

地球規模課題対応国際科学技術協力

(生物資源研究分野「生物資源の持続可能な生産・利用に資する研究」領域)

次世代の食糧安全保障のための養殖技術研究開発

(タイ)

平成 23 年度実施報告書

代表者：岡本 信明

東京海洋大学・学長

<平成 23 年度採択>

1. プロジェクト全体の実施の概要

本プロジェクトのねらいは、生産者の生産意欲向上が期待される社会ニーズの高い魚介類の産業化への応用技術(死の谷を越える技術)を確立し、世界の新たな食糧庫を東南アジアに創出することにある。本プロジェクト成果は、(1) DNA マーカーを開発することにより養殖魚として有用な形質を発現する家系の開発と維持を可能にし、(2) 借り腹技術を利用することにより育種にかかる時間を大幅に短縮し、(3) 養殖場で問題となる微生物感染症に対する新規ワクチンの開発により養殖生産の低下を防ぎ、(4) 新たに増産される魚介類の産業化に貢献する魚粉に代わる代替飼料を開発し、さらに、(5) 養殖魚介類生産過程において危惧される危害因子の簡易検出同定法の確立により増産される魚介類の品質保証を可能にする。

平成 23 年度の暫定契約期間中に、東京海洋大学 SATREPS 参加研究者チームは 3 回タイを訪問し、共同研究の実施について総合的かつ具体的な議論を重ねてきた。特に、3 回目のタイ訪問の際にはタイ水産局のクラブ研究所、プーケット研究所ならびにパンガ研究所を視察し、共同研究を実施する研究所での研究の進め方について、飼育親魚等を確認しての議論をすることができた。ハタ類、スズキ類ならびにクルマエビ類の分子育種に関する研究では、研究の青写真となる計画を具体化することができ、ハタ類では使用する種を決め、スズキ類ではどのような方法で交配するか決めることができた。クルマエビ類では家系の評価方法についての検討事項を整理することができた。これらの成果は、平成 24 年度以降の研究の発展を約束するものである。

2. 研究グループ別の実施内容

(1) 分子育種のための DNA マーカー (バイオマーカーを含む) の開発研究グループ

①研究のねらい: 分子育種の基盤となる DNA マーカー (バイオマーカーを含む) について、両国の養殖対象種であるスズキ、ハタ類およびクルマエビ類について開発し、個体識別を可能にする。さらに、このマーカーを利用して養殖としての有用形質である高成長や耐病性を選抜する魚介類の分子育種技術を創出する。

②研究実施方法: 分子育種を進める上で DNA マーカーの開発は不可欠であることから、今年度はハタ、スズキおよびクルマエビの DNA マーカーの探索と単離を行うために、これら魚介類の既知ゲノム配列情報からマイクロサテライトマーカーを探索するとともに、これら魚介類のゲノムについて部分的に解読し、そこから DNA マーカー候補となるマイクロサテライトマーカーを単離する。タイ側で家系開発に使用する親魚や日本側でも若干では有るが開発する家系の親魚の DNA を用い、デザインした DNA マーカーが個体識別や家系識別に利用できるか、マーカーとして利用可能かについて検討する。タイ側では、共同研究用魚介類の飼育と家系の作出を中心に実施する。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:本格的な実施は平成 24 年度からになるが、日本側で開発しているハタ類の個体あるいは家系識別用プライマーがタイの養殖対象種であるタマカイ(ジャイアントグループ)やタイガーグループにも利用可能か実験を始めた。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む):分子育種を実施するための家系(ハタ類、スズキ、クルマエビ類)の作出方法について、タイ研究者に指導を行った。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば):特に無し。

(2) 借り腹技術を利用した育種技術基盤の構築に関する研究グループ

- ①研究のねらい: 借り腹技術を利用した育種技術基盤の構築においては、成熟するまでに7~8年を必要とするハタ類とメコンオオナマズを対象を絞り、まず、ドナー細胞調整法の構築(精巢の成熟度、細胞分散法、標識法)、適切な宿主種の探索(宿主の発生時期の探索)ならびに移植操作及びその周辺技術の構築(移植細胞追跡法の構築)をする。借り腹技術が養殖対象種で確立出来れば、親魚の小型化、成熟期間短縮による有用形質発現家系の選抜育種の効率化を図ることができる他、生殖細胞凍結により遺伝資源の保存にも繋がる。本国際共同研究では、借り腹が可能なドナー(移植細胞提供種、種苗生産が困難な種)とレシピエント(移植細胞受容種、種苗生産が可能な種)との範囲を明らかにする。
- ②研究実施方法: 借り腹技術の開発について、借り腹が可能なドナー(移植細胞提供種、種苗生産が困難な種)とレシピエント(移植細胞受容種、種苗生産が可能な種)との範囲を明らかにしなければ移植は困難であることから、まず、ドナーとレシピエントを決めるための調査、研究に取り組む。さらに、ドナー候補種の生殖腺を組織学的に観察し、移植用細胞を単離する適期の探索を行う。同様に宿主候補種の生殖腺の発生過程を明らかにし、移植適期を明らかにする。なるべく早くにタイ側研究者を日本に招き、技術指導と上記実験を進める。タイ側にとっては新規の研究であることから、本技術の習得を行う研究者を育てるとともに、対象魚種の飼育管理環境を確立する。
- ③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:本格的な実施は平成24年度からになる。
- ④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む): 借り腹技術の開発について、これまでの日本における研究の進め方や問題点の克服等、詳細な情報をタイ研究者に説明した。
- ⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば): 特に無し。

