

氏名(本籍)	桑田隆生(栃木県)		
学位の種類	博士(理学)		
学位記番号	博甲第2514号		
学位授与年月日	平成13年3月23日		
学位授与の要件	学位規則第4条第1項該当		
審査研究科	生物科学研究科		
学位論文題目	Molecular Evolution of the Hemocyanin Subunits and Higher Classification in Mygalomorphae (トタテグモ類のヘモシアニンサブユニットの分子進化及び高次分類)		
主査	筑波大学教授	理学博士	平林民雄
副査	筑波大学教授	理学博士	井上勲
副査	筑波大学教授	理学博士	牧岡俊樹
副査	筑波大学助教授	理学博士	杉田博昭

論文の内容の要旨

節足動物の酸素運搬タンパク質ヘモシアニンは分子量約75,000の複数のサブユニットからなり、6・12・24量体を形成している。ヘモシアニンのサブユニットには6量体を形成する通常のヘモシアニンモノマーと、ジスルフィド結合あるいは非共有結合によりヘモシアニンダイマーを形成し6量体同士の結合に関与するサブユニットがある。節足動物のヘモシアニンサブユニットは共通の祖先分子に由来し、遺伝子の重複や欠損を経て複雑な分布を示すようになったと考えられる。節足動物のヘモシアニンとフェノールオキシダーゼや昆虫類のヘキサメリンなどの類似性が議論されているが、ヘモシアニンの分子進化に関する研究は皆無に等しい。本研究では、原始的なクモ類であるトタテグモ類のヘモシアニンサブユニットのアミノ酸配列の解析結果に基づき、トタテグモ類の系統関係及びヘモシアニンサブユニットの分子進化について論じている。

トタテグモ類4科7種(カネコトタテグモ科カネコトタテグモ、エゾトタテグモ;ジグモ科ジグモ;トタテグモ科キシノウエトタテグモ、キノボリトタテグモ;ジョウゴグモ科オオクロケバジョウゴグモ、ヤエヤマジョウゴグモ)のヘモシアニンモノマー22個及びヘモシアニンダイマーを構成するモノマーサブユニット10個のN末端アミノ酸配列を決定し、オオツチグモ科の*Aphonopelma californicum*のヘモシアニンサブユニットの配列を加え、比較して、よく似た配列を持つオルソロガスなヘモシアニンサブユニットのグループが8つ(グループAからH)存在することを明らかにした。そのうち6グループのサブユニットは、それぞれ共有派生形質と見なせる特徴的なアミノ酸残基を持っていた。グループAからFは通常のヘモシアニンモノマーからなり、グループGとHはヘモシアニンダイマーを構成するモノマーサブユニットからなる。グループAとBのサブユニットは互いによく似た特徴を共有することから、近縁なサブユニットのグループと推定された。これらのヘモシアニンサブユニットのトタテグモ類における分布状態から、進化の過程でグループAからFのサブユニットの重複や欠損が頻繁に生じていたことが推定された。グループAとBのサブユニットはカネコトタテグモ科・ジグモ科に、グループCとDのサブユニットはトタテグモ科・ジョウゴグモ科、オオツチグモ科に、グループEのサブユニットはトタテグモ科・ジョウゴグモ科に、グループFのサブユニットはジョウゴグモ科のみに存在していた。グループGとHのサブユニットは、グループAからFのサブユニットとは異なり、トタテグモ類に広く受け継がれていた。

グループGあるいはHのサブユニットのアミノ酸配列を比較すればトタテグモ類全体の系統関係を推定できることが明らかになったので、グループGのサブユニット、ジグモのAKdla、キシノウエトタテグモのLTdla、オオ

クロケブカジョウゴグモのMGdlaのアミノ酸配列を、それぞれ424残基、274残基、357残基決定した。これら3個のサブユニット、既知のオオツチグモ科のグループGのサブユニットACb、既知の鋏角類のヘモシアニンサブユニット6個及び甲殻類のヘモシアニンサブユニット1個を用いて分子系統樹を作製した。

グループAからHのヘモシアニンサブユニットの分布状態及びグループGサブユニットの分子系統樹は、形態形質に基づくGoloboffのトタテグモ類の分類体系を支持した。

さらに、グループHのサブユニット、オオクロケブカジョウゴグモのMGdlbのアミノ酸配列331残基を決定し、作成した分子系統樹は、ヘモシアニンダイマーの構成モノマーサブユニット(グループGとHのサブユニット)の単系統性を、すなわちグループGとHのヘモシアニンサブユニットが共通の祖先分子由来であることを示した。ヘモシアニンダイマーの構成モノマーサブユニットを含めた鋏角類のヘモシアニンサブユニットの単系統性も示されたことから、鋏角類のヘモシアニンダイマーは、甲殻類のヘモシアニンダイマーとは独立に、6量体同士の結合に関与する機能を獲得したと推定できた。

オルソロガスなヘモシアニンサブユニットのアミノ酸配列を指標とした種の系統解析は本研究が初めてであり、ヘモシアニンサブユニットの分布状態がクモ類の分類の新たな指標となりうることも初めて示せた。

審 査 の 結 果 の 要 旨

本論文は、アミノ酸配列データを用いたクモ類の系統分類及び分子進化に関する最初の報告である。ヘモシアニンサブユニットのアミノ酸配列を用いて分子系統樹を作成し、種の系統及びヘモシアニンの分子進化を論じることができた。著者は、ヘモシアニンサブユニットのN末端アミノ酸配列比較により、種の系統樹作成に必要なオルソロガスな関係にあるサブユニットを特定できること及びサブユニットの分布状態から種の系統関係を知ることができることを明らかにした。サブユニット分子の全アミノ酸配列を決定することができなくても、ヘモシアニンのN末端アミノ酸配列を用いて節足動物の系統関係や進化の研究ができることが示されたので、節足動物の系統分類学的研究の一層の発展を期待できる。

よって、著者は博士(理学)の学位を受けるに十分な資格を有するものと認める。