

課題番号	GS010
------	-------

**先端研究助成基金助成金(最先端・次世代研究開発支援プログラム)  
実施状況報告書(平成23年度)**

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名	異種間精原細胞移植を用いた大型食用海産魚種苗生産の低エネルギー化技術の開発
研究機関・ 部局・職名	国立大学法人東京海洋大学 先端科学技術研究センター・准教授
氏名	竹内 裕

1. 当該年度の研究目的

ニベ科（オオニベ、レッドドラム）、および、アジ科（ブリ、カンパチ、ロウニンアジ）の大型海産魚をドナーとして、ニベ科の小型魚であるニベへの異種間精原細胞移植を行い、「ドナー由来の精子と卵を生産する雌雄各々の代理親ニベ」を作出する。本年度は、1) 免疫系が発達する以前の宿主仔魚の腹腔内へとドナー精原細胞を移植し、その後、それらの細胞が宿主の生殖腺内部に生着するかを調べること、および、2) 宿主生殖腺内に生着したドナー精原細胞が、正常に増殖し、機能的な配偶子へ分化することを調べること、の2点について実施する。本年度は、6~8ヶ月齢のオオニベ精巣およびブリ精巣からドナー精原細胞を大量に調整し、3倍体不妊化ニベ仔魚（12日齢、全長4mm）の腹腔内へ移植することで、ニベの生殖腺内にドナー由来精原細胞を生着させることが可能であるかを調べる。続いて、ドナー5魚種の精原細胞を移植した各代理親ニベを作製し、これらを用いて、上記2)の解析を行う。具体的には、移植を施したニベを経時的にサンプリングし、ドナー精原細胞の増殖および分化について調査する。

2. 研究の実施状況

移植実験に用いる未成熟ドナー精巣を集めるために、ドナー4種（オオニベ、ブリ、カンパチ、ロウニンアジ）の若齢個体を収集し飼育試験を行った。レッドドラムの稚魚あるいは未成熟雄の精巣は台湾の養殖業者からの入手手続きを進めているものの、その入手はH24年度に延期することとした。

上述4魚種の精巣を月別、年齢別に組織学的に解析し、未分化型精原細胞を多く含む精巣をもつ年齢および体サイズを決定した。さらに、生殖腺が未発達で現段階ではドナー精原細胞の調整が困難であることが判明したロウニンアジを除く、オオニベ、ブリ、カンパチの各精巣から調整した精原細胞をドナーとして、2倍体ニベ（対照区）および3倍体不妊化ニベ（実験区）仔魚腹腔内への移植を行った（ロウニンアジは継続飼育中であり、H24年度に移植実験を行う）。その結果、いずれの区においても、50%以上の宿主個体で、宿主生殖腺内へのドナー精原細胞の生着が認められた。また、生着効率については、異種ドナーと同種ドナーを比較した場合、あるいは、2倍体宿主と3倍体宿主を比較した場合のいずれにおいても2区間に差は認められず、ドナー細胞の種差や宿主の倍数性は、生着効率に影響を及ぼさないことが明らかとなった。

本研究の過程で、移植後の宿主個体を移植後3週間、通常の飼育水温より3℃低い21℃で飼育すると生着効率が2倍以上に高まることを発見した。その理由として、移植操作後の宿主を低水温で飼育することによって宿主生殖腺の発達（宿主生殖細胞の増殖および性分化）が遅くなったことで、ドナ

一精原細胞を取り込み可能な期間が長く保たれたことを示唆する結果が得られている（特許出願済）。異種間移植を行った3倍体ニベ宿主は順調に生育しており、H24年度内にドナー由来配偶子生産の調査および次世代子孫の作出試験を実施する予定である。

