

オ. DNA 標識技術の開発

① 有明海におけるタイラギの DNA 標識技術の開発

水産研究・教育機構 水産資源研究所

關野 正志・中道 礼一郎

【目的】

有明海のタイラギ資源は非常に厳しい状態が続いている。一方、有明海特産貝類の資源回復を目指し、幼生・稚貝の定量評価、幼生の輸送シミュレーションおよび人工種苗生産技術開発等の調査研究が進展している。これを踏まえ、2017 年度有明海・八代海等総合調査評価委員会報告において、タイラギ資源の再生を目的とした浮遊幼生の移動ルートや稚貝の着底場所の把握とともに、人工種苗移植による母貝団地造成に適した成育場所の選定および母貝団地造成による広域的な母貝集団ネットワーク形成の必要性が提言された。

近年多くの魚介類で DNA 標識（遺伝マーカー）が開発され、それらを用いた血縁解析により放流効果の調査が行われている。タイラギでも遺伝マーカーを開発し、種苗生産に用いた親貝のマーカー型（ジェノタイプ）さえ把握していれば、血縁解析が可能である（図 1）。すなわち種苗生産に用いられた親個体（ G_0 ）の DNA が利用できれば、漁獲物が移植された人工種苗（ G_1 ： G_0 の子供世代）か否か、また天然発生稚貝が G_1 の子供（ G_2 ： G_0 の孫世代）か否かを推定することができ、最適な母貝団地を選定するための重要な知見を得ることができる。と期待される。

遺伝マーカーの候補として、ミトコンドリア DNA (mtDNA)、核ゲノム上のマイクロサテライト DNA (MS) および同じく核ゲノム上の一塩基多型 (核 SNP) が挙げられる。このうち mtDNA は、基本的に母親からしか子供に DNA 情報が伝わらないために、補助的な血縁解析用マーカーとして利用できるものの、人工種苗の由来を明らかにする上では解像度が不十分である。両性遺伝する MS は、通常 1 集団中に 10 種類以上のアリル（対立遺伝子）を有し、高度な多型性を示すことが多いため、血縁推定の遺伝マーカーとして価値が高く、これまで多くの種で放流種苗追跡に用いられてきた。しかし貝類を含む水生無脊椎動物では、多検体集団サンプルの解析に適した MS マーカーの大量開発が非常に困難である。さらにジェノタイプ決定（ジェノタイピング）の自動化と、異なるラボ間でのデータの共有が難しいという欠点がある。一方、核 SNP は MS と同様に両性遺伝するが、1 マーカーあたりのアリル数が通常二種類しかなく、MS と比較すると多型性の点で大きく劣る。しかしゲノム中に膨大な数が存在するために容易にマーカー数を増やすことが可能である。さらにコンピューターによるジェノタイピングの半自動化を図ることができることと、データに汎用性があることなどの優位点がある。報告者らは、以上のような遺伝マーカーとしてのメリ

ット・デメリットを考慮し、タイラギの血縁解析を実施する上では核 SNP が最適であると考えた。そこで本課題では、有明海産タイラギの血縁解析に使用できる核 SNP マーカーを開発する。本課題では、予備的シミュレーションで祖父母-孫間 (G_0 - G_2 間) の同定に必要とされた 600 個程度の核 SNP マーカーを開発することを最終的な数値目標とする。なお本課題では、MALDI-TOF/MS に基づく MassARRAY システム (図 2 ; Gabriel et al. 2009; Ellis and Ong 2017) でジェノタイピングを行うことを前提とした核 SNP マーカーを開発した。

【研究方法】

昨年度に、制限酵素 SpeI を用いた RADseq 法 (Restriction site-associated DNA sequencing; Baird et al. 2008) により明らかになった、有明海産タイラギにおける核 SNP のゲノム上の位置 (サイト) に基づき、ソフトウェア Assay Design (Agena Bioscience) を用いて領域特異的 PCR プライマーと一塩基伸長に用いるエクステンションプローブを設計した。なお、プライマー・プローブ設計にあたっては、昨年度までに開発した核 SNP マーカー (467 個) が位置するサイトは対象から除外した。

設計したプライマー・プローブセットについて、MassARRAY を用いてジェノタイピングを行った。PCR と一塩基伸長の試薬は Comp iPLEX Gold Genotyping Set (Agena Bioscience) を用い、それぞれの反応は Agena Bioscience が提供しているプロトコールに準じた。標本は (1) 有明海産 (佐賀県) の天然タイラギ集団 ($N=22$) および (2) 人工種苗 ($N=152$) とそれらの親 (雌親 6 個体、雄親 8 個体: 2019 年度に水産技術研究所百島庁舎で種苗生産) である。後述のように、(1) はプライマー・プローブセットの第一スクリーニング、(2) は第二スクリーニングのための標本とした。

【研究成果の概要】

計 17,268 の SNP サイトに対し、11,871 組のプライマー・プローブセットを設計した。このうち 317 組について第一スクリーニングを行った。第一スクリーニングでは、ホモ接合体間 (例えばアレル A のホモ接合体 AA とアレル C のホモ接合体 CC 間) およびホモ接合体とヘテロ接合体間 (AA—AC 間および CC—AC 間) が明瞭に分離できること、すなわち確実にジェノタイプを区別できることを調べることにより、マーカーとして使用する上で問題があるプライマー・プローブセットを除外することを目的とした (図 3)。その結果、239 組で明瞭にジェノタイプを区別することができた。

第一スクリーニングをパスした 239 組について、人工種苗とそれらの親候補個体を用いて第二スクリーニングを行った。第二スクリーニングは、メンデル遺伝に従って親から子供

にアリルが伝達する“遺伝”マーカーとしては不適切なプライマー・プローブセットを除外することを目的とした。人工種苗と親候補個体の間で、ソフトウェア PARFEX (Sekino and Kakehi 2012) を用いて親子関係を特定し、アリルの伝達エラーによる親子間のジェノタイプの不一致 (図 4) を検証したところ、211 組ではそのような不一致が一例も認められなかった。附表にこれら 211 組のプライマー・プローブセットの塩基配列を示す。

以上のように、本年度は第一、第二スクリーニングをパスした 211 組プライマー・プローブセット、すなわち 211 個の SNP マーカーを開発することができた。昨年度までに開発した 467 個のマーカーと併せると計 678 個となり、開発目標値は達成できた。

【次年度に向けた提言】

本課題によりタイラギの血縁解析ツールを開発することができた。しかし天然発生稚貝の中から人工種苗由来の稚貝を見つけるためには多くの標本が必要になる。必要標本数は移植種苗の量や生残率等に依存するため、具体的数値は提示できないが、予備的に数百の標本を分析し、検出された人工種苗由来の稚貝の多寡に基づきサンプリング計画を考える必要がある。有明海タイラギ資源の壊滅的状况を考えると、現段階では予備的解析における必要稚貝数すら収集が困難である。また稚貝の場合は非破壊的に DNA 抽出のための組織等を採取することが難しいため、貴重な将来の漁業資源を DNA 分析のために搾取するという倫理的問題もある。これらの問題を鑑み、次年度以降は野外標本に基づく調査は中断し、優良人工種苗作出のための親貝選抜技術開発のための基礎的知見の蓄積に焦点を当てた方が良いと思われる。具体的には開発した血縁解析ツールを用いて人工種苗の親子判別を行い、生残・成長等の重要形質の家系間差を評価する。

【引用文献】

- Baird NA, Etter PD, Atwood TS, Currey MC, Shiver AL, Lewis ZA, Selker EU, WCresko WA, Johnson EA. (2008) Rapid SNP discovery and genetic mapping using sequenced RAD markers. *PLoS ONE* 3:e3376.
- Ellis JA, Ong B (2017) The MassARRAY® system for targeted SNP genotyping. In: White S, Cantsilieris S (eds) *Genotyping. Methods in Molecular Biology* volume 1492. Humana Press, NY
- Gabriel et al. (2009) SNP genotyping using the Sequenom MassARRAY iPLEX platform. *Current Protocols in Human Genetics* 60:2.12.1–2.12.18.
- Sekino M, Kakehi S (2012) PARFEX v1.0: an EXCEL™-based software package for parentage allocation. *Conservation Genetic Resources* 4:275–4345

