平成１５年度採択分
平成２０年３月３１日現在

貝殻形成に関わる遺伝子の網羅的探索
：軟体動物ゲノムプロジェクトに向けて

An exhaustive exploration of the genes involved in molluscan shell formation: a primer for a genome project

遠藤　一佳（Endo Kazuyoshi）

筑波大学・大学院生命環境科学研究科・准教授

研究の概要
本研究は，軟体動物の貝殻形成，つまり(1)貝殻分泌細胞の分化，(2) 貝殻の分泌（石灰化），そして貝殻の形態形成（特に巻貝の巻き）に関与する遺伝子と遺伝子産物を網羅的に探索し，軟体動物の貝殻形成メカニズムとその進化過程を解明し，さらに軟体動物ゲノムプロジェクトの日本における研究拠点を形成することを目的としたものです．

研　究　分　野：数物系科学

科研費の分科・細目：地球惑星科学・層位古生物学

キ　ー　ワ　ー　ド：軟体動物，バイオミネラリゼーション，形態形成，進化発生，ゲノム

１．研究開始当初の背景・動機
貝殻は個体発生過程を記録しており，また硬いため化石記録が豊富です．そのため軟体動物は古生物学と進化発生学の接点であり，ゲノムプロジェクトの重要な標的です．にもかかわらず，貝殻形成の分子機構はほとんど分かっていなかったため，本研究を計画しました．

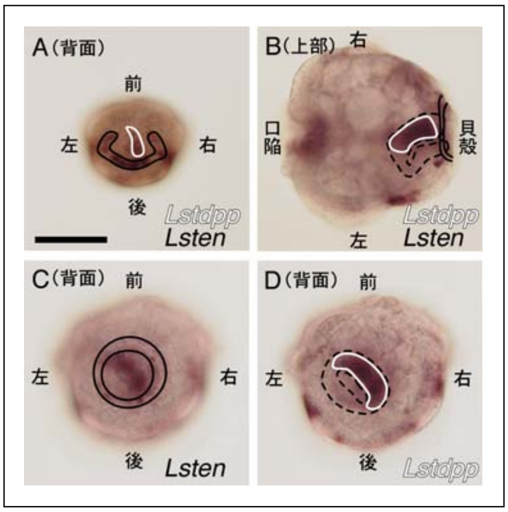
２．研究の目的
(1)貝殻形成のマスター遺伝子（それが機能しないと巻貝がナメクジのようになってしまうもの），(2)貝殻結晶の沈着，阻害，結晶多形制御など貝殻分泌の制御因子，そして(3)貝殻の左右非対称性の制御因子（正確な等角らせんの巻きを制御している因子）を単離・同定し，その機能を明らかにすることによって，貝殻の進化過程や進化機構を考察することを目的とします．

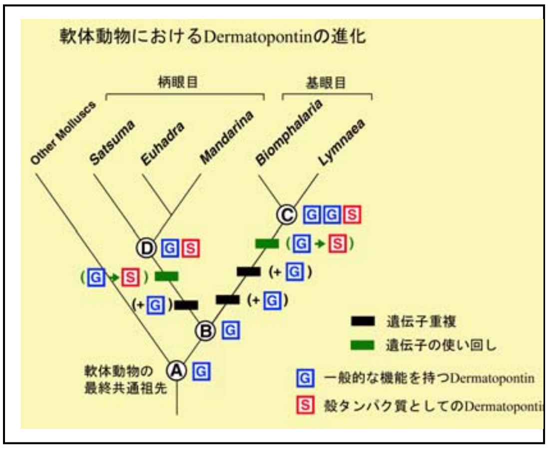
３．研究の方法

淡水生巻貝モノアラガイ *Lymnaea stagnalis* を主たる研究対象とし，RT-PCR 法や HiCEP 法によって目的の遺伝子を単離し，DNA シーケンサー（主な購入設備）を用いて塩基配列を決定します．その配列をもとに in situ hybridization による発現解析や RNA 干渉法による機能解析を行います．

