

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) 実績報告書

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. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

2. 収支の状況

(単位:円)

	交付決定額	交付を受けた額	利息等収入額	収入額合計	執行額	未執行額	既返還額
直接経費	113,000,000	113,000,000	0	113,000,000	112,376,133	623,867	0
間接経費	33,900,000	33,900,000	0	33,900,000	33,712,839	187,161	0
合計	146,900,000	146,900,000	0	146,900,000	146,088,972	811,028	0

3. 執行額内訳

(単位:円)

費目	平成22年度	平成23年度	平成24年度	平成25年度	合計
物品費	3,783,822	51,151,613	8,988,251	4,611,054	68,534,740
旅費	0	786,105	881,613	868,046	2,535,764
謝金・人件費等	399,132	11,208,219	13,064,278	12,428,817	37,100,446
その他	50,820	1,989,897	1,592,383	572,083	4,205,183
直接経費計	4,233,774	65,135,834	24,526,525	18,480,000	112,376,133
間接経費計	530,843	19,958,383	7,866,774	5,356,839	33,712,839
合計	4,764,617	85,094,217	32,393,299	23,836,839	146,088,972

4. 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
バイオラッド iMarkマイクロプレートリーダー解析ソフトウェア	吸光マイクロプレートリーダー用ソフトウェア	1式	745,500	745,500	23.3.23	東京海洋大学
水槽用架台	FRP材製	2台	385,350	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	5,250,000	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 3φ 200V 1.5kW	1台	938,700	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	655,200	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	795,900	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	866,250	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	2,940,000	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	997,500	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	1,995,000	1,995,000	23.9.12	東京海洋大学

様式20

紫外線殺菌装置	処理水量: 5m ³ /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× 50HZ×3A	1台	882,000	882,000	23.9.8	東京海洋大学
サーモコントロールボックス	寸法:W700× H1000×D250 SS+体重塩害 装置 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 チタン製温度セ ンサー含む	1面	787,500	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-	1台	971,250	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	871,500	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-	1式	13,576,500	13,576,500	24.2.14	東京海洋大学
超軽量パーソナル分光光度計	NanoDrop Lite プリンター無	1式	869,400	869,400	24.4.18	東京海洋大学
投げ込み式冷却装置	イワキ製 500HPS-M サーモスタット TC-201付 電 源線長 30m	1式	885,150	885,150	24.6.1	東京海洋大学
高純度酸素供給システム	(整備等含む)	1式	577,500	577,500	25.12.18	東京海洋大学
顕微鏡用デジタルカメラ	オリンパスメ ディカルサイエ ンス製:DP73- SET-A	1式	1,262,520	1,262,520	26.2.25	東京海洋大学

5. 研究成果の概要

本研究では、宿主(小型海産魚)の生殖腺体細胞に内包された異種(大型海産魚)由来ドナー精原細胞が、配偶子形成を開始し、正常な配偶子へと分化するためには、どのような条件が必要かを明らかにすることで、海産魚における異種間精原細胞移植によるドナー由来配偶子生産技術(代理親魚技術)の完成を目指した。昨年度までの研究において、2倍体ニベ宿主(ニベ科ニベ属)のオスが、シログチ精子(ニベ科シログチ属)を生産することを確認し、「海産魚における異種間精原細胞移植によるドナー由来配偶子生産」が可能であることを証明した。しかし、3倍体不稔化宿主(ニベ)を用いた場合には、異種ドナー(シログチ、オオニベ、フリ、カンパチ)精原細胞由来の配偶子生産は確認されなかった。また、これらの異種ドナー精原細胞は、一旦、宿主生殖腺内に生着したのち、移植後1ヶ月間は生存および増殖可能であるものの、移植後2ヶ月以降では異種ドナー精原細胞が生存している様子は確認されなかった。これらの結果は、異種由来ドナー精原細胞は、宿主生殖腺内で免疫拒絶ではない別の要因によって排除されることを強く示唆している。本年度は、本プロジェクトで開発した生殖細胞欠損型の不妊化ニベシログチ雑種(以下、ニベシロ雑種)を用い、宿主VSDナー間の精原・卵原細胞のニッチの競合を失くした状況を作ることで、より長い期間ドナー精原細胞を宿主生殖腺に生存させ、ドナー由来の配偶子形成を誘起することを目標とした。実際には、ニベシロ雑種の仔魚腹腔内にGFP遺伝子導入ニベの精原細胞を移植し、ドナー由来のニベ精子が生産されることを示した。この実験により、生殖細胞欠損型のニベシロ雑種が精原細胞移植技術の宿主として利用可能であることが明らかとなったことから、これらの雑種宿主を利用し、精原細胞移植においてより短時間でドナー種と宿主種の適合性を評価する新たなアッセイ法の開発を行った。すなわち、ニベシロ雑種宿主の成魚に対して輸精管内への精原細胞移植を行った。その結果、移植後7週目において、ドナー由来ニベ精子の生産が確認された。現在、本移植法によるオオニベ精原細胞の移植を行っている。さらに、本プロジェクトで設置した温調式10トン循環水槽を用いて、効率的かつ低コストで水産上有用品種の受精卵生産を行う技術の開発を行った。実験には、小型マグロ類の中でも人工種苗生産技術の開発が期待されているスマを用いた。本年度は、既に本研究室で開発された温調式10トン循環水槽内でのスマ産卵誘発に掛るランニングコスト算出のため、オフィスビル等の消費電力量モニタリングに使用される電力見える化システム(XemsWatcher、NECソフト製)を採用し、スマ受精卵の獲得に要する消費電力量を算出した。

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) 研究成果報告書

本様式の内容は一般に公表されます

研究課題名 (下段英語表記)	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
	Research Project on the Establishment of Surrogate Broodstock Technology in Marine Fishes
研究機関・部局・職名 (下段英語表記)	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
	National University Corporation Tokyo University of Marine Science and Technology, Research Center for Advanced Science and Technology, Associate Professor
氏名 (下段英語表記)	竹内 裕
	Yutaka Takeuchi

研究成果の概要

(和文):これまでサケ科魚類を用いて独自に開発してきた魚類精原細胞の異種間移植法を応用し、海産魚での代理親魚技術(魚の借腹技術)の開発を行った。代理親魚技術は、小さな飼育スペースで大型魚の種苗を生産する(サバにマグロを産ませる、等)、世代時間を大幅短縮し海産魚の育種を高速化する、さらには、種苗の遺伝的多様性の確保や希少種の保存を可能にする技術として期待されている。本研究では、世界的な養殖対象魚種であるニベ科魚類を用いて、本技術がサケ科魚類よりも遥かに小型で脆弱な卵を産み、遺伝的多様性に富んだスズキ目海産魚種でも利用可能であることを証明し、代理親技術を利用した養殖対象海産魚類の種苗生産法を開発した。

(英文): Japan has developed some of the most advanced fish farming techniques in the world, but techniques for spawning in captivity, cultivating larvae, and rearing larvae of bluefin tuna or other large fish is still in the development stages. Our ultimate goal is to “use mackerels, which are smaller and which lay eggs in tanks, to act as surrogates for bluefin tuna”. To achieve this goal, we

様式21

are following our original research program—“the development of surrogate broodstock technology in marine fishes (having one fish species lay eggs of another fish species)”. This research proposes techniques to produce larvae of large aquaculture species quickly, cheaply, and easily with small space requirements. In this project, allogenic and xenogenic spermatogonial transplantation methods have been established using several species of sciaenids, such as Nibe croaker *Nibea mitsukurii*. Moreover, in order to improve the efficiency of surrogacy and to produce only donor-derived gametes, triploids and interspecific hybrids were used as functionally sterile recipients, for the first time, for marine teleost. And here, we reported that functional donor-derived gametes can be produced from triploid or hybrid transplantation-recipient surrogates. Enrichment of type-A spermatogonia in donor cell preparations and cell-sorting technique using several markers were also developed. Combinations of these techniques may open avenues to the preproduction of large-bodied fish or genetically desirable fish using closely related small-bodied fish as a recipient. We hope that this technology will contribute to the world food supply and reduce environmental problems, while contributing to the reinvigoration and further development of a fish-eating culture and the conservation of wild-fish resources.

