

養殖研 ニュース

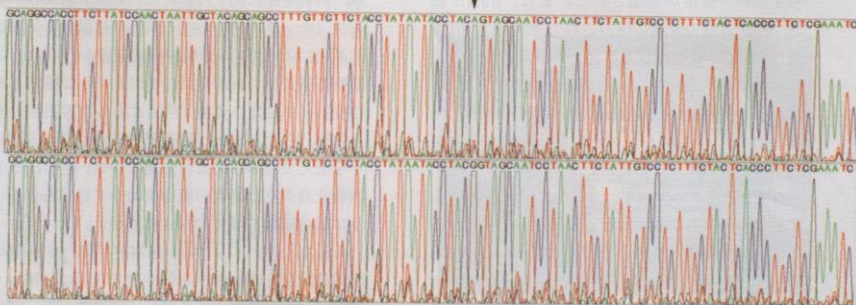


No.23 1992.3



(a) TAMARU

A



(b) ALBINO

G



第20回UJNR シンポジウムーオレゴン州ーに参加して	8
分子遺伝学的手法を使った魚類の性別判別の可能性について	4
冷水性魚類の魚道に関する共同研究 (日光支所)	8
日本比較内分泌学会と養殖研究所	10
DNAプローブとしてのPCR: PCR-SSCPによる多型の検出	12
バイオコントロールによる甲殻類種苗生産	21
ヒラメ仔魚へのマイクロインジェクション法	24
世界の海産養殖魚(3)アカメ	29
中禪寺湖に深海研究の技術を導入	38
新人紹介	40
平成3年の記録(7~12月)	40
表紙の写真 ミトコンドリアDNAの塩基配列でさぐる 養殖ニジマスのルーツ	54



第20回UJNRシンポジウム—オレゴン州—に参加して

鈴木 徹

第20回 UJNR 水産増殖専門部会シンポジウムが、“魚類の栄養”をテーマに、1991年10月28日～29日の2日間オレゴン州立大学ハットフィールド海洋科学センター（ニューポート）で開催された。当研究所からは高木所長（UJNR 日本側部会長）をはじめ広瀬部長（同事務局長）、秋山、尾形両室長、それに鈴木国際協力研究官が出席した。中央水産研究所からは中西孝室長、鹿児島大学から手島新一先生が参加された。また、UJNR 創設当初から会の発展に尽力された水産研究所OBの古川厚氏、藤谷超氏も参加下さり、日本側の出席者は総勢9名となった。米国からは、McVey氏（米国側部会長）、Manken氏（副部会長）、Dickhoff氏のパネルメンバーの他、地元オレゴン大学はもちろん、ワシントン、ノースカロライナ、ハワイ、カリフォルニア、テキサス州等各地から栄養学の研究者が集まった。栄養学の研究者がこのように一堂に顔を合わす機会は彼らにとっても数少ないチャンスのものであった。会場のハットフィールド海洋科学センターは、無脊椎動物の腫瘍に関する研究のフィールドとして有名なYaquina湾の湾口に位置したが、予想に反して河口の水は透明度もあり、周辺はオートキャンプ場にも使われ砂浜のリゾート地という風情であった。

本年度のシンポジウムは3つのセッション（栄養価、消化系の生理、および飼料の開発）で構成され、アメリカ側からは魚類、甲殻類および軟体動物等の広範囲な生物について主に栄養要求に関連した8課題の話題が提供された。なかでも、海

洋科学センターに所属するLangdon氏によって発表された二枚貝の浮遊幼生のための微粒子飼料の開発は、二枚貝の水槽内完全飼育をめざしたユニークな研究として注目された。一方、日本側からは、秋山氏（シロザケ稚魚のアミノ酸要求量及びアミノ酸の添加効果）、尾形氏（ギンザケ稚魚の定量的アミノ酸要求量）、鈴木（魚類消化系の特徴）、中西氏（魚類の資源解析における栄養要求と食物連鎖に関する研究について）および手島先生（チリアビアにおける飼料中結晶アミノ酸の代謝）によって、5課題の研究発表が行われた。質疑応答では、演者をたじろがすような質問も飛び交い、2日間の会議は熱気に満ちた雰囲気の中に進行した。また、養殖研代表の秋山氏はジョークを交えて見事な司会役を演じられ、尾形氏は米国研究者が在日研究の機会を増やす努力をするように総合討論の場で力説されていた。

そして、シンポジウムが無事終了後、6日間の現地検討会をかねたフィールドトリップに移った（図1）。今回のフィールドトリップは、オレゴン州内の主な水産関係の研究施設を視察するとともに、オレゴンの海岸、山脈、砂漠を一巡できるような計画されており、われわれを充分満足させてくれた。また、案内役をつとめてくれた女性の機敏で気の利いた対応のおかげもあって、各研究所でさまざまな研究者と意見交換することができ、かつ景色を楽しむ時間的余裕もあった。オレゴン州は、海山とも自然が良く保護されており、われわれの目を楽しませてくれたが、特に、ニューポ



写真1. 事務会議でのスナップ。おなじみのManken氏（中央左）は部会長から退き、新部会長にはMcVey氏（中央右）が就任した。右端は、UJNR プロシーディングの編集でお世話になったSvrjcek氏。

トの広大な砂浜、砂漠の真ん中の一軒家のホテル Kahneeta で経験した漆黒の夜は印象的であった。研究面では、オレゴン州立大学魚病研究所のゼブラフィッシュの飼育施設が圧巻で、何十もの水槽でゼブラフィッシュばかりを飼育し、分子生物学的手法によってオンコ遺伝子とガンおよび発生との関係を研究していた。しかし、研究室の助教授に、同大学の動物学教室に在籍してゼブラフィッシュのホメオ遺伝子で著名な Kimmel 教授のことを聞くと、なぜか良くわかっていないようで、彼は何年か前に死んだというような見当はずれの返答をし、回りの人間もそれに相づちを打っていた。そういえば、案内役の女性二人はカールイスが世界新記録をだしたのも、テニスの全米オープンで優勝したサンブラスの名前も知らなかった。最後に、事務会議において、次期5カ年(1992

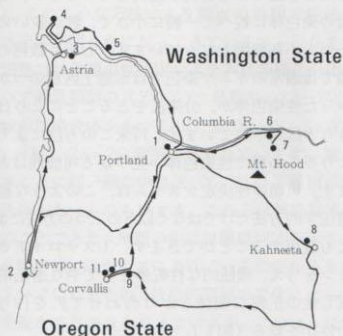


図1. UJNRシンポジウム会場およびフィールドトリップ。ポートランド空港に始まり、ニューポートでのシンポジウムを終了後、オレゴン州の北中部の研究所、大学および孵化場等(1~11)を順に視察した。1、ポートランド空港; 2、オレゴン州立大学ハットフィールド海洋科学センター; 3、同大学 Seafood Research Laboratory; 4、Weigardt and Sons Oyster Company; 5、Ab ernathy Salmon Culture and Technology Center; 6、Bonnaville 孵化場; 7、オレゴン州立大学農業実験施設; 8、Warm Spring 孵化場; 9、オレゴン州立大学魚病研究所; 10、Environmental Protection Agency (EPA) 研究所; 11、オレゴン州立大学本校

~1996)のシンポジウムのテーマが、次の通りに決定されたこともここで報告したい: '92、水産増養殖における環境管理; '93、放流魚と天然魚との相互作用; '94、潮河性および降海性魚類の生活史の制御機構; '95、増養殖と環境および人間の健康; '96、水産増養殖への新魚種—現状と将来。1992年度と94年度は日本で、93および95年度のシンポジウムは、アメリカで開催されることが決定されている。'93年度については9月にアラスカ州で行われる予定であり、関連分野の研究者の方々は、話題を早いうちに心づもりして参加していただければと思う。

(企画連絡室国際協力研究官)



写真2. Ruth 女史と Dodge のバン (Santiam 峠)。彼女と Miss Milligan (車内運転席)は、シンポジウムからフィールドトリップまで我々の案内に徹してくれた。Dodge の日本語での意味は、米国でも良く理解されていた。

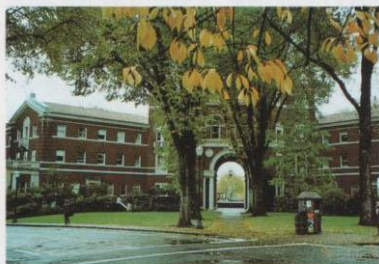


写真3. オレゴン州立大学のキャンパス。我々の滞在中、紅葉前線は、ワシントン州から一気に南下し、フィールドトリップの最後に訪れたオレゴン州立大学本校 (Corvallis) では、石造りの建物に紅葉が鮮やかであった。

分子遺伝学的手法を使った魚類の性判別の可能性について

中山 一郎

はじめに

ここ数年の間に哺乳類、特にヒトの雄決定遺伝子に関する研究が大変な勢いで進歩しました。現在では、ほぼ睾丸決定因子(TDF)であろうと思われるヒト SRY 遺伝子がクローニングされ、そのマウスのホモログである sry 遺伝子はXXの本米雌になる個体で遺伝子導入マウスを作ると雄になったという報告があり、ほぼ、雄決定要因の一つであることは間違いなさそうです。しかし、ヒト SRY を導入してもマウスの雄化にはきかなかつたり、マウス自体の sry でも100%の機能的雄化を得られた訳ではなく、この遺伝子の機能(DNA結合タンパクをコードしているらしい)とともにまだ解明すべき問題も多く残っています。又、ヒトXX男性なのにこの遺伝子を持たないものもあるらしく(バスツール研究所 M.FELLOUS との私信)まだ他にも雄決定要因のあることも考えられます。このような哺乳類における研究の進展に比較して魚類においては性に関する分子遺伝学的研究はほとんどなされていません。しかし、魚類には多種多様にとんだ性決定機構が存在し、その機構解明は、直接産業上に結びつく性の統御のみならず性の進化といった純粋な科学的興味からも重要な意味を持っています。

魚類の性

現存の魚類の種は2万種以上といわれています。このうち約10%に当たる約2,000種に於いて細胞遺伝学的に染色体が観察されています。この中で性染色体が観察されたものは約60種のみと大変少ない数です(小島, 1983)。哺乳類のようにシステマティックに性染色体が観察されるのとは異なり、魚類の性染色体の形態分化はまだ未発達と考えられます。

近年哺乳類では染色体の分染法が進歩して個々の染色体を区別できるようになりました。魚類でも同じ手法による研究が進行していますが、哺乳類の染色体に較べて一般に小さく、数が多いのが一つの不利要因となっています。しかし数種の魚類では通常のギムザ染色では形態上区別のつかなかった性染色体が、分染法をとることによりはっきりと区別されています。将来この方法により、より多くの種で性染色体が見つかる可能性はあります。魚類の性決定システムは、このような細胞遺伝学的方法だけではなく以下の二つの方法によっても確認することができます。①ステロイドホルモンを与え、機能的な性転換をしてやり遺伝的に同じ性の正常な個体とかけ合わせてF₁を作りその性比を見る(図1)。

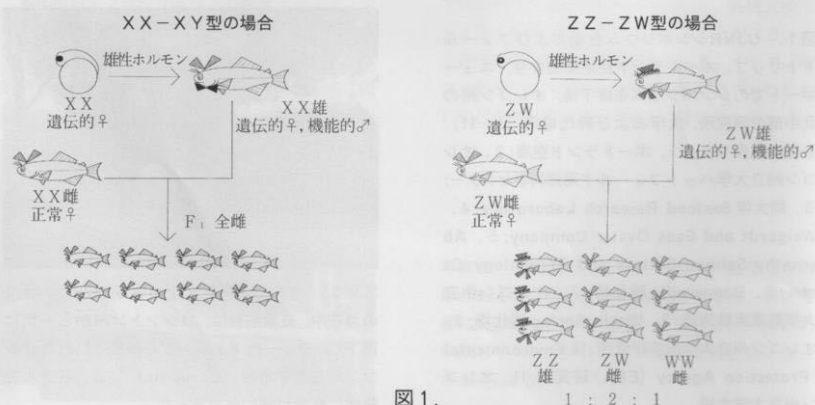


図1.

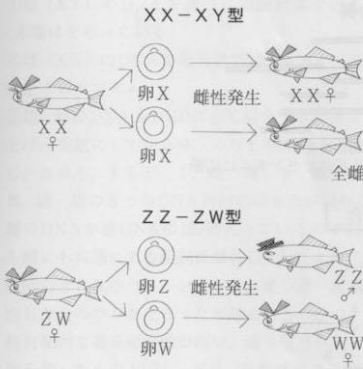


図 2.

②人為雌性発生を利用して、母方由来の卵の染色体セットのみで発生させその性比を見ます(図2)。このような方法により種々の魚類で性決定システムが明らかになってきています。現在までの知見では魚類の性決定システムは多様に分化していて哺乳類型のXX-XY、鳥類型のZZ-ZW、複数の性染色体をもつ $X_1X_2X_3$ - X_1X_2Y 、 $XX-XO$ 、 $ZZ-ZO$ 型等が知られています。驚くべきことに同一種の中にX、Y、Wの3種類の性染色体をもつものもいます。これらは雌雄異体な種のことであり、魚類の中には雌雄同体を示すものも知られ、体サイズにより♂→♀に変わるものや♀→♂になるもの、社会的環境の変化によって性を変えてしまうものまでいます。このように魚類は性決定、性分化の万国博覧会といったようなもので、何でもそろっています。こういうと魚類の性はいいかげんなものと思われてしまうかもしれませんが、遺伝的にははっきりと分かれているものの方が多数派と考えられています。

性判別

性染色体に見たのと同じように、魚類の多くは性に伴う遺伝的マーカーが見出されておらず、また、性的二型が出るものも成熟してからというものが多いため稚仔魚期での性判別は困難です。

魚の増養殖に於いては、性の統御というものは大変大きな意味を持っていますが、稚仔魚の時期で性判別ができるようになれば大変便利です。哺乳類の場合は牛などのように人工授精、胚凍結保

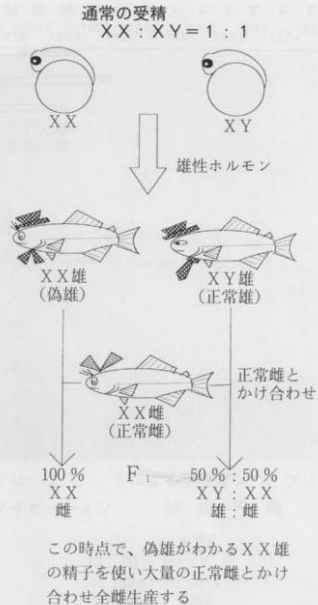


図 3.

存の前に胞胚期等の細胞を少数とってきて、染色体を見るか、♂特有プローブを使ってDNAハイブリダイゼーションを行い胚の性を確認し、必要とき、必要な凍結胚を仮親に戻すことによって性の統御が行われています。魚類の場合は1親の産卵量も多いので少し違った方法で性の統御が行えます。現在、サケ科魚類等では雌性発生とホルモン投与を組合せXX雄を作りこれと正常な雌(XX)とかけ合わせることで全雌生産が行われていますが、この方法では雌性発生の困難又は不可能な種では使えません。この場合ネックになるのは本物の雄(XY)と偽雄(XX)の区別で、今まではホルモン投与した個体を正常な雌(XX)とかけ合わせ、F₁の性比を見ることにより区別していましたが、時間的、経済的に大変大きな無駄となっていました(図3)。稚仔魚のうちに簡単に性判別できる方法があれば、雌性発生を使うといった煩雑さや、F₁の性比を見るといった必要もなくなるはずで、そこで私達は主にニ

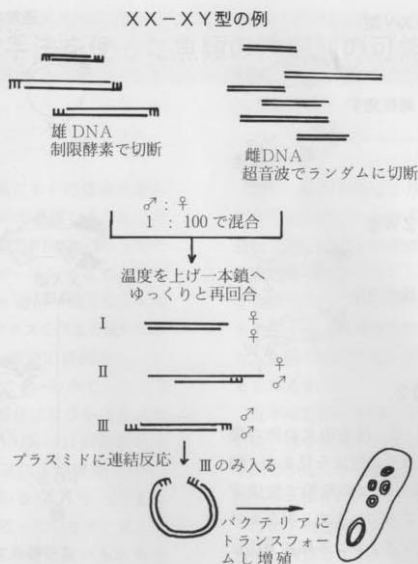


図 4.

ジマスで4つの分子生物学的な手法を用いてその可能性を検討しました。①♂♀の genomic DNA を制限酵素で切り、アガロース電気泳動を行い臭化エチジウム染色し高頻度反復配列を観察し、雌雄差を比較する。②Oligonucleotide を合成しプローブとしてサウザンハイブリダイゼーションを行い雌雄差を見る。③既にはかの動物（哺乳類、爬虫類、昆虫等）から単離されている性特有プローブを魚のDNA とでサウザンハイブリダイゼーションして雌雄差を示すか試す。④魚自身から性特有 DNA 配列のクローニングを試みる。結果として、①は約40種の異なった制限酵素を使って試しましたが多くの高頻度反復配列を見出すことはできませんでしたが、雌雄差は見られませんでした。②でも明らかな性特有バンドは試した中では見だされませんでした。これらのプローブでは個体識別（フィンガープリンティング）に使えることが分かり、集団遺伝学等の他の目的には有用であろうと考えられました。しかし性別判別には使えませんでした。③では、ZFY、SR Y 等の哺乳類の雄決定因子候補、BKm（ヘビの雌W 染色体特有配列）等を試しましたが、これらの配列が試

した魚類では保存されていることは分かりましたが、性特有バンドは見だされませんでした。ということで①～②は使う制限酵素、Oligonucleotide の種類等、いくらかでもそれこそほとんど無限に試せるが、経済的、時間的にめくらめっぽうで当たるまでやるということはできません。③は同じ動物内、例えば哺乳類でもウシでは性特有でもウマでは違うとか、同じ種内でも系統群によって性特異性を示さないなど、種、系統特異性を見ることが知られていて、系統学的にはるか離れていると考えられている魚類で性特異性を示す確率は低いとも考えられます。そこで④の魚自体からのクローニングを試してみました。方法は以下の通りです。

性特有DNA塩基配列のクローニング

DNA は遺伝子の本体で二重鎖ですが、温度や pH 条件を変えると簡単に一重鎖になり、再び条件を戻してやると相補的な鎖が二重鎖を作ります。この性質を利用して以下の操作を行いました（図4）。

①雄 (XY) のDNAを適当な制限酵素で切る。
(末端はそろっている)

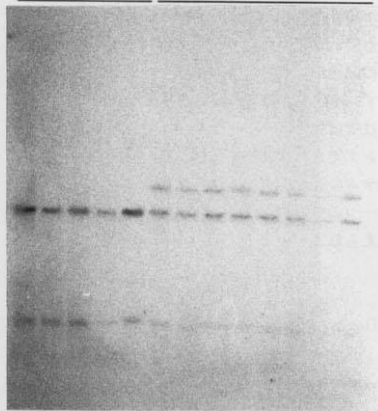
②雌 (XX) のDNAを超音波で切断する。(末端は全くのランダム)

③雄:雌のDNAを1:100にして混合する。温度を上げ一重鎖にしてからゆっくりと再回合(二重鎖に)させる。すると I. 雌-雌, II. 雌-雄, III. 雄-雄の3つのDNA再回合のものが現れる。雌のDNAが雄DNAの100倍入っているのでも雄にも雌にも共通にある配列は雌のDNAによって吸収回合されIIのパターンとなる。IIIの雄-雄の回合したもののみがそろった末端をもち、かつ、雄特有配列である可能性が高い。適当なベクターを雄を切ったものと同じ、又は、互換性のある制限酵素で切り連結反応をすると、IIIのみがクローニングされる。この方法で大量の候補配列がとれ、ニジマス♂♀で試しましたが、そのうちの一つは数個体では雄特異性を示しましたが、残念ながらすべての雄に特有なパターンは得られませんでした。ニジマスはいくつかの系統群に於いては性染色体の存在が形態上区別できますがこの種は染色体数自体にロバートソニアン型の変異(染色体腕数は変化無く動原体部での融合、分離により染色体数が変化する)が存在することもあり、例えば、およそ35%の雄(フランスの養殖系統)では性染色体がはっきりとせず、雌と区別ができません。このようにこの種は性染色体の分化度が低いためにクローニングが困難なのではと考え、形態的に性染色体が大きく分化した種である *Leporinus elongatus* というブラジル産の魚を使い同様な方法で試みたところ、雌特有(この種は雌ヘテロのZZ-ZW型の性決定をする。)配列が2つ得られました(図5)。それら塩基配列は反復配列で、既に知られている遺伝子のDNA塩基配列とは相同性が無く、蛋白質もコードしていないことが判明しました。しかし、この方法により少なくともこの種での性特異的DNA塩基配列を得ることができ、これを利用することにより分子生物学的に性別判別ができることが判明しました。

今後の課題

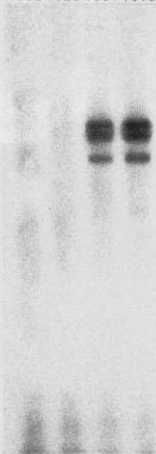
今回の実験で得られた配列はノンコーディング配列で機能的な役割はないように見えます。また、この種は産業的にそれほど有用な魚種ではないの

M M M M M F F F F F F F F
1002 1217 1222 1215 1219 1221 1225
1216 1223 1001 1218 1220 1224



プローブ L' - 5 によるサウザンハイブリダイゼーション M:雄 F:雌

M M F F
1002 1020 1001 1019



L' - 46 によるサウザンハイブリダイゼーション M:雄 F:雌

図5.

