(12) 特許協力条約に基づいて公開された国際出願

(19) 世界知的所有権機関
国際事務局

(43) 国際公開日
2024年2月1日(01.02.2024)

WIPO | PCT

(10) 国際公開番号
WO 2024/024972 A1

(51) 国際特許分類:
A01K 61/10 (2017.01) *A23K 20/121* (2016.01)
A23K 10/30 (2016.01) *A23K 50/80* (2016.01)

(21) 国際出願番号： PCT/JP2023/027864

(22) 国際出願日： 2023年7月28日(28.07.2023)

(25) 国際出願の言語： 日本語

(26) 国際公開の言語： 日本語

(30) 優先権データ：
特願 2022-120560 2022年7月28日(28.07.2022) JP

(71) 出願人: 国立大学法人北海道大学(**NATIONAL UNIVERSITY CORPORATION HOKKAIDO UNIVERSITY**) [JP/JP]; 〒0600808 北海道札幌市北区北８条西５丁目 Hokkaido (JP). 愛知県(**AICHI PREFECTURE**) [JP/JP]; 〒4608501 愛知県名古屋市中区三の丸三丁目１番２号 Aichi (JP). 共立製薬株式会社(**KYORITSU SEIYAKU CORPORATION**) [JP/JP]; 〒1020074 東京都千代田区九段南一丁目５番１０号 Tokyo (JP). 株式会社フジキン(**FUJIKIN INCORPORATED**) [JP/JP]; 〒5500012 大阪府大阪市西区立売堀２丁目３番２号 Osaka (JP).

(72) 発明者: 井尻 成保(**IJIRI Shigeho**); 〒0600808 北海道札幌市北区北８条西５丁目 国立大学法人北海道大学内 Hokkaido (JP). 稲葉 博之(**INABA Hiroyuki**); 〒4440425 愛知県西尾市一色町細川大岡一の割５６－６ 愛知県水産試験場内水面漁業研究所内 Aichi (JP). 内山 藍(**UCHIYAMA Ai**); 〒3001252 茨城県つくば市高見原二丁目９番２２ 共立製薬株式会社先端技術開発センター内 Ibaraki (JP). 高野 良子(**TAKANO Ryoko**); 〒3001252 茨城県つくば市高見原二丁目９番地２２ 共立製薬株式会社先端技術開発センター内 Ibaraki (JP). 山下 勝正(**YAMASHITA Katsumasa**); 〒5500012 大阪府大阪市西区立売堀２丁目３番２号 株式会社フジキン内 Osaka (JP).

(74) 代理人: 丹羽 俊輔(**NIWA Shunsuke**); 〒2150007 神奈川県川崎市麻生区向原三丁目十六番二十二号 Kanagawa (JP).

(81) 指定国(表示のない限り、全ての種類の国内保護が可能): AE, AG, AL, AM, AO, AT, AU, AZ, BA, BB, BG, BH, BN, BR, BW, BY, BZ, CA, CH, CL, CN, CO, CR, CU, CV, CZ, DE, DJ, DK, DM, DO, DZ, EC, EE, EG, ES, FI, GB, GD, GE, GH, GM, GT, HN, HR, HU, ID, IL, IN, IQ, IR, IS, IT, JM, JO, JP, KE, KG, KH, KN, KP, KR, KW, KZ, LA, LC, LK, LR, LS, LU, LY, MA, MD, MG, MK, MN, MU, MW, MX, MY, MZ, NA, NG, NI, NO, NZ, OM, PA, PE, PG, PH, PL, PT, QA, RO, RS, RU, RW, SA, SC, SD, SE, SG, SK, SL, ST, SV, SY, TH, TJ, TM, TN, TR, TT, TZ, UA, UG, US, UZ, VC, VN, WS, ZA, ZM, ZW.

(54) **Title:** STURGEON BREEDING METHOD, STURGEON PRODUCTION METHOD, AND SOLID FEED FOR STURGEON

(54) 発明の名称： チョウザメ飼育方法、チョウザメ生産方法、並びにチョウザメ用固形飼料

(57) **Abstract:** [Problem] To provide a means for mass-producing female sturgeons in a simple, inexpensive, and efficient manner. [Solution] Provided is a sturgeon breeding method comprising causing a solid feed, in which a soybean isoflavone-containing substance containing genistein is almost uniformly mixed, to be ingested. Almost all individuals among cultured individuals that are genetically approximately half males and half females can be bred as individuals that are female or induced to become female, by causing the solid feed to be ingested over the period of 2-10 months from the 14th-120th day after hatching, and thus female sturgeons (genetically female individuals and individuals in which genetic males are induced to become female) with high utility value for caviar production can be efficiently produced.

(57) 要約： 【課題】簡易、低廉かつ効率的に雌チョウザメを大量生産する手段の提供。 【解決手段】、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれた固形飼料を摂取させるチョウザメ飼育方法を提供する。この固形飼料を、孵化後14～120日目の時期から2～10か月の期間に亘って摂取させることにより、遺伝的に雌雄約半数ずつであった養殖個体のほぼ全個体を雌又は雌化誘導された個体として飼育することができるため、キャビア生産の利用価値の高い雌チョウザメ（遺伝的雌の個体及び遺伝的雄が雌化誘導された個体）を効率的に生産することが可能となる。

WO 2024/024972 A1

［続葉有］

(84) 指定国(表示のない限り、全ての種類の広域保護が可能): ARIPO (BW, CV, GH, GM, KE, LR, LS, MW, MZ, NA, RW, SC, SD, SL, ST, SZ, TZ, UG, ZM, ZW), ユーラシア (AM, AZ, BY, KG, KZ, RU, TJ, TM), ヨーロッパ (AL, AT, BE, BG, CH, CY, CZ, DE, DK, EE, ES, FI, FR, GB, GR, HR, HU, IE, IS, IT, LT, LU, LV, MC, ME, MK, MT, NL, NO, PL, PT, RO, RS, SE, SI, SK, SM, TR), OAPI (BF, BJ, CF, CG, CI, CM, GA, GN, GQ, GW, KM, ML, MR, NE, SN, TD, TG).

添付公開書類:

一 国際調査報告 (条約第21条(3))

明　細　書

発明の名称 ：

チョウザメ飼育方法、チョウザメ生産方法、並びにチョウザメ用固形飼料

技術分野

[0001]　本発明は、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれた固形飼料を摂取させるチョウザメ飼育方法、同工程を含むチョウザメ生産方法、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれたチョウザメ用固形飼料などに関連する。

背景技術

[0002]　チョウザメは、チョウザメ目（学名「Acipenseriformes」）に属する硬骨魚類の総称で、チョウザメ科（学名「Polyodontidae」）、ヘラチョウザメ科（学名「Acipenseriformes」）の2科で構成される。条鰭魚類の中でも原始的な一群で、しばしば古代魚として扱われ、ロシア、ヨーロッパ、アジア北中部、北アメリカなどで、主に河川に生息し、湖に下る種と海に下る種とに分かれる。ほとんどの種では、下向きに付いている口の横に左右2対のヒゲがあり、このヒゲで底の餌を探して食べる。

