

## 科学研究費助成事業 研究成果報告書

平成 27 年 6 月 3 日現在

機関番号：12614

研究種目：挑戦的萌芽研究

研究期間：2013～2014

課題番号：25660165

研究課題名(和文) 魚類の栄養要求に及ぼす環境水塩分の影響の解明

研究課題名(英文) The studies on the influence of ambient salinity on the nutritional requirement in fishes

研究代表者

佐藤 秀一 (Sato, Shuichi)

東京海洋大学・海洋科学技術研究科・教授

研究者番号：80154053

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)：淡水魚と海水魚は、栄養要求は大きく異なっている。特に脂肪酸要求やアミノ酸関連物質であるタウリンの要求が異なっている。そこで、タウリン合成に関与するシステイン硫酸脱炭酸酵素の遺伝子の構造解析等をマダイ、ブリ、スズキ、マツカワについて行った。さらに、各器官・組織での発現を調べた結果、肝臓、幽門垂で強い発現がみられた。またひらめにおけるDHAおよびタウリン含量の異なる餌料および環境水中の塩分量がDHAおよびタウリンの合成酵素遺伝子の発現に及ぼす影響を調べた。餌料中のDHAおよびタウリン含量ならびに塩分の変化によって、DHAおよびタウリン合成酵素様遺伝子の発現量が変動することが明らかとなった。

研究成果の概要(英文)：The nutritional requirements in freshwater fish and marine fish were quite different. Especially, the requirement of essential fatty acid and taurine which is amino acid related compounds is different. Thus the structural analyses for gene of cystein sulfinic acid decarboxylase which relates taurine synthesis was conducted in red sea bream, yellowtail, sea bass, and barfin flounder. And the expression in each organ and tissues were also determined. The expression in liver and pyloric caecum was strong. The influence of the dietary docosahexaenoic acid (DHA) and taurine and the salinity of ambient salinity on the expression of the gene of synthetic enzyme of DHA and taurine was determined with Japanese flounder. It was demonstrated that the expression of the gene for the synthesis of DHA and taurine was influenced by the content of DHA and taurine in live food and the change of salinity.

研究分野：魚類栄養学

キーワード：塩分 栄養代謝 脂肪酸 アミノ酸

### 1. 研究開始当初の背景

魚類の鰓や腎臓は、脂肪酸の標的器官であり、脂肪酸が細胞膜の浸透圧調節に関与することが示唆されている(文献1)。また、アミノ酸の融合体であるタウリンは、環境水中の塩分の増加に対応して、細胞内で増加し、浸透圧調節物質として機能する。一方、栄養学的な研究から、海水魚はドコサヘキサエン酸(DHA)やエイコサペンタエン酸(EPA)などの脂肪酸およびタウリンを合成できないが、淡水魚はこれらを合成できることが知られている。また、雑食魚や草食魚では、リノール酸等のn-6系列の脂肪酸を要求する。一般に、広塩性を獲得した魚種がその環境に生息するDHA やタウリンの豊富な餌生物を捕食するようになった結果、異なる栄養要求を持つようになり、さらに栄養代謝能力に長じた系群が地理的変異などにより、異なる塩分環境に適応・進化したとも考えられる。最近、申請者らはマダイを淡水に近い海水で飼育すると、肝臓中のDHA 合成酵素の転写活性が高まり、DHA 含量も増加することを見出した。魚類でもタウリン合成酵素の発現が高塩分環境下で増加することも報告されている。下線の仮説を検証するには、まず魚類の塩分耐性と栄養代謝の関連性を詳細に明らかにすることが必要である。そこで、本研究では広塩性魚類の塩分耐性と栄養代謝の関連性を分子レベルで明らかにする。

### 2. 研究の目的

淡水魚と海水魚は、塩分耐性などの体液生理が異なるだけでなく、栄養要求も大きく異なっている。一般に進化の過程で淡水から海水へと分布域を拡大させ、異なる餌生物を利用するようになった結果、栄養要求が異なると考えられるが、異なる

る餌生物に対応し、栄養要求を変化させて行った可能性もある。環境水中の塩分と栄養素の合成機構の相互作用を可能にする分子基盤を解明出来れば、魚類の生息域の拡大と栄養要求の違いが、いつ、どのようにして生じたのかを解明できる可能性がある。そこで、本研究では環境水中の塩分とアミノ酸および脂肪酸の栄養代謝能の関連性を解明するとともに、進化の謎に迫る。すなわち、広塩性魚類の塩分耐性と栄養代謝の関連性を分子レベルで明らかにするとともに、環境中の塩分変動に対応して広塩性魚類はタウリンやDHA合成を亢進させて塩分耐性を高めているか否かを明らかにする。

### 3. 研究の方法

ニジマスおよびティラピアなどの広塩性魚類からCSD を単離した。単離したニジマスおよびスズキのCSD、elov1、fads は、既報のものと遺伝子構造の比較を行って機能の保存性などを推定した。その後、マダイ、ブリ、スズキ、マツカワの各組織における発現パターンを把握するため、成魚の各臓器(脳、筋肉、心臓、肝臓、胃、腸、生殖腺など)における発現をPCRにより調べる。

