

科学研究費助成事業 研究成果報告書

令和 6 年 6 月 5 日現在

機関番号：16301

研究種目：基盤研究(B) (一般)

研究期間：2020～2022

課題番号：20H03074

研究課題名(和文) マボヤ被嚢軟化症における軟化の分子機構の解明

研究課題名(英文) Mechanisms of tunic softening in *Halocynthia roretzi* infected with a pathogenic flagellate, *Azumiobodo hoyamushi*

研究代表者

北村 真一 (KITAMURA, Shin-Ichi)

愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・准教授

研究者番号：40448379

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 10,900,000円

研究成果の概要(和文)：マボヤ被嚢軟化症の発症機構は、*Azumiobodo hoyamushi* (ホヤムシ)のプロテアーゼが被嚢タンパク質を分解することで起こると仮説を立て、軟化被嚢のプロテオーム解析およびホヤムシの細胞外プロテアーゼの検出を行った。プロテオーム解析の結果、4つの減少するタンパク質が得られた。その一つであるダイニンのポリクローナル抗体を作製した。免疫組織化学染色を行ったところ、被嚢内血球に特異的な反応が認められたものの、発症と健常個体に差は認められなかった。ホヤムシのプロテアーゼに関しては、20個の人工合成基質を用いて、3つの基質(主にカテプシンに分解される基質)を分解するプロテアーゼの検出に成功した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

蛍光標識二次元ディファレンスゲル電気泳動解析、ショットガン解析、レーザーマイクロダイセクション法で得たサンプルのショットガン解析と、3つの方法でプロテオーム解析したが、被嚢軟化に関わるタンパク質は同定できなかった。しかしながら、世界で初めて、モデル生物の一つであるホヤ類の被嚢中にどのようなタンパク質が存在しているのかを明らかにすることができた。また、ホヤムシが他の寄生虫で病原性因子として報告されているカテプシン様のプロテアーゼを分泌していることも明らかにされ、魚病学、寄生虫学に新規知見をもたらすことでできた。

研究成果の概要(英文)：We hypothesized that the mechanism of tunic softening in an ascidian *Halocynthia roretzi* is caused by the extracellular proteases of *Azumiobodo hoyamushi* degrading tunic proteins. To test this hypothesis, we conducted proteome analysis of the softened and healthy tunic and detection of extracellular proteases from *Azumiobodo hoyamushi*. As a result of the proteome analysis, four decreased proteins were identified in softening tunic. We raised a polyclonal antibody against one of these proteins, dynein. Immunohistochemical assay showed a specific reaction in the hemocytes within the tunic, but no difference was observed between diseased and healthy individuals. Regarding the extracellular protease from the parasite, using 20 substrates, we successfully detected proteases that degraded three substrates mainly those degraded by cathepsins.

研究分野：魚病学

キーワード：マボヤ *Azumiobodo hoyamushi* 被嚢軟化症

1. 研究開始当初の背景

マボヤ(*Halocynthia roretzi*) は延喜式(927年)にも記載されている我が国の伝統的な食材で、東北地方や韓国においては、養殖が盛んに行われている。韓国のマボヤ養殖は日本から技術移転されたもので、その養殖量は日本の10倍以上にも増加した。しかしながら約20年前から、被囊が軟化し斃死する病気が確認され、同養殖に甚大な被害が生じている(①)。このため、2002年以降、韓国は日本からマボヤを輸入する事態に陥った。本症は「被囊軟化症」と呼ばれ、日本でも2007年に東北地方の一部の海域で本病が確認された。2011年の東日本大震災でマボヤ養殖は壊滅的な被害を受けたものの、翌年には養殖が再開された。震災後、本症の発生は確認されていないが、天然マボヤでも本症の発生が認められていることから(②)、再興が危惧されている。

