

ISSN 1348-4656

金沢大学環日本海域環境研究センター

臨海実験施設

研究概要・年次報告 第21号

2022.4 ~ 2023.3



令和5年4月に運用を開始した海洋調査・実習船5代目「あおさぎ」

Annual Report of Noto Marine Laboratory
Institute of Nature and Environmental Technology, Kanazawa University

活 動 報 告

* 研究概要-----	2
* 研究業績-----	4
* 研究発表及び研究活動-----	6
* 研究交流-----	13
* 研究費-----	18
* 利用状況-----	20

【研究概要】

1. 魚類の自然免疫系に関する研究（木谷助教）

魚類の免疫系は哺乳類と比較して原始的であることから、標的特異的な獲得免疫系ではなく幅広い病原性微生物に対して非特異的に作用する自然免疫系が重要である。木谷助教は、魚類の体表粘液や血液中に存在する抗微生物因子についての研究を行っている。研究の過程で L-アミノ酸オキシダーゼ（LAO）を魚類の体表や血液に含まれる抗菌物質として同定した。これは魚類における未知の生体防御システムを解明する糸口となりつつある。

令和 4 年度においてはキジハタ *Epinephelus akaara* LAO 遺伝子の組織間および組織内分布を明らかとした。過去の研究からキジハタは血液以外にも皮膚と鰓に LAO をもつことが推測されていたが、キジハタ LAO 特異的プローブを用いた *in situ* ハイブリダイゼーション法により、キジハタ血液 LAO 産生組織である肝臓以外にも皮膚の表皮細胞層や鰓の二次鰓弁にキジハタ LAO 陽性細胞集塊が存在することを明らかとした。さらに、キジハタ血液 LAO と体表 LAO について生化学的に比較したところ、両者の構造は非常に類似するが異なる物質であるということが確かめられた。これら成果は令和 5 年度日本水産学会春季大会（令和 5 年 3 月、東京）において「キジハタ体表粘液中の L-アミノ酸オキシダーゼについて」山本葉月・木谷洋一郎（金大臨海）として公表し、また山本葉月氏の修士論文研究の一部として編纂した。

加えて、魚類には強く LAO 活性を示すものとそうでないものが存在することが経験的に知られているが、LAO 活性が弱い魚類において LAO が局所的にも機能しているかどうか明らかとするために、超高感度 LAO 活性測定法の開発を試みた。当該年度では LAO 活性で生じた過酸化水素とクマリンをフェントン反応により蛍光誘導体化することで蛍光 HPLC 法で微弱な LAO 活性を評価することが可能となった。この成果は岩間明人氏の卒業論文研究として取りまとめ、成果の一部は第 6 回富山湾研究会（令和 5 年 3 月、能登町）で公表した。

2. 無脊椎動物及び脊椎動物の比較生理・内分泌学的研究（関口准教授）

関口准教授を中心とするグループは、原始的な脊椎動物、脊椎動物に近縁な無脊椎動物の神経系や内分泌系の働きに着目し、脊椎動物で発達した恒常性維持機構の起源や多様化を研究している。現在、軟骨魚類の血中カルシウム濃度の恒常性維持機構の解明を目指して、アカエイ (*Hemitrygon akajei*) を用いたカルシトニン (CT) の機能解析を行っている。CT は、哺乳類や硬骨魚類では、血中カルシウム濃度低下ホルモンとして作用するが、軟骨魚類における機能は不明である。本年度は、昨年度明らかにした CT mRNA 配列をもとに、アカエイゲノムデータベースを検索し、CT 遺伝子を同定した。アカエイ CT 遺伝子は 5 エキソン-4 イントロン構造を示した。CT と CT gene-related peptide (CGRP) は共にエキソン 4 にコードされており、エキソン 4 の 3'オルタナティブスプライシングサイトの違いにより CT と CGRP 配列を含む mRNA もしくは、CGRP 配列のみを含む mRNA が産生される。なお CT と CGRP 配列を含む mRNA は、読み枠の関係で CT ペプチドのみが翻訳される。このようにアカエイ CT の遺伝子構造は、CT と CGRP が異なるエキソンにコードされている四足動物や硬骨魚類とは異なっていた。さらに発現解析により、CT 配列を含む mRNA が鰓後腺のみで発現すること、3'UTR の配列を含む mRNA がユビキタスに発現することを明らかにした。これらのことから、アカエイ CT 遺伝子は、独特な遺伝子構造を持つという特殊性と、硬骨魚類と類似する発現パターンを示すという共通性が認められた。

3. 海産無脊椎動物における環境汚染物質応答機構（関口准教授）

関口准教授を中心とするグループは、海洋汚染物質、特に多環芳香族炭化水素類（PAHs）の海産動物への影響を分子レベルで理解するために、環境汚染物質のセンサーである芳香族炭化水素受容体（Aryl hydrocarbon receptor, AhR）に着目し研究を行なっている。本年度は、円口類ヌタウナギの AhR の分子的特徴と分子機能を検討した。まずヌタウナギ消化管の RNA-seq データより、円口類において初めて AhR を同定した。このヌタウナギ AhR は、bHLH ドメイン、PAS-A, B ドメインという AhR に特徴的な構造を有していた。さらにヌタウナギ AhR と GAL4 の融合蛋白質を用いた転写解析により、ヌタウナギ AhR がリガンド応答性を持つことを突き止めた。本研究は、坂井孝嘉氏の修士研究課題として実施された。

4. 海洋汚染及びアコヤガイの感染症に関する研究（鈴木教授）

今年度は、多環芳香族炭化水素類（PAH）の代謝産物である水酸化 PAH の骨代謝に対する作用を解析して、*Ecotoxicology and Environmental Safety* に発表した。本研究により、PAH 類が体内に入り、代謝されることにより、毒性が高まることを初めて証明した。即ち、benzo[c]phenanthrene と 3-hydroxybenzo[c]phenanthrene を比較すると、代謝産物の 3-hydroxybenzo[c]phenanthreneの方が親化合物の benzo[c]phenanthrene よりも 1900 倍毒性が高いことが、メダカの胚へのナノインジェクションによりわかった。

2019~2021 年の夏季に全国各地のアコヤ真珠養殖場において、アコヤガイの大量死が発生した。我々は、この大量死の原因として細菌による感染症が原因の一つであると考えている。そこで、これまでに大量死したアコヤガイからのみ検出された細菌 MA3 株が大量死に関連しているのではないかと考え、MA3 株の性状解析と感染実験を行なった。その結果、MA3 株は *Vibrio alginolyticus* に近縁な種であり、MA3 株の感染により、アコヤガイが死亡することを突き止めた。そこで本年度は、MA3 株を特異的かつ高感度で定量・検出するための Taqman probe を用いた real-time PCR 法の開発を行ない、富山大学の酒徳昭宏講師と三重大大学の一色正教授とともに、特許を申請した（特願 2022-72792、アコヤガイの大斃死を引き起こした病原の感度・精度の検出法）。なお、本研究は、端野開都氏（現 D1）の博士論文の一環として実施し、日本動物学会中部支部大会（信州大学）で最優秀口頭発表賞、環日本海域環境研究センターの国際シンポジウムにおいて Best Poster Awards を受賞した。これらの実績が評価され、自然科学研究科長賞を受賞した。

5. 魚類及びイカ類に対する海洋深層水の影響評価（鈴木教授）

海洋深層水とは、水深 200 m 以深に存在する深海の海水のことを示し、低温状態で、豊富なミネラルや無機栄養分を含み、細菌数が少ないという特徴を持つ。また海洋深層水は、水産増養殖分野において、海産動物の生育を改善する飼育水等に利用されているが、その根拠は明らかになっていない。鈴木教授を中心としたグループは、海洋深層水の魚類生理に及ぼす影響について生理学的な側面から研究を行い、海洋深層水にメジナ及びヒラメのストレス低減作用を見出した。その結果を基にして特許を取得した（ストレス低減剤、特許第 7093961 号、登録日 2022 年 6 月 23 日）。さらに、海洋深層水はスルメイカにも効果があり、肝臓における脂質代謝を抑えることにより体重の減少を抑制することを証明して、*Scientific Reports* に発表した。スルメイカの研究は、島根大学の吉田真明准教授・公立小松大学平山順教授を中心とする研究チームの成果である。魚類に対する作用についても、現在、*Scientific Reports* に改稿原稿を投稿中。魚類及びイカ類の研究は、法人主導（トップダウン）型研究課題：環境・健康に配慮した持続可能な共創的養殖システムの開発（代表：鈴木信雄）の研究の一環である。生命理工学類・能登海洋水産センター・センター長 松原 創教授と共に、能登町での水産養殖事業を活性化していきたいと考えている。

6. 海産無脊椎動物の比較内分泌・水産・生理生態・環境毒性学的研究（豊田特任助教）

エビやカニなどの十脚目甲殻類は、複眼を支える眼柄内にあるサイナス腺から分泌されるペプチドホルモンによって成長・脱皮・性成熟・体色・性分化など多様な生命現象を制御している。豊田特任助教を中心としたグループは、国内水産重要種に位置付けられる甲殻類 10 種（ケガニ、ズワイガニ、ノコギリガザミ、イセエビ、サクラエビなど）を対象にサイナス腺由来ペプチドの網羅的探索とその生理機能を明らかにするための *in vivo* 評価系の構築を進めている。また、アカテガニを用いて月周繁殖リズムの分子機構の解析に取り組んでおり、複数のサイナス腺由来ペプチドが顕著な月周期を示すことを見出した。さらに、甲殻類に寄生して宿主のオスからメスへの性転換を促す寄生性甲殻類フクロムシのこの擬似メス化に関わるフクロムシ由来因子の同定を進めており、本年度はオス生殖機能を抑制させる分子の同定に成功した。以上のように、水産重要種とユニークな形質を示す野外採集個体の比較内分泌学的アプローチにより、効率的な水産増養殖に向けた基盤情報の整備と月周繁殖や寄生種によるメス化などの生命現象の背景にある分子機構の解明を進めている。

さらに、海産の十脚目甲殻類は幼生期をプランクトンとして過ごし、脱皮変態を繰り返すことで成体へと成長する。この幼生変態は劇的な形態・生理変化を伴うが昆虫以外の節足動物ではその分子機構はよくわかっていない。豊田特任助教を中心としたグループは、このクルマエビやケガニ、アカテガニなどの幼生飼育系を用いてこの幼生変態時の遺伝子発現や内分泌因子の動態解析や形態解析を進めている。また、この幼生変態を新たなエンドポイントとして海洋中に放出された内分泌攪乱物質（昆虫成長制御剤やヒト環境医薬品など）の毒性影響の評価手法の確立を進めている。

【研究業績】

1) 学術論文

- (1) Hatano, K., Sakatoku, A., Tanaka, D., Tanaka, S., Isshiki, T. and Suzuki, N., 2022. Development of a method of sensitively and specifically detecting a *Vibrio* sp. strain MA3 associated with mass mortalities of the pearl oyster *Pinctada fucata martensii* using quantitative PCR. *International Aquatic Research*, **14**, 241-250.
- (2) Katayama, H., Toyota, K., Tanaka, H. and Ohira, T., 2022. Chemical synthesis and functional evaluation of the crayfish insulin-like androgenic gland factor. *Bioorganic Chemistry*, **122**, 105738.
- (3) Kawamura, R., Rafiuddin, M.A., Toyota, K., Honda, M., Amornsakun, T., Harumi, T., Hirayama, J., Urata, M., Matsumoto, K., Srivastav, A.K., Suzuki, N. and Matsubara, H., 2023. Fluorene is highly toxic to zoea larvae of the red-clawed crab *Chiromantes haematocheir*. *International Journal of Zoological Investigation*, **9**, 1-7.
- (4) Kitani, Y., 2022. Red-spotted grouper *Epinephelus akaara* blood L-amino acid oxidase utilizes the substrates in plasma. *Fisheries Science*, **88**, 635-643.
- (5) Kuroda, K., Hatano, K., Kawamura, R., Fukushima, A., Sasayama, Y., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Ikegame, M., Hattori, A., Hirayama, J., Fukuda, T., Uekura, S., Matsubara, H., Kawago, U., Sekiguchi, T., Srivastav, A.K. and Suzuki, N., 2023. Possible involvement of Calcitonin I and II in calcium metabolism of the female reproductive physiology of goldfish (*Carassius auratus*). *International Aquatic Research*, **15**, 15-26.

