

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 29 年 8 月 15 日現在

機関番号：12601

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2014～2016

課題番号：26610165

研究課題名(和文) 軟体動物の貝殻色素：その正体から模様形成へ

研究課題名(英文) Shell pigments of mollusks: from chemical structures to mechanisms of pattern formation

研究代表者

遠藤 一佳 (Endo, Kazuyoshi)

東京大学・大学院理学系研究科(理学部)・教授

研究者番号：80251411

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 2,800,000円

研究成果の概要(和文)：動物の色彩パターンの進化史解明のためには、色素化合物の同定は必須である。本研究では様々な分類群の軟体動物と腕足動物の貝殻色素について、ラマン分光法による構造推定を行い、分類群や食性により色素化合物が異なる傾向を得た。その結果をもとに、貝殻を形成する外套膜から、色素化合物の代謝にかかわる遺伝子やタンパク質を見出した。

研究成果の概要(英文)：Identifications of chemical structures of animal pigments are essential to reveal their evolutionary history. We investigated pigment compounds in mollusk and brachiopod shells using Raman microspectroscopy. The compounds tended to be specific for taxa and/or food habits. Based on the results, we have identified putative genes and proteins involved in the metabolism of pigment compounds from the mantle tissues.

研究分野：分子古生物学

キーワード：生体色素 貝類 軟体動物 腕足動物 パターン形成

1. 研究開始当初の背景

動物の色彩パターンは、反応 - 拡散系の好例として関心を引いてきた。また、動物の見事な擬態などは、進化史における視覚の重要性を物語っており、この観点から色彩パターンの遺伝的背景や食物による変化、捕食者に対する応答に関する生態学的な研究が盛んに行われてきた。

最古の眼を持つ捕食者はカンブリア紀初期(5.4億年前)の三葉虫とされ、視覚による淘汰圧には5億年超の長い歴史があるはずである。しかし、動物の表面の色彩は体表の軟組織上にあるものが多く、化石として残りにくいために、長い時間軸での色彩パターンの進化史研究の障壁となっていた。

外殻性の軟体動物および腕足動物も、色や色彩パターンを持つものが多い。カンブリア紀に出現したこれらの動物は、貝殻が化石として保存されやすい。新生代の試料では肉眼で確認できる色彩パターンが残されていることも多く、UV照射により色彩パターンが復元できることも知られている。堆積場の条件によっては古生代でも色彩パターンが残されている場合もあり、生物の表現型の進化史を探る上で重要なモデルとなり得る優れた材料である。

しかし、肝心の貝殻色素は難溶性・易分解性のために研究が進んでおらず、物質としての実体は長らく謎であった。多様な色彩パターンの形成や進化史を理解するためには、貝殻色素の同定と色素関連遺伝子の解明による色彩形成の分子基盤の解明が必須であり、強く求められていた。

2. 研究の目的

外殻性動物の色彩パターンの多くは視覚による選択の結果であり、進化史の理解に重要である。しかし、貝殻の色彩パターン形成のこれまでの研究は主に計算機上での解析によるもので、実際のメカニズムの理解は乏しかった。本研究は、貝殻の色彩パターンを生み出すモルフォゲンの物質的な同定を目的とする。そのため、貝殻を作る組織(外套膜)での発現遺伝子の網羅的解析(トランスクリプトーム解析)と産生タンパク質の網羅的解析(プロテオーム解析)を、貝殻の有色部分と無色部分とで比較し、色素沈着に関わる遺伝子の探索を行い、色彩パターン形成のモデルの確立を目指す。さらに外殻性の軟体動物および腕足動物のゲノム情報から得られた色素関連遺伝子を比較することにより、色彩パターン形成の進化史を明らかにする事を目的とする。こうした外殻性の動物を用いることで、今後化石記録による時代軸を導入することも期待できる。

3. 研究の方法

(1) 分光分析による貝殻色素の構造推定

申請者らによる先行研究により、貝殻色素の色調は化合物の構造と相関があることが示されている。そこで、実際の色素沈着にかかわる遺伝子やタンパク質の探索に必要な情報を得るために、分析対象を拡大し、様々な分類群の外殻性動物において貝殻色素の構造推定を行い、反射光のスペクトル情報と統合する。

(2) 外套膜における色素化合物の代謝にかかわる遺伝子とタンパク質の同定

外套膜細胞において実際に働く色素関連遺伝子およびタンパク質を、以下の結果の解析により探索する。

次世代シーケンサーによる発現遺伝子の配列情報の網羅的解析

液体クロマトグラフ/タンデム質量分析計による産生タンパク質の網羅的解析

(3) 遺伝子の機能解析による、色彩パターン形成の解明

4. 研究成果

(1) 分光分析による貝殻色素の構造推定

貝殻の模様の代表的な色調について、反射光のスペクトル情報と、ラマン分光分析から推定された色素化合物の構造との統合を進め、ポリエンの構造と色彩決定が明確となった。それらをもとにして、単純な色彩パターンを持つものから順に、既存の色素をモルフォゲンとした反応拡散モデルから、色素の分解酵素をモルフォゲンとした反応拡散モデルへの改変を進めた。