[0003]　チョウザメには、オオチョウザメ、シベリアチョウザメ、ロシアチョウザメ、コチョウザメ、ミカドチョウザメ、ダウリアチョウザメ、アムールチョウザメなどの種が知られる。このうち、オオチョウザメは、カスピ海、黒海などで見られ、体長6mにも達するが長寿でゆっくり成長し、性成熟までにも15～20年かかる。一方、コチョウザメは、ユーラシア大陸に生息する比較的小型のチョウザメで、全長は通常40cm程度であるが、性成熟まで4～5年と早熟である。なお、チョウザメは、かつて日本にも分布していたが、現在は絶滅したとされる。ミカドチョウザメ、ダウリアチョウザメ、アムールチョウザメは、日本（北海道）に来遊する北方系チョウザメである。その他、養殖用として、オオチョウザメとコチョウザメの交雑種であるベステル種が広く普及している。ベステル種は、初回成熟期間が6～9年と比較的早熟である。

[0004] チョウザメの卵（卵巣をほぐしたもの）の塩漬けは、高級食材・キャビアとして知られる。一般的に、卵の粒が大きい方が、キャビアのブランド的価値は高い。オオチョウザメの卵は、卵の粒が大きく、ブランド的価値が最も高いキャビアとして知られる。ミカドチョウザメ、ダウリアチョウザメも、卵の粒が大きく、アムールチョウザメは卵の粒の大きさは中程度である。一方、コチョウザメは、早熟であるものの、卵の粒の大きさは小さい。なお、交雑種であるベステル種は、比較的早熟であるにもかかわらず、卵の粒の大きさは中程度である。

[0005] キャビアは、トリュフ、フォアグラと並び、世界三大珍味の一つであり、高級食材として世界的に人気が高い一方、現在、チョウザメ目の種は全てワシントン条約の規制対象となっており、野生チョウザメの捕獲が禁止されている。そのため、世界各国では、キャビアを生産するため、チョウザメの飼育・養殖が広く行われている。例えば、特許文献1には、チョウザメの受精卵と、飼育水の入った透光性の袋又は容器と、チョウザメ飼育用水槽と、サーモスタットと、照明器具、及び搬送容器とからなる、チョウザメを飼育することを特徴とするチョウザメ飼育キットが記載されている。

[0006] ここで、本発明に関わる事項として、大豆イソフラボンについて、以下説明する。

[0007] 大豆イソフラボンは、主に大豆の胚芽などに多く含まれる、イソフラボンを基本骨格としたフラボノイド系化合物の総称である。大豆イソフラボンは、グリコシド型（配糖体；糖と共有結合した構造）、アグリコン型（非配糖体；配糖体の糖部分が脱離した構造）、配糖体のアセチル化体、及び、配糖体のマロニル化体の4つに分類される。各分類にそれぞれ3種類の化合物が知られ、大豆イソフラボンとして、合計12種類の化合物が知られている。そのうち、グリコシド型の3つの大豆イソフラボンが、ゲニスチン、ダイジン、グリシチンであり、それらのアグリコン型（糖部分が脱離したもの）が、それぞれ、ゲニステイン、ダイゼイン、グリシテインである。原料大豆などの種類、抽出・精製・処理方法などにより、各化合物の組成・含有量は変動する

。

[0008] 大豆イソフラボンの製造方法として、例えば、特許文献2には、大豆胚芽を水溶性有機溶媒により抽出濃縮後、疎水性有機溶媒により親油性成分を除去し、再び濃縮、精製及び乾燥するイソフラボン化合物の製造法が、特許文献3には、微生物を用いた発酵により加水分解された大豆を非極性溶媒により脱脂し、その乾燥脱脂生成物を極性溶媒で抽出する工程などを含む、イソフラボンアグリコン濃度を高めたイソフラボン化合物濃縮物の製造法が、特許文献4には、醤油粕又は醤油油から有機溶媒でイソフラボン化合物を抽出するイソフラボン化合物の製造法が、それぞれ記載されている。また、大豆イソフラボン中の特定の化合物を分離する手段として、例えば、特許文献5には、溶剤を用いてイソフラボン混合物から高純度のゲニステインを分離する手段が、特許文献6には、ゲニスチン含有率の高いイソフラボン組成物を得る方法が、特許文献7には、大豆の水抽出液から取得したマロニルイソフラボン配糖体溶液を加熱処理及び／又はアルカリ処理してイソフラボン配糖体溶液とし、これを酸処理又は酵素処理してイソフラボンアグリコンとすることが、それぞれ開示されている。

[0009] 大豆イソフラボンは、女性ホルモン（エストロゲン）と化学構造が近似しており、植物性エストロゲンとも呼ばれる。そして、アグリコン型となっている大豆イソフラボンは、エストロゲン様の作用を有し、心臓病、更年期障害、骨粗鬆症、乳癌などの予防に効果があるとされている。

[0010] その他、非特許文献1には、ロシアチョウザメに、ふ化の100日後からゲニステイン500mg/kg feedを給餌した結果、30尾中27尾が雌となったことが記載されている。

特許文献1：特許4377312号公報

特許文献2：特開平11-263786号公報

特許文献3：WO1999/025138

特許文献4：特開平5-170756号公報

特許文献5：特開平7-173148号公報

特許文献6：特開2000-95792号公報

特許文献7：特開平8-283283号公報

非特許文献1：Magdalena Fajkowskaa, et al, ” Effect of genistein, daidzein and coumestrol on sex-related genes expression in Russian sturgeon (Acipenser gueldenstaedtii)”, Aquaculture 530 (2021) 735872.

発明の開示

発明が解決しようとする課題

[0011] チョウザメの雌は、性成熟の後、卵をキャビアに供することができるため、利用価値が非常に高いのに対し、雄は、利用価値が低い。しかし、チョウザメの遺伝的性決定は強固であり、養殖した場合、種苗の性比はほぼ1:1となる。

[0012] また、一般的に、チョウザメは長寿であるが性分化が遅く、バイオプシーで生殖腺を目視しても、性の判別が可能になるまでに、凡そ1年位かかる。外観からの雌雄判別もできない。

[0013] そのため、チョウザメを養殖する場合、雄の利用価値が低いにもかかわらず、長期間にわたって、雄雌両方をほぼ同数ずつ養殖する必要がある。

[0014] 一方、キャビア生産のため、チョウザメの養殖が広く行われているが、キャビアは依然として高価である。キャビアをより安価に市場に供給するためには、簡易、低廉かつ効率的に雌チョウザメを大量生産する手段が必要である。

[0015] そこで、本発明では、簡易、低廉かつ効率的に雌チョウザメを大量生産する手段を提供することなどを目的とする。

課題を解決するための手段

[0016] 本発明では、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれた固形飼料を摂取させるチョウザメ飼育方法、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれた固形飼料を摂取させる工程を含むチョウザメ生産方法、ゲニステインを含有した大豆イソフラボ

ン含有物が略均一に混ぜ込まれたチョウザメ用固形飼料などを提供する。

[0017] 固形飼料を供給して飼育することにより、約半数の遺伝的雌のチョウザメをそのまま成長させることができる。また、固形飼料に、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物を含有させることにより、残りの約半数の遺伝的雄のチョウザメも雌化誘導できる。即ち、遺伝的に雌雄約半数ずつであった養殖個体のほぼ全個体を雌又は雌化誘導された個体として飼育することができるため、キャビア生産の利用価値の高い雌チョウザメ（遺伝的雌の個体及び遺伝的雄が雌化誘導された個体、以下同じ）を効率的に生産することが可能となる。

