

伏谷着生機構プロジェクトの研究成果

目次

1. 幼生の着生行動解析法の開発・	2
2. ムラサキイガイ幼生の着生要因・	4
3. クダウミヒドラ幼生の着生行動・	6
4. 微生物フィルム形成・	8
5. タテジマフジツボ着生阻害物質・	9
6. タテジマフジツボ着生誘起物質・	1 2
7. フジツボ幼生の着生機序・	1 4
8. マボヤ幼生の着生誘起因子・	1 6
9. コケムシ幼生の着生機序・	1 9

1. 幼生の着生行動解析法の開発

各幼生について詳細な着生行動を観察し、的確な着生行動解析法・生物試験法を確立

研究成果の概要

ムラサキイガイ、クダウミヒドラ、タテジマフジツボ、チカフジツボ、コケムシ類について、別項で述べる詳細な飼育法・着生行動観察に基づき、それぞれの生物に最適な新しい幼生行動解析法の開発を試みた。(ムラサキイガイ、タテジマフジツボの着生行動解析法については、それぞれの項に別掲した。)

クダウミヒドラ等の自家蛍光による妨害が少ない幼生に対しては、蛍光標識による個体適用型の生体内金属イオン濃度の画像解析法(図1)を開発した。

アカフジツボ幼生のセメント分泌やフサコケムシ幼生の単離細胞の繊毛の運動については、電気生理学的手法とともに顕微鏡下での高速ビデオ解析法を開発した。

微生物フィルムの解析には、共焦点レーザー顕微鏡、走査型電子顕微鏡とともに原子間力顕微鏡(AFM)も有効であることが明らかになった。これらの各幼生に対する的確な着生行動解析法に基づいて、別項で述べる各幼生についての着生に関する的確な生物試験法が確立できた。

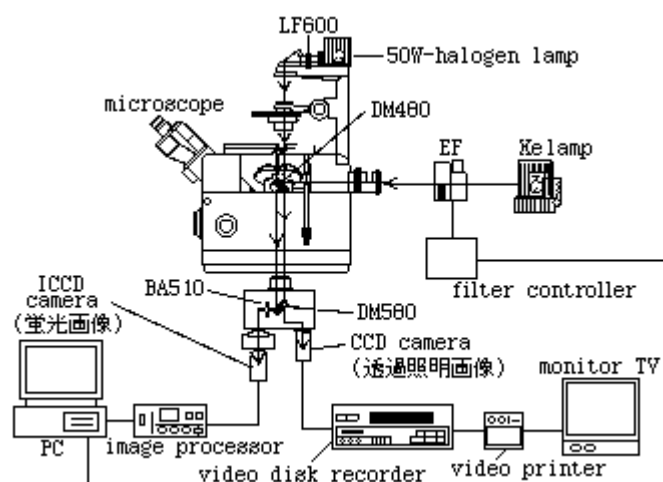


図1 画像解析装置の概要

成果の展開可能なシーズ、用途等

- 1) 幼生の着生機構研究手法の確立
- 2) 幼生個体における細胞内カルシウム濃度測定法その他生物への応用

特許出願

なし

報告書他

- 1) C.G.Satuito, K.Natoyama, M.Yamazaki, and N.Fusetani: Larval Development of the Mussel *Mytilus edulis galloprovincialis* Cultured under Laboratory Conditions, *Fisheries Sci.*, Vol.60, No.1, p.65-68(1994)
- 2) K.Okano, K.Shimizu, C.G.Satuito, and N.Fusetani: Visualization of Cement Exocytosis in the Cypris Cement Gland of the Barnacle *Megabalanus rosa*, *J.Exp.Biol.*, Vol.199, p.2131-2137(1996)
- 3) C.G.Satuito, K.Shimizu, K.Natoyama, M.Yamazaki, and N.Fusetani: Age-related Settlement Success by Cyprids of the Barnacle *Balanus amphitrite*, with Special Reference to Consumption of Cyprid Storage Protein, *Mar.Biol.*, Vol.127, p.125-130(1996)

〔研究者名〕 イワン・ハンター、岡野 桂樹、沖野 龍文、川井 悟、北島 富美雄、サト
イト・C. グレン、清水 克彦、田口 正敏、塚本 佐知子、鶴見 浩一郎、廣
田 洋、松村 清隆、山下 桂司、山本 久

2. ムラサキイガイ幼生の着生要因

ムラサキイガイ幼生の実験室内飼育法確立に国内で初めて成功し、幼生の種々の着生要因を検討

研究成果の概要

海岸の人工構造物等に付着する二枚貝であるムラサキイガイ (*Mytilus edulis galloprovincialis*) 幼生の実験室内飼育法を国内で初めて確立させた(図1 参照)。

それによって、幼生の行動・着生過程の詳細な追跡・観察が可能になった。すなわち、幼生の成長と付着に伴う形態変化の詳細を明らかにした(図2 参照)。

また、幼生の着生を制御する要因の検討も行った。着生能力を獲得した幼生の着生にはバクテリアフィルムが必要であることを見いだした。さらにこの着生誘起活性を示すバクテリアも数種分離した。活性の本体はバクテリアが分泌する化学物質なのか、あるいはバクテリアの表面構造なのかは今後の検討課題である。

