



CCSBT-CC/1410/17

Review of Current R&D Technological Developments and Tools Available to Assist Certifiers and Validators to Identify SBT

SBT を同定する証明者及び確認者を支援するための現在の研究開発にかかる 技術開発状況及びツールのレビュー

1. INTRODUCTION & BACKGROUND

序論及び背景

1.1 Introduction

序論

An important element of the current CCSBT Compliance Action Plan (CAP) is the continued monitoring of research and development initiatives that could be used to help achieve improved Southern Bluefin Tuna (SBT) compliance monitoring.

現行のCCSBT遵守行動計画（CAP）における重要な要素の一つに、みなみまぐろ（SBT）の遵守モニタリングの改善の達成の一助として利用し得る研究及び開発にかかるモニタリングの継続がある。

As part of this monitoring, the Eighth Meeting of the Compliance Committee (CC8) tasked the Secretariat with developing a review/summary of current R&D technological developments and tools available to assist certifiers and validators to identify Southern Bluefin Tuna (SBT).

このモニタリングの一環として、第8回遵守委員会会合（CC8）は、事務局に対し、みなみまぐろ（SBT）を同定する証明者及び確認者を支援するために利用可能な現在の研究開発にかかる技術開発状況及びツールのレビュー／概要を作成する任務を課した。

1.2 Background Information from Previous CC Meetings

過去の CC 会合からの背景情報

Since the Seventh Meeting of the Compliance Committee (CC), CC agendas have included the standing item, 'Research and development of new technologies & tools to aid observers, certifiers and validators to identify SBT, in particular once processed'. Under this item, Members have been asked to prepare and present specific proposals for consideration by the CC so that recommendations can be made to the Extended Commission (EC) regarding support and/or funding of any proposed projects as appropriate.

第7回遵守委員会（CC）会合以降、CCの議題には独立した議題項目「SBT（特に一次加工されたもの）を同定するオブザーバー、証明者及び確認者を支援するための新規技術及び手法に関する研究開発」が設けられている。この議題項目では、メンバーは、適切な全てのプロジェクト案にかかる支援及び／又は予算措置に関する拡大委員会（EC）への勧告を行うことができるよう、会合による検討のために具体的な提案を準備し、これを説明することが要請されている。

At CC7, Japan noted that other Regional Fisheries Management Organisations (RFMOs) are investigating methods for traceability of fish products and that this could be a new technology that should be reviewed by future CC meetings.

CC7において、日本は、他の地域漁業管理機関（RFMO）において魚の製品のトレーサビリティに関する手法が調査されており、これは将来のCC会合においてレビューされるべき新技術となり得ると述べた。

At CC8, it was noted that there was work underway in several countries to help identify SBT including DNA testing, skin analysis, electrophoresis, and other genetic species identification work. New Zealand commented that it was working on developing genetic probes as well as a portable testing device to avoid the requirement for laboratory testing. In addition, Australia presented a brief summary describing the gene tagging work it was involved with. CC8では、複数の国において、DNA試験、表皮分析、電気泳動法、及びその他の遺伝子による種同定技術を含むSBTの種同定を支援するための作業が進められていることが留意された。ニュージーランドは、実験室での試験が不要となるような遺伝子プローブ及び携帯用試験機器の開発に関する作業についてコメントした。さらにオーストラリアは、同国が関与している遺伝子標識作業の概要を説明した。

1.3 The Secretariat's Review

事務局のレビュー

The Secretariat has broadly reviewed the available research on tuna identification/ tools, including contacting some Members about their most recent research activities in this area. This review is not exhaustive. It focuses on genetic species identification methods, and takes the approach of first summarising the types of tools available, then comments on their potential use by field personnel.

事務局は、まぐろの種同定に利用可能な研究／ツール（本分野にかかる一部のメンバーの直近の調査活動状況を含む）を幅広くレビューした。レビューでは遺伝子による種同定法に焦点を当てており、まず利用可能なツールの方式について概説した上で、現場の者がこれらを利用できる可能性についてコメントしている。

A summary of relevant Member-specific and international research, including some traceability projects, is included in section 3.

