

F - 3 希少野生動物の遺伝的多様性とその保存に関する研究
(2) 希少野生動物の生息域外保全および増殖技術に関する研究
①希少野生動物の遺伝情報管理のシステム化

環境庁 国立環境研究所

生物圏環境部 環境微生物研究室 渡辺 信

地域環境研究グループ 都市環境影響評価研究チーム 高橋慎司

社会環境システム部 情報解析研究室 清水 明

厚生省 予防衛生研究所

(元) (財) 地球・人間環境フォーラム 土屋 英明

平成5年度合計予算額 13,110千円

(平成7年度予算額 4,515千円)

はじめに

近年、野生動物に関する生息状況についての統計的解析調査が世界的に推進されつつあり、各種データが蓄積されつつある。特に、希少野生動物に関する情報は、生息域内のみならず生息域外についての情報が重要となっており、それらの情報を統一化するシステムが必要となっている。こうした世界情勢に基づいて、米国では野生動物の生息域内外情報のシステム化を試み、莫大なデータ量をコンピュータ処理することによって情報の高度化を図っている。例えば、I S I S (International Species Inventory System) はミネソタ大学とミネソタ動物園の共同提案により、飼育動物の数・出生地・年齢・性・繁殖数・死亡数・個体の特徴などをコード化し、将来の血統登録(Studbook)の原形化を目指しており、既に米国の動物園水族館協会での希少動物国際血統登録に活用されている¹⁾。また、国際自然保護連盟のもとで刊行されている Red Data Book では、第二版(1972年発行)から数字による独自のコードを採用している。しかし、国際的に統一されたコード化は行われておらず、これらを全ての動物まで拡張していくためには、かなりの改善が必要である。

ところで、生物多様性条約は、1992年6月にリオ・デ・ジャネイロで開催された国連環境開発会議で157ヶ国が署名し、翌93年12月29日に発効した。すなわち、生物多様性の保全については地球環境問題の一環として重要な課題であることは世界的に認知された。94年11月には、生物多様性条約の第1回締約国会議が開催されたが、最も緊急性の高いものは、野生動物の絶滅危惧種の保護対策であった²⁾。また、絶滅の恐れのある野生動植物の国際取引を厳しく規制するワシントン条約において、規制対象種選定についての新基準が合意され、希少野生動物の世界的な保全が確認された。

国内においては、93年に「絶滅の恐れのある野生動植物の種の保存に関する法律」(種の保存法)が施行され、これに基づいて各種施策が展開されている。例えば、94年度から5ヶ年計画で都道府県の協力を得て「種の多様性調査」が実施されており、本邦産動植物の分布が明らかにされつつある。また、本邦産動植物の多様性に関する各種情報の収集・整備・提供のためのシステム化についても検討しており³⁾、95年度からは実現に向けた取り組みを開始した。本邦産野生動物は、現在、絶滅危惧種が49種(哺乳類:3, 鳥類:27, 爬虫類:1, 両生類:2, 汽水・淡水産魚類:16)であり、既に20種(哺乳類:5, 鳥類:13, 汽水・淡水産魚類:2)が絶滅している。特に、鳥類では本邦産536種のうち119種が絶滅の恐れがあり、緊急な対応が必要となっている。

一方これらの情報を管理するためのコンピュータ、特に小型コンピュータを取り巻く環境は大きく変化しており、従来は数値計算や文書管理を中心だった処理が、画像や音声を扱い、更にそれらを圧縮し通信回線へ転送し、情報ネットワークを形成している。従って、遠くに分散している情報資源もコンピュータシステム上で統合され、見かけ上一つのものとして活用していく技術が実用化され、また、情報を乗せる媒体も多様化し、飛躍的な容量増加と記録保存性が向上したもの(CD-ROM等)も普及しつつある。

性・繁殖数・死亡数・個体の特徴などをコード化し、将来の血統登録（Studbook）の原形化を目指しており、既に米国の動物園水族館協会での希少動物国際血統登録に活用されている¹⁾。また、国際自然保护連盟のもとで刊行されている Red Data Book では、第二版（1972年発行）から数字による独自のコードを採用している。しかし、国際的に統一されたコード化は行われておらず、これらを全ての動物まで拡張していくためには、かなりの改善が必要である。

ところで、生物多様性条約は、1992年6月にリオ・デ・ジャネイロで開催された国連環境開発会議で157ヶ国が署名し、翌93年12月29日に発効した。すなわち、生物多様性の保全については地球環境問題の一環として重要な課題であることは世界的に認知された。94年11月には、生物多様性条約の第1回締約国会議が開催されたが、最も緊急性の高いものは、野生動物の絶滅危惧種の保護対策であった²⁾。また、絶滅の恐れのある野生動植物の国際取引を厳しく規制するワシントン条約において、規制対象種選定についての新基準が合意され、希少野生動物の世界的な保全が確認された。

国内においては、93年に「絶滅の恐れのある野生動植物の種の保存に関する法律」（種の保存法）が施行され、これに基づいて各種施策が展開されている。例えば、94年度から5ヶ年計画で都道府県の協力を得て「種の多様性調査」が実施されており、本邦産動植物の分布が明らかにされつつある。また、本邦産動植物の多様性に関する各種情報の収集・整備・提供のためのシステム化についても検討しており³⁾、95年度からは実現に向けた取り組みを開始した。本邦産野生動物は、現在、絶滅危惧種が49種（哺乳類：3、鳥類：27、爬虫類：1、両生類：2、汽水・淡水産魚類：16）であり、既に20種（哺乳類：5、鳥類：13、汽水・淡水産魚類：2）が絶滅している。特に、鳥類では本邦産536種のうち119種が絶滅の恐れがあり、緊急な対応が必要となっている。

一方これらの情報を管理するためのコンピュータ、特に小型コンピュータを取り巻く環境は大きく変化しており、従来は数値計算や文書管理を中心だった処理が、画像や音声を扱い、更にそれらを圧縮し通信回線へ転送し、情報ネットワークを形成している。従って、遠くに分散している情報資源もコンピュータシステム上で統合され、見かけ上一つのものとして活用していく技術が実用化され、また、情報を乗せる媒体も多様化し、飛躍的な容量増加と記録保存性が向上したもの（CD-ROM等）も普及しつつある。

希少野生動物の情報管理には、これらの新しい情報環境の変化を有効に活用していくことが必要である。本課題にかかる研究資料は、文献・写真・記録映画・ビデオテープ等の多様な形態が存在しているが、これらのデータベース化に際しては細心の注意が必要である。すなわち、絶滅種に関する情報は、その性質から時間的にも地理的にも広く分散しており、これを研究者や機関が独自の形態で保管しているのが実状である。従ってこれら多種多様のデータを特定の形式に整えて、一元的に管理することは困難であるとともに、実状に対応できないおそれがある。そこで、個々の絶滅種に関してもっとも適当と考えられる機関や研究者が、各々のデータベースを検討しながら構築し、これらを有機的に結び付け統一的に稼動する形態のネットワークを構築して行くことが望ましい。

本邦産野生動物の情報管理は、環境庁自然保护局が実施している自然環境保全基礎調査動物分布調査表の作成、日本動物園水族館協会での脊椎動物の国際コード化などで推進されてきており、常にそれらの実情を把握することが可能になってきている。しかしながら、生物多様性の保全として重要な位置を占める本邦産希少野生動物については、情報管理のシステム化が全くなされておらず、早急な対応を迫られている。そこで、今回は本邦産希少野生動物の中でも特に問題視されている鳥類を用い、情報管理システムを構築するとともに、具体的に実験鳥類（ニホンウズラ）を用いて各種データを入力し、コンピュータ解析を行い、データベース化の有用性を検討した。

