

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

研究代表者：岡本裕之（水産研究・教育機構）

共同研究機関：三重大学

平成26-28年度 累積予算額88,959千円

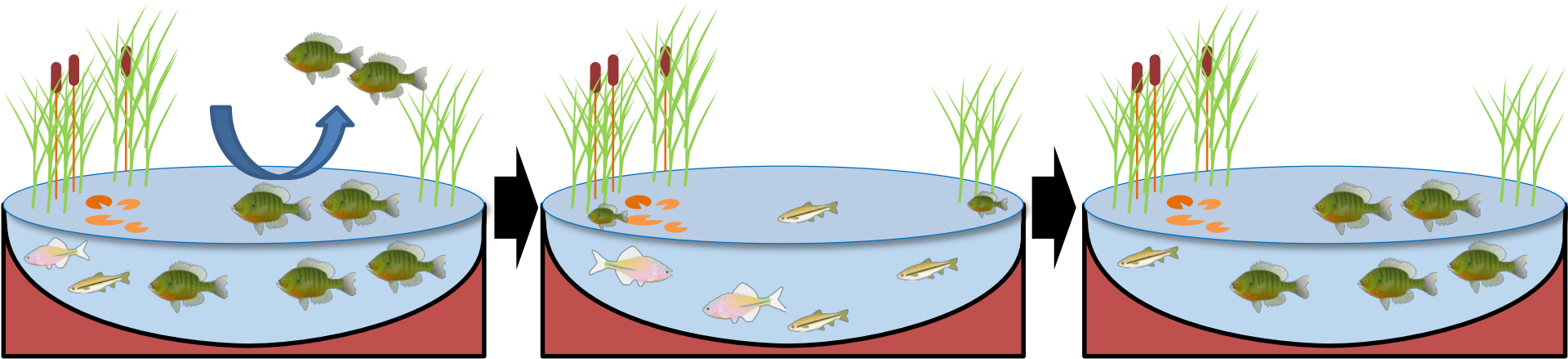


背景：現在の外来魚の駆除手法

釣り、網などによる捕獲
池干し

交配可能な数尾が残ると・・・

数年後、再び増殖！



毎年複数回の駆除作業

多大な労力

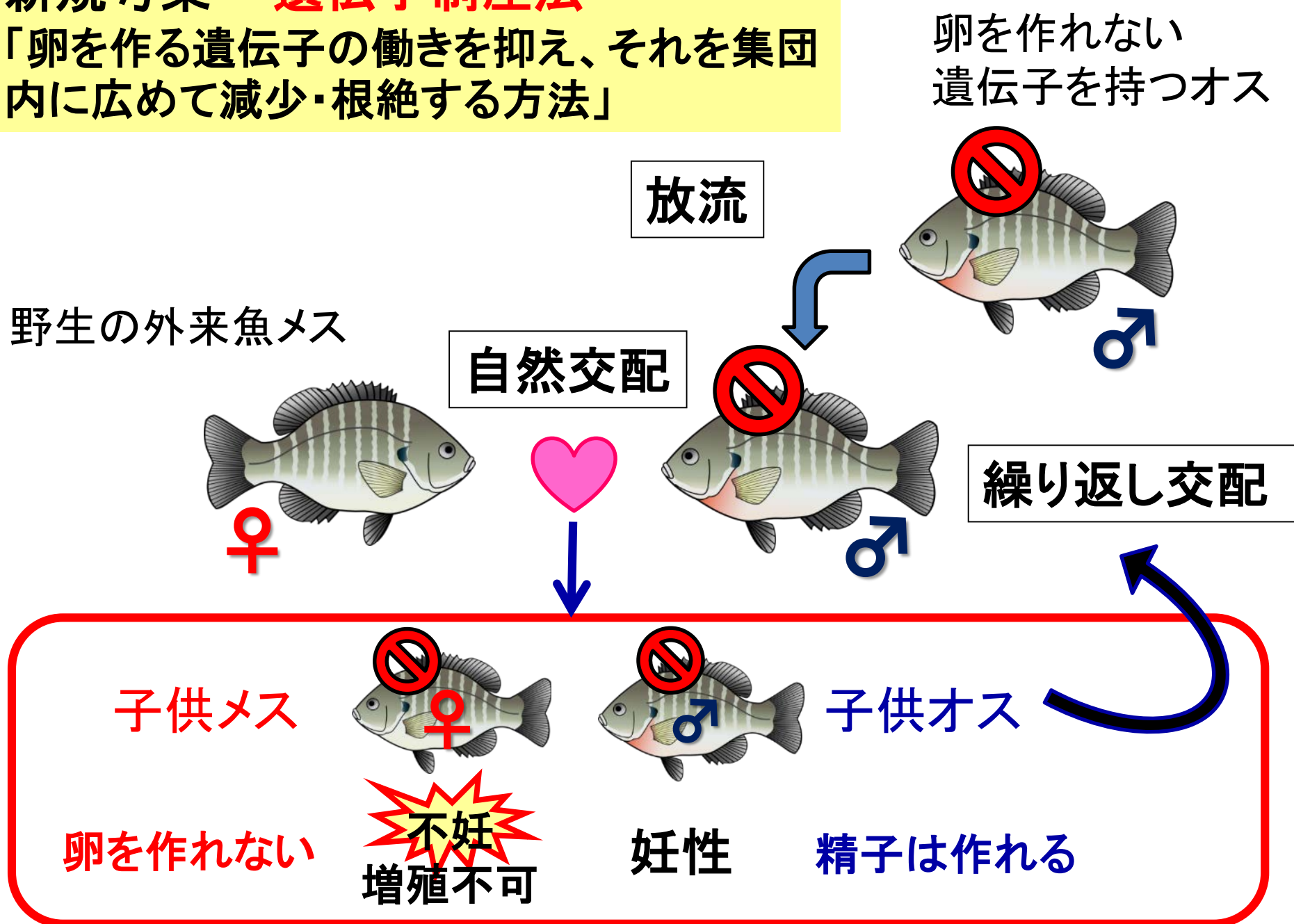
完全に池干しできる場所以外、完全に駆除するのは困難



侵略的外来魚(ブルーギル)を根絶する
ために新たな技術開発が必要

新規考案 “遺伝子制圧法”