特定のメンバーが関連する国際調査（いくつかのトレーサビリティプロジェクトを含む）の概要はセクション3のとおりである。

2. SECRETARIAT REVIEW

事務局レビュー

2.1 Overview of Genetic Identification Tools

遺伝子による種同定ツールの概説

There are eight species of tuna in the genus *Thunnus*. Identification of these species is difficult given their close genetic relationships and the ease with which distinguishing morphological characters can be removed once landed (Bartlett and Davidson, 1991). Therefore, tools that would enable rapid and reliable identification of tuna to species level in the field are potentially very important for the effective monitoring of tuna traded in various raw and/or more processed forms, and for the detection of Illegal, Unregulated and Unreported (IUU) fishing activities in general.

*Thunnus*属のまぐろ類は8種である。これらの種は遺伝的に近いこと、及び種の同定を容易にする形態学的特徴が水揚げ時に取り去られてしまうことから、これらの種を同定することは困難である（Bartlett及びDavidson, 1991年）。このため、現場においてまぐろ類を種レベルまで速やかかつ信頼性高く同定することを可能にするツールは、生鮮及び／又はより加工度の高い様々な形態で取引されるまぐろの効果的な

モニタリング、及び違法、無規制、無報告（IUU）漁業活動を検知するために非常に重要であると考えられる。

Techniques for the genetic testing and identification of tuna species from tissue samples have already been developed and utilised by scientists around the world.

遺伝子試験及び組織サンプルからまぐろの種を同定する技術は、世界中の科学者によって既に開発、実用化されている。

In terms of CCSBT's compliance objectives, the main issue associated with most of these tools is that they require complex and expert laboratory analyses of the tissue samples collected over a period of days/weeks. Therefore, most of the tools already available could not currently be utilised by CCSBT certifiers or validators for real-time analysis in the field. CCSBTの遵守目的という観点からこれらのツールのほとんどに共通する主な問題は、収集した組織サンプルについて、数日／数週間に渡る複雑かつ専門的な実験室での分析が必要なことである。このため、既に利用可能なツールの多くは、現在、現場でリアルタイム分析を行うCCSBTの証明者又は確認者には使用されていない。

However, the Secretariat notes that recent developments in so-called 'real time PCR'¹ techniques' appear to provide the first real potential for development of reliable and practical identification tools that could potentially be used by field personnel such as certifiers and validators in order to verify tuna species.

しかしながら、事務局は、まぐろ類の種の確認において証明者や確認者といった現場の者が使用し得る信頼性が高く実用的なツールの開発にかかる最初の真の可能性となりそうな「リアルタイムPCR¹」と呼ばれる最新の技術に留意している。

2.2 DNA Barcodes and the 'COxI' Marker

DNAバーコード及び「COxI」マーカー

DNA barcodes are a global standard for species identification, and the standard marker traditionally used for DNA barcoding of many animal species including (*Thunnus*) species identification is cytochrome oxidase subunit I (COxI). The Barcode of Life Database (BOLD) holds genetic barcode data on the COxI marker for many different fish species. Sequencing of this region of mitochondrial DNA (mtDNA) from a fish species provides relatively accurate information on species identification.

DNAバーコードは種の同定に関する国際基準であり、*Thunnus*属の種同定を含む多くの動物種のDNAバーコーディングのために伝統的に用いられている標準マーカーはチトクロームオキシダーゼサブユニット I (COxI) である。バーコードオブライフデータベース (BOLD) は、多くの魚種のCOxIマーカー上のDNAバーコードデータを収録している。魚の種のミトコンドリアDNA (mtDNA) における当該領域の塩基配列決定は、種同定に関して相対的に正確な情報を提供するものである。

Disadvantages

デメリット

However, use of BOLD COxI genetic markers alone do not necessarily allow full discrimination of all eight tuna species from each other (e.g. Lowenstein, Amato and

¹ Polymerase Chain Reaction (PCR) uses primers to amplify specific DNA fragments from tissue samples. The amplified DNA fragments can be used for laboratory-based genetic identification purposes (e.g. for sequencing). ポリメラーゼ連鎖反応 (PCR) では、組織サンプル中の特定のDNA断片を増幅するためのプライマーを用いる。増幅されたDNA断片は、実験室ベースの遺伝子による種同定目的に使用することができる。

Kolokotronis, 2009).

