

| 最終試験結果の要旨 | |
|--|--------------------|
| 学位申請者 氏名 | 早坂 央希 |
| 審査委員 | 主査 鹿児島大学 教授 小谷 知也 |
| | 副査 鹿児島大学 教授 安楽 和彦 |
| | 副査 鹿児島大学 准教授 塩崎 一弘 |
| | 副査 鹿児島大学 教授 山本 淳 |
| | 副査 鹿児島大学 教授 三好 和睦 |
| 審査協力者 | 印 |
| 実施年月日 | 令和 3 年 1 月 25 日 |
| 試験方法 (該当のものを○で囲むこと。) (<input checked="" type="radio"/>) 口答・筆答 | |
| <p>主査及び副査は、令和 3 年 1 月 25 日の公開審査会において学位申請者に対して、学位申請論文の内容について説明を求め、関連事項について試問を行った。具体的には別紙のような質疑応答がなされ、いずれも満足できる回答を得ることができた。</p> <p>以上の結果から、審査委員会は申請者 早坂 央希 が博士(水産学)の学位を受けるに必要な十分の学力ならびに識見を有すると認めた。</p> | |

| 学位申請者 氏名 | 早坂 央希 |
|-------------|--|
| [質問 1] | なぜよく見える光を照射すると性転換を起こすという発想になったのか？ |
| [回答 1] | 先行研究で、マツカワという魚類が遺伝子を多く発現するオブシンタンパクの光波長帯で成長が良くなる、という報告があり、これに発想の基点を得た上で、メダカにとって実際に感度の良い波長帯を電気生理的手法で求めた。 |
| [質問 2] | この手法を他魚種に応用するには、高い視感度、あるいは閾値が低いということが重要であると考えるか？ |
| [回答 2] | 光の強さを設定するに当たり、閾値より高い値に設定することが重要であるため、光の強さの問題だけであるため閾値より視感度を重視した。 |
| [質問 3] | メダカの性転換については、他の条件によるストレスに関係するものであることが知られているが、今回の現象とメカニズムとして同じであるのか？ |
| [回答 3] | 既往の報告では、ストレスが起因するコルチゾルを介在とした性転換であるが、光による性転換では、コルチゾルは介在していなかった。今回の現象では、生殖細胞数の抑制が関与していると考えられる。別の既往の報告では、昆虫でストレスによる活性酸素の発生が生殖細胞の減少につながる、とあり、メダカでも同様の現象が起きたのではないかと考えている。 |
| [質問 4] | メダカでは視感度が高い光を照射することによって、活性酸素が発生していると考えているのか？ |
| [回答 4] | 視感度として眼を經由したかどうかは不明であるが、いずれかの光受容体に緑色光が作用して活性酸素が発生し、性転換が起きたのではないかと考える。 |
| [質問 5] | オブシン遺伝子の発現量と眼の感度には関連性があるのか？ |
| [回答 5] | メダカの知見ではないが、ナイルティラピアで1細胞の分光吸収度の実験では、オブシンのタンパク量だけでなく、ビタミンA1およびA2の関連性が指摘されており、必ずしもオブシン単独で視感度が決められるものではない。したがって、機能的な視感度について検討する必要がある。 |
| [質問 6] | 視覚以外の光受容体が性転換あるいは活性酸素の発現に関与しているとして、体のどのあたりの受容体が関与していると考えられるか？ |
| [回答 6] | メダカでは脳内だけでも視覚に関与しないオブシンの発現が知られており、トラフグでは、生殖巣内に同じく視覚に関与しないオブシンの存在が知られている。この視覚に関与しないオブシンが代謝や性成熟に作用していることが知られており、こうしたオブシンが関与している可能性がある。 |
| [質問 7] | メダカで性転換した結果、雄は現れるのに、なぜ雌は現れないのか？ |
| [回答 7] | 生殖腺の構造が雄の方が単純で、構造を変えるのには雄化の方が容易なのではないか。しかし、自然界では雄から雌への |
| [質問 8] | メダカで性転換した結果、雄は現れるのに、なぜ雌は現れないのか？ |
| [回答 8] | 生殖腺の構造が雄の方が単純で、構造を変えるのには雄化の方が容易なのではないか。しかし、自然界では雄から雌への性転換も見られるので、全くないわけではないと考える。 |
| [質問 9] | メダカで性転換して現れた雄の精子の濃度、活力、授精能はどうであったか？ |
| [回答 9] | 発表では示していなかったが、性転換雄の精子の濃度は低く、運動時間も短かった。しかし、受精率やふ化率に差は無かった。 |
| [質問 10] | 近交系のメダカを使っているのにも拘わらず性転換率がそれほど高くなかったことに関して、原因は何か考えられるか？ |
| [回答 10] | 個体による光感受性の違いであったり、光受容細胞の位置の個体差も考えられる。また、他の要因による性転換も、実際にはそれほど性転換率は |

高くない。したがって、近交系であったとしても個体差が生じているのではないかと考える。

[質問 1 1] メダカとティラピアでは性転換を起こす光波長が異なっているが、性転換という現象に対して、なぜこのような光波長の違いが生じるのか？

[回答 1 1] 視覚器の感度がメダカとティラピアでは異なり、さらに体内に有するオプシンの種類も異なっている。ティラピアは発生段階によってオプシン遺伝子の発現状況が異なり、環境光の種類でオプシンの種類を変えることも知られている。こうした光受容器の性状が異なることが、性転換を起こす光波長の違いにつながっていると考えられる。しかし、本研究では、どの光受容体が、性転換に関わっているか不明であるため、明確なことは言えない。

[質問 1 2] 性転換にあたっては様々な刺激を与えた結果であるが、これが刺激に起因するストレスによるものか、それとも他の要因によるものなのか？

[回答 1 2] メダカでは光刺激によって血中コルチゾル濃度は上昇していなかった。他の生物では、体液中活性酸素が性転換に関わっているという報告がある。今回もストレスに起因するものである可能性は高いと考えられるが、メダカで既知のコルチゾルが介在するものではないと考える。

[質問 1 3] 今回の飼育は33℃という高水温で行っており、発生としては早めに進行すると考えられる。この中でコルチゾルの上昇は観察出来ていないが、発生が早い故に、コルチゾルの上昇も早く、それに伴う負のフィードバックが発生してしまったために、コルチゾルの上昇が測定出来なかったのではないかと？

[回答 1 3] メダカは飼育水温が高くなると、発生の進行も早くなるが、今回の測定では、ストレスを受け続けていれば、コルチゾルの濃度は高いまま維持されているはずだがそうはなっておらず、逆に成長に伴うコルチゾル分泌能の上昇に伴ったコルチゾルの上昇が見られる。しかし、負のフィードバックが起こったことを否定は出来ない。

[質問 1 4] 10日齢でコルチゾル濃度が下がっているのは負のフィードバックが起こっている可能性を示すものではないか？

[回答 1 4] 関連遺伝子の発現から、コルチゾル関連のものに変化がなかったため、コルチゾルの系は動いていないと推測している。

[質問 1 5] 今回、性転換に光の関与があることを明らかにしたが、この現象は光の波長やその他の条件を変えることによって、魚類一般で起こることとも考えても良いのか？

[回答 1 5] たぶん普遍的なものではないと考える。メダカとティラピアでしか検討していないことと、他の同様の報告がないため、そのように考える。