

論文の内容の要旨

東京大学大学院 農学生命科学研究科水圏生物科学専攻

平成 29 年度博士課程入学

吉川 壮太

指導教員 東京大学大学院 教授

菊池 潔

論文題目

トラフグ早熟形質の遺伝基盤とゲノム予測の可能性

世界人口の爆発的増加に伴い、タンパク源としての水産資源の重要性が増している。特に、天然資源が減少し続けるなかで養殖生産に対する期待は大きく、世界的な養殖生産量は増加の一途にある。そのような背景のもと、生産性向上技術として選抜育種が注目されている。例えば、ノルウェーなどの北欧諸国では、家系選抜やゲノム育種などの先端的な選抜技術を導入したことによって、タイセイヨウサケ *Salmo salar* などの養殖生産量が急増している。一方、我が国では世界に先駆けて多くの養殖技術が確立されてきたものの、選抜育種への注目度は低かった。これまでも種苗生産業者が独自に選抜に取り組む例はあったが、そこでは養殖場での飼育成績をもとに優良個体を選抜する表現型選抜が行われており、多くの場合で近親交配の回避策として野生親魚の導入も併用された。そのため、厳密な系統管理がなされている例は稀で、系統の創出と喪失が繰り返される状況にあった。

日本を含む東アジア地域で盛んに養殖されているトラフグ *Takifugu rubripes* においても、厳密な系統管理は行われてこなかった。本種の完全養殖技術は 1990 年代に確立され、これまでに表現型選抜によりいくつかの「系統」が作出されており、現在でも高成長性や耐病性を持つとされる複数の「系統」が存在している。しかしながら生産者が「優良系統は 3 世代で喪失する」と述べるように、系統確立に成功しているとは言い難かった。本種は筋肉の高価値もさることながら、発達した精巢（白子）が珍重されるため、精巢重量も選抜対象であり、「精巢が発達しやすい系統（早熟系統）」の存在が知られている。しかし、この「早熟系統」においても厳密な家系管理はなされておらず、系統の喪失が危惧されていた。このため、当該系統の血縁構造の把握や、優良形質の固定とさらなる改良が望まれている。

選抜育種の実行にあたっては、まず、対象形質の遺伝性を確認することが第一歩となる。つぎに、厳密な家系管理の下で優良個体（あるいは家系）の選抜を実施する。選抜においては、家系集団を用いて対象形質の遺伝機構や遺伝率を明らかにし、適切な育種目標と選抜方法を決定して遺伝的改良を目指すことになる。厳密な家系管理や家系集団の利用には正確な血統情報が必須であったが、遺伝マーカーを利用することで、血統情報に誤りがあっても、集団構造や個体間の血縁関係を推定して補正することが可能である。また、遺伝マーカーの取得が容易になったことから、短期間で数千個体から数万のマーカー情報を取得して遺伝機構の解明や選抜に利用することも可能となった。すなわち、大量の遺伝マーカーを用いることで、すでに血統情報が曖昧なまま系統化を進めてしまった養殖集団に対しても、様々な形質で遺伝的改良を達成し得ると考えられる。そこで、本研究では、トラフグの「早熟系統」に注目し、遺伝マーカーを利用して当該系統と他の系統との血縁関係を推定しながら早熟形質の遺伝機構を明らかにしたうえで、早熟系統に適した選抜育種法を検討した。これにより、「既存の養殖集団に対する選抜育種」の達成を目指した。

第 1 章. 早熟系統の遺伝的および内分泌的特徴

本章では、トラフグの「早熟系統（A 系統）」に見られる早熟性が真に遺伝形質であることを

確認するために、A 系統、非早熟系統 (B 系統) および野生魚に由来するオス個体を、B 系統のメス個体と交配した母系半きょうだい集団を作出して後代検定を行った。その結果、A 系統に見られる早熟性が相加的遺伝効果に支配される遺伝形質であることを確認した。また、A 系統の早熟現象は、体サイズ依存的ではないことも明らかにした。次に、A 系統のオス個体と野生オス個体に由来する母系半きょうだい集団間で血中性ステロイド濃度を経時的に比較したところ、A 系統由来の集団の方が、精巣発達開始の約 6 か月前の時点で、血中エストラジール 17- β (E2) 濃度が有意に高いことが判明した。このため、A 系統の早熟性は、E2 を介した内分泌メカニズムでコントロールされていると考えられた。

