

令和 2 年 6 月 8 日現在

機関番号：11301
 研究種目：基盤研究(B) (一般)
 研究期間：2016～2019
 課題番号：16H04978
 研究課題名(和文) 主要二枚貝の性・性成熟・産卵を制御する脳ホルモンの役割と人工種苗生産への応用

 研究課題名(英文) Mode of action and role of neurohormone in the regulation of reproductive functions and its application for artificial seed production in major bivalves

 研究代表者
 尾定 誠 (Osada, Makoto)

 東北大学・農学研究科・教授

 研究者番号：30177208
 交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 13,000,000円

研究成果の概要(和文)：二枚貝類の生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン(Gonadotropin releasing hormone, GnRH)の構造的な特徴、ホタテガイにおける2種類のGnRHペプチドホルモンによる雌雄の性分化と生殖細胞発達の誘導を明らかにした。その作用を仲介するステロイドホルモン生合成経路関連遺伝子群を明らかにし、雌雄それぞれに特徴的な生殖周期を示唆した。
 セロトニンによる産卵を阻害している卵成熟休止因子(Oocyte Maturation Arresting Factor, OMAF)の全長 OMAFに対する抗体を用いた吸収による抑制解除によって、各種二枚貝類の放精及び精子運動能を活性化した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

近年、害的生物による食害や感染による斃死に加え、環境激変による資源量や養殖生産量の激減によって、環境と共生する漁業として世界に認められている、二枚貝養殖の持続的な生産が危ぶまれている。それを解決するためには、二枚貝の人工種苗生産技術の開発が急務である。
 その基盤となる二枚貝における性分化・性成熟・産卵に関する生殖内分泌調節機構の知見を深化させ、人工種苗生産技術として応用する意義は、食料としての水産物増産のみならず、生殖内分泌機構に関わる生物の普遍的なメカニズムとその進化の解明においても非常に大きな意義がある。

研究成果の概要(英文)：Peptide sequences of gonadotropin releasing hormones (GnRHs), which are conserved among bivalves, was characterized in comparison with vertebrates. Induction of sex differentiation based on the observed difference of sex specific gene expression among sexes and germ cell development with two types of scallop GnRHs were demonstrated. And the occurrence of steroidogenic pathway-related genes, which is suggested mediating the abovementioned GnRH function, was proposed and sex specific profile of these genes between sexes during reproductive cycle was suggested.
 Primary structure of oocyte maturation arresting factor (OMAF), which is a neural factor to interfere serotonin-induced spawning was revealed. And neutralizing full OMAF antibody resulted in blockage of OMAF-inhibited serotonin function and activation of spawning of male and sperm motility.

研究分野：水産増殖学

キーワード：二枚貝 性分化 性成熟 産卵 神経内分泌 GnRH ステロイドホルモン 性特異的遺伝子

様式 C-19、F-19-1、Z-19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

(1) 環境への負荷のない無給餌で増養殖されている二枚貝では、移植などによって混入する害的生物による食害や原虫や細菌の感染による斃死に加え、環境激変による資源量や養殖生産量の激減を引き起こし、将来にわたる持続的な二枚貝の増養殖が危ぶまれている現状にある。二枚貝の資源量の回復と安定した生産を実現するためにも、安全な漁場環境の保全はもとより、計画性のある種苗の供給や激変する環境に適した形質を持つ種苗の開発が不可欠である。

(2) それを可能にする二枚貝の人工種苗生産技術の開発が急務であるにもかかわらず、未だに立ち遅れている。二枚貝類に広く適用でき、特定の遺伝形質の開発にも不可欠な、しかも計画性のある人工種苗生産を実現させるためにも、これまで蓄積してきた基盤となる二枚貝における生殖内分泌調節機構の知見を更に深化させ、人工種苗生産技術として具現化する必要がある。

(3) ホタテガイにおいて2種類の pyGnRH ペプチドを同定し、11 アミノ酸残基 pyGnRH (C末端 Pro-NH₂) によるエストロゲン合成誘導・分泌を介したホタテガイの精原細胞増殖および、雌の雄性化と精子形成促進作用に示される性の再分化を報告した。二枚貝類は、外見からは雌雄判別することができず、性染色体が不明であり、環境要因によって雌雄の性の発現が大きく影響されることが知られており、二枚貝類における性決定・性分化機構の解明は性統御にとって重要な課題であり、2種類の pyGnRH ペプチドの性分化および性成熟に対する影響の検討は非常に重要である。

(4) 二枚貝の産卵は、神経伝達物質セロトニン (5-HT) によるセロトニン受容体を介した一連の卵成熟・精子運動活性化・生殖輸管絨毛上皮活性化の誘起によって起こる。しかし、5-HT 作用は二枚貝に広く保持されている卵成熟休止因子 (Oocyte Maturation Arresting Factor; OMAF) とプロスタグランジン F_{2α} (PGF_{2α}) によって抑制的に調節されている。生殖の最終段階である 5-HT による産卵を抑制的に調節している OMAF と PGF_{2α} の抑制機能の解明とその抑制からの解放の検討が、確実な人工産卵と高度な人工種苗生産を実現する重要な課題である。

