

氏 名	こ 小 やなぎ みつ まさ 柳 光 正
学位(専攻分野)	博 士 (理 学)
学 位 記 番 号	理 博 第 2358 号
学位授与の日付	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
研究科・専攻	理 学 研 究 科 生 物 科 学 専 攻
学位論文題目	ホスホジエステラーゼ族, ホスホリパーゼ C 族, オプシン族遺伝子の 多様化の時期の推定
論文調査委員	(主 査) 教 授 宮 田 隆 教 授 七 田 芳 則 教 授 西 田 栄 介

論 文 内 容 の 要 旨

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。しかし形態進化の分子的理解という分子進化学本来の目標は、未だに達成されておらず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る一つの大きな遺伝子族へと発達する。それでは、この遺伝子重複による遺伝子の多様化と、形態レベルの多様化には関連があるのであろうか？ 例えば、カンブリア紀と先カンブリア時代の境で、現存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、シグナル伝達に関わる遺伝子族、ホスホジエステラーゼ（PDE）族、ホスホリパーゼ C（PLC）族及びオプシン族の分子進化学的解析を行った。これらの遺伝子族の遺伝子重複による多様化の時期を推定するために、申請者はまず、最も原始的な多細胞動物である海綿動物カイメン及び二胚葉動物ヒドラからこれらの遺伝子の単離を試みた。その結果、PDE 遺伝子をカイメンから 4 種類、PLC 遺伝子をカイメンから 2 種類とヒドラから 3 種類、オプシン遺伝子をヒドラから 8 種類単離することに成功した。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の遺伝子を含めて分子系統樹を再現した。その結果、PDE 族及び PLC 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（約 9 億年前）以前に、機能の異なる遺伝子（サブタイプ）の遺伝子重複による多様化がほぼ完了していたことが明らかとなった。また、オプシン族についても、少なくとも半数のサブタイプが二胚葉動物と三胚葉動物の分岐前という動物進化の初期に多様化したことが明らかとなった。

申請者はさらに、各サブタイプの機能ドメインの付加（ドメインシャフリング）がいつ起きたのかを明らかにする目的で、PDE 族及び PLC 族において単離したカイメンの遺伝子と三胚葉動物のホモログのドメイン構造を比較した。その結果、カイメンの遺伝子のドメイン構造は三胚葉動物のホモログのドメイン構造と一致していた。この結果から、PDE 族及び PLC 族においては、遺伝子重複によるサブタイプの多様化だけでなく、ドメインシャフリングによる各サブタイプの機能分化もまた海綿動物と真正後生動物の分岐前に完了していたことが明らかとなった。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、高等脊椎動物の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の意味する。また申請者が解析した PDE 族、PLC 族及びオプシン族は、同様の多様化パターンを示す G タンパク質 α サブユニット族を中心にシグナル伝達のカスケードを構成する。すなわち、シグナル伝達カスケードを構成する個々の遺伝子族の遺伝子重複によるサブタイプの多様化が、動物進化のごく初期に完了していることから、多様なシグナル伝達カスケードを作り出す素材は、動物進化の初期の時点ですでに揃っていたことが示唆された。

こうして申請者は、シグナル伝達に関わる遺伝子族である PDE 族、PLC 族及びオプシン族の遺伝子重複とドメインシャフリングによるサブタイプの多様化が、動物進化のごく初期に完了したことを示した。この結果は、遺伝子多様化がある時期に限定して起きたことを示すとともに、遺伝子多様化の時期とカンブリア爆発が起きた時期との間に時間的な隔たりがあることを示す。このことから申請者は、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の創造によってではなく、すでに揃っていた遺伝子を流用することによって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のかを明らかにするために、約 6 億年前に起きた主要な動物門の爆発的な多様化、すなわち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連動して遺伝子レベルでも急速な多様化が進んだのかという問題を遺伝子族の分子系統学的解析で解明を試みた。

申請者はまず、多細胞動物で多様化したとされるホスホジエステラーゼ (PDE) 族、ホスホリパーゼ C (PLC) 族及びオプシン族が多細胞動物進化の過程で、遺伝子重複によってどのように多様化したの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やヒドラから複数の PDE、PLC、オプシン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、すでに報告されている様々な生物の遺伝子を加えてそれぞれの遺伝子族の分子系統樹を構築し、機能の異なる遺伝子 (サブタイプ) の多様化の時期を推定した。さらに申請者は、サブタイプの機能に密接に関わる機能ドメインの付加 (ドメインシャフリング) が動物進化のどの時期に起きたのかについても解析を行った。その結果、カンブリア爆発に先行すること約 2 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とドメインシャフリングが集中的に起こり、1 億年足らずで現在の多細胞動物にみられる多様なサブタイプの創造が完了していたことが明らかになった。すなわち、従来の考えとは異なり、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やドメインシャフリングは起きていないという事実が明らかとなった。また、申請者が解析した遺伝子族同士がシグナル伝達のカスケードを成すことから、複雑なシグナル伝達カスケードの発達に必要な分子は、動物進化のごく初期の原始的な生物の時点ですでに揃っていたというシグナル伝達カスケードの多様化に関する重要な知見も得られた。

こうして動物のシグナル伝達に関わる遺伝子族の多様化は、動物進化のごく初期に限定して起きたことが明らかとなった。これらの遺伝子族の多様化パターンから申請者は、遺伝子の爆発的な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の爆発的な多様化との間には明らかな時間的ずれがあり、カンブリア爆発の分子機構を考える上で、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できる。

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画期的な結論を導いた。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、新たな方向を指し示すものであり、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、理学博士の学位を授与するに十分価値あるものと判断される。なお、平成13年2月5日、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口頭試問を行った結果、合格と認めた。