

論文 / 著書情報
Article / Book Information

題目(和文)	シクリッドのフェロモン受容体候補V1R2の多型を介した選択的交配の可能性
Title(English)	Possibility of assortative mating of cichlid via polymorphism of V1R2, a candidate pheromone receptor
著者(和文)	河村理輝
Author(English)	Riki Kawamura
出典(和文)	学位:博士(理学), 学位授与機関:東京工業大学, 報告番号:甲第12336号, 授与年月日:2023年3月26日, 学位の種別:課程博士, 審査員:二階堂 雅人,本郷 裕一,廣田 順二,加藤 明,立花 和則
Citation(English)	Degree:Doctor (Science), Conferring organization: Tokyo Institute of Technology, Report number:甲第12336号, Conferred date:2023/3/26, Degree Type:Course doctor, Examiner:,,,,,
学位種別(和文)	博士論文
Category(English)	Doctoral Thesis
種別(和文)	審査の要旨
Type(English)	Exam Summary

論文審査の要旨及び審査員

報告番号	甲第	号	学位申請者氏名	河村理輝		
論文審査 審査員		氏名	職名		氏名	職名
	主査	二階堂雅人	准教授		立花和則	准教授
	審査員	本郷裕一	教授	審査員		
		廣田順二	教授			
加藤明		准教授				

論文審査の要旨 (2000 字程度)

本論文は「シクリッドのフェロモン受容体候補 V1R2 の多型を介した選択的交配の可能性」と題し、4 章より構成されている。

第 1 章「序論」では、アフリカの三大湖に生息する熱帯魚シクリッドが生物多様性創出を解明するモデルとして優れていることを論じ、視覚に着目した過去のシクリッドの種分化研究を提示している。その一方でシクリッドにおける嗅覚を介した選択的交配の存在も報告されており、さらに嗅覚受容体遺伝子の多様化も報告されているにも関わらず、嗅覚に着目した種分化研究が積極的に実施されてこなかったことを述べている。

第 2 章「シクリッドにおける匂い受容の検出系の確立」では、本研究で確立したシクリッドの嗅覚研究の基盤となる匂い受容の検出系について述べている。本章ではまず嗅上皮における匂い応答を *in situ hybridization* で検出するための最適な神経活動マーカーとして *c-fos* 遺伝子を選定し、匂い曝露によって *c-fos* の発現が誘導されることを確かめている。次に魚類で微絨毛細胞によって受容されることが知られるアミノ酸に着目し、シクリッドにおいてもアミノ酸曝露によって微絨毛細胞が応答することを確認することによって本実験系がリガンド選択性の検証に有用であることを確かめている。つぎにこの *c-fos* アッセイを用いてシクリッドで特異的にコピー数が拡大している 2 型鋤鼻受容体 V2R 遺伝子のリガンド分化の検証を試みている。その結果、特にシクリッドで特異的にコピー数が拡大している V2R サブファミリー-14 ではコピー間でアルギニン受容能に差があることを示し、シクリッドにおける V2R のコピー拡大が識別できる匂いの増加につながった可能性を述べている。最後にシクリッドにおける尿採取方法を確立し、シクリッドの尿に 1 型鋤鼻受容体 V1R、特に V1R2 受容体と V1R5 受容体が応答することを *c-fos* アッセイを用いて示し、これまでに機能が明らかにされていない魚類 V1R 受容体のフェロモン受容体としての機能を示唆している。

第 3 章「シクリッド V1R2 のアレル間のリガンド分化の検証」では、東アフリカのシクリッドの大きく分化した 2 種類の V1R2 受容体のアレル、cladeI と cladeII に着目し、アレル間の機能の違いを検証している。はじめにゼブラフィッシュの V1R2 受容体が受容すると報告されている 4-ヒドロキシフェニル酢酸 (4HPAA) とリトコール酸 (LCA) に対するシクリッドの V1R2 受容体の応答を *c-fos* アッセイで検証し、cladeI 型のみが応答することを示すことで、アレル間で受容能が異なることを示唆している。次にこれらリガンド候補物質がシクリッドの尿中から排出される可能性を検証するため、*c-fos* アッセイを用いて尿に対する V1R2 受容体の応答を示している。さらにシクリッドの尿の LC-MS/MS 解析を実施し、尿中に 4HPAA やその誘導体、LCA 等の胆汁酸が尿中に存在することを確かめている。なかでも 4HPAA の誘導体である 3-ヒドロキシフェニル酢酸 (3HPAA) が尿中に高濃度で存在することを示している。さらにこの 3HPAA に対する V1R2 受容体の応答を *c-fos* アッセイを用いて検証し、cladeI 型の V1R2 受容体が応答することを示すことで 3HPAA が cladeI 型の V1R2 受容体の有力な候補であると述べている。次に尿を保持時間で分画して *c-fos* アッセイをおこない、複数の尿分画に V1R2 受容体が応答したことを示すことで V1R2 受容体が 3HPAA だけでなく、複数の尿中物質を受容している可能性を示した。最後に複数の 4HPAA・3HPAA 誘導体を用いて V1R2 のアレル間のリガンド選択性の違いを検証している。その結果 cladeI 型はヒドロキシ基とカルボキシ基を持つ化合物を広く受容したのに対し、cladeII 型では 2-ヒドロキシフェニル酢酸 (2HPAA) にのみ受容することを示し、リガンド選択性の違いを示している。最後にこの V1R2 受容体の多型がシクリッドの多様性創出に寄与した可能性を論じ、今後検証すべき課題を提示している。

第 4 章「総論」では、本研究の結果をまとめ、本研究がシクリッドにおける嗅覚を介した多様性創出メカニズムの解明の一助になることが期待されることを述べている。

以上を要するに本論文は *c-fos* アッセイや尿採取法の確立によってシクリッドの嗅覚研究やフェロモ

ン研究の基盤を提供し、さらにシクリッドの V1R2 受容体のアリアル間のリガンド選択性の違いや V1R2 受容体が尿中リガンドを受容することを示し、シクリッドにおける嗅覚を介した多様性創出メカニズム解明に迫るものであり、理学上貢献するところが大きい。よって、本論文は博士（理学）の学位論文として十分な価値があるものと認められる。

注意：「論文審査の要旨及び審査員」は、東工大リサーチポジトリ(T2R2)にてインターネット公表されますので、公表可能な範囲の内容で作成してください。