

博士論文審査報告書

論文題目：フジツボ類 (Cirripedia: Balanomorpha) 付着期キブリス幼生の種特異的検出

申請者：神谷享子

1. 論文内容の要旨

節足動物門 甲殻亜門 顎脚綱 蔓脚亜綱 (Cirripedia) 完胸上目 無柄目 フジツボ亜目 (Balanomorpha) に属するフジツボ類は、主要な海洋性付着生物である。岩礁などの自然基盤をはじめとして、湾港設備・湾岸プラント・養殖設備などの人工基盤に多く付着が見られる。また、古くから船舶の移動によって、外来種の移入や移出が起こり、種の拡散が起きている。フジツボの生態研究や付着防除の実用対策において、遊泳する幼生期のうち、特に付着期であるキブリス幼生の動態は重要であり、キブリス幼生の種の判別が求められる。各種フジツボ幼生の形態は 19 世紀初めより記載されているが、専門的で難易度が高いため、近年では遺伝子情報と併せて種判別が行われている。しかし、多検体を扱い、迅速な分析結果を求められる野外調査では、さらに新しい分析方法が求められている。本論文では、多検体分析が可能な現場型分析法の開発を目的として研究を行った。

第 1 章では、日本沿岸に生息する一般的なフジツボ類 (Cirripedia: Balanomorpha) 付着期幼生 (キブリス幼生) を対象とした本研究の背景と目的を述べた。第 2 章では、抗体判別法について検討した。汚損性の高いフジツボ種であるアカフジツボのキブリス幼生に対するモノクローナル抗体を作成し、野外プランクトン試料中のアカフジツボキブリス幼生をホールマウント免疫染色法によって、検出することが可能であった。第 3 章では、キブリス幼生の自家蛍光の分布によって種判別を行う、自家蛍光パターン法について検討した。この方法は、本論文において提唱する新規の種判別手法である。フジツボ亜目 11 種のキブリス幼生について、特徴的な蛍光物質の分布を発見したことから、この蛍光分布の特徴を種ごとにパターン化し、種判別基準を設定した。野外採取プランクトン試料に対し、本手法を適応したところ、大部分のキブリス幼生について、種判別を行うことが可能であった。本手法は、微細な形態の差異に基づく専門的な種査定法よりも短時間で種判別が可能であり、遺伝子解析による種査定に必要な、より専門的な装置や試薬が不要な判別法である。第 4 章では、本蛍光物質がフジツボの生活史において多くのステージで観察されること、蛍光顆粒が充満した小胞と非蛍光物質の小胞を持つ蛍光細胞が存在することを明らかにした。蛍光物質の特性については、青色蛍光と緑色蛍光のピーク波長が認められ、それぞれ 1000Da 以下の低分子である可能性が示された。

2．論文審査結果

本論文は、日本沿岸に生息する一般的なフジツボ類付着期幼生の種特異的検出、および種判別を目的として、モノクローナル抗体の作成と自家蛍光パターンの解析を行った。

アカフジツボは特に汚損性の高いフジツボ種であり、特に本種付着期幼生の検出が求められている。本種付着期幼生を抗原としたモノクローナル抗体を作成し、ホールマウント免疫染色法によって、野外プランクトンサンプルにおける本種幼生の検出に成功した。

蛍光パターン法は本論文によって提唱された新規種判別法である。日本沿岸に生息するフジツボ亜目（Balanomorpha）11種のフジツボ類自家蛍光の存在を初めて明らかにし、形態的特徴の少ない付着期幼生において、特徴的な蛍光物質の分布様式を示すことから、付着期幼生の種判別が実現した。この成果は多種多様な野外プランクトン中からのフジツボ類付着期幼生の検出を容易にするものであり、また種判別も可能である。また、フジツボ類蛍光物質が発生段階ごとに体内分布を変化させること、また、細胞の小胞に存在することを確認し、波長特性から2種類の蛍光物質の存在が示唆された。

本論文の内容は、フジツボ類付着期幼生検出において重要な実用的成果であるとともに、その蛍光物質の解明へと継続する研究の重要な知見であると評価できる。

よって、本論文は博士（理学）の学位論文として価値のあるものと認める。

また、平成24年1月24日、論文内容およびこれに関連する事項について試問を行った結果、合格と判定した。

主査： 渡辺 憲二 印

副査： 大隅 隆 印

： 樋口 芳樹 印

： 村上 明男 印

（神戸大学大学院理学研究科、准教授）