

二国間交流事業 共同研究報告書

平成 23 年 3 月 28 日

独立行政法人日本学術振興会理事長 殿

共同研究代表者所属・部局 (独) 水産総合研究センター 中央水産研究所

職・氏名 ^(ふりがな) 室長 張 成年 (ちょう なりとし)

1. 事業名 相手国(ニュージーランド)との共同研究 振興会対応機関 (Foundation for Research, Science and Technology)

2. 研究課題名 メタゲノム及び生化学的手法を用いたイセエビ幼生の餌料生物の解明と種苗生産への応用

3. 全採用期間

21年 4月 1日 ~ 平成 23年 3月 31日 (2 年 0 ヶ月)

4. 研究経費総額

(1) 本事業により交付された研究経費総額 4,440 千円

初年度経費 2,390 千円、 2年度経費 2,050 千円、 3年度経費 0 千円

(2) 本事業による経費以外の国内研究経費総額 _____ 千円

5. 研究組織

(1) 日本側参加者

氏名 <small>(ふりがな)</small>	所属・職名	研究協力テーマ
張 成年	中央水産研究所	ペプチド核酸 (PNA) を用いたイセエビ DNA の増幅阻害と餌生物検出への応用
村上 恵祐	栽培漁業センター	イセエビ幼生の飼育と給餌試験
明田 勝章	三重県水産研究所	イセエビ幼生の飼育と給餌試験
阿部 文彦	三重県水産研究所	イセエビ幼生の飼育と給餌試験
竹山 春子	早稲田大学	ペプチド核酸 (PNA) のデザインと増幅阻害効率の検討及び餌生物検出のためのメタゲノム解析

(2) 相手国側研究代表者

所属・職名・氏名 オークランド大学・准教授・Andrew G. Jeffs

(3) 相手国参加者 (代表者の氏名の前に○印を付すこと)

氏名	所属・職名 (国名)	研究協力テーマ
○Andrew G. Jeffs	オークランド大学・准教授 (ニュージーランド)	南半球のイセエビ類天然幼生標本の採取、幼生の消化酵素の同定
Shane Lavery	オークランド大学・講師 (ニュージーランド)	ミトコンドリア DNA を標的としたパイロシーケンス手法の開発と応用
Tony Hickey	オークランド大学・講師 (ニュージーランド)	ミトコンドリア DNA を標的としたパイロシーケンス手法の開発と応用

6. 研究概要（研究の目的・内容・成果等の概要を簡潔に記載してください。）

本二国間共同研究では、イセエビ類幼生が利用している自然界での餌生物を解明するための技術開発を行い、そこから得られた情報を種苗生産に応用することを目的としている。

21年度当初からメールでの情報交換に基づいて日本とニュージーランドがそれぞれ用いる分析手法を夏までに相互確認した。日本側はペプチド核酸（peptide nucleic acid: PNA）を用いたイセエビ由来 DNA の特異的増幅阻害を基本とするメタゲノム解析であり、核 rDNA の ITS1（internal transcribed spacer 1）領域を分析対象とする。ニュージーランド側が対象とする DNA 領域はミトコンドリア DNA の 16S rDNA であり、増幅阻害手法を用いずにパイロシークエンサーでメタゲノム解析を行う。もちろん、分析結果を見ながら、随時手法の改良改善を行ってゆくものである。21年8月に日本側から DNA 分析担当及びイセエビ幼生飼育担当がニュージーランドを訪問し、ニュージーランド側研究者と準備段階ではあるが研究内容の相互紹介と確認及びイセエビ幼生飼育に関する情報交換を行った。また同時に、日本側からイセエビ（*Panulirus japonicus*）幼生の天然標本を提供し、ニュージーランド側からは南半球のイセエビ類2種（*Panulirus cygnas* と *Jasus edwardsii*）の成体標本が提供された。これらの標本について分析を行いイセエビ属に特異的な PNA をデザインした。デザインした PNA がイセエビの DNA 増幅を阻害し、消化管内に存在する異種生物 DNA を効率的に検出できることを確認した。その結果に基づいて張と竹山は論文ドラフトを作製し、メールを通してニュージーランドと十数回にわたる推敲を行った後、この論文を国際学術誌（*Marine Biotechnology*）へ投稿し、受理、23年4月に出版された（添付資料1参照）。また、22年3月27日に日本水産学会で発表を行った。また、分析対象を広げたところ偶然にも東部太平洋と西部太平洋のシマイセエビ（*Panulirus penicillatus*）集団間に大きな遺伝的差違を発見し、ニュージーランド側の協力のもとさらに多くの海域標本の入手を行うことができた。この成果についても論文化し国際学術誌（*Plos One*）に投稿中である。

共同研究実施の基礎となる飼育イセエビ幼生の準備のために、三重県水産試験場と南伊豆栽培センターでは産卵期である7-8月に抱卵親エビを入手し、その飼育とふ化、幼生の飼育を開始した。約5ヶ月後（12月-1月）に各場所では幼生が第7期程度に成長した段階で給餌試験とサンプリングを開始した。飼育イセエビ幼生を48時間絶食後、アルテミア及びムラサキイガイ生殖腺を与え、給餌0時間、30分、1時間、4時間後にイセエビ幼生をサンプリングし固定した。これらの標本は中央水産研究所と早稲田大学及びニュージーランド側に分配された。これらの標本は分析手法の評価ならびに与えた餌の DNA が摂餌後どれくらいの時間まで検出されるかを検討するための基礎試料として日本とニュージーランドで標本を交換しながら分析する予定である。平成22年2月に南伊豆栽培センターの村上がニュージーランドを訪問し、上記の標本を供与した。さらに、豪州研究者も加えた3カ国によるミニシンポジウムが開催され、村上は世界で最先端を走る日本のイセエビ種苗生産技術及び今後の展開について研究紹介を行った。ニュージーランドも豪州もイセエビ類の種苗生産にはまだ成功しておらず、すでに数百個体単位で生産する技術を有する日本側の技術水準は多大な注目を集めた。23年3月に中央水産研究所、三重県水産試験場と南伊豆栽培センターから計3名がニュージーランドのオークランド大学を訪問し、研究進捗状況について情報交換するとともに取り纏めのための打合せを行った。また、豪州のタスマニア島ホバート市にあるタスマニア水産研究所（*Tasmanian Aquaculture and Fisheries Institute: TAFI*）を訪問し、国際ワークショップ（添付資料2参照）で成果報告を行った。TAFIは日本以外で初めてイセエビ類の種苗生産に成功した唯一の外国研究機関であり、実際の種苗生産施設と研究内容が見学できたことは飼育イセエビ幼生担当にとって非常に有益であった。以上のように、本二国間共同研究は順調かつ効果的に進捗している。

メタゲノム解析及び種苗生産において日本側が常に先を走った感があるものの、様々な方面からのアプローチを試みるニュージーランド側の姿勢は今後の参考となった。また、豪州研究所での種苗生産現場は日本

人とは異なる工夫が随所に見られ、これについても大きな参考になった。本二国間共同研究からは学会発表7件、論文発表1件（及び投稿中1件）を行った。このように、本二国間共同研究においては学術的にも十分な成果が得られただけでなく、種苗生産の新たな展開に資する情報も得られたものと考えられる。