

生殖細胞の凍結保存による絶滅危惧魚種の遺伝子資源の保存

著者	吉崎 悟朗
雑誌名	冷凍
巻	91
号	1069
ページ	783-788
発行年	2016-11
権利	Posted with approval of Japan Society of Refrigerating and Air Conditioning Engineers
科学研究費研究課題	サケ科魚類の進化に伴うGSC制御機構の変化
研究課題番号	25114005
URL	http://id.nii.ac.jp/1342/00001604/



3. 生殖細胞の凍結保存による 絶滅危惧魚種の遺伝子資源の保存

Preservation of Genetic Resources of Endangered Fish Species
by Cryopreservation of their Germ Cells

キーワード：凍結保存, 生殖細胞, 魚類, 絶滅危惧種, 細胞移植

Cryopreservation, Germ cell, Fish, Endangered species, Cell transplantation

吉崎 悟朗 Goro YOSHIZAKI

1. 絶滅危惧魚類の現状

現在、世界中で多くの魚種が絶滅の危機に瀕している。魚類の資源量の減少の原因には2つの主要因が存在する。まず一つ目は過剰な漁獲である。20世紀以降の急速な漁具、漁船の性能向上に伴い、現在世界の多くの海域、水域において過剰漁獲が問題になっている。2006年にScience誌に掲載された論文のシミュレーションによると、現在のままの漁獲強度が継続した場合、2048年には利用可能な水産資源が枯渇すると報告されている¹⁾。二つ目の原因は環境破壊である。海域では沿岸部の埋め立てが進み、多くの魚種の仔稚魚期の生息場所が消失している。さらに生息環境の破壊は淡水域でも顕著である。我が国の多くの河川では、護岸のコンクリート化が進み、極端な例では河底もコンクリートで固められた、いわゆる三面護岸化（両岸に加え、底面もコンクリートで固められること）が進んでいる。河川で産卵する多くの魚種では、卵の正常な発生には河底からの湧水が重要であることから、三面護岸化が魚類の再生産に及ぼす影響は計り知れない。さらに、多くのダムや堰堤によって河川は寸断化され、個々の集団は移動が困難になり、これらの個別集団内での交配を繰り返すことにより、近交化が進んでいる。さらに、サケマス類に代表される淡水域と海水域を行き来する魚種にとっては、その生活史を淡水域のみで完結させる必要が生じている。

過剰漁獲の問題は、科学的根拠に基づいた漁獲規制を行うことで解決可能であるが、この措置は漁業者および加工業者などの経済活動を制限することになり、その実行には多くの障害がある。一方、破壊された生息環境を修復することはもっとも重要な課題であるにも関わらず、これにはきわめて長い時間が必要であるうえ、多くの場合、治水、利水との関係からその実効性はきわめて乏しいのが現状である。

2. 絶滅危惧種の遺伝子資源の長期保存

上述のような現状において、絶滅危惧魚類を保全していくために考えられる一つの方策は配偶子の凍結保存であろう。これについては魚類でも多くの研究がなされており、精子は通常の哺乳動物で用いられるのと同様の方法で、問題なく凍結保存が可能である²⁾。しかし、魚類の卵はその大きさが極端に大きく、大量の卵黄成分や脂肪分を含むうえ、細胞膜の透過性が低いことから、その凍結がきわめて困難である。実際に卵子の凍結保存が可能になっている哺乳類の卵は、その直径が100 μm以下であるが、魚類の場合、多くの海産魚でその直径が1 mm程度、サケマス類に至っては6~8 mm程度もあり、直径で比較しても哺乳類の10倍以上、体積では1000倍以上ということになる。繰り返しになるが、このような特性を持つ魚卵の凍結保存技術は現在までに確立されてない（数報の論文は存在するが、いずれの論文も他のグループによる追試には成功していない）。

3. 始原生殖細胞の凍結とその移植

そこで筆者らは、性的に未熟な生殖細胞であり、卵と精子の両者の起源細胞である始原生殖細胞に着目した。これらの細胞は大きさが直径15 μm程度であり、凍結保存が可能になっている哺乳動物の細胞と比較しても十分に小さな細胞である。さらに卵黄や脂肪分を含まないため、細胞の凍結保存が容易に可能であると考えた。すなわち、凍結が容易な始原生殖細胞の段階に凍結保存を行い、必要に応じて、これらの凍結始原生殖細胞から機能的な卵や精子を生産しようという戦略である。実際に、これら始原生殖細胞を含む未熟な生殖腺（将来の卵巣か精巣のいずれか）をニジマスの孵化直後の仔魚から単離し、1.8 Mのエチレングリコール、5.5 mMのD-グルコース、0.5%ウシ血清アルブミンを含む凍結保存液で15分間平衡化後に、毎分-1℃の速度で-80℃まで緩慢凍結を行った後、液

