【ミニレビュー】

水産経済動物のゲノム研究及びQTL解析

尾崎照遵¹・大原恵理子²・藤加菜子²・原 拓矢²・坂本 崇²・岡本信明²¹ (財)産業創造研究所 生物工学部、²東京海洋大学 海洋科学部

Recent progress in genome research and QTL analysis for aquaculture

Akiyuki OZAKI¹, Eriko OHARA², Kanako FUJI², Takuya HARA²,
Takashi SAKAMOTO², Nobuaki OKAMOTO²¹ Biotechnology Department, Institute of Research and Innovation (IRI)² Department of Marine Biosciences, Tokyo University of Marine Science and Technology

1. はじめに

水産分野では、天然種苗を捕獲して育てる養殖が主流であったため、家畜や実験動物の分野に比べて、ゲノム研究、経済形質の解析は大幅に遅れていたが、近年の養殖技術の発達人は人為環境下での再生産技術を飛躍的に前進させると共に、雌性発生二倍体、雄性発生二倍体などの生産を可能にした染色体操作技術開発により種々の近交系を短期間に大量に作出できるため、遺伝形質の解析に理想的な生物として水産生物を使用することが可能となった。このような背景から、水産生物の遺伝子およびゲノム研究の進展が一挙に進んでいる。

しかし、水産生物、特に水産経済動物は遺伝育種という点においては歴史が浅く、養殖種が野生種と区別できないほど性質が似ており、とりわけ目立つ経済形質が得られ難いので、それら形質評価には、これから多くの労力を要するであろう。現在、水産養殖では深刻な魚病問題などの多くの経済的要因を抱えており、病気に強い形質、成長率の良い形質、広域環境に適応する形質などの遺伝育種の要求が高まっている。こうした状況の中で、ゲノム研究の進展が水産生物の遺伝育種の発展に多大な貢献をするものと期待されている。

ここではマーカー選抜育種に代表されるゲノム育種を意識した水産経済動物のゲノム研究及びQTL (Quantitative Trait Loci) 解析の現状を紹介し、今後の研究の発展性を考えたい。

2. 水産経済動物の遺伝子連鎖地図

ゲノム上に散在する未知の経済形質を支配する遺伝子座を、効率よく正確に探すためには遺伝子連鎖地図

の作成が必須になるが、水産生物においてはその対象となる生物種が多様なため、おのおのの生物種に遺伝子連鎖地図が必要となる。多くの生物種では連鎖地図作成には non-coding 領域 repeat 配列を利用したマイクロサテライトマーカーが好んで使われているが、マイクロサテライトマーカーのような種特異的な DNA マーカーは、その開発に多大な労力を必要とする。そのため簡便である AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphism) マーカーを使った遺伝子連鎖地図が作成されるケースが多い。しかしながら、AFLPでは解析家系が異なるとローカスの同定が困難なため、マイクロサテライトマーカーを併用して遺伝子連鎖地図が作成されることが望まれる。以下に水産生物種ごとの連鎖地図作成の経緯と進行状況の説明とその一覧をまとめた。(表1)

2-1 サケ科魚類

サケ科魚類では、欧州の5カ国(ノルウェー、アイランド、イギリス、デンマーク、フランス)とカナダの研究者の「SALMAP」プロジェクトにより、ニジマス (*Oncorhynchus mykiss*)、大西洋サケ (*Salmo salar*)、ブラウントラウト (*Salmo trutta*) の3魚種で、現在までに約800のマイクロサテライトマーカーの単離が行われた。日本では岡本ら(1994、1999、2000、2003;一部未発表)がニジマス、アマゴから約300のマイクロサテライトマーカーを単離し、プロジェクトに貢献している。Rexroadら(2001、2002;一部未発表)も独自に研究を進めてニジマスから約200のマイクロサテライトマーカーを単離した。サケ科魚類では同科間で約50%のマーカーが、同属間では約70%のマーカーが使用可能である。サケ科魚類ではSALMAPを中心と

した国際研究グループ間で、マイクロサテライトマーカーの共有が行われている。共有したマイクロサテライトマーカーにより魚種別に比較連鎖地図が作成されれば、QTL の解析の結果も他魚種での QTL 解析の有効な知見となると期待できる。マイクロサテライトマーカーを用いた比較連鎖地図の作成は、養殖対象魚類の多い水産育種には有効な方法である。またこれらの比較連鎖地図研究では、サケ科魚類のような倍数性種では、ゲノム進化を考えるうえでも非常に興味深い知見が得られることが期待される。現在、それらを用いた魚種別遺伝子マップの作成及び比較地図の作成が行われている。

2-1-1 ニジマス < Rainbow trout, *Oncorhynchus mykiss* >

現時点では、水産生物種のなかで最も詳細な遺伝子地図ができています。最初の遺伝子連鎖地図はアロザイムマーカーによる基本的なものだったが (May と Johnson 1990)、分子マーカーの発達に伴い、AFLP による倍化半数体の雄の連鎖地図が作成され (Young ら 1998)、続いてマイクロサテライトマーカーを用いて雌雄の連鎖地図が作成された (Sakamoto ら 2000)。さらに Nichols ら (2003) により、Young らと Sakamoto らの地図とが統合され、遺伝子連鎖群の名称も改正された。なお、Phillips ら (2003) の染色体のカリオタイプングとは統合できていないため、今後の研究が期待される。

2-1-2 大西洋サケ < Atlantic salmon, *Salmo salar* >

「SALMAP」プロジェクトの研究当初から多くのマイクロサテライトマーカーが単離されているが、大西洋サケの市場規模やウイルス病である伝染性サケ貧血症 (ISA) および伝染性肝臓壊死症 (IPN) の抗病性の経済形質の QTL の重要性を意識した産業的競争を背景としてか、多くのものが公表されていなかった。今年になり、Moen ら (2004) や Gilbey ら (2004) などのマイクロサテライトマーカーや AFLP によるマップの公表があった。

2-1-3 ブラウントラウト < Brown trout, *Salmo trutta* >

「SALMAP」プロジェクトのなかで INRA (Institut National de la Recherche Agronomique) が中心となってマイクロサテライトマーカーによるマップが作成されている。連鎖地図はまだ公表されていないが、約 200 のマイクロサテライトマーカーがマップされている (Gharbi ら、私信)。

2-1-4 北極イワナ < Arctic charr, *Salvelinus alpinus* >

Somorjai ら (2003) や Woram ら (2003) によるサケ科魚類との比較地図が公表されているが、連鎖地図としての全体像はまだ公表されていない。現在までに約 300 のマイクロサテライトマーカーがマップされている (Danzmznn ら、私信)

2-1-5 アマゴ < Amago salmon, *Oncorhynchus masou ishikawae* >

Kuwada ら (1995, 1999) は、スモルト化 (降海型) 系統とパーマック (河川残留型) 系統での雌性発生二倍体クローンと雄性発生二倍体クローンを作成し、長瀬ら (2002) はそれら 2 系統での戻し交配家系を用いて約 123 のマイクロサテライトマーカーをマップし、連鎖地図を作成した。日本固有種としてのサケ科魚類で初めての遺伝子連鎖地図となった。

2-1-6 その他のサケ科魚類

マスノスケ (*Oncorhynchus tshawytscha*)、ギンザケ (*Oncorhynchus kisutch*)、カラフトマス (*Oncorhynchus gorbuscha*)、シロサケ (*Oncorhynchus keta*)、ベニザケ (*Oncorhynchus nerka*)、カットスロート (*Oncorhynchus clarki*)、マーブルトラウト (*Salmo Marmoratus*) からマイクロサテライトマーカーが単離されているが、それぞれの種で連鎖地図の作成が行われているかは不明である。