【図表】

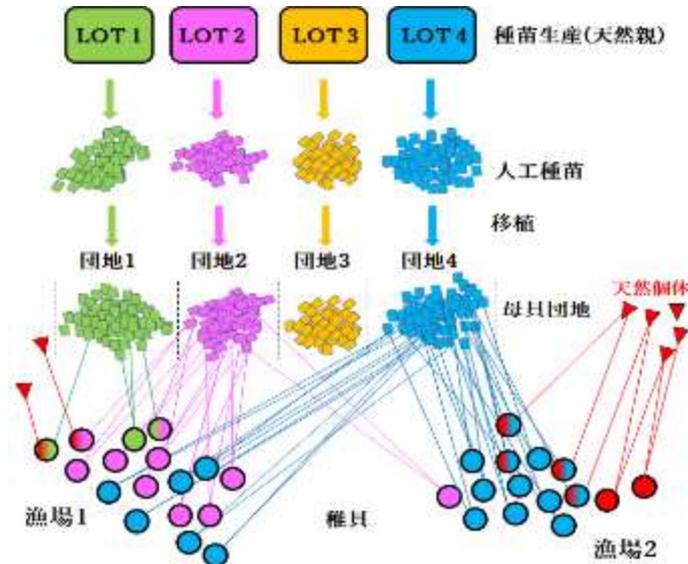


図 1. 天然発生稚貝の由来同定のイメージ

各ロットで異なる親を用いて得られた人工種苗 (Lot1-4) を母貝団地に移植する。漁場発生稚貝は、1) 各団地内の人工種苗間、2) 団地間の人工種苗間、3) 人工種苗と天然個体間および 4) 天然個体間のいずれかの交配組合せで生じる。遺伝マーカーを使って種苗生産に用いられた親と稚貝の間で血縁解析を行うことにより、稚貝が人工種苗由来であるかを検証する。

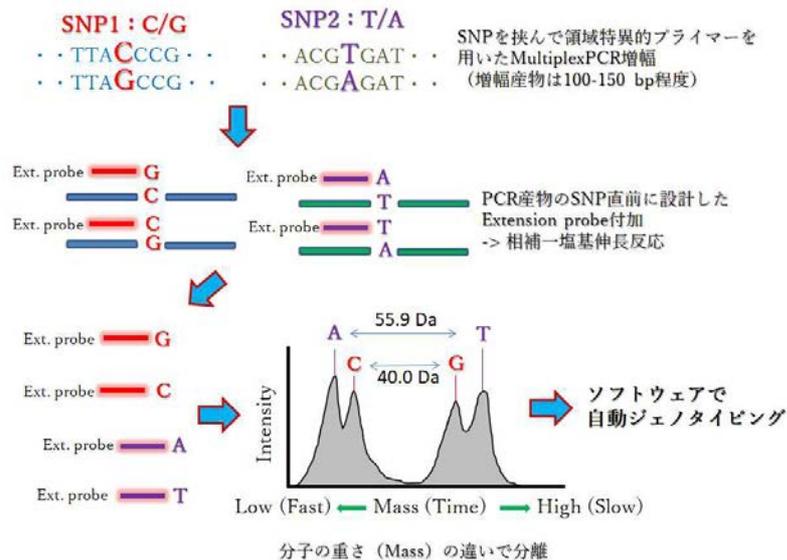


図 2. MassARRAY システムによる SNP ジェノタイピングの模式図

目的の SNP サイトを含む領域のマルチプレックス PCR (複数の領域を一反応で増幅させる) を行う。次に PCR 断片に対し SNP サイト直前に設計したエクステンションプローブ (Ext. probe) を付加し、相補一塩基伸長を行う。DNA の 4 つの塩基 (A、C、G、T) は固有の重さ (Da: ダルトン) を持つため、伸長した Ext. probe は一塩基分だけ重さが違っている。このため、質量分析計により伸長 Ext. probe を分離できる。分離後はソフトウェア (Typer; Agena Bioscience) で自動的にジェノタイプを決定する。

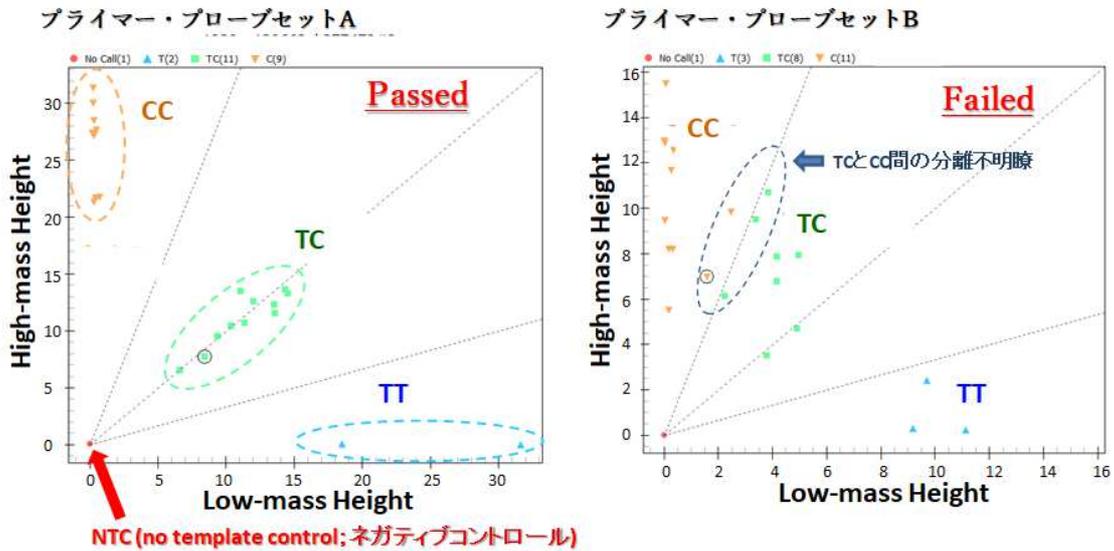


図3. 第一スクリーニングの例

セットAはスクリーニングをパスした例、セットBは除外された例。ジェノタイピングはソフトウェアにより自動で行われ、ホモ接合体は縦軸・横軸に沿って、ヘテロ接合体は対角線上に沿って位置づけられるのが理想である（オレンジと水色がホモ接合体、緑色がヘテロ接合体）。セットAでは理想的な分離を示しているが、セットBではCホモ接合体とTCヘテロ接合体の境界が曖昧であるため、ジェノタイピング結果の信用性が低い。

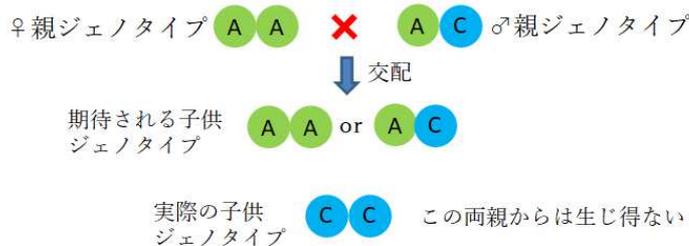


図4. 第二スクリーニングにおける親子間のジェノタイプ不一致の例

この例では、雌親のジェノタイプがアレルAのホモ接合、雄親のジェノタイプがアレルAとCのヘテロ接合であるため、子供は雌親からアレルA、雄親からはアレルAかCを受け継ぐ。従って子供のジェノタイプはAAかACしかあり得ないが、実際のジェノタイプはCCであったとする。ある親ペア候補と子供について、調べたプライマー・プローブセットのうち、少数でこのような不一致があり、それらを除けば唯一の親子関係が成立する場合、その親ペア候補は真の両親であり、一部のプライマー・プローブセットでアレル伝達エラーによる親子間のジェノタイプの不一致が生じていると考えられる。

附表. 開発した SNP マーカーを検出するための PCR プライマー・エクステンションプロブの塩基配列. Exp.Nuc.: 検出されるアリル(A, C, G, T)の種類