(3) 病原微生物感染症撲滅に関する研究グループ

- ①研究のねらい: 分子育種による耐病性魚介類の作出とワクチンによる感染症予防は、養殖における魚病対策の両輪である。本共同研究では、スズキ、ハタ類、異体類およびクルマエビ類の免疫・生体防御について、病原微生物感染における応答やワクチンの評価等を行うために、遺伝子発現の解析を網羅的に実施することが可能なマイクロアレイを構築し、免疫・生体防御の評価を行う手法を開発する。さらに、多様な病原微生物の抗原タンパク質を明らかにし、次世代ワクチンに利用可能な感染防御抗原を病原微生物毎にカタログ化する。これらの成果を基に、主要養殖対象魚種と感染症の種類毎にワクチン評価法(感染実験、免疫応答等)を確立し、産業化するのに必要な感染防御能を付与することができるワクチンを開発する。
- ②研究実施方法: ワクチンの開発研究や評価等を行うためには、魚介類の免疫・生体防御の応答について網羅的に解析できる技術は不可欠である。そこで、免疫応答における遺伝子発現の解析を網羅的に実施することが可能な技術基盤を構築するために、ハタ類、スズキ類およびクルマエビ類におけるマイクロアレイの構築を目指し、これら魚介類の遺伝子配列情報取得を進める。具体的にはこれら魚介類の各種臓器で発現している遺伝子 mRNA の配列情報取得と生物情報学的解析を実施する。また、病原微生物の感染防御抗原を明らかにできれば、新世代のワクチン開発も可能になることから、両国で問題となっている病原微生物の感染防御抗原遺伝子の探索を行う。
- ③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:本格的な実施は平成24年度からになるが、クルマエビ類については遺伝子配列情報の収集を、次世代シーケンサーにより始めた。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む):大規模遺伝子発現解析に必要な遺伝子配列情報の収集方法について情報提供するとともに、解析技術についてタイ側研究者に説明する機会を設けた。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば):特に無し。

(4) 魚粉に替わる代替動物性タンパク質飼料の開発研究グループ

①研究のねらい: 現在の東南アジアにおける養殖の主流は安価なティラピア、コイ、ナマズあるいはバナメイエビ等であり、これらの養殖対象種に対する飼料の開発は民間企業においても実施され、一部は産業化されている。しかし、申請者らが目指している次世代型養殖は、世界規模で嗜好性の高い、産業的価値の高い魚介類(海産魚介類)である。民間企業では大量に消費される飼料の開発は行うが、将来的に市場性が高い魚介類に対する飼料の開発は民間企業が投資するには負担が大き過ぎる。申請者らが計画している研究では、魚介類に代替飼料を給餌した際の代謝メカニズムについて分子レベルで研究し、科学的な根拠に基づいて魚粉に替わる代替タンパク質飼料を開発し、産業的価値の高い魚介類養殖の産業化を図る。

②研究実施方法: 魚粉に替わる代替動物性タンパク質の養魚飼料を開発するためには、対象魚種の栄養要求性を明らかにすることが重要である。ハタ類、スズキ類の栄養要求性や既知の飼料成分組成等について調査し、開発した餌を用いたいくつかの給餌試験をタイで開始する。また、代替飼料投与における代謝系の遺伝子発現プロファイリング(ニュートリジェノミクス解析)を実施するための基盤技術を確立するために、遺伝子配列情報の収集とマイクロアレイの構築を行い、飼料効果の評価を行う手法を開発する。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:本格的な実施は平成 24 年度からになるが、日本側ではハタ類の飼料に関する実験を開始した。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む):魚粉に替わる代替動物性タンパク質の養魚飼料を開発するための研究について、タイ研究者に説明する機会を設けた。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば):特に無し。