しかしながら、BOLDのCOxI 遺伝子マーカーの使用だけでは、必ずしも8種のまぐろ属の魚種を完全に区別することができない。

Other disadvantages of more traditional DNA ‘barcoding’ techniques include:

より伝統的なDNA「バーコーディング」技術のその他のデメリットは以下のようなものである。

- Limited ability to reliably identify tuna to species level,
まぐろを種レベルまで信頼性高く同定する能力は限定的であること
- Non-portability and time delays and large costs associated with conducting the required laboratory analyses, and
実験室での必要な分析の実施に伴う非携帯性、時間的な遅れ及び大きなコスト
- Limited or no ability to reliably test samples where the DNA has been degraded, e.g. in archival and/or highly processed products such as canned tuna.
保存されていたもの及び／又は缶詰まぐろのように高度に加工されている等、DNAが劣化している場合に、信頼性高く試験する能力が限定的あるいは皆無であること

2.3 PCR Fragment Sequencing Methods

PCR断片シーケンス法

There is now a suite of sequencing methods (that essentially utilise mini-barcodes) emerging that may alleviate some of the issues associated with the more traditional barcoding techniques. Some of these methodologies may soon provide the facility to conduct large-scale reliable ‘real-time’ in the field identification of tuna species, either relatively unprocessed or in highly processed seafood products at a much lower cost than previously possible.

より伝統的なバーコーディング技術にかかるいくつかの問題を緩和できる一連のシーケンス法（基本的にミニバーコードを用いる）がある。これらの手法のうちの一部は、現場でのまぐろ魚種の種同定だけでなく、比較的加工度が低い又は高度に加工された水産加工物の種同定についてもこれまでよりもかなり低コストに、大規模かつ信頼性高く「リアルタイム」で実施するための機器を間もなく提供できる可能性がある。

Several types of these methodologies are described below.

これらの手法の一部を以下に記載した。

2.3.1 PCR-Restriction Fragment Length Polymorphism (PCR-RFLP)

PCR-制限酵素断片長多型 (PCR-RELP)

Takeyama *et al.* (2001) demonstrated that all tuna species could be distinguished using PCR-RFLP, but five different restriction enzymes needed to be used to achieve these results.

竹山ら (2001年) は、PCR-RFLP法により全てのまぐろ魚種を区別し得るが、これらの結果を得るためには五つの異なる制限酵素を用いる必要があることを示した。

Lin, Shiao and Hwang (2005) used sequence analysis and PCR-RFLP plus three restriction enzymes to facilitate rapid identification of 4 common *Thunnus* species – *T. thynnus* (Atlantic bluefin tuna - ABT), *T. alalunga* (albacore - ALB), *T. obesus*, (bigeye tuna - BET) and *T. albacares* (yellowfin tuna - YFT) collected at domestic and foreign ports. The same technique was used to successfully determine the tuna

species of twelve samples of commercial tuna fillets (sashimi) purchased from six different Taiwanese markets.

Lin, Shiao 及び Hwang (2005年) は、国内及び外国港で収集した四種の一般的な *Thunnus* 属魚種 - *T. thynnus* (大西洋クロマグロ - ABT), *T. alalunga* (ビンナガ - ALB), *T. obesus*, (メバチ - BET) and *T. albacares* (キハダ - YFT) の速やかな種同定を支援するため、シークエンス分析及び三種類の制限酵素を加えた PCR-RELP を用いた。同様の技術により、台湾の市場六カ所で購入したマグロフィレ (刺身) の 12 サンプルの種を正しく同定できた。

2.3.2 PCR - Forensically Informative Nucleotide Sequencing (PCR-FINS)

PCR-法医学情報提供ヌクレオチドシーケンシング (PCR-FINS)

FINS is a PCR and DNA-sequencing method that can be used for identification of processed or un-processed tissue samples. It has been described as the most accurate technology for tuna species authentication (Chuang, Chen and Shiao, 2012). This methodology was used in the analyses conducted by Viñas and Tudela (2009), Botti and Giuffra (2010), and Tseng, Shiao and Hung (2011).