「卵を作る遺伝子の働きを抑え、それを集団内に広めて減少・根絶する方法」

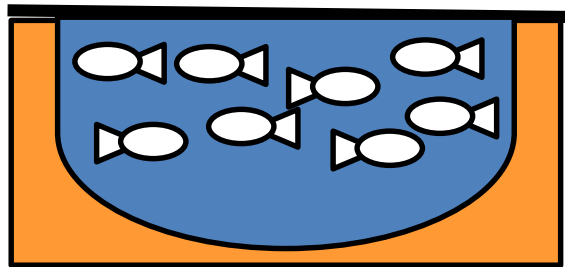


遺伝子制圧方式の特徴とメリット

必要な放流量は
年級群の数%

雌不妊化遺伝子を持つオス

放流



低コスト

環境影響
少ない

- 特徴① 魚の交配を利用
- 特徴② 放流で効果が蓄積
- 特徴③ 最後の一尾まで駆除
- 特徴④ YY方式との併用可能

メリット① 放流数が少なく、生産コストが安い

メリット② 放流による個体数の増加が少なく、生態系への影響が少ない

メリット③ リバウンド(再増加)の影響が少なく、過去の放流が無駄にならない

研究体制

①不妊化遺伝子搭載魚の作出技術の基盤開発

水産研究・教育機構：岡本裕之、藤原篤志、栗田潤

ブルーギルの雌の成熟に必要で雄の成熟に影響しない遺伝子の機能阻害技術の確立

②不妊化遺伝子搭載魚の増殖技術の基盤開発

水産研究・教育機構：山口寿哉、奥宏海、正岡哲治

雌特異的不妊化遺伝子搭載魚の効率的な増産に必要な、別個体の生殖細胞を移植して卵を形成させる技術(借り腹技術)の基盤技術の開発

③外来魚の生物特性の把握と資源量評価手法の開発

三重大学：河村功一

分子マーカーを用いた資源量や有効集団サイズの調査や繁殖・行動等のデータ集積により、適切な放流手法の検討に必要な生物要因および環境要因の推定