- (6) Ogiso, S., Maruyama, Y., Hattori, A., Hirayama, J., Rafiuddin, A.M., Yachiguchi, K., Shimizu, N., Srivastav, A.K. and Suzuki, N., Diurnal rhythm of indole compounds synthesized in polychaete *Perinereis aibuhitensis* (Grube,1878) heads. *Aquaculture Science*, in press
- (7) Ohira, T., Terasawa, T., Toyota, K., Kamei, H., Ogiso, S., Suzuki, N. and Katayama, H., 2022. Purification and characterization of red pigment concentrating hormone form the Alaska pink shrimp *Pandalus eous*. *Aquatic Animals*, **2022**, AA2022-8.
- (8) Matsumoto, K., Ritphring, S., Kishioka, T., Kinoshita Y., Urata M., Yachiguchi K., Suzuki N. and Hayakawa K., 2023. Exploratory research on promoting learning among local residents through coastal conservation activities using citizen science. *Research Bulletin, Organization of Global Affairs, Kanazawa University*, **5**, 25-36.
- (9) Matsumoto, K., Takeno, K., Kishioka, T., Urata, M., Matsubara, M., Kato, T., Suzuki, N. and Hayakawa, K., 2022. Educational effects and changes in children's appreciation of nature through community-based education: A case study of satoumi learning in Japan. *American Journal of Educational Research*, **10**, 323-331.
- (10) Matsunaka, T., Nagao, S., Inoue, M., Mundo, R., Tanaka, S., Tang, N., Yoshida, M., Nishizaki, M., Morita, M., Takikawa, T., Suzuki, N., Ogiso, S. and Hayakawa, K., 2022. Seasonal variations in marine polycyclic aromatic hydrocarbons off Oki Island, Sea of Japan, during 2015–2019. *Marine Pollution Bulletin*, **180**, 113749.
- (11) Mishima, H., Ishikawa, N., Hattori, A., Maruyama, Y., Suzuki, N. and Matsumoto, Y., 2022. Relation of bone morphology and bone quality with melatonin intake in rats. *Journal of Oral Tissue Engineering*, **20**, 7-16.
- (12) Sekiguchi, T., 2022. Evolution of calcitonin/calcitonin gene-related peptide family in chordates: Identification of CT/CGRP family peptides in cartilaginous fish genome. *General and Comparative Endocrinology*, **328**, 114123.
- (13) Sekimoto, A., Ohira, T., Shigematsu, A., Okumura, T., Mekuchi, M., Kitani, Y., Sekiguchi, T., Toyota, K., Mishima, H., Kawamura, R., Hatano, K., Kawago, U., Amornsakun, T., Hirayama, J., Hattori, A., Matsubara, H. and Suzuki, N., 2022. Functional analysis of a matrix peptide involved in calcification of the exoskeleton of the kuruma prawn, *Marsupenaeus japonicus*. *Aquaculture*, **559**, 738437.
- (14) Suzuki, N., Honda, M., Sato, M., Yoshitake, S., Kawabe, K., Tabuchi, Y., Omote, T., Sekiguchi, T., Furusawa, Y., Toriba, A., Tang, N., Shimasaki, Y., Nagato, E.G., Zhang, L., Srivastav, A.K., Amornsakun, T., Kitani, Y., Matsubara, H., Yazawa, T., Hirayama, J., Hattori, A., Oshima, Y. and Hayakawa, K., 2022. Hydroxylated benzo[*c*]phenanthrene metabolites cause osteoblast apoptosis and skeletal abnormalities in fish. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, **234**, 113401.
- (15) Toyota, K., Ichikawa, T., Suzuki, N. and Ohira, T., Dietary effects on larval survival and development of three sesarmid crabs. *Plankton and Benthos Research*, in press.
- (16) Toyota, K., Yasugi, M., Tatarazako, N., Iguchi, T. and Watanabe, E., 2022. Laterally biased diffusion of males of the water flea *Daphnia magna*. *Journal of Experimental Zoology Part A*, **337**, 626-638.
- (17) Yamamoto, T., Ikegame, M., Kuroda, K., Kobayashi-Sun, J., Hirayama, J., Kobayashi, I., Kawamura, R., Endo, M., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Yachiguchi, K., Sekiguchi, T., Matsubara, H., Yano, S., Hattori, A. and Suzuki, N., 2022. Activation of RANKL-producing cells under simulated microgravity with a three-dimensional clinostat in regenerating goldfish scales. *Biological Science in Space*, **36**, 9-14.

- (18) Yamamoto, T., Ikegame, M., Furusawa, Y., Tabuchi, Y., Hatano, K., Watanabe, K., Kawago, U., Hirayama, J., Yano, S., Sekiguchi, T., Kitamura, K., Endo, M., Nagami, A., Matsubara, H., Maruyama, Y., Hattori, A., and Suzuki, N., 2022. Osteoclastic and osteoblastic responses to hypergravity and microgravity: Analysis using goldfish scales as a bone model. *Zoological Science*, **39**, 388-396.
- (19) Yazawa, T., Imamichi, Y., Kitano, T., Islam, M.S., Khan, I.R., Takahashi, S., Sekiguchi, T., Suzuki, N., Umezawa, A. and Uwada, J., 2023. Expression of Chrna9 is regulated by Tbx3 in undifferentiated pluripotent stem cells. *Scientific Reports*, **13**, 1611.
- (20) 今村和貴・松尾純平・福上周作・國師恵美子・本田匡人・鈴木信雄・宇野誠一, 2022. ヒメダカ胚を用いた石川県河北潟水域の底質影響評価. *環境毒性学会誌*, **25**, 48-60.
- (21) 大平 剛・松田 乾・豊田賢治・鈴木信雄, 2022. ナンキョクオキアミの発光器官制御ホルモンの探索. *Science Journal of Kanagawa University*, **33**, 91-94.

2) 総説・解説等

- (1) Hirayama, J., Hattori, A., Takahashi, A., Furusawa, Y., Tabuchi, Y., Shibata, M., Nagamatsu, A., Yano, S., Maruyama, Y., Matsubara, H., Sekiguchi, T. and Suzuki, N., 2022. Physiological consequences of space flight, including abnormal bone metabolism, space radiation injury, and circadian clock dysregulation: Implications of melatonin use and regulation as a countermeasure. *Journal of Pineal Research*, **74**, e12834.
- (2) Toyota, K., Watanabe, H., Hirano, M., Abe, R., Miyakawa, H., Song, Y., Sato, T., Miyagawa, S., Tollefsen, K.E., Yamamoto, H., Tatarazako, N. and Iguchi, T., 2022. Juvenile hormone synthesis and signaling disruption triggering male offspring induction and population decline in cladocerans (water flea): Review and adverse outcome pathway development. *Aquatic Toxicology*, **243**, 106058.
- (3) Toyota, K., Sakae, Y. and Iguchi, T., 2022. Larval development of non-insect Arthropods: Metamorphosis and sexual differentiation. In *Arthropods - New Advances and Perspective*. *IntechOpen*, accepted.
- (4) 松原 創・永見 新・小木曾正造・鈴木信雄, 2022. 消滅可能性都市「能登」で挑む「真」のオーガニック養殖. *アグリバイオ*, **6**, 1090-1194.
- (5) 鈴木信雄・本田匡人・河合 海・松原 創・道祖土勝彦, 2023. スチレンオリゴマーを分解する海洋細菌. *Japan Energy & Technology Intelligence*, **71**, 103-106.

【研究発表及び研究活動】

1) 研究発表及び講演会

- (1) Hatano, K., Sakatoku, A., Tanaka, S., Isshiki, T. and Suzuki, N., Investigation about the *Vibrio* sp. strain MA3 with mass mortality of pearl oyster occurred in the summer. The 6th International Exchange Seminar of Zoology, Shizuoka University, Shizuoka, Japan (2022. 9.17).
- (2) Hatano, K., Sakatoku, A., Tanaka, S., Isshiki, T. and Suzuki, N., *Vibrio* sp. strain MA3 involves for the mass mortality of the summer in the pearl oyster, *Pinctada fucata*. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).

- (3) Kawamura, R., Mekuchi, M., Toyota, K., Ogiso, S., Watabe, Y., Nagami, A., Maruyama, Y., Hattori, A., Yanai, S., Hirayama, J., Matsubara, H. and Suzuki, N., Changes in osmoregulatory function during growth of red-clawed crab larvae. The 6th International Exchange Seminar of Zoology, Shizuoka University, Shizuoka, Japan (2022. 9.17).
- (4) Kawamura, R., Mekuchi, M., Toyota, K., Ogiso, S., Watabe, Y., Nagami, A., Maruyama, Y., Hattori, A., Yanai, S., Hirayama, J., Matsubara, H. and Suzuki, N., Study on osmoregulatory function in larvae of red-clawed crab. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (5) Kitani, Y., Activity regulation mechanism of the grouper immune enzyme L-amino acid oxidase. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (6) Kobayshi, S., Rafiuddin, M.A., Nakade, M., Kobayashi, H., Sakai, K., Inada, K., Shigematsu, A., Nagami, A., Ogiso, S., Toyota, K., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Hirayama, J., Suzuki, N. and Matsubara, H., Reproductive behavior of mature tiger puffer *Takifugu rubripes* in Noto, Japan. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (7) Kuroda, K., Hatano, K., Kawamura, R., Fukushima, A., Sasayama, Y., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Ikegame, M., Hattori, A., Hirayama, J., Matsubara, H., Kawago, U., Sekiguchi, T., Srivastav, A.K. and Suzuki, N., Calcitonin I and II possible involvement of calcium metabolism in the female reproductive physiology of goldfish (*Carassius auratus*). K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (8) Matsumoto, K., Urata, M., Nomaru, E., Yachiguchi, K. and Suzuki, N., Coordinator's role in educational activities utilizing local resources: a case study of satoumi learning at elementary and junior high schools in Noto Town, Ishikawa prefecture. 9th Sustainable Development Conferenc, Holiday Inn Bangkok Silom, Bangkok, Thailand (2022.11.10-12).
- (9) Nakade, M., Rafiuddin, M.A., Kobayashi, H., Kobayshi, S., Sakai, K., Inada, K., Shigematsu, A., Nagami, A., Ogiso, S., Toyota, K., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Hirayama, J., Suzuki, N. and Matsubara, H., Gonadal sexual plasticity in tiger puffer *Takifugu rubripes*. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (10) Ogiso, S., Watanabe, K., Miyake, H., Maruyama, Y., Hirayama, J., Hattori, A., Watabe, Y. and Suzuki, N., Physiological and ecological study of infaunal marine invertebrates living in the coast of Noto Peninsula. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (11) Ohira, T., Toyota, K., Anh, N.T.V, Takatsuka, Y. and Hara, T., Transcriptomic characterization of molt-inhibiting hormones from the whiteleg shrimp *Litopenaeus vannamei*. 第13回エネルギー理工学研究所国際シンポジウム -Research Activities on Zero-Emission Energy Network-, online (2022.9.5-7).