2. 研究の目的

上記の背景を解決すべく本研究では、神経内分泌因子による生殖制御による計画的な母貝仕立てと産卵の実現を図ることを目的に、研究期間内に以下の目標を立てて実施した。

(1) ホタテガイの 11 アミノ酸残基 pyGnRH (C末端 Pro-NH₂; pyGnRH11aa) と 12 アミノ酸残基 pyGnRH (C末端 Gly-OH; pyGnRH12aa) の投与および生殖巣培養組織への添加による影響を、遺伝的な雌雄の性の表現型への影響を、雌雄の卵形成・精子形成および生殖腺の量的発達および性特異的遺伝子のレベルで明らかにする。

(2) pyGnRH11aa と pyGnRH12aa のシグナル伝達に重要な受容体を、ホタテガイ精巣と中枢神経から構築したトランスクリプトームライブラリーや公開されているマガキ、アカザラガイのトランスクリプトームライブラリーを参照して同定し、同定した受容体遺伝子を導入した哺乳類培養細胞 (HEK293) を用いて、2種類の pyGnRH ペプチドに対する受容体の機能を明らかにする。

(3) ホタテガイ精巣と中枢神経から構築したトランスクリプトームライブラリーや公開されているゲノムデータベースを参照に、ステロイドホルモン生合成経路を構成する生合成酵素群を分子クローニングし、それらの発現と生殖周期との関連、pyGnRH11aa と pyGnRH12aa による発現動態への影響を明らかにする。

(4) 種々の二枚貝の中枢神経由来の GnRH 前駆体遺伝子単離とペプチド配列比較による二枚貝 GnRH ペプチド群の特徴と構造的な共通性を明らかにする。

(5) 産卵における卵成熟休止因子 (OMAF) と PGF_{2α} の卵・精子活性化および成熟卵・精子の放出阻害の作用機序を明らかにし、それらの産卵抑制機能からの解除に基づく、5-HT による種々の二枚貝の産卵誘発の増強効果を検証する。

これらの成果をもとに、神経内分泌因子によって操る母貝の性統御と雌雄の人工催熟および人工産卵に基づく高度化した人工種苗生産技術開発の基盤を築く。

3. 研究の方法

(1) 生殖を司る生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (Gonadotropin Releasing Hormone, GnRH) 遺伝子と GnRH ペプチド配列及びその受容体遺伝子の決定

ホタテガイ中枢神経系から総 RNA 抽出、逆転写 cDNA 合成、既知の GnRH 前駆体タンパク質アミノ酸 (preproGnRH) 配列の保存性の高いペプチド領域から設計した縮重プライマーによる候補断片の獲得、RACE 法による伸長と完全長 cDNA の獲得を行なった。その他のアサリなど二枚貝類からも同様に完全長 preproGnRH cDNA を獲得し、GnRH ペプチド配列を推定した。また、ホタテガイ生殖巣、中枢神経系などの次世代シーケンサーによるトランスクリプトームデータを構築し、その中から既知の GnRH 受容体塩基配列との相同性の高いコンティグを採出し、中枢神経 cDNA からホタテガイ GnRH 受容体 cDNA を獲得した。受容体の機能は、HEK293 細胞にホタテガイ GnRH 受容体遺伝子を導入し、受容体タンパクを発現させて、シグナルの細胞内への伝達経路を特定するとともに、その細胞内情報伝達系の活性化を指標に、同定したホタテガイ GnRH ペプチドに対する受容体の応答機能を解析した。

(2) 性分化と性成熟の内分泌制御

女川湾、雄勝湾、陸奥湾で養殖されたホタテガイを未分化期・性分化初期・成長期・成熟期・産卵期・産卵後期・退縮期の中枢神経、生殖巣、卵・精子などを採取し、組織学、生化学、分子生物学的解析に供した。未分化期もしくは成長期のホタテガイに対する合成 GnRH ペプチドホ

ルモンの投与実験、及び生殖巣組織片の無菌培養への合成 GnRH ペプチドホルモンの添加培養実験を行い、生殖巣発達の定量的な解析や生殖細胞の形態的な発達、性成熟指標遺伝子や性特異的遺伝子などの転写への影響を検討した。

(3) 産卵の内分泌制御

主要な二枚貝類の生殖巣から単離した卵、精子を人工海水に懸濁して、添加した脳ホルモンやそれに対する抗体などの影響を、卵核胞崩壊を指標にした卵成熟及び精子の運動性を指標に精子活性化に対して検討した。また、個体に直接それらを投与することによって引き起こされる、産卵への影響を卵及び精子の放出数として評価し検討した。中枢神経系由来の神経タンパク、卵成熟休止因子 (Oocyte Maturation Arresting Factor; OMAF) のプロテインシケンサーによる内部部分アミノ酸配列を獲得し、部分アミノ酸配列を元にそれぞれに対する両方向の縮重プライマーを設計し、中枢神経から獲得した cDNA を鋳型に増幅断片を獲得し、RACE 法による伸長と完全長 cDNA を獲得し、一次構造の解析、完全長の組換え OMAF タンパク質の合成及び活性を検討した。

