

講演記録

ゲノム育種によりトラフグの新品種作出をめざす

鈴木 譲

東京大学大学院農学生命科学研究科

附属水産実験所 教授

座長：永井 和夫

中部大学生物機能開発研究所長

皆さんこんにちわ。生物機能開発研究所の永井でございます。最初の鈴木先生の演題の司会進行をさせていただきます。

最初に鈴木先生のご略歴を紹介させていただきます。鈴木先生は、東京大学の農学部水産学科を卒業されまして、その後、現在いらっしゃいます東京大学大学院農学生命科学研究科附属水産実験所で研究・教育に当たっておられます。実はここからたいへん近い、浜名湖の弁天島にある研究所でして、先日先生の案内で見学させていただきましたが、非常に歴史のある、伝統と最新技術がうまくミックスされた、たいへんユニークな研究所だと感激いたしました。鈴木先生のももとのご専門は魚類の免疫機構だそうで、ゲノム情報が明らかになるに従ってそれを用いた色々詳しい解析と、それから、新しい優良品種を作る、ということに仕事を広げた、と伺っております。本日は多分そういう方面で、最先端の情報と、これからどうということが考えられるか、というようなことも含めてお話しただけなのではないかと私も楽しみにしております。どうぞご清聴ください。では、鈴木先生よろしく願いいたします。

<鈴木>

永井先生ご紹介ありがとうございました。ただいまご紹介にあずかりました、東京大学附属水産実験所の鈴木と申します。

東京大学附属水産実験所はこの愛知県とも縁がありまして、1936年に愛知県の新舞子というところに最初にできました。さっきびっくりした

のですが、最初にご挨拶された杉山先生のおじいさまが名鉄（名古屋鉄道）の社長さんだったところに、その寄附によって、できたということをお伺いしました。新舞子の実験所は水族館を経営していて、その意味で名鉄が関係していたようです。さて、その翌年に、渥美半島の伊川津（いかわづ）にも水産実験所の施設ができました。これらを統合して1970年に、今の浜名湖の方に移転してきました。私は大学の3年生のときに1回目の実習を伊川津で、2回目の実習を浜名湖でやったことで、両方の実験所を知っている唯一の学年です。卒業後、大学院の5年間、ほとんどこの真新しい実験所で実験を行っていました。その後、助手から助教授まで東大農学部で過ごしましたが、今から9年前、2000年に、都落ちというか、左遷というか、浜名湖の弁天島に島流しにされて、教授として赴任しました。30年を経て、見かけはともかく中身は見事に老朽化していて愕然といたしました。施設も設備もそろっていない中で、この9年間、何とか研究を進めてきました。

ウナギの産卵場と幼生の餌を求めて

古い実験所で今でも評価される仕事というのは海産魚の種苗生産、海の魚に卵を産ませて、育てるという仕事です。世界的にも最先端の仕事で、次々と、色々な魚の飼育が可能となりました。その中で、最後に残ってしまったのがウナギです。1961年に大先輩の佐藤英雄先生が取り組みを始めました。川で育ったウナギが産卵場に向かうために海に降りて行くのを捕えて飼育しても

絶対に成熟してくれない。それでホルモン注射して成熟を促します。サケの脳下垂体に含まれているホルモンを繰り返し注射して1970年代にはようやく子供を採る事ができるようになりました。ところが、育てる事ができない。三重県にある養殖研究所の田中博士がたいへんな努力の結果育てる事にともかく成功したのが2002年です。何十万という卵を産む中で、ともかく最初に一匹育てる事ができた時にはすごい喜びだっただろうと思います。サケ脳下垂体を一週間に一回ずつ注射し、8回とか10回とか注射すると、腹が膨れてくる。そろそろ産み頃だなという所でDHP（17 α ,20 β -dihydroxy-4-pregnen-3-one）というホルモンを注射すると排卵するので卵を絞ります。それに人工授精して育てるわけです。

ウナギは柳の葉のような形のレプトセファルス（図1）という幼生期を過ごします。田中博士は、サメの卵のエキスを使って、レプトセファルスにまで大きくさせる事に成功しましたが、人工飼育のものは天然のものと比べてヒョロヒョロです。海の中でこんな小さな仔魚がサメ卵を食っているはずがない、これは間違っていると言いつけていました。



(図1)

田中さんはレプトからシラスウナギにまで育てる事に成功しました。といっても、産業に応用するためには、何万匹と作らなければならず、現在の大変な苦勞を強いられるやり方は間違っていると私は信じています。

そもそも天然のウナギはどのようにして成熟し、どのような卵を産み、どのように成長しているのか。それを調べるために、私はウナギの産卵場調査に何度も参加しました。

調査は、白鳳丸（図2）という、東大の海洋研究所が運行している4000トンという非常に大きな船で行なわれます。現在わかっている産卵

場は、グアム島の北西のあたりです。大型のプランクトンネットで採集したサンプルの中から、ウナギの子供や卵を探します。怪しいのが見つかった顕微鏡で見て、これはウナギか、ウツボ、アナゴと判定して行きます。この判定を担当する海洋研究所の青山准教授は「アフリカによろり旅」という本で講談社エッセイ賞を受賞した文才も有る方です。



(図2)

このようなウナギの調査を何度もした結果、1991年になってはじめて、全長10ミリくらいの小さい仔魚を大量に取ることができました。その西の方では少し成長したものが採集され、そのあたりの海流から元をたどり、北緯14度東経140度付近で産卵しているということが明らかになり、1992年にネイチャーの表紙を飾るという大きな成果を上げることができたのが、私の同級生で友人の塚本教授です。私は、こうして得られたレプトをもらってきてみて、体の構造はどうなっているか、そして何を食べてこのような形になるのだろうかということを調べました。サンプルを研究室に持ち帰り切ってみると、驚いたことにホルマリンで固定したにも関わらず中からドロッと液が出てきます。どうもそれは粘液多糖類らしい。つまり、餌は粘液多糖類を多くもっているものに違いないと推定しました。サメの卵なんか食べるはずはない、と言いつけ、私自身もいろいろな餌で育てようとする努力しましたが、うまくいかない内に、2年前にこの研究は打ち切り