で、有用魚種でのクローニングが望まれます。昨年カナダのグループに於いて私達が行った方法と同じ方法でキングサーモンの雄特有配列をクロー

ニングしたという報告がありましたが (Devin 他, 1991) この配列もキングサーモン特有で、ほかのサケ科魚類では性特異性を示さないということでした。早々にサケ科全種にも使えるプローブの開発が望まれます。産業上の性の統御のみならず、純粋な生物学的興味からも性に特有な配列だけではなく性そのものを決定する配列をクローニングできれば多様性に富む複雑な魚の性決定システムの進化的意味と性決定のメカニズムを考える一つの飛躍的なステップとなりえるであろうと考えられます。

参考文献

Devin, R. H., et al. 1991. Isolation of a Y-chromosomal DNA probe capable of determining genetic sex in chinook salmon

(*Oncorhynchus tshawytscha*) Can. J. fish. Aquat. Sci. 48(9), 1606-1612

Nakayama et al., 1991. Isolation of sex-specific DNA sequence in a fish. Session 28. IMBC'91 Baltimore USA.

Koopman et al., 1991. Male development of chromosomally female mice transgenic for *sry*. Nature 351, 117-121.

小島吉雄, 1983. 魚類細胞遺伝学. 水交社

Sinclair et al., 1990. A gene from the human sex-determining region encodes a protein with homology to a conserved DNA-binding motif. Nature 346, 240-244

(遺伝育種部細胞工学研究室
科学技術庁科学技術特別研究員)

冷水性魚類の魚道に関する共同研究

福 所 邦 彦

『魚に優しい川作り』の基礎資料を得るための共同研究が日光支所で始まりました。共同研究のパートナーは建設省土木研究所砂防部砂防研究室

(主担当:原 義文主任研究員 〒305 茨城県つくば市大字旭1, ☎0298-64-2211, 内線520~524) です。1991年11月に仮設の木製魚道実験装



図1. 魚道実験装置



図2. 遡上中のイワナ。落差10cm, 流量14ℓ/sec



図3. 養殖研日光支所の観覧用を兼ねた実験用魚梯

置が組み立てられ(図1), 同12月にはイワナを用いた遡上可能な諸水力条件や遊泳速度等の調査が始まりました(図2)。本共同研究によって得られた成果は、イワナ等溪流に棲む魚たちの回遊の障害とならない機能や構造を備えた魚道の設計や設置の基礎資料として活用されることが期待されます。

なお、日光支所構内にはサケ・マス類の体側面からの観覧や各種遡上実験のためのコンクリート製魚道が1990年10月に完成し、当支所を訪ねて下さる多くの方々からの好評を博しています(図3)。

(日光支所長)

日本比較内分泌学会と養殖研究所

香川 浩彦

第16回日本比較内分泌学会が伊勢シティプラザを会場にして1991年11月21、22日の2日間にわたって行われた。この学会を養殖研究所が世話役をして伊勢で行うのは初めてのことであった。そこで、この機会に養殖研究所のことを知ってもらいたいと考えて（ある大学の教官にそそのかされたせいもあるが）、養殖研究所の多くの人にスライドを借りたり、各部の今話題になっていることを部長にたずねて、約20分間ではあったが紹介することができた。ここでは逆に日本比較内分泌学会について、今回の学会報告も兼ねてこの紙面を借りて紹介したいと思う。

日本比較内分泌学会は前述した開催回数が見出すように比較的歴史の浅い学会である。内分泌学の基礎研究の必要性やこの分野の研究者間の意見交換の場として、1975年、小林英司先生を（当時東京大学教授、神経内分泌学）初代会長として発足した。この学会設立には石居進（現早稲田大学教授、第2代会長、生殖腺刺激ホルモン受容体と進化および行動とホルモンが専門、「生物学者のための統計学」の著者として知っている人もあろう）や平野哲也（現東京大学海洋研究所教授）両先生の尽力があったと聞いている。この学会のユニークな点は、(1)論文は国際誌に投稿するようにし、独自の学会誌を持たない。これは学会誌を持つと論文の内容や作成が安易に陥りやすく、会費が高くなる（現在、3,000円/年）。(2)その代わりに学会ニュースを発行して会員の情報交換の場とする。(3)大会は行わないで年1回シンポジウムを開き（学会設立の翌年から大会も行われるようになった）、それを本として商業ベースで発行する（「ホルモンの生物学」がシリーズ発行されている。またこの他に「ホルモンハンドブック」、「内分泌器官のアトラス」等々の本が出ている）。(4)種々の手法のワークショップを開く（群馬大学内分泌研究所でのラジオイムノアッセイワークショップ、免疫細胞化学ワークショップ等が定期的に行われている）等が挙げられる。さらにこの学会は、名前が示すとおり、医学・薬学・理学・農学・水産学

と多くの分野から、これまた、種々の手法や哺乳類から昆虫に至るまでいろいろな動物種を用いて内分泌学を行っている研究者の集まりである。現在の会員数は約450名であり、年1回の大会には約百数十名の人々が集まる。大会のスタイルは学会開催機関に任せられるが、特別講演やシンポジウム形式の発表に、一般発表がポスターの形式で行われることが多い。

さて、伊勢での本会は、やはり特別講演とポスター発表の形式で行ったがポスター発表（2時間の前に2分間のポスターアビールの時間を設け、各研究者に自分の研究をまとめてもらった。ポスター形式の発表は比較内分泌学会では、前述したように当り前のように行われているが、日本全体（外国の場合ポスター発表は比較的多い）としては珍しいのではないだろうか。このポスター発表の利点は、開催者にとっては、スライドや照明や進行に気を使わなくて済むため随分楽である。また、各発表者にかなり詳しく、口頭発表では訊ねづらい質問もでき、親密になることができる。等々。その反面、ちょっと論議に白熱すると、ついつい時間が経ってしまい、多くの発表を見逃してしまふ。自分がポスター発表をしていると余計に他人の発表を見る時間がない。また、人気のある発表には質問待ちしなければならない等の欠点もある。話が下手で、浅学の私にとっては、発表もやり易く（但し、スライドを作り慣れているためか、ポスターを作るのに苦労する）、質問しやすいので好きである。

今回の学会では、夏に国際比較生理生化学会議があり、本会の次の月にはアジア・オセアニア比較内分泌学会がインドであることなどから、参加者数が減少するのではないかと心配されたが、59演題、132名の参加があり、盛会であったと思っている。また、エクスカージョンとして企画した養殖研見学には40名近い人々に参加してもらい、一層養殖研に対する理解を深めてもらったものと考えている。

今回の学会の内容は分野が多岐にわたり、まと

めに、内分泌に興味のない人には面白くないと思うので、ここでは詳しく述べないが、繁殖行動とホルモン、及びフェロモン、環境とホルモン、卵成熟・排卵機構、等である。

しかしここで、特記すべきは、魚類を対象とした研究が非常に多いことである。各々の生物種の発表数は、多い方から魚類23題、哺乳類13題、鳥類8題、両生類・爬虫類4題、昆虫3題、甲殻類2題、ナマコ1題、ホヤ1題、及び方法論（ホルモン測定方法など）4題であり、実に約40%近く（甲殻類、ナマコ、ホヤを含めると45%）が魚類を対象としての研究である。これは、この大会が養殖研であったための今回限りではなく、最近の傾向のようである。

これは勿論、東京大学農学部の会田勝美先生のグループや東京大学海洋研究所の平野哲也先生のグループ及び北海道大学水産学部の山内皓平先生のグループの活発な研究活動の現れとも考えられるが、実験対象種としての魚類は、今や、水産分野の独壇場ではなく、他の分野の研究者の興味の対象となっているのである。これは、一つに魚類が比較的安価に、しかもホルモンを精製する時には多量に原料が入手でき、飼育しやすく、殺してもさほど良心がとがめない（医学部にいた時、ウサギはまだしもイスを解剖した時の生暖かな血の感触や実験材料のブタの冠動脈をト殺場まで毎日のように取りに行っていた時の腹を裂かれたブタの宙ずりは今も頭の中に残っている）等の利点がある。しかも、特に理学部の研究者は、彼らの目的に合った最も使いやすい魚種を用いて実験を行っている。また、最近では、種々のホルモンのcDNAのクローニングやmRNAの研究およびin situ hybridizationを用いたホルモン現象の解析など遺伝子関係の研究も増加してきた。

さて、ここまで比較内分泌学会の歴史や特徴及び今回の伊勢での大会のことを書いてきたが、比較内分泌学会についてお解り頂けたであろうか。私自身、この比較内分泌学とは何であるのかまだよく解っていない。もちろん各生物種間のホルモン構造や作用機序を比較することから、自分の研究対象種やホルモンの特徴を明らかにできたり、実験手法を互いに習うことができることは有意義である。さらに、一歩進めて、Comparative to Generalつまり、各動物群に共通する理論やホル

モンの作用機構を明らかにすることが重要であることは言うまでもない。したがって他の研究者の使っていない動物種を使って同じような研究をして、自分の研究がオリジナルと思っていてもしかたがない（多分に自戒の念を含めて）。

前述したようにこと内分泌分野に関しては多くの大学で魚類が研究対象として利用され、しかも、その生物現象を最も金と人手のかかる遺伝子レベルで解析している現象を考えれば、今や大学との関連なくしては研究もやりづらくなってきている。また、ここまで考えとどうしても養殖研究所とは何ぞやと考えなくてはならなくなるのも事実である。これに対する答えはまだ明瞭なものの中にはない。

ただ、基礎研究と応用研究のどっちつかずでどっちからも相手にされないようなことには決してなりたくないのも事実である。このような問題は、養殖研究所に在籍する人なら必ず考えていると思うのであえて言う必要のないことなのかもしれない。しかし、大学の組織力、外国水産研究所の組織力の前には、少なくとも我々の研究分野に関しては、これらは、脅威であり、個人々が対抗していくには余りにも大きすぎるのである。

最後になったが、今回の学会には中央水研上田庁舎の伊藤文成氏や日光支所の生田和正氏の両者が発表していたことは喜ばしいことである。養殖研の本所からは何の発表もなかったがこれは、大会運営と前日、前々日に乾靖夫部長を中心として行われたThe 3rd MAFF Homeostasis Workshop "Endocrine control of reproduction and early development of Fish"に主要な人材が奪われたためと思う。

稿を終るにあたって、本学会の大会運営委員長であった廣瀬慶二郎氏と副委員長であった乾部長が全ての準備を外見上事もなげに済まされたことに感服し、大会事務局長としての私は何もせずに済んだことを反省するとともに報告し、会場設営やスライド係や所内の案内をしていただいた企画連絡室および養殖研究所の人々に感謝する次第である。

（繁殖生理部繁殖生理研究室長）

DNAプローブとしてのPCR: PCR-SSCPによる多型の検出

大原 一郎

<内容>

1. DNAプローブとは
2. DNAプローブとしてのPCR
3. ミトコンドリアDNA分析におけるPCRの利点
4. フグでも使えるニジマスミトコンドリアDNAのプライマー
5. PCR-ダイレクトシーケンシングで調べる多型および種の系統関係
6. PCR-SSCPで種内多型を探す

はじめに

本稿では、遺伝子の研究を水産分野に応用した一例として、ミトコンドリアDNAのプローブを利用した種内多型の検出の実例を紹介する。実験手法としてはPCRを取り上げるが、この方法は遺伝子工学用の設備のない研究室でも容易に導入できるうえに、利用法も急速に進歩している。5.の内容以外にはPCRの装置さえあれば実行可能である。なかでも6.で述べるSSCPは、簡単な実験にもかかわらず従来の多型検出の効率を飛躍的に高める画期的な手法である。

本稿はマニュアルをめざしたものではないが、PCRおよびSSCPの実験をして気づいた点なども多少盛り込んで記述したので、この種の研究に興味をお持ちの方の参考になれば幸いである。

1. DNAプローブとは

真核生物のゲノムのDNAは半数体当たり通常 10^8 塩基対程度からなり、その中に約5万個の構造遺伝子がコードされているといわれるが、それらのうちから目的に応じて特定の領域のDNAのみを検出・観察したいときに探索子として用いるDNAを、DNAプローブという。DNAプローブとして要求される重要なポイントは、特定の遺伝子または遺伝子群を特異的に検出できることと、検出感度が高いことである。

DNAプローブで特定の遺伝子を観察する目的は様々であるが、筆者は現在、養殖集団間の遺伝的多型の検出や、種間の遺伝的距離の測定のため

に用いている。一方ヒトなどでは遺伝病との連鎖を示す遺伝的多型の検出が病気の診断のために使われている。構造遺伝子上の1塩基の違いが発がん等の直接原因になっていることもある。また、ニワトリでは主要組織適合抗原複合体(MHC)上の多型とマレック病との相関に関する研究が広島大学を中心に行われている。

しかし研究目的や分野は違っても、多型検出に用いるDNAプローブの技術は共通である。そのような多型検出法の実例を筆者のミトコンドリアDNAの研究から紹介するのが本稿の目的である。

普通DNAプローブといえばクローン化されたDNAの一部を³²Pなどで標識したものを指す⁽¹⁾。核のDNA全体を抽出して制限酵素で切断し、電気泳動後にニトロセルロース膜やナイロン膜にプロベディングしておく。次にプローブを膜上のDNAとハイブリダイズさせれば、プローブと相補的な配列のみがプローブと2本鎖を形成する。その後で膜の全面にしみ込んだ余分なプローブを洗い落とすと、相補的な配列を含んだDNA断片に相当するバンドの位置にのみ標識されたプローブが残る⁽²⁾。この場合検出の特異性はハイブリダイズするDNAの相補性によってもたらされ、高い検出感度は標識法によってもたらされる。

2. DNAプローブとしてのPCR

<PCRとは>

筆者はPCRが広い意味でのDNAプローブとみなされたとの立場にたって研究を進めてきた。PCRはポリメラーゼ・チェイン・リアクション(Polymerase Chain Reaction)の略である。生物の遺伝子は細胞分裂の際複製されるが、その仕組みをうまく利用して、遺伝子の特定の領域を試験管の中で増幅させる反応がPCRである⁽³⁾。DNAプローブとしてPCRを用いる場合、プローブに要求される特異性をもたらずのは、プライマーと呼ばれる20塩基程度の短いDNAの配列である。また従来のように標識を用いて微量な核酸を高感度で検出するのではなく、DNAそのものを増やして観察するのでハイブリダイゼーションの手間

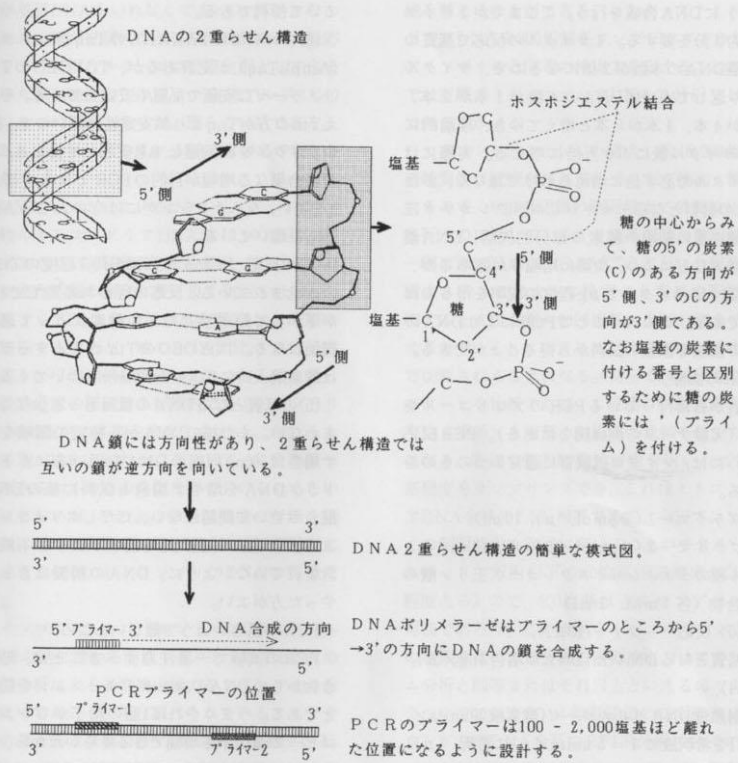


図1. DNAの構造とDNAポリマーゼによる合成の模式図

二重らせんの立体図はLewin, B. (1987) Genes (3rd ed.) Wiley, New York, p47より改変。

がかからない。

以下にPCRの原理を説明する(文献4の絵がわかりやすい)。遺伝子の複製に関わる酵素はDNAポリマーゼとよばれ、1本鎖のDNAを鋳型として一方に相補鎖を合成する活性を持つ。ただし1本鎖さえあれば合成を開始するわけではなく、反応開始のきっかけとして、二本鎖の領域が必要である(図1)。実際の生き物ではウイルスから真核生物に至るまでさまざまな仕組みできっかけをつくっているが、PCRでは人工合成したオリゴヌクレオチドを反応液に加えることによって二本鎖の領域を作る。このオリゴヌクレオチドは合成開始のきっかけを与えるという意味でプライマー

と呼ばれる。通常は既に知られている塩基配列のデータをもとにDNAの各々の鎖上に100-2,000塩基離れて位置するように一対のプライマーを設計する。増幅されるDNAはこの1対のプライマーに挟まれた領域である(図1)。

通常PCRの反応は専用の温度制御装置を用いて行われる。まずDNAを95℃で熱変性させ1本鎖にする。次に50℃程度に急冷するとDNAは再び2本鎖になろうとするが、あらかじめ短いプライマーを高濃度に添加しておくこと、プライマーのほうが先にそれぞれの1本鎖に相補的に結合する。その後で72℃にすると耐熱性のポリマーゼが働いて、プライマーのところから5' → 3'の方向

(図1)にDNA合成を行う。ここまでが1サイクルで約3分を要する。1サイクルの反応で基質の一本鎖DNAの本数が2倍になるので、サイクルを繰り返してゆけばDNAの本数が1本が2本、2本が4本、4本が8本と増えてゆき、理論的には20サイクル後に100万倍に増える。実際には各サイクルで必ず倍に増えるわけではなく、またDNAの材料となるデオキシリボスクレオチド三リン酸の量の制限や酵素の部分的失活、DNA濃度の増大などにより、次第に増幅率が落ちるが、通常20-50サイクルで μg 程度の収率を得るのは容易である。このようにしてPCRによりDNAの特定の領域を微量の試料から得ることができる。

<PCRの実際>

筆者が日常行っているPCRのプロトコルを示す(実験データの例は図2にある)。PCR反応を行うには、マイクロ試験管に通常7つのものを加える。

- (1) プライマー1 ($2\text{ pmol}/\mu\text{l}$, $10\mu\text{l}$),
- (2) プライマー2 ($2\text{ pmol}/\mu\text{l}$, $10\mu\text{l}$),
- (3) 4種のデオキシリボスクレオチド三リン酸の混合物 (各 1 mM , $2\mu\text{l}$),
- (4) $10\times$ 反応バッファー ($10\mu\text{l}$),
- (5) 基質となるDNA (mtDNAの場合 $1\text{ ng}/\mu\text{l}$, $1\mu\text{l}$),
- (6) 耐熱性DNAポリメラーゼ(酵素液 $20\text{ units}/\mu\text{l}$ を希釈液で $4-5\text{ units}/\mu\text{l}$ に希釈, $1\mu\text{l}$),
- (7) 滅菌水 ($66\mu\text{l}$)を加えて全体を $100\mu\text{l}$ にする。

PCRの装置はパーキン・エルマー・シータス社製が定評あるがやや高価である。筆者はATTOのザイモリアクターの旧バージョン(68万円)を用いている。故障することもあるが充分使用に耐える。なお最近シータス社からPCR実験の標準容量を $5\mu\text{l}$ とするのでできる新しいタイプが市販されている。

プライマーは通常20mer程度で、配列の設計については注意点があるので文献を参照されたい⁽⁹⁾。設計できてしまえばDNA合成機がなくても業者に合成依頼して納期1週間、1本5万円前後で手にはいる。なお魚類ミトコンドリアDNAの増幅については幾らかプライマーを提供できるので必要な方は連絡されたい。

(3)のdNTPs4種の混合液は、ベーリンガーマンハイムからpHを調整済みの水溶液が市販され

ていて便利である。

(6)についてはTAKARAのTaqポリメラーゼ(AmpliTaq)が定評あるが、TOYOBOのTthポリメラーゼは安価で品質も安定している。そのうえTthの方がTaqより熱安定性が高いので、PCRのサイクルを80回廻しても安心して使える。筆者の場合単なる増幅が目的のPCRではもっぱらTthを用い、シーケンシングには今のところAmpliTaqを用いている。

(4)の反応バッファーにはpH8.7程度のTris \cdot HClが含まれている。反応の行われる72 $^{\circ}\text{C}$ ではpHが下がって8.0程度になり、酵素にとって適した環境になる。TOYOBOのTthポリメラーゼ等では酵素購入時に $10\times$ バッファーもついてくる。

(5)の基質となるDNAの量はもっと少なくてかまわない。また核のDNAから特定の領域を増やす場合は100ng程度のDNAを用いる。ミトコンドリアDNAを増やす場合も試料に核のDNAが混じっていて問題はない。ただしポリメラーゼによるDNA鎖の伸長反応を妨げるような不純物が含まれていないように、DNAの精製はきちんとやった方がよい。

<PCRの易しいようで難しいところ>

PCRの実験で一番注意すべきことは、他の生き物からのDNAのコンタミネーションを防ぐことである。うまくやれば1個の精子からシングルコピーの遺伝子を増幅できるくらいだから、滅菌されていない分注用チップ等を用いたらプライマーとホモロジーのあるバクテリアの配列が増幅されても不思議ではない。またピペット操作を確実にしたつもりでも、細かい水滴(エアロゾル)が発生して分注器の中の空気中に混じり、これを介して基質DNAやプライマーが別の試験管に混じってしまうことがある。従ってPCRの実験ではポジティブコントロールのほかに必ずネガティブコントロールを作る必要がある。つまり基質DNAを加えない反応を行って、PCR産物が得られないことを確認するのである。分注用チップの中段に脱脂綿を詰めてオートクレーブにかけた後乾燥させたものを用いればトラブルが少なくなる。脱脂綿の代わりに多孔質ウレタンを詰めた市販品もある(USA/SCIENTIFIC PLASTICS等)。