2-2 アメリカナマズ

アメリカ合衆国で、最も生産量の多い養殖魚であり、フィッシュバーガーの原材料となる重要な養殖魚種である。チャンネルキャットフィッシュ (*Ictalurus Punctatus*) とブルーキャットフィッシュ (*Ictalurus furcatus*) が存在するが、Waldbieser ら (2001) によりチャンネルキャットフィッシュの連鎖地図が、Liu ら (2003) によりチャンネルキャットフィッシュとブルーキャットフィッシュの種間雑種の連鎖地図が作成された。現在もマイクロサテライトマーカーや、AFLP、EST のマップ化が進行中である。

2-3 ティラピア

中南米、東南アジアでの生産量が多い魚種である。ブルーティラピア (*Oreochromis aureus*)、カワスズメ (*Oreochromis mossambicus*)、ナイルティラピア (*Oreochromis niloticus niloticus*)、マンゴーティラピア (*Sarotherodon galilaeus galilaeus*) などのシクリッド科

表 1. 現在までに遺伝子連鎖地図が作成されている水産経済動物種

魚 種	著者、公表年、	主な分子マーカーの種類	分離世代	総マーカー数
ニジマス Rainbow trout (<i>Oncorhynchus mykiss</i>)	May and Johnson, 1990 Young <i>et al.</i> , 1998 Sakamoto <i>et al.</i> , 2000 Nichols <i>et al.</i> , 2003	Allozyme AFLP Microsatellite AFLP, Microsatellite, VNTR, SINE, 既知遺伝子	F ₁ hybrid (雑種第 1 世代) Doubled haploids (倍加半数体) Backcross (戻し交配) Doubled haploids	54 475 208 1359
大西洋サケ Atlantic salmon (<i>Salmo salar</i>)	Moen <i>et al.</i> , 2004 Gilbey <i>et al.</i> , 2004	AFLP, Microsatellite, Microsatellite	Full-sib (きょうだい交配) Backcross	527 64
アマゴ Amago salmon (<i>Oncorhynchus masou ishikawae</i>)	Nagase <i>et al.</i> , 2002	Microsatellite	Backcross	123
アメリカナマズ Channel catfish (<i>Ictalurus punctatus</i>)	Waldbieser <i>et al.</i> , 2001 Liu <i>et al.</i> , 2003	Microsatellite, EST, 既知 遺伝子 AFLP	Full-sib Backcross	293 418
ティラピア Thilapia (<i>Oreochromis niloticus</i>) (<i>Oreochromis aureus</i>)	Kocher <i>et al.</i> , 1998 Lee <i>et al.</i> , 2003 unpublished McConnell <i>et al.</i> , 2000	AFLP, Microsatellite, Microsatellite, Microsatellite,	Haploids (半数体) Backcross	162 約 500 28
ヒラメ Japanese flounder (<i>Paralichthys olivaceus</i>)	Coimbra <i>et al.</i> , 2003	AFLP, Microsatellite,	F ₁ hybrid	463
クルマエビ Kuruma prawn (<i>Penaeus japonicus</i>)	Moore <i>et al.</i> , 1999 Li <i>et al.</i> , 2003	AFLP AFLP	Full-sib Full-sib	129 251
ウシエビ Black tiger shrimp (<i>Penaeus monodon</i>)	Wilson <i>et al.</i> , 2002	AFLP	F ₂ hybrid (雑種第 2 世代)	116
コイ Common carp (<i>Cyprinus carpio L.</i>)	Sun <i>et al.</i> , 2004	Microsatellite, RAPD	Haploids	268
ブリ、ヒラマサ Yellowtail, Gold-striped amberjack (<i>Seriola quinqueradiata</i>) (<i>Seriola lalandi</i>)	Ohara <i>et al.</i> , 2003	Microsatellite	F ₁ hybrid (種間雑種)	約 200

の中で種間雑種をつくることが出来る。種間雑種による解析は分離世代でマーカーの多型情報を得やすいため連鎖解析に有利であると考えられている。Kocher ら (1998) により、半数体家系による最初のティラピア連鎖地図が作成された。その後、McConnell ら (2000) により、一部の連鎖群の領域についてブルーティラピアとナイルティラピアとの比較地図も作られている。連鎖地図作成と合わせて、東アフリカのタンガニーカ湖、マラウイ湖に生息するシクリッド科の形態変化の多様性を調査するために多くのマイクロサテライトが単離されている。

2-4 ヒラメ < Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus* >

Coimbra ら (2003) により AFLP, マイクロサテライトマーカーによるマップが作成された。日本、韓国、中国を中心に生産量、消費量の多い魚種であり、また熱心に研究されている魚種であるため、これからもより多くのマーカーの単離と、詳細な連鎖地図が作成されていくことが予想される。ヒラメ以外に北大西洋カナダ沖で、資源量の減少現象が問題となっているカラスガレイ (*Greenland halibut, Reinhardtius hippoglossoides*) でもマイクロサテライトマーカーの単離が始まっていることもあり (Darrin ら、私信)、cDNA 配列、EST の情報も豊富なカレイ目を中心に国際的プロジェクトの対象魚種に発展する可能性がある。

2-5 クルマエビ、ウシエビ < Kuruma prawn, *Penaeus japonicus*. Black tiger shrimp, *Penaeus monodon* >

日本が最大消費国になっているが、オーストラリアが中心となり連鎖地図の作成を行っている。エビでは CA リピートのような繰り返し配列が非常に長い場合、マイクロサテライトマーカーの扱いが難しいという報告がある (Moore ら 1999)。その後、Wilson ら (2002) によりウシエビの連鎖地図の公表があり、さらに Li ら (2003) により詳細なクルマエビの連鎖地図の報告があったが、AFLP を中心に連鎖地図が作成されている。

2-6 コイ < Common carp, *Cyprinus carpio* L. >

Sun と Liang (2004) により 50 の連鎖群からなる連鎖地図が公表された。報告では半数体を用いて連鎖地図作成がされている。同じコイ科の魚ということで一部ゼブラフィッシュのマーカーが使われている。コイは、染色体数が多く (2N=100) ゲノム重複が起きて時間が経っていない倍数性魚種のため、ゼブラフィッシュの

ような偽 4 倍体と比べ、マーカー座位の正確な情報に不明な点が多い。今後さらなる詳細なマッピングがされることが望まれている。

2-7 ブリ < Yellowtail, *Seriola quinqueradiata* >

ヒラマサ < Gold-striped amberjack, *Seriola lalandi* >

ブリ、ヒラマサ類は日本における魚類養殖の中で最も生産量が多く、日本の重要な水産経済魚種の 1 つである。Ohara ら (2003) により、ブリとヒラマサの種間雑種、第 1 世代、第 2 世代を用いて、連鎖地図の作成が進められている。現在までに約 200 のマイクロサテライトマーカー座位が決められている。種間雑種のため分離世代でマーカーの多型情報が多いことも連鎖地図作製に有利だと思われる。地図作成のために単離されたマイクロサテライトマーカーの約 90 % が有効なことから、作成に用いた家系、及び作成された地図は、多くのマーカー座位を決めるレファレンスファミリーとして有効であると思われる。

2-8 その他

上記の水産養殖対象魚以外に、アユ (*Ayu, Plecoglossus altivelis altivelis*) では産卵時期に関連する遺伝子座の探索、マダイ (*Red sea bream, Pagrus major*) ではイリドウイルス病抗病性形質解明に向けての連鎖地図の作成が進んでいる。このように水産生物種は多様を極めるため、遺伝育種を考慮した場合、DNA マーカーの開発を含めたゲノム解析をどのように効率的に進めていくかは、今後も重要な課題である。