研究開発目的

① **複数の異なる遺伝子**について雌不妊化遺伝子搭載魚を作出

② 性転換、借り腹、精子凍結について**実用条件**を確立

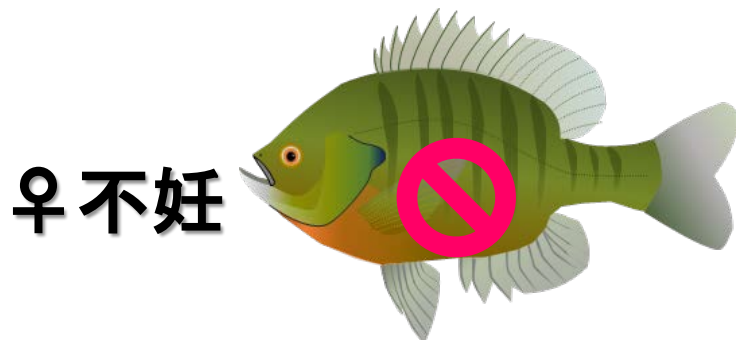
③ 個体識別に有効な分子マーカーの選定と**簡易識別法**の確立

分子マーカーを用いたブルーギルの生態の詳細な解明

カギとなるメス不妊化オスの作出は2つの新技術で実現！

I. 遺伝子編集技術

メス特異的不妊化魚の作出



卵を作る遺伝子



機能抑制

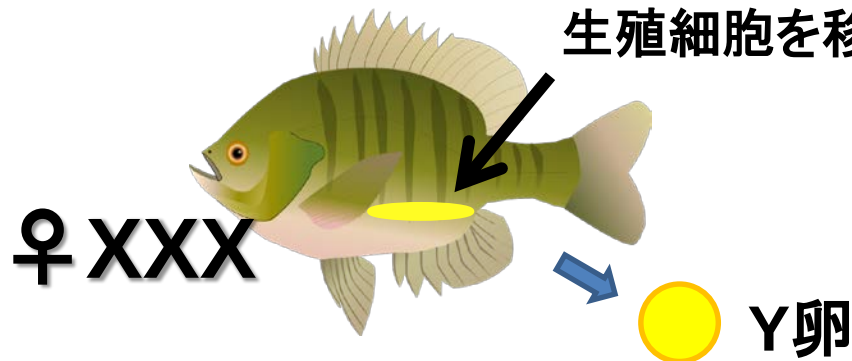


メス特異的不妊化遺伝子

II. 借り腹技術

メス不妊化オスの増産

♂YYから
生殖細胞を移植



メス特異的不妊化YYオス
から生殖細胞を移植



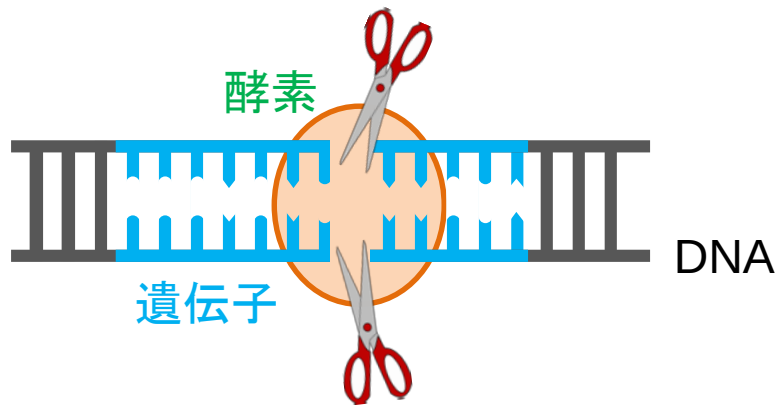
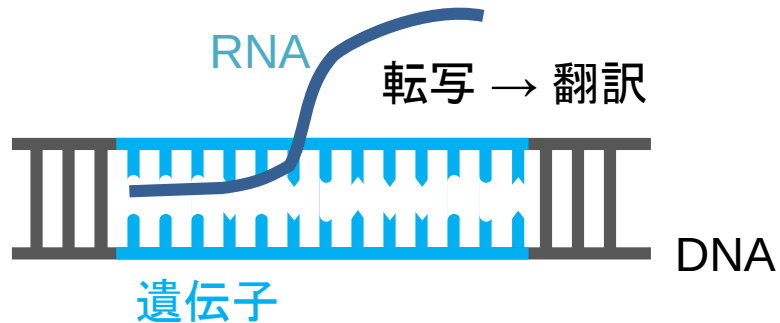
Y染色体を持つ卵



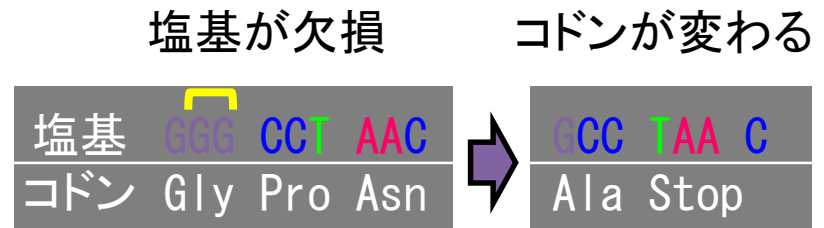
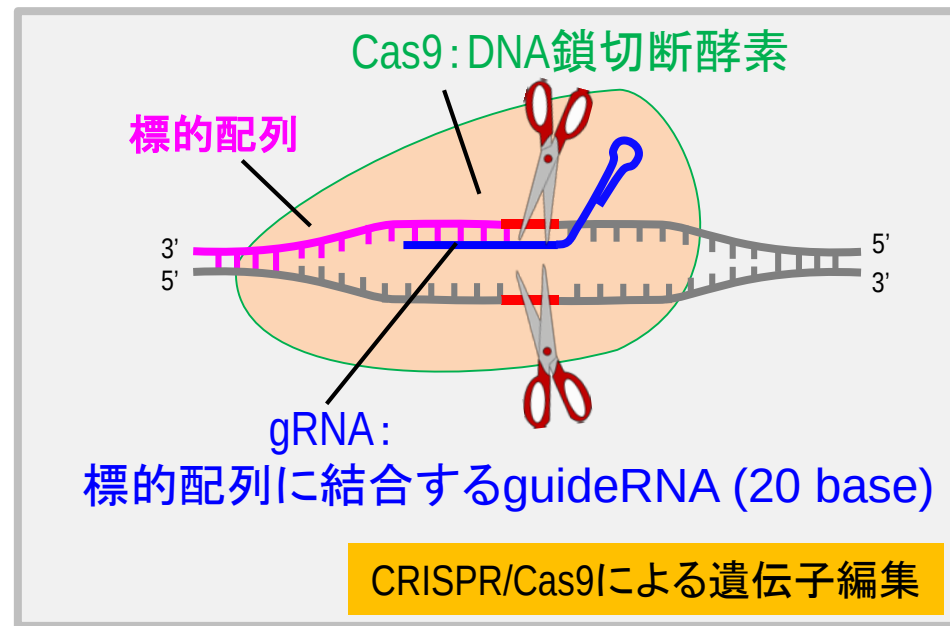
メス不妊化YYオスの
大量生産へ

