ミニシンポジウム記録 魚類における不妊化研究の最前線

4. 代理親魚技術を用いた遺伝的不妊化魚の
大量生産技術の開発吉浦康寿,¹ 木下政人,² 吉川廣幸³¹水産研究・教育機構瀬戸内海区水産研究所,²京都大学農学研究科,³水産研究・教育機構水産大学校4. Development of the mass production of genetically
sterile fish using the method of surrogate broodstockYASUTOSHI YOSHIURA,¹ MASATO KINOSHITA²AND HIROYUKI YOSHIKAWA³

¹*Yashima station, Stock Enhancement and Management Department, National Research Institute of Fisheries and Enhancement of Inland Sea, Japan Fisheries Research and Education Agency, Takamatsu, Kagawa 761-0111, ²Division of Applied Bioscience, Graduate School of Agriculture, Kyoto University, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, ³Department of Applied Aquabiology, National Fisheries University, Japan Fisheries Research and Education Agency, Shimonoseki, Yamaguchi 759-6595, Japan*

1. はじめに

標的遺伝子を効率よく改変するゲノム編集技術を水産分野に導入することで、優良品種が短時間で作出可能となってきた。現在、この技術による養殖魚の品種改良が注目されているが、実用化した場合、環境保護の観点において、ゲノム編集魚の逃亡による野生魚との遺伝子交雑問題は避けられない。そこで、養殖魚の不妊化に着目した。魚類では、三倍体化等の不妊化技術はあるものの、いずれの方法も実用化にあたり確実性が乏しい。我々は、ゲノム編集技術を用いて100%の不妊化が可能な遺伝的不妊魚を作出し、その大量生産技術の開発を目指している。

2. 遺伝的不妊魚の作出

不妊化に関わる遺伝子として、雌では卵形成において卵黄蓄積に必須な卵刺激ホルモン受容体 (Fshr) を標的とする。fshr 欠損メダカの雌は不妊で、雄は不妊ではないこと¹⁾が明らかなため、魚類における雄の不妊化遺伝子の同定も鍵となる。そこで、精子核特有のタンパク質でDNAを保護するプロタミン (Prot) 或いは精子の鞭毛を構成するダイニン (Dnai1) を候補にし、両者の精子形成における役割を解明していく。現在、トラフ

グの、第1世代のfshr変異導入親魚を確保している。この親魚から得られる第2世代のfshr欠損ホモ個体の作出に成功した。さらに、Dnai1の遺伝子破壊したトラフグの作出も試みている。

3. 遺伝的不妊魚の大量生産技術の開発

ゲノム編集でFshrおよびDnai1の遺伝子を欠損した場合、当然、交配による大量生産はできない。そこで、代理親魚法を用いた全雌の遺伝的不妊化魚だけを大量生産する方法を考案した。既に、東京海洋大学・吉崎らとの共同研究で、メダカfshr欠損体 (ホモ不妊個体) の生殖細胞を代理親魚へ移植し、ホモ不妊個体の大量生産が可能であることを示した。²⁾ この系を用いて、fshrとdnai1の二重欠損体でも、同様に遺伝的不妊魚が大量生産できる技術を開発し、養殖対象魚のトラフグで証明していく。トラフグの場合は、クサフグを用いた代理親魚法を導入する。今回は、さらにトラフグの生産効率をあげるため、生殖細胞のないクサフグを代理親にして、移植した生殖細胞由来のトラフグ卵だけを産む技術の確立に挑む。生殖細胞のないクサフグは、生殖細胞の発生に不可欠なDEAD END (Dnd) 遺伝子をゲノム編集で欠損させ、機能欠損が期待できるフレームシフト変異を持つF1の作製 (ヘテロ) に成功した。

4. 今後の課題

現在、遺伝的不妊化魚の作出に必要な候補遺伝子に関する情報が少ない。養殖魚へ導入する前にメダカをモデルとした不妊化が可能な遺伝子の探索が重要である。不妊化のための遺伝子には、今回のような生殖線の発達あるいは、生殖細胞側の発生、分化に関与するものがある。今後、様々な不妊化遺伝子が同定され、これらを組み合わせることで、雌雄ともに完全に不妊化が可能な技術が開発できる。また、産業的に利用可能な生産効率の高い代理親魚技術の開発も必要である。

文 献

- 1) Murozumi N, Nakashima R, Hirai T, Kamei Y, Ishikawa-Fujiwara T, Todo T, Kitano T. Loss of follicle-stimulating hormone receptor function causes masculinization and suppression of ovarian development in genetically female medaka. *Endocrinology* 2014; **155**: 3136-3145.
- 2) Nagasawa K, Ishida M, Octavera A, Kusano K, Kezuka F, Kitano T, Yoshiura Y, Yoshizaki G. Novel method for mass producing genetically sterile fish from surrogate broodstock via spermatogonial transplantation. *Biol. Reprod.* 2019; **100**: 535-546.