[0018] また、本発明では、大豆イソフラボン含有物が混ぜ込まれた固形飼料を用いるため、長期間にわたる多数個体の同時飼育、及び、多数の遺伝的雄の個体の雌化誘導を、簡易かつ効率的に行うことができる。これにより、簡易かつ効率的に雌チョウザメを大量生産することができる。

[0019] さらに、精製されたゲニステインではなく、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物を固形飼料に混ぜ込むため、固形飼料を比較的簡易かつ安価に製造することができる。これにより、簡易かつ低廉に雌チョウザメを大量生産することができる。

[0020] 本発明では、固形飼料の表面にゲニステイン（又は大豆イソフラボン）を展着するのではなく、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物を略均一に混ぜ込む形態であるため、大豆イソフラボンを含有した固形飼料を簡易かつ大量に製造できる。これにより、雌化誘導を実現しつつ飼料コストを低減できるため、雌チョウザメの大量生産も低廉化することができる。

[0021] また、ゲニステインなどを展着するのではなく、略均一に混ぜ込む形態の場合、給餌の際に、ゲニステインなどを展着させるなどの養殖現場での追加の作業は必要ない。従って、ゲニステインを含有する大豆イソフラボン含有物を予め固形飼料に混ぜ込むことにより、養殖現場では、ゲニステインを供与しない場合と同程度の作業負担で効率的に給餌でき、かつゲニステインなどを展着させる場合と比較して、余計な作業負担を増やすことなく、効率的

に、チョウザメにゲニステインを供与することができる。

[0022] その他、大豆イソフラボン含有物を固形飼料に略均一に混ぜ込む形態の場合、飼料製造後の保管時に、ゲニステインがあまり外気に曝されないため、固形飼料の表面にゲニステイン（又は大豆イソフラボン）を展着させた場合と比較して、ゲニステインの脱落・変質・劣化を抑制でき、飼料を一度に大量製造しても、長期間保存できる有利性がある。加えて、大豆イソフラボンを固形飼料に略均一に混ぜ込む形態の場合、固形飼料の表面にゲニステイン（又は大豆イソフラボン）を展着させた場合と比較して、給餌時に飼料を水中に入れた際におけるゲニステインの拡散・ロスを極力低減できるため、ゲニステインを無駄なく効率的にチョウザメに供給できる有利性もある。

[0023] 本発明では、粉砕大豆種子のエタノール抽出物を酸水溶液で加水分解させた後乾燥させることによって得られた大豆イソフラボン含有物を利用してもよい。その場合、原料に大豆種子自体を粉砕したものを用いるため、原料を簡易かつ安価に調達することが可能である。また、粉砕大豆種子のエタノール抽出物を酸水溶液で加水分解させる工程自体も比較的簡易な設備・手順で行うことができ、かつこの工程の場合、大量調製も可能である。さらに、エタノール抽出物を酸水溶液で加水分解させることにより、グリコシド型の大豆イソフラボンを簡易、低廉かつ効率的にアグリコン型に変換させることができ、アグリコン型大豆イソフラボンの割合を大幅に高めることができる。従って、簡易、低廉かつ効率的に、ゲニステインを含有する大豆イソフラボン含有物を大量調製することが可能であり、それにより、ゲニステインを含有した固形飼料を比較的簡易かつ安価に製造することが可能であり、簡易かつ低廉に雌チョウザメを大量生産することが可能となる。

[0024] この方法で得られた大豆イソフラボン含有物では、ゲニステインを含むアグリコン型大豆イソフラボンが主成分として含有し、他にタンパク質・炭水化物などの成分も、完全に除去されずに含有する。本発明者らの検討結果によれば、従来のように高度精製されたイソフラボン組成物を用いなくても、この大豆イソフラボン含有物を採用することで、充分かつ良好に、遺伝的雄

のチョウザメを雌化誘導でき、チョウザメの餌への嗜好性、餌の栄養性、チョウザメの成長などにも別段影響を与えない。従って、この大豆イソフラボン含有物を採用することで、精製などの手順を大幅に簡略化でき、雌化誘導できる固形飼料を非常に簡易かつ安価に製造できる。また、本発明で得られた大豆イソフラボン含有物は、原則的に全て大豆種子に元々含まれていた成分であるため、安全性が高い。加えて、この大豆イソフラボン含有物には、タンパク質・炭水化物などの成分が残存するため、その分、栄養価も高い。従って、この大豆イソフラボン含有物を固形飼料に混ぜ込むことにより、ゲニステインを含む大豆イソフラボンだけでなく、その他の栄養成分も固形飼料に同時に混ぜ込むことができる。これにより、固形飼料中の栄養分を増強させ、チョウザメの成長を促進させることができる有利性もある。

[0025] その他、チョウザメは一度に食べる量が少なく、給餌しても餌を残しやすいが、固形飼料で供給することで、餌を残すことなく、摂食させることができるため、給餌及びゲニステインの供給を適正に行うことができ、食べ残しによる水の劣化も抑止できる利点がある。

[0026] また、沈降性の固形飼料を採用する場合、給餌後、固形飼料が水底に沈む。チョウザメは、水底の餌を食べるため、沈降性の固形飼料にすることにより、チョウザメが餌を見つけやすくなり、給餌及びゲニステインの供給を適正に行うことができ、食べ残しによる水の劣化も抑止できる。

発明の効果

[0027] 本発明により、簡易、低廉かつ効率的に雌チョウザメを大量生産できる。

発明を実施するための最良の形態

[0028] ＜本発明に係るチョウザメ用固形飼料について＞

本発明は、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれた固形飼料などを広く包含する。

[0029] 例えば、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれたチョウザメ用固形飼料を、孵化後14～120日目の時期から一定期間に亘って給餌することで、チョウザメの遺伝的雄の雌化を誘導することができ

る。なお、本発明に係る固形飼料は、チョウザメ用（チョウザメの飼育、チョウザメの雌化誘導、チョウザメ生産など）として適用可能であるが、それのみに狭く限定されず、目的・用途に応じて、適宜、魚類用固形飼料若しくは養魚用固形飼料として利用してもよい。

[0030] 例えば、粉砕大豆種子のエタノール抽出物を酸水溶液で加水分解させた後乾燥させることにより、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物の粉末を得ることができる。具体的には、例えば、(1)大豆種子を粉砕する工程、(2)その粉砕物からエタノール抽出により、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物を抽出する工程、(3)その抽出物又はその濃縮物を酸水溶液で加水分解させる工程、(4)その加水分解物又はその濃縮物を乾燥させ、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物の粉末を得る工程、を少なくとも含む方法により、調製することができる。なお、本発明は、例えばその他の工程・手段などが含まれることによっては、狭く限定されない。

[0031] 原料となる大豆種子は、少なくともゲニステインなどを含有した種子であればよく、公知のものを広く採用でき、特に限定されない。大豆種子を粉砕する方法も、少なくとも、エタノール抽出がしやすい程度に粉砕されていればよく、公知の手段を広く採用でき、特に限定されない。また、適宜、原料の大豆種子に、異物除去、洗浄、乾燥などを施してもよい。

