

「フィッシュ・ファクトリー」構想実現のために何が必要か

千葉科学大学

学長 木曾 功



2016年4月に千葉科学大学学長に就任して以来、大学と地域の発展をどのようにして図るかを考えました。その中で、私たちは今年、1つの大きな夢への一歩を踏み出しました。それは、千葉科学大学が重点研究対象に掲げてきた「『好適環境水』による次世代型水産技術イノベーション（技術革新）」が、文部科学省の「私立大学研究ブランディング事業」に選定されたことです。

この事業は「全学的な独自色を大きく打ち出す研究に取り組む私立大学に対し、施設費、装置費、経常費などを一体的に支援する」という内容で、私たちの研究は「地域の経済・社会、雇用、文化の発展や特定の分野の発展・深化に寄与する研究」に与えられる「社会発展型」の研究対象に選定されました。大都市部の大学に伍して事業選定されるためには極めて厳しい競争を勝ち抜かねばなりませんでした。本学教員の努力はもちろんですが、地域の皆様からいただいた支援のおかげであると、感謝の気持ちを持って2016年を締めくくることができました。

こうして飛躍の機会をいただいたのですから、今年は「好適環境水」の研究を飛躍的に発展させねばなりません。この研究については地域の皆様方からは既に、相当のご理解をいただいておりますが、ここで再度、私たちが目指す研究の方向についてご説明いたします。

「好適環境水」とは効率的な魚類飼育を目的として成分や濃度を調整した人工飼育水のことです。淡水・海水魚とも飼育可能で、飼育魚の病気抑制や成長促進効果があります。こうした特性を生かし、私たちは「好適環境水」による「フィッシュ・ファクトリー（魚工場）」の実現を目指しています。

近年、世界全体の漁獲高は急増しています。世界的な健康志向の拡大で「肉食より魚食」と考える人が増えているからです。一方、魚の資源量は頭打ちの状況で、需要の急増に追いついていません。人類は養殖技術を発展させることで、拡大する魚需要を満たしていました。しかし、現在の海で行われる養殖は、残餌（ざんじ、魚に与えて残った餌）や魚の糞の排出などにより環境に大きな影響を与えるという問題点を抱えていました。

しかし「好適環境水」を使い、陸上に「フィッシュ・ファクトリー」を設置することで、こうした環境への影響を最小限に抑えることができます。魚の病気発生率も抑えることができます。魚需要の急増に備えて効率よく魚を飼育することが可能であり、環境にも優しいというのは、千葉科学大学が建学以来掲げてきた「リスク・危機管理」の確立という目標にもぴたりと一致していると考えています。

もちろん、夢実現のためには乗り越えねばならない課題があります。たとえば、地球環境の中では、水は循環することによってきれいになりますが、陸上の養殖では水の交換が必要になります。どうす

れば、効率的に水を交換できるかが大きなポイントになるのです。また地域産業との連携も私たちの大きな任務と心得ています。好適環境水の研究・開発とともに、地域企業との魚の加工技術の共同研究などを進めていくべきと考えています。

ここ銚子は極めて優良な漁業資源を誇り、それによって大きく発展してきました。しかし近隣諸国の経済発展と漁獲量の拡大に伴い、10年、20年先には、この豊かな漁業資源をいかに維持していくかが課題になるとを考えます。そのとき、大きく役に立つのが「フィッシュ・ファクトリー」構想です。

私たちの夢である「フィッシュ・ファクトリー」は、世界の魚資源維持と言う大きな目標を掲げています。一方で、夢実現のためには地域の方々との緊密な交流や協力が不可欠です。大きな目標を実現するために、ぜひ「千葉科学大学研究プランディング構想『好適環境水』による次世代型水産技術イノベーション」に強い関心と支援をお寄せください。それを今年度の私の最大の努めにしたいと思っています。

目次

「フィッシュ・ファクトリー」システムの開発及び「大学発ブランド水産種」の生産.....	1
	小濱 剛
好適環境水を用いたニホンウナギの飼育に伴う行動と成長の比較.....	2
	鷹野翔太, 小濱剛
好適環境水導入後のカクレクマノミの行動.....	3
	小濱 剛, 佐藤那美, 加瀬ちひろ
好適環境水中において高効率に硝化を行う細菌の探索.....	4
	中山美月, 小林照幸
好適環境水の腸炎ビブリオ, パラコロ病菌などの生存に及ぼす影響の評価.....	5
	増澤俊幸
好適環境水による <i>Saprolegnia</i> 属菌の抑制機構の解明.....	6
	糟谷大河, 北島佑美
好適環境水飼育が魚類の生体防御機能に及ぼす影響に関する研究.....	7
	岡本能弘, 溝井健太, 鷹野翔太
好適環境水下における水産種の加水分解代謝機能特性の解析.....	8
	高橋正人, 溝井健太, 細川正清
千葉県下の河川に生息するモクズガニにおけるウエステルマン肺吸虫メタセルカリアの寄生状況について.....	9
	柴原壽行, 小濱 剛, 山口太一, 溝井健太
魚介類の水銀含有量に関する研究.....	10
	足立達美, 飯田春香
商品としてのモクズガニの品質向上を目指した餌の選抜と数値化.....	11
	三森盛亮, 溝井健太, 山口太一
モクズガニ <i>Eriocheir Japonica</i> 稚ガニ期における 栄養塩 (NH_3 , HNO_2 , HNO_3) に対する毒性.....	12
	山口太一, 溝井健太
キジハタ <i>Epinephelus akaara</i> ふ化仔魚の成長にともなう体密度変化.....	13
	山口太一
モクズガニの astaxanthin の蓄積効果.....	14
	溝井健太, 山口太一, 高橋正人, 山下裕司
モクズガニおよびニホンウナギの生殖における ADAM ファミリーの関与.....	15
	立原 拓真, 川田 浩一
食中毒菌の増殖に対するサメ肌抗菌シートの効果の検証.....	16
	照井祐介, 坂本明彦

目次

銚子青魚ブランド化委員会の設立に関する報告	17
伊永隆史, 小濱 剛, 八角憲男	
「熟成塩ダレ」中の微生物叢の解析	18
奥山健斗, 福井貴史, 中山美月, 小林照幸	

千葉科学大学 研究プランディング事業

「フィッシュ・ファクトリー」システムの開発及び「大学発ブランド水産種」の生産

千葉科学大学 危機管理学部
小濱剛

1. 水産業の世界動向と銚子水産業の現状

近年、流通システムの発展と食文化の多様化に伴い、日常的な魚介類の食習慣が世界的に広がりつつある。さらに、魚介類由来の動物性タンパク質、EPA や DHA などの成分が、疾病予防や健康増進に効果的であることが広く認識されてきたため、魚介類への関心が世界的規模で高まりつつある。このような背景から、養殖を除く世界の漁業生産量は年々増加し、1990 年代後半に約 9000 万トンに達した。しかし、その後頭打ちとなっている。必然的に天然資源への漁獲圧が高まり、漁獲漁業は限界を迎え、現在では世界の漁業生産量の半分以上が養殖で賄われている。

千葉県北東端に位置する銚子市は、日本有数の大河川である利根川河口部に隣接し、沖合には世界有数の漁場を有することから、これまでに漁獲漁業を中心とした内水面・海面漁業の拠点として発展してきた。しかしながら、近年は、乱獲や水圈環境の悪化に伴う漁獲量の減少から漁業は衰退の一途を辿り、それと並行して銚子市の人口減少と少子化・高齢化が加速している状況にある。このような事例は我が国における水産業で栄えた多くの港町で共通に見られる事象であり、国内の漁業生産額と魚介類自給率は年々減少しているのが実態である。一方、世界的規模で水産資源の需要が高まりつつある現在においては、銚子の主幹産業である水産業は大きな可能性を秘めた産業であり、陸上養殖や加工・輸送に新たな技術を導入することによって、銚子市の復興と地域力の向上が見込まれる。このような試みは、これまで漁獲漁業に支えられてきた日本の水産都市に新たな可能性を提供し、水産分野における日本の国際競争力強化に資することが期待できる。

2. 好適環境水の概要

「好適環境水」(特許番号 5062550, 4665252, 5487378, 4665258, 5487378, 5364874) は、水産生物の効率的陸上養殖を目的として開発された加計学園グループ共有特許技術であり、海水中に存在する元素のうち、対象とする生物に必要となる元素を最低限の濃度で調整した人工飼育水である。そのため、従来の人工海水に比べ、約 10 分の 1 のコストで生産することが可能となる。また、好適環境水の塩分は硬骨魚類の体液と同程度であるため、海水魚・淡水魚とともに飼育することが可能である。さらには、天然の海水や淡水とは塩分・成分ともに大きく異なることから、ある種の魚病を抑制することや、従来型の天然飼育水に比べ、飼育魚類の成長が促進される実験結果が得られている。本学では、好適環境水を用いた陸上養殖を次世代型陸上養殖と位置付け、銚子水産業への応用と活性化を目的として、平成 24 年度より基礎研究を開始した。また、平成 27 年度には、地域社会や産業と連携協働し、地域の活性化を促す研究を本学の重点研究項目とする方針が決定

され、その一つに「好適環境水に関する基礎研究と地域への応用」が採択されている。

3. 事業目的

本学は「地域と共生できる大学」を目標とした大学であり、この目標の下、地元自治体、各種団体と包括連携協定を締結、平成 26 年度文部科学省「地（知）の拠点整備事業」に採択される等、地域社会との連携強化に努めてきた。今後は、本学がこれまでに培った地域の資源活用や産業の振興等に関する研究成果をどのように社会に反映させていくかが課題となってくる。

そこで本事業では、銚子市の主幹産業である水産業に好適環境水等の新技術を導入し、水産業を軸とした地域連携の発展と活性化を図る。具体的には、①「大学発ブランド水産種の陸上養殖技術開発」、②「鮮魚・活魚の安心安全・品質向上を目指した技術開発」に取り組む。①では、漁獲漁業を中心とする銚子水産業に新たな可能性が創出され、天然資源の減少に歯止めをかける産業体制が整うことが期待される。②では、現在銚子の主要な水産物であるサバやイワシなどの青魚を筆頭に、鮮魚のブランド力を高める研究や技術開発を行い、現在主流となっている漁獲→加工→出荷といったインフラの強化を図る。さらに、成田空港に近いというメリットを活かし、銚子地域における魚食文化を世界に向けて発信することで、外国人観光客の誘致等、インバウンドの強化を図る。

近年、食肉業界では、安心安全な食材を生産者から消費者へ安定的に提供する考え方に基づく「ファーム・トゥ・テーブル」の概念が浸透しているが、本事業のように水産物に応用する試みは新しく、厚生労働省が推進する HACCP にも合致する。これらの実施により、銚子で新たな水産物を安全かつ安定的に市場提供するインフラが創出され、産業の活性化に繋がる。

本学では平成 28 年度より、学長主導の新設機関として「好適環境水リサーチセンター」(研究拠点教員 10 名)が開設され、拠点教員として好適環境水、魚類飼育、水質、寄生虫、真菌類、細菌類、免疫などの専門家が在籍しており、本事業の遂行に万全を期する研究協力体制が整っている。これらのこととを基盤として、地域活性化、地場産業の振興、地域人材の育成等に資するべく、地元のニーズを踏まえた基礎研究を積み重ねるとともに、水産資源保全に関する意識改革を念頭とした教育普及活動を実施し、研究開発・人材育成の両側面から地方創生を図る。

以上の事業遂行により、水産業の盛んな銚子市をモデルケースとして、次世代型陸上養殖技術を用いた「フィッシュ・ファクトリー」(魚類生産工場)のシステムを開発し、生産物を「大学発のブランド水産種」として日本、世界に発信するとともに、新たな水産業創出に取り組み、地域社会の発展に貢献する。

好適環境水を用いたニホンウナギの飼育に伴う行動と成長の比較

千葉科学大学 危機管理学部
鷹野翔太, 小濱剛

1. はじめに

ニホンウナギ *Anguilla japonica* は古くから日本の食文化には欠かせない存在となっている。しかし、近年では絶滅危惧 I B 類に指定されており、貴重な資源となっている。従来型のニホンウナギ養殖では、地下水等を高水温で維持し、短期間で出荷サイズまで飼育する手法が用いられているが、それに伴う燃料費や魚病による大量斃死が問題となっている。このような現状を踏まえ、本学では貴重なニホンウナギ天然資源を有効に活用するため、好適環境水を用いた新たな養鰻技術開発に取り組んでいる。そこで本研究では、イオン組成を調整した人工飼育水(好適環境水: Na^+ 2777 ppm, K^+ 95.1 ppm, Ca^{2+} 300 ppm, 塩分 8 psu)によるニホンウナギの行動変化や成長速度を明らかにするため、淡水と好適環境水によるニホンウナギの飼育実験を行い、飼育個体の行動頻度や成長率について比較を行った。

2. 方法

飼育実験は、2015年10月19日～2016年4月25日にかけて、好適環境水及び淡水を飼育水とした 60 cm 水槽(W: 600 × D:450 × H:300 mm)16 槽を設置し、各水槽にニホンウナギを1尾収容した後、水温 24°C の条件下で行った。行動解析は飼育開始から3日間と、以後1週間に1回の頻度で、供試個体の水槽内における 24 時間の平均行動発現割合を 5 分間隔の瞬間サンプリングにより求めた。成長は月1回の頻度で飼育個体の全長及び体重を測定した。なお、ニホンウナギの成長について統計的な差異を確認するため、多数個体による追加飼育比較実験が現在進行中である。

