

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 25 年度実施報告書

代表者:岡本 信明

国立大学法人東京海洋大学 学長

<平成 23 度採択>

1. プロジェクト全体の実施概要

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 24 年 5 月に実質的にプロジェクトが始動し、日本からは全ての研究グループのリーダーがタイを訪問し、プロジェクトを進めるための意見交換と、技術指導を行って来ている。平成 25 年 3 月末に開催した The 2nd Joint Coordinating Committee Meeting において、タイ水産局、JICA および東京海洋大学の 3 者で今年度の活動を再確認し、合意文書を締結した。また、研究グループリーダーがタイを訪問した際には、昨年度と同様に技術指導を伴うセミナーをタイ現地にて開催して共同研究の展開を図るとともに、研究用試料のサンプリングも行った。タイからの研修生については、指導者クラスは 1 週間程度の短期研修とし、若手研究者は 1 から 2 ヶ月の研修として受け入れた。来日したタイ研究者は皆、熱心に且つ貪欲に新しい技術を習得しようと努力しており、今後の本プロジェクトの益々の発展が期待出来る。日本国政府奨学金 SATREPS 枠を利用し、平成 24 年度に 1 名、平成 25 年度にも 1 名の博士後期課程学生を受け入れている。さらに、海洋大本プロジェクトグループではタイからの留学生を大学推薦一般枠で平成 25 年度に 1 名の博士前期課程学生を、特別枠を利用し平成 24 年度に博士後期課程学生を 1 名、平成 25 年度に博士前期課程学生 1 名を受け入れている。

共同研究として、ハタ類やエビ類での DNA マーカーの開発を継続的に行い、ハタ類に関しては DNA マーカーの近縁種での利用に関する解析を行った。さらに、ハタ類の遺伝子地図作成に向けて DNA マーカーの準備を行うとともに、遺伝子地図の作成を開始した。タイ水産局およびワライラック大学においては、ハタ類、スズキ、ブラックタイガー(ウシエビ)およびバナメイエビについて解析家系を作出し、形質評価の準備を開始するとともに、バナメイエビの TSV 耐病性およびブラックタイガーの高成長家系と WSSV 耐性家系の分子遺伝学的解析を始めた。メコンオオナマズの生殖細胞を追跡するための分子マーカーとして vasa cDNA のホモログを得て、生殖細胞検出系の構築中である。卵原細胞移植は、精原細胞移植と比べると、その効率が高くはないため、移植に用いる卵原細胞を濃縮するため、卵巣内で卵原細胞を含む生殖細胞集団を濃縮可能な細胞表面抗体の探索を行い、ニジマスの卵原細胞を認識し、これらを染色可能な抗体の同定に成功している。ジャイアントグループおよびタイガーグループの免疫評価に使用可能な遺伝子を得て、両種共通の免疫関連遺伝子の発現を定量的に検出するための PCR プライマーを開発した。タイのスズキおよびハタ養殖場で発生している *Vibrio vulnificus* について主要抗原について免疫学的手法ならびにゲノム解析から複数の候補遺伝子を得ることが出来た。タイを含む東南アジアや中国のエビ養殖場で発生している EMS/AHPND (early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis disease)原因菌 *Vibrio parahaemolyticus* のゲノムを解読し、PCR 検査法を開発し、検証中である。各種植物性タンパク源を配合して魚粉を代替した試験飼料を作製し、代替タンパク源の質的な評価を始めるに至った。また、マダイなどの海水魚を用いてミートミールやトウモロコシ由来の濃縮タンパクおよび高タンパク脱穀蒸留粕の消化吸収率の測定、成長への影響の把握を行い、各々のタンパク源の違いを把握した。ハタ、アジアスズキならびにエビ類の給餌試験のための飼料原料候補の選定と飼育試験消化吸収試験の一部を既に完了している。これらの結果から、魚粉代替飼料の基本的なタンパク質源の性能と最適な配合組成に関する基礎情報の整理を完了し、飼育実験による検証が可能となった。ELISA 法によるロイコ

マラカイトグリーン検出に関する検証の過程で、ELISA 操作上の問題点が精度管理に影響を及ぼすことがわかり、試料抽出液を添加後の操作時間に制限を設けることで解決を図った。日本における抗酸化剤エトキシキンの残留規制に関する情報提供とタイにおける同物質の残留リスクに関する情報収集及び討議の結果、エトキシキンの簡易モニタリング法の開発が必要であることを再確認した。養殖池の堆積物、発酵食品から、マラカイトグリーン分解菌の探索も行ない、複数の候補株を得た。

