

【4-1408】 遺伝子編集技術を用いた不妊化魚による外来魚の根絶を目的とした遺伝子制圧技術の基盤開発 (H26～H28)

岡本 裕之 (国立研究開発法人 水産総合研究センター)

1. 研究開発目的

近年メダカにおいて成熟に関わる遺伝子の機能阻害による雌特異的不妊化魚が作出された (Murozumi et al. 2014)。この魚では雌の成熟に関連する遺伝子だけが機能阻害されているため、その遺伝子を持つ子孫の雄の子供は次世代を残すことができるが、雌の子供は子孫を残すことができない。このような性特異的な不妊化魚を作出、放流し、標的外来魚集団中で自然交配が繰り返されることによって、集団内の妊性に関わる遺伝子を不妊化 (不活化) したものに徐々に置き換えることによって、妊性のある雌を減らしていくことができると考えられる。本研究は、このような性特異的に不妊化した遺伝子を用いた新たな根絶手法として考案した“遺伝子制圧”手法の基盤技術の開発を目的としている。“遺伝子制圧”手法は、集団中の不妊化遺伝子の占有率を上げることに一次目的があり、資源量が増加しても過去の放流努力が無駄になることがなく、少量ずつでの放流でも確実に効果が上がる点が革新的である。また遺伝子編集 (ゲノム編集) 技術を用いて、これまで極めて困難であった不妊化遺伝子の多重化によって駆除力の強化が可能である。“雌特異的不妊化遺伝子搭載魚”の増産については、ニジマス等において確立された仮腹技術を利用することにより、その大量生産が可能となる。本研究は、不妊化遺伝子搭載魚を用いた革新的な外来魚の根絶技術の基盤開発を世界に先駆けて推進し、極めて困難な侵略的外来種の根絶に貢献することを目的としている。

2. 研究の進捗状況

(1) 不妊化遺伝子搭載魚の作出技術の基盤開発

ブルーギルの発現遺伝子 (精巣、下垂体、肝臓、卵巣由来) およびゲノム (筋肉由来) の塩基配列解析を行い、目標としていた 2 つの雌特異的成熟関連遺伝子である *foxl2* と *fshr* についてゲノム DNA 配列を明らかにした。さらにその 2 遺伝子それぞれに対して特異的に機能を不活化するために用いる、ゲノム編集技術の一つである Crispr/Cas9 システムに使用する RNA の合成を終了した。今年度までの達成目標は概ね終了し、さらに、緑色蛍光タンパク (GFP) RNA や人工ヌクレアーゼ RNA の受精卵への顕微注入技術開発など、次年度の研究計画の一部について前倒しで研究を進めており、計画以上に順調に進捗している。

(2) 不妊化遺伝子搭載魚の増殖技術の基盤開発

国立研究開発法人水産総合研究センター増養殖研究所の上浦庁舎 (大分県) および玉城庁舎 (三重県) にブルーギルを飼養するための遺失防止措置を施した飼養施設を設置し、特定外来生物の飼養許可の申請、取得を行い、ブルーギルならびに近縁種 (パンプキンシードとロングイヤー) の通年飼育を開始した。ブルーギルの採卵については、飼育施設の収容から日が浅いためか自然催熟および自然交配については成功していないが、産卵期の野外採取個体へのホルモン注射により、人為催熟・採卵、人為交配および近縁種との種間交配について成功事例を数回得た。現在、ふ化から稚魚までの初期餌料の検討など初期飼育条件の検討に取り組んでいる。また精子の凍結技術の開発を行い、人工授精に使用できる実用的な精子凍結条件を明らかにした。さらに借り腹技術に必要な稚魚腹腔への生殖細胞の注入試験など、生殖細胞の移植条件の検討を開始するなど、次年度の研究計画の一部についても前倒しで行った。性転換や三倍体の作出については、人為催熟技術が向上し安定的に人為交配できるようになり次第取り組む予定で、概ね計画通りに進捗している。

(3) 外来魚の生物特性の把握と資源量評価手法の開発

分子マーカーを用いた琵琶湖のブルーギルの資源量の推定ならびに個体群動態 (分布の中心ならびに湖内における移動の実態) を明らかにするため、次世代シーケンサーを用いたマイクロサテライトマーカー (MS) の開発を行った。次に琵琶湖内の複数地点において網羅的なブルーギルのサンプリン

グを行い、MSによる各集団の遺伝的特徴を推定した。また、形態解析と食性調査も併せて行い、琵琶湖内におけるブルーギルの遺伝的分化ならびに局地適応（複数の繁殖集団の存在）の可能性を明らかにした。研究は概ね計画通り順調に進捗している。

3. 環境政策への貢献（研究代表者による記述）

特に記載すべき事項はない。

4. 委員の指摘及び提言概要

技術的には期待できるが、技術開発に10年以上もかかる点から先が長い研究である。実用化に向けて集団構造を早く明らかにし、法的認可の獲得や合意形成に向けた努力を進めてほしい。しかしながら、不認可遺伝子が確実に発現可能なのか説明不足であり、また技術的に可能であっても野外での実施には在来群集への影響や法的制約などELSIの視点からの検討が必要であろう。

5. 評点

総合評点： B