

|          |                                                    |
|----------|----------------------------------------------------|
| 氏 名      | みなもと とし ふみ                                         |
| 学位(専攻分野) | 博士 (理 学)                                           |
| 学位記番号    | 理 博 第 2664 号                                       |
| 学位授与の日付  | 平成 15 年 3 月 24 日                                   |
| 学位授与の要件  | 学位規則第 4 条第 1 項該当                                   |
| 研究科・専攻   | 理学研究科生物科学専攻                                        |
| 学位論文題目   | アユ ( <i>Plecoglossus altivelis</i> ) の視物質遺伝子に関する研究 |

論文調査委員 (主 査) 教授 清水 勇 教授 西田利貞 教授 川端善一郎

### 論 文 内 容 の 要 旨

魚類はあらゆる水域に生息しており、その光環境はバリエーションに富んでいる。そのような光環境に適応するため、魚類は進化の過程で優れた視覚を獲得してきた。本論文で実験材料として用いたアユ (*Plecoglossus altivelis*) は両側回遊性魚であるが、琵琶湖には陸封型が生息しており、その生息域は海、湖、川と多様である。また、アユにははっきりとした概日時計があり光周反応も示すので、視覚、非視覚系の光受容研究の実験材料として優れている。本論文は主として分子生物学的な手法を用いて、アユの光受容の分子的基盤であるオプシン遺伝子に関する総合的な研究を行った。

オプシン遺伝子の cDNA クローニングを行った結果、アユには AYU-Rh, -ExoRh, -R, -G1, -G2, -UV1, -UV2, -VA の少なくとも 8 種類のオプシン遺伝子があることが明らかになった。そのうちアユの桿体オプシンであるロドプシン (AYU-Rh) のクローニングを行い、AYU-Rh は緑色受容型ロドプシンであると推定される結果を得た。また、琵琶湖の陸封型アユの間でも、生態的特徴の違うコアユとオオアユの間ではロドプシン遺伝子には違いはないが、発色団であるレチナールの構成比率が違い、陸封型アユはレチナールの構成比を変えることで、その光環境に適応していることが明らかになった。

また、赤色 (AYU-R), 緑色 (AYU-G1, -G2), UV (AYU-UV1, -UV2) 受容と考えられる 5 種類のアユの錐体オプシンについてクローニング及び発現細胞の特定、発現量の測定を行い、AYU-R と AYU-G1 が複錐体で、AYU-G2 が長単錐体で、AYU-UV2 が短単錐体で発現している事、AYU-UV1 は発現しているが、その量は微量である事を示した。これらのことから、アユは少なくとも 5 種類の錐体オプシンを持っているが、視覚にはそのうち赤色、2 種類の緑色、UV 受容オプシンを用いており、一般的な魚類に共通の赤色、緑色、青色、UV の 4 色受容システムとは異なるシステムを用いていることが示唆された。

さらに、非視覚系オプシンである VA (vertebrate ancient) オプシンに関する実験を行い、AYU-VAM, -VAL の 2 種類のバリエーションを得た。これまで VA オプシンには視覚系オプシンと比べて C 末端側が短いものと長いものが報告されていたが、AYU-VAM はそれらの中間的な長さで、光受容に関わる機能的な分子の候補であった。また、VA オプシンの発現細胞の特定を行った結果、アマクリン細胞で発現していることを明らかにした。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

本研究は多様な生息環境を持つ琵琶湖産のアユを用いて、発現するオプシン遺伝子について網羅的に調査したものである。まず、網膜でオプシン遺伝子の cDNA クローニングを行った結果、アユには AYU-Rh, -ExoRh, -R, -G1, -G2, -UV1, -UV2, -VA の少なくとも 8 種類のオプシン遺伝子があることを示している。そのうちアユの桿体オプシンであるロドプシン (AYU-Rh) のクローニングを行い、AYU-Rh は緑色受容型ロドプシンであると推定される結果を得ている。また、琵琶湖の陸封型アユの間でも、生態的特徴の違うコアユとオオアユの間では、ロドプシン遺伝子には違いがないが、

発色団であるレチナールと 3, 4 ジデヒドロレチナールの構成比率が違うことを示し、陸封型アユはレチナールの構成比を変えることで光環境に適応していることを明らかにした。さらに、赤色 (AYU-R), 緑色 (AYU-G1, -G2), UV (AYU-UV1, -UV2) 受容と考えられる 5 種類の錐体オプシンのクローニング及び発現細胞の特定、発現量の測定を行い、AYU-Rh と AYU-G1 が複錐体で、AYU-G 2 が長単錐体で、AYU-UV2 が短単錐体で発現している事、AYU-UV1 はごく微量にしか発現していない事を明らかにしている。これらのことから、アユの視覚には赤色、2 種類の緑色、UV 受容オプシンを用いており、一般的な魚類に共通の赤色、緑色、青色、UV の 4 色受容システムとは異なるユニークな色覚システムを用いていることを示唆したものである。

本研究においては、さらに非視覚系オプシンである VA (vertebrate ancient) オプシンの 2 種類のバリエント (AYU-VAL, -VAM) が網膜で発現していることを明らかにしている。これまで VA オプシンには視覚系オプシンと比べて C 末端側が短いものと長いものが報告されており、これらが実際に光受容に働いているかどうか議論されていた。AYU-VAM は視覚系オプシンと同程度の長さのオプシンで、VA オプシングループの中で光受容に関わる、機能的な分子の最有力候補として着目されるものである。また、これらのバリエントの組織内における比較から、VA オプシンの機能的多様性を示唆した点で評価される。上記のように本申請論文においては、アユの視覚系および非視覚系のオプシンを、主として分子レベルで体系的かつ網羅的に研究し、その結果をまとめたもので、魚類の光生理研究において価値の高いものである。

よって、本論文は博士(理学)の学位論文として価値あるものと認める。なお、本論文および参考論文に報告されている研究業績を中心とし、口頭試問を行った結果、合格と認めた。