3. 研究発表等

雑誌論文  計5件	(掲載済み一査読有り) 計4件 1. 矢澤良輔, <b>竹内裕*</b> , 岩田岳, 壁谷尚樹, 薦田章, 吉崎悟朗. 陸上70m <sup>3</sup> 水槽を用いたクロマグロの長期飼育. <i>水産増殖</i> 59,437-481(2011). *corresponding author 2. Kise K, Yoshikawa H, Sato M, Tashiro M, Yazawa R, Nagasaka Y, <b>Takeuchi Y</b> , Yoshizaki G. Flow-cytometric isolation and enrichment of teleost type A spermatogonia based on light-scattering properties. <i>Biol Reprod</i> 86:107, 1-12 (2012). 3. Lacerda SM, Costa GM, Campos-Junior PH, Segatelli TM, Yazawa R, <b>Takeuchi Y</b> , Morita T, Yoshizaki G, França LR. Germ cell transplantation as a potential biotechnological approach to fish reproduction. <i>Fish Physiol Biochem</i> DOI: 10.1007/s10695-012-9606-4 (2012). 4. Morita T, Kumakura N, Morishima K, Mitsuboshi T, Ishida M, Hara T, Kudo S, Miwa M, Ihara S, Higuchi K, <b>Takeuchi Y</b> , Yoshizaki G. Production of Donor-Derived Offspring by Allogeneic Transplantation of Spermatogonia in the Yellowtail ( <i>Seriola quinqueradiata</i> ). <i>Biol Reprod</i> 10.1095/biolreprod.111.097873 (2012).  (掲載済み一査読無し) 計0件  (未掲載) 計1件 1. Yoshizaki G, Okutsu T, Morita T, Terasawa M, Yazawa R, <b>Takeuchi Y</b> . Biological characteristics of fish germ cells and their application to developmental biotechnology. <i>Reproduction in Domestic Animals</i> (2012, in press).
会議発表  計10件	専門家向け 計9件 1. <b>Takeuchi Y</b> , Sato K, Yazawa R, Yoshikawa H, Iwata G, Kabeya N, Shimizu S, Yoshizaki G. LHRHa-induced spawning of the eastern little tuna <i>Euthynnus affinis</i> in a 70-m <sup>3</sup> Land-Based tank. 9th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Cochin, India (2011.Aug, 9-14). 2. Yoshizaki G, Yazawa R, Iwata G, <b>Takeuchi Y</b> , Morita T, Mitsuboshi T. Germ cell transplantation in marine fish. 9th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Cochin, India (2011.Aug, 9-14). 3. 佐藤健太, 矢澤良輔, 岩田岳, 吉川廣幸, 清水庄太, 森田哲朗, 三星亨, 竹内裕, 吉崎悟朗. 70m <sup>3</sup> 水槽におけるスマへのGnRHa投与による人為催熟. 平成23年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011.Sep, 28-Oct, 1). 4. 矢澤良輔, 竹内裕, 森田哲朗, 三星亨, 吉崎悟朗. dead end 遺伝子の発現を指標としたクロマグロ精原細胞移植に適したドナー精巢の検索. 平成23年度日本水産学会秋季大会,

