

## 水産生物の遺伝育種研究の現状と展望

養殖研究所・遺伝育種部 和田 克彦

水産生物の多くは繁殖そのものが難しく、重要な養殖種の中には、それらがやっと確立したことが多い。また飼育の歴史が浅く安定しないものもあり、育種の妨げとなっている。最近の日本での水産生物育種関連研究開発を見ると、育種の支援技術ともいべき染色体や遺伝子レベルの研究が先行し、選抜・交雑などの系統だった研究が少なかった。ここでは水産庁関連の育種関連研究事業やプロジェクトで行われている事例を中心に、主として日本における水産生物育種の現状についての概要を紹介する。

### 1) 選抜・交雑

育種の支援技術として遺伝子や染色体レベルのバイオテクノロジー研究がいかに進歩しても、最終的には、商品としての水産生物を効率よく生産し、総合的に評価して優良品種に固定する必要がある。すなわち、品種としての親から生まれる子は品質ができるだけ一定しており、飼いやすい（栽培しやすい）ものでなければならない。そのためには、種類ごとに、経済形質の研究が十分なされていないと、総合的評価が難しいであろう。水産生物で遺伝子と形質の関係がわかっているものは、未だ極くわずかの種の限られた形質である。歴史の古いキンギョやニシキゴイなどの淡水魚でも、系統や品種は固定されているが、これらは、長い経験と勘で、選抜・交雑をくり返して育成されて来たものがほとんどであろう。育種の基本は、選抜・交雑を用いた個体あるいは集団の育成と、それら进行评估することであろう。これらの点に関して家畜や作物のような陸上生物に比べ水産生物の育種分野では遅れている。近年の選抜の結果と考えられる研究成果は、ニジマス（産卵期、成長）やマダイ（成長）やアコヤガイ（形、色）等の動物や、アマノリ類（成長、色）の藻類で見られており、水産庁事業などで大規模な試験が行われている。これらの種の他に、ギンザケ、アマゴ、サクラマス、アユ、ヒラメ、エゾアワビ、マガキ等の種で試験が行われている。

育種の基本の一つに選抜された系統を交雑し、雑種強勢をはかり、その中から、優秀なものを再び選抜して固定化を行う方法がある。また、新しい遺伝子を附加する遺伝子導入のための交雑育種法もある。古くは、コイ、キンギョ、ドジョウ、サケ科類などの魚類で種間、属間などの交雑が試みられ、最近の日本国内での交雑実験の例としては、海産魚タイ科、イシガキダイ科、ブリ属、フグ属について試みられている。また、サケ科魚類を中心に、交雑した卵を染色体操作することによって母（雌）のゲノムを倍加して異質三倍体化する試みがなされている（例ニジマスxアマゴ全雌）。種内の系統間交雑を行い、戻し交配と選抜をくり返すような方法で、新しい遺伝子を導入する方法は水産生物では飼育・栽培に労力を要するためあまり行われていない。

### 2) バイテク

染色体操作育種及び遺伝子操作育種等基盤的支援技術研究が、バイテクの応用分野とし

て考えられる。これらの分野はまだ新しい研究分野であり、学術論文は多いが、実用化試験中の種が多い。

#### ①染色体操作研究

水産動物の多くは、体外受精をするので卵数も多いこともあって、卵に色々な処理をする事により、1) 人為三倍体、2) 雌性発生あるいは、3) 雄性発生を誘起させる研究が行われて来た。実用面で期待された点は、1) 三倍体の不妊効果、2) 雌性発生による全雌生産、3) 雄性発生による全雄生産、あるいは4) クローン利用による選抜育種等である。おそらく我が国ほど多彩な魚種で染色体操作研究が展開されている国はないであろう。魚食民族で多くの種を利用している上、染色体研究では他の動物でも我が国は進んでいたこと等が背景にあらうか。