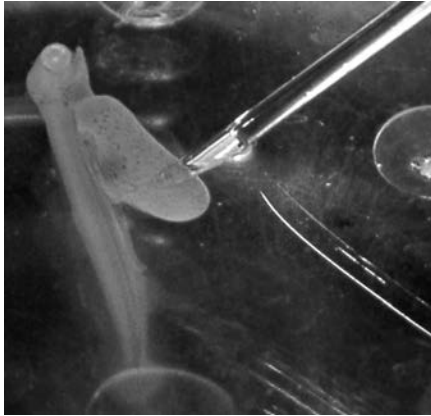


図1 始原生殖細胞の宿主孵化仔魚の腹腔内への移植

体室素内で保存することで、解凍後も約50%の始原生殖細胞が生残していることが明らかとなった³⁾。

ここで重要な課題は、このように凍結融解した始原生殖細胞をどのようにすれば成熟した卵や精子に改変できるのかという点である。この課題を解決するために筆者らは、10ヶ月間液体窒素内で凍結したニジマスの始原生殖細胞を解凍後、孵化直後のニジマス仔魚の腹腔内へ約10細胞ずつ移植した(図1)。なお、本実験ではクラゲの緑色蛍光タンパク質(GFP)の遺伝子を導入することで、始原生殖細胞を緑色蛍光で可視化したニジマスを材料に用いた⁴⁾。すなわち、移植した始原生殖細胞が特異的に緑色蛍光を発するために、宿主個体内での移植細胞の挙動を簡便に、かつ確実に判別することが可能である。ニジマスに限らず多くの動物種では、卵から孵化する前後の発生の早い時期は免疫系が未熟であり、異個体由来の細胞を拒絶する能力を兼ね備えていないことが古くから知られている。すなわち、異個体由来の細胞であっても宿主の免疫系が成熟する前に移植を行えば、移植されたドナー由来の細胞が拒絶されないであろうということを期待したのである。さらに、始原生殖細胞は発生の初期過程において生殖腺の外で誕生し、その後、仮足という突起を伸長しながらアメーバ運動によって生殖腺に向かって移動することが知られている。すなわち筆者らは、移植用細胞は腹腔内にさえ移植すれば、移植されたドナー細胞が自らの将来の住処である宿主の生殖腺を探し出し、そこにアメーバ運動によりたどり着くであろうことを期待した。そこで、実際に凍結始原生殖細胞を腹腔内に移植した宿主を、移植30日後に解剖し、移植した始原生殖細胞が宿主の生殖腺にまで移動し、そこに取り込まれているかを確認した。その結果、移植個体の約20%の個体で、これら移植した始原生殖細胞が宿主の生殖腺へと取り込まれている様子が確認された(図2)³⁾。続いてこれら始原生殖細胞の移植を行った宿主を飼育し、これらの個体がドナー由来の(すなわち凍結始原生殖細胞