3. 経済形質のマッピング

水産生物では経済形質の QTL の解析は前述した連鎖地図の作成と平行して行なわれている場合が多い。多くの解析例では、DNA マーカーをマッピングするレファレンスファミリーが、経済形質を解析する家系になっている。これまでは個々の研究者が生物種ごとに連鎖地図を作成する作業に徹していたが、その状況が一段落した魚種については、QTL の報告例がこれから増えていくであろう。

これまでに水産生物を対象にした経済形質の QTL の解析例は少ないが、その解析報告は年々増えてきている。著者らも、世界的に重要な養殖魚であるニジマスや日本の重要養殖魚類であるヒラメを中心に QTL 解析を行ってきた。現在までに QTL の報告がある魚種について、その詳細を (表 2) にまとめるとともに、

ここではサケ科魚類経済形質の QTL 解析を中心に、水産生物における経済形質の解析例をそれぞれの表現形質ごとに紹介する。

3-1 抗病性形質遺伝子座

水産養殖において、病気による被害は甚大であり、飼育環境が水を媒体とする開放系の飼育下で病原体の伝播を止めることは、ほぼ不可能に近い。ワクチンが開発されている病気もあるが一部であり、病原体を持ち込まないということ以外に、対象種に対して抗病性をもたせるのが有効な手段である。

抗病性に関連する形質遺伝子座の探索は、QTL 解析をする上での重点課題である。ウイルス病に関して、Ozaki ら (2001) はニジマスの伝染性臓腑壊死症 (IPN) に高感受性 (RT-101) 系統と抗病性 (RT-201) 系統の戻し交配家系を用いて、抗病性の連鎖解析を行った。その結果、ニジマスにおける連鎖群 RT-3 (A) のマイクロサテライトマーカー近傍と、連鎖群 RT-22 (C) に属するマイクロサテライトマーカー近傍に抗病性に関連する 2 つの連鎖群を見出し報告した。

また、Khoo ら (2004) は、別のニジマスの戻し交配家系でマイクロサテライトマーカーを用いて、同じくウイルス病である伝染性造血器壊死症 (IHN) の連鎖解析を行い、連鎖群 RT-29 (2) のマイクロサテライトマーカー近傍に抗病性に関連する 1 つの連鎖群を見つけ報告した。

サケ科魚類以外のウイルス病では、ヒラメにおいて Fuji ら (2002) が、リンホシスチス病 (LD) に抵抗性を示す系統 (KP-B 系統) と感受性を示す系統 (KP-A 系統) の戻し交配を用いて、LD 抵抗性に関連する遺伝子座がヒラメ連鎖地図 (Coimbra ら 2003) 上の連鎖群 15 に存在すると報告している。なお、雑種第一代、戻し交配における連鎖解析の結果から、リンホシスチス病の抵抗性に関連する形質は優性遺伝様式で単一の遺伝子により支配されていることが推測された。抗病性に関する形質が一つの遺伝子座で支配される可能性がある点で、興味深い報告である。

寄生虫病では、Nichols ら (2003) はニジマスの倍加半数体のクローン系統の F_1 を用いて粘液胞子虫 (*Ceratomyxa shasta*) の抵抗性に関連する 4 つの連鎖群 RT-17 (L)、RT-21 (B)、RT-22 (C)、RT-25 (K) を見出した。

また、大西洋サケにおいて、Ozaki ら (2003) は同じく寄生虫による疾病、サケ・マス類クリプトスピオシス感染症の抵抗性に関連する複数の連鎖群の存在を報告

している。

現在多くの研究グループが様々な水産生物種で疾病に関連する遺伝子座の解析をしているため、今後も多くの解析例が報告がされていくであろう。

3-2 温度抵抗性形質遺伝子座

水産養殖において目的とする生物種の生育環境の拡大は生産量を高める上で重要になる。対象種を過酷な環境に対して適応できるように育種していくこともその方法の一つである。Jackson ら (1998) はニジマスにおいて、高温度に対して高い抵抗性を示す (H) 系統、および低い抵抗性を示す (L) 系統の二つの系統を用いて、3 つの半兄弟交配家系を作成し、高温度抵抗性の QTL を解析し、24 マーカー座について調べた結果、2 つの連鎖群、RT-21 (B)、RT-14 (D) で高温度抵抗性との強い関連性が見出された。この二つの QTL は別々の連鎖群に属し、相互作用は示さず相加的効果 (additive effect) を示すと考えられた。Danzmann ら (1999) はさらに解析を進め、61 マーカー座について調べた。その結果、新たに 4 つの連鎖群、RT-16 (Fii)、RT-10 (H)、RT-9 (Oi)、RT-24 (G) で高温度抵抗性との強い関連性が見出された。さらに見出された QTL 間の相互作用を調べたところ、一方の系統 (H または L) で高温度抵抗性を向上する QTL の対立遺伝子が、もう一方の系統では逆の働きを示すエピスタシス効果が見られたと報告している。Perry ら (2001) はこれら遺伝子群についてさらに研究を進め、一般の養殖集団においても、一部の連鎖群 RT-6 (S) は高温度抵抗性との強い関連性があると報告した。

また、他のサケ科魚類、北極イワナにおいて、Somorjai ら (2003) は高温度に対して高い抵抗性を示す連鎖群を複数箇所見つけた。この連鎖群のいくつかは比較連鎖地図におけるニジマスの高温度抵抗性を示す連鎖群と対応しており、比較連鎖地図が、新たな解析結果による候補遺伝子群のデータの整合性を判断するのに重要性であることを示したといえる。

ティラピアは、温暖な地域での重要な養殖種であり、寒冷地で飼育できることが生産域拡大の上で重要になる。Cnaani ら (2003) はナイルティラピア (*Oreochromis niloticus niloticus*) とマンゴーティラピア (*Sarotherodon galilaeus galilaeus*) の種間雑種 F_2 の分離世代で、連鎖群 23 に低温度抵抗性形質に関わる遺伝子座が存在することを示した。Moen ら (2004) はさらに研究をすすめ、上記種間雑種 F_1 とカワスズメ (*Oreochromis mossambicus*) とブルーティラピア (*Oreochromis aureus*)