(5) 化学物質などの検出技術の開発研究グループ

①研究のねらい: 養殖生産物の安全性に関して、世界的に問題となっているのはマラカイトグリーンによる汚染である。タイで行われているマラカイトグリーンの残留モニタリングは LC-MS による生産物及び飼料の分析で行われ、多大なコストと時間を割いているのが実情である。本課題においては、ELISA 法による分析キットを飼料や池中の泥の分析へ応用するための試料調整方法を確立し、マラカイトグリーンの経口、経鰓暴露による薬物代謝酵素遺伝子の発現変化から、暴露中に上昇する遺伝子発現を指標として用いる新たなモニタリング法を開発を行う。また、マラカイトグリーンの吸収阻害や排泄促進効果のある植物原料のスクリーニングを行い、その原料を飼料添加することで、暴露を受けた養殖魚のリスクを早期に安全なレベルに回復させるリスク管理技術を確立する。さらに、水産物のマウス試験に拠らない貝毒モニタリング法を確立し、水産物の世界的ニーズに応える。

②研究実施方法: 研究対象化学物質は、世界的に養殖魚の食品安全リスクとしての関心が高いマラカイトグリーンと貝毒とする。マラカイトグリーン検出用 ELISA キットを飼料あるいは池の底泥の分析に応

用できるよう検出感度の検証と試料調整法の検討を行う。貝毒については検出用 ELISA キットの試作と評価を行う。また、マラカイトグリーンへの暴露経路が経口及び経鰓と想定できるので、鰓や腸管並びに薬物代謝の主要臓器である肝臓について、薬物代謝酵素遺伝子の発現変化を径時的に調べ、暴露期間中に発現上昇する薬物代謝酵素遺伝子の特定を行い、新たなモニタリング手法の指標を確立する。残留リスク管理技術の開発については、タイの薬用植物を中心に、マラカイトグリーンの排泄に関わる MDR 遺伝子の発現上昇を指標としてスクリーニングを行い、新規飼料添加物の候補物質を選定する。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:本格的な実施は平成 24 年度からになるが、マラカイトグリーンによる薬物代謝酵素遺伝子の発現変化、マラカイトグリーン及び貝毒検出用 ELISA 法についての基礎的検討を開始した。

④カウンターパートへの技術移転の状況(日本側および相手国側と相互に交換された技術情報を含む): 魚類の化学物質応答遺伝子について、タイ研究者等に紹介した。

⑤当初計画では想定されていなかった新たな展開があった場合、その内容と展開状況(あれば):特に無し。

3. 成果発表等

(1) 原著論文発表

平成 23 年度は暫定契約期間中であり、本格的な共同研究の実施は平成 24 年度からとなる。

(2) 特許出願

平成 23 年度は暫定契約期間中であり、本格的な共同研究の実施は平成 24 年度からとなる。

4. プロジェクト実施体制

(1) 分子育種のための DNA マーカー (バイオマーカーを含む) の開発研究グループ

①グループリーダー: 坂本 崇 (東京海洋大学海洋科学部・准教授)

②研究項目

1-1 分子育種を行なうための優れた分子マーカーを探索する。

1-2 分子マーカーの評価を実施する。

1-3 目的形質の評価に基づく魚とエビの優良個体(家系)を作出する。

1-4 連鎖地図を作成する。

1-5. 上記結果に基づき、分子育種を実施する。

(2) 借り腹技術を利用した育種技術基盤の構築に関する研究グループ

①グループリーダー: 吉崎 悟朗 (東京海洋大学海洋科学部・准教授)

②研究項目

2-1 借り腹が可能なドナーとレシピエントの範囲を明らかにする。

2-2 ドナー細胞調整法(精巢の成熟度、細胞分散法、標識法)を構築する。

2-3 レシピエントとなる種を探索する。

(3) 病原微生物感染症撲滅に関する研究グループ

①グループリーダー：廣野 育生（東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科・教授）

②研究項目

- 3-1 遺伝子発現を網羅的に解析が可能なマイクロアレイを構築する。
- 3-2 研究対象魚介類の免疫・生体防御機構に関する分子生物学的研究を行なう。
- 3-3 病原微生物のワクチン抗原を探索する。
- 3-4 ワクチン試験・評価を行なう。
- 3-5 魚介類の疾病防除管理の実践的方法を開発する。

(4) 魚粉に替わる代替動物性タンパク質飼料の開発研究グループ

①グループリーダー：佐藤 秀一（東京海洋大学海洋科学部・教授）

②研究項目

- 4-1 フィッシュミールの代替飼料となる物質を探索し、試作飼料を開発する。
- 4-2 代替飼料を給餌した魚介類の栄養学的・分子生物学的手法による評価を行なう。
- 4-3 親魚用の最適な調合飼料を開発する。

(5) 化学物質などの検出技術の開発研究グループ

①グループリーダー：舞田 正志（東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科・教授）

②研究項目

- 5-1 養殖生産物の危害因子の検出法を開発する。
- 5-2 毒性試験、薬物動態学的研究を行ない、毒性学的評価データを蓄積する。
- 5-3 危害因子評価法を実際の養殖生産物で検証する。
- 5-4 研究対象魚介類で品質と安全性を向上のために天然保存剤技術を開発する。

以上