

令和元年6月14日現在

機関番号：16401

研究種目：基盤研究(C) (一般)

研究期間：2015～2018

課題番号：15K07578

研究課題名(和文)イカ類の正常発生に必須な輸卵管中の卵膜膨張誘発因子の特定

研究課題名(英文) The study for the chorionic expansion inducing factor in squid which is essential for the normal development of squids

研究代表者

足立 亨介 (ADACHI, KOHSUKE)

高知大学・教育研究部自然科学系農学部門・准教授

研究者番号：00399114

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 3,800,000円

研究成果の概要(和文)：イカの卵は受精後に卵塊と呼ばれる粘稠な袋内ですごし、孵化までに卵径が約2倍にも拡大する(卵膜の膨張)。この現象は正常発生に必須であり、卵塊中の成分の作用を受けて卵内の浸透圧が変化することで引き起こされると考えられてきたが、詳細は長く不明であった。本研究によって卵塊の分泌組織である輸卵管腺中から同現象を誘発する可能性のある因子を数候補にまで絞り込むことが出来た。また、同現象は卵内の無機イオン濃度の上昇によって浸透圧が上昇し、アクアポリンを介した水分子の卵膜上の輸送することで引き起こされることが示唆された。

研究成果の学術的意義や社会的意義

卵膜の膨張は主要なイカ類では普遍的に見られる現象である。また卵塊の分泌組織である輸卵管腺はその重要性に関わらず、生物学的・生化学的機能はほとんど明らかにされてこなかった。本研究によって輸卵管腺の主成分であるムチンを除去した画分を用いた実験により卵膜を膨張させる因子をある程度絞り込むことが出来た。また、同現象は卵内の無機イオン濃度の上昇によって浸透圧が上昇し、アクアポリンを介した水分子の卵膜上の輸送することで引き起こされることがはじめて示唆された。長年不明であったイカ類の卵膜膨張の物理化学的メカニズムの端緒が明らかになったことに本研究の学術的意義がある。

研究成果の概要(英文)： After fertilization, the squid ova are released in into egg mass. The diameter is about doubled before hatching. This is called as "chorionic expansion" which is essential for normal development of squid. In previous reports, chorionic expansion is induced by some factors in oviducal gland which is a secretion organ of egg mass component. And it is generally thought that this is caused by increased osmotic pressure of fluid in ova, however, but the details remains unknown.

In this study, we prepared some fractions from oviducal gland and narrowed down the inducing factors to several candidates using ova of *Todarodes pacificus*. Simultaneously, using *Sepioteuthis lessoniana* it was suggested that chorionic expansion was induced by the increase of the mineral ion concentration in the ova, and water molecules may be transported on the egg membrane via aquaporin.

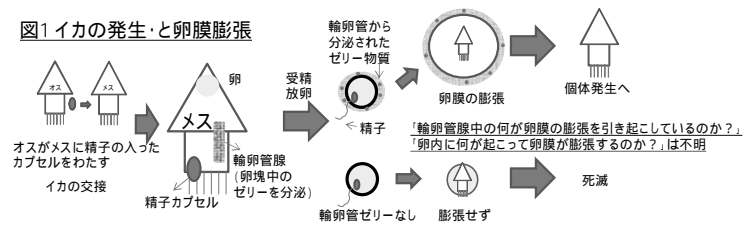
研究分野：水圏生物学、水産化学

キーワード：イカ類 卵膜膨張 輸卵管腺

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19、CK - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

イカを含む頭足類は成長が非常に速く、体重あたりの可食部(筋肉量)が70%以上と高いことなど、水産業上非常に大きな利点をも



つ。しかしながら、その生殖および発生には不明な点が意外に多く、同じ水産物である魚類に比べてその潜在能力を生かし切れていない。基礎生物学的知識を得る上でも、養殖などの応用生物学的見地からも障害になっている。これは一部イカの持つ特有の受精システムに起因する。

イカの卵は受精後に卵塊と呼ばれる粘稠な袋内ですごし、孵化までに卵径が約2倍にも拡大する(卵膜の膨張)。この現象は正常発生に必須であり、卵塊中の主成分であるムチン様物質の作用を受けて卵内の浸透圧が変化することで引き起こされると考えられてきたが、詳細は長く不明であった。一方で研究開始当初、申請者らは卵塊の分泌組織である輸卵管腺からこのムチン様物質を除去した画分に同現象の誘発活性を新たに見出していた。また、本現象は卵膜の内部の浸透圧変化によって水分子が移動することで誘発されることが予測はされるものの、その詳細は不明であった。