Marker name	Exp. Nuc.	PCR primer 1	PCR primer 2	Extension probe
S1_02	A/G	ACGTTGGATGCAAAGACGAAAGCAAGCCAG	ACGTTGGATGATCCAAGTCTACAGTACTGA	ATTGCAACCACCACC
S1_03	C/T	ACGTTGGATGATGCCAGCAAGGGACGCTGA	ACGTTGGATGCAATCGCGAATCACAACCGG	GACGCTGACTCCTGT
S1_04	A/G	ACGTTGGATGTTCTCTATACTCCTATG	ACGTTGGATGTTACGCTAAGCCAGTCAAC	TCCAGATGTTTGCCTC
S1_05	G/A	ACGTTGGATGAGTGCAGATTGGCTCTGATG	ACGTTGGATGGATTAGAATGTGTCCGACG	TGCTGGCGCAATAAAA
S1_07	T/C	ACGTTGGATGGGATTTAAATGTCCAGATG	ACGTTGGATGGGTAGTGGACAATATCAGAAC	GTGTCCAGATGTCCAGT
S1_08	A/G	ACGTTGGATGCAGAAACGATCGTCTTGAGC	ACGTTGGATGGAAATTTGCTGTGTTTTCTG	CCACATACACATCACCCC
S1_09	G/A	ACGTTGGATGGCAATTTGAAACAAAATATGAC	ACGTTGGATGTAAACCATCCACCCCAAAA	CCTGTGCAGACTCTCTTA
S1_10	A/G	ACGTTGGATGCCGATCTTCCGAAAAAGAAC	ACGTTGGATGCAACATATCAAACCTAACAT	GGCAGCGCGATGCTCTAA
S1_11	C/T	ACGTTGGATGTGACTAGTCCAGACCTGAAT	ACGTTGGATGTGAGAGCCCATATGATCCAG	TCCAGACCTGAATACCTC
S1_13	C/A	ACGTTGGATGCTCGCTAACAAATGCGTAAAG	ACGTTGGATGCGCATTTTGTCTTCTATGTTG	ACCAATGGATATTGGAAG
S1_15	G/A	ACGTTGGATGGGTATTGTAGCTGATCTCC	ACGTTGGATGTGTAAGGCCCTTAGGTAGTG	CGAAATATCCTTCAGCAATG
S1_16	A/G	ACGTTGGATGTACCTGTATAGGAACCTTG	ACGTTGGATGACATGTGAAAAATACCGAG	CAGGAACCTTGTATCCGTC
S1_18	G/T	ACGTTGGATGAAGTGGGAAAGTACATGAGC	ACGTTGGATGCAAGAACCCGACAACTCTGTG	TTAAGTACATGAGCACTAGTT
S1_20	G/A	ACGTTGGATGTCTGGCCACTCTTAAAGTATC	ACGTTGGATGGCCAGGTGGCATGCTTTTAA	TGCACCTCTAAGTATCGCTCCC
S1_21	T/C	ACGTTGGATGAGGTCATCCTATGTCCTCTG	ACGTTGGATGTAAGTACGTTGCTGTGTCACC	CCTATGTCCTTGCATAAGACC
S1_23	A/G	ACGTTGGATGCTCGCTCGTATGCTTTTTGCG	ACGTTGGATGGCTTTTGGCAAAATCCTCTCC	AGTCGCGAGCGCTGCATTTGA
S1_25	C/T	ACGTTGGATGGCGTGACGCTCAATTTTTTC	ACGTTGGATGGGAAAAGTCTTTGTTGATGG	GTAATGTTATTGTATCCCGTT
S1_26	C/T	ACGTTGGATGCTATGGCAGCATCCTATCAC	ACGTTGGATGAAATACCAGAGGTTTATCGG	CCCAGAACCTTGTCAATCACTCC
S1_27	T/C	ACGTTGGATGTCGACAGACTTTTCACTACTGG	ACGTTGGATGAAAGCACCATTGTAAGTTC	CAGCACTCAGTATCAATCCCCTC
S1_28	G/A	ACGTTGGATGTACAGACAAGAGAACAGGG	ACGTTGGATGGAGGTAACAAGTTGTCTGTG	GGAAACATTTCATTGAGGAAATCAG
S1_30	T/C	ACGTTGGATGCATTTGAAATTTTGTAGCAAG	ACGTTGGATGCTGGTATATATAGTTTACG	TTTTGTAGCAAGTAAACAACTCC
S1_31	G/T	ACGTTGGATGGTACCTTGAGATGAGCTTTG	ACGTTGGATGAACTTAAATTTGGGAACAC	GCCTTGAGATGAGCTTTGTAATCTT
S1_32	G/A	ACGTTGGATGTAGGCTCTATTTTCCCTGTG	ACGTTGGATGTTGTTGAGCTTCTCTGCTG	TTTTATTTCCCTGGCTCCTATCCACT
S1_33	A/G	ACGTTGGATGATACATTTAACCTCTACA	ACGTTGGATGTTGAAAACAAGTGTGACG	TTAATATTAATAACCAGCAACCGATT
S1_34	A/G	ACGTTGGATGATACAGTACAGAGAAATGAG	ACGTTGGATGGTATAACTAGTCAAAATTTAC	GGTACAGTACAGAGAAATGAGACATTA
S1_35	G/T	ACGTTGGATGGATCATGCAACCATGGCTAC	ACGTTGGATGCCGAAACAAGTCTTGTG	TGCTACCATAGCTTCTTATACCCAAA
S1_36	T/C	ACGTTGGATGAACACCCAGTTATCTATAGC	ACGTTGGATGCTAGGTAGAGGAGTGAAGTG	GGGACCCAGTTATCTATAGCATGCACC
S1_37	A/G	ACGTTGGATGCAGTTCTTGTGTATCTATTG	ACGTTGGATGAAAGGGCTGGATATCAAAAAG	AGATAGCTGGAATCAGTATTCGTTTTTC
S1_39	A/G	ACGTTGGATGGCAGTCAATATTAATGCCC	ACGTTGGATGCTCAGTTGCTGGTACACAC	GGTCAATATTAATGCCCAGAGCAGTTTT
S1_40	C/A	ACGTTGGATGCAAAATGCCCTTGGTACTAAC	ACGTTGGATGCTTCAATTGACATACATGCC	TAATGTCTCAAAATTCGACCCACCCCA
S2_01	A/G	ACGTTGGATGCCATATCACTAGTTTCTTTTC	ACGTTGGATGGTCCATTGGATTTTAAATTC	CACCCCTCCCGCAA
S2_05	A/G	ACGTTGGATGCCACATACACTATCTATTACC	ACGTTGGATGGGCTGTAGGGTTAAAAGGG	TTTCAATCCCTGCTCC
S2_06	G/T	ACGTTGGATGTACCCCACTAGTCAAGCTG	ACGTTGGATGGGCAATCTTCCAGTGTATAT	GTCAAGCTGGTAGGAA
S2_07	T/C	ACGTTGGATGCATTAAACCAGAAAGTGAAG	ACGTTGGATGGGAGGCATAAGTACATGTAG	TGATGCCCTAACCACTC