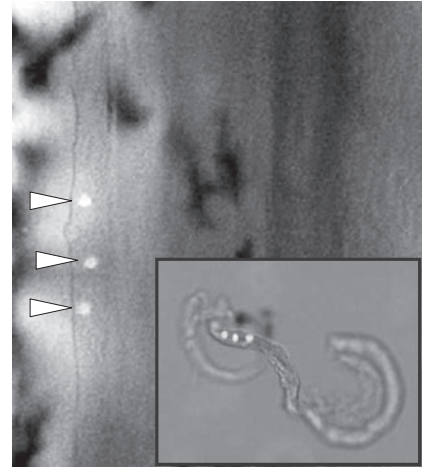


図2 移植した始原生殖細胞(矢尻)の宿主生殖腺への取り込み

由来の)卵や精子を作り出せるのかを確認した。その結果、移植を施した宿主の10%程度の個体が、移植細胞由来の卵や精子を生産し、これらを受精させることで正常な次世代個体を生産できることを確認した³⁾。このように始原生殖細胞の凍結保存とその移植によって、凍結細胞から機能的な卵を生産することが魚類で初めて可能になった。しかし、これらのアプローチで絶滅危惧種の保全を行うためには、凍結に用いるべく始原生殖細胞を大量に野生個体から回収することが必要になる。しかし実際に多くの絶滅危惧種では、孵化仔魚を大量に集めるという作業そのものがきわめて困難であるうえ、1個体から回収可能な始原生殖細胞はニジマスで20~30細胞と多くはない。そこで、次に実際の絶滅危惧種に、より容易に応用することが可能な方法論の開発を進めた。

4. 精原細胞の宿主個体への移植

そこで、筆者らは雄個体が生涯にわたり精巣内に保持している精原細胞に着目した。この細胞は直径が10 μ mと小型であり、始原生殖細胞同様に凍結保存が容易であると予想された。また、哺乳類の研究では、この精原細胞内に幹細胞としての能力、すなわち自らと同じ細胞のコピーを生み出す能力(自己複製能)と、精子を生産する能力(分化能)を併せ持つ細胞集団が含まれていることが既に明らかになっていた。また、多くの魚類の精巣には大量の精原細胞が存在しており、実際に全長15cm程度の小型のニジマスからも100万個単位の精原細胞の回収が可能である。本実験でも、クラゲの緑色蛍光タンパク質(GFP)の遺伝子を導入することで、精原細胞を緑色蛍光で可視化したニジマス⁴⁾を材料に用いた。まず、成魚から単離した精巣をトリプシンを用いて解離した後、始原生殖細胞の移植と同様の方法を用いることで、精巣細胞の懸濁液をニジマスの孵化仔魚の腹腔内へと移植し

た。その結果、成魚から調整した精原細胞であっても、孵化直後の性的に未分化な仔魚の腹腔内へと移植すれば、自発的に精原細胞が宿主生殖腺へと移動し、これらの細胞がそこに取り込まれることを見出した。ここで移植を施された宿主が雄であった場合、ドナー由来の精原細胞は宿主精巣内で精原細胞から精母細胞、さらには精細胞をへて、機能的な精子へと分化することが明らかになった。すなわち、成魚精巣内から単離した精原細胞を移植した場合であっても、これらの細胞は、(発生段階が異なる) 仔魚の生殖腺が保持する体細胞と協調して、精子形成を再開することが可能であることが明らかとなった⁵⁾。

一方、雌の孵化仔魚を宿主に用いた場合は、成魚由来の精原細胞が宿主の卵巣内に取り込まれ、そこで卵原細胞、卵母細胞をへて成熟卵にまで分化することが明らかになった。さらに、得られた卵(精原細胞に由来する卵)を人工授精に供した結果、完全に正常な次世代個体を生産可能であることも明らかとなった⁵⁾。この事実は、従来、精子への分化能しか保持していないと考えられていた精原細胞が、卵へも分化する能力を併せ持っていたことを意味している。さらに、このような精原細胞の性的可塑性は、性分化直後の個体が保持する精原細胞のみならず、既に成熟を経験している成魚が保持している精原細胞にも存在していることが確認された。これらの生物学的な発見以上に、この事実は、生殖細胞移植を実用化していく上での大きなブレイクスルーとなった。すなわち、精原細胞を孵化仔魚へと移植すると、宿主の性に依りて精子にも卵にも分化可能という事実は、この細胞を前述の始原生殖細胞の代用として利用可能であることを意味している。前述したとおり、精原細胞は始原生殖細胞と異なり、雄さえいけば、季節や当該個体の年齢を問わず、いつでも大量に入手することが可能な細胞であるため、精原細胞移植系の確立は生殖細胞移植実験の汎用化に大きく貢献した。

5. 精原細胞の異種間移植

精原細胞の異個体間移植が成立したことにより、遺伝的に異なるドナーと宿主間でも精原細胞の移植が可能であることが明らかとなった。そこで、筆者らはこの方法を駆使すれば異種間でも精原細胞の移植が可能であろうと考えた。これが実現すれば、絶滅危惧種の精原細胞を凍結保存さえしておけば、たとえ当該種が絶滅した場合でも、近縁種にこれらの凍結細胞を移植することで(異種の卵巣や精巣を借りて)、絶滅種の卵や精子を生産することが可能になる。言い換えると、代理親魚(だいらしんぎょ)の力を借りて絶滅種を蘇らせることが可能になるわけである。そこで筆者らは、ニジマス精原細胞をヤマメ宿主へと移植する異種間の精原細胞移植実験に挑