先日耳にした話であるが、ある研究者が牛の染色体に散在する反復配列をPCRで増やした。と

ころが基質DNAをいれなくてもバンドがきちんと現れた。原因を調べたところ、PCRの10×反応バッファーにポリメラーゼの安定化剤として含まれていた超高純度のBSA（ウシ血清アルブミン）がコンタミの原因であった。恐ろしい話である。

3. ミトコンドリアDNA分析におけるPCRの利点

<核DNA vs. ミトコンドリアDNA>

動物のミトコンドリアDNAは16,000塩基対程度の大きさで、制限酵素切断長多型（RFLP）の検出や進化距離の測定に最近良く利用される。ミトコンドリアDNAの遺伝学的な特徴は、一般に母系遺伝すること、核のDNAに比べて分子進化の速さが平均10倍程度速いことである⁽⁹⁾。従って比較的近縁の種間および種内でもミトコンドリアDNAの配列の多型を検出しやすい。もちろん種内多型が検出されたからといって、多型に基づいて種内をいくつかの系群に必ず分けられるという保証はないが、そのような系群構造の有無を調べるのに用いる多型を、核DNAよりも高頻度に検出できるのが、ミトコンドリアDNAの特徴である。

<アイソザイム vs. ミトコンドリアDNA>

PCRの話にはいる前にミトコンドリアDNAのRFLP分析による多型検出能力をアイソザイム分析と比べておこう。現在調べられているアイソザイムのほとんどは核のDNAにコードされている。核DNAに起こる突然変異のうち、約67%は同義的な変異であり、残りの33%がアミノ酸置換をもたらすが、さらにその約4分の1がアイソザイムの分析で易動度に変化をもたらすといわれている⁽¹⁰⁾。従って検出される変異は全体の8.3%である。たとえば2生物間で、平均400アミノ酸からなる30種類のアイソザイムで多型を調べるとしよう。ただし話を単純にするために染色体を1セットしか持たない半数体の生物として話を進める。この場合1,200(塩基)×30(タンパク質)=36,000塩基に起こる変異のうちの8.3%が観察にかかる。したがって、もし両生物間でアイソザイムのパターンが一致したとすれば、2生物間で3,000塩基あたり1塩基以下の変異しか起こっていないことになる。さて、ミトコンドリアDNAでは10倍ほど塩基変異の速度が速いので、上の結果はミトコンドリアDNA300塩基あたり1塩基以下の変異と

読み替えることができる。したがって、ミトコンドリアDNAの300塩基をサンプリングできれば、アイソザイムと同等の検出力を有することになる。では実際のミトコンドリアDNAの分析ではどうかであろうか。

ミトコンドリアDNAの場合、約16,000塩基対の特異的な配列が核外遺伝子として抽出、精製されるので、6塩基認識の制限酵素で多型検出実験を行うのに適している。6塩基認識の制限酵素の一例はEcoRIで、5'-GAATTC-3'という配列を切断する⁽¹¹⁾。このような特定の6塩基の配列は平均すると4の6乗=4096塩基に1回の割合で出現するので、ミトコンドリアDNAあたり約4箇所で切断されることになる。従って2集団で切断のパターンを比較すれば、1種類の制限酵素あたり平均4箇所×6塩基=24塩基の比較を行ったことになる。安価な制限酵素10種類を用いれば240塩基程度をサンプリングでき、これはミトコンドリアDNA全体の1.5%程度である。今日ではより多くの制限酵素を普通に用いることができる(1,000ユニット1万円以下の6塩基認識酵素が25種類程度ある)ので、400塩基ほどのサンプリングが可能であろう。このことからミトコンドリアDNAの制限酵素による分析の多型検出力はアイソザイム分析と同等またはそれ以上といえるのである。

ついでにいうと、4塩基認識の制限酵素はミトコンドリアDNA全長のRFLP分析にはそのままでは向かない。なぜなら4の4乗=256塩基に1箇所の割合で切断されるので、全長が60本程度に分かれることになり、よほど高分解能のゲルを用いない限り分析が難しいからである。

<mt-DNA全長のRFLP vs. PCR産物の分析>

では次にミトコンドリアDNA分析におけるPCRの利点について考えてみよう。PCRでは微量のDNA試料からミトコンドリアDNAの特定の領域を増幅することができるので、これまで分析が難しかった小さな生物や1個の卵などについても容易に分析可能である。またミトコンドリアDNAを精製せず、核のDNAの混じった試料からでも、選択的にミトコンドリアDNAの領域のみを増やすことができる。この特異的増幅こそPCRが広い意味でのDNAプローブとみなされる所以である。

ミトコンドリアDNAの調製は、研究対象生物

の種類や大きさによって方法と収量が異なる。RFLPの分析のためには両鎖のホスホジエステル共有結合(図1)が完全に保たれた閉環状構造のミトコンドリアDNAを1試料から1 μ g以上とることが望ましい。両鎖の共有結合のどこかが切れると開環状の構造になるが、この構造でもRFLPの分析にかければきちんとしたデータが得られることが確かめられている⁽⁹⁾。さらにランダムな切断が進むと2本鎖がちぎれて線状構造になり、RFLPの分析が難しくなる。さらに崩壊が進むと完全長のミトコンドリアDNAが得られず、電気泳動では様々な長さのちぎれた断片の集合がある分布をもって観察される(スメアバンド)。ところが、研究者を悩ますこのような悪い状態の試料でも、PCRを用いればミトコンドリアDNAの特定の領域の配列を増幅することができる。というのは、プライマーからプライマーまでの配列が保全されている断片がありさえすれば増幅可能だからである。博物館にあった絶滅種の試料⁽⁹⁾や縄文人の骨⁽¹⁰⁾からミトコンドリアDNAを増幅できたという報告は、このような理由で可能なのである。このように、実験の投量や試料の大きさなどの制限を受けず、確実にミトコンドリアDNAの特定の領域を増やすことができる点が、PCR分析の利点である。

ではPCRによって増幅されたDNAの分析による多型の検出力はどうであろうか。筆者が現在行っているPCRでは1キログラム塩基対のDNAが得られる。もしこれを4塩基認識の制限酵素7種で切断すれば、RFLPの検出にかかるDNAは4(塩基) \times 4(箇所) \times 7(酵素)=112塩基ほどである。他の制限酵素を援用しても150塩基ほどをサンプリングできる程度であろう。したがって1キログラム塩基対のPCR産物の場合、単なるRFLPではアイソザイムより検出力が劣る。

ところが、ごく簡単な実験を追加することによって、1キログラム塩基対のPCR産物の多型検出力を飛躍的に高めることが可能である。それが6、で述べるSSCPの検出である。もう一つの有力な方法は、D-ループと呼ばれるミトコンドリアDNAの複製に関わる領域をPCRで増やすことである⁽¹¹⁾。D-ループでは分子進化上の制約がほとんどかからないらしく、タンパク質のコーディング領域に比べて約4倍変異速度が速い。従ってD-ループ上

の多型を4塩基認識と6塩基認識の制限酵素の両方で調べれば全ミトコンドリアDNAを6塩基認識の制限酵素で調べた場合より多くの多型を検出できるはずである。

4. フグでも使えるニジマスミトコンドリアDNAのプライマー

PCR反応の特異性はプライマーの配列が決めるので、プライマーの設計は非常に重要である。ニジマスのミトコンドリアDNAに基づくプライマーを筆者が設計した時は、ニジマス、ヒト、マウス、およびアフリカツメガエルの該当する領域のホモロジーをパーソナルコンピュータで調べ(GENETYX-CDバイオデータベースソフトウェア、ソフトウェア開発)、4生物間で比較的良く配列が保存されている領域にプライマーを設計した。それによって広い範囲の生物種でこのプライマーを用いることをねらったからである。

その結果、サケマス類ではサクラマス、アマゴ、ビワマスなど、調べた範囲のあらゆる種でニジマスPCRプライマーが利用できた。また養殖研究所の岡崎登志夫博士が各地から収集した淡水魚のうちで、ハス、ホンモロコ、マナマス、ビワコオオナマスなどから、PCR産物を得ることができた。

ところでミトコンドリアDNAに起こる塩基変異の特徴の一つは、コードされているアミノ酸を変える変異に比べて、アミノ酸に影響を与えない、いわゆる同義的またはサイレントな変異が圧倒的に多いことである。例えばニジマスとサクラマスのミトコンドリアDNAの配列を944塩基について比較してみると、87箇所が多型が観察されるが、異なるアミノ酸をもたらす多型はほんの数個であった。遺伝的に離れた魚種間でプライマーに相当する領域の塩基配列が異なっているためにPCRがうまく行かないことがあるが、その場合でもプライマー上のほとんどの変異はアミノ酸に変化をもたらさないコドンの3番目の位置にあることが予想される。この予測を利用して、図2(a)に示したような混合プライマーを設計した。ただし、いわゆるコドンの縮重のすべてを考慮した訳ではない。PCRの増幅には5'側よりも3'側の配列が大きな影響を及ぼすので、塩基混合の位置を3'側に集中した。また3'末端のミスマッチがPCRの効率にもっとも強く影響することが知られてい

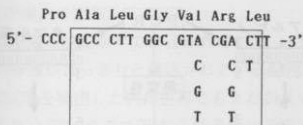


図2(a). コドンの縮重を考慮した混合プライマーの例

□で囲んだ領域がプライマーに相当する。コドンに対応するアミノ酸を塩基配列の上に3文字表示で示してある。この設計によるプライマーは、 $4 \times 4 \times 2 = 32$ 種類の配列の混合物になる。

るので、3'末端で4塩基の混合したプライマーを作りたいところであるが、あいにく今日のDNAの機械合成では3'端の塩基の混合が面倒である。そこでPCRへの影響がもっとも少ないといわれているチミン(T)を3'末端に持つるように設計するのが良いと考えた。

一对の混合プライマーを用いてPCR反応を行ったところ、岡崎博士による試料のうちで、タモロコ、ヤリタナゴ、アブラボテでも増幅に成功した。また、長崎水試と西海区水研の宮木・山崎両博士より提供していただいたトラフグおよびコモフグのミトコンドリアDNAでも同様に増幅できた(図2(b))。結局これまでのところ、試みたすべての魚でPCRに成功している。

5. PCR-ダイレクトシーケンシングで調べる多型および種の系統関係

ミトコンドリアDNAの塩基配列を500塩基程度決定すると、ミトコンドリアDNA全長のRFLPよりも多くの多型を検出できる。しかも多型検出の最小単位が1塩基であるので、多型データとしては質的にもっとも詳しいものである。本号表紙の写真は2系統の養殖ニジマスミトコンドリアDNAより得たPCR産物をDNAシーケンサーで調べたものである。詳しくは表紙の説明を参照されたい。

生物種間で塩基配列を直接比較することにより、各種間での塩基変異の数を集計すれば、種間の相対的な進化距離を算出することができ、それをもとにして系統樹が得られる。このことについては本稿の目的からずれるので詳しくは述べないが、注意すべきことは一般に求められた系統樹はその

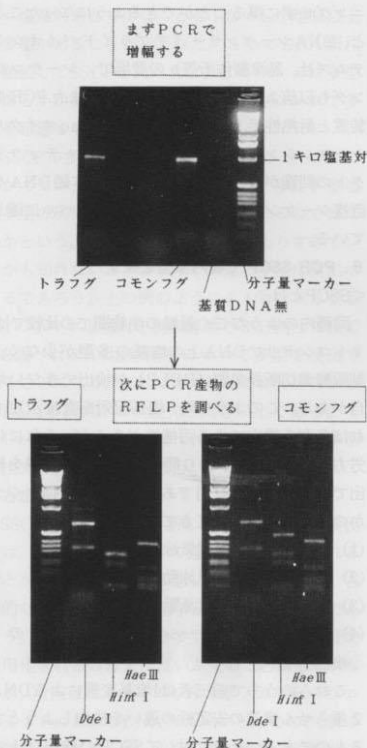


図2(b). トラフグとコモフグのミトコンドリアDNAのPCRによる増幅とRFLPの検出

制限酵素 *Hinf I* でRFLPが見られる。
(宮木, 山崎, 大原, 未発表)

形と枝の長さに誤差を含んでいるということである。誤差を少なくするためには生物集団間なるべく長い塩基配列を比較して、多くの多型を検出することが必要である。2生物種間で100塩基の多型を見いだすことができれば、推定される進化距離の誤差はおおむね1割程度である。このように誤差の見積りをもった信頼性のある系統樹を作る上で、塩基配列のデータは非常に役に立つ。最近PCRによって特定の領域のDNAをクロ-

ニングせずに得ることができるようになったことと、DNAシーケンサー（アプライドバイオシステムズ社、島津製作所等）の登場で、シーケンシングも以前よりだいぶ楽になった。またPCRの装置と耐熱性ポリマーゼを用いたTaqサイクルシーケンシングにより、高次構造のアーティファクトの問題が改善されることがともに2本鎖DNAを直接シーケンシングする事が実用的レベルに達している。

6. PCR-SSCPで種内多型を探す

<SSCPとは>

同種内のようなごく近縁の生物間での比較では、ミトコンドリアDNA上の塩基の多型が少なく、制限酵素切断長多型（RFLP）が検出できない場合がある。このような時、塩基配列を直接決定すれば多型を検出できる可能性があるが、それには労力を要するので、より簡便に高確率で多型を検出できると非常に有用である。今日までにいくつかの方法が考案されてきている。

- (1) 変性剤勾配ゲル電気泳動(DGGE)⁽⁶²⁾、
- (2) 温度勾配ゲル電気泳動(TGGE)⁽⁶³⁾、
- (3) 温度掃引ゲル電気泳動(TSGE)⁽⁶⁴⁾、
- (4) 1本鎖コンフォメーション多型(SSCP)の検出⁽⁶⁵⁾。

これらのうちで前三者は1塩基変異によるDNA 2重らせん構造の安定性の違いを検出しようとするものである。それに対してSSCPの検出は1本鎖DNAに高次構造（コンフォメーション）を取らせて1塩基変異の影響を調べる方法である。

SSCPは築地の国立がんセンターの研究者によって1989年に命名され⁽⁶⁶⁾、その後PCRと組み合わせ用いられるようになった⁽⁶⁷⁾。当初は放射性同位元素を用いて検出されていたが、畜産試験場の高橋、粟田、安江（1990）⁽⁶⁸⁾および Dockhorn-Dworniczak *et al.* (1991)⁽⁶⁹⁾によって銀染色を用いて検出する簡便な方法が報告された。筆者らは畜産試験場との共同研究でサケマス類のミトコンドリアDNAのSSCPを検出している⁽⁶⁵⁾。

以下にSSCPの原理を述べる（図3）。DNAのゲル電気泳動においてポリアクリルアミドの様な網目構造の中を2本鎖DNAが動くときは、立体障害により長いものほどゆっくり移動する。2本鎖DNAを尿素などの変性剤で1本鎖にした場合も事情は同じで、尿素を含んだゲルでの電気泳動

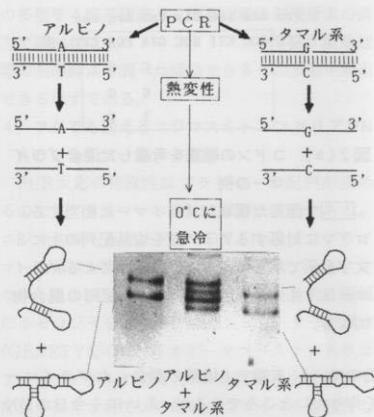


図3. 養殖ニジマスミトコンドリアDNAのSSCP⁽⁶⁵⁾

により長さに応じてDNAを分離することができ、これがDNAシーケンシング技術の基礎となっている。ところがDNAを一度1本鎖にした後で、もう一度2本鎖を形成する条件に戻してやると、相補鎖が見つかった1本鎖同士は元の2本鎖を形成するが、近くに相補鎖がない1本鎖はとりあえず図のように自分自身の内部で部分的に相補的な配列を見つけて高次構造（コンフォメーション）をとる。DNAの濃度が低いほど本来の2本鎖にならない確率が高く、1本鎖のまま高次構造をとり易くなる。

どのような高次構造をとるかは1本鎖の塩基配列で決まる。通常2本の相補鎖同士は別のコンフォメーションをとり、電気泳動で異なった易動度を示す。この事実は既に古くから知られていた⁽⁶⁰⁾が、驚くべきことに、各鎖の易動度が1塩基の変異ではっきりと変化することが多い（図3）。これがSSCPである。1塩基変異で易動度が変化する理由についての理論的な研究はまだ十分に進められていない。一つの可能性として、1塩基変異により全く別の安定なコンフォメーションができることが考えられる。もう一つの可能性は、1本鎖核酸がいくつかのコンフォメーションを高速で転移しており、それらの分配比が1塩基変異で変わることである。

＜SSCP検出の実際＞

塩基配列の決定がすでに行われていて、1塩基のみの多型をはっきりと確認されている配列を用いてSSCPを検出した例は世界でもまだ数えるほどしかない⁽²⁾。そこで筆者らは表紙に示した1塩基のみの多型をもつ2系統の養殖ニジマスミトコンドリアDNAの約300塩基対の断片をPCRで調製し、SSCP検出の実験を行った⁽³⁾。

SSCPの検出自体はPCRとは直接関係なく、とにかく200-300塩基対くらいのDNA断片が2つ以上の生物集団から得られれば良い。DNAを50%ホルムアミド存在下、低濃度(10pg-1ng/ μ l)で熱変性し(85℃, 5min)、氷上で急冷する。その後の電気泳動で用いる5%ポリアクリルアミドゲル(ATTOのラビダスミニゲル電気泳動装置などで作る)は、通常のDNA変性ゲルと違って尿素を含まず、かわりに10%グリセロールを含んでいる。グリセロールは1本鎖のコンフォメーションを安定化する働きがあるといわれている。ただしグリセロールを加えなくともSSCPを検出できる場合がほとんどである。またポリアクリルアミドの重合に用いるアクリルアミド:ビスアクリルアミドの比率は重量比で49:1が良い。20℃前後、10V/cmで泳動終了後、銀染色でバンドを検出する。畜産試験場の研究チームは銀染色の方法を改良し、ピコグラムのDNAを検出する方法を開発したので(畜試より特許申請中)、ごく微量で低濃度のDNAでもバンドを観察でき、放射性同位元素を用いるの必要がない。またなるべく低濃度で電気泳動した方が、副次的なバンドが消え良い結果が得られる。

図3に1塩基多型によるSSCPをゲルの銀染色で検出した写真を示した。300塩基対の断片から得られる2本の1本鎖DNAのそれぞれがSSCPを示している。

次に筆者らは養殖アマゴおよび野生のビワマス、宮川および長良川のアマゴ、神通川のサクラマス各1個体より、ミトコンドリアDNA上の1キロ塩基対の領域をPCRで増幅し、制限酵素で3断片に切断してSSCPを観察した⁽³⁾。この場合ゲル上では1試料につき各断片の両鎖由来の計6本のバンドがみられたが、2試料を混ぜて泳動すると最大10本のバンドが観察された。このようにしてほとんどの組み合わせでSSCPが観察され、1

キロ塩基対あたり少なくとも1ないし2塩基以上の多型があることが示された。3つのDNA断片を精製してSSCPを調べれば、どのバンドに多型があるかが分かるので、今後シーケンシングで多型を確認する上で大いに助けになる。

＜SSCPの多型検出力＞

がんセンターのグループによれば、存在する塩基多型の80%がSSCPとして検出されるのではないかという。この数字は大きく見積りすぎているかも知れないが、おそらく50%の多型は検出できるであろう。上の例のようにミトコンドリアDNAの1キロ塩基対を制限酵素で3分割してSSCPを調べれば500塩基程度について多型を検出できることになり、これだけで通常のミトコンドリアDNAのRFLPの検出力と同等以上である。もしD-ループでSSCPを調べれば、さらに高い多型検出力が得られるであろう。

あとがき

SSCPをはじめとする新しい効率的な多型検出法は、近い将来に遺伝子の連鎖解析に応用されることが期待される。この意味で多型の検出は、古典的な育種法と分子生物学とを繋ぐ橋となるであろう。連鎖解析における多型の利用が水産分野で実用化されるのはまだたいぶ先のことも知れないが、今回はヒトゲノムやイネゲノムなどのプロジェクトにおけるDNAプローブとしてのPCRの役割についてまとめ、水産分野で実現の可能性のある研究の方向について模索してみたい。

この稿を終えるにあたり、養殖ニジマスとアマゴおよびその写真を提供して下さった新聞編集主任研究官と小野里坦博士、プライマーの設計に関して助言をいただいた荒木和男博士、野生のサケマス類をはじめとする貴重な試料を提供して下さった岡崎登志夫博士、およびSSCP検出法を御教授頂いた畜産試験場遺伝子機能研究室の高橋秀彰室員、安江博博士に厚く御礼申し上げる。

＜参考文献＞

- (1) Keller, G. H. and Manak, M. M. (1989) DNA probes. Stockton Press, New York, 259p.
- (2) Kirby, L. T. (1990), Chapter 6, Analysis techniques, pp.91-133, in "DNA fingerprinting: an introduction". Stockton Press, New York, 365p.

