

# OECD 試験法に係る最近の動向について

国立環境研究所 環境リスク・健康研究センター

**山本 裕史**

化審法セミナー@Web  
(令和3年2月16日)

# 簡単な自己紹介

- 専門は生態毒性学、環境化学、環境工学
- 現職は国立環境研究所、環境リスク・健康研究センター・生態毒性研究室長、生態毒性標準拠点長、副センター長 (<http://www.nies.go.jp/index-j.html>)
- 東京大学大学院新領域創成科学研究科自然環境学専攻客員教授

- 環境省の化審法、農取法、内分泌かく乱、医薬品による環境汚染、土壌汚染、海洋プラスチックごみ等の約30の委員を担当

The screenshot shows the homepage of the National Institute for Environmental Studies (NIES). At the top, there is a navigation bar with links for '本文へ' (Main text), 'お問い合わせ・ご意見' (Contact/Feedback), 'よくあるご質問 (FAQ)' (FAQ), '交通アクセス' (Access), and 'サイトマップ' (Sitemap). Below this is a search bar and the text 'ENHANCED BY Google'. The main content area features a large banner for a YouTube video titled '“レジ袋有料化” だけじゃ終われない! どうする? プラごみ問題' (Plastic bag charge isn't enough! What to do about plastic waste problem). To the right of the banner is a 'News' section with a video thumbnail. Below the banner is a 'ユーザー別ナビ' (User navigation) section with links for '一般の方' (General public), '研究関係者の方' (Researchers), '環境問題に関心のある方' (Those interested in environmental issues), '調達情報 / 採用案内' (Procurement info / Recruitment), '採用案内' (Recruitment), '入札公告' (Bidding notice), and '研究紹介' (Research introduction). The '新着情報' (New information) section lists recent news items, including a report on the results of the 17th TPM17 meeting and an award for a researcher. On the right side, there is a 'ピックアップ' (Pickup) section with links for '新型コロナウイルス対策の最新情報' (Latest COVID-19 countermeasures), '社会との対話・協働' (Dialogue and collaboration with society), 'エコチル調査' (EcoChil survey), '気候変動適応情報プラットフォーム' (Climate change adaptation information platform), and 'つくば大気観測ステーション' (Tsukuba atmospheric observation station).

- 環境省関連の会議は概ねWeb会議（昨年3月以降）
- OECDの試験法関係の会議も軒並みWeb（Zoom開催）

WNT: Working Group of National Co-ordinators of the TGs programme

- 化学品の試験のためのOECDテストガイドライン  
（テストガイドラインの開発ならびに試験方法  
の検証の円滑化及び調和化を含む）
- 試験の諸問題に関するガイダンス文書
- 特定の有害性領域の先端科学に関する詳細レ  
ビュー文書

に関する作業の指揮・監督をおこなう。

WNT-32は2020年4月21～24日に開催、各種試験法・  
ガイダンス文書や新規プロジェクト提案の承認ならびに  
作業を実施：本年はREACTIVアッセイの新規提案や、名  
の粒子のガイダンス文書承認のみ

- VMG-eco（生態毒性試験バリデーション管理グループ）において、200シリーズ関連の専門家会合を開催し、バリデーションを実施
- ほかにVMG-NA（非動物試験バリデーション管理グループ）など

15<sup>th</sup> VMG-ecoは2020年10月22～23日にWebで開催、日本からは内分泌かく乱関係の試験法のバリデーション結果ほか、**①TG203改訂に伴うメダカの診断症状**、**②ヨコエビ試験法提案**、**③TG201の改訂に向けた提案等の情報提供を**発表

- ◆ TG203の改訂版（2019）では、Moribund（瀕死）症状を致死の代替とする案は見送られたが、ガイドラインでは将来的なMoribundityの採用に向けて、新たに症状診断の項目が設けられている。また、欧州を中心にMoribundityの採用に向けた活発な動きがある。
- ◆ このような背景から、国環研では以下の項目について対応を検討・検証中である。

## I. Moribund（瀕死）症状を致死の代替とする案の採用に向けた知見の収集

- メダカにおける個体識別法を用いた症状診断法の確立
- メダカにおける瀕死症状の基準策定に向けた症状の重篤度分類

## II. メダカ症状観察の統一化を目的とした、症例動画、観察・記録のためのガイダンス作成

- メダカの症例分類と定義の再検討
- メダカ症例の動画作成

## I. Moribund（瀕死）症状を致死の代替とする案の採用に向けた知見の収集

- メダカにおける個体識別法を用いた症状診断法の確立
- メダカにおける瀕死症状の基準策定に向けた症状の重篤度分類

## 個体識別法を用いた症状診断法の確立

- ◆ 瀕死症状の基準策定には、観察された症状が致死にリンクしているかや、症状が観察されてから死にいたるまでの時間を明らかにする必要がある、そのためには、なるべく魚体へのダメージが少ない最適な個体識別法の検証が必要となる。

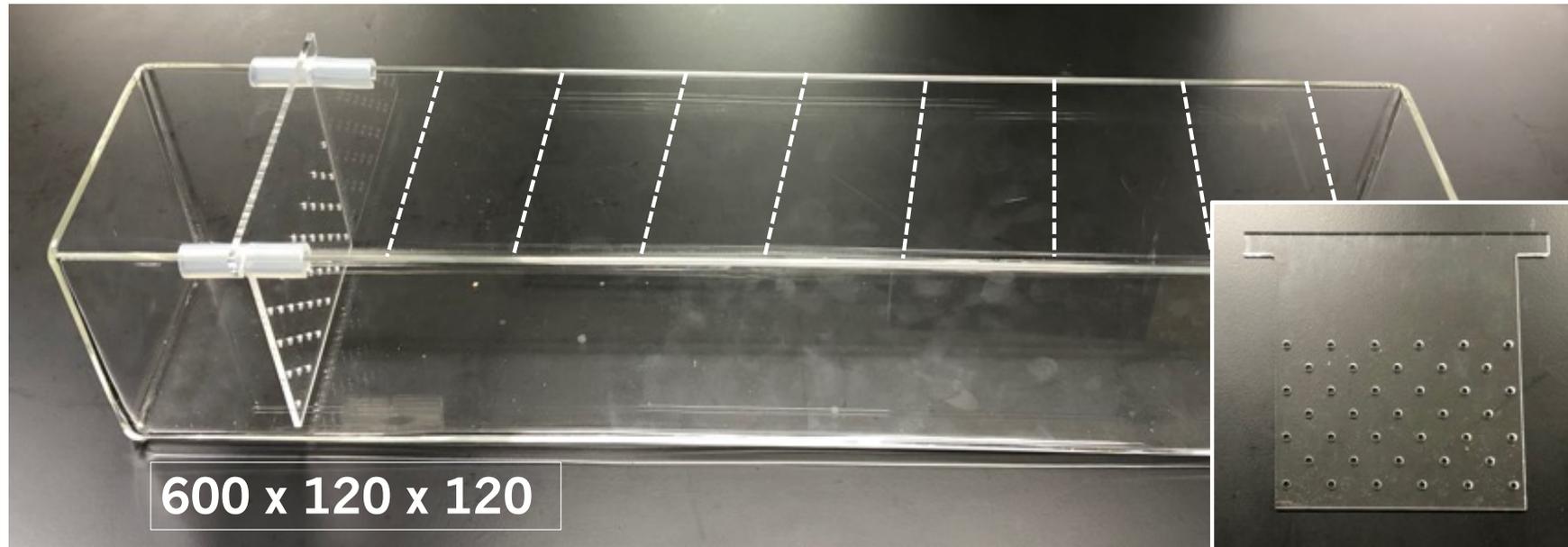
### 提案されている個体識別手法

	水中での識別性	動物愛護	経費	難易度	識別に要する時間
<b>Mutilation:</b> ヒレや魚体一部へのクリッピングやパンチング	++	-	+++	++	++
<b>Freeze branding:</b> 魚体一部分への凍傷	+	+	+++	++	+
<b>Attachment tags:</b> 筋肉組織へのタグ	+++	+	+ / +++	+	+++
<b>Tattooing:</b> 入れ墨	++	+	++	+	++
<b>Pigments:</b> 皮膚への色素注入	++	++	+++	++	++
<b>Visible Implant Elastomer:</b> 重合軟材性ポリマーの皮下注入	++	++	++	++	+++
<b>Morphometric marking:</b> 形態または体表色素による識別	+	+++	++	++	+
<b>個別飼育</b>	+++	+++	++	+++	+++