次に、幼生の変態に及ぼす各種神経伝達物質の効果を検討した。その結果、アドレナリン作動性の神経系が幼生の着生に重要な役割を果たしていることが明らかとなった。

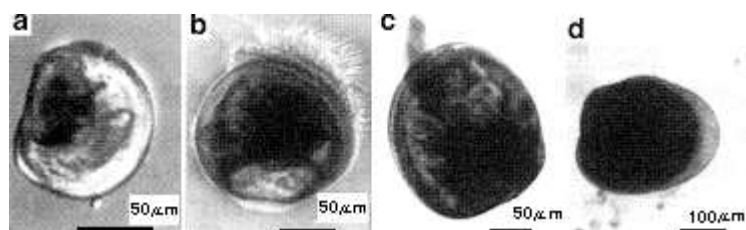


図1 ムラサキイガイの成長段階

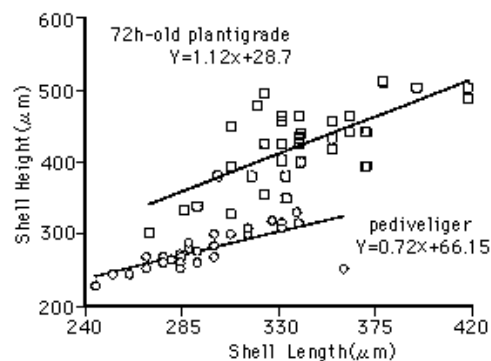


図2 変態前の幼生と変態後の稚貝における殻高と殻長の関係

成果展開可能なシーズ、用途等

- 1) ムラサキイガイ幼生を用いた着生誘起・阻害に関する生物試験法の確立
- 2) バクテリアフィルムからの着生阻害活性物質の単離
- 3) ムラサキイガイ幼生の着生機構の解明
- 4) ムラサキイガイの防汚対策の確立

特許出願

- 1) ムラサキイガイ付着忌避活性測定法

特 願：平5-60618(平成5年3月19日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：シャーレ側面有穴等を施し従来法と比してより自然の状態に近い条件下で、稚貝を用いる新規ムラサキイガイ付着忌避活性の測定法。

報告書他

- 1) C.G.Satuito, I.Katsuyama, F.Kitajima, and N.Fusetani: A New Mussel Test for Antifouling Substances, *Oebalia*, Vol.19, Suppl., p.479-484(1993)
- 2) C.G.Satuito, K.Natoyama, M.Yamazaki, and N.Fusetani: Larval Development of the Mussel *Mytilus edulis galloprovincialis* Cultured under Laboratory Conditions, *Fisheries Sci.*, Vol.60, No.1 p.65-68(1994)
- 3) C.G.Satuito, K.Natoyama, M.Yamazaki, and N.Fusetani: Induction of Attachment and Metamorphosis of Laboratory Cultured Mussel *Mytilus edulis galloprovincialis* Larvae by Microbial Film, *Fisheries Sci.*, Vol.61, No.2, p.223-227(1995)
- 4) F.Kitajima, C.G.Satuito, H.Hirota, I.Katsuyama, and N.Fusetani: A New Screening Method for Antifouling Substances against the Young Mussels *Mytilus edulis galloporovincialis*, *Fisheries Sci.*, Vol.61, No.4, p.578-583(1995)

〔研究者名〕 シリルグレン・サトイト、北島 富美雄

3. クダウミヒドラ幼生の着生行動

クダウミヒドラ幼生の着生行動・形態変化の詳細な観察とそれに基づく着生要因の検討

研究成果の概要

海産ヒドロ虫類(腔腸動物)に属するベニクダウミヒドラ(*Tubularia mesembryanthemum*)は、群居性で漁網等に大量付着する。アクチヌラ幼生と呼ばれる触手をもった幼生を産出するが、その着生行動・着生過程における細胞動態を詳細に観察した。その結果、アクチヌラ幼生は特異な着生様式をもつことが判明した(図1)。すなわち、付着行動は幼生の反口触手先端からの刺胞の発射が引き金になり、これは衝突などの機械刺激によって引き起こされることが明らかになった。

また、図2に示す通り、幼生の発生過程に伴い刺細胞の種類が大きく変化していくことを明らかにした。

さらに、刺胞の発射のメカニズムを新たに開発した個体適用型の Ca^{2+} イメージングシステムを使って詳細に検討した結果、 Ca^{2+} イオンの細胞内流入が必要なことがわかった。

また、付着珪藻 *Cocconeis sp.* などの刺激で付着行動を開始することが示されたが、活性本体は未だ不明である。この刺激が GLW-amide 型ペプチドのようなペプチド作動性神経系により伝えられ、セメントの分泌と変態へと導かれる可能性が示唆された。