表 2. 水産経済動物で現在までに報告のある経済形質の種類と連鎖解析によって得られたQTL 候補領域

魚 種	量的形質表現型、突然変異表現型	存在する染色体番号	分離世代	著者、公表年
ニジマス Rainbow trout <i>(Oncorhynchus mykiss)</i>	伝染性臓臓壊死症抵抗性 (IPN) 〃	RT-3(A)*, RT-22(C). RT-11(E, P), RT-12(Fi), RT-17(L), RT-23(Q), RT-29(2), RT-31(5).	Backcross Backcross	Ozaki <i>et al.</i> , 2001 Ozaki <i>et al.</i> , unpublished
	伝染性造血器壊死症抵抗性 (IHN)	RT-29(2).	Backcross	Khoo <i>et al.</i> , 2004
	粘液胞子虫抵抗性 (Ceratomyxa shasta)	RT-17(L), RT-21(B), RT-22(C), RT-25(K).	F ₁ hybrid	Nichols <i>et al.</i> , 2003
	高温度抵抗性 〃	RT-21(B), RT-14(D). RT-16(Fii), RT-10(H), RT-9(Oi), RT-24(G).	Half-sib (半き ようだい交配) Backcross	Jackson <i>et al.</i> , 1998 Danzmann <i>et al.</i> , 1999
	〃	RT-6(S).	Outbred (一般 集団)	Perry <i>et al.</i> , 2001
	〃	RT-1(18), RT-15(8), RT-2(Oii), RT-3(A), RT-8(J), RT-12(Fi), RT-20(T), RT-31(5).	Backcross	Somorjai <i>et al.</i> , 2003
	産卵時期	RT-3(A), RT-19(I), RT-8(J), RT-22 (C), RT-24 (G).	Backcross	Sakamoto <i>et al.</i> , 1999
	初期胚発達速度	RT-9(Oi) < 他に 3 座位、統合地 図での対応不可 >	F ₁ hybrid	Robison <i>et al.</i> , 2001
	優性アルビノ遺伝子座	RT-24(G).	Backcross	Nakamura <i>et al.</i> , 2001
アマゴ Amago salmon <i>(Oncorhynchus masou ishikawae)</i>	浸透圧応答関連形質遺伝子座	AM-3, AM-21.	Backcross	Hara <i>et al.</i> , 2004
大西洋サケ Atlantic salmon <i>(Salmo salar)</i>	サケ・マス類クリプトレオシス感 染症	AS-4, AS-6, AS-8, AS10, AS-11, AS-12, AS-14, AS-20, AS-25, AS- 28.	F ₁ hybrid	Ozaki <i>et al.</i> , 2003
北極イワナ Arctic char <i>(Salvelinus alpinus)</i>	高温度抵抗性	AC-3, AC-4, AC-8, AC-9, AC-12, AC-13, AC-14, AC-15, AC-19, AC-20, AC-25.	Backcross	Somorjai <i>et al.</i> , 2003
ティラピア Thilapia <i>(Oreochromis niloticus)</i>	低温度抵抗性 〃	LG-23.	F ₂ hybrid (雑 種第 2 世代)	Cnaani <i>et al.</i> , 2003
		〃	F ₂ hybrid (他 殖第 2 世代)	Moen <i>et al.</i> , 2004
ヒラメ Japanese flounder <i>(Paralichthys olivaceus)</i>	リンホシスチス病抵抗性 (LD)	LG-15.	F ₁ hybrid と Backcross の 両方で解析	Fuji <i>et al.</i> , 2002

* () 内は Sakamoto ら (2000) による連鎖群名

の雑種 F_1 とで交配させ、 $F_1 \times F_1$ の分離世代を作成し、その家系の連鎖解析においても、連鎖群 23 に低温度環境に対して抵抗を示す有意な遺伝子座があることを示した。

3-3 産卵時期形質遺伝子座

産卵時期を調整することは幼魚の成育時期をコントロールすることにつながり、飼育環境によっては成長率の良い季節で成育させることが重要になる。また、季節特異的に発生する病気に対しては、その時期を回避することが病気に抵抗力のない幼魚の生存率を高める上で重要になる。

Sakamoto ら (1999) は、ニジマスの秋産卵 (F) 系統、および春産卵 (S) 系統の二つの系統を用いて、その F_1 に秋産卵系統を戻し交配した家系を作製し、産卵時期に関連する QTL を解析した。産卵時期 (日数) とマイクロサテライトのアリルの遺伝状況との関連性を一元配置分散分析によって解析した。54 マーカー座について調べた結果、連鎖群 RT-3 (A)、連鎖群 RT-22 (C)、連鎖群 RT-24 (G)、連鎖群 RT-8 (J) の産卵時期に関連する 5 つの連鎖群を見出した。

3-5 初期胚発達速度関連遺伝子座

成長が早く、肥育率の高い系統を成育する方が、出荷サイズまでの成育期間を短縮でき、無駄のない生産をする上で重要になる。高成長の品種を育種していくこともその方法の一つである。

Robison ら (2001) は初期胚発達速度の違う 2 系統の倍加二倍体クローンを用いて F_1 を作り、仔魚の孵化までの時間、体長、体重を測定し、それらを制御するであろう 4 つの関連遺伝子連鎖群を見つけた。残念ながら、AFLP で解析されたため、一つの有意な連鎖群 RT-9 (Oi) 以外は、統合マップにおいてどの連鎖群に対応しているかは不明である。

3-6 浸透圧応答関連形質遺伝子座

サケ・マス類は通し回遊魚と呼ばれ、浸透圧調整能に優れ、淡水、海水のどちらでも成育可能である。特に大型化させるには海水中のほうがよいとされている。現在、サケ・マスの肥育は、ノルウェー、チリ、アルゼンチンなどで盛んに行われている海面養殖が主流になりつつある。Hara ら (2004) はアマゴにおいて、Kuwada ら (1995, 1999) が作製したスモルト化 (降海型) 系統とパーマック (河川残留型) 系統の戻し交配家系で、連鎖群 AM-3 と連鎖群 AM-21 に、スモルト化

(海水適応能) に関連する 2 つの連鎖群 4 マーカー座を見つけ報告した。ニジマスでは浸透圧応答に関連する候補遺伝子 Na^+ 、 K^+ ATPase の場所も特定されており (Gharbi ら 2004)、ニジマスとアマゴの連鎖地図を比較することでそれら遺伝子との対応がわかってくるであろう。

3-7 優性遺伝アルビノ形質遺伝子座

アルビニズムは、生物一般でよく知られた遺伝病で、その事例のほとんどが劣性の遺伝様式を示すものである。ニジマスには優性の遺伝様式を示すアルビノ突然変異が存在する。Nakamura ら (2001) は優性遺伝ヘテロアルビノ雌を正常個体雄に戻し交配させた家系で AFLP による連鎖解析と DNA バルク法を併用して、優性アルビノ表現型と非常に近い位置、及び完全に連鎖する AFLP マーカーを得た。さらにマイクロサテライトマーカーを使いマーカー座位を特定したところ連鎖群 RT-24 (G) にその遺伝子座が存在することがわかった。アルビノの表現形質そのものは量的形質でなく、質的形質になるが、魚類においてポジショナルクローニングで遺伝子を単離した例は数例しかなく、水産生物種では最も現実的にポジショナルクローニングができる可能性がある。こういった解析例が水産生物種にあることは意義深い。また、優性遺伝アルビノの原因遺伝子が分かれば、アルビニズムの病理機序の解明につながり、医薬品や化粧品の開発にもつながると考えられる。

3-8 その他

経済形質の解析例ではないが、ティラピアのマイクロサテライトマーカーを用いて、東アフリカ、マラウイ湖に生息するシクリッドの口顎形成のパターンを測定し、量的形質として解析した報告例もある (Albertsin ら 2003)。それら表現形質が遺伝するものかは定かではないが、多様な種分化をして、進化しようとしている魚種を材料に表現形質を解析した報告例である。

4. 魚類の MHC 分子と抗病性 QTL

魚類においては魚種間だけでなく同一魚種内においても系統間あるいは系統内で抗病性に差があることが多くの魚種や病気について報告されている (Chevassus と Dorson 1990; Wiegertjes ら 1996) (表 3)。

MHC (主要組織適合遺伝子複合体) 分子は、自己、非自己認識あるいは抗原提示といった機能を持ち免疫

表 3. 抗病性において遺伝的変異が知られている魚病と魚種

病気の種類	魚病名	魚種名	遺伝的変異
ウイルス病	伝染性造血器壊死症 (IHN)	ベニザケ	系統内
	伝染性腭臓壊死症 (IPN)	ニジマス	系統間
	アメリカナマズウイルス病 (CCV)	アメリカナマズ	系統間
細菌病	せつそう病	太平洋サケ	系統内
	〃	ニジマス	系統内
	潰瘍病	ブラウントラウト	系統内、系統間
	〃	カワマス	系統内、系統間
	細菌性腎臓病 (BKD)	ギンザケ	系統内、系統間
	ビブリオ病	太平洋サケ	系統内、系統間
	〃	ニジマス	系統内
	〃	ベニザケ	系統内、系統間
	〃	ギンザケ	系統間
	浮き袋炎症	コイ	系統間
寄生虫病	水腫	コイ	系統内、系統間
	粘液胞子虫症	マスノスケ	系統間
		ニジマス	系統内
	吸頭条虫症	コイ	系統内

