

(19) 日本国特許庁(JP)

(12) 公開特許公報(A)

(11) 特許出願公開番号

特開2007-47

(P2007-47A)

(43) 公開日 平成19年1月11日(2007.1.11)

(51) Int. Cl. F I テーマコード (参考)
 AO1K 61/00 (2006.01) AO1K 61/00 T 2B104

審査請求 未請求 請求項の数 8 O L (全 8 頁)

(21) 出願番号	特願2005-182054 (P2005-182054)	(71) 出願人	504224153 国立大学法人 宮崎大学
(22) 出願日	平成17年6月22日 (2005.6.22)	(74) 代理人	100091096 宮崎県宮崎市学園木花台西1丁目1番地 弁理士 平木 祐輔
		(74) 代理人	100096183 弁理士 石井 貞次
		(74) 代理人	100118773 弁理士 藤田 節
		(74) 代理人	100101904 弁理士 島村 直己
		(74) 代理人	100130443 弁理士 遠藤 真治

最終頁に続く

(54) 【発明の名称】 養殖真珠の生産方法

(57) 【要約】

【課題】本発明は、効率的な養殖真珠の生産方法を提供することを目的とする。

【解決手段】本発明は、サイトカインの存在下で挿核手術を行なう工程、より好ましくはサイトカインで処理された真珠核及び/又は外套膜片を用いて挿核手術を行なう工程を含む養殖真珠の生産方法に関する。

【選択図】なし

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

サイトカインの存在下で挿核手術を行なう工程を含む養殖真珠の生産方法。

【請求項 2】

サイトカインで処理された真珠核及び / 又は外套膜片を用いて挿核手術を行なう工程を含む請求項 1 記載の方法。

【請求項 3】

前記サイトカインがインターロイキン - 2、インターロイキン - 3、インターロイキン - 4、インターロイキン - 5、インターロイキン - 6、インターロイキン - 7、インターロイキン - 9、インターロイキン - 11、インターロイキン - 12、インターロイキン - 13、インターロイキン - 14、インターロイキン - 15、カルジオトロフィン、毛様体神経栄養因子、エリスロポエチン、成長ホルモン、顆粒球コロニー刺激因子、顆粒球マクrophage刺激因子、白血病阻止因子、オンコスタチンM、及びプロラクチンからなる群から選択される少なくとも1種である請求項 1 又は 2 記載の方法。

10

【請求項 4】

前記サイトカインがインターフェロン - 、インターフェロン - 、インターフェロン - 、インターフェロン - 、インターロイキン - 10、インターロイキン - 20、インターロイキン - 22、インターロイキン - 28A、インターロイキン - 28B 及びインターロイキン - 29 からなる群から選択される少なくとも1種である請求項 1 又は 2 記載の方法。

20

【請求項 5】

前記サイトカインがインターロイキン - 6、及びインターロイキン - 12 からなる群から選択される少なくとも1種である請求項 1 又は 2 記載の方法。

【請求項 6】

前記サイトカインがインターロイキン - 10、インターロイキン - 19、インターロイキン - 20、インターロイキン - 22、及びインターロイキン - 24 からなる群から選択される少なくとも1種である請求項 1 又は 2 記載の方法。

【請求項 7】

前記サイトカインがインターロイキン - 6、及びインターロイキン - 10 からなる群から選択される少なくとも1種である請求項 1 又は 2 記載の方法。

30

【請求項 8】

前記サイトカインがヒト由来サイトカインである請求項 1 ~ 7 のいずれか 1 項記載の方法。

【発明の詳細な説明】

【技術分野】

【0001】

本発明は、アコヤガイの斃死を抑制するとともに真珠の品質を向上することができる養殖真珠の生産方法に関する。

【背景技術】

【0002】

真珠を生産するアコヤガイ等の真珠母貝に赤変病が発生すると、真珠母貝が大量に斃死してしまう。赤変病はウイルスによる感染症と考えられ、平成8年頃から西日本を中心に発生して養殖真珠製造産業に大きな打撃を与えている。

40

【0003】

また、軽度の感染で経過した母貝も、挿核手術（真珠の核となる物質を入れる作業）によるストレスによって病気を発症して急激に斃死するか、真珠を作らないまま経過するか、或いは真珠ができたとしても品質が著しく悪いため、結果的に養殖真珠の生産性が著しく低下する。