遺伝子編集

- ・ 近年開発された技術
- ・ 酵素により特定の遺伝子配列を切断
- ・ 狙った遺伝子のみを編集



遺伝子が欠損・正常に転写されない

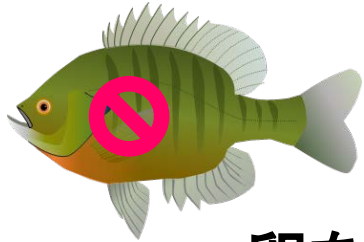


- ・ ストップコドンになる
- ・ アミノ酸が変わる
- ・ タンパクの立体構造が変わる

遺伝子の機能を抑制 or 失われる

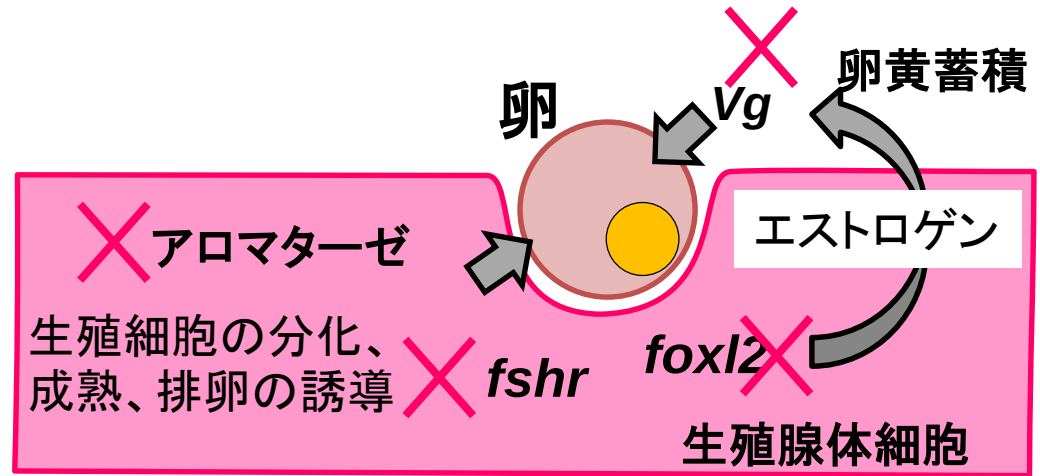
①不妊化遺伝子搭載魚の作出技術の基盤開発（水産研究・教育機構）

I. 遺伝子編集技術 メス不妊化魚の作出



♀不妊

卵を作る遺伝子
機能抑制



→ **メス特異的不妊化遺伝子**

①ー1: ブルーギルのゲノム解読

次世代シーケンサーによりゲノム情報の解読を高速化・高精度化

①ー2: ブルーギルの遺伝子解析

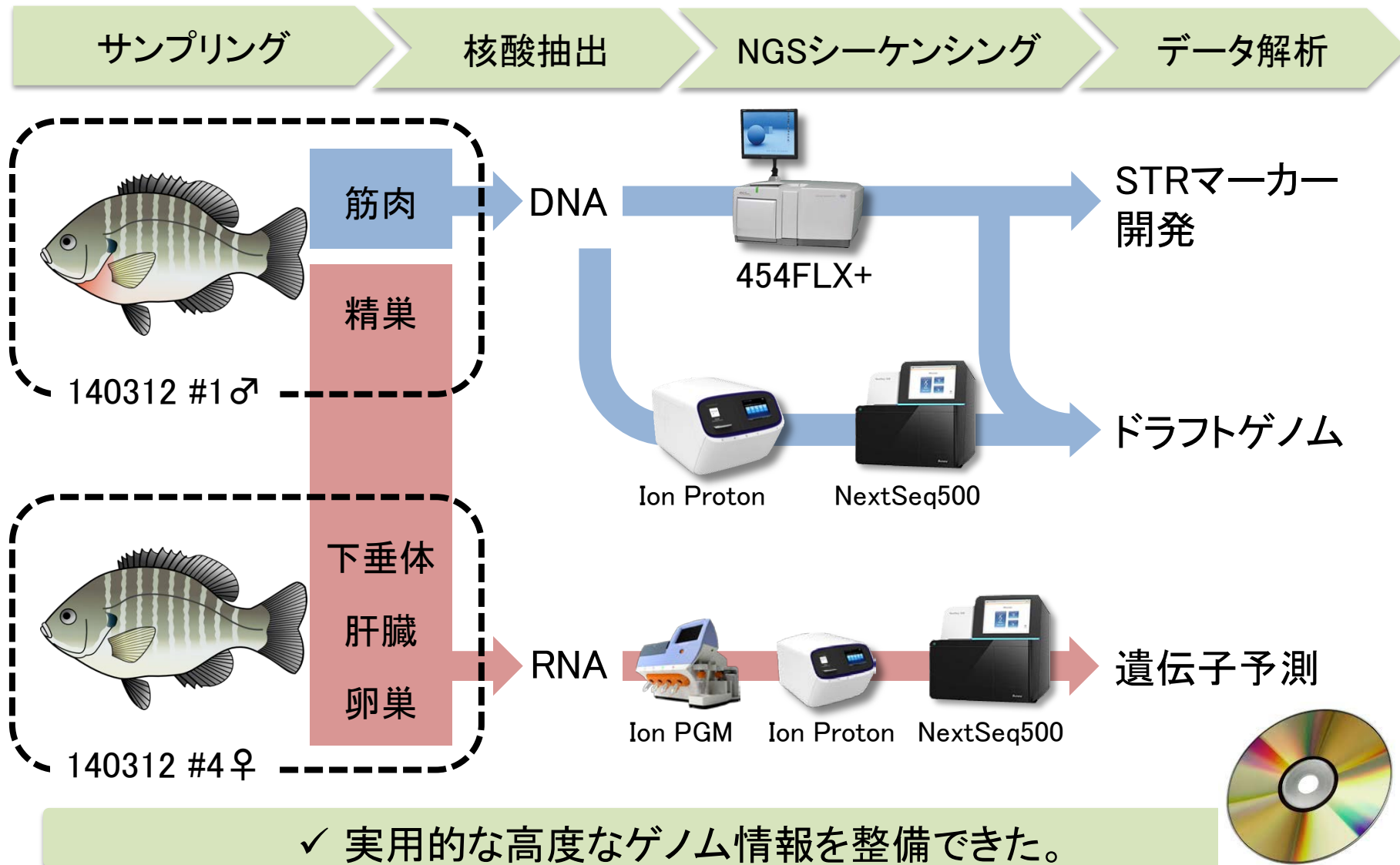
ゲノム情報から卵を作る遺伝子を探索、塩基配列決定

①ー3: 卵形成に関わる遺伝子の遺伝子編集

遺伝子編集技術(CRISPR/Cas9)により卵巣の発達や卵形成に関わる遺伝子の機能が欠損した魚を作出

ブルーギルゲノム解析の概要

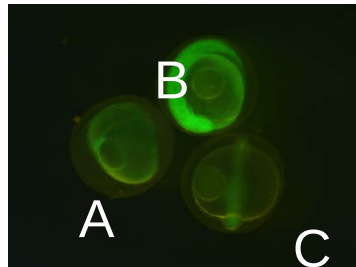
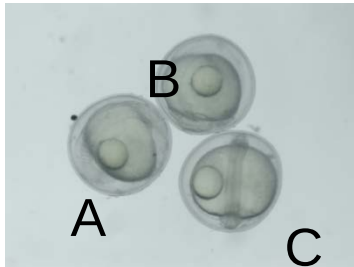
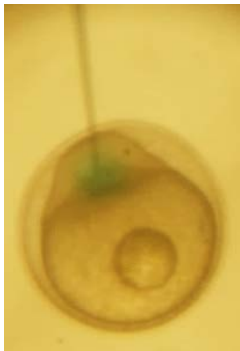
- 1) 人工ヌクレアーゼ設計に必要なゲノムデータ、遺伝子データを整備
- 2) 集団遺伝学解析のためのSTRマーカー(候補)を開発



