

業務仕様書

1. 件名 (単価契約)サンマ孕卵数分析業務
2. 業務目的 本業務は、黒潮続流域において行われた調査において採集されたサンマ親魚のブアン液固定・エタノール置換処理を行った卵巣標本から、産卵に寄与する孕卵数を個体ごとに計数することを目的とする。
3. 業務場所 請負業者指定場所
4. 納品場所 神奈川県横浜市金沢区福浦 2-12-4
国立研究開発法人水産研究・教育機構
水産資源研究所
5. 予定数量 100 検体
6. 業務期限 令和 3 年 12 月 28 日
7. 業務内容 黒潮続流域において行われた調査において採集されたサンマ親魚のブアン液固定・エタノール置換処理を行った卵巣標本を材料として孕卵数の計数を下記の「分析内容」通り行うこと。なお、分析作業は同様の作業に精通したものが当たること。
8. 分析内容
 - ①送られてきたサンプルとサンプル野帳を照合し、サンプルに欠損がないかを確認する。
 - ②サンプルより、サブサンプル（約 5mm）を前位・中位からそれぞれ抽出する。前位・中位からとったサブサンプルの重量をそれぞれ記録する。
 - ③前位・中位のサブサンプルごとに卵径組成(最大で n=500、無卵黄期細胞を含む)を求め、2 つのモードのうち大きいほうの卵径モードの卵母細胞の数を計数する。モードが 3 つみられる場合、真ん中のモードの卵母細胞の数を計数（一番大きいモードはすでに一部が排卵されている可能性があるため、計数の対象としない）。卵径組成の測定については、ImageJ などの計測機能を有した画像解析ソフトで実施すること。

④孕卵数は以下の式により、前位・中位のサブサンプルごとに求める。なお、
卵巣重量はこちらで計測済みのものを用いる。

$$\text{孕卵数} = \text{サブサンプル中の選んだモードの卵数} \times (\text{卵巣重量} / \text{サブサンプル重量}) \times 2$$

ただし、以下のことに注意する。

- ・再現性を確保するため、解剖した卵細胞を全て撮影すること。
- ・卵の計数および計測を PC 上で行う場合は、計測履歴を残した画像も併せて保存すること。なお、撮影画像は、縮尺が分かるように「画像内にスケールを入れる」または「撮影倍率でのマイクロメーターの画像の添付」などを行うこと。
- ・画像解析ソフトを用いた計数・計測については imageJ 等の簡便かつ汎用されているソフト等を用いること。使用するソフトについては、担当者と協議の上、決定する事。

9. 成果物

以下に示す成果物をメール等により提出のこと。

- ・孕卵数の係数に用いた卵母細胞の撮影画像と計数画像
- ・卵径組成の計測に用いた卵母細胞の撮影画像と計数画像
- ・孕卵数の計数結果（標本番号との対応が明瞭なもの。エクセルファイルで保存）
- ・卵径組成の計測結果（個体ごとにエクセルファイルで保存）
- ・画像については jpeg または bmp 形式とする。

10. 特記事項

- ・作業中に疑義が生じた場合は、担当者と適宜打ち合わせを行い、合意を得たうえで作業を進行すること。
- ・業務に必要な資材、運搬等はすべて契約締結業者が手配すること。
- ・分析終了後に、当初のクロスチェックにより不備が発覚した場合は、やり直しを命ずる場合がある。
- ・詳細については担当者の指示に従うこと。