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

①研究のねらい:

両国の養殖対象種であるスズキ類、ハタ類およびクルマエビ類の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)を開発し、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、今年度はハタ類、アジアスズキおよびクルマエビ類の 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配列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配列を単離する。家系開発に使用する親魚の 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、育種にそれらを利用可能かについて検討する。共同研究用魚介類の飼育と家系の作出はタイ側で主に実施する。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:

予定通りに進行している。進捗状況については以下に示した。

- 1-1.ハタ類やエビ類での DNA マーカーの開発を継続的に行い、ハタ類に関しては DNA マーカーの近縁種での利用に関する解析を行った。
- 1-2.増養殖研究所および東京海洋大学においては、ハタ類の遺伝子地図作成に向けて DNA マーカーの準備を行うとともに、遺伝子地図の作成を開始した。
- 1-3.タイ水産局およびワライラック大学においては、ハタ類、スズキ、ブラックタイガー(ウシエビ)およびバナメイエビについて解析家系を作出し、形質評価の準備を開始した。
- 1-4.チュラロンコン大学においては、バナメイエビの TSV 耐病性および感受性個体間で遺伝子発現が異なる耐病性候補遺伝子の解析を行った。
- 1-5.ワライラック大学においては、ブラックタイガーの高成長家系と WSSV 耐性家系の分子遺伝学的解析を継続した。

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):

分子育種を実施するための家系(ハタ類、アジアスズキ、クルマエビ類)の作出方法ならびに解析手法について、タイ研究者に東京ならびにタイにて指導を行った。

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

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(精巣の成熟度、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)を行う。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。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:

予定通りに進行している。進捗状況については以下に示した。

- 2-1. 借り腹実験のドナーに用いるメコンオオナマズのサンプリングを行い、その生殖腺の発達状況を組織学的に観察するための準備中である。
- 2-2. メコンオオナマズの生殖細胞を追跡するための分子マーカーとして vasa cDNA のホモログクローニングを行った。現在、in situ ハイブリダイゼーションによる生殖細胞検出系の構築中である。
- 2-3. 昨年度のハタの生殖線の組織解析データから、雌をドナーに用いることが現実的な選択肢であることが確認されている。そこで、クロマグロをモデルに卵巣から卵原細胞を調整し、これをニベ宿主へと移植する実験系の構築を目指した。その結果、日齢 10 日、全長 4-5mm 程度のニベ仔魚の腹腔内に 10000 細胞程度を移植することで、解析した 10 尾の宿主のうち 3 尾において宿主生殖腺にドナー細胞を取り込ませることに成功した。
- 2-4. 上述のように卵原細胞移植は、精原細胞移植と比べると、その効率が高くはないため、移植に用いる卵原細胞を濃縮するため、卵巣内で卵原細胞を含む生殖細胞集団を濃縮可能な細胞表面抗体の探索を行った。現在までに、ニジマスの卵原細胞を認識し、これを染色可能な抗体の同定に成功している。

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):

細胞の取り扱いや移植方法について、タイ研究者に東京ならびにタイにて指導を行った。

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。

(3) 病原微生物感染症撲滅に関する研究

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、アジアズズキ、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、遺伝子発現を網羅的に解析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を網羅的に解析することが可能な技術基盤を構築するために、ハタ類、アジアズキ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:

予定通りに進行している。進捗状況と成果については如何に示した。

3-1. ジャイアントグループ、タイガーグループの網羅的な発現遺伝子解析を実施した。

ジャイアントグループ: 解析配列数 68,386,424、500bp 以上のユニークな配列数 158,722

タイガーグループ: 解析配列数 100,112,664、500bp 以上のユニークな配列数 192,746

3-2. ジャイアントグループ、タイガーグループの網羅的な発現遺伝子解析により、今後の免疫評価に使用可能な遺伝子を得た。免疫関連遺伝子の発現を定量的に検出するためのPCRを両種共通で出来るプライマーを開発した。

3-3. タイのスズキおよびハタ養殖場で発生している *Vibrio vulnificus* について主要抗原について免疫学的手法ならびにゲノム解析から複数の候補遺伝子を得ることが出来た。

