

下でも利用できる点は特筆に値する。

第2章では、糖タンパク質糖鎖の高感度かつハイスループット分析のための蛍光標識法として7-amino-4-methylcoumarin (AMC)を用いた糖鎖の標識化法について述べている。第2章第1節から第3節では反応条件の最適化を行い、ピリジン-ボランを用いることでAMCによる糖標識化が定量的に進行することを見いだしている。「60 mM AMC/DMF および0.2 M ピリジン-ボラン/酢酸中、70°C、1時間」を最適条件とする簡便な標識法として確立した。その結果、AMC 誘導体の検出限界が0.2 amol と極めて高感度であった。第2章第5節および第6節では糖タンパク質糖鎖をAMCで標識化し、LC/ESI-MS分析により各ピークの帰属を行っている。AMC標識化法は、その高い感度から糖鎖などの稀少に存在するオリゴ糖類を高感度かつ特異的に検出法として評価できる。

第3章では、糖鎖の機能解析研究で必須となる糖鎖ライブラリーの構築を目的とした高純度糖鎖調製法として、還元的アミノ化標識化オリゴ糖から元の遊離オリゴ糖へ変換する方法を検討している。この方法では蛍光標識糖鎖をHPLCで分離後、その蛍光団を化学的に切り離すことで元の遊離糖鎖へ再生するというものである。第3章第1、2節ではKallinらの報告を参考に、糖鎖分析によく利用されるいくつかの還元的アミノ化誘導体について、元の遊離の糖鎖への再生法について検討し、過酸化水素・酢酸で緩やかな条件で処理すると元のオリゴ糖へと変換出来ることを見いだしている。様々な誘導体について検討したところ、エチル *p*-アミノ安息香酸 (*p*-ABEE)、*p*-アミノベンズニトリルおよびAMCの各誘導体からはほぼ定量的(約90%)に糖鎖を再生できることを見いだした。第3章第3節ではABEE化糖鎖から遊離オリゴ糖が回収できることを実証している。また、第3章第4、5節ではそのままでは本反応が適用できなかったAP誘導体について詳細に検証し、予め臭化シアンで処理した後、過酸化水素で処理することで元のオリゴ糖に定量的に変換することを報告している。

これらの方法はそれぞれ独立した研究ではあるが、これらを有機的に組み合わせることで、糖鎖分析ならびにその機能解析における有用なデータ・知見を得ることが可能であり、糖鎖のもつシグナル制御に関する機能解析あるいは複合糖質性医薬品の品質管理や創製を加速させる画期的な手法である。よって、本論文は、博士(薬学)の学位論文として十分値するものと認める。

| | |
|------------|----------------------------------|
| 氏名 | 田村優美子 |
| 学位の種類 | 博士(農学) |
| 学位記番号 | 農第135号 |
| 学位授与の日付 | 平成21年9月15日 |
| 学位授与の要件 | 学位規程第4条第1項該当 |
| 学位論文題目 | バイオメカニクス的アプローチによるクロマトの遊泳能力に関する研究 |
| 論文審査委員(主査) | 教授 山根 猛 |
| (副主査) | 教授 塚 正 泰 之 |
| (副主査) | 教授 松 野 裕 |
| (副査) | 准教授 高 木 力 |

論文内容の要旨

太平洋クロマグロ *Thunnus orientalis* は太平洋を大規模に回遊する優れた遊泳能力を持つことで知られており、魚体の後方部分から振動させる遊泳様式 *Thunniform* で遊泳する。本種の遊泳能力には、遊泳に対する鰭や躯幹の形態の機能や遊泳様式が寄与している。クロマグロの形態的特徴は成長するにつれて大きく変化する。これに伴って形態機能が発達することで、本種の遊泳能力は向上すると考えられる。生体計測から、遊泳能力を把握するために必要な本種の流体力学的特性を見積もることは難しいが、CFD（数値流体力学）解析を用いることでそれが可能となる。本研究では、幼魚期から若齢期まで急激に変化する本種の形態的特徴を詳細に計測し、CFD解析を用いてバイオメカニクス（生体力学）的観点から鰭や躯幹を持つ形態機能を把握し、本種の遊泳能力を物理学的側面から解明する。

