

論文審査の結果の要旨および担当者

報告番号	※	第	号
------	---	---	---

氏 名 中山 友哉

論 文 題 目

メダカの季節適応におけるトランスクリ
プトーム解析

論文審査担当者

主査	名古屋大学教授	吉村 崇
委員	名古屋大学教授	山本 直之
委員	名古屋大学准教授	大川 妙子
委員	名古屋大学特任講師	中根 右介
委員	名古屋大学助教	塚田 光

四季のある地域に生息する多くの動物は、日々変化する季節の変化を読み取り、その季節に合わせて最適な生理機能や行動をとるよう進化してきた。季節によって変動する環境因子は日長、温度、降水量などがあるが、多くの動物は日長（光周期）を季節の指標として利用しているため、この性質は光周性と呼ばれている。近年の研究から季節繁殖の制御機構については明らかになってきたが、行動の季節変化などの動物の季節適応機構の分子基盤についてはほとんど明らかにされていない。本論文では、季節適応研究において優れたモデルであるメダカを用いて、トランスクリプトームの観点から季節適応機構について検討した。

第I章では、短日条件から長日条件へと移行した際の視床下部および下垂体の時系列サンプルを用いて、DNA マイクロアレイによるトランスクリプトーム解析が実施され、多数の転写産物やシグナル伝達経路が長日刺激によって変動していることが明らかとなった。その中には、長日条件への移行後、ほかの転写産物に先駆けて誘導されるとともに日周リズムを示す機能未知な長鎖ノンコーディング RNA (long non-coding RNA: lncRNA) である *LDAIR* が含まれていた。次に CRISPR/Cas9 システムにより作製した *LDAIR* ノックアウト (KO) メダカを用いてトランスクリプトーム解析を行ったところ、*LDAIR* はストレス反応に関与するコルチコトロピン放出ホルモン受容体 2 (corticotropin-releasing hormone receptor 2: CRHR2) を含む近傍遺伝子の発現を制御していることが明らかとなった。そのため、*LDAIR* が *CRHR2* の発現制御を介してストレス反応を制御している可能性が示唆された。そこで *LDAIR* KO メダカを用いてストレス反応を評価したところ、長日条件で飼育された野生型のメダカは *LDAIR* KO メダカと比べてストレスに敏感であり、危険な状況を避けることが明らかとなった。以上の結果より、*LDAIR* による *CRHR2* の日長制御は、繁殖期における自己防衛行動を制御していることが明らかとなった。

メダカは春に繁殖を開始し、秋に繁殖を停止する長日繁殖動物であるが、動物がどのように秋を感知し、繁殖を停止しているかについては依然として明らかとなっていない。第II章では、秋季の繁殖停止機構を明らかにすることを目的とし、長日条件から短日条件へと移行した際の視床下部および下垂体の時系列サンプルを用いて DNA マイクロアレイによるトランスクリプトーム解析が行われた。その結果、短日刺激に応答する遺伝子群として 1st wave genes、2nd wave genes、Cycling genes の3つに分類できることが明らかとなった。1st wave genes は短日条件移行 24 時間後に発現上昇し、それに続く 4 時間後に 2nd wave genes の発現が上昇していたため、1st wave genes は 2nd

wave genes の発現を制御していることが推測された。また、1st wave genes の中にはスプライシングの際に重要な役割を果たすスプライソソームの構成因子である核内低分子 RNA (small nuclear RNA: snRNA) が多数含まれていた。さらに、興味深いことに 1st wave genes には全イントロンの 1%以下しか存在しないマイナーイントロンを除くマイナースプライソソームを構成する snRNA が含まれていた。そのため、メダカは秋季を感知するとこれらのスプライシング制御因子の発現を上昇させることで下流遺伝子のスプライシングパターンを変化させ、秋季に適応している可能性が考えられた。

脊椎動物の季節適応機構の解明に取り組んでいる一連の実験の中で、メダカは光感受性や色覚が季節によって大きく変化していることが明らかとなっていたが、その分子基盤は不明のままであった。第 III 章では、季節によって変化する光感受性や色覚の分子基盤を明らかにすることを目的とし、短日低温条件から長日温暖条件へと移行した際の眼の時系列サンプルを用いてトランスクリプトーム解析が行われた。その結果、オプシン遺伝子やその下流の情報伝達経路が季節によって大きく変化していることが明らかとなった。つまり、メダカは光情報伝達経路を季節によってダイナミックに変化させることで、光感受性や色覚を変化させていることが示唆された。しかし、オプシン遺伝子の季節変動を制御している因子は不明のままであった。トゲウオにおいてオプシンがテストステロンによって制御されているとの報告があったため、生殖腺除去やホルモン投与を行うことで性ホルモンの影響を検討したが、いずれもオプシン遺伝子の発現に影響しなかった。最後に、日長や温度の影響を検討したところ、温度の上昇が引き金となってオプシン遺伝子の発現が誘導されたことから、メダカのオプシン遺伝子の発現は温度によって制御されていることが明らかとなった。

これらの成果は、ストレス反応を介した季節適応機構 (第 I 章)、秋季適応機構 (第 II 章)、季節によって変化する光感受性や色覚の分子基盤 (第 III 章) について新たな知見を加えており、将来的に脊椎動物の季節適応機構の全容の解明に貢献することが期待される。当審査委員会は、本論文が博士(農学)の学位を授与するに値すると認め、合格と判定した。