

## トランスジェニックマダイの作出技術開発

家戸敬太郎

(人工種苗グループ)

近畿大学水産研究所

従来は、養殖魚の品種改良は選抜育種によるものが主流であったが、この方法では有用形質の固定が進むと同時に近交弱勢化や遺伝的多様性の低下などが起こる可能性があり、また、優良な系統の確立には多大な時間と大きな労力がかかる。そこで、有用な遺伝子を直接細胞内のDNAに組み込み発現させることで、迅速な品種改良が可能となるトランスジェニック技術を用いた、マダイの品種改良に関する研究が行われている。すでに、マダイの胚において偏在的に外来遺伝子を発現させるベクターが開発されているが、すべて一過性の発現で宿主ゲノムへの組み込みは、これまでのところ確認されていない。また、現在の技術では、導入された外来遺伝子が次世代に遺伝するかどうかのスクリーニング、すなわち、導入遺伝子の生殖細胞系列ゲノムへの組み込み確認は容易でなく、導入を行った魚が成熟するまで確認ができなかった。

そこで本研究では、導入遺伝子の宿主染色体への組み込み率向上を目指して、ゼブラフィッシュで高い導入遺伝子の組み込み促進効果が確認されている、メダカ Tol2 転移システムをトランスジェニックマダイの作出に応用できるか検討した。また、トランスジェニック技術によるマダイ品種改良の具体的なモデルとして、すでに、サケ、コイ、ドジョウ、ティラピアなどで成長促進、飼料効率の向上などの効果が報告されている、成長ホルモン遺伝子の導入をマダイにおいて実施した。

### メダカ Tol2 転移システムを用いたトランスジェニックマダイの作出

国立遺伝学研究所 川上浩一研究室より提供を受けた、pT2AL200R150G トランスポゾンドナーベクターを基に、新たに構築したトランスポゾンドナーベクターと、試験管内で合成した Tol2 mRNA の共インジェクションを行って、マダイ宿主ゲノムへの導入遺伝子の組み込み促進が起こるかどうか検討した。

ドナーベクターと mRNA の共インジェクションを行った区において、約 15% の宿主ゲノムへの導入遺伝子の組み込みが確認された。また、トランスポゾンドナーベクターのみをインジェクションした場合にも、同程度の組み込みがみられた。しかし、従来と同じトランスポゾン配列を含まないベクターを導入した区では、宿主ゲノムへの導入遺伝子の組み込みは確認されなかった。このことから今後詳細な検討は必要であるが、メダカ Tol2 転移システムが、マダイにおいても利用可能であることが示唆された。

また、本実験で作出したトランスジェニックマダイ 16 尾から生殖腺をサンプリングし、ゲノムを抽出後 nedted-PCR 法により導入遺伝子の組み込みを確認したところ、1 尾において生殖腺ゲノムへの導入遺伝子の組み込みが確認された。

## クロマグロ成長ホルモン遺伝子のマダイへの導入

本研究室でクローニングされたクロマグロの成長ホルモン遺伝子とマダイの  $\beta$ -アクチンプロモーターおよび Tol2 ベクターを組み合わせた pBactTGH-Tol2 を構築し、Tol2 mRNA と共にマダイ受精卵へマイクロインジェクションした。

孵化後 5 ヶ月において、Nested-PCR 法により導入遺伝子がゲノムへ組み込まれた個体を選別した。現在、導入遺伝子がゲノムへと組み込まれた

魚と組み込まれなかった魚との間の成長に差を確認している。

以上の結果から、初めてマダイ宿主ゲノムおよび生殖腺ゲノムへの外来遺伝子の組み込みを確認できた。また、メダカ Tol2 転移システムが、マダイにおいても利用可能であることも示唆された。しかし、*vasa*-GFP 発現ベクターを用いた孵化後数日での、生殖細胞系列ゲノムへの組み込みスクリーニングはできず、今後、観察時期およびベクター構造などさらに検討する必要があるが示された。