

氏名 山口 寿哉

(※論文提出者の氏名を記入)

主論文審査の要旨

《本文》

本論文では、ヒラメの温度依存性性決定において、コルチゾルが重要な役割を果たしていることを明らかにしたものである。学位論文は第1章から第6章から成る。

第1章では、研究の背景と目的について述べている。

第2章では、研究に用いた材料と実験方法について述べている。

第3章では、ヒラメ性分化時期におけるコルチゾルの影響を調べるために、コルチゾル量の測定と生殖腺の器官培養実験を行っている。高水温飼育個体のコルチゾル量は、通常水温飼育個体に比べて高い値を示すことが確認された。また、ヒラメ性分化時期の遺伝的雌(XX)生殖腺を用いた器官培養の結果、コルチゾルはXX生殖腺の雄化を直接、誘導することが示唆され、コルチゾルが高水温による雄化に深く関与していることを明らかにした。

第4章では、コルチゾルが及ぼすアロマターゼ遺伝子の転写活性への影響を、*in vitro* 及び *in vivo* 実験を用いて調べている。*in vitro* 実験では、コルチゾルはグルココルチコイド受容体(GR)を介して、cAMP によって誘導されたアロマターゼ遺伝子の転写活性を有意に抑制することを明らかにした。また、ゲルシフトアッセイにより、GR はアロマターゼ遺伝子プロモーター上の cAMP 応答配列(CRE)に直接結合する可能性が示唆された。一方、*in vivo* 実験では、ChIP アッセイにより、アロマターゼ遺伝子プロモーター上の CRE に対する GR の結合量が、通常水温個体よりも高水温個体において有意に高いことが示され、高水温飼育個体では、コルチゾルがアロマターゼ遺伝子の発現を制御していることが強く示唆された。

第5章では、高水温が及ぼす減数分裂開始への影響を調べるために、ヒラメ精巣からレチノイン酸代謝酵素 *cyp26b1* と減数分裂マーカー *sycp3* cDNA を単離して発現解析を行っている。*cyp26b1* mRNA は性分化開始時期から雄化に伴って発現が開始される一方、*sycp3* mRNA は雌化に伴って発現量が上昇した。これらのことから、高水温による雄化は、*cyp26b1* mRNA の発現量の上昇と減数分裂開始の遅延を伴っている可能性が示唆された。

第6章では、総合的考察を行っている。本論文の研究結果は、ヒラメの温度依存性性決定におけるコルチゾルの関与を明らかにしたという画期的なものであり、温度依存性性決定機構を持つ他の脊椎動物においても共通した分子機構が存在している可能性を示唆するものである。

審査委員 複合新領域科学専攻 生命環境科学講座担当教授

氏名 安部 眞一

審査委員 理学専攻 生命科学講座担当教授

氏名 齊藤 寿仁

審査委員 理学専攻 生命科学講座担当教授

氏名 高宗 和史

(審査委員は全員記入)