

氏名	池田 英樹
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3177号
学位授与の日付	平成18年 3月24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4条第1項該当)
学位論文の題目	Induction of hatching by chemical signals secreted by the female of an estuarine crab <i>Sesarma haematocheir</i> . (アカテガニの孵化を誘導する孵化過程誘導因子の性質)
論文審査委員	助教授 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

アカテガニ (*Sesarma haematocheir*) の孵化は夜間の満潮時に強く同調しており、雌親に抱かれている 20,000-50,000 の胚は、1 時間以内という非常に短い時間で一斉に孵化する。胚は、雌親から放出される“孵化過程誘導因子 (hatching-program inducing factor)”を受けると、約 49.6 時間の不可逆的な発生プログラムである“孵化過程 (hatching program)”を経て孵化する。孵化のタイミングは、孵化過程誘導のタイミングに依存しており、孵化過程誘導因子は、アカテガニの幼生放出リズムが潮汐リズムを示すための重要な鍵刺激である。にもかかわらず、孵化過程誘導因子の性質や放出器官、さらにはどのようなタイミングで放出されるのかは明らかとなっていなかった。本研究では、孵化過程誘導因子の性質の解明および放出器官や放出の詳細なタイミングの特定を行った。

雌親から出される化学的および物理的な刺激から胚を遮断する実験では、物理的な刺激を遮断された胚は孵化することが出来たが、化学的な刺激から遮断された胚は孵化することが出来なかった。また、孵化過程に入る前に切り離された胚の孵化は、孵化過程に入った胚をもつ雌親の抱卵室にある水によって誘導された。これらのことから、孵化過程誘導因子は、抱卵室の水に放出される化学的な因子であることが明らかとなった。孵化過程の誘導をプロテアーゼやエイコサノイド阻害剤、あるいは pH により阻害する実験では、低 pH を除いて、孵化過程の誘導は阻害されず、孵化過程誘導因子の性質は甲殻類における既知のフェロモンとは異なることが示唆された。一方、孵化を人工的に誘導する実験では、アセトンなどの水溶性有機溶剤が孵化過程を誘導できることが明らかとなった。特にアセトンは 60% および 80% 水溶液により 7 割以上の胚の孵化を誘導することが出来た。

孵化過程誘導因子の分泌器官を特定するために、雌親の組織をホモジェナイズし、胚に与える実験を行ったが、どの組織でも孵化を誘導することは出来ず、直接孵化過程の誘導因子の分泌器官の特定には至らなかった。間接的に分泌器官を調べるため、雌親の腹肢や腹部に伸びる神経を切断した雌ガニを用いた胚移植実験では、胚は正常に孵化できた。一方、胚を抱卵室以外の鰓室やその出口に移植する実験では、鰓室に移植された胚が高率で孵化したことから、孵化過程誘導因子は鰓から分泌される可能性が高いと考えられる。

孵化過程誘導因子の分泌は、昼間と夜間に分けて胚移植を行う実験により、幼生放出の 2 晩前、1 晩前、さらに幼生放出当日の昼間と夜間の計 4 回行われることが明らかとなった。さらに、胚の移植を 15 分おきに 3 時間連続して行う実験により、一回の分泌は 15 分以内で起こり、孵化過程誘導因子は分泌後急速に活性が失われる不安定な物質であることが示唆された。

## 論文審査結果の要旨

本論文では、アカテガニ (*Sesarma haematocheir*) において、孵化を誘導するために雌親から放出される孵化過程誘導因子の性質の解明および放出器官や放出の詳細なタイミングの特定を行った。

雌親から出される化学的および物理的な刺激から胚を遮断する実験では、物理的な刺激を遮断された胚は孵化することが出来たが、化学的な刺激から遮断された胚は孵化することが出来なかった。また、孵化過程に入る前に切り離された胚の孵化は、孵化過程に入った胚をもつ雌親の抱卵室にある水によって誘導された。これらのことから、孵化過程誘導因子は、抱卵室の水に放出される化学的な因子であることが明らかとなった。孵化過程の誘導を阻害剤、あるいは pH により阻害する実験では、低 pH を除いて、孵化過程の誘導は阻害されず、孵化過程誘導因子の性質は甲殻類における既知のフェロモンとは異なることが示唆された。一方、孵化を人工的に誘導する実験では、アセトンなどの水溶性有機溶剤が孵化過程を誘導できることが明らかとなった。

孵化過程誘導因子の分泌器官を特定するために、雌親の組織をホモジェナイズし、胚に与える実験を行ったが、どの組織でも孵化を誘導することは出来ず、直接孵化過程の誘導因子の分泌器官の特定には至らなかった。間接的に分泌器官を調べるため、胚を抱卵室以外の鰓室やその出口に移植する実験では、鰓室に移植された胚が高率で孵化したことから、孵化過程誘導因子は鰓から分泌される可能性が高いと考えられた。

孵化過程誘導因子の分泌は、幼生放出の 2 晩前、1 晩前、さらに幼生放出当日の昼間と夜間の計 4 回行われることが明らかとなった。さらに、胚の移植を 15 分おきに 3 時間連続して行う実験により、1 回の分泌は 15 分以内で起こり、孵化過程誘導因子は分泌後急速に活性が失われる不安定な物質であることが示唆された。

本論文は、これまで未解明であったカニ類における孵化のリズムを司る鍵化学物質について重要な知見を提供すると評価できる。よって学位審査委員会は、本論文が博士（理学）の学位論文として十分に値するものと判定した。