るを得なくなりました。ウナギに卵を産ませて育てる試みは1961年に水産実験所でスタートしましたが、残念ながら私の時代に終止符を打つことになりました。

永井先生から、ウナギの話しもどうかと言われていたので、本当はまだ面白い話がいくらもあるのですが、ここでは軽く触れてみるだけになりました。

なぜフグなのか

それでは本題に移ります。水産実験所、先ほどこ言いましたように浜名湖の弁天島というところにあります。浜名湖自体、太平洋から海水の出入りがあり、上流から淡水が流れてくる一方で、奥のほうは深くて水が滞留しているというユニークな構造で、フィールド研究の場としても大変面白いところです。私たちは、船も持っていて調査研究にも使われていますが、それよりは屋外、屋内に多数の水槽があり、飼育設備が充実しているのが特徴です。たとえば、屋外の水槽、全部で80面ほどありますし、屋内に循環ろ過式の温度制御ができる3トン水槽が8面、1トンが8面あります(図3)。



(図3)

その上、3名の技術職員がいて、海産魚を卵から育てる飼育技術を持っています。私は、そうした恵まれた環境を活用した研究を目指しました。そして、この9年の間に科学機器を揃えることもできました。共焦点レーザー顕微鏡、DNAシーク

エンサー、フロートサイトメーターなどなど。教員として私と2人の助教がいるだけの小さな研究室ですから、かなり恵まれた施設といえます。メインキャンパスと離れていて、すべて自前でそろえてはならなかったという事情はあるにしても、充実した施設で精力的に研究が進められる環境ができました。

そういう飼育設備・技術を生かして現在取り組んでいるのがトラフグ研究です。トラフグに特化した理由は、ゲノム解析が進んでいるということにあります。2002年、脊椎動物では、ヒトに続いて2番目、魚類では初めてトラフグ全ゲノム配列が解読されました。その後、メダカやゼブラフィッシュといったような実験魚でもゲノムが読まれています。水産動物ではいまだにフグだけです。

トラフグのゲノム解読は欧米、シンガポールの協力で進められ、日本は一切関係しませんでした。しかし、欧米では毒があることから決してフグを食べません。なぜフグが選ばれたのでしょうか。フグゲノムの解読を中心的に推進したシドニー・ブレナー先生、2002年にノーベル賞を取った方ですけど、この方は "I carefully said that Fugu was chosen not as a model organism but as having a model genome." と書いています。要するに、モデル生物として選んだのではなく、モデルゲノムを持っているものとして選んだのだということを言っているわけです。でも、日本の研究者にとっては、「フグ」をモデル生物として使えるという幸運に恵まれたことになります。トラフグは全ゲノムが解読されている唯一の水産動物ですが、東アジアにしか分布していないし、日本以外のアジア各国ではあまり食用にされていません。それに対し日本では養殖も盛んだし、天然のものも獲っていて流通もしています。ですから、日本以外ではトラフグで研究を行なうことは困難です。その日本の中でもこれだけ飼育設備、分析機器類がそろっている水産実験所だからこそ自由に研究を進めることができるわけです。

ゲノムとは何か、一応おさらいをしておきますが、ある生物が持っている全遺伝情報のこと。それぞれの生物が、生まれて生きていくために不可欠な情報のフルセットで、親から子へ受け継がれます。その遺伝情報を記録している細長いひも状の化学物質がDNAです。遺伝子とは細長いDNAの中に点在する特別の情報が書き込まれた領域のこと。染色体は細長いDNAがコンパクトに巻き取られて束になったものですね。おなじみのDNAの2本鎖には、アデニン、グアニン、シトシン、チミン。A、G、C、Tと省略して記される塩基が並んでいます。その情報の全部が遺伝子ではなくて、遺伝子以外の何をやっているかわからない部分の方が圧倒的に多い。この何をやっているかわからない部分も含めて、個体が持つ遺伝情報の全てをゲノムと呼んでいます。

ヒトの場合常染色体22本と性染色体に全部で30億もの塩基が連なっている。それを全部解読したのがヒトのゲノムプロジェクトです。それに続いてトラフグゲノムの解読です。ではなぜトラフグだったのかというと、トラフグはゲノムサイズがヒトの約1/8と小さいことから注目されました。ヒトの30億に対して、トラフグは約4億と非常にコンパクトなのです。その中にある遺伝子の数を比べると、ヒトとトラフグでそれほど変わりはありません。ですから、遺伝子ではない、なにやっているのかわからない部分が非常にコンパクトだということになります。その事が注目されて、比較ゲノム研究の対象として選ばれました。

フグの免疫学

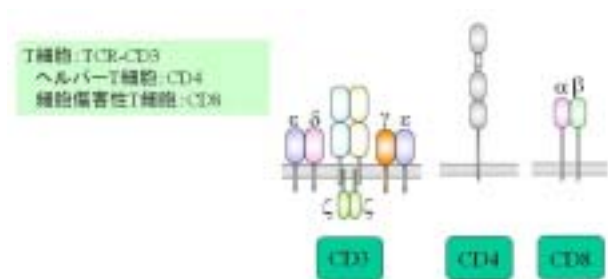
ところが私たちにとっては、これによって、ほとんど全てのたんぱく質の設計図を手に入れることができた、ということになります。今まで研究が困難だった分野でも、トラフグを研究材料とすることで、飛躍的に進歩しました。まず初めに考えたのは、フグゲノムを免疫学に活用することでした。もう一つは遺伝情報をうまく利用すれば、

さまざまな性質を支配する遺伝子がわかって、品種改良に応用が可能である、ということで、「ゲノム育種によりトラフグの有用品種作出を目指す」という研究を平行して進めています。

まず、免疫のほうです。中部大学には、免疫の専門家が一杯いそうで恥ずかしいのですが、免疫応答を簡単に説明します。バクテリアなどの外敵が体に入ってくると好中球という白血球が駆けつけてきて、パクパク食べます。次にマクロファージというのが現れてこれもやっぱり食べるけれども、それだけじゃなくて食べたものをずたずたに切って、「こんなものが入ってきたけどどうしましょう」という情報をヘルパーT細胞に伝えます。ヘルパーT細胞は、その情報を受けて、B細胞に攻撃の指令を与えて抗体を作らせます。あるいは、ウィルスにやられてしまった細胞が合図をしていると、細胞傷害性T細胞が、やはりヘルパーT細胞の指令を受けて、その細胞を壊してしまう、というようなこともあります。十分相手をやっつけたなというところで、調節性T細胞が過剰な免疫応答を抑えます。そして、一連の免疫応答が収束した後、記憶細胞が残って2度目にはすばやく反応して、もう2度と同じ病気にはかからないという仕組みが有るわけです。しかし、魚では、たとえばT細胞とB細胞というものの区別さえつかなかった。あるいは攻撃の指令を与えた時に関わるタンパク質、これは2つの細胞が接近して、わずかな量のサイトカインと呼ばれるたんぱく質が受け渡されるに過ぎないのですが、そんな微量なものについて研究するのはたいへんな事でした。しかし、ゲノム解読によりタンパク質の設計図がわかってしまったので、哺乳類のほうの膨大な知識と照らし合わせて、そういうものを次々と明らかにしていくことができました。