3-4. タイのアジアズキ養殖場で 2 ヶ月毎にサンプリングし、感染症状を PCR 法で調査したところ、イリドウイルスおよびウイルス性神経壊死症ウイルスの感染が確認出来、これら病原ウイルスが養殖場に広く存在していることが明らかとなった。

3-5. タイを含む東南アジアや中国のエビ養殖場で発生し、国際マーケットへのエビの供給不足及び価格高騰の原因となっている EMS/AHPND (early mortality syndrome/acute hepatopancreatic necrosis disease) 原因菌 *Vibrio parahaemolyticus* のゲノムを解読し、病原因子を推定することが出来た。さらに、PCR 検査法を開発し、検証中である。

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):

タイ水産局クラブ研究所にて魚からの免疫グロブリン精製のための血液採取法、遺伝子発現解析用サンプリング法ならびに免疫賦活剤による魚の免疫刺激法について技術指導を行った。東京ではタイ研究者に対して、組換えタンパク質精製法、遺伝子発現定量解析法、病原微生物迅速診断法等について技術指導を行った。

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):

本プロジェクト開始当初は EMS/AHPND が大きな問題になっていなかったが、2013 年始めには東南アジアのエビ類養殖で大きな問題となり共同研究対象に加えることとなった。

(4) 魚粉に替わる代替動物性タンパク質飼料の開発研究

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、アジアズキ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)を実施するための養殖漁場汚染の軽減にもつながる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:

予定通りに進行している。進捗状況と成果については如何に示した。

4-1.タイ国水産局ペチャブリ県沿岸漁業研究開発センター(CFRDC)を中心に、同ラン県 CFRDC、同パンガ一県 CFRDC とともに、各種植物性タンパク源を配合して魚粉を代替した試験飼料を作製し、代替タンパク源の質的な評価を行った。

4-2.日本側では、マダイなどの海水魚を用いてミートミールやトウモロコシ由来の濃縮タンパクおよび高タンパク脱穀蒸留粕の消化吸収率の測定、成長への影響の把握を行い、各々のタンパク源の違いを把握した。

4-3.タイではハタ、アジアズキならびにエビ類の給餌試験のための飼料原料候補の選定と飼育試験消化吸収試験の一部を既に完了している。これらの結果から、魚粉代替飼料の基本的なタンパク質源の性能と最適な配合組成に関する基礎情報の整理を完了し、飼育実験による検証が可能となった。

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、タイ水産局研究所(プーケット、クラビ、パンガ、チョンブリ)にて技術指導を行い、特に代替タンパクの研究では重要なタウリンの測定技術に関する技術移転を図っている。

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):

エビ類の代替タンパク飼料についても検討を行い、天然餌料である藻類の化学組成を明らかにするとともに、親エビ用飼料の開発に有効な生殖腺の化学組成などを明らかにした。

(5) 化学物質などの検出技術の開発研究

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に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の確立し、水産物の世界的ニーズに応える。同時に、リスク管

理技術の一環として、マラカイトグリーン分解微生物の探索も行う。

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経時的に調べ、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。また、集積培養法により、マラカイトグリーン分解微生物の探索も行う。

③当初の計画(全体計画)に対する現在の進捗状況:

予定通りに進行している。進捗状況と成果については以下に示した。

- 5-1.ELISA 法による飼料、飼育水、底泥及び稚エビから LMG を検出するための分析法開発に着手。分析法の開発は終了し、分析法の検証に着手した。
- 5-2.ELISA 法によるロイコマラカイトグリーン検出に関する検証の過程で、ELISA 操作上の問題点が精度管理に影響を及ぼすことがわかり、操作法の再検討を行った。その結果、試料抽出液の pH が低いことに拠る抗体のダメージが原因とわかり、試料抽出液を添加後の操作時間に制限を設けることで解決を図った。
- 5-3.日本における抗酸化剤エトキシキンの残留規制に関する情報提供とタイにおける同物質の残留リスクに関する情報収集及び討議の結果、エトキシキンの簡易モニタリング法の開発が必要であることを再確認した。
- 5-4.養殖池の堆積物、発酵食品から、マラカイトグリーン分解菌の探索も行ない、複数の候補株を得た。
- 5-5. 利用予定の ELISA 法による各種麻痺性貝毒成分に対する反応曲線と既報の ELISA 法の反応曲線を比較し、利用予定 ELISA の有用性を確認した。

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):