赤枠：国環研で検証した個体識別法

## 個体識別法を用いた症状診断法の確立

- ◆インプラント法など複数の個体識別手法の検証を行い、メダカにおいては、魚体へのダメージが最も少ない個別飼育法を採用することとした。



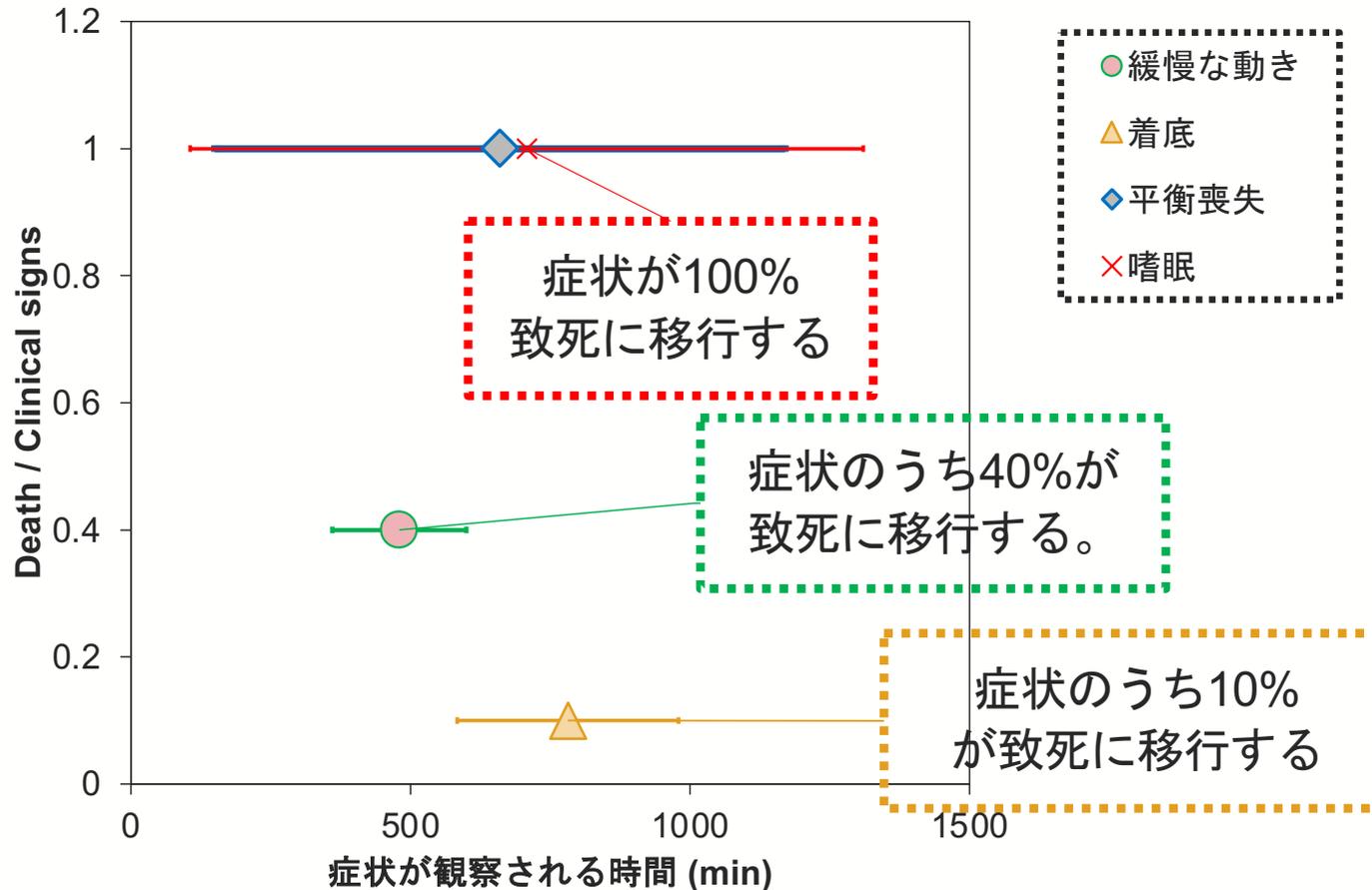
600 x 120 x 120

- オールガラス水槽（溶接） 容量：8.46 L
- 仕切り板（アクリル製）



- ◆ 個別飼育法を用いたメダカ急性毒性試験を実施し、観察された症状が死に移行する割合（Death / Clinical signs比）の算出及び死に移行するまでの時間を計測した。

### Death / Clinical signs比に基づいた症状の重篤度分類



◆グラフの縦軸は、Death / Clinical signs (症状) 比を示し、1の場合は観察された症状が100%の割合で致死に移行したことを意味する。<1の場合は、回復等で観察された症状が100%致死に移行しなかったことを意味する。

◆Death / Clinical signs (症状) 比が1の症状を瀕死 (Moribund) 症状となり得る重篤症状と定義し、<1の場合は中軽度症状と定義した。



## メダカにおける瀕死症状の基準策定に向けた症状の重篤度分類

### メダカ症状の重篤度分類のまとめ (一部抜粋)

\*複数の化学物質における試験で得られた値の平均値  
赤文字: Moribundity候補

症状分類	症状名	症状の定義	Death/Clinical signs比	重篤度分類
遊泳異常	着底	底に腹部をつけ遊泳しない (ヒレの動きはみられる)。	0.43*	異常
	過活発 (興奮)	方向不定の激しい動き。	0.52*	異常
	平衡喪失 (異常な遊泳方法)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・平衡感覚が失われており、背泳、スパイラル (鉛直方向)、コークスクリュー (水平方向) 遊泳などを行う。</li> <li>・背泳、スパイラル遊泳、コークスクリュー遊泳は複合的に観察される場合が多い。</li> </ul>	0.87*	異常
	嗜眠	<ul style="list-style-type: none"> <li>・水槽の底面で横倒しになる。</li> <li>・鰓蓋の動き及びヒレの動きがみられない。</li> <li>・水槽を叩くなどの刺激で動き出すが、再び動きが止まり、沈降し着底する。</li> </ul>	1*	重篤
	泳力低下	<ul style="list-style-type: none"> <li>・ヒレの動きは見られるが、泳力が低下しており、浮上しようとするが浮上できない。着底してもなんらかの刺激で浮上する。</li> <li>・泳力低下は多くの場合、平衡喪失症状を合併している。</li> <li>・底面で平衡喪失症状を呈し遊泳しているもの、あるいはヒレの動きはみられるが遊泳を停止しているものも泳力低下とする。</li> </ul>	1*	重篤
遊泳不能	横転 (横臥)	<ul style="list-style-type: none"> <li>・水槽の底面で横倒しになる。</li> <li>・鰓蓋の動きはみられるが、ヒレの動きは見られない。</li> </ul>	1*	重篤
	水面不動	<ul style="list-style-type: none"> <li>・水面に口を出している。</li> <li>・鰓蓋の動きはみられるが、ヒレの動きはみられない。</li> </ul>	1*	重篤

◆ Death / Clinical signs比の確度を増やす目的で本年度も新規3物質について試験中である。

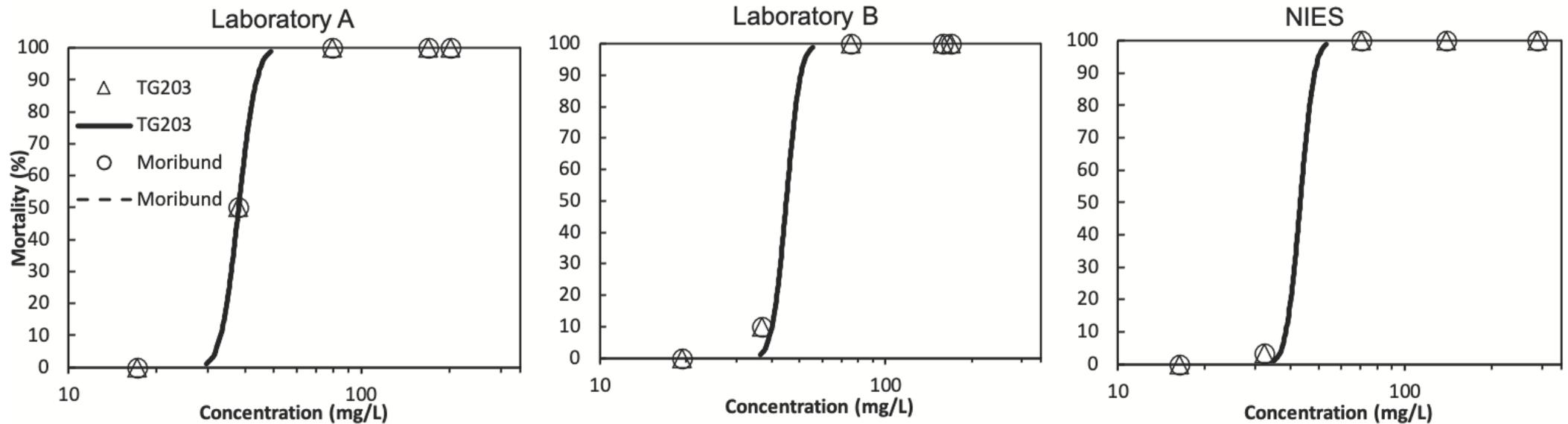
メダカのMoribundity (候補: Death / Clinical signs 比 = 1) をエンドポイントとした魚類急性毒性試験のリングテスト

### 試験概要

- ◆ OECDテストガイドラインのNo. 203 (2019) に従い、NIESから送付された3物質について急性毒性試験を行った。
- ◆ エンドポイントは従来どおり致死とするが、同時に瀕死症状 (候補) の診断を行い記録した。
- ◆ 致死および瀕死症状を致死として扱った場合の半数致死濃度 (50% Lethal Concentration: LC50) と従来どおり致死のみをエンドポイントとした場合のLC50値との比較検証を行った。



### ジクロフェナクNa



- ◆ 致死のみをエンドポイントにした場合の結果と瀕死症状を致死の代替とした場合の結果に大きな違いはみられなかった。
- ◆ わずかにみられた違いは、試験終了の直前に症状が確認されたため。

