

## 胎生メバル類の雄成熟度マーカーの開発に初めて成功

～メバル類増養殖における種苗生産の効率化への貢献に期待～

### ポイント

- ・胎生メバル類の血液からリポカリンと類似した新規タンパク質(リポカリン様タンパク質)を発見。
- ・リポカリン様タンパク質の血液中の濃度は、メバル類の雄の精巣成熟度と高い相関。
- ・メバル類増養殖の種苗生産のプロセスにおける、成熟雄選抜の効率化に期待。

### 概要

北海道大学大学院水産科学院博士後期課程3年の山口 燿氏(日本学術振興会特別研究員 DC2)、同大学大学院水産科学研究所の平松尚志准教授、東藤 孝教授及び北海道立総合研究機構栽培水産試験場の川崎琢真主査らの研究グループは、胎生メバル属魚類(以下、メバル類)の雄成熟度と関連する血液マーカーを初めて発見しました。

メバル類は、北海道をはじめ各地で漁獲される重要な水産資源で、これまで資源の増大を目的とした種苗放流や養殖の試みが行われています。放流や養殖に必要な種苗生産の際には、通常、人工授精を行います。人工授精には、成熟した雄を用いるため、繁殖期の魚体に現れる婚姻色や、精子を絞り出すことで個体を選別します。しかし、メバル類は婚姻色が現れず、精子も少なく絞り出せないことなどから、見た目だけではなく、確実に成熟した雄を見分けられる技術の開発が望まれていました。

本研究では、メバル類の雄の成熟度と関連した血液マーカーの候補として、リポカリンと呼ばれるタンパク質と類似した新規タンパク質(リポカリン様タンパク質)を見出しました。このタンパク質の血液中の濃度を測定するため、新たに開発した酵素免疫測定法を用い、2種のメバル類の血液中リポカリン様タンパク質濃度を測定したところ、雄の生殖腺のサイズと強い相関性を示しました。また、精巣の成熟が進み、精子を持つ雄個体は、血液中リポカリン様タンパク質の濃度が高く、同タンパク質の濃度を基準として人工授精に適した雄を選別できることを示しました。

本研究の成果は、メバル類の雄成熟度と関連する新たなタンパク質性の血液マーカーを初めて見出したものであり、種苗生産及び養殖の効率化に対する貢献が期待されます。

なお、本研究成果は、2024年1月9日(火)公開のAquaculture誌にオンライン掲載されました。



メバル類の人工授精の様子。  
雌親の卵巣に精子を注入し、受精を促す。

## 【背景】

メバル類は、日本をはじめ近隣の韓国や中国などでも重要な水産資源として利用されています。クロソイ (*Sebastes schlegelii*) やエゾメバル (*S. taczanowskii*) など (図 1) を含む北方性メバル魚類は、北日本沿岸域を中心に生息するメバル類であり、交尾、妊娠を経て、産仔を行う「胎生」と呼ばれる様式で生殖を行います。近年、メバル類の増養殖事業の効率化を目標として、人工授精技術をベースとした技術開発が進められています。この人工授精技術では、まず、魚の見た目によって成熟したと思われる雄個体を選別し、開腹して精巣を摘出します。そして、得られた精巣から希釈精液を作り、雌の卵巣に注入して、妊娠から仔魚の出産まで雌を飼育します。精巣を取り出す際、もし誤って雌や未成熟な雄を選んでも、開腹後に気づくことになり、貴重な雌親や将来の雄親を喪失してしまいます。従って、親魚の有効利用のためには、正確に雄の成熟度を推定することが重要です。例えばサーモンの人工授精では、成熟期には婚姻色などの外見に加え、精子を絞り出して確認できるため、比較的簡単に成熟雄を選ぶことができます。しかし、メバル類はサーモンのような特徴は無く、胎生魚のため精子が少なく絞り出すこともできないことから、成熟した雄を正確に選定するのは困難でした。

一方、本研究グループでは、メバル類の繁殖生理に関する基礎研究を行っていた際に、面白い現象を見つけました。メバル類の雄は、雌と交尾する季節 (北海道では初冬) に、膀胱の中に多量のタンパク質を含む尿を蓄積することを見出したのです。そしてその雄尿から、リポカリンとよばれるグループのタンパク質を世界で初めて発見しました。更に研究を進めると、興味深いことに、このリポカリンと類似したタンパク質 (リポカリン様タンパク質) が、メバル類の血液にも存在することが分かってきました。研究グループは、「このリポカリン様タンパク質を血液マーカーとして用いることで、雄の成熟度を推定できるのではないか」という着想のもと、リポカリン様タンパク質と雄成熟度の関連を調べることを目的としてこの研究を進めました。