- (12) Rafiuddin, M.A., Sakai, K., Kobayshi, S., Shigematsu, A., Nakade, M., Inada, K., Kobayashi, H., Nagami, A., Ogiso, S., Toyota, K., Tabuchi, Y., Furusawa, Y., Hirayama, J., Suzuki, N. and Matsubara, H., Effect of environmental factors on the embryonic development of the rosy seabass *Doederleinia berycoides*. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (13) Ruangsri, J., Pongtippatee, P., Duangmorakot, J. and Yoichiro, K., Is Bandon Bay still supported the natural reproduction of oysters? The assessments of the annual reproductive cycle of farmed *Crassostrea belcheri* in Bandon Bay, Surat Thani Province, Thailand. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (14) Sakai, T., Yazawa, T., Ikuta, T., Nakayama, S., Suzuki, N., Hayakawa, K., Ogasawara, M., Wada, S. and Sekiguchi, T., Molecular functional analysis of a pollutant sensor, aryl hydrocarbon receptor in a marine animal, *Ciona intestinalis* type A. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (15) Toyota, K., Marine crustaceans as model species of marine pollution research. K-INET International Symposium "Joint Usage/Joint Research on Transboundary Pollution and its Impact on Social Environment", online (2022.12.7-9).
- (16) Watanabe, H., Toyota, K., Hirano, M., Abe, R., Miyakawa, H., Song, Y., Tollefsen, K.E., Yamamoto, H. and Iguchi, T., Development and assessment of Adverse Outcome Pathways for juvenile hormone mediated effects of environmental stimuli and chemicals in cladocerans. SETAC North America Annual Meeting, online (2022.11.12-17).
- (17) 足立健悟・荒木萌・豊田賢治・宮川信一, メダカの代謝系に作用する *Obesogen* の影響. 生物環境イノベーション研究部門 第 3 回シンポジウム, 東京理科大学葛飾キャンパス, 東京 (2022.11.22).
- (18) 江副巧真・森岡葵・豊田賢治・山本岳男・大平 剛, ズワイガニの雄特異的ペプチドの精製と構造決定. 第 46 回日本比較内分泌学会大会, 東京大学, 東京 (2022.10.28-30).
- (19) 福田達也・上倉慎道・鈴木信雄・平山 順, ゼブラフィッシュをモデル動物とした光環境の体内時計への影響の解析. 日本宇宙生物科学会第 36 回大会, 岐阜医療科学大学, 岐阜 (2022.9.16-18).
- (20) 古湊慧太・湊谷紗妃・妹尾衣里子・五嶋龍稀・山崎翔・豊田賢治・宮川信一, マウス子宮間質細胞のエストロゲン受容体 1 の役割. 生物環境イノベーション研究部門 第 3 回シンポジウム, 東京理科大学葛飾キャンパス, 東京 (2022.11.22).
- (21) 古川雄裕・大平剛・豊田賢治・山根史裕・五十嵐洋治・筒井直昭, 雄クルマエビにおけるインスリン様造雄腺因子の発現抑制が雄性機能に与える影響. 第 46 回日本比較内分泌学会大会, 東京大学, 東京 (2022.10.28-30).
- (22) 五嶋龍稀・妹尾依里子・豊田賢治・宮川信一, マウスの膣におけるエストロゲン受容体を介した上皮-間質相互作用の解析. 日本動物学会第 93 回早稲田大会, 早稲田大学, 東京 (ハイブリッド) (2022.9.8-9).

- (23) 五嶋龍稀・妹尾衣里子・豊田賢治・宮川信一，間質特異的 ERaKO マウスを用いた臍上皮の細胞増殖・分化機構の解析. 生物環境イノベーション研究部門 第3回シンポジウム，東京理科大学葛飾キャンパス，東京 (2022.11.22).
- (24) 後藤智哉・本多希久子・森永朱香・森冬花・豊田賢治・宮川信一，メダカの環境医薬品に対する標的分子の解析. 生物環境イノベーション研究部門 第3回シンポジウム，東京理科大学葛飾キャンパス，東京 (2022.11.22).
- (25) 蓮井大貴・植田賢威・山岸弦記・豊田賢治・赤司寛志・宮川信一，性決定・性分化関連遺伝子の温度依存的な発現調節機構の解明. 生物環境イノベーション研究部門 第3回シンポジウム，東京理科大学葛飾キャンパス，東京 (2022.11.22).
- (26) 端野開都・一色 正・田中翔稀・酒徳昭宏・鈴木信雄，新規に単離された MA3 株によるアコヤガイ感染症に関する研究. 令和4年度日本動物学会中部支部大会，信州大学，長野 (2022.11.26-27).
- (27) 端野開都・吉田真明・木谷洋一郎・小木曾正造・渡部雪菜・松原 創・豊田賢治・鈴木信雄，海洋深層水がスルメイカに与える生理学的影響について. 第6回富山湾研究会，能登勤労者プラザ，石川 (2023.3.8-9).
- (28) 本多希久子・森永朱香・後藤智哉・豊田賢治・征矢野清・長江真樹・薙平裕次・中田典秀・井原賢・宮川信一，環境医薬品の魚類標的遺伝子の同定と遺伝子発現解析. 環境化学物質3学会合同大会(第30回環境化学討論会，第26回日本環境毒性学会研究発表会，第24回環境ホルモン学会研究発表会) 富山国際会議場，富山 (2022.6.14-16).
- (29) 井口凜・関口俊男・笹倉靖徳・小笠原道生，カタユウレイボヤ消化管における飲作用/食作用関連遺伝子群の領域的発現. 日本動物学会 第93回 早稲田大会，早稲田大学，東京 (2022.9.8-10).
- (30) 犬塚卓杜・宮奥香理・赤司寛志・豊田賢治・山岸弦記・宮川信一，アカミミガメの温度依存型性決定に関与する代謝産物の解析. 第46回日本比較内分泌学会大会，東京大学，東京 (2022.10.28-30).
- (31) 石川真湖・溝口ひかり・長谷川真子・豊田賢治・宮川信一，マウスの外生殖器形成及び性分化疾患に関連する遺伝子の探索. 生物環境イノベーション研究部門 第3回シンポジウム，東京理科大学葛飾キャンパス，東京 (2022.11.22).
- (32) 石川百花・菅谷柚香・宮奥香理・山岸弦記・赤司寛志・豊田賢治・宮川信一，温度依存型性決定をおこなうカメ類生殖腺の遺伝子発現解析およびスプライスバリエーションの研究. 日本動物学会第93回早稲田大会，早稲田大学，東京(ハイブリッド) (2022.9.8-9).
- (33) 伊藤丈浩・森島海斗・花崎烈・豊田賢治・片山秀和・岡野桂樹・大平剛，寄生性甲殻類フクロムシによる宿主カニの疑似メス化メカニズムの解析. 第46回日本比較内分泌学会大会，東京大学，東京 (2022.10.28-30).
- (34) 岩間瑛人・木谷洋一郎，ゼブラフィッシュにおける L-アミノ酸オキシダーゼの役割について. 第6回富山湾研究会，能登勤労者プラザ，石川 (2023.3.8-9).
- (35) 笠根弘敏・西崎政則・吉田真明・小木曾正造・鈴木信雄・関口俊男・下谷豊和・安東宏徳・飯田 碧・大森紹仁・木村知晴・稲村 修，ANEMONE ネットワークによる日本海魚類相の定点観測と環境変動予測への検討. 第6回富山湾研究会，金沢大学，石川 (2023.3.8-9).

- (36) 川村龍矢・馬久地みゆき・豊田賢治・小木曾正造・渡部雪菜・永見 新・丸山雄介・服部淳彦・柳井清治・平山 順・松原 創・鈴木信雄, 能登半島九十九湾に生息するアカテガニ (*Chironantes haematocheir*) の幼生の生理・生態学的研究. 日本動物学会 第 93 回 早稲田大会, 早稲田大学, 東京 (2022.9.8-9).
- (37) 小林 寛・中出雅大・小林昇市・Muhammad Ahya Rafiuddin・永見 新・小木曾正造・鈴木信雄・春見達郎・柳町隆造・松原 創, トウガレイの初期発生を制御する環境要因. 第 6 回富山湾研究会, 能登勤労者プラザ, 石川 (2023.3.8-9).
- (38) 國行亜紀・豊田賢治・荻野由紀子・小野純佳・中村文音・井口泰泉・宮川信一, 環境化学物質のメダカに対する甲状腺系かく乱作用の影響解析. 環境化学物質 3 学会合同大会 (第 30 回環境化学討論会, 第 26 回日本環境毒性学会研究発表会, 第 24 回環境ホルモン学会研究発表会) 富山国際会議場, 富山 (2022.6.14-16).
- (39) 國行亜紀・小野純佳・中村文音・豊田賢治・荻野由紀子・宮川信一, メダカにおける環境化学物質による甲状腺系かく乱作用の影響解析. 生物環境イノベーション研究部門 第 3 回シンポジウム, 東京理科大学葛飾キャンパス, 東京 (2022.11.22).
- (40) 黒田康平・端野開都・川村龍矢・笹山雄一・福島綾香・田渕圭章・古澤之裕・池亀美華・服部淳彦・平山 順・松原 創・河合 海・関口俊男・Srivastav AK・鈴木信雄, カルシトニン I に加えてカルシトニン II もキンギョの雌の生殖生理に関与する. 第 46 回日本比較内分泌学会大会東京大会, 東京大学, 東京 (2022.10.28-30).
- (41) 黒田康平・端野開都・川村龍矢・笹山雄一・福島綾香・田渕圭章・古澤之裕・池亀美華・服部淳彦・平山 順・松原 創・河合 海・関口俊男・Srivastav AK・鈴木信雄, キンギョの雌の生殖生理におけるカルシトニン I 及び II の役割. 日本水産学会令和 5 年度春季大会, 東京海洋大学, 東京 (2023.3.28-31).
- (42) 黒田康平・田渕圭章・古澤之裕・池亀美華・Srivastav AK・松原 創・鈴木信雄, キンギョの生殖生理におけるカルシトニン I 及び II の生理学的な役割について. 第 6 回富山湾研究会, 金沢大学, 石川 (2023.3.8-9).
- (43) 松原 創・山崎裕治・松田恒平・鈴木信雄, 北陸未来共創フォーラム 次世代水産分科会 2022 年度報告. 第 6 回富山湾研究会, 金沢大学, 石川 (2023.3.8-9).
- (44) Md. Mahiuddin, Z.・大野祐紀・豊田賢治・安東宏徳, クサフグ松果体における半日周発現遺伝子の探索. 第 46 回日本比較内分泌学会大会, 東京大学, 東京 (2022.10.28-30).
- (45) 溝口ひかり・石川真湖・谷川真子・豊田賢治・宮川信一, ホルモン環境に依存したマウス外生殖器の性分化メカニズムの解析. 日本動物学会第 93 回早稲田大会, 早稲田大学, 東京 (ハイブリッド) (2022.9.8-9).
- (46) 溝口ひかり・石川真湖・長谷川真子・豊田賢治・宮川信一, マウス外生殖器の性分化過程におけるホルモン環境に依存した遺伝子発現解析. 生物環境イノベーション研究部門 第 3 回シンポジウム, 東京理科大学葛飾キャンパス, 東京 (2022.11.22).
- (47) 森永朱香・本多希久子・後藤智哉・豊田賢治・征矢野清・長江真樹・蕙平裕次・中田典秀・井原賢・宮川信一, 環境中に存在する医薬品に対する水生生物の応答解. 第 46 回日本比較内分泌学会大会, 東京大学, 東京 (2022.10.28-30).

- (48) 森永朱香・本多希久子・後藤智哉・豊田賢治・征矢野清・長江真樹・薙平裕次・井原賢・宮川信一，環境中に存在する医薬品の水生生物への影響と遺伝子発現解析．生物環境イノベーション研究部門 第3回シンポジウム，東京理科大学葛飾キャンパス，東京 (2022.11.22).
- (49) 中出雅大・小林昇市・Muhammad Ahya Rafiuddin・小林 寛・永見 新・小木曾正造・鈴木信雄・松原 創，トラフグ親魚の誘引に関する知見．第6回富山湾研究会，金沢大学，石川 (2023.3.8-9).
- (50) 中村文音・國行亜紀・小野純佳・豊田賢治・荻野由紀子・堀江好文・井口泰泉・宮川信一，甲状腺ホルモン系かく乱作用がメダカにもたらす影響解析．生物環境イノベーション研究部門 第3回シンポジウム，東京理科大学葛飾キャンパス，東京 (2022.11.22).
- (51) 中島 啓・室田修平・藤井英里・宮奥香理・井口泰泉・豊田賢治・荻野由紀子・安齋賢・宮川信一，メダカ肝臓におけるヒストン修飾とエストロゲン受容体の結合動態．第46回日本比較内分泌学会大会，東京大学，東京 (2022.10.28-30).
- (52) 中内大暉・豊田賢治・大平剛，佐渡島加茂湖におけるニホンスナモグリ(*Callianassa japonica*)とテッポウエビ(*Alpheus brevicristatus*)が底生生物群集に与える影響．日本甲殻類学会第60回大会，岡山大学，岡山 (2022.10.1-2).
- (53) 大平 剛・近藤哲也・深瀬真澄・花塚真史・豊田賢治・山根史裕・亀井宏泰・鈴木信雄・片山秀和，クルマエビの成熟を制御する体色調節ホルモン．令和4年度公益社団法人日本水産学会秋季大会，フェニックス・シーガイア・リゾート，宮崎 (2022.9.5-7).
- (54) 大平剛・山根史裕・古川雄裕・竹内梨乃・筒井直昭・豊田賢治・片山秀和，ホルモン投与によるクルマエビの性転換誘導．日本水産学会春季大会，東京海洋大学品川キャンパス，東京 (2023.3.29).
- (55) 大杉大和・豊田賢治・小林憲一・鈴木朋和・岡本一利・大平剛，サクラエビ血糖上昇ホルモンの精製・構造決定および生物活性．第22回マリンバイオテクノロジー学会大会，オンライン (2022.5.28-29).
- (56) 坂井孝嘉・矢澤隆志・生田統悟・中山 理・鈴木信雄・早川和一・小笠原道生・和田修一・関口俊男，カタユウレイボヤ *Ciona intestinalis* type A における芳香族炭化水素受容体 AhR の分子機能解析．日本動物学会 第93回 早稲田大会，早稲田大学，東京 (2022. 9.8-9).
- (57) 関口俊男・高見英人，能登九十九湾における濾過摂食動物の腸内環境からのキチン分解菌の分離．第6回富山湾研究会，能登勤労者プラザ，石川 (2023.3.8-9).
- (58) 島田健太郎・夏川高輔・浅田稜二・満尾世志人・豊田賢治・飯田碧，佐渡島の河川におけるウキゴリ属魚類の食性と底生生物群集．第56回魚類学会年会，大阪公立大学杉本キャンパス，大阪 (2022.9.17-20).
- (59) 島田健太郎・夏川高輔・浅田稜二・満尾世志人・豊田賢治・飯田碧，島嶼の河川におけるハゼ科ウキゴリ属魚類の食性．第70回生態学会大会，東北大学(ハイブリッド)，宮城 (2023.3.17-21).
- (60) 鈴木信雄，カイメン動物の話．金沢海みらい図書館，石川 (2022, 7.23).
- (61) 鈴木信雄・五十里雄大・古澤之裕・田渕圭章・丸山雄介・服部淳彦・豊田賢治・松原 創，海洋深層水が海産魚のストレス軽減に及ぼす影響について．第6回富山湾研究会，能登勤労者プラザ，石川 (2023.3.8-9).