3. 結果

好適環境水水槽内におけるニホンウナギの日周期行動変化について、水槽導入初日と3日目の結果を図1に示す。この結果から、導入初日は昼夜問わず水槽内を活動していたが、3日目には行動が夜間に集中した。また、行動解析の結果から、1日あたりの水槽上部平均活動割合が淡水飼育区で $4.35 \pm 2.90\%$ 、好適環境水飼育区で $1.01 \pm 1.05\%$ となり、淡水飼育区における上部活動率が高い傾向を示した。次にニホンウナギの成長について好適環境水と淡水を比較するため、それぞれの条件で飼育した個体の体重及び体長の増加量変化について図2に示す。好適環境水で飼育した個体の成長率は、淡水飼育個体に比べ体重で約 1.5 倍、体長で約 2.0 倍高くなる傾向を示した。この結果を踏まえ、成長差の統計的有意差を確認するため、各水槽にニホンウナギを 55 匹ずつ導入し、追加比較実験を行った。その結果、好適環境水飼育個体は淡水飼育個体に比べ体重増加量で約 2.8 倍であった ($p < 0.01$)。

4. 考察

ニホンウナギの日周期行動変化より、ニホンウナギは本来夜行性の動物であり、3日目に本来の行動パターンが確認されたことから、3日間で行動が安定すると推察された。松岡ら¹はシラスウナギの隠れ場に対する選択性について実験を行い、夜行性の魚で夜間は活発に遊泳しているが、昼間は筒などに穴居静止しているという報告がある。本実験でも、自然界同様の行動が行なわれていると判断できる。成長率の結果より、ニホンウナギを低塩分で飼育を行った過去の研究²と一致する結果であった。また、汽水域のニホンウナギの成長速度は、河川で採捕したニホンウナギより有意に高かったという報告もある³。汽水条件は魚類の体液とほぼ同じ等張液となっている。本来、浸透圧調整に費やすエネルギーを魚体は必要としている。しかし、汽水条件は魚体と飼育環境が等張液のため、本来浸透圧調整に費やすはずのエネルギーが余るのでその分の余剰分が成長に回せた可能性があると考えられる。好適環境水条件でも同様の事が推察されるので、今後明らかにしていく必要がある。

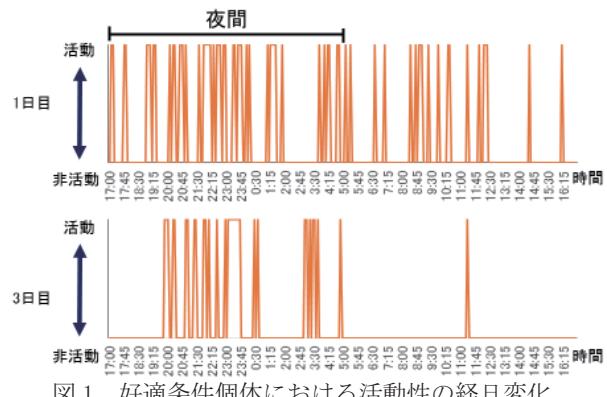


図 1. 好適条件個体における活動性の経日変化

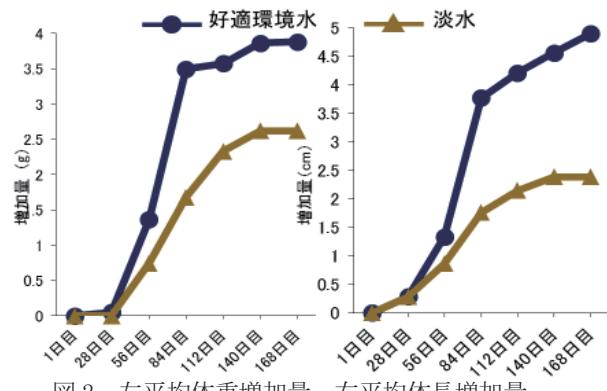


図 2. 左平均体重増加量 右平均体長増加量

5. 参考文献

1. 松岡良徳, 静岡県水試研報, 4号, (1971), pp.51-60
2. 岡村明浩, 日本水産学会, 2009秋季(2009) pp.43
3. Sudo, Coast Mar Sci, Vol. 36-37, No. 1, (2014), pp. 13-18

好適環境水導入後のカクレクマノミの行動

千葉科学大学 危機管理学部
小濱剛, 佐藤那美, 加瀬ちひろ

1. 背景・目的

現在、国際競争の激化や環境の変化から、天然資源の漁獲量が世界的に減少する傾向が見られ、養殖の必要性が高まっている。現在行われている養殖は、海面養殖など自然の一部を利用した養殖がほとんどであるが、世界的な水産物の需要増加が著しいことから、人工的な陸上養殖の必要性が高まりつつある。好適環境水は、魚の浸透圧調整に関わる Na, K, Ca などの成分が最低限の濃度で調整されているため、従来の人工海水よりコストが安く、陸上養殖に適した飼育水として期待されている。一方、好適環境水に関するこれまでの研究は、生産性に関する事項にしばられており、飼育魚類の行動特性に関する研究はない。

そこで本実験では、カクレクマノミ (*Amphiprion ocellaris*) を対象として、人工海水と好適環境水、それぞれの飼育環境下における行動特性の相違を検証した。

2. 方法

実験は、2014年9月29日～12月4日に行った。カクレクマノミを1週間実験装置に馴致させた後、人工海水および好適環境水を投入して、25時間の連続撮影モニタリングを行った。その後、3日間の休止期をとり、条件を替え同様に25時間の連続撮影モニタリングを実施した。

本実験では各条件提示後1時間の活動性、提示後24時間の水槽内利用場所、および24時間経過後の新奇物に対する反応を調査した。また、条件提示の順番による影響を排除するため、各条件の提示順序を変えて実験を行った。

3. 結果

3. 1 水槽内の平均利用割合 人工海水下では、上面と下面の平均利用割合がほぼ同等であったのに対し、好適環境水下では、下面利用率が90%以上であった。

3. 2 上面エリアの利用率推移 人工海水を先に提示した場合、人工海水提示時には、水槽内の利用は日内変動があり、提示後7～12時間は上面利用率が低下したものの、それ以外では、利用率は40～80%であった（図1）。好適環境水を先に提示した場合、好適環境水提示直後から8時間までは上面エリアを利用したが、それ以降は、ほとんど利用しなくなった。人工海水提示後、20時間までは、引き続きほとんど上面を利用しなかったが、21時間以降は徐々に上面の利用率が上昇した。

3. 3 条件提示直後の活動性 人工海水下では、境界線の通過回数が1407.5回±1059.9（平均±SD）という高い活動性がみられたが、好適環境水下では、433.5回±378.2（平均±SD）であり、活動性が低かった。

3. 4 新奇物に対する反応 人工海水および好適環境水どちらの環境下でも新奇物に対する接近は平均4回程度であり、差はみられなかった。

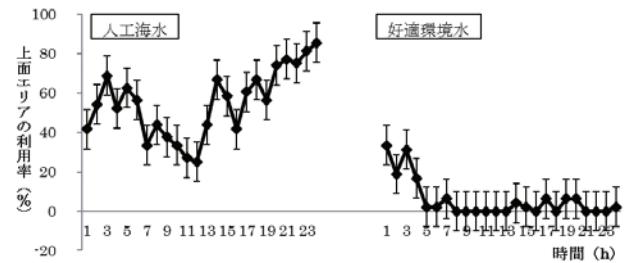


Fig. 1 人工海水を先に提示した供試個体の上面エリアの平均利用率 (n=4)

4. 考察

水槽内の平均利用エリアより、人工海水下では上面および下面利用率が同等だったにもかかわらず、好適環境水下では下面の利用率が大幅に増加した。このことから、好適環境水下で沈降時間が増加したことが推察される。Fig1 に示す上面エリアの利用率推移より、人工海水を先に提示した場合、人工海水下では活発に活動していたが、好適環境水提示直後に衰弱したことが伺える。また、人工海水下で提示後7～12時間の上面利用率が低下しているが、先行研究でクマノミ類の稚魚が夜間に着底することが報告されている¹⁾ことから、衰弱ではなく睡眠によるものだと示唆される。好適環境水提示直後における平均活動性を見ると、境界線の通過回数が半分以下になることから、好適環境水下での活動性が低下したことが伺える。

以上のことから、好適環境水下におけるカクレクマノミの活動が明確に抑制され、現在の好適環境水がカクレクマノミに適応していないことが行動学の面から明らかとなった。カクレクマノミは日本では奄美大島以南で普通にみられ、西はアンダマン海、南はオーストラリア北西部までの西部太平洋に分布し²⁾、水深1～20mのサンゴ礁でハタゴイソギンチャクと共生する³⁾高塩分適性の魚類である。このことから、カクレクマノミにとって好適環境水の塩分は低すぎることが示唆された。今後の課題として、好適環境水の濃度変化に対するカクレクマノミの行動変化を明らかにする必要がある。また、好適環境水は全ての魚類に万能ではないため、今後は飼育対象となる魚類に適した成分比について、それぞれ求めていくことが必要である。

参考文献

1. FISHER R · BELLWOOD D R, Undisturbed swimming behaviour and nocturnal activity of coral reef fish larvae , *Marine Ecology Progress Series*, 263, (2003), 177-188
2. ジャック・T・モイヤー, クマノミガイドブック, 初版, (2001), 30-31
3. 岡村収・尼岡邦夫, 山溪カラーネーム鑑 日本の海水魚, 初版, (1997), 436-437

好適環境水中において高効率に硝化を行う細菌の探索

千葉科学大学 薬学部
中山美月, 小林照幸

1. はじめに

好適環境水を利用した活魚輸送および閉鎖循環式陸上養殖において問題となるのは飼育する魚から排泄されるアンモニアである。アンモニアは魚にとって有毒であるが環境中であれば通常2群の硝化細菌（アンモニアから亜硝酸および亜硝酸から硝酸への酸化）により最終的に硝酸塩にまで酸化される。更に条件によっては硝酸塩から窒素ガスへの脱窒が行われる。

本研究では好適環境水を用いた活魚輸送、養殖に悪影響を及ぼさず高効率に硝化を行う細菌や培養が容易な硝化細菌の発見を目指している。

発見した硝化細菌の培養液、細菌自体を固定化したポリマーなどの添加により有毒なアンモニアの除去が可能になり、長期間安定して水質を維持できるようになることが期待できる。

2. 実験方法

2.1 細菌の単離 千葉科学大学周辺から海水、淡水、汽水を採取し細菌単離のための試料とした。同様に土などを採取し、生理食塩水で懸濁した後にこれらの上清を試料とした。単離用の寒天培地は ARW (1L 中に 7.06g の NaCl, 0.364 g の CaCl₂ · 2H₂O, 0.181 g の KCl を含む) に 1.5% の寒天もしくはアガロースを加え、栄養源として 8 mg/l の NB (Nutrient Broth, Difco), 80 mg/l の NB、または 1 mM の塩化アンモニウム、亜硝酸ナトリウム、硝酸ナトリウムを加え作成した。試料を寒天培地に塗布し、20~30°C で培養した。コロニーを形成した細菌を再度培養し、単一のコロニーを形成した細菌を単離細菌とした。

単離細菌の 16S rRNA 遺伝子約 1.5 kbp を PCR により增幅し、この塩基配列を解析することで細菌種を推定した。

2.2 培養と硝化作用の検出 細菌の特性を調べるために液体培養には ARW にリン酸カリウム、硫酸マグネシウム、微量元素を加えたものを基本液体培地として必要に応じて各種炭素源および窒素源を加え 25°C で培養した。

細菌の増殖は培養液を寒天培地に希釈して塗布し、25°C で培養した後に生じたコロニー数を計測することで調べた。

培養液の遠心分離で生じた上清を試料とし、アンモニアは o-フェニルフェノール法、亜硝酸および硝酸は Griess 法により測定した。

3. 結果と考察

アンモニア、亜硝酸、硝酸を窒素源として利用可能な細菌もしくは低濃度の栄養源でも増殖可能な細菌を 103 株単離した。比較的増殖速度の高い 19 株について菌種の同定を行った結果 *Streptomyces* 属が 6 株、*Enterobacter* 属が 5 株、*Raoultella* 属が 4 株、*Fictibacillus* 属、*Pseudomonas* 属、

Nesterenkonia 属、*Dermacoccus* 属がそれぞれ 1 株ずつであった。これらの細菌について各種の炭素源での増殖を調べた結果、使用した糖類、有機酸、脂肪酸において共通した特徴は見出すことができなかったが、全ての株がコハク酸を利用できることが分かった。また、培地中に炭素源としてコハク酸を加えた場合、全ての株がアンモニア、亜硝酸、硝酸を窒素源として利用できることが分かった。数種類の株で上記各窒素源を用いて培養した時のアンモニア、亜硝酸、硝酸の濃度を調べた結果、*Enterobacter* 属と推定される AS15-1 株において特徴的な変化が見られた。（図 1）

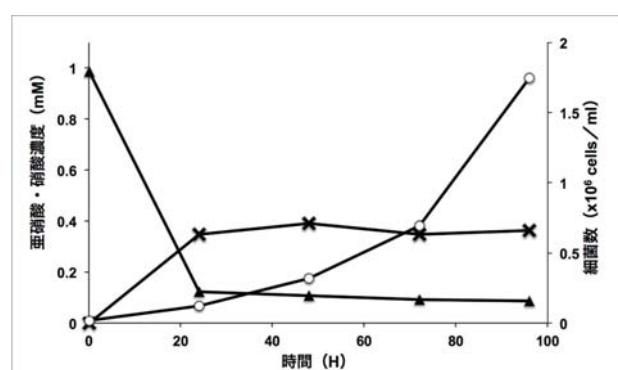


図 1. 細菌の増殖と亜硝酸・硝酸濃度の変化 基本液体培地に 1 mM の亜硝酸ナトリウムを加え培養した。○細菌数、▲亜硝酸濃度、×硝酸濃度

AS15-1 株は炭素源としてコハク酸、窒素源としてアンモニアもしくは亜硝酸を含む培地においては従属栄養的に増殖し酸化物の生成を検出できなかった。しかし、炭素源を加えない培地においても増殖が見られ、更に亜硝酸が培地中に存在する場合には、これを酸化し硝酸を生成することが確認された（図 1）。

