

氏名 小柳香奈子  
 学位(専攻分野) 博士(理学)  
 学位記番号 理博第2228号  
 学位授与の日付 平成12年3月23日  
 学位授与の要件 学位規則第4条第1項該当  
 研究科・専攻 理学研究科生物科学専攻  
 学位論文題目 プロテインホスファターゼ遺伝子族の多様化に関する分子進化的解析

論文調査委員 (主査) 教授 宮田 隆 教授 七田芳則 教授 平野丈夫

### 論文内容の要旨

現在の分子進化学は、分子の比較から生物が辿った進化の道筋を再現する分子系統学と、分子進化の中立説に代表される分子そのものの進化機構の解明を目的とする研究分野とに分かれて大きく発展してきた。しかしそもそも分子進化学が目指していた目標は形態進化の分子的理解にあった。生物進化と分子進化がどう関連しているかという問題は今後の分子進化学に残された最大の課題といえる。この問題を解明する第一歩として、申請者は、「生物の進化に伴って、遺伝子の多様化はどう進んだか」という問題に取り組んできた。遺伝子の多様化の基本的メカニズムは遺伝子重複であり、一つの祖先遺伝子から生物進化の過程で何重にも遺伝子重複を繰り返した結果、多数のメンバーから構成された一つの大きな遺伝子族へと発達する。現在ではこうした遺伝子族が多数知られている。遺伝子重複による遺伝子の多様化と、形態レベルでの多様化には明らかな関連があるのであるか? 例えば、カンブリア紀と先カンブリア時代の境で、現在の主要な動物門が爆発的に進化したとされている(カンブリア爆発)。この形態レベルの爆発的多様化に呼応して、新しい機能を持った遺伝子が遺伝子重複によって一斉に作られたのであろうか?。

このことを解明するために申請者は、多細胞動物になってから多様化したと考えられているプロテインチロシンホスファターゼ(PTP)の分子系統学的解析を行った。PTPは細胞間シグナル伝達系に関与する遺伝子で、多数の機能・構造的に異なるメンバーからなる、大きな遺伝子族を形成している。PTP遺伝子族が遺伝子重複によって多様化した時期を分子系統学的に推定するため、申請者は、最も原始的な多細胞動物である海綿(カワカイメン)を材料にcDNAクローニングを試み、10種類のPTP遺伝子の単離に成功した。単離した遺伝子に、すでに報告されている多種多様な生物からの遺伝子を含めて、PTP遺伝子族の分子系統樹を再現した。その結果、PTP族においては、動物界最古の分岐である海綿動物と真正後生動物の分岐(およそ9億年前)以前に、機能の異なる遺伝子(サブタイプ)の多様化がほぼ完了していたことが明らかになった。このことは、細胞間接着も細胞間協調もほとんど見られないといわれているカイメンの祖先が、高等脊椎動物が持つ基本的遺伝子のセットをすでに持っていたということを意味する。

申請者はさらに、同一サブタイプに属する、機能・構造が同じ遺伝子(アイソフォーム)がいつ頃多様化したかを明らかにするために、PTP遺伝子族の中から5つのサブタイプ[PTPR4, PTPN3, PTPR5, PTPN6, PTPR2A]を選び、それぞれについて、脊椎動物に最も近縁な無脊椎動物ナメクジウオ、最も原始的な脊椎動物であるヌタウナギ(円口類)、及び軟骨魚類エイから遺伝子の単離を試み、分子系統学的解析を行った。その結果、遺伝子重複によるアイソフォームの多様化は無顎類と有顎類の分岐(およそ5億年前)とほぼ同時か、それより少し前に急速に起きていたことが明らかになった。さらに、プロテインセリン/スレオニンホスファターゼ(PP)遺伝子族の解析から、真核生物の進化の初期にも高い頻度の遺伝子重複を見つけている。