1. 執行金額 146,088,972 円
 (うち、直接経費 112,376,133 円、 間接経費 33,712,839 円)

2. 研究実施期間 平成23年2月10日～平成26年3月31日

3. 研究目的

ふ化後一週間程度の海産魚仔魚の腹腔内に同種異個体あるいは異種のドナー精原細胞を注入(=移植)すると、ドナー精原細胞は宿主の生殖腺原基内へと生着することが様々な魚種を用いた実験で明らかとなっている。しかしながら、宿主生殖腺内でドナー由来の機能的配偶子が生産された例は少ない。本研究では、宿主の生殖腺体細胞に内包された異種由来ドナー精原細胞が、配偶子形成を開始し、正常な配偶子へと分化するためには、どのような条件が必要かを明らかにすることで、海産魚における異種間精原細胞移植によるドナー由来配偶子生産技術(代理親魚技術)の完成を目指した。実験には、世界的に重要な養殖対象海産魚であるニベ科およびアジ科魚類を用いた。宿主として、全長 10 cm 体重 100g (6 ヶ月齢) で成熟に至る小型かつ水槽飼育が容易なニベ(ニベ科ニベ属)を選定した。

代理親魚技術により、ドナー由来の配偶子を効率的に生産させるためには、宿主自身の配偶子を形成させないことが重要となる。受精卵がハンドリングストレスに弱く、初期減耗の激しい分

離浮遊卵産出型の海産魚では、淡水魚で従来利用されてきた三倍体処理や遺伝子ノックダウンによる不妊化宿主の安定生産は困難である。そこで本研究では、人工授精のみで作出可能な種間交雑による不妊化海産魚の生産技術の開発、および、不妊化種間雑種魚における生殖細胞欠損機構の解明を行い、さらには、これらの種間雑種魚を精原細胞移植の宿主として利用することでドナー由来配偶子の生産が効率化されるかを調べた。また、生殖細胞欠損型の不妊化雑種魚が得られたことから、ドナー精原細胞の精巢内への直接移植技術を開発し、従来の仔魚腹腔内への精原細胞移植に比べ短期間でドナー由来精子を生産する技術の開発を行った。

4. 研究計画・方法

宿主生殖腺を構成する生殖腺体細胞に囲まれた異種由来ドナー精原細胞が、配偶子形成を開始し、正常な配偶子へと分化するためには、1)生理学的条件(ドナー種と宿主種の遺伝的距離、および、配偶子形成過程での内分泌あるいは体内の温度環境など)を戦略的に組み合わせた 2 魚種間での移植実験を行うこと、2)不妊化宿主を利用し、ドナー精原細胞に対して宿主生殖腺内での細胞学的ニッチを与えることで配偶子形成を促すこと、の 2 方向からのアプローチが必要であると考えられる。そこで、下記(1)~(4)の実験を実施した。さらに、これらの実験とは独立して、陸上水槽における有用海産魚の受精卵生産に掛るエネルギーの省力化を目指し、温調式 10トン循環水槽での親魚管理および受精卵生産にかかる消費電力量の見える化を行った(5)。

(1)ニベ科魚類を用いた同科異属間での異種間精原細胞移植

日本近海に生息するニベ科魚類における種間の遺伝的距離を調査した論文(Menezes and Taniguchi et al., 1988)を参考にして、宿主として用いるニベ(ニベ科ニベ属)に対して同科異属間ではもっとも近縁とされるシログチ(ニベ科シログチ属)と、シログチの次に近縁なオオニベ(ニベ科オオニベ属)をドナーに用いた精原細胞の異種間移植実験を行った。宿主ニベには、正常な妊性を有する通常の 2 倍体を用いた。

(2)3 倍体不妊化宿主を用いた同種および異種間での精原細胞移植

人工授精により得られたニベ卵を受精 5 分後より 15 分間、低水温海水(10°C)に浸漬すると、第二極体の放出が阻止され 3 倍体化が誘導される。これにより得られた 3 倍体ニベは、減数分裂不全により機能的な配偶子を形成できず不妊化されることが明らかとなっている。本実験では、3 倍体ニベ宿主に対して、シログチ、オオニベ(ともにニベ科)、および、ブリ、カンパチ(ともにアジ科)の精原細胞をドナーとした移植実験を行い、移植後のドナー細胞の追跡およびドナー由来配偶子形成の有無を調査した。

(3)種間交雑による不妊化雑種魚の作出とその宿主としての利用

代理親魚技術により、ドナー由来の配偶子を効率的に生産させるためには、宿主自身の配偶子

を形成させないことが重要となる。受精卵がハンドリングストレスに弱く、初期減耗の激しい分離浮遊卵産出型の海産魚では、3倍体処理や遺伝子ノックダウンによる不妊化宿主の安定生産は困難である。そこで、本研究では種間交雑による作出される雑種魚に着目した。数種の淡水魚やタイ科やアジ科の海産魚類においては、近縁種間の交雑で得られたF1世代が不妊性を示すことが知られている。これらの雑種魚が不妊化される機構は明らかにはなっていないが、雑種作出は3倍体作出より簡易であるため、ニベ科魚類において不妊化雑種宿主が作出できれば、代理親魚技術の実用化に向けた大きな進展となる。雑種作出試験では、国内で入手したニベ科魚類4種(ニベ、コイチ、シログチ、オオニベ)について人工授精による交雑試験を行った。最も安定的に採卵が可能なニベより卵を採取し、コイチ、シログチ、オオニベの精子を受精させることで雑種受精卵を作出した。各交雑により得られた受精卵を飼育し、生残性の雑種が得られた場合には、生殖腺の発達を調べた。ニベ卵とシログチ精子を受精させた場合に、生殖細胞を欠損する生残性の不妊化雑種(ニベシロ雑種)が得られたため、分子生物学的手法をもちいて、本雑種個体における生殖細胞欠損機構を調査した。また、ニベシロ雑種の仔魚を宿主として、腹腔内へのニベ精原細胞移植を行い、ニベシロ雑種の生殖腺内でドナー由来ニベ配偶子が生産されるかを調査した。

