

論文審査の結果の要旨

申請者氏名 松村 幸一

---

ゴンズイ *Plotosus lineatus* は孵化直後から同腹個体で構成される群を形成する。このような群の認識を司る因子に関して、すでに研究がなされ、以下のことが明らかにされている。(1) ゴンズイは自群の飼育海水や自群個体から採取した粘液に誘引されること。(2) 他群よりも自群の海水を選択すること。(3) 鼻腔を詰めると自群の匂いを選択できないことから、受容器官が嗅覚であること。これらの結果から、群の認識は化学物質、すなわち群認識物質により担われていることが予想できる。そこで本研究ではゴンズイの群認識物質を解明することを目的とした。

まず、活性物質に対する行動特性を少量の試料を用いて検出する手法の開発を目指した。まず、自群個体から採取した体表粘液を寒天に混ぜ、それに対する行動を観察した。すると、寒天を通り過ぎた後にすぐさま方向転換して寒天に向かって泳ぐという行動が認められた。これをビデオで5分間記録し、定量化した結果、粘液の濃度に依存して活性を検出できた。次に、本試験法に基づき、活性物質の単離を試みた。*P. lineatus* の体表粘液をエタノールで抽出し、抽出物を溶媒分画後、各種クロマトグラフィーに付し活性画分を得た。この画分は脂肪酸組成の異なるホスファチジルコリン(PC)の混合物であることがわかった。さらに、ゴンズイから海水中にPCが溶出していることも確認した。

活性画分(以後 PCF)を用いて濃度応答実験を行ったところ、PCFは、体表粘液と同様に濃度依存性を示した。活性画分をホスフォリパーゼ A2 で処理したところ活性が消失したため、PCがPCF中の活性本体であることが確実になった。さらに、自群の粘液やPCFは活性を持つが、他群の粘液やPCFは活性を持たず、PCFが群の識別に関わることが明らかになった。市販の卵黄および大豆由来のPCは活性が認められなかった。以上の結果、活性物質による群の識別に関して以下の二つの可能性が考えられた。(1) 自群由来のPCに含まれ、他群や卵黄および大豆由来のPCには含まれない特定の脂肪酸組成を持つ分子種が活性発現に関わる。(2) PC分子種の組成比が活性に関与する。

活性画分を、逆相 HPLC を用いて二分し調べたところ、いずれの画分も活性を示さなかったが、両者を混ぜ合わせると、活性は回復した。すなわち、活性を保持するには、少なくとも二種類のPC分子種が必要であることがわかった。さらに、PCFに合成PC(16:0-22:6n3, 16:0-20:4n6)を添加してPCFのPC分子種の組成を意図的に変えたところ、添加量に依存して活性の低減がみとめられた。なお、添加実験に用いた合成PCは活性を示さなかった。以上のことから、PCFの脂肪酸組成が群認識を決定づ

けていることがわかった。

PC 分子種の組成が群れ認識の本体であるなら、群ごとの PC 分子種の組成は異ならなければならない。PC の定量分析法を以下のように確立した。まず、PC をホスホオリパーゼ C で処理してジアシルグリセロールに変換し、これを 3,5-ジニトロフェニルイソシアネートと反応させて、ジニトロフェニルウレタン誘導体にし、これを逆相 HPLC で分析した。群れが異なると、クロマトグラムは明らかに異なったが、これを以下のように統計的に解析した。まず、認められた約 60 個のピークのうち明瞭に分離していて含量の高い 19 個を選択し、脂肪酸組成を調べた。すなわち各ピークを単離し質量分析に付すと同時に、メタノリシス生成物を GC で分析した。ついで、群間での組成の違いを調べるために 36 群の PCF に対して主成分分析を行った。まず、各群の PCF における前述の 19 個のピークの相対比を算出し、標準化を行い、ヤコビ法で固有値、固有ベクトルを求め、最後に主成分得点、主成分負荷、寄与率を算出した。この結果、群の PC パターンによる分離が明瞭に確認できた。すなわち、PC 分子種の組成が群により異なることを示した。

ついで、PCF の組成をあらかじめ調べた 2 群が、同一水槽内においた時に融合するか分離するかを調べた。7 組について調べた結果、4 組が分離し、3 組が融合した。PC 分子種の組成に基づき、各組み合わせの相関係数を算出した。融合した群と分離した群で比べると、分離した群の方が融合した群より相関係数が低かった。すなわち、群の融合と分離は PC 分子種の組成に依存するという傾向が認められた。

このように、*P. lineatus* が群独自の PC 分子種の組成にもとづいて自他の群を識別していることを明らかにした。本知見は魚類における群れ形成の機構を初めて明らかにした画期的な研究で、PC 分子種の多様性が個体の識別を司ることを示した初めての例であり、審査委員一同は博士(農学)の学位を与えるにふさわしい内容と判断した。