幼魚から若齢魚の成長に伴う形態的特徴の変化

CFD解析を行うためには、対象物の正確な形状データが必要となる。本研究では非接触三次元デジタイザを用いて、クロマグロ14個体（全長TL 0.05-1.0 m）の魚体表面形状を細部にわたり計測し、形態的特徴を把握した。本種の形態的特徴はTL 0.2 mまで急激に変化した後、成魚の形態に近づくことが示された。尾鰭の揚力発生程度を示すアスペクト比と後退角を算出した結果、成長に伴って尾鰭で発生する揚力は大きくなるが示された。尾鰭で発生する揚力の前進方向成分は推進力の一部になるため、この結果は、成長に伴って本種の尾鰭が揚力を発生しやすい形態に変化し、推進力が増加することを示唆している。TL 0.2 mより小さい個体はそれより大きい個体と比較して、遊泳を制御する胸鰭の面積が推進力を発生する尾鰭の面積に対して相対的に小さかった。これは本種幼魚が遊泳速度や進行方向を制御できず、養成時に問題となっている衝突死を引き起こす可能性を示している。魚体躯幹の細長比は成長に伴って減少し、本種の魚体形状は、摩擦抵抗の影響を大きく受ける細長い形態からそれと比較して形状抵抗の影響が大きくなる紡錘形に変化することが示された。

尾鰭振動を伴わないグライド時の流体力学的特性

三次元表面形状データから作製した魚体形状モデルを用いて、流速1.5 BL/sで尾鰭振動を伴わないグライド時のCFD解析を行い、胸鰭を広げた状態と閉じた状態の魚体に作用する抗力と揚力を算出した。CFD解析の結果、成長に伴って本種の抗力係数は減少し、TL 0.2 mより大きくなる減少傾向は緩やかになった。これは、1.5 BL/sで遊泳する場合、TL 0.2 mより成長すると幼魚と比べて粘性の影響が低下し、魚体表面上に境界層が形成されるためである。胸鰭を広げても成長に対する抗力係数の変化傾向はほとんど変化しなかった。これに対して、胸鰭を閉じた時の迎角（流向と体軸のなす角度） 0° の揚力係数は成長してもほぼ0に近かったが、胸鰭を広げると揚力係数は成長に伴ってTL 0.2 mまで大きく増加した。この結果は、本種が胸鰭で揚力を獲得することを示している。揚力と水中重量の比FL/SWから、本種は胸鰭を広げて遊泳速度や迎角を変化させることにより、水中重量を支持する揚力を獲得していることが明らかになった。TL 0.2 mより成長すると、胸鰭を広げることで、迎角の変化に対するFL/SWの変動幅が成長した個体ほど大きくなった。この結果は、成長した個体は姿勢をわずかに変化させるだけで容易に鉛直方向の移動が可能になることを表し、本種の運動性能が向上することを示唆している。

遊泳運動時の流体力学的特性と消費エネルギー

遊泳運動時の魚体に作用する流体力は、時間経過とともに魚体表面形状が変化するため、グライド時の流体力とは大きく異なる。魚体が発生する推進力と魚体に作用する抗力を求めるためには、前進方向に作用する流体力を推進力成分と抗力成分に分離抽出する必要がある。実際の遊泳運動と同じように遊泳運動する魚体モデルをCFD解析に供することで、クロマグロの推進力と抗力は算出することができる。そこで、CFD解析に用いる遊泳運動関数を求めるため、密閉した回流水槽で遊泳速度を変化させてクロマグロ幼魚の魚体運動（TL 18.5 cm）を計測した。同時に遊泳時の消費エネルギーを推定するため、酸素消費量（TL 15.5-18.5 cm）を計測した。遊泳運動計測データから導出した遊泳運動関数に基づいて遊泳運動する魚体モデルをCFD解析に供し、実験時の尾鰭振動数や流速を基準として遊泳運動時の推進力と抗力を算出した。