1. 本邦産希少野生動物の情報管理のシステム化

本邦産希少野生動物のなかで、脊椎動物は絶滅危惧種 72 種、危急種 65 種となっている。特に鳥類は、現在 536 種のうち絶滅のおそれのある種が 119 種（絶滅危惧種：27、危急種：27、希少種：65）もあり、最も保全が必要となっている（図 1 参照）。

希少野生鳥類の生息域内外保全を図るために、これまで蓄積されてきた情報を分析するとともに、個体・臓器・細胞レベルでの保存が必要となってくる。そこで、これまで生息域内で得られた情報を、繁殖情報と環境情報とに大別し、これらのフォーマットを整えデータベースとして利用する方法が考えられる。しかしながら、生息域外保全が必要となった場合は、危険度に応じて以下の流れとなる（図 2 参照）。すなわち、個体及び系統の生息域外保全→絶滅危惧種の人工飼育・繁殖→臓器・細胞・遺伝子の保存である。絶滅のおそれのある種（119 種）は、生息域内外の両域において情報収集が可能であるため、自然生息域内で生息する集団を母集団とし、それ以外で生息するものをサンプル集団とした繁殖・環境情報に分類する。また、生息域外のみの保存となった場合、これに実験動物学的概念を導入することにより、①遺伝統御・②環境統御・③微生物統御に分類する。*in vitro* のみの情報となった場合、これに細胞銀行（Gene Bank）の概念を導入し、臓器・細胞・遺伝子に分類する。なお、細胞は体細胞と生殖細胞とに区別する。以上の概念に基づいて、情報管理のシステム化を行った。

2. 本邦産希少野生鳥類の繁殖・環境情報の管理

（1）繁殖情報

生息域外での保全が必要となった場合は、A：母集団（生息域内）情報とB：サンプル集団（生息域外）情報とに分けて、各々の項目を図 3 にまとめた。すなわち、Aは自然生態系の中で、自家繁殖している状態から得られる情報とし、親子の増減や野外調査による遺伝学的解析を行う。また、Bは人工飼育下での繁殖情報とし、閉鎖集団での家族構成や実験室内での遺伝子解析を行う。

（2）環境情報

（1）と同様に A と B に分けて、各々の項目を図 3 にまとめた。すなわち、A は母集団の自然環境要因を、B はサンプリング集団の人工環境要因の主要なものを、A：生息環境・食性・繁殖地・行動生態、B：飼育環境・人工飼料・孵化育成環境・行動観察・生態影響試験として抽出した。

（3）基本情報

鳥類図鑑等からの基本情報を抽出したもの（A）と、保護センター等から得られた基本情報（B）とに分けて、A：属・目・科・個体名・雌雄・体重・形態的特徴、B：属・目・科・系統・家系・個体名・性別・体重・形態的特徴・遺伝的背景について抽出し、各々の項目を図 4 にまとめた。すなわち、A は研究に限らない一般向けのデータベースとして、映像・音声等によりわかりやすく解説を加えたものを整備し、B は研究用データベースとしてコンピュータネットワークを構築することが望ましい。

3. 本邦産希少野生鳥類の情報管理システムの作成

（1）繁殖情報

母集団（A）の繁殖情報を、これまでの野鳥観察・調査等を参考にしながら 12 項目（生息数・雌雄数・ペアリング数・孵化数・育成数・類縁関係・対称性・巣巣形・産卵期・卵数・放卵日数・その他）に区分した。また、サンプリング集団（B）では、家禽および実験用鳥類の研究データを参考にして 14 項目（雌雄数・ペアリング数・血縁係数・近交係数・適応度指数・産卵率・受精率・孵化率・育成率・卵重・体重・発生中止率・突然変異・その他）に区分した（図 5 参照）。

（2）環境情報

母集団（A）の環境情報を、これまでの野外調査を参考にして 10 項目（生息圏・繁殖地・越冬地・

飛行経路・飛来数・食性・求愛行動・育雛行動・環境変動・その他)に区分した。しかし、今後、国際的にフォーマットを統一することが望ましいため、あえて分類は行わなかった。また、Bでは人工飼育を行うために実験動物学的概念を導入し、2つに分類した。すなわち、環境情報を1.環境統御と2.微生物統御とに分類し、1は6区分(空調条件・照明条件・摂食条件・摂水条件・その他)し、2は5区分(病原微生物検査・常在菌検査・飼料検査・水質検査・その他)した(図6参照)。

4. 鳥類での臓器・細胞・遺伝子のデータベース化

(1) 臓器(図7)

鳥類での臓器・組織(体細胞)レベルでコード化した例として、トキが挙げられる。佐藤らは「獣医組織学用語」(学窓社、1993年発行)を参考にして、解剖学の分類に従ってコード番号を与えた⁴⁾。すなわち、最初に14項目(血液・外皮系・運動器系・消化器系・泌尿器系・雄性生殖器系・雌性生殖器系・呼吸器系・循環器系・神経系・感覚器系・造血器系・内分泌腺系・その他)に分類し、次に各項目別に解剖用語に従ってコード番号を与えた。ただし、臓器によっては分類しきれない場合があり、例えば脾臓のように消化器系か内分泌系か不明瞭な場合があるなど、今後のコードの統一化が必要である。

(2) 生殖細胞(図8)

生物が繁殖し自己とほぼ同様の子孫を生産することは、生物に固有な性質を子孫に遺伝させるための情報すなわち遺伝情報が生物に含まれており、その情報の担い手である構造体が増殖してやがて子孫に受け継がれてゆく。この構造体こそが、生殖細胞であり生殖細胞への分化をまつ始原生殖細胞である。また、生物種の多様性の保全が試みられている現在、直接次世代の個体構築に影響を及ぼす生殖細胞の保存は絶滅の危惧の有無に関わらず重要なことである。

ロンドンのMill Hillにある国立医学研究所でグリセリンの凍害防御効果が見いだされてから生物細胞の凍結保存に関する技術は、今まで飛躍的な進歩を遂げている。また、わが国における動物の生殖細胞の凍結保存に関する研究は、畜産、特に哺乳動物の分野においてめざましい進歩を遂げ、1955年に凍結精液による最初の人工受精が行われて以来、多種多様な哺乳動物の精子・卵子および受精卵の凍結保存が行われてきた。鳥類においてはニワトリ精子を始めアヒル、七面鳥、ガチョウそのほか種の異なる鳥類の精子の凍結保存が進められている。また、鳥類の放卵後の受精卵は短期間なら凍結を行わない定温保存で、非常によい成績を示しており、野外での鳥類受精卵の採取および飼育施設への輸送には非常に有用である。しかしながら、その卵子は排卵時にすでにサイズの大きい卵黄上に存在し、また受精卵は放卵時には細胞数も著しく増加しているため、今までのところ鳥類の卵子および発生胚の凍結による長期間の保存は、不可能とされている。ところで、保田ら⁵⁾はニワトリの発生胚の血液中の始原生殖細胞を分離し種の異なるニワトリ胚へ移植することで生殖系キメラニワトリの作出に成功している。また、内藤ら⁶⁾は血液中から採取した始原生殖細胞を凍結・融解操作の後、生殖系キメラニワトリの作出にも成功している。一方、将来的には始原生殖細胞を含む生殖系列細胞の注入移植による個体復元の可能性を考慮にいれた細胞の長期保存システムの検討も行う必要があるものと考えられる。これらのことから、鳥類における生殖系列細胞の保存は現在のところ以下の5項目に大別する必要があり、それぞれの項目について今後、技術の進歩とともに多様な要求に対応可能な検索システムの構築を試みた。