応答において中心的な役割をする分子であり、ヒト (Parham と Ohta 1996) や様々な動物種 (Hepkema ら 1993) で、MHC (主要組織適合遺伝子複合体) のハプロタイプにより病気に対する感受性が異なることが知られている。魚類においても免疫機構を理解するために盛んに研究が行われおり、ニジマスにおいて日本とアメリカのグループを中心に、抗病性と MHC の関係の研究が進められている。

Palti ら (1999) は、ニジマスとカuttosロート (*Oncorhynchus clarki*) のハイブリッドを用いて戻し交配家系を作製し、DNA フィンガープリントパターンから IHN 抗病性に関連するバンドを見つけた。Palti ら (2001) はさらに研究をすすめ、MHC タイプ II の β 鎖のイントロン部で多型をとり、MHC タイプ II が IHN 抗病性と関連性があると報告した。

最近、Phillips ら (2003) により、BAC クローンを染色体にマップすることで MHC タイプ I、タイプ II の、染色体上の、位置が明らかになり (ニジマスは 4 倍体性魚種であるため、MHC タイプ I が重複している)、

MHC タイプ Ia が染色体 RT-16 (Fii) に、MHC タイプ Ib が染色体 RT-3 (A) に、MHC タイプ II が染色体 RT-29 (2) に、位置することがわかった。このことは、Ozaki ら (2001) や Khoo ら (2004) の IPN 抗病性、IHN 抗病性の QTL 解析の有意な候補領域の結果 (表 2) と一致しており、MHC と抗病性の関連性の可能性を示している。今後、高密度遺伝子地図の作製により詳細な位置と抗病性との関連性がわかることに期待したい。

また、別のアプローチとして、Hansen と La Patra (2002) はニジマスを IHN ウイルスに感染させ、感染開始から時間ごとに MHC タイプ Ia と MHC タイプ II の発現量の変動を定量したところ、発現量に差があるという結果を得ている。ゲノム配列の知見の蓄積とともに、こういった候補遺伝子群からの経済形質遺伝子座の責任遺伝子の検討をしていくことにより、連鎖解析での結果が妥当であるかの整合性ができ、連鎖解析の結果を保証していくことになるであろう。

5. BAC ライブラリー、その他データベース利用

現在までに、BAC ライブラリーなどの大型ライブラリーがつくられている水産生物種にはニジマス、ティラピア、コイなどがある (Katagiri ら 2001)。ニジマスでは Katagiri ら (2001) が作製した BAC ライブラリー以外に、Palti ら (2004) が NCCCWA (National Center for Cool and Cold Water Aquaculture) で作製した BAC ライブラリーを商用ベースで管理されたもの (Amplicon Express, <http://www.genomex.com/>) が利用できるようになった。現段階では、個々の研究者が興味のある配列を持つ BAC クローンを取り寄せて使用しているようであるが、近い将来 BAC コンティグマップもできるようになり手軽に利用出来るようになるかもしれない。

また、バイオインフォマティクスの知識が浸透し、既知の遺伝子や EST などの配列情報をデータベースから手に入れ利用することで、シーケンスレベルでの研究はかなり環境が整った。しかし、それら有用な配列情報も、ゲノム上にタイプ I マーカー (機能を持つゲノム配列を利用したマーカー) としてマッピングした位置情報がほとんどない。これら情報が得られていないのはゲノム育種を考えて行く上で非常に残念なことであり、この状況を改善する大型プロジェクトが望まれる。

現在、様々な生物種で全ゲノム配列決定プロジェクトが進められているが、残念なことに全ゲノム配列を決定するような、水産経済生物種の大型プロジェクトは進行していない。例外として、水産経済生物種であるトラフグのドラフトゲノムシーケンスがなされた

が、総ゲノム量の少ない生物としてシーケンスのモデル動物として研究されたため、表現形質を評価できる系統の確立や変異体の単離が不十分なことが経済形質の解析をしていく問題点になると考えられる。逆に、特徴的な形質を持つ系統や連鎖地図とともにマイクロサテライトマーカーが充実しているニジマスなどのサケ科魚類のゲノムは、ほぼ同質 4 倍体 (autotetraploid) であるため相同な DNA 配列が複数存在する。それらをシーケンスの際に整列化する作業は困難を極めると考えられている。水産生物種の大型プロジェクトは数年前から望まれている状況にある。候補となる対象種としては、海外での市場、生産量、国際的共同研究の可能性を考えると「ヒラメ」「マダイ」が候補に挙げられるであろう。国内の生産を考えれば「ブリ」が望まれるし、育種のモデルとしてライフサイクルが早いことを考慮すれば「アユ」が相応しいであろう。

6. マーカー選抜の有効性試験

Ozaki ら (2003) は、前述の伝染性肝臓壊死症 (IPN) の抵抗性に関連する遺伝子座マーカー、＜連鎖群 RT-3 (A)、OmyRGT41TUF、Ssa4DU＞を用いて選抜育種をするため、前述の遺伝子座マーカーで抵抗性を示す系統のアリルを持つ交配試験区と持たない交配試験区を作製し、連鎖解析に用いた戻し交配家系と同様の条件でウイルス感染実験を行った。その結果、抵抗性を示すアリルを持つ交配試験区の方が、生存率が高く、感染症発症までの時間が遅いという感受性の違いを示す結果を得た (図 1、図 2)。これはマーカー選抜育種 (marker-assisted selection、MAS) の有効性を示すもの

図 1. IPN (伝染性肝臓壊死症) ウイルス感染試験開始から 5 日目の試験区の様子
抗病性アリルありの試験区 (左) に対して、抗病性アリルなしの試験区 (右) では IPN ウイルス感受性に大きな差があり、すでに多くの仔魚が死亡している。

図2. IPN (伝染性脾臓壊死症) ウイルス感染試験の死亡率

抗病性アリルなしの試験区はIPN感染試験開始から、5日目に死亡のピークがあるのに対して、抗病性アリルありの試験区は7日目に死亡のピークがある。

最終的な死亡率も、抗病性アリルなし (n=400) 98.7%に対して、抗病性アリルあり (n=400) 58.7%とIPNウイルス感受性に大きな差があった。

であり、現実的にマーカー選抜により表現型の改善が可能であることを示唆している。QTLを探していく一方で、こういった実験で、QTL解析の結果の検証やQTLの責任遺伝子の存在を証明していくことも重要であると考ええる。

7. エピジェネティクスを考慮した実験計画

現在、様々な生物種において、ジェネティクス情報の全貌が明らかになりつつある。しかしながら、DNA上にコードされている情報が表現型を示すものではない。細胞は同一のDNA配列をもつにもかかわらず、分化した細胞により発現している遺伝子は様々である。こうした遺伝子発現の情報はDNA配列以外なところに、すなわちエピジェネティックにコードされていると考えられている。

古典的なエピジェネティック情報としてDNAのメチル化が知られている。真核生物の遺伝子のプロモーター領域にあるCpG配列のシトシン5位がメチル化されることによって、その遺伝子の発現に影響を及ぼす。DNAのメチル化は細胞にとって必要のない遺伝子を抑制する手段として使われ、形成されたDNAのメチル化パターンは配偶子から次世代へどうけつがれるインプリントであり、エピジェネティックな遺伝情報である。インプリントは、連鎖解析をともなうQTL解析