## まとめ

- メダカにおいて個体識別法を用いた症状診断法を確立した。
- Death / Clinical signs比を用いた重篤度分類法を確立した。
- 瀕死症状の4候補（泳力低下、嗜眠、横臥、水面不動）を提案した。
- 致死のみをエンドポイントにした場合の結果と瀕死症状を致死の代替とした場合の結果に大きな違いはみられなかった。2GLP機関におけるリングテストの結果も同様であった。

## II. メダカ症状観察の統一化を目的とした、症例動画、観察・記録のためのガイドンス作成。

- メダカの症例分類と定義の再検討
- メダカ症例の動画作成

# II. メダカ症状観察の統一化を目的とした、症例動画、観察・記録のためのガイドン作成 メダカの症例分類と定義の再検討

TG203における症状分類と定義  
(Annex 4, Table 1より)

Clinical sign	Definition	Synonyms
<b>LOSS OF EQUILIBRIUM (sub-categories below)</b>		
Abnormal horizontal orientation	Loss of balance displaying as abnormal horizontal orientation/posture in water column	Keeling, lost righting reflex
Abnormal vertical orientation	Head-up or head-down posture	
Loss of buoyancy control	Floating at surface or sinking to the bottom	
<b>ABNORMAL SWIMMING BEHAVIOUR (sub-categories below)</b>		
Hypoactivity	Decrease in spontaneous activity	Torpid, apathy, lethargy, weak, immobility, inactivity, ceased swimming, quiescent
Hyperactivity	Increase in spontaneous activity	Erratic swimming, skittering
Corkscrew swimming	Rotation around long axis; erratic movements, often in bursts	Rolling, spiralling, spiral swimming, tumbling, circling movements
Convulsions	Abnormal involuntary and uncontrolled contraction of muscles	Seizures, twitching, muscle spasms, shaking, shuddering, vibration
Tetany	Rigid body musculature (intermittent or permanent)	Paralysis
Irritated skin behaviours		Flashing, scraping, rubbing
Abnormal surface distribution/behaviour	Abnormal depth selection, close to water/air interface	Jumping, surfacing; on/at/near/just below surface/top
Abnormal bottom distribution/behaviour	Abnormal depth selection, close to base of tank	Diving, sounding; lying on/ orientation to / collecting at / near / just above bottom
Over-reactive to stimulus	Flight (startle) or avoidance response to: visual (hand passing over top of tank, light beam), tactile (touch) or vibration (tank rapped lightly) stimulus	Hyperexcitability; hyperactivity after stimulus/threat
Under-reactive to stimulus		Not responsive to external stimulation; inactivity after stimulus/threat
Loss of schooling / shoaling behaviour	Individual fish show loss of aggregating and social interactions	Isolation, social isolation
Dense schooling / shoaling behaviour	Increase in clumped association of fish	Crowding
<b>ABNORMAL VENTILATORY (RESPIRATORY) FUNCTION (sub-categories below)</b>		
Hyperventilation	Increased frequency of opercular ventilatory movements, with possible open mouth and extended operculae	Rapid/strong respiratory rate/ function. Heavy gill movements, strong ventilation, strongly extended gills, abnormal opercular activity, operculae spread apart, mouth open
Hypoventilation	Decreased frequency of (and possibly shallow) opercular ventilatory movements	Reduced/laboured/weak/slow respiration/respiratory action/ventilation
Irregular ventilation	Irregular opercular ventilatory movements	Sporadic / spasmodic respiration / gill movement
Coughing	Fast reflex expansion of mouth and operculae not at water surface - assumed to clear ventilatory channels	Gasping, abnormal opercular activity, yawn
Gulping	Mouth (and opercular) movements at water surface, resulting in intake of water and air	Piping
Head shaking	Rapid lateral head movements	
<b>ABNORMAL SKIN PIGMENTATION (sub-categories below)</b>		
Darkened		Changed / increased / dark(ened) colour / pigmentation / melanistic markings
Lightened		Pallor, pale/changed/weak pigmentation
Mottled		Discoloured patches
<b>OTHER VISIBLE (APPEARANCE &amp; BEHAVIOUR) ABNORMALITIES (sub-categories below)</b>		
Exophthalmia	Swelling within orbital socket(s) resulting in bulging of one or both eyes	Exophthalmos, exophthalmus, popeye, protruding eyeball
Oedema	Abdominal swelling due to accumulation of fluid. May cause protruding scales and/or fissure in abdominal wall	Distended/swollen/bloated abdomen/gut area; dropsy
Haemorrhage	Petechias (pinhead sized spots) and/or haematoma (area of blood) due to intradermal or sub-mucus bleeding	
Mucus secretion	Excess mucus production	Mucus build-up (pay close attention to eyes); increased secretion (mucus on skin or in water); mucus loss
Faecal (anal) casts	String of faeces hanging from anus or on tank floor	
Aggression and/or cannibalism		Aggression, direct attack, domination of choice tank locations, pick at or eat bodies of dead fish

TG203における症状分類と定義  
(局長通知別紙1, 付表3より)

症状分類	症状名	症状の定義
平 喪	バ ラ ン ス 失	バランスを失う。上下・水平感覚を失う、頭部を上又は下に向けた体勢
	浮 力 喪 失	着底・横転するか表面に浮上
遊 及 行 異	不 活 発 ・ 嗜 眠	自発運動の低下、刺激への反応が鈍った状態、嗜眠状態。
	過 活 発	自発運動の上昇、刺激等により不定方向への激しい動き。
	異 常 な 遊 泳 方 法	背泳、スパイラル(らせん運動)、コークスクリュウ(ドリル状の回転運動) 遊泳 これらの症例は多くの場合、複合的に観察
	け い れ ん	遊泳中に筋肉が強く収縮することで起こるピクツとした動き
	硬 直	ヒレがたたまれて硬直して遊泳不能
	鼻 上 げ	水面に口を出す呼吸異常行動
	着 底	水槽の底面に腹部をつけ遊泳不能
	孤 立	集団と離れた行動
	密 集	密な状態で集団を形成
	呼 吸 機 常 異	過 呼 吸
呼 吸 機 常 異	低 呼 吸	呼吸頻度と鰓蓋を開く行動の低下
呼 吸 機 常 異	深 呼 吸 ・ 飲 み 込 み	大きく口を膨らませて水を吸い込む、あるいは水面での呼吸行動、及び過度な逆洗(coughing)運動
そ の 他	体 色 変 化	脱色、白化、鮮明化等
	眼 球 突 出	眼窩の腫れによる眼球の突出
	浮 腫	腹部の膨張とそれに伴う鱗の突出と腹部の亀裂
	出 血	皮下出血等
	曲 り	骨折などによる背骨の曲り等
	攻 撃 性	他の個体を追い回すなどの異常行動
糞 便 異 常	糞 便 異 常	異常な糞便状況(偽糞、排泄行動の増加等)

TG203の定義と分類に従い、メダカの症例の定義とそれらがどの分類にあてはまるかの検討が必要である。

## II. メダカ症状観察の統一化を目的とした、症例動画、観察・記録のためのガイドン作成 メダカの症例分類と定義の再検討

### メダカ症状分類表（案）一部抜粋

TG203症状分類			メダカ症状分類																	
症	状	分	類	症	状	名	症状の定義	症状小名	症状の定義	重篤度	映像コード									
平	行	喪	失	バ	ラ	ン	ス	失	バランスを失う。 上下・水平感覚を失う、頭部を上又は下に向けた体勢											
												浮	力	喪	失	着底・横転するか表面に浮上。	着底・横転	例：横臥 ● 水槽の底面で横倒しになる。鰓蓋の動きは見られるが、ヒレの動きは見られない。	重篤	01_0201
												表面浮上	例：水面不動 ● 水面で口を出して動かない。鰓蓋の動きは見られるが、ヒレの動きは見られない。	重篤	01_0202					
遊	泳	及	び	行	動	異	常	不	活	発	嗜	・	眠	自発運動の低下、刺激への反応が鈍った状態、嗜眠状態。	自発運動および刺激反応性の低下	例1：活動量の低下 ● ヒレの動きが鈍く遊泳速度が遅い。 ● 刺激に対する反応性が鈍い。	異常	02_0101		
																例2：低層遊泳 ● 水槽底面で遊泳する。	異常	02_0102		
																例3：泳力低下 ● ヒレの動きは見られるが、泳力が低下しており、浮上しようとするが浮上できない。着底してもなんらかの刺激で浮上する。 ● 底面で異常遊泳を呈しているもの、あるいはヒレの動きは見られるが横倒しになり遊泳を停止しているもの。	重篤	02_0103		
																嗜眠 ● 水槽の底面で横倒しになり、鰓蓋およびヒレの動きは見られない。水槽を叩くなどの刺激で動き出すが、再び動きが止まり、沈降する。	重篤	02_0104		

