

審査の結果の要旨

氏名 笠木 聡

本論文は 3 章からなり、第 1 章はカレイ目カレイ科の魚種であるマツカワの視覚オプシンレパートリーについて、第 2 章はカレイ目魚種間の比較による視覚オプシンの分子進化について、第 3 章はマツカワの非視覚オプシンレパートリーについて述べられている。

第 1 章においてはマツカワ視覚オプシンの単離と機能解析が述べられている。眼球 RNA からの RT-PCR により視覚オプシンの cDNA クローニングが行われ、同遺伝子群のレパートリーが解明された。マツカワには赤型 (LWS)、緑型 (RH2)、青型 (SWS2)、紫外線型 (SWS1) および桿体型 (RH1) のオプシン遺伝子をもつことが示された。RH2 オプシンは 3 遺伝子に、SWS2 オプシンは 2 遺伝子に重複していた。RH2 のうち RH2-A は偽遺伝子化していた。培養細胞における強制発現系を用いた視物質の再構成実験が行われ、最大吸収波長 (λ_{\max}) が測定された。その結果、多くのオプシンは棘鰭上目の魚種として一般的な値を示したが、SWS2 オプシンの SWS2A は極端に長波長感受性であることが示された。また、定量的 RT-PCR を行い眼球における mRNA 発現量を検討した結果、成長段階を通じて眼球における発現量が変動しないか増加する傾向にあるオプシンは、SWS2A を含めて全て緑色光感受性のオプシンであることが示された。よって、マツカワの視覚オプシンでは緑色光受容を担うオプシン (RH2 および SWS2A) に様々な特徴が示された。

第 2 章においては、第 1 章の結果を受け、カレイ目種間におけるオプシンの分子進化的研究について述べられている。この研究はマツカワに加えてホシガレイ、ババガレイ、ヒラメの視覚オプシンに着目して行われた。新たに 3 種のカレイ目魚種における視覚オプシンレパートリーが明らかにされた。その結果、多くの視覚オプシンは 4 種全てで単離されたが、RH2-A はホシガレイにおいて、RH2-C はババガレイにおいて各々消失していると考えられた。ババガレイおよびヒラメにおいて RH2-A はゲノム中に存在し、翻訳領域に明確な損傷がないにもかかわらず、眼球において mRNA の発現が確認されなかった。既知の波長調節アミノ酸サイトの比較より、SWS2A は種間で λ_{\max} が異なっている可能性が強く示唆された。また、非同義置換率 (dN/dS) の解析からも SWS2A の分子進化が一様でないことが推測された。そこで、SWS2A に着目した以下の解析が行われた。現生種の SWS2A λ_{\max} 測定の結果、マツカワ属 (マツカワおよびホシガレイ) の SWS2A は長波長感受性であり、ババガレイとヒラメでは一般的な λ_{\max} であった。祖先型アミノ酸配列を推定し、cDNA への人工変異導入によりカレイ目祖先およびカレイ科祖先の SWS2A λ_{\max} の測定を行った結果、カレイ科祖先からマツカワ属祖先への進化過程において長波長化が起きたと推測された。さらに詳細な人工変異導入の結果、このマツカワ属祖先での SWS2A 長波長感受性化がほぼ 1 アミノ酸変異で説明できることが示

された。マツカワ属祖先から現生種にかけて、RH2-A の偽遺伝子化または消失と、SWS2A オプシンの長波長感受性化が同時期に起きていることが推測されるために、RH2-A と SWS2A の間で緑色光受容機能の分担が転換された事が示唆された。

第3章においては、第1章におけるマツカワ視覚オプシンの単離と解析の補完のため、マツカワの非視覚オプシンの単離と機能解析が述べられている。稚魚全身 RNA から cDNA クローニングにより硬骨魚類に存在すると考えられる非視覚オプシンを単離し、その後に成魚の脳、眼球、皮膚における mRNA 発現が検討された。その結果、エクソロドプシン、VAL オプシン、パラピノプシン、パリエトプシン、TMT オプシン、Opn3、Opn4、Opn5 の単離に成功した。パラピノプシンおよび Opn4 には遺伝子重複が認められた。これらの非視覚オプシン遺伝子群の多くは脳と眼球において発現が認められた。また、Opn3、Opn4、Opn5 は皮膚においても発現が認められた。視物質再構成実験の結果、エクソロドプシンおよび VAL オプシンは緑色光感受性 ($\lambda_{\max} \approx 500 \text{ nm}$)、パラピノプシン、パリエトプシン、TMT オプシンは近紫外線感受性 ($\lambda_{\max} \approx 400 \text{ nm}$) であることが明らかになった。

なお、本論文第1章は、東京大学大学院新領域創成科学研究科、国立研究開発法人水産研究・教育機構北海道区水産研究所、スタンレー電気、北里大学海洋生命科学部との共同研究、第2章および第3章は北里大学海洋生命科学部との共同研究であるが、論文提出者が主体となって分析及び検証を行ったもので、論文提出者の寄与が十分であると判断する。

したがって、博士（生命科学）の学位を授与できると認める。

以上 1999 字