

氏名	Oleg Gusev
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3411号
学位授与の日付	平成19年 3月23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	Molecular aspects of hatching and heat stress response in decapod crustaceans (十脚甲殻類における孵化と熱ストレス反応の分子機構)
論文審査委員	助教授 三枝 誠行 教授 香川 弘昭 教授 酒井 正樹

学位論文内容の要旨

The thesis contains three chapters on the topics related to the molecular aspects of the hatching and stress response in decapod crustaceans. Molecular properties of new serine protease sub-group which was found to be conservative in decapod crustaceans are discussed. The stripping of eggs cases in crabs is caused by an active factor we call OHSS (ovigerous-hair stripping substance) that is released by the embryo upon hatching. The cDNA of OHSS cloned from an embryonic cDNA library was 1759 bp long encoding 492 amino acids in a single open reading frame (ORF). Cloning of OHSS homolog genes from other decapod crustaceans showed 80-90% identity on amino-acid level among isolated transcripts. The predicted protein (54.7 kDa) secreted as a zymogen may be cleaved post-translationally, separating the C-terminal region from the N-terminal. The OHSS gene was expressed in all stages of embryonic development of the crab. The second topic represents data on the differences in gene expression between embryos artificially involved in hatching program and control embryos were investigated by two step PCR-based cDNA Selective Subtractive Hybridization. A new member of hsp90 family of molecular chaperons and demonstrated that it is significantly up-regulated during the hatching program in embryos was cloned. The increasing of the gene expression was observed in both embryos in which hatching program was artificially induced by acetone solution and embryos incubated by the female. Last chapter describes aspects of the biology of heat shock proteins 90kDa (hsp90) in terrestrial decapod crustaceans. Pattern of expression for the gene coding hsp90: molecular chaperon in both embryos and the muscle tissues of adults of land crabs and hermit crabs in response to heat stress we analyzed. While the minimum temperature for initiation of the synthesis of excess of hsp90 mRNA was different between embryos and adults from the different climatic regions, the range of resistance to high temperature shock was nearly the same (6-7°C). Furthermore, the structure of the stress-factor binding domain in hsp90 coding gene showed convergent patterns by possessing a conservative amino acid sequence in decapods experiencing the same annual temperature regimes in subtropical, temperate and boreal climatic regions.

論文審査結果の要旨

多くのカニ類の雌は、生殖時期になると雄と交尾し、抱卵する。雌は、4～5万の胚を腹部に生えた4対の担卵肢に付着させ、孵化まで保護しており、1ヶ月ほどの抱卵期間の後、河口の川岸に出てゾエア幼生を放出する。ゾエア幼生の放出の直前に、雌に抱かれていた胚はいっせいに孵化するが、その際に胚（幼生）から何種類かの活性物質が放出される。それらのひとつが、OHSS (ovigerous hair stripping substance) と名付けられた物質で、孵化後に担卵毛の上に残った壊れた卵殻、柄、コートを担当毛から脱落させるプロテアーゼ（セリンプロテアーゼ）である。この酵素があるために、他の十脚甲殻類では幼生放出後に、脱皮しないと次の抱卵ができないのに対し、カニ類では脱皮することなく、この酵素により担卵毛を清掃し、次の抱卵を可能にする。

本研究は、精製したOHSSのアミノ酸配列決定とその遺伝子についての解析である。OHSS遺伝子は、1754塩基対から構成され、492個のアミノ酸をコードしていた。また、OHSSの活性タンパク質を、バクテリアで発現させることも試みた。さらに、アカテガニの幼生の孵化に伴い、ヒートショックプロテイン（Hsp90）も合成されることを示した。アカテガニのHsp90の遺伝子解析を行い、短尾下目、異尾下目、アナジャコ下目のHsp90遺伝子についての系統関係、瀬戸内海、沖縄、およびロシアの白海（ホワイト・シー）において生息緯度の違いによる生態学的特性が、遺伝子の塩基配列に反映されていることを確かめた。

本研究は、十脚甲殻類の生理活性物質やその生理学的機能に関する新たな知見を追加し、この分野の発展に大いに貢献したので、博士（理学）に値すると判断した。