- (62) 鈴木信雄・本田匡人・田渕圭章・古澤之裕・関口俊男・鳥羽 陽・唐 寧・島崎洋平・木谷洋一郎・松原 創・平山 順・服部淳彦・大嶋雄治・早川和一, 魚類の骨代謝に対する Benzo[c]phenanthrene 及び 3-Hydroxybenzo[c]phenanthrene の毒性評価. 環境化学物質 3 学会合同大会, 富山国際会議場, 富山 (2022.6.14-16).
- (63) 田中恒星・内田翔・豊田賢治・宮川信一, 胎生期のホルモン環境に依存するマウス外生殖器の形態学的変化. 第 46 回日本比較内分泌学会大会, 東京大学, 東京 (2022.10.28-30).
- (64) 豊田賢治, 佐渡の海辺でみかける甲殻類の不思議な生態. 令和 4 年度市民環境講座, アミューズメント佐渡, 新潟 (2022.8.2).
- (65) 豊田賢治, スナモグリの生態を学ぶ. 加茂湖環境セミナー, 佐渡潜水, 新潟 (2022.8.3).
- (66) 豊田賢治, アカテガニの月周性繁殖リズム. 日本動物学会第 93 回早稲田大会 シンポジウム "行動を操る脳ホルモン -比較神経内分泌学研究は面白すぎる!!!-", 早稲田大学, 東京 (ハイブリッド) (2022.9.9).
- (67) 豊田賢治, 好奇心駆動型の研究道 ～甲殻類研究から見えてきたオモシロ生命現象～. ヒューマンネットワーク高専月例会, オンライン (2022.10.20).
- (68) 豊田賢治, 甲殻類における幼若ホルモンと眼柄ホルモンの生理機能解明に関する研究. 第 46 回日本比較内分泌学会大会, 東京大学, 東京 (2022.10.30).
- (69) 豊田賢治, 甲殻類の性分化や繁殖機構の理解を目指した生態生理学. 九州大学国際農業教育研究・推進センター(CPIER)公開セミナー, 九州大学, 福岡 (2022.11.24).
- (70) 豊田賢治, 甲殻類の性分化と繁殖形質を中心とした比較生理学. 奈良女子大学セミナー, 奈良女子大学, 奈良 (2022.12.16).
- (71) 豊田賢治, 動物の性差構築メカニズム ～甲殻類の研究紹介～. 立教大学生命理学研究センターセミナー, 立教大学, 東京 (2023.3.28).
- (72) 豊田賢治・市川卓・竹内謙・山本岳男・若林香織・大平剛, 有用水産甲殻類のサイナス腺ホルモンの比較解析. 第 46 回日本比較内分泌学会大会, 東京大学, 東京 (2022.10.28-30).
- (73) 豊田賢治・伊藤丈浩・森島海斗・花崎 烈・片山秀和・岡野桂樹・大平 剛, 寄生性甲殻類フクロムシによるイワガニの疑似メス化メカニズムの解析. 第 6 回富山湾研究会, 能登勤労者プラザ, 石川 (2023.3.8-9).
- (74) 豊田賢治・若林香織・大平剛, ウチワエビとイセエビの眼柄ホルモンの生理機能解析. 日本甲殻類学会第 60 回大会, 岡山大学, 岡山 (2022.10.1-2).
- (75) 筒井英人・山脇信博・鈴木利一・鈴木信雄・千手智晴・小木曾正造・合澤 格・保科草太・丸山裕豊・木下 宰・森井康宏, 富山湾深層水中にみられる動植物プランクトンの構成とその季節変動. 日本海洋学会秋季大会, 名古屋大学, 愛知 (2022.9.3-7).
- (76) 植田賢威・赤司寛志・蓮井大貴・山岸弦記・豊田賢治・宮川信一, 温度依存型性決定動物における温度に依存しない性決定メカニズムの解析. 第 46 回日本比較内分泌学会大会, 東京大学, 東京 (2022.10.28-30).
- (77) 山本 樹・池亀美華・黒田康平・小林静静・小林 功・平山 順・川村龍矢・遠藤雅人・田渕圭章・古澤之裕・谷内口孝治・関口俊男・松原 創・矢野幸子・服部淳彦・鈴木信雄, 魚類再生ウロコへの疑似微小重力負荷による RANKL を介した骨代謝応答解析. 日本宇宙生物科学会第 36 回大会, 岐阜医療科学大学, 岐阜 (2022.9.16-18).

- (78) 山本葉月・木谷洋一郎, キジハタ体表粘液中の L-アミノ酸オキシダーゼについて. 令和 5 年度日本水産学会春季大会, 東京 (2023.3.28-31).
- (79) 山元 響・赤司寛志・豊田賢治・齋藤茂・富永真琴・宮川信一, クサガメにおける性決定と温度感受性 TRP チャネルの関連. 日本動物学会第 93 回早稲田大会, 早稲田大学, 東京 (ハイブリッド) (2022.9.8-9).
- (80) 山元 響・菅谷柚香・赤司寛志・山岸弦記・豊田賢治・齋藤茂・富永真琴・宮川信一, クサガメにおける性決定と温度感受性 TRP チャネルの関わり. 生物環境イノベーション研究部門第 3 回シンポジウム, 東京理科大学葛飾キャンパス, 東京 (2022.11.22).

【研究交流】

1) 共同研究

- (1) 木谷洋一郎: カニ体液中の貝毒解毒機構について, 新潟食糧農業大学 (教授 長島裕二)
- (2) 木谷洋一郎: フグ毒結合タンパク質のリコンビナント体作製, 新潟食糧農業大学 (教授 長島裕二)
- (3) 木谷洋一郎: サケ科魚類体表における抗微生物ペプチドの役割, NORD University (ノルウェー王国) (Prof. Kiron Viswanath)
- (4) 木谷洋一郎: 特徴的な微細構造による生物付着抑制技術について, NECTEC-TMEC (タイ王国) (Dr. Nithi Atthi)
- (5) 木谷洋一郎: L-アミノ酸オキシダーゼの構造, 東京海洋大学 (教授 石崎松一郎)
- (6) 木谷洋一郎: 恐怖刺激がアフリカツメガエル脳へ与える影響, 日本大学 (教授 森 司)
- (7) 木谷洋一郎: ハタハタ体表粘液の生理活性物質について, 秋田大学 (助教 桐明 絢)
- (8) 木谷洋一郎: 魚類体表粘液における抗菌活性物質の探索, プリンズオブソクラー大学 (タイ王国) (Assistant professor ジャリーポン・ルアングスリ)
- (9) 関口俊男: 原索動物カルシトニン機能の研究, 基礎生物学研究所形態形成部門 (助教 高橋弘樹)
- (10) 関口俊男: 原索動物神経ペプチドの研究, 千葉大学大学院融合科学 (准教授 小笠原道生)
- (11) 関口俊男: ヌタウナギカルシトニンの機能解析研究, 国立遺伝学研究所 (教授 工樂樹洋)
- (12) 関口俊男: インドール化合物の放射線防御機構解明, 福井県立大学看護福祉学部 (教授 水谷哲也)
- (13) 関口俊男: インドール化合物の放射線防御機構解明, 富山大学大学院医学薬学研究部 (助教 趙 慶利)
- (14) 関口俊男: ペプチドの薬理学的研究, オタゴ大学 (ニュージーランド) (Prof. Debbie L. Hay)
- (15) 関口俊男: イカの腸内細菌についての研究, イェール NUS カレッジ (シンガポール) (Prof. Steve B. Pointing)
- (16) 関口俊男: アカエイカルシトニンの生理作用についての研究, 岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所 (教授 坂本竜哉)
- (17) 関口俊男: ヒラムシ GPCR の認識機構に関する研究, 岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所 (准教授 坂本浩隆)

- (18) 関口俊男：ナйкаイムチョウウズムシのカルシトニンに関する研究，岡山大学理学部附属牛窓臨海実験所（准教授 濱田麻友子）
- (19) 関口俊男：軟骨魚類における血中カルシウム濃度調節機構の研究，東京大学大気海洋研究所（教授 兵藤 晋，助教 高木 互）
- (20) 関口俊男：芳香族炭化水素受容体の分子機能についての研究，埼玉県立がんセンター 臨床腫瘍研究所（研究員 生田統悟）
- (21) 関口俊男：ヌタウナギカルシトニン受容体機能に関する研究，公益財団法人サントリー生命科学財団・生物有機科学研究所・統合生体分子機能研究部（研究員 松原 伸）
- (22) 鈴木信雄：魚類の副甲状腺ホルモンに関する研究，メルボルン大学（オーストラリア）（Prof. T. John Martin），RMIT 大学（オーストラリア）（Prof. Janine A. Danks）
- (23) 鈴木信雄：魚類のカルセミックホルモン（カルシトニン，ビタミン D，スタニオカルシン）に関する研究，ゴラクプール大学（インド）（Prof. Ajai K. Srivastav）
- (24) 鈴木信雄：重金属の骨芽・破骨細胞に及ぼす影響：ウロコのアッセイ系による解析，国立水俣病研究センター生理影響研究室（室長 山元 恵），東京慈恵会医科大学（教授 高田耕司）
- (25) 鈴木信雄：ニワトリのカルシトニンレセプターのクローニングとその発現に関する研究，新潟大学農学部（教授 杉山稔恵）
- (26) 鈴木信雄：ウロコの破骨細胞に関する研究，岡山大学大学院医歯薬学総合研究科（准教授 池亀美華）
- (27) 鈴木信雄：交流磁場の骨代謝に及ぼす影響，九州大学大学院工学研究院（特任教授 上野照剛），広島大学 ナノデバイス・バイオ融合科学研究所（教授 岩坂正和）
- (28) 鈴木信雄：超音波の骨代謝に及ぼす影響，富山大学大学院医学薬学研究部（特任教授 近藤 隆），富山大学研究推進機構研究推進総合支援センター（教授 田淵圭章），昭和大学（准教授 舟橋久幸），JAXA（主任研究員 矢野幸子）
- (29) 鈴木信雄：歯の石灰化に関する研究，鶴見歯科大学（講師 三島弘幸）
- (30) 鈴木信雄：静磁場の骨代謝に及ぼす影響，独立行政法人 物質・材料研究機構 強磁場研究センター（主任研究員 廣田憲之，特別研究員 木村史子）
- (31) 鈴木信雄：魚のウロコを用いた宇宙生物学的研究，亜細亜大学経済学部（教授 大森克徳），JAXA（主任研究員 矢野幸子），富山大学大学院理工学研究部（教授 松田恒平），公立小松大学保健医療学部（教授 平山 順）
- (32) 鈴木信雄：トリブチルスズの海域汚染に関する研究，九州大学大学院農学研究院（教授 大嶋雄治，准教授 島崎洋平）
- (33) 鈴木信雄：インドール化合物のラットの骨代謝に及ぼす影響，ハムリー（株）国際事業部（部長 関あずさ），神奈川歯科大学（特任教授 高垣裕子），朝日大学歯学部（教授 江尻貞一）
- (34) 鈴木信雄：魚類の骨代謝におけるビタミンKの作用，神戸学院大学（教授 中川公恵）
- (35) 鈴木信雄：魚のウロコで発現している遺伝子のメカニカルストレスに対する応答，富山大学研究推進機構研究推進総合支援センター（教授 田淵圭章）
- (36) 鈴木信雄：耳石の石灰化に対するメラトニンの作用，茨城県立医療大学（教授 大西 健）
- (37) 鈴木信雄：カルシトニンの構造進化及び作用進化に関する研究，公益財団法人サントリー生命科学財団・生物有機科学研究所・統合生体分子機能研究部（主幹研究員 佐竹 炎，主席研究員 川田剛士）

