

# クロマグロ雌雄判別の分子生物学的即時判別法の開発

阿川泰夫, 本領智記, 澤田好史

(人工種苗グループ)

近畿大学水産研究所

クロマグロの品種改良を行うためには、複数の独立した家系の確立に由来する表現型解析が重要である。独立した家系を確立するには、クロマグロの雌雄を仔稚魚期に判別し生け簀を分ける必要がある。現在のところクロマグロの性に関連する遺伝子は不明であり、これを明らかにすることによってクロマグロの家系確立が可能となる。

## 材料と方法

供試魚は、完全養殖二代目仔魚三齢魚(奄美親魚産)を用いた。これらは大島事業場から毎週出荷され、性表現型が明らかなものである。これら三歳魚の全血よりゲノム DNA を抽出し、representative difference analysis(RDA)法、random amplified polymorphic DNA (RAPD)法、及び Inter Simple Sequence repeat(ISSR)法により雌雄表現型に関連する遺伝子断片の探索を試みた。

## 結果と考察

**RDA 法-1** 雌雄 1 匹ずつそれぞれのゲノム DNA を *Bam*HI 消化し、ゲノムサブトラクション操作を行った。その結果、それぞれの個体に由来の DNA 断片、雄 16、雌 6 を得た。それぞれの断片の遺伝子配列を解読後、各断片に特異的な primer をデザインし、雌雄 2 匹ずつ PCR 反応を行い雌雄表現型に

一致するか否か調査した。その結果、得られた DNA 断片で性表現型に一致して PCR 産物を得るに至らなかった。しかし、用いた個体に特徴的な断片が得られたことからサブトラクション反応は機能したと考えられた。

**RDA 法-2** 従って、サブトラクションする側の個体数を増やせば、個体間の差を縮小出来るのではないかと考え、雄 1 匹に対し雌 8 匹でのサブトラクション加えてこの逆反応雌 1 匹に対し雄 8 匹でのサブトラクション反応を行った。その結果、雄由来と思われる断片 7 本、雌由来と思われるもの 10 本を同定した。RDA-1 に同じく各断片に特徴的な PCR primer を作成し、雌雄 4 匹ずつで確認したところ、性に特徴的な断片を同定するに至らなかった。雌雄マーカー同定には至らなかったが、得られた断片のうち 17 本が各個体に特徴的な多型を示す事が明らかとなった。クロマグロのゲノムサイズは 0.8Gbp であり、しばしばゲノムサイズの大きい生物では RDA 反応が完全では無いとの報告がある事から、RDA 法による雌雄マーカーの同定は困難と思われる。また、近大クロマグロはクローンでは無く、各個体の多型が維持されている事からも RDA による探索は難しいと考えた。

**RAPD 法** 33 本の RAPD primer と、雌雄それぞれ 4 匹の血液由来のゲノム DNA を用い、RAPD 試験を行った。その結果多数の多型バンドを同定したが、雌雄性表現型に一致する断片を得るに至らな

かった。現在各個体に特徴的な多型バンドの解析を進めている。

**ISSR 法** 22本の ISSR primer と、雌雄4匹ずつのゲノム DNA を用いて ISSR 試験を行った。その結

果多数の多型バンドを同定したが、雌雄性表現型に一致する断片を得るに至らなかった。現在各個体に特徴的な多型バンドの解析を進めている。