

## ■研究課題名

### 水産無脊椎動物の生殖腺刺激ホルモンの解明と応用

## ■研究の目的

多くの水棲無脊椎動物では内分泌器官の発達は見られず、その制御は神経組織からの神経分泌因子（神経ホルモン）により行われている。水産重要種において、生殖現象に関与するホルモン成分の解明例は極めて少ない。本研究では、マナマコ・アカウニ・マガキ等の水産重要種の神経組織より、配偶子成熟や産卵行動を誘発する生殖関連因子の探索・解明とその応用技術を確認し、さらに、最新手法を用いて未知の神経分泌性ペプチドを短期間に網羅的に解明することを目的とする。

## ■研究項目・実施体制（◎は研究を総括する者（研究代表者））

- ①無脊椎動物放射神経のEST解析と生殖腺刺激ホルモン遺伝子のクローニング  
(大野 薫／自然科学研究機構基礎生物学研究所)
- ②無脊椎動物生殖腺刺激ホルモンのペプチドーム解析と人工ホルモンの合成  
(◎吉国通庸／九州大学大学院農学研究院)
- ③水産無脊椎動物の生殖腺刺激ホルモンの生理作用解析  
(山野恵祐／(独)水産総合研究センター養殖研究所)



吉国通庸



山野恵祐

## ■研究の内容・主要成果

- ①マナマコ・アカウニ・マガキの神経組織中に、配偶子成熟や産卵行動を誘発するペプチド性・蛋白質性成分が含まれることを発見した。このうち、マナマコ神経中の「クビフリン」は極めて強い配偶子成熟誘起活性を持ち、放卵・放精行動を誘発する。さらに、アカウニのGnRH様ペプチドは放卵・放精を、マガキの産卵ホルモンは放卵を誘発することなどを見いだした。
- ②マガキ・アカウニ神経に発現するペプチドの網羅的解析により、多くの未知の神経ペプチドが発現していることを見いだした。マガキで、それらから合成した幾つかの神経ペプチドに産卵誘発活性を確認した。
- ③マナマコ「クビフリン」を用いた、親個体の性成熟度の判定法及び放卵・放精の誘発技術を確認し、試験薬としてのクビフリンの頒布を開始した。さらなる種苗生産効率向上を目指して、全国の主要公的試験研究施設・栽培公社等で簡易に活用可能な、*in vitro*での採卵・授精技術を開発した。

## ■今後の展開方向・見込まれる波及効果

現在、北海道から九州までの18ヶ所の公的・民間種苗生産施設で「クビフリン」が利用され、採卵の確実性と作業量の軽減化に多大な効果が得られている。採卵作業のさらなる効率化を可能とする生体外卵成熟誘起による採卵手法も開発を進めており、種苗生産現場でのより一層の「クビフリン」の利用が進む。

マガキ産卵誘発ペプチドの作用は研究段階であるが、今後、有用な産卵誘発技術に繋がると期待される。このペプチドは二枚貝類で新規に発見されたホルモンで、ホタテ・アサリ等の多くの水産重要二枚貝類における研究を進めて行く上で科学的なインパクトは極めて大きい。

## ■公表した主な特許・論文

- ①出願特許：マナマコの放卵・放精誘起剤、およびそれを用いたマナマコの生産方法（特開2010-53041：平成22年3月11日）
- ②Kato S., *et al.*: Neuronal peptides induce oocyte maturation and gamete spawning of sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Dev. Biol.* 326: 169-176 (2009).
- ③Mita M., *et al.*: A relaxin-like peptide purified from radial nerves induces oocyte maturation and ovulation in the starfish, *Asterina pectinifera*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 106: 9507-9512 (2009)
- ④Fujiwara A., *et al.*: Molecular characterization of the major yolk protein of the Japanese common sea cucumber (*Apostichopus japonicus*) and its expression profile during ovarian development. *Comp. Biochem. Physiol. A* 155: 34-40 (2010)
- ⑤Fujiwara A., *et al.*: Spawning induced by cubifrin in the Japanese common sea cucumber, *Apostichopus japonicus*. *Fish. Sci.* 76: 795-801 (2010)

## 水産無脊椎動物の生殖関連因子の解明と応用技術の開発

### 研究目的

無脊椎動物の神経組織から生殖関連因子を発見する

卵成熟・排卵を指標とした生物検定  
マイクロアレイ解析

トランスクリプトーム解析・ペプチドーム解析

マナマコ クビフリンの解明・応用技術の開発  
マガキ 産卵誘発ペプチドの発見、GnRH様ペプチドの発見  
アカウニ 産卵誘発活性を持つGnRH様ペプチドの発見

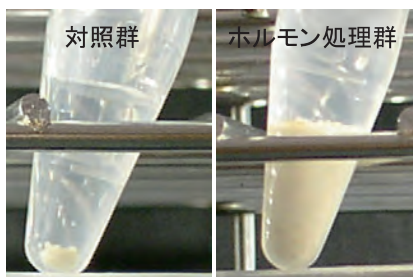
クビフリンを用いたマナマコ産卵誘発技術の確立  
種苗生産施設への技術移転開始・特許出願

### 研究成果

#### クビフリンにより誘発されたマナマコの生殖行動



#### 種苗生産施設でのクビフリンの運用



マガキ産卵誘発ペプチドによる産卵の誘発

#### クビフリンを用いた生体外卵成熟誘起法



クビフリン投与前      クビフリン投与後



アカウニGnRH様ペプチドによる排卵・排精の誘発

- ◎クビフリンを用いた産卵誘発技術を確立し、全国の種苗生産施設への技術講習会を実施し、技術の普及を開始した。
- ◎マガキ・アカウニの産卵誘発ペプチドを発見し産卵技術開発への道を拓いた。
- ◎マガキ・アカウニ神経組織の未知の分泌性ペプチド候補を多数発見し、生理学的研究の分子情報基盤の整備を開始した。