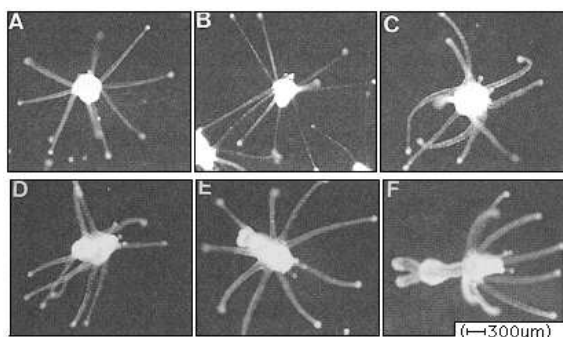


図1 アクチヌラ幼生の着生過程

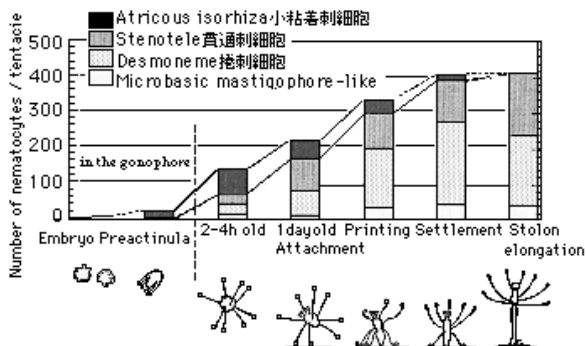


図2 幼生の発生過程における刺細胞動態

成果の展開可能なシーズ、用途等

- 1) クダウミヒドラ幼生の着生機構の解明
- 2) クダウミヒドラ幼生を用いた着生誘起・阻害物質の探索
- 3) クダウミヒドラの防汚対策の確立

特許出願

なし

報告書他

- 1) K.Yamashita, S.Kawaii, M.Nakai, and N.Fusetani: Behaviour and Settlement of Actinula Larvae of Tubularia mesembryanthemum Allman, 1871 (Hydrozoa: Tubulariidae), Proceedings of 6th International Conference on Coelenterate Biology, in press
- 2) 山下 桂司「第3回付着生物研究会研究集会講演録 クダウミヒドラ幼生の行動と着生要因の解析―付着メカニズム解明の手がかり―」Sessile Organisms(日本付着生物学会誌)、Vol.13, No.1, p.29-34(1996)

〔研究者名〕 山下 桂司、川井 悟

4. 微生物フィルムの形成

微生物フィルムの形成過程を詳細に観察し、フジツボ幼生の着生に及ぼす効果・影響を考察

研究成果の概要

微生物フィルムが、多くの海洋生物幼生の着生に重要な役割を演じていることは示唆されているが、詳細は不明である。

微生物フィルムの実体を把握するために、図1のようなガラス基盤を東京湾(磯子)に浸漬し、微生物フィルムの成長・組成を経時的に詳細に観察した。また、タテジマフジツボのキプリス幼生の着生に及ぼす影響を検討した。観察には、実体顕微鏡、共焦点レーザー顕微鏡、走査型電子顕微鏡、原子間力顕微鏡(AFM)を適宜使用した。

その結果、微生物フィルムは浸漬日数とともに指数関数的に成長すること、その組成は非常に複雑で解析が非常に困難なことがわかった。また、微生物フィルムの体積とキプリス幼生の着生率とに相関関係があることが明らかとなった。すなわち、図2に示す通り、フィルムがある体積(厚さ)になるまでは促進的に作用し、ある体積(厚さ)を越えると、阻害的に働く。

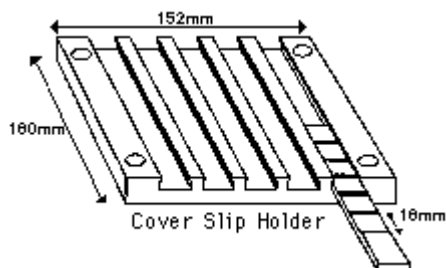


図1 微生物フィルム採取用カバーガラスホルダー

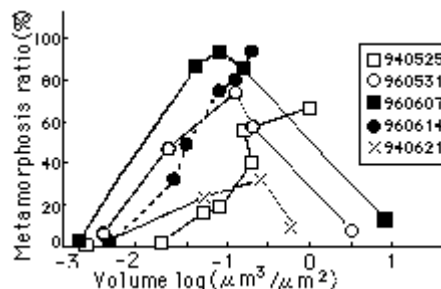


図2 微生物フィルムの体積とキプリス幼生の変態率

成果の展開可能なシーズ、用途等

- 1) 微生物フィルムの組成の解析
- 2) 微生物フィルムがタテジマフジツボ幼生の着生に与える要因の解明

特許出願

なし

報告書他

- 1) K.Tsurumi and N.Fusetani: Effect of Preliminary Microbial Films on Settlement and Metamorphosis of Cyprid Larvae of the Barnacle, *Balanus amphitrite* Darwin, Biofouling, submitted

〔研究者名〕 鶴見 浩一郎

5. タテジマフジツボ着生阻害物質

広範な海洋生物からタテジマフジツボ幼生の着生阻害物質を単離・構造決定

研究成果の概要

日本沿岸産の 300 種以上の広範な海洋生物試料について、タテジマフジツボのキブリス幼生の着生阻害を指標として活性物質のスクリーニングを行った(図 1 参照)。

その結果に基づき、数種の高綿・ウミウシ・八放サンゴから 60 種以上の活性化合物(新規化合物として約 30 種)を単離した。そのうちの一部の構造式を図 2 に示す。それらはイソニトリル類をはじめ化学構造的に多彩であり、また、硫酸銅よりも強い着生阻害活性で、かつ、極めて低毒性の化合物も含まれている。

図 3 に活性および毒性の濃度依存性のグラフで例示したように、これらのうち特にイソシアノ基やホルムアミド基を有するテルペノイドが、強い着生阻害活性をもつ一方で毒性が弱いので、防汚剤開発の良いモデル化合物となることが期待される。また、マボヤの着生誘起活性を同時に有する化合物も数種見いだした。