- (38) 鈴木信雄：海洋細菌に関する研究，富山大学生物圏地球科学科（教授 田中大祐，講師 酒徳昭宏）
- (39) 鈴木信雄：放射線の骨に対する影響評価，放射線医学総合研究所（主任研究員 松本謙一郎），富山大学大学院医学薬学研究部（特任教授 近藤 隆，教授 田淵圭章）
- (40) 鈴木信雄：脊椎動物の破骨細胞に対するカルシトニンの作用に関する研究，松本歯科大学大学院歯学独立研究科（教授 高橋直之，准教授 山下照仁）
- (41) 鈴木信雄：黑色素胞刺激ホルモンの魚類の骨代謝に対する作用に関する研究，北里大学海洋生命科学部（教授 高橋明義），京都大学フィールド科学教育研究センター里域生態系部門（准教授 田川正朋）
- (42) 鈴木信雄：メラトニンの骨代謝に対する作用に関する研究，東京医科歯科大学教養部（教授 服部淳彦），公立小松大学保健医療学部（教授 平山 順），金沢大学生命理工学類（准教授 小林 功）
- (43) 豊田賢治：アカテガニの月周繁殖の分子基盤に関する研究，神奈川大学理学部（教授 大平 剛）
- (44) 豊田賢治：クルマエビのサイナス腺ホルモンに関する研究，神奈川大学理学部（教授 大平 剛）
- (45) 豊田賢治：スナモグリとテッポウエビの巣穴群集生態に関する研究，新潟大学佐渡自然共生科学センター臨海実験所（准教授 飯田 碧）
- (46) 豊田賢治：カイアシ類の未記載種に関する研究，広島大学竹原ステーション（特任助教 近藤裕介）
- (47) 豊田賢治：ズワイガニとベニズワイガニの最終脱皮に関する研究，水産研究・教育機構 水産技術研究所（主任研究員 山本岳男）
- (48) 豊田賢治：ズワイガニ生体アミンに関する研究，玉川大学農学部（教授 佐々木 謙）
- (49) 豊田賢治：モクズガニの浸透圧調整能に関する研究，東京農業大学生物産業学部（准教授 市川 卓）
- (50) 豊田賢治：ウチワエビとオオバウチワエビのサイナス腺ホルモンに関する研究，広島大学大学院統合生命科学研究所（准教授 若林香織）
- (51) 豊田賢治：サクラエビのサイナス腺ホルモンに関する研究，Marine Open Innovation Institute（上席主幹研究員 齋藤 禎一）
- (52) 豊田賢治：アミメノコギリガザミのサイナス腺ホルモンに関する研究，水産研究・教育機構 水産技術研究所（研究員 三田哲也）
- (53) 豊田賢治：ケガニのサイナス腺ホルモンに関する研究，東京理科大学理工学部（教授 竹内 謙）
- (54) 豊田賢治：機械学習によるケガニの雌雄判別法の開発に関する研究，東京理科大先進工学部（教授 佐竹信一）
- (55) 豊田賢治：オオヨツハマガニのサイナス腺ホルモンに関する研究，東京大学大気海洋研究所（助教 大土直哉）
- (56) 豊田賢治：甲殻類の幼若ホルモンと脱皮ホルモンの定量解析に関する研究，基礎生物学研究所トランスオミクス解析室（技術職員 森 友子）

- (57) 豊田賢治：甲殻類のマイクロ CT イメージングに関する研究，基礎生物学研究所生物機能解析センター（教授 亀井保博）
- (58) 豊田賢治：広塩性カニ類の体液調節機構に関する研究，鈴鹿工業高等専門学校生物応用化学科（教授 山口雅裕）
- (59) 豊田賢治：系統毒性学に関する研究，University of Birmingham（イギリス）（Prof. John K. Colbourne）
- (60) 豊田賢治：ミジンコの環境毒性学に関する研究，University of Parma（イタリア）（Prof. Valeria Rossi）
- (61) 豊田賢治：爬虫類の温度依存型性決定に関する研究，東京理科大学先進工学部（准教授 宮川信一）
- (62) 豊田賢治：甲殻類に対する環境医薬品の毒性影響に関する研究，高知大学農林海洋科学部（准教授 井原 賢）

2) 共同利用・共同研究（文科省）

- (1) 木谷洋一郎：魚類鰓表皮初代培養細胞に及ぼす多環芳香族炭化水素類の影響（一般研究），新潟食料農業大学 食料産業学科（教授 長島裕二）
- (2) 木谷洋一郎：魚類体表粘液を用いた環境に優しい新規抗菌剤の探索（一般研究），秋田大学大学院理工学研究科（助教 桐明 絢）
- (3) 関口俊男：「波の花」に濃集する糖質の生物地球化学的特徴に関する研究（一般研究），広島大学大学院 統合生命科学研究科（准教授 岩本洋子）
- (4) 関口俊男：PAHs が生殖腺ステロイドホルモン産生に及ぼす新たな分子機序の解明（一般研究），旭川医科大学 生化学講座（講師 矢澤隆志）
- (5) 関口俊男：海洋の微生物叢と濾過摂食動物の腸内細菌叢の関係性に関する研究（一般研究），東京大学 大気海洋研究所（特任研究員 高見英人）
- (6) 関口俊男：海産無脊椎動物ホヤの PAH 応答における第 II 相解毒反応因子の解析（一般研究），長浜バイオ大学 バイオサイエンス学部（准教授 和田修一）
- (7) 関口俊男：環境 DNA による日本海で変動する無脊椎生物相モニタリングと環境汚染物質との関連性（一般研究），島根大学 生物資源学部（准教授 吉田真明）
- (8) 鈴木信雄：海産及び淡水魚類の環境汚染物質に対する毒性評価（一般国際研究），ゴラクプール大学（教授 Ajai K. Srivastav）
- (9) 鈴木信雄：海産甲殻類の幼生に対する多環芳香族炭化水素類の影響評価（一般国際研究），プリンスオブソンクラ大学（准教授 Thumronk Amornsakun）
- (10) 鈴木信雄：水酸化多環芳香族炭化水素類の毒性機構の解明：特に骨代謝に及ぼす影響評価（一般研究），富山大学（教授 田淵圭章）
- (11) 鈴木信雄：マイクロプラスチックの魚類生理に対する作用：腸内細菌によるプラスチックの分解（一般研究），富山県立大学（准教授 古澤之裕）
- (12) 鈴木信雄：多環芳香族炭化水素類の肝臓に対する毒性機構の解明（一般研究），東京医科歯科大学（教授 服部淳彦）
- (13) 鈴木信雄：富山湾深層水中の生物源粒子の長期時系列変動（一般研究），長崎大学（特任研究員 筒井英人）

- (14) 鈴木信雄：日本海産魚類の受精におよぼす多環芳香族炭化水素類の影響（一般研究），旭川医科大学（助教 春見達郎）
- (15) 鈴木信雄：能登半島に生息するヒラムシ類におけるフグ毒（テトロドキシン）の獲得経路に関する研究（一般研究），日本大学（教授 糸井史郎）
- (16) 鈴木信雄：マイクロプラスチックから溶出したスチレンオリゴマーの内分泌かく乱作用に関する研究（一般研究），長浜バイオ大学（准教授 池内俊高）
- (17) 鈴木信雄：アコヤガイの大量死を引き起こす外套膜萎縮症の原因細菌に関する研究（一般研究），富山大学（講師 酒徳昭宏）
- (18) 鈴木信雄：大気汚染物質、多環芳香族炭化水素類の時計分子による生物の初期発生の制御に対する影響の解明（一般研究），公立小松大学保健医療学部（教授 平山 順）
- (19) 鈴木信雄：地球温暖化と海洋酸性化がミズクラゲの形成にあたる影響（一般研究），北里大学（教授 三宅裕志）
- (20) 鈴木信雄：多環芳香族炭化水素類が哺乳類免疫系に及ぼす影響評価:植物由来ポリフェノール類による PAH 作用の減弱効果の検討（一般研究），石川県立大学（准教授 西本壮吾）

3) 非常勤講師

関口俊男：長浜バイオ大学バイオサイエンス学部非常勤講師，2015-現在

4) 各種活動

社会活動

- (1) 鈴木信雄：石川県環境影響評価委員会委員，2010-現在
- (2) 鈴木信雄：石川県温排水影響検討委員会，2014-現在
- (3) 鈴木信雄：日本海海洋調査技術連絡会，2014-現在
- (4) 鈴木信雄：石川県能登町小木港マリンタウン推進協議会，2010-現在

学会活動

- (1) 関口俊男：ペプチド・ホルモン研究会 世話人，2014-現在
- (2) 関口俊男：日本動物学会 男女共同参画委員，2017-現在
- (3) 関口俊男：日本動物学会 中部支部会 会計，2020-現在
- (4) 関口俊男：Frontiers in Endocrinology (Experimental Endocrinology) Associated editor 2021-現在
- (5) 鈴木信雄：日本動物学会 中部支部長，2021-現在
- (6) 鈴木信雄：日本宇宙生物科学会 代議員，2012-現在
- (7) 鈴木信雄：Journal of Experimental Zoology part A (Editorial board), 2014-現在
- (8) 鈴木信雄：International Journal of Zoological Investigations (Editorial board), 2017-現在
- (9) 鈴木信雄：International Journal of Biological and Environmental Investigations (Editorial board), 2021-現在
- (10) 鈴木信雄：International Journal of Environmental Research and Public Health (Gest Editor), 2019-2020
- (11) 鈴木信雄：American Journal of Agricultural and Biological Sciences (Gest Editor), 2019-2020
- (12) 豊田賢治：日本比較内分泌学会 学術誌編集委員，2021-現在
- (13) 豊田賢治：日本比較内分泌学会 若手交流企画委員，2021-現在

【研究費】

1) 科学研究費

- (1) 木谷洋一郎, 基盤研究 (C), 魚類 L-アミノ酸オキシダーゼの免疫調節機能: ROS シグナリング起点としての役割, 代表者, 令和 4 年度, 900 千円.
- (2) 関口俊男, 基盤研究 (C), 骨芽細胞で作られるホルモンによる破骨細胞の調節機構: 骨モデル (ウロコ) による解析 (代表: 鈴木信雄, 金沢大学), 分担者, 令和 4 年度, 100 千円 (令和 4 年度の直接経費 total 1,100 千円).
- (3) 関口俊男, 基盤研究 (B), 広塩性の扁形動物を原点に探る淡水進出における体液調節能獲得の動物界を跨ぐ新概念 (代表: 坂本竜哉, 岡山大学), 分担者, 令和 4 年度, 100 千円 (令和 4 年度の直接経費 total 3,100 千円).
- (4) 鈴木信雄, 基盤研究 (C), 骨芽細胞で作られるホルモンによる破骨細胞の調節機構: 骨モデル (ウロコ) による解析, 代表者, 令和 4 年度, 1,100 千円.
- (5) 鈴木信雄, 基盤研究 (C), 見える化した魚類の真のストレスを軽減させる炭酸麻酔の分子作用機序の解明 (代表: 松原 創, 金沢大学), 分担者, 令和 3-令和 5 年度, 50 千円 (令和 3 年度の直接経費 total 1,300 千円).
- (6) 鈴木信雄, 基盤研究 (C), 超音波による細胞機能制御に関する miRNA の役割解明 (代表: 田淵圭章, 富山大学), 分担者, 令和 2-令和 4 年度, 50 千円 (令和 4 年度の直接経費 total 1,170 千円).
- (7) 鈴木信雄, 基盤研究 (C), 科学実験・観察を活用した新たな海洋ゴミ教育プログラムの実践と検証 (代表: 浦田 慎, 金沢大学), 分担者, 令和 2-令和 4 年度, 100 千円 (令和 3 年度の直接経費 total 650 千円).
- (8) 鈴木信雄, 基盤研究 (C), 七尾湾におけるトラフグの嗅覚による産卵場の選択に関する研究 (代表: 上田 宏, 金沢大学), 分担者, 令和 2-令和 4 年度, 20 千円 (令和 3 年度の直接経費 total 1,430 千円).
- (9) 豊田賢治, 若手研究, 陸棲カニ類の半月周期性繁殖リズムを制御する分子基盤の解明, 代表者, 令和 4 年度, 1,500 千円.
- (10) 豊田賢治, 基盤研究 (A), 河川水汚染医薬品の生物影響解明に向けた薬理学・生物学・環境学的アプローチの統合 (代表: 井原 賢, 高知大学), 分担者, 令和 4 年度, 3,000 千円 (令和 4 年度の直接経費 total 12,500 千円).
- (11) 豊田賢治, 基盤研究 (B), 半月周期性産卵リズムの形成機構: 潮汐を伝える体内時計の関わりと分子基盤の解明 (代表: 安東宏徳, 新潟大学), 分担者, 令和 4 年度, 150 千円 (令和 4 年度の直接経費 total 2,340 千円).
- (12) 豊田賢治, 基盤研究 (C), ズワイガニ類の最終脱皮メカニズムの解明 (代表: 山本岳男, 水産研究・教育機構, 水産技術研究所), 分担者, 令和 4 年度, 250 千円 (令和 4 年度の直接経費 total 1,200 千円).