重篤度：Death / Clinical signs比（症状が死に移行する割合）をもとに設定

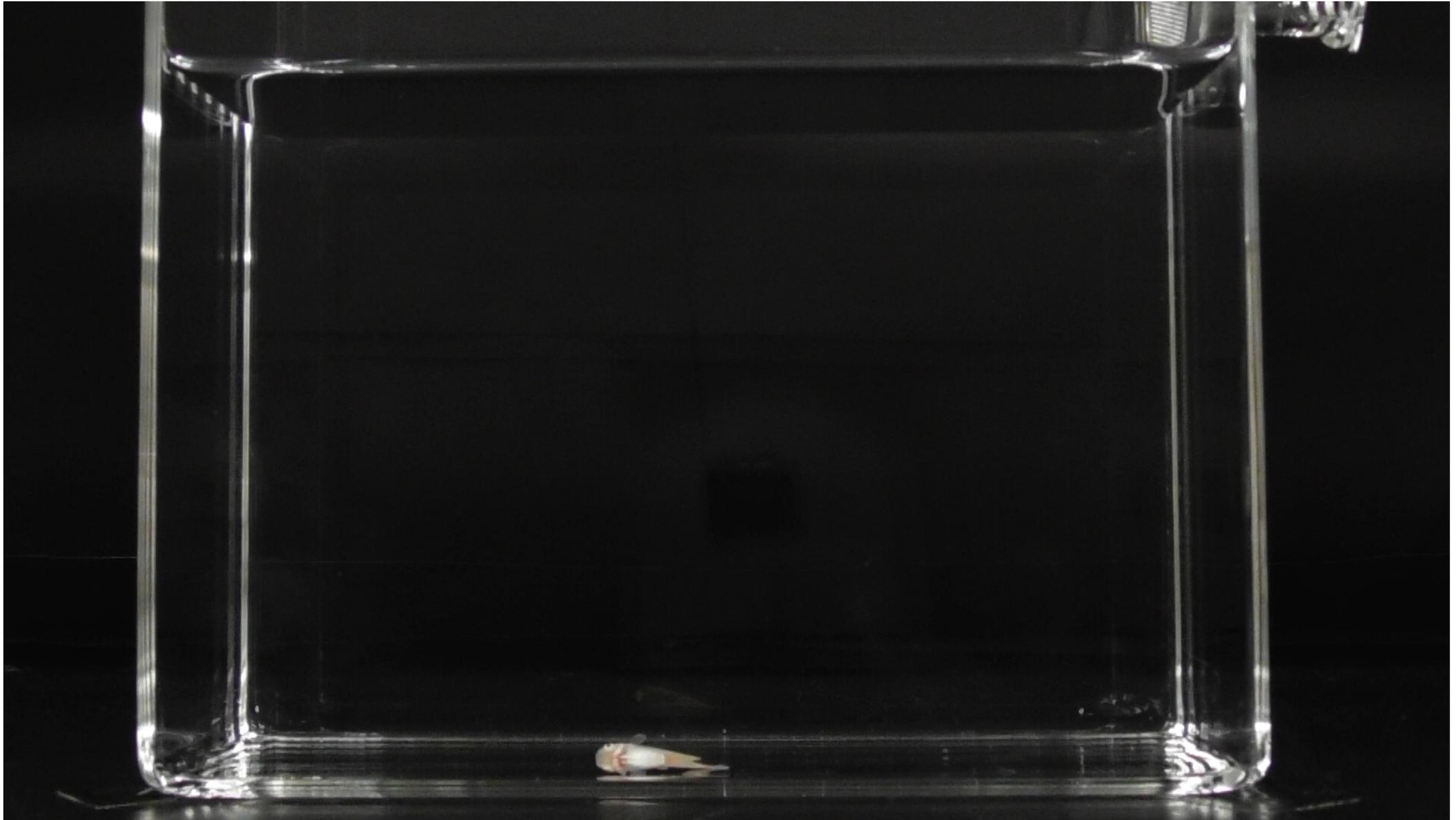
映像コード：それぞれの症例を収録した動画のコード

◆ メダカの症状診断を確実にするために、症状小名の例を挙げるとともにそれらの定義を記載した。

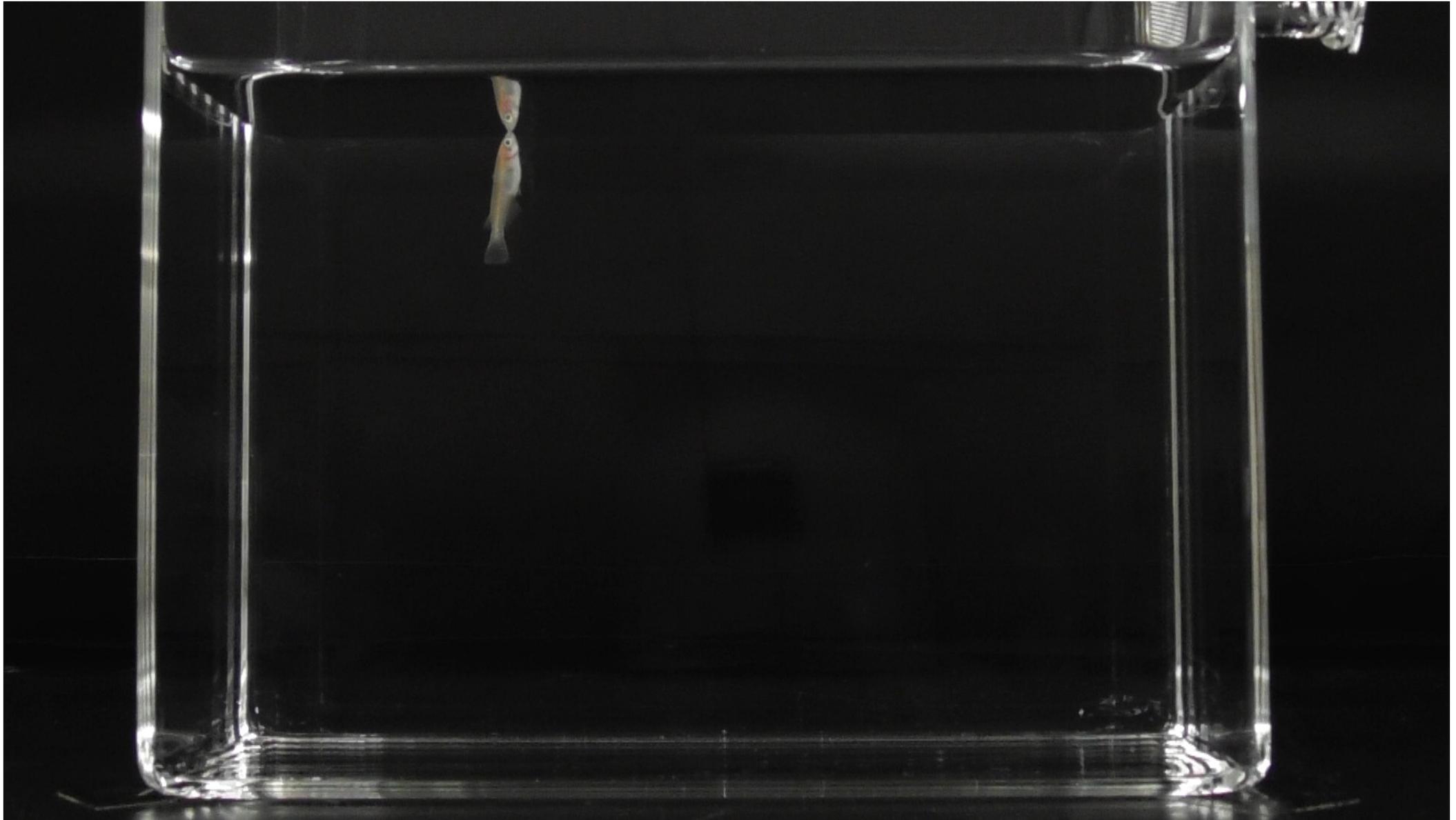
## メダカ症例動画（暫定版）の紹介

- 01\_0201: 浮力喪失\_例1 横臥
- 01\_0202: 浮力喪失\_例2 水面不動
- 02\_0102: 不活発・嗜眠\_例2 底層遊泳
- 02\_0103: 不活発・嗜眠\_例3 泳力低下①
- 02\_0103: 不活発・嗜眠\_例3 泳力低下②
- 02\_0104: 不活発・嗜眠\_例3 嗜眠
- 02\_0201: 過活発
- 02\_0301: 異常な遊泳方法
- 02\_0401: けいれん
- 02\_0601: 鼻上げ
- 02\_0701: 着底