(4) 生殖細胞欠損型の不妊化雑種精巣へのドナー精原細胞移植法の開発

ニベシロ不妊化雑種が発見されたことにより、これらを利用することで、より短期間でドナー種と宿主種の適合性を評価する新たなアッセイ法の開発を行った。すなわち、ニベシロ雑種宿主の成魚に対して、淡水魚(テラピアおよびゼブラフィッシュ)で確立されている輸精管内への精原細胞移植が利用可能であるかを調べた。

(5) 温調式 10トン循環水槽を用いた消費電力量の見える化

本プロジェクトで設置した温調式 10トン循環水槽を用いて、効率的かつ低コストで水産上有用品種の受精卵生産を行う技術の開発を行った。実験には、小型マグロ類の中でも人工種苗生産技術の開発が期待されているスマを用いた。本年度は、既に本研究室で開発された温調式 10トン循環水槽内でのスマ産卵誘発に掛るランニングコスト算出のため、オフィスビル等の消費電力量モニタリングに使用される電力見える化システム(XemsWatcher、NECソフト製)を採用し、スマ受精卵の獲得に要する消費電力量を算出した。

5. 研究成果・波及効果

(1)ニベ科魚類を用いた同科異属間での異種間精原細胞移植 — ドナー(シログチ)由来の異種精子を生産するニベの作出に成功した(図1)。

宿主種であるニベに対して同科異属間ではもっとも近縁とされるシログチおよびオオニベをドナーに用いて精原細胞の異種間移植実験を行った。シログチ精原細胞を移植し 6 か月後に生残していた 54 個体の宿主ニベについて排精確認を行ったところ、8 個体より精液が得られた。これらの精液より DNA を抽出し、シログチ *vasa* 遺伝子に特異的な配列を指標とした種判別 PCR 解析を行ったところ、8 尾中 1 尾の精液 DNA 中にシログチ精子の存在を示唆する PCR 産物が増幅された。そこで、この精液中に機能的なドナー由来シログチ精子が生産されているかを明らかにするため、ニベ卵との人工授精を行い、得られた F1 世代中にドナー由来シログチ精子とニベ卵が受精したニベ-シログチ雑種仔魚が誕生するかを調べた。F1 世代仔魚における種判別 PCR 解析により、48 個体中 13 個体 (27%) の仔魚がニベ-シログチ雑種であることが判明した。この結果、ニベ宿主が機能的なシログチ精子を生産していることが確認され、ニベ宿主による異種ドナーの配偶子生産が達成された(論文準備中)。また、ニベ宿主のメスが、シログチ卵を生産できるかについては現在調査中である。一方で、オオニベをドナーに用いた移植実験からは、ニベ宿主によるオオニベ精子の生産は確認できなかった。今後、“ニベ宿主の精巣内でシログチ精子は生産されるものの、オオニベ精子は生産されない”という現象がどのような要因によるものなのかを明らか

にするために、オオニベ精原細胞がニベ宿主の精巣内に生着後、消失していくまでの動態について細胞レベルで詳細な観察を行う必要がある。また、ニベとシログチは夏産卵型であるのに対して、オオニベは春産卵型であることから、ドナー種と宿主種の遺伝的距離の差以外に、産卵期の違いがドナー由来配偶子生産の成否に影響していることも考えられた。本実験により、ニベ宿主(ニベ科ニベ属)のオスが、シログチ精子(ニベ科シログチ属)を生産することを確認し、「海産魚における異種間精原細胞移植によるドナー由来配偶子生産」が可能であることを証明した。

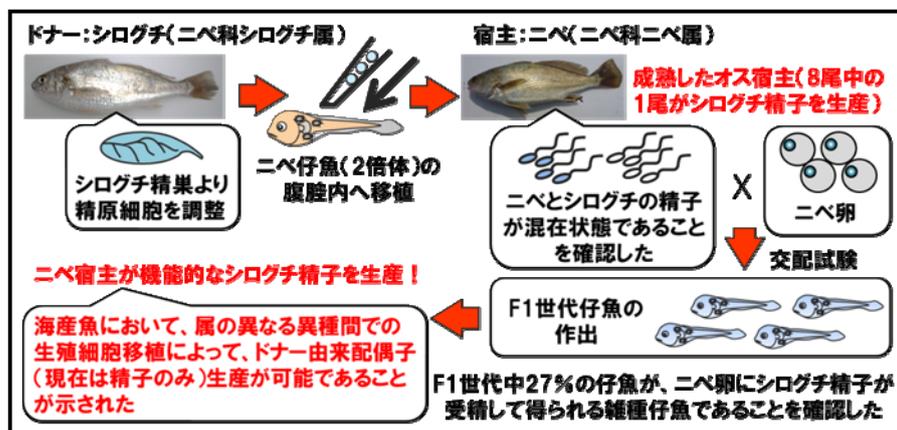


図1. シログチ精子を生産する代理親ニベの作出

にするために、オオニベ精原細胞がニベ宿主の精巣内に生着後、消失していくまでの動態について細胞レベルで詳細な観察を行う必要がある。また、ニベとシログチは夏産卵型であるのに対して、オオニベは春産卵型であることから、ドナー種と宿主種の遺伝的距離の差以外に、産卵期の違いがドナー由来配偶子生産の成否に影響していることも考えられた。本実験により、ニベ宿主(ニベ科ニベ属)のオスが、シログチ精子(ニベ科シログチ属)を生産することを確認し、「海産魚における異種間精原細胞移植によるドナー由来配偶子生産」が可能であることを証明した。

(2)3倍体不妊化宿主を用いた同種および異種間での精原細胞移植 — 3倍体宿主を用いることでドナー由来配偶子の生産効率は、オス宿主7倍、メス宿主で4倍と飛躍的に向上した。さらに、3倍体宿主は、宿主自身の配偶子は生産せず、ドナー由来配偶子のみを生産した(図2、図3、図4)。

ニベの同種間移植では、ドナー由来配偶子の生産効率(ドナー由来配偶子を生産した宿主魚の割合、および、F1世代中に出現するドナー由来子孫の出現率)は、3倍体宿主を用いた場合に飛躍的に高まり、さらに3倍体宿主は雌雄ともドナー由来配偶子のみを生産することが明らかとなった(図2)。しかし、3倍体ニベ宿主を用いた場合では、異種ドナー(シログチ、オオニベ、ブリ、カンパチ)精原細胞由来の配偶子生産は確認されなかった。また、これらの異種ドナー精原細胞は、一旦、宿主生殖腺内に生着したのち、移植後1ヶ月間は生存および増殖可能であるものの、移植後2ヶ月以降では生存している様子が確認されなかった(図3)。これらの結果は、異種由来ドナー細胞は、宿主生殖腺内で免疫拒絶ではない別の要因によって排除されることを強く示唆している。3倍体ニベは減数分裂の進行不全により不妊となるものの、体細胞分裂を行っている精原・卵原細胞期の生殖細胞の生存および増殖は正常であるため、3倍体ニベは2倍体ニベと同等数の精原・卵原細胞を有する。したがって、3倍体ニベ宿主の生殖腺内では、宿主とドナーの精原・卵原細胞間で細胞学的なニッチが競合し、その結果、ドナー由来の精原・卵原細胞が排除される可能性が考えられた(図4)。そこで、次の実験では、生殖細胞欠損型の宿主の作出を行った。