生殖系列細胞の保存システム

1. 精子の非凍結短期保存
2. 精子の凍結長期保存

3. 卵子および受精卵の非凍結短期保存
4. 始原生殖細胞を含むその他未分化生殖細胞の非凍結短期保存
5. 始原生殖細胞を含むその他未分化生殖細胞の凍結長期保存

(3) 遺伝子レベル(図9)

鳥類は染色体数が哺乳類よりも多い。例えば、ウズラは $2n=78$ であり、6対の大型染色体と23対の小型染色体より構成されている。マウス($2n=40$)については、実験動物としての有用性から染色体レベルでの解析が急速に進められている。マウスのゲノムマップについての国際会議が毎年各国で開催され、各形質の遺伝子座が染色体上にマッピングされ、ヒトゲノムとの対応関係が明らかにされつつある⁷⁾。しかしながら、鳥類の場合は染色体の数が多いこと、実験動物化が遅れていること等のため、遺伝子レベルでの解析が遅れている。なお、鳥類の遺伝子レベルでのデータベース化は、近交退化現象を動的に解析する際に、極めて有用となる。

今回は、突然変異座位(1)として羽装(1.1)と酵素多型(1.2)を各々抽出し、免疫応答座位(2)としてMHC(2.1)とT細胞(2.2)を、ミトコンドリア(3)としてDNA塩基配列(3.1)とDNA多型(3.2)を、各々分類した。

5. データベースからの出力と利用

(1) 母集団での繁殖・環境情報の出力例

生息域内の母集団(A)からサンプリング集団(B)を抽出し、それらの繁殖・環境情報を同時に比較することによって、絶滅のおそれが減少しているのか増加しているのかを瞬時に知ることができる。本邦産野生鳥類の絶滅危惧種であるトキ(Toki, *Nipponia nippon*)とタンチョウ(Japanese Crane, *Grus japonensis*)の例を図10に示した。なお、フォーマット及びコードについては国内外で統一する必要があり、一般化を検討中である。

(2) サンプル集団(実験動物)での繁殖・環境情報の出力例

生息域外のサンプル集団(B)でも、人工的に飼育・繁殖された場合は、それらの情報管理が容易であり、またデータベースとしての価値は高い。ところで、ウズラ(Japanese Quail, *Coturnix japonica*)は、鳥類の実験動物として近年になって世界的に注目され、マウス・ラットに匹敵する有用性が明らかにされつつある⁸⁾。

図11にウズラでの繁殖・環境情報の管理例を示した。供試ウズラ(K-H)は、国立環境研究所動物実験施設(K)で維持・管理されているNDV不活化ワクチンに対する抗体産生能の高(H)系である。K-Hの選抜第40世代についての繁殖情報(B.R)を、フォーマット[1~14]に従い入力した。また、環境情報(B.E)については、環境統御(B.E.1)を[1~4]に、微生物統御(B.E.2)を[1~5]のような形で入力した。なお、K-Hと全く同じ条件で飼育されたK-L(抗体産生能の低系)についても、同様に行った。

6. 近交系ウズラでの繁殖・環境情報の解析例

環境庁国立環境研究所の動物実験施設には、1980年以来、選抜系ウズラ(K-HとK-L)が40世代以上に亘って維持されており、鳥類の絶滅モデルとして注目されている。そこで、これら近交系ウズラの繁殖・環境情報をデータベース化し、近交退化現象を解析する試みがなされている⁹⁾。今回は、これらのデータベースの中から、特に繁殖能力に関して具体的に分析し、以下に例示する。

(1) 選抜世代に伴う産卵率・受精率・孵化率・死ゴモリ率の推移(図12)

選抜系ウズラのK-Hについて、0~47世代に亘って繁殖能力の推移を図11に示した。繁殖能力と

しては、以下の項目とする。

- ①産卵率：交配後 3 日目より一定期間毎日採卵し、産卵した割合を%で表示。
- ②受精率：毎日採卵したものを低温庫（12~14°C）で 2 週間保存し、まとめて入卵した。入卵後 20 日目に割卵し、受精卵と無精卵に大別し、%で表示した。
- ③孵化率：受精卵に対しての孵化数を%で示した。なお、ウズラの受精卵は 37.8°C・60%RH の孵卵条件で 16 日目より孵化してくるが、最長 20 日目までに自力で脱殻したものを孵化と定義した。
- ④死ゴモリ率：入卵後 20 日目に割卵し、受精卵に対しての死ゴモリ率を%で示した。なお、死ゴモリは自力で脱殻できなかったが、ピピング（口バシで突く）痕のあるものと定義した。

以上の①～④のデータを基にして、横軸に世代を、縦軸に各々の数値（%）をプロットした。その結果、受精率・死ゴモリ率には一定の傾向はないものの、産卵率・孵化率は世代の推移に伴って減少する傾向、すなわち近交退化現象が認められる。

（2）近交系ウズラでの孵化率の解析例（図 13）

鳥類の孵化率は、遺伝及び環境要因を鋭敏に反映することが知られている。環境要因を一定にして、近交係数を毎世代 10%づつ上昇させた場合、孵化率は 11.6%/世代の割合で減少することがウズラで報告されている¹⁰⁾。（1）の解析例では、①孵化率は世代に伴って低下したが、これまでの報告例ほど顕著ではなかった。そこで、近交系ウズラ（K-H）の繁殖情報のデータベースから孵化率について抽出した。図 13 は、それを三次元表示したものである。x 軸に世代（0~24 世代）、y 軸に孵化率（0~100%）、z 軸にファミリー（20~30 家系）を昇順にとり、世代全体を俯瞰して、その傾向が一見して把握できるように表わした。すなわち、各世代内で最も大きな孵化率を示すファミリーを連ねた線を見ると、一部に大きな落ち込みが見られ、その世代に於いては、ファミリー全体の孵化率が低迷していたことが分かる。また、各世代内で最も小さな孵化率を示すファミリーの根元を連ねた線を見ると、各所に深い食い込みが見られ、それらの世代では、その中の多くのファミリーが孵化しなかったことが分かる。

これら、山の稜線や谷の食い込みのようにも見える 2 本の補助線に注目しながら図 13 を見ることにより、各世代ごとのファミリーの状態を、他と比較しながら全体として把握することができる。

これによると、K-H は第 10 世代に絶滅の危機があったことが示唆されるが、しかし、その後は回復に向かい、15 および 20 世代で“深い谷”が形成されたものの 24 世代までは、比較的良好な孵化率を維持したことがわかる。

このように、近交系ウズラの繁殖・環境情報をデータベース化すると共に、そのデータ表現についても新たな工夫をして解析することにより、長期間に渡る系の動き全体が把握でき、かつ危機的状況に陥った時期やその回復過程を詳細に検討することが可能になった。その結果、これら近交系ウズラの繁殖および次に示す血縁関係のデータを合わせて、鳥類の絶滅の原因や危機回避の手立てを探る一つのモデルとして活用できる可能性もあると考えられる。

（3）近交系ウズラでの血縁関係の表示

鳥類の血縁関係（近交度）を表示するために、血縁係数や近交係数が考えられている。これは、数式で求められるため既に繁殖情報としてデータベース化されているが、今回は別的方式で近交系ウズラ（K-H）の血縁関係を表現した。

図 14 は K-H の 26~30 世代までの血縁関係を表示した。各世代のファミリーは、前の世代からオスとメスをそれぞれ 1 本づつ供給されて成立している。しかし、線の集中度からわかるように、次世代への寄与は均等ではなく、特定のファミリーに集中していることがわかる。このような表現によると、遺伝的寄与率が直感的に捉えられるので、新たな解析の糸口を見出せる可能性も考えられる。