亜硝酸酸化細菌として知られているのは *Nitrobacter* 属もしくは *Nitrospira* 属のみであり *Enterobacter* 属の細菌で硝化作用を示すものは見つかっていない。16S rRNA の塩基配列の解析による推定であるため、今後 AS15-1 株の種の同定を進めるとともに詳細な解析が必要である。

4. まとめ

本研究により好適環境水中で硝化作用を示す細菌 AS15-1 株が見つかった。今後は AS15-1 株の詳細な解析を行うとともに、アンモニア酸化細菌の探索も必要である。また、より効率的な硝化作用を示す細菌を見出すため、種々の試料を好適環境水を用いた魚の飼育水に添加し硝化作用の見られた水槽からの単離も行っている。

好適環境水の腸炎ビブリオ、パラコロ病菌などの生存に及ぼす影響の評価

千葉科学大学薬学部免疫/微生物研究室
増澤俊幸

1. 目的

好適環境水は、海水の中から魚類に必要な成分をナトリウム・カリウム・カルシウム等に絞り込み、淡水魚と海水魚が同じ水槽で飼育することが出来る人工飼育水である。その利点の一つとして「魚の病気が発生しにくい」ことがあげられる。これを科学的に検証するために好適環境水と対照としてミリQ水、人工海水、リン酸緩衝生理食塩水(PBS)中における海産性魚介類の食中毒起因菌である腸炎ビブリオ、ウナギの感染症であるパラコロ病原菌、さらに一般細菌として食中毒の原因となる黄色ブドウ球菌と大腸菌を用いて、その生存率を調べた。

2. 方法

1. 試験水における細菌の培養

黄色ブドウ球菌 (*Staphylococcus aureus*)、大腸菌 (*Escherichia coli*)、パラコロ病原菌 (*Edwardsiella tarda*) は、普通ブイヨンと普通寒天培地を用いて培養した。腸炎ビブリオ (*Vibrio parahaemolyticus*) はアルカリペプトン水と TCBS 寒天培地を用いて培養した。培養液 0.1ml を 10ml の好適環境水 (NaCl 7.0587 g/L, CaCl₂ · 2H₂O 0.3641 g/L, KCl 0.18125 g/L, pH 7.7)、ミリQ水、人工海水(マリニアートスーパーフォーミュラ SF-1 富田製薬)、PBS に加え、それぞれの細菌の最適な培養温度で振とうした。

2. 生菌数の測定

0日目、1日目、3日目、5日目に試験水を回収した。液体培地中で被検液の 10 倍希釈液を調製した。各被検液希釈液を寒天培地 2 枚に 100 μl ずつ加え、コンラージ棒で塗布した。表面の乾燥を確認した後、それぞれの細菌に最適な培養温度で培養した。培養後、コロニーを数え、2 枚のシャーレの平均から生菌数を算出した。

3. 結果

腸炎ビブリオは好適環境水、ミリQ水、PBS 中では直ちに死滅し生存しなかった。一方、人工海水中では生存した(図 1)。本来、腸炎ビブリオは海産性魚類の常在菌であり、魚の生食による食中毒の起因菌である。このため人工海水では生存可能であるが、低塩濃度の好適環境水など他の試験水中では死滅したと考えられる。

ウナギのパラコロ菌は好適環境水、ミリQ水、PBS 中で約 10⁶ 個/ml 以上生存した。一方、人工海水中では生存しなかった(図 2)。ウナギのパラコロ菌は淡水飼育中のウナギの感染症起因菌であることから、塩濃度が低い好適環境水、PBS、塩がないミリQ水中では生存するが、塩濃度が高い人工海水中では生存することができなかつたと考えられる。

黄色ブドウ球菌は人工海水中では急激に死滅したことから高塩濃度では生存できないと考えられる。多くの細菌学の書籍には 10% 食塩中でも生存できるとあるが、今回

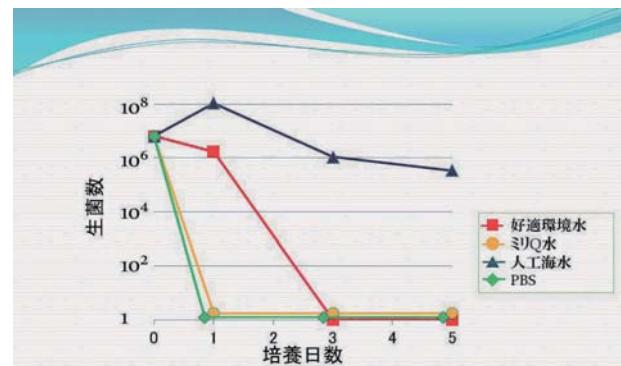


図1 腸炎ビブリオの生菌数の変化

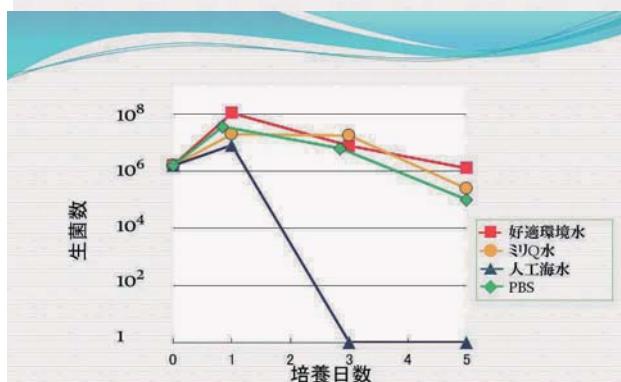


図2 パラコロ病菌の生菌数の変化

は 3% 程度の食塩を含む人工海水中でも生存数の低下が見られた。一方、低塩濃度の好適環境水中や他の試験水では本菌は生存可能であった。

大腸菌はすべての試験水中で 10⁶ 個/ml 以上生存した。大腸菌は、海水から淡水まで幅広い塩濃度域で生存可能であった。

4. 考察

以上の結果より好適環境水における細菌の生存は、その細菌の性質に左右され、必ずしも好適環境水が細菌の増殖を抑制するわけではないことが明らかになった。好適環境水は海水魚の病気の発生を抑制すると考えられるが、淡水魚の病気の発生を予防することが出来ないと考えられる。

腸炎ビブリオは好適環境水中では生存性低下することから、海産性活魚を輸送には、滅菌海水よりも好適環境水を使用することで腸炎ビブリオ食中毒の予防につながると考えられる。この研究成果は、好適環境水の活魚輸送への使用という新たな利用方法の可能性を示した。

好適環境水による *Saprolegnia* 属菌の抑制機構の解明

千葉科学大学 危機管理学部
糟谷大河, 北島佑美

1. はじめに

水カビ病 (Saprolegniasis) は卵菌門, ミズカビ科に属する *Saprolegnia*, *Achlya*, *Aphanomyces* などの属の原生生物によって引き起こされる魚類の病気である。本病の被害については古くから報告されており、養殖漁業、特にウナギやギンザケなどの養殖において深刻な被害をもたらしている¹。一方で、好適環境水で飼育された魚は病気発生の危険性が低いことが経験的に知られており、好適環境水を用いた魚病の抑制が可能であれば、新しい養殖技術として効果が期待できる。しかし、好適環境水中で魚病、特に水カビ病が抑制される機構については明らかにされていない。

そこで本研究では、水カビ病の主要な原因菌である *Saprolegnia* 属菌について、好適環境水による抑制機構を明らかにすることを目的として、野外より本属菌を採集し、分離試験および培養試験を行った。

2. 材料および方法

2016年4月27日、5月8日、6月29日に、千葉県銚子市、勝浦市、いすみ市内の農業用ため池や湧水など6地点において採水を行い、*Saprolegnia* 属菌の分離源とした。採集した試料から、アサの実を用いて小川・室賀²の方法に基づき *Saprolegnia* 属菌の分離を行った。分離された菌株について、形態的特徴を光学顕微鏡で観察した。その後、滅菌シャーレにそれぞれ分注した滅菌水と好適環境水の中に、分離された *Saprolegnia* 属菌とアサの実を浮かべて25日間程度培養し、コロニーの形態の変化を観察した。培養期間内に、コロニーの大きさを定規により5回計測し、その変化から減少率と平均値を求めた。

3. 結果および考察

3. 1 *Saprolegnia* 属菌の分離試験 採集した試料より24菌株が分離された。分離された菌株について光学顕微鏡観察を行った結果、遊走子嚢や卵胞子などの形態的特徴（図1）に基づき、それらは *Saprolegnia* 属菌であると同定した。

3. 2 *Saprolegnia* 属菌の蒸留水と好適環境水を用いた比較培養試験 滅菌した蒸留水で培養した *Saprolegnia* 属菌の菌株について、計測5回目（培養開始22日後）では1回目（同4日後）と比較して、コロニーの大きさが減少したもののが見られたが、変化のないものや成長したものも見られた。滅菌した蒸留水で培養し、コロニーの大きさが増加した菌株では、おおむね培養開始12日後以降でコロニーの成長が認められた。

一方、好適環境水で培養した *Saprolegnia* 属菌の菌株では、計測1回目と5回目の比較により、すべての菌株でコロニーの大きさの減少が認められた。

好適環境水で培養し、最もコロニーの大きさの減少率が高かった菌株では、培養開始4日後にはアサの実の周囲の

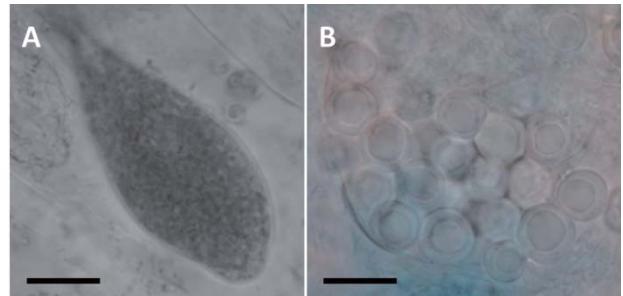


図1. 分離された *Saprolegnia* 属菌の形態的特徴.
A: 遊走子嚢. B: 造卵器とその内部に形成された卵胞子. スケールはすべて 10 μm.

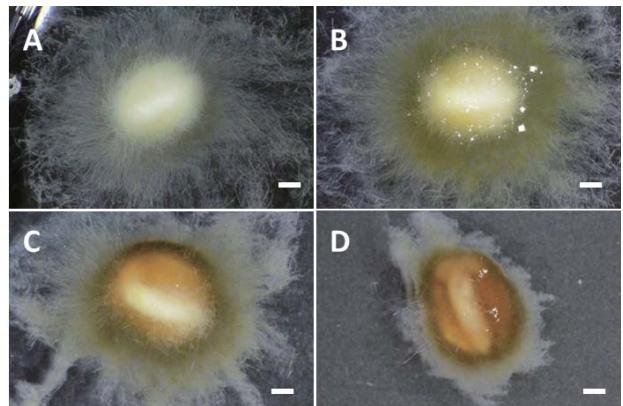


図2. 好適環境水中で培養した *Saprolegnia* 属菌のコロニーの形態変化. A: 培養開始日. B: 培養開始4日後. C: 同8日後. D: 同22日後. 綿毛状の菌糸はほとんど消失した. スケールはすべて 1 mm.

菌糸が剥落し始め、8日後では菌糸がほぼアサの実から脱落しかけており、22日後にはアサの実の周囲がゼリー状に変化した（図2）。

以上のように、好適環境水と滅菌した蒸留水を用いた *Saprolegnia* 属菌の培養性状の観察結果、およびそれらのコロニーの大きさの計測結果から、好適環境水は *Saprolegnia* 属菌の成長抑制効果を持つ可能性が示唆された。

参考文献

1. 畑井喜司雄, 水カビ病について, 魚病研究, 14, (1980), 199–206.
2. 小川和夫・室賀清邦, 魚病学概論 改訂第2版, 恒星社厚生閣, (2012), 192pp.