[0032] エタノール抽出は、ゲニステインなどを含む成分を粉砕大豆種子から抽出する工程であり、目的の成分が抽出できればよく、公知の手段を広く採用でき、特に限定されない。例えば、所定条件でエタノールに粉砕大豆種子を浸し、目的の成分を溶出させた後、残渣の固形成分を回収することで、目的の成分が溶出したエタノール溶液を得ることができる。エタノール抽出の条件は、公知の手段を広く採用でき、特に限定されない。また、所定条件でエタノール抽出を複数回行ってもよい。得られたエタノール抽出物を、公知の手段により、濃縮してもよい。

[0033] エタノール抽出物又はその濃縮物を酸水溶液で加水分解することにより、簡易、低廉かつ効率的に、グリコシド型の大豆イソフラボンをアグリコン型

に変換させ、アグリコン型大豆イソフラボンの割合を大幅に高めることができる。酸水溶液は、グリコシド型大豆イソフラボンを加水分解できるものであればよく、特に限定されない。例えば、塩酸水溶液を用いてもよい。得られた加水分解物を、例えば、水性エタノール抽出に供し、グリコシドを抽出除去してもよい。また、得られた加水分解物（又はグリコシド除去産物）を、公知の手段により、濃縮してもよい。

[0034] 得られた加水分解物又はその濃縮物は、例えば、純粋洗浄・ろ過などの後、公知の手段により乾燥させる。例えば、乾燥産物を粉砕し、ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物の粉末としてもよい。

[0035] 固形飼料中におけるゲニステイン含有量は、好適には、飼料1kg当たり100～3,500mgであり、より好適には、飼料1kg当たり200～3,000mgであり、最も好適には、飼料1kg当たり300～2,500mgである。飼料1kg当たり3,500mgを超えると、雌化誘導が過剰となり、卵黄組織などに異常をきたす場合があり、また、大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込んだ場合であっても、消化器官に疲労・傷害を与える可能性がある。

[0036] 本発明に係る固形飼料では、大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれている。これにより、ゲニステインの脱落・変質・劣化を抑制でき、飼料を一度に大量製造しても、長期間保存できる。また、給餌時に飼料を水中に入れた際におけるゲニステインの拡散・ロスを極力低減できる。

[0037] 固形飼料に大豆イソフラボン含有物を略均一に混ぜ込む方法は、公知の手段を広く採用でき、特に限定されない。例えば、固形飼料の原料に、粉末状大豆イソフラボン含有物を添加し、ミキサーで撹拌・粉砕した後、ペレット状に圧縮成形し、乾燥処理、油脂添加を施し、製造してもよい。

[0038] 本発明に係る固形飼料は、大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれ、かつ形状が保持されたものであればよく、その形態は、公知のものを広く採用でき、特に限定されない。例えば、顆粒、クランブル、ドライペレット、エクストルーダーペレットなど形態の他、半固形飼料、含水飼料、不成型飼料などの形態も、本発明に係る固形飼料に含まれる。固形飼料がエクスト

ルーダーペレットである場合、例えば、固形飼料の原料に、粉末状大豆イソフラボンを添加し、ミキサーで撹拌・粉砕した後、造粒機（エクストルーダー）を用いて高温・高圧下でペレット状に圧縮成形・造粒し、乾燥処理、油脂添加を施し、製造する。エクストルーダーペレットとすることにより、均質で高品質の固形飼料を簡易かつ低廉に大量製造できるほか、固形飼料の消化吸収性も高めることができる。

[0039] 固形飼料をペレット状に成型する際には、例えば、径0.2～4.0mmになるように成型する。これにより、遺伝雄のチョウザメを雌化誘導する時期におけるチョウザメの成長度合いに適した大きさの飼料を給餌できるため、餌を残すことなく給餌を適正に行うことができる。

[0040] 固形飼料をペレット状に成型する際、固形飼料が沈降性になるように製造してもよい。沈降性固形飼料の製造手段については、公知の手段を広く採用でき、特に限定されない。沈降性の固形飼料とすることにより、チョウザメが餌を見つけやすくなり、給餌を適正に行うことができ、食べ残しによる水の劣化も抑止できる。

[0041] 固形飼料中の大豆イソフラボン以外の成分については、適用する魚種が好んで食し、生育・成長など、目的・用途に適したものであればよく、公知のものを広く採用でき、特に限定されない。

[0042] 例えば、動物性飼料（魚粉、オキアミミールなど）、穀類（小麦粉、デンプン、デキストリン、加工処理大豆など）、植物性油粕類（大豆油粕、コーングルテンミールなど）、そうこう類（米ぬか油粕など）、油脂類（魚油など）などを含有し、粗タンパク質40～60%、粗脂肪2～15%、粗繊維1～8%、粗灰分5～20%、カルシウム0.5～4.0%、リン0.5～4.0%などを含む組成のものであってもよい。

[0043] 飼料中の魚粉については、公知のものを広く採用でき、特に限定されないが、例えば、イワシ、サバ、ニシン、アジなどを加工して得られた粉末であってもよい。また、それ以外の魚類の魚粉であってもよく、複数の魚種の魚粉が混合されたものであってもよい。魚種、チョウザメの種類、生育状態、

コストなどを考慮し、適宜選択することができる。

[0044] その他、例えば、ビタミンA、ビタミンD_3、ビタミンE、ビタミンB_1、ビタミンB_2、ビタミンB_6、ビタミンB_{12}、ビタミンC、ビタミンK_3、パントテン酸、ニコチン酸、ビオチン、葉酸、コリン、イノシトール、フマル酸第一鉄、硫酸銅、硫酸亜鉛、硫酸マンガン、硫酸コバルト、硫酸マグネシウム、ヨウ素酸カルシウム、リン酸カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、アスタキサンチン、BHT、エトキシキン、酵母エキス、ベタイン、昆布粉末、緑茶粉末、甘草抽出物、マリーゴールド花弁抽出物、乳酸菌、酪酸菌、消化酵素、乾燥野菜など、チョウザメの生育効率を高める成分などが適宜含有されていてもよい。

[0045] ＜本発明に係るチョウザメ飼育・生産方法などについて＞

本発明は、少なくとも、上述の固形飼料を摂取させるチョウザメ飼育方法をすべて包含する。また、少なくとも、上述の固形飼料を摂取させる工程を含むチョウザメ生産方法、並びに上述の固形飼料を摂取させる工程を含む、遺伝的雄のチョウザメの雌化誘導方法などもすべて包含する。

[0046] 上述の固形飼料を孵化後の所定の時期から一定期間摂取させることにより、チョウザメを飼育するとともに、遺伝的雄のチョウザメの雌化を誘導することができ、それにより、簡易、低廉かつ効率的に雌チョウザメを大量生産できる。

[0047] 上述の固形飼料の給餌開始時期は、チョウザメにゲニステインを摂取させることによって遺伝的雄個体を雌化誘導することが可能な時期であればよく、特に限定されない。例えば、孵化後14～120日目から給餌を開始するのが好適であり、孵化後28～100日目から給餌を開始するのがより好適である。

[0048] 上述の固形飼料の給餌期間は、チョウザメにゲニステインを摂取させることによって遺伝的雄個体を雌化誘導することが可能な期間であればよく、特に限定されない。例えば、給餌開始時期から2～10か月の期間に亘って摂取させるのが好適であり、給餌開始時期から4～8か月の期間に亘って摂取させるのが好適である。