- (3) Saiki, R. K.(1989) The design and optimization of the PCR, pp.7-16, in "PCR technology", ed. by Erlich, H. A., Stockton Press, New York, 246p.
- (4) 関谷剛男(1991) PCR法, 代謝28, No.9, 眼でみるページ 330.
- (5) 根井正利(1987) pp.75, 分子進化遺伝学 (五條堀, 齊藤訳), 培風館, 東京.
- (6) 根井正利(1987) pp.217, 分子進化遺伝学 (五條堀, 齊藤訳), 培風館, 東京.
- *なお, このページに根井によるアインザイム分析とDNA分析の検出力の比較が行われている。ただし, ミトコンドリアDNAの進化速度の速さを考慮していないように思われる。
- (7) 東洋紡(1991) 遺伝子工学研究用試薬総合カタログ 280p.
- (8) 和田志郎(1991) アインザイムおよびミトコンドリアDNAによるヒゲクジラ集団の遺伝的分化, 漁業資源研究会議報27, 1-16.
- (9) Thomas, R. H., Schaffner, W., Wilson, A. C., and Paabo, S.(1989) DNA phylogeny of the extinct marsupial wolf. Nature 340, 465-467.
- (10) 宝来聰(1990) PCR法による分子考古学的展開 蛋白質 核酸 酵素 35, No.17, 3144-3149.
- (11) Meyer, A., Kocher, T. D., Basasibwaki, P. and Wilson, A. C.(1990) Monophyletic origin of Lake Victoria Africa cichlid fishes suggested by mitochondrial DNA sequences. Nature 347, 550-553.
- (12) 佐藤千代子, 高橋規郎(1991) 変性剤濃度勾配ゲル電気泳動法 (DGGE) 代謝28, No.9, 731-739.
- (13) 西垣功一(1991) 生体高分子の構造解析および分離技術としての変性勾配ゲル電気泳動法の進展 蛋白質 核酸 酵素 36, No.10, 1747-1755.
- (14) 吉野賢二, 西垣功一, 伏見譲(1991) DNAの温度掃引ゲル電気泳動一点突然変異の簡易検出—生物物理31, Supplement, S174.
- (15) 林健志(1990) PCRを用いたDNA多型の新しい検出法 蛋白質 核酸 酵素 35, No.17, 3085-3090.
- (16) Orita, M., Iwahana, H., Kanazawa, H., Hayashi, K. and Sekiya, T.(1989) Detection of polymorphisms of human DNA by gel electrophoresis as single-strand conformation polymorphisms. Proc. Natl. Acad. Sci. USA, 86, 2766-2770.
- (17) Orita, M., Suzuki, Y., Sekiya, T. and Hayashi, K.(1989) Rapid and sensitive detection of point mutations and DNA polymorphisms using the polymerase chain reaction. Genomics 5, 874-879.
- (18) 高橋秀彰, 粟田崇, 安江博(1990) 第13回日本分子生物学会講演要旨集, p206.
- (19) Dockhorn-Dworniczak, B., Dworniczak, B., Brommelkamp, L., Bulles, J., Horst, J. and Boecker, W.W. (1991) Nucl. Acids Res. 19, 2500.
- (20) Hayward, G. S.(1972) Gel electrophoretic separation of the complementary strands of bacteriophage DNA. Virology, 49, 342.
- (21) 吉本勝彦(1991) Single strand conformation polymorphism. 代謝28, No.9, 741-749.
- (22) 大原一郎, 岡崎登志夫, 高橋秀彰, 安江博(1992) サケマス類ミトコンドリアDNAのSSCP (1本鎖DNAコンフォメーション多型) の検出. 日本水産学会平成4年度春季大会講演要旨集.

(栄養代謝部代謝研究室)

バイオコントロールによる甲殻類種苗生産

前田 昌 調

バイオコントロールは、拮抗微生物利用による病害防除をあらわし、生物的防除（生物防除、生物学的防除、biological control、biocontrol）とも呼ばれている。

拮抗あるいは拮抗作用は、2つの生物個体群間の相互関係で、少なくとも一方がなんらかの害を受ける場合をいい、その内容は寄生、捕食、抗生作用、競争などの全て、あるいはどれかを含んでいる。これらは自然界ではごくありふれた現象であり、生産対象生物の病害を引き起こす病原菌が害を受ける場合には、すなわち生物的防除の可能性がある。

農業では、農薬をはじめとする種々の防除法が開発され、多くの病害が防除できるようになってきた。その結果、いわゆる難防除病害が残されるに至っている。さらには、農薬の人畜に体する毒性、農薬残留による環境汚染、また薬剤耐性に伴う薬効の低下などの問題が生じてきている。このような状況において、微生物を主とした生物農薬が用いられはじめ、たとえば、西欧における微生物殺虫剤としての *Bacillus thuringiensis* の年間消費量は数千トンにまでなった。

水産養殖の場合も、抗生物質の使用により、細菌の増殖を抑えることができるが、生息「場」における細菌の減少にともない、抗生物質の効力のおよびにくい真菌、あるいは耐性菌が急速に増殖し、結果として、魚介類の生産減少、さらに斃死

に至る場合も少なくない。このように、薬剤の効果に限界のある状況では、特に甲殻類種苗生産の場合、疾病が発生した時には生産を中止し、新たに開始する過程がとられている。このため、日本栽培漁業協会玉野事業場では、ガザミ種苗生産において、拮抗微生物利用による病害生物防除法を採用した。

ガザミ、*Portunus trituberculatus* は、瀬戸内海などで放流されており、その数は年間3,000数百万匹に達する。成長が早く、また日本人好みのミソ、卵を保持するため、需要が高い。この放流事業は、翌年以降商品サイズになった個体を捕獲する漁師の増収をもたらしている。

使用する細菌は、ガザミ幼生に対して毒性のないものを選択しなくてはならないため、まず、そのテストを行う必要がある。養殖水中、あるいは自然海水中より寒天平板培地を用いて多くの従属栄養細菌（通常の海水培地で好気的に増殖する細菌）を分離し、その株を純粋株とした後、液体培地で培養し、ガザミ幼生の飼育水中に添加する。一定日数後、幼生の生残、脱皮、活力の度合を数値化して、その添加細菌の毒性の有無を判定する。この試験は、同時に細菌のガザミ成長促進効果の検定も兼ねることになる。我々の試験結果では、多くの細菌株が幼生にたいして毒性をあらわし、幼生は1日以内に死亡したが、幼生の成長促進効果をあらわす細菌も、数株分離することができた。



図1. 分離した細菌の抗病原菌作用の検定。



図2. ガザミ種苗生産槽（200m²）への有効細菌の添加。

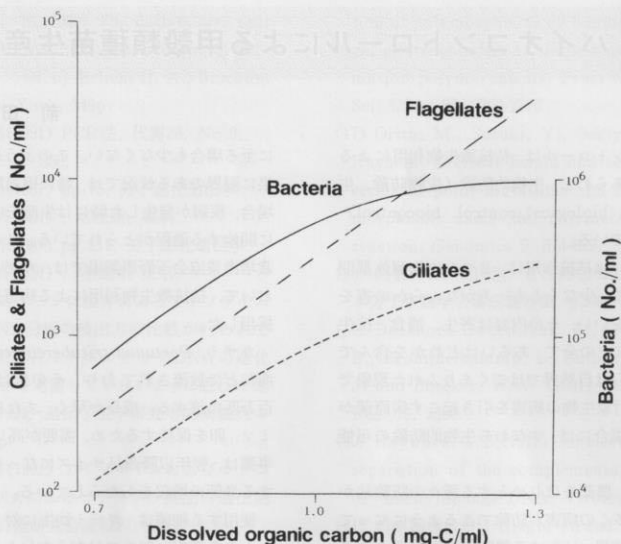


図3. 栄養塩濃度の異なった海域における, 細菌, 繊毛虫, 鞭毛虫の数。

さらに, 分離細菌株の病原細菌に対する拮抗作用を, 例えば *Vibrio anguillarum* を試験株として検定した。すなわち, 寒天平板培地上に検定する菌株のスミアを2本つくり, その間に, 病原細菌を移植, 対照実験区の培地上にも同じ株をうえる。そして両者の増殖の度合を比較し, 細菌の抗病原性を検定する。図1に示したように, 供試菌株の間に移植した病原菌コロニーの大きさは, 対照区のものよりも小さく, 試験した細菌の抗病原菌活性のあることが確認できる。このようにして, 甲殻類に対し毒性のない, あるいはその成長促進効果のある細菌で, なおかつ, 抗病原菌作用をもつ株を分離する。

この細菌の甲殻類養殖水への添加量は, 最終濃度 10^5 - 10^6 cells/ml とする (図2)。図3は, いくつかの栄養塩濃度の異なる海域の, 細菌と原生動物 (鞭毛虫と繊毛虫) の数を示したものである。溶存態炭素が 0.7 mg-C/ml の場所は, 太平洋の中心付近, 1.3 mg-C/ml の所は東京湾の湾奥のような環境をあらわしている。細菌の数は, 東京湾でも約 10^4 cells/ml である。しかし, 原生動物, 特に鞭毛虫の数は有機炭素濃度の増加に比例して増加している。すなわち, 細菌は, ある数以上にな

ると原生動物に摂食されて, その数が桁落ちになってしまう。同様に, 種苗生産水環境においても, 細菌の数は 10^4 cells/ml のレベルにある。

ガザミ種苗生産の場合には, 細菌は, 飼育開始日より7日間添加している。細菌を添加することでは, ガザミ種苗生産の問題点の全てが解決することではないので, 常法にのっとった, ケイ藻, ワムシ, アルテミア等の餌料系列の使用, および水管理も重要である。

バイオコントロール法を用いた, ガザミ種苗生産の結果は以下のようなになった。1990年の事例では, バイオコントロール法の実施例7例中, 生産量の変動はあるものの, 全ての事例において稚ガニまでの生産に成功したが, 通常法では, 9例中6例の生産区で幼生が斃死した。1991年においても, 同じような結果であった。本方法は, 200トン水槽における, 本格的生産規模で実施されており, 平成2年, 3年度のバイオコントロール法による総生産尾数は, それぞれ831万尾, 971万尾であり, 通常法では, 292万尾, 356万尾であった。この2年間の生産過程では, 通常法実験区においても疾病が発生しなかったにもかかわらず, 幼生は明らかに栄養欠陥と思われる, 脱皮不良, 体の

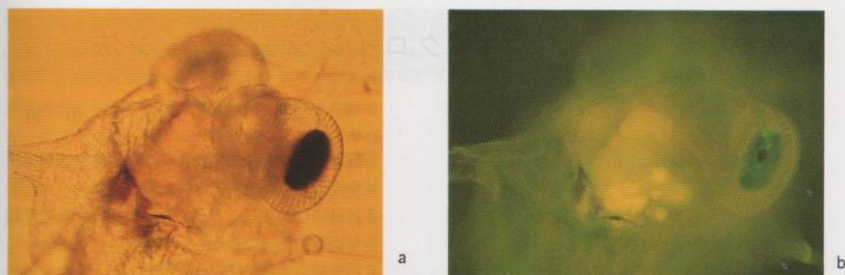


図4. a, b ガザミ幼生消化管(a)および消化管内で蛍光を発する細菌のかたまり(b)。

部分死などにより全滅した。しかし、バイオコントロール法においては、斃死は起こらなかった。この結果は、添加細菌の栄養補強剤としての効果を示唆しているものと考えられた。図4, a, bに、ガザミ幼生の顕微鏡写真および蛍光顕微鏡写真を示した。蛍光染色した細菌株をガザミ幼生に投与し、これらの動物が投与株を摂食した場合には、消化管内の細菌が発する蛍光を蛍光顕微鏡で観察することができる。写真に示したように、消化管内の細菌蛍光が検知され、これらの小動物は、投与株を摂食していることが確認された。

土壌においては、その環境を滅菌した後、病原菌を移植すると、病原菌の増殖速度がさらに増すことが知られている。滅菌後、植物あるいは有機物を添加した場合には、病原菌の増殖は抑制される事例が多い。すなわち、移植された植物、あるいは添加有機物より他の微生物が増加し、病原菌を抑制していることが判明している。この事実は、微生物同士の相互作用により、ある時は、病原菌が抑えられ、他方、その増殖が促進されることを示唆している。例えば、海水に抗生物質、あるいは次亜塩素酸ナトリウムを加え、常在細菌を駆除した後、放置するか、または、次亜塩素酸ナトリウムを中和すると、細菌群は10数時間内にもとの数までに復元する。この場合に、当然病原菌が侵入、増殖することもありうる。このように、海水の滅菌のみでは、魚介類に適した環境の構築がむずかしい場合もあるため、微生物群集の総合的管理が必要となってくる。

細菌細胞中には、独立に複製できる染色体外DNA要素、プラスミドが存在する。プラスミドは、染色体と物理的につながっていないが、宿主染色体の一部を細胞から細胞へ動かす遺伝子をもっている。例えば、大腸菌のベクター（プラスミドに有用遺伝子運搬機能を付加したもの）pBI121と接合型ベクター（pRK2013）を大腸菌に挿入。一方、アグロバクテリアの感染型遺伝子（pAL4404）に、海洋細菌のプラスミドの複製起点（origin）を組み込み、さらに、マーカーとしてテトラサイクリン耐性遺伝子も入れておく。この感染型遺伝子を、海洋細菌に挿入する。この3種類のベクターを保持した、大腸菌と海洋細菌を混合すると、海洋細菌中にpBI121とpAL4404とが共存する。この状態をバイナリーベクター系と呼ぶが、このベクター系の作用で、例えば、ワムシの餌に使用されている酵母等と、この海洋細菌を混合すると、ベクターpBI121が、酵母細胞中に入り、さらに酵母のゲノムに組み込まれることも可能となる。もし、このpBI121ベクターに、有用遺伝子を組み込んでおくと、酵母の遺伝子情報を有利に組換えることも可能となる。その他、藻類への応用なども含めて、養殖生態系における、細菌の応用範囲は広いものと考えられる。

この研究は、日本栽培漁業協会の多くの方々のご協力のもとに行われました。末筆ではあります。深く謝意を表します。

（環境管理部餌料生物研究室長）

ヒラメ仔魚へのマイクロインジェクション法

山野 恵 祐

1. はじめに

近年、多様な魚種が養殖されるようになり、それとともに完全養殖を目指した親魚の催熟法や種苗の育成技術の向上が求められている。実際これらの技術の蓄積は目覚ましいものがあり、様々な魚種で採卵や育成に成功したというニュースをししばしば耳にする。今後種苗生産技術の一層の向上のためには、現場での経験と研究室での成果が互いにフィードバックしあい、融合して、新たな技術を生みだしていく必要がある。成熟に関わる分野では研究者の数も多く、次々と産卵の仕組みが解明され、そこから例えばコレステロールベレットを利用した催熟法というような技術まで進展している。それと比べて仔稚魚に関する分野、特に生理学の分野での研究者の数は少ないと言わざるを得ない。そのため種苗を育て上げる技術の進歩は現場での努力や経験によるところが大きい。種苗育成技術の一層の高度化のためにも基礎的な生物学的知見が多く蓄積され、その知識が種苗生産現場での技術へとフィードバックされていかなばならない。

仔稚魚を用いた生理学的研究が少ない理由として、飼育が容易でないことに加えて、仔稚魚研究のための実験手法が十分に確立されていないことがあげられる。例えばホルモン濃度の測定一つをあげても、血液採取がほとんど不可能なため、通常行われているような血清中の濃度を測定することすらできない。私の属する研究室では、農林水産省プロジェクト研究「バイオメディア計画」の中で、ヒラメの変態をモデルとした仔稚魚の発育の内分泌調節の仕組みについて取り組んでいる。その過程でヒラメ仔魚へ適用できる注射法を開発したので紹介したい。この方法は他の魚種の仔魚へも応用可能であると思われるので、興味のある方は試してみてください。

2. 開発の経緯

ヒラメの変態は甲状腺ホルモンによって起る。このことは、飼育水中に甲状腺ホルモンを適当な

濃度で溶かしておくと、ほんの数日後には眼の移動や浮遊生活から底生生活への移行といった変化を容易に目にする事ができる、という極めて簡単な実験で確認できる。その次のステップとして、変態時期の10mm内外という小さな仔魚でも一般に知られるような脳下垂体からの甲状腺刺激ホルモン (TSH) の作用によって甲状腺ホルモンの分泌が制御されているのかどうかを検討することとなった。そのためには甲状腺ホルモンを投与した時と同じように、実際にTSHを投与して体内甲状腺ホルモン濃度や変態の指標となる形質の変化を調べる必要がある。

さて、魚にホルモンを投与する時には浸漬法、経口法、注射法、コレステロールベレット等にホルモンを混入した後体内に埋め込む方法の4つが考えられる。浸漬法は、水棲生物に特有な方法であり、簡便に多くの個体に対して同じ処理ができる利点があるが、投与されるホルモンは水に溶けるものでなければならず、またその量も他の方法と比較して多量に用意する必要がある。さらに実際に体内に取り込まれる量は必ずしも環境水中の濃度と一致せず、一般に高分子のものほど取り込まれにくいと考えられる。甲状腺ホルモンの場合には、化学合成品が安価で多量に入手でき、分子量も1000以下と低分子のためこの方法が有効であった。甲状腺ホルモンは難溶性で極微量しか溶けないが、数~数十nM (数~数十ppb) という極低濃度で作用を発揮するため実質的には支障はない。経口法は、ベレットを餌として用いる場合は極めて簡便な方法であるが、仔魚の餌は一般にプランクトンが用いられていることが多く、その場合ホルモンをどの様にプランクトンに吸収もしくは吸着させるか検討しなければならない。また投与量は個体毎に一致せず、吸収効率や消化酵素による分解の影響を考慮しなければならない。注射法の場合の利点は個体毎に投与した量が正確に分ること、ホルモンを少量しか入手できない時にも効率的に利用できることがあげられる。しかし手間がかかるため処理できる個体数には限度があり、

特に仔魚を用いる場合一般に使われる注射器では注射不可能なので特別な方法を考案しなければならない。最後にホルモンを混入したペレットを体内に埋没させる方法は、作用を長時間持続させることができるが、手間は一層大変であり、この方法を仔魚に導入するにも特別な方法を考えねばならない。このようなことを考慮に入れて、TSHの側からの制約を考えてみる。魚由来のTSHは現在市販されておらず、入手可能なTSHは哺乳類の脳下垂体からの精製品であり、微量で高価である。また、TSHは高分子の蛋白ホルモンである。以上のことから、浸漬法のための必要量を用意するのは困難であると同時にこの方法では高い取込効率は期待できず、また経口法では分解されて失活する可能性が大きいと考えられた。そこで、注射法を採用し、仔魚に適用できるように次に説明するようなシステムを導入した。

3. 注射の実際

システム構成

図1に私たちが用いているシステムの全体像を示す。これは卵への遺伝子導入といった場合にしばしば用いられる装置を利用したものである。システムは、制御ボックス(図2A)と駆動ユニット(図2B)からなるマイクロインジェクター(ナリシゲ、IM-1)、マイクロシリンジ(図2C)、インジェクションホルダー(ナリシゲ、HI-5A、

図2D)、硝子製のマイクロビペット(図2E)、インジェクションホルダーを取り付けるジョイスティックマイクロマニピュレーター(ナリシゲ、MN-151)、駆動ユニットとマイクロマニピュレーターを支えるためのマグネチックスタンド(ナリシゲ、GJ8とGJ1)及び実体顕微鏡からなる。その他に、光源、マイクロシリンジとインジェクションホルダーを結ぶチューブ、マイクロビペットを作成する硝子管(ナリシゲ、G-1)、マイクロビペット作成器(ナリシゲ、PW-6)、マグネチックスタンドの下に敷く鉄板が必要である。

注射をする前に

注射を成功させる上で一番重要な点はいいマイクロビペットを作ることである。その際、気を付けなければならないのは、針の長さや先端の太さの二点である。マイクロビペットは細い硝子管(直径1mm)を電熱線で熱して引いて作るが、その際細長く引きすぎるとはいけない(図3上)。細長く引くと注射の際、グニャリと曲りやすくなり、体表を突きさすことができない。針先を作成するための研磨機も用意されているが、私たちの経験ではそれよりも適当な太さのところまで折って、うまく折れたものを選んで使用の方がさきり具合がよいようである。針先の太さは、人によって好みがあるが、細目だとさきりやすいが粘液が付着したりして先が詰りやすく、太目だとその逆であ

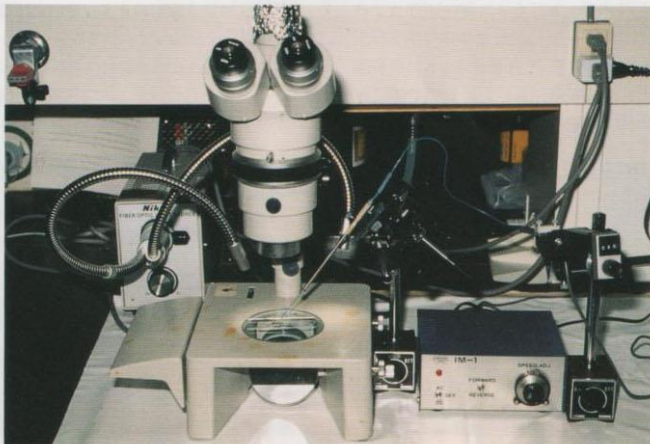


図1. マイクロインジェクションのシステム全体像

る。先端はやや斜めにスパッと折れたものがよいが(図3左下)、細目の針先の場合垂直に折れたものでも支障はない。私の場合、先端の外径がおよそ30 μ mの物を使っているが、使いやすい先端の外径は魚種やサイズによっても変ると思うので実際に試してみる必要がある。ささりやすくするためなるべく高い角度から注射できるようにジョイステックマニピュレーターの位置を設置して

おく。特になれないうちは操作中にしばしばマイクロピペットを折るので、事前に十分な数を用意しておくなくてはならない。

実際に注射する時に用意する液量は、注射針からマイクロシリンジまで全てを注射液で満たしても1mlで十分である。貴重なもの注射する時には、マイクロピペットの先にだけ注射液を入れ、その他の部分には流動パラフィンを充填すればそ