卵が作れなくなる？

FSHR, FoxL2, など

受精卵にRNAを顕微注入



塩基の欠損を確認

不妊化遺伝子ヘテロ
F1世代

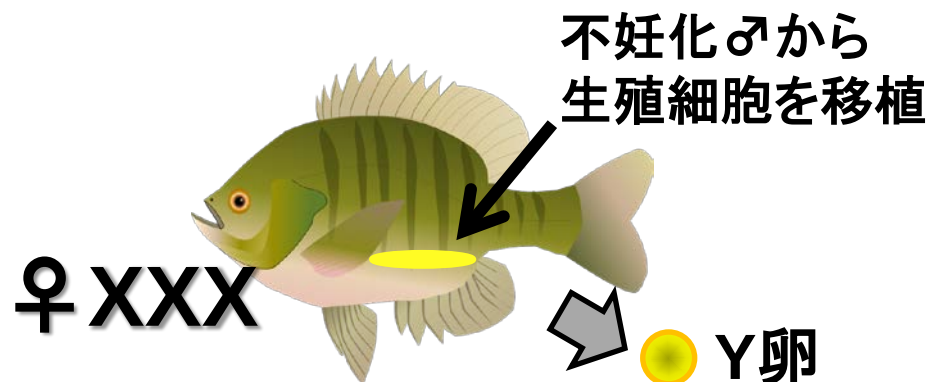


編集魚を作出、飼育開始

②不妊化遺伝子搭載魚の増殖技術の基盤開発（水産研究・教育機構）

II. 借り腹技術

メス不妊化オスの増産



メス不妊化遺伝子搭載オス
から、精子を作る細胞を
雌に移植

↓
Y染色体を持つ卵

↓
メス不妊化YYオスの
大量生産へ

②－１：ホルモン処理による性転換

遺伝的オス(XY)をホルモン処理でメスにしてY卵をつくり
、交配することで超オス(YY)を作る

②－２：染色体操作による近縁種の三倍体(不妊)作出

卵巣発達や卵成熟は機能するが、自身の卵は作れない魚を作る

②－３：借り腹技術で卵を作るための細胞移植技術

細胞を移植して、卵を作れない遺伝子を持つ卵を作る

生殖細胞移植

不妊化遺伝子搭載メスは不妊
→ 卵がつかれない

遺伝子編集
不妊化遺伝子



♀ XX

性転換・交配



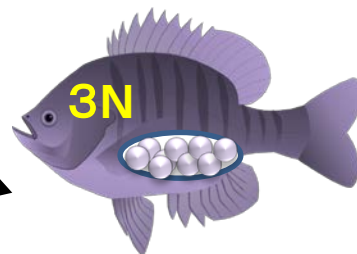
♀ XY



♂ YY

移植・借り腹

三倍体 ♀

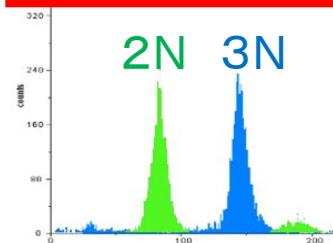


3N

× 生殖細胞形成

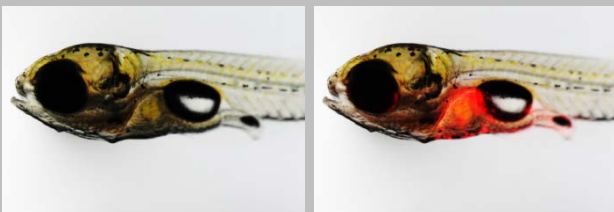
○ 生殖細胞の分化、成熟、
排卵の誘導、卵黄蓄積

三倍体作出

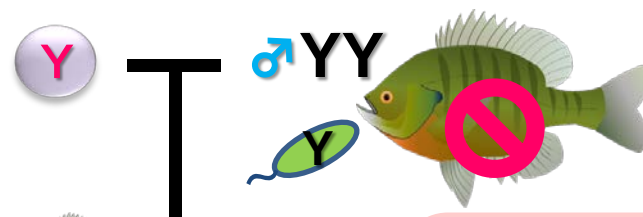


DNA量

細胞を顕微注入



移植した細胞(赤色蛍光)



♂ YY

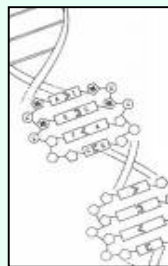
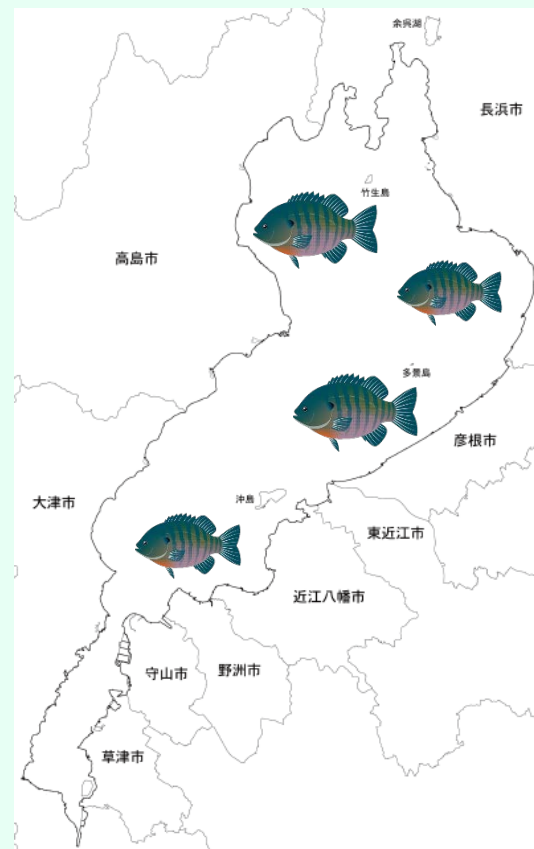
全て
メス特異的不妊
化遺伝子搭載
超オス(YY)