[0049] 給餌方法・頻度については、摂取させる期間中、間断なく摂取させ続ける

ことができればよく、公知のものを広く採用でき、特に限定されない。例えば、フードタイマーなどを用いて、1週間のうちの3～7日、1日当たり1～15回、日間給餌率が魚体重の2～3%（例えば、1日当たり210mg～7,200mg）となるように給餌してもよい。

[0050] なお、本発明の対象となるチョウザメの種類は、チョウザメ目（学名「Acipenseri formes」）に属するものであればよく、特に限定されない。例えば、オオチョウザメ、シベリアチョウザメ、ロシアチョウザメ、コチョウザメ、ミカドチョウザメ、ダウリアチョウザメ、アムールチョウザメなども本発明に係るチョウザメに含まれる。例えば、前記チョウザメが、ベステル種である場合、ベステル種は比較的早熟であり、卵の粒の大きさも中程度であるため、簡易かつ効率的に雌チョウザメ、及び、キャビアを大量生産することができる。また、前記チョウザメが、ミカドチョウザメ、ダウリアチョウザメ、アムールチョウザメのいずれかである場合、日本（北海道）に来遊する種であり、卵の粒の大きさも中～大型であるため、日本及びその近隣固有の種を簡易かつ効率的に再生、さらには大量生産することができる可能性がある。前記チョウザメが、シベリアチョウザメである場合、成熟が比較的早く、飼育・繁殖も比較的容易であるため、簡易かつ効率的に雌チョウザメ、及び、キャビアを大量生産することができ、また、交雑種ではなくニーズの高い原種のチョウザメを大量生産できる。

実施例 1

[0051] 実施例1では、ゲニステインを含有した大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込まれた固形飼料の製造を試みた。

[0052] まず、大豆種子から大豆イソフラボン含有物を製造した。大豆種子から異物を除去し、それを洗浄し、日光乾燥した後、その種子を粉砕し、8㎜メッシュでふるいにかけ、概ね均一な大豆種子粉砕物を得た。次に、その粉砕物を、70℃のエタノール液に2時間浸して溶出成分を抽出し、抽出手順を4回繰り返して、エタノール抽出物を得た。エタノール抽出物をエバポレーターに入れ、エバポレーター内の温度を60～65℃に調節しながら気圧を630㎜Hg以下に

下げてエタノールなどを蒸発させ、エタノール抽出物を濃縮した。その濃縮エタノール抽出物に最終濃度10%となるように塩酸水溶液を加えて50～55℃条件下で加水分解し、70%エタノールで水性エタノール抽出し、5μmのフィルターを通過させた後、得られた大豆イソフラボンエキスを、エバポレーターに入れ、エバポレーター内の温度を60～65℃に調節しながら気圧を630mmHg以下に下げてエタノールなどを蒸発させ、濃縮した。得られた濃縮大豆イソフラボンエキスを純水で洗浄し、ろ過した後、80～90℃で真空乾燥し、乾燥物を粉砕し、原料（大豆種子）の約1/180重量の大豆イソフラボン含有物粉末が得られた。得られた大豆イソフラボン含有物を分析した結果、粉末成分中、80重量%以上が大豆イソフラボンで、全てアグリコン型であった。また、得られた大豆イソフラボン含有物に含まれるゲニステイン量は40重量%であった。その他、得られた大豆イソフラボン含有物100gにおけるエネルギー量は395kcal、タンパク質5.4g、脂質0.4g、大豆イソフラボン及び炭水化物92.4g、ナトリウム22mg、食塩0.1g（ナトリウム換算法）、水分1.0g、灰分0.8gであった。

[0053] 動物性飼料（魚粉50%）、植物性油粕類（大豆油粕、コーングルテンミール）21%、穀類（小麦粉、加熱処理大豆、デキストリン）17%、そうこう類（米ぬか油粕）7%、その他（魚油、昆布粉末、緑茶粉末、リン酸カルシウム）5%の配合割合で混合した後、ビタミンA、ビタミンD_3、ビタミンE、ビタミンB_1、ビタミンB_2、ビタミンB_6、ビタミンB_{12}、ビタミンC、ビタミンK_3、パントテン酸、ニコチン酸、ビオチン、葉酸、コリン、イノシトール、フマル酸第一鉄、硫酸銅、硫酸亜鉛、硫酸マンガン、硫酸コバルト、硫酸マグネシウム、ヨウ素酸カルシウム、リン酸二水素ナトリウム、アスタキサンチン、BHT、エトキシキンを微量ずつ添加し、さらに、ゲニステイン含有量が飼料1kg当たり500mg又は1,500mgになるように、得られた大豆イソフラボン含有物の粉末を添加した。

[0054] それらの混合粉末をミキサーで撹拌・粉砕した後、造粒機（エクストルーダー）を用いて高温・高圧下でペレット状に圧縮成形・造粒し、乾燥処理し

、植物性油脂を添加して、チョウザメ用の固形飼料を製造した。

[0055] チョウザメ用の固形飼料は略球形に成形し、ゲニステイン含有量500mg／kgと1,500mg／kgの各固形飼料について、チョウザメの成長段階に合わせるため、それぞれ、小口径（約1.5mm）、中口径（約2.0mm）および大口径（約3.4mm）の3サイズを作製した。

実施例 2

[0056] 実施例2では、実施例1で製造した固形飼料について、製造直後、及び、製造から6か月経過時におけるゲニステイン含有量を測定した。

[0057] 実施例1において、小口径（約1.5mm）及び中口径（約2.0mm）に成形した、それぞれ、ゲニステイン含有量500mg／kgと1,500mg／kgの各固形飼料について、製造から6か月経過後におけるゲニステイン含有量を測定した。

[0058] 結果を表1に示す。

[表1]

試作品	製造時含有量	製造６か月後の含有量
小口径・低濃度	520mg/kg	500mg/kg
中口径・低濃度	520mg/kg	500mg/kg
小口径・高濃度	1,500mg/kg	1,500mg/kg
中口径・高濃度	1,500mg/kg	1,500mg/kg

[0059] 表1に示す通り、製造直後のゲニステイン含有量は、小口径・中口径のいずれも、ゲニステインを低濃度に調整したもの（理論値：500mg／kg）では、520mg／kg、ゲニステインを高濃度に調整したもの（理論値：1,500mg／kg）では、1,500mg／kgであった。この結果より、製造工程においてゲニステイン含有量の減少などは生じず、大豆イソフラボンを混ぜ込むことによる固形飼料製造方法によって、所望量のゲニステインを含有した固形飼料を製造できることを確認した。

[0060] また、表1に示す通り、ゲニステイン含有量が低濃度の場合、製造から6か月経過後には、製造時の520mg／kgから500mg/kgへと、約4%の低下がみられたものの、製造から6か月経過しても、ゲニステイン含有量の減少はほとんど

見られず、概ね安定していることが確認された。また、ゲニステイン含有量が高濃度の場合、製造から6か月経過しても、ゲニステイン含有量の減少は見られず、安定していることが確認された。