戦した。今回の実験では、始原生殖細胞移植とは異なり、一尾の宿主あたり10000細胞以上の細胞を移植に供した。移植後、2年目の産卵期に雄宿主の一部が成熟したので、得られた精液からDNAを抽出し、GFPプライマーを用いてPCRを行った結果、約半数の個体でGFP遺伝子の存在、すなわちニジマス由来の精子が生産されていることが明らかになった。さらに、これらの精子を通常のニジマス卵と受精させた結果、約60%の個体に由来する精子において次世代で完全なニジマスを生産することが可能であった(他の個体においては、ニジマス精子の寄与率が低く、実験に供試したF1個体中で検出できなかったものと考えられる)。また、この際のドナーニジマス由来のF1個体の出現率は、平均で20%程度であり、上記の始原生殖細胞を用いた実験よりかなり高い移植効率が得られた。一方、雌個体においても38尾の排卵したヤマメ宿主のうち、1個体由来する次世代で2尾のドナー由来のニジマスを得ることに成功した。以上のように、大量に調整可能であり、卵・精子の両者に分化可能という特徴を備えた精原細胞を移植に用いることで、雄宿主におけるドナー由来ニジマスの作出効率を飛躍的に改善できた⁶⁾。

以上のように、精原細胞の利用は筆者らの一連の研究の大きなブレイクスルーであったが、残された課題は、宿主が生産するF1世代に、ドナー由来個体のみならず、宿主自身が生産した配偶子に由来する個体が大量に含まれるという点である。そこで筆者らは、次にニジマスしか生まないヤマメの作出に挑戦した。

6. 三倍体の不妊化ヤマメにニジマスを産ませる

ニジマスしか生まないヤマメということは、このヤマメ宿主は自分自身の配偶子を作らないということである。そこで、筆者らは三倍体ヤマメの利用を考えた。通常の個体は2セットの染色体を持つ二倍体である。脊椎動物の卵は一般に、第二減数分裂の中期で受精を迎える。その後、精子の卵内への侵入が引金になって減数分裂は再開し、第二極体として1セット分の余計な染色体が卵外へと放出される。その結果、卵核と精子核に由来する2セットの染色体を保持する二倍体個体が生まれるのである。魚類を含む下等脊椎動物では、受精卵から第二極体が放出される直前に、受精卵を温水に浸すことで第二極体の放出が阻害され、通常の個体より1セット余計な染色体セットを保持する三倍体が作出できる。サケ科魚類については、受精後15分前後に28℃の温水に15分間浸すという条件で、ほぼすべての処理卵を三倍体化することが可能になる。これらの三倍体個体は正常に発生、成長するが、得られた個体は不妊になる。一部の魚類では三倍体の雄個体が異数性の精子を作ることが知ら

