

# サクラマス用リリーサー性フェロモントラップの開発

山家 秀信 [東京農業大学生物産業学部／講師(任期付き)]

## 背景・目的

魚類の性フェロモン研究はコイ科魚類によって証明されたホルモン様フェロモンが主流である。これに合致しない例がサクラマスのアミノ酸代謝物フェロモン「キヌレニン」である。しかし、キヌレニンによる100%の活性は排精しているオスの極めて狭い期間に限定されている。他の動物のフェロモン機構をみてみると主成分の他に幾つかの副成分によって相乗効果を示す。副成分の添加により強い活性を得ることができればフェロモントラップへの応用が可能となる。そこで本研究ではサクラマスを用いて、Y字型水路におけるキヌレニン単体の活性評価を行う、キヌレニン以外の副成分の分析・同定を行う、Y字型水路におけるキヌレニン+副成分による活性評価を行うことを目的とした。

## 内容・方法

先ず、Y字型水路を用いて排卵メス尿と同じ濃度のキヌレニンを上流区片棚から滴下し、上流区滞在時間や訪問回数を記録する。また、予備実験によりキヌレニン単体の効果はオスの生理的状態によって左右されることが分かっているため、行動実験終了後に採血してステロイドホルモンを測定し、ホルモン量と行動反応レベルとの相関を調べる。

既報の簡易アッセイの場合、キヌレニン単体の活性は尿と比べて8割程度であることから、相乗効果も期待される副成分が存在する可能性がある。そこで、高速液体クロマトグラフィー(HPLC)を用いて排卵メス尿、未熟メス尿、成熟オス尿を分析・比較し、アミノ酸を中心に副成分の検索を行う。また、HPLCによるキヌレニン画分以外のフラクションの簡易アッセイを行う。

Y字型水路においてキヌレニン+副成分(候補物質が複数の場合もある)の混合液を滴下し、その時の雄の行動を定量化する。その混合比は実際の尿を反映させたものである。新規作製したフェロモントラップにおいて、キヌレニンと各種混合液の活性試験を行う。

## 結果・成果

Y字型水路実験において尿含有量と同濃度のキヌレニンと蒸留水を滴下したところ、多くの成熟オスはキヌレニン滴下側へ移動したが充分な実験回数を確保できず、その傾向を示す程度に留まった。なお、行動実験終了後のオス血清中ステロイドホルモンの測定は現在進行中である。排卵メス、未熟メス、成熟オスにおける尿中のアミノ酸をHPLCにより定量したところ、排卵メスに比較的多く含まれる幾つかのアミノ酸を見出した。キヌレ

ニンとこれらアミノ酸を尿中濃度に従い混合し簡易水路での行動実験を行ったが、行動活性の相乗効果は見られなかった。当初、キヌレニン精製時における排卵メス尿のゲル濾過において、キヌレニンのピークから相当外れるが若干の行動活性を有する画分を発見した。そのピークのみを改めて精製し行動試験に供したところ、活性は弱いが明らかな効果があった。しかし、非常に微量であるため物質の精製には至らなかった。今後は質量分析計等による物質の推定が望まれる。尿中のキヌレニンをHPLCで分析する際、そのピークにやや重なり合うように前駆体のホルミルキヌレニンが検出されている。そこで、キヌレニンから合成されたホルミルキヌレニンとキヌレニンの混合溶液を行動実験に供したが、特に活性の増強などは見られなかった。また、キヌレニンの代謝物である3ハイドロキシキヌレニンをHPLC分析により発見したが、その量は個体によってかなりの変異が見られた。これが単なる個体差なのか生物学的に意味のある物質(副成分あるいは真のフェロモン主成分)なのかは不明である。

## 今後の展望

アミノ酸類の他、多くの魚種の性フェロモン候補として挙げられている性ステロイドホルモンやF型プロスタグランдинの分析を行うことで性フェロモン副成分の検索を試みる。その後、主成分キヌレニンと副成分の混合溶液による行動試験をY字型水路で行い、最終的には小規模河川において秋の産卵期に天然サクラマスで検証を行う。将来、応用としてフェロモントラップが開発できれば、生殖的に有効な親魚の選別が容易となり作業者への負担が軽減する。最後に、北海道の環境指標生物とも云えるサクラマスの性フェロモン機構が明らかになれば、一般市民への啓蒙活動にも繋がると考えている。