

The immune defense of shrimp gills revealed by Marsupenaeus japonicus gill C-type lectin (MjGCTL)

学位名	博士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2017
学位授与番号	12614博甲第445号
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00001460/

〔課程博士〕 (博士論文審査及び最終試験の結果要旨)

学生氏名：ALENTON ROD RUSSEL REYES

博士論文題目：The immune defense of shrimp gills revealed by *Marsupenaeus japonicus* gill C-type lectin (MjGCTL)
(クルマエビのエラ C 型レクチン研究によるエラの生体防御機構の解明)

博士論文審査：

本研究はエビ類の免疫、生体防御システムの機能解明の一環として行われた。クルマエビを中心にエビ類の養殖は世界各地で実施され、産業的にも重要なものとなっている。しかし、クルマエビ類養殖においてウイルス感染症を主として種々の感染症が発生し、世界中のクルマエビ類養殖場で蔓延し、多大な経済的被害を与えている。エビ類感染症を防除する方法を開発するためにはエビ類の免疫生体防御メカニズムを詳細に研究する必要がある。クルマエビ類の免疫担当組織として重要なエラに着目し、エラに特異的に存在する生体防御関連分子であるレクチンの機能を明らかにすることを目的として博士論文研究を行った。

まず、クルマエビのエラで特異的に産生されている C 型レクチン (MjGCTL) をクローン化し構造解析を明らかにした。昆虫細胞の組換えタンパク質作製システムにより組換え MjGCTL を作製した。この組換え MjGCTL を抗原にポリクローナル抗体を、ウサギを用いて作製した。組換え MjGCTL が結合する糖ならびに細菌特有物質を明らかにするために結合試験を行ったところ、MjGCTL は炭水化物ではグルコース、キシロース、フコース、ラクトース、マルトース及びシュクロースと結合し、ガラクトース及びマンノースとは結合しなかった。さらに、リポ多糖及びペプチドグリカンとも結合した。これらの結合はカルシウム依存性であった。MjGCTL はグラム陽性菌及びグラム陰性菌にも結合し、凝集させることが明らかとなった。炭水化物認識結合領域に存在する QAP モチーフは既知のものとは異なる新規機能を有することが示唆された。

クルマエビのエラに他のレクチンあるいは細菌凝集因子が存在するかどうかを調べるために、エラ抽出物と MjGCTL に対するポリクローナル抗体を混合し、細菌凝集活性を調べたところエラの抽出物の細菌凝集活性が喪失したことから、エラに存在する細菌凝集因子は今回解析した MjGCTL のみであることが示された。

MjGCTL を RNA 干渉法でノックダウンし、血液中及びエラに存在する細菌数を測定したところ、MjGCTL をノックダウンしたエビで、通常のエビの血中及びエラに存在する細菌数より多くなっていることがわかった。これらのことから、MjGCTL はクルマエビの体表及び体内に侵入してくる細菌の抑制に働いていることが示唆された。

本研究成果は、今後、クルマエビ類の感染症克服のための免疫・生体防御学分野研究の発展に大きく貢献するものと思われた。以上の内容から、学生から提出された博士論文は、国内外の研究の水準に照らし、各研究分野における学術的意義、新規性、独創性及び応用的価値を有しており、博士の学位に値することを審査委員一同確認した。

最終試験の結果要旨：

最終試験は 8 月 16 日に行われた。まず、学術論文は 1 編が第 1 著者(Rod Russel R. Alenton, Keiichiro Koiwai, Kohei Miyaguchi, Hidehiro Kondo, Ikuo Hirono., Scientific Reports 47:45818. doi: 10.1038/srep4581)として公表済みであるとともに、国際学会での発表が 2 回あることと合同セミナーは企業型セミナーを履修していること確認した。大学院海洋科学技術研究科が指定した研究者倫理教育を修了していることを確認した。

学術論文は英語で書かれており、かつ、国際会議で英語で発表しており、英語の学力については問題ないと判断した。また、申請者に対して、論文内容について最終確認のための質疑応答を行い、その内容は十分であった。一方、専門知識については公开发表会(8 月 16 日)当日の質疑や予備審査時でのディスカッションを含め十分であると審査委員一同確認した。以上から、学生について博士論文審査、最終試験とも合格と判定した。