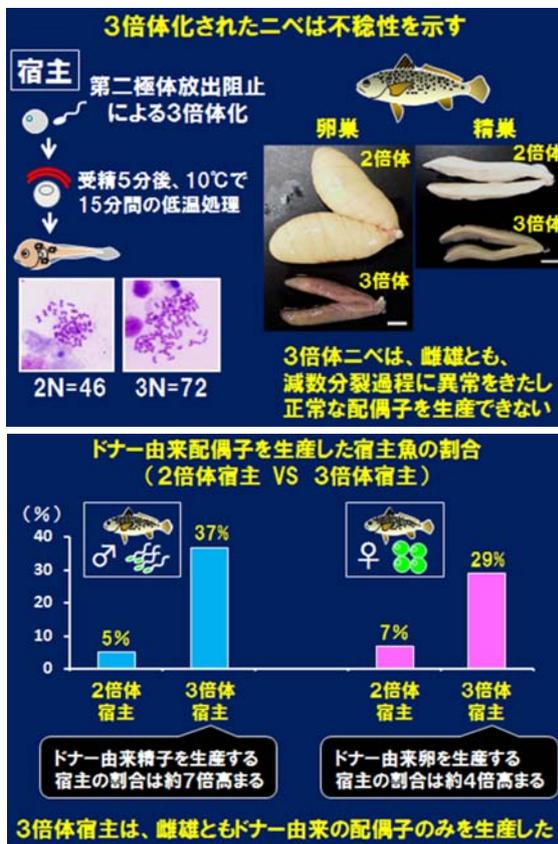


図2. 3倍体不妊化ニベ(代理親)によるドナー由来配偶子の高効率生産



図3. 3倍体不妊化ニベ(代理親)への異種ドナー由来精原細胞移植の結果

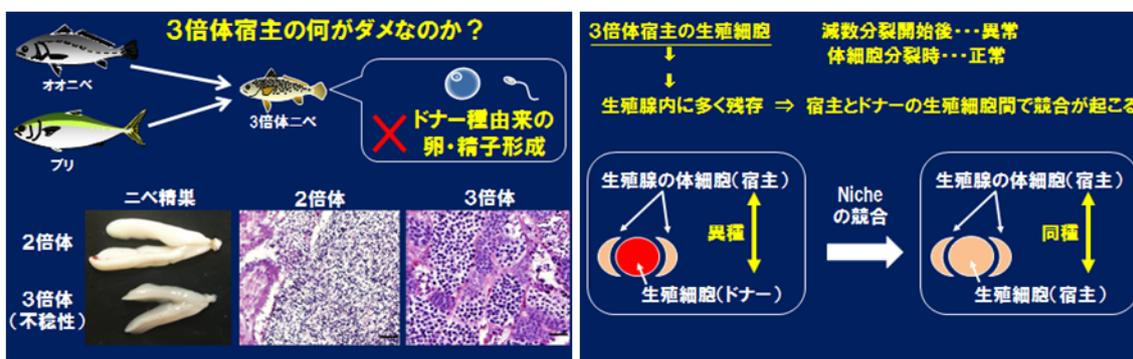


図4. 3倍体不妊化ニベ(代理親)の課題

(3) 種間交雑による不妊化雑種魚の作出とその宿主としての利用 — ニベ×シログチ雑種が生殖細胞欠損型の不妊性を示すことを発見し、不妊化宿主を人工授精のみで安定的に作出可能であることを示した。さらに、本雑種を精原細胞移植の宿主として用い、ドナー由来ニベ精子の生産に成功した(図5、図6、図7、図8)。

本実験では、生殖細胞欠損型の不妊魚を作出し、宿主生殖腺内での宿主生殖細胞とドナー生殖細胞のニッチの競合を失くした状況を作ることにより、より長い期間ドナー精原細胞を宿主生殖腺に生存させ、ドナー由来の配偶子形成を誘起することを目標とした。

ニベの卵に対し、コイチ、シログチ、オオニベの3種類の精子を人工授精することで種間交雑を行った。ニベ(ニベ科ニベ属)とコイチ(ニベ科ニベ属)を交雑して得られたF1世代は、正常に発生し、かつ、雌雄とも妊性を示した。ニベとオオニベ(ニベ科オオニベ属)の交雑で得られたF1世代は、ふ化後3日以内に全個体斃死した。その一方で、ニベとシログチ(ニベ科シログチ属)を交雑して得られたF1世代(ニベシロ雑種)は、正常に発生するものその生殖腺は不妊性を示すことを発見した(図5)。すなわち、ニベシロ雑種の体内では矮小化した生殖腺が形成されるものの、その生殖腺内部においては生殖細胞が消失していた(図6)。分子生物学的手法を用いて、ニベシ

口雑種が生殖細胞を欠損するメカニズムについて解析したところ、5 カ月齢の矮小化した雑種生殖腺では、生殖細胞マーカー(*vasa*, *dnd*, *dmc1*)は発現しておらず、組織観察でも生殖細胞の存在は認められなかった。精巢体細胞マーカー(*dmrt1*, *cyp11b*, *gsdf*)については、両親種と同様の遺伝子発現が見られたが、卵巢体細胞マーカー(*cyp19a1*, *foxl2*)の発現は認められなかった。続いて、仔稚魚期での生殖腺発達を経時的に観察したところ、孵化 10 日齢では、両親種と同等数の始原生殖細胞(15.2 ± 4.1 , $n=6$)が、生殖腺原基内で正常に分布している様子が確認された。しかし、30 日齢では、両親種における始原生殖細胞数が、それぞれ 740 ± 70 ($n=8$) および 400 ± 65 ($n=15$) へと増加したのに対し、雑種では 18 ± 3 ($n=15$) となった。さらに、始原生殖細胞の増殖率は両親種(10%および 8%)よりも、雑種(2%)において有意に低くなるものの、生殖腺原基内の



図5. ニベ科魚類の人為交雑による生殖細胞欠損型の不妊化雑種の作出

アポトーシス細胞の出現率に違いは無いことが判明した。以上より、本不妊化現象は、初期生殖腺発達過程における始原生殖細胞の増殖異常に起因することが強く示唆された(図 7)。交雑魚の不妊化現象については数例の報告があるが、本研究のように初期発生における生殖細胞の動態を詳細に調査した例は無く、交雑魚の不妊化機構を解明した初めての報告である。さらに、本不妊化現象は、動物全般を通してユニークな表現型であると考えられ、今後生殖細胞の増殖および生殖腺原基の性分化機構を解明するための有用なモデルになると期待される(論文準備中)。

生殖細胞欠損型のF1世代雑種(ニベシロ雑種)を宿主として用い、ドナー精原細胞の移植実験を行った。GFP 遺伝子導入ニベより得られた精原細胞をドナーとして、ニベシロ雑種仔魚の腹腔内へ移植した。6 カ月齢の雑種宿主について排精の有無を調査した

