

講演番号：2A03p07

講演日時：3月18日 15:40～ A校舎03会場

ゲノム編集技術を用いた海産養殖魚の品種改良

Breeding with genome editing technology in aquaculture fish

○岸本 謙太¹、鷺尾 洋平²、豊田 敦³、吉浦 康寿⁴、家戸 敬太郎²、木下 政人¹ (1京大農、2近大水研、3遺伝研、4水研機構瀬水研)

○Kenta Kishimoto¹, Youhei Washio², Atsushi Toyoda³, Yasutoshi Yoshiura⁴, Keitaro Kato², Masato Kinoshita¹ (1Kyoto Univ., 2Kindai Univ., 3National Institute of Genetics, 4Fisheries Research Agency)

【目的】養殖魚は作物や家畜のように品種化が進んでいない。ゲノム編集技術を用いれば、短期間かつ正確に特異的遺伝子破壊による有用形質付与品種の作出が可能になる。本研究では、海産養殖魚であるマダイにおいてCRISPR/Cas9システムを用いて、骨格筋の分化と成長を抑制的に制御するミオスタチン遺伝子 (*MSTN*) の破壊を行うことで、可食部が増大したマダイ品種の作出を行った。

【方法】*MSTN*のエキソン1にsingle guide RNA (sgRNA)を設計した。このsgRNA (25 ng/ul) をCas9 RNA (100 ng/ul) とともに人口授精卵1399粒にマイクロインジェクション法によって導入した。5.5-6か月齢の未成熟魚の鰭由来のゲノムDNAを抽出し、ターゲット領域を増幅後、ヘテロ二本鎖移動度分析 (HMA) により、変異導入魚の選抜を行った。変異導入個体を2歳齢まで飼育し、鰭由来ゲノムDNAにおけるAmplicon-Sequencingによって各個体の変異導入率を求めた後、変異高率群と変異低率群で尾叉長 (吻から尾鰭の切れ目の長さ)、体重、Condition Factorを測定した。また、自然産卵法によって変異体同士を交配しF1世代個体を得た。4か月齢のF1鰭由来のゲノムDNAを抽出し、HMAおよびシーケンス解析によって、有用変異を有す個体を選抜した。また、133日齢に上記と同様の測定を行い、*MSTN* 遺伝子破壊による表現型を評価した。

【結果】ゲノム編集導入世代の5.5-6か月齢の未成熟魚では430尾中233尾の個体に変異導入が観察された。2歳齢の導入魚において、変異高率群と変異低率群では尾叉長に差がなかったが、体重は高率群が有意に大きな値 (1.17倍) を示し、また、Condition Factorも高率群が有意に大きな値を示した。この結果より導入世代ですでに*MSTN*の遺伝子破壊による骨格筋肥大が観察されていることが示された。162尾のF1個体の変異解析の結果、ターゲット領域に遺伝子破壊を促す8塩基欠失を有すホモ接合型変異体6尾を選抜することに成功した。同時に、同条件下で飼育された同変異型のヘテロ接合型および野生型個体を選抜した。さらに133日齢における測定の結果、ホモ接合型個体のCondition Factorはヘテロ接合型および野生型より有意に大きな値を示した。上記の結果によって、筋肉肥大を呈すミオスタチン遺伝子破壊システムの作出に成功したことが示唆された。

【考察】本研究では海産養殖魚において、初めてゲノム編集による特異的遺伝子破壊システムの作出に成功した。すなわち、ミオスタチン遺伝子の破壊によって筋肉増量という期待していた有用形質の付与に成功した。今後は、食品としての機能性や安全性の評価を目的とし、作出したシステムを用いて筋肉の成分解析を行う予定である。

Genome editing, CRISPR/Cas9, aquaculture

発表責任者：岸本謙太 (kishiken@kais.kyoto-u.ac.jp)