

氏 名	岡田 航輝		
授与した学位	博 士		
専攻分野の名称	農 学		
学位授与番号	博甲第	7 3 0 0	号
学位授与の日付	2 0 2 5 年	3 月	2 5 日
学位授与の要件	環境生命科学研究科 農生命科学専攻 (学位規則第4条第1項該当)		
学位論文の題目	珪藻のシリカ被殻形成およびヒザラガイの磁鉄鉱歯形成に関わるタンパク質の機能解析		
論文審査委員	教授 田村 隆	教授 守屋 央朗	准教授 根本 理子
学位論文内容の要旨			
バイオミネラリゼーションは、生物が鉱物を形成する反応のことであり、形成された鉱物はバイオミネラルと呼ばれる。バイオミネラルは、無機-有機複合材料であり、バイオミネラル中のタンパク質は、バイオミネラルの形成に関与していると考えられている。本研究では、珪藻のシリカ被殻とヒザラガイ類の磁鉄鉱歯の2種類のバイオミネラルに着目し、シリカ被殻形成関連タンパク質の機能解析を目的とした珪藻の遺伝子組換え技術の確立と、ヒザラガイ類に保存された磁鉄鉱歯形成関連タンパク質の同定及び機能解析を行った。 第2章では、シリカ被殻形成関連タンパク質の機能解析を目指した <i>Nitzschia</i> 属珪藻の形質転換系の確立を行った。珪藻のシリカ被殻は、種特異的な微細構造を持ち、ナノテクノロジー分野での応用が期待されている。現在、珪藻の被殻形成機構に関する研究は、小型のモデル珪藻を中心に行われているが、詳細な機構の解明には至っていない。当研究室では、細胞分裂速度が緩やかな中型の珪藻を用いて、被殻の形成過程を詳細に観察することで、被殻形成機構の解明を目指しており、環境中に最も多く生息する中型の <i>Nitzschia</i> 属珪藻を対象に解析を行っている。本研究では、<i>Nitzschia</i> 属珪藻を対象に、研究の基盤技術となる形質転換系の確立を行った。エレクトロポレーション法を用いて、環境中から新たに分離した珪藻 <i>Nitzschia</i> sp. NIES-4635 株の形質転換系を確立することができた。本研究で確立された形質転換系は、<i>Nitzschia</i> 属珪藻を用いた被殻形成関連タンパク質の機能解析への利用が期待される。 第3章では、ヒザラガイ類が形成する磁鉄鉱歯形成関連タンパク質の機能解析を行った。ヒザラガイ類は歯舌と呼ばれる摂餌器官を持ち、その歯の歯冠部に酸化鉄の一種である磁鉄鉱を沈着させる。先行研究において、ヒザラガイ類の一種である <i>Cryptochiton stelleri</i> を対象に実験が行われ、磁鉄鉱形成への関与が示唆される22個の歯冠部特異的タンパク質が同定された。22個のうちの1つである歯舌歯マトリックスタンパク質1 (RTMP1) は、既知のタンパク質に相同性を示さない新規タンパク質であった。本研究では、この RTMP1 の機能を明らかにすることを目的として実験を行った。まず、新たに3種のヒザラガイ類歯舌の比較トランスクリプトーム解析を行い、RTMP1 のホモログが他のヒザラガイ類でも保存されていることを示した。免疫蛍光染色法による RTMP1 の局在解析の結果、RTMP1 は、歯に鉄が沈着する以前に、歯の周囲の上皮細胞で高発現し、鉄が沈着する部位にあらかじめ局在することが明らかとなった。また、<i>in vitro</i> での機能解析の結果、組換え RTMP1 断片の存在下において酸化鉄が形成される事が確認された。以上の結果より、ヒザラガイ類で保存された RTMP1 は歯への酸化鉄の沈着に重要な役割を果たしていることが示された。本研究は、ヒザラガイ類に保存された磁鉄鉱歯形成関連タンパク質の機能を初めて明らかにし、ヒザラガイ類の磁鉄鉱歯形成機構に新たな知見を与えた。またこの知見は、環境に優しい磁鉄鉱合成法の開発につながる事が期待される。			

論文審査結果の要旨

本研究では、珪藻のシリカ被殻とヒザラガイ類の磁鉄鉱歯という2種類のバイオミネラルに着目し、シリカ被殻形成関連タンパク質の機能解析を目的とした珪藻の遺伝子組換え技術の確立と、ヒザラガイ類に保存された磁鉄鉱歯形成関連タンパク質の同定及び機能解析を行った。

まず、シリカ被殻形成関連タンパク質の機能解析を目指した *Nitzschia* 属珪藻の形質転換系の確立を目指し研究を行った。様々な検討を行った結果、エレクトロポレーション法を用いて、環境中から新たに分離した珪藻 *Nitzschia* sp. NIES-4635 株の形質転換系を新たに確立した。

次に、ヒザラガイ類が形成する磁鉄鉱歯形成関連タンパク質の機能解析を行った。4種のヒザラガイ類の歯舌組織の比較トランスクリプトーム解析を行ない、先行研究においてオオバンヒザラガイから同定された22個の歯冠部特異的タンパク質が他の3種のヒザラガイ類でも保存されていることを明らかにした。特に、22個のうちの1つである歯舌歯マトリックスタンパク質1 (RTMP1) は、既知のタンパク質に相同性を示さない新規タンパク質であり、ヒザラガイ類特異的タンパク質であることを明らかにした。次に、免疫蛍光染色法による RTMP1 の局在解析を行ない、RTMP1 は、歯に鉄が沈着する以前に、歯の周囲の上皮細胞で高発現し、鉄が沈着する部位にあらかじめ局在することを明らかにした。また、組換えタンパク質を用いた *in vitro* の機能解析の結果から、組換え RTMP1 断片の存在下において酸化鉄が形成される事を明らかにした。以上の結果より、ヒザラガイ類で保存された RTMP1 は歯への酸化鉄の沈着に重要な役割を果たしていることを示した。

本研究で確立された *Nitzschia* 属珪藻の形質転換系は、*Nitzschia* 属珪藻を用いた被殻形成関連タンパク質の機能解析への利用が期待され、有用性が高いと考えられる。ヒザラガイ類の磁鉄鉱歯形成関連タンパク質に関する研究では、真核生物として初めて酸化鉄の沈着に関与するタンパク質を同定し、新たな知見を提供した。上記研究の新規性は高く、岡田氏は博士の学位に値するものと判定する。