大量生産に必要な基盤技術を確立

③外来魚の生物特性の把握と資源量評価手法の開発（三重大学）

適切な放流手法を検討するため、分子マーカーを用いて、ブルーギルの生物特性および環境要因の推定を行う。

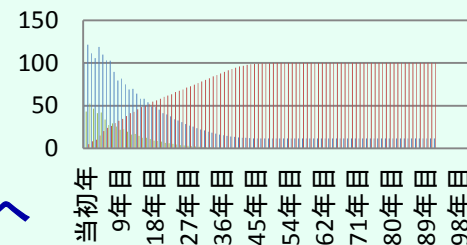
→繁殖特性・資源量評価技術の開発
(駆逐シミュレーションの基盤データを収集)



分子マーカー

資源量
生命表
繁殖様式
行動範囲

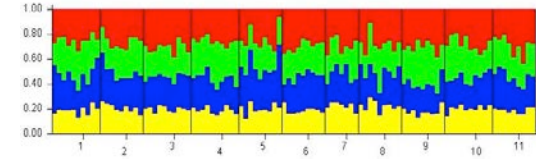
より精度の高い
駆逐シミュレーションへ



- 集団構造と生息状況 -

【遺伝的特徴】

- 1) 集団により遺伝的特徴と形態的特徴が異なる
- 2) 全体的に遺伝的多様性は低下傾向 → 駆除事業の成果か
- 3) **北湖と南湖で遺伝的に分かれる** → 繁殖集団が複数存在する可能性

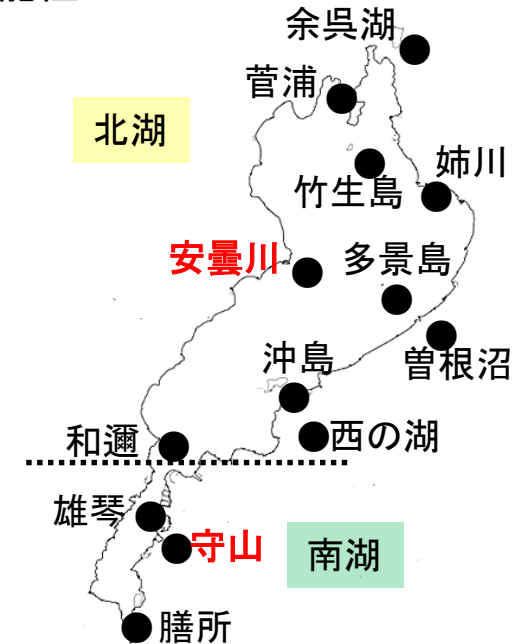


【繁殖集団数】

- 1) 複数の繁殖集団が存在するものの、集団間での遺伝的混合率が高い
- 2) 集団間における距離による隔離の存在
→ **個体レベルでの移動能力は低い**

【分散様式】

- 1) 守山・安曇川付近からの分散が大きい
→ **北湖と南湖における分布拡大の中心の可能性**

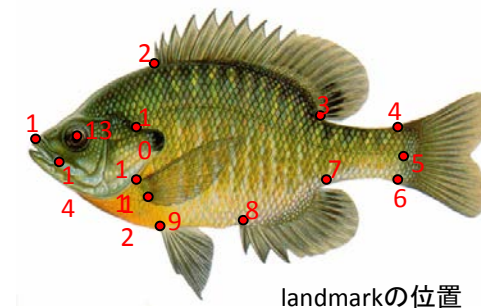
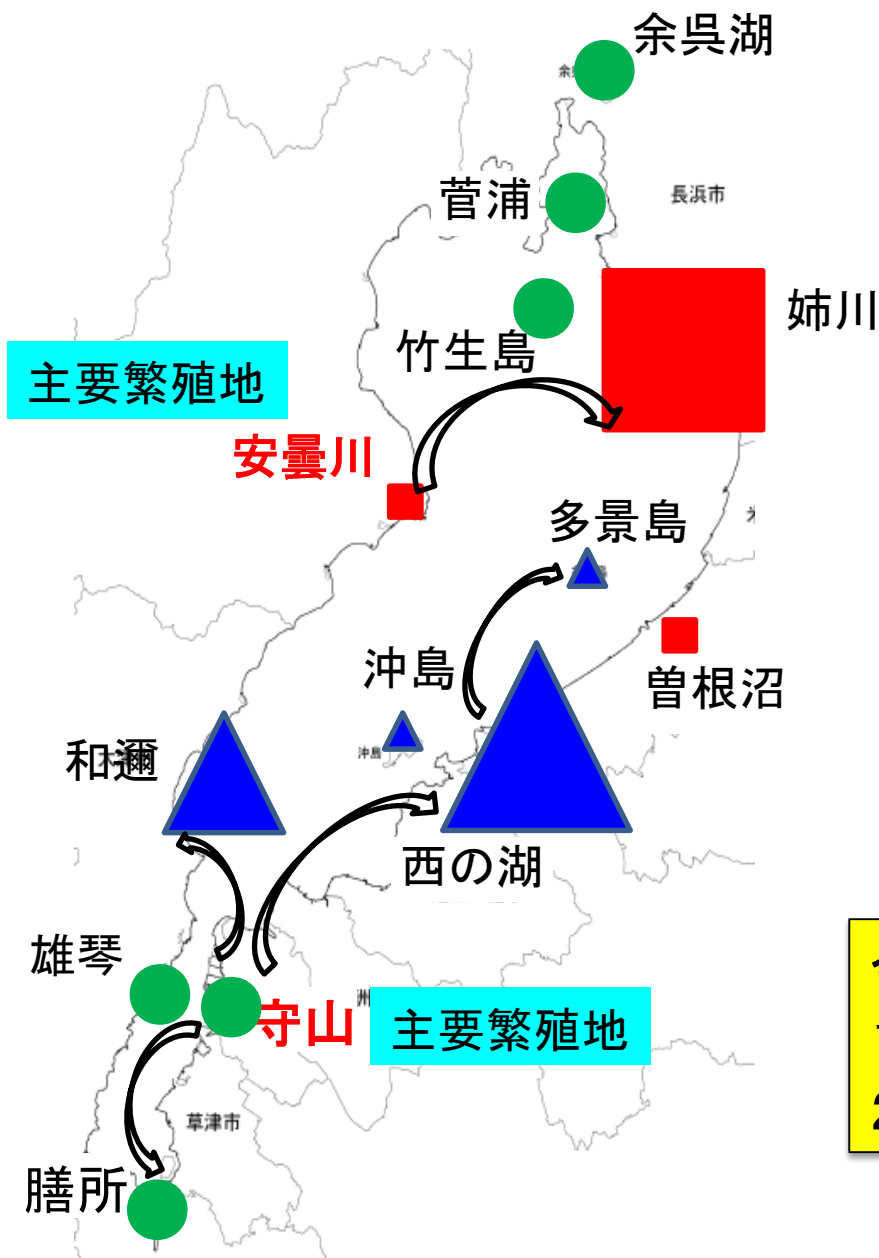