好適環境水飼育が魚類の生体防御機能に及ぼす影響に関する研究

千葉科学大学 薬学部、危機管理学部
岡本能弘, 溝井健太, 鷹野翔太

1. はじめに

魚類を好適環境水で飼育した場合、魚病細菌感染症になりにくいことが知られている¹。この現象の原因として、①好適環境水が一般の淡水や海水よりも病原体の生存に不利であること、あるいは、②好適環境水飼育により飼育魚の生体防御能が亢進することなどが考えられる。本研究の目的は、上記②の可能性について検討するため好適環境水下で飼育した魚類の魚病細菌感染症に対する獲得免疫（特異的抗体産生）の成立状況の変化について解析することである。本研究では、魚の特異的抗体産生能の評価系を確立するため、モデル魚類としてコイを、モデル抗原として卵白アルブミン(ovalbumin, OVA)、およびスカシ貝ヘモシアニン(keyhole limpet hemocyanin, KLH)を用い、酵素免疫測定法により特異的抗体価を測定する実験系を検討した。

2. 試薬と実験方法

2.1 抗原の感作と採血 コイは通常の淡水で飼育した。抗原は、OVA 0.8 µg/匹(Sigma-Aldrich 社, USA)あるいは、KLH 50 µg/匹(Sigma-Aldrich 社), 対照コントロールとしてリン酸緩衝液(PBS)を麻酔下（オイグノール, FA100, ニチドウ）コイ腹腔内に投与した。抗原感作(OVA; 2 匹あるいは KLH; 3 匹)後 7 日目に麻酔下採血し、血清を分離した。

2.2 酵素免疫測定法による抗体価測定 炭酸緩衝液 (0.02 mol/l, pH 9.8) に OVA(200 µg/ml), あるいは KLH(100 µg/ml)を溶解し, 50µl/well ずつマイクロタイヤープレート (Nunc Immunoplate Maxisorp, Thermo Fisher Scientific, Inc., Denmark)に添加後, 4°C, 一晩放置し, 抗原を固相化した。その後, 1% BSA/1%スクロース/PBS を 100 µl/well ずつウェルに添加し, 室温下, 60 分間ブロッキングを行った。その後, 0.05% Tween20 を含んだ PBS(PBS-T)でプレートを 3 度洗浄した。洗浄後 PBS-T にて希釈したコイ血清試料 50 µl/well をウェルに加えて 2 時間室温、あるいは 4°C, 一晩で反応させた。インキュベーション後に mouse anti-Carp/Koi Carp(*Cyprinus carpio*) IgM (1/66, Aquatic Diagnostic Ltd, Scotland) を添加し, 2 時間室温で放置した。さらにプレート洗浄後 horseradish peroxidase(HRP) labeled goat anti-mouse IgG (1/3000, Kirkegaard & Perry Laboratories, Inc., USA)を添加し, 1 時間室温で放置した。プレートを再び PBS-T で洗浄した後に、発色基質として 3,3',5,5'-テトラメチルベンジジン (TMB) 液を 50 µl/well 加えた。室温放置 20 分後に 50 µl/well の 5 mol/l sulfuric acid を加えて酵素-基質反応停止させ, Microplate Reader Model 680 (BioRad Laboratories, USA)を用いて、吸光度(490 nm)を測定し、抗体価とした。

3. 結果及び考察

これまで魚類の免疫機能については、ヒトやマウスの

ように多くの研究がなされていない。今回の研究目的を達するにあたって実験材料、方法を含め基礎的なレベルから研究に取り組みはじめる事となる。今回、モデル魚類としてコイを、モデル抗原として OVA、および KLH を用い、酵素免疫測定法により特異的抗体価を測定する実験系を検討した。抗原感作 7 日後のコイ血清中特異的抗体価を測定したところ OVA, KLH ともに血中抗体価の上昇を確認することができた(Fig. 1)。本実験系を用いてコイについては特異的抗体産生能を評価することが可能である。他にモデル抗原としてヒツジ赤血球なども投与を検討したが、抗体価の上昇を明確に検出できなかった。ELISA に使用する固相化抗原の精製度が十分でなかった可能性を考えている。今後、抗原投与後の血中抗体価の経時的な変動、および実際に好適環境水で飼育した場合の影響を検討する予定である。また、将来的にはウナギを対象として、研究を実施する予定である。しかし、現在のところウナギについて ELISA 実験系で十分に機能する抗ウナギ Ig 二次抗体が入手できていない。現在、抗ウナギ Ig 抗体の作製も含めて取得方法を検討している。

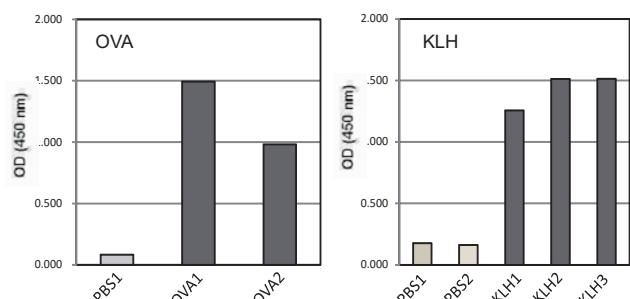


Fig. 1 Anti OVA/KLH specific antibody in Carp serum
淡水飼育のコイにモデル抗原として OVA (2 匹) あるいは KLH (3 匹) を投与し、7 日後に血清採取し、PBS で X40~640 に希釈し ELISA に供した。PBS; コントロール(PBS 投与), OVA; OVA 投与, KLH; KLH 投与。

参考文献

- 学校法人加計学園、株式会社 K 2 ライフラボ、人工飼育水及び人工飼育水生成物質、PCT/JP2009/002689, 2009 年 12 月 23 日

好適環境水下における水産種の加水分解代謝機能特性の解析

千葉科学大学 [†]薬学部, [‡]危機管理学部
高橋正人, [†] 溝井健太, [‡] 細川正清[†]

1. 背景、目的

近年、水産動物に対する過剰な抗生物質の使用が問題視されている。抗生物質は本来、病気の治療及び蔓延の防止のために一時的に使用するものであるが、潜在的感染の治療・予防、腸内の有害細菌の抑制、栄養の利用率の増大を介した成長促進等の効果も認められていることから、健康な個体に対しても日常的に使用されている。¹ 平成 29 年 1 月 31 日現在において、農林水産省より発表された「水産用医薬品の使用について 第 30 報」²には、水産種ごとに適切な用法・用量、使用上の注意および使用禁止期間・休薬期間等を守って適正に使用しなければならないとの記載がある。水産種を飼育するにあたり、生産者は上記の文書に従い、消費者に安全な水産種を提供する義務がある。

現在、大学発ブランド水産種に関して、好適環境水下での飼育が試みられている。好適環境水下で飼育した魚類や甲殻類については、通常の自然海水や淡水とは環境の異なる条件での飼育により、体内の様々な機能特性に変化が現れる可能性がある。中でも代謝機能の変化は、抗生物質等の異物の解毒だけでなく、生体内成分の代謝にも変化が生じる可能性がある。したがって、飼育環境による代謝機能の変化について、明らかにすることが望まれる。

本研究では、代謝機能に着目して、淡水と好適環境水下で飼育された種の差異について解析する。そして、抗生物質の用法・用量の設定および安全な水産種の提供に有益な情報を与えることを目的とする。まず、現在予定している大学発ブランド水産種であるモクズガニの代謝機能の解析法について開発を試みた。その結果、市販の抗生物質の代謝に最も寄与している加水分解代謝機能の解析法を確立したので、その詳細を以下に示す。

2. 方法

試料としては、平成 29 年 10 月に千葉県湊川より採捕されたモクズガニを用いた。モクズガニ 3 匹（平均甲幅 66.85 ± 8.69 mm）について、それぞれの中腸腺を取り出した後、中腸腺質量の 4 倍量となる 200 mM SET (Sucrose-EDTA-Tris-HCl) buffer (pH 7.4) で希釈した。この希釈液を遠心 (9000×g, 20 min, 4°C) し、上清 (S9 画分) を試料溶液としてタンパク定量および酵素活性測定を行った。

2. 2. タンパク定量 ウシ血清アルブミンをスタンダードとし、Lowry らの方法³に従い、DC protein assay kit II (Bio-Rad Laboratories) を用いて行った。マイクロプレートに回収した試料溶液 5 μL, A 試薬 25 μL, B 試薬 200 μL を添加し、室温で 30 分間静置した後、Multispectro Microplate Reader VARIOSKAN (Thermo Electron Corporation) を用いて吸光度 (750 nm) によりタンパク量を算出した。

2. 3. 酵素活性の測定 加水分解活性評価の標準物質である *p*-nitrophenylacetate (PNPA) (和光純薬工業株式会社) を基質として用いた。Hosokawa らの方法⁴に従い、30°C, 1 mM PNPA in CH₃CN 900 μL, 200 mM Na,K phosphate buffer (pH7.4) 50 μL, 0.4 mg/mL 試料溶液 50 μL の反応条件下で生成する代謝物 (*p*-nitrophenol) を Ultraspec 6300

pro (GE Healthcare) を用いて、吸光度 (405 nm) の経時的变化を測定することにより代謝速度を算出した。

3. 結果

3. 1. タンパク定量 モクズガニ 3 匹の性別、湿重量、中腸腺質量および試料溶液のタンパク濃度を表 1 に示した。雌は湿重量あたりの中腸腺の質量が 4.2% となつたが、雄は平均 2.1% となり、2 倍程度の差があることが判明した。なお、タンパク濃度については、平均約 20.7 mg/mL となり、性別によらず一定の値になることがわかった。

表 1. 天然のモクズガニ中に含まれる中腸腺質量及び試料溶液のタンパク濃度

検体	性別	中腸腺/湿重 (g)	タンパク濃度 (mg/mL)
1	雌	8.2/194.5	19.9
2	雄	2.1/77.0	19.6
3	雄	2.7/177.0	22.7

3. 2. 酵素活性の測定 PNPA がタンパク 1 mg 存在下において 1 分間で加水分解される物質量 (μmol/mg protein/min) を算出し、その値を表 2 に示した。調製直後における試料溶液の酵素活性は、雌よりも雄の方が 2.96 倍ほど大きな値を示した。また、試料溶液を -80°C で 1 週間保存した後、再度酵素活性を測定したところ、調製直後とほぼ変わらない活性を示し、-80°C における安定性が確認された。

表 2. 試料溶液の加水分解活性

検体	性別	活性 (調製直後) (μmol/mg/min)	活性 (1 週間後) (μmol/mg/min)
1	雌	0.133±0.011	0.142±0.007
2	雄	0.408±0.020	0.414±0.008
3	雄	0.380±0.011	0.352±0.003

活性の値は平均値±標準偏差 (3 回測定) で示した。

4. 展望

以上より、天然モクズガニの加水分解代謝機能の評価を行った。今後は、好適環境水下で飼育されたモクズガニの加水分解代謝機能を測定し、天然個体との比較を行う予定である。

参考文献

- 川端俊治, 食品衛生学雑誌, 12, (1971), 451-458
- 水産用医薬品の使用について 第 30 報 (農林水産省) [http://www.maff.go.jp/syousan/suisan/suisan_yobo/attach/pdf/index-9.pdf] 2017/01/31
- Lowry O. H. et al., J. Biol. Chem., 193, (1951), 265-275
- Hosokawa, M. et al., Mol. Pharmacol., 31, (1997), 579-584

千葉県下の河川に生息するモクズガニにおけるウエステルマン肺吸虫 メタセルカリアの寄生状況について

千葉科学大学 危機管理学部
柴原壽行, 小濱剛, 山口太一, 溝井健太

1. はじめに

かつて全国に100万人以上の患者が見られ、“肺ジストマ”的名前で広く世間に知られていたウエステルマン肺吸虫症は、その臨床症状が結核に酷似していたことで、患者とその家族に様々な悲劇をもたらすことが多かった。しかし、その疫学の解明が進むと共に、特効薬としてのビチオノールが開発されるに及んで患者数は急激に減少していった。そして今日、我が国においては年間僅かに数えられる程度の報告例が認められるものの、本病は、もはや我が国から消滅し得たかのような印象を国民はもとより医家の間でさえ持たれるに至っている。一方、1977年になって、秋田県での人体寄生報告例をきっかけに本虫に染色体の違いによる2型（2倍体型と3倍体型）の存在が明らかとなり、千葉県においても新たにサワガニを第2中間宿主とする本虫2倍体型の存在が明らかとなった。その後の調査研究の中で、先頃、偶然にも、千葉県南房総市のモクズガニに、形態的特徴から3倍体型と思われるメタセルカリア（以下Mc）が見出された。このため、かつて日本各地で広範に見られたヒトを主な終宿主とする3倍体型が、今なお房総半島に存在していることが推察されたため、本研究で、3倍体型の主たる第2中間宿主であるモクズガニにおけるMc寄生状況についての調査をおこなった。

2. 材料及び方法

検査に供したモクズガニは、主に房総半島部の県内12河川において漁協組合員から購入または県の特別採捕許可を得て捕獲した合計204匹である。まず甲殻幅、重さ、雌雄の別を記録した後、鰓を取り出し6cm×10cmのガラス板2枚に挟んで押しつぶすようにして実体顕微鏡下にてMc寄生の有無あるいは寄生数を調べた。一方、他の部分はハサミで細切り、ペプシンを用いた人工胃液消化法で、37℃、3~4時間かけて筋組織などを消化した後、メッシュを用いて濾過し、水道水で数回洗浄した後、上清を除去。その沈渣から実体顕微鏡を用いてMcを分離した。得られたMcは光学顕微鏡下でそれぞれ大きさを計測すると共に形態観察をおこなった。

3. 結果

県内12河川からのモクズガニにおけるMc寄生状況は、表1に示したとおりである。調査した12河川中4河川のカニに寄生が認められ、陽性カニ数ならびに陽性率は、陽性率の高い順から、それぞれ長尾川30匹中11匹(36.6%)、上総湊川35匹中10匹(28.5%)、小糸川14匹中3匹(21.4%)および夷隅川で32匹中3匹(9.3%)であった。得られたMcは、各河川からのもの殆ど同程度の大きさ

で、特に長尾川からのMcの計測値(n=30)は、平均長径429.5(400.5-484.0)μm、平均短径418.7(393.4-473.4)μm、内膜の厚さは19.5(15.5-21.5)μmであった。

表1 千葉県内の12河川で捕獲されたモクズガニにおける肺吸虫メタセルカリア(Mc)寄生状況

河川名	検体数	陽性検体数(%)	検出Mc総数	1検体当たりの寄生数(平均)
				最小-最大
新川	11	0	0	
栗山川	36	0	0	
作田川	6	0	0	
一宮川	1	0	0	
夷隅川	32	3(9.4%)	7	1-5(2.3)
加茂川	10	0	0	
丸山川	2	0	0	
長尾川	30	11(36.7%)	58	1-18(5.3)
平久里川	22	0	0	
上総湊川	35	10(28.6%)	75	1-32(7.5)
小糸川	14	3(21.4%)	16	2-11(5.3)
養老川	5	0	0	
合計	204	27(13.2)	156	1-32(5.8)



