

水産分野における遺伝子組換え食品の可能性

京都大学大学院農学研究科
応用生物科学科
木下政人

1. はじめに

近年、植物やホ乳類における遺伝子導入および発現制御技術の進歩により、熟度を制御しシェルフライフを長くした遺伝子組換えトマトや乳汁中に有用タンパク質を大量に生産する家畜などが、作出されている。

一方、魚類への遺伝子導入法は1980年代半ばに開始され、植物やホ乳類に比べ、まだまだ開発途上にある。はじめの10年間は、マイクロインジェクション法やエレクトロポレーション法など、遺伝子の導入方法の確立と導入遺伝子が安定に子孫に受け継がれることを確認することが、研究の中心であった。この様な研究において導入遺伝子を発現させ、その効果を観察するため、発現時期や組織を無視した強制発現が行われていた。しかしながら、強制発現では、時として個体に有害となることがある。そこで、研究の中心は、導入遺伝子の発現制御する技術の開発および導入すべき有効な遺伝子のクローニングに移行している。

今回は、これまでに作出された代表的な遺伝子組換え魚、および、演者らの研究を中心に魚類における導入遺伝子発現法の開発の現状について概説し、今後の課題について検討する。

2. これまでに作出された代表的な遺伝子導入魚

2-1. 体色白化メダカ；野生型（黒色）のメダカは、黒色色素胞（メラノサイト）を持つため体色は黒く見える。この黒色色素胞がメラニン凝集ホルモン(MCH)と呼ばれるペプチド性の分泌ホルモンにより収縮させられると、体色が白っぽくなる。我々は、このホルモン遺伝子を野生型メダカに導入し、個体内で強制発現させた。その結果、遺伝的には野生型であるにも関わらず、恒常的に黒色色素法が凝集させられているため、一見ヒメダカのような体色を示すメダカ系統の作出に成功した。この系統では、血中に約500nMのMCHが分泌されていた。これは、外来遺伝子産物に含まれる分泌シグナルも宿主内で正常に機能すること、および、遺伝子導入により表現型の改変が可能であることを示している。

2-2. ビタミンC合成能力を付加されたメダカ; ヒトを始め数種の生物は、グルノラクトンオキシダーゼ(GLO)のみを遺伝的に欠いており、そのため自分自身ではビタミンCを合成できず、食べ物より供給する必要がある。メダカもヒトと同様に、GLO遺伝子を欠く生物である。このような生物に、GLO遺伝子を導入することにより、ビタミンC合成能を回復させることができると考えられる。そこで、我々は、ラットのGLO遺伝子をメダカに導入したところ、予想通りビタミンC合成能力を持つメダカ個体の作出に成功した。このことは、魚類への遺伝子導入法により、遺伝的に欠損を持つ生物の能力を回復したり、また、新たな機能を付与することが可能であることを示している。

2-3. 成長促進されたサケ; Devlinらのグループは、成長ホルモン遺伝子をサケに導入し、成長速度が大幅に速くなったサケの作出に成功した。これらのサケは、通常のものに比べて、平均で体長が2倍以上、体重が約10倍であった。しかしながら、頭部の形態が異常であり、同体重の遺伝子導入を行っていない個体に比べて遊泳能力が明らかに劣っている等の欠陥が観察された。これらの結果は、遺伝子導入により成長促進が可能であることを明らかにし、水産業上非常に興味深いものである。一方、過剰な導入遺伝子の発現により様々な異常が観察されたことから、人為的な遺伝子発現制御の必要性を認識させるものでもあった。

3. 導入遺伝子発現制御法の開発

演者らは、メダカを用いて魚類への遺伝子導入方法と導入遺伝子の発現制御技術の開発を行ってきた。メダカは、小型で飼育が容易である、卵が透明で観察しやすい、光と温度をコントロールすることにより毎日産卵させることが可能である、純系（遺伝的に均一な系）が存在するといった利点を持ち、本研究のモデルとして最適である。

3-1. 組織特異的発現制御

ペプチド鎖伸長因子1 α プロモーター; 演者らは、組織特異的に強力に遺伝子発現を誘導するためにペプチド鎖伸長因子1 α (EF1 α) 遺伝子のプロモーター領域に注目した。EF1 α は、リボゾームでのアミノ酸を材料としたペプチド鎖の伸長に不可欠なタンパク質であるため、全ての細胞内に多量に存在する。近年、ホ乳類や両生類においてEF1 α には、組織または発生段階特異的なアイソフォームが存在することが報告された。例えば、ラットでは、筋肉や神経細胞に特異的なEF1 α アイソフォームが存在する。つまり、このようなアイソフォームのプロモーターを用いれば特有の組