4. 研究成果

(1) 生殖を司る生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (Gonadotropin Releasing Hormone, GnRH) 遺伝子と GnRH ペプチド配列及びその受容体遺伝子の決定

GnRH はその配列の相同性から、昆虫に至るまでの両側動物に広く存在する adipokinetic hormone (AKH)、corazonin (Crz)、adipokinetic hormone/corazonin-related peptides (ACP) とともに GnRH スーパーファミリーを構成していることと、その先祖分子が非常に古いことが、ここ十年ほどで知られるようになってきた¹⁾。二枚貝類、腹足類、頭足類からなる軟体動物の GnRH ペプチド領域の N 末端ピログルタミン酸の後ろに、2 アミノ酸残基が挿入されていることが共通した特徴であり、この特徴が、GnRH 受容体に結合するために重要な構造であることがマダゴで明らかにされている¹⁾。その他多くの同定した二枚貝類の GnRH 前駆体遺伝子から推定されたペプチド領域にもこの特徴が認められ、同時に、N 末端ピログルタミン酸の後ろのアミノ酸残基と C 末端プロリンアミドの前のアミノ酸残基によって、アサリ・ウバガイグループ、アカガイグループ、カキ・ホタテガイグループの大きく 3 つに大別されることも明らかになった (図 1)。このことは、二枚貝類に広く作用する共通した GnRH ペプチド配列を設計するための重要な知見であり、後述する GnRH 受容体における応答性を調べることで、二枚貝類に汎用的な GnRH ペプチドホルモンの創出を可能にする成果である。

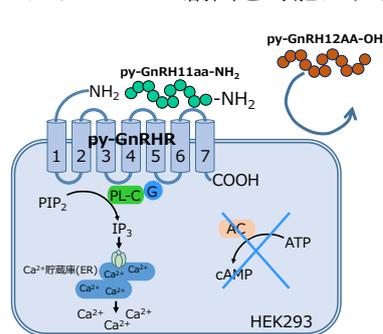


図1 ホタテガイ GnRH 受容体の 2 種類の pyGnRH ペプチドに対する応答性

一方、ホタテガイで同定された pQNFHYSNGWQPG-OH (pyGnRH12AA-OH) と pQNFHYSNGWQP-NH₂ (pyGnRH11AA-NH₂) の 2 種類のホタテガイ GnRH は、標的細胞に対してその機能を果たすためには細胞膜上に分布する受容体に受け取られる必要がある。トランスクリプトームデータベースを構築し、候補遺伝子を探し出し、完全長 cDNA を決定した。ホタテガイ GnRH 受容体 (pyGnRHR) の構造は典型的な 7 回膜貫通領域を持つ G タンパク質共役型受容体であり、同時に同定したホタテガイ AKH 受容体およびマガキ GnRH 受容体 cDNA とともに、GnRH スーパーファミリー受容体の中でも、AKH、Crz、ACP 受容体とは別れて、無脊椎動物 GnRH 受容体に分類された。そこで、HEK293 細胞に pyGnRHR 遺伝子を導入、受容体タンパクを発現させて、両ペプチドに対する応答性を調べた。細胞内への GnRH シグナル伝達はセカンドメッセンジャーとして、サイクリック AMP で

はなく、小胞体から細胞内への Ca²⁺の放出が媒介していることが明らかとなり、その応答は pyGnRH11AA-NH₂ に対してのみ見られ、pyGnRH12AA-OH には細胞内への Ca²⁺の放出は認められなかった (図 1)。すなわち、同定した pyGnRHR は、細胞内 Ca²⁺の放出を介して細胞を活性化し、pyGnRH11AA-NH₂ に対してのみ応答することを示している。しかし、pyGnRH12AA-OH との結合能については明らかではなく、この一つの受容体における pyGnRH12AA-OH と pyGnRH11AA-NH₂ との相互関係を明らかにすることは、GnRH ペプチド機能を理解し利用するために不可欠な課題である。

(2) 性分化と性成熟の内分泌制御

雌雄異体種であるホタテガイの雄性化と雄への性分化が pyGnRH11AA-NH₂ によってもたらされることはすでに報告していたが、雌性化と雌への性分化の制御因子として、もう一つのペプチドである pyGnRH12AA-OH の存在は非常に重要である。両 pyGnRH ペプチドを雌雄それぞれ