たとえば、先ほど言いましたようにT細胞とB細胞の区別や、さらにはヘルパーT細胞、細胞傷害性T細胞といった区別ができなかったのですが、T細胞はCD3という分子を細胞上にもっている、ヘルパーT細胞はCD3とCD4を持って

いる、細胞傷害性T細胞はCD3とCD8を持っている、ということが知られていて、それをトラフグのゲノムデータベースから探して、その構造を決定して行きました（図4）。



（図4）

そして現在では、これが抗体を産生するB細胞だ、これはヘルパーT細胞だと、区別できるようになりましたし、さらにはそれらを分離することまでできるようになってきました。魚の免疫系を担う分子や細胞については、本当に断片的な知識しかなかったのですが、フグゲノム解析によってそうした分子や細胞が一挙に解明されてきました。そして、魚類免疫学もようやく哺乳類と同じ言語で議論できるようになってきました。これが本当に、ここ5年くらいの間の成果なのです。いま、魚の病気というのは養殖場で非常に深刻な問題になっていますが、免疫学の進歩が、大いに期待されているというところであります。

フグの育種を考える

このように免疫学は、確かに進歩したのですが、これだけでは哺乳類の借りものといった気がしてなりません。哺乳類の知識がないところで新しい事を研究することはできないだろうか。それであれば今ひとつ面白くないというところで、もう一つのテーマとして、遺伝育種という研究にも取り組んでいます。「ゲノム育種によりトラフグの優良品種作出をめざす」という研究テーマで、科学研究費補助金も得て、昨年から研究を本格化しています。

ゲノム育種とは、ゲノムを解析しつつ世代更新を進めることで、遺伝子組換えに頼る事なく有用

形質を有する新品種を作出する方法で、従来の数分の一の期間で達成できます。たとえば、選抜育種で新しい品種を作ろうとすると、大体10世代必要だとされています。トラフグは、卵を産むようになるまで3年かかりますから、10世代というと30年かかってしまうわけですね。しかし子供の中から、良い遺伝子を持つものをピックアップしていくことができれば、もっと早くできるはずです。先ほど言いましたように、フグはゲノムが解読されている唯一の水産動物で、日本以外では研究が困難で、しかも魚の飼育が得意の水産実験所ということで、世界的に見てもこういう研究を水産動物でできるというのは、ほとんど私のところだけと言っていいんじゃないかと思っています。

今日ご紹介する研究は、まず最初にトラフグ連鎖地図を作ること、それから、連鎖地図から見えてきた染色体進化という話、そして種間交雑フグで有用形質を支配する遺伝子を探る、この3つについてお話したいと思います。

トラフグの連鎖地図

まず最初に連鎖地図です。トラフグゲノムというのは全部解読したと言いました。全部で4億のA G C Tという4種類の塩基に配列が並んでいるわけですけど、実は、これが全部繋がってわかっているわけではなくて、さまざまな断片の集合なんですね。遺伝学に活用するためにはこの断片が、何番目の染色体のどのあたりに有るのかというのが有る程度わかっている必要があります。そのために連鎖地図というのを作るのが有ります。

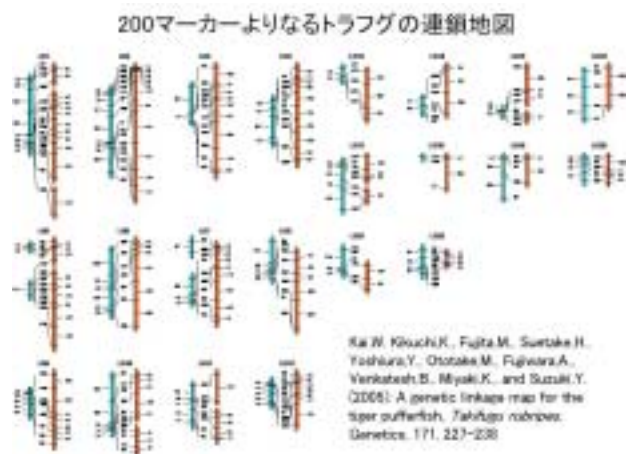
連鎖地図というのは何かというと、大変ややこしい話になりますが、生物は各染色体を両親から1本ずつ、計2本持ちます。次に精子であるとか卵というものができる過程で、それが半分の1本ずつになります。その際、両親から来た染色体のどちらかがそのまま次世代に伝わるのではなく、しばしば、乗換えというものが起こり、大部分が

母親由来だけでも、一部が父親由来、逆に大部分が父親由来だけでも、一部が母親由来というような染色体ができます。そこで、染色体上に何らかの目印、マーカーを設けて、各マーカーが父親から来ているか、母親から来ているがわかるようになっていたとした時、或るマーカーが母親から来ていれば、その同じ染色体上の別のマーカーも、たいてい母親から来ている。でも、時々ひっくり返って、同じ染色体にありながらあるマーカーは父親由来なのに別のマーカーが母親由来になってしまう。それが乗り換えです。その乗り換えの頻度は、たとえば染色体の端と端にあるマーカーだったらしょっちゅうひっくり返るけれども、ごく接近した2つの位置にあるマーカーだったら、その間でひっくり返る事はたまにしか起こらないということになります。そうした現象を使って各染色体のマーカーの相対的な距離を表わして地図のようにしていくのが連鎖地図です。

さて、トラフグの場合、ゲノム断片配列が公開されていますので、各断片に、目印としてマーカーを設定します。そして1ペアから生まれた子供を解析し、それぞれのマーカーについてその由来を解析して行きます。例えばあるマーカーが父方だと祖父から来ている場合には、別のマーカーも同じように父方だと祖父に由来していることが多いと、この2つのマーカーは同じ染色体上にあるものと推定されます。そしてたまに一方が祖父由来なのにもう一方は祖母由来という形でひっくり返ることがあります。同じ染色体上でも近くにあれば一致する確立が高く、遠いとわりと頻繁にひっくり返ります。そういうことで、連鎖地図を作り、トラフグのゲノム断片配列を染色体上に貼り付けていきます。

では、具体的にそのマーカーですが、普通の生物の場合と違って、トラフグではゲノム情報を利用できるので、マーカーを探すのは比較的簡単です。A T C Gとかズラッと並んでいる中に、C A C A C Aといった具合に非常に単純な反復配列があります。それも各ゲノム断片配列にか