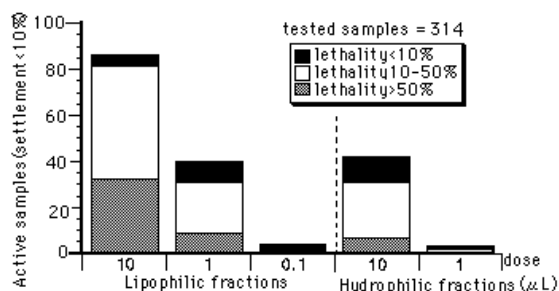


図 1 フジツボ・キブリス幼生に対する着生阻害活性のスクリーニング

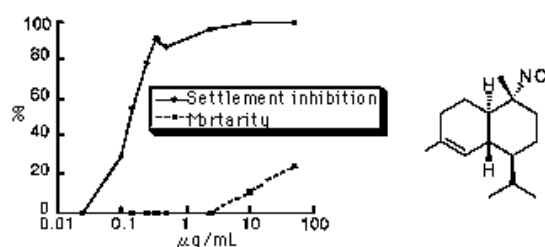


図 3 10-Isocyano-4-cadinene のキブリス幼生に対する着生阻害活性と毒性

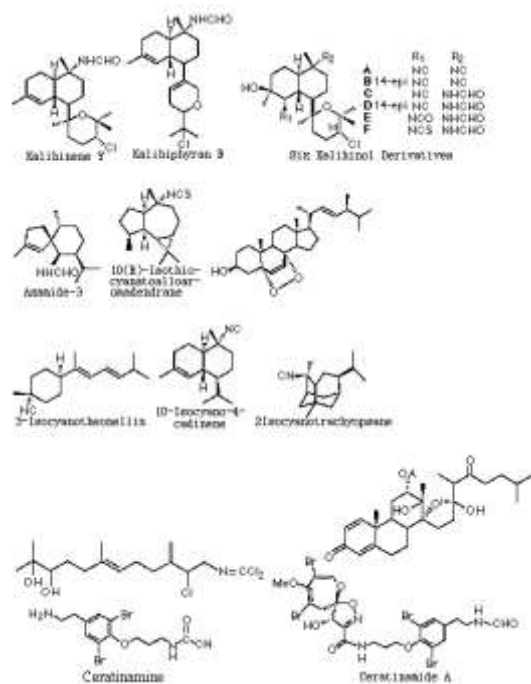


図 2 フジツボ幼生に対する着生阻害物質(例)

成果の展開可能なシーズ、用途等

- 1) より着生阻害活性の強い化合物の探索
- 2) 海洋付着生物に対する実用的な防汚剤の開発
- 3) 着生阻害機構解明のためのリード化合物の創製

特許出願

1) 新規カリヒネン類縁体並びにその製造法及び用途

特 願：平 7-28191(平成 7 年 2 月 16 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：屋久島産 *Acanthella* 属海綿からの、タテジマフジツボ幼生の着生阻害活性を有する新規ジテルペノイドであるカリヒネン類縁体の単離。

2) 新規カリヒノール誘導体並びにその製造法及び用途

特 願：平 7-43867(平成 7 年 3 月 3 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：八丈島産 *Acanthella* 属海綿からの、タテジマフジツボ幼生の着生阻害活性を有する新規カリヒノール誘導体を含むジテルペノイドの単離。

3) 新規カリヒネン類縁体並びにその製造法及び用途

特 願：平 7-225253(平成 7 年 9 月 1 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：屋久島産 *Acanthella* 属海綿からの、タテジマフジツボ幼生に対する着生阻害活性を有するカリヒピラン類をはじめとする新規ジテルペノイドの単離。

4) 新規セスキテルペノイド並びにその製造法及び用途

特 願：平 7-226354(平成 7 年 9 月 4 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：九州地方産ウミウシ類からの、タテジマフジツボ幼生に対する着生阻害活性を有するイソニトリル類等をはじめとする新規セスキテルペノイドの単離。

5) 新規セスキテルペン並びにその製造法及び用途

特 願：平 8-36948(平成 8 年 2 月 23 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：*Axinyssa* 属海綿からの、タテジマフジツボ幼生に対する着生阻害活性を示すジクロロメチレンアミノ基を有する新規セスキテルペノイドの単離。

6) 新規ステロイド類縁体並びにその製造法及び用途

特 願：平 8-36303(平成 8 年 2 月 23 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：八放サンゴからの、タテジマフジツボ幼生に対する着生阻害活性を有する新規 D-セコステロイド類の単離。

7) 新規セスキテルペン並びにその製造法及び用途

特 願：平 8-251560(平成 8 年 9 月 24 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：紀伊半島産コイボウミウシからの、タテジマフジツボ幼生に対する着生阻害活性を有する新規イソシアノセスキテルペンの単離。

報告書他

- 1) T.Okino, E.Yoshimura, H.Hirota, and N.Fusetani: Antifouling Kalihinenes from the Marine Sponge *Acanthella cavernosa*, *Tetrahedron Lett.*, Vol.36, No.47, p.8637-8640(1995)
- 2) H.Hirota, Y.Tomono, and N.Fusetani: Terpenoids with Antifouling Activity against Barnacle Larvae from the Marine Sponge *Acanthella cavernosa*, *Tetrahedron*, Vol.52, No.7, p.2359-2368(1996)
- 3) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Pseudoceratidine: A New Antifouling Spermidine Derivative from the Marine Sponge *Pseudoceratina purpurea*, *Tetrahedron Lett.*, Vol.37, No.9, p.1439-1440(1996)
- 4) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Ceratinamine: An Unprecedented Antifouling Cyanoformamide from the Marine Sponge *Pseudoceratina purpurea*, *J.Org.Chem.*, Vol.61, No.9, p.2936-2937(1996)
- 5) N.Fusetani, H.Hirota, T.Okino, Y.Tomono, and E.Yoshimura: Antifouling Activity of Isocyanoterpenoids and Related Compounds Isolated from a Marine Sponge and Nudibranchs, *J.Nat.Toxins*, Vol.5, No.2, p.249-259(1996)
- 6) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Ceratinamides A and B: New Antifouling Dibromotyrosine Derivatives from the Marine Sponge *Pseudoceratina purpurea*, *Tetrahedron*, Vol.52, No.24, p.8181-8186(1996)
- 7) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Mauritiamine, a New Antifouling Oroidin Dimer from the Marine Sponge *Agelas mauritiana*, *J.Nat.Prod.*, Vol.59, No.5, p.501-503(1996)
- 8) T.Okino, E.Yoshimura, H.Hirota, and N.Fusetani: New Antifouling Sesquiterpenes from Four Nudibranchs of the Family Phyllidiidae, *Tetrahedron*, Vol.52, No.28, p.9447-9454(1996)
- 9) T.Okino, E.Yoshimura, H.Hirota, and N.Fusetani: New Antifouling Kalihipyranes from the Marine Sponge *Acanthella cavernosa*
- 10) Y.Tomono, H.Hirota, and N.Fusetani: Antifouling Compounds against Barnacle (*Balanus amphitrite*) Larvae from the Marine Sponge *Acanthella cavernosa*, *Proceedings of the International Conference of Sponge Science*, in press