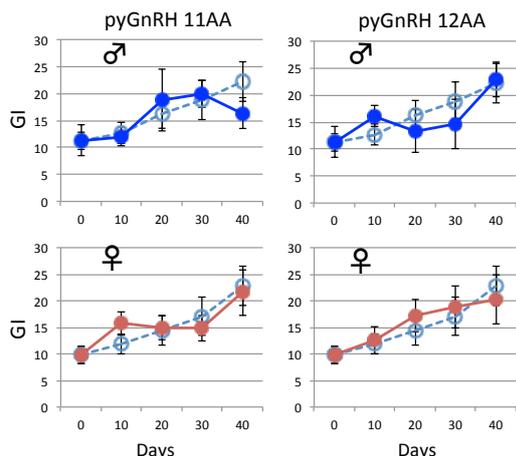


図2 ホタテガイへの2種類のpyGnRHペプチド投与による卵巣および精巣の発達に及ぼす影響

に投与すると、pyGnRH11AA-NH₂ 投与群は、雌の性転換までは起こさなかったが、精巣を発達させた一方で、卵巣発達を阻害する傾向にあった。pyGnRH12AA-OH は逆に、卵巣を発達させた一方で、精巣発達を阻害する傾向を示した (図2)。このことは、pyGnRH11AA-NH₂ は雄の性分化および生殖細胞発達に、pyGnRH12AA-OH は雌の性分化および生殖細胞発達に関与している可能性を強く示唆している。卵巣や精巣培養組織への両 pyGnRH ペプチドを添加した組織中の性表現を反映する性特異的遺伝子の解析からも支持する結果が得られている。ホタテガイのトランスクリプトームおよびゲノムデータベースから、雌に特異的であり性成熟とともに発現量が上昇する遺伝子 *foxl2* と雄に特異的な遺伝子 *dmrt* の単離同定し (図3)、これを指標に解析した結果、卵巣では pyGnRH11AA-NH₂ は *dmrt* を上昇させ、pyGnRH12AA-OH と競合させるとその機能を阻害する。一方、pyGnRH12AA-OH は *foxl2* を強く上昇させ、pyGnRH11AA-NH₂ と競合させるとその機能を阻害する。精巣ではこの関係が逆の傾向を見せた。すなわち、両 pyGnRH ペプチドは拮抗的な関係にあり、pyGnRH11AA-NH₂ は精巣化を pyGnRH12AA-OH は卵巣化の鍵となる神経ペプチドホルモンであり、これを応用することによって性統御と人工催熟による親貝仕立てに基づいた計画的な人工種苗生産を可能にできる。しかし、今回は性転換をとまなうような性の再分化の再現には至らず、さらなる投与方法や生物材料の状態、飼育環境などを考慮して、再検討する必要がある。

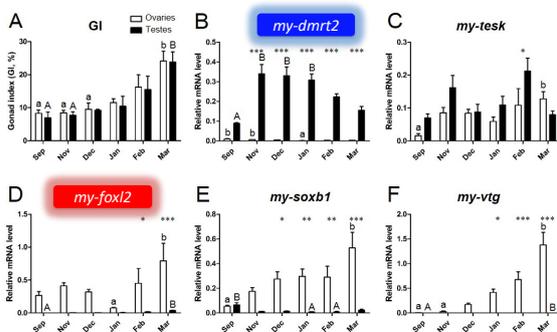


図3 ホタテガイの性特異的遺伝子とその発現の性成熟との関係

その存在が示唆されているエストロゲン合成細胞を刺激して、分泌されたエストロゲンを介して働いていることが報告されている¹⁾。エストロゲン合成やエストロゲンの受容機構は未だ不明であったが、まず、同じ二枚貝類のムラサキガイとホタテガイからそれぞれ2種類のエストロゲン受容体を単離同定し、その構造と発現解析を行った。エストロゲンと結合する領域の構造解析から、哺乳類を含む脊椎動物のエストロゲンとは若干異なる官能基を持っているエストロゲン様物質と結合している可能性が示唆された²⁾。これを裏付ける様に、バイオインフォマティクスを駆使して、ホタテガイをモデルに軟体動物で初めてコレステロールからエストロゲン生合成までのステロイド生合成経路を提示することができた。生合成経路に沿って順に、*star* の2

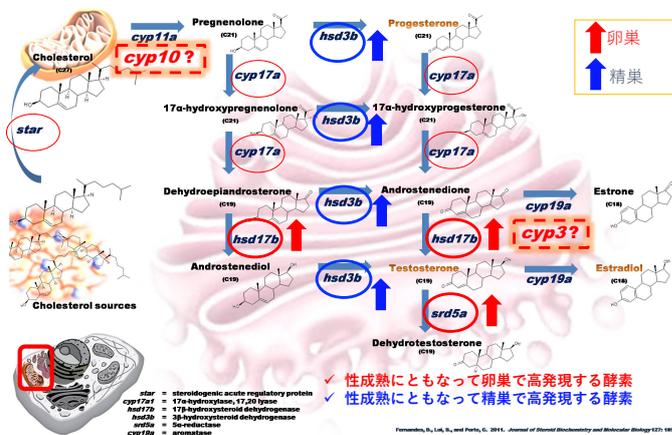


図4 ホタテガイのステロイド生合成経路
コレステロール側鎖切断酵素 (cyp11a) の代わりに cyp10、アロマトラーゼ (cyp19a) の代わりに cyp3 が加わる経路を提案