こうして申請者は、プロテインホスファターゼ族においては、生物進化の過程で、遺伝子は徐々に多様化したのではなく、断続的に多様化したことを示した。この結果から申請者は、遺伝子多様化の時期とカンブリア爆発が起きた時期が時間的にずれていることから、遺伝子重複による遺伝子多様化はカンブリア爆発の直接の引き金ではなく、むしろカンブリア爆発は

新しい遺伝子を生成することなく、既存の遺伝子を利用することで達成された可能性を示唆した。

### 論文審査の結果の要旨

申請者の研究は、分子進化学に残された最重要課題の解明に向けて、その糸口を掴むことを目的としてなされたものである。申請者は、生物の形態レベルの進化と分子レベルの進化がどのように関連しているかを明らかにするために、およそ6億年前に起きた主要な動物門の爆発的な多様化（カンブリア爆発）が起きた当時、この形態レベルの多様化に呼応して遺伝子レベルでも急速な多様化が進んだのであろうか、という問題を中心に研究を進めた。

申請者はまず、多細胞動物に特異的に存在するプロテインチロシンホスファターゼ（PTP）族が多細胞動物の進化の過程で、遺伝子重複によってどのように多様化したかを明らかにするために、多細胞動物中最も原始的なカイメンから多数のPTP遺伝子をクローニングし、塩基配列を決定した。それらの配列に、既に報告されている他種の配列を加えてPTP遺伝子族の分子系統樹を推定し、遺伝子重複による遺伝子の多様化の時期を見積もった。その結果、カンブリア爆発に先行すること約3億年前に、単細胞生物から多細胞動物が進化したごく初期の段階で遺伝子重複が爆発的に起こり、1億年足らずで現在の多細胞動物にみられる多様な基本的遺伝子（遺伝子族のサブタイプに対応する）の創造が完了していたことが明らかになった。すなわち、大方の予想に反し、カンブリア爆発当時、新しい機能を持つ遺伝子を生み出す遺伝子重複はほとんど起きていなかったという事実が明らかになった。さらに、ナメクジウオなどの頭索類から枝分れした脊椎動物が、その進化の初期に、おそらく現存する脊椎動物で最初の分岐である無顎類（メクラウナギ、ヤツメウナギ）と有顎類の分岐（およそ5億年前）以前あるいはその周りで、今度は別のタイプの遺伝子重複、すなわち基本的機能に於いてはほぼ同じだが、しばしば発現している組織が異なるアイソフォームを作った遺伝子重複が急速に進んだことを明らかにした。こうした2段階の遺伝子多様化に加え、プロテインセリン/スレオニンホスファターゼ（PP）の分子系統学的解析から、真核生物の進化のごく初期に、もう一つの遺伝子多様化が急速に起きていたことも明らかにしている。

こうしてホスファターゼ遺伝子族の多様化は少なくとも3つの異なる期間に急速に進んだことが明らかになった。この遺伝子の断続的多様化パターンから申請者は、遺伝子の爆発的多様化はカンブリア爆発の直接の引き金ではなかったということを示唆した。この知見は、形態進化と分子進化の関連を考える上できわめて重要である。すなわち、カンブリア爆発と遺伝子爆発との間にはあきらかな時間的ずれがあり、カンブリア爆発の分子機構を理解するには、新しい遺伝子を作るというハードの視点ではなく、すでにある遺伝子をいかに利用してカンブリア爆発を達成したかというソフトの視点が重要であることを示唆している点でも、この論文を高く評価することが出来る。

このように申請者は、これまでほとんど具体的に研究されることのなかった「生物の形態進化と分子進化の関連」に関する研究に取り組み、新しい遺伝子の創成よりも、既存の遺伝子を繰り返し利用することでカンブリア爆発が達成された可能性があるという新しい考えを提示した。この結論は、今後の生物多様性の分子機構を研究する上で、重要な認識であり、その学問的意義は極めて大きいと考えられる。

よって本論文は、理学博士の学位論文を授与するに十分価値あるものと判断される。なお、主論文及び参考論文に報告されている研究業績を中心とし、これに関連した研究分野について試問した結果、合格と認めた。