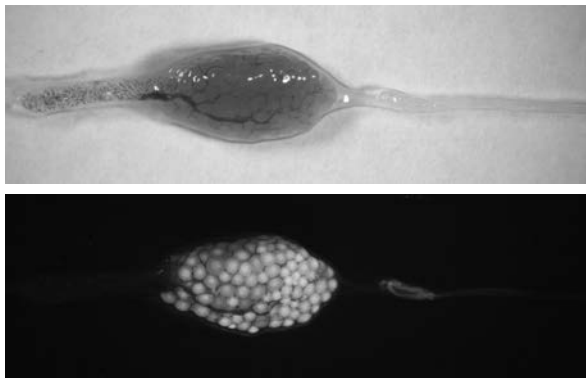


図3 三倍体のヤマメ宿主卵巣に形成されたドナーニジマス由来の卵母細胞のコロニー
上段：明視野像，下段：蛍光視野像

れているが、ヤマメに関しては雌雄ともに完全な不妊になることが確認されている。そこで、筆者らは三倍体のヤマメ宿主に、通常のニジマス由来の精原細胞を移植する実験を試みた。得られた宿主個体を継続飼育し、産卵期直前に雄個体の精巣の組織学的解析を行ったところ、三倍体ヤマメは精原細胞しか保持していなかったのに対し、ニジマス細胞を移植した三倍体ヤマメ精巣は成熟精子が充満していることを見出した。残りの雄個体を飼育し、産卵期に精液の作出を試みた結果、約30%の三倍体雄ヤマメ宿主が正常な二次性徴を示し、精液を採取することが可能であった。なお、ニジマス細胞を移植していない通常の三倍体個体からはまったく精液を採取することは不可能であった。さらに、雌の三倍体個体の卵巣を観察したところ、卵黄蓄積が進んだ卵母細胞はまったく認められず、糸状の卵巣を保持していたのに対し、ニジマス細胞を移植した三倍体ヤマメの卵巣は、典型的な糸状の卵巣の一部に、二倍体ヤマメと同様に卵黄蓄積が進んだ大型の卵母細胞のコロニーが認められた(図3上)。これらの大型卵母細胞がドナーニジマス由来であれば、これらの細胞のみが緑色蛍光を発するはずである。実際に、蛍光観察を行った結果が図3下であるが、間違いなく卵黄蓄積の進んだ卵母細胞のすべてが蛍光を発していること、すなわちこれらの卵母細胞がドナーニジマス由来であることが確認できた⁷⁾。残りの雌個体については、約10%の個体で排卵が確認された。当然のことながら、通常の三倍体雌個体では排卵はおろか、卵黄蓄積が進んだ個体は1尾も認められなかった。そこで、これらの成熟した三倍体ヤマメ宿主から得られた精子、卵を人工授精したところ、すべてのF1個体が通常のニジマス卵の孵化とまったく同じタイミングで孵化した(図4)。なお、これらの個体がドナーニジマスのマーカーであるGFP遺伝子を保持していることや、これらの孵化仔魚が保持する核ゲノムやミトコンドリアゲノム

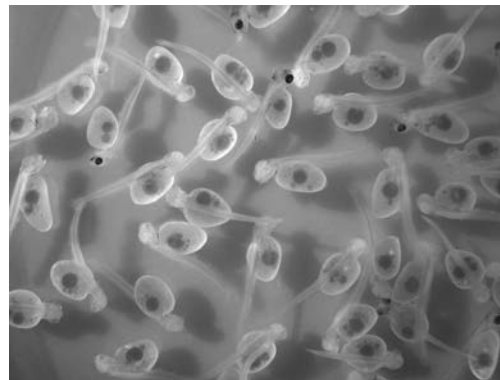


図4 ニジマス精原細胞を移植した三倍体ヤマメ両親の次世代

が、RAPD-PCR法やRFLP法によって通常のニジマスと同一のフィンガープリントを示すことも確認済みである。ヤマメ両親から生まれたニジマス稚魚は、その後も順調に成長し、翌年の産卵期には正常に成熟し、正常なF2世代を生産可能であることも明らかとなった⁷⁾。

以上のように、精原細胞をドナー細胞として利用すること、三倍体の不妊宿主を利用することで、生殖細胞移植によるドナー由来次世代の作出効率を飛躍的に上昇させることに成功した。

7. 精原細胞の凍結とその移植

このように、ヤマメにニジマスの卵と精子を生産させることに成功したので、次に実際に精原細胞を含む精巣をまるごとの状態で凍結する実験に着手した。そして、ニジマスから単離した精巣を1.3 MのDMSO、0.1 Mのトレハロース、10%の鶏卵の卵黄を含む凍結保護剤で1時間平衡化した後、 -80°C まで毎分 -1°C で冷却し、その後、液体窒素の気相中に保存するという方法で、精巣中に含まれる精原細胞のうち30%程度の細胞が凍結解凍後も生残することを明らかにした⁸⁾。なお本実験では、凍結した精巣を含むクライオバイアルを 10°C の水中で1分間程度震盪することで解凍を行った。この実験で得られた精原細胞の生残率そのものは決して高い値ではなかったが、前述のように小型のニジマスからでも100万細胞以上の精原細胞を回収可能であることを考えると、実用上は十分に高い生残であったといえよう。特筆すべき点として、少なくとも6年間の凍結保存後に精巣を解凍し、精原細胞の生残率を求めた場合でも、再現性よく30%程度の値を得ることができている。このように保存期間を延長した場合でも解凍した細胞の生残率が低下しないという事実は、本法により精原細胞を半永久的に保存できるということを意味している。