一般に、鳥類における近親交配は、保持する致死遺伝子がホモ化するため、系統維持が難しいといわれている。それにもかかわらず、K-HおよびK-Lウズラは49世代までも閉鎖集団での近交化がなされてきたことは、鳥類の絶滅モデルとして有用な履歴を有していると考えられる。

今回は、これらの繁殖・遺伝情報として20年近く蓄積された筆記資料を、コンピュータ入力し部分的にデータベース化した。このデータベースを活用することにより、近交系ウズラが危機的状況に陥る前兆や、その際に講じた対策手段の実際的効果等について、様々な角度から検討することが可能となる。

現在構築中のシステムは、パソコン上で稼動させているがそのデータ表示能力に注目し、膨大なデータを適切なグラフィックス表現に変換し、全体を眺望し一瞥するだけで問題点を発見できるような視覚化の方法を検討している。先に掲げた、孵化率や血縁関係を表現した図はその1例にすぎないが、解析に際して行うこれらの表現方法の工夫も膨大な量のデータを取り扱う際には重要なことである。

今後、これらのデータベースを解析することによって、鳥類の絶滅危惧種の救済対策に関する何等かの手掛かりが得られることを期待している。

〈引用文献〉

- ① 日本動物園水族館協会編、飼育ハンドブック－分類、生態、総論。（1982）
- ② （財）日本環境協会編、特集：生物多様性の保全。ぎょうせい6：6-20。（1995）
- ③ 環境庁長官官房総務課編、環境情報ネットワークシステム開発調査詳細設計（1990）
- ④ （財）自然環境研究センター編、希少野生動物の遺伝子の多様性とその保存に関する予備的研究報告書：II試料コード化。23-28。（1993）
- ⑤ Y.Yasuda, A.Tajima, T.Fujimoto and T.Kuwana, A method to obtain avian germ-line chimaeras using isolated primordial germ cells, J.Reprod.Fertil. 1992, 96, 521-528.
- ⑥ M.Naito, A.Tajima, T.Tagami, Y.Yasuda and T.Kuwana, Preservation of chick primordial germ cells in liquid nitrogen and subsequent production of viable off spring, J.Reprod.Fertil. 1994, 102, 321-325.
- ⑦ The 7th International Mouse Genome Conference Abstracts, Hamanako, JAPAN, Nov.7-11 (1993)
- ⑧ 多嶋嘉雄編、実験動物の生物学的特性データ：ニホンウズラ。604-612（1989）
- ⑨ 高橋弘編、国立公害研究所報告 R-124-`89：ウズラにおけるニューカッスル病ウイルス不活化ワクチンに対する抗体産性能の高および低への選抜育種。7-18。（1989）
- ⑩ 河原忠孝、実験用ウズラの由来と有用性。実験動物：25,351-354（1976）

〈研究発表リスト〉

(誌上発表)

- ・ Yasuno,M. and Watanabe,M.M. eds., Biodiversity: its complexity and role, Proceedings of international symposium on biodiversity, (1994)
- ・ Watanabe,M.M., Historical review of taxonomy of cyanobacteria, Microbiol. Cult. Coll.,(1995)
- ・ 高橋慎司, 絶滅寸前のトキを先端技術が救う, グローバルネット, (1994)
- ・ 佐野晶子, 岡本俊英, K.M. Cheng, 高橋慎司, 中村 明, 木村正雄, 研究用ウズラ集団間の遺伝的分化, 日本家禽学会誌, Vol. 32, 177-183, (1995)

(口頭発表)

- ・ 清水明, 高橋慎司, 土屋英明, 門田知美, 渡辺信, 遺伝情報のデータベース化について, 1994 年度地球環境研究総合推進費分野別研究発表会 : 野生生物の種の減少, P17, (1995)
- ・ 渡辺信, 土屋英明, 高橋慎司, 桑名 貴, 遺伝情報としての始原生殖細胞の重要性とその収集・保存システムの構築, 1994 年度地球環境研究総合推進費分野別研究発表会 : 野生生物の種の減少, P18, (1995)
- ・ 高橋慎司, 環境汚染物質の生態系影響解明でのウズラの有用性, 第 1 回エコトキシコロジー研究会・バイオアッセイ研究会合同研究発表会, P14, (1995)
- ・ 佐野晶子, 高橋慎司, 中村 明, 岡本俊英, 杉浦正明, NDV-HI 抗体産性能の高および低で選抜したウズラ集団の遺伝的変異性, 日本家禽学会 1995 年度秋季大会, P13, (1995)
- ・ 高橋慎司, 清水明, 渡辺信, 門田知美, 土屋英明, 鳥類での繁殖・環境情報の管理システム、95 年度地球環境研究総合推進費分野別研究発表会 : 希少野生動物の遺伝的多様性とその保存に関する研究, P15, (1996)

〈本邦産希少動物〉 哺乳類 (絶滅危惧種： 3 種, 危急種： 11 種)
鳥類 (" : 27 種, " : 27 種)
両生・爬虫類 (" : 3 種, " : 6 種)
昆虫類 (" : 23 種, " : 15 種)
汽水淡水魚類 (" : 16 種, " : 6 種)

〈鳥類〉 (現在 536 種のうち 119 種が絶滅の危機)
・絶滅種 (13 種)
・絶滅危惧種 (27 種)
・危急種 (27 種) ・希少種 (65 種)
・地域個体群

〈個体レベル〉

- ・遺伝情報管理
- ・細胞保存
- ・細胞利用

〔希少野生鳥類の遺伝情報管理〕

- ・自然環境保全基礎調査動物分布調査表 (鳥類： 73)
- ・鳥類試料コード化 (トキの保存試料コード： 1 ~ 14)
- ・鳥類での絶滅モデル作成 (ウズラの近交退化： G₀ ~ G₄₈)

