

**科学研究費助成事業 研究成果報告書**

平成 27 年 5 月 27 日現在

機関番号：18001

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25660170

研究課題名(和文) 高輝度蓄光剤を用いた超省エネ長日条件下で稚魚の成長を促進できるのか

研究課題名(英文) Does long-afterglow phosphorescent pigment stimulate the growth of fish?

研究代表者

竹村 明洋 (Takemura, Akihiro)

琉球大学・理学部・教授

研究者番号：40222103

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,100,000円

研究成果の概要(和文)：光は多くの魚類の成長促進に重要な役割を果たしている。本研究では、高輝度蓄光性顔料(ルミノーバ)を従来の人工光源の代わりに利用することで、魚類の成長を促進する新たな方法の開発に挑戦した。サンゴ礁に生息するゴマアイゴ(およびヤイトハタ)の当歳魚に、ルミノーバから発せられる青緑光を夜間照射した。その結果、ルミノーバから発せられる光を照射した魚の成長が促進された。ルミノーバは、電気エネルギーの過度な浪費を抑えた成長促進のための新たな光源として利用することができる。

研究成果の概要(英文)：Photoperiod plays a role in the regulation of growth in many fish. We examined the effect of the long-afterglow phosphorescent pigment (LumiNova) on the growth stimulation in a spinefoot and a grouper species. When juveniles of the goldlined spinefoot were exposed to blue-green light from LumiNova at night, high growth was obtained in the experimental group rather than the control group, suggesting that fish are kept under long-day conditions. This result indicates that LumiNova can be used for energy-efficient aquaculture to stimulate the growth of some fish species.

研究分野：水産生物学

キーワード：蓄光シート 光周期 光受容 省エネ 成長

## 1. 研究開始当初の背景

光は多くの魚類の成長促進に重要な役割を果たしている。近年、人工光源を利用して、光の周期や波長を操作することで魚類の成長を人為的に制御する様々な方法が考案されているが、従来法は電気エネルギーの過度な浪費に加え、光源の耐水性や煩雑なメンテナンスなどに大きな問題が生じている。本研究では、高輝度蓄光性顔料(ルミノーバ)を従来の人工光源の代わりに利用することで、魚類の成長を促進する新たな方法の開発に挑戦する。ルミノーバはメンテナンスフリーで電気エネルギーを全く使用することがない。太陽光などの強光に曝すと、夜間でも青緑色の光を2時間以上発光し続ける特性を持つ。従って、ルミノーバを水産現場に導入すると、我が国における養殖技術を一変させる可能性を秘めるとともにインフラ整備が遅れている発展途上国の水産振興への貢献が可能である。

## 2. 研究の目的

本研究では熱帯・亜熱帯浅海域を生息中心にもつゴマアイゴとヤイトハタを実験材料とし、光周期や成長に伴って変動する遺伝子をクローニングしてその発現パターンを調べるとともに、水槽側面からルミノーバ光を魚に照射する広域照射法が、魚の成長に及ぼす効果を明らかにすることを目的とした。

## 3. 研究の方法

研究に用いた魚は、サンゴ礁に生息するゴマアイゴ *Siganus guttatus* とヤイトハタ *Epinephelus malabaricus* であった。ゴマアイゴは、マングローブ域に群泳していた稚魚を採集し、琉球大学熱帯生物圏研究センター瀬底研究施設で飼育した個体であった。ヤイトハタは、沖縄県栽培漁業センターで種苗生産された個体であった。

本研究で研究対象にした遺伝子は、成長関連遺伝子として Insulin-like growth factor-1 (IGF-1) と光応答性の時計遺伝子として Cryptochrome (*Cry1*, *Cry2*, *Cry3*) であった。