【0004】

なお本発明に関連する技術文献情報として下記の文献が挙げられるが、これらは以下に

50

詳述する本発明の構成を示唆するものではない。

【0005】

【特許文献1】特開平9-285291号公報

【特許文献2】特開2000-245452号公報

【特許文献3】特許第3151068号公報

【非特許文献1】Miyazaki T., Taniguchi T., Hirayama J., Nozawa N.: Receptors for recombinant feline interferon-omega in hemocytes of the Japanese pearl oyster *Pinctada fucata martensii*. *Dis Aquat Organ.*, 2002, 29; 51(2): 135-8

【非特許文献2】Miyazaki T., Nozawa N., Kobayashi T.: Clinical trial results on the use of a recombinant feline interferon-omega to protect Japanese pearl oysters *Pinctada fucata martensii* from akoya-virus injection. *Dis Aquat Organ.*, 2000, 25; 43(1): 15-26 10

【発明の開示】

【発明が解決しようとする課題】

【0006】

本発明は、効率的な養殖真珠の生産方法を提供することを目的とする。

【課題を解決するための手段】

【0007】

本発明は以下の発明を包含する。

(1) サイトカインの存在下で挿核手術を行なう工程を含む養殖真珠の生産方法。 20

(2) サイトカインで処理された真珠核及び/又は外套膜片を用いて挿核手術を行なう工程を含む(1)記載の方法。

(3) 前記サイトカインがインターロイキン-2、インターロイキン-3、インターロイキン-4、インターロイキン-5、インターロイキン-6、インターロイキン-7、インターロイキン-9、インターロイキン-11、インターロイキン-12、インターロイキン-13、インターロイキン-14、インターロイキン-15、カルジオトロフィン、毛様体神経栄養因子、エリスロポエチン、成長ホルモン、顆粒球コロニー刺激因子、顆粒球マクロファージ刺激因子、白血球阻止因子、オンコスタチンM、及びプロラクチンからなる群から選択される少なくとも1種である(1)又は(2)記載の方法。

(4) 前記サイトカインがインターフェロン-、インターフェロン-、インターフェロン-、インターフェロン-、インターロイキン-10、インターロイキン-20、インターロイキン-22、インターロイキン-28A、インターロイキン-28B及びインターロイキン-29からなる群から選択される少なくとも1種である(1)又は(2)記載の方法。 30

(5) 前記サイトカインがインターロイキン-6、及びインターロイキン-12からなる群から選択される少なくとも1種である(1)又は(2)記載の方法。

(6) 前記サイトカインがインターロイキン-10、インターロイキン-19、インターロイキン-20、インターロイキン-22、及びインターロイキン-24からなる群から選択される少なくとも1種である(1)又は(2)記載の方法。

(7) 前記サイトカインがインターロイキン-6、及びインターロイキン-10からなる群から選択される少なくとも1種である(1)又は(2)記載の方法。 40

(8) 前記サイトカインがヒト由来サイトカインである(1)~(7)のいずれかに記載の方法。

【発明の効果】

【0008】

本発明により養殖真珠の生産における真珠母貝の斃死が抑制される。

また、本発明により優れた品質を有する真珠を効率よく製造することができる。

【発明を実施するための最良の形態】

【0009】

一般に、養殖真珠を生産する場合は、例えばアコヤガイ等の真珠母貝の生殖腺内に真珠 50

核及び外套膜片（「ピース」と呼ばれることがある）を挿入する作業（本明細書において「挿核手術」と称する）を行った後、その母貝を海に戻す。その結果、母貝の生殖腺内に挿入された外套膜片が成長して真珠核を包み、表面から真珠物質を分泌することによって養殖真珠が作られる。

