



軟骨魚類の繁殖様式と卵黄タンパク質レパートリの 関連性についての進化学的考察

大石, 雄太

(Degree)

博士 (理学)

(Date of Degree)

2023-03-25

(Date of Publication)

2024-03-01

(Resource Type)

doctoral thesis

(Report Number)

甲第8588号

(URL)

<https://hdl.handle.net/20.500.14094/0100482336>

※ 当コンテンツは神戸大学の学術成果です。無断複製・不正使用等を禁じます。著作権法で認められている範囲内で、適切にご利用ください。



(別紙様式3)

論 文 内 容 の 要 旨

氏 名 大石 雄太

専 攻 理学研究科 生物学専攻

論文題目

軟骨魚類の繁殖様式と卵黄タンパク質レパトリの関連性についての進化学的考察

指導教員 倉谷 滋

脊椎動物の繁殖様式は、卵生と胎生の2種類に大きく分類される。さらに、胚発生における栄養源に着目すると、卵生種と多くの胎生種では卵黄のみであるのに対して、一部の胎生種では母体からの供給に依存することが知られている。このような繁殖様式は母体依存型胎生 (matrotrophic viviparity) と呼ばれており、様々な動物系統で複数回独立に獲得されてきた。とくに軟骨魚類では、哺乳類のような胎盤型胎生をはじめとして多様な繁殖様式が存在することが先行研究によって明らかにされてきた。いっぽうで、軟骨魚類の多様な繁殖様式を生んだ遺伝子基盤については、全ゲノム配列情報の不足や生物試料確保の難しさなどの要因からほとんど明らかになっていない。

脊椎動物において、繁殖様式の移行に伴って変化する遺伝子の一つに卵黄タンパク質ビテロジェニン (VTG) が知られている。とくに、胎生哺乳類 (真獣類、有袋類) では、胎盤や授乳といった母体依存型栄養供給の獲得に伴って卵黄タンパク質である VTG ファミリーの遺伝子をゲノム中から完全に喪失したことが知られている。しかしながら、多様な繁殖様式を持つ軟骨魚類の VTG やその受容体である very low-density lipoprotein receptor (VLDLR) については、その遺伝子レパートリの全容や繁殖様式の違いによる種差の有無についてほとんど明らかになっていない。本研究では、軟骨魚類における卵黄関連遺伝子の全容を解明するために、遺伝子配列情報が整備されていない胎生軟骨魚類であるラブカ (*Chlamydoselachus anguineus*) とシロザメ (*Mustelus griseus*) についてトランスクリプトーム情報を取得し、それらを含めた軟骨魚類 12 種の VTG ならびに VLDLR 遺伝子を同定し分子進化的解析を行った。その結果、軟骨魚類では、3 種類から 4 種類の VTG パラログをゲノム中に存在することが示された。また、VLDLR は、軟骨魚類の共通祖先で起きた遺伝子重複によって系統特異的な 3 種類のパラログを保持していることが明らかになった。また、哺乳類とは異なりそれらの遺伝子レパートリは繁殖様式の違いによる種差は存在しないことがわかった。

さらに VTG と VLDLR 遺伝子の発現レベルでの種差の有無を調べるために、胎生種 (ラブカ、シロザメ) と卵生種 (トラザメ *Scyliorhinus torazame*) について組織ごとの RNA-seq データを利用して遺伝子発現プロファイルの比較を行った。その結果、ほかの卵生脊椎動物と同様にトラザメでは VTG 遺伝子が肝臓で高い発現レベルを示すのに対して、胎生種では肝臓だけでなく子宮でも高い発現レベルを示すことが明らかになった。このことは、胎生軟骨魚類の VTG タンパク質が卵黄栄養のみではなく、母親から胎児への栄養供給源としても流用されている可能性を示唆している。以上の結果を総合して、軟骨魚類における VTG や VLDLR 遺伝子レパートリの全容と繁殖様式ごとの発現レベルでの種差は、脊椎動物における繁殖様式の多様性の背景にある遺伝子基盤解明のための糸口となることが期待される。

