

Studies on the Effects of Different Molluscan Shells on the Induction of Larval Settlement of Pacific Oyster *Crassostrea gigas* and the Characterization of a Larval Settlement Inducing Compound from Conspecifics

(マガキ (*Crassostrea gigas*) 幼生の付着に対する各種貝殻の誘起効果および同種貝殻由来の付着誘起物質に関する研究)

長崎大学大学院水産・環境科学総合研究科

Hebert Ely Vasquez

マガキはカキ目、イタボガキ科に属し、沿岸域に生息する二枚貝である。本種は、日本、韓国が原産国であるが、養殖を目的に多くの国に導入され、現在は世界中で盛んに養殖されている。日本は世界有数のマガキ生産国であるが、養殖は主に天然種苗を用いて行われている。海外では、人工種苗生産による養殖が主流のため、付着誘起物質の探索および幼生の付着メカニズムの解明に関心がある。本種の幼生はバクテリア、同種個体によって付着が誘起されることがすでに報告されており、同種個体由来のケミカルシグナルが群居性の化学的根拠になっていると考えられている。また、海外の養殖施設では本種の群居性を利用した採苗方法として幼生の付着基質に同種貝殻が用いられている。しかし、同種個体由来の付着誘起物質は未だ不明である。

本研究では、本種の群居性に着目して同種個体由来の付着誘起物質を特定するために、まず、本種幼生に対して各種貝殻の付着誘起活性を比較するとともに本種貝殻に含まれる付着誘起物質を抽出した (第2章)。さらに、本種貝殻由来の幼生付着誘起物質について、化学的性質を検討するとともに部分精製を試みた (第3章)。

第2章では、11種類の貝殻よりシェルチップ (SC) を調製し、それぞれの本種幼生に対する付着誘起活性を調べた。その結果、幼生は同種およびイワガキの SC に対して高い付着率を示した。ホタテガイおよびタイラギの SC を除いてその他の SC 全てが幼生の付着を誘起したが、SC の種類によって付着誘起活性が異なり、SC の量も活性に関係していた。本種 SC は、活性が 200℃ の熱処理では安定していたが、300℃ では失活した。また、SC は抗生物質処理しても、活性が変わらなかった。本種 SC を種々の溶媒で抽出し、抽出液の活性を調べた結果、

水、エタノール (EtOH) およびジエチルエーテル (Et<sub>2</sub>O) の抽出液は活性が認められなかった。一方、HCl 抽出液 (HCl-ex) は SC に匹敵する高い活性を示し、透析・凍結乾燥した塩酸抽出液 (FD HCl-ex) も高い活性を示した。ガラス、ニトロセルローズ膜、石膏プレートおよびガラス繊維ろ紙 (GF/C) はいずれも幼生に対して付着誘起活性がなかったが、FD HCl-ex を塗布した結果、すべての基盤に対して幼生が付着し、GF/C では高い付着率がみられた。

第 3 章では、FD HCl-ex に対して温度、酵素 (ペプシン、トリプシン、N-グリコシダーゼ F)、薬剤 (トリフルオロメタンスルホン酸 (TFMS)、レクチン) の種々の処理を施し、FD HCl-ex の性質を調べた。温度処理実験では、FD HCl-ex は 100°C でも活性が変わらなかった。また、FD HCl-ex はペプシン、トリプシン、N-グリコシダーゼ F および TFMS の各処理によって活性が半減または消失し、活性本体は糖タンパク質であることが示唆された。さらに、FD HCl-ex をレンズ豆 (LCA)、コンカナバリン (ConA)、大豆 (SBA) および小麦胚芽 (WGA) の各種レクチンで処理した結果、WGA のみが濃度依存的に阻害した。しかし、その阻害効果は N-アセチルグルコサミンによって取り消された。FITC 標識 WGA を用いた蛍光法では、幼生の付着誘起に関与する糖タンパク質が SC および FD HCl-ex 中に含まれていることが観察できた。一方、FD HCl-ex を Superdex 200 10/300 GL でゲル濾過した結果、3つの画分を回収し、そのうちの 45~150kDa 画分が幼生の付着を誘起した。活性を示した画分を SDS-PAGE で分析したところ、55kDa の位置に量の豊富なバンドがみいだされた。

以上の第 2 章および第 3 章の結果より、本種幼生は種々貝殻に付着するが、同種および近縁種のイワガキの貝殻が最も高い付着誘起活性を示した。本種の貝殻に含まれる付着誘起物質は、分子量 55kDa の糖タンパク質であり、水に不溶で熱に安定な物質であった。また、本付着誘起物質は WGA と結合する糖鎖部位をもち、同糖鎖部位が付着に関与していることが分かった。本研究は、本種幼生の付着が同種貝殻に誘起される (群居性) 化学的根拠を初めて示した研究である。