[0061] この結果は、本発明に係る固形飼料が長期間保存できるものであることを示し、この固形飼料を簡易かつ低廉に大量製造できることを示唆する。

実施例 3

[0062] 実施例３では、実施例1で製造した固形飼料をチョウザメに給餌して、遺伝的雄のチョウザメを雌化誘導できるか、試験した。

[0063] ふ化したベステル種のチョウザメ20匹を10匹ずつ二群に分け、各群に、ふ化から66日後から、それぞれゲニステイン含有量500mg／kg又は1,500mg／kgの固形飼料の給餌を開始した。給餌開始時におけるベステル種のチョウザメの平均全長は9cm、平均体重は4.1gであった。

[0064] 給餌開始から140日間、フードタイマーを用いて、1週間のうちの6日、1日10回、日間給餌率が魚体重の2～3%（1回あたり210mg～7,200mg）となるように給餌した。その結果、平均全長は25cm、体重は86gまで成長した。140日の飼育後、全個体から鰭及び生殖腺をサンプリングした。

[0065] サンプリングした各鰭からゲノムDNAを抽出し、W染色体特異プライマーを使用してPCRを行い、遺伝的雌雄（ZW/ZZ）を判定した。その結果、ゲニステイン含有量500mg／kgを給餌した群では、10匹中7匹が、ゲニステイン含有量1,500mg／kgを給餌した群では、10匹中5匹が、遺伝的雄の個体であることが分かった。

[0066] 遺伝的雌雄判定により遺伝的雄と判定された個体について、その生殖腺の形態を組織学的に観察し、生殖腺の発達段階を判定した。その結果、ゲニステイン含有量500mg／kgを給餌した群の遺伝的雄は、観察できなかった1個体を除き、それ以外の6個体で、卵巣薄板形成の兆候が観察され、遺伝的雄7匹中6匹で、雌化誘導が示唆された。また、ゲニステイン含有量1,500mg／kgを給餌した群の遺伝的雄は、観察できなかった1個体を除き、それ以外の4個体で、卵巣形成過程が観察され、遺伝的雄5匹中4匹で、雌化誘導が示唆された

。

実施例 4

[0067] 実施例４では、実施例1で製造した固形飼料におけるゲニステインの水への溶出性を検討した。

[0068] 固形飼料として、(1)実施例1で製造した固形飼料（ゲニステインを含有した大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込まれた固形飼料（混込飼料））のほか、比較例として、(2)ゲニステインをエタノール展着した固形飼料、(3)実施例1における大豆イソフラボン含有物をエタノール展着した固形飼料、(4)実施例1における大豆イソフラボン含有物を水展着した固形飼料、(5)実施例1における大豆イソフラボン含有物を粉末展着した固形飼料を準備した。いずれも大豆イソフラボン又はゲニステイン以外は同一成分の小口径（約1.5mm）の飼料として作製し、ゲニステイン含有量1,500mg／kgになるようにした。

[0069] ビーカーに、水400mLと固形飼料30g（ゲニステイン含有量45mg）を入れて5分間撹拌し、その水を試料とした。試料とした水について、それぞれ、HPLCにより、ゲニステインの水中濃度を分析した（最大溶出理論値：水100g当たり11.25mg、定量下限値：水100g当たり0.5mg）。

[0070] その結果を表2に示す。

[表2]

	固形飼料		水中ゲニステイン濃度（水 100g 当たり）
（1）	大豆イソフラボン	混込	検出せず
（2）	ゲニステイン	エタノール展着	1.4mg
（3）	大豆イソフラボン	エタノール展着	0.7mg
（4）	大豆イソフラボン	水展着	4.7mg
（5）	大豆イソフラボン	粉展着	3.7mg

[0071] 表2に示す通り、(1)の実施例1で製造した固形飼料の場合、水に入れて5分間撹拌した後も、固形成分中のゲニステインが水に溶出しなかった（定量下限値以下であった）のに対し、(2)のゲニステインを固形飼料に直接エタノール展着した場合には、水に入れて5分間撹拌したのみで、水100g換算で、1.4m

g（固形飼料中のゲニステインの12.4%）が水に溶出し、(3)の大豆イソフラボンを固形飼料にエタノール展着した場合でも、0.7mg（固形飼料中のゲニステインの6.2%）が溶出した。

[0072] この結果は、(2)と(3)の比較において、固形飼料にゲニステインを直接含有させるよりも、大豆イソフラボン含有物として含有させた方が、ゲニステイン成分の水への溶出を少なくでき、かつ固形飼料中にゲニステイン成分を長時間保持させることができることを示す。また、(1)と(3)～(5)の比較において、固形飼料にゲニステインを直接含有させるのではなく、大豆イソフラボン含有物として含有させる場合、大豆イソフラボン含有物を展着させた固形飼料よりも、大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込まれた固形飼料の方が、ゲニステイン成分の水への溶出を極力少なくでき、かつゲニステイン成分を固形飼料中により長時間保持させることができることを示す。

[0073] 上述の通り、チョウザメは一度に食べる量が少なく、給餌しても餌を残しやすい性質を有するため、餌が水中に給餌されてからチョウザメがその餌を食べ終えるまで、比較的長時間、餌が水中に留まることが想定される。そのため、その間に飼料中の成分が極力水中に溶出しないことが好ましい。それに対し、本実施例により、大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込まれた固形飼料の場合、ゲニステイン成分の水への溶出を極力少なくでき、かつゲニステイン成分を固形飼料中により長時間保持させることができることが実証され、さらに、この固形飼料を用いることにより、ゲニステイン（又は大豆イソフラボン）のロスを極力減らし、確実かつ有効に遺伝的雄を雌化誘導できることが示唆された。

実施例 5

[0074] 実施例5では、実施例1で製造した固形飼料を給餌したチョウザメの血中ゲニステイン量の経時的変化を検証した。

[0075] 餌として、実施例1で製造した固形飼料（ゲニステインを含有した大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込まれた固形飼料（混込飼料））、及び、比較例として、実施例1における大豆イソフラボン含有物を粉末展着した固形飼料（展

着餌料）を準備した。

[0076] ベステル種のチョウザメ（平均魚体重321g）を2群に分け、一方の群には混込餌料を、他方の群（比較例）には展着餌料を、それぞれ、大豆イソフラボンとして37.5mg/kg魚体重（大豆イソフラボンを0.375%/餌料となるよう添加した大豆イソフラボン混合餌を、魚体重1%となるように）給餌し、完食から所定時間経過時に採血し、完食から1、3、6、12、24、48時間後の血液サンプルを得た。その他、陰性対照として、大豆イソフラボンを添加していない餌を給餌した個体の血液サンプルを得た。血液サンプルごとに、それぞれ、4℃、3000×gで15分間遠心して血漿を分離し、LC/MS/MSで血漿中におけるゲニステイン含有量を計測した（n=3～4、定量限界：0.0800μg/mL、検出限界：0.240μg/mL）。

[0077] 結果を図1に示す。図1は、実施例1で製造した固形餌料を給餌した場合における血中ゲニステイン量の経時的変化を表すグラフで、図中の横軸は餌完食の何時間後の血液サンプルであるかを表し（単位：h（時間））、縦軸は血中のゲニステイン量（単位：μg/mL）を表し、「混込餌料」の折れ線は実施例1で製造した固形餌料を給餌した場合における血中ゲニステイン量の経時的変化を、「展着餌料」の折れ線は実施例1における大豆イソフラボン含有物を粉末展着した固形餌料を給餌した場合における血中ゲニステイン量の経時的変化を、それぞれ表す。