【有効集団サイズ】

- 1) 各集団のブルーギルの有効集団サイズは減少傾向 → 駆除事業の成果か
- 2) 有効集団サイズはいずれも南湖の生息地が大きい → **南湖は繁殖の中心である可能性**
- 3) 3歳魚から4歳魚にかけて個体数が大きく減少している可能性
- 4) 繁殖貢献度は加齢と共に増加

不妊化遺伝子搭載魚の放流は、3歳魚の使用が効果的か

適切な不妊化魚の放流方法の構築(イメージ図)



- : 尾柄高が高いグループ
- ▲ : 中間型グループ
- : 尾柄高が低いグループ

今後の検討項目

1. 最適放流尾数
2. 最適放流サイズならびに放流時期

主な研究成果

- 1) ブルーギルの全ゲノム解析を完了
- 2) 雌妊性遺伝子編集魚 (F0、F1) の作出と飼育の開始
- 3) 性転換・3倍体の作出手法を開発
- 4) 琵琶湖の集団構造と移動様式を解明

・従来の駆除技術では対応できない外来魚問題に対応
しうる、新たな根絶技術の開発に必要な技術基盤が開
発された。

社会・経済への成果の波及貢献

「国連生物多様性の10年」2011-2020

2010年(平成22年)10月に愛知県名古屋市で開催された生物多様性条約第10回締約国会議(COP10)で採択



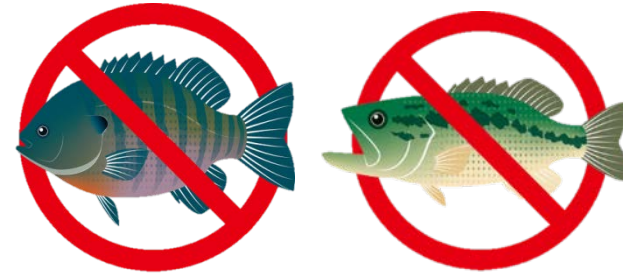
1. 「生物多様性戦略計画2011-2020(愛知目標)」

→ 目標9:「侵略的外来種が制御され、根絶される」

→ 目標12:「絶滅危惧種の絶滅・減少が防止される」

→ 目標7:「農業・養殖業・林業が持続可能に管理される」

目標19:「生物多様性に関連する知識・科学技術が改善される」



2. 短期目標(2020年)

「生物多様性の損失を止めるために効果的かつ緊急な行動を実施する」

→ “遺伝子制圧”駆除技術を開発

3. 長期目標(2050年)

「生物多様性が評価され、保全され、回復され、そして賢明に利用され、それによって生態系サービスが保持され、健全な地球が維持され、すべての人々に不可欠な恩恵が与えられる。」

→ 外来魚の根絶を実証、実用化へ

- ・ 生態系の回復、漁業被害の改善 → ラムサール条約湿地など
- ・ 他の外来種への応用

“遺伝子制圧法”の全開発行程

実証試験の実施

実証魚の開発
と実証試験の準備

基盤技術開発

H26年

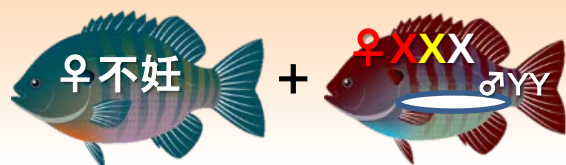
H29年

H32年

H35年

雌不妊化

借り腹技術



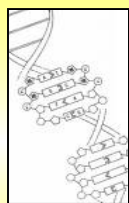
メス特異的不妊化遺伝子搭載魚の開発基盤の確立

実証魚の開発

不妊化遺伝子搭載魚

遺伝子制圧実証魚の開発と生物特性の知見の集積

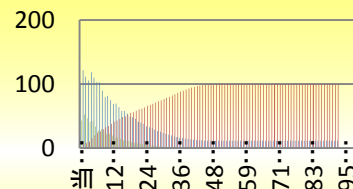
分子マーカー



資源量
生命表
繁殖様式
行動範囲

データ

根絶シミュレーションの適正化



メス特異的不妊化魚を用いた効果的な放流手法の開発

実証試験候補地の選定と社会合意形成の着手

“遺伝子制圧”
技術の実証

実証池での自然交配による
不妊化遺伝子の伝播確認



2020年の試験開始を目標
遺伝子制圧技術の完成!

