

未来社会創造事業 探索加速型
「持続可能な社会の実現」領域
終了報告書(探索研究期間)

令和3年度
研究開発終了報告書

令和元年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：木下 政人]

[京都大学 大学院農学研究科 准教授]

[研究開発課題名：ゲノム編集・移植技術による早期養殖魚品種の系統化]

実施期間：令和元年11月1日～令和4年3月31日

§ 1. 研究実施体制

(1) 「木下」グループ (京都大学)

① 研究開発代表者：木下 政人 (京都大学農学研究科、准教授)

② 研究項目

- ・ ノックインによる EPA/DHA 合成マダいの作出
- ・ 脂質合成代謝関連遺伝子の探索
(メダカを用いた脂質合成遺伝子発現変動の解析)

(2) 「家戸」グループ (研究機関名)

① 主たる共同研究者：家戸 敬太郎 (近畿大学水産研究所、教授)

② 研究項目

- ・ 脂質合成代謝関連遺伝子の探索
(サクラマスを用いた脂質合成遺伝子発現変動の解析)
- ・ マダイ生殖関連細胞培養法の確立
(親魚生殖巣バイオプシー法の開発)

(3) 「酒井」グループ (遺伝学研究所)

① 主たる共同研究者：酒井 則良 (遺伝学研究所遺伝形質研究系、准教授)

② 研究項目

- ・ マダイ生殖関連細胞培養法の確立
(生殖細胞培養条件の検討)

§ 2. 研究実施の概要

EPA、DHA などの高度不飽和脂肪酸(PUFA)は、ヒトや海産魚で重要な栄養素である。多く海産養殖魚はこの合成酵素を欠くため餌に EPA/DHA を添加する必要がある、餌コストの上昇と原料魚の乱獲が問題となっている。そこでサステイナブルな養殖を可能にするため、1) 欠失した酵素を補い EPA/DHA を自家合成できる養殖魚系統の作出、また、2) 既存の遺伝子発現調節による PUFA 蓄積量の増加法の開発を目指した。加えて、系統作出には数世代の選抜が必要で長期間を必要とするため、3) 世代時間を劇的に短縮する移植による世代時間の短縮法の開発を目指した。

- 1) EPA/DHA を自家合成できる養殖魚系統の作出：マダイは EPA/DHA 合成に必要な $\Delta 4$ -, $\Delta 5$ -不飽和酵素(*fad*)遺伝子を欠く。そこで受精卵へのマイクロインジェクション法を用いて、マダイの $\Delta 6$ -*fad* 遺伝子の下流にメダカ由来の $\Delta 4$ -, $\Delta 5$ -*fad* 遺伝子のノックインを試みた。その結果、低頻度ではあるが、相同組換えによる正確なノックイン、および非相同末端修復による挿入が確認された。
- 2) 遺伝子発現調節による PUFA 蓄積量の増加法の開発：メダカを用いて、塩分、水温および餌(脂質の有無)の3条件を変化させ *fads* 遺伝子群(*fads2a*, *fads2b*, *fad2c*)の肝臓での発現量を検討した。その結果、いずれの遺伝子も脱脂餌の投与で発現量が増加した。加えて、マダイとサクラマ

スにおいて、餌中の高度不飽和脂肪酸の有無による遺伝子発現解析実験を実施した（現在、結果を解析中）。マダイを例にとると、飼料の違いによる遺伝子発現の変化は試験後1週目のサンプルにおいて顕著であった。欠乏飼料により有意に発現が上昇した遺伝子群の特徴として、脂質合成・代謝系と小胞体関連因子の活性化が認められた。具体的な遺伝子名として、*elov16*, *fasn*, *acaca*, *insigl*, *fat-5*といった脂肪酸合成代謝系の酵素の遺伝子が挙げられた。脂肪合成のマスター遺伝子と想定される、転写因子 *srebp* 遺伝子の発現も上昇していた。

- 3) 移植による世代時間の短縮法の開発：まず、マダイ個体からの生殖巣の取り出し方法を検討し、生殖巣からのカテーテル法を試みたが小型魚には適さないことが判明したため、腹部切開により生殖巣の摘出を試みた。その結果、個体を生かしたまま生殖巣を摘出する適切な麻酔と切開・縫合方法を決定した。加えて、摘出した生殖巣より生殖体細胞と生殖原細胞の培養条件の検討を行い、培養条件下で精子形成に成功した。