被囊軟化症の原因については、感染症の側面から、いくつかのグループが究明にあたったが、病原体の確定には時間を要した。我々は2010年に、宮城県産の被囊軟化個体の組織を用いて、実験的に健全なマボヤに軟化症を発症できることや、軟化個体の被囊には健全個体に認められない鞭毛虫が存在していることを明らかにした(③)。さらに、本鞭毛虫の単離培養に成功し、この培養鞭毛虫によって軟化症が生じることを実験的に明らかにした(④)。その後、本虫を新属新種の *Azumiobodo hoyamushi* (ホヤムシ)として記載した(⑤)。上記のように、本症に関する組織学的研究や原因虫に関する研究は進展がみられている。しかしながら、本症の最大の特徴である被囊の軟化メカニズムについては、全く分かっていないのが現状である。

2. 研究の目的

我々はマボヤの被囊軟化機構に注目し研究を進めている。これまでの成果として、被囊の主成分であるセルロースは分解されていないことを明らかにした(⑥)。そこで本課題では、ホヤムシが分泌するプロテアーゼが被囊タンパク質を分解することで被囊の立体構造が崩壊すると仮説を立て、それを検証する。個別の目的としては、被囊のプロテオーム解析を行い、軟化に伴って減少するタンパク質を探索する。それを大量発現し、抗体を作製する。作製した抗体を用いて健全個体と軟化個体の被囊を免疫染色することで、そのタンパク質が軟化に関わっているかを確認する。一方、ホヤムシの培養液から人工基質を用いてプロテアーゼを検出する。以上のように、宿主と病原体の双方から、軟化機構を解明することを目的とする。

3. 研究の方法

(1) 被囊のプロテオーム解析

① 切片作成:

これまでに被囊軟化症の発生履歴がない宮城県海域のマボヤを購入した。まずは感染源となるマボヤを作出するために、健全マボヤの被囊に約 10^6 細胞/mL のホヤムシを $500 \mu\text{L}$ ランダムに接種した。瀕死の発症個体を回収し、軟化した被囊を短冊状にハサミで裁断し、ネットに入れた。これを感染源として、健全個体に浸漬感染を行った。感染実験で得られた健全および軟化個体、各3個体ずつの被囊を採取し、10%中性ホルマリンで固定した。

マボヤの被囊組織をパラフィン包埋後、マイクロームで $6 \mu\text{m}$ 厚にスライスし、DIRECTOR™ レーザーマイクロダイセクションスライドに載せた。これを常法にて、ヘマトキシリン・エオシン染色した。6個体(健全3個体、軟化3個体)のマボヤに関して、1個体6枚ずつ、合計36枚のスライドを作成した。

② レーザーマイクロダイセクション(LMD):

作成した切片について、表面のクチクラに近すぎない、深層すぎない、また、濃く染色されている細胞核を可能な限り避けて LMD7000 により、以下の条件で質量分析用のサンプルを採取した(図1)。

Light intensity: 140 - 205、Power: 20 - 60、Aperture: 15 - 30、Speed: 35 - 100、Specimen Balance: 1 - 15、Line Spacing for Draw + Scan: 2 - 10、Head Current: 55 - 90%、Pulse Frequency: 773 - 2000、Offset: 83 - 101、Cut shape: Draw + Scan

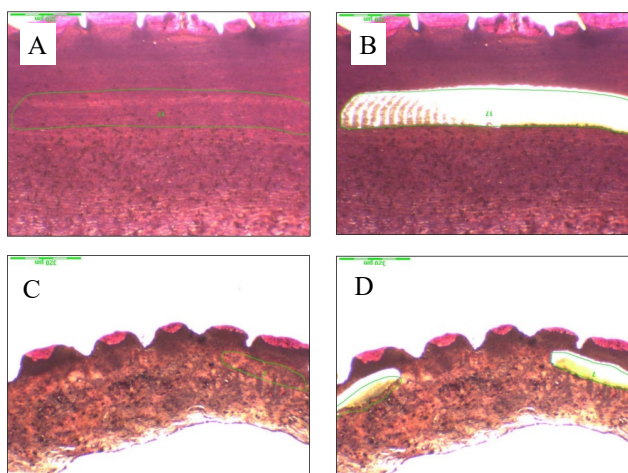


図1. マボヤの被囊の切片のイメージ像。
LMD実施前のイメージ(A, C)、LMD実施後のイメージ(B, D) (x63)