を行う上で、十分に考慮しておかなければならない。連鎖解析では責任遺伝子のDNA配列の違いの有無に関係なく、QTLのゲノム上の領域を絞り込むことは可能だが、インプリントされた表現型では目的の表現形質を解析する片親を、雌雄どちらにするかでQTLを検出できるかできないかが決まってしまう。確実にQTLを検出するために父方、母方のインプリントの可能性を十分に考慮して実験計画をすることが必要である。また、そこで得られたQTLはインプリントを考慮した育種計画が必要となる。家畜の解析例ではすでにそのようなインプリントされたQTLの報告例がある (De Koningら2001; Hirookaら2002)。

最近、上記DNAのメチル化以外に、ヒストンのメチル化、アセチル化、リン酸化修飾により、クロマチン構造における遺伝子発現活性の活性化、不活性化が調整されることがわかってきた。そして、DNAメチル化がヒストンのメチル化依存的に起こることもわかってきた。このクロマチン制御の種々のエピジェネティック情報は、DNA複製後も娘細胞に受け継がれる。すなわち、分化していく細胞に遺伝子の活性化、不活性化の情報が受け継がれることになる。このような遺伝子発現に関する分子生物学の知見は、個体が発達して行く上で、遺伝子の発現制御が時間的制約を受けていること意味する。このような現象をQTL解析する際にふまえ、表現型を測定し評価していく際にどのような点に留意すべきか、解析結果にどのような影響が現れるかを考慮することも、今後のQTL解析の重要なテーマであると考ええる。

8. 連鎖解析をともなうQTL解析による責任遺伝子の同定と水産育種

連鎖解析をともなうQTL解析による責任遺伝子の同定はできるのであろうか？ 形質によっては表現形質に影響を与える遺伝子がかかり複数個存在するであろうことや、ゲノム配列データベースの候補遺伝子の情報不足、加えてエピジェネティック情報など、すべての生物種で考慮しても、責任遺伝子の同定までたどり着けるケースはこれからも必ずしも多くはないと考えている。しかしながら、遺伝子を同定、機能解析しなくても、連鎖解析によりQTL候補領域を絞り込み、交配実験によりQTL候補領域の表現型への効果を観察することは可能で、このような方法で遺伝子座の存在、表現型への影響を証明していくことが現実的である。そしてマーカー選抜育種のような遺伝育種を目標にしてゲノム解析をするのであれば、そのほうが現実

の遺伝育種に則しているといえる。特に、水産育種では、現状の養殖魚が野生種に近いものであることを考えると、責任遺伝子の遺伝情報に基づく表現型への100%の改善を求めなくても、複数存在するであろう責任遺伝子群の一部の遺伝子の効果により、20~30%の表現型の改善ができれば十分な経済価値が得られるので、QTL候補領域と連鎖するマーカーの利用は積極的に行われるべきであると考ええる。

9 今後の課題

今後の水産経済動物のゲノム研究とQTLを中心とした遺伝育種していく上での重点課題を2つ上げておきたい。

9-1 有用経済形質を有する系統の積極的探索と保存

現在、世界中で多くの研究機関で、様々な魚種において特長のある形質を持つ系統が飼育されている。特長のある形質をもつ系統を探し出し、継代飼育して行くことはゲノム解析以上に時間と資金を必要とする。それら形質を持つ系統を探し出し、評価し、系統を維持していく作業の重要性を改めて認識しなければならない。また、すでに特長のある形質を持つ魚などで作出された近交系や雌雄性発生、雄性発生クローンについて、これら系統が持つ形質をさらに幅広く調査し、系統間の形質評価を行っていくことも必要であろう。そしてその優れた経済形質を持つ系統を総合的に維持管理する施設を組織し、連携させていくことが必要である。

9-2 DNA マーカーや BAC ライブラリーなどの分子生物学的ツールの管理、供給体制

分子マーカーなどのツールすべてを各々の研究機関が開発、維持していくことは多大な労力が必要となる。現在までに世界中で開発された水産生物を対象とした分子マーカーは数多く存在し、その情報は公開、未公開にかかわらず整理されていない。現在、連鎖解析やQTL解析の報告をしている研究者の多くは、1990年代初期のDNAマーカーを開発していた研究グループで、研究ツール及び情報の諸事情をよく知った研究者である。この分野への新規参入したい研究グループが必要な情報を正確に調べ上げ使いこなすには、情報を読み解くのに手間もかかり無駄も多い。これらの情報ツールを各研究グループにわかりやすく、管理供給できる組織あるいは企業が必要である。DNAブック(HayashizakiとKawai 2004)などを利用し、分子マ

ーカーの配列、位置、関連情報をアノテートし、希望する研究者に配付することができれば、より多くの研究者が遺伝育種の仕事に関わることができ研究の活性化につながるであろう。またBACなどの大型ライブラリーを複数の研究者で共有して利用可能となれば、資金のない研究室でも効率のよい研究ができ、水産生物ゲノムを利用した新たな研究の方向性を示してくれることだろう。

また上記のような情報を取りやすくするためのウェブサイト、バイオインフォマティクスツールの作成が望まれる。多くの研究者が、既知のことを分かりやすく、正確に情報を引き出せる研究環境に整備していくことも重要である。

10 おわりに

水産経済動物で、分子遺伝育種に期待が高まってきたのは、1990年代半ばくらいからで、約10年が経過した。当時では考えられないほどの技術の開発や知見の蓄積が進んだ。もちろんその間のヒトを始めとする真核生物での分子遺伝学の発展により、牽引されていくように進歩したわけだが、経済動物の研究にゲノム研究はどう役立てるべきかの方向性は明確化してきたように感じている。とりわけ分子マーカーを用いての遺伝育種による対象動物の改良は、将来を見据えた経済動物研究の共通の目標になっている。水産経済種は、対象種の多さこそあれ、産卵数の多さ、2~3年という比較的早いライフサイクル、飼育環境を調節できるため環境要因の個体への影響を限りなく少ない状況で解析できるなど、遺伝解析をする上で有利な点もある。さらなる水産経済動物のゲノム研究の発展により、その知見が動物遺伝育種にも貢献できることを願っている。

また、水産経済動物種に限っていえば、日本は先進国のなかでも有数の天然水産物消費国である。日本が直接漁獲していなくとも世界中の有りところから水産物を輸入しており、産地での乱獲を助長している場合もある。限りある水産資源に対して、水産経済動物のゲノム研究を通して、有用種の遺伝育種による自立的生産、さらには天然資源保護、資源管理に献身を尽くすことは消費国としての責任であり、ゲノム研究先進国としての義務であると考ええる。

謝 辞

(独)水産総合研究センター、岐阜県淡水魚研究所、神奈川県水産総合研究所、静岡県水産試験場、愛知県

水産試験場及び兵庫県立農林水産技術総合センターには研究グループの一員として多大な協力を賜った。また、カナダ、オンタリオ州ゲルフ大学動物学研究室の Roy G Danzmann 教授と Maria M Ferguson 教授には有益な情報提供とその記載許可をいただいた。本稿を終えるにあたり、ここに記して御礼申し上げる。