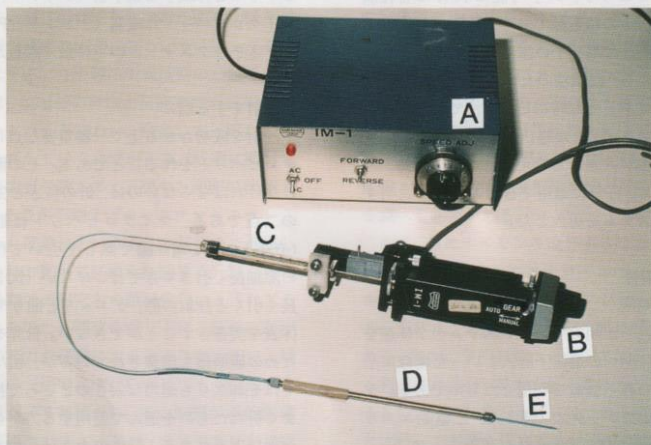


図2. マイクロインジェクター(制御ボックス(A)と駆動ユニット(B)), マイクロシリンジ(C), インジェクションホルダー(D)およびマイクロピペット(E)

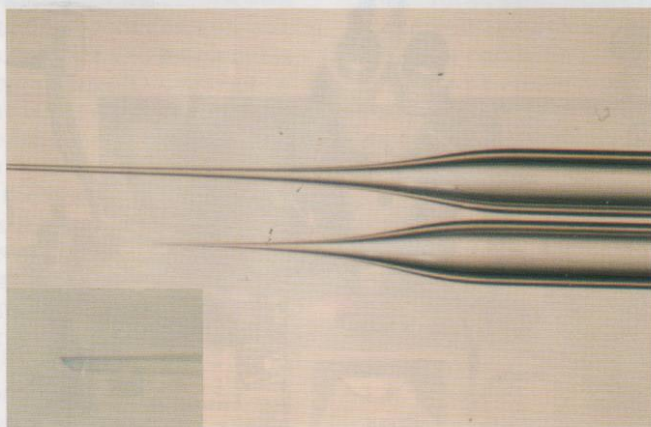


図3. マイクロピペット(左下は針先の拡大)

れよりはるかに少ない量ですむが、後で洗浄が面倒である。

さあ、注射してみよう

さて次に、実際に注射である(図4,5)。まず魚を軽く麻酔にかけ氷冷しておいたスライド上に移す。余分な水分をスポイトで除去した後、実体顕微鏡下で様子を確認しながら、ジョイステックマイクロマニピュレーターのつまみを回しマイクロピペットを押し下げ突きさす。注射液には、注入の様子わかるようにブリリアントブルーF CF300ppmを混入しておく。ヒラメの場合写真に示した位置が針がささりやすく、ここに注射すると脊髄リンパ管に入り脊髄の上を走るように注入されるか、筋肉中に注入される。尾静脈への注射も可能であるが、腹腔内注射は特に小さな魚では困難である。液の押し出しは、駆動ユニットの手動ノブを回すことでもできるが、制御ボックスの電源のON, OFFで行うのが便利である。駆動ユニットには、直径5-20mmのシリンジを取り付けることができ、私たちの用いている100 μ lのマイクロシリンジの場合、実際に注射している0.25 μ lに必要な駆動ユニットにあるカウンター数は15である。この値は事前に調べておかなければならない。電源をONにした後、顕微鏡で実際に液が注入されるのを確認する。すぐには液が体内に注入されてこないことがしばしばある。この時は、針先がふさがって流路が確保されていないことが多いので、針が抜けないように注意しながら微妙に針を上下させてやるとたいい針先から液がでるようになる。必要量の目盛が回ったところで電源を切る。針を抜く時にも、注射針内に圧が残っていることがあるので、ゆっくり上下させながら

抜くとよい。何回注射しても針を抜いた瞬間に針先から液がもれてくることもあるが、この場合は針のできが悪いので取り替えるべきである。以上で注射は完了する。この注射は実際にやってみるまでは難しく思われるが、やってみると以外に簡単に1~2回練習すればよほど不器用でないかぎり大丈夫である。ヒラメの場合、このようなやり方でおよそ8mm以上の魚に注射できる。それ以下のものは筋肉が未発達でマイクロピペットがささりにくく、もうひと工夫必要であろう。私の場合、注射液を充填して20-25尾の仔魚に注射するのにかかる時間はおおよそ1時間である。また、このように小さな魚に注射したときのハンドリングやストレスの影響が心配されるが、少なくともヒラメでは、注射液自体に魚を弱らせるものが含まれない限り取り上げ(10時間から数日後)までの死亡率はほとんど0に近く、注射直後でも元気に餌を取るのでは、問題ないと思われる。

4. 成 果

実際にこの注射法を使った実験の結果について一例を示したい。図6は変態始動期のヒラメ仔魚に牛TSHを注射して10時間後の体内甲状腺ホルモン濃度を測定したものである。甲状腺ホルモンには、甲状腺から分泌されるサイロキシン(T_4)と主に末梢組織中で T_4 から転換されて作られるトリヨードサイロニン(T_3)の二つがあるが、投与したTSHの量におうじて、体内 T_4 量が明確に上昇しているのが分る。さらにTSH投与後の時間経過にともなう体内 T_4 量の変化を調べたところ、体内 T_4 量は投与後10時間目をピークとして2日後には元のレベルに戻る事が分った(図7)。

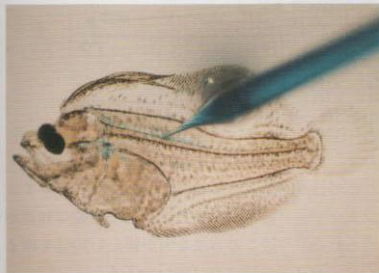


図4. ヒラメ仔魚への注射の様子



図5. ヒラメ仔魚への注射の様子(拡大)

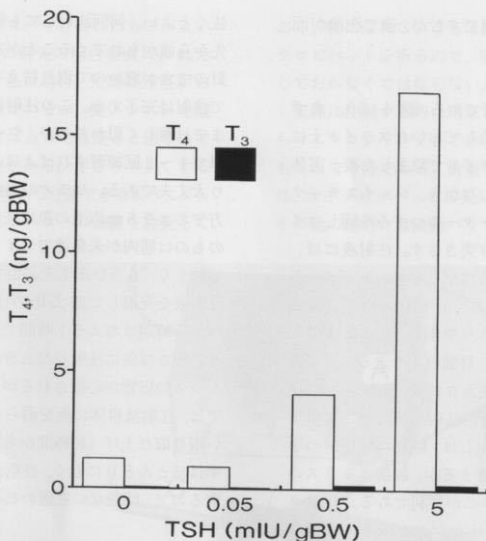


図6. 甲状腺刺激ホルモン (TSH) 投与量の体内甲状腺ホルモン濃度への影響

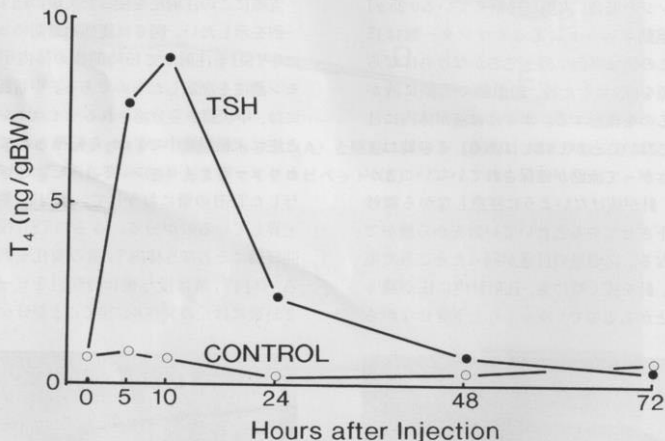


図7. 甲状腺刺激ホルモン (TSH) 投与後の時間経過に伴う体内甲状腺ホルモン濃度の変化

眼の移動などの変態の指標となる体形の変化もTSHの投与によって実際に誘導された。これらの結果は10mm程度しかないヒラメ仔魚でも脳下垂体から放出されるTSHの働きで甲状腺からの甲状腺ホルモンの分泌の調節が行われており、それによって変態が制御されていることを示唆して

いる。

この様に、今回私たちの適用したマイクロインジェクション法を使うことで極めて重要な知見が得られた。今後この方法を何か新しい知見を得るうえで役立てて頂ければ幸いである。

(病理部病理研究室)

世界の海産養殖魚(3) アカメ

福所 邦彦

サバヒー、大西洋サケに続いてアカメの養殖について紹介する。アカメの集約的な養殖はタイを始めとする東南アジア諸国やオーストラリアで、1980年に入ってから盛んに行われるようになった^{2-6, 8-10, 18, 19}。

アカメ *Lates calcarifer* (Bloch) (図1)

1. 分類と形態

硬骨魚綱 Osteichthyes, スズキ目 Perciformes, スズキ亜目 Percoidei, アカメ科 Centropomidae, D VII-1, II; A III-8; P 17稀に18; LL 54~57; GR 3+1+8~9^{18, 19}。

高知県の四万十川や浦戸湾、宮崎県の大淀川、和歌山県沿岸海域に生息する稀少種アカメ^{18, 19}、東南アジア、オーストラリアに分布する本種は同種と考えられていた。しかし、最近の分類学的研究により両者は別種であることが判った¹⁰。すなわち、日本産のアカメは *Lates japonicus* Katayama et Taki, 東南アジア、オーストラリアの『アカメ』は *L. calcarifer* (Bloch) とそれぞれ記載されている¹⁰。しかし、後者の標準和名はまだない。そのため、今回取り上げた魚種は正確にはアカメではない。それでも、タイ等東南アジアで養殖が始まった時に両者は同種とみな

されていたので今でもアカメと通称される場合が多い。両種は体高・体重比(体高が高い)、背鰭第3棘と臀鰭第2棘の相対長(背鰭棘が長い)、胸鰭条数(16)、鱗数(62)、鰓耙数(Ⅲ+2+1+Ⅵ)などで区別できる。() 中の特徴は日本産アカメの場合。エジプトのナイル川等の淡水域に生息する Nile Perch *L. niloticus* Linnaeus もアカメの近縁種である¹¹。

体重55kgの個体も漁獲されたことがあるが、現在では23kg以上の個体は極めて稀である。体重8.6kgで全長89cm¹¹。

体形はスズキやケツギョ類に似て、細長く側扁する。頭はとがり、その背縁は眼の上方部でわずかにくぼむ。口は大きく、上顎の後端は眼の後縁を越える。上主上顎骨がある。前鰓蓋骨後縁には細かな鋸歯があり、隅角部に強い1棘、下縁部にやや短い3棘がある。両顎、前鋤骨、口蓋骨、翼状骨に絨毛歯帯があるが、舌上にはない。主鰓蓋棘の隅角部には1棘がある。偽鰓があるが小さい。鰓耙は鰓弁より短い。背鰭棘は強大で、第3棘は最も長く腹鰭より少し短い。鱗は櫛鱗¹⁰。

成魚の体色は灰色。背部が淡灰色で、腹部は淡灰色で青味を帯び、銀白色の光沢がある。瞳は赤

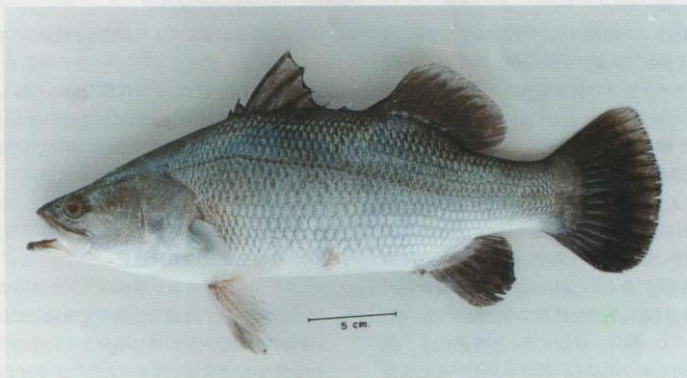


図1. アカメ *Lates calcarifer* (池ノ上宏氏 撮影)

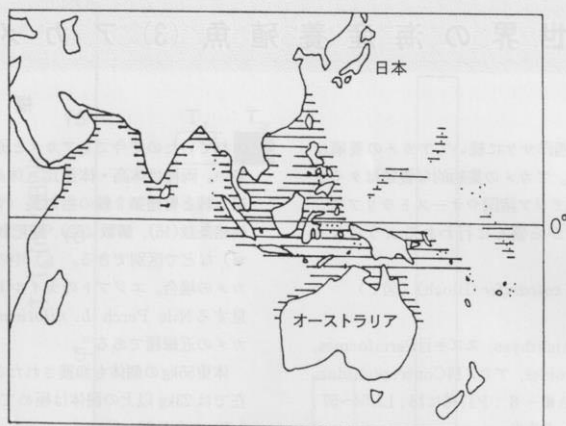


図2. アカメの分布水域¹⁰⁾

い。幼魚では体色が褐色を帯び、時により体側に淡い灰褐色の縞模様が見れる²⁰⁾。幼魚の鱗は濃い赤色。フィリピン、タイ、オーストラリア産アカメに形態的差異はない¹⁰⁾。

2. 名称

英名はSea bass, Giant perch, Snook, Barramundi (オーストラリア, パプア・ニューギニア), プラア・カボン(タイ, 通称バカボン), イカン・シアカップ Ikan-siakap (マレーシア, シンガポール), イカン・カカップ Ikan kakap (インドネシア), Apalap (フィリピン), 金目鱈(中国)^{16, 18, 21, 22)}

3. 分布

オーストラリア北部海域, 東南アジア諸国, 台湾, インド洋, アラビヤ半島沿岸, 太平洋のミクロネシア, メラネシア水域等に広く分布する(図2)¹⁰⁾。

4. 生態

タイ南部のソクラ内湖の湾口近くにある錨島(コメオ)水域はアカメの天然産卵場として知られ, 8月に産卵する^{11, 20)}(図3)。オーストラリア北部沿岸での産卵期も夏で, モンスーンの時期と密接な関係がある¹¹⁾。親魚は産卵期になると川を下り河口付近に集まり産卵する。卵は潮流や沿岸域で過ごし, 稚魚に成長すると川を遡上し, 淡水生活を送るようになる。餌はエビ類が主で成長につれてボラ類等魚類も摂るようになる¹¹⁾。

最近の研究でアカメは雄性先熟の性転換を行うことが報告されている¹⁰⁾。全長70cm(5才魚)までは雄であるが, それ以後は雌に性転換すると言う。しかし, 性転換しない個体もあるらしい¹⁰⁾。

5. 養殖に好適な特長

タイ国立沿岸養殖研究所(NICA)で調べられたアカメの養殖特性は次の通りで養殖好適種としての多くの特長を備えている^{17, 21, 22)}。

- 1) 塩感性で, 淡水から35%の海水まで生息できる。そのため, 養殖場には河口域, マングローブ域, 内湾等あらゆる水域が利用できる。
- 2) 濁った水中でも良く餌を摂り, 良好な成長を示す。
- 3) 成長が速く, 1年以内に商品サイズに達する。
- 4) 丈夫な魚で, 手荒な取扱にも耐える。
- 5) 小割生養中で高密度飼育ができる。
- 6) 飼育条件下にすぐ慣れ, 餌付けが容易である。
- 7) 白味の肉で, 全ての人に好まれ, 市場価値も高い。

6. 種苗生産技術の発達史

タイ, インドネシア等東南アジア諸国では古くからアカメを汽水池や生養中で養殖していたが, 種苗の供給を天然採捕に依存していたので安定せず, その生産量は少なかった^{17, 20)}。タイ南部のソクラ水産試験場(NICAの前身)では, 1969年



図3. タイ国南部のソクラ漁港に水揚げされた天然産アカメ (1982年4月撮影)

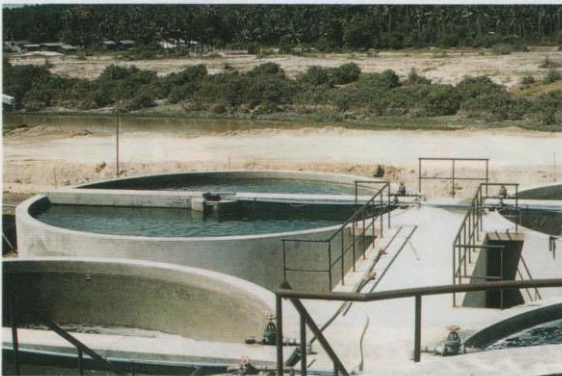


図4. タイ国立沿岸養殖研究所 (NICA) のアカメ産卵水槽 (1982年4月撮影)

に種苗生産試験を開始し、1972年にはホルモン注射により採卵ができた^{17, 20}。しかし、卵質が悪くふ化しなかった。1973年ソクラ内湖で漁獲した天然親魚から採出法により大量採卵ができ、世界で初めてアカメの人工ふ化に成功した。そして、約20万尾の稚魚(日齢30)を生産した。その後、1975年には養成親魚によるコンクリート水槽内の自然産卵に成功し、さらに多くの種苗の量産が可能になった^{17, 20}。

日本政府(JICA)の資金援助により、ソクラ水産試験場は1981年3月にはNICAと名称を替えて再発足した^{17, 20}。NICAには大規模種苗生産施設が完備され、日本から派遣された増尾致和氏を団長とするプロジェクトチームが常駐し、タイ

の研究者と協同でアカメ種苗の1000万尾生産の技術体系を確立した。量産技術は、タイの民間ふ化場や東南アジア諸国にも普及され^{8-10, 20}、タイで生産された人工種苗は香港やシンガポール等へ輸出されるようになった。なお、本プロジェクトには前日本海区水産研究所資源増殖部介類増殖研究室室長の故福原 修技官が南西海区水産研究所資源増殖部に在職中に大きく貢献した。また、養殖研究所からも数名の研究員が短期専門家として派遣され、餌料生物の培養、餌の栄養改善、疾病防除に関する講義や共同研究が展開された。

7. 種苗生産法

NICAで行われているアカメの種苗量産の方法は次の通りである^{18, 20}。

1) 親魚養成と採卵

親魚候補には、養殖魚、天然魚、経産魚、種苗からの育成魚等々から選び、ソクラ内湖の湾口近くに設けた小割式網生簀(10×10×2 mまたは7×5×2 m)中に収容して養成する。

親魚の陸上産卵槽(図4)への搬入は、産卵期の2~3週間前に行う。ソクラ地方では3月上旬である。体重3.5~6.0kgの健康な親魚を選ぶ。雌雄の判別は外形では難しく、腹部を軽く押して行う。雄では精液が出る。産卵槽の収容密度は1.6~3.3尾/10㎡で150㎡の円形産卵槽に24-25尾を収容する。性比は1:1。親魚には朝1回餌を与える。餌は新鮮な小魚。給餌量は体重の1~2%。

産卵槽では日中8時間流水で、夜間は止水。通気は終日行う。残餌や排泄物はサイフォンで毎日取り除く。産卵終了後も、親魚を産卵槽で継続飼育し、翌年の産卵期まで管理可能であるが、小割生簀に移す方が経済的である。

インドネシアやシンガポールで同様の方法で親魚養成と採卵が行われている(図5, 図6, 図7)。

タイ中部のふ化場では陸上水槽で自然産卵しないので、ホルモン注射による成熟促進や産卵誘発が行われる。しかし、ホルモン注射処理による損傷やストレスを与えやすい。成熟した親魚が得られる場合には、搾出法による採卵・採精ができる。ただ、この場合の卵質は自然産卵法に比べて劣り、



図5. インドネシアのジャワ島西部にあるバンテン湾に設けられた日・イ共同浅海養殖プロジェクト(JICA)のアカメ養殖試験小割網生簀(1984年撮影)



図6. インドネシアの浅海養殖プロジェクトのアカメ親魚槽(1984年撮影)



図7. シンガポール国立海面養殖センターのアカメ養殖試験用小割網生簀 (1982年撮影)



図8. タイのNICAにおけるアカメ種苗の取揚げ (1983年4月撮影)

小規模の種苗生産にしか採用できない。このようにアカメの大量採卵には我が国のマダイやヒラメと同様に自然産卵法が用いられている。

天然水域での産卵は8月に1回のみであるが、陸上産卵槽では3月から10月まで各月産卵する。また、アカメは満月のあと2～5日後に産卵する。産卵は3～5日継続して行われ、産卵時刻は夜の8～9時である。1尾の総産卵数は50～100万粒。150㎡の産卵槽に12組の親魚を収容して順調に自然産卵すると計約500万粒の採卵ができる。

産卵直前になると雄が雌を激しく追尾し、体を横向きにしてしばしば腹部をみせる動作が観られる。放卵・放精は水面近くで行われ、雄・雌親魚が水面で烈しく水しぶきをあげることで産卵を確認できる。

2) 卵とふ化

卵は分離浮性で、直径0.74～0.80mm。卵には直径0.23-0.26mmの油球が1個ある。受精卵は翌朝集め1mm目のネットで海藻等を取り除いたあと、飼育槽に収容する。

ふ化時間は水温30～32℃で12～14時間。ふ化率は通常80%前後。ふ化仔魚の全長は1.6mm。

3) 仔稚魚の飼育と選別

飼育槽には1㎡当り3～4万粒の受精卵を収容する。ふ化するまで軽く通気を行うが、ふ化が終わる頃をみはからって通気を止める。ふ化しなかった卵等が槽底に沈むので、サイフォンで取り除く。



図9. NICAにおけるアカメ種苗の出荷準備(1983年4月撮影)

日齢12~15になると大きさに差ができて共食い始めるので選別を行う。選別は目合5mmの防虫網製の棒受網で行う。選別の規準は全長6mmで、2群に分けて別々に飼育する。この段階の生残尾数は1㎡当たり0.5~1万尾。日齢24~30の生残尾数は0.2~0.5万尾/㎡で、この頃にも第2回目の選別作業を行う。この時には大型バケツにそれぞれ直径3.2, 4.8, 9.5, 12.7mmの穴を多数あけ選別籠を用いる。