図 1 : 希少野生動物の遺伝情報管理システム

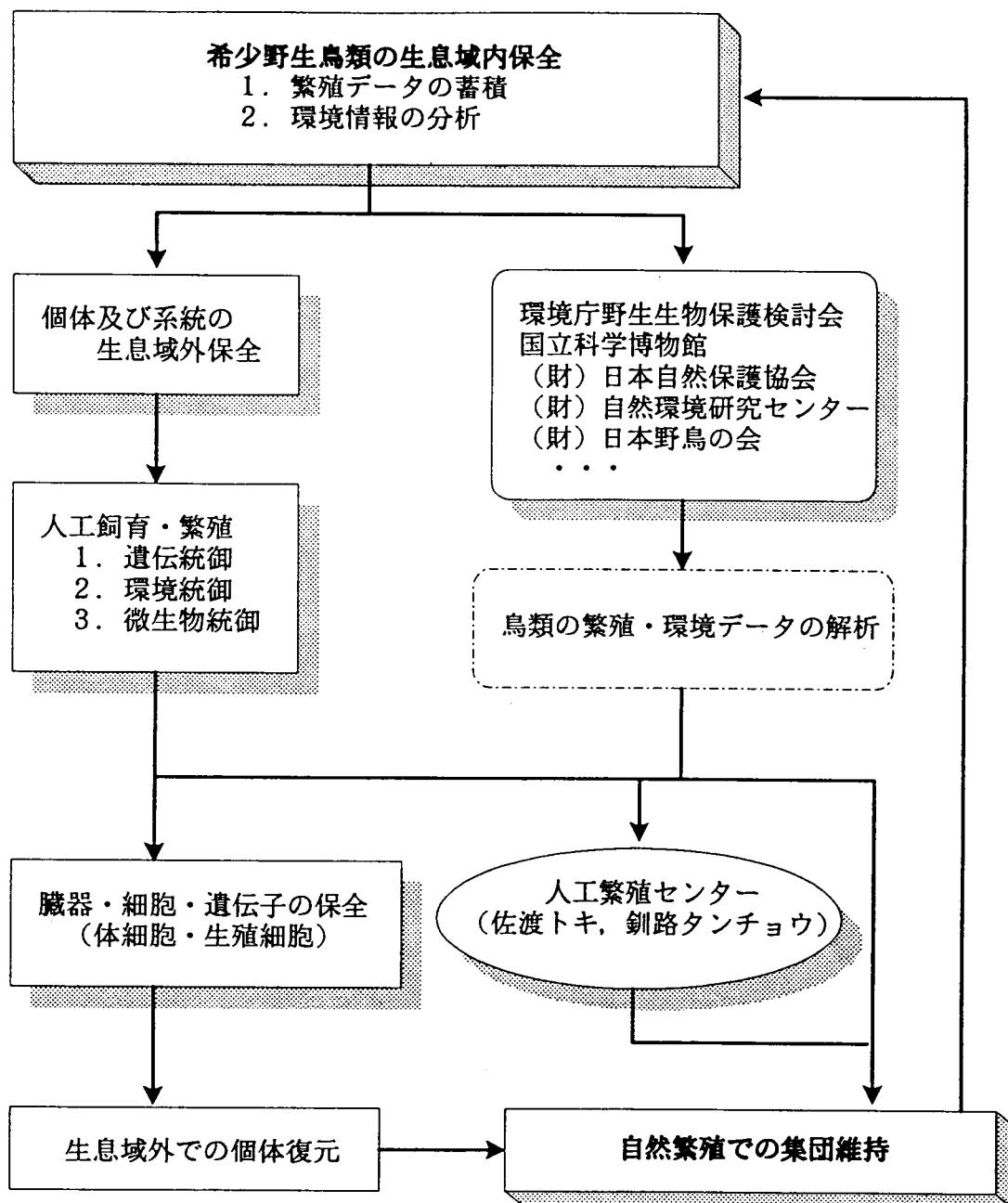
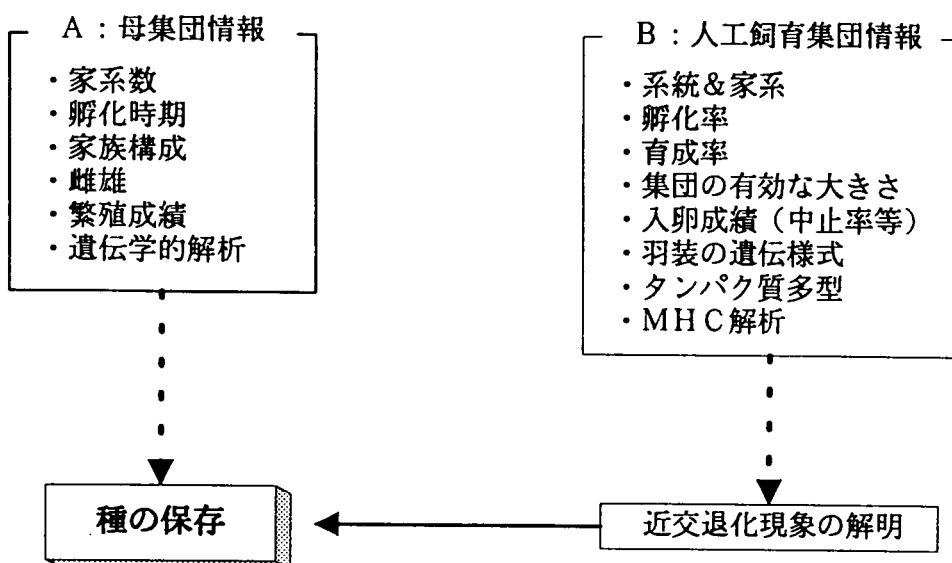