FINS は、加工された又は未加工の組織サンプルによる種同定に使用し得る PCR 及び DNA シーケンシング手法である。この手法は、まぐろ魚種の確認において最も正確な技術として説明されている (Chuang, Chen 及び Shiao, 2012 年)。この手法は、Viñas 及び Tudela (2009 年)、Botti 及び Giuffra (2010 年)、及び Tseng, Shiao 及び Hung (2011 年) が行った分析でも用いられているものである。

Viñas and Tudela (2009) validated a FINS methodology that identified all eight *Thunnus* species (including SBT) from any type of tissue including sushi and sashimi. This methodology is the one that was used by the World Wildlife Fund (WWF) to test sashimi-grade tuna in supermarkets, restaurants and import facilities in China during 2011 and 2012, the results of which were reported to CC7.

Viñas 及び Tudela (2009 年) は、FINS 法は寿司及び刺身を含む全てのタイプの組織から 8 種のマグロ属の魚種全て (SBT を含む) を同定したことを確認した。この手法は、世界自然保護基金 (WWF) による 2011 年及び 2012 年の中国のスーパーマーケット、レストラン及び輸入施設における刺身グレードのマグロにかかる試験でも使用されたものであり、その結果は CC7 において報告されている。

Botti and Giuffra (2010) used an existing PCR-FINS methodology to detect mitochondrial polymorphisms in food samples. As the methodology used was largely independent of the degree of degradation of the DNA source (e.g. by cooking, processing and/or auto-claving), it could be applied to processed seafood. This study facilitated the identification of seventeen fish species within the Scombridae family, including all eight tuna species, from canned tuna, tuna salad and tuna sauce samples. Botti 及び Giuffra (2010 年) は、食物サンプルのミトコンドリア多型を検知するために既存の PCR-FINS 法を用いた。用いられた手法は DNA のソース (例えば調理済み、加工済み及び/又は高圧蒸気滅菌済み) の劣化の度合いにほとんど左右されなかったことから、当該手法は加工水産物に適用し得るものである。当該研究では、マグロ缶詰、マグロのサラダ及びマグロのソースのサンプルから、サバ科の 17 魚種 (マグロ類の 8 種を含む) の種が同定できた。

Tseng, Shiao and Hung (2011) also used a PCR-FINS methodology to distinguish the three morphologically similar species of bluefin tunas: *T. orientalis* (Pacific bluefin tuna - PBT), SBT and ABT.

また、Tseng, Shiao 及び Hung (2011 年) は、形態的に類似しているクロマグロ類

3種 : *T. orientalis* (太平洋クロマグロ - PBT), SBT及びABTを同定するためにPCR-FINS法を用いた。

However, disadvantages of PCR-FINS methodologies include the relatively higher costs and longer time periods required for DNA sequencing (days in the laboratory), which makes them unsuitable for high-volume identification work (Chuang, Chen and Shiao, 2012). These characteristics would also make them unsuitable for real-time analysis of samples in the field by personnel such as certifiers or validators at this point in time. However, technology is advancing rapidly in this area and it's possible that much more time-efficient analysis techniques could become available relatively soon.

しかしながら、PCR-FINS法のデメリットとして、相対的にコストが高く、DNAシーケンシングにかかる期間（実験にかかる日数）が長いこと、大量の種同定作業には向かない（Chuang, Chen及びShiao, 2012年）。またこれらの特徴から、証明者又は確認者といった者が現場でサンプルのリアルタイム分析を即時的に行うには不向きである。しかしながら、この分野の技術は急速に発展しており、それほど遠くない将来により時間効率の良い分析が利用可能になる可能性はある。

2.3.3 Real-Time PCR Techniques

リアルタイムPCR技術

More recently, real-time PCR techniques have been developed. The main advantages of these real-time PCR techniques are that they possess characteristics of high-sensitivity, high-specificity and excellent efficiency (one step). In addition, because there are no post-PCR steps, the risks of cross-contamination are decreased (Chuang, Chen and Shiao, 2012). Therefore, they provide the best opportunity yet for potential development into portable, efficient tools that could be used by field personnel such as certifiers or validators in the future.