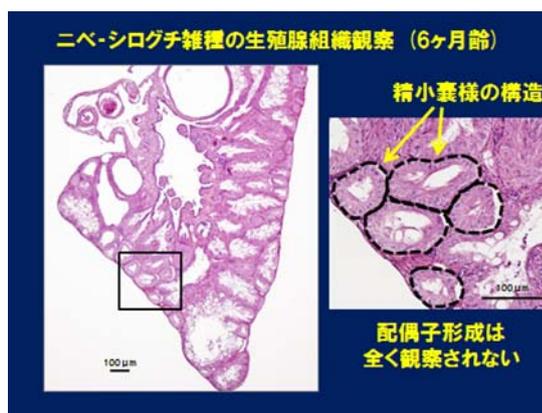


図6. ニベ×シログチ雑種に見られる生殖細胞欠損

ところ、126 尾中 43 尾(34%)において排精が認められた。採取された精子は、全てが GFP 陽性を示し、精子の運動時間および濃度は野生型ニベと同等であった。雑種宿主と野生型ニベ雌との交

配試験の結果、正常な孵化仔魚が得られ、これらは全て GFP 陽性を示した。また、解剖の結果、これら雑種宿主の生殖腺指数は 1.0 であり、非移植個体(0.2)の 5 倍程度に発達した。また、126 尾中 1 尾の生殖腺は、GFP陽性を示す周辺仁期の卵母細胞を有する卵巣であった。以上より、本不妊化雑種の生殖腺は、ドナー精原細胞を機能的な精子あるいは卵母細胞へと分化させること能力を有することが明らかとなり、本雑種が代理親魚技術の宿主として利用できることが証明された(論文準備中)。これまで宿主として用いてきた 3 倍体不妊化ニベでは宿主由来の生殖細胞がある程度は増殖・分化するが、ニベシロ雑種はそれらが全く存在しないため不妊化の程度がはるかに高く、ドナー精原細胞に対してより効果的に宿主生殖腺内での細胞学的ニッチを与えることが可能になると期待される。現在ニベシロ雑種宿主の仔魚に対して各種ドナー魚(オオニベ、ブリ、カンパチ)の精原細胞を移植した個体を継続して飼育しており、今後、ドナー由来配偶子形成の可否を調査する予定である。

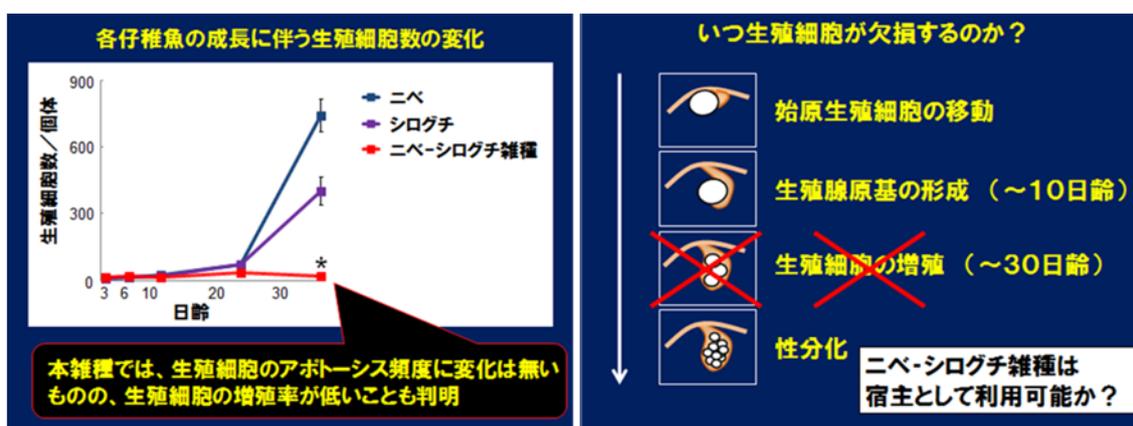


図7. ニベ×シログチ雑種に見られる生殖細胞欠損機構の解明



図8. ニベ×シログチ不妊化雑種を宿主とした精原細胞移植によるドナー由来精子の生産

(4) 生殖細胞欠損型の不妊化雑種精巣へのドナー精原細胞移植法の開発 — 不妊化雑種(成魚)の精巣内へ移植されたドナー精原細胞(ニベ)は、移植後 7 週間で機能的な配偶子へと分化した(図 9)。

ニベシロ雑種宿主を用いて、より迅速に宿主とドナーの適合性を評価するアッセイ法を確立するため、哺乳動物やティラピア、ゼブラフィッシュなどで確立されている輸精管内への精原細胞移植の開発を行った。本移植法では、通常、オスの成熟個体に対して薬物処理や温度処理を行い、一時的に精巣内の生殖細胞を消失させたのちドナー精原細胞の輸精管内移植を行う。これにより、1~2ヶ月間程度の短期間のうちに、ドナー精原細胞が異種宿主の精巣内に生着し配偶子形成を開始して精子へと分化するかを観察することができる。これまで宿主として用いてきた3倍体ニベの精巣では、宿主自身の生殖細胞が不完全ながらも部分的な配偶子形成を行うため精巣内に空間的余裕が少なく、輸精管内移植法の適用は困難であった。しかし、ニベシロ雑種は精巣を構成する各種体細胞は正常に分化しているものの、生殖細胞を欠失している状態にあることが先の実験で判明したため、ドナー精原細胞が精巣内で生着・増殖・分化するための空間的余裕が十分に存在すると考えられた。そこで、GFP遺伝子導入ニベをドナーとして用いて、ニベシロ雑種成魚(3~7か月齢)の輸精管内への精原細胞移植を行い、その後のドナー由来配偶子形成を調査したところ、移植を行った32尾中4尾(12.5%)で、ドナー由来精子を生産することが判明した。また、ドナー由来精子の生産に要した期間は移植後7週間であり、その期間は従来のふ化仔魚宿主へ

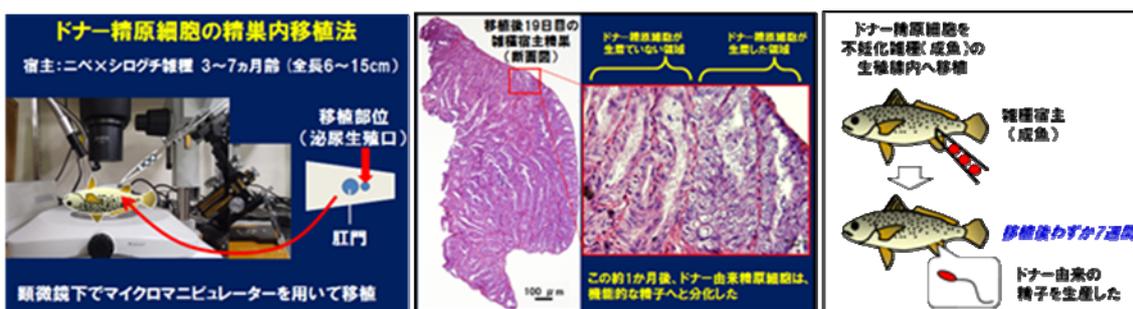


図9. ニベ×シログチ不妊化雑種成魚の精巣内への精原細胞移植によりドナー由来精子の生産

の移植(最短で4ヶ月)に比べ大幅に短縮された(論文準備中)。免疫応答が既に完成した成魚の精巣への移植が、雑種の両親種であるニベとシログチ以外の異種ドナーを用いた場合でも可能であるか調べるため、現在、オオニベ精原細胞をドナーとした輸精管内移植を実施している。

