判断された。石灰化の分子メカニズムに関しては、炭酸塩形成に必要なイオンとの相互作用が予測されるタンパク質が同定されたとともに、外套膜と密着した領域で殻体が形成される腕足動物特有の石灰化メカニズムも推察された。また、消化酵素とその阻害タンパク質に関しては、殻体タンパク質の存在量を調節することで、殻体形成が起こる場所や時間を制御するという新たな解釈を提唱した。一方、多くの新規殻体タンパク質が腕足動物の亜門間で共通しないことから、炭酸塩骨格とリン酸塩骨格が腕足動物で独立に進化した可能性を示した。

以上述べたように、本論文は、腕足動物の殻体プロテオーム解析により、殻体形成の分子機構とその進化に新知見をもたらしたオリジナリティの高い研究成果である。なお、本論文第 2 章は、更科功、大島健志朗、紀藤圭治、服部正平、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。