## 【研究手法】

本研究では、まず、メバル類の血液中リポカリン様タンパク質濃度を測定するために、酵素免疫測定法 (Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; ELISA) \*1を開発しました (図 2)。この ELISA を用いて、種苗生産研究のために飼育していたクロソイ及びエゾメバル、そして野外から釣獲したエゾメバルについて、血液中リポカリン様タンパク質濃度を測定しました。また、使用した個体については生殖腺の重量、精巣の成熟ステージ、性別を記録しました。

## 【研究成果】

交尾期のクロソイ雄のリポカリン様タンパク質濃度は、交尾期の雌及び非交尾期の雌雄と比べて高い値を示しました。また、リポカリン様タンパク質濃度と生殖腺サイズの相関を検証した結果、雄では高い正の相関が認められました。

次に、2021 年の交尾期に野外で採取したエゾメバル雌雄についてリポカリン様タンパク質濃度を測定しました。その結果、クロソイと同様に、雄の濃度は、雌と比べて高い値を示しました。また、飼育していたエゾメバルについて、年間定期的に血液を採取し、リポカリン様タンパク質濃度の変動を調べたところ、雄では生殖腺サイズの変動とほぼ一致していました。一方で、雌ではそのような動態は観察されませんでした。

さらに、飼育下のエゾメバル雄について、精巣の成熟度とリポカリン様タンパク質濃度の関連を調べたところ、精巣の成熟が進んだ交尾期の雄 (精子を含む精巣) の血液中リポカリン様タンパク質の

濃度は、雌や成熟が進んでいない雄と比べて、高いことが分かりました（図3）。以上の検証から、リポカリン様タンパク質と雄の成熟度には強い関連性があり、また同タンパク質の血中濃度を指標として、人工授精の際に精子を持った雄を高精度で選別できることが明らかになりました。

### 【今後への期待】

本研究の成果から、血液中リポカリン様タンパク質をマーカーとすることで、メバル類の雄の成熟度が推定できることが示されました。血液検査は魚へのダメージが比較的少ない検査法です。本研究はメバル類の雄の成熟度と関連した血液中タンパク質マーカーを初めて見出したものであり、その種苗生産現場における成熟雄選別の効率化に貢献することが期待されます。

また、リポカリンは他の動物において、フェロモンキャリアーあるいはタンパク質性フェロモンとして機能することも報告されています。従って、尿中のリポカリンが胎生メバル類の交尾行動を引き起こす、あるいは雌の成熟に影響を与えるフェロモン分子候補として作用する可能性もあり、本研究成果が、生物学的に極めて興味深い胎生魚の繁殖メカニズムの解明に繋がることも期待しています。

### 論文情報

論文名	Serum lipocalin-like protein in <i>Sebastes</i> rockfish: A novel biomarker for reproductive stage males ( <i>Sebastes</i> 属メバル類における血清中リポカリン様タンパク質：繁殖ステージにある雄を判別する新規バイオマーカー)
著者名	山口 燿 <sup>1</sup> 、川崎琢真 <sup>2</sup> 、原 彰彦 <sup>3</sup> 、東藤 孝 <sup>3</sup> 、平松尚志 <sup>3</sup> ( <sup>1</sup> 北海道大学大学院水産科学研究院、 <sup>2</sup> 北海道立総合研究機構栽培水産試験場、 <sup>3</sup> 北海道大学大学院水産科学研究院)
雑誌名	Aquaculture (水産養殖学の専門誌)
DOI	10.1016/j.aquaculture.2024.740560
公表日	2024年1月9日(火)(オンライン公開)

### お問い合わせ先

北海道大学大学院水産科学研究院 准教授 平松尚志 (ひらまつなおし)

T E L 0138-40-8878 F A X 0138-40-8878 メール naoshi@fish.hokudai.ac.jp

U R L hlaboratory.g2.xrea.com

### 配信元

北海道大学社会共創部広報課 (〒060-0808 札幌市北区北8条西5丁目)

T E L 011-706-2610 F A X 011-706-2092 メール jp-press@general.hokudai.ac.jp

### 【参考図】



図1. エゾメバル (左)、クロソイ (右)