〔研究者名〕 廣田 洋、沖野 龍文、塚本 佐知子

6. タテジマフジツボ着生誘起物質

タテジマフジツボ成体から同種幼生に対する着生誘起タンパク質複合体を単離

研究成果の概要

フジツボの群居の成立のために、その成体が同種幼生の着生を誘因あるいは誘起する物質を分泌していると古くから報告されてきた。図 1 に示す新たに開発したニトロセルロース膜を用いる生物試験法を適用し、タテジマフジツボ成体から着生誘起タンパク質複合体 SIPC を世界で初めて単離・精製した(図 2 参照)。

この SIPC は、分子量 20 万以上の巨大タンパク質で、レンズ豆レクチン(LCA)結合性糖鎖を含む 76、88、および 98kDa のサブユニット、および、糖鎖を有しない 32kDa のサブユニットから構成される(図 2)。着生行動の誘起には、糖鎖が重要な役割をしていることがわかっているが、その構造については現在検討中である。

さらに、76kDa の糖タンパク質に対する抗体を作製して調べたところ、SIPC はノープリウス幼生期から発現し、キプリス幼生にも多く含まれること、甲殻類の蔓脚類には広く分布するものの他の生物種には存在しないことが判明した。

また、キプリス幼生が基板上に付ける足跡(footprint)にもこのタンパク質が含まれることも明らかとなり、成体と付着期の幼生間とともに幼生-幼生間のコミュニケーションにもこの SIPC が重要な役割を担っていると考えられる。

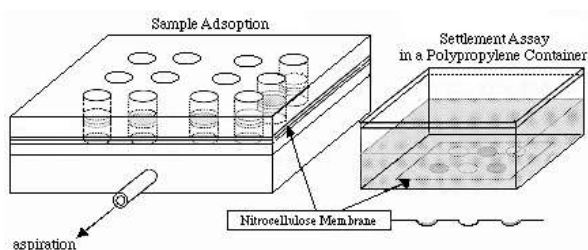


図 1 ニトロセルロース膜を用いた新しいフジツボキプリス幼生の付着アッセイ

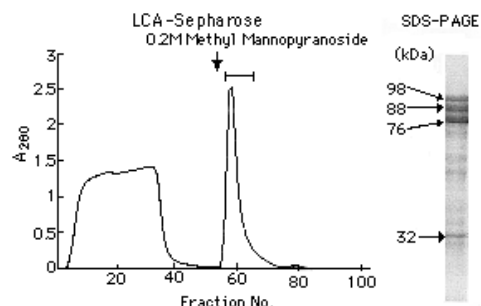


図 2 精製の最終段階である LCA-Sepharose によるアフィニティークロマトグラフィーの溶出パターンと最終標品の SAS-PAGE による分析

成果の展開可能なシーズ、用途等

- 1) SIPC の活性部位を含む化学構造の解明
- 2) キプリス幼生側の SIPC レセプターの特定
- 3) フジツボ幼生のギ生機構の解明

特許出願

- 1) 着生誘起タンパク質

特 願：平 6-220690(平成 6 年 9 月 14 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：タテジマフジツボ成体抽出物の画分からなるフジツボ幼生の着生誘起タンパク質複合体の単離と性質。

報告書他

投稿準備中

〔研究者名〕 松村 清隆

7. フジツボ幼生の着生機序

フジツボ幼生の着生時におけるセメント分泌機構および細胞内情報伝達系の検討

研究成果の概要

フジツボのキプリス幼生は着生時にセメント物質を分泌し、付着・変態する。

大型のアカフジツボのキプリス幼生を用いてセメント放出・固化の機構をセメント腺、セメント分泌細胞、セメント顆粒のレベルで検討した。その結果、セメント腺からのセメント分泌は、カテコールアミン作動性の神経支配であることがわかった。セメント腺には、 α および β 細胞(図1)が含まれるが、前者にセメント物質が含まれており、後者に含まれる物質の助けを借りて固化するものと思われる。

幼生の着生(付着・変態)過程でどのような情報伝達系が幼生内で機能しているのかを、タテジマフジツボのキプリス幼生を用いた着生実験で検討した。その結果、付着は、神経支配でセロトニンが促進的に、ドーパミンが抑制的に作用していることがわかった。一方、変態にはタンパク質リン酸化酵素 C(PKC)情報伝達系が働いている。PKC が何を活性化してどのような生化学反応が起こって、変態が導かれるのかは不明である。なお、PKC の活性化には内因性のメチルファルネソエートが関与し、また、脱皮ホルモンの 20-ヒドロキシエクダイソンが脱皮をコントロールしていると考えられる。

したがって、付着と変態は図2にまとめたように各々に独立した現象であるが、両者がどのようにリンクしているかは今後の研究課題である。

一方、これら一連の着生現象には、キプリス幼生がもっている卵黄タンパク質のビテリンに似た分子量 170kDa のタンパク質がエネルギー源として使われることも明らかとなった。