遊泳運動を計測した結果、遊泳速度が速くなるにつれて本種の尾鰭振動数は増加したが、尾鰭振幅はほとんど変化しなかった。これは本種の遊泳速度が尾鰭振動よりも尾鰭振動数に調整されていることを示している。本種幼魚の遊泳運動は吻端から魚体軸に沿って0.65 TL付近の位置から大きくなった。

遊泳運動時のCFD解析の結果、実験時の遊泳速度の時に推進力と抗力がほぼ同じ大きさとなることが示された。これは本解析が妥当であることを表しており、その形態を持つ個体の遊泳様式が合理的であることを示している。波状運動するウナギなどの遊泳様式は、グライド遊泳と比較して遊泳運動による抗力増加が5倍以上と予想されているが、本種の遊泳様式は1.8-2.0倍と小さいことが明らかになった。これは本種がグライド遊泳を利用した移動を行うことで遊泳運動エネルギーを約30%節約できる可能性を示している。グライドを伴った移動では、本種幼魚の遊泳運動エネルギーが全消費エネルギーに占める割合は10%程度となる。しかし、成長に伴って単位質量、単位距離あたりの全消費エネルギーは減少する傾向が認められるため、全消費エネルギーのうち遊泳運動エネルギーの占める割合が増加する。これは成長すると幼魚と比較してグライド遊泳によるエネルギー節約率が高まることを示唆する。

旋回時と加速度運動時の運動性能

魚類は等速で遊泳する時に形態や遊泳運動を変化させないが、加速や減速、旋回運動する時にはダイナミックにそれらを変化させることが予想される。旋回時には遠心力と向心力が釣り合うことで円軌道を描くように運動する。流体中の向心力は魚体横方向に作用する付加質量力となる。旋回時に必要となる本種幼魚TL 0.2 mの横方向の付加質量を推定したところ、魚体質量とほぼ等しく、本種幼魚の旋回が円軌道を描くものであることが示された。しかし、体高の高い魚種と比較して本種の付加質量は小さく、曲率の大きな急激な旋回に適した形態ではないことが示唆された。本種は旋回時に背鰭や腹鰭を瞬間的に広げる行動がしばしば観察される。これは背鰭と腹鰭を出すことで運動性能を向上させている可能性を示している。

加速度運動時の魚体に作用する推進力と抗力をCFD解析から算出すると、推進力と抗力の差を示す余剰推進力は尾鰭振動数が大きくなるにつれて増加した。本種の体軸方向の付加質量と魚体質量を用いて加速時に到達する速度を算出すると、尾鰭振動数12 Hzの時に巡航速度2.5 BL/sから0.7秒間で6.5 BL/sに到達することが示唆された。

論文審査結果の要旨

本研究では非接触三次元デジタイザを用いて、クロマグロ14個体（全長、TL 範囲； 0.05-1.0 m）の魚体表面形状を細部にわたり計測し、形態的特徴を把握した。特徴は、TL が0.2 mまで急激に変化した後、成魚の形態に近づくことが示された。尾鰭の揚力発生程度の示すアスペクト比と後退角を算出した結果、成長に伴って尾鰭で発生する揚力は大きくなることが示された。尾鰭で発生する揚力の前進方向成分は推進力の一部になるため、この結果は、成長に伴って本種の尾鰭が揚力を発生しやすい形態に変化し、推進力が増加することを示唆している。TLが 0.2 mより小さい個体はそれより大きい個体と比較して、遊泳を制御する胸鰭の面積が推進力を発生する尾鰭の面積に対して相対的に小さかった。これは本種幼魚が遊泳速度や進行方向を制御できず、養成時に問題となっている衝突死を引き起こす可能性を示している。魚体軀幹の細長比は成長に伴って減少し、本種の魚体形状は、摩擦抵抗の影響を大きく受ける細長い形態からそれと比較して形状抵抗の影響が大きくなる紡錘形に変化することが示された。