③ サンプル調製

LMD 採取試料に Lysis バッファー100 μ L を添加後に超音波処理を実施し、還元処理を行った。アルキル化処理後、トリプシン消化し、消化液を遠心濃縮機で乾燥した。0.1%ギ酸を加えて、遠心分離した。

④ 質量分析(MS)

MS 解析用試料の nanoLC-MS/MS 分析は、液体クロマトグラフ(LC)に UltiMate 3000、質量分析装置(MS)に Q-Exactive Plus を用い、Xcalibur(サーモフィッシャーサイエンティフィック)で LC および MS を制御して測定を実施した。Proteome Discoverer Ver2.5 でデータベース検索を実施した後に、検索結果をエクスポートして Scaffold Ver5.0.1(プロテオームサイエンス)で定量比較解析を実施した。

(2)大量発現および抗体作製

プロテオーム解析の結果から、軟化個体で減少していた 4 つのタンパク質が同定された。ホヤ類のゲノムデータベース aNISEED(<https://aniseed.fr>)および blast 検索を活用し、これらの 4 つの遺伝子の塩基配列を取得した。それぞれの遺伝子に対して、全体を増幅できるプライマーを設計し、PCR を行った。鋳型 DNA は、マボヤ 3 個体の被囊から、mRNA を抽出、cDNA を作製し、用いた。得られた PCR 産物を無細胞タンパク質発現系用ベクターに組み込み、コムギ胚を用いた発現系で本タンパク質を大量発現した。また、発現したタンパク質をマウスに免疫し、本タンパク質に対する抗血清を作製した。

(3)免疫染色

軟化被囊を得るために、(1)①と同様に、感染実験を行った。軟化症を発症した個体から被囊を切り出し、ダビッドソン固定液で一晩固定した。70%エタノールに置換後、マボヤの被囊組織をパラフィン包埋した。組織はマイクロームで 15 μ m 厚にスライスし、標本を作製した。これを脱パラし、オートクレーブによる抗原賦活化、ブロッキングした。(2)で作製した抗ダイニンマウスポリクローナル抗体で反応させた。次に、ペルオキダーゼ標識された抗マウス IgG ヤギ抗体で反応させ、発色した。

(4)メチルクマリンアミド(MCA)基質によるプロテアーゼ検出

軟化被囊から分離して 5 代および 96 代のホヤムシを用いて、細胞外プロテアーゼの活性を測定した。最小必須培地(MEM)で 7 日間、20°Cで定常期まで培養した。(5 代:2.13 \times 10⁶ 細胞/mL、96 代:4.03 \times 10⁶ 細胞/mL)。その後、遠心で鞭毛虫を除去し、孔径 0.2 μ m のセルロースフィルターで濾過し、培養上清(SUP)を得た。ホヤムシを含まない MEM も準備し、同様に処理して培地由来の加水分解活性を測定した。各 SUP のプロテアーゼ活性は、17 種類の MCA 基質を用いて調べた。SUP と MCA 基質の混合物を入れたマイクロプレートで 20°Cでインキュベートし、加水分解産物である 7-アミノ-4-メチルクマリン(AMC)の蛍光を、蛍光マイクロプレートリーダーを用いて、励起/発光波長 380/440 nm で、0、10、20、80、140 分に測定した。各サンプルのブランク蛍光強度を差し引いた後、標準 AMC の検量線を用いて、各ウェル中の AMC 濃度を算出した。前述のホヤムシ数から、細胞当たりの活性(fmol/cell/h)を求めた。

4. 研究成果

(1)プロテオーム解析

試料の MS/MS データについて、Proteome Discoverer Ver2.5 を使用して Aniseed of the Transcript Models *Halocynthia roretzi* を指定して検索した。解析結果について 試料 D(軟化被囊)、H(健常被囊)間で差が検出されたタンパク質について(t-test p-value \leq 0.05)、試料 D、H の 2 回の測定値を表 1 に示した。