[0078] 図1に示す通り、実施例1で製造した固形餌料（混込餌料）を給餌した場合、実施例1における大豆イソフラボン含有物を粉末展着した固形餌料（展着餌料）と比較して、血中ゲニステイン量が高く、特に完食から3時間経過後以降、顕著な差がみられた。この結果より、大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込まれた固形餌料を給餌することで、チョウザメに確実かつ効率的にゲニステインを摂取させることができることが示された。

実施例 6

[0079] 実施例6では、実施例1で製造した固形餌料（ゲニステインを含有した大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込まれた固形餌料（混込餌料））と実施例1にお

ける大豆イソフラボン含有物を粉末展着した固形飼料（展着飼料）のチョウザメに対する雌化誘導効率を比較した。

[0080] ベステル種のチョウザメに、魚体重約6～7g時点から、大豆イソフラボン混合餌を、約6か月間、週6日投与して飼育し、その後、通常飼料（大豆イソフラボンを含まない飼料）に切り替えて、魚体重300g程度に成長するまで飼育を継続した。大豆イソフラボン混合餌には、実施例1で製造した固形飼料（混込飼料、小口径（約1.5mm）及び中口径（約2.0mm）、ゲニステイン含有量500mg／kg）、又は、比較例として、実施例1における大豆イソフラボン含有物を粉末展着した固形飼料（展着飼料、小口径（約1.5mm）及び中口径（約2.0mm）、ゲニステイン含有量500mg／kg））を用いた。

[0081] 魚体重300g程度にまで成長した個体について、順次、実施例3と同様、各鰭からゲノムDNAを抽出してPCR法により遺伝的雌雄判定をした。そして、遺伝的雄と判定された個体について、その生殖腺の形態を組織学的に観察し、生殖腺の発達段階より、雌雄を判定した。

[0082] その結果、実施例1で製造した固形飼料（混込飼料）を投与したチョウザメの場合、遺伝的雄と判定された個体7匹のうち6匹が雌化誘導されており、雌化率は86％であったのに対し、展着飼料を投与したチョウザメの場合、遺伝的雄と判定された個体11匹のうち5匹が雌化誘導され、雌化率は45％にとどまった。この結果より、大豆イソフラボン含有物を展着させた固形飼料よりも、大豆イソフラボンが略均一に混ぜ込まれた固形飼料の方が、実際に、個体レベルにおいて、より効率的にチョウザメを雌化誘導できることが示された。

図面の簡単な説明

[0083] [図1]実施例5において、実施例1で製造した固形飼料を給餌した場合における血中ゲニステイン量の経時的変化を表すグラフ。

請求の範囲

[請求項1] ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれた固形飼料を摂取させるチョウザメ飼育方法。

[請求項2] 前記固形飼料1kg当たりの前記ゲニステイン含有量が100～3,500mgである請求項1記載のチョウザメ飼育方法。

[請求項3] 孵化後14～120日目の時期から2～10か月の期間に亘って摂取させる請求項2記載のチョウザメ飼育方法。

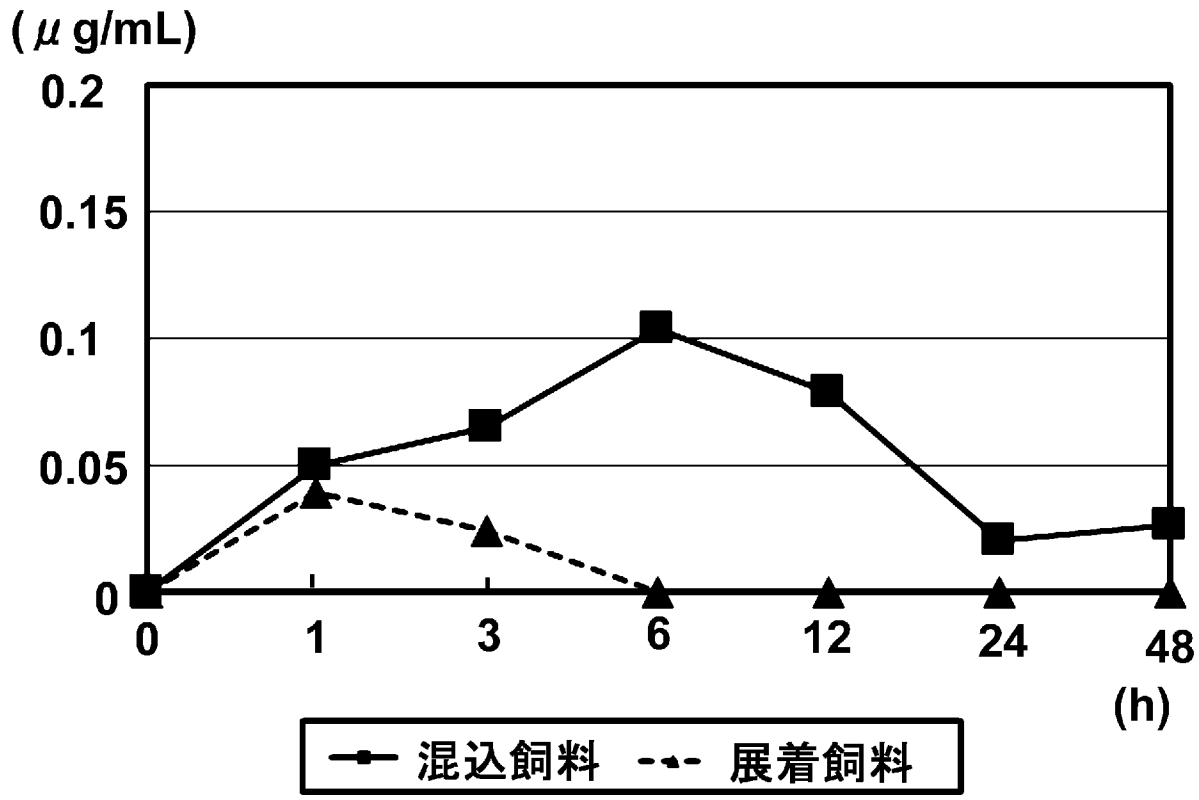
[請求項4] 前記大豆イソフラボン含有物が、粉砕大豆種子のエタノール抽出物を酸水溶液で加水分解させた後乾燥させることによって得られた請求項1記載のチョウザメ飼育方法。

[請求項5] 前記チョウザメが、ベステル種、ミカドチョウザメ、ダウリアチョウザメ、アムールチョウザメ、シベリアチョウザメのいずれかである請求項1記載のチョウザメ飼育方法。

[請求項6] ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれた固形飼料を摂取させる工程を含むチョウザメ生産方法。

[請求項7] ゲニステインを含有した大豆イソフラボン含有物が略均一に混ぜ込まれたチョウザメ用固形飼料。

[図1]



INTERNATIONAL SEARCH REPORT

International application No.
PCT/JP2023/027864

A. CLASSIFICATION OF SUBJECT MATTER

A01K 61/10(2017.01)i; ***A23K 10/30***(2016.01)i; ***A23K 20/121***(2016.01)i; ***A23K 50/80***(2016.01)i
FI: A01K61/10; A23K10/30; A23K20/121; A23K50/80

According to International Patent Classification (IPC) or to both national classification and IPC

B. FIELDS SEARCHED

Minimum documentation searched (classification system followed by classification symbols)