様式19 別紙1

	<p>長崎 (2011.Sep, 28-Oct, 1).</p> <p>5. 岩田岳, 矢澤良輔, 清水庄太, 竹内裕, 吉崎悟朗. 水槽壁面への縞模様がスマ <i>Euthynnus affinis</i> 稚魚の遊泳行動および壁面への接触に及ぼす影響. 平成23年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011.Sep, 28-Oct, 1).</p> <p>6. 濱崎将臣, 菊池潔, 伊原祥子, 竹内裕, 吉崎悟朗. 代理親魚技術を用いたトラフグ配偶子の生産 (1): クサフグ仔魚へ移植したトラフグ精原細胞に由来する次世代の作出. 平成23年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011.Sep, 28-Oct, 1).</p> <p>7. 吉崎悟朗, 三輪美砂子, 竹内裕, 森田哲朗, 森島輝, 三星亨. ブリ精原細胞を移植したマアジ宿主からのブリ次世代の生産. 平成23年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011.Sep, 28-Oct, 1).</p> <p>8. 壁谷尚樹, 竹内裕, 山本洋嗣, 矢澤良輔, 芳賀穰, 佐藤秀一, 吉崎悟朗. 肝臓高発現ベクターを用いた脂肪酸代謝酵素遺伝子導入ニベの作出. 平成23年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011.Sep, 28-Oct, 1).</p> <p>9. 矢澤良輔, 竹内裕, 吉崎悟朗. 陸上70トン水槽飼育下におけるクロマグロの精子形成. 平成23年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011.Sep, 28-Oct, 1).</p> <p>一般向け 計1件</p> <p>1. 竹内裕. 「見たり聞いたり安房の国: サバにマグロを産ませる新技術」安房地方公民館連携講座, 千葉県館山市 (2011. Aug, 26).</p>
<p>図書 計1件</p>	<p>1. Yoshizaki G, Okutsu T, <b>Takeuchi Y</b>. Chapter 14 Germ cell transplantation in fish: basic biology and biotechnological applications. In <i>Aquaculture biotechnology</i> (Eds. by Fletcher GL and Rise ML) pp. 223-232 (2012), ISBN: 978-0-8138-1028-7, Wiley-Blackwell, NJ.</p>
<p>産業財産権 出願・取得状況 計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件 (出願中) 計0件</p>
<p>Webページ (URL)</p>	<p>東京海洋大学 先端科学技術研究センター 竹内研究室Webサイト <a href="http://www.kaiyodai.ac.jp/sentanken/takeuchi/takeuchi.html">http://www.kaiyodai.ac.jp/sentanken/takeuchi/takeuchi.html</a></p> <p>東京海洋大学 竹内研究室@館山ステーション 新着情報(ブログ) <a href="http://d.hatena.ne.jp/yutakat1975/">http://d.hatena.ne.jp/yutakat1975/</a></p>
<p>国民との科学・技術対話の実施状況</p>	<p>1. 埼玉県立熊谷西高校理数科校外実習における講義および施設案内、生徒 40 名: 教員 3 名 (2011. Aug, 1)</p> <p>2. 埼玉県立蕨高校サイエンスパートナーシッププログラムにおける講義および実習指導、生徒 30 名、教員 5 名 (2011. Aug, 22-23)</p> <p>3. 東海大学付属仰星高校サイエンスパートナーシッププログラムにおける講義、生徒 15 名: 教員 3 名 (2011. Sep, 8)</p> <p>4. ひらめき☆ときめきサイエンス「サバにマグロを産ませる～魚類の発生・繁殖工学入門～」、中</p>

様式19 別紙1

	<p>高生 15 名(2011. Sep, 23)</p> <p>5. 東京都立大島国際海洋高校出張講義(高大連携事業)生徒 70 名:教員 10 名(2012.2-16-17)</p>
新聞・一般雑誌等掲載計1件	<p>1. 先端研究最前線 第 10 回 「大衆魚」サバが「高級魚」クロマグロを産む！ 東京海洋大学先端科学技術研究センター. ヘルシスト 210, 35(6): 32-35.</p>
その他	

4. その他特記事項

- 1) 平成23年度水産学奨励賞（公益社団法人日本水産学会）受賞： 受賞題目「精原細胞の異種間移植法を用いた水産有用海産魚類における代理親魚技術の確立」
- 2) 最優秀ポスター賞受賞： **Takeuchi Y**, Sato K, Yazawa R, Yoshikawa H, Iwata G, Kabeya N, Shimizu S, Yoshizaki G. LHRHa-induced spawning of the eastern little tuna *Euthynnus affinis* in a 70-m<sup>3</sup> Land-Based tank. 9th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Cochin, India (2011.Aug, 9-14).