そこで、これらの凍結精原細胞(実際には精原細胞を含む精巣の全細胞の懸濁液)を5000細胞ずつ、ニジマ

スの孵化仔魚宿主へと移植した。その結果、これらの精原細胞は移植を施した宿主のうち約80%の個体では、宿主の生殖腺に移植細胞（凍結解凍を施した精原細胞）が取り込まれており、これらの個体では前述の実験と同様に、宿主が雄であった場合は精子形成を、雌であった場合は卵形成を開始した。さらに、これら宿主は通常为非凍結精原細胞を移植した場合と同様に、移植細胞に由来する機能的な卵や精子を生産し、これらを受精させることで完全に凍結細胞に由来するニジマスの次世代個体を生産することが可能であった⁸⁾。また、雄宿主が生産するドナー由来の精子は精液の体積、精子の数ともに通常のニジマスが生産するものと同様の値であった。一方、雌宿主が生産するドナー由来の卵の数は初産の場合は、通常ニジマスが生産する卵数の半数程度であったが、2回目以降の産卵期では両者の間に有意な差異は認められなかった。さらに、宿主が生産したドナー由来の卵の大きさは、通常ニジマスが生産する卵と同様のものであった。特筆すべきこととして、これらの凍結細胞を移植された宿主個体は少なくとも3年間の繁殖期にわたり、ドナー由来の凍結細胞に起源する卵や精子を生産し続けることが明らかとなった。また、これらの卵や精子を用いて作出した次世代は通常個体と同様に発生、成長することを確認し、これら個体に少なくとも外観上の異常は認められなかった⁸⁾。筆者らは同様の実験を、ヤマメの精巣を凍結保存し、これを三倍体ニジマスに移植するという組合せでも行っており、これらの三倍体ニジマス宿主が正常なヤマメ卵や精子のみを生産し、これらを受精させることで完全に凍結細胞由来の正常なヤマメ次世代を生産することも確認済みである（図5）。

以上のように精巣のまるごと凍結保存により、精原細胞の形で魚類の遺伝子資源を半永久的に保存することが可能となり、これらの精原細胞を異種宿主へと移植することで、いつでも凍結細胞に由来する機能的な卵や精子を、ひいては次世代個体を生産することが可能になっ



図5 凍結したヤマメ精原細胞を移植したニジマス宿主が生産したヤマメ

た。ここで述べた精原細胞の凍結や移植実験は、特殊な技術ではなく、しかるべき練習を行えば誰でも容易に行うことができる技術であり、今後は本技術が幅広く普及することが期待される。特に筆者らがモデルに用いたニジマスやヤマメを含むサケ科魚類では、これら一連の技術はすでにきわめて成熟したものとなっており、実際に本法を用いた絶滅危惧種の保存プロジェクトも進み始めている。また、本稿ではその詳細は省くが、同様の方法論でニジマスの卵巣から単離した卵原細胞を移植に用いた場合でも可能になっており⁹⁾、卵原細胞を移植した宿主も、雄であれば移植細胞に由来した精子を、雌であれば移植細胞に由来した卵を生産することを明らかにしている。

8. 今後の技術開発

今後の重要な課題は、本技術のサケマス類以外への応用である。既に精原細胞の移植とそれに由来する卵と精子の生産は、アジ科、ニベ科、フグ科、カワスズメ科、コイ科などで可能になっている。また現在までに、多くの絶滅危惧種を含む淡水魚であるタナゴの仲間でも、このような一連の技術開発に成功している。今後は、これらの移植技術と精巣の凍結技術を組み合わせることで、より多くの魚種において凍結細胞から機能的な卵や精子を生産する技術を構築していきたい。最終的には、あらゆる絶滅危惧魚種の精原細胞を含む精巣の凍結バンクを構築し、いつでも必要な際に近縁種を代理親魚として利用することで、当該種を生産可能なシステムの構築を目指したいと考えている。