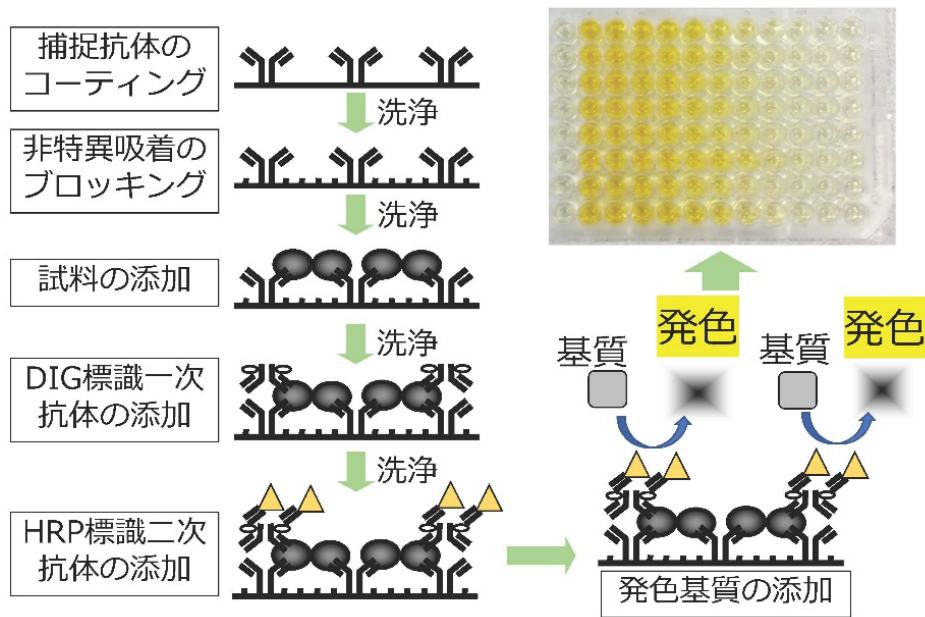


図 2. 本研究で新規開発した測定系（ELISA）の概要。試料中のリポカリン様タンパク質濃度が高いほど、ウェルの黄色が高くなる。

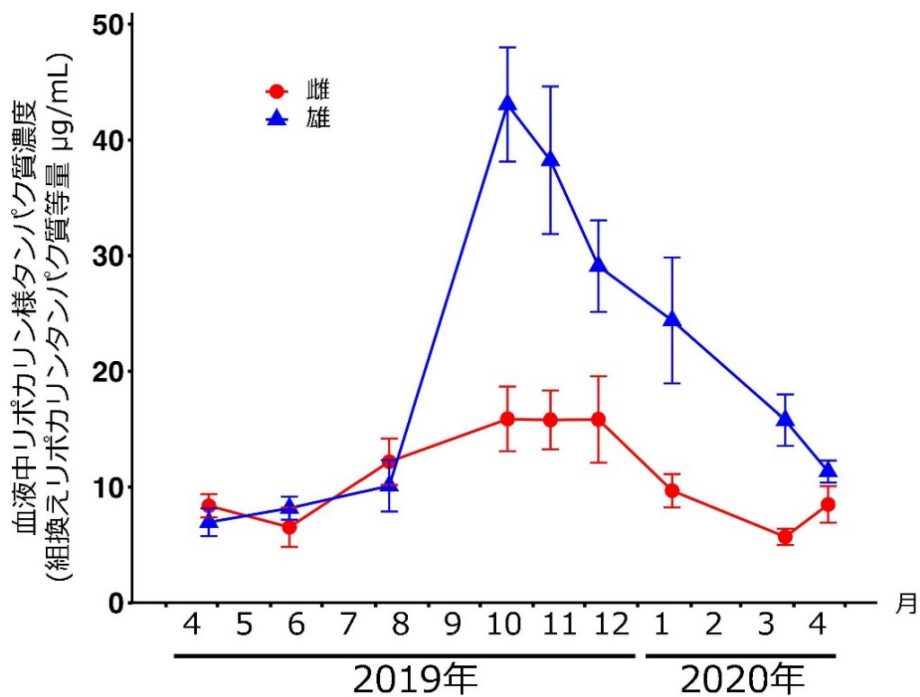


図 3. 飼育下エゾメバル雌雄のリポカリン様タンパク質濃度の周年動態。雄では交尾期付近の10～11月付近で高値を示した（本論文[Aquaculture, 583, 740560]の Fig.6 を改変）。

### 【用語解説】

\*1 酵素免疫測定法（Enzyme-Linked Immunosorbent Assay; ELISA） … 抗原抗体反応を利用し、試料中の目的物質の量を測定する技術。