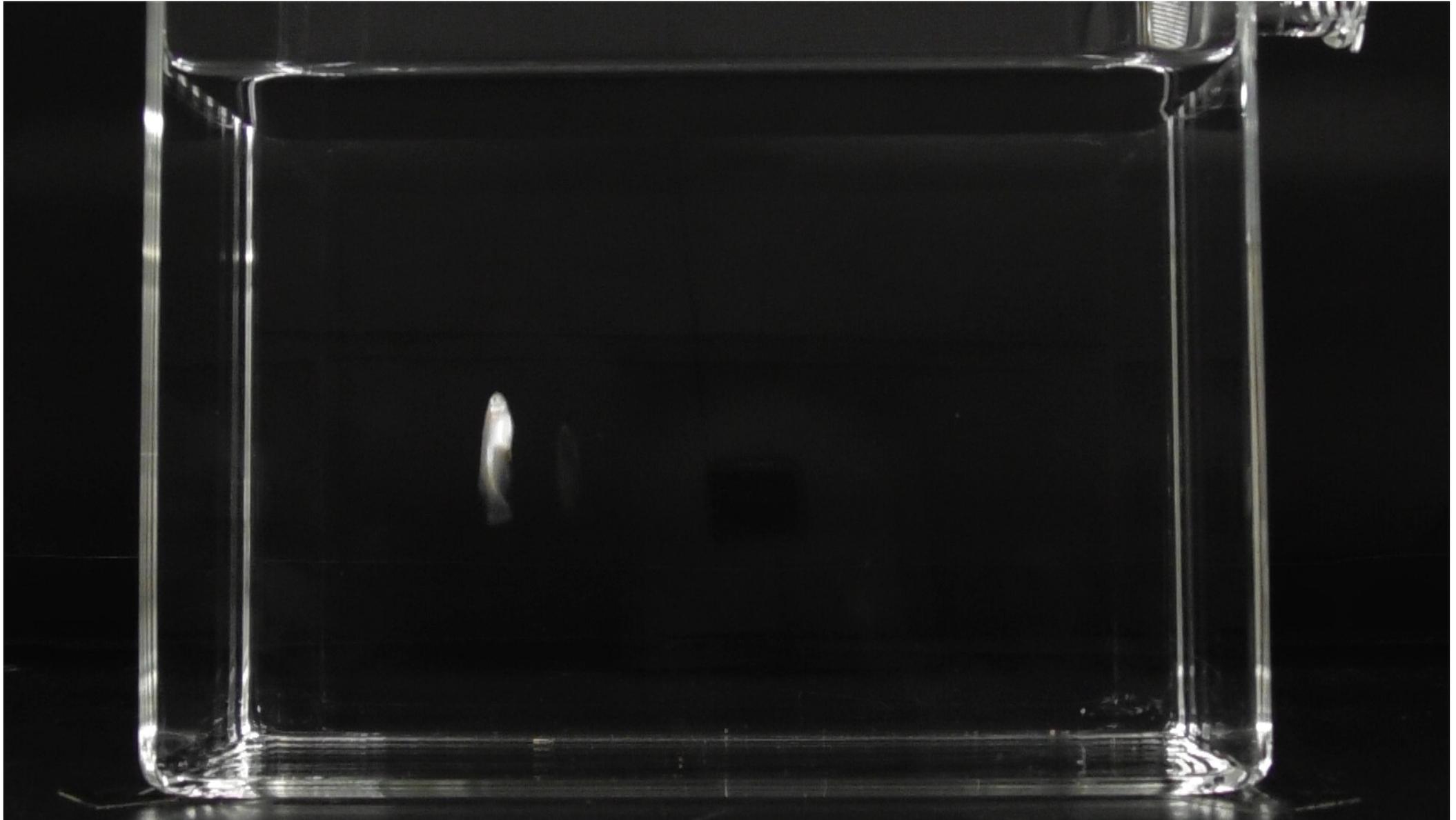
## メダカ症例動画（暫定版）の紹介



## メダカ症例動画（暫定版）の紹介



## メダカ症例動画（暫定版）の紹介



### 症状の記録表（局長通知別紙2、3. 試験材料及び方法より）

		各観察時間における記録								
試験日／観察時間		0日目 2-3 時間	0日目 5-6 時間	1日目午前	1日目午後	2日目午前	2日目午後	3日目午前	3日目午後	4日目午前
暴露開始からの概算経過時間		2.5時間	5.5時間	24時間	30時間	48時間	54時間	72時間	78時間	96時間
日付／時間										
水槽内の生存魚数		◆ 観察は、ばく露開始後24時間までは少なくとも3時間おきに2回以上、24時間以降は1日2回とする。								
水槽内の瀕死魚数										
取り除かれた死亡魚数		◆ ばく露開始時間が遅れると観察スケジュールが厳しくなる。								
症 例 記 録 欄 異常がない場合は「ND」を記入										
平衡喪失	バランス喪失									
	浮力喪失		5 (鼻上げ4) *							
遊泳および行動異常	不活発・嗜眠									
	過活発									
	異常な遊泳方法									
	けいれん									
	硬直									
	鼻上げ									
	着底									
呼吸機能異常	孤立									
	密集									
	過呼吸									
	低呼吸									
その他	深呼吸・飲み込み									
	み									
	体色変化									
	眼球突出									
	浮腫									
	出血									
	曲り									
攻撃性										
糞便異常										

\* 症状が観察された個体数を記入する。

症状の記入は1個体1症状とし、複数の症状が観察された場合は括弧内に記入する。

### まとめ

- ◆現在、メダカ症状観察の統一化に向けたガイドンス文書作成および動画の編集作業中である。
- ◆今後、改めてメダカ症状観察の統一化に向けた試験機関との意見交換会の場が必要であると考えている（パブコメ形式を検討中）。

## ②ヨコエビ試験法提案

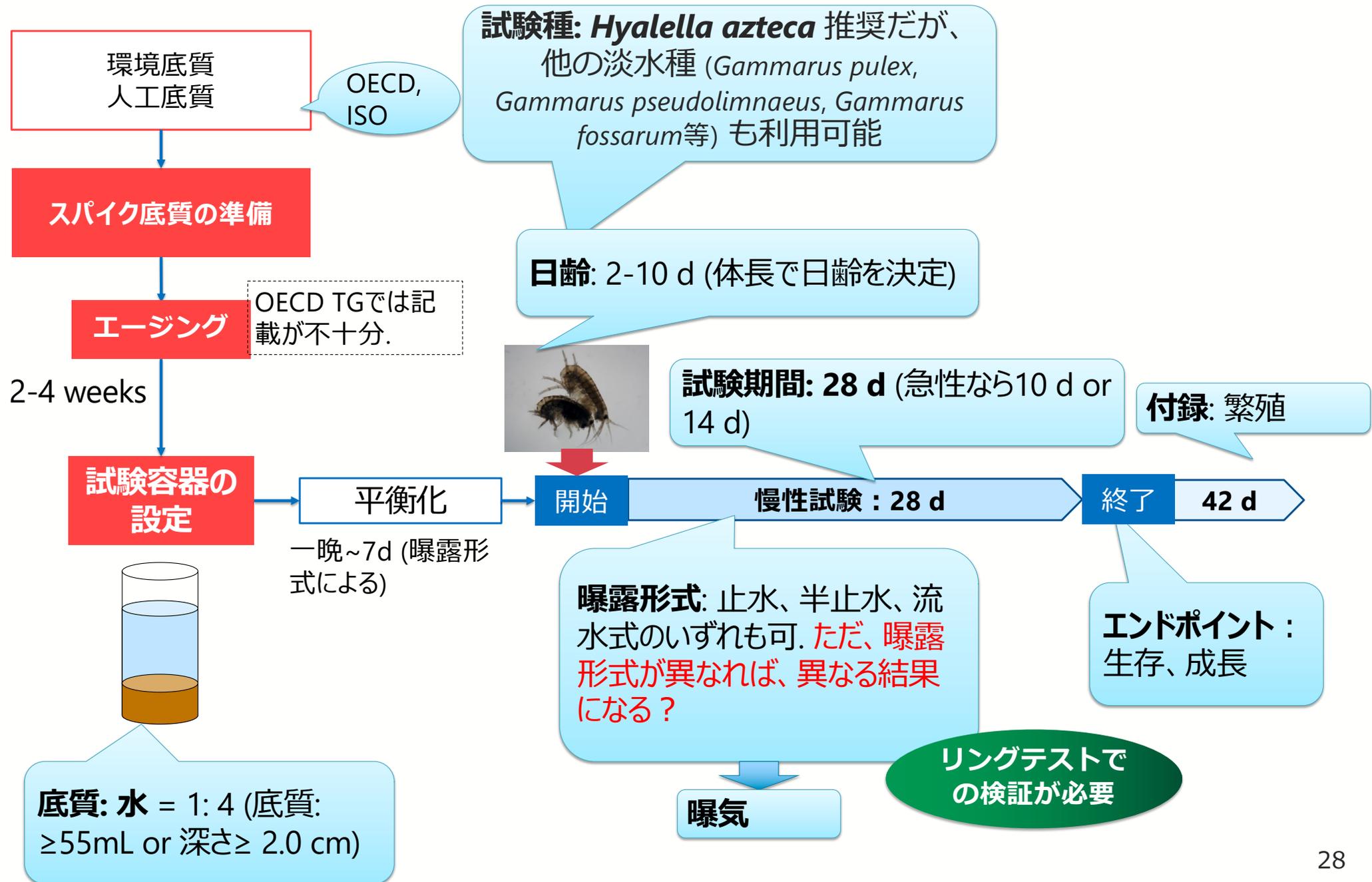
Test species	Class	Relevant guidelines	Test condition	Habitat	Feeding mode
<i>Chironomus sp.</i> 	insect	OECD, USEPA, ASTM	10/28 d S, G, Em	Endobenthic	Suspension and deposit feeder
<i>Lumbriculus variegatus</i> 	oligochaete	OECD	10/14/28 d S, G, R	Endobenthic	Sediment ingestor
<i>Myriophyllum spicatum</i> 	Submerged macrophyte plant	OECD	14 d G	Rooted	Uptake from root or shoot.
<i>Hyalella azteca</i> 	amphipod	USEPA, ASTM, ISO	10/14/28/42 d S, G, R	Epibenthic	Detritivore, some subsurface deposit feeding
<i>Diporeia spec.</i> 	amphipod	ASTM	10d S, G	Endobenthic	Deposit feeder
<i>Gammarus sp.</i>	amphipod		10d	Epibenthic	Detritivore
<i>Hexagenia sp.</i>					particle
<i>Tubifex tubifex</i> 					deposit ingestor
<i>Caenorhabditis elegans</i> 	nematode	ASTM, ISO	48 d S	Endobenthic	Bacterial ingestor
<i>Lampsilis siliquoidea</i> 	bivalve	ASTM draft	28d S, G	Epibenthic?	Suspension and deposit feeder
<i>Heterocypris incongruens</i> 	ostracod	ISO	6 d, S, G	Epibenthic	Omnivorous
<i>Rana sp.</i>	Amphibian	USEPA, ASTM	10d S, G	Epibenthic /pelagic	Suspension/benthic/deposit feeder
<i>Bufo americanus</i>	amphibian	USEPA	10d S, G	Epibenthic /pelagic	Suspension and detritus feeder

