

未来社会創造事業 探索加速型
「持続可能な社会の実現」領域
年次報告書(探索研究)

令和元年度 研究開発年次報告書

令和元年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：木下 政人]

[京都大学大学院農学研究科・助教]

[研究開発課題名：ゲノム編集・移植技術による早期養殖魚品種の系統化]

実施期間：令和元年 11 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日

§1. 研究開発実施体制

(1)「木下」グループ(京都大学)

- ①研究開発代表者:木下 政人 (京都大学農学研究科、助教)
 - ②ノックインによる EPA/DHA 合成マダいの作出
 - ・ノックインゲノム編集ツールの作製
 - ・Cas3 system に用いる RNA の合成
- 脂質合成代謝関連遺伝子の探索 (「家戸」グループと共同で実施)
- ・サクラマス全ゲノム解読

(2)「家戸」グループ(近畿大学)

- ①主たる共同研究者:家戸 敬太郎 (近畿大学水産研究所、教授)
- ②マダイ生殖関連細胞培養法の確立
 - ・親魚生殖巣バイオプシー法の開発

(3)「酒井」グループ(遺伝学研究所)

- ①主たる共同研究者:酒井 則良 (遺伝学研究所発生生物学分野、准教授)
- ②マダイ生殖関連細胞培養法の確立
 - ・生殖巣体細胞培養条件の検討

§2. 研究開発実施の概要

多くの海産魚は高度不飽和脂肪酸 (PUFA) である EPA/DHA 合成することはできない。その理由は、合成に必須の酵素遺伝子を欠いているためである。そこで、CRISPR/Cas9 system を用いたゲノム編集技術により、この欠失した酵素遺伝子をノックインし、PUFA を自家合成できる養殖魚の作出を目指す。令和元年度は、ノックインするために必要な、Cas9-nickase RNA, guideRNA, ドナープラスミドを作製した。また、Cas9 以外のゲノム編集ツールの有効性を検討するため CRISPR/Cas3 system に必要な因子の RNA (7種) を合成した。

また、わずかながら高度不飽和脂肪酸が合成できると考えられるサクラマスにおいて、合成に関わる遺伝子を網羅的に探索するため全ゲノム配列の解読を行なった。また、全ゲノム配列の整列化に用いるための、各臓器からの網羅的 RNA 配列解析を行った。現在、配列を整列化中である。

将来的作出される PUFA 自家合成養殖魚を早期に系統化する技術として、同種間での移植による世代時間の短縮に取り組んでいる。令和元年度は、宿主からの生殖関連細胞の抽出条件および生殖細胞の培養条件の検討を行った。成熟期のマダイ5歳魚(雌2尾、雄1尾)を用いて、カテーテルによる総排泄口からの精巣および卵巣組織の採取を試みた。その結果、全ての魚から生殖腺組織の採取に成功した。卵巣組織からは排卵された卵だけではなく、周辺仁期の卵母細胞の採

取もできていた。また、マダイの精巣細胞の培養を、ゼブラフィッシュ雄生殖細胞培養法をもとに行った。気層下、21℃で L-15 を基本培地とする条件で、精巣体細胞は効率よく増殖した。また、精原細胞も14日間維持できることもわかった。今後、増殖因子等の効果を検討し、マダイの生殖細胞増殖に適した条件を見出していけるものとする。