

学位論文審査結果の要旨	
学位申請者 氏 名	Trieu Thanh Tuan 連研 857
審査委員	主査 鹿児島大学 教授 板倉 隆夫
	副査 鹿児島大学 准教授 小松 正治
	副査 琉球大学 教授 屋 宏典
	副査 鹿児島大学 教授 上西 由翁
	副査 鹿児島大学 教授 安部 淳一
審査協力者	印
題 目	<p style="text-align: center;">ジャワメダカ <i>Oryzias javanicus</i> のシトクロムP450ファミリー1, アセチルコリンエステラーゼ, および抗酸化酵素群の 環境指標としての有用性に関する研究 (Cytochrome P450 family 1, acetylcholinesterase, and antioxidant enzymes in Javanese medaka <i>Oryzias javanicus</i> as biomarkers potential against environmental pollutions)</p>
<p>本研究は、海水でも淡水でも生息可能な海産メダカであるジャワメダカを、石油や農薬による環境汚染に対する指標生物として利用するための基礎的知見を提供しようとするものである。生体内に侵入した化学物質に対して解毒作用や抗酸化作用を示す酵素の遺伝子レベルならびにタンパク質レベルでの発現を調べることは、環境汚染物質が細胞や生体に与える影響を明らかにすることに役立つ。さらに、遺伝子発現は高感度で測定可能であるので、環境評価の測定感度を向上させることにつながる。</p> <p>そこで本研究では、ジャワメダカのシトクロムP450ファミリー1 (CYP1), アセチルコリンエステラーゼ (AChE), カタラーゼ (CAT), グルコース-6-リン酸デヒドロゲナーゼ (G6PD), グルタチオンペルオキシダーゼ (GPx), グルタチオンレダクターゼ (GR), グルタチオン-S-トランスフェラーゼ (GST), スーパーオキシドディスムターゼ (SOD), およびユビキチン (UB) について、様々な環境条件を想定して遺伝子発現量をしらべた。準備段階で得られたジャワメダカCYP1A,</p>	

-1B1, -1C1のcDNAは、それぞれ2439, 1984, 2601塩基対で、530, 517, 525アミノ酸残基をコードしていた。決定した塩基配列は、KJ689303, KJ689304, およびKJ689305としてGenBank/EMBLに登録した。得られた塩基配列より、それぞれに特異的なPCRプライマーを設計した。

重油で汚染された餌を24時間投与した試験魚では、CYP1遺伝子群の転写産物量は、腸で最も高く、肝臓で最も低かった。重油汚染水に24時間暴露された試験魚では、CYP1A遺伝子の発現量が鰓で高く腸では低く、-1B1では鰓で高く肝臓および腸で低かったが、-1C1は肝臓で高く鰓と腸で低いというように、それぞれが特徴的な誘導的発現を示した。

重油汚染水に48時間暴露された受精卵では、CYP1Aの誘導的発現が見られ、モニタリングでの卵の使用の可能性が示された。CYP1Aの発現は、石油汚染水中での細菌生育のための肥料を加えた方が高かった。これは、細菌による石油成分の化学的変化によるものと考えられた。CYP1B1と-1C1では汚染水によって発現が抑制された。

殺虫剤クロルピリホスに各種濃度で暴露された試験魚では、CYP1遺伝子群が、肝臓、鰓、腸で多様な発現様式を示した。対照の40倍以上の発現も見られ、農薬汚染に対する指標としてのCYP1遺伝子群の有用性が示された。この殺虫剤による組織内AChE活性の抑制は、薬剤濃度と暴露時間に大きく依存し、高濃度の試験区では長期の阻害が見られた。同じく各種濃度のクロルピリホスに暴露された試験魚では、CAT, G6PD, GPx, GR, GST, SOD, およびUBの遺伝子は、肝臓、鰓、腸において比較的短期の誘導を示した。

化学物質以外の生育条件の影響を見るために、飼育水の塩濃度による影響を確認した。試験魚を海水中から淡水中に移して24時間放置したところ、CYP1遺伝子群が鰓で顕著な誘導を示し、この遺伝子群が塩濃度変化への順応において生理的な役割を果たしている可能性が示唆された。また、1週間絶食させた試験魚においては、CYP1遺伝子群の発現が抑制された。

以上の知見は、水圏（海水および淡水）における石油や農薬による環境汚染に対する指標生物としてのジャワメダカの有用性を示しており、高感度かつ多角的な環境評価のための基礎的知見を提供する価値あるものと判断された。