2. 研究の目的

輸卵管腺からこのムチン様物質を除去した画分から卵膜膨張因子を特定すること試みた。同時に正常発生中の卵内の浸透圧挙動、および水分子の卵膜の移動機構について把握することを目的とした。

3. 研究の方法

スルメイカ輸卵管腺からムチン様物質した画分を各種クロマトグラフィーによって分画して、スルメイカ受精卵に添加後、その膨張を観察することで候補因子を絞り込んだ。また、同種輸卵管腺の Rnaseq 解析アミノ酸配列に変換し予測された質量データと、実験により絞り込んだ候補因子の質量分析結果の照合によってその同定を試みた。

正常発生中の卵内の浸透圧挙動、および水分子の卵膜の移動機構についてはアオリイカ卵を用いた。卵液の浸透圧およびイオン濃度を発生段階ごとに測定し、卵内の浸透圧を変化させる要因について検討した。また、卵を 15、および 25 で低張液に暴露し、その体積を画像解析によって測定することで水分子の(チャネル等を介さない)単純な卵膜の透過度を評価した。同じく低張液中でアクアポリン阻害剤である tetraethylammonium 溶液によってはアクアポリンを介した透過を抑制することによっても同現象を評価した。

4. 研究成果

スルメイカ輸卵管腺を初発材料とした各種クロマトグラフィーによる分画後の受精卵への添加実験によって卵膜膨張活性画分を得た。SDS-PAGE 解析によってはほぼ単一のバンドは得られているものの、質量分析による結果からは複数の因子が候補とリスト化され、現段階では輸卵管腺からの卵膜膨張因子の特定には至っていない。アオリイカ卵内の浸透圧は Na^+ 、 Cl^- を中心とした無機イオンの濃度とともに上昇し、有機イオンがほぼ検出されなかった。また、卵膜の膨張は tetraethylammonium によって著しく阻害されることから、

卵膜を介した水分子の移動にはアクアポリンが関わっていることが示唆された。

5 . 主な発表論文等

〔雑誌論文〕(計 2 件)

Structure and properties of the egg mass of the ommastrephid squid *Todarodes pacificus*

P. Puneta, D. Vijai, J. Jamamoto, K. Adachi, Y. Kato, Y. Sakurai

Plosone 12(8), e0182261 (2017) 査読あり

Salt soluble without jelly-like component from the oviducal gland induces chorionic expansion in the ova of the Japanese common squid *Todarodes pacificus*

Kohsuke Adachi, Mao Yabumoto, Haekyun Yoo, Katsuji Morioka, Yuzuru Ikeda Yukio Ueta, and Yasunori Sakurai

Invertebrate Reproduction and Development 60, 281-289 (2016) 査読あり

〔学会発表〕(計 3 件)

菅野 史朗, 野村 晋平, 永島 宗弥, 野村 洋平, 矢生 健一, 上田 幸男, 池田 譲, 神田 優, 足立 亨介, 森岡 克司. アオリイカ発生時の卵膜膨張に関する生化学的考察. 平成 31 年度日本水産学会春季大会, 2019 年 3 月 26-29 日, 東京, 日本.

野村 晋平, 菅野 史郎, 山本 潤, 中屋 光裕, 柳本 卓, 高原 英生, 桜井 泰憲, 足立 亨介, 森岡克司. スルメイカ腸内細菌叢と高脂質給餌との関連性. 平成 31 年度日本水産学会春季大会, 2019 年 3 月 26-29 日, 東京, 日本.

Adachi, K., Nakaya, M., Yanagimoto, T., Goto, T., Takahara, H., Morioka, K., Yamamoto, J., Sakurai, Y., The links between the bacterial profiles of seawater, feces, and egg masses of *Todarodes pacificus* in an aquarium. Cephalopod International Advisory Council Conference 2018, 13 November, 2018, St. Petersburg, USA.

〔図書〕(計 0 件)

〔産業財産権〕

出願状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年：
国内外の別：

取得状況 (計 0 件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
取得年：
国内外の別：

〔その他〕
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究分担者

研究分担者氏名：なし

ローマ字氏名：

所属研究機関名：

部局名：

職名：

研究者番号（8桁）：

(2) 研究協力者

研究協力者氏名：なし

ローマ字氏名：

科研費による研究は、研究者の自覚と責任において実施するものです。そのため、研究の実施や研究成果の公表等については、国の要請等に基づくものではなく、その研究成果に関する見解や責任は、研究者個人に帰属されます。