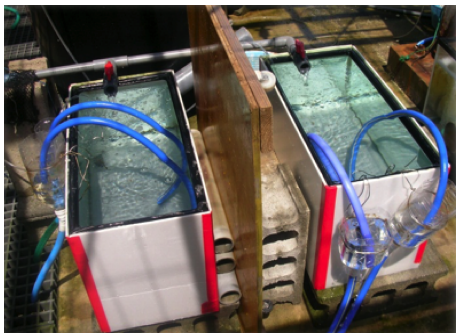


図 1. 広域照射実験の様子。実験群の水槽は、水槽側面にルミノーバシートを貼った発泡スチロール板で覆った。一方、対照群の水槽は発泡スチロール板だけで覆った。実験群では日没後も明期を2時間以上持続することができた。

クローニングを終了した遺伝子の発現解析を Reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR) とリアルタイム PCR で行った。

ゴマアイゴとヤイトハタの稚魚はルミノーバを含んだシート(対照群はルミノーバを含まないシート)で被った水槽で飼育した。本研究では、ルミノーバから発せられる光を水槽外からゴマアイゴ稚魚に照射した(広域照射実験; 図1)。一定期間ごとに水槽から魚を取りだして体重と体長を測定することで実験群と対照群間での成長を比較した。

## 4. 研究成果

### 分子生物学的研究結果

ゴマアイゴの IGF-1 遺伝子の発現は、全脳、網膜、心臓、肝臓に見られ、特に肝臓でのこの遺伝子の発現はほかの組織に比べて強かった。肝臓における IGF-1 遺伝子の発現は 03:00 に比べ 15:00 で有意に高くなった。この遺伝子の発現変動が日内変動していることが判明した。IGF-1 遺伝子(ゴマアイゴ)の肝臓における発現を飢餓条件と飽食条件で比べた結果、飢餓条件の方が高くなり、栄養状況によってもこの遺伝子の発現が変動することが判明した。したがって、IGF-1 遺伝子の発現は少なくとも二つの要因(明暗変動と栄養)によって制御されている可能性があった。

ヤイトハタの *Cry1*, *Cry2*, *Cry3* 遺伝子の発現は調べた全組織で確認でき、中枢組織における発現量は末梢組織のそれよりも有意に高かった。細分した中枢組織で各遺伝子の発現量を比較した結果、全ての部分で高い発現がみられたが、小脳における発現量が他の部分よりも高かった。また、小脳及び間脳域における *Cry1* と *Cry2* 遺伝子の発現は 24:00 より 12:00 で高かった。*Cry* 遺伝子(ヤイトハタ)のうち、*Cry2* 遺伝子の発現の月周リズムが間脳と脳下垂体で認められ、この遺伝子が新月時の明期における *Cry2* の発現量は他の月相の明期のそれよりも高くなった。下垂体における *Cry* 遺伝子の発現は月光を遮断することにより高くなった。*Cry2* 遺伝子は下垂体基底部に強く発現していた。下垂体のこの部位が、光に係る成長の内分泌制御に係る可能性があった。

### 広域照射実験

ゴマアイゴの当歳魚と1歳魚を、ルミノーバを含んだシート(対照群はルミノーバを含まないシート)で被った水槽で、それぞれ1及び2ヶ月間飼育し(広域照射実験)経時的に体重と体長を測定した。その結果、実験群(当歳魚)の体重と体長は対照魚のそれらよりも有意に大きくなった(図2)。一方、1歳魚には差は認められなかった(図3)。