４．研究の主な成果

(1)殻体形成のマスター遺伝子
カサガイの *Patella vulgata* で貝殻腺の周縁で発現することが知られている転写調節因子 *engrailed* と分泌成長因子 *decapentaplegic*（*dpp*）のモノアラガイでの相同遺伝子を単離し，発現パターンを調べました．その結果 *engrailed* は他の軟体動物と同様に貝殻腺の周縁において発現している（図Ａ，Ｂ，Ｃ黒実線）一方で，*dpp* はカサガイとは異なり，陥入している貝殻腺で発現し，しかもその右側（図Ｂ，Ｄ白実線）で発現していることを発見しました（Iijima et al. 2008）．





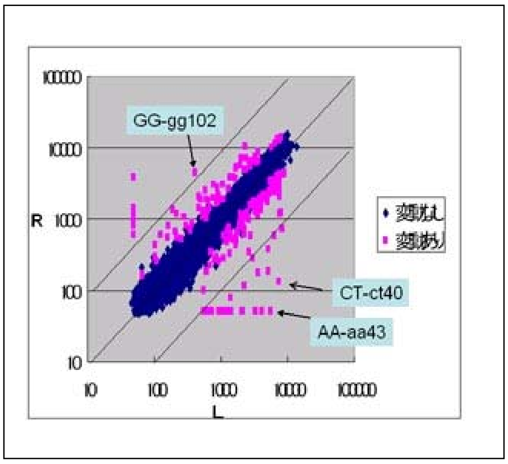
（2）貝殻分泌の制御タンパク質

モノアラガイを含む有肺類 8 種から貝殻基質タンパク質ダーマトポンティンを同定して系統解析を行い，有肺類の中で少なくとも 2 回独立に遺伝子重複が起きたこと，化石記録との比較からその重複は中生代以降に起きたことを明らかにしました（上図：Sarashina et al., 2006）

また，アコヤガイでは，著しくアスパラギン酸に富んだ超酸性貝殻基質タンパク質 Aspein の構造を明らかにし（Tsukamoto et al., 2004)，Aspein がカルサイトの選択的沈殿の制御因子であることを発現パターンの解析と in vitro の結晶成長実験によって示しました（Takeuchi et al., 2006; 2008)．

(3)巻貝の巻きの制御因子

モノアラガイの左巻き個体の外套膜の左側と右側で非対称的に発現している遺伝子を HiCEP 法を用いて網羅的に探索し，合計 11588 個の遺伝子が外套膜で発現していること，また左右で発現量が有意に異なる遺伝子が数十に及ぶことを示しました（下図）．左右で大きな変動を示す 20 個の遺伝子について，その構造と機能の解析を現在も継続して行っています．



５．得られた成果の世界・日本における位置づけとインパクト

本研究で得られた成果は，関連分野での世界の第一線の研究者による総説にも大きくとりあげらており（たとえば Marin et al. 2008, Current Topics in Developmental Biology, 80, 209-276; Zhang and Zhang, 2006, Marine Biotechnology, 8, 572-586 など)，世界的に高い波及性と大きな学術的価値・インパクトを示しています．

６．主な発表論文

（研究代表者は太字､研究分担者には下線）

Iijima, M., Sarashina, I., Takeuchi, T. and **Endo, K.** (2008) Expression patterns of engrailed and dpp in the gastropod *Lymnaea stagnalis*. Development, Genes and Evolution (in press).

Takeuchi, T., Sarashina, I., Iijima, M. and **Endo, K.** (2008) In vitro regulation of CaCO3 crystal polymorphism by the highly acidic molluscan shell protein Aspein. FEBS Letters, 582, 591-596.

Iijima, M., Akiba, N., Sarashina, I., <u>Kuratani, S.</u> and **Endo, K.** (2006) Evolution of Hox genes in molluscs: a comparison among seven morphologically diverse classes. Journal of Molluscan Studies, 72, 259-266.

Sarashina, I., Yamaguchi, H., Haga, T., Iijima, M., Chiba, S. and **Endo, K.** (2006) Molecular Evolution and Functionally Important Structures of Molluscan Dermatopontin: Implications for the Origins of Molluscan Shell Matrix Proteins. Journal of Molecular Evolution, 62, 307-318.

Tsukamoto, D., Sarashina, I. and **Endo, K.** (2004) Structure and expression of an unusually acidic matrix protein of pearl oyster shells. Biochemical and Biophysical Research Communications, 320, 1175-1180.

ホームページ等

http://www.geol.tsukuba.ac.jp/paleobio/member/member.html