2) 研究助成金等

- (1) 木谷洋一郎, 日本海学グループ支援事業, 海産高級魚キジハタの魚病菌暴露時における遺伝子発現の変化, 令和 4 年度, 295 千円.

- (2) 小木曾正造, 公益財団法人水産無脊椎動物研究所 2022 年度個別研究助成, 特異的に浅海に生息するマシコヒゲムシ (環形動物シボグリヌム科) の光環境への適応に関する研究, 代表者, 令和 4 年度, 700 千円.

3) 共同研究費

- (1) 鈴木信雄, 海洋深層水に含まれる微量有機物質の利活用, 赤穂化成工業 (株) との共同研究, 代表者, 1,500 千円
- (2) 鈴木信雄, 海洋動物のプラスチック標本の技術開発と利用, 歩健学研究所との共同研究, 代表, 79,200 円
- (3) 鈴木信雄, 海洋動物のプラスチック標本の技術開発と利用, アクアマリン福島との共同研究, 代表, 79,000 円
- (4) 豊田賢治, 有用海産甲殻類の成長と生殖を制御する内分泌動態の解明, 基礎生物学研究所統合ゲノミクス共同利用研究, 代表, 220.36 千円
- (5) 豊田賢治, オオヨツハモガニをモデルとしたクモガニ科甲殻類の最終脱皮の生理機構, 東京大学大気海洋研究所共同利用研究, 代表, 126 千円

【新聞発表等】

- (1) 小木曾正造, 令和4年5月7日 (読売新聞): 身近な海の新発見 (マシコヒゲムシ)
- (2) 小木曾正造, 令和4年6月19日 (読売新聞): ひと模様 (操縦や採集 仕事に誇り)
- (3) 鈴木信雄, 令和4年6月2日 (北國新聞): スルメイカの解剖学習 (対象: 能登町立小木小学校 4及び5年生)
- (4) 鈴木信雄, 令和4年7月25日 (北陸中日新聞): 海綿動物に関する市民講演会 (金沢海みらい図書館)
- (5) 鈴木信雄, 令和4年7月25日 (北國新聞): 海綿動物に関する市民講演会 (金沢海みらい書館)
- (6) 鈴木信雄, 令和4年8月6日 (北國新聞): クルマエビの殻の石灰化に関する研究
- (7) 鈴木信雄, 令和4年8月27日 (北國新聞): 第一回公開臨海実習 (対象: 全国の大学生)
- (8) 鈴木信雄, 令和4年12月16日 (北國新聞): スルメイカの解剖学習 (対象: 能登町立能都中学校2年生)
- (9) 鈴木信雄, 関口俊男, 木谷洋一郎, 令和4年9月1日 (北國新聞): 第二回公開臨海実習 (対象: 全国の大学生)

【利用状況】

1) 利用者数

利用数 64回、利用者数 477人、延べ利用者数 5,170人、利用機関数 44機関 (30大学)

国立大学：金沢大学、新潟大学、東京大学、筑波大学、富山大学、旭川医科大学、東北大学、長崎大学、東京海洋大学、山梨大学、鹿児島大学、室蘭工業大学、高知大学、奈良女子大学、奈良教育大学、北海道大学、九州大学（17校）

公立大学：なし

私立大学：北里大学、富山国際大学、大妻女子大学、近畿大学、金沢工業大学、長浜バイオ大学、東京理科大学、神奈川大学（8校）

外国大学：国立台湾大学、イェール大学シンガポール校、モンゴル国立大学、ハワイ大学、ゴラクプール大学（5校）

大学共同利用機関法人：なし

高等専門学校：なし

高等学校：石川県立七尾高等学校、長野県松本県ヶ丘高等学校、石川県立二水高等学校、富山県立砺波高等学校（4校）

小中学校：小木小学校（1校）

その他の機関：歩健学研究室、一般社団法人能登里海教育研究所、魚津水族館、富山テレビ、アール・タチバナ株式会社、株式会社ビーンズ・クリエイティ、能登里山里海マイスターネットワーク、Tara Ocean Japan、公益財団法人金沢子ども科学財団（9施設）

2) 船舶の使用状況

令和4年度臨海実験施設船舶使用回数及び人数（延べ回数 107回、人数 624人の内訳）

(月)	くろさぎ				あおさぎ			
	学内利用		学外利用		学内利用		学外利用	
	回数	人数	回数	人数	回数	人数	回数	人数
4	4	10	0	0	0	0	0	0
5	8	21	0	0	3	8	3	23
6	7	28	2	19	5	32	2	24
7	4	13	0	0	5	30	4	97
8	5	25	2	15	5	40	4	93
9	5	11	2	15	3	18	2	15
10	5	10	0	0	1	5	0	0
11	4	12	0	0	1	1	0	0
12	2	4	0	0	1	1	0	0
1	2	4	0	0	1	4	0	0
2	3	7	1	1	1	6	0	0
3	7	22	2	9	1	1	0	0
合計	56	167	9	59	27	146	15	252

研 究 報 告

*** キンギョのカルシトニンの生殖生理における役割に関する研究**

黒田康平, 鈴木信雄 (p 22-23)

*** アカテガニの生理・生態学的な研究**

川村龍矢, 鈴木信雄 (p 24-25)

*** ゼブラフィッシュにおけるL-アミノ酸オキシダーゼの役割について**

岩間瑛人, 木谷洋一郎 (p 26-27)

*** 魚類抗菌性L-アミノ酸オキシダーゼの産生機構：組織間および組織内分布について**

山本葉月, 木谷洋一郎 (p 28-29)

*** 臨海実験施設周辺における海水温と塩分、気温と湿度（2023年度）**

小木曾正造, 渡部雪菜 (p 30-31)

キンギョのカルシトニンの生殖生理における役割に関する研究

黒田康平, 鈴木信雄

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設
Kouhei KURODA, Nobuo SUZUKI: Studies on the role of calcitonin in the reproductive physiology of
goldfish

Background

Calcitonin (CT) is a peptide hormone consisting of 32 amino acid residues involved in calcium (Ca) metabolism. In mammals, it decreases plasma Ca concentration by suppressing osteoclast activity, and similar function is also observed in fish. CT is secreted by C cells of the thyroid gland in mammals and by the ultimobranchial gland (UBG) in non-mammalian vertebrates.

Our laboratory has previously reported the existence of two types of CTs, type I and type II (CTI and CTII), in goldfish: CTI has been isolated from UBG and its amino acid sequence has been determined, and the structure of CTII has been determined from genomic DNA.

Regarding the physiological dynamics of CT, previous reports have shown that (1) there is a correlation between plasma CT levels and plasma Ca concentration, and between plasma CT levels and GSI (gonadal weight to body weight ratio) only in female goldfish, (2) CT levels increase markedly before ovulation in eels and salmonids, and (3) plasma CT levels are significantly increased in goldfish and salmonids during the breeding season only in females, suggesting that CT may play a role in reproductive physiology. However, the reproductive physiological roles of CTI and CTII have not yet been reported. In this study, we conducted two experiments to elucidate the differences in CT secretion patterns between males and females during the breeding season and the respective roles of the two types of CTs in reproductive physiology.

Experiment 1

In the first experiment, we quantified the expression levels of CTI, CTII, and CaSR in the UBG of female goldfish during mating season, as well as biochemical parameters such as plasma CT and plasma Ca concentrations, and examined their relevance to reproductive physiology. CaSR is a G-protein coupled receptor that senses extracellular Ca ion concentrations, and its function of sensing elevated Ca concentrations and promoting CT secretion from UBG may provide a clue to the relationship between CT and Ca concentrations.

The secretion of estrogen (E2: estradiol), which peaks in female goldfish during mating season, is another factor that promotes CT secretion and must be taken into account when considering the relationship between reproductive physiology and CT. In fish, E2 is known to promote osteoclast activity in scales. In the second experiment, we focused on scales as a target of CT and analyzed the mRNA expression of CTI and CTII in scales. In addition, we analyzed the effect of E2 on CT mRNA expression.

Experiment 2

Male and female goldfish with developed gonads were used as experimental material. The blood of anesthetized goldfish were collected with a heparinized syringe, then centrifuged at 2500 x g for 10 minutes to obtain plasma, which was used to measure plasma CT and plasma Ca concentrations; CT concentration was

measured by ELISA based on the method of Suzuki, (2001), and Ca concentration was measured using a commercially available kit. The goldfish were then dissected and the gonads and UBG were set aside. The gonads were weighed to calculate GSI (gonad weight/body weight x 100); from UBG, total RNA was prepared using a kit, followed by cDNA synthesis, and amplification was analyzed using a real-time PCR system.

Both plasma CT and plasma Ca concentrations were significantly higher in females than in males. Similarly, the expression of CaSR in UBG was higher in females. On the other hand, the expression of CTI and CTII in UBG was not significantly different between males and females. We also examined the correlation between the expression levels of CTI and CTII and the plasma CT and plasma Ca concentrations and GSI, respectively, and found significant correlations only in females for CTI expression and plasma CT concentration, CTII expression and plasma CT concentration, plasma CT concentration and plasma Ca concentration, and plasma CT concentration and GSI, but not in males.

The results of the CaSR expression analysis suggest that female goldfish may be more sensitive than males to changes in blood Ca concentrations. High CaSR expression in females during mating season may help to regulate Ca concentrations elevated by E2. In UBG, the expression of the two CTmRNAs was similar in males and females, suggesting that they are stored in similar amounts as proteins. However, due to the CaSR-mediated secretion enhancement mechanism, the amount of CT released into the blood is also expected to be higher in females with higher CaSR expression than in males.

Experiment 3

The expression levels of CTI and CTII in scales were analyzed by quantitative PCR after isolation of total RNA and synthesis of cDNA from crushed goldfish scales according to the method described above. To evaluate the effect of E2 on CT expression, we used regenerated goldfish scales that had been debrided and allowed to regenerate for 14 days. The regenerated scales were pre-incubated in L-15 medium for 1 hour at 15°C, then incubated in L-15 medium containing E2 for 6 hours, immersed in RNA later, and stored at -80°C. Later, CTmRNA expression was analyzed according to the method described above.

The quantitative PCR results showed that CTI was not expressed in the scales, but only CTII was expressed. The expression levels were not significantly different between males and females. On the other hand, the expression of CTII in E2-treated scales was significantly higher than in the control.

These results suggest that CTI produced by UBG and CTII produced by scales in both male and female goldfish scales permanently suppress osteoclast activity, while CTII expression from scales is temporarily enhanced in addition to CTI expression from UBG during the mating season when E2 secretion peaks in females. This role of CTII is likely due to its role in the mating cycle. This role of CTII may be a defense mechanism in female scales during mating season to prevent excessive Ca release by E2 and to avoid structural weakening of their scales.