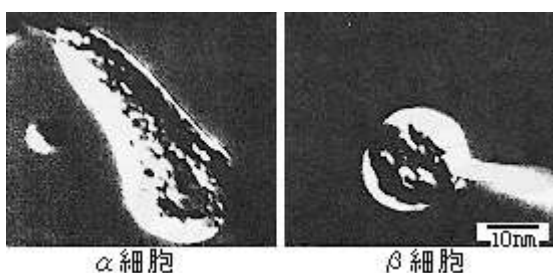


図1 セメント腺に含まれる2種類の分泌細胞

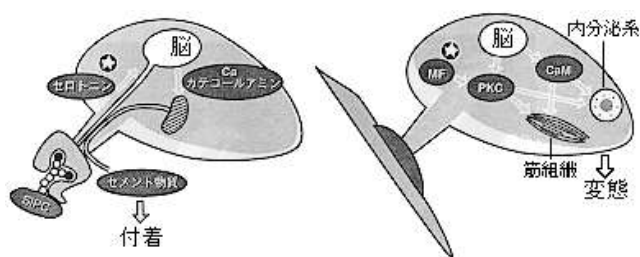


図2 キプリス幼生の付着・変態に係わる情報伝達系

成果の展開可能なシーズ、用途等

- 1) 海水中で働く新接着剤の開発
- 2) フジツボ幼生における付着と変態との関連の明確化
- 3) フジツボ幼生のエネルギータンパク質の構造と性質の解明

特許出願

1) フジツボの付着防止方法

特 願：平 6-207788(平成 6 年 8 月 31 日)

出 願 人：科学技術振興事業団、山本 久

請求の概要：カルモジュリン阻害剤をフジツボのキブリス幼生に作用させることを特徴とするフジツボの付着防止方法

2) アドレナリン作働性 α 受容体遮断物質を有効成分とする防汚剤

特 願：平 7-334941(平成 7 年 12 月 22 日)

出 願 人：科学技術振興事業団、山本 久

請求の概要：フェントラミン等のアドレナリン作働性 α 受容体遮断物質を幼生に作用させて付着を阻害することを特徴とするフジツボおよびイガイの着生阻害方法

報告書他

- 1) H.Yamamoto, A.Tachibana, K.Matsumura, and N.Fusetani: Protein Kinase C(PKC) Signal Transduction System Involved in Larval Metamorphosis of the Barnacle, *Balanus Amphitrite*, *Zool.Sci.*, Vol.12, No.4, p.391-396(1995)
- 2) H.Yamamoto, A.Tachibana, S.Kawaii, K.Matsumura, and N.Fusetani: Serotonin Involvement in Larval Settlement of the Barnacle, *Balanus amphitrite*, *J.Exp.Zool.*, Vol.275, p.339-345(1996)
- 3) K.Shimizu, W.Saikawa, and N.Fusetani: Identification and Partial Characterization of Vitellin from the Barnacle *Balanus Amphitrite*, *Comp.Biochem.Physiol.*, Vol.115B, No.1, p.111-119(1996)
- 4) K.Shimizu, C.G.Satuito, W.Saikawa, and N.Fusetani: Larval Storage Protein of the Barnacle *Balanus amphitrite*: Biological and Immunological Similarities to Vitellin, *J.Exp.Zool.*, Vol.276, p.87-94(1996)
- 5) K.Okano, K.Shimizu, C.G.Satuito, and N.Fusetani: Visualization of Cement Exocytosis in the Cypris Cement Gland of the Barnacle *Megabalanus rosa*, *J.Exp.Biol.*, Vol.199, p.2131-2137(1996)
- 6) C.G.Satuito, K.Shimizu, K.Natoyama, M.Yamazaki, and N.Fusetani: Age-related Settlement Success by Cyprids of the Barnacle *Balanus amphitrite*, with Special Reference to Consumption of Cyprid Storage Protein, *Mar.Biol.*, Vol.127, p.125-130(1996)

〔研究者名〕 岡野 桂樹、山本 久、清水 克彦、シリルグレン・サトイト

8. マボヤ幼生の着生誘起因子

マボヤ幼生に対する変態誘起物質の探索および変態時の生化学的挙動の検討

研究成果の概要

マボヤの幼生は外部の化学刺激により変態を開始する。その化学刺激すなわちマボヤに対する変態誘起物質の探索を行い、海綿やホヤなどの海洋生物から約 40 種の有機化合物を単離した。それらの一部の構造式を図 1 に示す。また、幼生を高密度で飼育すると変態率が上昇することに着目し、飼育水から真の変態誘起物質と考えられる lumichrome (図 2) を極微量得た。この化合物をプローブとした受容体の特定・解析から着生機構解明は今後の課題である。また、マボヤ幼生の付着・変態に及ぼす各種要因を検討したところ、他の幼生と異なり高 Ca^{2+} 濃度(30-50mM)では変態が阻害された。 K^{+} は 20 と 50mM では促進作用、30mM では抑制作用が見られた(図 3)。さらに、変態時にコラゲナーゼ様のメタロプロテアーゼが強く発現することも明らかとなり、この酸素が変態に深くかかわっていると考えられる。

