

研究 成 果 報 告 書

(国立情報学研究所の民間助成研究成果概要データベース・登録原稿)

研究テーマ (和文) AB	イセエビ尿中で脱皮と共に増減する代謝物の解析				
研究テーマ (欧文) AZ	Profiling of molting biomarker in urine of Japanese spiny lobster, <i>Panulirus japonicus</i>				
研究氏 代 表 名 者	カナ CC	姓) カミオ	名) ミチヤ	研究期間 B	20 ~ 20 年
	漢字 CB	神尾	道也	報告年度 YR	20 年
	ローマ字 CZ	KAMIO	MICHIYA	研究機関名	東京海洋大学
研究代表者 CD 所属機関・職名	東京海洋大学 大学院 海洋科学技術研究科 助教				
概要 EA (600 字～800 字程度にまとめて下さい。) 本研究は、甲殻類の増養殖における精密な漁獲管理と種苗の管理を可能とするための基礎生物学情報を明らかにし、効率的な食糧生産に貢献することを目的として行った。イセエビをはじめとする甲殻類の尿中で脱皮と共に増減する代謝物を明らかにすることは、甲殻類の脱皮と交尾に関する生理学とフェロモンによる個体間ケミカルコミュニケーションの研究の基盤となる。甲殻類の脱皮は成長する行為であるが、ケガニやクルマエビなどにおいては、成熟メスの脱皮と同期して交尾が行なわれる。交尾においては、脱皮前後のメスが放出した代謝物＝フェロモンをオスが嗅覚系を通して感知し配偶行動を開始する。メスもオスのフェロモンを感知して行動する。そのため応用面においては人工的なフェロモンを用いた配偶行動の管理ができれば増養殖研究上の問題点を解決する糸口を多く与えると期待される。また、フェロモンを用いた性選択的かつ種選択的な漁獲を用いてより精密な漁獲管理を行うことも可能である。 本研究ではイセエビを対象として以下の 2 つの項目を行った。1) ブルークラブで発見された脱皮前バイオマーカー、N-アセチルグルコサミノラクトン (以下、NAGL) がイセエビ尿中にも存在するかどうか核磁気共鳴装置 (NMR) を用いて行った。尿は触角腺の開口部から直接真空ポンプで吸引し、凍結乾燥後に NMR 測定を行った。その結果、脱皮に比較的近いメスの尿中に NAGL 存在ははっきり確認できず。存在しても他の代謝物のシグナルに隠れる程度の微量の存在であることが分かった。このことから LC-MS での微量分析法の確立が必要であると考えられた。2) NAGL はその極性の高さから、高速液体クロマトグラフィーに用いるカラムに保持されず、直接分析が不可能であった。そこで、前処理として各種吸着クロマトグラフィーを検討した結果、グラファイトカーボンカラムに NAGL が吸着され、尿中の無機塩類と分離することを達成した。さらに、親水性相互作用カラムである Amide80 を用いたクロマトグラフィーの条件を検討したところ、この化合物が複数のピークとして溶出することが明らかとなった。構造上の性質を考えると、この化合物は元の 1,5-ラクトンのエステル結合が水溶液中では加水分解により開環し、カルボン酸になる、または 1,4-ラクトンの 3 つの構造の平衡混合物として存在することが考えられた。そこで、各種の緩衝液中の状態を NMR と ESIMS で観測しながら検討したところ、中性の条件で 24 時間以上静置することでほぼ 100%開環したカルボン酸の状態に変換できることが分かった。この知見をもとにクロマトグラフィーを行ったところ NAGL は 1 つのピークとして溶出するようになった。今後はこの手法を LC-MS へと発展させることで微量分析を可能にし、イセエビ尿中の NAGL 濃度を明らかにすることができる。					
キーワード FA	脱皮	甲殻類	代謝物	バイオマーカー	

(以下は記入しないで下さい。)

助成財団コード TA					研究課題番号 AA								
研究機関番号 AC					シート番号								

発表文献（この研究を発表した雑誌・図書について記入して下さい。）									
雑誌	論文標題 ^{GB}	The smell of moulting: <i>N</i> -acetylglucosamino-1,5-lactone is a premolt biomarker and candidate component of the courtship pheromone in the urine of the blue crab, <i>Callinectes sapidus</i> .							
	著者名 ^{GA}	M.Kamio, M.Schmidt, M.Germann, J.Kubaneck, C.D.Derby	雑誌名 ^{GC}	Journal of Experimental Biology					
	ページ ^{GF}	1286~1296	発行年 ^{GE}	2	0	1	4	巻号 ^{GD}	217
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
雑誌	論文標題 ^{GB}								
	著者名 ^{GA}		雑誌名 ^{GC}						
	ページ ^{GF}	~	発行年 ^{GE}					巻号 ^{GD}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	
図書	著者名 ^{HA}								
	書名 ^{HC}								
	出版者 ^{HB}		発行年 ^{HD}					総ページ ^{HE}	

欧文概要

Molting or ecdysis is an important event for growth of crustacean species such as crab, shrimp, and lobsters because they have to discard their old exoskeleton to replace with new larger shells. Besides the growth, the molting is a time for mating in some crustacean species. Some crustaceans mate just after molting of sexually mature females. Females which are just before molting release sex pheromone molecules. Males which detect these pheromones start courtship and mating behavior towards the females. Thus research on the metabolites which is involved in molting and released from premolt females are important to understand the growth and chemical communication in courtship and mating behavior of crustacean species. One of the molting related metabolites found in blue crab *Callinectes sapidus* is a premolt biomarker *N*-acetylglucosamino-1, 5-lacton (NAGL.). In our study using nuclear magnetic spectroscopy (NMR), urine from various molting stages of Japanese spiny lobster *Panulirus japonicus* did not have detectable amount of NAGL. Detection of the NAGL using more sensitive method LC-MS was not available because NAGL is a very high polar molecule and could not separate from inorganic salts on chromatography. To use LC-MS for detection of NAGL in the urine we have developed a desalting method of the molecule using absorbent column and separation system using hydrophilic interaction HPLC. We are developing LC-MS detection method using this desalting and HPLC method to detect NAGL and other high polar metabolites in urine or blood samples from crustacean species.