表1. データベース検索でヒットしたタンパク質の一覧

No.	Protein ID	Accession Number	Mw	T-Test (p-value) H vs D	Fold Change D / H	D-1st Weighted Spectra	D-2nd Weighted Spectra	H-1st Weighted Spectra	H-2nd Weighted Spectra
169	Harore.CG.MTP2014.S149.g12171.01.p	Harore.CG.MTP2014.S149.g12171.01.p	158 kDa	< 0.0010	INF	0.66801	0.65608	0	0
52	Harore.CG.MTP2014.S138.g03243.01.p	Harore.CG.MTP2014.S138.g03243.01.p	2589 kDa	0.0012	INF	4.1987	4.2911	0	0
14	Harore.CG.MTP2014.S421.g08471.01.p	Harore.CG.MTP2014.S421.g08471.01.p	22 kDa	0.0037	INF	6.7831	7.6644	0	0
196	Harore.CG.MTP2014.S12.g03904.01.p	Harore.CG.MTP2014.S12.g03904.01.p	427 kDa	0.0043	0	0	0	1.3896	1.2176
213	Harore.CG.MTP2014.S19.g03085.01.p	Harore.CG.MTP2014.S19.g03085.01.p	299 kDa	0.0043	0	0	0	1.3896	1.2176
226	Harore.CG.MTP2014.S229.g11264.01.p	Harore.CG.MTP2014.S229.g11264.01.p	661 kDa	0.0043	0	0	0	1.3896	1.2176
247	Harore.CG.MTP2014.S244.g00088.02.p	Harore.CG.MTP2014.S244.g00088.02.p	62 kDa	0.0043	0	0	0	1.3896	1.2176
185	Harore.CG.MTP2014.S12.g08820.01.p	Harore.CG.MTP2014.S12.g08820.01.p	103 kDa	0.0043	0	0	0	1.3896	1.2176
298	Harore.CG.MTP2014.S52.g0548.02.p	Harore.CG.MTP2014.S52.g0548.02.p	187 kDa	0.0043	0	0	0	1.3896	1.2176
336	Harore.CG.MTP2014.S15.g10306.01.p	Harore.CG.MTP2014.S15.g10306.01.p	120 kDa	0.0043	0	0	0	1.3896	1.2176
300	Harore.CG.MTP2014.S976.g12471.01.p	Harore.CG.MTP2014.S976.g12471.01.p	35 kDa	0.0043	0	0	0	1.3896	1.2176
290	Harore.CG.MTP2014.S631.g12579.01.p	Harore.CG.MTP2014.S631.g12579.01.p	129 kDa	0.012	0	0	0	1.3896	1.1152
301	Harore.CG.MTP2014.S114.g08529.01.p	Harore.CG.MTP2014.S114.g08529.01.p	66 kDa	0.013	0	0	0	7.873	6.239
9	Harore.CG.MTP2014.S174.g13436.02.p	Harore.CG.MTP2014.S174.g13436.02.p	16 kDa	0.014	5.2	10.767	9.1539	1.3896	2.4353
302	Harore.CG.MTP2014.S18.g06382.01.p	Harore.CG.MTP2014.S18.g06382.01.p	181 kDa	0.014	0.04	0	0.65608	9.2626	7.4566
27	Harore.CG.MTP2014.S247.g14709.01.p	Harore.CG.MTP2014.S247.g14709.01.p	94 kDa	0.017	INF	5.3835	7.0083	0	0
71	Harore.CG.MTP2014.S68.g14702.01.p	Harore.CG.MTP2014.S68.g14702.01.p	538 kDa	0.017	INF	2.7922	2.1456	0	0
7	Harore.CG.MTP2014.S740.g03653.01.p	Harore.CG.MTP2014.S740.g03653.01.p	101 kDa	0.019	INF	12.167	9.1539	0	0
1	Harore.CG.MTP2014.S295.g03756.01.p	Harore.CG.MTP2014.S295.g03756.01.p	215 kDa	0.021	7.9	59.887	69.512	1.3896	14.913
74	Harore.CG.MTP2014.S53.g13673.01.p	Harore.CG.MTP2014.S53.g13673.01.p	157 kDa	0.021	2.3	2.7922	3.2804	1.3896	1.2176
60	Harore.CG.MTP2014.S31.g05799.01.p	Harore.CG.MTP2014.S31.g05799.01.p(+1)	29 kDa	0.029	0.3	3.9839	4.8627	15.746	12.478
15	Harore.CG.MTP2014.S1.g15720.01.p	Harore.CG.MTP2014.S1.g15720.01.p	30 kDa	0.034	11	6.7831	9.1539	1.3896	0
28	Harore.CG.MTP2014.S47.g07047.01.p	Harore.CG.MTP2014.S47.g07047.01.p	43 kDa	0.036	8.9	5.3835	7.0083	1.3896	0
51	Harore.CG.MTP2014.S43.g05499.01.p	Harore.CG.MTP2014.S43.g05499.01.p	23 kDa	0.038	INF	4.6519	7.0083	0	0
337	Harore.CG.MTP2014.S588.g04000.01.p	Harore.CG.MTP2014.S588.g04000.01.p	54 kDa	0.039	0	0	0	10.652	16.131
3	Harore.CG.MTP2014.S251.g05210.01.p	Harore.CG.MTP2014.S251.g05210.01.p(+1)	132 kDa	0.04	3.1	21.534	18.309	4.1688	8.6743
121	Harore.CG.MTP2014.S396.g04046.01.p	Harore.CG.MTP2014.S396.g04046.01.p	76 kDa	0.042	INF	1.3996	2.1456	0	0
23	Harore.CG.MTP2014.S503.g05753.01.p	Harore.CG.MTP2014.S503.g05753.01.p	51 kDa	0.045	11	5.3835	7.6644	0	1.2176
75	Harore.CG.MTP2014.S14.g06847.01.p	Harore.CG.MTP2014.S14.g06847.01.p	150 kDa	0.045	7.5	2.1311	2.8017	0	0.6601