危害物質検出キットの使用法ならび結果の解析方法についてタイ水産局研究所にて指導を行った。

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。

3. 成果発表等

(1) 原著論文発表

- ① 本年度発表総数(国内 0 件、国際 9 件)
 - ② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0 件、国際 13 件)
 - ③ 論文詳細情報
1. Hamasaki M, Takeuchi Y, Miyaki K, Yoshizaki G. (2013) Gonadal development and fertility of triploid grass puffer *Takifugu niphobles* induced by cold shock treatment. *Mar Biotechnol.* 15, 133-144.
 2. Seelaudom M, Krongpong L, Futami K, Gonçalves AT, Katagiri T, Areechon N, Endo M, Maita M. (2013) Toxicity and absorption of dietary leucomalachite green in Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. *Fisheries Science* 79, 119-127

3. Kato G, Goto K, Akune I, Aoka S, Kondo H, Hirono I. (2013) CD4 and CD8 homologues in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*: Differences in the expressions and localizations of CD4-1, CD4-2, CD8 α and CD8 β . Dev Comp Immunol. 39, 293-301
4. Kato G, Kondo H, Aoki T, Hirono I. (2012) A novel immune-related gene, microtubule aggregate protein homologue, is up-regulated during IFN- γ -related immune responses in Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. Dev Comp Immunol. 36, 349-358.
5. Kondo H, Tinwongger S Proespraiwong P, Mavichak R, Unajak S, Nozaki R, Hirono I. (2014) Draft genome sequences of six Strains of *Vibrio parahaemolyticus* isolated from EMS/AHPND Shrimp in Thailand. Genome Announcement, in press, DOI:10.1128/genomeA.00221-14.
6. Kubota S, Liu Q, Kessuwan K, Okamoto N, Sakamoto T, Nakamura Y, Shigenobu Y, Sugaya T, Sano M, Uji S., Nomura K., Ozaki A. (2014) High-throughput simple sequence repeat (SSR) markers development for the kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) and cross-species amplifications for Epinephelinae species. Advances in Bioscience and Biotechnology. 5. 117-130.
7. Liu Q, Sakamoto T, Kubota S, Okamoto N, Yamashita H, Takagi M, Shigenobu Y, Sugaya T, Nakamura Y, Sano M, Wuthisuthimethavee S, Ozaki A. (2013) A genetic linkage map of kelp grouper (*Epinephelus bruneus*) based on microsatellite markers. Aquaculture. 414-415. 63-81.
8. Nakajima S, Hayashi M, Kouguchi T, Yamaguchi K, Miwa M, Yoshizaki G. (2014) Expression patterns of *gdnf* and *gfra1* in rainbow trout testis. Gene Expr Patterns, in press.
9. Makkapan W, Yoshizaki G, Tashiro M, Chotigeat W. (2014) Expression profile of ribosomal protein L10a throughout gonadal development. Fish Physiol Biochem, in press.
10. Sato M, Morita T, Katayama N, Yoshizaki G. (2014) Production of genetically diversified fish seeds using spermatogonial transplantation. Aquaculture 422-423, 218-224.
11. Lacerda SMSN, Costa GMJ, Campos-Junior PHA, Segatelli TM, Yazawa R, Takeuchi Y, Morita T, Yoshizaki G, França LR. (2013) Germ cell transplantation as a potential biotechnological approach to fish reproduction. Fish Physiol Biochem, 39, 3-11.
12. Farlora R, Hattori-Ihara S, Takeuchi Y, Hayashi M, Octavera A, Alimuddin, Yoshizaki G. (2014) Intraperitoneal germ cell transplantation in the Nile tilapia *Oreochromis niloticus*. Marine Biotechnology, in press.
13. Koyama T, Kondo H, Aoki T, Hirono I. (2013) Identification of two penelope-like elements with different structures and chromosome localization in kuruma shrimp genome. Mar. Biotechnol. 15:115-123.

(2) 特許出願

- ① 本年度特許出願内訳(国内 0 件、海外 0 件、特許出願した発明数 0 件)
- ② 本プロジェクト期間累積件数(国内 0 件、海外 0 件)

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 (東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科・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 (東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科・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 (精巣の成熟度、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 (東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科・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 環境への影響を配慮した代替飼料を給餌した魚介類の栄養学的・分子生物学的的手法による評価を行ない、漁場汚染撲滅につなげる。
- 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