種類のアイソフォーム *star3* と *star9*、*cyp17a1*、3 β ヒドロキシステロイド脱水素酵素 *hsd3b* の2種類のアイソフォーム *hsd3b1*、*hsd3b2*、17 β ヒドロキシステロイド脱水素酵素 *hsd17b* の4種類のアイソフォーム *hsd17b8*、*hsd17b10*、*hsd17b11*、*hsd17b14*、5 α 還元酵素 *srd5a1* が同定され、それに加え *star* と *cyp17a* の間に *cyp10* が、アンドロゲンからエストロゲンへの変換に *cyp3a* が働くことが示唆された。*star3* と *cyp17a1* の性成熟初期の高発現によるステロイドホルモンの活発な合成の準備、3 β ヒドロキシステロイド脱水素酵素 *hsd3b* と 17 β ヒドロキシステロイド脱水素酵素 *hsd17b* の成熟期にかけての高発現による活発なエストロゲン合成が示唆された。同じ二枚貝類のムラサキガイから単離同定され

た 2 種類のエストロゲン受容体のエストロゲンと結合する領域の構造が、哺乳類を含む脊椎動物のエストロゲンとは若干異なる官能基を持っているエストロゲン様物質と結合している可能性が示唆され²⁾、本研究では、男性ホルモンから女性ホルモンであるエストロゲンへの変換に関わる酵素が脊椎動物とは異なる酵素で構成されている可能性から、最終的に二枚貝類において生合成されているエストロゲン様物質の構造的な脊椎動物との相違を強く支持した。また、卵巣と精巣においてそれぞれ特定の酵素が性成熟にもなって上昇していたことは、両 pyGnRH ペプチドによる雌雄異なる制御の下にあることが推測された (図 4)。

このように、両側動物が共通して保有している先祖分子として古い GnRH ペプチドが、二枚貝類において性分化や性成熟に深く関わり、それを応用して生殖を操作する性統御や人工催熟技術として進展させることができた。

(3) 産卵の内分泌制御

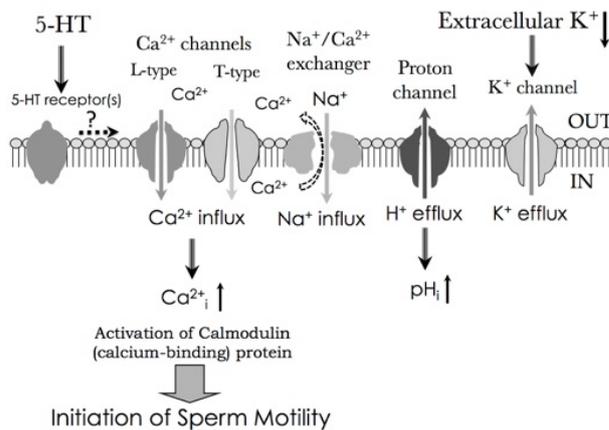


図 5 精子運動活性化におけるセロトニンの作用機序

二枚貝類の産卵は神経伝達物質セロトニン (5-hydroxytryptamine, 5-HT) によって誘起されることはすでによく知られていた。すなわち、5-HT は卵膜、精子鞭毛、生殖輸管の繊毛上皮細胞の 5-HT 受容体を介して多様なイオンチャンネルを活性化させ (図 5)³⁾、卵成熟 (減数分裂による卵核胞崩壊として認知)、精子運動活性化、繊毛運動活性化することで成熟した卵・精子が体外に放出され産卵に至る。特に、卵成熟と精子運動活性化が産卵の大前提にあることが重要なポイントである。しかし、5-HT を投与したからと言っても二枚貝類の応答には個体差が非常に大きいことから、5-HT の作用に対して抑制的に制御するメカニズムがあることが推測された。すでに、5-HT による生殖輸管の繊毛運動に対してプロスタグランジン F_{2α} は抑制的

に作用していること、5-HT による卵成熟誘起と精子運動活性化は、新規の神経タンパクである卵成熟休止因子 (Oocyte Maturation Arresting Factor, OMAF) によって抑制的に制御されていることを、二枚貝類に共通して見出している。5-HT による産卵誘発を確実にするためには、これらの抑制的な制御の解除が不可欠と考えられ、特に、生殖細胞に直接作用している OMAF の正体を探り、その機能をノックダウンすることが計画的な人工産卵に必須である。

OMAF は電気泳動域 52kDa の分子質量を持ち、卵への受容機構を介して作用するらしく、単離した完全長 OMAFcDNA は 1679bp の塩基配列、483 アミノ酸残基からなる推定分子質量 53,677 のタンパク質であり、電気泳動で検定した値とほぼ同じことから単純タンパクであることがわかった。一次構造解析の結果、全長 OMAF タンパクにはプロテインシーケンサーで明らかにした全ての内部アミノ酸配列が確認され、前半に分泌シグナル、抑制作用の主体と思われる未知配列、その後ろにコイル構造、後半に Cu/Zn スーパーオキシドジスムターゼが続く複合的な構造を持っていた。卵成熟休止因子 (OMAF) の全長に対する組換えタンパクの *in vitro* 合成を、これまで大腸菌や酵母を用いたベクター・宿主系で試み、少量の組換え OMAF しかできなかったが、pCOLD ベクターを用いた大腸菌タンパク発現系を用いることで、全長 OMAF に対する抗血清を得ることに成功した。ホタテガイ OMAF 全配列に対する抗体による前処理は、アカザラガイ、アサリのセロトニンによる放精数を上昇させるとともに、各種二枚貝精子運動能を活性化した。抑制からの解除によって産卵誘発の引き金である 5-HT を最大限引き出すことによって、広く二枚貝類の確実な人工産卵技術として進展させることができた。