*INFは、試料Hが0の場合を示す。

軟化に伴い、減少した上位4つのタンパク質として、ankyrin、formin、dynein および stress-induced-phosphoprotein が検出された。これらのうち、ankyrin は生体膜のチャネル分子の局在に関わる分子と知られている。formin はアクチンの重合に関与し、dynein は細胞内輸送や分裂に関わるタンパク質である。3. 研究の方法の(2)①にあるように、レーザーマイクロダイセクション法で、できるだけ細胞核を避けるようにサンプリングしていることから、細胞活動に関わる因子が軟化により減少する理由は明らかにできなかった。

(2) 大量発現

4つの遺伝子の塩基配列から、全体を増幅できるプライマーを設計し、PCRを行った。マボヤ3個体のうち、dynein 遺伝子は全ての個体で特異的な増幅が認められた (data not shown)。一方、その他の3つの遺伝子に関しては、増幅産物が得られなかった。

ダイニンに関しては、コムギ胚芽無細胞タンパク質合成系にて発現させたところ、予想分子量の位置にタンパク質の発現が確認できた (図2左)。さらに、抗 His-tag 抗体を用いて、ウェスタンブロットングを行ったところ、特異的なバンドが確認された (図2右)。そこで、本リコンビナントタンパク質で抗体を作製し、以下の実験を行った。

