

講演番号：2A24p17

講演日時：3月16日 17:26～ 共通講義棟北 A24 会場

海産養殖魚における TILLING 法を用いた新品種の作出技術

A new breeding approach with TILLING method in aquacultured fish

○黒柳 美和¹、成田 篤史²、岸本 謙太³、片山 貴士¹、二川 伸彦²、木下 政人³、吉浦 康寿¹ (¹水産機構瀬水研、²マリンテック、³京大院農)

○Miwa KUROYANAGI¹, Atsushi NARITA², Kenta KISHIMOTO³, Takashi KATAYAMA¹, Nobuhiko NIKAWA², Masato KINOSHITA³, Yasutoshi YOSHIURA¹ (¹FRA, ²Marinotech Corp., ³Kyoto Univ.)

【目的】植物では、TILLING (Targeting Induced Local Lesions IN Genomes) 法という突然変異を利用した技術が農作物の作出に導入されているが、養殖魚を含めた産業動物では実用化にいたっていない。そこで、我々はトラフグを対象として、本手法を用いて養殖魚における品種改良技術の開発を行った。次に、品種改良の実用化を目指して、大規模選抜システムや遠隔地との変異解析パイプラインを構築し、得られた有用変異体から次世代の作製を試みた。さらに、標的遺伝子への導入変異が引き起こすトラフグの表現型を早期に確認するため、ゲノム編集技術により作製した遺伝子欠損体を評価した。

【方法】TILLING 法は、一塩基変異を引き起こす化学変異誘発剤 (ENU) の投与により、目的遺伝子に導入された変異を検出する方法である。一塩基変異検出には、高感度融解曲線解析 (HRM) 法を用いた。調べる標的遺伝子は、トラフグの高産肉性が期待できるミオスタチン (MSTN) とした。変異体を確実に獲得するため、ENU 誘発による MSTN 遺伝子への導入変異効率を調べた。実用化に向けて、大規模な飽和変異集団が作製可能な施設を有する企業と連携した。選抜は、まず、グループ (96-384) 中の変異の有無を調べ、それらを個別飼育し、再度変異を検出することで変異個体 (F₁) を特定した。獲得した有用変異体の精子を用いて、掛け合わせにより次世代 (F₂) を作製し、遺伝変異の確認を行った。また、CRISPR/Cas9 法により MSTN 欠損体を作製し、外部形態及び体長・体重測定を行った。

【結果】トラフグ TILLING において、変異数から算出された導入効率は 1/297kb で、メダカ TILLING ライブラリー (1/350kb) と同等だった。この結果を踏まえ、50,974 尾の飽和変異集団を調べたところ、62 尾の MSTN 変異体を同定し、そのうち 3 尾の有用変異体 (E275X;stop, C310Y, G312E) 獲得に成功した。有用変異体の F₂ サンプルは、ENU による導入変異を遺伝的に受け継いでいた。また、ゲノム編集によって作製された MSTN 欠損体は背部と尾部の筋肉が大きく、10-20% 体重が増加し、10% 程度肥満度も高かった。

【考察】本研究は、トラフグにおける TILLING 法を用いた優良品種作出技術の確立を示し、遠隔地での大規模選抜システムが有効であることを実証した。また、ゲノム編集トラフグによる形質確認により、本法で作製された MSTN 有用変異体は、筋肉量が増える表現型を示す可能性が高いことが考えられた。本研究は、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業の受託により得られた成果です。

TILLING, Mutagenesis, Fish breeding

発表責任者：吉浦康寿 (yoshiura@fra.affrc.go.jp)