りの頻度で存在します。そういう中から適当なのを一個選んで、上流側、下流側に、反復配列をはさんでプライマーを設計し、P C Rで増幅します。電気泳動で解析すると、繰り返しが多いか少ないかで移動距離が変わってきます。その移動距離に多様性がある場合にマーカーとして使えます。たとえば兄弟姉妹のフグを数十匹並べておいて、それぞれのマーカーについて解析します。もし父方のおじいさん由来、父方のおばあさん由来、母方のおじいさん、母方のおばあさん、それぞれで、長さが違っていけば非常にラッキーで、個体ごとにマーカーが先祖のどこから由来しているかが分かります。多くのマーカーについて調べて行くと、どのマーカーとどのマーカーが同じ染色体にあって、どの様な距離関係にあるのかが分かります。で、これが実際に作った最初の連鎖地図です（図5）。



(図5)

左が精子ができるとき、右が卵子ができるときの地図ですが、全部で200のマーカーからなる連鎖地図を完成させて、2005年に発表しました。現在では、マーカー数は1219になっています。各マーカーは断片配列を代表しています。連鎖地図上に位置づけられた各断片の長さを全部あわせると、3億3千670万塩基となります。トラフグのゲノムサイズは3億9千300万ですから、その86%を連鎖地図に貼り付けることができたこととなります。この数字、実験魚としてのメダカにはちょっと及ばないんですけど、他にゲ

ノムが読まれているミドリフグ、あるいはゼブラフィッシュなんかに較べても非常に高い、完成度の高いものとすることができました。

連鎖地図から見た染色体進化

連鎖地図の完成により、他のゲノムが解読されている魚との比較ができるようになり、そこから染色体の進化というものが見えてきました。いままでにゲノムが読まれている魚、トラフグ以外に、ミドリフグ、メダカ、ゼブラフィッシュ、それにもう一種類トゲウオもあるのですが、それをのぞいた4種で、それぞれの染色体にどういう遺伝子があるのか、並べて比較してみました。そうすると、例えばミドリフグの2番目の染色体にある遺伝子の大部分はトラフグの1番にある、あるいはミドリフグの17番はトラフグの4番という具合に、ほとんどの染色体は1対1の関係にあることが分かりました。ただ、ミドリフグの20番上の遺伝子は、どうもトラフグのどこにあるかわからない、どこともあまり一致しない。ミドリフグの1番はトラフグの14番と20番と半々くらいに分かれてしまっている。あるいはミドリフグの3番はトラフグの5番と8番に半々くらいに分かれている。こういった関係を調べることができました。これをさらに、トラフグとメダカで較べてもほぼ1対1の関係となります。もちろん、トラフグの1番はメダカの19番と21番に2つに分かれている、あるいは8番は2番と18番に分かれているということがありますが、ほとんどが1対1です。

ところが、ゼブラフィッシュで較べてみるとどうもなんかばらばらの印象が強くなります。その系統進化をたどると、ゼブラフィッシュが3億2400年前にフグ、メダカの共通祖先と別れています。そして、このフグメダカ共通祖先から1億9100万年前くらいにメダカとフグとに分かれているということが分かっていますが、フグとメダカの共通祖先の想定される染色体というものも描けます。つまり、何が言いたいのかというと、

ゼブラフィッシュはばらばらなのに対してフグとメダカというのは、共通祖先を描けるほどに非常によく似ているんですね。多くの養殖対象魚、我われが良く食べる魚というのは進化的に見るとメダカとフグの間に来ます。タイだとかブリだとかマグロだとか、そういう養殖上大事なものが、この間に来るということで、フグで研究した成果というのは、他の魚にも直に応用が可能だろうと考えられるわけです。私たちこれからフグの良い遺伝子というものを次々探していこうと思っていますけれども、それが分かったら他の魚にも応用が可能なのです。単にフグに役立つ研究をしているのではなく、他魚種へも応用可能という事を大いにアピールしているところです。どのように応用するのか、そのための研究ということも既に私たちのところでは始めていますが、今回は紹介いたしません。

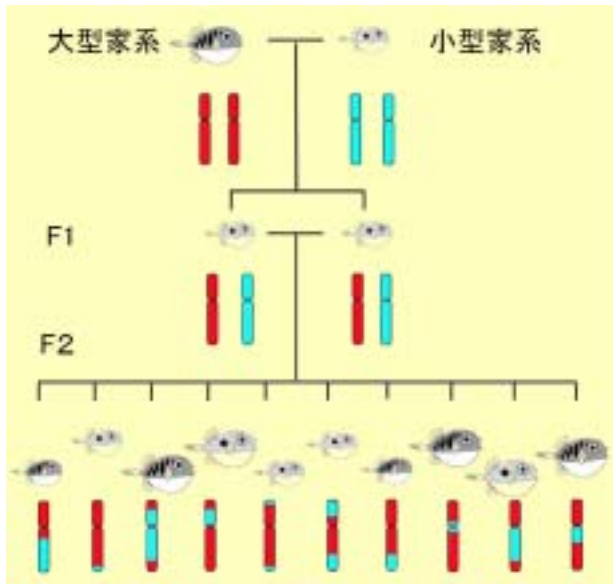
種間交雑を用いて有用遺伝子を探る

最後に種間交雑フグで有用形質を支配する遺伝子を探る、という今日のもっとも本題となる研究の紹介に入ります。私たちのところには技術職員がいて、生まれたばかりの海の魚を育てる技術を持っています。設備も十分あります。ということで世代を超えて何年にもわたるという研究を進める事ができます。

大型・小型

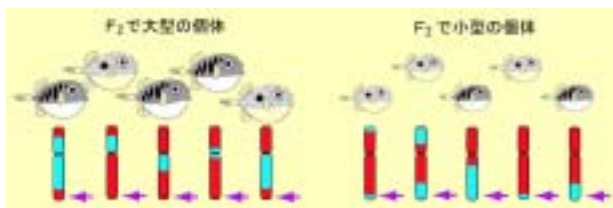
或る良い遺伝子とか、良い形質を支配する遺伝子、たとえば大きいか小さいかというような形質を支配する遺伝子というものをどのように探るか模式的に示します(図6)。たとえば今ここに、代々選抜して作った大型家系、あまり大きくない小型の家系があるとします。それぞれの家系が持つ染色体を赤・青であらわすとして、それを交雑すると、F1は赤と青を1本ずつもらいます。もちろんその間に組換えが起こりますけれども、赤同士、青同士で組換えが起こったって、その事はF1の表現型とは関係がありません。これをさら