図2：本邦産希少野生鳥類での情報管理システム

1. 繁殖情報のフォーマット化



2. 環境情報のフォーマット化

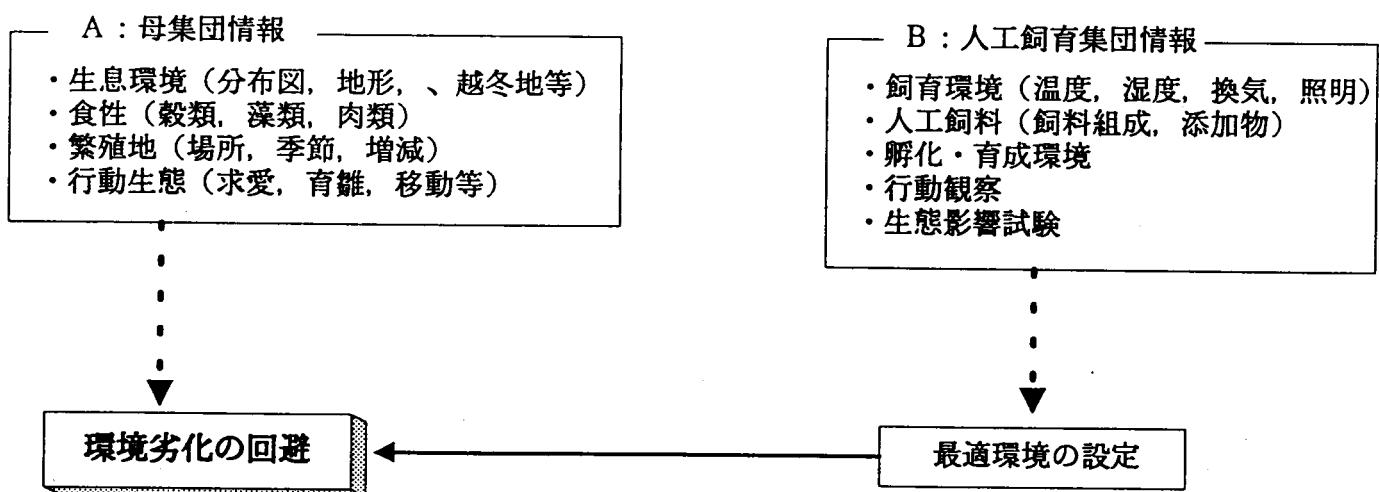


図3：希少野生鳥類での繁殖・環境情報のフォーマット

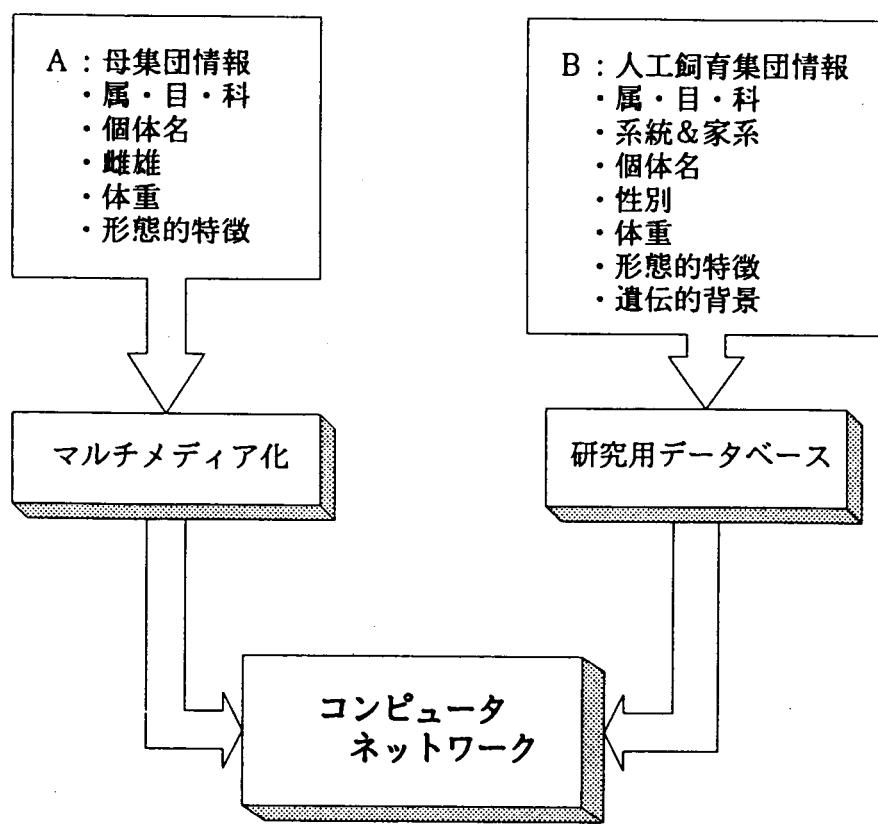


図4：希少野生鳥類での基本情報のフォーマット

A. 母集団について

- | | |
|-----------|----------|
| 1. 生息数 | 7. 対称性 |
| 2. 雌雄数 | 8. 営巣形 |
| 3. ペアリング数 | 9. 産卵期 |
| 4. 孵化数 | 10. 卵数 |
| 5. 育成数 | 11. 放卵日数 |
| 6. 類縁関係 | 12. その他 |

B. 人工飼育集団について

- | | |
|--|---|
| 1. 雌雄数 [0~9999] | [初期中止 ; 0~100%, 中止 ; 0~100%, 死ゴモリ ; 0~100%] |
| 2. ペアリング数 [0~9999] | |
| 3. 血縁係数 [0~1] | |
| 4. 近交係数 [0~1] | |
| 5. 適応度指数 [0~100%] | |
| 6. 産卵率 [0~100%] | |
| 7. 受精率 [0~100%] | |
| 8. 孵化率 [0~100%] | |
| 9. 育成率 [0~100%] | |
| 10. 卵重 [0~10,000g] | |
| 11. 体重 [0~100kg] | |
| 12. 発生中止率 | |
| 13. 突然変異 [羽装 ; 0~100%, 畸形 ; 0~100%, その他] | |
| 14. その他 | |

図5：鳥類における繁殖情報の管理項目

A. 母集団について

- | | |
|---------|---------|
| 1. 生息圏 | 6. 食性 |
| 2. 繁殖地 | 7. 求愛行動 |
| 3. 越冬地 | 8. 育雛行動 |
| 4. 飛行経路 | 9. 環境変動 |
| 5. 飛来数 | 10. その他 |

B. 人工飼育集団について

1. 環境統御

- 1.1 空調条件：1.1.1 温度 [0~60°C] , 1.1.2 湿度 [0~100%] , 1.1.3 換気 [0~100/hr]
1.2 照明条件：1.2.1 暗期 [0~24hr] , 1.2.2 明期 [0~24hr] , 1.2.3 照度 [0~5,000Lux]
1.3 摂食条件：1.3.1 飼料 [1~5] , 1.3.2 回数 [1~∞/日] , 1.3.3 量 [0~10,000g]
1.4 摂水条件：1.4.1 水質 [1~3] , 1.4.2 回数 [1~∞/日] , 1.4.3 量 [0~10 ℥]
1.5 飼育形態：1.5.1 ケージ型 [1~5] , 1.5.2 密度 [1~1000/m³] , 1.5.3 形態 [1~10]

1.6 その他

2. 微生物統御

- 2.1 病原微生物検査：2.1.1 グレード [1~5] , 2.1.2 検査結果 [0・1]
2.2 常在菌検査：2.2.1 フローラ [1~5] , 2.2.2 検査結果 [0・1]
2.3 飼料検査：2.3.1 グレード [1~5] , 2.3.2 検査結果 [0・1]
2.4 水質検査：2.4.1 水質 [1~3] , 2.4.2 検査結果 [0・1]
2.5 その他

図 6：鳥類における環境情報の管理項目

臓器・体細胞レベル（トキの例）

- | | |
|-----------|-----------|
| 1. 血液 | 8. 呼吸器系 |
| 2. 外皮系 | 9. 循環器系 |
| 3. 運動器系 | 10. 神経系 |
| 4. 消化器系 | 11. 感覚器系 |
| 5. 泌尿器系 | 12. 造血器系 |
| 6. 雄性生殖器系 | 13. 内分泌腺系 |
| 7. 雌性生殖器系 | 14. その他 |

図7：鳥類での臓器情報の管理項目

1. 精子レベル

<採取方法>

射出精子

精巢上体精子

<保存方法>

非凍結保存液中保存

錠剤状凍結

ストロー法による凍結

急速凍結法

錠剤状凍結

-凍結用希釈液

-精液の前処理

-精液の希釈

-凍結操作

-保存条件

-融解液

-融解操作

-融解条件

ストロー法による凍結

-前処理用希釈液

-第1次希釈

-凍結用希釈液

-第2次希釈

-凍結準備

-凍結操作

-保存条件

-融解操作

-融解条件

急速凍結法

-凍結用希釈液

-精液の前処理

-精液の希釈

-凍結操作

-保存条件

-融解液

-融解操作

-融解条件

融解精子の利用方法

-体外受精-IVF(in vitro fertilization)体外受精

-PZD-IVF(partial zona dissection-IVF)

透明帯部分切開

-ICSI(intracytoplasmic sperm injection)

卵細胞質内精子注入法

-人工受精

2. 卵子および発生胚レベル

<採取方法>

排卵周期

未受精卵子成熟期間

母体内滞留期間

放卵時間

<保存方法>

-保存装置

-保存容器

-保存液

-保存温度

-保存期間

3. 始原生殖細胞およびその他未分化の生殖細胞レベル

<採取方法>

受精卵子の発育期間

発育ステージ

-細胞の出現時期

-細胞の採取可能時期

<単離方法>

-切除部位

-採血部位

-細胞濃度 (/mlあたり)

<保存方法>

-保存装置

-保存容器

-保存液

-保存温度

-保存期間

-凍結方法

凍結・融解操作

融解細胞の利用方法

-注入移植

-増殖培養

図 8 : 鳥類での細胞の管理項目

染色体・遺伝子レベル

- 1 突然変異座位:1.1 羽装, 1.2 酵素多型
- 2 免疫応答座位 : 2.1 MHC, 2.2 T細胞
- 3 ミトコンドリア:3.1 DNA塩基配列, 3.2 DNA多型

図9：鳥類での遺伝子情報の管理項目

〈例〉 タンチョウ (Japanese Creme, *Grus japonensis*)

: 特別天然記念物, L131~140・W227~243

- A. R. 1. 生息数 [500羽／95年]
2. 雌雄数 [♀250羽+♂250羽／95年]
3. ペアリング数 [150組／95年]
4. 孵化数 [10羽／95年]
5. 育成数 [8羽／95年]
6. 産卵期 [3・4月]
7. 卵数 [2個]
8. 抱卵日数 [32~33日]