最近になって、リアルタイムPCR技術が開発された。これらのリアルタイムPCR技術の主なメリットは、高感度、高い特異性及び優れた効率性（ワンステップ）といった特徴があることである。さらに、PCR後の処理が不要であり、二次汚染リスクが低減されている（Chuang, Chen及びShiao, 2012年）。このため、将来的に証明者や確認者といった現場の者によって用いられる携帯可能で効率的なツールの開発の可能性において、当該技術はこれまでで最高の機会を提供するものである。

Chuang, Chen and Shiao (2012) successfully used two real-time, one-step PCR techniques for the rapid identification of four tuna species: BET, PBT, SBT and YFT. Both techniques could distinguish the four tuna species in canned products in an efficient manner at high-volume. The whole procedure, including DNA extraction significantly reduced the experimental time required to within half a day. This smaller processing and analysis timeframe facilitates the efficient utilisation of these methods on a larger, more commercial scale.

Chuang, Chen及びShiao (2012年)は、四種のマグロ（BET, PBT, SBT及びYFT）の速やかな種同定に二つのリアルタイムかつワンステップのPCR技術を用いることに成功した。両技術は、缶詰製品となっている四種のマグロを効率的かつ大量に種同定することができた。DNAの抽出を含むプロセス全体が大幅に削減され、必要な実験時間は半日以内となった。このプロセス及び分析時間の少なさ、より幅広い、より商業的なスケールでのこれらの手法の効率的な使用を促進するものである。

3. RESEARCH PROJECTS

調査研究プロジェクト

3.1 Australia

オーストラリア

Australian scientists have been focusing on developing real-time PCR techniques or so-called “Lab-on-a-chip” technology, *i.e.* sampling tools that are robust, reliable, tamper-proof and cost-effective enough for ease of large-scale implementation of gene tagging in the field. These tools utilise a suite of Single Nucleotide Polymorphisms (SNP) markers and are specifically designed for high-volume forensic grade identification purposes. Much of the genetic marker work for SBT gene tags has been done in cooperation with the genetic research required for the Close-Kin (C-K) abundance estimate project.

オーストラリアの科学者は、リアルタイム PCR 技術、又はいわゆる「ラボオンチップ」技術、すなわち現場での遺伝子標識の大規模実施を容易なものにし得る、頑健で、信頼性が高く、不正開封防止機能があり、及び費用効果が高いサンプリングツールの開発にフォーカスしてきた。これらのツールは一塩基多型 (SNP) マーカーを使用するもので、特に大規模な法医学的同定を目的として設計されたものである。SBT 遺伝子標識のための遺伝子マーカーにかかるほとんどの作業は、近縁遺伝子 (C-K) 資源量推定プロジェクトに必要であった遺伝子調査の中で完了している。

SNPs and DNA microsatellites provide a DNA profile or gene tag enabling researchers to: SNP 及び DNA マイクロサテライトは、調査する者が以下を実施することを可能とする DNA プロファイル又は遺伝子標識を提供するものである。

- Distinguish SBT from other tuna species, and/or
他のマグロ魚種から SBT を区別する、及び／又は
- Identify specific SBT individuals – for example portions of processed SBT could feasibly be matched back to the whole (or less processed) SBT individual at an earlier part of the supply chain.
SBT の個体を特定する – 例えば、加工された SBT の一部から、サプライチェーンの前段階の SBT の個体全体 (または加工度が低い状態) に戻って照合することができる。

Cost Efficiencies

費用効率

As mentioned in 2.3.3, the advantage of these new genetic sampling tools is that less expertise is required in sampling, tissue handling and genetic profiling than earlier molecular techniques. A portable testing device can be used, thereby removing the need for expert laboratory testing. Costs involved are therefore also significantly reduced.

2.3.3で述べたとおり、これらの新たな遺伝子サンプリングツールのメリットは、サンプリング、組織の取り扱い及び遺伝子プロファイリングにおいて、これまでの分子学的技術よりも専門性が必要とされないことである。専門的な実験室での試験の必要がなくなることにより、携帯試験機器として使用し得る。このため、必要なコストも大幅に低減される。

Research Progress

調査研究の進捗状況

Considerable research progress has already been made on this research over the past twelve months. Well-developed genetic species identification markers are now available for four

tuna species: SBT, BET, YFT and skipjack (*Katsuwonus pelamis* - SKP). Similar markers will soon be available for identifying Atlantic Bluefin tuna (ABT), Northern Bluefin (NBT), longtail, and blackfin tunas as well.