(5) 温調式 10トン循環水槽を用いた消費電力量の見える化(図 10)

本プロジェクトで設置した温調式 10 トン循環水槽では、小型マグロ類であるスマの産卵誘発が可能になっている(論文準備中)。本水槽はインバーター式加温冷却機を採用した省エネ型の親魚水槽であり、省コストでの受精卵供給が期待されているが、実際の産卵誘発に要する電気コストについては未知であった。そこで、電力見える化システム(XemsWatcher)を採用し、スマ受精卵の獲得に要する消費電力量を算出した。その結果の一例として、19℃の自然海水をスマの産卵適水温である 26℃へと加温し産卵誘発したとき、一日あたりの消費電力量は 169±10kwh となった。低圧電力 1kwh あたり約 15 円とすると電気コストは約 2535 円/日となる。本水槽内 10~50 万粒/日の受精卵が生産されることから、受精卵 1 万粒あたりに掛る電気コストは 50~253 円となる。現時点で、スマ受精卵には市場価格が存在しないが、ヒラメ受精卵が 1 万粒あたり 1 万円で

販売されていることを考えると、養殖対象種の受精卵生産に掛けうる電気コストとしては十分に採

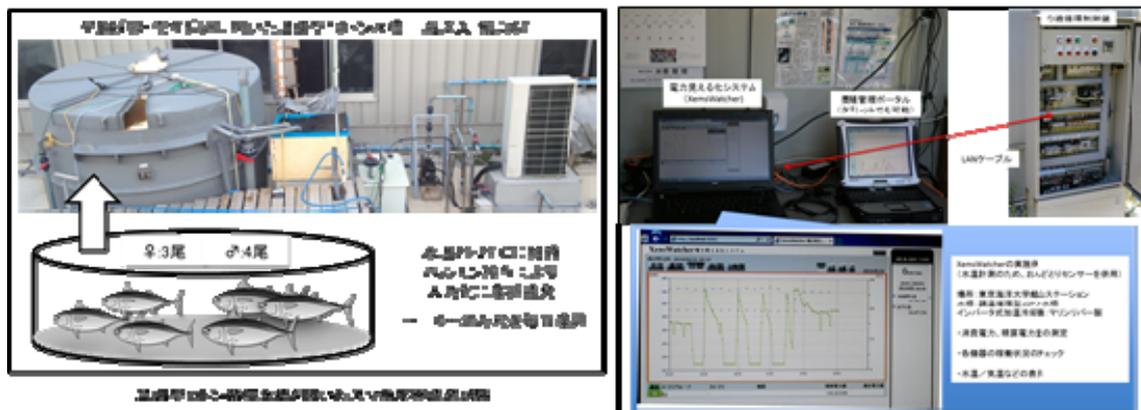


図 10. 温調式 10トン循環水槽(親魚産卵水槽)での消費電力量の見える化

算性のとれる範囲にあることが考えられた。さらに、本水槽を用いることで早期採卵や周年採卵が可能になっており、通常の産卵期以外での受精卵生産を行うことで国内の幅広い地域での受精卵ニーズに対応できる。以上の実験により、海産魚の省コスト型採卵システムが構築された。

本研究により、代理親魚技術、すなわち、精原細胞の異種間移植によるドナー由来配偶子生産が水産上有用海産魚でも利用可能であることが示された。これまでのところ、異種間移植を行った場合、宿主の生殖腺内でドナー由来配偶子が生産される事例は、シログチ(ドナー)とニベ(宿主)にのみ限られている。また、ニベは近縁種であるオオニベの配偶子を生産できないことが明らかとなった。これらの移植実験の結果に加えて、人為交雑によって作出したニベ-オオニベ雑種は致死となるがニベ-シログチ雑種は生残性を示すことを併せて考えると、本研究の達成目標の一つとして掲げた「代理親魚技術の利用により異種配偶子生産が可能なドナー種と宿主種の組み合わせを明らかにすること」を部分的ではあるが説明できる。すなわち、異種配偶子生産が可能となるドナー種と宿主種の組み合わせの条件の一つとして、「ドナー種と宿主種の配偶子を人為交雑した場合に生残性の F1 雑種を生産できるか否か」を提案できる可能性がある。今後、代理親魚技術を利用する際のドナー種と宿主種の選定の基準として、「人為交雑によって生残性の F1 雑種が生産可能であるか否か」が指標となりうることを立証したいと考えている。

図 11 にまとめたように、水産上有用海産魚において代理親魚技術が利用可能になったことで、魚類の種苗生産や希少種の保存、遺伝子組換えなどバイオテクノロジー技術

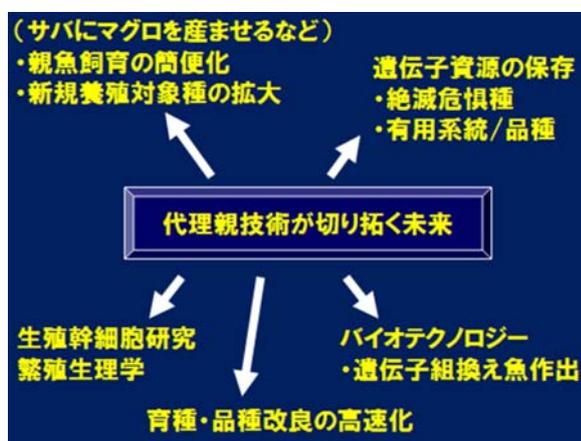


図11. 代理親魚技術の波及効果

様式21

分野への展開が期待されている。本研究期間中には、多くの外国人研究者や国内の研究者が当研究室を訪問し意見交換や技術指導を行った。これらの交流を基盤として、魚類の養殖技術開発の盛んな中国、オーストラリア、ブラジルの研究機関や、国内の公設試験場との共同研究が開始されており、今後数年間で、様々な魚種において代理親魚技術が利用可能になると期待される。