三次元表面形状データから作製した魚体形状モデルを用いて、流速1.5 BL/sで尾鰭振動を伴わないグライド時のCFD解析を行い、胸鰭を広げた状態と閉じた状態の魚体に作用する抗力と揚力を算出した。CFD解析の結果、成長に伴って本種の抗力係数は減少し、TL が0.2 mよりも大きくなると減少傾向は緩やかになった。これは、1.5 BL/sで遊泳する場合、TL が0.2 mより成長すると幼魚と比べて粘性の影響が低下し、魚体表面上に境界層が形成されるためである。胸鰭を広げても成長に対する抗力係数の変化傾向はほとんど変化しなかった。これに対して、胸鰭を閉じた時の迎角（流向と体軸のなす角度） 0° の揚力係数は成長してもほぼ0に近かったが、胸鰭を広げると揚力係数は成長に伴ってTLが 0.2 mまで大きく増加した。この結果は、本種が胸鰭で揚力を獲得することを示している。揚力と水中重量の比FL/SWから、本種は胸鰭を広げて遊泳速度や迎角を変化させることにより、水中重量を支持する揚力を獲得していることが明らかになった。TLが 0.2 mより成長すると、胸鰭を広げることで、迎角の変化に対するFL/SWの変動幅が成長した個体ほど大きくなった。この結果は、成長した個体は姿勢をわずかに変化させるだけで容易に鉛直方向の移動が可能になることを表し、本種の運動性能が向上することを示唆している。

魚類は等速で遊泳する時に形態や遊泳運動を変化させないが、加速や減速、旋回運動する時にはダイナミックにそれらを変化させることが予想される。旋回時には遠心力と向心力が釣り合うことで円軌道を描くように運動する。流体中の向心力は魚体横方向に作用する付加質量力となる。旋回時に必要となる本種幼魚、TL； 0.2 mの横方向の付加質量を推定したところ、魚体質量とほぼ等しく、本種幼魚の旋回が円軌道を描くものであることが示された。しかし、体高の高い魚種と比較して本種の付加質量は小さく、曲率の大きな急激な旋回に適した形態ではないことが示唆された。本種は旋回時に背鰭や腹鰭を瞬間的に広げる行動がしばしば観察される。これは背鰭と腹鰭を出すことで運動性能を向上させている可能性を示している。

加速度運動時の魚体に作用する推進力と抗力をCFD解析から算出すると、推進力と抗力の差を示す余剰推進力は尾鰭振動数が大きくなるにつれて増加した。本種の体軸方向の付加質量と魚体質量を用いて加速時に到達する速度を算出すると、尾鰭振動数12 Hzの時に巡航速度2.5 BL/sから0.7秒間で6.5 BL/sに到達することが示唆された。

クロマグロの形態的特徴は成長するにつれて大きく変化する。これに伴って形態機能が発達する。本研究では、幼魚期から若齢期まで急激に変化する本種の形態的特徴を詳細に計測し、CFD解析を用いてバイオメカニクス（生体力学）的観点から鰭や軀幹を持つ形態機能を把握し、本種の遊泳能力を物理学的側面から解明することを目的に、1) 幼魚から若齢魚の成長に伴う形態的特徴の変化、2) 尾鰭振動を伴わないグライド時の流体力学的特性、3) 遊泳運動時の流体力学的特性と消費エネルギー、4) 旋回時と加速度運動時の運動性能について検討した。

各研究項目の実測結果および数値シミュレーション結果を統合解析することによりクロマグロは、抗力を小さく揚力を高めて水中重量を支持する形態と、抗力増加が少ない遊泳様式を組み合わせることで、エネルギー効率を高めることが示唆された。また、加速、減速、旋回時には形態や遊泳運動を変化させることで運動性能を高めることが示された。

若齢期の個体成長に伴う遊泳能力の変化について、本研究を通して定量的に解明された。これらの結果は将来、マグロ養殖用生簀の規模拡大や改善といった施設設計に関わる生物要因を考慮する際、重要な知見になる。

よって、本論文は博士（農学）の学位論文として価値あるものと認める。

なお、審査にあたって、論文に関する専攻内審査および公聴会など所定の手続きを経たうえ、平成21年7月14日、農学研究科教授会において、論文の価値ならびに博士の学位を授与される学力が十分であるものと認められた。