S2_10	G/A	ACGTTGGATGCGCTGAAATGACGTTAACCC	ACGTTGGATGACGTTTGTGCGGGACTATTG	CCCGTTAACCCGGGATAT
S2_14	T/C	ACGTTGGATGTTTTAACCCAGGTTGATCT	ACGTTGGATGATGACCAAAACCGCCAAGAG	TTGCATAGAAATCGCATGT
S2_15	T/C	ACGTTGGATGTGTACATGTCTGTGCCAGTG	ACGTTGGATGACTAGTGGCTTGCACATGTA	AGCTGTGCCAGTGGTAAT
S2_16	C/A	ACGTTGGATGGTCTGCCAAAATGACTAGTA	ACGTTGGATGGAAAGTCAACATTCGGAATGC	CCCTGGCTTGGCGAATTTTT
S2_18	A/G	ACGTTGGATGCTGTCTTGCATTCAAACCTC	ACGTTGGATGCCAGGAAATGAGTTCTTAGG	CCGCATTCAAACCTCAACTTA
S2_20	G/A	ACGTTGGATGATGCTATTTATCCATCAGCC	ACGTTGGATGTTGAAGAGTACATACAGC	ACCAGAAATAGTCTCAGTGA
S2_21	G/T	ACGTTGGATGGAACCATGACCATAATTACC	ACGTTGGATGCAACCAATTTTGTGTTACTC	CATGACCATAAATACCCTCTAT
S2_23	T/C	ACGTTGGATGGTCTTGTAAAGGATAAC	ACGTTGGATGGCAATTCCTCACTAATCTTG	AGGATAACTAAGAGAACTAGTA
S2_26	A/G	ACGTTGGATGCAAAATGTGTTAAGAGTTC	ACGTTGGATGTGCAATGGATCAAGTGTAAAC	CCTATCTCTCATAGCCACCATTTT
S2_27	A/T	ACGTTGGATGCAATGACATGCTGTCCGGG	ACGTTGGATGGTGTGTTGTGACTAAGTTGGCC	CCTATCCCTGGATAAATGATAAC
S2_29	G/T	ACGTTGGATGAGGGTGCAGACTTATCAATC	ACGTTGGATGACCAGCTCGTATCTATATC	ATTCGACACTTATCAATCAACCCCTC
S2_31	T/C	ACGTTGGATGCGGATTAAGTGAACAAG	ACGTTGGATGCTCGGCCACTTAAATCTTG	TGTTAGAACAAAGTAAAGTATTTATA
S2_32	G/T	ACGTTGGATGCATTAACAGTGAACACTGCG	ACGTTGGATGGGATTAAGTAAATCGGTTTC	CTGCAATTTCAACAAATGTCATTTTA
S2_33	C/A	ACGTTGGATGTAATAATGAGACACTGAG	ACGTTGGATGGCAAGCATACTCTTCTCTG	CTCAATAATGAGACACTGAGAGACAT
S2_34	T/C	ACGTTGGATGTGCCGCCGTTAAAGTAAGTG	ACGTTGGATGCAAGTACTATAAAGATAGC	GAGCCGTTAAAGTAAGTAAAAATAGT
S2_35	A/G	ACGTTGGATGGGTTTAGGACCGCCATTTTC	ACGTTGGATGTGATGACCAGCAAGACAGG	GGGTACCAGTTGTCAATCCACATCT
S2_37	T/C	ACGTTGGATGAGTGGACAATTCCTAATCCC	ACGTTGGATGGCTTGGGATTTGATGTCAAAAG	CGTTACATACCATTGACCAACCCATAT
S2_38	C/T	ACGTTGGATGTCTCAACCCCTTCAACCAG	ACGTTGGATGGATCTACTAGGATTAGTCCC	TGCTTTAGACTCTCTACAGGGTTTAGC
S2_39	T/C	ACGTTGGATGAGCCCTGCGACTTGAATTTG	ACGTTGGATGCAACCAAACTGACCAGATG	AGTGTATTGAGACCTCTATCTGTATCA
S2_40	G/A	ACGTTGGATGGTGGCCTGATTAGGAATCTG	ACGTTGGATGGCTCTAATAAAACCCTGGTGC	AGTGGCTGATTAGGAATCTGCGCAAAA
S3_04	T/C	ACGTTGGATGTTCTAGTACCAGTGGATCG	ACGTTGGATGATACCAGTGGAGACCACC	ACTGGATCGTGTCCC
S3_05	T/C	ACGTTGGATGATTGACCGTTGCAAGGACAG	ACGTTGGATGCCTCGAATTTTTATCCAG	GCAGGACAGTTCGAT
S3_06	G/A	ACGTTGGATGACATGCACTACTAGTACTAC	ACGTTGGATGTTTCCGCCCTGGTAAATGC	TATTACCCTCCCTCCT
S3_07	A/T	ACGTTGGATGAAAACTTGTGCCCTAGTCC	ACGTTGGATGACTTACACTTTAAAGTCAG	TCCGCCCTGCAAAATTA
S3_08	C/T	ACGTTGGATGFACTCTATACAGTGAGGAA	ACGTTGGATGTCTTGAGAAACCAGTTTG	ACAGTGGAGAAAAACCG
S3_09	A/G	ACGTTGGATGTGGAATGATAAGCTAAGCAG	ACGTTGGATGCCCTTGA AAAACAATGGACTC	CCCCATTACCCCTTAAA
S3_10	C/T	ACGTTGGATGCACATAGTTTGAAGGTGTGAC	ACGTTGGATGTACTAGTAACGTGACAATC	GCAGGTGTGACCACTCT
S3_11	T/C	ACGTTGGATGAGCCATCCACTAGTAAACTG	ACGTTGGATGCGCGCTTTGGACCATGTAAT	TGCTGCGCTGACCAGAA
S3_12	G/A	ACGTTGGATGAAGGGTCTGATGCATAGGTC	ACGTTGGATGAGCTTAGCTTACTGCTAGAC	GTACCTCACCTTCCAGCTC
S3_14	C/T	ACGTTGGATGCGAACCCAGCCTAACTAGAG	ACGTTGGATGTAGATTTTCTGGGCCCTCCG	CGCCTAACTAGAGTTGAAA
S3_15	A/G	ACGTTGGATGACACTGTCAGTTTAGCAAG	ACGTTGGATGTGTGGTCAACATAGTGGTC	GCAGTTTAGCAAGGGCTTA
S3_17	T/C	ACGTTGGATGAACCTGTGAAAACCCCTTG	ACGTTGGATGTACGAGACCATTATCGTAG	TGGAACCCCTGGCAATACC
S3_18	C/T	ACGTTGGATGTACATGTTCCCTGTGAGAG	ACGTTGGATGCCTCCAGTTTCTTTGATCC	TGTGAGAGATTTATGAAAC
S3_19	T/C	ACGTTGGATGCAACATGCATGTTCTTACTC	ACGTTGGATGGTCTCAGTACTACTAGTGC	TCTACTTCACTCTCACACT
S3_21	T/C	ACGTTGGATGGACTGGATCATTGACATCTG	ACGTTGGATGCAGGAATAAAACAATTTTGG	ATAGTTATCTCCCTTCTCCTCAT