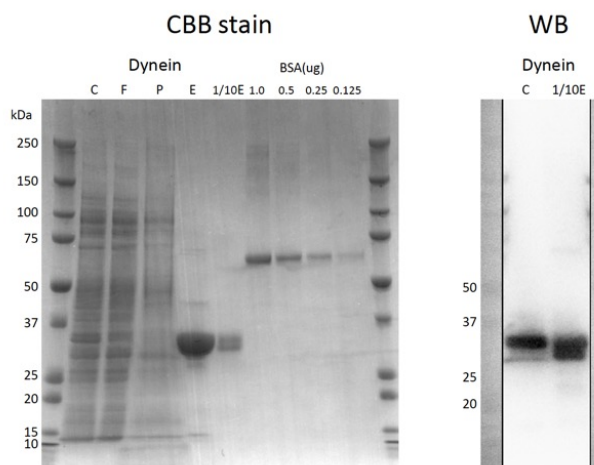


図2. 大量発現したダイニンのSDS-PAGE およびウェスタンブロットング像
C: Crude, F: Flow through, P: Pellet, E: Elution, 1/10E: Elution

(3) 免疫染色

感染実験によって得られた軟化被嚢を用いて、(2)で作製した抗体で免疫組織化学染色を行った。その結果、健常被嚢でも (図3A)、軟化被嚢でも (図3B)、被嚢内に抗 dynein 抗体陽性細胞が多数観察された。dynein は細胞内の物質輸送に関わるタンパク質であることから、被嚢内細胞が染色されたことは妥当な結果であると考えられた。プロテオーム解析の結果から本タンパク質は軟化個体で減少するタンパク質であったことから、被嚢内の血球数の違いに着目し、観察を行ったが、健常・軟化個体間で細胞数に変化はなかった。

また、軟化した被嚢では、セルロース繊維が崩壊する様子が観察され、その周囲に多くのホヤムシと思われる核が観察された (図4)。被嚢内血球も観察されたが、ホヤムシに反応している様子は認められなかった。本課題で作製した抗体はホヤムシと被嚢内細胞の区別に有用であることが示された。

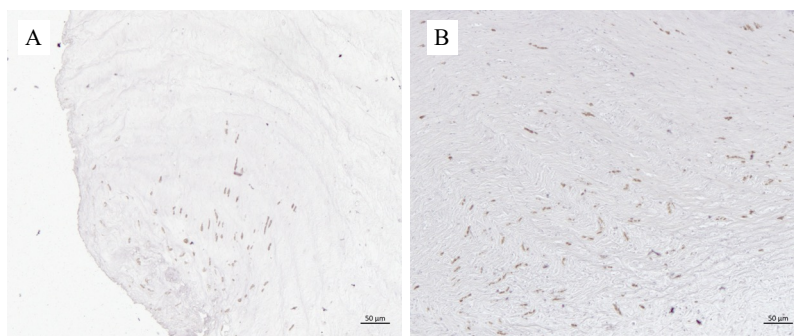


図3. 軟化した被嚢中の抗ダイニン抗体陽性細胞。(A) 健常個体、(B) 軟化個体

以上のように、レーザーマイクロダイセクション法で軟化被嚢と健常被嚢の採取場所を指定し、プロテオーム解析を行ったものの、ホヤムシが分解すると思われるセルロース繊維を架橋しているタンパク質の特定には至らなかった。レーザーマイクロダイセクション法を用いたプロテオーム解析に先立ち、2-D Fluorescence Difference Gel Electrophoresis (可溶化タンパク質) とショットガン解析 (不溶化タンパク質) で軟化に関わるタンパク質の探索も行ったが、今回のレーザーマイクロダイセクション法の結果とは一致しなかった。このことから、ホヤムシは被嚢中のタンパク質を無差別的に分解していることが示唆された。

