

博士論文（要約）

フグ類における鱗消失の遺伝基盤

金 東仁

ゲノム解析技術の進展により、遺伝子型・表現型相関の解明が、実験モデル生物ではもちろんのこと、食用動植物でさえ進みつつある。ただし、水産分野では家畜分野や栽培植物分野と比べて、遺伝子型・表現型相関が明らかとなった例は未だ少ない。一方で水産生物には、遺伝的に近縁な種が自然界に複数存在する場合が多く、それらが種間交配することさえ珍しくないという特徴がある。本研究は、近縁種を利用することで、遺伝子型・表現型相関を明らかにすることを試みる。

トラフグは、主に、日本、韓国、中国を含めた東アジアに分布しており、日本では主要養殖魚のひとつである。トラフグには約20種の近縁種が存在していて、体サイズ、体色パターン、淡水耐性、鱗の有無など、様々な形質において種間差が認められるが、今回は鱗の有無に着目する。鱗がない魚類品種を作出することが、今後の水産分野において最優先の育種目標とされる可能性は高くないが、調理のしやすさを考慮して鱗の数を減らしたコイ（カガミゴイ）が育種されたという例もある。

本研究では、まず、(1) トラフグ属魚類の一部が退化した鱗を持つに至った歴史を明らかにするため、トラフグ属魚類の祖先形質状態を推定した。また、鱗の発生パターンを明らかにするため、経時的な観察を行った。次に、それぞれ独立に鱗を失ったと推定された(2) ヒガンフグと(3) ショウサイフグについて、その鱗消失の遺伝基盤を明らかにするため連鎖解析を行った。最後に(4) 鱗消失の原因変異の同定を目指して、近縁種間の比較ゲノム解析を行った。

(1) トラフグ属魚類における鱗低形成の進化的起源

トラフグ属魚類の一部が退化した鱗を持つに至った歴史を明らかにするため、最節約法、最尤法、ベイズ法を用いて、祖先形質状態を復元した。種の系統樹としては、ミトコンドリアDNA配列を用いた既報の系統樹を用いた。その結果、手法間で一致しない点もみられたものの、トラフグ属魚類の最近共通祖先は発達した鱗を持っており、その放散過程で、独立に4回以上、鱗が退化した可能性が示された。

次に、発達した鱗をもつ種とそうでない種における、鱗の発生パターンを明らかにするため、発達した鱗を持つ2種（トラフグ、クサフグ）と発達した鱗をもたない4種（ヒガンフグ、ショウサイフグ、マフグ、ナシフグ）を材料とし、石灰化部位染色法により鱗の発生を経時的に観察した。その結果、発達した鱗を持つ2種では、まず、孵化後9日前後に、腹部前方に棘状の鱗が形成されることが分かった。その後、これらの鱗は腹部後方にひろがり、孵化後28日以降では腹部全体に鱗が形成されていた。一方、発達した鱗をもたない4種の中には、ふたつの発生パターンが存在することがわかった。すなわち、ショウサイフグ、マフグ、ナシフグの場合、明瞭に染色される鱗石灰化部位は、観察期間を通じて認められなかった。一方でヒガンフグの場合、孵化後7-14日において、腹部前方から後方にひろがる鱗の形成が認められた。ところが、この鱗は後に縮小し始め、孵化後101日には石灰化部位染色法で検出できないレベルまで退化した。以上の結果から、一部のトラフグ属魚類における鱗の退化は、派生形質である可能性が高いこと、「鱗形成不全」形質は、その発生開始機構または維持機構の変化に起因する可能性

が高いことが示された。

(2) ヒガンフグにおける鱗低形成の遺伝基盤

上記の発生観察により、ヒガンフグにおける鱗の退化パターンは、他の鱗をもたない種のそれとは異なることが明らかとなった。そこでヒガンフグに着目し、その鱗低形成の遺伝基盤を解析した。クサフグはよく発達した鱗を持つので、これと鱗が発達しないヒガンフグの人工交配を行い、交雑第2世代をまず作出した。次に、鱗の表現型を測定するとともに、ゲノムワイドあるいは染色体ワイドなマーカー座における遺伝子型データを取得して、量的形質遺伝子座（QTL）の解析を行った。その結果、大きな効果をもつ遺伝子座の数はひとつで、それは2番染色体上にあることがわかった。ただし、この遺伝子座の寄与率は最大で43.6%しかなかったことから、効果の小さな複数の遺伝子座も、鱗の低形成に関与していることが示唆された。

(3) ショウサイフグにおける鱗低形成の遺伝基盤

ヒガンフグ型とは異なる鱗の退化パターンを示す種における、鱗低形成の遺伝基盤を明らかにするため、ヒガンフグとは系統的に離れていて、鱗の退化パターンも異なるショウサイフグに着目した。よく発達した鱗を持つクサフグと鱗が発達しないショウサイフグの人工交配により、戻し交配第一世代あるいは交雑第2世代を作出し、QTL解析を行った。その結果、大きな効果をもつ遺伝子座がひとつだけで、2番染色体上に位置していた。この遺伝子座の95%信頼区間は予想外なことに、(2)で明らかとなったヒガンフグ鱗低形成遺伝子座と重なっていた。したがって、ショウサイフグとヒガンフグではその鱗低形成の発生パターンが異なるにもかかわらず、低形成に大きな影響を及ぼすゲノム領域は同祖的である可能性が高いと考えられた。次に、鱗の低形成をもたらす原因遺伝子を探索するため、上記までのQTL解析すべてに共通して検出された95%信頼区間に着目し、そこにあるタンパク質コード遺伝子のリストを作成した。その結果、69個の遺伝子がみつかったが、これらの中には、*Eda*（トゲウオ）、*Edar*（メダカ）、*Fgfr1a*（ゼブラフィッシュとコイ）といった既報の鱗低形成原因遺伝子は存在していないことから、フグ類ではこれまでに知られていない遺伝子が鱗の形成/低形成を支配していると考えられた。

(4) トラフグ属魚類における鱗消失の責任変異候補の推定

上記までの研究により、ヒガンフグとショウサイフグの鱗低形成遺伝子は共通している可能性が示された。仮に、鱗の低形成が同祖遺伝子（変異）に起因する場合、ヒガンフグとショウサイフグはその変異を共有し、かつ、他の鱗を持つ近縁フグはすべてその変異をもたないはずである。そこで、ヒガンフグとショウサイフグに、発達した鱗をもつ8種の近縁フグをあわせて、合計10種の全ゲノム配列を比較した。その結果、2番染色体上においては、1,100個の共通変異（1塩基置換：904個、インデル：196個）

が存在することが判明した。また、QTLの共通95%信頼区間においては、51個の共通変異（1塩基置換：43個、インデル：8個）が存在していた。この43個の共通変異の中に鱗低形成の原因変異が存在するよと予想されるが、その同定には機能欠失実験が必要であると考えられた。

本研究により、これまでにほとんど知見のなかった「フグ類における鱗形成不全の遺伝基盤」の一端が明らかとなった。これらの知見や、今回試みた手法を、他の水産魚類の異なる形質に適用することで、従来よりも短時間で表現型の責任遺伝子が同定できる場合も増えると予想される。したがって、本研究の成果は、鱗の進化に関する知見を深めたという基礎研究的に加えて、応用研究的な意義もあると考えられる。