この12ヶ月間で、本調査研究は非常に大きく前進した。現在、四種のマグロ魚種：SBT、BET、YET及びカツオ (*Katsuwonus pelamis* - SKP) について、十分に開発された遺伝子種同定マーカーが利用可能となっている。大西洋クロマグロ (ABT)、太平洋クロマグロ (NBT)、コシナガ及びタイセイヨウマグロについても、間もなく同様のマーカーが利用可能となる見込みである。

Another independent project aims to demonstrate that genetics techniques can be used for 'real-time' species identification of sashimi-grade species in the field. This project should be completed by the end of 2014.

もう一つのプロジェクトは、現場で刺身グレードの種を「リアルタイム」に同定するために使用し得る遺伝子技術の実証を目的としている。

3.2 European Union

欧州連合

FishPopTrace² Traceability Project

FishPopTrace² トレーサビリティプロジェクト

FishPopTrace is a project that was launched in March 2008 under the umbrella of the EU Seventh Framework Programme (FP7), and was concluded in July 2011. It focused on four important EU commercial fisheries: cod, hake, herring and sole. Its aim was to construct a Pan-European framework for product traceability and policy related monitoring, control and surveillance (MCS) in the fisheries sector based on advanced technologies. It involved fifteen research groups (from the EU, Norway and Russia), specialising in fish population genetics, molecular biology, proteomics, microchemistry and biochemistry, experts in wildlife forensics, stakeholders of the fisheries industry and a US National Oceanic and Atmospheric Administration (NOAA) scientific consultant.

FishPopTrace は、EU の第七次研究・技術開発枠組み計画 (FP7) の下で 2008 年 3 月に開始され、2011 年 7 月に完了したプロジェクトである。このプロジェクトは、EU において重要な四つの商業漁業：タラ、ヘイク、ニシン及びシタビラメに焦点を当てたものであった。その目的は、ヨーロッパ横断的な製品のトレーサビリティの枠組み及び先進技術に基づく漁業セクターの監視、管理及び取締り (MCS) に関する政策を構築することにあった。プロジェクトには魚の集団遺伝学、分子生物学、プロテオミクス、微量化学及び生化学を専攻する (EU、ノルウェー及びロシアからの) 15 の調査グループがあり、動物法医学の専門家、漁業産業の利害関係者及び米国国立海洋大気庁 (NOAA) の科学コンサルタントが参加した。

3.3 Japan

日本

Japan did not provide any specific research updates to the Secretariat, however the Secretariat notes the Takeyama *et al.* (2001) paper included in this review, as well as the recent research of Nakamura *et al.* (2013) who have determined the genome sequence of Pacific Bluefin tuna (PBT) using next generation sequencing technology.

日本は、事務局に特段の調査研究の進捗情報を提供しなかったが、事務局は、このレビューでも参照した竹山ら (2001 年)、及び次世代シーケンシング技術を用いた太平洋クロマグロ (PBT) のゲノムシーケンシングを決定した中村ら (2013 年) の最近の調査研究について留意している。

² <https://fishpoptrace.jrc.ec.europa.eu/home>

In addition, in its National report to CC9, Japan indicated that it undertook some genetic testing of domestic bigeye tuna samples for verification purposes during the 2014/15 fishing season.

さらに、CC9に対する年次報告書の中で、日本は2014/15年漁期中に確認のために国産品のメバチサンプルの一部において遺伝子試験を実施したことを示唆した。

3.4 New Zealand

ニュージーランド

New Zealand has provided the following updated information to the Secretariat regarding a research project that has just commenced.