ルミノーバシートは日没後も青緑色光を発光し続けるため、ゴマアイゴ幼魚は日没後に得られる光を長日と認識し、体成長が促進さ

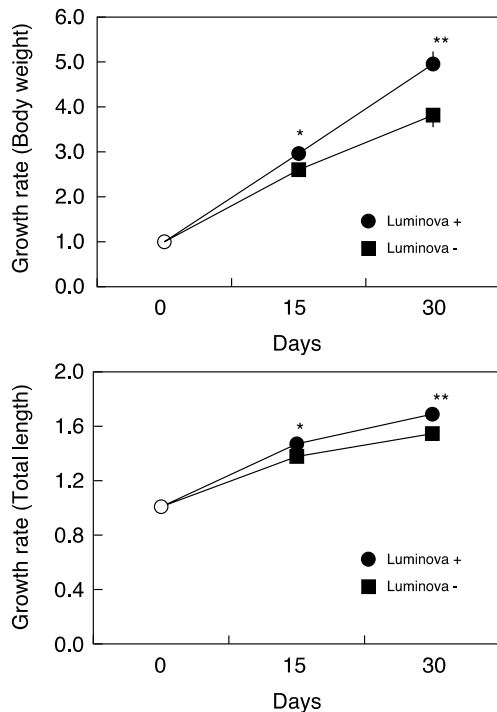


図2 . ルミノーパーの広域照射実験の効果 (ゴマアイゴ当歳魚)。ゴマアイゴをルミノーパー光に曝露する実験群 (●) と対照群 (■) に分け、体重 (上段) と体長 (下段) を経時的に測定した。アスタリスク (\* 及び \*\*) は統計的に有意 (それぞれ  $P < 0.05$  および  $P < 0.01$ ) であったことを示す。

れたと考えられた。この効果は若齢魚ほど高いと考えられた。

ゴマアイゴの結果を受けて、ヤイトハタの当歳魚を、ルミノーパーを含んだシート (対照群はルミノーパーを含まないシート) で被った水槽で飼育し (広域照射実験) 経時的に体重と体長を測定した。しかしながら、広域照射実験を開始した当初に死亡したため、結果を得るには至らなかった。

## 5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 (計 6 件)

1. Badruzzaman M, Imamura S, Takeuchi Y, Ikegami T, Takemura A (2015) Effects of neurotoxin 1-methyl-4-phenyl-1,2,3,6-tetrahydropyridine (MPTP) treatment on ovarian development of the sapphire devil, *Chrysiptera cyanea*. Fish Physiol Biochem.
2. Takeuchi Y, Imamura S, Sawada Y, Hur SP, Takemura A (2014) Effects of different colors of light on melatonin suppression and expression analysis of Aanat1 and melanopsin in the eye of a tropical damselfish. Gen Comp Endocrinol 204: 158-165
3. Park YJ, Park JG, Takeuchi Y, Hur SP, Lee YD, Kim SJ, Takemura A (2014) Moonlight affects the mRNA abundance of melatonin receptors in the pineal gland of a tropical fish.

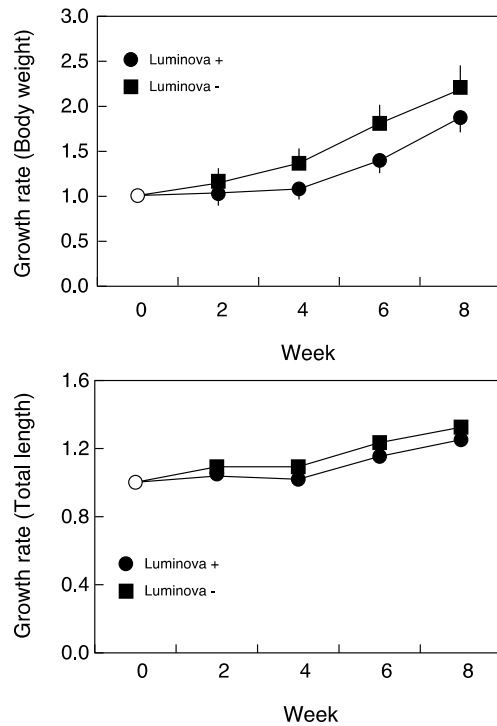


図3 . ルミノーパーの広域照射実験の効果 (ゴマアイゴ当歳魚)。ゴマアイゴをルミノーパー光に曝露する実験群 (●) と対照群 (■) に分け、体重 (上段) と体長 (下段) を経時的に測定した。

