

# 茗原眞路子研究奨励助成金報告書

報告日 2023年12月27日

採択年度 2022年度

所属 東京大学大学院農学生命科学研究科

(Graduate School of Agricultural and Life Sciences, The University of Tokyo)

氏名 清水啓介 (Keisuke SHIMIZU)

研究課題名 腕足動物におけるキチンを介した貝殻形成の分子機構

(Molecular mechanism of chitin-mediated shell formation in brachiopods)

## 1. 研究報告

腕足動物は3つの系統(亜門)に分類され、それぞれの貝殻は異なる特徴を持っている。嘴殻類と頭殻類の貝殻は炭酸カルシウムからなり、舌殻類の貝殻はリン酸カルシウムからなる。また、頭殻類と舌殻類の貝殻にはキチンが含まれているのに対し、嘴殻類の貝殻にはキチンが含まれておらず、腕足動物内での貝殻の進化プロセスは不明な点が多い。そこで、本研究では腕足動物の貝殻内のキチンの有無に着目し、貝殻形成におけるキチン関連遺伝子の役割を明らかにする研究を行った。先行研究により、キチナーゼが舌殻類ミドリシャミセンガイ (*Lingula anatina*) の貝殻基質タンパク質として同定されている。そこで、すでに公開されている頭殻類と嘴殻類のトランスクリプトームデータからキチナーゼを同定し、分子系統解析を行った。その結果、ミドリシャミセンガイで見つかった貝殻に含まれるキチナーゼと相同なキチナーゼは頭殻類のトランスクリプトームから同定されたが、嘴殻類からは同定されなかった。次に、ミドリシャミセンガイの貝殻を EDTA で脱灰して得た貝殻抽出液と、キチンオリゴマーに蛍光基質 4-methylumbelliferone (4MU) を結合した基質を混合し、その切断活性よりキチンの加水分解活性の確認を行った。その結果、ミドリシャミセンガイの貝殻抽出液のキチン加水分解活性が確認された。そこで、頭殻類 (*Novocrania* sp.) と嘴殻類 (*Laqueus rubellus*) の貝殻抽出液を同様の手法を用いて解析した結果、嘴殻類の貝殻抽出液のキチン加水分解活性は舌殻類や頭殻類の貝殻抽出液よりも低いことが明らかとなり、各系統の貝殻内のキチンの有無と整合的であった。貝殻形成におけるキチナーゼの役割を明らかにするため、ファミリー18 キチナーゼ特異的阻害剤(アロサミジン)の注射実験を行い、走査型電子顕微鏡により貝殻構造への影響を観察した。その結果、アロサミジン処理個体の貝殻内側の表面に太いファイバー状の構造物が観察された。つまり、ミドリシャミセンガイの貝殻に含まれるキチナーゼはキチンを分解することで、キチンをナノファイバー化し、このようなナノファイバーの有機骨格がリン酸カルシウムの結晶成長の足場として機能していることが示唆された。

## 2. 実績報告

(学会発表、論文発表、図書についてお書きください)

- 清水啓介. 腕足動物におけるキチンを介した貝殻形成の分子機構, 日本動物学会第93回大会, 東京. (2022年9月)
- 清水啓介, 飯島まゆみ, 千徳明日香, 磯和幸延, 作田庄平, 遠藤一佳, 鈴木道生. 腕足動物の貝殻形成におけるキチン分解酵素の役割. 日本動物学会第94回大会, 山形. (2023年9月)

## 3. 収支報告

助成額 : 500,000

(単位 円)

支出内訳

設備備品	消耗品	旅費	人件費	その他	合計
	500,000				500,000