ニュージーランドは、開始したばかりの調査研究プロジェクトに関する以下の更新情報を事務局に提供した。

In August 2014, New Zealand's Ministry of Primary Industries (MPI) contracted a research provider to provide a user-friendly, scientifically sound tool or method capable of accurately identifying fresh/frozen tuna (genus *Thunnus*) trunks to species level. It was specified that the tool/method should be easily deployable in the field, environmentally robust and cost effective, and ideally have the following characteristics:

2014年8月、ニュージーランド一次産業省（MPI）は、生鮮／冷凍まぐろ（*Thunnus* 属）の胴体を種レベルまで正しく同定することを可能とする、取り扱いが簡単で科学的に妥当なツール又は手法を提供するために調査会社と契約した。この契約では、このツール／手法は、現場に配布しやすく、環境的に頑健かつ費用効果が高くなければならず、理想的には以下の特徴を備えることが望ましいことが明記された。

- **Comparable specificity and sensitivity with gold standard (DNA sequencing)**
特異性及び感受性がゴールドスタンダード（DNA シークエンシング）と比較可能であること
- **Based on internationally recognised underpinning science**
国際的に認知されている基礎科学に基づくこと
- **Field deployable**
現場に配置できること
- **Able to be utilised effectively in harsh environments e.g. at sea, low temperatures, low ambient light**
洋上、低温、周辺が暗い等の厳しい条件下でも有効に使用できること
- **Applicable to frozen tuna trunks**
冷凍マグロの胴体にも適用できること
- **Easily validated for use – high level of repeatability, reproducibility and statistically robust**
高いレベルの繰り返し性、再現性及び統計的頑健性をもって簡単に使用できること
- **Real time identification**
リアルタイム種同定
- **Low operating cost**
運用コストが低いこと
- **Low long term maintenance costs.**
長期的な維持コストが低いこと

Progress

進捗状況

To date, the following progress has been made:

現時点までに以下の進捗がなされた。

- Muscle tissue samples have been collected from five albacore and five SBT 五尾のビンナガ及び五尾の SBT から筋組織サンプルを収集した。
- Albacore samples were collected at Mooloolaba, Sunshine Coast, from fish that were caught at sea about 12-16 hours prior to sample collection. The fish were kept in an ice slurry until processing
ビンナガのサンプルは、ムールーラバ及びサンシャインコーストにおいて、サンプル収集の 12–16 時間前に漁獲された魚から収集された。魚は、処理されるまでスラリーアイス中に保管された。
- Southern Bluefin tuna samples were collected in Port Lincoln, within a few hours of being harvested
ミナミマグロのサンプルは、ポートリンカーンにおいて、収穫から数時間内に収集された。
- RNA was extracted from these ten samples (5 samples per species), analysed using ‘bioanalyser’ to determine RNA quality, and samples were then sent to an Australian genome research facility
これら 10 のサンプル（各種 5 サンプル）から RNA を抽出し、RNA のクオリティを測定するために「バイオアナライザ」を用いて分析した上で、その後オーストラリアゲノム研究施設に送られた。
- Pacific Bluefin tuna (PBT) muscle samples have not yet been collected, however in the interim scientists will compare potential distinct epitope sites with the published PBT genome sequence.
太平洋クロマグロ（PBT）筋組織サンプルはまだ収集されていないが、当面の間、科学者は、はっきり区別できるエピトープ部と公開されている PBT のゲノムシーケンスとを比較する予定である。

3.5 Taiwan

台湾

The Secretariat understands that research is likely to be continuing in Taiwan, and notes the three papers already referred to in this review:

事務局は、台湾において調査研究が継続されているものと理解しており、本レビューにおいて既に以下の三つの論文に言及している。

- Lin, Shiao and Hwang (2005),
- Tseng, Shiao and Hung (2011)
- Chuang, Chen and Shiao (2012).

3.6 GEF³ Project: Sustainable Management of Tuna Fisheries and Biodiversity

Conservation in the Areas Beyond National Jurisdiction (ABNJ)

国の管轄外の海域（ABNJ）における持続可能なマグロ漁業管理及び生物多様性保全にかかる GEF³ プロジェクト

As part of this current GEF funded project, a specific activity/sub-project has been defined which aims “to establish best practices for traceability and legal provenance CDS systems for tuna fisheries”. This sub-project could potentially provide recommendations about best practice tools (including genetic identification tools), that certifiers and validators could use to reliably verify/identify different tuna species in the future. The CCSBT Secretariat will be providing input to this project activity during late 2014.