附表. つづき

Marker name	Exp. Nuc.	PCR primer 1	PCR primer 2	Extension probe
S3_22	G/T	ACGTTGGATGCCTAGATACATTGCTTAATCC	ACGTTGGATGGGTCACCTCTATAGAGTCACCTT	GGGCTTAATCCTTTTAAACCTTA
S3_24	T/C	ACGTTGGATGGGATTAGTGGTTTATATGTC	ACGTTGGATGGTCACAGCAATTTATTACC	AGGCGATTTCAGACATAGCAGTA
S3_25	G/A	ACGTTGGATGCCAAACTGGTACAACAATT	ACGTTGGATGGAATTACCAAATTCGGCACC	CCATCAACATGTATTTACCGAAT
S3_27	T/C	ACGTTGGATGACGTTGTCCCCTCTCTTAG	ACGTTGGATGGATAGTGTGGGAAGGAGATG	TTTTCCCATCTCTTAGCAACTTC
S3_28	C/A	ACGTTGGATGACCTCAAACCACTTTGTAGG	ACGTTGGATGACACGATTATCTTATCTGGC	CCACTAGTCATGTGGATTGTAAT
S3_29	C/A	ACGTTGGATGCTGATTGGCTTATTCTATAC	ACGTTGGATGTTGTGATCCACATGACTA	TTGGCTTATTCTATACTTCTGTTC
S3_30	G/A	ACGTTGGATGCTGAGTATTCTTCAAACAC	ACGTTGGATGTCATGTGGCGCTGTCATGAG	TTTAATGTAAC TAGTAGATT CATCC
S3_31	A/G	ACGTTGGATGCTTAAACACTTGTGGACACAAA	ACGTTGGATGCGGGACAAGCTTTATTTTGG	GGTTAATTTATTTAGCTTGCCCAT
S3_32	C/A	ACGTTGGATGGAACCTTGATCGAACAATG	ACGTTGGATGCTCTCTGTGACAATCTCTCC	CTGTCCAGGTGAAAAAGTAGATTGG
S3_34	T/C	ACGTTGGATGGGACGACATTGTCAATTGACAG	ACGTTGGATGGCCACAATGTACATATGTT	CCGTTACAGTGCAAAAGTTACACGG
S3_36	T/C	ACGTTGGATGGATGCTGGTTCTTTTCTTC	ACGTTGGATGACAAAAGATCGAGGTGCAGG	GCTGGTTCTTTTCTTCTACTACTAGAT
S3_38	C/A	ACGTTGGATGATGCATATTTGAACCGGAGC	ACGTTGGATGACCTGCAGACCAAATCCTCG	CTATTTGAACCGGAGCTTTAACTCTAAC
S3_39	A/G	ACGTTGGATGTTGCTTAGCCCTCCATGGTC	ACGTTGGATGCGTGGGCTATAAATTA AAC	GGCTTAGCCCTCCATGGTCAGTTTATAG
S3_40	T/C	ACGTTGGATGAATCCCCTGTAAGTTTGGAC	ACGTTGGATGAAGGCAAGCATAATCAAC	TCCTAGTTGTAATGTGATTGAAAAAGAT
S4_01	A/G	ACGTTGGATGTCACCTTCCAATTCCATCAC	ACGTTGGATGACTGCCACTAGTGCAAGTAG	GCCACCATACACC
S4_02	C/T	ACGTTGGATGGAAGTCAAATAACAAGCCC	ACGTTGGATGAGTTCCTGTACTGTTGGTTG	AAGTCTGAGTCCCA
S4_03	A/G	ACGTTGGATGCTCAATAAATTTTACATCGG	ACGTTGGATGAAGGGTCTCTAATGTTCCG	AAACCAAGGTC CCGT
S4_04	A/G	ACGTTGGATGTTGACCTGTTTATGGACTG	ACGTTGGATGATGAATGAAAGACATGGG	TGGACTGGTGCCATG
S4_05	G/T	ACGTTGGATGATTTGGGAGACACCGACC	ACGTTGGATGCATAACTGAGTTAACACTAG	GACACCGACCCCTCC
S4_06	C/T	ACGTTGGATGGGGTAATATTTGGATCGGC	ACGTTGGATGCCAATCAAAGGTACAAAAGG	GGATCGGCATGTTGTA
S4_07	C/T	ACGTTGGATGATTGGAAGACATCCCAGAGC	ACGTTGGATGTGAGACTAGATTACTCTTC	TCTCCAGAGCTCTCCA
S4_10	C/T	ACGTTGGATGTTGAATAGGCTAGACACTC	ACGTTGGATGACCACCTGATTGACTCAAAG	AGACACTCAAGTGCCAT
S4_11	A/G	ACGTTGGATGTACGATTGGCTAAGGCTGG	ACGTTGGATGTTGGCAAGATTGGAAGCACC	ATTTGCAGACACCCAGAA
S4_13	A/G	ACGTTGGATGTATGTGACTTATGCACTCGG	ACGTTGGATGACTGACTAGTTTAAAGCAG	TCCAGCAAAATGAAGCAAG
S4_16	A/G	ACGTTGGATGGATTCGCCGACCAAGTTTGG	ACGTTGGATGAGTTCGAACTTGGGTACTAG	CCGACCAAGTTTGA AAC
S4_17	G/C	ACGTTGGATGTATCTCTGCTGACCTGGATG	ACGTTGGATGCAGTGAAGAAAAAATGG	GTAGCCTATGTTATCCACCTA
S4_19	G/A	ACGTTGGATGCTACTAAATFAGGGAACACC	ACGTTGGATGAACTAGTACAACACAGAGAG	CCATTTCTATATCTTCTCCCCG
S4_20	C/T	ACGTTGGATGCATATGTTGGTGCACCTTGC	ACGTTGGATGCATAAATGAATCTCAGA	TGTAACGATAGTGTCTTCTACT
S4_21	A/G	ACGTTGGATGGTTCCGTTGAAGGACTAGTTC	ACGTTGGATGATTCTTTTCTCTCTCCG	TTAGCCTGAGAGATTATTCAT
S4_22	A/G	ACGTTGGATGGCATCTGGTGAACGACAAAA	ACGTTGGATGTCAGCAACAGCAGTGTCTC	GGAAGAAAGACCCGGTTAAT
S4_23	C/T	ACGTTGGATGATGTAGACATAAATACCTCC	ACGTTGGATGCAAGATGAATTCAGGTACAAG	GACCATAATACCTCCATTTTACT
S4_27	G/T	ACGTTGGATGATACGCTACACGATACGCC	ACGTTGGATGAAGTTGGCGCTTTTCAGTC	GGGACGATACGCCACTCTGTCAA
S4_28	G/T	ACGTTGGATGCAGATTGACATGTATATTCAC	ACGTTGGATGTGACTGTACGGAAAAGTTG	TCCGAAAGTGAAGCAGTGTGTCAA
S4_29	C/T	ACGTTGGATGCAATTTGGTGTGTGCACCT	ACGTTGGATGGTAGAAACAATGGATTCTTC	CAATCAATTCATACACCCCTAAACT
S4_30	T/C	ACGTTGGATGCTAACCCTGAAACACCAT	ACGTTGGATGTCAGTTCAGTATGCAAGAC	TGGTGTGCAAAAATGAAATAGG
S4_31	G/T	ACGTTGGATGCATGTGGCTCCACAGTGTG	ACGTTGGATGGCTACTAGTGAAGTGGATG	GATGCAACTATTCACCCCAAAAAGTC
S4_32	G/A	ACGTTGGATGCTTTCGTTTTCAGCGTTTTC	ACGTTGGATGTAGACGTAGAAGAGCGAAC	GTTTCGTTTACGCGTTTCAAATATCA
S4_33	G/A	ACGTTGGATGAATGGCCACCACATCTTACTC	ACGTTGGATGGTTTCAACGTTTCAGACAGTG	GAAAACGCTAGAAAAATACAGATA
S4_34	T/C	ACGTTGGATGCTTGGCTTGTCCACATGTCC	ACGTTGGATGATCTCATGGTCTCCCTTACG	GGGTTGFCACATGTCTGTTACTCCT
S4_35	T/C	ACGTTGGATGGCATGTGCACACTAGTTTGG	ACGTTGGATGCCTACATATAACAGGAACAG	GTCTTTAAATGTATAATGTGTGAATC
S4_37	A/G	ACGTTGGATGTTTAAATACCACACCAATC	ACGTTGGATGATCATCTTGTCAAATGTG	GTTAATACCACACCAATCTATCCATTT
S4_38	A/G	ACGTTGGATGCAAGCAAACTAGTACTGTG	ACGTTGGATGGTAATACTGCAGACAACG	GTACATGTCTATAAAAAGTATATCTACA
S4_39	C/T	ACGTTGGATGCTGGCCATCAGATGGTACAC	ACGTTGGATGCCAGATCTTCCACAATTC	ATATGAAAGGGATTTCTTTGATGTTCT
S4_40	T/C	ACGTTGGATGCGCCAGCTTCTGGGTGAA	ACGTTGGATGGTATGGAGAGAAGAGTTG	GCTGGAATGTGCACCACGACTGAAAAGT
S5_04	G/A	ACGTTGGATGAAATGCGGACGATGTGGTTG	ACGTTGGATGACATAGTTTGAACAAAC	CATATCCATGTCTCCA
S5_05	A/G	ACGTTGGATGGAATTAATCTACGGCTC	ACGTTGGATGAGACCTTGACTGTCCATTG	TTTTCCACAGTCCCG
S5_09	C/T	ACGTTGGATGAAATGCGGGTGTATGCACTC	ACGTTGGATGAAAGATATATCCGCGCGCAG	TTTTCCAACTCTCTCT
S5_10	C/T	ACGTTGGATGGATCTACTAGTCTGTTCAGG	ACGTTGGATGTGATACCCATCTGAAAGCCG	TCCAGTAGTTTCTATCTGC
S5_11	A/G	ACGTTGGATGAGGACGTTGGATGATGCTC	ACGTTGGATGATATCCGGCTTCAAATGTAG	TGGATGATGCTCTCAAAG
S5_13	G/A	ACGTTGGATGAGAGCATAGCGATTCCAGAC	ACGTTGGATGTAAGGGTTTGCAGAGAGCTG	CGCCTGCCAAAACCGTATT
S5_15	A/G	ACGTTGGATGGAGAATCGAAAACGGCAAGG	ACGTTGGATGGAGGTAACCTCACTCAATC	GGACACGGCAAGGTCAAAG
S5_16	G/A	ACGTTGGATGCTAAGCTTTTCTGTATCCC	ACGTTGGATGCACATACCAGGTATATTCAG	CTGATCCCTTTTGTGCATA
S5_17	G/T	ACGTTGGATGTTTGGCTTTACAACGGCATC	ACGTTGGATGTTGAAGATGGCCTCATTGTC	GCTGCATATGTTAGCTCATT
S5_20	T/C	ACGTTGGATGCTCAATTCAGTGTCTTAG	ACGTTGGATGATCACCCGCCACTTGAATT	GGGGCTTGTGCGCAAGTCAA
S5_21	G/T	ACGTTGGATGAATACTTCCGAGACTCGGC	ACGTTGGATGTA AACCTCAGATGGCCTCG	CTATCATCCAATCTCCGCTCTC
S5_23	C/T	ACGTTGGATGTATAAGTGCCCTCATACCGG	ACGTTGGATGC AACCAAAAATAAGGCAC	GCTGACCTCATACCGGCTTCGAAA
S5_24	T/C	ACGTTGGATGCAGCACTGGTTATCTATAC	ACGTTGGATGCAGATGATTAGTGTGTGCT	GGTCTGTAACAAAAGCACCAGTC
S5_25	C/A	ACGTTGGATGCTAGTATTTGCCATGATGA	ACGTTGGATGCCTGCTGAATATACCCTG	GGGACCATGATGAAATCCATGT
S5_26	T/C	ACGTTGGATGTGCTACAACCTGGCCTTTTCC	ACGTTGGATGATCGATGATGTGGTTCC	TACCACTGGCCTTTTCTCACGAT
S5_27	G/T	ACGTTGGATGGTTTTGGACTAGTTTGTAG	ACGTTGGATGAAAGTCTAAAATGTCAATC	TGGACTAGTTTGTAGTTTGTGTG
S5_28	G/A	ACGTTGGATGCTCAACATCATCTGCAGAC	ACGTTGGATGACTACGACTGGATAAAAG	AACTTAAACACCCAAAAGTTTATTC
S5_29	T/C	ACGTTGGATGAACCGAGTTCATAATGCAC	ACGTTGGATGCACAAAACAAAATCACAA	GACTAGTTCACTAATGCATCCAAAT
S5_30	C/T	ACGTTGGATGAGGGTGGAGACTAACTTTC	ACGTTGGATGCTCTTCTTCTTCAAATCC	TGTTATTTGATGCTTGATTTGTA
S5_31	A/G	ACGTTGGATGCGTTTGTATTTGCAAGAG	ACGTTGGATGGATTTAGCAGTCGCAAAAGCC	CATTGAGTATTTGCAAGAGTCGACA
S5_32	T/C	ACGTTGGATGTTCTTCAACATCTGTTGG	ACGTTGGATGGGTGACCTCAAACACTGAAG	GGGCACATCTGGTGGTGTCAAGTAG
S5_35	A/G	ACGTTGGATGGTGGATGAAAACTACACG	ACGTTGGATGAAATGTGACTGCATCCT	ATACAATTTATGACATATAAATCTCTGT
S5_37	C/T	ACGTTGGATGTGCAAACTCAACTACGATCGC	ACGTTGGATGCTCACCACCAAGTTCCATC	GATAAACTACGATGCATATGCCGGCTC
S5_38	T/C	ACGTTGGATGTCAAACACTTACACTAG	ACGTTGGATGCTTTTGTGTGCTGCAATTT	GGGCAACTTCTACCCCTGTGGTTCAG
S5_40	A/G	ACGTTGGATGTATCACACGAGGAACCTAC	ACGTTGGATGTCCAGATTTGGGATCAGGTG	AACCGGAACTCACGGCGAGTGTGATTG