氏名	大石 雄太		
論文題目	軟骨魚類の繁殖様式と卵黄タンパク質レパトリの関連性についての進化学的考察		
審査委員	区分	職名	氏名
	主査	教授	倉谷 滋
	副査	教授	井上 邦夫
	副査	教授	林 茂生
	副査	国立遺伝学研究所 教授	工樂 樹洋
要 旨			
<p>動物のうち、有性生殖により子孫を残す生物の生殖方法は大きく卵生と胎生に分けられる。脊椎動物に注目すると、胎生の種を多く含む分類群としては、哺乳類の有胎盤類のほかに軟骨魚類が挙げられるが、ヒトを含む前者についての知見が蓄積しているのに対して、サメ・エイを中心とする後者についての研究は非常に限られている。卵生においては、胚への栄養は卵黄から供給されるが、胎生においては、栄養源が卵黄となる場合のほか、胎盤や子宮からの物質供給に頼るケースや、この両方を発生中に切り換えているケースがある。軟骨魚類には、これら多様な栄養供給様式を示す種が混在しており、脊椎動物の生殖様式を究めるうえで格好の対象である。本論文は、蓄積しつつある軟骨魚類の分子配列情報を活用し、その系統関係を念頭においた複数軟骨魚種の種間比較に基づいて、生殖様式の多様性に迫ることを目的として行われたものである。</p> <p>本論文は、第一章「序論」、第二章「材料と方法」、第三章「結果」、第四章「考察」、第五章「展望」から構成される。第一章は、脊椎動物の多様性における軟骨魚類の系統的位置を踏まえて、異なる繁殖様式がどのように分布しているかを論じた。胎生を示す種は多数の系統にまたがって分布していることから、その背後にある分子メカニズムに迫るにあたり複数の種を横断的に比較することの重要性を示した。さらに、生殖様式との明確な関連性がみられる分子として、胎盤を獲得した哺乳類において二次的にゲノムから欠落した卵黄タンパク質ビテロジェニンを選び、これを解析対象とした。</p> <p>第二章は、解析に使用した生物試料や解析手法を記した。入手が非常に困難な2種の軟骨魚類、すなわち、卵黄依存性の胎生を示すラブカと胎盤を有し母体依存性を示すシロザメの組織を採取し、これらに加えて、卵生種のトラザメを比較に加えた。これらの生物から組織ごとの転写産物配列を網羅的に取得し、他の軟骨魚類を含む多様な脊索動物について、公共データベースから取得した遺伝子配列を併せて、遺伝子サブタイプの多様化の進化過程を再現し、それぞれの現存種が有する遺伝子レパトリの由来を明らかにするための分子系統解析を行った。</p> <p>第三章は、まず、卵黄タンパク質ビテロジェニン (VTG) とその受容体タンパク質である超低密度リポタンパク質受容体 (VLDLR) について分子系統解析を行った結果を示した。まず、哺乳類の有胎盤類とは違い、胎生を示す種であっても、軟骨魚類は VTG 遺伝子をゲノム中に保持していること、そして、VTG の受容体である VLDLR については、脊索動物では基本的に1コピーのみに保たれている遺伝子が軟骨魚類の進化の過程で2度の遺伝子重複によって3つに増加したことを初めて見つけ、その3つの間でリガンド結合部位の繰返し回数が異なることを示した。とくに VTG 遺伝子群は、こういった遺伝子レパトリの変遷についての進化シナリオを導き出すのが非常に困難な事例であるが、ゲノム上の遺伝子配置の種間比較を行うことにより、分子系統解析の結果を正当に評価した。これらの遺伝子を保持する他の生物群では、VTG はまずメスの肝臓で転写され、血流に乗って卵巣に輸送されたのち、卵黄内の栄養源となるとされている。軟骨魚類の VTG と VLDLR の遺伝子発現量を組織間で比較することにより、卵生種トラザメでは、基本的にこの発現機序が保たれているのに対し、胎生種ラブカとシロザメでは、肝臓に加えて子宮においても一部の軟骨魚が独自に増やした VTG 遺伝子のひとつ (VTG2a) が際立って転写されていることが明らかとなった。</p> <p>第四章では、以上の結果をまとめ、注目した遺伝子群のパラログ多様化のパターンを検討するとともに、その意義を、軟骨魚類の繁殖様式の多様性と結び付けて議論し、さらに第五章では、繁殖様式の多様性を俯瞰し、その分子基盤を解き明かすための手段について展望している。</p> <p>以上のように本研究は、繁殖様式の分子基盤について知識が欠如していた軟骨魚類に注目し、卵黄タンパク質とその受容体についての初めての系統横断的な解析により、繁殖様式の違いを特徴づける候補因子の同定に成功した点で価値のある業績と認める。この理由で、学位申請者の大石雄太は、博士 (理学) の学位を得る資格があると認める。</p>			