【0010】

本発明に係る養殖真珠の生産方法は、この挿核手術をサイトカインの存在下で行なうことを特徴とする。本方法としてはより具体的には（１）サイトカイン溶液中で真珠母貝を開いて真珠核及び／又は外套膜片を挿入する方法、（２）真珠母貝を開き、開口部にサイトカイン溶液を注入し、次いで真珠核及び／又は外套膜片を挿入する方法、（３）サイトカイン溶液に浸漬した真珠核及び／又は外套膜片を真珠母貝に挿入する方法、（４）サイトカイン溶液を塗布した真珠核及び／又は外套膜片を真珠母貝に挿入する方法、（５）真珠母貝に真珠核及び／又は外套膜片を挿入すると同時に、或いは挿入するのに続いて、サイトカイン溶液を真珠母貝に注入する方法、或いはこれらの方法の二種以上を組合せた方法等が挙げられる。上記（１）～（５）において用いられるサイトカイン溶液としては、サイトカインを溶解した海水、海産無脊椎動物用の生理的食塩水、又は真珠母貝に生理的に許容される緩衝液が好ましい。本明細書において上記（３）又は（４）記載の工程（上記（３）又は（４）記載の工程を組合せた工程を含む）を「サイトカインで処理された真珠核及び／又は外套膜片を用いて挿核手術を行なう工程」と表現する場合がある。本明細書において「真珠核及び／又は外套膜片」という表現は、真珠核又は外套膜片の少なくとも何れか一方、好ましくは両方を用いて所定の操作を行なうことを意味する。

10

20

【0011】

本発明に用いられるサイトカインとしては、インターロイキン - 6 もしくはインターロイキン - 10、或いはこれらとレセプターが共通するサイトカインもしくは構造上類似するサイトカインが好ましく、インターロイキン - 6 又はインターロイキン - 10 が特に好ましい。

【0012】

インターロイキン - 6 とレセプターが共通するサイトカインとしてはクラス I サイトカイングループと称される一群のサイトカインが挙げられ、具体的には、インターロイキン - 2、インターロイキン - 3、インターロイキン - 4、インターロイキン - 5、インターロイキン - 6、インターロイキン - 7、インターロイキン - 9、インターロイキン - 11、インターロイキン - 12、インターロイキン - 13、インターロイキン - 14、インターロイキン - 15、カルジオトロフィン、毛様体神経栄養因子（CNTF）、エリスロポエチン、成長ホルモン、顆粒球コロニー刺激因子（G-CSF）、顆粒球マクロファージ刺激因子（GM-CSF）、白血病阻止因子（LIF）、オンコスタチン M、及びプロラクチンからなる群から選択される少なくとも 1 種が挙げられる。

30

【0013】

インターロイキン - 6 と構造上類似するものとしてはインターロイキン - 6 グループと称される一群のサイトカインが挙げられ、具体的にはインターロイキン - 6、及びインターロイキン - 12 からなる群から選択される少なくとも 1 種が挙げられる。

【0014】

インターロイキン - 10 とレセプターが共通するサイトカインとしてはクラス II サイトカイングループと称される一群のサイトカインが挙げられ、具体的には、インターフェロン - 、インターフェロン - 、インターフェロン - 、インターフェロン - 、インターフェロン - 、インターロイキン - 10、インターロイキン - 20、インターロイキン - 22、インターロイキン - 28A、インターロイキン - 28B 及びインターロイキン - 29 からなる群から選択される少なくとも 1 種が挙げられる。

40

【0015】

インターロイキン - 10 と構造上類似するものとしてはインターロイキン - 10 グループと称される一群のサイトカインが挙げられ、具体的にはインターロイキン - 10、インターロイキン - 19、インターロイキン - 20、インターロイキン - 22、及びインター

50

ロイキン - 24 からなる群から選択される少なくとも 1 種が挙げられる。

【0016】

上記の各種サイトカインの起源となる動物は特に限定されないがヒトであることが好ましい。

【0017】

上記の各種サイトカインとしては天然に存在するものに限定されず、変異体又は修飾体であって対応する天然型と同様の活性を有するものも包含される。例えば天然型サイトカインの化学的安定性を向上させることを目的として或いは工業的な生産性を向上させることを目的として改変されたサイトカインであって天然型サイトカインと同様の活性を有するものを好適に使用することができる。ここで「同様の活性」とは、本発明の目的に關してサイトカインとして質的に同一の活性であることを意味し、活性の強弱としては異なるものであってよいことを意味するが、活性の強弱においても同程度又は同一であることが好ましい。

10

【実施例】

【0018】

ヒトインターロイキン - 6 (IL - 6、組換え体、和光純薬株式会社製、Code 099 - 04631) と、ヒトインターロイキン - 10 (IL - 10、組換え体、和光純薬株式会社製、Code 093 - 04651) を、表 1 に示す海産無脊椎動物用生理食塩水に各々溶解し、IL - 6 又は IL - 10 が 1、10、又は 100 ng / mL となるように希釈した。