最近10年間で、三倍体と全雌生産については実用化まで進んだ種があるが、全雄生産やクローンの利用は、いずれの種でもまだ研究段階である。三倍体魚介類など染色体操作された種苗を実際の養殖に利用する際、水産庁の指導で「三倍体魚等の水産生物の利用要領」による水産庁長官の特性評価の確認が行われている。実用化試験申請が出され確認されたのは、ヒラメ、ニジマス、アマゴ、ヤマメ、ギンザケ、サクラマス、マガキである。この他に、多くの種類で染色体操作研究が行われている。

三倍体については、実際の生産現場で大量に生産するためには、受精卵をその都度処理（魚類では温度ショック、貝類では薬剤-カフェイン-処理）をしなければならず、コスト面で実用化の制約となっている。最も早くから染色体操作の実用化が進んだ英国のニジマスでは三倍体生産は、発眼卵生産の30%程度であるという。三倍体雄は成熟する魚種が多いので、全雌三倍体として利用される場合が多い。また二倍体受精卵の処理法では100%三倍体の集団を生産するのは、個々の卵の発生速度がいつも同調しているわけではないので、事実上不可能であらう。従って交配親集団としての四倍体の育成が望まれているが、魚類の場合卵割阻止による方法が安定しないこと、四倍体集団の系統維持がやや難しいこと、あるいは四倍体精子の頭部が大きく二倍体卵門を通過できるかという懸念などが示唆されている。しかし最近ニジマス等では四倍体が維持できることがわかってきた。また貝類では、第1および第2極体のいずれも放出が阻止できるので、これらにより四倍体がマガキやムラサキガイで誘起されている。

雌性発生による性の統御は、XY型遺伝的性決定機構を持つ魚類で普及し、遺伝的雌をホルモン処理して雄化し（偽雄とよばれるXX型雄）交配親集団として用いる方法がニジマスで実用化されている。ヒラメでは性が分化する発生時期の環境（水温）等の影響が強いことが解明された結果、染色体操作だけでは性を統御できないことがわかったという（基本的にはXY型）。アユでは性転換技術による偽雄生産が難しく全雌三倍体は普及に至っていない。雄性発生は卵の遺伝子を破壊するためガンマ線等の照射施設が必要なため研究例が少ない。種によってはエックス線や紫外線でも卵核破壊により雄性発生ができることがフナやタナゴ等で報告された。雄性発生や雌性発生は性の統御の他に、選抜育種等の研究の

ためのクローン作出技術への応用が考えられ、今のところ魚類に限られている。いずれにしても、これらの技術開発には、卵割阻止や精子の融合によるゲノムの倍加が必要で、種によってはこれが困難で、実験的には成功してもまだ普及技術にはなっていない。

魚類のクローン研究は世界でも日本がリードしているといっても過言ではない。外国では米国でニジマスの、オランダでコイのクローン作成の成功例が報告されている程度で、日本のように、ニジマス、アマゴ、アユ、ヒラメなど多種で成功している国は他にないであろう。クローンの育種への利用は、実用動物や家畜はもちろんのこと戦前ロシアで盛んに研究されたカイコでも実用には至っていない。魚類では、今後の研究の展開に期待される面が多いが、家畜やカイコ等と違い卵の数が多いことや、性転換が比較的容易なため、性が偏る種でも交雑育種法と組み合わせて優良品種育成の有力な戦略になることが期待される。

藻類では、プロトプラストの作出技術が進展し、プロトプラストを利用した細胞融合育種研究が進められているが、優良品種の作出には到っていない。

## ②遺伝子研究

水産生物の遺伝子研究は大変遅れている。ここ10年で水産バイオテク研究の流れは染色体レベルから遺伝子レベルへと大きく変わったことは誰しも認めるところであろう。しかし遺伝子レベルの研究が、水産育種に実際に導入されるにはまだ時間がかかりそうである。もちろん遺伝子レベル(DNA)の研究はあらゆる生命現象を説明できる可能性を秘めており、DNA研究はもはや遺伝・育種の分野に限らず、生物を研究する有力な技法となりつつある。水産生物育種分野でも、1) 遺伝的多型の利用、2) 有用遺伝子のクローニング、3) 有用遺伝子の発現調節機構解明、4) 組み換え体作出のための遺伝子導入法開発などがくりひろげられている。基本的には分子生物学的分析手法の改良発展に支えられて、特に魚類では進展がみられている。

