

## ゲノム育種によりトラフグの優良品種作出をめざす

Improved breeding of fugu following whole genome Sequencing.

鈴木 譲 (SUZUKI YUZURU)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・教授



### 研究の概要

全ゲノムが解読された唯一の食用魚であるトラフグを用いて、有用形質を支配する遺伝子を特定し、優良個体を選抜して行くゲノム育種への道筋をつけようとするのが本研究である。トラフグとクサフグなど種の違いを超えた交雑を進めて解析家系を作出し、遺伝子を探索して行くとするのが大きな特徴である。

研究分野：農学

科研費の分科・細目：水産学・水産学一般

キーワード：トラフグ、ゲノム、遺伝育種、耐病性、形態、行動様式、有用遺伝子

### 1. 研究開始当初の背景

トラフグの全ゲノム解読は、この魚の生息域が日本近海であることから日本の水産研究者に大きなチャンスがもたらした。我々はゲノム情報を利用した免疫研究を推進すると共に、遺伝学的解析に必須の連鎖地図の作成に取り組み、それをほぼ完成させ、ゲノム情報を利用した有用遺伝形質育種、特に耐病性品種作出をめざしてきた。

### 2. 研究の目的

有用形質を支配する遺伝子を特定し、優良個体を選抜して行くゲノム育種への道筋をつけようとするのが本研究の目的である。

### 3. 研究の方法

本研究では、トラフグとクサフグなど、種間交雑第2世代 ( $F_2$ ) や戻し交配世代 (BC) を解析家系として用いているのが大きな特徴である。トラフグは成長が早く大型になるが、クサフグは成長が遅く、小型である。その一方、トラフグにはエラ虫と呼ばれる寄生虫に耐性がなく、性格も攻撃的で互いに傷つけあってしまうのに対し、クサフグはエラ虫に抵抗性を持ち、性格もおとなしい。この両種から生まれた  $F_2$  や BC では、個体ごと、形質ごとに表現型が分離し、トラフグ的だったりクサフグ的だったりする。その違いを決めるゲノム領域を詳細な連鎖地図を用いて解析して行くことから研究をスタートさせる。

領域が決まったら、解析個体数を増やして

その範囲を狭めると共に、候補となるトラフグ型遺伝子をクサフグに導入したり、遺伝子をノックアウトして表現型を観察したり、さらにはコードされるたんぱく質を合成してその機能を探ったりすることで、遺伝子の特定をめざす。

一方で、トラフグの中で優良形質を持つ個体、あるいは優良遺伝子と想定されるものを持つ個体を探索し、種間差の責任遺伝子として見出されたもののトラフグの優良品種作出への応用可能性を探る。

さらに、トラフグが成熟に3年を要することが、育種やそのための基礎研究に大きな障害となることから、ホルモン処理による早期催熟技術の開発をはかる。

### 4. これまでの成果

トラフグのゲノムデータは数千の断片配列のままであったが、ターゲットマップ法によりゲノム断片をつなぎ合わせた22本の染色体を再構築し、詳細なゲノム地図を完成させた。データはシンガポールのIMBCの協力を得てEnsemblを通じてFugu V5として2010年に公表した。

トラフグとクサフグの  $F_2$  世代、BC 世代、さらにはクサフグとヒガンフグの  $F_2$ 、BC などの解析家系を作出し、種間差を支配する遺伝子座を探索した。現在までに、形態的差異(体サイズ、脊椎骨数、棘の発達)、寄生虫 *Heterobothrium okamotoi* に対する耐性、警戒心の強弱といった行動特性について、遺伝

子座の特定がなされており、さらなる絞込み、遺伝子特定を進めている。

体サイズを支配する遺伝子は1番染色体の116遺伝子を含む領域に絞り込まれた。脊椎骨数はトラフグ、クサフグで体サイズとは異なる3領域が認められた。

棘の発達をクサフグ、ヒガンフグ間で調べたところ、2番染色体の5遺伝子に絞られた。また、トラフグに突然変異を誘発するENU処理を施すことで、棘が未発達なトラフグ系統が得られることが分かった。現在、候補遺伝子のトランスジェニックにより、原因遺伝子の特定を試みている。

寄生虫感受性/耐性については9番染色体に強い相関を示す領域が認められた。また鰓で発現する遺伝子を培養細胞に組み込み細胞表面にタンパク質を発現させる細胞表面ディスプレイ法による遺伝子の特定も進めている。さらに、免疫系が深くかかわるものと推測されることから、免疫関連遺伝子の特定を進め、鰓での機能も調べている。