現在 GEF が予算措置しているプロジェクトの一環として、「トレーサビリティ及びマグロ漁業における合法的な来歴にかかる CDS システムに関するベストプラクティスを確立する」ことを目的とした具体的な行動／サブプロジェクトが明示されてい

³ Global Environment Facility 地球環境ファシリティ

る。このサブプロジェクトは、将来的に証明者及び確認者が異なるまぐろ魚種を高い信頼性をもって確認／同定するために使用し得る最良のツール（遺伝子種同定ツールを含む）に関する勧告を提示する可能性がある。CCSBT 事務局は、2014 年後期に、このプロジェクトの行動に対するインプットを行う予定である。

3.7 The Fish Barcode of Life Initiative (FishBol⁴)

魚類バーコードオブライフ・イニシアチブ (FishBol⁴)

The Fish Barcode of Life Initiative is a global effort to coordinate an assembly of DNA barcodes, images and geospatial coordinates for all fish species. Some of the aims of this project are to facilitate fish species identification for all potential users, and to enable identifications where traditional methods may not be applicable. This initiative runs in partnership with the Consortium for the Barcode of Life (CBOL) and Census of Marine Life Projects.

魚類バーコードオブライフ・イニシアチブは、全ての魚種にかかる DNA バーコード、画像及び地理空間的座標の集約を調整するための国際的な試みである。このプロジェクトでは、あらゆるユーザーによる魚の種同定を容易にするとともに、伝統的な手法を使うことができない場合でも種同定を可能にすることも目的の一部となっている。このイニシアチブは、バーコードオブライフコンソーシアム (CBOL) 及び海洋生物センサスプロジェクトと共同で運営されている。

4. REFERENCES

参考文献

Bartlett, S.E., Davidson, W.S. (1991). Identification of *Thunnus* Tuna Species by the Polymerase Chain Reaction and Direct Sequence Analysis of their Mitochondrial Cytochrome *b* Genes. *Canadian J. Fish. & Aquatic Science*, 48(2): pp 309-317.
[Canada]

Botti, S. and Giuffra, E. (2010). Oligonucleotide indexing of DNA barcodes: identification of tuna and other scombrid species in food products. *BMC Biotechnology*, 10, 60.#
[EU - Italy]

Chuang, P-S, Chen, M-I and Shiao, J-C. (2012). Identification of tuna species by a real-time polymerase chain reaction technique. *J. Food Chemistry* 133, pp 1055 – 1061.
[Taiwan]

Lin, W-F., Shiao, C-Y., and Hwang, D-F. (2005). Identification of Four *Thunnus* Tuna Species Using Mitochondrial Cytochrome *b* Gene Sequence and PCR-RFLP Analysis. *J. Food and Drug Analysis*, Vol 13, No.4, pp 382 – 387.
[Taiwan]

Lowenstein J.H., Amato G., Kolokotronis S-O: The real *maccoyii*: Identifying tuna sushi with DNA barcodes - Contrasting characteristic attributes and genetic distances. *PLoS One* 2009, 18:4-11.
[USA]

Nakamura, Y., Mori, K., Saitoha, K., Oshima, K., Mekuchi, M., Sugaya, T., Shigenobu, Y., Ojima, N., Muta, S., Fujiwara, A., Yasuike, M., Oohara, I., Hirakawa, H., Chowdhury, V.S., Kobayashi, T., Nakajima, K., Sano, M. Wada, T., Tashiro, K., Ikeo, K., Hattori, M., Kuhara,

⁴ <http://www.fishbol.org/>

S., Gojobori, T. and Inouye, K. (2013). Evolutionary changes of multiple visual pigment genes in the complete genome of Pacific bluefin tuna. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 110 (27), pp 11061-11066.
[Japan]

Takeyama, H., Chow, S., Tsuzuki, H., & Matunaga, T. (2001). Mitochondrial DNA sequence variation within and between tuna *Thunnus* species and its application to species identification. *Journal of Fish Biology*, 58, 1646–1657.
[Japan]

Tseng, M. C., Shiao, J. C., & Hung, Y. H. (2011). Genetic identification of *Thunnus orientalis*, *T. thynnus*, and *T. maccoyii* by a cytochrome b gene analysis. *Environmental Biology of Fishes*, 91, 103–115.
[Taiwan]

Viñas, J. and Tudela, S. (2009). A Validated Methodology for Genetic Identification of Tuna Species (Genus *Thunnus*). *PLoS One*, 27:4-10.
[EU - Spain]