に掛け合わせると、或る染色体だけのしかも片一方だけに着目してみると、こんな風に、赤と青、大型家系と小型家系がモザイク状に入り組んだそんな染色体というものが出てきます。



(図6)

で、表現型、大きいか小さいかというになると、大きいやつもあれば小さいやつもある。ここで、あえて模様は変えていますけど、模様はまた、別の遺伝子に支配されているでしょうから、別の染色体の、別の部位で調べる事ができるはずです。それを大きなやつと小さなやつという風に並び替えて、そうして全部の染色体を眺めていったときに、ある染色体のある部分が大型家系由来だと大きくなり、そこが小型家系由来だと小さい、ということが分かったとすると、大きさを決める遺伝子が、その辺りにあるだろうということが分かります(図7)。



(図7)

実際には、連鎖地図を使って、各染色体のそれぞれの部位が、大型家系から来ているか、小型家系から来ているかという核型の解析というものを

行ないます。責任遺伝子がこの辺りにある、つまり遺伝子座というものが決まると、トラフグの場合、全ゲノムが解読されていますので、そのあたりにどんな遺伝子があるかという情報が得られます。あるいはさらに個体数を増やして、ここだけに注目しながらマーカーをさらに細かく設定して絞り込んでいくことができます。そういうことによって、責任遺伝子、たとえば大きくなるか、小さくなるかというようなことを決める遺伝子というものを決めていく事ができだろうと考えているわけです。

では、トラフグでできるかといったら、まずスタートのところ、家系のところで困ってしまいます。日本ではトラフグ養殖を盛んにやっていますが、みんな天然の親を捕まえてきて、それに子供を産ませて育てています。ですから、まじめに大きな家系を作ろうというような努力というのは、ほとんど行なわれてきていないため、出発点が無いのです。そこで考えたのが種間雑種です。

トラフグは、最大70センチにもなり、もっとも商業的な価値があります。一方、クサフグは、ちっぽけで15センチくらいにしかならない、しかも皮膚には強い毒があるし、筋肉にも少し毒がある、食べるとおいしいらしいんですけどね、あんまり食べないほうが無難だろうというフグです。これを掛け合わせちゃったわけです。クサフグのメスとトラフグのオスを掛け合わせて、2003年の5月にF1というのを作りました。翌年、トラフグだと成熟に3年掛かるのですけれど、F1はうまい具合にクサフグの性質を受けて10ヶ月で成熟してくれた。それとトラフグと掛け合わせて戻し交配というのを作りました。これが作れることは1990年ごろに長崎県水産試験場の宮木博士が盛んに研究していて、現在その方との共同研究という形でこれも進めています。そして、戻し交配世代の模様を見ていると、黒い大きな斑紋があってトラフグ的な個体もあれば、そういう斑紋が無いクサフグ的な斑紋とこういう風に分かります。この分かれてくれるということが

すごく大事で、これによってこの、種の違いを決める遺伝子というものを探っていくことができるという証拠になります。それで種の違いを決める遺伝子を追求しようじゃないかということになるわけです。

寄生虫に対する抵抗性

トラフグは日本で養殖が盛んですが、業者にとって大きな問題となるのが寄生虫です。こんな格好をした *Heterobothrium okamotoi* (ヘテロボツリウム・オカモトイ) という寄生虫がありますが (図8)、これがエラの内側に寄生し、吸血します。



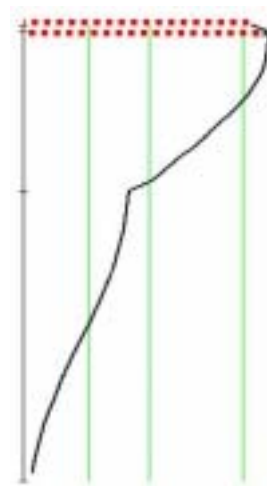
(図8)

そして細長い、糸をどんどんどんどん出してきて、そこに1ミリ間隔くらいに150ミクロン位の小さな卵が1個ずつ、数メートルにも及ぶ卵を産むわけです。養殖場は、網生簀というのを使っていますから、その卵が周りの網に絡み付いて、そこからどんどん孵化して、次々と寄生が起こるという連鎖で、たいへんな被害を受けています。もう何年もまえになりますけども、この寄生虫をやっつけるために、ホルマリンを使って、大きな社会問題となっていました。現在はフェバンテルという良い薬ができていますが、高価なので業者は使いたがらない。何とか寄生虫に強い品種ができないかというようなことが言われているわけです。ところが、この寄生虫に、クサフグは抵抗性を示すのです。ですから、掛け合わせ世代がどうなっているかを調べることで、抵抗性に関与する遺伝子を探ることにしたわけです。

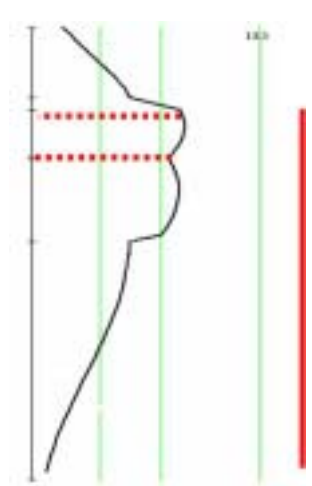
先ほど作った戻し交配世代に、プランクトン生

活をしているこの寄生虫の幼生を暴露しました、その結果、或る個体では、大きいのが一杯ついている。別の個体では小さいのがちょっとしかついていない。大きいのがちょっと、小さいのが沢山というのがあります。つまり、大きさを決める遺伝子、成長できるかどうかに関わる遺伝子、それと、沢山つくかということに関わる遺伝子が別々にあるという風に考えられるわけです。要するに、個体あたりのヘテロボツリウムの寄生虫数、寄生虫のサイズに大きなばらつきがあります。つまり寄生虫に感受性のある個体、それから寄生虫に抵抗性のある、そういう個体が現れてきます。それを先ほどの連鎖地図を使い、何番目にどの部分がトラフグから来ていると寄生虫に弱いのか、どの部分がクサフグから来ていると寄生虫に強いのかということをやっと調べていきます。

その結果ですね、ある染色体の或る領域に寄生虫の数と相関する領域があることが分かりました (図9)。それから、寄生虫の大きさということに関しては別の染色体ということが分かってきました (図10)。



(図9)



(図10)