DHA およびタウリン含量の異なる餌料がDHA およびタウリンの合成酵素遺伝子の発現に及ぼす影響ならびに、異なる塩分中で飼育したヒラメのDHA およびタウリンの合成酵素遺伝子の発現変動を調べた。ヒラメにDHA とタウリンを強化した餌料と無強化の餌料を与えて日齢10-16日の17日間飼育した。また、100%海水、75%海水、および50%海水中で日齢55~84の30日間飼育した。

### 4. 研究成果

マダイおよびブリ CSD の部分塩基配列776bp および725b@のCSDの部分配列を単離

し、RACE 法により、1882bp および 1821bp マダイおよびブリの CSD を単離した。マダイおよびブリの CSD 様遺伝子は既知の魚類 CSD 遺伝子と同じグレードに分類され、互いに 88.8%以上の相同性をしめした。また、ドメイン解析により、ピリドキサルリン酸応答モチーフがみられた。各魚種の体組織における発現をみたところ、すべての魚種で肝臓および幽門水に強い発現がみられ、スズキ以外では心臓にも強い発現がみられた。

DHA およびタウリン含量の異なる餌料が DHA およびタウリンの合成酵素遺伝子の発現に及ぼす影響ならびに、異なる塩分中で飼育したヒラメの DHA およびタウリンの合成酵素遺伝子の発現変動を調べた。無強化区では脂肪酸不飽和化酵素様遺伝子およびシステイン二酸化酵素 (CDO) 様遺伝子の発現が有意に増加した。試験 10 日目の全魚体中の脂肪酸不飽和化酵素様遺伝子の発現は、75%海水区で発現量が多い傾向がみられた。また、試験 30 日目では 100%海水区では 50%海水区の約 1.7 倍の発現量を示した。全魚体中における脂肪酸鎖長延長酵素様遺伝子の発現量は、飼育水の塩分の低下と共に減少する傾向がみられた。試験 10 日目の全魚体中におけるシステインスルフィン酸脱炭酸酵素様遺伝子の発現量は、75%海水区で最も多い傾向がみられ、50%海水区よりも有意に発現量が多かったが、100%海水区との間に差はみられなかった。全魚体中における CDO 様遺伝子の発現量は、飼育水の塩分の低下と共に減少する傾向がみられた。試験 10 日目では、50%海水区が 100%海水区よりも有意に発現量が少なく、約 1/3 倍の発現量を示した。しかし、試験 20 日目および 30 日目には、試験区間に有意な差はみられなかった。

本研究により餌料中の DHA およびタウリンならびに塩分の変化によって、DHA およびタウリン合成酵素様遺伝子の発現量が変動することが明らかとなった。また、その変動は、日齢や発現組織、合成酵素様遺伝子によって異なることが明らかとなった。

#### 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 1 件)

- Y.Haga, H.Kondo, A.Kumagai, N.Satoh, I.Hirono, and S.Satoh, Isolation, molecular characterization of cysteine sulfinic acid decarboxylase (CSD) of red sea bream *Pagrus major* and yellowtail *Seriola quinqueradiata* and expression analysis of CSD from sereal marine fish species, *Aquaculture*, 2015, doi: 10.1016/j.aquaculture. 2015. 04.004

[学会発表](計 4 件)

T.Itoh, Y.Haga, R.Masuda, Y.Indei, H.Ohtoshi, N.Kabeya, M.Chiba, G.Yoshizaki, S.Satoh, Gene expression of DHA and taurine synthesizing enzymes in Japanese founder *Paralichthys olivaceus* juveniles fed on rotifers and *Artemia nuplii* enriched with DHA and taurine, 16th International Symposium on Fish Nutrition and Feeding, Cairns, Australia, 2014 年 5 月

芳賀 穰, 近藤秀裕, 熊谷彩花, 佐藤敦一, 佐藤秀一, マダイおよびブリのシステイン硫酸脱炭酸酵素のクローニング 構造解析ならびにスズキおよびマツワの体組織における発現, 平成 25 年度日本水産学会秋季大会, 2013 年 9 月, 津 伊藤智子, 芳賀 穰, 益田玲爾, 印出井遥平, 大歳 光, 壁谷尚樹, 千葉瑞

萌，吉崎悟朗，佐藤秀一，DHA・タウリン強化餌料がヒラメ仔稚魚のDHA およびタウリン合成酵素の発現に及ぼす影響，平成 25 年度日本水産学会秋季大会，2013 年 9 月，津

〔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

佐藤秀一 (SATO SHUICHI)

東京海洋大学大学院・海洋科学技術研究科・教授

研究者番号：80154053

### (2) 研究分担者

芳賀 穰 (HAGA YUTAKA)

東京海洋大学大学院・海洋科学技術研究科・准教授

研究者番号：00432063

近藤秀裕 (KONDO HIDEHIRO)

東京海洋大学大学院・海洋科学技術研究科・准教授

研究者番号：20314635