将来の研究構想

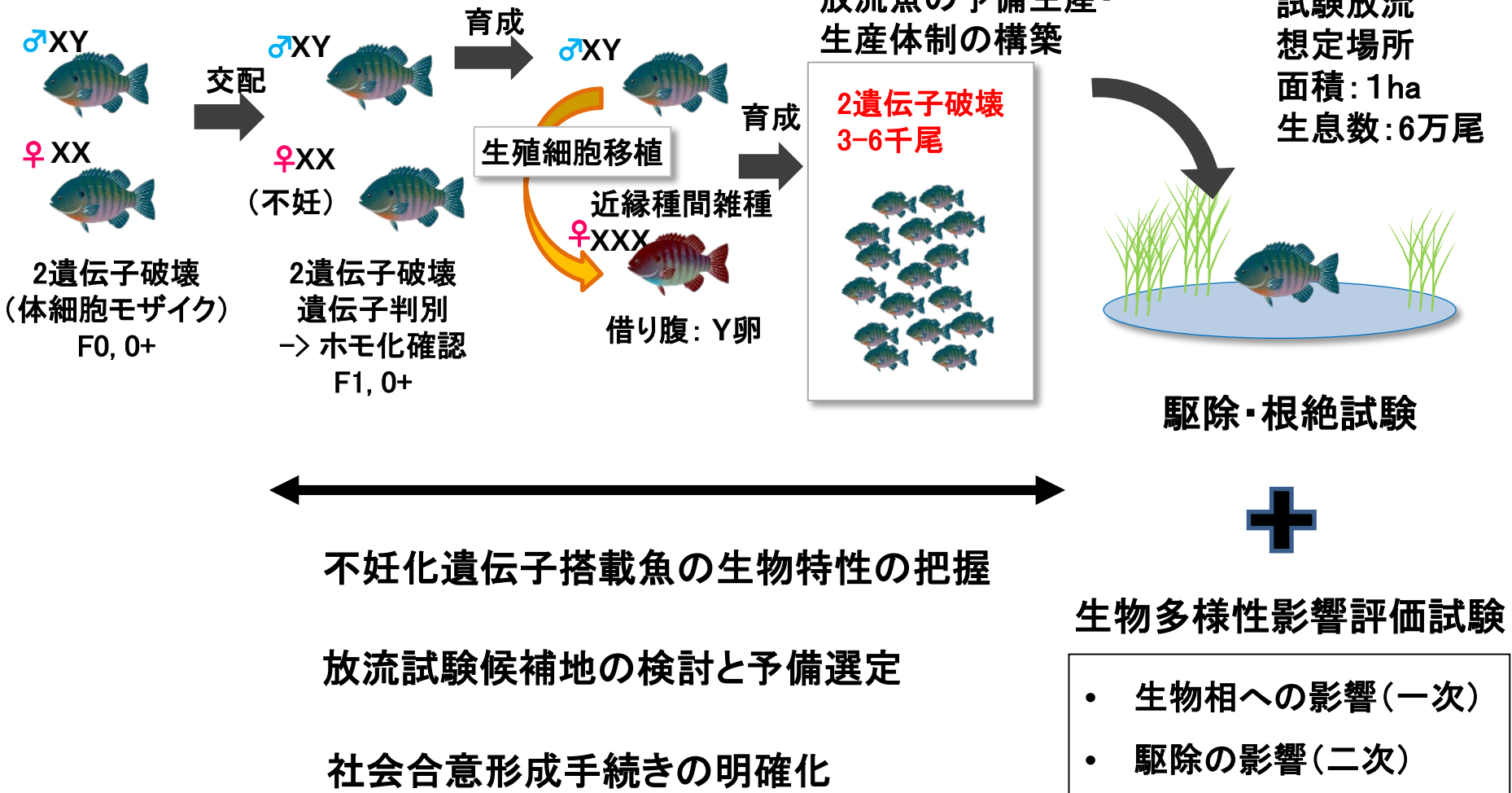
H28年度

H29年度

H30年度

H31年度

H32年度から



補足資料

特定外来生物法：放出等の禁止の例外
カルタヘナ法：放流試験（一種使用）の
申請に必要な取組

特定外来生物法**改正**の概要

H26年改正

(1) 外来生物の定義の改正

(2) 放出等の禁止の例外

(3) 措置命令の対象の拡充

(4) 所有者等不明の土地への立入り等
の手續の整備

(5) 輸入品等の検査等の創設



防除のためなら、放流は可能に！

カルタヘナ法 放流試験(1種使用)に必要な取り組み

1. 生物学的特性に関する知見の蓄積

(分類学上の位置づけ, 自然環境における分布状況, 使用等の歴史及び現状, 生理学的及び生態学的特性)

2. 生物多様性影響に関する知見の蓄積 (評価手法の開発も含む)

競合における優位性, 捕食性又は寄生性, 有害物質の産生性, 交雑性, その他の性質



1. 影響を受ける可能性のある野生動植物等の特定
2. 影響の具体的内容の評価
3. 影響の生じやすさの評価
4. 生物多様性影響が生ずるおそれの有無等の判断

ゲノム編集したブルーギルに関する知見のため

まずは、特定飼育区画等による試験 (2種使用)を実施

- ・ ゲノム編集したブルーギルの不妊性
- ・ ブルーギルに対する競合性
- ・ 繁殖行動, 繁殖の成功率
- ・ 後代の不妊性, 繁殖行動, 繁殖の成功率

きちんと
確認！

リスクへの
懸念を払拭