そしてそのあたりに、どんな遺伝子があるかということについて調べることができます。まだ沢山の候補があるので、更なる絞込みが必要な段階です。今回明らかになったマーカーの近傍にさらに多くのマーカーを設定し、さらに個体数を増やし

た攻撃試験を行なうことでどんどん絞り込んでいくことができるだろうと考えています。

性格も遺伝子で決まる

同様の戦略で、養殖に都合のよい形質を支配する遺伝子を調べます（表1）。

表1. トラフグとクサフグの主な形質の違いと、育種で目標とすべき優良形質

	トラフグ	クサフグ	優良形質(育種の目標)
体サイズ・成長速度	大	小	成長が早く、大型になる
寄生虫耐性・感受性	感受性	耐性	寄生虫に耐性を持つ
攻撃性／慣れやすさ	あり／慣れる	なし／慣れない	攻撃性がなく、人に慣れる
成熟年齢	3年	1年	1年で白子がとれる
塩塩分耐性	多少あり	淡水にも適入	低塩分にも強い
皮膚の毒	無毒	有毒	皮膚に毒がない

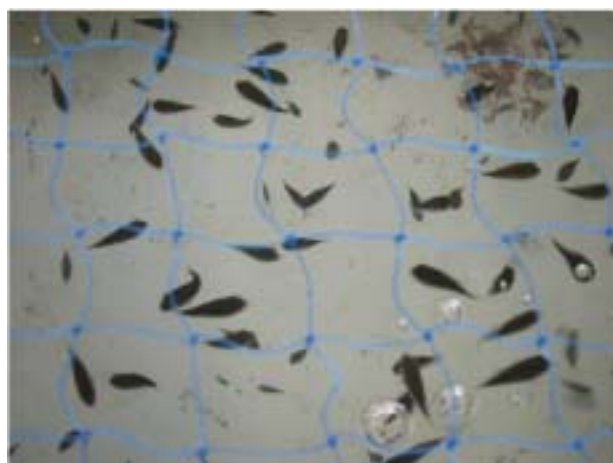
まず大きさ。トラフグなら大きいし、成長も早いです。そして、寄生虫についてはトラフグのほうが弱く、クサフグのほうが強いので、優良形質・品質というのは寄生に耐性を持つものということになります。トラフグというのはけんかするんですね。鋭い歯をもっていて、けんかしてお互いに尻尾を齧ってぼろぼろになって商品価値がぐっと下がってしまいます。ですから養殖場では何万匹いようが、全部1匹ずつ全部歯を切らなくてはなりません。ところがクサフグはみんなで仲良く泳いでいます。その一方、トラフグは人に馴れるけれども、クサフグはちっとも馴れない。人が近づくとパーッと逃げてしまう。そのように行動にもずいぶん両者で違いがあります。もちろん攻撃性がなくて人に馴れるということが望ましいわけです。その他、成熟年齢、低塩分に強いかどうか、皮膚に毒があるかどうかなどの解析が考えられます。トラフグは皮膚が無毒で食べられますが、クサフグには皮膚に毒があるので、皮膚の毒化に関わる遺伝子の解析もできますが、今のところはやっていません。

私たちは、F1同士を掛け合わせたF2世代も作っています（図11）。これを使えば、もっと精度よく分析できるだろうと考えています。F2では、生後1ヶ月とか2ヶ月位というところで極端な成長の差が見られます（図12）。これも、或る遺伝子がトラフグから来ていれば、成長しているし、そこがクサフグから来ていと成長が悪

いということを表しているものと思っています。これについては、データはあるのですが、まだ発表できないところです。



(図 11)



(図 12)

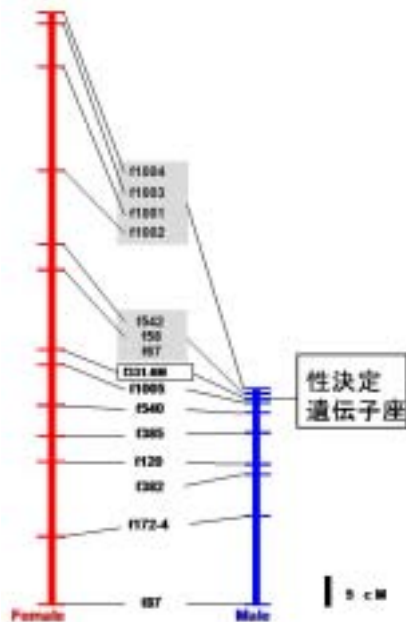
F2では、行動様式にも大きなバラツキが見られる。小さな水槽に1匹ずつ分けて、その中で行動を観察し、12項目くらいに分けて解析してみると、色々な項目でトラフグとクサフグははっきり違います。トラフグでは非常に活発に泳ぐのに対して、クサフグは割と下のほうでじっとしている。F2は、平均すれば両方の中間的な性質となりますが、バラツキが大きく、活発なもの、不活発なものというものの遺伝子がどうなっているか、どの遺伝子がトラフグから来ていると活発なのか、クサフグから来ていると不活発なのかというようなことを調べています。ちなみにこの実験、2週間くらい、全部で200の水槽を並べて、毎日10分ずつ行動をビデオで記録して10日間

やる。あとでビデオを再生して、何回往復したかとか、そういうのを数えるという、膨大な量のデータがあって、今PDが一人ヒーヒー言っています。

オス化の効用

こうした様々な形質について、多数の個体でいろいろ連鎖解析を進める事で、成長や行動を支配する遺伝子を解析して優良品種作出の基礎を確立していこうと考えています。

トラフグの特徴としては、オスが高いということをあげられます。精巢は100グラム2000円位する。非常に高価です。松坂牛とかマグロのトロの良いところくらいの値段ですが、卵巣は猛毒です。ですから、オスの価値が高い。現在、性決定遺伝子座というのが19番目の染色体のこの辺りにあるということが分かっており（図13）、私たちは今、このマーカーによって、トラフグ雌雄の判別が可能になってきています。



（図 13）

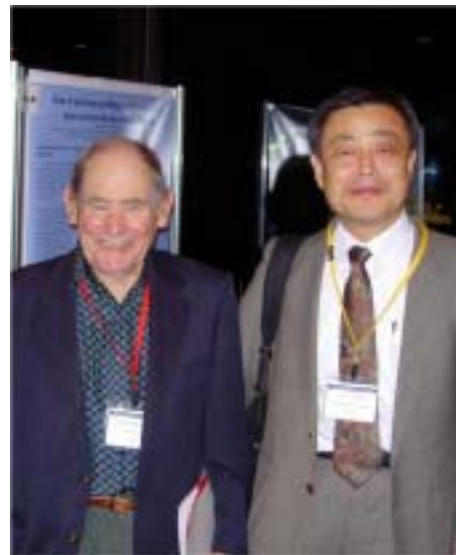
今のところ、親の情報が得られればという条件の下ですが。そしてさらに、現在全部オスにしてしまう技術を開発しようとしています。今飼っている魚が、来年の春卵を産んで、その中のオスが成熟してくれば、その精子を使うことで全部オスにすることができるだろうと思っています。