## 実施状況報告書(平成23年度) 助成金の執行状況

本様式の内容は一般に公表されます

## 1. 助成金の受領状況(累計)

(単位:円)

	①交付決定額	②既受領額 (前年度迄の 累計)	③当該年度受 領額	④(=①-②- ③)未受領額	既返還額(前 年度迄の累 計)
直接経費	113,000,000	57,060,000	12,740,000	43,200,000	0
間接経費	33,900,000	17,118,000	3,822,000	12,960,000	0
合計	146,900,000	74,178,000	16,562,000	56,160,000	0

## 2. 当該年度の収支状況

(単位:円)

	①前年度未執 行額	②当該年度受 領額	③当該年度受 取利息等額 (未収利息を除 く)	④(=①+②+ ③)当該年度 合計収入	⑤当該年度執 行額	⑥(=④-⑤) 当該年度未執 行額	当該年度返還 額
直接経費	52,826,226	12,740,000	0	65,566,226	65,135,834	430,392	0
間接経費	16,587,157	3,822,000	0	20,409,157	19,958,383	450,774	0
合計	69,413,383	16,562,000	0	85,975,383	85,094,217	881,166	0

## 3. 当該年度の執行額内訳

(単位:円)

	金額	備考
物品費	51,151,613	海産魚類飼育装置、電子顕微鏡、実験試薬等
旅費	786,105	研究成果発表旅費(インド、長崎)等
謝金・人件費等	11,208,219	博士研究員人件費、生物飼育員人件費
その他	1,989,897	学会誌投稿料、塩基配列解析委託費、機器修理費等
直接経費計	65,135,834	
間接経費計	19,958,383	
合計	85,094,217	

## 4. 当該年度の主な購入物品(1品又は1組若しくは1式の価格が50万円以上のもの)

物品名	仕様・型・性能 等	数量	単価 (単位:円)	金額 (単位:円)	納入 年月日	設置研究機関 名
水槽用架台	FRP材製	2台	385350	¥770,700	23.6.10	東京海洋大学
プロイディーアナライザー 一式	日本ミリポア株式会社製	1式	5250000	¥5,250,000	23.5.20	東京海洋大学
投げ込み式クーラー	FZ-1500HPS 冷暖両用ヒートポンプ 3φ200V 1.5kW	1台	938700	¥938,700	23.7.12	東京海洋大学
プレッサーセル	大岳製作所製 No.5506-Y(800ml)	1台	655200	¥655,200	23.8.15	東京海洋大学

手動式油圧プレス (分離型)	大岳製作所製	1台	795900	¥795,900	23.8.15	東京海洋大学
投込式クーラー(冷 暖両用タイプ)	イワキ製 FZ- 1500HPS	1台	866250	¥866,250	23.8.28	東京海洋大学
10トン産卵水槽	東洋ガス機工株 式会社製 型番: 10F1018 φ3000/ φ3100× 2000H,2400TH 開 口部:スライド式	2式	2940000	¥5,880,000	23.9.14	東京海洋大学
冷凍機一式	三菱電機製 型 番:AFR- EP3VHQS1	1式	997500	¥997,500	23.9.14	東京海洋大学
空冷式屋外型加温 冷却ユニット 一式	(株)マリンリバー製 型式:MR- 500HVS-SQ	1式	1995000	¥1,995,000	23.9.12	東京海洋大学
紫外線殺菌装置	処理水量:5m3/h 殺菌質材質: NSSC270 スー パーステンレス仕 様 石英管洗浄装置 付 単相×100V× 寸法:W700× H1000×D250 SS+体重塩害装 置	1台	882000	¥882,000	23.9.8	東京海洋大学
サーモコントロール ボックス	冷凍機、循環ポ ンプ インターロッ クおよび異常警 報 温度指示調節計 含む	1面	787500	¥787,500	23.9.15	東京海洋大学
泡沫分離装置	FRP製泡沫分離 槽およびエアレー ター(PVC- SUS316)	1台	925000	¥971,250	23.7.14	東京海洋大学
集卵ろ過装置	PVC製集卵槽、 生物濾過槽(FRP 槽断熱仕様)およ び循環ポンプ(樹 脂製 60L/min)	1式	871500	¥871,500	23.7.14	東京海洋大学
デスクサイド型走査 型電子顕微鏡 一 式	キーエンス社製 VE-9800SRL#	1式	13576500	¥13,576,500	24.2.14	東京海洋大学