

科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 4 月 22 日現在

機関番号：80122

研究種目：基盤研究(C)

研究期間：2012～2014

課題番号：24580287

研究課題名(和文) 消化管ホルモン遺伝子の発現量を健康診断へ応用したサケ稚魚の抗病性向上技術の開発

研究課題名(英文) Development of techniques for improvement of disease resistance using transcript levels of gastrointestinal hormones as an indicator for health examination in chum salmon fry

研究代表者

水野 伸也 (Mizuno, Shinya)

地方独立行政法人北海道立総合研究機構・その他部局等・研究員

研究者番号：70442655

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 4,200,000円

研究成果の概要(和文)：サケ稚魚では、消化管ホルモンのうちコレシストキニン-L型の脳での遺伝子発現量が細菌性鰓病(鰓病)の早期診断指標になることがわかった。この指標を用いて、北海道内の10箇所のふ化場で飼育された稚魚の診断を行った結果、全てのふ化場で鰓病発症の前兆はなかった。亜麻仁油を添加した市販配合飼料を、1週間以上継続して給餌すると、鰓病の発症が抑制される可能性が示された。

研究成果の概要(英文)：This study showed that transcript level of brain cholecystokinin L-type was an indicator to predict appearance of bacterial gill disease in chum salmon fry. The cholecystokinin analysis revealed that there were no signs for crisis of bacterial gill disease in the fry of 10 hatcheries which were selected at random in Hokkaido. It was suggested that outbreak of bacterial gill disease was suppressed by daily supply of formula feed supplemented with linseed oil for a week and over.

研究分野：水産増殖学

キーワード：サケ コレシストキニン 細菌性鰓病 亜麻仁油 脳

1. 研究開始当初の背景

サケのふ化放流事業では、細菌性鰓病(鰓病)発症による稚魚の大量斃死が毎年発生する。課題解決のためには、発症の早期診断技術及び予防技術の開発が急務である。鰓病による斃死前には、稚魚に必ず摂食不振が起こる。申請者は、発症初期サインである鰓病菌 DNA 量増加の前に、摂食を司る消化管ホルモンの遺伝子発現量が変動すること、天然植物性油脂の一種である綿実油添加飼料で飼育された稚魚では鰓病による斃死が少ないことの2つの傍証を得ている。

2. 研究の目的

消化管ホルモン遺伝子の発現量を指標としたサケ稚魚の鰓病早期診断技術の開発及び植物性油脂添加飼料を用いた鰓病発症抑制飼育技術の開発を行う。

3. 研究の方法

- (1) コレシストキニン(CCK)及びグレリン(GL)のcDNA クローニング
- (2) CCK 及び GL 遺伝子測定系の開発
- (3) 鰓病の早期診断技術の開発
- (4) 民間ふ化場で飼育されている稚魚の鰓病診断実施
- (5) 植物性油脂添加飼料を用いた稚魚の鰓病発症抑制飼育技術の開発

4. 研究成果

(1) CCK の L 型、N 型、T 型の完全長 cDNA は、それぞれ 655、748、748bp であり、132、138、137 アミノ酸残基をコードしていた。GL の 1 型および 2 型の完全長 cDNA は、それぞれ 511、502bp であり、111、108 アミノ酸残基をコードしていた。

(2) 確立した遺伝子測定系を用いて CCK 及び GL の組織別発現量を調べた結果、全てのホルモンの脳、胃及び腸の発現量が多かった(図1)。

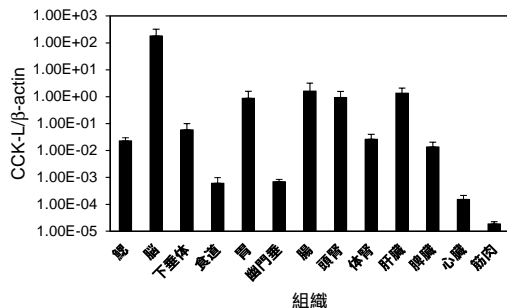


図1. コレシストキニン-L 型の組織別遺伝子発現量

(3) 消化管ホルモンのうち、脳 CCK-L 型の遺

伝子発現量が最も成長段階、水温変化及び絶食の影響を受けにくく、その値が 0.06 以上になると鰓病を発症することがわかった(図2)。この結果から、脳 CCK-L 型の遺伝子発現量が細菌性鰓病の早期診断指標になると結論した。

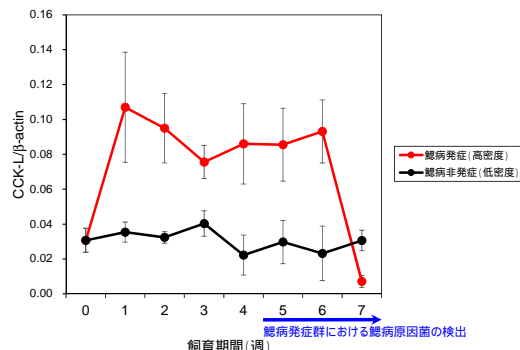


図2. 鰓病発症に伴う脳コレシストキニン-L 型遺伝子の発現量変化

(4) 道内 10 箇所の民間ふ化場で採集した稚魚(各ふ化場 10 検体ずつ)の鰓病診断を行った結果、何れのふ化場でも指標値は 0.06 未満で、鰓病発症の予兆はなく、調査した全ての稚魚が健康な状態と考えられた(図3)。