ろです。

全部オスにすると何が良いか、もちろん養殖業者にとってはオスの方が価値があるという面もありますけれども、先ほど言ったように、ケンカしない、寄生虫に強い、成長がいいという遺伝子を持った良い品種ができたとき、全部オスにして出荷すると、次の世代が作れないですね。メスは自分の所で大事に持っていれば、これで大儲けできるというようなことを考えています。

ブレナー先生も絶賛

2004年にシドニー・ブレナー先生がいらしたとき（図14）、この研究のスタート時点ではありましたが、いくらかのデータをお示しました。



（図 14）

最初に言いましたようにブレナー先生はトラフグをモデル生物として選んだのではなくて、モデルゲノムを持つ生物として選んだに過ぎないと言っていたのですが、私どもの所でモデル生物として使って成果を挙げていることを知って、たいへん高く評価して頂きました。そして、私たちの新しい実験所に名前をつけてくれました。Fugu Breeding Institute、略すとFBIなんでね（笑）、私たちは東大FBIブランドのフグが市場に出る日を夢見て研究を進めているというところですよ。興味のあるかたはぜひ共同研究を受け入れますので、参加を期待しております。以上です。

<永井>

鈴木先生、たいへん興味深いお話を頂きありがとうございました。驚いたのは、フグとメダカは非常に近いけれども、形なんかはメダカに良く似ているゼブラフィッシュとはかなり前に分かれているということなんですね。最初に私がお願いして、ぜひお聞きしたいと思っていたのは、ウナギの産卵地ですね、それがもうかなりはっきりわかって、それ以後の養殖がこれからうまくいく可能性が出てくるわけですけど、ただやっぱり、餌の同定が非常に難しいと、それが今でも難航しているというお話しでしたね、それが明らかになると、また大きく進む、また今くらいの稚魚の養殖ができるようになるとまたずいぶんウナギも身近なものになるんじゃないかと、そういう感じがしました。それから、フグのほうでは、今、膨大な遺伝解析のデータから、たいへん労力が必要な仕事を、たぶん大学院生の皆さんが一生懸命やってるんだと思いますけど、ああいう地道なデータの蓄積が非常に重要であるということが再確認できますね。最近は何でも遺伝子の塩基配列からいけば、すぐにでもペーパーが書けるような仕事が多いように感じるんですけども、実は、本当のところはもっと地道な、遺伝子間の連鎖を明らかにして、それを基にして理想の育種ができるというところまでお話が進んで参りました。最近のデータはおそらくもっと進んでいて、もっと目的に近づきつつあるんじゃないかと思うんですけど、もしかしたら質問に答える形で、チラッと情報を流して下さるかも知れませんが、この機会にぜひ、皆さん何でもお聞きになってください。

<大西教授>

水産資源の枯渇が叫ばれているこのごろ、とても興味深いご研究だと思って、飽きずに拝聴しておりました、で、ちょっと教えていただきたいんですけど、最初にシドニー・ブレナー先生がフグのゲノム解析をされたとき、基本的にはほとんど欧米の人たちには興味の無いお魚ですよ、何でもモ

デルゲノムとしてこの魚を選ばれたのか、何かその、非常に利点があるということがあったのでしょうか。

<鈴木>

たいへん申し訳ありません、もうすこしキチンと話をすべきでした。ともかく脊椎動物ではフグ類のゲノムサイズが最小なんです。先ほどいいましたように、人間は30億です。魚は一般に小さいかという決してそういうことはなくて、たとえばメダカは約8億、ゼブラフィッシュになるとさらに倍くらいになります。トラフグの4億というゲノムサイズというのが脊椎動物で最小であるということをブレナー先生が1993年に報告しています。そこで、ヒトの次に読むのはフグだということになりました。材料のフグは、日本から持っていったそうです。それも精子をサンプルとして皆で分担して読んだということのようです。フグの手配は浜松フォトニクス社の社長さんが行なったという話を聞いています。

<大西>

もう2つばかり伺いたいんですけど、寄生虫抵抗性についてご研究されているんですけど、クサフグの皮膚に毒があるというような毒との相関っていうんですか、というのはございませんでしょうか。

<鈴木>

基本的に無いと思っています。これはそういう実験をやった人がいまして、寄生虫屋さんが、フグ毒によって寄生虫がどうこうするというのではないということが明らかになっています。

<大西>後もう一つなんですけど、先生が最後になさった、オスだけを作出するというご研究なんですけど、あれは基本的に性決定遺伝子のトランスジェニック化もしくはノックアウトみたいな技術でなさっているんですか。

<鈴木>

そうではなくて、ホルモン処理です。魚の場合、性決定というのはいい加減で、性染色体というような形の違いということではなくて、X染色体にしるY染色体にしる、ほとんど完璧です。メダカの場合ですと性決定遺伝子、DMYあるか無いかということでオスになるか、メスになるかきまります。ですからDMYを持っているYYだって生きているんです。1960年代くらいにY遺伝子のすぐ近くに連鎖している形質を利用して超オスというもの、YYを作られています。まあ、それに準じたようなことをやっています。あまり詳しくしゃべってはいけないことになっていますが。

魚の性というのは実にいい加減で、性転換をする魚はいくらでもありますし、一番トップにいるのがオスで周りがメスというハーレムを作っているのがいて、そのオスがなくなると次のメスがオスになるというような魚でさえあります。ですから、YYみたいなものでも問題なく作れるということです。

<大塚>

フグのお話ですけども、非常に、実用を兼ねた、また素晴らしい研究だったと思いますけど、有用遺伝子を捜すために、トラフグとクサフグですか、掛け合わせて種間雑種を作ることですけど、種の定義からいうと、雑種はできないはずなんだと思うのですが、いかがでしょうか

<鈴木>

現在では、種間では雑種ができないというような定義ではありません。遺伝的あるいは生態的に隔離されているというようなことで別種として扱われています。そうしないと、タキフグ属に10何種類いますけれども、それ全部1種類になってしまいます。どんなフグでも、この辺で見られるフグは自由に交雑できます。私たちが今ご紹介し