4) 成長

アカメの成長は、高水温(25~28℃)での飼育によるためでもあるが、我が国ではマガイ等比べて著しく速い。日齢1では全長2.2mmになり、殆どの卵黄が吸収されるがまだ開口していない。日齢2では全長2.5mmで、卵黄はほぼ吸収し尽くされ開口する。日齢7では全長3.4mmになり、背鰭および臀鰭条が現れ、黒色素胞が吻から尾部まで発達し、体色が黒くなる。日齢14では全長4.8mmになり、背鰭と臀鰭はそれぞれ尾鰭から分離し、腹鰭の原基も出現する。脊柱も発達し、黒色素胞は背部のみならず腹部や背・臀鰭まで覆うようになる。背鰭中央部から臀鰭にかけて白色帯ができる。日齢21では、全長8.9mmになり、各鰭の鰭条数が定数に達し、稚魚期に入る。鱗も部分的に形成され、体色は黒色から淡い褐色に変化する。

5) 餌料系列

日齢2からワムシの給餌を始める。この時の給餌密度は10~20個体/㎡。ワムシの餌および水質安定のためグリーン海水も加える。その後はワムシ

シ密度が5個体/㎡以下にならないよう適時給餌する。アカメの成長に伴うワムシ日間摂餌量(Y)と全長(X)の関係は $Y=19.68X^{3.0475}$ で表され、全長4mmの仔魚は1日に約1500個体のワムシを摂餌する。ワムシは日齢15頃まで給餌する。NICAにおける1982年の飼育例では、日齢15の仔魚を約47万尾生産するのに約586億個体のワムシを要した。

全長4mm(日齢8~10)頃からワムシに加えてアルテミア幼生を与え始める。給餌密度は、最初は1~1.5個体/㎡程度であるが、成長に連れて多くし、日齢15頃から4~5個体/㎡、日齢20では6~7個体/㎡を与える。

日齢20~25頃には、仔魚はアルテミア幼生より大型の動物プランクトンを好むようになる。海産コペポダ類や枝角類が安定して入手できれば理想的であるが、実際には難しい。そこでNICAでは淡水産枝角類(ミジンコ類)を積極的に与えている。

日齢25頃から魚介肉ミンチを与え、日齢45まで育成する。

6) 生残率

種苗量産の場合の生残率は、日齢15で30~60%、日齢15から同30の間では60~80%。したがって受精卵から日齢15の仔魚までの生残率は25~50%、同じく日齢30までは15~40%である。

7) 取揚げと出荷

ふ化直後の仔魚も販売される。日齢15以下の仔魚の段階でも、香港や台湾に輸出されたり、タイ



図10. NICA 前の海岸で行われるソクラン水祭りのアカメ種苗放流儀式 (1983年4月撮影)

の中間育成業者に販売されている。中間育成業者は日齢30~45まで育成して養殖業者に販売する。養殖業者は5~8cmの幼魚まで育成して、マレーシアやシンガポールに輸出する。

稚魚の取揚げは、飼育槽の水深を50cm程に下げ目合2mmの防虫網製の棒受け網で魚を巻き、高密度になった魚群をバケツで水ごとすくいとり、500ℓの水槽に収容する(図8)。

稚魚は海水5~6ℓを入れたビニール袋(40×60cm)に収容する。酸素を注入し、トラックで販売先へ輸送する。1袋当たり収容尾数は全長2~3mmで1万尾、5mmで5000尾、1~1.5cmで1000尾、2~3cmで500尾。水温は19~23℃に保つ。輸送時間は16時間前後で、生残率は約90%(図9)。

8) 生産コストと販売価格

1984年にNICAでアカメ種苗を83万尾(全長1.5~2.5cm)を生産した時の1尾当りの生産コストは1.58バーツ(約8円)であった。アカメ種苗の販売価格は、全長2cmで2~2.5バーツ(民間ふ化場)、2バーツ(国立ふ化場)、2.5cmで2.5~3.0バーツ(民間)、2.5バーツ(国立)、7.5cmで5~10バーツ(民間)。

8. 養殖法

タイを例にとると、アカメの給餌養殖は、固定式あるいは筏式小割生簀で行われ、小規模な個人経営の養殖業者によって営まれることが多い²²⁾。

養殖業者は、全長1.5~2.5cmの種苗をふ化場から購入し、小型網生簀(目合0.2cm、2×1×0.9m)に収容する。放養密度は300~500尾。餌は細

かく切った魚で、1日魚体重の5~8%を2~3回に分けて与える。餌に適時ビタミン剤等を加えることもある。7~10日毎に大小の選別を行い共食いを防ぐ。アカメが全長10cm程度(2ヶ月後)になると、大型の生簀網(5×5×3m、5×10×3m、10×10×3m、目合2.5~7.5cm)に移す。放養密度は成長に伴い適時低くして、魚肉のミンチを与える(3~4%/体重/日)。選別は、少なくとも2週間に1度行う²³⁾。

アカメの体重は1年で800~1000gに達する。商品サイズは500g以上。体重1000gのアカメの体重は約40cmである。体重(Y)と体長(X)の関係は $Y=0.01057X^{3.0004}$ で示される²³⁾。

タイの場合、養殖したアカメの市場値は80~90バーツ(400~500円)/kgである。

インドネシア等では、広大な素堀りの汽水池を用いて、サバヒーやエビ類との無給餌混合養殖が古くから行われてきた^{5, 10, 20)}。しかし、その生産性は低い。

9. 調理法

アカメの生鮮魚はホテル等で刺身で賞味されることが多く、タイでは日本人観光客に好まれている。また、中国式のちり鍋や丸揚げにしてあんかけで楽しまれている²³⁾。

10. 生産量

国別の生産量を表1に示した。統計資料が不十分ではあるが、タイを例にとると1982年には145tであったが、年々増加し、1990年には推定約2,000tに達している。インドネシアでは、主として

表1 各国のアカメ養殖生産量。()中の数字は汽水池養殖生産量(t)を示す。

国名	1982	83	84	85	86	87	88	89	90
シンガポール							235		304
マレーシア						1,067	1,267	1,538	
タイ	145	1,059	473	512	764	1,158	1,034	1,654 (176)	2,000
インドネシア	(966)	(1,105)	(733)	(813)	(798)	(1,384)	(1,356)	(2,645)	
フィリピン									(779)
オーストラリア								22	23
台湾								(2,708)	(4,673)

素掘りの汽水池における粗放的養殖ではあるが、1989年の生産量は2,645 tである。なお、同国ではシンガポールに近いバタム島、ピンタン島等で他の海産魚(ヒトミハタ、フエダイ類、アイゴ類)とともにアカメの集約的な小割式生養殖を行い、シンガポールへ出荷しているが、その生産量は不明である。

アカメの養殖総生産量は約4,000 tと推定され、今後さらに増加する傾向にある。

11. 疾病

種苗生産過程ではダクチロギルス寄生による鯉病、トリキジナ症、エルガシルス症、細菌性皮膚炎、栄養性腎臓病など種々の疾病がみられるが、最も被害の多いのは白点病である。その治療には250ppmのホルマリン液による薬浴等が行われている²⁰⁾。

成魚では水生菌病、白点病、栄養性疾病、細菌性・ウイルス性疾病等が症例として報告されている。しかし、熱帯性海産養殖魚の疾病の予防と治療に関する研究は緒についたばかりで、十分な対策はまだない^{5, 7, 20)}。

12. 栽培漁業

オーストラリアでは、アカメが遊漁の重要な対象種であることから人工種苗の積極的な放流事業を行っている²⁰⁾。放流尾数は1989年1,018,000尾、1990年1,700,000尾であった。

アカメ養殖について種々ご教示いただいた方々

にお名前を記して厚くお礼を申し上げる。フィリピンのSEAFDEC水産増殖局次長白旗総一郎博士、インドネシアのJICAエビ養殖プロジェクトリーダーの貫山義徹氏、タイのJICA水産資源開発研究プロジェクト専門家土居正典氏、シンガポール国家発展省原産局の淡水養殖センター所長のLim Lian Chuan博士、同海面養殖センター所長のRenee Chow博士、タイのAADCP事務局次長のHasanai Kongkeo博士、西オーストラリア大学生物地理学部のMichael J.Hutchison博士、東京水産大学助手河野博博士。国際水産技術開発K.K.社長の池ノ上宏氏には貴重なアカメの写真を提供いただいた。また、養殖研究所図書資料係長の加茂正男氏には文献についてご教示いただいた。感謝の意を表します。

文 献

- 1) 荒賀忠一・田名瀬英明. 1987. 和歌山県沿岸におけるアカメの採捕記録. 瀬戸臨海実験所年報第一巻: 59-61.
- 2) Asikin 1985. Budidaya ikan kakap. P.T.Penebar Snadaya, Jakarta, Indonesia, 58pp.
- 3) Brakish water aquaculture information system 1986. Sea bass abstracts(311papers). Ortega R.S., R.P.Graboso, W.P.Gabuelo, and M.D.V.Zanora(eds), SEAFDEC Aquaculture Department, Iloilo, Philippines, 156pp.
- 4) Cheong L. 1990. Aquaculture development

- in Singapore. Aquaculture in Asia (Ed. Joseph M.M.), 325-332, Asian Fish. Soc., Indian Branch.
- 5) Chong Y.C. and T.M.Chao 1986. Common disease of marine food fish. Fisheries handbook, No.2, PPD, Ministry of National Development, Singapore, 34pp.
- 6) Chou R. 1991. Review of aquaculture development in Singapore. 1-8, Proceeding of seminar and workshop on aquaculture development in southeast Asia and prospects for seafarming and searching, Iloilo, Philippines.
- 7) Davy B. and M.Graham 1979. Diseases of fishcultured for food in southeast Asia. IDRC, Ottawa, Canada, 32pp.
- 8) 土居正典 1991. マレーシアにおける海産魚養殖業の発展(1). 養殖, 28(11): 106-109.
- 9) 土居正典 1991. 同上(2). 養殖, 28(12): 114-116.
- 10) 土居正典 1992. 同上(3). 養殖, 29(1): 110-113.
- 11) Grant E. 1987. Fishes of Australia. E.M. Grant PTY Limited, Queensland, Australia, 480pp.
- 12) 池ノ上 宏 1990. タイ国水産養殖業を取り巻く環境変化. 水産の研究, 9(6): 72-76.
- 13) 片山正夫 1984. アカメ・益田・尼岡・荒賀・上野・吉野編日本産魚類大図鑑, p.121, 東海大学出版会, 東京.
- 14) Katayama M. and Y.Taki 1984. *Lates japonicus*, a new centropomid fish from Japan. Japan. J. Ichthyol., 30(4): 361-367.
- 15) Kinoshita I., S. Fujita, I. Takahashi and K. Azuma 1988. Occurrence of larval and juvenile Japanese snook, *Lates Japonicus* in the Shimanto estuary, Japan. Japan. J. Ichthyol., 34(4): 462-467.
- 16) Kohno H., S. Hara and Y. Taki 1986. Early larval development of the seabass *Lates calcarifer* with emphasis on the transition of energy sources. Bull. Japan. Soc. Sci. Fish., 52(10): 1719-1725.
- 17) 増尾致和 1981. 南タイのパカボン養殖. 養殖, 18(11): 14-19.
- 18) 緑書房編集部 1990. タイ国養殖業界視察旅行記(上). 養殖, 27(5): 100-105.
- 19) 緑書房編集部 1990. 同上(下). 養殖, 27(6): 100-105.
- 20) Mujman A. 1987. Budidaya Bandeng di Tambak. P.T.Penebar Snadaya Jakarta, Indonesia, 103pp.
- 21) National Institute of Coastal Aquaculture 1986. Technical manual for seed production of seabass. The Nat. Inst. Coast. Aquaculture, Songkhla, Thailand, 49pp.
- 22) Primary Production Department 1986. Manual on floating net cage farming in Singapore's coastal waters. PPD. Ministry of National Development, Singapore, 17pp.
- 23) Srithonsuk C., S.Tookwinas, and A.Wongsaengchan 1991. Seafarming in Thailand: Production, research and development. Proceedings of the fifth national coordinators' meeting of the regional seafarming development and demonstration project. 1-13, Bangkok, Thailand.
- 24) Tonguthai K. and C.Supranee 1987. Recent fish disease problems in Thailand. Ed. Arthur R., Fish quarantine and diseases in south and southeast Asia: 1986 up-date, 41-46, Asian Fish. Soc. and ID RC, Manila. Philippines.
- 25) Treadwell R., L.Mckelvie and G.B.Maguire 1991. Profitability of selected aquacultural species. ABARE, Canberra, Australia, 85pp.
- 26) 吉光虎之助 1984. いま, めざましい発展をとげる浅海養殖プロジェクトーインドネシア・パシフィック. EXPERT, No. 61: 2-6. 国際協力事業団, 東京.
- 27) 吉光虎之助・枝 浩樹・ケシュツスガマ 1988. アカメ(シーバス) *Lates calcarifer* 稚魚の空輸試験. 水産増殖, 36(3): 193-196.

(日光支所長)

中禪寺湖に深海研究の技術を導入

岩田 宗彦

“深海6500”などの海洋調査技術の開発を進めている海洋科学技術センターと日光支所が、中禪寺湖の水中を近代海洋科学の眼により、その謎に迫ろうとする共同研究を行っています。この共同研究のプロジェクトは、丸山為藏前支所長が科学技術庁長官の仲介を得て海洋科学技術センターと協議を重ねて成立しました。実施に当たり奥本直人繁殖研究室長が、海洋科学技術センターの深海開発技術部服部陸男研究主幹ならびに潜水技術部岡本峰雄研究副主幹と打ち合せて、平成2年から5年まで共同で研究を進めることになりました。プロジェクトの題名は、「中禪寺湖における海洋調査手法を用いたさけ・ます類資源及び湖盆形態の調査研究」と長いものです。両研究機関の特性をこの課題に盛り込んだ意欲作です。

中禪寺湖の最深部は173mもあります。陸上で173mは目と鼻の先、カラスや犬ならばはっきり見える距離です。ところが、水中の深さとなるとなかなか手におえるものではありません。海底にキラキラ珊瑚の林で魚と遊ぶアクアラング美女、よくテレビで見るシーンです。潜水病に対する安全性や器材の簡便性、あるいは経費効率から、一般に潜水できる深さは、せいぜい10mから20m程度です。潜水科学に通じたベテラン潜水士が潜る場合でも、減圧室等のバックアップが充分であっても、高圧空気を呼吸する潜水では水深40mで10分間潜るのが精々でしょう。高圧空気に含まれる酸素や窒素が、過剰に血液中に溶け込むことが原因で起こる種々の潜水病の恐ろしさをよく知っているからです。したがって、少し深い水中を目にする機会は一気に少なくなります。中禪寺湖の謎に迫ろうとする私達は、それでは、どうすれば調査を進められるのでしょうか？そこで、中禪寺湖よりもはるかに深い海洋での調査研究の歴史の一部を覗いてみましょう。陸上と違って光が届かない、電波が通らない。そして冷たく高圧の世界での調査研究の歴史は、困難の連続であったようです。

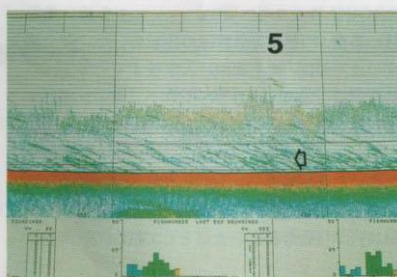
深海の温度測定や採水作業に、転倒式温度計と

ナンセン採水器が使われたのが19世紀末、鉦りをつけたワイヤの長さで海底の深さを測ることから、音響測深儀に切り替わったのは大戦前です。静かな谷の向こうから「こだま」が返って来るまでの時間は、音の伝播速度を決める温度と距離によります。音響測深儀はこの原理を水中に利用して、改良が加えられてきました。第2次大戦後には多くの技術が海洋研究に登場しました。その中には、ボンベに蓄えた高圧空気をペローズ方式で現場水圧まで減圧して呼吸するアクアラング、機器を高圧の水中に入れるためのケースと、ケースの水密性を保つためのゴム輪状のオーリング（0リング）と呼ばれるものがあります。この0リングの存在や重要性については、少々説明を要するかも知れません。身近に有るものとしては、弁当箱の蓋の溝の中に入っているゴムパッキングがありますが、これが類似した働きをします。果実酒を入れるガラス瓶の蓋のゴム輪も同じ様な役目をします。水中に蓋付きの水密ケースを入れると、水圧が加わり蓋は本体ケースに押し付けられます。その時に0リングは蓋と本体の間で押し挟まれて、ますます水密性を保つことになるのです。0リングにはもう1つの使い方があります。ケースから機械の電線コードが出て来る場合にも、電線に鉢巻のように0リングで締め付けて、ケースの穴に埋めると、0リングの内側と外側の接触により水密性を保つのです。

近年、わが国の大規模な海洋調査技術の開発は、海洋科学技術センターで専門的に行われています。本調査のために中禪寺湖に持ち込まれた技術にも、上記の「こだま」と「0リング」が主役になっている機械が使われています。先ず0リングが関わっている、服部陸男研究主幹のグループの主な装置は、有線の水中文カメラで湖底を視覚的に調査することです。これまで既に、中禪寺湖の最深部173mから湖岸まで10時間以上の調査を行ってきました。高感度のテレビカメラが収められているアルミのケースには小型のスクリーンが幾つも付いていて、水中を自在に泳ぎ回ることができる



写真の1-3は、成熟したヒメマスの大群が菖蒲ヶ浜から日光支所の実験河川に回帰しているところです。雄の体色に紅色の婚姻色が見られます。写真3の手前には、河川に残留しているホンマスの稚魚も見えます。写真4は158m水深の中禅寺湖底で、水温4.9℃です。湖底のオレンジ色の円形物は、未同定な生物コロニーのようです。写真5は音測定機による調査結果です。160mの湖底近くにヒメマスの集群があり（矢印）、水深100m辺りプランクトンの層があります。体重300g程度のヒメマスが主群と判定されています。



ものです。船上のモニターテレビに映し出される現場の状況に応じて、手元のコントローラーで操縦します。ビデオ記録はこれから詳しく解析されますが、一部の記録を写真で紹介しておきます。岡本峰雄研究副主幹のグループは、深海潜水のベテラン揃いであるとともに音響測定機研究の専門家です。中禅寺湖でも潜水が行われますが、主に特殊な音響測定機で、ヒメマスの生態と資源量を調べつつあります。船から発信された特定の周波数の音波が対象の魚に当たって反射するときの、反射の強さは対象の生物の性質によって決まります。その反射波の特性を利用して魚の種類と数、

その位置を知ろうとする装置です。昼夜に調査を行い、中禅寺湖の何処でどんな深さの場所に魚達が居るのか。これまで奥本研究室長が研究してきた結果を、異なる調査方法を使って確認しています。

奥本室長は、これまで10年以上にわたり中禅寺湖のヒメマスなどの回遊生態を解明するために、中禅寺湖漁業協同組合の協力を得て、継続的な環境調査、試験釣り、あるいは魚群探知機を用いた調査を行ってこれられました。地域での協力体制を築き、周年の湖水環境や魚群の動きに関する研究、湖での効率的な資源維持に関する研究を進めてこ

られました。今年の3月で定年退官を迎えて、第2の人生に船出されます。ダイナミックな調査研究を中禅寺湖で展開された奥本室長に感謝するとともに、これらの研究の一部は日光支所と海洋科

学技術センターとの共同研究に引き継がれて行くものと考えています。

(日光支所育種研究室長)

新 人 紹 介

1. 所属 2. プロフィール 3. 現在行っている研究または業務

中山 一郎 (34才)



1. 遺伝育種部細胞工学研究室 科学技術庁科学技術特別研究員

2. 千葉県鴨川市生まれ(生まれただけ)育ちは一頃有名だった東京都東村山市。大学は広いところを求めて北海道へ。大

学院に入りすぐにフランス政府給費生として国立農学研究所 (INRA) B.CHEVASSUS, D.CHOURET 等のラボへ留学。ニジマスを使い染色体の多型, 四倍体等倍数体の仕事をした。修士論文のため帰国, 博士課程に入学後すぐにINRAの給費研修員として再びフランスへ。テーマは分子遺伝学を使った手法に移り魚の性特有DNA 塩基配列の仕事をする。フランス滞在中はヒゲをはやしていたせいもあり, よく日本からの人に日本語お上手ですねとほめられた。パリ大学より学位取得後科学技術庁特別研究員として細胞工学研究室

へ。玉城の夕焼けの余りの美しさに大感動しています。スポーツは陸上競技とスキー。中学までは大変足が速く都大会で決勝までいった。球技は好きだが下手でみんなに迷惑をかけるのが辛い。

3. 水産増養殖では性の統御が大変重要である。今までやってきた性特有DNAから発展して性決定領域に少しでも迫りたいと思っている。魚の中には性転換するものもいるため, 性決定遺伝子と性分化, 遺伝子のレギュレーション, 発生, 進化と幅広く興味だけは持っている。性差を見るための手法で個体識別もできるので(最近犯罪捜査にも応用され評判になっているフィンガープリンティング法)クローンや近縁関係の分析にも手を出そうと思っている。どこまでできるかわかりませんが頑張ります。この場を借りて, 私にこのすばらしい養殖研に來れる機会を与えてくださった皆様に感謝します。これからも皆様のお力添えを得ながら努力したいと思います。よろしく願っています。

平成3年(7~12月)の記録

1. 主なでき事

月日	項目	備考
10. 1	平成3年度水産養殖研究推進全国会議(伊勢市)	「近年養殖場で問題となっている魚病-その現状と研究体制」を主題に産・官・学各機関団体から151名の参加を得て開催された。ブリ黄疽症, 水産ワクチン, ウイルス性疫病等について研究の現状や今後の展開方向が検討された。また, 全国会議の中に魚病部会を設立するとともに, 「ブリ黄疽症」, 「水産ワクチン」, 「イリドウイルス症」について, それぞれ研究会を設置し, 産官学の連携の強化を図ることとなった。