底質リスク評価において、より正確な評価には、水生生物と同様に3生物種(異なる属、棲息域、摂餌形態)が必要 (欧州化学品庁ガイダンス等)

- 異なる棲息域: Epibenthic (表在性), 底質と接触
- 異なる摂餌形式: Detrivore (デトリタス摂餌), 一部は底質中の堆積物も摂餌
- 底生生物の中では比較的高感受性 (毒性データベースあり)
  - 感受性: *Hyaella azteca* ≒ *Chironomus* sp. > *Lumbriculus variegatus*
  - *H. azteca* は *Chironomus* sp. よりもピレスロイド類に鋭敏
- 多くの標準的な試験法が整備済 (USEPA, ASTM, ISO, OSPAR)
  - リングテストの実績あり: *H. azteca*.
  - 試験条件は各試験法によって少しずつ異なる
- 実験室での飼育が容易
- 生態学的な重要性 (魚類他の餌となる)
- 世界的に広く分布
- 異なる物理化学的性状の底質に対応可

なぜOECD TGに追加しないのか？

# 試験法の標準化・調和の必要性



- VMG-ecoでの話題提供の前後に北米（米国、カナダ）や欧州（スイス、フランス、英国など）の専門家へのアンケートを実施した。
- 各国が試験法提案に協力的な一方で、現状の試験法の条件は少しずつ異なっており、調和には課題が山積している。
- 次回の提案書提出締切（11月）に向けて情報交換をさらに進めていくことが必要である。

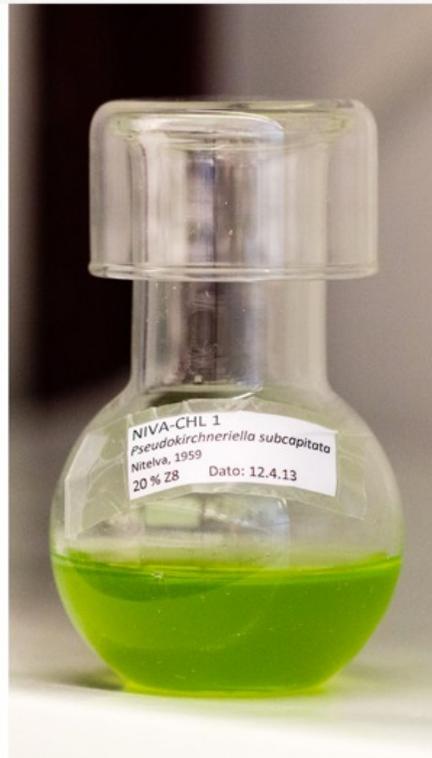
## I: TG201推奨種 3種の種名の変更に伴う改訂について

- *Pseudokirchneriella subcapitata*
- *Anavaena flos-aquae*
- *Navicula pelliculosa*

## II: UTEX 664 (*Navicula pelliculosa*) の代替種（株）の提案について

# *Pseudokirchneriella subcapitata* (以前の名称:*Selenastrum capricornutum*)

- 世界中のすべての株のオリジナルは NIVA-CHL1.
- これは1959年にノルウェーの Nitelva river, Akershus(において Skulberg氏が採取、単離したものの

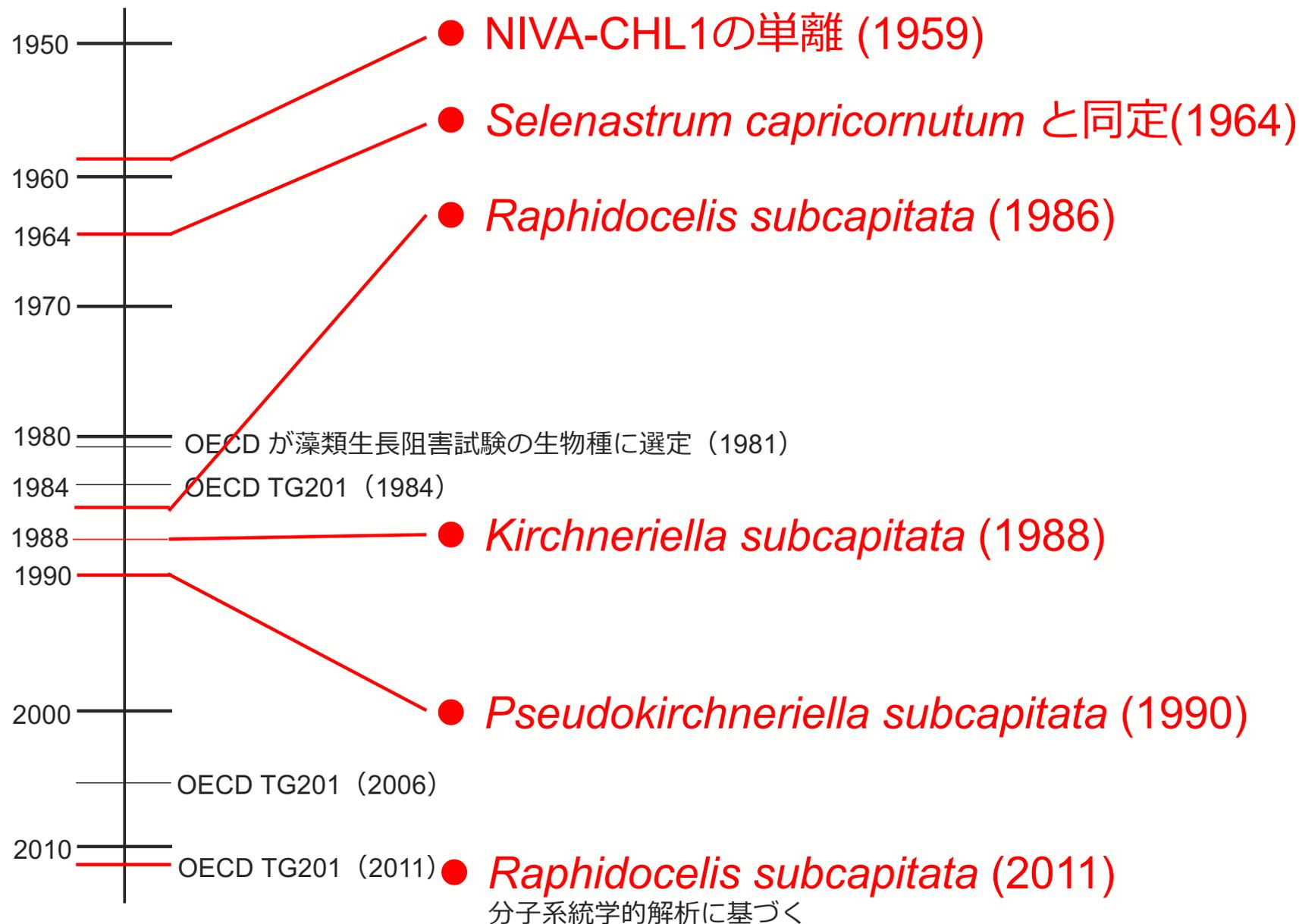


**First green algae:** Olav M. Skulberg isolated the first green algae strain in the collection in 1959. Today, **NIVA-CHL1** is one of the most widely used test algae in the world.

