

学位論文審査の結果の要旨

専攻	生物圏生命科学	氏名	Eldesoky Marwa Said Abdelhalem (エルドスキー マーワ サイド アブディルハレム)
審査委員	主査 教授 筒井 直昭 副査 教授 古丸 明 副査 教授 松田 浩一		
論文題目 (題目変更の有無) <input checked="" type="radio"/> 有 ・ <input type="radio"/> 無	Studies on multiple vitellogenin genes in the kuruma prawn <i>Marsupenaeus japonicus</i> : identification of novel vitellogenin and hormonal regulation of gene expression (クルマエビのビテロジェニン遺伝子に関する研究：新規ビテロジェニンの同定 とホルモンによる発現制御)		
(論文審査の結果の要旨) <p>本論文は、日本の主要な増養殖対象種であるクルマエビ <i>Marsupenaeus japonicus</i> における卵黄形成機構を検討したものである。甲殻類の卵は、他の卵生生物と同様に、タンパク質、脂質、糖質、ミネラル類、ビタミン類等を細胞内に蓄えながら急速に成長する。これらの卵黄物質の中でも、主要な卵黄タンパク質であるビテリン、およびその前駆体であるビテロジェニンは、卵黄形成を研究する際に重要な指標として用いられることが多い。クルマエビではビテロジェニン1 (Maj-Vg1) が肝臓と卵巣で産生されることがや、卵巣のビテロジェニン1の産生を抑制するホルモンが眼柄部の神経内分泌器官で産生されることが明らかになっているものの、卵黄形成過程の全容を把握するには情報が不足している。そこで本論文では、クルマエビの新規ビテロジェニン遺伝子の同定、遺伝子の発現動態の調査、遺伝子発現に影響を及ぼすホルモンの探索等によって、本種の卵黄形成機構の詳細な理解を試みた。</p> <p>第1章では、新たなビテロジェニンを同定した。肝臓のトランスクリプトーム解析により、ビテロジェニン1に類似するが一致はしない配列を得て、その配列を基に追加のcDNAクローニングを行い、ビテロジェニン2 (Maj-Vg2) をコードする全塩基配列を新たに決定した。塩基配列から推定されるビテロジェニン2は2,554のアミノ酸残基からなり、2,587残基からなるビテロジェニン1との配列の相同性は約54%であった。一方、両者のアミノ酸組成の割合を比較した場合、差は1%以下であった。特に10種の必須アミノ酸ではいずれも差が0.6%以下であったことから、ビテロジェニン1と2は卵黄物質として補完的な関係にあると推測された。アミノ酸配列を基にした分子系統解析により、クルマエビ類のビテロジェニンは、カニ類やザリガニ類のそれらとは別のクレードを形成すること、その中にビテロジェニン2を含むサブクレードが位置することが判明した。</p> <p>第2章では卵黄形成過程でのビテロジェニン1と2の遺伝子発現動態を調べた。天然漁獲個体において、ビテロジェニン1は、肝臓と卵巣共に前卵黄形成期（未成熟期）では発現量が低く、卵黄形成期前期に発現量が上昇した。卵黄形成期後期になると発現量は減少したが、その減少は卵巣では明瞭で、肝臓では緩慢であった。ビテロジェニン2の発現は卵巣では確認されなかった。肝臓での発現は、</p>			

前卵黄形成期で低く、卵黄形成期前期に上昇し、卵黄形成期後期に減少した。全体としての発現量はビテロジェニン1と比べて低かった。未熟な個体の眼柄を切除して卵黄形成を人為的に誘導した個体では、卵巣のビテロジェニン1と肝臓のビテロジェニン2の遺伝子発現が顕著に増加した。以上から、第1章でも述べたようにビテロジェニン1と2は卵黄物質として補完的な関係にあると推測された。また、眼柄の切除による卵黄形成と天然の卵黄形成とではビテロジェニン1と2の発現動態が異なることから、卵質が異なる可能性が考えられた。

第3章と4章では、ビテロジェニン遺伝子の発現に影響を及ぼすホルモンの探索を試みた。まず、肝臓の*ex vivo*培養系を新たに構築し、組織片を6時間程度培養できる培地組成と培養条件を決定した。これと、既存の卵巣*ex vivo*培養系を用いて、ビテロジェニン遺伝子の発現に対するホルモンの影響を検討した。その結果、第3章では、インスリン様ペプチド1 (Maj-ILP1) が、幼若個体の肝臓や卵巣のビテロジェニン遺伝子の発現を有意に増加させることが示された。具体的には、肝臓のビテロジェニン1と2の発現は、培地への1 μM のインスリン様ペプチド1の添加（終濃度）で、コントロールと比較して約1.3倍に増加した。また、卵巣のビテロジェニン1の発現は、0.1 μM のインスリン様ペプチド1の添加で、コントロールと比較して約1.5倍に増加した。このインスリン様ペプチド1の発現部位は卵巣であることから、傍分泌的な作用様式が推定された。

第4章では、非ペプチド性ホルモンの作用を検討した。魚類等の卵生脊椎動物では、雌性ステロイドホルモンであるエストラジオールがビテロジェニン遺伝子の発現制御に関わることが示されている。しかし、エストラジオールはクルマエビのビテロジェニン遺伝子の発現に影響を及ぼさなかった。また、ある種の昆虫では、ビテロジェニン遺伝子の発現が幼若ホルモンにより制御されており、甲殻類では幼若ホルモンの類似物質であるファルネセン酸メチルが発見されている。このファルネセン酸メチルの作用についても調べたが、ビテロジェニン遺伝子の発現に影響はみられなかった。

本論文において、既存のビテロジェニン1とは別のビテロジェニン2という卵黄タンパク質前駆体を明らかにするとともにその遺伝子発現動態を明らかにしたこと、これまで難しかった肝臓の*ex vivo*培養系を構築したこと、それを用いてビテロジェニンの遺伝子発現に影響を及ぼすホルモン様物質を見出したことは、クルマエビ類の持続的、効率的な種苗生産技術を今後検討していくうえで極めて有意義であるといえる。

令和5年7月26日に行われた博士論文公开发表会において、論文作成者のEldesoky Marwa Said Abdelhalem氏は、論文の内容について約40分のプレゼンテーションを英語で行い、上記した研究の新規性や意義について説明するとともに、引き続き行われた約20分の質疑応答に概ね適切に対応していた。また、氏を筆頭著者として、第1章と2章、および第3章の研究結果をそれぞれまとめた2編の学術論文が、日本水産学会の英文誌と欧州ペプチド学会誌に既に掲載されている。

以上に基づき、審査委員会は全会一致で本論文に博士学位論文としての価値があると判断した。