Conclusions

In female goldfish during the mating season, the increase in blood Ca concentration due to increased osteoclast activity in scales associated with peak E2 secretion is sensed by higher CaSR expression in the UBG (mainly type I), which regulates blood Ca concentration. In addition, only CTII is expressed in scales, and its expression is enhanced by E2, helping to inhibit excessive Ca leaching from scales during the breeding season.

本研究は、金沢大学生命理工学類 黒田康平氏の学位論文の一環として行われた。

アカテガニの生理・生態学的な研究

川村龍矢, 鈴木信雄

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設

Ryoya KAWAMURA, Nobuo SUZUKI: Physiological and ecological study of red clawed crab, *Chiromantes haematocheir*

Background

The red-clawed crab *Chiromantes haematocheir* (DE HAAN) (Figure 1) is a crustacean belonging to the decapod family Crassulaceae, and inhabits coasts and forests from mainland to southwest Islands in Japan. Adults of the Red-clawed crab live in forests, but they have a unique life history in which they temporarily live in the sea during the growth process from the zoea and megalopa stages until they become juvenile crabs. On the other hand, Tsukumo Bay in Noto Town, Ishikawa Prefecture has a long coastline and a drowning valley topography with forests



Figure 1.
Photograph of male red-clawed crab, *Chiromantes haematocheir* collected in the coastal forests of Tsukumo bay.

near the sea. Therefore, in this study, I focused on the physiological and ecological characteristics of the larvae of the Red-clawed crab inhabiting Tsukumo Bay, Noto Peninsula.

Methods

I collected female red-clawed crabs that laid eggs on the coast of Tsukumo Bay, Noto Peninsula. Zoea larvae were obtained by artificially letting offspring of the crabs. Subsequently, the zoea larvae were placed in a petri

dish, and artificially reared by feeding S-type rotifers, until megalopa larvae were reared. Larvae were sampled during the rearing period and placed in RNAlater for cryopreservation. Total RNA was extracted from the sampled larvae, reverse transcription was performed, and qPCR was performed to analyze the gene expression of the red-clawed crab larvae.

Expression analysis used Na⁺/K⁺-ATPase: *nka*, which is known to be involved in osmotic regulation. The sequence of *nka* was determined by RNAseq analysis. On the other hand, research on rhythm was also carried out along with ecological surveys. I set up a trap in Tsukumo Bay and investigated the return pattern of megalopa larvae in comparison with the tidal rhythm. To further investigate the intrinsic rhythm, the clock genes *perl* and *timeless* were sequenced from RNAseq data and expressed by qPCR.

Results and Discussion

In this study, I first focused on the osmoregulatory function. The salt tolerance of newly released zoea larvae in captivity was investigated, and it was found that the zoea larvae immediately adapted into hypersaline environment after hatching, and that the salinity range of 9 to 33 PSU does not affect their survival. Therefore, I investigated the changes in *nka* expression levels during the developmental process from zoea larvae to megalopa larvae by qPCR method. The expression level of *nka* tended to be lower in megalopa larvae than in zoea larvae. It is expected that megalopa larvae have reduced adaptability to seawater, and may be related to megalopa larvae returning to shore.

On the other hand, traps for megalopa larvae were set up at multiple locations in Tsukumo Bay, and the patterns of megalopa larvae returning to the shore were investigated. Therefore, I focused on the rhythm of red-clawed crab larvae and examined it using multiple clock genes. As a result, it was found that zoea larvae have a 24-hour cycle expression rhythm for *perl* and *timeless*, suggesting that zoea larvae have an intrinsic rhythm. In the future, I will be planning to investigate the relationship between tidal rhythms and changes in the expression of clock genes.

From the above, it was found that there was a change in the osmoregulatory function during the larval stage of the red-clawed crab, and that this change was accompanied by a change in the expression level of *nka*, which is involved in osmoregulation. In addition, it is possible that the endogenous rhythm of red-clawed crab larvae is related to the observed return to shore in the spring tide of megalopa larvae.

本研究は、金沢大学自然科学研究科 川村龍也氏の修士論文の一環として行われた。

ゼブラフィッシュにおけるL-アミノ酸オキシダーゼの役割について

岩間瑛人, 木谷洋一郎

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設

Akihito IWAMA, Yoichiro KITANI: Biological roles of L-amino acid oxidase in zebrafish *Danio rerio*

Introduction

The immune system of animals consists of both acquired and innate immune systems. Fishes have a target-specific acquired immune system that uses antibodies, but it is less developed rather than that of mammals. To compensate for this, fish's innate immune system—which acts nonspecifically against pathogens, is essential. The fish innate immune system is composed of various defense substances, one of which is L-amino acid oxidase (LAO). Fish LAO was identified as an antibacterial protein from the body surface mucus and blood in black rockfish *Sebastes schlegelii*, Atlantic cod *Gadus morhua*, red-spotted grouper *Epinephelus akaara*, et cetera. This enzyme catalyzes the oxidative deamination of L-amino acids and converts them to α -keto acids, ammonia, and hydrogen peroxide. Hydrogen peroxide is known to act as an antimicrobial agent in fish because of its potent oxidative bactericidal effect. In addition, the LAO genes are widely identified in fish species and are induced by infection with pathogenic bacteria in Atlantic cod *G. morhua*, Atlantic salmon *Salmo salar*, hybrid tilapia *Oreochromis* spp., and zebrafish *Danio rerio*. It suggests that LAO is also an immunologically functional molecule. On the other hand, the results of the preliminary studies have revealed that LAO enzymatic activity was detected in limited fish species despite the broad range of LAO gene distribution. In this study, I try to clarify how LAO works in the “less-LAO” fish species. Based on the preliminary study, zebrafish are one of the less-LAO fish, and I used the species for the studies below: First, I identified which tissues contain the LAO gene and function as an enzyme. Second, I tried to detect the LAO protein in each tissue. Third, I developed an ultra-sensitive assay to confirm LAO enzyme activity.

Methods

LAO gene expression levels in each tissue (skin, gill, kidney, liver, spleen, intestine and muscle) of zebrafish were measured. Total RNA was extracted from each zebrafish tissue using ISOGEN (Nippon Gene Corporation, Tokyo, Japan). The cDNA was synthesized using the total RNA and reverse transcriptase, and PCR was

performed using zebrafish LAO gene-specific primers that were designed based on the database information. PCR was also performed with primers for the housekeeping gene *rpl13a* as a positive control. LAO protein in each zebrafish tissue extract was confirmed by Western blotting with a custom-made zebrafish LAO-specific antibody. The tissue extracts were prepared from skin, gill, kidney, liver, spleen, intestine, and muscle using beads tissue disruptor. The supernatants of the homogenates were used as the extracts. The extracts were applied onto SDS-PAGE and blotted to PVDF membrane; subsequently, LAO was reacted with the anti-LAO antibody and its secondary antibody. The positive bands were visualized using diaminobenzidine as a chromophore.

For future work, the fluorescent HPLC-based high-sensitive LAO assay was developed to detect feeble LAO activity in the samples. The principle of this method was based on the coumarin-Fenton reaction system—the hydroxy radical generated from hydrogen peroxide by the Fenton reaction converted non-fluorescent coumarin to fluorescent 7-hydroxyl coumarin. To compare the sensitivity of both the conventional colorimetric ortho-phenylenediamine/peroxidase (OPD-POD) method and the HPLC method, I used the dilution series of the grouper *Epinephelus akaara* serum as known LAO sample with/without substrate amino acid.

Results and Discussions

The results of PCR showed that *rpl13a* was expressed in all tissues, whereas LAO gene was detected in all tissues, but the expression level was varied. Especially skin and gills were detected from all test specimens. It is reasonable to understand about the host-defense mechanism by LAO, to avoid invading the pathogenic bacteria from these tissues. In contrast, Western blotting results suggested that LAO protein was not detected in any tissue extracts, because LAO protein amount could be very less in healthy zebrafish.

A newly developed fluorescent HPLC-based LAO assay successfully detected 0.51 μM of the LAO-born hydrogen peroxide in 1/3,000 dilution of *E. akaara* serum. In contrast, the conventional method could minimally detect 69.4 μM in 1/300 serum. These results suggested that the fluorescent HPLC method may have a 100 times higher sensitivity of hydrogen peroxide detection than the conventional method. However, the enzyme amount was only ten times higher than that. I will try to optimize the more low-concentration LAO enzymatic activity. In addition, the LAO activities in zebrafish tissues have to be measured using the Fluorescent HPLC-based LAO activity measurement. The conditions for induction of the LAO gene are also examined to confirm the expected role of LAO as a biological defense substance in zebrafish. In addition, the role of LAO in less-LAO fishes will be investigated, not only in the direct bactericidal action of the produced hydrogen peroxide but also in its involvement in redox signal transduction related to immunity.

本研究は、金沢大学生命理工学類 岩間瑛人氏の学士學位論文の一環として行われた。

魚類抗菌性 L-アミノ酸オキシダーゼの産生機構： 組織間および組織内分布について

山本葉月，木谷洋一郎

〒927-0553 鳳珠郡能登町小木 金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設

Hazuki YAMAMOTO, Yoichiro KITANI:

Production mechanisms of fish antibacterial L-amino acid oxidase: Inter- and intra-tissue distribution

Background

L-amino acid oxidases (LAOs) are potent hydrogen peroxide generators. LAOs oxidize an L-amino acid to α -keto acid during the reaction, generating an equal number of ammonia and hydrogen peroxide as by-products. LAO shows a variety of bioactivities such as apoptosis, antiprotozoal and antibacterial activity. Those activities are because of the resulting-hydrogen peroxide. In our previous work, LAOs were found as antibacterial protein from the body surface mucus and serum of the rockfish *Sebastes schlegelii*. In addition, the antibacterial LAOs were also found in several fish species, and these LAO could work as host defense molecules. Recently, we found a novel antibacterial LAO from the serum of the red-spotted grouper *Epinephelus akaara*. The grouper serum LAO (EaLAO) was isolated from the red-spotted grouper serum with 450 kDa molecular weight consisting of 67 kDa subunits. EaLAO had unique substrate specificity that reacted with several amino acids such as L-tryptophan, L-phenylalanine, L-methionine, and L-alanine. Interestingly, EaLAO showed the salt-dependent activity regulation mechanism to avoid the harmful effect of the LAO byproducts in the grouper blood. In addition, the EaLAO gene was dominantly expressed in the liver and distributed in the skin and gills. In this work, to understand the biological and immunological meanings of the LAO in the grouper, I try to reveal the tissue distribution of the grouper LAO. In addition, I compared the enzymatic characters between serum LAO and skin mucus LAO.

Methods

To evaluate the inter-tissue distribution of the grouper LAO, I prepare the tissue extracts from the several tissues of the grouper. LAO activity of these extracts was measured by o-phenylenediamine and peroxidase method with L-tryptophan as the LAO substrate. In addition, the LAO protein in the extracts was visualized by

western blotting with a custom-made anti-grouper LAO antibody. I examined immunohistochemistry and *in situ* hybridization to examine the intra-tissue distribution of the grouper LAO protein and gene. The fresh frozen tissue slices were applied to both experiments. The anti-grouper LAO antibody was used for the immunohistochemistry same as western blotting. For the *in situ* hybridization, the digoxigenin-labeled cRNA probe was prepared and used. Tissues were selected by the Western blotting results and previous gene expression results. Based on the tissue distribution results, I examined the biochemical differences among the serum, skin mucus and gill raker mucus LAO. The substrate specificity of these LAOs was assessed by the LAO activity assay with 20 kinds of proteinogenic amino acids. To compare the salt-dependent activation of the LAO between serum and skin mucus, the activity was measured with/without NaCl. The molecular weight of serum and skin mucus LAO was estimated using gel-filtration HPLC.

