

12. オニテナガエビの卵黄タンパク質ビテリンのアミノ酸配列決定および合成部位の解明

〔要約〕 養殖対象種であるオニテナガエビを用いて成熟卵黄タンパク質の主要な成分であるビテリンの精製、構造解析および遺伝子のクローニングを行い、肝臓で発現されていることを明らかにした。

国際農林水産業研究センター・水産部				連絡先	0298(38)6370		
部会名	国際農業	専門	水産	対象	甲殻類	分類	研究

〔背景・ねらい〕

エビ類は市場価値が高いことからアジア地域における養殖対象種として期待されている。しかし、種苗生産のための親エビを漁獲に頼らざるを得ないこと、親エビの人工的な養成が難しいことなどから種苗の供給が不安定である。そこで、安定したエビ類の種苗生産技術を開発することを目的にオニテナガエビを用いて成熟・産卵のメカニズムの解明を試みた。そして卵黄形成の重要な鍵となっているビテリンについて精製、構造解析および遺伝子のクローニングを行い、その産生組織を特定した。

〔成果の内容・特徴〕

1. 卵巣抽出物から逆相 HPLC で分離された 4 種の主要な分子 (図 1、Macr-A、B、C、および D) は、ウエスタンブロッティングにおいて抗ビテリン抗体と陽性反応を示したので、すべてオニテナガエビのビテリンと判明した。
2. 精製した 4 種のビテリンの N 末端アミノ酸配列 (33 残基以上) を図 2 に、また、lysyl endopeptidase の消化による内部配列情報を図 3 に示す。
3. ビテリンの産生組織と考えられている肝臓から全 RNA を抽出し、逆転写反応を行うことにより、cDNA を合成した。次に、この cDNA を鋳型にして、(2) で得た配列情報を基に縮重プライマーを設計し、PCR を行う。これにより 4 種のビテリンをコードする cDNA 塩基配列を明らかにした。
4. 得られた cDNA 断片をプローブにして、Northern hybridization 法によりビテリン mRNA 発現を調べた結果、これらの 4 種のビテリンの mRNA はそれぞれ 7 Kb であり、卵黄形成期に肝臓のみに発現していた (図 4)。
5. 本研究で得られた卵黄タンパク質ビテリンをコードする cDNA プローブを用いて、卵黄形成過程における mRNA の発現動態を調べることができる。

〔成果の活用面・留意点〕

卵黄形成過程における mRNA の発現動態を簡便に調べることが可能となり、人為的な成熟誘起法の開発、成熟に及ぼす内部神経ホルモンや外部環境因子の解明、成熟を制御するホルモンの探索などに利用することができる。

〔具体的データ〕

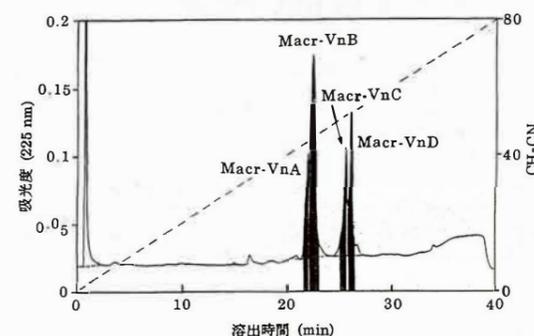


図 1 逆相 HPLC によるビテリンの精製

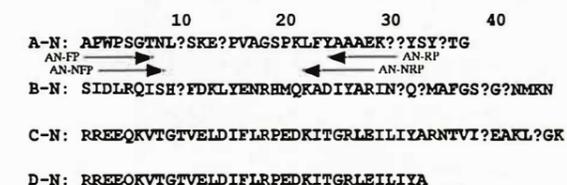


図 2 N 末端アミノ酸配列分析により同定されたアミノ酸配列

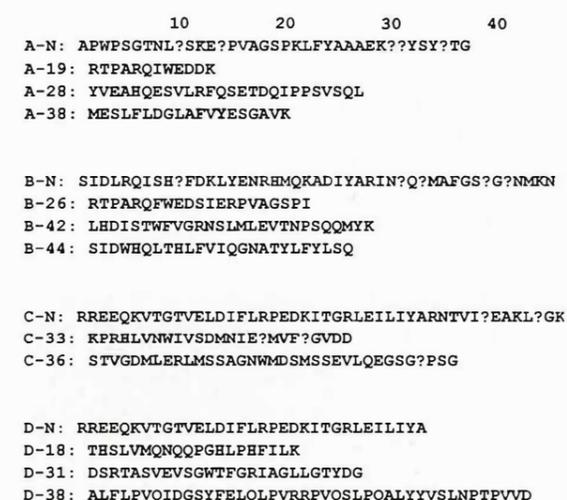


図 3 ビテリンを lysyl endopeptidase で消化して得たペプチド断片のアミノ酸配列

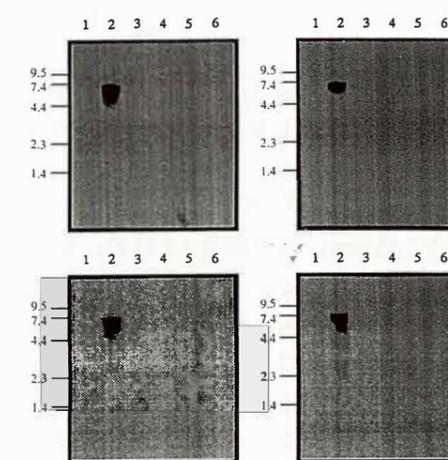


図 4 Northern blot 分析による様々な組織におけるビテリン mRNA の発現
1. 雄肝臓 2. 雌肝臓 3. 卵巣 4. 雌皮下脂肪体 5. 雌鰓 6. 雌筋肉

〔その他〕

研究課題名: エビ類の成熟、産卵のメカニズムの解明と制御

予算区分: 経常研究・STA 研究費

研究期間: 平成 11 ~ 12 年

研究担当者: マーシー・ワイルダー・楊衛軍

発表論文等:

- 1) Wei-Jun Yang, Tsuyoshi Ohira, Naoaki Tsutsui, Thanumalayaperumal Subramoniam, Do Thi Thanh Huong, Katsumi Aida and Marcy N. Wilder (2000). Determination of amino acid sequence and site of mRNA expression of four vitellins in the giant freshwater prawn, *Macrobrachium rosenbergii*. Journal of Experimental Zoology (in press).
- 2) Naoaki Tsutsui, Ichiro Kawazoe, Tsuyoshi Ohira, Safia Jasmani, Wei-Jun Yang, Marcy N. Wilder and Katsumi Aida (2000). Molecular characterization of a cDNA encoding vitellogenin and its expression in the hepatopancreas and ovary during vitellogenesis in the kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. Zoological Science (in press).