

## 生殖細胞移植によるサバ類代理親魚技法の開発

著者	谷 怜央人
学位名	博士(海洋科学)
学位授与機関	東京海洋大学
学位授与年度	2021
学位授与番号	12614博甲第610号
URL	<a href="http://id.nii.ac.jp/1342/00002400/">http://id.nii.ac.jp/1342/00002400/</a>

博士学位論文内容要旨  
Abstract

専攻 Major	応用生命科学	氏名 Name	谷 怜央人
論文題目 Title	生殖細胞移植によるサバ類代理親魚技法の開発		

マサバ (*Scomber japonicus*) およびゴマサバ (*S. australasicus*) は我が国周辺に広く分布、回遊する水産上重要な多獲性浮魚であるが、その漁獲量は1970年代後半をピークに激減しており、その単価も低水準で推移している。その一方で、ブランドサバは高単価で取引され、高級魚としての一面も持ち合わせている。このような状況下でサバ類は、新たな養殖対象魚種として注目されている。サバ類養殖では、給餌量や飼料成分等のコントロールにより肉質や脂のりの改善が可能で、漁獲量の変動等に依存しないことから、安定的に高品質のサバを供給可能である。しかし、高水温期の生理障害、疾病による大量斃死や高水温期の成長停滞などがサバ類養殖の課題となっている。これらの課題を改善するために、育種による高水温耐性、高餌料効率といった有用形質を持つ系統の樹立が望まれる。従来の育種法では、優良な形質を持つ個体を選抜し、これらの個体同士の交配を繰り返す。しかし、疾病や事故等による選抜個体の喪失のリスクは常にあるうえ、飼育環境下で確実に選抜個体を催熟することが困難であり、雌雄の選抜個体を交配させ、確実に次世代を得ることは容易ではない。

そこで、本研究では、この課題を解決する方法として代理親魚技法に着目した。代理親魚技法は、宿主仔魚の腹腔内にドナー個体の生殖細胞を移植し、これらの宿主を成熟させることで得られるドナー由来の配偶子により、次世代を生産する技術である。代理親魚技法では、一尾の有用形質を持つ個体から単離した生殖細胞を、宿主に移植することで、雌雄の宿主親魚を大量に生産し、これらの代理親からドナーとなった選抜個体に由来する卵および精子を生産することが可能となる。これにより、選抜個体に由来する配偶子を生産する多数の宿主魚どうしの交配が可能になり、確実に次世代を生産することが可能になる。

本研究では、サバ類の代理親魚技法を開発するために、ゴマサバの雌とマサバの雄を交配して生産した生殖細胞欠損型の雑種を宿主として使用した。マサバの精巣から分離したドナーの生殖細胞を、宿主となる雑種サバ仔魚 500 尾の腹腔内に移植したところ、1 歳までに 48 尾の雑種宿主が生残した。これらの宿主がドナーマサバ由来の配偶子を生産しているか確認するために、ミトコンドリア DNA の PCR-RFLP およびマイクロサテライト解析を行った。その結果、1 歳まで生存した 42 尾の雄の宿主のうち、35 尾が成熟し、ドナー由来のマサバ精子を生産した。そのうち 22 尾はドナー由来の精子のみを生産し、宿主自身の精子は全く検出されなかった。さらに、宿主が生産するドナー由来の精子が機能的であるかを確認するため、宿主 4 個体から得られた精子と野生型のマサバメスから得られる卵を用いて人工授精を行い、作出した F 1 世代の孵化仔魚が両親マサバ由来であるか確認した。マイクロサテライト解析により、作出した孵化仔魚各 10 尾を解析したところ、1 尾のみ雑種宿主由来の精子と野生型マサバ卵が受精した個体を確認された。その他の孵化仔魚は全てドナーマサバ由来の精子と野生型マサバ卵が受精した個体であった。以上のことから、宿主ゴマサバ・マサバ雑種は機能的なドナー由来のマサバ精子を効率よく生産していることが明らかになった。また、1 歳まで生存した雌 6 尾のうち 2 尾はドナー由来の卵を生産し、成熟した雌 2 尾のうち 1 尾はドナー由来の卵のみを生産した。また、成熟した宿主を 1 つの水槽に収容したところ、一部が交配し、ドナー由来のマサバ卵と精子の受精により正常な次世代を得ることに成功した。

次に、ドナー個体から摘出した精巣を凍結保存し、雑種宿主への生殖細胞移植によりドナー由来配偶子の生産を試みた。凍結保存した精巣をもちいて、ドナーとなるマサバの精原細胞を宿主となる

雑種仔魚 500 尾に移植し、飼育したところ、1 歳齢時点でオス 5 尾が生残した。そこで、前述した方法により、オス宿主によるドナー由来の精子生産を確認した。その結果、5 尾中 5 尾でドナーであるマサバ由来の精子を生産していることが明らかになった。宿主が生産するドナー由来精子が機能的であるかを確認するため、雑種宿主から得られた精子と野生型のマサバメスから得られる卵を用いて人工授精を行い、作出した F 1 世代の孵化仔魚が両親マサバ由来であるかを調べた。マイクロサテライト解析により、作出した仔魚 8 尾を解析した結果、8 尾すべてがドナーマサバ由来の精子が受精した個体であることが明らかとなった。以上のように、凍結保存した精巣をドナーとして利用した場合でも、機能的なドナー由来の精子を効率良く生産可能であることを示した。

今後、この方法のさらなる効率化は必要であるものの、雑種サバがサバ類種苗の代理親魚生産の際に用いる宿主として、大きなポテンシャルを持ち合わせていることが明らかになった。本技術は、サバの品種改良に大きく貢献することが期待される。