引用文献

- Albertson RC, Streelman JT, Kocher TD. 2003. Directional selection has shaped the oral jaws of lale Malawai cichlid fishes. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 100: 5252–5257.
- Chevassus B and Dorson M. 1990. Genetics of resistance to disease in fishes. *Aquaculture*, 85: 83–107.
- Cnaani A, Hallerman EM, Ron M, Weller JI, Indelman M, Kashi Y, Gall GAE, Hulata G. 2003. Detection of a chromosomal region with two quantitative trait loci, affecting cold tolerance and fish size, in an F₂ tilapia hybrid. *Aquaculture*, 223: 117–128.
- Coimbra MRM, Kobayayshi K, Koretsugu S, Hasegawa O, Ohara E, Ozaki A, Sakamoto T, Naruse K, Okamoto N. 2003. A genetic linkage map of the Japanese flounder, *Paralichthys olivaceus*. *Aquaculture*, 220: 203–218.
- Danzmann RG, Jackson TR, Ferguson MM. 1999. Epistasis in allelic expression at upper temperature tolerance QTL in rainbow trout. *Aquaculture*, 173: 45–58.
- De Koning DJ, Rattink AP, Harlizius B, van Arendonk JA, Brascamp EW, Groenen MA. 2000. Genome-wide scan for body composition in pigs reveals important role of imprinting. *Proc Natl Acad Sci USA*, 97: 7947–7950.
- Fuji K, Kobayashi K, Hasegawa O, Ozaki A, Sakamoto T, Okamoto N. 2002. Quantitative trait locus (QTL) associated with resistance to Lymphocystis disease in Japanese flounder (*Paralichthys olivaceus*). 4th International Symposium on Aquatic Animal Health, Virology: New Orleans Louisiana USA. Sept. 2.
- Gharbi K, Semple JW, Ferguson MM, Schulte PM, Danzmann RG. 2004. Linkage arrangement of Na,K-ATPase genes in the tetraploid-derived genome of the rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics*, 35: 321–325.
- Gilbey J, Verspoor E, McLay A, Houlihan D. 2004. A microsatellite linkage map for Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Animal Genetics*, 35: 98–105.
- Hansen JD, La Patra S. 2002. Induction of the rainbow trout MHC class I pathway during acute IHNV infection. *Immunogenetics*, 54: 654–61.
- Hara T, Nagase T, Kuwada T, Tokuhara T, Ozaki A, Sakamoto T, Okamoto N. 2004. A genetic linkage map of amago salmon (*Oncorhynchus masou ishikawae*) and mapping of two QTL associated with smoltification. 29th International Conference on Animal Genetics by ISAG. Association between Markers and Traits: Tokyo Japan. Sept 14.
- Hayashizaki Y, Kawai J. 2004. A new approach to the distribution and storage of genetic resources. *Nature Reviews Genetics*, 5: 223–228
- Hepkema BG, Blankert JJ, Albers GA, Tilanus MG, Egberts E, van der Zijpp AJ, Hensen EJ. 1993. Mapping of susceptibility to Marek's disease within the major histocompatibility (B) complex by refined typing of White Leghorn chickens. *Animal Genetics*, 24: 283–7.
- Hirooka H, de Koning DJ, van Arendonk JA, Harlizius B, de Groot PN, Bovenhuis H. 2002. Genome scan reveals new coat color loci in exotic pig cross. *Journal of Heredity*, 93: 1–8.
- Jackson TR, Danzmann RG, Ferguson MM, Fishback AG, Ihssen PE, O'Connell M, Crease TJ. 1998. Identification of two QTL influencing upper temperature tolerance in three rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) half-sib families. *Heredity*, 80: 143–151.
- Katagiri T, Asakawa S, Minagawa S, Shimizu N, Hirono I, Aoki T. 2001. Construction and characterization of BAC libraries for three fish species; rainbow trout, carp and tilapia. *Animal Genetics*, 32: 200–204.
- Khoo SK, Ozaki A, Nakamura F, Arakawa T, Ichimoto S, Nickolov R, Sakamoto T, Akutsu T, Mochizuki M, Denda I, Okamoto N. 2004. Identification of a novel chromosomal region associated with infectious hematopoietic necrosis (IHN) resistance in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Fish Pathology*, 39: 95–101.
- Khoo SK, Ozaki A, Sakamoto T, Okamoto N. 2000. Rapid communication: two highly polymorphic dinucleotide microsatellites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): OmyRGT18TUF and OmyRGT23TUF. *Journal of Animal Science*, 78: 490–491.

- Khoo SK, Ozaki A, Sakamoto T, Okamoto N. 2000. Four highly polymorphic dinucleotide microsatellites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics*, 31: 73–74.
- Kocher TD, Lee WJ, Sobolewska H, Penman D, McAndrew B. 1998. A genetic linkage map of a cichlid fish, the tilapia (*Oreochromis niloticus*). *Genetics*, 148: 1225–1232.
- Kuwada T, Yoshinaga K, Usuda H. 1999. Relationships between growth and smoltification in Amago Salmon (*Oncorhynchus masou ishikawae*), basic studies towards establishing parr strain. *Bulletin of National Research Institute of Aquaculture*, 1: 45–48
- 桑田知宣. 1995. 雌性発生技術を応用したアマゴの育種に関する研究 クローンアマゴの特性について. 岐阜県水産試験場研究報告, 40: 19–33
- Li Y, Byrne K, Miggiano E, Whan V, Moore S, Keys S, Crocos P, Preton N, Lehnert S. 2003. Genetic mapping of the Kuruma prawn *Penaeus japonicus* using AFLP markers. *Aquaculture*, 219: 143–156.
- Liu Z, Karsi A, Li P, Cao D, Dunham R. 2003. An AFLP-based genetic linkage map of channel catfish (*Ictalurus punctatus*) constructed by using an interspecific hybrid resource family. *Genetics*, 165: 687–694.
- May B, Johnson KR. 1990. Composite linkage map of salmonid fishes. In: *Genetic Maps*, 5th ed. (O'Brien SJ eds) 4.151–4.159. Cold Spring Harbor Press. Cold Spring harbor, New York.
- McConnell SKJ, Beynon C, Leamon J, Skibinski DOF. 2000. Microsatellite marker based genetic linkage maps of *Oreochromis aureus* and *O. niloticus* (Cichlidae): extensive linkage group segment homologies revealed. *Animal Genetics*, 31: 214–218.
- Moen T, Hoyheim G, Munck H, Gomez-Raya L. 2004. A linkage map of Atlantic salmon (*Salmo salar*) reveals an uncommonly large difference in recombination rate between the sexes. *Animal Genetics*, 35: 81–92.
- Moen T, Agresti JJ, Cnaani A, Moses H, Famula TR, Hulata G, Gall GAE, May B. 2004. A genome scan of a four-way tilapia cross supports the existence of a quantitative trait locus for cold tolerance on linkage group 23. *Aquaculture Research*, 35: 893–904.
- Moore SS, Whan V, Davis GP, Byrne K, Hetzel DJS, Preston N. 1999. The development and application of genetic markers for the Kuruma prawn *Penaeus japonicus*. *Aquaculture*, 173: 19–32.
- 長瀬崇, 桑田知宣, 徳原哲也, 尾崎照遵, 原拓矢, 坂本崇, 岡本信明. 2002. アマゴ早熟形質の遺伝解析を目的とした遺伝子連鎖地図の作製. 遺伝・育成 647. 日本水産学会大会 4月2日.
- Nakamura K, Ozaki A, Akutsu T, Iwai K, Sakamoto T, Yoshizaki G, Okamoto N. 2001. Genetic mapping of the dominant albino locus in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Genetics and Genomics*, 265: 687–693.
- Nichols KM, Bartholomew J, Thorgaard GH. 2003. Mapping multiple genetic loci associated with *Ceratomyxa Shasta* resistance in *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 56: 145–154.
- Nichols KM, Young WP, Danzmann RG, Robison BD, Rexroad C, Noakes M, Phillips RB, Bentzen P, Spies I, Kundsén K, Allendorf FW, Cunningham BM, Brunell J, Zhang H, Ristow S, Drew R, Brown KH, Wheeler PA, Thorgaard GH. 2003. A consolidated linkage map for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics*, 34: 102–115.
- Ohara E, Nishimura T, Sakamoto T, Nagakura Y, Mushiake K, Okamoto N. 2003. A microsatellite linkage map of the Genus *Seriola*. *Plant & Animal Genome XI Conference, Genome Mapping Tagging and Characterization Aquaculture Workshop: San Diego California, USA. Jan. 11.*
- Ozaki A, De Leon FG, Glebe B, Ferguson MM, T. Woo PTK, Danzmann RG. 2003. Identification of QTL for resistance to (*Cryptobia salmositica*) infection in ATLANTIC SALMON (*Salmo salar*): A model for pathogen resistance QTL. the VIIIth International Symposium Genetics in Aquaculture by ISGA, Genes and genome mapping and manipulations: Puerto Varas, Chile. Nov. 11
- Ozaki A, Sakamoto T, Okamoto N. 2003. The contribution of quantitative genetics to fish breeding. In: *Aquatic Genomics-Step Toward a Great Future*. (Shimizu N, Aoki T, Takashima F eds) 399–409. Springer-Verlag-Tokyo. Tokyo.
- Ozaki A, Sakamoto T, Khoo S, Nakamura K, Coimbra MRM, Akutsu T, Okamoto N. 2001. Quantitative trait loci (QTLs) associated with resistance/susceptibility to infectious pancreatic necrosis virus (IPNV) in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Molecular Genetics and*

