

TUMSAT-OACIS Repository - Tokyo

University of Marine Science and Technology

(東京海洋大学)

カレイ目アキルス科魚類の淡水進出における栄養学的適応機構の解明：脂肪酸代謝酵素系の多様化によるDHA合成能獲得への収斂進化

メタデータ	言語: jpn 出版者: 公開日: 2021-06-21 キーワード (Ja): キーワード (En): 作成者: 松下, 芳之 メールアドレス: 所属:
URL	https://oacis.repo.nii.ac.jp/records/2104

博士学位論文内容要旨
Abstract

専攻 Major	応用生命科学	氏名 Name	松下 芳之
論文題目 Title	カレイ目アキルス科魚類の淡水進出における栄養学的適応機構の解明： 脂肪酸代謝酵素系の多様化による DHA 合成能獲得への収斂進化		

長鎖多価不飽和脂肪酸の一種であるドコサヘキサエン酸 (DHA; 22:6n-3) は、細胞膜の構成成分として脳や網膜をはじめとする神経組織の発達や維持に関わるほか、神経保護に関与するシグナル分子群であるドコサノイドの前駆体になる等、種々の代替不可能な生理活性をもっている。脊椎動物において、DHA は植物等に由来する α -リノレン酸 (ALA; 18:3n-3) を起点とし、炭素鎖へ二重結合を導入する不飽和化酵素と、炭素鎖を延長する鎖長延長酵素が触媒する DHA 合成経路によって合成される。しかし、多くの海産魚はこれらの脂肪酸代謝酵素の活性を一部欠損しているため DHA を自ら合成できず、海洋環境の餌生物中に豊富に含まれる DHA を直接摂取することに依存している。ところが、このような海産魚のうち一部の系統は、DHA の大量生産者が存在せず、餌生物に含まれる DHA が非常に乏しい淡水環境へ進出している。海産養殖魚種における栄養学的研究から、DHA の欠乏は種苗の生残率の低下や発生異常、成長不全を招くことが明らかになっており、淡水へと進出した海産魚系統は、低張環境から体液浸透圧の恒常性を守る生理学的適応のほかに、貧 DHA 環境で生存するための栄養学的適応を果たしているものと予想された。そこで本研究では、南北アメリカ大陸の東岸を中心に海洋から淡水まで幅広く分布するカレイ目のアキルス科魚類に注目し、生息環境の異なる 4 種、すなわち、海産種 *Gymnachirus melas*、降河回遊種 *Trinectes maculatus*、そして淡水産の 2 種 *Apionichthys finis* と *Hypoclinemus mentalis* を材料に用いることにより、本系統がどのように貧 DHA という栄養学的障壁を克服し、淡水環境に適応したのか明らかにすることを目的とした。

はじめに、降河回遊種 *T. maculatus* を除く、生態学的情報に乏しいアキルス科 3 種について、彼らが実際に経験してきた生息環境を明らかにするため、耳石中のストロンチウム (Sr) 濃度分布に基づく回遊履歴の推定を行った。その結果、海産種 *G. melas* では、耳石の核を含む中心部と外縁部に近い領域で高く、その中間帯ではやや低い Sr 濃度を示したことから、本種は他の沿岸性カレイ目魚類と同様、河口付近を養育場として利用するものの、海に依存した生活史をもつと考えられた。一方、淡水産の 2 種 *A. finis* と *H. mentalis* では、一貫して低い Sr 濃度を示したことから、彼らは淡水で生活史を完結し、海の餌生物に全く依存していないことが強く示唆された。

次に、アキルス科における淡水進出が系統分化のどの時点で生じたのかについて明らかにするため、16S rRNA 遺伝子の塩基配列に基づく分子系統解析を行った。その結果、アキルス科においては海産系統の *Gymnachirus* 属が最も早く分岐し、次いで降河回遊種を擁する *Trinectes* 属、そして淡水系統の *Apionichthys* 属と *Hypoclinemus* 属が分岐したことが明らかになり、本科は海に起源をもち、系統の分化と共に淡水へ進出したこと、そして海産種 *G. melas* は淡水進出に関わる形質について、祖先的な状態を留めていることが推測された。

続いて、アキルス科 4 種の DHA 合成能を明らかにするため、放射性同位体 (RI) で標識された脂肪酸を用いて代謝実験を行った。本実験では、脂肪酸代謝酵素が高発現する脳や肝臓の分散細胞を調製したのち、RI 標識された ALA またはドコサペンタエン酸 (DPA; 22:5n-3) の存在下で培養し、各細胞における代謝産物を追跡した。その結果、海産種 *G. melas* ではすべての区において DHA は検出されず、本種は多くの海産魚と同様に DHA 合成能をもたないことが明らかになった。一方、その他 3 種では、いずれも ALA および DPA 添加区から DHA が検出された。また、テトラコサペンタエン酸 (TPA; 24:5n-3) やテトラコサヘキサエン酸 (THA; 24:6n-3) は降河回遊種 *T. maculatus* ではほとんど

検出されなかったが、淡水産の2種、特に *A. finis* では強く検出される傾向があった。このことから、生活史の一部、あるいは全部を淡水に依存するこれらの種は、ALA からの DHA 合成能を獲得していることが明らかになり、3種の DHA 合成経路には何らかの差異があることが示唆された。

そこで、アキルス科4種の DHA 合成経路を詳細に明らかにするため、脳や肝臓の cDNA から不飽和化酵素遺伝子 (*fads2*) や鎖長延長酵素遺伝子 (*elovl5*) を RT-PCR 法により単離したのち、酵母発現系による機能解析を行った。その結果、海産種 *G. melas* は不飽和化酵素の機能欠損により DHA を合成できないことが明らかになった。一方、降河回遊種 *T. maculatus* は $\Delta 4$ 活性を獲得した不飽和化酵素により $\Delta 4$ 経路を駆動可能であり、淡水種 *A. finis* は炭素数 24 の脂肪酸の代謝能強化により Sprecher 経路を駆動可能であった。また、淡水種 *H. mentalis* では遺伝子重複により生じた活性の異なる2種の不飽和化酵素が不飽和化反応を分担し、 $\Delta 4$ 経路と Sprecher 経路の両方を駆動可能であった。このことから、淡水進出種では脂肪酸代謝酵素の機能が非常に多様化していながら、いずれの酵素機能の組み合わせも DHA 生合成という共通の結果を導いていることが明らかになり、彼らの間で貧 DHA 環境への適応を可能にする DHA 合成能の獲得という収斂進化が生じていることが強く示唆された。

以上の研究から、アキルス科魚類では DHA の豊富な海に留まる祖先的な種は DHA 合成能をもたず、淡水への進出を果たした分化的な種は様々な形で DHA 合成能を獲得していることが明らかになり、海産魚が淡水環境に適応するためには、低張環境における浸透圧調節能に並び、貧 DHA という栄養学的障壁を克服するための DHA 合成能の獲得が極めて重要な要素になるものと結論付けた。