

氏名(本籍)	たけ 竹	うち 内	たけし 猛	(東京都)
学位の種類	博士(理学)			
学位記番号	博甲第4666号			
学位授与年月日	平成20年3月25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	生命環境科学研究科			
学位論文題目	Expression and Function of the Acidic Shell Protein Aspein in the Pearl Oyster <i>Pinctada fucata</i> (アコヤガイ酸性貝殻タンパク質アスペインの発現と機能)			
主査	筑波大学准教授	Ph.D.	遠藤 一佳	
副査	筑波大学教授	理学博士	小笠原 憲四郎	
副査	筑波大学教授	理学博士	指田 勝男	
副査	東京大学教授	農学博士	長澤 寛道	

論文の内容の要旨

真珠の母貝として知られるアコヤガイ (*Pinctada fucata*) の酸性貝殻タンパク質アスペインの性質に関して、陽イオン結合能の測定、in situ ハイブリダイゼーション、およびアスペインのリコンビナントタンパク質を用いた in vitro 結晶合成実験によって考究した。その結果、アコヤガイの貝殻では、真珠層より菱柱層が貝殻重量あたりより多くの水溶性タンパク質を含み、タンパク質重量あたりの陽イオン結合能も菱柱層から抽出したタンパク質の方が高いこと、すなわちアラゴナイトでできた真珠層とカルサイトでできた菱柱層では含まれるタンパク質の性質が異なることが確かめられた。また、アスペイン遺伝子は幼生期には発現せず、成体殻外側の菱柱層に対応する外套上皮細胞のみで発現していること、すなわちアスペインは成体の貝殻菱柱層の形成に特異的に関与していることが示唆された。さらに、in vitro の結晶合成実験において、Mg イオンを多く含む組成で、通常ならばアラゴナイトが沈殿する外套膜外液を模した溶液に、アスペインのリコンビナントタンパク質を加えるとアラゴナイトではなくカルサイトが沈殿することを示した。つまり、アスペインはアコヤガイの菱柱層においてカルサイトを選択的に沈殿する働きを持っており、単一のタンパク質の働きにより結晶多形制御が行われ得ることを実験的に明らかにした。また、アスパラギン酸を多く含むDドメインを除去したリコンビナントタンパク質はカルサイトを選択的に沈殿する働きを示さなかったことから、カルサイトの選択的沈殿においてはDドメインが必要不可欠であることも示した。

審査の結果の要旨

本論文はアコヤガイの酸性貝殻タンパク質アスペインの発現と機能に関して、幼生期でのアスペイン遺伝子の発現や、天然のアコヤガイ外套膜外液の状態に近い、Mg イオンを多く含む溶液組成下での酸性貝殻タンパク質の挙動を詳細に検討した論文である。軟体動物幼生での貝殻タンパク質の発現を調べた初めての研究であり、アラゴナイト殻体が祖先的でカルサイト殻体が後から進化したという系統発生過程と平行な関係を示している点で進化的にも意義深い。また、アラゴナイトの選択的沈殿に関する研究はあるが、カ

ルサイトの選択的沈殿に関して、実際の貝殻タンパク質の配列を用いて行われた *in vitro* の実験としては初めてのものである。実験結果もクリアであり、新規性と実験結果の信頼性が評価できる。一方で、(1) 本論文と密接に関連する修士論文の内容の紹介がやや不十分である、(2) リコンビナントタンパク質の実験方法・結果の記述が一部不足しており、リコンビナントタンパク質の全長配列の合成ができない理由を考察する材料に乏しい、(3) アスペインの貝殻タンパク質としての存在（発現部位、発現量）が結局明らかになっていない、(4) アスペインの *in vivo* での機能解析実験や *vivo* と *vitro* をつなぐ定量的実験をする必要がある、(5) カルサイト海、アラゴナイト海の地質学的変遷との進化的対応や生態的機能との関連などをさらに検討すべきであるなど、本論文の欠点や今後の課題も指摘することかできるが、(3) (4) (5) は世界でこれまで誰も踏み入れたことのない未知の領域であり、本論文の成果をふまえた上での今後の研究に期待したい。

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。