

審査の結果の要旨

氏名 長崎 稔拓

本論文は、深海の熱水噴出域の優占種である二枚貝シチヨウシンカイヒバリガイを対象として、分子生物学的手法および生化学的手法を用いてヒポタウリン合成機構の解明を試みたものである。ヒポタウリンは、熱水噴出域周辺に生息する生物の組織に高濃度に含まれる化合物であり、硫化水素と結合してチオタウリンに変化することで、硫化水素の毒性回避に寄与すると考えられている。しかし、これらの生物のヒポタウリン合成・蓄積機構については、これまで全く分かっていなかった。

本論文では、まず始めに、哺乳類のタウリン合成経路を参考に、ヒポタウリンの生合成経路に関わる酵素の cDNA の探索を行った。その結果、哺乳類で確認されている「システインスルフィン酸 (CSA) 経路」「システアミン経路」「システイン酸経路」の 3 つの合成経路のうち、CSA 経路を触媒する 2 つの酵素、システインジオキシゲナーゼ (CDO) およびシステインスルフィン酸デカルボキシラーゼ (CSAD) の cDNA の単離に成功した。また、両遺伝子が、環境水と直接接触する鰓で強く発現していることを明らかにした。

続いて、組織中に含まれるヒポタウリン、チオタウリンや、その合成中間体である CSA や、システイン酸、システアミン等を、逆相 HPLC を用いて一斉分析する方法を検討した。その際、不安定な中間体が誘導体化処理中に別の物質に変化してしまう問題が生じたが、中和処理に用いるトリエチルアミンの代わりにアンモニア水を用いることで問題を解決した。また、多くの物質を同時に分析するためピークの分離が困難であったが、液相の混和条件を詳細に検討し、ヒポタウリン合成に関わる物質を迅速に一斉分析できる系を確立した。

確立した分析系を駆使して、硫化物や、高浸透圧・低浸透圧条件に曝露した個体の組織におけるヒポタウリンや合成中間体の分析を行った。しかし、与えた条件の範囲では、ヒポタウリン、チオタウリンおよび各合成中間体や各種遊離アミノ酸には顕著な変化は認められなかった。以上より、少なくとも与えた条件の範囲では、環境条件に迅速に応答して遊離アミノ酸組成が変化することはないことがわかった。

さらに、組織中の酵素活性の検討を行った。まず生きた貝に合成の出発材料となるシステインや、L-シスタチオンを注射して、体内でのヒポタウリンや中間体の生成を分析した。しかし、投与した物質は血リンパ中を循環するものの、組織には殆ど取り込まれないことが分かった。次に、鰓組織の磨砕液に基質を加えて酵素活性を検出しようと試みたが、明確な結果は得られなかった。しかし、組織磨砕液の遠心上清を透析したものを用いれば酵素活性を測定できることがわかったため、この方法を用いて、タウリン合成経路の酵素活性からの証明を試みた。鰓と消化盲囊について酵素活性を測定した結果、CSA をヒポタウリンに変換する活性が認められ、CSAD 遺伝子の存在と矛盾しない結果となった。また、哺乳類の CSAD ではシステイン酸からタウリンへの反応も触媒することが報告されているため、その反応も検討したところ、当該活性が認められた。しかし、競合実験により、システイン酸からタウリンへの反応よりも、CSAD からヒポタウリンへの反応の方が活性が高いことが分かった。この結果は、浅海に棲む貝での先行研究とは逆の結果となった。さらに、基質としてシステアミンを加えても、ヒポタウリンが生成されることが分かった。このことは、遺伝子が検出されていないシステアミンデカルボキシラーゼ (ADO) の存在を示唆する。また、この実験において、反応産物はヒポタウリンだけでなく、チオタウリンとしても生じることが分かった。この現象に気付いたことも、多種化合物の同時分析系を確立した本研究の成果と言える。これまで報告されている哺乳類や魚類の ADO 活性の分析では、チオタウリンは測定されていないため、活性が過小評価されてきた可能性がある。これらの結果より、シチヨウシンカイヒバリガイは哺乳類で確認されている 3 つの合成経路全てを持ち、そのうち CSAD による CSA からヒポタウリンの合成と、システアミンからのヒポタウリン合成の活性が高いことが分かった。

以上のように、本論文は、熱水噴出域に生息する貝類のヒポタウリン合成系を解明し、その経路がタウリンよりもヒポタウリンの合成が優先されるように調整されていることを示し、特殊環境への適応戦略の一端を解明した。同時に本研究は、知見の乏しい貝類のタウリン合成経路についても新しい情報を提供するものとなった。さらに、関連物質の一斉分析系を確立することにより、貝類の特徴的成分であるタウリンの代謝の研究のために有用な分析法を開発した。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士 (農学) の学位論文として価値あるものと認めた。