Results and Discussions

LAO activity with L-tryptophan was detected in the skin, gill and intestine except for serum. The apparent activity was not detected in other tissue extracts such as muscle, stomach, liver, spleen, kidney, brain, and heart. In contrast, the Western blotting analysis showed that the EaLAO cross-reactive bands were detected in skin, gill, kidney, heart; and serum and slightly detected all tested tissues. Both LAO activity and protein were not detected in the liver despite its gene existence. EaLAO cross-reactive positive findings were observed in the skin, gills, kidney, liver, spleen, and heart by immunohistochemistry. These results suggested that the broad range of the inter-tissue distribution of the EaLAO cross-reactive protein was not only contamination of the serum but also protein localization. The intra-tissue protein distribution was supported by the local gene expression using *in situ* hybridization of EaLAO mRNA. In liver-dominantly EaLAO gene-expressed tissue, the LAO gene was locally expressed in sinusoidal pericyte. And the LAO protein localized the same structure. This suggests that LAO in the blood is produced in the sinusoidal pericyte and released into the blood. In the skin and gills, the LAO gene was localized at the basal epithelial cells and the gill lamella epithelium, respectively. Based on the above results, body surface LAOs were not transferred via blood flow but locally generated and functioned. The enzymatic characters of the skin mucus LAO were different from EaLAO. It reacted with basic amino acids and was active without NaCl. In addition, the molecular weight of the skin mucus LAO was estimated to be 260 kDa. Taken together, the grouper locally produces different types of LAOs and use them as functional molecules in the right place.

本研究は、金沢大学自然科学研究科 山本葉月氏の修士学位論文の一環として行われた。

臨海実験施設周辺における海水温と塩分、気温と湿度（2022年度）

小木曾正造¹，渡部雪菜²

¹〒927-0553 鳳珠郡能登町小木，金沢大学 総合技術部 環境安全部門，

²〒927-0553 鳳珠郡能登町小木，金沢大学 環日本海域環境研究センター 臨海実験施設

Shouzo OGISO, Yukina WATABE : The observation of seawater temperature, salinity, atmospheric temperature and humidity around the Noto Marine Laboratory (Apr. 2022 – Mar. 2023)

【はじめに】

金沢大学環日本海域環境研究センター臨海実験施設では、2013年10月から気象観測を継続して行っている。2022年度は2022年4月1日0時から2023年3月31日23時まで1時間おきに、海水温と塩分を研究棟前の浮き桟橋下にて、気温と湿度を宿泊棟前にて測定した。JFEアドバンテック株式会社製「INFINITY-CTW」を用いて水深0.5mで水温（精度±0.01℃、分解能0.001℃）と電気伝導度（精度±0.01 mS/cm、分解能0.001 mS/cm）を測定し、電気伝導度を実用塩分に換算した。株式会社ハイドロシステム開発社製「Rugged TROLL 100」を用いて水深5.0m及び7.5mの水温（精度±0.3℃、分解能0.01℃）を測定した。Vaisala社製「HMP-155D」を用いて気温（精度-80～+20℃：±（0.226-0.0028×温度）℃、+20～+60℃：±（0.055+0.0057×温度）℃）と湿度（+15～+25℃：±1%RH（0～90%RH）、±1.7%RH（90～100%RH）、-20～+40℃：±（1.0+0.008x読み値））を測定した。観測データは臨海実験施設のWebサイトにて公開している。

【結果と考察】

測定回数：水深0.5mと7.5mの海水温と水深0.5mの実用塩分は欠測なく全8760時点で測定した。水深5.0mの海水温はロガーの固定ミスによる脱落により、6月7日10時から7月5日9時までの672時点で欠測が生じた。気温と湿度では、機器の動作異常により測定されない時点が多く、測定できたのは4103時点と4071時点でいずれも半数以下だった。各測定項目において、欠測が生じた月では月別の平均値は求めなかった。

海水温：年間平均水温は水深0.5m、7.5mでそれぞれ18.90℃、18.7℃で観測を開始してから最も高かった。月別平均水温は水深0.5m、5.0m、7.5mとも8月に最も高く、それぞれ28.32℃、27.9℃、27.8℃だった（Figs. 1, 2, 3）。月別平均水温の最低値は、水深0.5mで2月の11.47℃、5.0mで3月の11.6℃、7.5mで2月と3月の11.8℃で、いずれの水深でも3月の平均水温がこれまでで最も高かった。月別平均水温は、いずれの水深でも8月以降は過去の平均値よりも高く推移し、特に7月、9月、3月では1℃以上高かった。

年間の最高水温は水深0.5mで8月1日15時の31.51℃、5.0mで8月1日23時の29.3℃、7.5mで8月2日0時の28.9℃を観測した。最低水温

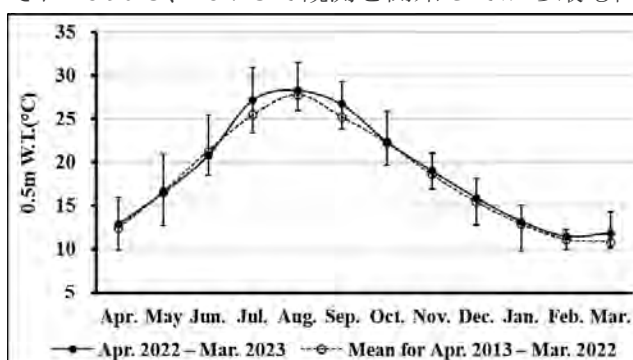


Fig. 1. Monthly mean water temperature at a depth of 0.5 m. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for Apr. 2022 – Mar. 2023.

は水深 0.5 m で 1 月 30 日 5 時の 9.73°C、5.0 m は 4 月 2 日 7 時から 12 時までの 10.6°C、7.5 m は 4 月 2 日 1 時から 7 時までの 10.7°C だった。30.0°C 以上の水温が測定された時点数は、水深 0.5 m は 45 時点、5.0 m と 7.5 m では 0 時点だった。10.0°C 以下は 0.5 m で 7 時点、5.0 m と 7.5 m では 0 時点だった。

実用塩分: 年間の平均値は 33.24 で、最高値は 6 月 30 日 0 時の 34.31、最低値は 8 月 20 日 16 時の 22.58 だった。月別平均値は 6 月が最も高く 33.97 を示し、9 月が最も低くて 32.13 だった (Figure 4)。4 月と 8 月、9 月は過去の平均値よりも低い値を示し、7 月は過去の平均値よりも 0.79 高かった。

気温と湿度: 上記のとおり欠測が多く、欠測のない月がなかったため月別平均値のグラフを作成できなかった。特に 10 月以降に欠測が多く、電源供給システムの経年劣化が考えられるため、更新を検討している。

1 日間における温度差: 1 日 24 時点内における各水深の海水温の最高値と最低値の差の各月平均値を Figure 5 に示す。水深 0.5 m の温度差の月別平均は 0.74°C から 1.65°C の間で変化していた。水深 7.5 m の温度差は 7 月が大きく、平均 1.3°C だった。水深 5.0 m、7.5 m とともに 10 月以降は差が小さくなり、0.2°C から 0.4°C の間で推移した。1 日間での温度差が最大だったのは、水深 0.5 m は 12 月 6 日で 3.40°C、水深 5.0 m と水深 7.5 m は 7 月 13 日で、3.8°C と 4.2°C だった。

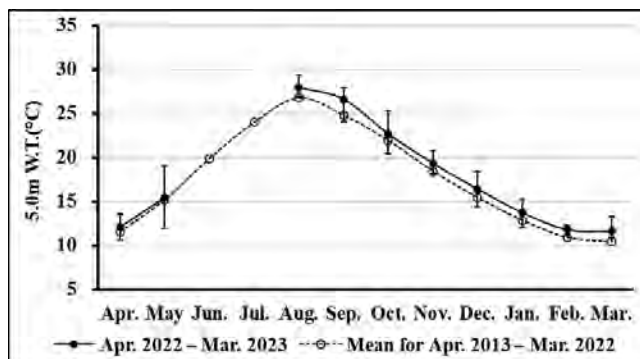


Fig. 2. Monthly mean water temperature at a depth of 5.0 m. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for Apr. 2022 – Mar. 2023.

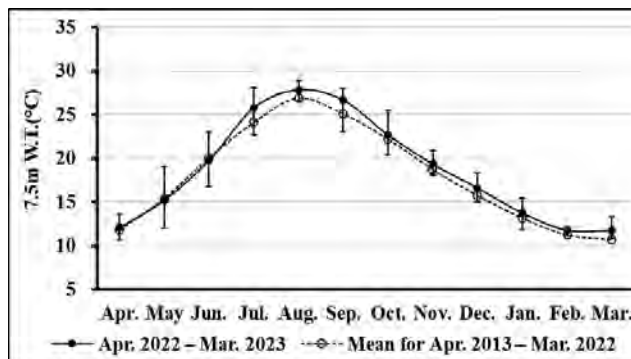


Fig. 3. Monthly mean water temperature at a depth of 7.5 m. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest temperatures for Apr. 2022 – Mar. 2023.

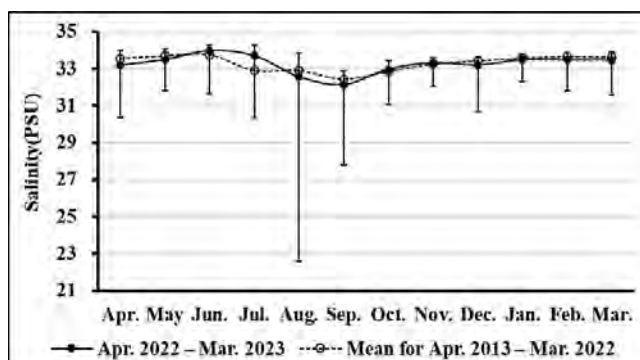


Fig. 4. Monthly mean salinity at a depth of 0.5 m. Vertical bars indicate the range of the highest and lowest salinity for Apr. 2022 – Mar. 2023.

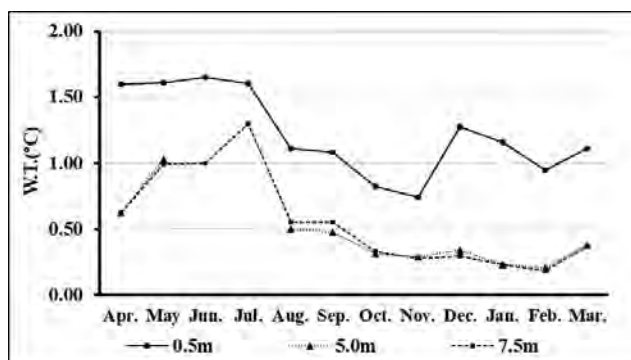


Fig. 5. Monthly mean of difference between highest temperature and lowest temperature for one-day.

【構成員】

1) 教員

教授（施設長）	鈴木信雄（nubuos@staff.kanazawa-u.ac.jp） 博士（理学） 専攻 環境生物学，比較生理学，骨学 （生理活性物質，環境汚染物質及び物理的刺激の骨に対する作用と海産無脊椎動物・海産魚類の生理活性物質の分子進化を研究している）
准教授	関口俊男（t-sekiguchi@se.kanazawa-u.ac.jp） 博士（医学） 専攻 比較内分泌学，環境生理学 （海産動物の神経・内分泌系について，分子進化及び生理機能進化の観点で研究している）
助教	木谷洋一郎（yki@se.kanazawa-u.ac.jp） 博士（水産学） 専攻 魚類免疫学，生化学，環境生理学 （魚類の粘膜組織における生体防御機構，とくに自然免疫機構について研究している）
特任助教	豊田賢治（toyotak@se.kanazawa-u.ac.jp） 博士（理学） 専攻 生理生態学，環境毒性学，比較内分泌学 （甲殻類を中心とした水棲無脊椎動物の性形質についてその生態的意義や発生理機構について研究している）

2) 職員

技術職員	小木曾正造（shozoogiso@se.kanazawa-u.ac.jp） 専門 海産無脊椎動物一般
技術補佐員	渡部雪菜 令和5年3月31日退職
事務補佐員	曾良美智子（msora@se.kanazawa-u.ac.jp）

3) 学生

4 年生

岩間瑛人
黒田康平

修士課程 1 年

坂井考嘉

修士課程 2 年

川村龍矢
端野開都
山本葉月

博士課程 3 年

小木曾正造
山本 樹

4) 客員教授

井口泰泉
大嶋雄治

5) 連携研究員

上田 宏
浦田 眞
木下靖子
坂井恵一
笹山雄一
清水宣明
染井正徳
布村 昇
平山 順
三宅裕志
安田 寛
谷内口孝治
山田外史



金沢大学
環日本海域環境研究センター

環日本海域環境研究センター 臨海実験施設

〒927-0553 石川県鳳珠郡能登町小木ム 4-1

TEL (0768) 74-1151 FAX (0768) 74-1644

Noto Marine Laboratory, Kanazawa University, Ogi, Noto-cho, Ishikawa 927-0553, JAPAN