月日	項目	備考
10. 28 ～29	第20回UJNR水産増養殖専門部会 日米合同会議(米国オレゴン州立大)	「魚類の栄養」を主題に、日本側高木部会長他8名、米国側McVey部会長他20名が参加し、開催された。アミノ酸の代謝生理、飼料の開発等について活発な情報交換が行われるとともに、今後5ヶ年の開催主題が決定された。
11. 19 ～20	MAFF第3回国際ワークショップ (伊勢市)	「魚類の産卵・初期発生における内分泌調節の解明」を主題に海外から13名、国内から49名の第一線の研究者の参加を得て開催された。研究の最前線を紹介する25編の研究発表をもとに、ホルモン受容体等今後の重点的研究展開方向や先端技術の活用等について活発な論議が交わされた。
11. 21 ～22	第16回日本比較内分沁学会大会(伊勢市)	養殖研究所を世話機関として開催され、哺乳類からナマコに至る動物のホルモンやフェロモンの働きに関する60題の特別講演とポスター発表が行われた。エクスカージョンとして養殖研究学が行われた。

2. 所員研修

氏名	所属	期間	研修内容	研修先
中谷光雄	庶務課	3. 8.26～ 3. 8.28	給与実務担当者研修会	人事院
向井靖博	会計課	3. 8.28～ 3. 8.29	〃	〃
中谷光雄	庶務課	3.11.21	災害補償実務担当者研修会	人事院

3. 平成3年度農林水産省依頼研究員受入れ

氏名	所属	期間	研修内容	対応研究部・室
辻 勇	飼食品産業センター (武田薬品工業株式会社)	3. 6. 1～ 3.11.30	ビタミンの魚類における生理作用	栄養代謝部栄養研究室
大原英治	富山県バイオ産業振興協会(株)ニッポンジーン研究開発部門	3. 7.20～ 3. 8.19	イセエビ幼生の飼育技術の改良に関する研究	繁殖生理部繁殖技術研究室
川田 暁	福島県内水面水産試験場	3. 8.12～ 3.11.10	遺伝育種学並びに育種技術の研究	遺伝育種部細胞工学研究室
川上秀昌	愛媛県水産試験場増殖課	3. 9.15～ 3.11.14	魚類病原生物(ウイルス・バクテリア)の分離と診断に関する研究	病理部病原生物研究室
嶋田雅弘	福井県栽培漁業センター	3.10. 1～ 3.12.28	初期飼料生物の安定生産に関する研究	環境管理部飼料生物研究室
赤 繁 悟	広島県水産試験場生産部	3.10.20～ 4. 1.20	3倍体マガキの特性	遺伝育種部遺伝研究室
八木秀志	愛媛県中予水産試験場増殖課	3.11. 1～ 3.12.20	魚類におけるビタミンの生理作用	栄養代謝部栄養研究室
笠原 昇	北海道立水産孵化場調査研究部育種餌料科	3.11.14～ 3.12.11	魚類の染色体操作技術の習得と作出生物の評価	遺伝育種部細胞工学研究室

氏名	所属	期間	研修内容	対応研究部・室
永井清仁	生物系特定産業技術 研究推進機構 (株)ミキモト真珠研究所	3.12.21～4.2.20	生化学的遺伝変異の貝類育種 への応用	遺伝育種部遺伝 研究室

4. 科学技術庁重点基礎研究による招へい外国人研究員及び非常勤職員

氏名	所属	期間	研修内容	対応研究部・室
竹内規和	筑波大学研修生	3.6.15～4.2.28	生体防衛成長増進等機能性プ ラクトンの探索法の開発と 利用	環境管理部餌料 生物研究室

5. 一般研修受入れ

氏名	所属	期間	研修内容	対応研究部・室
北村 徹	長崎大学	3.2.1～4.2.28	板鰓類の遺伝的分化	遺伝育種部遺伝 資源研究室
高木 恵	北里大学	3.4.1～6.3.31	酸性雨のサクラマス1才魚に 与える影響	日光支所育種研 究室
佐藤 郁文	北里大学	3.4.1～6.3.31	サケ科魚類の降海期における 走流性の変化	日光支所育種研 究室
藤川 真規	鹿児島大学	3.5.1～5.3.31	サケ科魚類の介在配列の解析	遺伝育種部細胞 工学研究室
藤村 卓也	三重大学	3.7.1～4.3.31	二枚貝発生過程の形態学的研 究	栄養代謝部代謝 研究室

6. 外国人の研修

氏名	所属	期間	研修内容	対応研究部・室
Gomez D. Gabriel	メキシコ・モンテレー 研究所	3.4.2～4.3.17	エビ類の栄養・成熟に関する 研究	繁殖生理部・繁 殖技術研, 栄養 代謝部・飼料研
鄭 新 鴻	台湾省東港水産試験 場	3.6.1～3.8.20	海産原生動物の培養と生理	環境管理部・餌 料生物研
Fred I.Ka- memoto	ハワイ大学	3.7.3～3.7.15	クルマエビ稚エビの成長に与 える性ステロイドホルモンの 影響	繁殖生理部・繁 殖技術研
Tridjoko	インドネシア農業研 究開発庁 Gondor 沿岸水産研究所	3.9.17～3.10.9	親エビ養成	繁殖生理部・繁 殖技術研

7. 科学技術庁フェローシップ

氏名	所属	期間	研修内容	対応研究部・室
Michael J. Hutchison	西オーストラリア大学	3. 5. 1～ 5. 4. 30	サケ科魚類の分布・分散・集合の機構	日光支所育種研究室
John Scarpa	アメリカ, ルトガース大学	3. 11. 1～ 5. 4. 30	雌性発生あるいは単為発生させた二枚貝卵の紡錘体の蛍光抗体法による動態解析	遺伝育種部・遺伝研究室
Panayiota A. Marcouli	ギリシャ, マソロンギ技術・教育研究所	4. 1. 8～ 5. 1. 7	養魚用飼料としての未利用蛋白質の探索およびその利用性に関する研究	栄養代謝部・栄養研究室

8. 海外出張 (研究交流促進法適用を含む)

氏名	所属	期間	日数	出張先	目的	経費
三輪理	病理部	2. 10. 31～ 3. 11. 3	369	アメリカ	魚類の初期発生過程におけるホルモン支配機構の解明	科学技術庁 (長期在外)
田中秀樹	繁殖生理部	3. 7. 5～ 3. 7. 14	10	イギリス	魚類繁殖生理学シンポジウム出席	科学技術庁 (国際研究会)
反町稔	病理部	3. 7. 22～ 3. 8. 1	11	大韓民国	魚類ウイルス病短期専門家	JICA
加藤禎一	遺伝育種部	3. 8. 17～ 3. 8. 26	10	フィリピン	SEAFDEC養殖セミナー出席	東南アジア漁業開発センター
細谷和海	遺伝育種部	3. 8. 23～ 3. 9. 2	11	オランダ	ヨーロッパ魚類学会出席	
福所邦彦	日光支所	3. 8. 26～ 3. 8. 31	6	ベルギー	国際魚類・甲殻類稚仔飼育シンポジウム出席	
広瀬慶二	繁殖生理部	3. 8. 31～ 3. 9. 13	14	インドネシア	インドネシアエビ養殖計画巡回指導調査	JICA
奥本直人	日光支所	3. 9. 10～ 3. 10. 10	31	アルゼンチン	アルゼンチン内水面養殖指導	JICA
加藤禎一	遺伝育種部	3. 9. 24～ 3. 9. 29	6	大韓民国	大韓民国海洋研究所セミナー出席	大韓民国
和田克彦	遺伝育種部	3. 9. 25～ 3. 10. 9	15	チリ	チリ遺伝学会ラテンアメリカ海洋科学会議	チリ国
尾形博	栄養代謝部	3. 10. 7～ 3. 11. 6	31	アメリカ	大型魚類の親魚養成に関する栄養生理学的研究	科学技術庁 (二国間)
畔田正格	企画連絡室	3. 10. 11～ 3. 10. 21	11	大韓民国	黄海の有用水産資源培養に関する研究者協議会	OFCF
福所邦彦	日光支所	"	"	"	"	"
矢野勲	繁殖生理部	3. 10. 20～ 3. 11. 9	31	インドネシア	インドネシアエビ養殖計画専門家	JICA

氏名	所属	期間	日数	出張先	目的	経費
高木健治	所長	3.10.27~ 3.11. 7	12	アメリカ	UJNR 会議出席	水産庁
広瀬慶二	繁殖生理部	"	"	"	"	"
鈴木 徹	企画連絡室	"	"	"	"	"
秋山敏男	栄養代謝部	"	"	"	"	"
淡路雅彦	環境管理部	3.11.28~ 4.11.26	365	オランダ	軟体動物のインシュリン様ペプチドの精製とその生理作用に関する研究	科学技術庁 (長期在外)

9. ゼミナール

月日	発表者	話 題
7. 2	養殖研究所 生田和正 (日光)	標識魚の放流結果報告
7. 8	白石 学	東京大学海洋研白鳳丸 (KH-91-2) マイワシ調査航海に乗船して (マイワシは減るのか?)
	カナダ Pacific Biological Station W.Craig Clarke 氏	Research on cultivation of marine fish in Nanaimo
	北里大学水産学部学生 田川正明氏 (日光)	サクラマス稚魚の酸性水に対する耐性
	北里大学水産学部学生 高木 恵氏 (日光)	サケ科魚類稚魚の走流性
7.11	アメリカ Department of Zoology, University of Hawaii Prof.Fred I. Kamemoto 氏	Hormones and osmoregulation in crabs
	養殖研究所 武藤光司 (日光)	コカニーとヒメマスの成長と成熟
	オーストラリア The University of Western Australia, Department of Geography Michael J. Hutchison 氏 (日光)	Temperature tolerance of rainbow trout in Australia
7.15	養殖研究所 岩田宗彦 (日光)	サケ科魚類の海水適応能獲得と降河行動
7.17	養殖研究所 反町 稔	海産養殖魚の新しいウイルス性疾病
7.20	養殖研究所 黒川忠英	仔稚魚の消化酵素の発達について
7.22	養殖研究所 淡路雅彦 北村章二	日米合同組織培養会議の参加報告 シンポジウム「Chemical Signals in Vertebrates VI」に参加して
7.24	養殖研究所 河村功一	淡水魚人為3倍体について—バラタナゴを中心として—
	海洋科学技術センター 岡本峰雄氏 (日光)	中禅寺湖の魚探調査結果報告
8. 1	養殖研究所 山口一登 (大村)	真珠養殖について
8. 2	宮崎大学農学部教授 青木 宙氏	<i>Edwardsiella tarda</i> の迅速同定法および PCR による検出法
	宮崎大学農学部学生 広野育生氏	魚類病原菌 <i>Aeromonads</i> 属の溶血素遺伝子の構造解析
	宮田雅人氏	コイ染色体上の α -グロブリン遺伝子のクローニングと構造解析および PCR による成魚における発現遺伝子の検出

月 日	発 表 者	話 題
8. 2	宮崎大学農学部学生 傳 利嗣氏	魚類培養細胞におけるハマチ α -グロブリン遺伝子
8. 7	シャトー海洋調査副社長 花村宣彦氏	5'上流領域によるCAT遺伝子の発現
8.15	カナダ University of British of Colombia George K. Iwama 氏	わが国水産業の将来展望
8.21	アメリカ North Dakota State University Mark A. Sheridan 氏	野生の太平洋産サケと孵化場で飼育されたものとの 生理的差異
8.23	“ (日光)	Fish as a model metabolic system
8.27	養殖研究所 伊藤克彦 岩田宗彦 (日光)	Alterations in lipid metabolism accompanying smoltification of salmonids
8.28	養殖研究所 田中秀樹	内湾沿岸域の環境浄化に果たすアサリの役割 何故サケマス類は海に下るのか
9. 9	遠洋水産研究所 東 照雄氏 (日光)	第4回国際魚類繁殖生理シンポジウム参加報告 —イーストアングリアでの一週間—
9.15	養殖研究所 奥本直人 (日光)	中部ベリング海におけるサケマス類の分布
9.24	養殖研究所 瀬川 勲	アルゼンチン・ネウケン州のニジマス養殖
9.26	メキシコ Instituto Tecnológico y de Estrudios Superiores de Monterrey Gabriel Gomez-Diaz 氏	ブリはだむし (<i>Benedenia seiolae</i>) の着体の条件 On several aspects of shrimp and prawn broodstock nutrition
10. 2	養殖研究所 杜多 哲	迫間浦における夏期 (6~7月)の流動特性について
10. 4	養殖研究所 岩田宗彦 (日光)	サケ科魚類幼稚魚の降河回遊の引金機構
10.18	養殖研究所 生田和正 (日光)	湯川の魚類調査結果報告
10.28	養殖研究所 加藤禎一	ファインダーから見たフィリピンと韓国の印象
10.29	養殖研究所 杉山元彦	汚損生物付着防止の現状
10.31	遠洋水産研究所 東 照雄氏 (日光)	ヒメマス幼魚の群形成行動の解析
11. 5	北里大学水産学部学生 佐藤郁文氏 (日光)	サケ科魚類の行動特性 (W.S.Hoar)
11.18	養殖研究所 淡路雅彦	アコヤガイ血液細胞のH ₂ O ₂
11.21	養殖研究所 小野里 坦 (日光) 名古屋博之 (日光)	魚類における遺伝子導入の現状とその可能性
	養殖研究所 (科学技術庁特別研究員) 中山一郎 (日光)	アマゴ成長ホルモン遺伝子の構造解析 魚類の性特異遺伝子
	鹿児島大学水産学部学生 藤川真規氏 (日光)	PCR (遺伝子増幅装置) の原理とその応用
	養殖研究所 奥本直人 (日光)	中禅寺湖のヒメマス資源
	北海道立水産孵化場増殖部湖沼開発科長 笠原 昇氏 (日光)	サクラマスの遡河に関する研究の現状
11.25	養殖研究所 生田和正 (日光)	放流稚魚の分布調査結果報告
11.28	三重大学工学部教授 清水幸丸氏	魚にやさしい発電用水車の開発—養殖研における実 験経過について—
11.29	養殖研究所 三輪 理	1: リガンドオートラジオグラフィ法によるGTH リセプターの局在性 2: アメリカでの留学生活について

月日	発 表 者	話 題
12.11	養殖研究所 (科学技術庁特別研究員) 中山一郎	フランスにおける農学・水産学の研究システムについて
12.13	養殖研究所 藤井武人 愛媛県中予水産試験場 八木秀志氏	ムラサキイガイの周期的貝殻運動 1: 魚類の血清・肝臓中のビタミンA定量について 2: 愛媛県中予水産試験場の紹介
12.14	オーストラリア The University of Western Australia, Department of Geography Michael J. Hutchison 氏 (日光) 北里大学水産学部学生 佐藤郁文氏 (日光)	Pigment cells of fishes サケ科魚類の走流性の種間差

10. 主な会議・委員会

月 日	会 議 名	養殖研出席者	主 催 者	場 所
7. 5	平成3年度ゾーンバンク管理運営会議	加藤 禎一	技会事務局	東 京
7. 8	特定地域沿岸漁場開発調査第1回検討委員会	山口 一登	全国沿岸漁業振興開発協会	福 岡
7.10	第14回全国魚類防疫推進会議	乾 靖 夫	日本水産資源保護協会	東 京
7.10	第6回生物情報研究推進会議	香川 浩彦 船越 靖二 乾 靖 夫	技会事務局	東 京
7.15	第9回中部地区官庁施設保全連絡会議	天白 辰成	建設省中部地方建設局	愛 知
7.18	平成3年度企画科長会議	酒井 保次	技会連絡調整課	東 京
7.19	バイオメディア計画免疫成熟チーム第二期 研究計画検討会	中西 照幸	畜産局	茨 城
7.19	電子計算機共同利用全国運営協議会	酒井 保次	技会事務局	茨 城
7.22	水産用医薬品の製造承認申請に係るヒヤリング	池田 和夫	水産庁	東 京
7.23	課長懇談会	森 英 夫 矢倉 勝昭	水産庁	静 岡
7.25~26	第152回場所事務連絡会議	森 英 夫	技会事務局	新 潟
7.30	第8回微生物機能応用部会環境保全機能小委員会	前田 昌調	科学技術庁	東 京
8. 5	平成3年度魚類防疫技術基盤確立事業のための基準委員会	乾 靖 夫	日本水産資源保護協会	東 京
8.14	人事院勧告説明会	向井 靖博	人事院	愛 知
8.26~27	「免疫の応答機構解明のための基盤技術の開発に関する研究」班会議	中西 照幸	国立予防衛生研究所	東 京
8.26~30	第3回国際比較生理生化学会	鈴木 徹 青野 英明	国際比較生理生化学会	東 京
8.29	科学技術特別研究員制度説明会	大北 伸一	中央水産研究所	東 京
8.30	中禅寺湖湯の湖水質保全対策部会	奥本 直人	栃木県衛生環境部	栃 木
9. 6	増養殖研究推進会議運営委員会	大原 一郎	水産工学研究所	東 京

月 日	会 議 名	養殖研出席者	主 催 者	場 所
9. 6	第9回微生物機能応用部会環境保全機能小委員会	前田昌調	科学技術庁	東京
9.10	水産用医薬品調査会	乾 靖 夫 池田和夫	中央薬事審議会	東京
9.12~13	全国湖沼河川養殖研究会第64回大会	福所邦彦	全国湖沼河川養殖研究会	静岡
9.19~20	平成3年度水産業関係試験研究推進会議	加藤 禎 一 広瀬慶二 新井 茂 伊藤克彦 乾 靖 夫 福所邦彦 山口一登	中央水産研究所	東京
9.25	水産庁研究所長懇談会	高木健治	水産庁	千葉
9.25~26	平成3年度電子計算機共同利用近畿地域運営協議会及び端末利用に関する近畿地域講習会	河村功一	野菜・茶業試験場	三重
9.26	水産庁研究所長会議	高木健治	水産庁	東京
9.27	全場所長会議	高木健治	技会事務局	東京
10. 1~2	「新実験動物」全体班会議	小野里 坦	科学技術庁	東京
10. 3~4	インドネシア・エビ養殖計画巡回指導調査団帰国報告会	広瀬慶二	国際協力事業団	東京
10. 4	平成3年度魚類防疫士技術認定委員会	乾 靖 夫	日本水産資源保護協会	東京
10. 4	第1回農林水産研究文献解題(動物バイオテク編)編集委員会	加藤 禎 一	技会事務局	茨城
10. 5	第64回日本生化学会	黒川忠英	日本生化学会	東京
10. 6~7	魚類学会	岩田宗彦	魚類学会	岩手
10. 7~8	平成3年度日本水産学会秋季大会	黒川忠英 杉山元彦	日本水産学会	岩手
10. 9	第10回微生物機能応用部会環境保全機能小委員会	前田昌調	科学技術庁	東京
10.13~14	日本動物学会	小西光一 岩田宗彦	日本動物学会	岡山
10.14	第6回生物遺伝資源協議会	高木健治	技会事務局	東京
10.16	遺伝学会年会	大原一郎	遺伝学会	福岡
10.16~17	日本海洋学会	前田昌調	日本海洋学会	東京
10.18~19	日本微生物生態学会	前田昌調 坂見知子	日本微生物生態学会	愛知
10.19~20	平成3年度庶務・会計事務担当者会議	森 健 二 藤井裕二 森田謙介	水産庁	東京
10.22	課長懇談会	森 英 夫	水産庁	宮城

月 日	会 議 名	養殖研出席者	主 催 者	場 所
10.22	課長懇談会	矢 倉 勝 昭	水産庁	宮 城
10.23~24	水産庁研究所庶務部課長会議	森 英 夫	水産庁	宮 城
10.27	第11回全国豊かな海づくり大会	矢 倉 勝 昭 畔 田 正 格	第11回全国豊かな海づくり大会愛知県実行委員会	愛 知
10.30	企画連絡室長懇談会	畔 田 正 格	水産庁	東 京
10.30	DNAバンク基本フレーム検討会	酒 井 保 次	技会事務局	東 京
10.30~31	平成3年度湖産アユのヒブリオ病検討会	荒 木 和 男	滋賀県水産試験場	滋 賀
10.31	企画連絡室長会議	乾 靖 夫 畔 田 正 格	技会事務局	東 京
11. 6~7	平成3年度秋期東海ブロック水産試験場長会議	酒 井 保 次	酒 井 保 次	千 葉
11. 7~8	平成3年度地域特産種増殖技術開発事業中間検討会	沼 口 勝 之	滋賀県農林水産部水産課	滋 賀
11. 7~8	第21回施設関係担当者会議	天 白 辰 成 春 日 井 信 治 児 山 文 久	技会事務局	茨 城
11.12	平成3年度第1回農林水産省試験研究機関会計・用度担当課長会議	矢 倉 勝 昭	技会事務局	東 京
11.12~13	外来魚の先端技術応用繁殖阻止技術検討会	小 野 里 坦 白 石 学	滋賀県水産試験場	滋 賀
11.13	水産用医薬品の製造承認申請に係るヒヤリング	中 西 照 幸	中央薬事審議会	東 京
11.14	(仮称) 中部新国際空港漁業影響調査委員会準備会	畔 田 正 格	日本水産資源保護協会	東 京
11.14~15	平成3年度情報資料業務担当者会議	鈴 木 由 美	技会事務局	栃 木
11.16	日本原生動物学会	前 田 昌 調	日本原生動物学会	神 奈 川
11.19~21	MAFFワークショップ「魚類の産卵・初期発生における内分泌の解明」	岩 田 宗 彦 生 田 和 正	養殖研究所	三 重
11.20~21	平成3年度餌付栽培漁業管理技術開発事業中間検討会	白 石 学	三重県農林水産部水産事務局	三 重
11.21	出融資候補課題選定専門委員による審査会	加 藤 禎 一	生物系特定産業技術研究推進機構	東 京
11.21~22	比較内分泌学会	岩 田 宗 彦 生 田 和 正	比較内分泌学会	三 重
11.27	第1回バイテク利用推進検討会	加 藤 禎 一	水産庁	東 京
11.28	農業資材審議会飼料部会安全性分科会養魚飼料検討会	新 井 茂 秋 山 敏 男	農業資材審議会	東 京
11.28	農業資材審議会飼料部会安全性分科会養魚飼料検討会	乾 靖 夫 池 田 和 夫	農業資材審議会	東 京