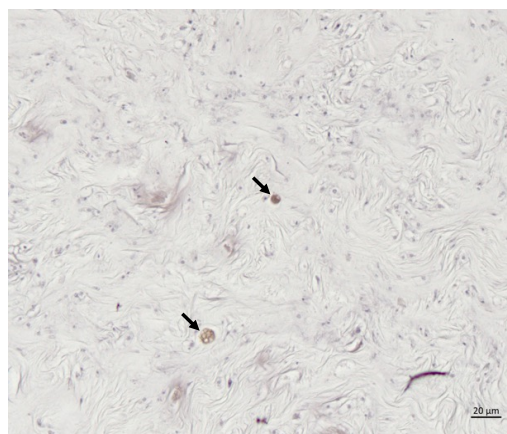


図4. 軟化した被嚢中の抗ダイニン抗体陽性細胞。崩壊しているセルロース繊維付近に多くのホヤムシと思われる細胞の核が観察できる。

(4) プロテアーゼ活性

ホヤムシの培養上清は、今回調べた 17 種類の MCA 基質のうち 3 種類(Z-Phe-Arg-MCA、Boc-Val-Leu-Lys-MCA、Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-MCA)に対してタンパク質分解活性を示した(表 2)。3 種類のプロテアーゼの細胞あたりの活性は、異なる継代数のホヤムシ間で差はなかった。これらの基質は、トリプシンおよびキモトリプシンによって分解を受ける基質であることから、ホヤムシはトリプシンおよびキモトリプシン様プロテアーゼを細胞外に分泌していることが示唆された。一方、アミノペプチダーゼの活性は検出されなかった。Z-Phe-Arg-MCA はカテプシン B/L によって分解を受ける基質である。カテプシン B/L は多くの寄生虫で病原性因子として知られていることから(⑦)、ホヤムシの病原性因子の一つかもしれない。今後、カテプシン様プロテアーゼの被囊軟化への関わりが注目される。

興味深いことに、我々は魚類にスクーチカ症を誘発する病原性毛虫 *Miamiensis avidus* も類似した細胞外プロテアーゼプロファイルを示すことを報告している(⑧)。ホヤムシも *M. avidus* も条件寄生性の原虫であることから、病原性を有する海洋の原生動物がこれらの活性を有するのかどうか、今後の研究が待たれる。

表2. ホヤムシの培養上清におけるプロテアーゼ活性測定(fmol cell⁻¹ h⁻¹)

MCA substrates	Substrates for†	Average ± SD‡	
		Low number of passages	High number of passages
Arg-MCA	Cathepsin H	—	—
Leu-MCA	Aminopeptidase	—	—
Ala-MCA	Aminopeptidase	—	—
Lys-MCA	Aminopeptidase	—	—
Phe-MCA	Aminopeptidase	—	—
Bz-Arg-MCA	Trypsin	—	—
Z-Phe-Arg-MCA	Plasma Kallikrein, Cathepsin B/L	3.58 ± 0.17	3.02 ± 0.13
Glt-Gly-Arg-MCA	Urokinase	—	—
Boc-Leu-Gly-Arg-MCA	Horseshoe Crab Clotting Enzyme	—	—
Boc-Leu-Thr-Arg-MCA	Factor VIII - Tf	—	—
Boc-Phe-Ser-Arg-MCA	Trypsin, Trypsinase, 73K Protease	—	—
Boc-Val-Pro-Arg-MCA	α-Thrombin	—	—
Boc-Leu-Ser-Thr-Arg-MCA	Activated Protein C	—	—
Boc-Val-Leu-Lys-MCA	Plasmin and Calpain	1.61 ± 0.027	1.67 ± 0.05
Boc-Glu-Lys-Lys-MCA	Plasmin	—	—
Suc-Ala-Ala-Pro-Phe-MCA	Chymotrypsin	—	—
Suc-Leu-Leu-Val-Tyr-MCA	Chymotrypsin, Calpain, Ingensin and Proteasome	0.14 ± 0.01	0.17 ± 0.01

† According to product information from manufacturer (Peptide Institute)

‡ —, No activity.