図1 得られたメタセルカリア



図2 鰓血管内に寄生するメタセルカリア

4. 考察

今回、調査した12河川中4河川から本虫3倍体型のものと思われるMcが見出された。そして、これまでヒトを終宿主とする3倍体型Mcの特徴とされてきた淡紅色の顆粒を有し、黒い排泄顆粒を除く部分全体にピンクがかつた色彩を呈していた。しかし、大きさについてはこれまでに報告のあった他県産3倍体型のそれと比較すると若干大き目で、むしろ本県産の2倍体型Mcの大きさにはほぼ相当するものであった。また、今回Mcが見出された河川の上流域では、これまでに2倍体型の濃厚分布地であるとの報告があることから、これらは、あるいは2倍体型のMcではないかと推測される。よって、両者いずれのタイプのMcであるかを、近く分子生物学的手法を用いて判別することにしている。いずれにしても、過去、モクズガニの調理過程で飛び散ったMcで汚染されたまな板などを、よく洗いもせずに引き続き調理に使用し感染者を出してきたことなどを改めて思い起こし、必要あれば、二度と再び感染者を出したりすることのないようしっかりと基礎知識を身につけ、清潔な衛生管理のもとで調理を行い、滋養豊富なモクズガニ料理を大いに楽しんでもらえるよう地域住民に啓発活動を行うことも必要かと考える。

魚介類の水銀含有量に関する研究

千葉科学大学 薬学部
足立達美, 飯田春香

1. はじめに

魚介類は、タンパク質や高度不飽和脂肪酸などを豊富に含んでおり栄養的価値が高いが、その反面、環境汚染などに起因する有害化学物質（水銀など）を含有していることが知られている。¹ 我が国では魚介類に蓄積した有害化学物質によるヒトの健康被害も過去に起こっている。代表的なものが 1953 年に発生した水俣病であり、四大公害の一つである水俣病はメチル水銀に汚染された魚介類の摂取により引き起こされたことが明らかになっている。^{2,3} 現在では水俣病発生当時のような高濃度のメチル水銀を含有する魚介類は存在しないと考えられるが、水銀摂取量の調査結果では日本人の水銀摂取量の 80%以上が魚介類由来である^{1,4} ことが明らかになっていることから、食の安全を考える上では魚介類における水銀含有量の把握と低減の試みは重要な課題であると考えられる。

本研究では、安全な魚介類の提供に寄与することを目的として、ブランディング事業の対象である魚介類（モクズガニ、ウナギ）における水銀含有量を把握し、その結果を踏まえて好適環境水での飼育など飼育環境を制御することによるこれらの低減の可能性を模索する。

平成 29 年度は、国内で採取されるモクズガニの食用部位（中腸腺）における水銀含有量を把握することを目的として試料の採取と測定方法の検討を行った。詳細は以下の通りである。

2. 進捗状況

2.1 試料の採取 合計 11 の河川で採取されたモクズガニの中腸腺（肝臍臓）を採取し、凍結保存した。採取場所と個体数は表 1 の通りである。

表 1 採取試料

河川	雄 (匹)	雌 (匹)
夷隅川	5	
一宮川	1	
加茂川	4	3
栗山川	5	5
小糸川	5	
作田川		2
長尾川	5	5
平久里川	5	5
湊川	5	5
養老川	2	
新川	4	4

2.2 水銀の測定方法の検討 水銀分析に用いられる冷原子吸光光度法では水銀蒸気 (Hg^0) を発生させる必要があるが、その方法としては還元気化法と加熱気化法の二種類がある。前者は湿式灰化（試料の加熱分解）などの前処理を行う必要があるが、後者と比べて酸性ガスの影響

を受けにくく、測定時に多量の試料溶液を適用でき、測定時間が短時間であるという利点があり、環境省ホームページに掲載されている水銀分析マニュアル⁵でも還元気化法が採用されている。本研究では現在利用可能な後者（加熱気化法）の水銀分析装置を用いることになるが、水銀分析マニュアルに記載されている方法よりも測定に用いる試料溶液の量を少なくする必要がある。さらに、厚生労働省のホームページに掲載されている資料⁶からカニ類に含まれている水銀は比較的低濃度であることが推察された。これらのことから、測定試料溶液中の水銀濃度を高くする必要があると考えられた。

今年度は、水銀分析マニュアルに記載されている測定試料溶液の調製方法よりも水銀濃度が高くなる条件で湿式灰化を行い、安定した測定値が得られるかどうかについての検討を行った。まず、試料（モクズガニの中腸腺）の量と硝酸-過塩素酸-硫酸の量を水銀分析マニュアルの量と同一にして湿式灰化を行い、精製水を加えて 10 ml とすることにより、水銀分析マニュアルに記載されている方法の 5 倍に濃縮した測定試料溶液を調製した。この測定試料溶液の水銀分析を行ったが、測定値のばらつきが大きい傾向が見られた。酸性ガスの発生により安定した値が得られない可能性が考えられたため、水酸化ナトリウム溶液で中和をしてから水銀量を測定したが、中和をしない場合とほぼ同様の結果であった。加熱気化法の水銀測定装置に適した試料溶液の調製方法を確立するためには、測定値のばらつきが大きい原因を明らかにするとともに、酸を減量するなど湿式灰化の条件をさらに詳細に検討する必要があると考えられる。

3. 次年度の予定

水銀の測定方法を確立し、今年度採取したモクズガニの中腸腺の水銀含有量を求める、水銀濃度の分布範囲を明らかにするとともに生息場所に起因する差や個体間の差の有無を明らかにしたいと考えている。

参考文献

- 厚生労働省、魚介類に含まれる水銀について、
<http://www.mhlw.go.jp/topics/bukyoku/iyaku/syoku-anzen/suigin/>
- 喜多村正次、近藤雅臣、滝澤行雄、藤井正美、藤木素士、
“水銀”，講談社サイエンティフィック、東京、1976
- Study Group of Minamat Disease, Kumamoto University,
“Minamata Disease”, Kumamoto, 1968
- 厚生労働省、魚介類による水銀の摂取量について、
<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2003/06/s0603-4s.html>
- 環境省、水銀分析マニュアル、
<http://www.env.go.jp/chemi/report/h15-04/>
- 厚生労働省、魚介類に含まれる水銀の調査結果（まとめ），<http://www.mhlw.go.jp/shingi/2010/05/dl/s0518-8g.pdf>

商品としてのモクズガニの品質向上を目指した餌の選抜と数値化

千葉科学大学 薬・危機管理学部
三森盛亮, 溝井健太, 山口太一

1. はじめに

世界的な人口増加によって食糧危機が問題となって久しいが、完全な問題解決には至っていない。ヒトの主たる食料となる穀物の生産量は足りているが、世界経済の影響を受け、発展途上国を中心にアフリカやアジアなどに分配されていないのが現状である¹。また、これとは別に今後、地球の温暖化を背景とし、穀物の生産量の減少も懸念されるため、安定的な食糧生産および供給は人類にとっての課題である。なかでも養殖という食糧供給系の構築は問題解決手段の1つと言える。

一方で、先進国における健康志向や途上国における食生活水準の向上により世界の水産物供給量(=消費量)は増加を続けている。世界の1人当たりの年間水産物消費量はこの50年間で約2倍に増加した(図1)²。国際連合食糧農業機関(FAO)は、世界の水産物の総需要量は継続的に増加し、世界の漁獲量が頭打ちになる中、今後の食用魚介類の供給量の増加は養殖業の生産増によってもたらされると予想している³。

FAOは2014年に日本の1人当たりの魚の消費量は世界第6位であると報告した¹。このように魚の消費大国と言える日本では、養殖漁業において特に多くの研究が既に行われており事業化している。養殖事業の主な魚種として、ホタテ、コンブ、ノリ、ハマチ、マダイ、シマアジ、カキ、クルマエビ、ブリ、ヒラメなどが展開されており、近年では产学連携事業としてマグロも商品化している。中でも嗜好性の高い食材の供給は市場価値も高く、今後の発展が期待できる。

本プランディング事業において、我々は嗜好性の高いモクズガニ(*Eriocheir japonica*)に着目している。モクズガニは中国の上海ガニと同属異種のカニであり、日本では北海道から九州まで全国各地で親しまれているが、漁獲量が少なく、家庭の食卓に上ることはほとんどない食材である。

モクズガニの成体(親)は河川、湖沼で暮らし、秋から冬に繁殖のために河口へ下る。ふ化後、変態した稚ガニは、河川を上り成長する⁴。モクズガニは基本的には水中にある植物を餌としているが、動物質のものも食べる。

本研究は、このモクズガニの安定的供給および商品としての品質向上を目的として餌の探索を行い、さらには種々の餌を給餌した際のモクズガニの変化項目の探索を行う予定である。



2. モクズガニの餌の選定とその効果について

モクズガニの餌として種々のものを検討する予定である。具体的には、リサイクル可能な銚子産の農作物、品質向上を目指したハーブ類、動物性脂肪に富んだ食物などである。実際に他の魚類における養殖業にてハーブなどを給餌し、品質の向上に成功した報告も多い⁵。そのため、これらの餌によってモクズガニの成長速度、繁殖能、商品としての品質の向上に変化があるかを調べたい。

2.1 餌の探索 安定的な供給には餌の選抜が必要である。個体数を確保し、上記の餌を随時検討する予定である。

2.2 鮮度の指標の探索 海産物全般に対して言わざることであるが、新鮮な食材は生臭さがなく、活きが良いなどと形容される。これらは鮮度の指標として重要であるため、本研究では主観的な要素が強い「臭み」という項目に対し、科学的な数値化を検討している。具体的には臭いの主成分として考えられる窒素化合物に着目している。モクズガニは肺吸虫が寄生していることもあるため⁶、加熱して(茹でて)食べられることを主とする。そこで、加熱した際に得られる茹で汁を対象に、パックテストを用いて窒素量を測定した。測定結果をTable 1に示した。カニの重量に伴い、発生する窒素化合物量の増加が示唆される結果であった。今後、検体数を増やすとともに、検討項目も吟味する予定である。

Table 1 モクズガニ湯で汁内の窒素量

Entry	重量(g)	甲幅(mm)	甲長(mm)	甲高(mm)
モクズガニ♀1	102.01	60.26	55.94	27.69
モクズガニ♀2	82.95	56.37	53.11	26.33

Entry	全窒素量(mg/L)	アンモニウム量(mg/L)
モクズガニ♀1	25	5-10
モクズガニ♀2	25	5

将来的には、本学の強みである好適環境水を用いつつ、餌を改良し、商品として付加価値が高く、出荷サイクルを大きく、かつ早くできるように検討する。

参考文献・資料

- (公社) 国際農林業協働協会(JAICAF), 世界の食料不安の現状 2015年報告 2015年の国際的な飢餓削減ターゲットの達成: 不均一な進捗状況を検証する, (2015)
- FAO「Food balance sheets」(日本以外の国) 及び農林水産省「食料需給表」(日本)に基づき作成
- The State of World Fisheries and Aquaculture 2010
- 小林哲, 日本ベントス学会誌, 54, (1999), 24-35.
- 魚類用飼餌料添加物及びこれを含有する魚類用飼餌料 特開2006-271337:学校法人近畿大学
- 鹿児島崇, 山崎善隆, 坂口幸治, 久保惠嗣, 杉山広, 齋藤博, 日本国内科学会雑誌, 103(4), 2014, 975-977.

