

魚の養殖は、親魚を育成して成熟、産卵、孵化させ、得られた仔稚魚を生育して市場に出すこと、養成し親魚として次世代に備えることである。我々はこの一連のサイクルを、安定的に繰り返して行うことができるために必要な研究を行っている。

本講では性成熟や成長に極めて重要な働きをする、脳下垂体性ホルモンである生殖腺刺激ホルモン（GTH）と成長ホルモン（GH）について、クロマグロや主要養殖魚種に応用するために、マグロの脳下垂体から単離して基礎研究を行ってきたので、以下報告することにする。

1 マグロ生殖腺刺激ホルモン

GTHは α 鎖と β 鎖のサブユニットからなる糖タンパク質である。哺乳類から両生類にいたる動物において、分化した2種類のGTH、黄体形成ホルモンと濾胞刺激ホルモンが同定されている。魚類では、シロサケで2種類のGTHが単離、一次構造、産生細胞および生物活性を明らかにされている。

単離方法はシロサGTHに順じておこなった。マグロ脳下垂体を、エタノール抽出し、各種クロマトグラフィーにより、tGTH-I及びIIの2種類の分子が存在することを明らかにした。これら2種類のtGTHはいずれも糖を含むタンパク質で、これら両分子は α サブユニットと β サブユニットからなるヘテロの2量体構造を有し、その結合はtGTH-Iでは安定であり、tGTH-IIでは熱及び酸に不安定であった。

tGTH-I及びIIの両分子のサブユニットについて、アミノ酸配列分析を行った。その結果、両tGTHの α サブユニットは同一のアミノ酸配列を示した。これに対し、 β サブユニットは異なるアミノ酸配列を示した（図1）。

生物活性はtGTH-I及びIIのクロマグロの卵巣及び精巣の培養組織に対する、ステロイドホルモン産生の促進作用をみた。その結果、IおよびIIは共にステロイド産生能を有し、tGTH-IIにおいて若干高い傾向を示した（図2）。また、生殖腺の成熟度により、そのステロイド産生の差異がみられた。

2 マグロ成長ホルモン（tGH）

マグロ脳下垂体より常法に従いmRNA画分を得、岡山-BERGの方法によりcDNAを作成した。このcDNAの塩基配列を解析した。作成した組換えマグロ成長ホルモン（ π tGH）遺伝子をまず大腸菌で発現させた。大腸菌で発現さ

せたrtGHは封入体を形成するので再生し、活性型にした後、生物活性を検討した。

rtGHをニジマス稚魚の腹腔内に注射し体長および体重の増加率を脳下垂体より抽出したtGH投与群と比較し、評価した。rtGHおよびtGHをニジマス稚魚の腹腔内に1週間おきに4回投与した。その結果、rtGH投与群はtGH投与群と比較し、体重および体長で同様の成長率を示した。一方、生理食塩水を用いたコントロール群との比較では、体重および体長で有意な差を示した。また、飼料転換効率は、rtGH及びtGH投与の両群でコントロール群と有意な差を示した。しかし、肥満度は3群で差がなかった。

rtGHとクロマグロ肝臓の膜画分を用いた、tGHに特異的なラジオリセプターアッセイ法を確立し、クロマグロの肝臓のGH受容体に対するrtGHとtGHとの結合性を比較した。その結果、rtGHに対する特異的結合はtGHに対するものと等しく、クロマグロの肝臓のGH受容体はこれらGHを全く区別しないことがわかった。我々はrtGH遺伝子が大腸菌の他に酵母でも発現させている。発現させた酵母菌体抽出物と大腸菌の封入体画分のマグロ肝臓GH受容体との反応性を検討した。その結果、酵母菌体の抽出物はGH受容体と反応したが、大腸菌の封入体画分は反応しなかった。このことから、酵母で発現させたrtGH再生処理なしでクロマグロの肝臓のGH受容体に反応することが明らかになった(図3)。

そこで、rtGH発現酵母菌体中をマダイに経口投与し、この系を用いて測定した結果、血中GH濃度は18時間後に最高値に達した。しかし、精製したrtGHを同様に投与したところ、血中GH濃度には顕著な変化が認められなかった。以上の結果はrtGH発現酵母菌体の魚への投与が精製したGHの投与よりも有効であることを示唆していた(図4)。