参考文献

- ① Jung SJ, Oh MJ, Date T, Suzuki S (2001) The biology of ascidians. Springer-Verlag, Tokyo, p 436–441.
- ② Kumagai A, Ito H, Sasaki R (2013) Dis Aquat Org 106:267–271.
- ③ Kumagai A, Suto A, Ito H, Tanabe T, Takahashi K, Kamaishi T, Miwa S (2010) Dis Aquat Org 90:223–234.
- ④ Kumagai A, Suto A, Ito H, Tanabe T, Song JY, Kitamura SI, Hirose E, Kamaishi T, Miwa S (2011) Dis Aquat Org 95:153–161.
- ⑤ Hirose E, Nozawa A, Kumagai A, Kitamura SI (2012) Dis Aquat Org 97:227–235.
- ⑥ Kimura S, Nakayama K, Wada M, Kim UJ, Azumi K, Ojima T, Nozawa A, Kitamura SI, Hirose E (2015) Dis Aquat Org 116:143–148.
- ⑦ Sajid M, McKerrow (2002) Mol Biochem Parasitol 120: 1–21.
- ⑧ Narasaki Y, Obayashi Y, Ito S, Murakami S, Song JY, Nakayama K, Kitamura SI (2018) Fish Pathol 53: 1-9.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計1件（うち査読付論文 1件 / うち国際共著 0件 / うちオープンアクセス 0件）

1. 著者名 Yanagida T, Nakayama K, Sawada T, Honjo M, Murakami S, Iida T, Hirose E, Kitamura SI	4. 巻 124
2. 論文標題 Innate immunity in the edible ascidian <i>Halocynthia roretzi</i> developing soft tunic syndrome: Hemolymph can eliminate the causative flagellates and discriminate allogeneic hemocytes.	5. 発行年 2022年
3. 雑誌名 Fish and Shellfish Immunology	6. 最初と最後の頁 201-207
掲載論文のDOI（デジタルオブジェクト識別子） 10.1016/j.fsi.2022.06.037.	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計6件（うち招待講演 0件 / うち国際学会 0件）

1. 発表者名 柳田哲矢・仲山慶・澤田知夫・本庄美穂・村上祥子・飯田貴次・広瀬裕一・北村真一
2. 発表標題 被囊軟化症はマボヤの生体防御能に影響を与えるか？
3. 学会等名 日本魚病学会
4. 発表年 2022年

1. 発表者名 広瀬裕一・北村真一・仲山慶・柳田哲矢
2. 発表標題 数値化した被囊の硬さから見たマボヤ被囊軟化症
3. 学会等名 日本動物学会
4. 発表年 2021年

1. 発表者名 横山有人・Kim Sanghee・北村真一・熊野岳・澤山英太郎
2. 発表標題 ゲノムワイドSNPとmtDNAによるマボヤの集団遺伝構造解析
3. 学会等名 令和6年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2024年

1. 発表者名 清水のどか・柳田哲矢・北村真一
2. 発表標題 ホヤムシに対するマボヤの自然免疫
3. 学会等名 第6回ホヤ研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 広瀬裕一・仲山慶・大林由美子・宗近玲於・北村真一
2. 発表標題 マボヤ被囊におけるクチクラ再生と被囊軟化症
3. 学会等名 第6回ホヤ研究会
4. 発表年 2023年

1. 発表者名 広瀬裕一・泉水奏
2. 発表標題 ホヤのいろいろ（動かないけど動物だよ）
3. 学会等名 日本動物学会第94回大会
4. 発表年 2023年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 Andrew F. Rowley and Shin-Ichi Kitamura	4. 発行年 2022年
2. 出版社 Oxford University Press	5. 総ページ数 656
3. 書名 Invertebrate Pathology	

〔産業財産権〕

〔その他〕

-

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	広瀬 裕一 (HIROSE Euichi) (30241772)	琉球大学・理学部・教授 (18001)	
研究分担者	柳田 哲矢 (YANAGIDA Tetsuya) (40431837)	山口大学・共同獣医学部・准教授 (15501)	
研究分担者	仲山 慶 (NAKAYAMA Kei) (80380286)	愛媛大学・沿岸環境科学研究センター・講師 (16301)	
研究分担者	飯田 貴次 (IIDA Takaji) (70159557)	岡山理科大学・獣医学部・教授 (35302)	

7. 科研費を使用して開催した国際研究集会

〔国際研究集会〕 計0件

8. 本研究に関連して実施した国際共同研究の実施状況

共同研究相手国	相手方研究機関