# *Pseudokirchneriella subcapitata*

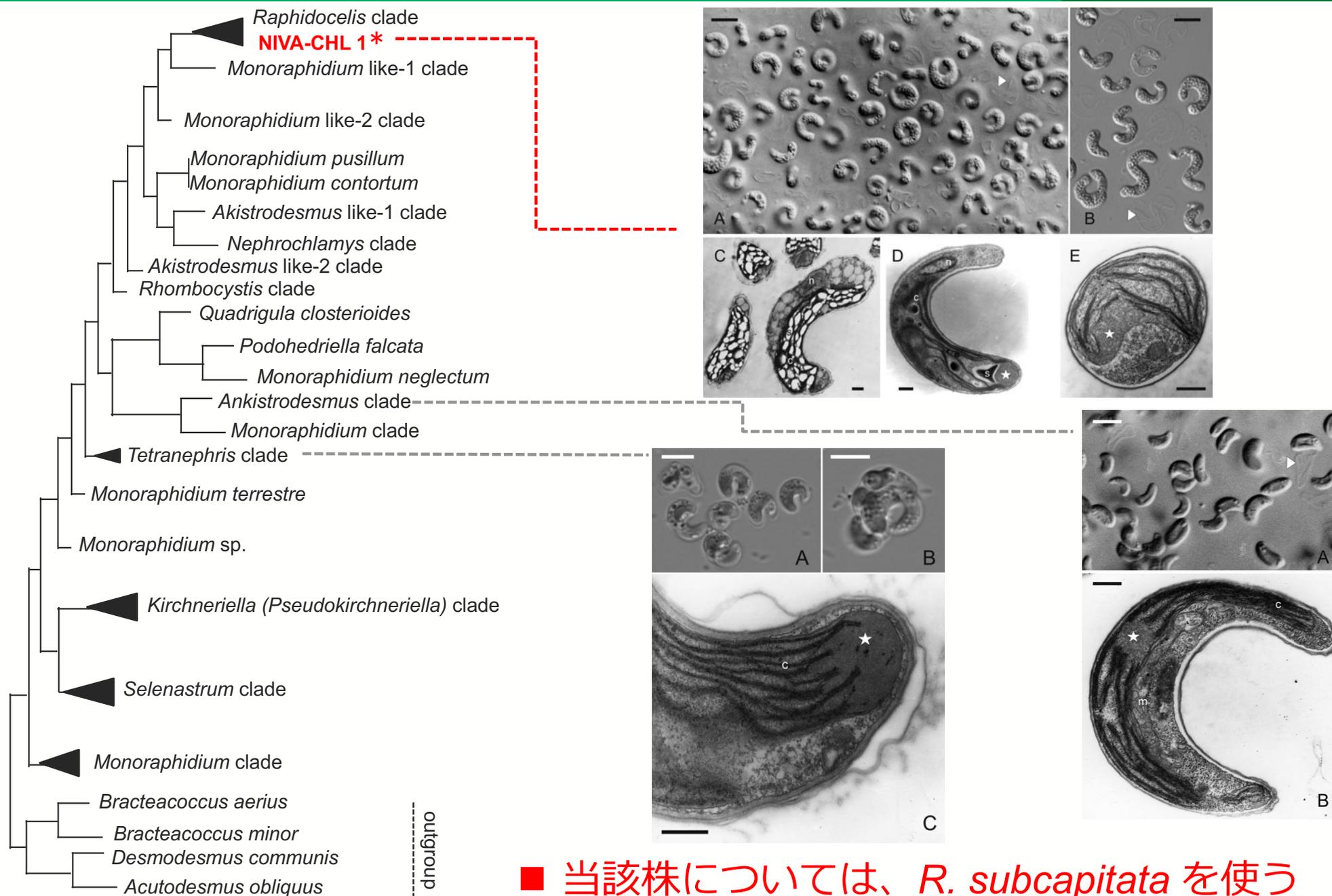
(以前の名称: *Selenastrum capricornutum*)

## NIVA-CHL1の学名の変遷



# *Pseudokirchneriella subcapitata*

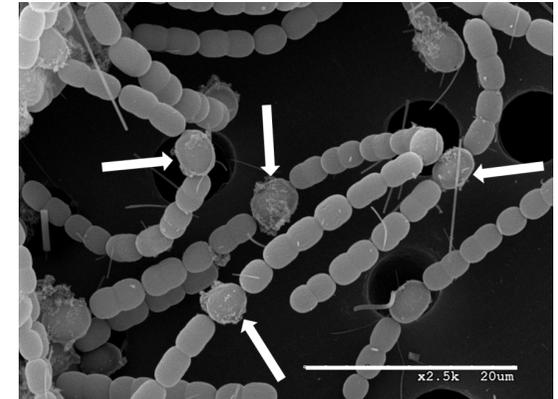
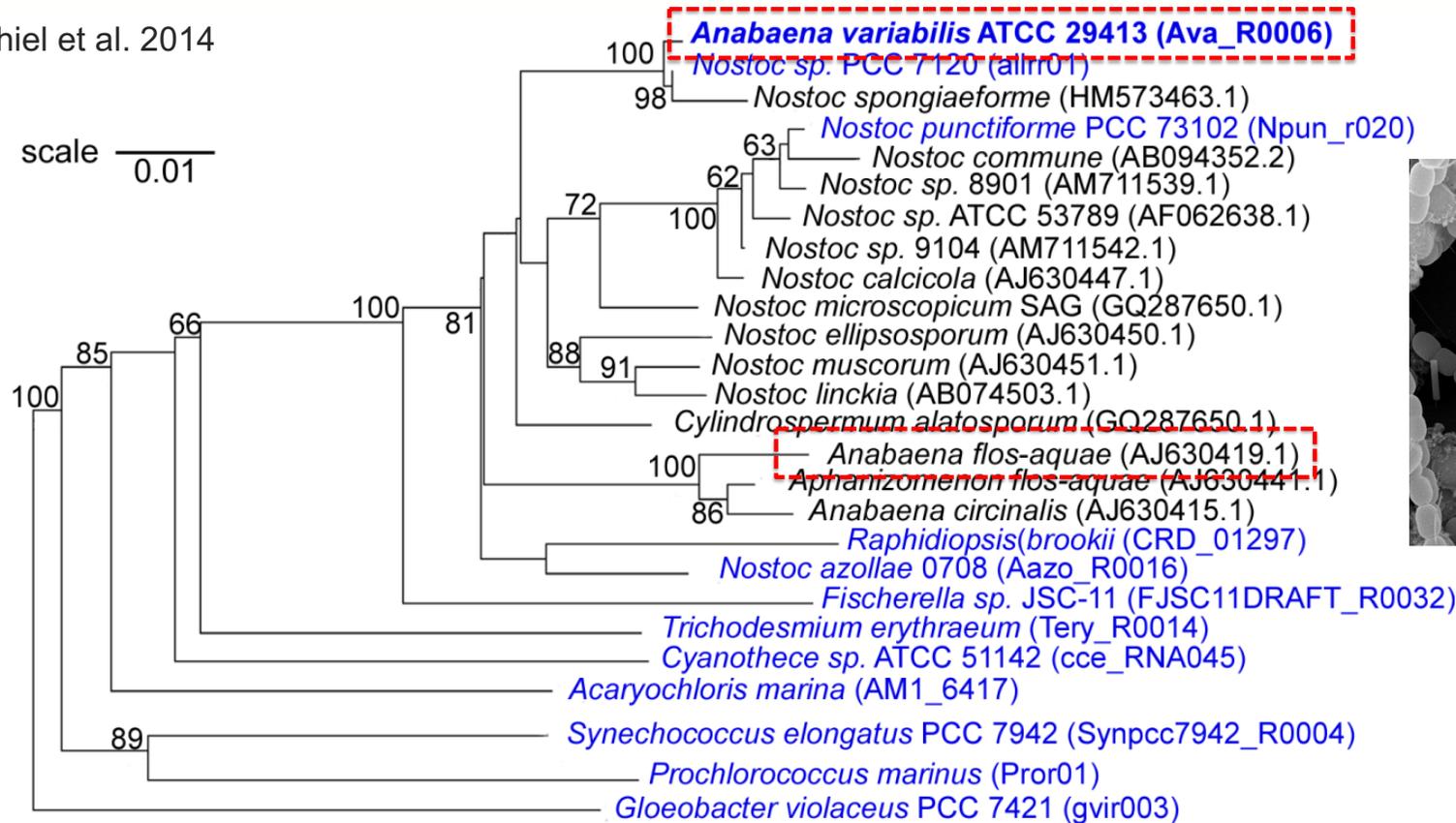
(以前の名称: *Selenastrum capricornutum*)



■ 当該株については、*R. subcapitata* を使うのが最適

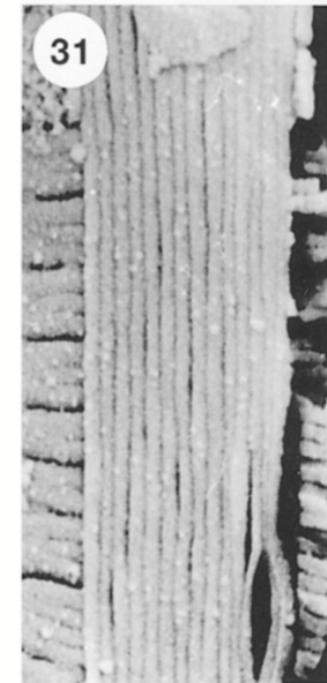
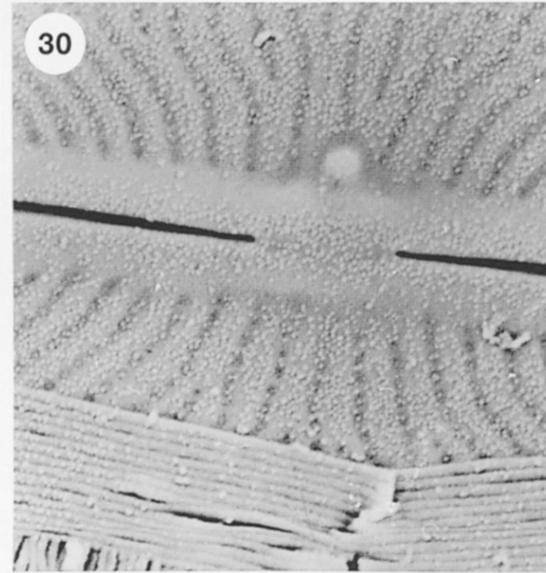
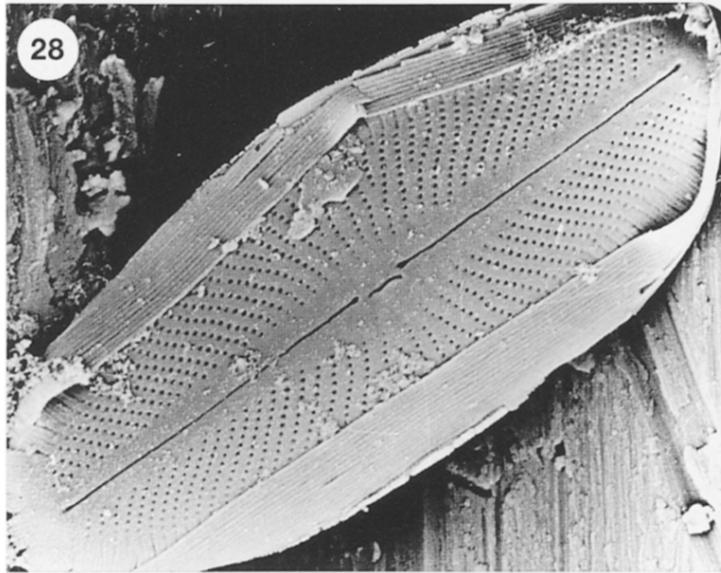
# Anabaena flos-aquae (ATCC 29413)

Thiel et al. 2014



- ATCC 29413 は1964年にTischer氏により Mississippiから採取、単離し、*Anabaena flos-aquae*と同定
- 後に1973年に*Anabaena variabilis* と同定
- 分子系統学的解析により、ATCC 29413 は*Anabaena flos-aquae*と同じグループにならないことが判明

■ *Anabaena flos-aquae* はATCC 29413の名称として不適當.