附表. つづき

Marker name	Exp. Nuc.	PCR primer 1	PCR primer 2	Extension probe
S6_02	G/T	ACGTTGGATGAACCAGAATTGTCCAGAAC	ACGTTGGATGGGCATGGAATCTTTATGATG	CCCAGAACAGCCTCT
S6_04	C/T	ACGTTGGATGCATGCCTAGAGCATGTCTTG	ACGTTGGATGAATTTCCAGGTCCCAATGGT	TAAGCCGCCTCTCGTC
S6_06	C/T	ACGTTGGATGGCAGGAAAAAGAAAAGAGAAC	ACGTTGGATGTCTGAACCAATGAATTTGCC	AGAAAAGCAAACAGA
S6_07	G/A	ACGTTGGATGGCTGATGCCATTTTATGTTT	ACGTTGGATGAGTACAGCGGCAAAAGCAC	TGTTACATGTGTGGGG
S6_09	T/C	ACGTTGGATGCAGACACCCCTACTGTATT	ACGTTGGATGGGTGCGACTAGTTTCCAATTC	CCCTACTGTATTTCGCTAT
S6_10	G/A	ACGTTGGATGAAATTCGTTCCATCGGGCAG	ACGTTGGATGGGTTGTATAATCACTGGC	GGCAGTTACAGATCATAA
S6_11	C/T	ACGTTGGATGTGATTTCGGTTGTATGGCGG	ACGTTGGATGAGGCTACATCTTACGATCAC	CATGGCGGAAAAATCAT
S6_13	T/C	ACGTTGGATGAAGTTGATGTTCTAGTCCGG	ACGTTGGATGCTGTACACAACAGAACCAC	TTTCTTTGCCTTCCATCATC
S6_14	G/A	ACGTTGGATGGGAAATAGTAATCGACTTC	ACGTTGGATGACAAACCTGACCGGCTCCTC	AGTAATCGACTTCTCTTAA
S6_16	G/T	ACGTTGGATGCCTCTAAGTCAAACATTCGG	ACGTTGGATGGTGTACTAGTAGCTTCGGAC	GTTGAAGCTGAAGCAATGTC
S6_17	G/A	ACGTTGGATGGGAAGACTCACACTAACATC	ACGTTGGATGAACCTCACTTTGATGTTTC	ACTCACACTAACATCAGAACA
S6_18	C/G	ACGTTGGATGTTCTGTAGGGATGAAAGGAC	ACGTTGGATGCTGCTGCTATGCGTGTATGG	AGGGATGAAAGGACTAGTATC
S6_19	G/T	ACGTTGGATGTGACTGACGTTTTTGGTTG	ACGTTGGATGCTGTAGATGTAATTTATTGCC	AAAGTTATCTCCCTTCCATAA
S6_20	C/T	ACGTTGGATGACTCTGCCATGGAAGCCAC	ACGTTGGATGAAGTGGATTATCTCTTAC	GTTACTAGTGCCTAAATCTTAA
S6_26	G/A	ACGTTGGATGGGAAATAGTAATCGACTTC	ACGTTGGATGGTGTACTACATAAAAATGTTGA	AGGGATGAAAGGACTAGTATC
S6_27	A/G	ACGTTGGATGGCAAGTCTGCAGTAAAAGATG	ACGTTGGATGTTGTTATATCTGCAGCAGAG	AAAGTTATCTCCCTTCCATAA
S6_28	C/A	ACGTTGGATGCTGTTCTAGCTTCTTTGTC	ACGTTGGATGCGCACACTTGAGTAACATTG	GTTACTAGTGCCTAAATCTTAA
S6_35	T/C	ACGTTGGATGTCAGGTGTGCTGATTTGG	ACGTTGGATGCAGAAAGAAAACCAAGGAAGT	AGCTCGATTGATGATTCGCGAGAT
S6_36	G/T	ACGTTGGATGTGCTCGGATGTAGTGTGTG	ACGTTGGATGATGAAGACTAGTATGTTTG	ACATTCCCTGGAACAGCTGCGTACGCC
S6_38	A/G	ACGTTGGATGCTAGTACAGAAAGTGAATTC	ACGTTGGATGGTAACCTTACACACAGCCAC	TAGTACAGAAAGTGAATCATGTGTTAT
S6_39	T/C	ACGTTGGATGAGTACATACATAGTGGTCCC	ACGTTGGATGACATACATAGTGGACTGACGG	AGTATTTGGAATGTGTGCTAAGGAAACT
S7_01	C/T	ACGTTGGATGCCTCCTCACTTTTATGCCAC	ACGTTGGATGATTTTACACACTAGTGTCTTG	CGCCAAACCCCTTTT
S7_02	C/T	ACGTTGGATGGTGCATCATATTTCAAGGAAC	ACGTTGGATGTGGGATCACAACTGTTTTC	TGTGCACCCCTTTT
S7_03	C/T	ACGTTGGATGACTTATAACGATAGGAGGAC	ACGTTGGATGAAGTAAAACAGGACTAGG	AGGCAAGGCTAGTTG
S7_06	G/T	ACGTTGGATGCTTAAACATGTTTATGGGTG	ACGTTGGATGCGTGTAAAAGTTACTGAAGTG	CTTTTCTGCGTCAGGT
S7_07	T/A	ACGTTGGATGAATTCGGAACTTCCGTCG	ACGTTGGATGTTTGTCTCTACTCCGTCAG	CGCTCCAAACACCCCA
S7_08	G/A	ACGTTGGATGTCAGGACCTTAACTTATAGC	ACGTTGGATGCCAGTCTATACGACAGTCAC	AGCTCGCTCTCCGGG
S7_09	T/C	ACGTTGGATGAACCACACAACGTTCAACGC	ACGTTGGATGAAGCCTTGAGGGTGAATAAG	GAAACGCCATGGTTGAT
S7_10	C/A	ACGTTGGATGTTTGTAGCATTCAAGTTTCAG	ACGTTGGATGGCATTTCATCTATATCTGGTG	GTTTCATCTTTTTTGGCGCC
S7_11	C/T	ACGTTGGATGACTTATAACGATAGGAGTGC	ACGTTGGATGATTCATTATTTTATGATCCGG	ACGATAGGTTGCAGATTA
S7_13	C/T	ACGTTGGATGTCCCACATACGAATGGAATG	ACGTTGGATGCTTGTGATTTTCTGCCACT	CGGTCTGACCAGTCACTCC
S7_14	A/G	ACGTTGGATGGCAGACTTTCATCTGATTGC	ACGTTGGATGCCTCTGATGGTAATTTGTTCC	GGAGGACGCCACACTTCC
S7_16	G/A	ACGTTGGATGTGTCGCAAGATTATAGGG	ACGTTGGATGAGTTCAAACAGAGCTGAGGG	TCAACGGACAGCGGTTGAT
S7_17	G/A	ACGTTGGATGCTCAAGTACAGAGATAACG	ACGTTGGATGACGACAAAACCTTGCCCTC	GATTTAAATCCCCCATCTCTA
S7_18	G/A	ACGTTGGATGATAGCCCTTCACTAGTCCG	ACGTTGGATGATGCTAGGTCATGAATGGG	GTACCTCTCCATTTGCCATC
S7_19	A/G	ACGTTGGATGTAAACATTACCCCGTACTCC	ACGTTGGATGTATTGTCAAATCCTAAG	ATTTACCCCGTACTCTTCGAT
S7_20	C/T	ACGTTGGATGCTTTTACTAGTGTGTTTCCG	ACGTTGGATGCAGTTTAAATAGATGTTGATG	GTAGTGTGTTTCTGCTCATCTG