Mar Genom 14: 67-70

4. Imamura S, Bapary MAJ, Hur SP, Takeuchi Y, Takemura A (2014) Prolonged photoperiod using pellets containing long-afterglow phosphorescent pigment can stimulate ovarian development of a tropical damselfish. Fish Aqua Sci 17: 223-227
5. Badruzzaman Md, Bapary MAJ, Takemura A (2013) Possible roles of photoperiod and melatonin in reproductive activity via changes in dopaminergic activity in the brain of a tropical damselfish, *Chrysiptera cyanea*. Gen Comp Endocrinol 194: 240-247
6. Kashiwagi T, Park YJ, Park JG, Imamura S, Takeuchi Y, Hur SP, Takemura A (2013) Moonlight affects mRNA abundance of arylalkylamine *N*-acetyltransferase in the retina of a lunar-synchronized spawner, the goldlined spinefoot. J Exp Zool A 319: 505-516

〔学会発表〕 (計 30 件)

1. 中谷 悟・竹村明洋・Ayson, F.・De Jesus Grace, E. (2015) フィリピンギマラス島イガン湾に生息するゴマアイゴの生殖年周期. 沖縄魚類研究交流会
2. 山本岳秀・大山由貴・池上太郎・竹村明洋 (2015) 日長がミナミトビハゼの生殖腺発達に与える影響. 沖縄魚類研究交流会
3. 玉城健吾・竹内悠記・許 成杓・竹村明洋 (2015) ベラ科魚類におけるドーパミ