月 日	会 議 名	養殖研出席者	主 催 者	場 所
11.28	酸性雨内水面漁業影響研究会	奥本直人 生田和正	日本水産資源保護協会	東京
11.28~29	第21回ソ連産新魚種導入に関する検討会	前田弘也 福所邦彦 武藤光司	養殖研究所	北海道
12. 2	ジーンバンクに関する委員会	小野里 坦	技会事務局	茨 城
12. 3	水産用医薬品調査会	乾 靖 夫 中西照幸	中央薬事審議会	東京
12. 5	平成3年水産生物遺伝資源部門作業部会	加藤 禎 一 岡崎登志夫	養殖研究所	東京
12. 6	農業資材審議会飼料部会安全性分科会飼料添加物効果安全性検討会	新井 茂	農業資材審議会	東京
12.10	平成3年度東海水産統計地域協議会	酒井保次	東海農政局	愛知
12.19	中部新国際空港建設計画検討のための漁業調査委員会	伊藤克彦	日本水産資源保護協会	東京

11. 主な来客

月 日	来 客	月 日	来 客
7. 1	FAO 松里寿彦氏 東大名誉教授 羽生 功氏 蚕糸・昆虫農業技術研究所生息情報部長 河部 暹氏 北大名誉教授 茅野春雄氏 技会事務局研究開発官 木村 滋氏外30名	7.11	カナダ Pacific Biological Station Craig Clarke I, Whyte氏(日光)
2	東京水産大学助教授 尾城 隆氏 伊勢市施設見学会 一行25名(玉城)	12	韓国海洋研究所 明 正球氏(玉城) 東大名誉教授 高橋信孝氏(日光) 宇都宮大学助教授 柳沢忠助氏(日光)
3	技会整備課施設係長 大山道弘氏外1名 アメリカ University of Hawaii Prof. Fred I. Kamemoto氏 前養殖研日光支所長 丸山為藏氏(日光)	15	三重大学生物資源学部附属水産実験所助教授 木村清志氏 アメリカ Woods Hole Oceanographic Institution D.K. Stocker氏
4	カナダ Pacific Biological Station	15~16	東大医学研究所教授 山内一也氏 広島大学生物生産学部教授 清水 潮氏外12名 技会事務局バイオテクノロジー課課長補佐 吉野隆之氏(南・玉)
5	Craig Clarke I, Whyte氏 水産庁振興部係長 村井繁夫氏(日光)		同 バイオテクノロジー課課長補佐 吉田岳志氏外1名(南・玉)
6	海洋科学技術センター深海開発部主幹	16	伊勢市施設見学会 30名(玉城)
8	服部睦男氏外3名(日光) 三重県立南勢高校学生一行 80名	17	飼 食品産業センター普及部長 早川明彦 氏外3名
9	参議院議員 井上哲夫氏(玉城) 元水産庁研究課課長補佐 和田郁夫氏	18	㈱ 海洋環境コンサルタント 梅景文一氏 外3名
10	東大農学部教授 二村義八郎氏外2名 農林漁業信用基金理事長 後藤康夫氏		建設省土木研究所主任 原 義文氏外2名 (日光)
7.11	同 副理事長 吉國 隆氏 同 理事 守矢 哲氏外1名	19	三重大学生物資源学部教授 和田浩爾氏外 学生28名

月日	来客	月日	来客
7.19~20	水産庁振興課養殖指導係長 村井繁夫氏外1名(南・玉)	8.19	海洋科学技術センター深海開発部副主幹 岡本峰雄氏外1名(日光)
23	海洋科学技術センター深海開発部副主幹 岡本峰雄氏外3名(日光)	21	アメリカ North Dakota State University M.A. Sheridan氏
24	宇都宮宮繕工事事務局宮繕監督室長外2名(日光)		水産庁振興課課長補佐 牧野忠昌氏(日光)
	技会事務局研究総務官 貝沼圭二氏(日光)		枝会事務局研究開発課課長補佐 津志田藤二郎氏(大村)
	同 企画調査課課長補佐 竹原敏郎氏(大村)		同 研究開発課 有山賢一氏(大村)
	長崎県農林部農政課参事 宮永豊司氏(大村)		同 研究開発課 渡辺その子氏(大村)
24~25	西水研庶務課長 出口安隆氏	23	佐賀県栽培漁業センター 青戸氏外1名
26	愛知県水試 柳沢豊重氏(玉城)		三重県立南勢高校校長 辻村修一氏外10名
27	中央水研生物機能部長 村井武四氏(日光)		アメリカ North Dakota State University M.A. Sheridan氏(日光)
29	九州大学農学部大学院 竹下直彦氏(玉城)	24	イギリス University of Southampton, Professor of Biology Michael A. Sleigh氏
30	横浜市立大学教授 佐藤真彦氏(日光)		伊勢市湊中学校教諭 西川氏外8名
31	野菜・茶業試験場 平井正志氏(玉城)	27	千葉県水産共同実験所副所長 松永順夫氏外4名(日光)
	国際協力事業団研修員 8名(玉城)	28	宮崎県農政水産部次長 嶋 建男氏外8名(玉城)
8. 1	中国 海南大学農学院副教授 符 気浩氏(南・玉)	30	三重統計情報事務所総務部長 小林只典氏
	建設省関東地方建設局技官 伊東氏外1名(日光)		同 伊勢出張所長 向井升二氏外2名
2	宮崎大学教授 青木 宙氏(玉城)	9. 1	遠洋水研 池田和典氏外13名(日光)
	前淡水区水産研究所長 黒沼勝造氏外10名(日光)	2	海外漁業協力財団 中沢昭夫氏(日光)
6	三重統計情報事務所長 梅沢氏外5名	3	テラルク極東大阪支店 フカガエ氏
	(株)チダワ 今井淳二氏外1名(大村)	3~6	アメリカ United States Department of Interior, Fish and Wildlife Service, S.O.Conte Anadromous Fish Research Center D.S.D. McCormick氏外1名(南・玉)
7	(株)シャトー海洋調査副社長 花村宣彦氏	5	京都府立海洋センター技師 藤原正夢氏
8	日本鋼管(株)技術開発本部バイオ開発センター 辰己政弘氏外1名	6	(株)笠戸島開発振興センター 土本政雄氏外1名
	林真珠 林 伸樹氏外1名		前養殖研日光支所長 丸山為蔵氏(日光)
	三重県栽培漁業センター 瀬古氏外1名	6~7	野菜・茶業試験場庶務課長 田淵陸夫氏外4名(南・玉)
12	東大海洋研究所助手 小林敬典氏(玉城)	7	洋科学技術センター海域開発研究部長 甲斐源太郎氏外5名
14~15	工業技術院微生物工業技術研究所 丸山明彦氏		三重県知事公室政策課主幹 井ノ口 輔祥氏(玉城)
15	海洋水産資源開発センター理事長 尾島雄一氏(日光)		元遠洋水研所長 林 繁一氏(日光)
15~16	カナダ The University of British Columbia G.K. Iwama氏		
8.16	国際協力事業団 山田元一氏(玉城)		
	オーストラリア 西オーストラリア大学電子研究所主任講師 John Kuo氏(日光)		
17	(株)国際水産技術開発 杉本正志氏(玉城)		

月日	来客	月日	来客
9.11	海緬マリノフォーラム21 藤谷 超氏外 8名 関東地方建設局技官 伊東氏外4名(日光)	10. 2	水産養殖研究推進全国会議一行 9名 水産庁研究課研究調整班課長補佐 末永芳 美氏外26名(玉城)
12	石巻専修大学理工学部助手 角田 出氏外 1名		宇都宮大学院生 平岡秀一氏(日光)
17	北海道水産部長 藤原 弘氏外3名 日本広報協会 笹川いづみ氏 ベトナム Minister of Fisheries Socialist Republic of Viet Num Nguyen tan Trinh氏外7名 海洋科学技術センター深海開発部主幹 服部睦男氏外3名(日光)	3	長崎県増養殖研究所 高見生雄氏(玉城)
18	拓新設計(株) 根井武広氏外1名	4	東大海洋研究所教授 杉本隆成氏
19	農林水産省大臣官房課長補佐 梶野 稔氏 外2名(日光)	7	芙蓉海洋開発(株) 中部営業所長 藤原公彦 氏外2名
21	アメリカ アラスカ州 Fish & Game Krontom氏(玉城)	8	バイオテックセンター 村上氏
22	師 海洋生物環境研究所顧問 多々良 薫 氏(日光)	9	工業技術院名古屋工業技術試験所業務課長 鈴木紀元氏外27名(玉城)
24	オーストラリア International Food Institute of Queensland Brtan S. Paterson氏	11	東大海洋研究所助手 小林敬典氏(日光)
25	三重大学生物資源学部教授 和田浩爾氏外 2名 津地方検察庁検事 高森氏(南・玉)	14	中央水研食品保全研究室長 山澤正勝氏
	同 調査課長 近藤氏外司法修習生7名 (南・玉)	14	中央水研生理学研究室技官 角埜 彰氏外 2名(日光)
	福島県水試場長 根本氏(玉城)	22	出口病院医師 中西 啓氏(大村)
27	海外漁業協力財団 中沢昭夫氏(玉城)	15	田崎真珠 堀田氏
30	松浦真珠 松浦氏 クック諸島 クック政府農林水産・通産・運 輸大臣 Vaine Tairea氏外7名	16	滋賀県水試場長 後藤富佐夫氏
	(株)日本水産資源保護協会 阪口清次氏 (株)国際水産技術開発 利田舜史氏外1名 (南・玉)	16	三重食糧事務所庶務課長 小野建児氏外1 名
10. 1	鳥羽水族館 帝釈 元氏外2名 東京水産大学助教授 竹内俊郎氏外1名 (玉城)	17	長野県姫川上漁業協同組合一行18名(日 光)
	京都大学農学部水産実習所助教授 中村 泉氏(日光)	18	独協医科大学教授 山岡貞夫氏外8名(日 光)
	中央水研上田庁舎 井口恵一朗氏外2名 (日光)	21	近畿大学教授 河合 章氏 タイ Chhalongkorn University Prof. Piamsak Menasveta氏
		21	伊勢市施設見学会一行 25名(玉城)
		21~22	建設省土木研究所 原 義文氏(日光)
			農水省大臣官房予算課調査専門官 山石 正氏(南・玉)
			水産庁漁政課予算第一係長 佐藤良助氏 (南・玉)
			同 研究課庶務係長 加悦幸二氏外1名 (南・玉)
		21~22	三重県漁政課長 大西信行氏外1名(南・ 玉)
		22	東大海洋研究所助手 小林敬典氏(玉城)
		22~23	台湾 中央研究院動物研究所教授 張 崑雄氏(南・玉)

月日	来客	月日	来客
10.23	青森県水産増殖センター所長 村上圭朗氏 外1名	11.11	長崎県真珠養殖漁業協同組合理事 小倉満洲男氏(大村)
24	中央水研環境保全部 高柳和史氏外1名 中国 上海水産大学校副校長 赵 长春氏 外40名(随行:三重大学生物資源学部教授 小林 裕氏)(玉城)		長崎県真珠養殖漁業協同組合あこや貝採苗 センター係長 浜田初三郎氏(大村)
	玉城町三師会見学久野医院 西山 実氏外 22名(玉城)	12	農業環境技術研究所厚生係長 加藤由美子 氏外2名(南・玉)
25	オーストラリア 西オーストラリア大学 Michael J. Hutchison 氏 ㈱バイオシステム・インターナショナル代 表取締役 松宮弘幸氏外4名(南・玉)		三重県過疎町村連絡協議会一行 36名
	中央水研品質保持研究室長 松田由美子氏 (日光)	13	タイ Eastern Marine Fisheries Develop- ment Center Saowanee Singhagralwan 氏外1名(南・玉)
	同 物質循環研究室長 佐々木氏(日光)		水産庁協同組合課 佐山 博氏外2名
28	㈱海外漁業協力財団総務課長 小川 清 氏外1名(南・玉)		愛知県弥富金魚漁業協同組合研修会一行 42名(玉城)
30	参議院法制局参事 石川隆昭氏 同 参事 村上たか氏 同 参事 川口 啓氏	14	チリ Universidad Catolia del Norte Prof. Juan Carlos Maureira 氏 アメリカ Bioproducts Inc. B. Buckmaster 氏(南・玉)
	三重行政監察事務所 下川元一氏		東大名誉教授 東 昭氏(玉城)
	中央水研庶務課 永井氏外1名(日光)	15	長崎県立大村高等学校教諭 江崎 厚氏 (大村)
31	太陽学園施設見学会一行 15名(玉城)	16	オランダ デルフト工科大学 J.B.Dragt氏 (玉城)
11. 1	女子栄養大学出版部 広田典子氏外1名		三重大学工学部教授 清水幸丸氏(玉城)
5	㈱海研開発部長 小川 登氏(大村)	17	水産庁漁政部課長補佐 塚原 貢氏外12名 (日光)
6	三重食糧事務所長 渡邊利久氏外2名 フランス 国立博物館生理学研究室主任研 究官 Bruno Kelar 氏(日光)	18	技会事務局国際研究課長 藤田陽偉氏 武田薬品工業㈱ 田中氏(玉城)
6~8	水産庁研究部参事官 原 武史氏(南・玉)	18~20	技会事務局整備課庶務係長 福井光義氏外 1名(南・玉)
7	技会事務局研究総務官 杉本忠利氏(南・玉) 同 企画調査課課長補佐 竹原敏郎氏 (南・玉)	18~21	水産庁研究部参事官 原 武史氏 同 研究管理官 安永義暢氏
	南勢町浦漁協理事 吉永晨志氏	20	水産庁研究課経理係長 藤橋 孝氏
	台湾 中央研究院動物研究所教授 張 崑雄氏(日光)	21	農水省大臣官房経理課物品管理課課長補佐 江畑信孝氏 同 契約第一係長 稲田裕司氏外1名 (南・玉)
8	東海テレビ 中尾氏	21	東海テレビ 深津氏外5名
9	森林総合研究所総務課一行(日光)		甲南大学教授 園部氏(南・玉)
10	農水省大臣官房秘書課 稲垣 隆氏外10名 (日光)	22	カナダ University of Alberta Prof. R. Peter 氏
11	ソ連 ソ連科学者 Pacific Research Institute of Fisheries and Oceanography (TINRO) Andrey A. Ivanov 氏(日光)		高知大学栽培漁業学科教授 谷口順彦氏
		25	京大霊長類研究所非常勤講師 山下晶子氏

月日	来客	月日	来客
11.25	フランス 国立農業研究所 Daniel Chourrut氏 (玉城)	12. 6	水産庁研究課魚類防疫技術専門官 小田 茂氏外22名 (玉城)
26	建設省関東地方建設局営繕部設計官 渡部 昇氏外2名 野菜・茶業試験場総務部長 澤田 武氏外 2名 (株)日本水産資源保護協会 江草周三氏 武田薬品工業(株)フードビタミン事業部 大野正浩氏 (玉城)	7	アメリカ University of Georgia Prof. J.W. Crenshaw 氏
27	台湾 台湾省中央水産試験所 趙 乃賢氏 カナダ Government of Canada, West Vancouver Laboratory Edward M. Donaldson氏 三重県松阪農林事務所職員一行 昭和大学医学部 内藤延子氏 (日光)	10	水産庁研究課管理班課長補佐 大塚祐一郎 氏 同 漁政課給与第一係長 辻 俊行氏
28	ザンビア University of Zambia Thomas Myanbe氏 (南・玉) 中央水研企画調整科長 嶋津靖彦氏 (南・ 玉) 全農名古屋支所技術主幹 松田兼三氏外20 名 (玉城)	11	人事院事務総局給与局主任給与監査官 小林恒雄氏 同 給与監査官 中嶋健司氏外1名 技会事務局企画調査課調査第一係長 中野鷹介氏 (南・玉) 同 電子計算課システム専門官 高橋敏昭氏 (南・玉)
29	全国内水面漁業協同組合連合会専務 酒井典一氏外13名 (日光)	12	チリ Fundacion Chile Chief of New Aquaculture Project Adolfo Alvial氏 水産庁開発課沿岸整事業班課長補佐 篠田邦裕氏外4名
12. 2	水産庁漁政部長 長良恭行氏 (南・玉) 青森県漁業振興課長 菅野氏外2名 北里大学水産学部教授 井田 斎氏 (日光)	13	百五銀行五ヶ所支店長 浅井宣雄氏外5名
3	国際協力事業団研修生 (タイ) Saowanee Singhagralwan氏 (日光)	17	建設省関東地方建設局営繕部 浅井氏外1名
4	アルゼンチン 生態応用センター所長 Alejandro. E.dei. Velle氏 (日光)	18	NHK松山放送局 松本氏
		20	(株)ミキモト真珠研究所研究員 永井清仁氏 鳥羽水族館 帝釈 元氏外1名
		21	(株)化学品検査協会一行 12名
		24	長崎県真珠養殖漁業協同組合理事 小倉満洲男氏 (大村) 長崎県真珠養殖漁業協同組合あこや貝採苗 センター係長 浜田初三郎氏 (大村)
		26	三重県鯉鮪漁協組合理事長 高芝一男氏外 2名

11. 人事異動

氏名	月日	新 所 属	旧 所 属
鈴木 努	9. 30	退 職	会計課用度係

表紙の写真

ミトコンドリアDNAの塩基配列でさぐる養殖ニジマスのルーツ

大原 一郎

日本で飼育されているニジマスは、もともとアメリカ合衆国から移入されたものである。養殖研で現在飼育されている数系統のうち、上の写真はタマル系と呼ばれ、玉城庁舎の近くの城跡名にちなんで名付けられたものであるが、もとは昭和55年に長野から移植された。一方昭和31年に静岡県富士で出現したアルビノ(写真下)は、滋賀から移入した集団より得られたといわれている。いずれも起源はアメリカであるが、アメリカでの移入元となると必ずしも記録が残されておらず、また移入後の交配で集団が混じっている。

玉城庁舎のケイ光DNAシーケンサーで2系統のニジマスのミトコンドリアDNAの塩基配列を一部読み較べたところ、472塩基中でたった1塩基だけの違いが見られた。写真中央のチャートではDNAの塩基が色分けされたピークで表示され、赤がチミン(T)、緑がアデニン(A)、青がシトシン(C)、黒がグアニン(G)に対応している。上下のチャートを見比べると、矢印でA、Gと記したところ以外では完全に塩基配列が一致していることがおわかり頂けよう。見いだされた多型はタンパク質をコードする遺伝子上にあるが、遺伝暗号の3番目の位置でアミノ酸に変化を起こさない、いわゆるサイレントな変異である。

おもしろいことに、最近報告された北アメリカのニジマス野生集団の報告では、このDNA領域に富士のアルビノと全く同じ変異を有する集団がWanpus 沢谷というところで見いだされている。一方、タマル系の配列はマックロード川やフレーザー川に生息する系群の配列と一致していた。こ

のことから、100年程度の養殖の歴史ではミトコンドリアDNAの塩基配列にほとんど変化が起こっていないことが確認される。また、アルビノの出現した富士の集団の中にはWanpus 沢谷の母親由来のニジマスが混じっており、そのミトコンドリアDNAがたまたまアルビノに伝わっているものと考えられる。

アルビノだから皆同じ変異を持つと考えるのは誤りであろう。たとえば長野でもほぼ時を同じくしてアルビノが出現しているが、これが富士と独立な出来事であれば、別の配列のミトコンドリアDNAを持っているかも知れない。

一般に養殖集団は比較的少ない個体で交配して子孫を作るので、遺伝学で言うビン首効果が起こりやすいと考えられる。従って各養殖集団のミトコンドリアDNAは、野生集団のもついくつかのタイプの配列の一つが選ばれたものと考えられる。北アメリカに棲むニジマスの多型が日本の養殖集団に、異なった形で反映されているのである。

集団間の変異の検出は交配実験および資源学における指標として重要であるが、近縁な集団ほど制限酵素の切断長多型(RFLP)を検出しづらい。写真で示した変異もRFLPの実験にはかからない。このような場合に、塩基配列を直接決定して多型を探すのは骨がおれるので、最近はやり簡便にDNA断片上の多型を高確率で検出する方法が考案されてきた(本号関連記事参照)。DNA多型の検出は新時代を迎えようとしている。

(栄養代謝部代謝研究室)

編 集 後 記

タヌキの行動観察を深め、個体を識別するに至ったメキシコから来ているガブリエルさんによると、このところ南勢庁舎周辺には新顔が増え続け、8頭が棲みついているとのこと。ヒヨドリなどの小鳥も身近に見ることが多くなりました。暖かい当地でも冬の自然は野生動物にとって厳しいものようです。

最近の水産業を巡る社会、経済、さらには国際情勢の変化は極めて激しく、水産業に期待される役割も、健全で多様な水産物の安定供給といったことだけにとどまらず、海洋環境の保全やレクリエーションの場の提供といったことにも及んでいます。このことは海という生産の基盤を大切にしつつ、末永く、高いレベルで生産のできるシステムを開発しようという水産分野での暗黙のうちに意識されていた夢を、新しい視点で再構築することを迫っているように思われます。諸情勢が

厳しくなればなるほど基礎に立ち返った研究への期待が高まるのは当然のことであり、我々研究者にとっては責任は重い、やりがいのある時代が来たとも考えられます。今号には新しい手法に関する原稿が数多く集まりました。遣伝子から群集に至るさまざまなレベルでの、あらゆる手練手管を動員した徹底的な分析の上に立つ総合化によってこそ増養殖技術への新しい視野が開けてきます。今後の発展に期待したいと思います。

日が少し長くなり、五ヶ所湾に注ぐ川ではシロウオ漁が始まりました。外国人選手や女性ランナーを含む豪華メンバーで臨んだ南勢町駅伝大会では、強豪に互して健闘した養殖研チームの“真摯な走り”が応援を楽しんだ所員はもとより、地元の人達にも深い感銘を与えました。

(企画連絡室長 畔田正格)