S7_22	C/T	ACGTTGGATGCTAGCGGATAAATGACCTG	ACGTTGGATGAATCGGGAGTACTCGTATG	TCCAAACGCCCTACAGTCAATG
S7_26	G/A	ACGTTGGATGGCCCTGTTTACTTTAGAGTG	ACGTTGGATGTGCTGTTCTCCAACAGTTA	CTGACTAGTTTTTCGTTAGTTACA
S7_27	C/T	ACGTTGGATGGTGTGTCATGTTACACTTAC	ACGTTGGATGGCAGTGAAGAGGCAAAAG	TGGGTGTTTTCTCATTAAAGTACA
S7_28	G/A	ACGTTGGATGGCTGTTGTAACATTGTAAG	ACGTTGGATGTTACGGCAATCTGCTGGAAC	TTTTCTCTTTTTCTCCATTTGAAT
S7_29	T/C	ACGTTGGATGGCAGACTAGTAAACACTCTC	ACGTTGGATGAAACCATGAAGTCTCACCTC	TAACCATCTCAATAACAGCTTAT
S7_31	G/T	ACGTTGGATGGTGTAGATAAATAAGCAG	ACGTTGGATGCAACATTTTTCTGTCTTC	TGTTGATTTTCTGACATCATCATC
S7_32	T/C	ACGTTGGATGGTAAGAAATACAGTTTGTGCG	ACGTTGGATGCCCATTTCTTGAACATTTGGC	CCAATTACAGTTTGTGATGAAATA
S7_33	A/G	ACGTTGGATGGGTACAAAACAGTAACTGA	ACGTTGGATGACTAGTGCAGCTGCTTATTC	GAAAACAAGAGGGAGACTAATGCTAT
S7_34	A/G	ACGTTGGATGGGAGATTCTTTACTAAAAAC	ACGTTGGATGCAGACCGGTTCTGAAACAC	GGGAGAAAACAAGAGAAAGCTTATG
S7_35	G/A	ACGTTGGATGGTTTCAGAACTTCTGAAT	ACGTTGGATGCAGCATTCTTGGCATTCCC	GAGTTTCAGAACTTCTGAATAAAATC
S7_36	A/G	ACGTTGGATGAGACACAACAAAACAGTC	ACGTTGGATGGTGTCAAATAACAGTCAAAAC	TGATCAAAAACAGTTTGTAGTACCAG
S7_37	A/G	ACGTTGGATGGATGAGTACCAATAGAAC	ACGTTGGATGGCAGACAGAAATGGATATTTT	TTTGTATTTTCTGACATCATCATC
S7_39	A/G	ACGTTGGATGCAGATTTCAAATTCAAATTA	ACGTTGGATGGAATCCTACCTGCTGCCAGT	GGACTCTTGATGTGAGGTCATGAGTTC
S8_01	G/C	ACGTTGGATGTCAAAGTCCCAGATGAACG	ACGTTGGATGTGATGTAGCATTGTCTGCTG	TACACTCCCGAACCC
S8_03	A/G	ACGTTGGATGGATCCAACCTGGGATCGAATC	ACGTTGGATGCGGTAATTTGATTGTGTTACT	ATCATTCGACAGCGG
S8_04	T/A	ACGTTGGATGTGCAACGATGGTTTGTGCTG	ACGTTGGATGGAGACAAAAGACAAGAGAG	GGTCCCTGTGAAGT
S8_06	C/T	ACGTTGGATGGCTGTCTCAAATTTGTCATC	ACGTTGGATGGTGGCAAAAACGTTTGGAGAC	GCTTTTTCTGTGACTCC
S8_11	C/T	ACGTTGGATGAATGAGGCGTCAACTGCAAG	ACGTTGGATGAGTGTGCGGACGTTAATGG	TCTCTTTCCGTTCTCTTG
S8_12	C/T	ACGTTGGATGGTCAAATGGTCAGAAAATCGC	ACGTTGGATGTACTAGTGTTCATGATAC	AGACTGGCTTTCTCTCCA
S8_13	C/T	ACGTTGGATGGCCACTACACCAACTAGTA	ACGTTGGATGCCGGTATACAGAAAGTGAAA	ATGAAATAGTCAGGAGCTA
S8_15	C/T	ACGTTGGATGGAATGGTTTGATAAACTAG	ACGTTGGATGTGTTTTTACTTCCACCGCTC	TCTGTAGAACAAATTCGCC
S8_16	A/G	ACGTTGGATGCTCAACTTTTTTACTGTGAC	ACGTTGGATGGTCAAGTTTTTACTGAATTAC	CGTATTACTGCACTTGGCAT
S8_17	G/A	ACGTTGGATGGCCTGTTTCTTTAGCACTC	ACGTTGGATGAGAGGATTTCTGGCAGTTGG	TTCTTAGCACTCATATTACC
S8_18	G/T	ACGTTGGATGACCATGGAAGGTAAGAGAGG	ACGTTGGATGTCTGTGTAGTATGCGCCATC	GGGTGCAATAAGGAAATCCATC
S8_19	C/T	ACGTTGGATGGAGTACCATTGCGGCTATTG	ACGTTGGATGGGAGAGAGAAAACAGTCCG	GTCCATCATTTCAACGTGAGTT
S8_21	C/T	ACGTTGGATGTCAAGCGTCTTCCGAATG	ACGTTGGATGTATAAATGTGGTTTATGAG	GGCGGAATGTAGGTGAGTGCAT
S8_23	G/T	ACGTTGGATGGAAGCTATAGGTGCTAGATG	ACGTTGGATGGTGCATATTTCTTCCAAAC	TTGTTGGTTGCAAAAGTAAATGG
S8_25	C/T	ACGTTGGATGTTAATGTGGACTATGGCG	ACGTTGGATGGAACACTGTGCTTAGGAGAT	GTGAGGAGCTTACTCCATATG
S8_26	A/G	ACGTTGGATGGAACAGCAGCTATATACTTC	ACGTTGGATGCGCGTAGGAATTTTGTGG	CATTTAAGCTTGAGCACAAGTA
S8_28	A/G	ACGTTGGATGGGAGTGTAAATGATAGAAG	ACGTTGGATGCATCTGTGGTCTCCACATTG	GGAATGTAGTAGAAGTCTGAGTGA
S8_29	G/T	ACGTTGGATGGCAGCTTACCAGAAAAC	ACGTTGGATGACAAAGTCAATTTGAACAG	GGTACAATAGTCTGGTAAATCTAT
S8_32	G/A	ACGTTGGATGCAAAACCTTTTACAGTTGG	ACGTTGGATGGCTTTGATCGGTCATATC	TACTAAAGTGTGGATTAAGAAATATA
S8_34	G/A	ACGTTGGATGATTTGCTGTCTTGAACCTGC	ACGTTGGATGGGAGACATAATGTGAATAC	GGAATTTTATCGACATCCGTTTACA
S8_35	T/C	ACGTTGGATGGGCTCTTCTCCTAACCTTC	ACGTTGGATGAGAGGGAGGACCTTTGTAAG	TCTTCTCCTAACCACTTCAAATGTCTA
S8_37	C/A	ACGTTGGATGATGGATTGCCGTCAACATTG	ACGTTGGATGCCAAGGTTTGTAGCGACTTC	TATGGATTGCCGTCAACATTGACTAGTT
S8_39	T/C	ACGTTGGATGCTAAGGTCGTGCTCACATTC	ACGTTGGATGGCAATTCACCTTTTGTGCG	GATAAGGTCGTGCTCACATTCGAGTAGG

