

氏名	姜 奉廷
授与した学位	博士
専攻分野の名称	理学
学位授与番号	博甲第3619号
学位授与の日付	平成20年 3月25日
学位授与の要件	自然科学研究科生命分子科学専攻 (学位規則第5条第1項該当)
学位論文の題目	ANALYSES OF THE STRUCTURE AND EXPRESSION OF VITELLOGENIN GENES IN TWO AQUATIC SPECIES (水生動物2種のビテロジェニン遺伝子の構造と発現解析)
論文審査委員	准教授 三枝 誠行 教授 酒井 正樹 教授 富岡 憲治

学位論文内容の要旨

Vitellogenin (Vg) is the precursor of vitellin (Vn), the major egg yolk protein in oviparous animals and generally synthesized in a tissue-, stage- and sex-specific manner in a specific tissue. There should be strict regulation of vitellogenesis for timely egg production. *vg* genes of various vertebrates and invertebrates have been isolated and analyzed focusing on their expression to unravel the mechanisms of genetic regulation. In this thesis, two aquatic species, the common carp, *Cyprinus carpio*, and the mud shrimp, *Upogebia major*, were selected and vitellogenesis in these species was investigated through the identification and purification of Vgs and Vns, cloning of cDNAs for *vg* genes, and analyses on *vg* gene structure, expression, and Vg processing. Molecular evidence of two *vg* genes in *C. carpio* was demonstrated. A longer novel *vg* cDNA termed *C. carpio vg-B2* encoding 1624 amino acids was isolated, in addition to the *C. carpio vg-B1* that was identical to the previously reported *C. carpio vg*. Both carp *vg* genes were expressed in a female-specific manner in the liver. The expression was induced in males by the injection of synthetic estrogen, estradiol-17 β . A probe corresponding to the well-conserved region among cyprinid Vgs detected both *C. carpio vg-B2* and *C. carpio vg-B1* transcripts simultaneously in Northern blotting. RT-PCR using primer sets corresponding respectively to *C. carpio vg-B2* and *C. carpio vg-B1* amplified the specific gene transcripts, and it was proved as a sensitive method to detect *vg* gene expression with a small amount of RNAs. These results demonstrated the potential use of *C. carpio vg* genes as an additional sensitive biomarker to detect contamination of xenoestrogen in the aquatic environment by examining at the level of gene expression. In *U. major*, Vgs and Vns were identified and *vg* cDNA was cloned. Structural analysis of *vg* cDNA, N-terminal amino acid sequencing and immunoblotting using polyclonal antibodies confirmed that three polypeptides of major yolk proteins were derived from a single long polypeptide translated from the *vg* gene transcript in the hepatopancreas. Vg underwent processing in the hepatopancreas, in the hemolymph and possibly in the oocytes, similarly in both sexes. The *U. major vg* gene was expressed in both females and males throughout the year regardless of the developmental stage. The hepatopancreas was the major site of *vg* gene expression as in other decapodan species, while the same *vg* gene was also expressed in the ovary and the ovarian part of testis. *U. major* might no longer be regarded as an authentic gonochoristic species, although its external morphology has sexual dimorphism. It is proposed that *U. major* serve as a unique model to understand evolutionary aspects of sexual plasticity such as hermaphroditism and gonochorism, in relation to sex-specific gene regulation in crustaceans.

論文審査結果の要旨

本学位論文提出者の姜奉廷氏は、水性動物のコイ (*Cyprinus carpio*) とアナジャコ (*Upogebia major*) の2種を用い、各々の種類の卵黄形成過程に関わるビテオジェニンおよびビデリンを同定した。この結果に基づき、ビテオジェニン遺伝子をクローニングし、その構造、発現様式、および合成されるビテオジェニンのプロセッシングを明らかにした。

コイのビテオジェニン遺伝子については、すでにGenBank Data baseに登録されている *vg-B1* 遺伝子に加え、姜氏は新たに *vg-B2* 遺伝子をクローニングし、複数の遺伝子が存在することを明らかにした。本研究により、コイのビテロジェニン遺伝子は、環境ホルモンによる水環境の汚染を遺伝子発現レベルで検出するバイオマーカーとして利用できることが示された。

また、姜氏はアナジャコの体液中のビテロジェニン、および卵内に蓄積されるビテリンを同定し、ビテロジェニン遺伝子をクローニングすることに成功した。一連の解析結果から、アナジャコのビテロジェニンは1本の長いポリペプチドとして合成され、プロセッシングを受けて3つの主要卵黄タンパク質として卵内に蓄積されることが推定された。さらにPT-PCRを用いてビテロジェニン遺伝子の発現様式を調べ、雌および雄の中腸腺と生殖巣で発現が見られること、および生育段階に関係なく雌雄で発現していることを明らかにした。

姜奉廷氏が博士後期課程において行った一連の研究は質的にも高いレベルにあり、得られた成果は甲殻類生物学の研究分野の進展に貢献する。博士論文として十分に値するものと認定される。