織だけに導入遺伝子を多量に発現することが可能となる。メダカのEF1 α アイソフォームを検討したところ、2種のアイソフォームの存在が明らかになった。ひとつは、筋肉特異的に発現し（筋肉タイプ）、他方は筋肉以外の全ての組織で発現（非筋肉タイプ）する。そこで、Green Fluorescent Protein (GFP) 遺伝子をレポーター遺伝子として、遺伝子導入メダカ中における非筋肉タイプのプロモーターの発現様式を検討したところ、予想どおり筋肉以外で強力な発現誘導を示し、また、この性質は安定に子孫に伝達された。筋肉タイプのプロモーターについては、現在検討中である。

β アクチンプロモーター；演者らは、当初、全ての組織で強力に発現誘導をもたらすプロモーターとして β アクチンプロモーターに注目し、それをクローニングした。（ β アクチンは細胞内骨格の主要成分で全ての細胞に多量に存在する）ところが、 β アクチンにも組織特異的アイソフォームが存在するようで、我々のクローニングしたものは筋肉特異的アイソフォームであるらしく、GFP遺伝子を用いた遺伝子組換えメダカでの検討の結果、当初の予想に反して筋肉のみで強い発現誘導を示した。

以上のように、これまでに筋肉および非筋肉組織特異的な導入遺伝子の発現制御が可能となった。

3-2. 誘導的発現制御

遺伝子導入に用いる遺伝子の中には、常時発現していると個体に有害なものも少なくない。そこで、導入遺伝子の発現を特定の時期にのみ発現させる技術が必要である。これまでに、我々は、重金属に応答するメタロチオネインのプロモーターによる発現誘導を試みたが、良好な結果は得られなかった。現在、他の研究者らによって、ストレスタンパク質の発現調節領域である熱ショックエレメント(HSE)やテトラサイクリンを用いた導入遺伝子発現制御技術の開発が行われている。

4. 貝類への遺伝子組換えの現状

魚類以外の水産生物への遺伝子導入方法の開発は、現在のところ、ウバガイやアワビで始められたところである。現状では、エレクトロポレーション法を用いての外来遺伝子の導入効率の検討など基礎的データの蓄積がおこなわれている段階であり、有効な形質転換生物の開発には至っていない。

5. 遺伝子組換え水産食品の課題

5-1. 発現制御技術の開発；先述のように、導入遺伝子を思い通りに発現させる技術の開発が望まれる。組織特異的に発現させる技術を用いれば、

例えば、魚類は主に筋肉を食用とするためヒトに有用な物質（後述）を筋肉にのみ集中的に生産・蓄積させることで、魚個体への負担は軽減され、形態などの異常は示さない様になると考えられる。逆に、魚体にとっては、有益であるがヒトには有害であるような物質に関しては、筋肉で発現させないことにより食品への持ち込みが阻止される。また、一時的な発現誘導技術を用いれば、魚体の必要とするときのみ適切なホルモン等の補強が可能となり、正常な成長促進や生体防御能の向上が可能となり、水産物の生産量の向上が期待できる。

5-2. 導入遺伝子の検討と開発；導入すべき遺伝子は2種に大別される、水産生物自体に有益である遺伝子とヒトに対して有益な遺伝子である。前者に関しては、Devlin らが示したように成長ホルモン遺伝子や生体防御に関する遺伝子等が考えられる。これらの導入により、餌料効率や生残率が改善され生産性が向上すると考えられる。後者に関しては、品質（肉質や味）を向上させる遺伝子とヒトの健康に関する遺伝子が考えられる。魚の肉質は、脂肪やコラーゲンをはじめとする細胞外マトリックの含量に左右されると考えられるため、これらの代謝に関する遺伝子を導入することにより、柔らかいあるいは歯ごたえのある肉を持つ魚となりうる。また、魚肉の味には、核酸の代謝物、特に、IMP や GMP が重要であることが知られている。これらの代謝系の酵素遺伝子を導入することにより、旨味の増強された魚を作出できるのではないかと考えられる。魚肉は、畜肉に比べてDHA・EPAといった高度不飽和脂肪酸に富み、成人病の予防に有効であると思われる。そこで、これらの合成を促進する遺伝子やGLO遺伝子などヒトの健康を補助するような物質の合成に関わる遺伝子を導入することにより、医食同源ともいべき水産生物が作出できるのではないだろうか。

これらの遺伝子は、そのほとんどがまだ単離されておらず、この分野における今後の進展が切望される。

5-3. 飼育環境の整備；遺伝子組換え生物が、生態におよぼす影響については明確な見解はない。例え、それらが不稔であるとしても、現時点では、これらを環境中に放出できる状態ではない。そこで、有効な閉鎖系の開発など飼育環境の開発が必要である。

5-4. 社会的容認；遺伝子組換え食品で最も大きな問題は、消費者（あるいは社会）に受け入れられるかという点である。この問題に関しては、食品としての安全性を検討していく必要がある。十分に安全性が示されれば、遺伝子組換え食品は高品質なものとして受け入れられると思われる。