- A. E. 1. 生息分布 [X・X・X・X]
2. 繁殖地 [X・X・X・X] (日本、朝鮮、中国、シベリア)
3. 越冬地 [X] (北海道東部)
4. 飛行経路 [0] (留鳥)
5. 飛来数 [0] (留鳥)
6. 食性 [X] (穀類・小魚)
7. 求愛行動 [5] (顯著)
8. 育雛行動 [1] (雌雄共同)
9. 環境変動 [0] (なし)

〈例〉 トキ (Japanese Crested Ibis, *Nipponia nippon*) : 國際保護鳥, L76・W133cm

- A. R. 1. 生息数 [1羽／95年] (♀キンの死亡により♂ミドリのみ)
2. 雌雄数 [♂1羽]
3. ペアリング数 [150組／95年]
4. 孵化数 [0]
5. 育成数 [0]
6. 産卵期 [4・5月]
7. 卵数 [2・3個]

- A. E. 1. 生息分布 [X] (佐渡)
2. 繁殖地 [X] (佐渡)
3. 越冬地 [X] (佐渡)
4. 飛行経路 [0] (留鳥)
5. 飛来数 [0] (留鳥)
6. 食性 [X] (小動物: ドジョウ, サワガニ)
7. 求愛行動 [5] (顯著, 羽毛が黒ずむ)
8. 育雛行動 [1] (雌雄共同)
9. 環境変動 [1] (あり)

図10：母集団（A）での繁殖・環境情報の表示

〈例〉 ウズラ(Japanese Quail, *Coturnix japonica*)

1100 : 系統&家系 : K-H (国環研選抜ウズラH₂系統、第40世代)

B. D. 1. 雌雄数 [♀100羽・♂100羽／世代]

2. ペアリング数 [21組／世代]

3. 血縁係数 [68%]

4. 近交係数 [65%]

5. 適応度指数 [41%]

6. 産卵率 [82%]

7. 受精率 [94%]

8. 孵化率 [46%]

9. 育成率 [70%]

10. 卵重 [7.8g]

11. 体重 [♂90g, ♀110g]

12. 発生中止率

[初期中止: 30%, 中止: 20%, 死ゴモリ: 4%]

13. 突然変異 [羽装: 0, 畸形: 0, その他: 0]

14. その他

1. 環境統御

1.1 空調条件: 1.1.1 温度 [23°C], 1.1.2 湿度 [55%], 1.1.3 換気 [50回/hr]

1.2 照明条件: 1.2.1 暗期 [10hr], 1.2.2 明期 [14hr], 1.2.3 照度 [1,200Lux]

1.3 摂食条件: 1.3.1 飼料 [1(配合)], 1.3.2 回数 [∞(不断)], 1.3.3 量 [15g/日]

1.4 摂水条件: 1.4.1 水質 [2(水道水)],

1.4.2 回数 [∞(不断)], 1.4.3 量 [0.01l/日] (ml)

1.5 飼育形態: 1.5.1 ケージ型 [1(金網)], 1.5.2 密度 [100羽/m³],

1.5.3 形態 [1~10]

1.6 その他

2. 微生物統御

2.1 病原微生物検査: 2.1.1 グレード [1(コンベ)], 2.1.2 検査結果 [0(良)]

2.2 常在菌検査: 2.2.1 フローラ [1(コンベ)], 2.2.2 検査結果 [0]

2.3 飼料検査: 2.3.1 グレード [5(良)], 2.3.2 検査結果 [0]

2.4 水質検査: 2.4.1 水質 [5(良)], 2.4.2 検査結果 [0]