<引用文献>

- 1) Makoto Osada and Nicholas Treen (2013) Molluscan GnRH Associated with Reproduction, Gen. Comp. Endocrinol., 181, 254-258.
- 2) Kazue Nagasawa, Nicholas Treen, Reki Kondo, Yurika Otoki, Naoki Itoh, Jeanette M. Rotchell and Makoto Osada (2015) Molecular characterization of an estrogen receptor and estrogen-related receptor and their autoregulatory capabilities in two Mytilus species. Gene, 564, 153-159.
- 3) Sayyed Mohammad Hadi Alavi, Natsuki Matsumura, Kogiku Shiba, Naoki Itoh, Keisuke G Takahashi, Kazuo Inaba and Makoto Osada (2014) Roles of extracellular ions and pH in 5-HT-induced sperm motility in marine bivalve, Reproduction, 147, 331-345.

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計8件（うち査読付論文 7件/うち国際共著 2件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Thitiphuree Tongchai, Nagasawa Kazue, Osada Makoto	4. 巻 186
2. 論文標題 Molecular identification of steroidogenesis-related genes in scallops and their potential roles in gametogenesis	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology	6. 最初と最後の頁 22 ~ 33
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.jsbmb.2018.09.004	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 -
1. 著者名 長澤一衛、尾定誠	4. 巻 44
2. 論文標題 シリーズ実験動物「ホタテガイ」	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 比較内分泌学	6. 最初と最後の頁 54-57
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
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 -
1. 著者名 尾定誠、長澤一衛、関澤彩真	4. 巻 84
2. 論文標題 二枚貝の増養殖の復興への取り組み	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 日本水産学会誌	6. 最初と最後の頁 1070-1073
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	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 -
1. 著者名 Sayyed Mohammad Hadi Alavi, Kazue Nagasawa, Keisuke G. Takahashi, Makoto Osada	4. 巻 2
2. 論文標題 Structure-Function of Serotonin in Bivalve Molluscs	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Serotonin - A Chemical Messenger Between All Types of Living Cells	6. 最初と最後の頁 33-63
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5772/65233	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている（また、その予定である）	国際共著 該当する

1. 著者名 Sayyed Mohammad Hadi Alavi, Kazue Nagasawa, Keisuke G. Takahashi, Makoto Osada,	4. 巻 2
2. 論文標題 Pharmacology and Molecular identity of Serotonin Receptor in Bivalve Molluscs	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Serotonin - A Chemical Messenger Between All Types of Living Cells	6. 最初と最後の頁 7-31
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.5772/65233	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 該当する

1. 著者名 Kazue Nagasawa, Kouta Muroia, Tongchai Thitiphuree, Yuki Minegishi, Naoki Itoh, Makoto Osada	4. 巻 3
2. 論文標題 Cloning of invertebrate gonadotropin-releasing hormone receptor (GnRHR)-like gene in Yesso scallop, <i>Patinopecten yessoensis</i>	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Agri Gene	6. 最初と最後の頁 46-56
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.aggene.2016.11.005	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 -

1. 著者名 Nagasawa Kazue, Matsubara Shin, Satake Honoo, Osada Makoto	4. 巻 282
2. 論文標題 Functional characterization of an invertebrate gonadotropin-releasing hormone receptor in the Yesso scallop <i>Mizuhopecten yessoensis</i>	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 General and Comparative Endocrinology	6. 最初と最後の頁 113201 ~ 113201
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.ygcen.2019.06.005	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 -

1. 著者名 Nagasawa Kazue, Thitiphuree Tongchai, Osada Makoto	4. 巻 9
2. 論文標題 Phenotypic Stability of Sex and Expression of Sex Identification Markers in the Adult Yesso Scallop <i>Mizuhopecten yessoensis</i> throughout the Reproductive Cycle	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 Animals	6. 最初と最後の頁 277 ~ 277
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.3390/ani9050277	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