- ン合成酵素 Tyrosine hydroxylase の脳内局在．沖縄魚類研究交流会
4. 山科芙美香・竹内悠記・福永耕大・竹村明洋 (2015) ヤイトハタにおける cry 遺伝子発現の月周性変動．第 4 回九州山口リズム研究会
  5. 大山由貴・池上太郎・山本岳秀・竹村明洋 (2015) ミナミトビハゼにおけるメラトニン受容体遺伝子の発現解析．平成 27 年度日本水産学会春季大会
  6. 山科芙美香・福永耕大・竹内悠記・竹村明洋 (2015) 月光がヤイトハタの時計遺伝子の発現に与える影響．平成 27 年度日本水産学会春季大会
  7. 竹村明洋 (2014) 熱帯性ベラ類における潮汐同期産卵におけるメラトニンとドーパミンの関係．第 3 回九州山口リズム研究会
  8. 池上太郎・山本岳秀・竹村明洋・大山由貴 (2014) ミナミトビハゼの自発行動リズムの形成機構．第 3 回九州山口リズム研究会
  9. Takemura A (2014) Rhythms in fish reproduction: possible involvement of dopaminergic activity in tidal-related spawnings of a tropical wrasse. Asia and Oceania Society for the Comparative Endocrinology
  10. Ikegami T, Oyama Y, Takemura A (2014) Is tide-related locomotion rhythm controlled by external tidal stimuli or internal melatonin in the barred mudskipper? Asia and Oceania Society for the Comparative Endocrinology
  11. 今村聡・Badruzzaman Md・竹村明洋 (2014) メラトニン投与が産卵期のルリスズメダイの生殖活性に与える影響．平成 26 年度日本水産学会春季大会
  12. 山科芙美香・竹内悠記・竹村明洋 (2014) ヤイトハタにおける *Cryptochrome* 遺伝子の発現解析．第 51 回沖縄生物学会
  13. 大山由貴・池上太郎・山本岳秀・竹村明洋 (2014) ミナミトビハゼにおけるメラトニン受容体遺伝子発現の日周性．第 51 回沖縄生物学会
  14. 今村聡・Badruzaaman Md・竹村明洋 (2014) 外因性のメラトニンがルリスズメダイの卵形成に与える影響．第 51 回沖縄生物学会
  15. 山本岳秀・池上太郎・大山由貴・竹村明洋 (2014) ミナミトビハゼにおける日長の生殖腺発達に与える影響．第 51 回沖縄生物学会
  16. 池上太郎・大山由貴・竹村明洋 (2014) ミナミトビハゼの潮汐性活動リズム．第 51 回沖縄生物学会
  17. 池上太郎・竹村明洋 (2014) 環境浸透圧変化によるミナミトビハゼの浸透圧調節ホルモン遺伝子の発現変化．日本動物学会第 85 回大会
  18. Hur SP・今村聡・竹内悠記・Kim BH・Kim ES・Kim SJ・Lee YD・竹村明洋 (2014) ニホンウナギにおけるメラトニンのリズム解析およびトランスクリプトーム解析．日本動物学会第 85 回大会
  19. Takemura A, Soliman V, Ayson F, De Jesus Grace E, Sri Susilo E (2014) Lunar impact on spawning rhythmicity in tropical fishes and its application to the management of fisheries resources. 8<sup>th</sup> International Symposium on Kuroshio Science
  20. 池上太郎・大山由貴・山本岳秀・竹村明洋 (2014) ミナミトビハゼにおける時計遺伝子の発現の日周性と概日性．第 21 回日本時間生物学会
  21. 竹村明洋・池上太郎・竹内悠記 (2013) サンゴ礁生物の環境応答と生物時計．九州山口リズム研究会
  22. 今村聡・竹内悠記・竹村明洋 (2013) 繁殖期のサンゴ礁性スズメダイの脳内における生殖関連遺伝子の発現変化．日本動物学会第 84 回大会
  23. 竹内悠記・今村聡・竹村明洋 (2013) 長日繁殖魚類のルリスズメダイにおける per および cry の発現解析．日本動物学会第 84 回大会
  24. Yamashina F, Takeuchi Y, Nakamura H, Takemura A (2013) Molecular cloning and expression analysis of *cryptochrome* genes in the lunar-related spawner fish, *Epinephelus malabaricus*. 9th International Conference on the Marine Biodiversity and Environmental Fisheries Science of the East China Sea
  25. Imamura S, Takeuchi Y, Fukuoka T, Takemura A (2013) Molecular cloning and expression profile of reproduction-related genes in the sapphire devil (*Chrysiptera cyanea*) during the reproductive season.
  26. Takeuchi, Y., Imamura, S., Takemura, A. (2013). A mechanism of photoperiodic time measurement in a long-day spawner damselfish, *Chrysiptera cyanea*. 9th International Conference on the Marine Biodiversity and Environmental Fisheries Science of the East China Sea
  27. Takemura A, Bapary MAJ, Imamura S, Takeuchi Y (2013) How do fish perceive and transduce environments? Possible application of photoperiod to control of reproductive activity. 9th International Conference on the Marine Biodiversity and Environmental Fisheries Science of the East China Sea
  28. Fukuoka T, Imamura S, Takeuchi Y, Takemura A (2013) Influence of different habitat on reproductive activity of a tropical damselfish *Chrysiptera cyanea*. 9th International Conference on the Marine Biodiversity and Environmental Fisheries Science of the East China Sea
  29. 福岡達輝・竹内悠記・今村聡・Badruzzaman M・竹村明洋 (2013) ルリスズメダイの繁

- 殖適正深度を決定するのは光かそれとも  
水圧か？日本サンゴ礁学会第16回大会  
30. 竹村明洋（2013）光で操るサンゴ礁性魚  
類の成熟と成長．平成25年度亜熱帯性動  
植物に関する調査研究・技術開発研究会．

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

○取得状況(計0件)

〔その他〕

ホームページ等

<http://www.takemura-lab.jp/index>

## 6．研究組織

### (1)研究代表者

竹村 明洋 (TAKEMURA, Akihiro)

琉球大学・理学部・教授

研究者番号：40222103

### (2)研究分担者

なし

### (3)連携研究者

なし