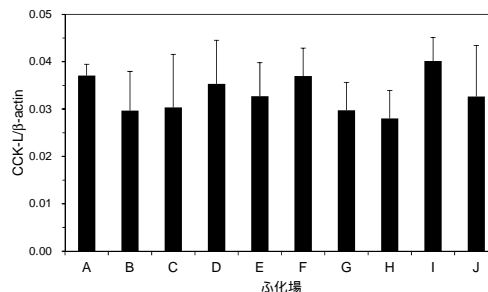


図3. 道内のふ化場で飼育されている稚魚の脳コレシストキニン-L 型遺伝子発現量解析による鰓病診断

(5) 亜麻仁油を 2~3% 添加した市販配合飼料を、少なくとも 1 週間以上継続して給餌すれば、鰓病発症が有意に抑制された(図4)。

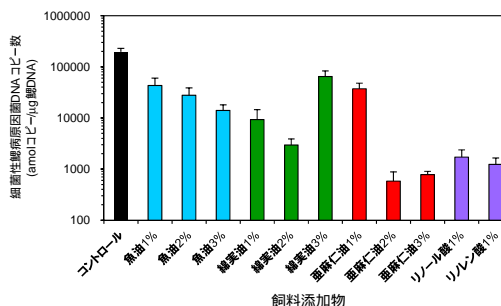


図4. 2 週間の植物性油脂添加飼料給餌による鰓病発症の抑制効果

5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

[雑誌論文](計3件)

Shinya Mizuno, Makoto Hatakeyama, Tetsuo Teranishi, Nobuhisa Koide
Effect of soaking artificially fertilized eggs in a green tea extract solution on the elimination of egg adhesiveness, hatching rate and larval quality in Japanese smelt *Hypomesus nipponensis*, 水産増殖、査読有、61巻、2013、pp.153-162

Shinya Mizuno

Studies on improvement of seed production techniques in salmonids and osmerids, Aqua-Bioscience Monographs、査読有、5巻、2012、pp.103-143

Shinya Mizuno, Hirokazu Urabe, Tomoya Aoyama, Hajime Omori, Anai Iijima, Kiyoshi Kasugai, Mitsuru Torao, Naoyuki Misaka, Nobuhisa Koide, Hiroshi Ueda
Changes in activity and transcript level of liver and gill metabolic enzymes during smoltification in masu salmon *Oncorhynchus masou*, Aquaculture、査読有、362-363巻、2012、pp.109-120

[学会発表](計6件)

水野伸也・畑山誠・鈴木邦夫・上田宏
細菌性鰓病の発症に伴うシロザケ稚魚の消化管ホルモン遺伝子の発現変化、平成27年度日本水産学会春季大会、2015年3月、東京海洋大学(東京都)

水野伸也・畑山誠・小出展久・上田宏
シロザケ稚魚のコレシストキニンおよびグレリン遺伝子の発現量に与える成長および飼育環境の影響、平成26年度日本水産学会春季大会、2014年3月、北海道大学(北海道・函館市)

水野伸也・畑山誠・宮本真人・實吉隼人・春日井潔・小山達也・竹内勝巳・小出展久・浦和茂彦
北海道の河川に生息する野生魚の原虫寄生状況、2013年10月、鹿児島大学(鹿児島県・鹿児島市)

Shinya Mizuno, Makoto Hatakeyama, Shuichi Mano, Tetsuo Teranishi, Noriko Sasaki, Yoshitaka Sasaki, Hirofumi Hayano, Nobuhisa Koide
Development and improvement of seed production techniques in osmerid fishes, 2nd World Congress of Mariculture and Fisheries、2013年9月、Hangzhou (China)

水野伸也・畑山誠・小出展久・上田宏
シロザケコレシストキニンおよびグレリンのCDNAクローニングと遺伝子発現量の解析、平成25年度日本水産学会春季大会、2013年3月、東京海洋大学(東京都)

Shinya Mizuno, Makoto Hatakeyama, Nobuhisa Koide, Shigehiko Urawa
Effects of diets supplemented with herb essential oils on infection of parasitic trichodinid ciliates and physiology in chum salmon *Oncorhynchus keta* fry、第10回日韓・韓日水産増殖シンポジウム、2012年12月、長崎大学(長崎県・長崎市)

[図書](計1件)

Shinya Mizuno
Seed quality in hatchery-reared chum salmon fry: Methods of evaluation and improvement, NOVA Science Publishers, Salmon Biology, Ecological Impacts and Economical Importance (Woo PTK & Noakes DJ eds.), 2014、pp.11-22

[産業財産権]

出願状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
国内外の別：

取得状況(計0件)

名称：
発明者：
権利者：
種類：
番号：
出願年月日：
取得年月日：
国内外の別：

[その他]
ホームページ等

6. 研究組織

(1) 研究代表者

水野伸也 (MIZUNO, Shinya)
北海道立総合研究機構さけます・内水面水産試験場
研究者番号：70442655

(2) 研究分担者

()

研究者番号：

(3)連携研究者

畑山 誠 (HATAKEYAMA, Makoto)

北海道立総合研究機構さけます・内水面水
産試験場

研究者番号：80442656