2.5 その他

図11: サンプル集団(B)での繁殖・環境情報の表示

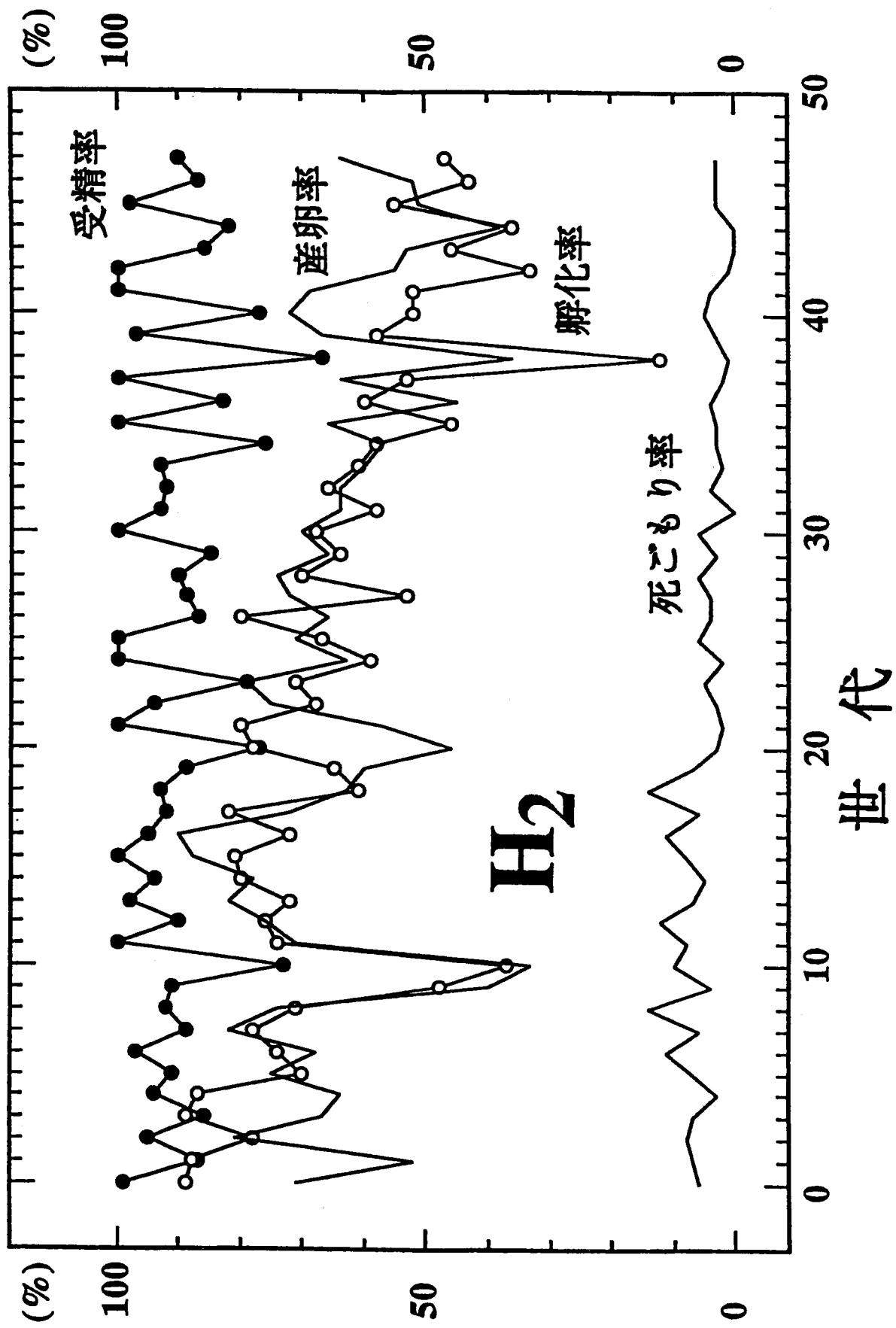


図12：近交系ウズラ（K-H）での選抜に伴う繁殖能力の推移

H₂ 育化率

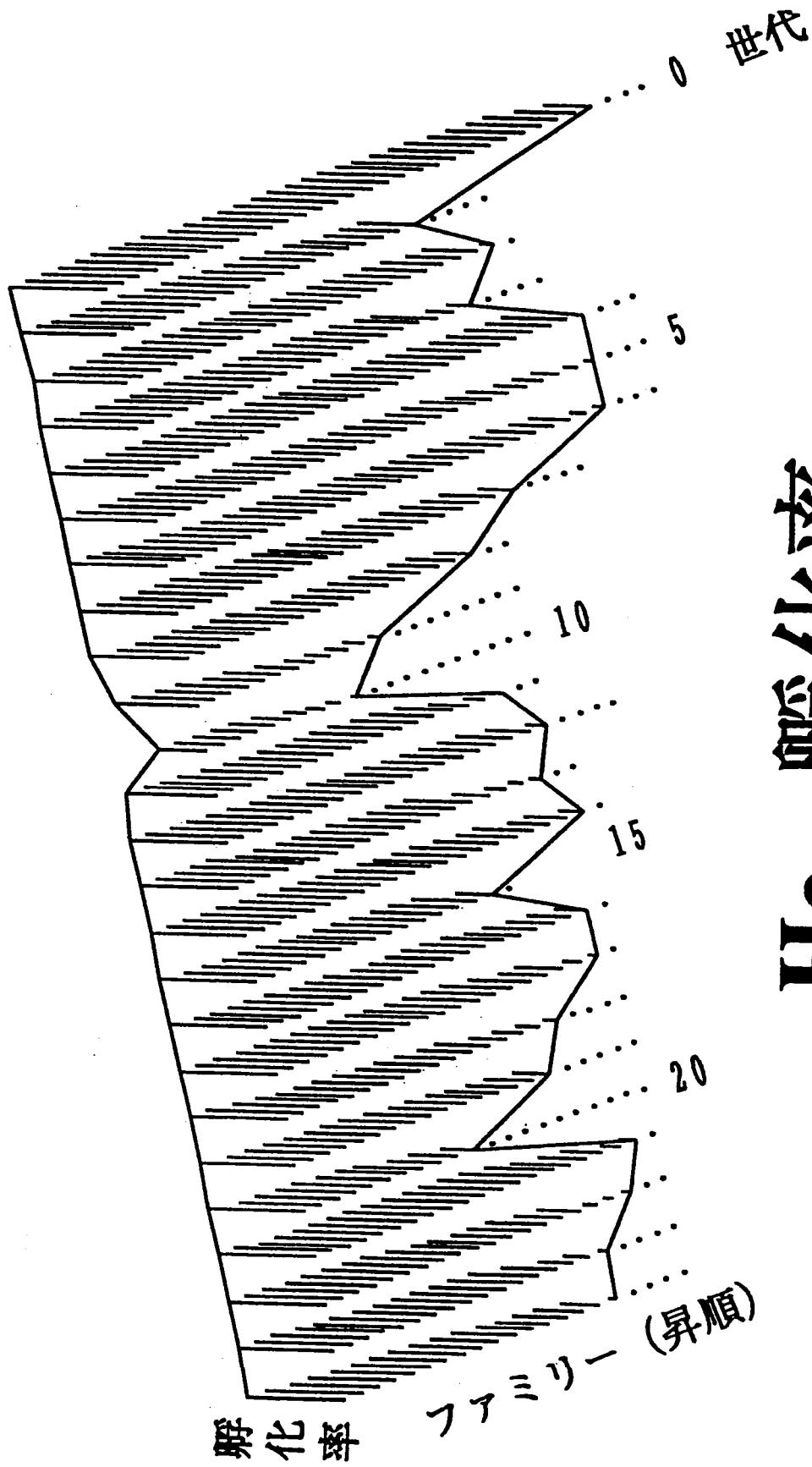


図 13：近交系ウズラ (K-H) での選抜に伴う孵化率の推移

H₂

Family

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21

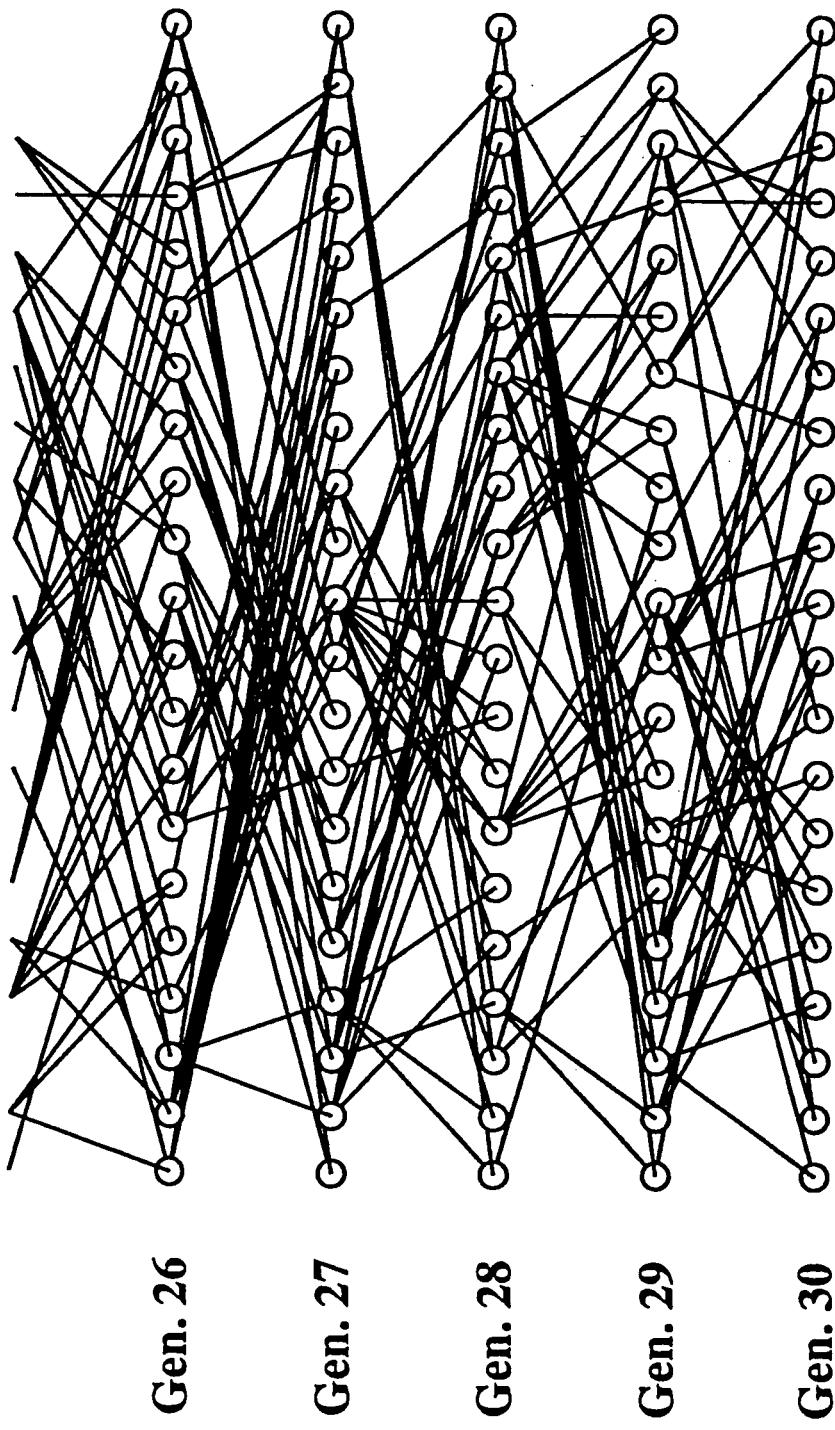


図 14：近交系ウズラ（K-H）での血縁関係の表示