たのはトラフグとクサフグですけども、クサフグとヒガンフグというのを掛け合わせるということもやっています。クサフグには棘のような鱗があつてざらざらしているのに対し、ヒガンフグは鱗が退化してざらざらではありません。この遺伝子は、すでに或る程度絞り込んできているのですが、鱗が無いフグを作れば調理も楽だろうというようなことを考えています。トラフグはお腹がざらざらしています。皆さんフグの皮膚も食べますが、あれは包丁で皮膚をさらに薄く一枚切って一番外側のざらざらしている部分を捨てているんですね。

<大塚>もう一点だけ、直接先生のお話には関係ないかも知れませんが、フグ毒はフグが作っているのではなくて、実際食べるプランクトンに含まれているものがフグの体の中に濃縮されると言う様に聞いた事がありますけども、天然のフグと比べて養殖のフグも同じくらい毒が含まれているのでしょうか。

<鈴木>

養殖フグには毒はありません。これは、餌を外からあたえて、それに毒が含まれていないから、毒はありません。海の底にいるバクテリアが最初にその毒の元を作って、それが食物連鎖でだんだんに蓄積される。その過程でフグ毒になると考えられていますけれども、それを与えさえしなければフグは毒を持ちません。ただ、魚にとっては、それはとても落ち着かない事のようにです。私たちが飼育しているフグは毒が無いのですが、あるところでフグ研究の展示をして、クサフグがおとなしく、トラフグが攻撃的だという話をしていたのですが、おとなしいはずのクサフグがヒガンフグをバンバン攻撃しているんです。なんだこいつはと思ったんですけど、よく考えたら、その時のヒガンフグは天然産で皮膚に毒を持っています。クサフグは、それを食い破って取り込もうとしているんですね。クサフグは普段おとなしいフグなんで

すけど、やはり毒がほしいんですね。そこが非常に不思議です。ですから、養殖ものだったら毒が無いから安心して食べるハズです。佐賀県でフグ特区というのを作って肝臓も食べるようにしよう、養殖ものだったら大丈夫だからということで、許可を取ろうとしているんですけど、許可が得られません。4千何百匹調べて無毒だった。が、4千何百1匹目はどうだったかということになると、もう一つは、フグ業界が、もし事故があると全体のイメージダウンになると批判的です。このあいだ富山で事故がありましたので、あれが相当大的な影響があるのではないかと心配しておりますが、業界も反対しているというのが現状です。

<町田>

面白いお話ありがとうございました。今のお話を聞いていると、モデル生物としてもものすごく良いんだなということが良くわかったんですけど、魚類だとゼブラフィッシュとかメダカが今使われているとは知っていたんですけど、フグに、これだけマーカーが綺麗にあれば、フグはそれよりもすぐれているような気がするんですけど、そのときミュータントライン(変異体系統)というのが、非常に、多分モデル生物としては大事だと思うのですが、フグの場合はどうやってミュータントラインを作られるのでしょうか。たとえばゼブラなんかだったら、最近メダカの Tol2 (トランスポゾン)がすごくよく動いて言われているって聞いているのですけれども、そういうライン(変異の系統) というのがあるのでしょうか。

<鈴木>まだ全くやっていません。それは助教の一人がやろうとしています。特定の遺伝子にそういうミュータントが入ったものというものを効率よく作るということを、今、メダカで研究を進めていて、それを次にフグに応用するということを考えているところです。実現はまだまだ先の話だろうと思います。水産物として受け入れて

もらえるかどうかという問題もあります。遺伝子組み換えではないですから、それよりはまだまだしななだろうと思うんですけども。

モデル生物と言いましたけれども、遺伝学のモデルというような意味では、やはり、メダカとかゼブラフィッシュにはぜんぜんかなわないと思います。次の世代を採るのに三年かかっていたら、とてもじゃないけどやってられないですね。メダカとかゼブラだったら3ヶ月で卵が採れますから、ぜんぜん話しが違ってきてしまいます。いま私の所でいたずらして1年間に、気温と、温度と日長を2年分与えて早く成熟させるというようなことをやっていて、なんか、行きそうじゃないかという感じがあるのですが、それでもせいぜい1年ですね。1年で成熟してくればこれでまだ良いんですけど、今のところ3年かかってしまうというのが、大きなネックになっています。まだ、水産のモデルというくらいでしょうか。本当の意味での基礎研究だったらメダカ、ゼブラを使う事のほうかはるかにやさしいと思います。ですから、私たちもメダカ・ゼブラは飼育しています。

<永井>

それでは先生、興味深いお話をどうもありがとうございました。益々のご発展を祈念いたします。ありがとうございました。

【 図の説明 】

- 図 1 産卵場近海で採集されたウナギのレプトセファルス (葉形幼生)。
- 図 2 海洋研究船白鳳丸。グアムの港にて。
- 図 3 東大水産実験所に設置されている循環ろ過式温度制御水槽。
- 図 4 細胞マーカーを利用してトラフグの T 細胞, ヘルパー T 細胞, 細胞障害性 T 細胞を明らかにする。CD3ε, CD3γ/δ, CD4, CD8α, CD8β の構造を決定した。

- 図 5 200 マーカーよりなるトラフグの連鎖地図. 左精子形成時, 右卵子形成時における乗り換え現象により作成した連鎖地図.
- 図 6 表現系を支配する遺伝子のマップ法ー1. 大型家系の染色体を赤, 小型家系の染色体を青で表した時, F2 では染色体の乗り換えが起こり, 様々な表現系を示す.
- 図 7 表現系を支配する遺伝子のマップ法ー2. 表現系と核型を解析し, 表現系を支配する遺伝子の位置を同定する.
- 図 8 トラフグの鰓蓋腔に寄生する *Heterobothrium okamotoi*. クサフグには全く寄生しない.
- 図 9 戻し交配世代において寄生虫の数と連鎖する染色体領域. 特定の領域に高い相関がみられる.
- 図 10 戻し交配世代において寄生虫のサイズと相関する染色体領域. 有意な相関がみられる.
- 図 11 クサフグとトラフグの交雑第 2 世代の作出. F2 ではトラフグ模様の個体 (左) とクサフグ模様の個体 (右) のように, 表現系の分離が見られる.
- 図 12 同腹の F2 個体. 極端な大きさのばらつきがみられる.
- 図 13 トラフグの性決定遺伝子座. 連鎖群 19 上の特定の領域に性決定遺伝子があることが分かった.
- 図 14 トラフグゲノムプロジェクトを推進してきたシドニー・ブレナー教授とのツーショット.