モクズガニ *Eriocheir Japonica* 稚ガニ期における

栄養塩 ($\text{NH}_3, \text{HNO}_2, \text{HNO}_3$) に対する毒性

千葉科学大学 危機管理学部
山口太一, 溝井健太

1. 背景

モクズガニ *Eriocheir Japonica* は日本の河川および浅海域に生息するイワガニ上科であり、上流部にて成熟した個体が河口付近において繁殖をおこなう降下型の通し回遊種である¹。また、本種の亜種にあたるチュウゴクモクズガニ *Eriocheir sinensis* の原産は主に、朝鮮半島西海岸と中国大陆の東シナ海沿岸域であり²、上海蟹として日本人にも古くから親しまれている。一方、ウェステルマン肺吸虫とよばれる寄生虫がモクズガニへ寄生し、これを捕食した哺乳類などへ寄生することによって人間が死に至る事例も報告されている³。そのため、モクズガニに寄生する肺吸虫のリスクを極めて低くする方策として、飼育水をろ過し再利用する循環型の飼育を計画している。しかし、飼育水へ蓄積する残餌や排泄物由来の栄養塩類 ($\text{NH}_3, \text{HNO}_2, \text{HNO}_3$) に関する毒性についての知見がない。そこで本研究では、モクズガニの水槽内における飼育を想定した際に必要となる、水替えの頻度や栄養塩類の各濃度に対するモクズガニへの影響に関する知見を得るために方策として、モクズガニの水槽内での飼育によっておこる栄養塩類の蓄積が与える毒性について検討する。

2. 方法

本試験における測定には、個体パラメータとして試験開始前および後に、重量 (g) および、甲幅 (mm), 甲長 (mm), 甲高 (mm) を計測する。また、水質項目として 1 日あたり 1 回、水温 (°C), pH (-), 塩分 (psu), DO (mg/L), 試験物質の濃度 (mg/L) を測定する。

2. 1 供試個体の暴露 本試験で用いたシステムの模式図を Fig. 1 へ示す。本試験は「海産魚類及び海産エビ類の急性毒性試験法(案)⁴」を応用しておこなう。具体的に、毒性を検証する物質の濃度を公比 1.8 とし、等比級数的に 6 段階に、各ポリエチレン製の容器 (PE 容器、内寸 : 792 (x) × D 481 (z) × H 196 (y) mm) 内へ調製する。また、個体同士の干渉を避けるため、PE 容器内へ 1,000 mL のビーカー 20 個を設置しその内部へ供試個体を収容する。飼育水は半止水式とするため、内部へエアチューブを用い、PE 容器内を循環させ 1 日あたり半分の試験水を換水する。それぞれの PE 容器内の水質条件は、水温: 20.0 ± 1 °C, 照明: 12 hour, pH: 7.0 で維持する。また、pH の調整には塩酸または塩化ナトリウムを用いる。通気はそれぞれ水槽底面中央に設置したセラミック製のエアーストーン 2 個を用いておこなう。曝露後 24, 48, 72, 96 時間後に観察し、死亡、横転あるいは狂奔などの異常行動、体色の変化や刺激に対する反応を記録する。

2. 2 結果の算出方法 本試験により、毒性を検証する物質の濃度と反応率をプロビット法によって算出する。結果の算出には、検証する物質の実測濃度の幾何平

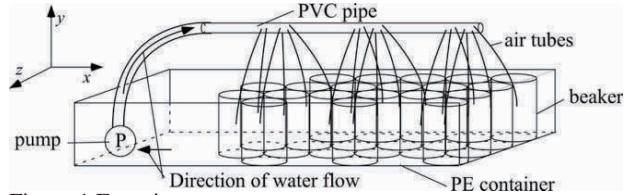


Figure 1 Experiment system

均をもっておこなう。

このときに使用するプロビット関数を次式で定義する。

$$\text{probit}(p) = \int_{-\infty}^{y-5} \frac{\exp\left\{-\frac{x^2}{2}\right\}}{\sqrt{2\pi}} dx$$

y は規準正規分布の累積確率が p となる部分における横軸の値 (正規偏差) に、死亡率 50% となる 5 を加えたものである。加えて、試験区ごとに設定されたイオン濃度の常用対数 x とその時の死亡率 p を関数で表す時、 x 軸は各イオン濃度の対数、 y 軸は算出されたプロビット値をとる。また、これによって得られた 95% 信頼限界における回帰直線の傾きおよび切片より曝露期間 96 時間における LC_{50} を算出する⁵。

3. 展望

本試験によって得られたモクズガニ稚ガニ期における栄養塩類に対するそれぞれの LC_{50} 値をもとに、水槽内の飼育の際に、必要となる換水の時期を明確化することが可能となる。また、モクズガニの各成長段階にあわせて再度栄養塩類に対する毒性試験をおこなうことによって、より安全なモクズガニの飼育が可能となることが予想される。同時に、より栄養塩類が低濃度となる環境によって飼育した個体と、食品としての価値を決定する臭みや重量、色味などの因子との関係によって、新たな飼育管理法の確立へつなげることが可能となる。

参考文献

1. 小林哲, 日本ベントス学会誌, 54, (1999), pp. 24–35
2. 石黒誠也, 横田賢史, 張志新, 宇佐美葉, 渡邊隆司, 水産増殖 (Aquacult Sci), 63 (2), (2015), pp. 191–194.
3. 鹿児島崇, 山崎善隆, 坂口幸治, 久保恵嗣, 杉山広, 斎藤博, 日本国際学会誌, 103(4), (平成 26 年), pp. 975–977.
4. 角埜彰, 小山次郎, 菅谷芳雄, 若林明子, 国立環境研究所 (平成 17 年).
5. Annette J. Dobson, 統計モデル入門-回帰モデルから一般線形モデルまで, (1993)

キジハタ *Epinephelus akaara* ふ化仔魚の成長にともなう体密度変化

千葉科学大学 危機管理学部
山口太一

1. 背景

キジハタ *Epinephelus akaara* はハタ科の中でも極めて美味であるが、資源量の減少が著しいために近年有望な増養殖対象魚として種苗生産技術の確立に向けて鋭意研究が進められている^{1,2}。しかし、仔魚期における初期減耗が問題となり、未だ安定した生産には至っていない。その原因として、とりわけ開口前後の時期に集中する沈降による斃死が大きな問題となっている。この初期減耗はほぼ例外なく起こる上、死亡率が70–100%に達する。実際に取り組まれている試験場での平均生残率は0–3%と報告されており³、養殖の難易度が高い魚種に数えられる。そこで本研究では、生残率向上を目的とした抜本的沈降対策を講じるため、ふ化仔魚固体の体密度の詳細な時経変化を明らかにするとともに、その対策方法について検討をおこなった。

2. 方法

1. 仔魚の維持飼育 本試験終了までの水質条件は、水温: 27.5 °C, 密度: 1.023 g/cm³, pH: 8.20 で維持した。仔魚の飼育は 1 kL アルテミアふ化槽 3 器を用いて行い、無換水でおこなった。通気はそれぞれ水槽底面中央に設置したエアーストーン 2 個を用い、550 ± 50 mL/min とした。ふ化後蛍光灯 2 基を設置し、仔魚の光刺激による浮上死亡を軽減させるため、24 時間恒明条件（水面 0 mm, 10,000 Lux）とした。

2. 体密度の測定 測定期間は、沈降死亡の最も多いとされる日齢 5 まで継続した。なお、固体のサンプリングは 1 日 3 回 (4, 12, 20 時) おこない、1 度の測定に 6 尾使用した。

成長の測定は、全長 (TL) および、油球 (OG) 径、卵黄 (YS) 径を計測し体積を求めた。体密度の測定方法は JIS K 7112 (プラスチック-非プラスチックの密度および比重の測定法: D 法)⁴ を応用しておこなった。すなわち、28 度帶標準ガラスフロート 7 個 (等差 1.015–1.045 g/cm³) の入った無色透明アクリルパイプ 2 重管の内管に、密度勾配溶液を満たし、28.0 °C になるように温度管理した。管内の標準ガラスフロート間が等間隔となるよう検量し、その中へ仔魚を収容して、沈降加速度が 0 m/s² となったときのメモリの値と指標間距離から相対密度を算出し、その日時齢での平均密度とした。

$$\rho_{s,x} = \rho_{F1} + \frac{(x - y)(\rho_{F2} - \rho_{F1})}{z - y}$$

ρ_{F1}, ρ_{F2} : 仔魚を挟む上下の標準ガラスフロートの指示密度 (g/cm³)
 x : 下部ガラスフロートから測定した仔魚までの距離 (mm)

y, z : 同じ任意の位置から測定した 2 個の標準ガラスフロートまでの距離 (mm)

3. 結果

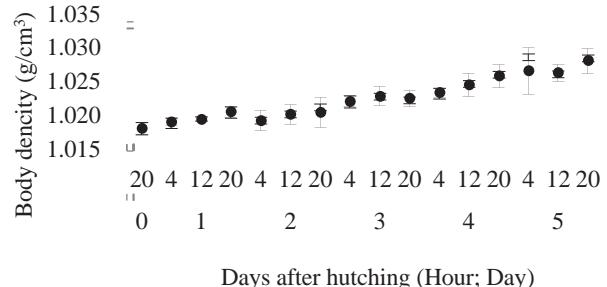


Fig.1 Changes in the body density of *Epinephelus akaara* larvae (n = 6, Bars:±SD).

Fig.1 にキジハタふ化仔魚の体密度変化を示した。測定を開始した日齢 0 (20 時) では、仔魚の体密度(平均 ± 標準偏差) は $1.018 \pm 8.870 \times 10^{-4} \text{ g/cm}^3$ で、その後仔魚の体密度は緩やかに上昇し、日齢 1 (20 時) には $1.021 \pm 7.400 \times 10^{-4} \text{ g/cm}^3$ から一度低下を示した。その後日齢 2 (4 時) の体密度は $1.020 \pm 1.490 \times 10^{-3} \text{ g/cm}^3$ から再度緩やかに上昇傾向を示したが、同様な傾向が日齢 5 (4 時) にも認められた ($1.027 \pm 3.450 \times 10^{-3} \text{ g/cm}^3$)。これらの現象は平田ら⁵の、仔魚期の体密度変化には概日リズムが存在し、生体的な周期性を示す、との報告と合致した。

4. 考察

これまでにカンパチ⁵ やクエ⁶など多くの魚種で沈降死亡を予防するために研究がおこなわれてきたが、キジハタでは日齢 4 付近で最も多く沈降死亡が発生すると言われてきた。本研究で仔魚個体の体密度を測定したが、まだ遊泳力のない日齢 3 (12 時) には海水密度とほぼ等しくなり中性の浮力を示すと考えられる。この直後から沈降死亡が徐々に発生すると推測され、本研究でも日齢 4 の早朝に沈降死亡による大量減耗が確認されたことから、一般におこなわれているエアレーションによる対流での飼育水槽内の仔魚の鉛直分布の調整は、日齢 3 (12 時) から始める必要があると考えられる。

参考文献

- 興世田兼三, 照屋和久, 菅谷琢磨, 関谷幸生, Nippon Suisan Gakkaishi, 72(4), (2006), pp. 702-709.
- 萱野泰久, 何玉環, 原隆, 福永丈人, 水産増殖, 46(2), (1998), pp. 213–218.
- 山野井英夫, 近藤正美, 藤井義弘, 田川正朋, 水産増殖, 47 (4), (1999), pp. 589–593.
- (財)日本規格協会, (1999), pp. 5–10.
- 照屋和久, 浜崎活幸, 橋本博, 片山俊之, 平田喜郎, 鶴岡廣也, 林知宏, 虫明敬一, Nippon Suisan Gakkaishi, 75; (1), (2009), pp. 54-63
- 平田喜郎, 浜崎活幸, 照屋和久, 虫明敬, Nippon Suisan Gakkaishi, 75; (4), (2009), pp.652-660

モクズガニの astaxanthin の蓄積効果

千葉科学大学 [†]危機管理学部, [‡]薬学部
溝井健太, [†]山口太一, [†]高橋正人, [‡]山下裕司[‡]

1. 背景、目的

Astaxanthin (以下 astx) は赤橙色を示す色素 (Figure 1) であり, carotenoid の一種である。自然界では甲殻類やサケ, タイなどの水産生物や, 植物, 微生物など幅広い生物に含まれている。¹ Astx は活性酸素消去作用を始め, 様々な効果を有することが報告されており,² 健康食品が販売されるなど脚光を浴びている。現在, 市場に流通している astx は, ヘマトコッカス藻 (*Haematococcus* spp.) から抽出されたものが大半を占めており, ヒトに対する豊富な安全性試験成績を有している。³

また水産分野においても, astx は養殖マダイの体色改善効果を有することが報告されている。⁴ さらに近年, チュウゴクモクズガニを始め,⁵ 楊貴妃メダカ⁶やエンゼルフィッシュ⁷などで, ヘマトコッカス藻を給餌した場合の体色を数値的に評価する報告がされている。しかしこれらは, 給餌 astx 量と赤橙色の関係を報告しているが, 試験個体の astx 含有量と赤橙色の関係についての報告はない。

そこで日本固有の水産種であるモクズガニ (*Eriocheir japonica*) を対象に, その astx 含有量向上と体色向上を目的として, astx 蓄積量と赤橙色の関係を解明することとした。本稿では天然個体の astx 定量および体色の数値化について検討した。

2. 方法

平成 29 年 10 月に千葉県湊川より採捕されたモクズガニを用いた。

2.1 Astx 定量 モクズガニ 3 匹 (平均甲幅 54.07 ± 7.11 mm, 平均湿重量 87.17 ± 21.91 g) について, Ohi らの報告⁸を参考に, 抽出液を調製し HPLC (Shimadzu, Kyoto, Japan) を用いて総 astx を定量した。また内標準物質として *trans*-β-apo-8'-carotenal (Sigma-Aldrich, MO, USA) を用いた。

2.2 体色の数値化 モクズガニ 1 匹 (甲幅 57.96 mm, 湿重量 100.0 g) について, Long らの報告⁵を参考に, 茹でる前の甲羅および茹でた後の甲羅において, それぞれ 5 ヶ所を色差計 (KONICA MINOLTA, Tokyo, Japan) を用いて測定し, 色を数値化した。

3. 結果

3.1 Astx 定量 本法における保持時間は, astx_(13-cis) は 11.0 min, astx_(trans) は 12.5 min, astx_(9-cis) は 16.5 min, 内標準物質は 20.0 min だった。測定結果を Table 1 に示す。天然のモクズガニには総 astx が平均 1.35 ± 0.20 mg/kg 含まれることが判明した。

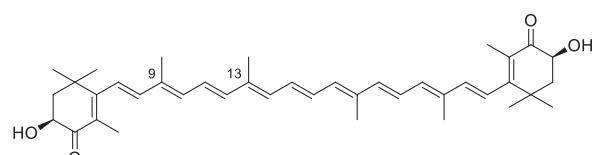


Figure 1. Structure of the all *trans* astaxanthin

Table 1. The amount of astaxanthin in the Japanese mitten crab *Eriocheir japonica*

Entry	Body weight (g)	Total astx (mg)	Total astx/weight (mg/kg)
1	112.3	0.18	1.58
2	90.3	0.12	1.37
3	58.9	0.06	1.09
Average	87.17 ± 21.91	0.12 ± 0.05	1.35 ± 0.20

Data are presented as mean ± SD (n = 3). The total astx was calculated from the following equation:

$$\text{Total astx} = \text{astx}_{(13-cis)} + \text{astx}_{(trans)} + \text{astx}_{(9-cis)}$$

3.2 体色の数値化 測定結果を Table 2 に示す。茹でる前に比べ、茹でた後の甲羅はより明るく (L*値), より赤く (a*値), より黄色く (b*値) なるような数値を示した。これにより天然モクズガニの体色の数値が判明した。

Table 2. Color values of carapace in the Japanese mitten crab *Eriocheir japonica*

	Before boiling	After boiling
L*	32.68 ± 1.80	46.90 ± 1.13
a*	4.51 ± 0.35	17.72 ± 2.69
b*	12.39 ± 1.27	26.06 ± 1.67

Data are presented as mean ± SD (n = 5). The L* value (lightness) represents with a scale of 0 (pure black) to 100 (pure white). The a* value (redness) and the b* value (yellowness) represent color along a spectrum from green to red and from blue to yellow, respectively.