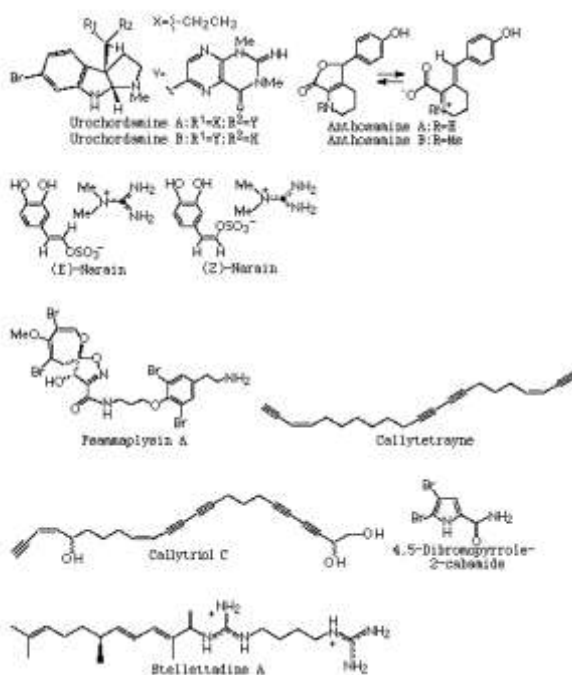


図 1 ホヤ幼生の変態誘起物質(例)

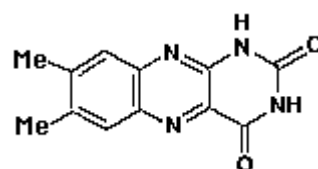


図 2 Lumichrome の構造

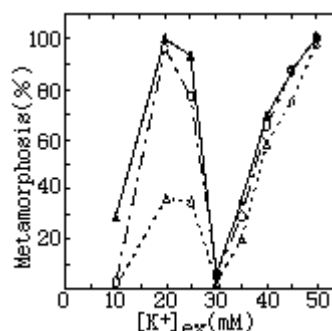


図 3 K^{+} によるマボヤ幼生の変態促進
△:8 時間後 ○:24 時間後 ▲:72 時間後

成果の展開可能なシーズ、用途等

- 1) マボヤ幼生内にある lumichrome 受容体の解析・情報伝達機構の解明
- 2) マボヤ幼生の変態時の詳細な生化学的検討
- 3) 変態誘起物質を利用した海洋生物の増養殖への応用

特許出願

1) 新規リゾホスファチジルイノシトール及びその製造法

特 願：平 5-46409(平成 5 年 3 月 8 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：マボヤの被囊より抽出・精製することを特徴とする抗カビ性を有する新規リゾホスファチジルイノシトールの単離。

2) 新規含臭素フィゾスチグミン型化合物及びその製造法

特 願：平 5-46839(平成 5 年 3 月 8 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：ホヤ類からの、抗菌性およびホヤ幼生の変態誘起活性を有する新規含臭素フィゾスチグミン型化合物であるウロコルダミン類の単離。

3) スチレン硫酸エステル誘導体

特 願：平 6-150214(平成 6 年 6 月 30 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：伊豆半島産 Jaspis 属海綿からの、マボヤ幼生の変態誘起活性を有するスチレン硫酸エステル誘導体であるナライン類の単離。

4) 新規アミノ酸誘導体及びその製造法

特 願：平 7-5517(平成 7 年 1 月 18 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：佐田岬産 Anthosigmella 属海綿からの、マボヤ幼生の変態誘起活性を有する新規アミノ酸誘導体である cyclo-(L-Arg-dehydrotyrosine)の単離。

5) 新規ピペコリン酸誘導体及びその製造法

特 願：平 7-5507(平成 7 年 1 月 18 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：佐田岬産 Anthosigmella 属海綿からの、マボヤ幼生の変態誘起活性を有する新規ピペコリン酸誘導体であるアントサミン類の単離。

6) 新規グアニジン誘導体及びその用途

特 願：平 8-234350(平成 8 年 9 月 4 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：熱海産 Stelletta 属海綿からの、マボヤ幼生の変態誘起活性を有する新規グアニジン誘導体である stellettadine A の単離。

7) 新規アセチレン誘導体及びその製造法

特 願：平 5-46839(平成 5 年 3 月 8 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：熱海産 Callyspongia 属海綿からの、マボヤ幼生の変態誘起活性を有する新規鎖状アセチレン誘導体類の単離。

報告書他

- 1) S.Tsukamoto, H.Hirota, H.Kato, and N.Fusetani: Urochordamines A and B: Larval Settlement/Metamorphosis-Promoting, Pteridine-Containing Physostigmine Alkaloids from the Tunicate *Ciona savignyi*, *Tetrahedron Lett.*, Vol.34, No.30, p.4819-4822(1993)
- 2) S.Tsukamoto, H.Hirota, H.Kato, and N.Fusetani: Isolation of Eicosapentaenoyl and Arachidonoyl Lysophosphatidylinositols from the Ascidian *Halocynthia roretzi* (V.Drasche), *Comp.Biochem.Physiol.*, Vol.106C, No.1, p.151-153(1993)
- 3) S.Tsukamoto, H.Hirota, H.Kato, and N.Fusetani: Phlorotannins and Sulfoquinovosyl Diacylglycerols: Promoters of Larval Metamorphosis in Ascidians, Isolated from the Brown Alga *Sargassum thunbergii*, *Fisheries Sci.*, Vol.60, No.3, p.319-321(1994)
- 4) S.Tsukamoto, H.Hirota, H.Kato, and N.Fusetani: Effect of Urochordamines on Larval Metamorphosis of Ascidians, *Experientia*, Vol.50, No.7, p.680-683(1994)
- 5) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Narains: N,N-Dimethylguanidium Styryl Sulfates, Metamorphosis Inducers of Ascidian Larvae from a Marine Sponge *Jaspis* sp, *Tetrahedron Lett.*, Vol.35, No.32, p.5873-5874(1994)
- 6) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Antibacterial and Antifungal Sulfated Alkane and Alkenes from the Hepatopancreas of the Ascidian *Halocynthia roretzi*, *J.Nat.Prod.*, Vol.57, No.11, p.1606-1609(1994)
- 7) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: 3,4-Dihydroxystyrene Dimers, Inducers of Larval Metamorphosis in Ascidians, from a Marine Sponge *Jaspissp*, *Tetrahedron*, Vol.50, No.48, p.13583-13592(1994)
- 8) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Pipecolate Derivatives, Anthosamines A and B, Inducers of Larval Metamorphosis in Ascidians, from a Marine Sponge *Anthosigmella aff.raromicrosclera*, *Tetrahedron*, Vol.51, No.24, p.6687-6694(1995)
- 9) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Stelletadine A: a New Acylated Bisguanidinium Alkaloid which Induces Larval Metamorphosis in Ascidians from a Marine Sponge *Stelletta* sp, *Tetrahedron Lett.*, Vol.37, No.31, P.5555-5556(1996)
- 10) S.Tsukamoto, H.Kato, H.Hirota, and N.Fusetani: Seven New Polyacetylene Derivatives, which Show Both Potent Metamorphosis-inducing Activity in Ascidian Larvae and Antifouling Activity against Barnacle Larvae, from the Marine Sponge “*Callyspongia truncata*”, *J.Nat.Prod.*, Vol.60, No.2, p.126-130(1997)