3 おわりに

tGHおよびrtGHを養殖魚、全般に応用できればと考えている。

特にrtGHは組換え技術の進歩により大量に生産することができることから、実際の養殖技術に応用することは可能であると考えられる。しかし、安全性の確認を初め、投与方法、時期、量、回数など種々の角度からの検討が必要である。

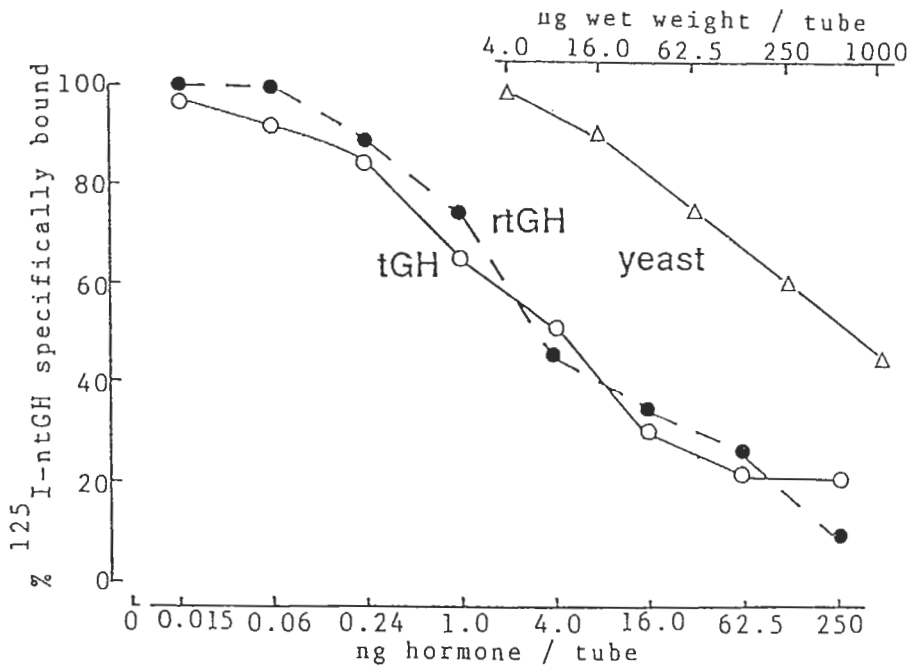


図3 クロマグロ肝臓成長ホルモン受容体に対する組換えマグロ成長ホルモン、脳下垂体から抽出したマグロ成長ホルモン、マグロ成長ホルモン遺伝子を発現させた酵母菌体抽出液

○ tGH : 脳下垂体から抽出したマグロ成長ホルモン

● rtGH : 組換えマグロ成長ホルモン

△ yeast : マグロ成長ホルモン遺伝子を発現させた酵母菌体抽出液

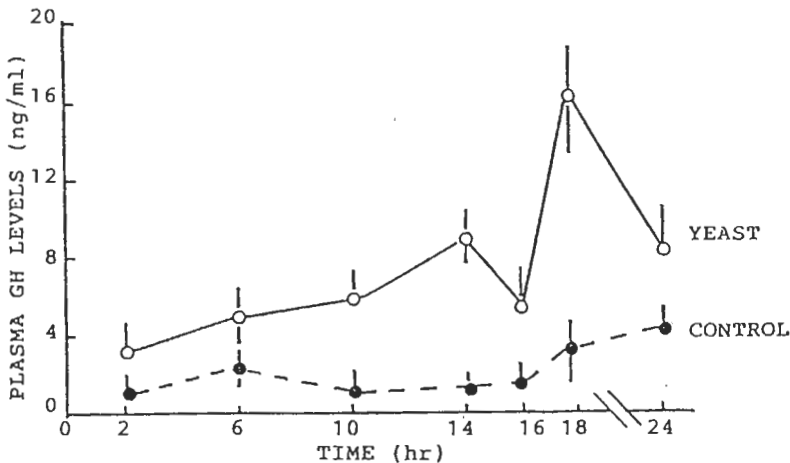


図4 マグロ成長ホルモン遺伝子を発現させた酵母菌体をマダイに経口投与後の血液中のマグロ成長ホルモンの動向

○ yeast : マグロ成長ホルモン遺伝子を発現させた酵母菌体を投与

● control : 組換えマグロ成長ホルモンを投与