最近、筆者らの研究室では、体重が20～200g程度のニジマスを -80°C の超低温庫内でまるごとの魚体のままの状態に凍結し、その後、流水下で急速に解凍すると、これらの個体から少ないながらも生きた精原細胞を回収することが可能であり、これらの細胞を宿主個体に移植すれば、凍結魚に由来する機能的な卵や精子を生産することが可能であることを見出した¹⁰⁾。現在までに、3年間超低温庫に凍結した精原細胞からも、移植を介して機能的な卵や精子を生産可能であることを確認済みである。本技術は、効率的には前述の単離精巣の凍結技術には劣るものの、希少魚や有用魚の飼育施設において、何らかの事故により貴重な魚類個体を斃死させてしまったような際にも、 -80°C にて個体をまるごとの状態で凍結保存しておきさえすれば、後日、そこから精原細胞を回収して移植することで、これらの個体の次世代を生産可能であることを意味している。したがって、精巣凍結の手技を持ち合わせていない施設での緊急対応策としても、この魚類個体のまるごと凍結法はきわめて有効な選択肢になりうると考えている。これらの条件で精原細胞

の凍結保存が可能である理由は完全には明らかになっていないが、体重が20～200gの個体で精巣の温度低下を測定すると、-80℃の超低温庫内に魚体を静置した場合、毎分約-1℃という緩慢凍結の最適速度を再現できることを確認済みである。また、ニジマスの血清が凍結保護剤として有効に作用していることも明らかになっており、これらの二点が魚体をまるごと凍結した場合でも、生きた精原細胞を回収できる大きな理由であろうと考えている。

今後は、前述の精巣の凍結保存技術と、魚体のまるごと凍結保存技術を施設や環境に応じてうまく使い分けていくことで、魚類の遺伝子資源の長期保存が、ますます簡便にかつ確実に可能になると期待される。

文 献

- 1) B. Worm, E. B. Barbier, N. Beaumont, J. E. Duffy, C. Folke, B. S. Halpern, J. B. Jackson, H. K. Lotze, F. Micheli, S. R. Palumbi, E. Sala, K. A. Selkoe, J. J. Stachowicz and R. Watson : *Science*, **314**, 787-790 (2006).
- 2) J. F. Asturiano, E. Cabrera and A. Horvath : *Gen. Comp. Endocrinol.*, (in press).
- 3) T. Kobayashi, Y. Takeuchi, T. Takeuchi and G. Yoshizaki : *Mol. Reprod. Dev.*, **74**, 207-213 (2007).
- 4) Y. Takeuchi, G. Yoshizaki, T. Kobayashi and T. Takeuchi : *Biol. Reprod.*, **67**, 1087-1092 (2002).
- 5) T. Okutsu, K. Suzuki, Y. Takeuchi, T. Takeuchi and G. Yoshizaki : *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **103**, 2725-2729 (2006).
- 6) G. Yoshizaki : "Fisheries for Global Welfare and Environment, 5th World Fisheries Congress 2008" (ed. by K. Tsukamoto, T. Kawamura, T. Takeuchi, T. D. Beard Jr and M. J. Kaiser), pp.209-219, Terrapub, Tokyo (2008).
- 7) T. Okutsu, S. Shikina, M. Kanno, Y. Takeuchi and G. Yoshizaki : *Science*, **317**, 1517 (2007).
- 8) S. Lee S, Y. Iwasaki, S. Shikina and G. Yoshizaki : *Proc. Natl. Acad. Sci. U S A.*, **110**, 1640-1645 (2013).
- 9) G. Yoshizaki, M. Ichikawa, M. Hayashi, Y. Iwasaki, M. Miwa, S. Shikina and T. Okutsu : *Development*, **137**, 1227-1230 (2010).
- 10) S. Lee, S. Seki, N. Katayama and G. Yoshizaki : *Sci. Rep.*, **5**, 16045 (2015).



吉崎 悟朗 Goro YOSHIZAKI

東京水産大学大学院修了

東京海洋大学
Tokyo University of Marine Science & Technology
教授

原稿受理 2016年8月3日

「サロン」への投稿歓迎!

随想・国際交流・出張記・旅行記・思い出話・趣味など、読者各位に気軽にお読みいただけるもののご投稿を歓迎いたします。奮ってご送付下さい。

記

1. 記事は本文1～2ページ程度として下さい。1ページは約2,400字になります。
2. 採否は学会誌編集委員会にお任せ願います。
採用分に薄謝をさしあげます。

送付先 公益社団法人 日本冷凍空調学会「冷凍」編集部
〒103-0011 東京都中央区日本橋大伝馬町13-7 日本橋大富ビル
TEL 03(5623)3223 FAX 03(5623)3229 E-mail : reito@jsrae.or.jp