〔学会発表〕 計37件（うち招待講演 4件 / うち国際学会 6件）

1. 発表者名 吉田浩隆・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 ホタテガイの未分化生殖細胞に発現するnanos遺伝子の発現解析
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 ホタテガイにおけるPiwiおよびVasaタンパク質の局在
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関澤彩眞・鈴木巖・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 二枚貝類GnRHペプチド領域配列の同定とその比較
3. 学会等名 平成30年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長澤一衛・吉田浩隆・尾定 誠
2. 発表標題 養殖ホタテガイの未分化生殖細胞で発現するマーカー遺伝子群の解析
3. 学会等名 平成30年度東北マリンサイエンス拠点形成事業「海洋生態系の調査研究」全体会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 馬上大祐・木谷賛・長澤一衛・内木敏人・加藤元一・尾定誠
2. 発表標題 二枚貝幼生の発達にともなう神経分化と発達
3. 学会等名 平成30年度東北マリンサイエンス拠点形成事業「海洋生態系の調査研究」全体会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 角田渉・萩野谷恒平・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 海産二枚貝類の性と性成熟におけるGnRHの影響
3. 学会等名 平成30年度東北マリンサイエンス拠点形成事業「海洋生態系の調査研究」全体会議
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 馬上大祐・木谷賛・長澤一衛・内木敏人・加藤元一・尾定誠
2. 発表標題 有用二枚貝の胚・幼生発生から着底・変態期における神経分化と発達
3. 学会等名 日本水産増殖学会第17回大会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 馬上大祐・木谷賛・長澤一衛・内木敏人・加藤元一・尾定誠
2. 発表標題 有用二枚貝の胚・幼生発生から着底・変態期における神経分化と発達
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 塩越遼太・関澤彩眞・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 ホタテガイ卵成熟休止因子OMAFに対する抗体作製と二枚貝の放卵放精促進の試み
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 関澤彩眞・鈴木徹・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 二枚貝類のGnRHペプチドの特徴づけと生殖周期にともなう発現動態
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 吉田浩隆・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 ホタテガイの未分化生殖細胞に発現するnanos遺伝子の発現解析
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長澤一衛・Tongchai Thitiphuree・尾定 誠
2. 発表標題 ホタテガイの性分化過程と性の可塑性の解析：生殖巣におけるdmrt2とfoxl2の発現解析
3. 学会等名 第43回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Daisuke Moue, Tatae Kitani, Kazue Nagasawa, Motoichi Kato, Toshihito Naiki, Makoto Osada
2. 発表標題 Differentiation and development of monoamines and GnRH neuron during larval development of bivalves
3. 学会等名 The 9th Congress of Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology (AOSCE 2018) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長澤 一衛・Fernandes M.O. Jorge・尾定 誠
2. 発表標題 水産生物の生理学研究のためのNGS
3. 学会等名 NGS現場の会 第五回研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長澤一衛・松原 伸・佐竹 炎・尾定 誠
2. 発表標題 ホタテガイGnRH受容体の機能解析
3. 学会等名 第42回日本比較内分泌学会およびシンポジウム
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Nagasawa K, Thitiphuree T, Osada M
2. 発表標題 CHARACTERIZATION AND POSSIBLE FUNCTIONS OF GONADOTROPIN-RELEASING HORMONE-LIKE PEPTIDES IN BIVALVE
3. 学会等名 18th International Congress of Comparative Endocrinology (ICCE18) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Thitiphuree T, Nagasawa K, Osada M
2. 発表標題 GAMETOGENESIS AND MRNA EXPRESSION OF STEROIDOGENIC ENZYME GENES DURING REPRODUCTIVE CYCLE IN JAPANESE SCALLOP
3. 学会等名 18th International Congress of Comparative Endocrinology (ICCE18) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 M. Osada, K. Nagasawa, and A. Sekizawa
2. 発表標題 Endocrinological approach of manipulation of reproduction for seed production of bivalve mollusks
3. 学会等名 TEAMS-Chulalongkorn University Thailand Joint Workshop (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長澤一衛・Tongchai Thitiphuree・尾定 誠
2. 発表標題 養殖ホタテガイにおける性の可塑性と性分化マーカーの単離
3. 学会等名 平成29年度東北マリンサイエンス拠点形成事業「海洋生態系の調査研究」全体会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木谷賛・内木敏人・加藤元一・長澤一衛・Tongchai Thitiphuree・関澤彩真・尾定 誠
2. 発表標題 マガキの胚・幼生発生におけるモノアミン動態とGnRH
3. 学会等名 平成29年度東北マリンサイエンス拠点形成事業「海洋生態系の調査研究」全体会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 馬上大祐・Tongchai Thitiphuree・関澤彩真・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 マガキモノアミン生合成酵素遺伝子のcDNAクローニング
3. 学会等名 平成29年度東北マリンサイエンス拠点形成事業「海洋生態系の調査研究」全体会議
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Makoto Osada
2. 発表標題 GnRH peptide and reproductive function in bivalve mollusks
3. 学会等名 The 8th Congress of Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology (AOSCE 2016) (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 Tongchai Thitiphuree, Hazuki Okoshi, Kazue Nagasawa, Makoto Osada
2. 発表標題 Identification and Expression of Candidate Genes for Steroidogenesis in Japanese Scallop, <i>Patinopecten yessoensis</i>
3. 学会等名 The 8th Congress of Asia and Oceania Society for Comparative Endocrinology (AOSCE 2016) (国際学会)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 尾定誠・長澤一衛
2. 発表標題 軟体動物二枚貝類におけるGnRHペプチドと生殖における機能
3. 学会等名 第41回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム (招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 長澤一衛・室井孝太・峰岸有紀・伊藤直樹・尾定誠
2. 発表標題 ホタテガイGnRH受容体とAKH受容体のcDNAクローニング
3. 学会等名 第41回日本比較内分泌学会大会およびシンポジウム
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 長澤一衛・Tongchai Thitiphuree・尾定誠
2. 発表標題 ホタテガイ生殖腺における性分化マーカーの単離
3. 学会等名 平成29年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 Tongchai Thitiphuree, Kazue Nagasawa, Makoto Osada
2. 発表標題 Characterization of steroidogenic genes for reproduction in Japanese Scallop, <i>Patinopecten yessoensis</i> ,
3. 学会等名 平成29年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 馬上大祐・Tongchai Thitiphuree・関澤彩真・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 マガキのモノアミン生合成酵素遺伝子のcDNAクローニング
3. 学会等名 平成29年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 木谷賛・内木敏人・加藤元一・長澤一衛・Tongchai Thitiphuree・関澤彩真・尾定誠
2. 発表標題 マガキの胚発生・幼生発生におけるモノアミン動態とGnRH
3. 学会等名 平成28年度日本水産学会秋季大会
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 尾定誠・長澤一衛
2. 発表標題 二枚貝類の性分化と生殖細胞の発達におけるGnRHペプチドの関与
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 福島隆広・長澤一衛・Tongchi Thitiphuree・角田渉・尾定誠
2. 発表標題 ホタテガイにおける2種類のpyGnRHの性分化と卵形成に及ぼす影響
3. 学会等名 日本動物学会第90回大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長澤一衛・Mariia Mokrina・金森誠・夏池真史・尾定誠
2. 発表標題 ホタテガイ血球の細胞学的解析と造血組織特定への試み
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 Mariia Mokrina, Kazue Nagasawa, Makoto Kanamori, Masafumi Natsuike, Makoto Osada
2. 発表標題 Quantitative analysis of reproductive status and evidences of “minor” spawning event in Mizuhopecten yessoensis in Funka Bay
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 角田 渉・小泉慎太郎・吉田達・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 雄ホタテガイのpyGnRH11AA及びpyGnRH12AAペプチドホルモンの性分化と精子形成に及ぼす影響
3. 学会等名 令和2年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2020年