貝殻の色彩パターン形成のモデル化にあたり、多様な貝殻の色彩パターンを空間的に記載し、相互比較することは極めて困難であった。そこで、海中における貝類の主要な捕食者の視覚に合わせて単純化することにより、貝殻内での色素の分布を数学的に表現する手法を開発した。また、モノアラガイとともに遺伝子機能解析のモデル生物として想定していたヨーロッパに生息するタマキビガイ科の貝について、黄色と茶の色彩変異を起こす色素がポリエン化合物であることを確認した。

(2) 分類群横断的な色素化合物の同定

貝殻色素の成分としては、ポリエン化合物(カロテノイドなど)の他に、テトラピロール(ポルフィリンやビリル)やメラニンが報告されている。先行研究では、1950年代に貝殻からポルフィリンの検出が行われており、その後数十年間にわたり研究の少ない時代が続いた後、2000年代からはポリエン化合物の検出が行われている。これら一連の先行研

究は、ともにポルフィリンあるいはポリエン化合物が多く検出された種についての記載が主であり、検出の少なかった種についての情報が少ない。しかし先行研究を統合した結果、ポルフィリンは主に古腹足類や頭楯類の貝殻から検出され、それ以外の分類群からは主にポリエン化合物が検出されている傾向が示された。また、申請者らによる分類群横断的な分光分析の結果を統合すると、多くの貝類種では殻の色にポリエン化合物が重要な役割を果たしているが、古腹足類の多くの種ではポリエン化合物の関与は薄いという結果が得られた。これは古腹足類からのポルフィリンの報告の多さと整合的であった。古腹足類や頭楯類には大型藻類食の種が多く、貝類の食性と代謝が貝殻色素化合物の起源に関与している可能性が示された。更に、ラマン分光分析の結果をもとに SEM-EDS による元素分析を行い、従来貝殻色素として報告されてきたポリエン、ポルフィリン、メラニン等の有機化合物以外に、無機化合物が貝殻の色彩に強く関与している分類群があることを発見した。

(3) 炭素及び窒素安定同位体比分析による貝類の食性判別

ラマン分光分析による貝殻色素の構造推定から、大型藻類食の貝類の多くの種では、その他の食性を持つ貝類種と比較して、貝殻色素としてのポリエン化合物の関与は薄く、色素化合物の主成分はポルフィリンである可能性が示された。こうした横断的な解析とデータの統合により、分類群と食性によって貝殻色素の成分が異なるという、トランスクリプトームのデータ解析に活用できる知見が得られた。そこで、干潟に生息する貝類をモデルとして解析を行い、微細藻類を起点とした種と大型藻類食の種は、その体組織の炭素同位体比から食性や、その貝類の食物網の起点である一次生産者を判別できることを示した。この成果は遺伝子解析と共に、貝殻色素化合物と代謝や食性との相関を探る際の指標として利用できる可能性がある。

(4) 外套膜における色素化合物の代謝にかかわる遺伝子とタンパク質の同定

色彩パターン形成の現場となる外套膜組織において、発現している全遺伝子を網羅的に解析する手法(トランスクリプトーム解析)により研究を進めた。モデルとして、イタヤガイ科のホタテガイおよびマルスダレガイ科のアサリを用い、外套膜組織の発現遺伝子および産生タンパク質の網羅的解析を行った。これらの貝類でモルフォゲンと考えられるポリエン化合物の代謝酵素の配列が得られた。しかし、機能解析までは行うこと

ができず、今後の課題である。

(5) 腕足動物シャミセンガイ (*Lingula anatina*) のゲノム配列の解読

軟体動物の貝殻形成メカニズムの進化的側面を理解する上で、他の動物との比較は不可欠である。そこで、軟体動物と同じ冠輪動物に含まれる腕足動物 *L. anatina* のゲノム解読を行った。その結果、本種のゲノムは 4.25 億塩基対からなり、約 34,000 の遺伝子を持つことを明らかにしたほか、殻体形成に関与する遺伝子群を網羅的に同定した。それにより、同じリン酸カルシウムの骨格を持つ脊椎動物とは異なるタンパク質を用いて骨格形成をしていることが明らかとなった。また、軟体動物との間では、殻体形成遺伝子カスケードの比較的上流部分に共通の遺伝子群が使われていることも判明した。現在これらの遺伝子の進化的なつながりについて研究を続けている。

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計 7件)(全て査読有)

Makiko Ishikawa, Nanako O. Ogawa, Naohiko Ohkouchi, Daniel Edison M. Husana and Tomoki Kase (2017) Stable carbon isotope compositions of foot tissue, conchiolin opercula, and organic matrix within the shells of two marine gastropods from a seagrass meadow in the Philippines, *Geochemical Journal*, in press.