20

【0019】

【表 1】

成分	分量 (g / l)
NaCl	28.4
MgCl ₂ · 6H ₂ O	1.0
MgSO ₄ · 7H ₂ O	2.0
CaCl ₂ · 2H ₂ O	2.25
KCl	0.7
グルコース	1.0
HEPES	2.38
1 ~ 3M の NaOH で pH 7.6 に調整した。	

30

【0020】

各希釈溶液に真珠核 (淡水産二枚貝の貝殻を球状に加工したもの) 及びピース (アコヤガイの外套膜の小片) とを 10 分間浸漬した。

40

【0021】

アコヤガイ (真珠母貝) の生殖巣付近にメスで切り込みを入れ、上記処理後の真珠核とピースを挿入器を用いて挿核した。

挿核後、海中に垂下して 6 ヶ月間管理した。

【0022】

対照実験として真珠核及びピースの浸漬液としてインターロイキンを含まない上記生理的食塩水を用いた以外は同様の手順で挿核手術を行い、海中に垂下して 6 ヶ月間管理した。

。

【0023】

表 2 に各試験区における 6 ヶ月後のアコヤガイの生存率を示す。対照区では、10 個体

50

中 2 個体が生残しただけであるのに対して、100 ng/ml 投与区では IL-6 投与区では 6 個体、IL-10 投与区では 5 個体が生残した。1 ng/ml あるいは 10 ng/ml 投与区ではいずれも 10 個体中 3 ~ 4 個体が生残し、対照区より高い生残率を示した。

【0024】

【表 2】

生残率 (生残個体数/供試個体数)

	1 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
IL-10	3/10	4/10	5/10
IL-6	4/10	4/10	6/10
対照区	2/10		

10

【0025】

表 3 に各試験区において 6 ヶ月後にアコヤガイから回収された真珠の個数を示す。対照区では、挿核した真珠核 20 個中 5 個の真珠が回収された。一方、IL-6 および IL-10 投与区における回収個数は何れの処理濃度においても挿核した真珠核 20 個中 5 ~ 7 個であり、対照区とほとんど差は見られなかった。しかしながら、対照区で得られた真珠は質が悪く (図 1)、商品として適さないものであったのに対して、IL-6 および IL-10 投与区で得られた真珠は質が良い (図 2) ものであった。

20

【0026】

なお真珠の質は、表面のつや (照り) と色の深み (巻き) を指標として常法に従って評価した。これらの指標は当業者が真珠の評価に通常用いるものである。一般に、色に深みのあるものは挿入した核の周りの真珠層に厚みがあることを示しており「巻きが厚い」と称されることから、色の深みは真珠の品質の評価指標として重要視される。なお、色の種類は、一般にピンクが上等品とされる。しかし、これは流行にも左右されるため一時的な評価の指標にはなるが普遍的な評価指標としては適切ではないことから、今回の品質評価では指標として用いなかった。

30

【0027】

【表 3】

真珠回収率 (真珠個数/挿核した真珠核数)

	1 ng/ml	10 ng/ml	100 ng/ml
IL-10	4/20	6/20	7/20
IL-6	5/20	5/20	6/20
対照区	5/20 (質が悪い)		

40

【0028】

すなわち本実験では、養殖真珠の生産においてサイトカイン類の存在下で挿核手術を行なうことにより真珠母貝の生存率を高めることができること、及び品質の優れた真珠を効率よく製造できることが示された。

【図面の簡単な説明】

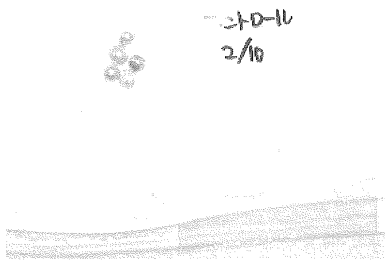
【0029】

50

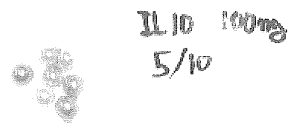
【図1】 対照区から回収された真珠の写真である。

【図2】 IL-10、100 ng/mL 投与区から回収された真珠の写真である。

【図1】



【図2】



フロントページの続き

- (72)発明者 伊丹 利明
宮崎県宮崎市学園木花台西1丁目1番地 国立大学法人宮崎大学内
- (72)発明者 東馬場 大
大分県佐伯市上浦大字津井浦 大分県農林水産研究センター内
- Fターム(参考) 2B104 AA24 CA01 DA16