1. 発表者名 長澤一衛・Mariia Mokrina・吉田浩隆・金森誠・尾定誠
2. 発表標題 二枚貝類の多分化能を有する細胞集団の探索
3. 学会等名 平成31年度日本水産学会春季大会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長田知大・加藤元一・内木敏人・寺井しま・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 二枚貝浮遊幼生の着底・変態の神経制御メカニズム
3. 学会等名 第44回日本比較内分泌学会およびシンポジウム
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長田知大・加藤元一・内木敏人・寺井しま・長澤一衛・尾定誠
2. 発表標題 二枚貝浮遊幼生の着底・変態の神経制御メカニズム
3. 学会等名 日本水産増殖学会第18回大会
4. 発表年 2019年

〔図書〕 計5件

1. 著者名 Makoto Osada	4. 発行年 2018年
2. 出版社 Academic Press	5. 総ページ数 3868
3. 書名 Encyclopedia of Reproduction 2nd Edition, Endocrine Control of Reproduction, crustaceans and molluscs, in Vol.6 Comparative Reproduction	

1. 著者名 Makoto Osada, Toshie Matsumoto	4. 発行年 2017年
2. 出版社 Apple Academic Press	5. 総ページ数 492 (179-219)
3. 書名 Physiology of Molluscs, Vol. 2, Chapter 6 “Endocrine control of gametogenesis and spawning in bivalves”	

1. 著者名 Makoto Osada, Toshie Matsumoto	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Apple Academic Press	5. 総ページ数 446 (173-211)
3. 書名 Advances in Invertebrate (Neuro) Endocrinology, Volume 1: A Collection of Reviews in the Post-Genomic Era, Chapter 6 “Endocrine control of gametogenesis and spawning in bivalves”	

1. 著者名 Ryusaku Deguchi, Makoto Osada	4. 発行年 2020年
2. 出版社 Springer Nature	5. 総ページ数 379 (113-162)
3. 書名 Reproduction in Aquatic Animals, Chapter 7 "Gametogenesis, Spawning, and Fertilization in Bivalves and Other Protostomes."	

1. 著者名 Kazue Nagasawa, Oouchi Hitoshi, Itoh Naoki, Takahashi G. Keisuke, Makoto Osada	4. 発行年 2016年
2. 出版社 Tokai University Press	5. 総ページ数 300 (123-124)
3. 書名 Marine ecosystems after Great East Japan Earthquake in 2011 "Development of GnRH-induced artificial maturation technique for scallop"	

〔産業財産権〕

〔その他〕

<p>東北大学大学院農学研究科 水圏動物生理学分野 研究内容 http://www.agri.tohoku.ac.jp/zoshoku/information.html</p>

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	長澤 一衛 (Nagasawa Kazue) (50794236)	東北大学・農学研究科・助教 (11301)	

6. 研究組織（つづき）

	氏名 (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
連携研究者	佐竹 炎 (Satake Honoo) (20280688)	公益財団法人サントリー生命科学財団・生物有機化学研究所・主幹研究員 (74408)	
連携研究者	千葉 洋明 (Chiba Hiroaki) (50236816)	北里大学・海洋生命科学部・准教授 (32607)	