Takeshi Takeuchi; Ryo Koyanagi; Fuki Gyoja; Miyuki Kanda; Kanako Hisata; Manabu Fujie; Hiroki Goto; Shinichi Yamasaki; Kiyohito Nagai; Yoshiaki Morino; Hiroshi Miyamoto; Kazuyoshi Endo; Hiroto Endo; Hiromichi Nagasawa; Shigeharu Kinoshita; Shuichi Asakawa; Shugo Watabe; Noriyuki Satoh; Takeshi Kawashima (2016) Bivalve-specific gene expansion in the pearl oyster genome: Implications of adaptation to a sessile lifestyle. *Zoological Letters* 2:3 DOI 10.1186/s40851-016-0039-2

Joanna V. Clark, Anthony E. Aldridge, Matias Reolid, Kazuyoshi Endo, and Alberto Pérez-Huerta (2015) Application of shell spiral deviation methodology to fossil brachiopods: Implications for obtaining

specimen ontogenetic ages. Palaeontologia Electronica, 18.3.54A: 1-39

Keisuke Shimizu and Kazuyoshi Endo (2015) Evo-Devo of spiral shell growth in gastropods. Biological Shape Analysis, World Scientific, 130-137.

Yi-Jyun Luo, Takeshi Takeuchi, Ryo Koyanagi, Lixy Yamada, Miyuki Kanda, Mariia Khalturina, Manabu Fujie, Shin-ichi Yamasaki, Kazuyoshi Endo & Noriyuki Satoh (2015) The Lingula genome provides insights into brachiopod evolution and the origin of phosphate biomineralization. Nature Communications, 6, 8301. doi: 10.1038/ncomms9301

Yi-Jyun Luo, Noriyuki Satoh, Kazuyoshi Endo (2015) Mitochondrial gene order variation in the brachiopod Lingula anatina and its implications for mitochondrial evolution in lophotrochozoans. Marine Genomics, 24, 31-40. doi:10.1016/j.margen.2015.08.005.

Yukinobu Isowa, Isao Sarashina, Kenshiro Oshima, Keiji Kito, Masahira Hattori and Kazuyoshi Endo (2015) Proteome analysis of shell matrix proteins in the brachiopod Laqueus rubellus Proteome Science, 13:21 doi:10.1186/s12953-015-0077-2

〔学会発表〕(計 3件)

石川牧子・鍵裕之・佐々木猛智・遠藤一佳，色素化合物から見た軟体動物の色彩の多様性，日本進化学会第18回大会，超学際領域としての進化学 - ゲノムから宇宙まで - ，東京工業大学大岡山キャンパス(東京都目黒区)，2016年8月25日，27日

石川牧子、山口つぐみ、鍵裕之、佐々木猛智、遠藤一佳，貝殻の色彩を決めるもの：色素化合物から見る色の起源，第10回バイオミネラルイゼーションワークショップ，東京大学理学部(東京都文京区)，2015年12月6日

石川牧子，軟体動物の貝殻色素：その正体と色彩パターン形成，日本古生物学会2015年年会シンポジウム「新生代貝類研究の最前線と今後の展開」(招待講演)，産業技術総合研究所(茨城県つくば市)，2015年6月26日

〔図書〕(計 件)

〔産業財産権〕

出願状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年月日：
国内外の別：

〔その他〕

ホームページ等

6. 研究組織

(1)研究代表者

遠藤一佳(ENDO, Kazuyoshi)
東京大学・大学院理学系研究科・教授
研究者番号：80251411

(2)研究分担者

筒井(石川)牧子(TSUTSUI-ISHIKAWA, Makiko)
ヤマザキ学園大学・動物看護学部・准教授
研究者番号：00446577

(3)連携研究者

加藤尚志(KATO, Takashi)
早稲田大学・教育・総合科学学術院・教授
研究者番号：80350388

佐藤矩行(SATO, Noriyuki)
沖縄科学技術大学院大学・マリンゲノミクスユニット・教授
研究者番号：30025481

(4)研究協力者

藤江学(FUJIE, Manabu)
清水啓介(SHIMIZU, Keisuke)
鍵裕之(KAGI, Hiroyuki)
佐々木猛智(SASAKI, Takenori)
服部正平(HATTORI, Masahira)
大島健志朗(OSHIMA, Kenshiro)