

## 論文審査の結果の要旨

氏名：柿崎 博美

博士の専攻分野の名称：博士（生物資源科学）

論文題名：魚類におけるキチナーゼの分布・種類および構造に関する研究

審査委員：（主査） 教授 松宮 政弘

（副査） 教授 小田 宗宏

教授 西尾 俊幸

キチナーゼはキチンの  $\beta$ -1, 4 グリコシド結合をランダムに加水分解し、免疫賦活作用などの生理活性を示すキチンオリゴ糖を生成する酵素である。これまでの魚類キチナーゼに関する知見は、主に胃からの精製および cDNA クローニングに限定されている。本研究では胃も含めて魚類におけるキチナーゼの体内分布、種類および構造の特徴を明らかにすることを目的とした。まず、2 魚種のキチン分解酵素の体内分布およびキチナーゼ遺伝子の発現状況を、さらに 10 魚種を用いてキチン分解酵素の体内分布も調査した。また、カサゴ腎臓より新規キチナーゼ遺伝子をクローニングし、カサゴ体内におけるキチナーゼの分布および遺伝子の発現状況を調査した。さらにシーラカンスおよびハイギョを試料とし、既報および本研究で得られた結果と比較検討し、以下の結果を得た。

1. マサバ、シログチ体内には消化器官以外にもキチン分解酵素が存在し、器官により至適 pH が異なることを明らかにした。また、マサバ胃よりキチナーゼアイソザイムの遺伝子 (*SjChi-2*) を得た。器官発現解析の結果、キチナーゼ活性が検出された器官の一部でしか遺伝子の発現が検出されなかったことより、魚類体内には既報と異なる複数のキチナーゼが存在することを明らかにした。

2. 10 魚種体内におけるキチン分解酵素の分布を調査し、消化器官以外にもキチン分解酵素が存在することを明らかにした。また、カサゴ腎臓より新規キチナーゼ全長遺伝子 (*SmChi-3*) を得た。系統樹解析より、*SmChi-3* は魚類酸性キチナーゼのグループ (AFCCase-1, AFCCase-2) には属さず、新たな Fish Chitinase-3 のグループを形成することが判明した。また、カサゴ体内における 2 種胃キチナーゼ遺伝子 (*SmChi-1*, *SmChi-2*) および *SmChi-3* の発現状況を初めて明らかにした。

3. シーラカンス胃よりキチナーゼの全長遺伝子 (*LcChi*) を得た。器官発現解析より、*LcChi* は胃のみならず全ての器官において発現が検出された。ハイギョにおけるキチン分解酵素の体内分布を調査した結果、食道、腸、腎臓に高いキチナーゼ活性を、腸、腎臓、卵巣に高い Hex 活性を検出した。さらに、ハイギョ食道より 1,428bp のキチナーゼ遺伝子断片を得、それはシーラカンス同様ほとんどの器官で発現していることを観察した。系統樹解析により、肉鱗類キチナーゼは AFCCase-1, AFCCase-2, FCCase-3 のグループには属さず、シーラカンスは魚類の、ハイギョは両生類のキチナーゼに近いことを明らかにした。これらのことより、魚類の進化に伴い魚類のキチナーゼも様々に分化している可能性を初めて明らかにした。本論文の一部は査読付き原著論文として 2 本が学術誌に掲載されており、学術的意義も高いものである。よって博士（生物資源科学）の学位を授与されるに値するものと認める。

以 上

平成 28 年 2 月 5 日

「押印ありの場合」と同じ。