6. 研究発表等

雑誌論文	(掲載済み一査読有り) 計11件
計13件	<p>陸上 70 m³水槽を用いたクロマグロの長期飼育. 矢澤良輔, 竹内裕*, 岩田岳, 壁谷尚樹, 薦田章, 吉崎悟朗. 水産増殖 59,437-481(2011). *corresponding author</p> <p>Flow-cytometric isolation and enrichment of teleost type A spermatogonia based on light-scattering properties. Kise K, Yoshikawa H, Sato M, Tashiro M, Yazawa R, Nagasaka Y, Takeuchi Y, Yoshizaki G. Biol Reprod 86:107, 1-12 (2012).</p> <p>Germ cell transplantation as a potential biotechnological approach to fish reproduction. Lacerda SM, Costa GM, Campos-Junior PH, Segatelli TM, Yazawa R, Takeuchi Y, Morita T, Yoshizaki G, França LR. Fish Physiol Biochem DOI: 10.1007/s10695-012-9606-4 (2012).</p> <p>Production of Donor-Derived Offspring by Allogeneic Transplantation of Spermatogonia in the Yellowtail (<i>Seriola quinqueradiata</i>). Morita T, Kumakura N, Morishima K, Mitsuboshi T, Ishida M, Hara T, Kudo S, Miwa M, Ihara S, Higuchi K, Takeuchi Y, Yoshizaki G. Biol Reprod 10.1095/biolreprod.111.097873 (2012).</p> <p>Biological characteristics of fish germ cells and their application to developmental biotechnology. Yoshizaki G, Okutsu T, Morita T, Terasawa M, Yazawa R, Takeuchi Y. Reproduction in Domestic Animals . 2012 Aug;47 Suppl 4:187-92.</p> <p>Gonadal development and fertility of triploid grass puffer Takifugu niphobles induced by cold shock treatment. Hamasaki M, Takeuchi Y, Miyaki K, Yoshizaki G. Mar Biotechnol (NY). 2012 Apr;15(2):133-44.</p> <p>Characterization of lymphocyte antigen 75 (Ly75/CD205) as a potential cell-surface marker on spermatogonia in Pacific bluefin tuna <i>Thunnus orientalis</i>. K. Nagasawa, M. Miwa, R. Yazawa, T. Morita, Y. Takeuchi, G. Yoshizaki. Fisheries Science 2012. 78, 791-800.</p> <p>Modification of the n-3 HUFA biosynthetic pathway by transgenesis in a marine teleost, Nibe croaker. N. Kabeya, Y. Takeuchi, Y. Yamamoto, R. Yazawa, Y. Haga, S. Satoh, G. Yoshizaki. Journal of Biotechnology 2014. 172, 46-54.</p> <p>Intraperitoneal germ cell transplantation in the Nile tilapia <i>Oreochromis niloticus</i>. R. Farlora, S. Hattori-Ihara, Y. Takeuchi, M. Hayashi, A. Octavera, Alimuddin, G. Yoshizaki. Marine Biotechnology. 2014. 16, 309-320.</p> <p>The Pacific bluefin tuna (<i>Thunnus orientalis</i>) dead end gene is suitable as a specific molecular marker of type A spermatogonia. R. Yazawa, Y. Takeuchi (corresponding author), T. Morita, M. Ishida, G. Yoshizaki. Molecular Reproduction and Development 2014. 80, 871-880.</p> <p>Improvement of ovulation induction by additive injection of 17,20b-Dihydroxy-4-pregnen-3-one after human chorionic gonadotropin administration in a pelagic egg spawning marine teleost, Nibe croaker <i>Nibea mitsukurii</i> (Jordan & Snyder). Yoji Yamamoto, Takashi Yatabe, Kentaro Higuchi, Y. Takeuchi (corresponding author), Goro Yoshizaki. Aquaculture Research, 2013, 1-9</p> <p>(掲載済み一査読無し) 計2件</p> <p>竹内裕, サバにマグロを産ませる、ていち、2011、No.119、pp.38-42、ISSN-0289-0898</p>

	<p>養殖技術講座 一スマー 幻の高級魚「スマ」の採卵技術と人工種苗を用いた養殖事業の展望 竹内裕・矢澤良輔・前田敦子. 養殖ビジネス. 2014. 3, 13-16.</p> <p>(未掲載) 計0件</p>
<p>会議発表 計30件</p>	<p>専門家向け 計27件</p> <p>LHRHa-induced spawning of the eastern little tuna <i>Euthynnus affinis</i> in a 70-m³ Land-Based tank. Takeuchi Y, Sato K, Yazawa R, Yoshikawa H, Iwata G, Kabeya N, Shimizu S, Yoshizaki G. 9th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Cochin, India (2011 年 8 月 9-14 日).</p> <p>Germ cell transplantation in marine fish. Yoshizaki G, Yazawa R, Iwata G, Takeuchi Y, Morita T, Mitsuboshi T. 9th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Cochin, India (2011 年 8 月 9-14 日).</p> <p>70m³ 水槽におけるスマへの GnRHa 投与による人為催熟. 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. 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011 年 9 月 28 日-10 月 1 日).</p> <p>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. 矢澤良輔, 竹内裕, 森田哲朗, 三星亨, 吉崎悟朗. 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011 年 9 月 28 日-10 月 1 日).</p> <p>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. 岩田岳, 矢澤良輔, 清水庄太, 竹内裕, 吉崎悟朗. 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011 年 9 月 28 日-10 月 1 日).</p> <p>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. 濱崎将臣, 菊池潔, 伊原祥子, 竹内裕, 吉崎悟朗. 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011 年 9 月 28 日-10 月 1 日).</p> <p>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. 吉崎悟朗, 三輪美砂子, 竹内裕, 森田哲朗, 森島輝, 三星亨. 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011 年 9 月 28 日-10 月 1 日).</p> <p>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. 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. 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011 年 9 月 28 日-10 月 1 日).</p> <p>陸上 70トン水槽飼育下におけるクロマグロの精子形成. 矢澤良輔, 竹内裕, 吉崎悟朗. 平成 23 年度日本水産学会秋季大会, 長崎 (2011 年 9 月 28 日-10 月 1 日).</p> <p>Modification of fatty acid metabolic pathway by transgenesis in the nibe croaker (<i>Nibea mitsukurii</i>). Naoki Kabeya; Yutaka Takeuchi; Yoji Yamamoto; Ryosuke Yazawa; Yutaka Haga; Shuichi Satoh; Goro Yoshizaki. XV International Symposium on Fish Nutrition and Feeding. Molde, Norway. (2012 年 6 月 4-7 日)</p> <p>Preservation of bluefin tuna germ cells by vitrification of whole testis. S. Seki, R. Yazawa, Y. Iwasaki, T. Morita, Y. Takeuchi, G. Yoshizaki. The 9th Asia-Pacific Marine Biotechnology Conference. Kochi (2012 年 7 月 13-16 日)</p>

