

## 論文審査の結果の要旨

氏名 北條 幹

本論文は3章からなる。第1章に先立ち、イントロダクションの章があり、バイオミネラルの概説や、その形成に重要な役割を果たす「有機基質」と呼ばれる有機物の分類がなされている。また、魚類の耳石（炭酸カルシウム結晶）についての基礎的な情報と、バイオミネラルの研究におけるモデルとしての有用性が説明される。

第1章では、耳石形成に異常を示すメダカ *ha* 変異体の詳細な表現型解析と原因遺伝子の同定について述べられている。耳胞形成に始まり、繊毛、耳石成分など耳石形成に関わる重要な構造物や分子について、野生型胚と比較しながら、*ha* 胚の表現型を観察した。これらの結果から、*ha* 変異体においては耳石形成の極めて初期に異常あり、耳石の結晶化が起こらないことを示した。次に、遺伝子マッピングによりこの変異体の原因遺伝子が新規遺伝子の PKS（「OIPKS」）であることを特定し、この遺伝子が耳胞で一過的に発現することを示した。PKS は菌類や細菌類に広く存在する遺伝子であり、複数の酵素ドメインを一つのポリペプチドに持ち、ポリケタイドという生物活性の高い化合物を産生することで知られる。

第2章は、OIPKS と、その未知の産物に着目した内容である。まず、1 アミノ酸欠失を起こす mRNA を用いたレスキュー実験から、各酵素ドメインが必須であることがわかり、抗体染色により OIPKS が耳胞上皮の内腔側に位置することを示した。また、*ha* 胚に野生型細胞を移植したキメラ実験からは、OIPKS タンパク質が、ごく少量で、耳胞内の局在とは無関係に耳石形成に寄与していることが明らかにされた。さらに、糸状菌の *Aspergillus Oryzae* の発現系を用い、OIPKS を導入した菌株から OIPKS の産物を溶媒抽出した。この抽出液を *ha* の飼育水に添加するだけで、耳石の形成が回復したことから、溶媒抽出される化合物が胚に浸透して、耳石形成に関与すると推測された。第1章と第2章の結果から、OIPKS は耳石形成のごく初期に耳胞上皮に発現し、ポリケタイドを耳胞内に供給することによって、耳石の結晶核の形成を促進すると考察している。

第3章では、PKS 遺伝子の動物界での広がりや、機能的保存性について述べられている。ゲノムデータベース検索により、OIPKS に類似する PKS 遺伝子は、サンゴ、線虫、脊椎動物にまで広く存在していることが示された。また、ウニの PKS 遺伝子が骨片の結晶化に必須であることがわかり、PKS が炭酸カルシウムの結晶化で果たす機能の保存性が示唆された。

第3章に続き、ジェネラルディスカッションの章があり、骨形成との類似性や、海洋生物における PKS とバイオミネラル形成についての考察がなされている。

本研究では、バイオミネラル形成にかかわる新たな因子 PKS を同定し、PKS が結晶化の促進という重要な機能を果たすことが証明された。これまでバイオミネラルの結晶核の形

成を制御する分子はほとんど知られておらず、ゼブラフィッシュの変異体スクリーニングでも単離されていない因子を今回発見したことは新規性の高い研究であると評価できる。表現型解析において、重要な因子である **Starmaker** タンパク質の配置や、繊毛の観察が技術的な問題で不可能だったが、**TEM** 観察など可能な限りの補完実験が行われており、*ha* 変異体が核形成に異常を持つことを示唆することができた。ただし、核形成を促進する因子であることを証明するには、さらなる *in vitro* 結晶化誘導実験の実験が必須であるため、最終的な結論においても示唆的な主張であると解される。

また、これまで高等動物ではほとんど議論されてこなかった **PKS** 遺伝子が、脊椎動物で働くことを初めて証明したことは、発生学だけでなく、天然化学や薬学の分野へ与える影響が大きく、意義深いものである。本論文で **OIPKS** の産物を単離・同定できなかったことは主張を弱めるが、糸状菌からの抽出液で耳石形成が回復した結果は、ポリケタイド様の活性のある化合物が確かに機能したことを示すものであり、大きな成果と言える。

最後に、**PKS** が動物界に広く存在することと、ウニ **PKS** が骨片の結晶化に関与することを示した結果は重要である。今後の動物の **PKS** 遺伝子の情報の集積が欠かせないが、カルシウムや二酸化炭素のサイクルや形態形成の進化を考えるうえで、ひとつの手掛かりとなる研究成果である。

なお、本論文のうち、第1章の一部については平成21年度修士課程・尾見歩惟との共同研究であり、第2章の糸状菌の実験については農学生命研究科の大西研究室および日本女子大学新藤研究室との共同研究である。しかし、論文提出者が主体となって分析およ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。また、ウニの研究については、臨海実験所およびお茶の水女子大学清本研究室との共同研究であり、考察で議論するにとどまっている。

上記より、博士（理学）の学位を授与できると認める。