- Genomics, 265: 23–31.
- Ozaki A, Khoo SK, Sakamoto T, Okamoto N. 2003. Thirty-one polymorphic microsatellite markers for genetic mapping in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics*, 34: 315–317.
- Ozaki A, Khoo SK, Sakamoto T, Okamoto N. 1999. Two highly polymorphic dinucleotide microsatellites in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*): OmyRGT7TUF and OmyRGT8TUF. *Animal Genetics*, 30: 393–394.
- Palti Y, Gahr SA, Hansen JD, Rexroad CE 3rd. 2004. Characterization of a new BAC library for rainbow trout: evidence for multi-locus duplication. *Animal Genetics*, 35: 130–133.
- Palti Y, Parsons JE, Thorgaard GH. 1999. Identification of candidate DNA markers associated with IHN virus resistance in backcrosses of rainbow (*Oncorhynchus mykiss*) and cutthroat trout (*O. clarki*). *Aquaculture*, 173: 81–94.
- Palti Y, Nichols KM, Waller KI, Parsons JE, Thorgaard GH. 2001. Association between DNA polymorphisms tightly linked to MHC class II genes and IHN virus resistance in backcrosses of rainbow and cutthroat trout. *Aquaculture*, 194: 283.
- Parham P, Ohta T. 1996. Population biology of antigen presentation by MHC class I molecules. *Science*, 272: 67–74.
- Perry GM, Danzmann RG, Ferguson MM, Gibson JP. 2001. Quantitative trait loci for upper thermal tolerance in outbred strains of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Heredity*, 86: 333–341.
- Phillips RB, Zimmerman A, Noakes MA, Palti Y, Morasch MR, Eiben L, Ristow SS, Thorgaard GH, Hansen JD. 2003. Physical and genetic mapping of the rainbow trout major histocompatibility regions: evidence for duplication of the class I region. *Immunogenetics*, 55: 561–569.
- Rexroad CE 3rd, Coleman RL, Hershberger WK, Killefer J. 2002. Rapid communication: Thirty-eight polymorphic microsatellite markers for mapping in rainbow trout. *Journal of Animal Science*, 80: 541–542.
- Rexroad CE 3rd, Coleman RL, Hershberger WK, Killefer J. 2002. Eighteen polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics*, 33: 76–78.
- Rexroad CE 3rd, Coleman RL, Martin AM, Hershberger WK, Killefer J. 2001. Thirty-five polymorphic microsatellite markers for rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Animal Genetics*, 32: 317–319.
- Robison BD, Wheeler PA, Sundin K, Sikka P, Thorgaard GH. 2001. Composite interval mapping reveals a major locus influencing embryonic development rate in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *The Journal of Heredity*, 92: 16–22.
- Sakamoto T, Danzmann RG, Gharbi K, Howard P, Ozaki A, Khoo SK, Woram RA, Okamoto N, Ferguson MM, Holm LE, Guyomard R, Hoyheim B. 2000. A microsatellite linkage map of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) characterized by large sex-specific differences in recombination rates. *Genetics*, 155: 1331–1345.
- Sakamoto T, Danzmann RG, Okamoto N, Ferguson MM, Ihssen PB. 1999. Linkage analysis of quantitative trait loci associated with spawning time in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquaculture*, 173: 33–43.
- Sakamoto T, Okamoto N, Ikeda Y. 1994. Rapid communication: dinucleotide repeat polymorphism of rainbow trout, FGT5(1). *Journal of Animal Science*, 72: 2768.
- Sakamoto T, Okamoto N, Ikeda Y. 1994. Rapid communication: dinucleotide repeat polymorphism of rainbow trout, FGT4(1). *Journal of Animal Science*, 72: 2767.
- Sakamoto T, Okamoto N, Ikeda Y. 1994. Rapid communication: dinucleotide repeat polymorphism of rainbow trout, FGT3(1). *Journal of Animal Science*, 72: 2766.
- Sakamoto T, Okamoto N, Ikeda Y. 1994. Rapid communication: dinucleotide repeat polymorphism of rainbow trout, FGT2. *Journal of Animal Science*, 72: 2765.
- Somorjai IML, Danzmann RG, Ferguson MM. 2003. Distribution of temperature tolerance quantitative trait loci in Arctic charr (*Salvelinus alpinus*) and inferred homologies in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Genetics*, 165: 1443–56.
- Sun X, Liang L. 2004. A genetic linkage map of common carp (*Cyprinus carpio* L.) and mapping of a locus associated with cold tolerance. *Aquaculture*, 238: 165–172.

- Waldbieser GC, Bosworth BG, Nonneman DJ, Wolters WR. 2001. A microsatellite-based genetic linkage map for channel catfish, *Ictalurus punctatus*. *Genetics*, 158: 727–734.
- Wiegertjes GF, Stet RJ, Parmentier HK, van Muiswinkel WB. 1996. Immunogenetics of disease resistance in fish: a comparative approach. *Developmental and Comparative Immunology*, 20: 365–381.
- Wilson K, Li Y, Whan V, Lehnert S, Byrne K, Moore S, Pongsomboon S, Tassanakajon A, Rosenberg G, Ballment E, Fayazi Z, Swan J, Kenway M, Benzie J. 2002. Genetic mapping of the black tiger shrimp *Penaeus monodon*. *Aquaculture*, 204: 297–309.
- Woram RA, Gharbi K, Sakamoto T, Hoyheim B, Holm LE, Naish K, McGowan C, Ferguson MM, Phillips RB, Stein J, Guyomard R, Cairney M, Taggart JB, Powell R, Davidson W, Danzmann RG. 2003. Comparative genome analysis of the primary sex-determining locus in salmonid fishes. *Genome Research*, 13: 272–280.
- Young WP, Wheeler PA, Coryell VH, Keim P, Thorgaard GH. 1998. A detailed linkage map of rainbow trout produced using doubled haploids. *Genetics*, 148: 839–850.