<p>養殖対象海産魚種を用いた精原細胞異種間移植技術(代理親魚技術)の開発. <u>竹内 裕</u>. 平成 24 年度日本水産学会北海道支部大会若手の会記念講演会、網走(2012 年 12 月 15 日)</p> <p>東京湾における大型アナゴ類の資源生態 II.性比と成熟. 下村友季子・本村大地・<u>竹内 裕</u>・片山知史・秋山清二. 平成 25 年度日本水産学会春季大会、東京(2013 年 3 月 26-30 日)</p> <p>脂肪酸代謝酵素遺伝子導入ニベの作出- 2.各組織における外来遺伝子の発現と脂肪酸組成. 壁谷尚樹・<u>竹内 裕</u>・矢澤良輔・芳賀 穰・佐藤秀一・吉崎悟朗. 平成 25 年度日本水産学会春季大会、東京(2013 年 3 月 26-30 日)</p> <p>黄体形成ホルモン放出ホルモンアナログ(LHRHa)の経口投与によるゴマサバの産卵誘発. 高橋孝太郎・佐藤健太・矢澤良輔・<u>竹内 裕</u>・森田哲朗・吉崎悟朗. 平成 25 年度日本水産学会春季大会、東京(2013 年 3 月 26-30 日)</p> <p>海産魚における代理親魚技術の開発:三倍体宿主を用いたドナー由来次世代の高効率生産. 吉川廣幸・<u>竹内 裕</u>・井野靖子・岩田 岳・壁谷尚樹・矢澤良輔・吉崎悟朗. 平成 25 年度日本水産学会春季大会、東京(2013 年 3 月 26-30 日)</p> <p>人為交雑によるニベ科不稔性雑種の探索と雑種宿主の代理親魚技術への利用. 吉川廣幸・井野靖子・町田有里・矢澤良輔・<u>竹内 裕</u>. 平成 25 年度日本水産学会春季大会、東京(2013 年 3 月 26-30 日)</p> <p>半閉鎖循環型 10 m³ 水槽を用いたスマの継続的な産卵誘発. 矢澤良輔・<u>竹内 裕</u>・佐藤健太・町田有里・高橋孝太郎・吉崎悟朗. 平成 25 年度日本水産学会春季大会、東京(2013 年 3 月 26-30 日)</p> <p>ニベ×シログチ雑種の生殖細胞欠損性不稔現象は始原生殖細胞の増殖異常に起因する. 吉川廣幸・井野靖子・吉崎悟朗・<u>竹内 裕</u>. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014 年 3 月 27-30 日)</p> <p>海産魚における代理親魚技術の開発:ニベ科不稔性雑種を宿主としたドナー由来次世代の生産. 吉川廣幸・井野靖子・矢澤良輔・<u>竹内 裕</u>. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014 年 3 月 27-30 日)</p> <p>スマの養殖技術の開発 ① 15 トン円形水槽を用いた種苗生産試験. 白石智孝・濱地寿生・奥山芳生・中西一・<u>竹内 裕</u>・矢澤良輔・吉崎悟朗. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014 年 3 月 27-30 日)</p> <p>代理親魚技術を用いたトラフグ配偶子の生産(2):クサフグ両親からのトラフグの誕生. 濱崎将臣・吉川壮太・菊池 潔・<u>竹内 裕</u>・吉崎悟朗. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014 年 3 月 27-30 日)</p> <p>スマ三倍体の作出とその特性解析. 町田有里・矢澤良輔・嶋田幸典・吉川廣幸・<u>竹内 裕</u>・吉崎悟朗. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014 年 3 月 27-30 日)</p> <p>黄体形成ホルモン放出ホルモンアナログ(LHRHa)の経口投与によるゴマサバの初期卵成長の促進. 雨澤孝太郎・矢澤良輔・<u>竹内 裕</u>・吉崎悟朗. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014 年 3 月 27-30 日)</p> <p>黄体形成ホルモン放出ホルモンアナログ(LHRHa)の経口投与によるスマの産卵誘発. 雨澤孝太郎・佐藤健太・矢澤良輔・<u>竹内 裕</u>・吉崎悟朗. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014 年</p>
--

	<p>3月27-30日)</p> <p>アイゴの脂肪酸不飽和化酵素における二重結合導入位置の選択に関わる領域の探索. 千葉瑞萌・壁谷尚樹・芳賀 穰・佐藤秀一・矢澤良輔・竹内 裕・吉崎悟朗. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014年3月27-30日)</p> <p>アワビ類における生殖細胞マーカーのクローニングと発現解析. 大岡嗣欧・王俊杰・山川紘・竹内 裕. 平成 26 年度日本水産学会春季大会、函館(2014年3月27-30日)</p> <p>一般向け 計3件</p> <p>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年8月26日).</p> <p>スマ(ヤイトカツオ)の完全養殖について ~千葉・館山での挑戦~. 竹内 裕. 平成 25 年度和歌山県水産試験場成果発表会、和歌山(2014年2月14日)</p> <p>ニベ科魚類をモデルとした海産魚における精原細胞移植技術の高度化. 竹内 裕. 平成 25 年度東京海洋大学重点研究成果報告会、品川(2014年2月21日)</p>
<p>図 書</p> <p>計1件</p>	<p>Yoshizaki G, Okutsu T, Takeuchi Y. Chapter 14 Germ cell transplantation in fish: basic biology and biotechnological applications. In Aquaculture biotechnology (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</p> <p>計0件</p>	<p>(取得済み) 計0件</p> <p>(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 http://www.kaiyodai.ac.jp/sentanken/takeuchi/takeuchi.html 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) http://d.hatena.ne.jp/yutakat1975/</p>
<p>国民との科 学・技術対 話の実施状 況</p>	<p>観音崎自然博物館ボランティア研修旅行の見学受け入れ、(2011年2月21日)、東京海洋大学館山ステーション(坂田)、観音崎自然博物館職員およびボランティアスタッフ、25名、研究内容紹介および研究室・飼育室の案内</p> <p>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年8月1日)</p> <p>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年8月22-23日)</p> <p>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年9月8日)</p> <p>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～」、中高生15名(2011年9月23日)</p> <p>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年2月16-17日)</p>

	<p>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（2012 年 8 月）</p> <p>第 31 回「海とさかな」自由研究・作品コンクール体験学習ツアー（朝日新聞社主催）、小学 4～6 年生 30 名・引率 10 名（2012 年 8 月 10 日）</p> <p>新宿区小中学校合同宿泊研修会における講義、学校教員 20 名（2012 年 8 月 21 日）</p> <p>ひらめき☆ときめきサイエンス「サバにマグロを産ませる～魚の代理親（だいいりおや）技術～」、小学 5～6 年生 30 名（2012 年 8 月 29 日）</p> <p>コアSSH「長崎SSH科学プロジェクト」研修会、「最新の海産魚の種苗生産技術について学ぶ」講義および実習、長崎県立長崎鶴洋高等学校生徒 3 名・教員 1 名（2013 年 1 月 12～13 日）</p> <p>埼玉県立熊谷西高校SSHでの講義および施設案内、生徒 39 名・教員 3 名（2013 年 7 月 26 日）</p> <p>第 1 回海洋・水産研究チャレンジセミナーでの講義、中高生 40 名・社会人 60 名（2013 年 8 月 12 日）</p> <p>ひらめき☆ときめきサイエンス「魚の代理親技術」、小学 5～6 年生 30 名（2013 年 8 月 23 日）</p> <p>中央ろうきん友の会「サバにマグロを産ませる技術の開発」、社会人 100 名（2013 年 8 月 29 日）</p> <p>館山市立神戸小学校出前講義（2013 年 9 月 20 日）</p> <p>岩手県立釜石高校SSHでの講義、生徒 20 名・教員 3 名（2013 年 10 月 5 日）</p>
<p>新聞・一般雑誌等掲載計5件</p>	<p>OPRT ニュースレター、2011 年 2 月号 (No.46)、サバにマグロを産ませる 代理親魚技術に取り組む研究者 東京水産大学准教授 竹内裕氏</p> <p>OPRT newsletter international, March 2011 (No. 31), Technology to have mackerel spawn tuna. Interview with Yutaka Takeuchi, Associate Professor, Tokyo University of marine Science and Technology</p> <p>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> <p>房日新聞 2013 年 2 月 13 日「サバにマグロを産ませる・細胞移植による代理親技術の研究進む」</p> <p>水産経済新聞 2013 年 12 月 17 日「スマ(ヤイトカツオ)養殖に成功:高級魚を安定供給」</p>
<p>その他</p>	

7. 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,

様式21

Shimizu S, Yoshizaki G. LHRHa-induced spawning of the eastern little tuna *Euthynnus affinis* in a 70-m³ Land-Based tank. 9th International Symposium on Reproductive Physiology of Fish. Cochin, India (2011.Aug, 9-14).