4. 展望

以上より、天然モクズガニの astx 含有量および体色の数値が判明した。今後は、ヘマトコッカス藻より抽出した astx 配合餌料を給餌し、飼育したモクズガニの astx 蓄積量と赤橙色の関係について検証する予定である。

参考文献

- Nishida, Y., オレオサイエンス, 12(10), (2012), 525–531. (In Japanese)
- Itakura, H.; Takahashi, J.; Kitamura, A., *Japanese Journal of Complementary and Alternative Medicine*, 5(3), (2008), 173–182. (In Japanese)
- Takahashi, J.; Hongo, N.; Ohki, S.; Kitamura, A.; Tsukahara, H.; Kyo, H.; Suzuki, N., *Japanese Journal of Complementary and Alternative Medicine*, 12(1), (2015), 9–17. (In Japanese)
- Ito, Y.; Kamata, T.; Tanaka, Y.; Sameshima, M., *Aquacult. Sci.*, 34(2), (1986), 77–80. (In Japanese)
- Long, X.; Wu, X.; Zhao, L.; Liu, J.; Cheng, Y., *Aquaculture*, 473, (2017), 545–553.
- Shioide, Y.; Nakata, K., *Aquacult. Sci.*, 65(3), (2017), 203–208. (In Japanese)
- Kouba, A.; Sales, J.; Sergejevová, M.; Kozák, P.; Masojídek, J., *J. Appl. Ichthyol.*, 29, (2013), 193–199.
- Ohi, Y.; Namiki, T.; Katadae, M.; Tsukahara, H.; Kitamura, A., *Nippon Shokuhin Kagaku Kaishi*, 56(11), (2009), 579–584. (In Japanese)

モクズガニおよびニホンウナギの生殖におけるADAMファミリーの関与

千葉科学大学 薬学部
立原拓真, 川田浩一

1. はじめに

モクズガニは、主に河川を中心として世界的に幅広く生息している。中国では、モクズガニの同属異種であるチュウゴクモクズガニを高級食材として取り扱っているが、日本では食用として市場ですることはほとんどなく、広汎的に食用として利用するためには、養殖技術などの課題が数多く残されている。また、ニホンウナギは、絶滅危惧種として指定されおり、近年漁獲量の激減や完全養殖が困難であることから養殖技術の革新が必須である。

本研究では、モクズガニおよびニホンウナギの養殖の効率化を図るとともに生産性の向上を最終目的とする。まず、本研究では、生殖腺に高発現する A disintegrin and metalloproteinase (ADAM) ファミリーに着目した。哺乳動物において、ADAM ファミリーには複数のサブタイプが存在し、その中でも ADAM10 および ADAM17 は個体の精子形成や受精の促進に強く関わっている¹。ADAM10 および ADAM17 は、 α セクレターゼとして Notch を切断し、生成される Notch 細胞内ドメイン (NICD) が核内に移行することで精子形成や受精の促進などの生理現象を引き起す²。この ADAM ファミリーはチュウゴクモクズガニなどの水生生物にも発現が確認されている³。つまり、モクズガニやニホンウナギにおいても ADAM ファミリーは精子形成や受精を促すことが推察できる。また、哺乳動物において、アリウム属（ネギ属）に含まれる三硫化アリルが ADAM10 および ADAM17 の発現を有意に減少させる一方で、短鎖脂肪酸および多価不飽和脂肪酸は、ADAM10 の活性を有意に上昇させることができることが報告されている^{3,4}。

したがって、本研究では、モクズガニおよびニホンウナギにおいて、三硫化アリルや短鎖脂肪酸などの天然物が ADAM10 および ADAM17 に及ぼす影響を解析するとともに NICD を介した精子形成や受精に与える影響を調査し、モクズガニおよびニホンウナギの飼育環境について考察する。

2. 方法

利根川水系由来のモクズガニの雌雄それぞれから生殖腺を摘出し、イムノプロット法により ADAM10 および ADAM17 の発現を解析した。

3. 結果

モクズガニ 11 例（雄 2、雌 9）の生殖腺（精巣および卵巣）について ADAM10 および ADAM17 の発現を解析したところ、いずれのモクズガニにおいても生殖腺で ADAM10 および ADAM17 の発現が確認された (Fig. 1)。

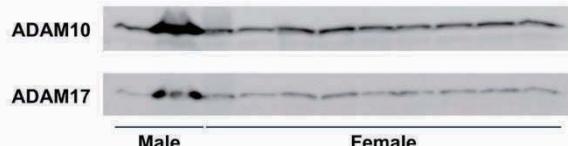


Fig. 1 モクズガニの生殖腺におけるADAM10/17の発現

4. 考察

チュウゴクモクズガニでは、生殖腺で ADAM10 および ADAM17 の発現が確認されており³、利根川水系に生息するモクズガニでもこれらの ADAM タンパク質の発現が生殖腺で確認できた。また、チュウゴクモクズガニの精子形成や受精において ADAM10 および ADAM17 が深く関与することが知られている³。一方、ニホンウナギについては、ADAM ファミリーの生殖腺内の発現は解析されていない。これら ADAM ファミリーの発現が確認できればニホンウナギの稚魚であるシラスウナギの絶対数増加の一助となることが期待できることとともにニホンウナギの養殖を活発に出来ると確信している。したがって、今後の研究では ADAM ファミリーの発現に影響を与える因子である三硫化アリルおよび短鎖脂肪酸や多価不飽和脂肪酸の共存下で ADAM10/17 およびその下流の NICD の発現量の変化を確認し、養殖環境の最適化および効率化へ繋がることを期待する。

参考文献

- Li Q, Xie J, He L, et al., Gene, Vol. 562, No. 1, 117-127 (2015)
- Edwards DR1, Handsley MM, Pennington CJ., Mol Aspects Med., Vol. 29, No. 5, 258-289 (2008)
- Kiesel VA, Stan SD., Biochem Biophys Res Commun., Vol. 484, No. 4, 833-838 (2017)
- Grimm MO, Haupenthal VJ, Rothhaar TL, et al., Int J Mol Sci., Vol. 14, No. 3, 5879-5898 (2013)

食中毒菌の増殖に対するサメ肌抗菌シートの効果の検証

千葉科学大学 薬学部
照井祐介, 坂本明彦

1. 背景

食中毒患者数は、年間20,000人を超え、そのうち細菌が原因となる食中毒は約40%に当たる。食中毒を引き起こす細菌として、サルモネラ、カンピロバクター、大腸菌（腸管出血性、その他下痢原性）、腸炎ビブリオなどがある。細菌が体内で増えて食中毒を起こす「感染型」や細菌が食品中で増殖して毒素を作り、それが原因となる「毒素型」など、食中毒の発生の仕方が細菌によって異なる。いずれにしても、食中毒を防ぐには、食品中に付着する細菌の増殖を抑制することが重要である。

アメリカの研究チームは、サメの肌（鱗）にフジツボや藻類などが付着しないことに着目し、サメの肌を模してシリコンのシート Sharklet AFTMを開発した¹。Sharklet AFTMは、黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* のバイオフィルム形成を抑制するが、シート自体が厚く、可塑性に欠け、汎用性が低い。そこで我々は、可塑性に富んだアクリル酸系樹脂を用いてサメ肌シートを開発した²。このサメ肌シートを用いて、緑膿菌 *Pseudomonas aeruginosa* 及び黄色ブドウ球菌 *Staphylococcus aureus* のバイオフィルム形成や細菌の運動性（swarming motility）に対する効果を検討したところ、サメ肌に加工していない Smooth シートと比べ、バイオフィルム形成及び Swarming motility をおよそ70%阻害することを見出した。さらに、植菌数を減少させると、ほぼ完全に増殖を抑えることから、我々が普段生活している環境における菌数においてサメ肌シートは、非常に高い抗菌効果を示すことを明らかにした²。

これまでの研究により、好適環境水を用いた魚類の飼育水において、細菌の増殖が減少するという基礎データが得られている。したがって、好適環境水で魚類を養殖し、好適環境水を輸送水として用いることで、細菌汚染を抑えた安心・安全な輸送が可能となる。さらに、サメ肌抗菌シートのパッケージなどによる鮮魚輸送が可能となれば、さらなる品質向上が見込まれる。そこで本研究では、食中毒の原因菌である大腸菌 *Escherichia coli* 及び腸炎ビブリオ *Vibrio parahaemolyticus* を用いて、サメ肌抗菌シートによる細胞増殖抑制効果を検証した。

2. 結果及び考察

サメ肌で凸凹のある抗菌シートを液体培地中に加え、振とう培養により *E. coli* 及び *V. parahaemolyticus* の細胞増殖速度を測定したところ、無添加（シート無し）及び Smooth シートに比べて細胞増殖速度に変化は見られなかった。次に、*E. coli* を0.5%寒天培地に植菌し、その上にシートを被せ、Swarming motility の抑制効果を比較したところ、Smooth シートに比べ Shark skin シートではおよそ65%の抑制効果を示した。これらの結果から、これら抗菌シートは静置培養下において、Swarming motility を強く阻害することが明らかになった。次に、Swarming motility 測定に用いたシートを走査型電子顕微鏡により解析し、それぞれのシートにおける付着菌数を調べた。その結果、Shark

skin シートへの付着菌数は、Smooth シートに比べおよそ

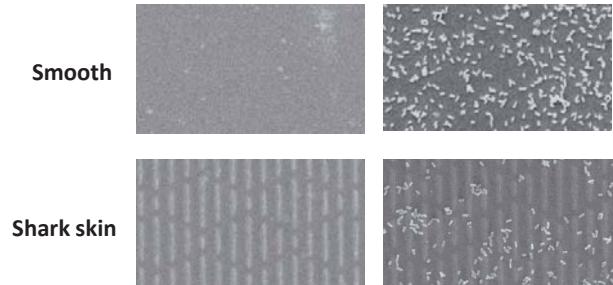


図1 サメ肌抗菌シートによる大腸菌の増殖阻害

70%抑制された（図1）。このことから、サメ肌抗菌シート（Shark skin）は菌の細胞増殖を抑制することで、Swarming motility 抑制に関与していることが示唆された。*V. parahaemolyticus*においても同様の実験を行い、*E. coli* と同様な結果が得られたが、再現性を得るまでには至っておらず、培養条件等、更なる検討が必要である。

3. 今後の課題

このようにサメ肌様に加工したシートによる食中毒菌の抗菌効果が得られたが、シートに使用しているアクリル酸系樹脂は、食品には使用できないため、現在食品にも使用できるサメ肌抗菌シートを作製中である。したがって、来年度以降では、*V. parahaemolyticus* の実験条件を確立するとともに、新たな抗菌シートによる抗菌効果を検討する予定である。

4. 参考文献

- Chung KK, Schumacher JF, Sampson EM, Burne RA, Antonelli PJ, and Brennan AB. Impact of engineered surface microtopography on biofilm formation of *Staphylococcus aureus*. *Biointerphases*, 2, (2007), 89-94.
- 特許：株式会社シンク・ラボラトリ. 「非電導性抗菌シート及びその製造方法並びに抗菌方法」. W02015/072364, (2015).
- Sakamoto A, Terui Y, Horie C, Fukui T, Maszawa T, Sugawara S, Shigeta K, Shigeta T, Igarashi K and Kashiwagi K. Antibacterial effects of protruding and recessed shark skin micropatterned surfaces of polyacrylate plate with a shallow groove. *FEMS Microbiol Letter*, 361, (2014), 10-16

銚子青魚ブランド化委員会の設立に関する報告

千葉科学大学 危機管理学部
伊永隆史, 小濱剛, 八角憲男

1. はじめに

千葉科学大学研究プランディング事業においては、水産物水揚げ高 7 年連続日本一を誇る銚子漁港に揚がるサバ、イワシ、サンマ、アジ、マグロ、ブリ、カツオ、フグなどのうち、本事業に相応しい銚子の青魚をブランド化し、銚子地域に足を運んで食べてもらえる仕組みを整える。

平成 29 年度は生サバのアニサキス問題をクリアするには冷凍が必須であることから、工業化と生食に適する魚種として生サバ食用の可能性を追求することとした。

そのうえで、生食用魚としての国内展開と同時に海外展開（輸出）を含めた青魚のブランド化を追求いくことが産官学で構成された本委員会の目的である。

2. 銚子青魚ブランド化委員会の設置

銚子の未来を憂う若い企業人の参加を得て、特にサバなどを生で食べる文化がない外国人を対象に、成田に近いメリットを活かし、外国人向けの試食会をツアーバスなどを運航して、ホテルやウォッセ、セレクト市場などで実施することを目標に、産官学の委員メンバーを集めることとする。