行動特性は給餌者への接近に関わる2領域、移し替え後の位置に関わる3領域が見いだされ、9番染色体の1領域が共通していた。

トラフグは活発な個体ほどストレスに弱いことが分かった。優良遺伝子を持つトラフグ個体探索の一環として、性格が鷹揚でストレスに強い個体を選抜し、親魚候補として育成中である。

性決定遺伝子により雌雄を識別し、異なるホルモン処理を施し、早期催熟をめざしているが、雄では成熟の兆候が認められている。

## 5. 今後の計画

これまでに分かってきた遺伝子座について、連鎖解析の段階から遺伝子機能の解析の段階に進める。すでにフグ胚への遺伝子導入技術、細胞表面ディスプレイ法、突然変異体の作出法といった手法の準備が整えられていることから、残り2年間で本格的に進め、遺伝子特定をめざす。

優良形質を持つトラフグの探索は、現在飼育中のストレス耐性個体の成熟を待って交配を行ない、本研究で得られた遺伝子座情報との関係を調べて行く予定である。現在進行中の早期催熟については、結果を見てホルモン量などの見直しを行いながら完成度をあげて行きたい。

## 6. これまでの発表論文等(受賞等も含む) [雑誌論文](計6件)

1. Odaka, T., Tsutsui, S., Sugamata, R., Suetake, H., Miyadai, T., Suzuki, Y., Watanabe, T., and Nakamura, O. (2011): The plasmablast-like leukocyte in the kidney of fugu (*Takifugu rubripes*). *Fish Shellfish Immunol.*, 30, 682-690.
2. Sugamata, R., Suetake, H., Kikuchi, K., and Suzuki, Y. (2009): Teleost B7s expressed on

monocytes regulate T cell responses. *J. Immunol.*, 182, 6799-6806.

3. Hosoya, S., Kaneko, T., Suzuki, Y. and Hino, A. (2008): Individual variations in behavior and free cortisol responses to acute stress in tiger pufferfish (*Takifugu rubripes*). *Fisheries Sci.* 74, 755-763.
4. Araki, K., Akatsu, K., Suetake, H., Kikuchi, K., and Suzuki, Y. (2008): Characterization of CD8-positive leukocytes in fugu (*Takifugu rubripes*) with antiserum against fugu CD8 $\alpha$ . *Dev. Comp. Immunol.* 32, 850-858.

[データベースの構築]

トラフグ全ゲノムアセンブリの公表: Ensembl, fugu version4 から fugu version5 への更新. なお, アノテーションはシンガポールの IMCB がおこなった.

[学会発表](計57件)

1. Kikuchi, K., Kai, W., Kuroyanagi, M., Nozawa, A., Hosoya, S., Suetake, H., and Suzuki, Y.: Genetic Basis of Parallel Evolution for the Spiny Scale in the Rapid Radiation of Pufferfishes. The 20th CDB Meeting Molecular Bases for Evolution of Complex Traits. Kobe, February 23, 2011.
2. Hosoya, S., Kikuchi, K., Kai, W., Mizuno, N., Suetake, H., and Suzuki, Y.: Genetic architecture of interspecific differences in growth of pufferfishes. 9th International Congress for the Biology of Fish, July 5th, 2010, Barcelona, Spain.
3. 甲斐渉・菊池潔・末武弘章・鈴木讓:Fugu version 5—トラフグのゲノム地図—. 平成22年度日本水産学会春季大会, 3月29日, 2010年, 神奈川
4. 菊池潔・甲斐渉・細谷将・木戸慎一・末武弘章・鈴木讓:Fugu類の多様化をもたらした遺伝子の探索:種間交雑を利用したゲノムワイドQTL解析, 2009年度日本魚類学会シンポジウム. 2009年10月12日, 東京
5. Kido, S., Kai, W., Suetake, H., Kikuchi, K., and Suzuki, Y.: Genetic approach for identifying the genes responsible for resistance and susceptibility against a parasite, *Heterobothrium okamotoi*, in fugu, *Takifugu rubripes*. 11th Congress of ISDCI, Prague, Czech Republic, July 3, 2009.
6. Kikuchi, K., Kai, W., Kido, S., Kamiya, T., Hosoya, S., Suetake, H., and Suzuki, Y.: Fugu genome map and its application in aquaculture 5th World Fisheries Congress Oct. 20-24, 2008, Yokohama

ホームページ等

<http://www.se.a.u-tokyo.ac.jp/KAKEN-S/kaken/KIBAN-S/index.html>