多型検出は農業系生物と同じ考えで進められている。水産生物の場合は、ミトコンドリア(MtDNA)の制限酵素切断片長多型(RFLP)を比較するなど、天然資源の管理を目的とした集団解析に用いられるケースが多い。この場合、MtDNAの塩基配列のうちDループとよばれる領域が、変異が豊富であるのでよく用いられる。これに対して核(ゲノム)DNAの塩基配列の中に見られる繰り返し配列を色々な方法で検出する方法が開発され、分析精度が上がってきており、育種分野に応用することが期待されている。中でも先に述べた魚類クローンの検定などにフィンガープリント法が用いられるようになり、アマノリ類でも品種判定への利用が研究されている。また特定の有用形質と連鎖しているマーカーとしてこのような繰り返し配列を検出するマイクロサテライトと呼ばれる変異の研究も始まっている。有用形質との連鎖は古典遺伝学の非常に遅れている水産生物では今のところ難しいが、マーカーとして座がわかっている(座特異的)変異がこの方法で多数利用できることが期待されている。

魚類では性統御は非常に実用価値が高い。一方、性に関係した分子生物学そのものの研究は、脊椎動物の中でも魚類は多彩な様相を呈しているようで、ヒト等哺乳類といった高等脊椎動物の性の遺伝子を研究する上で格好の比較研究の対象やモデル動物となるようである。カナダではマスノスケ雄の染色体特異的DNAがサブトラクション法で決定され、PCR法を用いて稚魚期でも遺伝的性の判別ができるようになったという。前述の全雌生産用交配親としての偽雄は、後代検定を経ないと判別できなかったが、この技術開発により、その代のしかも稚魚で判定できるという。サケ科魚類の性決定はXY型であるが、ZW型の性決定をもつ魚種（ブラジル産淡水魚(*Leporinus elongatus*))では、逆に雌特異的なDNAがクローニングされている。これら性特異的なDNAは、近縁の種ではたとえあっても性特異的ではなく、種特異性が高いようである。

成長や成熟に関連する形質は魚介類の育種にとって重要である。一方発生の過程で発現する様々な遺伝子の研究も種苗生産技術開発が重要課題の魚介類では重要である。これまで研究された遺伝子の中には、このようなものが多い。ただし、遺伝子のクローニングもcDNAが多く、発現調節に関わっている領域の解析は少ない。cDNAに限れば、発生、成長（形態形成）、繁殖（生殖）、免疫に関係ある水生動物の多くの遺伝子がクローニングされている。また、進化、系統との関係で近縁、遠縁関係と遺伝子の構造の類似度（保存された領域）の比較が盛んに行われている。ただし、残念ながら遺伝子と形質の関係を解明し、染色体上のどこに構造領域や発現領域があり、修飾等の因子が何であるかなどのいわゆるゲノムマッピングは、突然変異体や古典遺伝学による遺伝形質の情報の少ない水生生物ではゼブラフィッシュ等極一部の魚種に限って研究が進められている。

魚卵への遺伝子導入手法はいろいろ改良が試みられているが、実用的な魚種によって効率は異なるであろうから、受精前後の卵の状態に応じた手法の開発はまだこれからであろう。また、効率よく導入した遺伝子が魚の染色体内に、組み込まれるためのベクターの開発が必要である。いうまでもなく、モデル動物で先端技術が開発され、それが実用種に応用されるという図式がバイオテックでの基本原理では多く見られる。トランスジェニック技法は、単離され構造が解明された遺伝子の機能や発現調節を研究するのに利用するための基本的な手法として確立される必要がある。またそれと関連して、マウスで行われているキメラやノックアウト動物の利用のための基礎となる胚性幹(ES)細胞系の開発研究はメダカやゼブラフィッシュでも始まっており、細胞系の樹立の報告が出始めている。この分野は一旦手法ができれば様々な応用が開ける基本分野として今後に期待がかかっている。