- UTEX664 はLewin氏らにより、1951年にAlaska で採取・単離し、*Navicula pelliculosa*と同定
- *Navicula pelliculosa* はLange-Bertalot 氏らにより1997年に*Fistulifera* 属に移動
- 現在は、*Fistulifera pelliculosa* と呼ぶのが適当

■ UTEX 664 はUTEX カルチャーコレクション等からの入手困難な状態になっている。

## ■ OECD TG201の推奨種の学名変更を提案中

*Pseudokirchneriella subcapitata* = *Raphidocelis subcapitata*

*Navicula pelliculosa* = *Fistulifera pelliculosa*

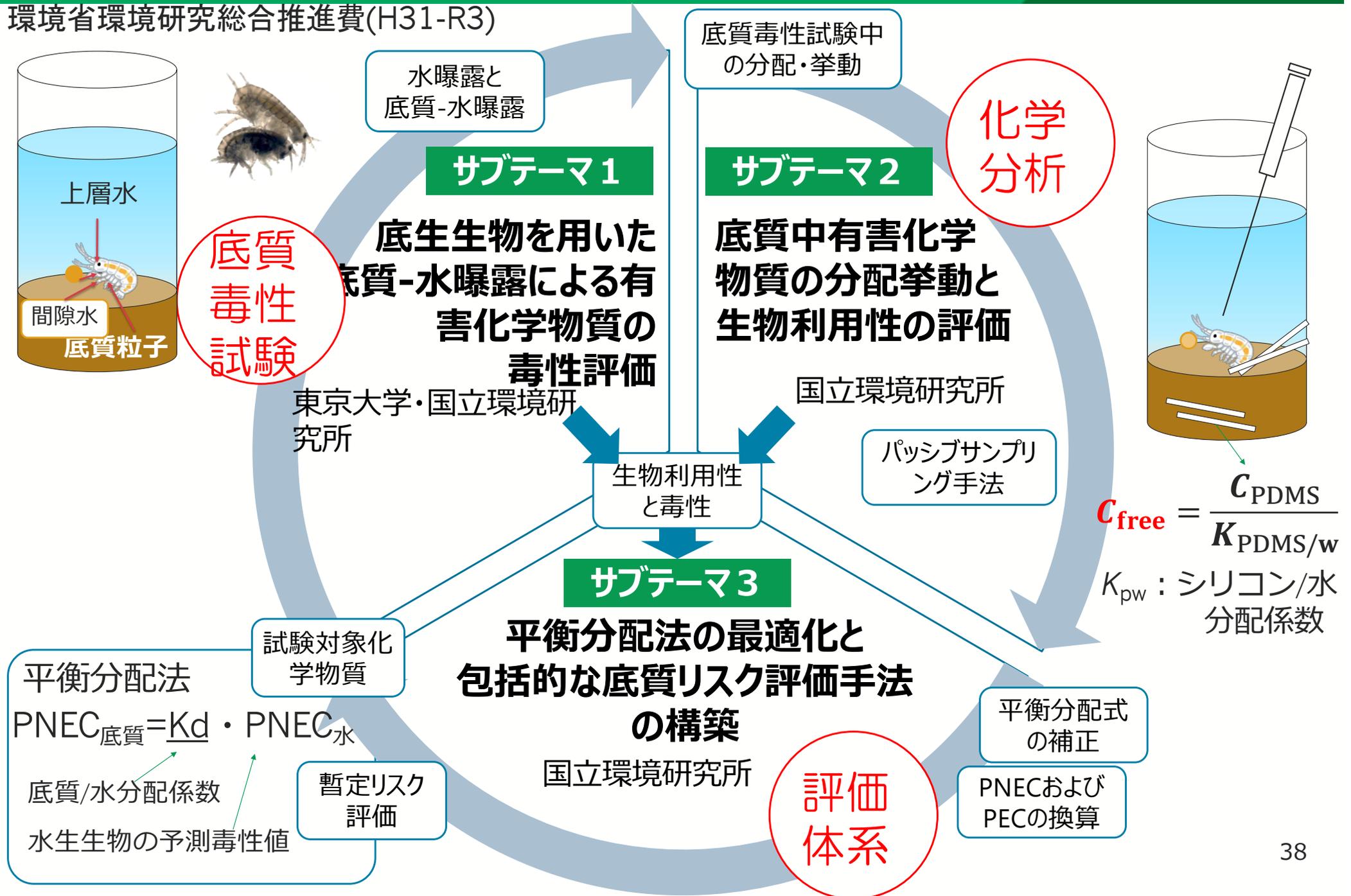
*Anabaena flos-aquae* = *Anabaena variabilis*

- ## ■ OECD推奨株である*Fistulifera pelliculosa* (= *Navicula pelliculosa*) UTEX 664の代替株として、 UTEX661 = NIES-4280 およびUTEX B673 = NIES-4281 を候補として検討中

- TG203の改訂に伴うメダカの診断症状に関する情報収集は、Death/Clinical sign比の利用可能性が明らかになり、動画の撮影など進めたが、TG203記載の診断症状は全てカバーできておらず、さらなる情報収集が必要である
- 難水溶性物質の底質リスク評価は重要であるが、ユスリカに加えてヨコエビ試験法の標準化や、水とは異なり多種多様な性質を有する底質の評価の標準化が必要である
- TG201の推奨株にはいくつかの課題があり、OECD試験法の改訂提案を提出中で、議論が進められる
- 世界の標準的な試験法作成・改訂の中心であるOECDにおいて、日本（生態影響試験では国立環境研究所）が積極的な国際貢献を継続することが重要である

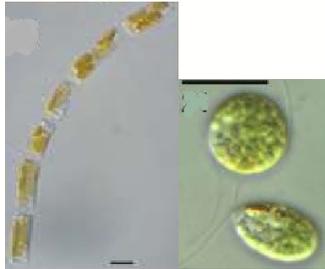
# 底生生物に対する曝露経路と生物利用性を考慮した包括的な底質リスク評価手法の構築

環境省環境研究総合推進費(H31-R3)



# 海産・汽水生物を用いた慢性毒性短期試験法の開発

## 環境省環境研究総合推進費（H30-32）



サブ1：  
国立環境研究所  
National Institute for Environmental Studies

- 海産微細藻類の試験法開発
- リングテストの主宰・遂行、試験法案のとりまとめ
- 実験生物分譲システムの確立



外部機関  
(いであ株式会社)  
リング  
テストの依頼



### リングテストの共同実施

サブ2：



水産技術研究所 廿日市拠点

- 海産魚類（マダイ、シロギス等）大型藻類（ワカメ等）の試験法開発



### 試験法、試験生物等の情報・資材の共有

サブ3：



海洋生物環境研究所

- 海産甲殻類（シオダマリミジンコ等）・海産貝類（アワビ・バイ等）の試験法開発



サブ4：  
鹿児島大  
国立大学法人  
鹿児島大学  
KAGOSHIMA UNIVERSITY

- 汽水魚類（ジャワメダカ・マミチヨグ等）と汽水甲殻類（アミ等）の試験法開発



## 化審法対象の試験生物種の販売

### 実験水生生物の有償分譲の対象種・系統

①	セスジユスリカ	<i>Chironomus yoshimatsui</i>
②	ヨコエビ	<i>Hyalella azteca</i>
③	オオミジンコ	<i>Daphnia magna</i>
④	タマミジンコ	<i>Moina macrocopa</i>
⑤	ニセネコゼミジンコ	<i>Ceriodaphnia dubia</i>
⑥	ヌカエビ	<i>Paratya compressa improvisa</i>
⑦	ヒメダカ	<i>Orizias latipes</i>
⑧	ゼブラ	<i>Danio rerio</i>
⑨	ファッドヘッドミノー	<i>Pimephales promelas</i>
⑩	アカルチア	<i>Acartia tonsa</i>
⑪	アミ	<i>Americamysis bahia</i>
⑫	ミジンコ6種	<i>Daphnia pulex</i> 他5種
⑬	コウキクサ	<i>Lemna minor</i>