令和3年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業
(新規栽培対象種のうち二枚貝) 第1回検討会 議事次第

日 時： 令和3年7月15日(木) 9:30~16:30

場 所： ウェブ会議 (Microsoft Teams)

議 事：

1. 開会挨拶

2. タイラギ

- (1) タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発 水産技術研究所
- (2) タイラギ人工種苗生産技術の開発 水産技術研究所
- (3) 人工種苗から成貝までのタイラギ育成技術の開発
 - ① 瀬戸内海東部海域におけるタイラギ育成技術の開発 香川県水産試験場
 - ② 瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発
山口県水産研究センター
- (4) タイラギ母貝団地造成技術の開発
 - ① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発
山口県水産研究センター
 - ② 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発
大分県農林水産研究指導センター水産研究部
- (5) DNA 標識技術の開発
 - ① 有明海におけるタイラギの DNA 標識技術の開発 水産資源研究所

3. ハマグリ

- (1) ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発
熊本県水産研究センター・水産技術研究所
- (2) ハマグリ人工種苗生産技術の開発
千葉県水産総合研究センター・愛知県水産試験場
熊本県水産研究センター・三重県水産振興事業団
- (3) 人工種苗から成貝までの育成技術の開発
 - ① 東京湾におけるハマグリ育成技術開発 千葉県水産総合研究センター
 - ② 伊勢湾におけるハマグリ育成技術開発 三重県水産研究所
 - ③ 有明海におけるハマグリ育成技術開発 熊本県水産研究センター
 - ④ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発 水産技術研究所
- (4) 母貝団地造成技術の開発
 - ① 三河湾におけるハマグリ母貝団地造成技術 愛知県水産試験場

- ② 伊勢湾におけるハマグリ之母貝団地造成技術 三重県水産研究所
- ③ 餌料源分析を通じたハマグリ之母貝団地造成技術の開発 水産技術研究所

4. 総合討論

5. その他

令和3年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業
(新規栽培対象種のうち二枚貝) 第2回検討会 議事次第

日 時： 令和4年3月14日(月) 10:00~16:00 (タイラギ課題)
3月17日(木) 10:00~16:00 (ハマグリ課題)

場 所： ウェブ会議 (Microsoft Teams)

議 事：

タイラギ課題

- (1) タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発 水産技術研究所
- (2) タイラギ人工種苗生産技術の開発 水産技術研究所
- (3) 人工種苗から成貝までのタイラギ育成技術の開発
 - ① 瀬戸内海東部海域におけるタイラギ育成技術の開発 香川県水産試験場
 - ② 瀬戸内海西部海域におけるタイラギ育成技術の開発
山口県水産研究センター
- (4) タイラギ母貝団地造成技術の開発
 - ① 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発
山口県水産研究センター
 - ② 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術の開発
大分県農林水産研究指導センター水産研究部
- (5) DNA 標識技術の開発
 - ① 有明海におけるタイラギの DNA 標識技術の開発 水産資源研究所
- (6) 総合討論
- (7) その他

ハマグリ課題

- (1) ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発
熊本県水産研究センター・水産技術研究所
- (2) ハマグリ人工種苗生産技術の開発
千葉県水産総合研究センター・愛知県水産試験場
熊本県水産研究センター・三重県水産振興事業団
- (3) 人工種苗から成貝までの育成技術の開発
 - ① 東京湾におけるハマグリ育成技術開発 千葉県水産総合研究センター
 - ② 伊勢湾におけるハマグリ育成技術開発 三重県水産研究所
 - ③ 有明海におけるハマグリ育成技術開発 熊本県水産研究センター

- ④ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発 水産技術研究所
- (4) 母貝団地造成技術の開発
 - ① 三河湾におけるハマグリの母貝団地造成技術 愛知県水産試験場
 - ② 伊勢湾におけるハマグリの母貝団地造成技術 三重県水産研究所
 - ③ 餌料源分析を通じたハマグリの母貝団地造成技術の開発 水産技術研究所
- (5) 総合討論
- (6) その他

水産庁 令和3年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業（二枚貝）

ハマグリグループ検討会（担当打合せ） 議事次第

日 時： 令和3年 12月21日（火） 13:30～17:30
12月22日（水） 9:00～12:00

場 所： 千葉県水産総合研究センター東京湾漁業研究所 研修館2F会議室
千葉県富津市小久保 3091 Tel: 0439-65-3071

議 事：

1) 1日目

1. ハマグリ親貝の養成と採卵技術の開発

- ① 熊本県水産研究センター
- ② 増養殖研究所 育種研究センター

2. ハマグリ人工種苗生産技術の開発

- ① 愛知県水産試験場 漁業生産研究所
- ② 熊本県水産研究センター
- ③ 三重県栽培漁業センター
- ④ 千葉県水産総合研究センター 東京湾漁業研究所

3. 人工種苗から成貝までのハマグリ育成技術の開発

- ① 東京湾におけるハマグリ育成技術開発
千葉県水産総合研究センター 東京湾漁業研究所
- ② 伊勢湾におけるハマグリ育成技術開発
三重県水産研究所 鈴鹿水産研究室
- ③ 有明海におけるハマグリ育成技術開発 熊本県水産研究センター
- ④ 餌料源分析を通じたハマグリ育成技術の開発 水産技術研究所

4. 母貝団地造成技術の開発

- ① 三河湾におけるハマグリ母貝団地造成技術
愛知県水産試験場 漁業生産研究所

② 伊勢湾におけるハマグリ之母貝団地造成技術 三重県水産研究所
三重県水産研究所 鈴鹿水産研究室

③ 餌料源分析を通じたハマグリ之母貝団地造成技術の開発 水産技術研究所

5. 総合討論（問題点の整理、今後の方針）

2) 2日目

現地視察（東京湾漁業研究所 種苗生産施設等）

令和3年度さけ・ます等栽培対象資源対策事業

(新規栽培対象種のうち二枚貝) 貝種別検討会「タイラギ」

日 時： 令和4年1月11日(火)～17日(月)

開催方法： メール会議

議 事：

1. タイラギ親貝の養成と採卵技術の開発

- ③ 水産技術研究所 生理機能部
- ④ 水産技術研究所 生産技術部

2. タイラギ人工種苗生産技術の開発

- ① 水産技術研究所 生産技術部

3. 人工種苗から成貝までのタイラギ育成技術の開発

- ② 香川県水産試験場
- ③ 山口県水産研究センター 内海研究部

4. タイラギ母貝団地造成技術の開発

- ④ 瀬戸内海西部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術
山口県水産研究センター 内海研究部

- ⑤ 大分県北部海域におけるタイラギの母貝団地造成技術
大分県農林水産研究指導センター 水産研究部北部水産グループ

5. DNA 標識技術の開発

- ⑥ 有明海におけるタイラギのDNA 標識技術の開発
水産資源研究所 生命情報解析部

スケジュール案：

1月7日(金) 各課題の進捗状況をまとめた資料を関係者に配信。

1月11日（火）～17日（月）

各課題の進捗状況に対する質問やコメントをメーリングリストで募り、各課題担当者はメーリングリストを通して回答。

1月21日（金） 質問やコメント、回答をまとめた議事録案を関係者に送付して、内容確認を依頼。

1月28日（金） 議事録の確定。