A01K61/10; A23K10/30; A23K20/121; A23K50/80

Documentation searched other than minimum documentation to the extent that such documents are included in the fields searched

Published examined utility model applications of Japan 1922-1996
Published unexamined utility model applications of Japan 1971-2023
Registered utility model specifications of Japan 1996-2023
Published registered utility model applications of Japan 1994-2023

Electronic data base consulted during the international search (name of data base and, where practicable, search terms used)

C. DOCUMENTS CONSIDERED TO BE RELEVANT

Category*	Citation of document, with indication, where appropriate, of the relevant passages	Relevant to claim No.
Y	日本初！ 大豆イソフラボンによるチョウザメの全メス化に成功 安全な方法で効率的なキャビア生産をめざす. 04 March 2022, Internet: <URL: https://digitalpr.jp/r/56498>, non-official translation (Successful Total Feminization of Sturgeon Using Soybean Isoflavone: In Pursuit of Effective Caviar Production by Safe Methods.) in particular, "Background", "Details"	1-7
Y	WO 2022/071589 A1 (AICHI PREFECTURE) 07 April 2022 (2022-04-07) paragraph [0045]	1-7
Y	JP 2007-520192 A (REXGENEBIOTECH CO., LTD.) 26 July 2007 (2007-07-26) paragraph [0003]	4-7
A	MAGDALENA et al. Effect of genistein, daidzein and coumestrol on sex-related genes expression in Russian sturgeon (Acipenser gueldenstaedtii), Aquaculture, 2021, vol. 530, 15 entire text, all drawings	1-7
A	PELISSERO et al. The estrogenic activity of certain phytoestrogens in the siberian sturgeon Acipenser baeri. The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 1991, vol. 38, Issue 3, 293-299 entire text, all drawings	1-7

☐ Further documents are listed in the continuation of Box C. ☑ See patent family annex.

* Special categories of cited documents:
"A" document defining the general state of the art which is not considered to be of particular relevance
"E" earlier application or patent but published on or after the international filing date
"L" document which may throw doubts on priority claim(s) or which is cited to establish the publication date of another citation or other special reason (as specified)
"O" document referring to an oral disclosure, use, exhibition or other means
"P" document published prior to the international filing date but later than the priority date claimed
"T" later document published after the international filing date or priority date and not in conflict with the application but cited to understand the principle or theory underlying the invention
"X" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered novel or cannot be considered to involve an inventive step when the document is taken alone
"Y" document of particular relevance; the claimed invention cannot be considered to involve an inventive step when the document is combined with one or more other such documents, such combination being obvious to a person skilled in the art
"&" document member of the same patent family

Date of the actual completion of the international search	Date of mailing of the international search report
03 October 2023	**24 October 2023**
Name and mailing address of the ISA/JP **Japan Patent Office (ISA/JP)** **3-4-3 Kasumigaseki, Chiyoda-ku, Tokyo 100-8915** **Japan**	Authorized officer Telephone No.

INTERNATIONAL SEARCH REPORT
Information on patent family members

International application No.
PCT/JP2023/027864

Patent document cited in search report	Publication date (day/month/year)	Patent family member(s)	Publication date (day/month/year)
WO 2022/071589 A1	07 April 2022	KR 10-2023-0075462 A paragraph [0068] TW 202228527 A	
JP 2007-520192 A	26 July 2007	US 2007/0031573 A1 paragraph [0004] WO 2005/042757 A1 KR 10-0449887 B1 CN 1860238 A AU 2003285804 A	

国際調査報告

国際出願番号
PCT/JP2023/027864

A. 発明の属する分野の分類（国際特許分類（ＩＰＣ））

A01K 61/10(2017.01)i; A23K 10/30(2016.01)i; A23K 20/121(2016.01)i; A23K 50/80(2016.01)i
FI: A01K61/10; A23K10/30; A23K20/121; A23K50/80

B. 調査を行った分野

調査を行った最小限資料（国際特許分類（ＩＰＣ））

A01K61/10; A23K10/30; A23K20/121; A23K50/80

最小限資料以外の資料で調査を行った分野に含まれるもの

日本国実用新案公報	１９２２－１９９６年
日本国公開実用新案公報	１９７１－２０２３年
日本国実用新案登録公報	１９９６－２０２３年
日本国登録実用新案公報	１９９４－２０２３年

国際調査で使用した電子データベース（データベースの名称、調査に使用した用語）

C. 関連すると認められる文献

引用文献のカテゴリー*	引用文献名　及び一部の箇所が関連するときは、その関連する箇所の表示	関連する請求項の番号
Y	日本初！大豆イソフラボンによるチョウザメの全メス化に成功　安全な方法で効率的なキャビア生産をめざす, 2022.03.04, https://digitalpr.jp/r/56498 特に［本件の背景］［本件の内容］	1-7
Y	WO 2022/071589 A1 (愛知県) 07.04.2022 (2022-04-07) ［００４５］	1-7
Y	JP 2007-520192 A (レックスジーンバイオテック・カンパニー・リミテッド) 26.07.2007 (2007-07-26) ［０００３］	4-7
A	MAGDALENA et al., Effect of genistein, daidzein and coumestrol on sex-related genes expression in Russian sturgeon (Acipenser gueldenstaedtii), Aquaculture, 2021, Volume 530, 15 全文全図	1-7
A	PELISSERO et al., The estrogenic activity of certain phytoestrogens in the siberian sturgeon Acipenser baeri, The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology, 1991, Volume 38, Issue 3, 293-299 全文全図	1-7

☐ Ｃ欄の続きにも文献が列挙されている。

☑ パテントファミリーに関する別紙を参照。

* 引用文献のカテゴリー
“A” 特に関連のある文献ではなく、一般的技術水準を示すもの
“E” 国際出願日前の出願または特許であるが、国際出願日以後に公表されたもの
“L” 優先権主張に疑義を提起する文献又は他の文献の発行日若しくは他の特別な理由を確立するために引用する文献（理由を付す）
“O” 口頭による開示、使用、展示等に言及する文献
“P” 国際出願日前で、かつ優先権の主張の基礎となる出願の日の後に公表された文献
“T” 国際出願日又は優先日後に公表された文献であって出願と抵触するものではなく、発明の原理又は理論の理解のために引用するもの
“X” 特に関連のある文献であって、当該文献のみで発明の新規性又は進歩性がないと考えられるもの
“Y” 特に関連のある文献であって、当該文献と他の１以上の文献との、当業者にとって自明である組合せによって進歩性がないと考えられるもの
“&” 同一パテントファミリー文献

国際調査を完了した日	国際調査報告の発送日
03.10.2023	24.10.2023

名称及びあて先
日本国特許庁(ISA/JP)
〒100-8915
日本国
東京都千代田区霞が関三丁目４番３号

権限のある職員（特許庁審査官）
竹中　靖典 2B 9507

電話番号 03-3581-1101 内線 3237

国際調査報告
パテントファミリーに関する情報

国際出願番号
PCT/JP2023/027864

引用文献	公表日	パテントファミリー文献	公表日
WO 2022/071589 A1	07.04.2022	KR 10-2023-0075462 A ［００６８］ TW 202228527 A	
JP 2007-520192 A	26.07.2007	US 2007/0031573 A1 ［０００４］ WO 2005/042757 A1 KR 10-0449887 B1 CN 1860238 A AU 2003285804 A	