2.1 世界遺産となった和食文化に乗じて銚子の新鮮な水産物を世界へ発信

水産業の盛んな銚子市は、青魚を中心に日本一の水揚げ量を誇る。一方、その主要インフラは、漁獲→冷凍・加工→出荷という流れになっており、新鮮な水産資源の大半は銚子を素通りしている。このような主要インフラに工夫を凝らし、新鮮な水産資源を地元の観光食資源として有効活用する。特に漁獲量が多い青魚（イワシ、サバ、サンマなど）を中心に、安く、美味しく、鮮度良く食べられる仕組みを考え、ブランド化するとともに、銚子地域に足を運んで食べてもらえる仕組みを考える。

2.2 世界の観光客を成田空港から銚子へ呼び込み試食会を実施

成田に近いメリットを生かし、外国人観光客向けのツアーバスなどを運行して、ウォッセや犬吠埼ホテルなどで試食会を実施する。次年度は、千葉県が夏期に運行している無料ツアーバスのイベントとして加えてもらえるよう、働きかける。試食会では、青魚の生食を中心に、銚子の名産となる水産物（金目鯛、メヒカリ、ホウボウなど）の煮付けや唐揚げなども併せて試食してもらい、外国人の評価を確認する。

外国人観光客でブームを起こせば、結果的に日本人を対象とするより、国内の宣伝効果も上がる可能性がある。

2.3 銚子青魚ブランド化委員会の立ち上げ

銚子はサバの水揚げが高く、サバをおいしく食べること（加工の仕方）について、意見交換を行うことでサバをブランド化に繋げていけるとすばらしく、大学が地域貢献の一環として行っていきたいと、木曾学長から挨拶があった。

2.4 銚子水産物の国外向け販売の現状について

有限会社島長水産の島田社長から、民間の力で稼ぐことを目的とした事業、銚子市観光 DMO 準備室と連携を図ることで、外川地域のプラットフォームづくり（DMC カンパニーづくり）を進めているとの報告がなされた。な

お、農水産官金及び観光協会として複合体の銚子観 DMO づくりを行っていきたい。また、マーケティングとマネジメントが必要であり、キンメダイを活用した食に関する事を活用していくため、皆様の力を貸りて、銚子の PR を含めた発信力が必要との講演がなされた。

2.5 サバの生食について

当日獲れたサバを宮澤食品において急速冷凍し、真空パックにしたもの（試作品）をもってきており、今後の大学との連携により製品化に向けて課題をクリアしたいため、試食を行って意見等がほしいとの説明がなされた。また塩だれに付けたサバの刺身、サバの押寿司等は、真空・冷凍したサバを解凍し、盛り付けを行っているため、（下図）食べ比べて感想や意見がほしいと依頼があった。



3. 銚子市における生サバ料理の評価と総括、並びに銚子青魚ブランド化委員会のキックオフについて

参加者 33 名に対し、サバの生食について評価結果の意見集約がなされた結果、銚子漁港に水揚げされたサバの中でも特に大きいサバを厳選してブランド化につなげていくことで、銚子市の PR にも繋げられることは素晴らしい。おいしいサバを地元に居ても知らなかつたため、外部に発信する力を進め、サバの感想を外部の方にも知つてもらえるようにしたいなどの意見があつた。

サバ自体がどれもおいしかったため、インバウンドの外国人観光客にも是非食べてもらいたく、産官学金を通じて発信力を高めていき、銚子青魚のブランド化を進めてほしい。サバは煮魚や焼き魚として食していたが、普段生食が出来ないサバをおいしく食べることができた。11 月からサバの水揚げがはじまり、多い時で 1 日に 6 千トンの水揚げがなされており、サバ生食のブランド化を進めてほしいなどの意見が出された。

大学側からも、サバの成分の分析は行うことができるが、サバの細胞を冷凍した際に何かに応用できないか今後検討したい。サバ生食に関して健康に良いということが科学的に証明できれば、今後のブランド化につなげることがきるとの意見があつた。

以上の総括がなされた後、銚子青魚ブランド化委員会の委員長は八角教授、副委員長は島田氏、上野氏に決定され、異議なく承認された。

平成 30 年度には、生サバを含む銚子青魚を食べさせる成田インバウンド観光ツアーバスを運行する計画である。

参考文献

1. 読売新聞、平成 29 年 11 月 17 日（2017）
2. 日本経済新聞、平成 29 年 11 月 21 日（2017）
3. 千葉県水産総合研究センター、流通加工研究室技術資料（2017）

「熟成塩ダレ」中の微生物叢の解析

千葉科学大学 薬学部
奥山健斗, 福井貴史, 中山美月, 小林照幸

1. はじめに

日本で水揚量が最も多い魚種はサバ類であり、年間約 50 万トンが水揚げされ、日本の総漁獲の約 10%を占める。銚子漁港においては平成 28 年におけるサバ類の水揚げ量は約 16.5 万トンと、総水揚げ量の約 60%を占める。実に日本の総漁獲量の 30%以上のサバ類が銚子に水揚げされており、銚子漁港で取り扱う主要な魚種となっている¹⁾。漁獲されるサバ類はその多くが加工用原料として一律に凍結され、食用から飼料まで様々な用途に向けられているため、生食に供される量は極めて少ない。理由としてヒスタミンやアニサキスによる食中毒予防が第一に挙げられるが、一方で関さばや松輪サバのように、徹底した鮮度保持により生食を可とすることでブランド化し商品価値を高める機会を逸失しているともいえる。

そのような中で、銚子うめえもん研究会、及びカントリーハウス海辺里（つべり）店主である渡辺義美氏は銚子で水揚げされたサバの生食を可能とするため、魚介類の鮮度保持・加工・保存のための技術開発に取り組み「熟成塩ダレ」の製法を確立し、製法特許を取得するに至った（特許番号 4309375 号）²⁾。この「熟成塩ダレ」はカキ殻アルカリ、香味野菜、及び海藻を、素焼の甕で熟成した天然発酵液であり、鮮度保持、旨味向上、嬌臭作用に優れた効果があることが経験上わかっているが、発酵食品である「熟成塩ダレ」に含まれる有用微生物の同定などの微生物学的分析はいまだなされていない。

我々は様々な条件下で「熟成塩ダレ」より微生物を培養・分離し、単離された微生物を分子遺伝学的手法により同定することを試みた。

2. 実験方法

「熟成塩ダレ」を普通寒天培地、MBS 乳酸菌培地、サブロー培地、及びそれぞれの培地に「熟成塩ダレ」の食塩濃度と等しくなるように終濃度 20% で NaCl を加えた培地、合計 6 種類の培地を用いて、好気的環境下において 20, 25, 30, 35, 40, 45°C の各温度で培養し、24 時間にコロニー数を計測した。得られたコロニーより単離培養し、そのゲノム DNA を DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen) を用いて抽出・精製した。ゲノム DNA を鉄型とし 16S rRNA 遺伝子、及び rDNA ITS1 領域を PCR 法により増幅した。増幅 DNA の塩基配列情報を確認し、BLAST により既知の塩基配列情報と比較し、微生物種の推定を行った。

3. 結果

NaCl を加えない普通寒天培地、MRS 乳酸菌培地、サブロー培地では、20~35°Cにおいて培養 48 時間よりコロニーが観察され「熟成塩ダレ」1mLあたり $2.0 \sim 3.0 \times 10^5$ CUF / mL 程度のコロニーが形成された。40, 45°Cではコロニーは形成されなかった（図）。一方で、20% 塩化ナトリウムを添加した 3 種の培地では、20% NaCl 普通寒天培地のみでコ

ロニーが形成された。35°Cで培養した場合、96 時間後に約

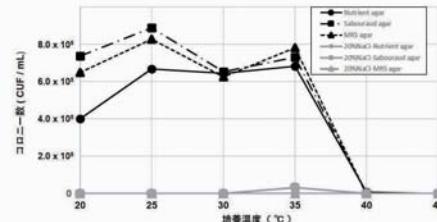


図. 96 時間後における各培養条件で形成されたコロニー数

3.0×10^4 CUF / mL のコロニーが形成された。40°Cで培養した場合では 96 時間後に約 6.0×10^3 CUF / mL のコロニーが形成された（図）。さらに 120 時間後では約 1.3×10^4 CUF / mL に増加した。各培地から得たコロニー 6 種類 (MRS20, N25, S35, NNaCl35, NNaCl40fast, NNaCl40slow) より単離培養し、ゲノム DNA を抽出し 16S rRNA 遺伝子、及び rDNA ITS1 領域を PCR 法により増幅したところ、全ての菌種で 16S rRNA 遺伝子のみが増幅された。増幅産物の塩基配列を確認し、データベースとの比較を行ったところ、NaCl を添加しない培地から分離された MRS20, N25, S30 の 3 種のコロニーに由来する細菌は全て *Sphingomonas* 属細菌と 97 ~ 99% 一致した。また、NaCl 添加培地から分離された NNaCl35, NNaCl40fast, NNaCl40slow の 3 種のコロニーに由来する細菌は全て *Chromohalobacter* 属細菌と 98 ~ 99% 一致した。

4. 考察

単離された *Sphingomonas* 属は、淡水と海水を含む水環境、土壤などに広く環境中に生育している細菌である。グラム陰性細菌でありながらリボ多糖を含まず、スフィンゴ糖脂質を持つ細菌として知られる。また *Chromohalobacter* 属は 2007 年に日本の塩蔵食品から単離された好塩菌 *C. japonicus* sp. もしくはその近縁種と考えられた³⁾。今回の結果はいずれも好気的環境において限られた培地によって単離されたものである。よって、得られた 2 種の細菌の正常解析を進めるとともに、より「熟成塩ダレ」の熟成環境に近い嫌気的環境下における培養を行うなど更なる解析が必要であると考えられた。現在、次世代シーケンサーによる「熟成塩ダレ」微生物叢の網羅的な解析を進めている。

参考文献

- 銚子市漁業協同組合 データファイル
<http://www.choshi-gyokyo.jp/data/index.htm>
- カントリーハウス海辺里ウェブサイト
<http://tuberi.jp/newpage2kakigaranokaseika.htm>
- Sánchez-Porro, C., et al., *Int J Syst Evol Microbiol.*, Vol. 57, No. 11, (2007), pp. 2262-2266

平成 29 年度 千葉科学大学研究ブランディング事業
『「フィッシュ・ファクトリー」システムの開発及び「大学発ブランド水産種」の生産』
に対する評価について

千葉科学大学

学長 木曾 功 殿

平成 30 年 3 月 1 日

以下のとおり、貴学研究ブランディング事業における『研究の手段、方法及び成果』に対する評価コメントを記します。

1. 『研究の手段、方法及び成果』に対する評価コメント（総論）

貴学研究ブランディング事業において、①「大学発ブランド水産種の陸上養殖技術開発」及び②「鮮魚・活魚の安心安全・品質向上を目指した技術開発」に取り組まれているところであるが、平成 29 年度における研究は実施計画のとおり進捗していると思われる。

①においては施設・設備の整備が行われた上、好適環境水下での飼育試験等の一部の試験は計画を前倒しして実施されている。また、いくつかの研究では養殖技術のための基礎知見が得られ、今後の研究に繋がるものと思われる。

②においては好適環境水下での細菌や免疫等に係る試験が実施されており、試験結果に基づいた今後の方向性が示されている。また、新たな研究対象としてサバについても取り組まれている。

本事業の目的は地域の水産業に好適環境水等の新技術を導入し、産業の活性化に繋げるものであることから、地域の要望等を適切に把握するとともに地域の水産業と連携して活用を図っていただきたい。

2. 各研究に対する評価コメント（各論）

銚子の重要な水産物であるサバ類が新たな研究対象として課題に追加されており、今後も地元のニーズを踏まえて柔軟に課題設定の対応をしていただきたい。

団体名 : 千葉県銚子水産事務所

所属長 : 千葉県銚子水産事務所長 小嶋 一隆

平成 29 年度 千葉科学大学研究プランディング事業
『「フィッシュ・ファクトリー」システムの開発及び「大学発ブランド水産種」の生産』
に対する評価について

千葉科学大学

学長 木曾 功 殿

平成 30 年 3 月 1 日

以下のとおり、貴学研究プランディング事業における『研究の成果、及びその方法等』に対する評価コメントを記します。

1. 『研究の成果、及びその方法等』に対する評価コメント（総論）

良質な動物性たんぱく質と健康に良いといわれている DHA と EPA が摂取できる魚介類であるが、漁業は自然環境によって大きく左右され、とくに漁獲量については環境変化の影響を受けやすく、常に不安定である。このような中、養殖は、魚介類の安定した供給源として期待されるところである。しかしながら、海面養殖には、赤潮、ウィルス、天候など外的要因に影響を受けるリスクを抱えている。この点、陸上養殖は、外的要因からなるリスクの軽減が見込まれ、さらに好適環境水においては、貴学プランディング事業研究報告書によると、成果として、コストの低減、魚の成長の速さ、病気のかかりにくさが報告されている。今後の研究の進展に期待したい。

現在、銚子市では、漁業者の所得の安定に資するため、銚子産魚種のブランド化を推進していきたいと考えている。このような中、貴学プランディング事業の一環として銚子青魚ブランド化委員会を設立したことは、市の施策と合致しており、継続し推進してもらいたい。

2. 各研究に対する評価コメント（各論）

研究報告書により、好適環境水がコストの低減、魚の成長の速さ、病気の予防に効果的であることが確認できた。その中で、アンモニアの除去に、より効果的な細菌の探索、好適環境水の効果が確認できなかった細菌への対処、飼育対象魚種に適した成分比の探求など課題も浮かび上がっており、今後の研究の進捗状況に注目していきたい。

団体名 : 銚子市

担当者 : 水産課長 浪川 秀樹