

## 審査の結果の要旨

氏名 ゼニス ゲイ アルメダ オロズコ

本博士論文研究は、モザンビークティラピアを用いて、魚類消化管におけるアミノ酸吸収機構の解明を目指したものである。

生物にとって、体外環境から自らの体組織の構成成分となる各種物質を取込むことは、その生存・成長と不可分である。アミノ酸は魚類を含むすべての動物の体組織の大部分を構成するタンパク質の構成成分であり、最も重要なものの一つである。アミノ酸類は消化管を有する生物では主にタンパク質の形で摂餌され、消化により短鎖ペプチドおよび遊離アミノ酸まで分解されて、腸で吸収される。しかし、その機構を担う分子メカニズムは不明な点が多い。

### 1. 腸管に発現するアミノ酸輸送体遺伝子群の発現部位および給餌に伴う継時的発現変動

本研究では 35 種のアミノ酸輸送体遺伝子について検討を行ったが、ここでは腸管特異的な発現を示した *slc3a1*, *slc7a9*, *slc6a19a* および *b*, *slc15a1a* について主に記載する。本研究では、ティラピア腸管の部位を前部から順に HL, PMC, GL, DMC, TS に区分した。*slc15a1a* は HL および PMC で発現が見られ、GL 以降の部位では発現が見られなかった。また *slc6a19a* は後腸で発現し、前腸で発現が見られなかったのに対して、*slc6a19b* は前腸で高発現し、後腸では発現しないことが示された。*slc7a9* と *slc3a1* は PMC および GL で高発現し、その他の部位でも広範に発現するものの、後腸では発現が低い傾向にあるといった共通のパターンを示した。他のアミノ酸輸送体についても前腸で高発現するものと後腸で高発現するものが見られ、アミノ酸吸収機構の特性が前腸と後腸で異なることが示唆された。

給餌後 24 時間後までの腸管各部位におけるアミノ酸輸送体遺伝子群の発現変動解析の結果、HL において *slc15a1a* および *slc6a19b* は給餌直後から 12 時間後までほぼ一定の発現を示したが、内容物が減少した 24 時間後では上昇傾向が見られた。またこれらの遺伝子では給餌前(給餌後 24 時間)と比較して給餌直後で顕著な発現の低下が見られ、摂餌に鋭敏に

答することが示された。

## 2. 腸管アミノ酸輸送体遺伝子群の絶食に対する応答

2週間絶食実験の結果、アミノ酸輸送体の発現変動パターンは、顕著な変動が見られなかったものを除いて、絶食開始後から低下するもの、上昇するもの、一過的上昇もしくは低下するものの3つに区分された。腸管特異的発現を示すアミノ酸輸送体遺伝子は、絶食2週間後には発現が低下傾向を示すものがほとんどだった。*slc15a1a*は絶食1-2日にかけて一過的に上昇した後、4日目以降は低下に転じたが、その傾向はHLよりもPMCにおいてより顕著だった。また再給餌実験の結果、遺伝子発現が低下したのものについては、ほとんどものが再給餌3日目までに上昇に転じたが、絶食前を上回るレベルまでは回復しなかった。特に再給餌1日目においては絶食後と比較して発現が変化しないものが多くみられた。

## 3. 代替タンパク餌料に対する腸管アミノ酸輸送体遺伝子群の応答

大豆タンパク濃縮物(SPC)をタンパク源とした人工餌料を作成し、2週間の飼育実験により、市販餌料との比較を行った。筋肉中遊離アミノ酸濃度を測定したところ、SPC餌料群でメチオニン濃度が顕著に低いことが示され、実験魚がメチオニン欠乏状態にあったことが確認された。市販餌料とSPC餌料で2週間飼育した後、腸管でのアミノ酸輸送体遺伝子群の発現を検討した結果、SPC給餌群で*slc7a9-1*および*slc15a1a*が低下傾向を示し、*slc6a19b*が顕著に低下した。また肥満度は両群で顕著な差は見られなかったものの、比肝重値はSPC群で低く、栄養状態が市販餌料と比較して悪かったことが示唆された。またSPC餌料にメチオニンを添加すると、筋肉中メチオニン濃度は回復したものの、HSIおよびアミノ酸輸送体遺伝子群の発現については低下状態から回復しなかった。

本博士論文研究の結果、モザンビークティラピア腸管におけるアミノ酸輸送体遺伝子群の餌料に対する短期的・長期的応答が明らかとなった。また慢性的な栄養欠乏状態においては腸管の栄養吸収能が低下することが示唆された。また栄養欠乏餌料を与えることで消化管機能も減退するといった負のスパイラルが生じる可能性が明らかとなり、今後の代替餌料研究の一つの方向性を示すことができた。

これらの研究成果は、学術上応用上寄与するところが少なくない。よって、審査委員一同は本論文が博士(農学)の学位論文として価値あるものと認めた。