〔研究者名〕 塚本 佐知子、松村 清隆、廣田 洋

9. コケムシ幼生の着生機序

主にフサコケムシ幼生について、構成細胞の機能の検討・神経生物学的手法により着生機構を研究

研究成果の概要

付着・変態が孵化後数時間で完了するため、フサコケムシ幼生は着生機構の研究には格好の材料である。まず、幼生の体制を図1に示す通りに明らかにした。

次に、各種神経伝達物質の幼生の行動に及ぼす影響を調べたところ、セロトニンやカテコールアミンが著しく付着・変態を阻害することがわかった。さらに、アセチルコリン、カテコールアミンおよびセロトニン作動性の神経が幼生全体に広く分布していることが明らかとなり、これら神経伝達物質が神経系に直接作用して幼生の行動に影響を及ぼしたものと結論された。また、プロテアーゼを使って幼生の構成細胞を解離・培養する技術を開発できた(図2)ので、それぞれの細胞を使って電気生理学的実験を含めた色々な実験ができるようになった。その結果、上記アミンによって分離細胞の機能が複雑に修飾されることが判明した。各細胞の機能解明により、付着・変態機構の全体像の解明にせまることができると思われる。

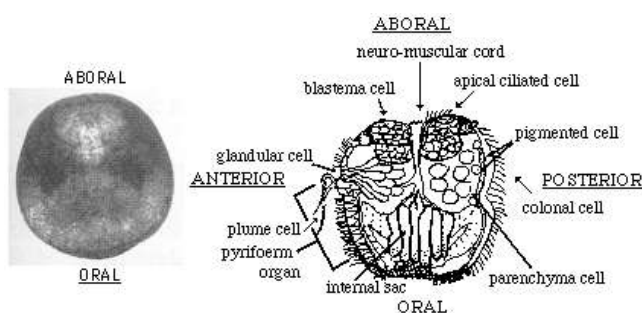


図1 フサコケムシの幼生(左)とその断面の模式図(右)

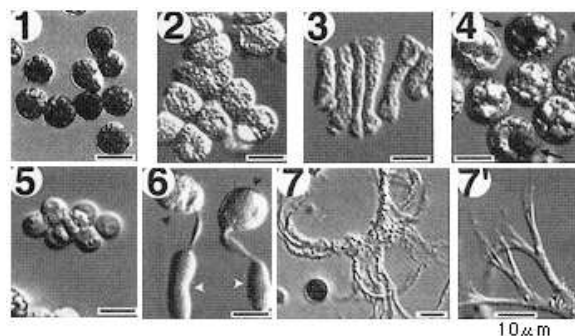


図2 フサコケムシ幼生の解離細胞

1: pigmented cells; 2,3: secretory cells in internal sac; 4: parenchyma cells; 5: blastema cells; 6: glandular cells; 7,7' : neuro-muscular cord

成果の展開可能なシーズ、用途等

- 1) 着生機構研究に好適なモデルとしてのコケムシ幼生の利用
- 2) 着生阻害および誘導物質の生物試験への利用

特許出願

- 1) コケムシ類付着防止剤

特 願：平 7-285376(平成 7 年 11 月 1 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：5-ヒドロキシトリプタミンを有効成分とするコケムシ類付着防止剤。

2) コケムシ類付着誘導剤

特 願：平 7-285377(平成 7 年 11 月 1 日)

出 願 人：科学技術振興事業団

請求の概要：オクトパミンを有効成分とするコケムシ類付着誘導剤。

報告書他

- 1) K.Okano, E.Hunter, and N.Fusetani: Morphology and Behavior of Isolated Living Cells from *Bugula neritina* Larvae (Bryozoa: Cheilostomata), J.Exp.Zool., Vol.276, p.138-150(1996)
- 2) E.Hunter and N.Fusetani: Studies on the Effects of Larval Swimming Time on Settlement, Metamorphosis and Post-larval Development of *Bugula neritina*(Cheilostomatida) in “Bryozoans in Space and Time” (Proceedings of the 10th International Bryozoology Association Conference, Wellington, 1995), pp139-148, Ed. by D.P.Gordon, A.M.Smith, and J.A.Grant-Mackie, NIWA, Wellington (1996)

〔研究者名〕 清水 克彦、岡野 桂樹、イワン・ハンター