第 2 章. 養殖用親魚集団の遺伝的構造解析

選抜育種を行うには厳密な家系管理が要求されるが、トラフグ種苗生産においては買い戻した養殖個体や野生個体が親魚に繰り返し導入されていることから血統情報は不確実性が高く、「系統」内の遺伝的多様性や血縁度も不明であった。そこで本章では、A 系統を含む養殖用親魚集団の遺伝的類縁関係を把握することを目的として、長崎県内の種苗生産機関が保有する親魚の DNA サンプルを収集して遺伝構造解析を行った。また、種苗生産機関が記録する各親魚の血統情報の聞き取り調査も行い、遺伝解析の結果との比較からその正確性を検証した。聞き取り調査の結果、収集した 56 個体の親魚には 3 系統 (A-C 系統) の人工生産魚と野生魚が含まれていることがわかった。12 座のマイクロサテライトマーカーを用いて主座標分析、血縁解析ならびに STRUCTURE 解析を行ったところ、B 系統と C 系統の独立性が支持されたものの、A 系統は他の系統からの独立性が弱く、野生親魚を含む他の系統との系統間交配が頻繁に行われていることが推測された。このため、系統外からの遺伝的流入が今後も継続すれば、A 系統の特徴的な表現型 (早熟性) が失われる可能性が高いと考えられた。また、遺伝解析の結果と聞き取り調査の結果が一致しない個体が散見され、血統情報の誤りが確認されたことから、遺伝マーカーを用いた系統管理の必要性が示された。

第 3 章. QTL 解析による遺伝機構の解明

早熟形質の固定とさらなる遺伝的改良のためには早熟性の遺伝機構を解明し、当該形質に適した選抜育種法を選定する必要がある。そこで本章では、第1章の後代検定において早熟性が確認された個体を祖父とする近交家系を作出し、一塩基多型 (SNP) を用いたゲノムワイド QTL 解析を行った。その結果、14 番染色体上に弱いながらも精巣重量に有意な影響力を持つ QTL が認められた。当該 QTL 領域内には雌性ホルモンの抑制機能を持つ *gdf9* が存在した。第1章の結果を考え合わせると、*gdf9* の発現や機能に影響を与えるような変異が E2 の合成を亢進することにより早熟化する機構の存在が推測された。また、標準体長および体重においても有意な影響力を持つ QTL が 14 番染色体上と 21 番染色体上に認められ、14 番染色体上の QTL は精巣重量と 95% 信用区間が重なっていた。この結果は、精巣重量と体サイズは一部で同じ遺伝子座の影響を受けるものの、異なる遺伝機構に支配されることを示しており、第1章の早熟現象が体サイズ依存的ではないという結果と整合していた。また、これらのほかにも、精巣重量および体サイズに関連した複数の示唆的な QTL が検出された。しかし、検出されたすべての QTL の効果は 0.7–10.5% 程度と小さく、A 系統に認められる早熟性と体サイズは、いずれも効果の小さな多数の遺伝子に支配される多因子形質であることが判明した。

第4章. ゲノム予測によるゲノミックセレクション法の有効性

前章において A 系統に見られる早熟形質が多因子形質であることが明らかとなった。そこで、早熟形質の固定とさらなる遺伝的改良に適した選抜法として、多因子形質の選抜に実績のあるゲノミックセレクション (GS) 法の有効性を検証した。解析魚には長崎県内で海面養殖された 10 集団程度の全きょうだいからなる 501 個体を用いた。Ampliseq 法で判定した 5,583 SNP 座の多型情報を用いて、標準体長、体重、精巣重量 (オスのみ)、生殖腺体指数 (GSI, オスのみ) に関するゲノムワイド関連解析を行ったが、全ての形質において有意水準 ($-\log_{10}(P) = 5.05$) を超える SNP 座は認められず、早熟性や体サイズが多因子形質であることが改めて支持された。続いて、同じデータを用いて GBLUP 法によるゲノム予測を行い、各個体のゲノム予測育種価 (genomic estimated breeding value, GEBV) を算出した。各表現型について観察値と GEBV の間

で相関解析を行ったところ、すべてに中程度の正の相関が認められた ($r = 0.58-0.76$)。10 分割の交差検証で算出された予測正確度は、精巣重量が 0.62、GSI が 0.61、標準体長が 0.58、体重が 0.50 といずれも高い値を示した。これらの結果から、トラフグの早熟形質ならびに体サイズ形質は GS 法による改良が可能であることが示された。

本研究では、初めに、トラフグ A 系統に認められる早熟性が遺伝形質であることを後代検定で明らかにした。また、長崎県内の親魚集団には A 系統を含む複数の系統が存在しているものの、系統管理が不十分であり、遺伝マーカーなどを利用した厳密な管理法の導入と早熟形質の早急な固定化が必要であることを示した。さらに、QTL 解析により早熟形質が効果の弱い多数の遺伝子に支配される多因子形質であることを明らかにした。最後に、実際の養殖集団を用いて、早熟個体の選抜に対して GS 法が有効であることを確認した。以上の結果から、大量の遺伝マーカーを用いることで、正確な血統情報がない既存の養殖集団に対しても選抜育種が可能であることを示した。本研究で得られた知見が、トラフグのみならず、これまで表現型選抜が成功せず、系統の創出と喪失を繰り返してきた既存の養殖集団における選抜育種の導入に活用されることが期待される。