

マダイの体色異常（透明化）を引き起こす 原因遺伝子変異を特定した

研究成果のポイント

- ・ 養殖マダイは生産に使用する親の数が限られていることから、近親交配が進んでいる。
- ・ 近親交配により遺伝的多様性が低下し、劣性有害遺伝子の顕在化が生じている。
- ・ 本研究では、連鎖解析や関連解析、さらにはゲノム編集により、マダイの体色異常（透明化）に関与する遺伝子変異を特定した。
- ・ 本発見により、1組の交配から25%の頻度で生じる形態異常の防除が可能になった。

研究成果の概要

本研究では、養殖マダイ種苗の稚魚期に見られる体色異常の原因遺伝子を特定するために、以下の実験を行った。

1. 既報 (Sawayama et al. 2018) で見出された透明個体に特異的な一塩基多型 (TP-360) を指標として親魚を選び、TP-360のアリルが G/G にホモ化する家系を作出した。
2. ddRAD-seq によりゲノムワイド一塩基多型を取得し、正常体色形質と透明形質を表現型とした連鎖解析を実施した。表現型と最も連鎖した一塩基多型 (SNP) が座乗しているスキファールドに存在する遺伝子を探索することで、*duox* と *duoxa* の2つの遺伝子が存在することを明らかにした。
3. *duox* と *duoxa* の塩基配列を単離し、アミノ酸置換を伴う SNP を調べたところ、それぞれに4個と1個の非同義置換を見出した。また、関連解析から、*duoxa* における非同義置換が全ての透明個体で確認された。また、膜貫通領域の推定シミュレーションを行ったところ、本非同義置換は膜貫通領域に異常を引き起こすことが示唆された。
4. *duoxa* は甲状腺ホルモン合成に関与する遺伝子であることから、透明個体に甲状腺ホルモン (T_4) を投与したところ、体色が正常体色に近づいた。また、甲状腺の組織切片を作製したところ、甲状腺濾胞の肥大や数の増加が認められ、腫瘍化していた。体内の T_4 濃度は40日齢時は正常個体と比べて有意に低い値となっていたが、45日齢以降は正常個体と同等の値に回復した。
5. モデル実験魚であるゼブラフィッシュの *duoxa* 遺伝子をゲノム編集によりノックアウトしたところ、体色が透明化した。これらの実験結果から、体色透明マダイの原因遺伝子は *duoxa* であり、1塩基の置換により引き起こされていることが証明された。

研究成果の詳細

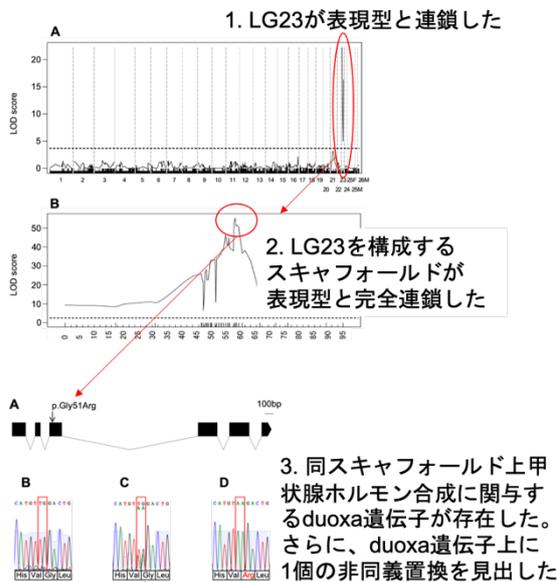
(背景)

我々の研究グループでは、マダイ養殖で問題となる遺伝的形態異常（遺伝病）の原因遺伝子特定に向けた研究を進めており、これまでに、養殖マダイの体色透明化異常と高い関連を示す一塩基多型を特定することに成功している（Sawayama et al. 2018）。しかし、透明化を引き起こす原因遺伝子変異は依然として不明である。透明化は養殖生産の効率を低下させることから、養殖集団から原因遺伝子変異を排除することが望まれている。また、原因遺伝子変異を特定することは、魚類の体色形成やヒトの遺伝病への知見ともなることが期待される。そこで、本研究では、マダイ種苗の体色透明化を引き起こす原因遺伝子を特定するために、種々の遺伝解析を実施した。

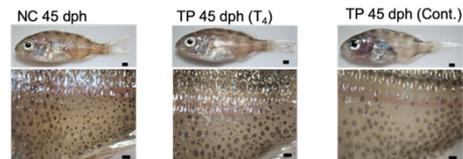
(研究手法)

透明個体特異的 SNP である TP-360 を用いて原因因子をヘテロ接合の状態を持つと予想される親魚を選び、人工授精により交配することで、透明個体と正常体色個体を得た。各個体からゲノム DNA を抽出し、ddRAD-Seq 法によりゲノムワイド SNP を検出し、ゲノムワイド連鎖解析を行うとともに、候補遺伝子を探索した。得られた候補遺伝子については遺伝子クローニングをおこない、非同義置換の有無を調べた。非同義置換については複数の養殖系統から得られた透明個体と体色正常個体を用いた関連解析を実施した。また、ゼブラフィッシュを用いて CRISPR-Cas9 によるゲノム編集を行い、同遺伝子を破壊することで表現型が透明になるのかを調べた。

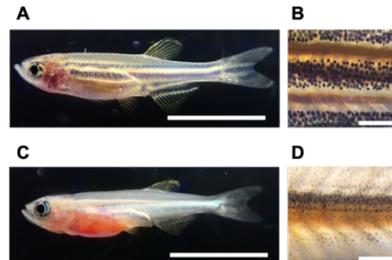
(研究成果)



4. 透明化は甲状腺ホルモンが不足することで起こると考え、甲状腺ホルモン投与実験を行ったところ、透明化が改善された



5. ゼブラフィッシュのduoxa遺伝子を破壊したところ、透明化が生じた



(今後の展望)

本研究により、マダイ種苗で見られる透明化異常の原因を特定することができた。今後はこの遺伝子変異を検出することで、透明化因子を保有する親魚を養殖集団から排除することが可能になる。また、本透明化はメンデル遺伝性のため、透明化因子を排除することによって、種苗生産期の減耗がおおよそ 25%改善されることが期待される。Duoxa 遺伝子を用いた親魚選抜は既に民間企業に技術移転され、本研究を元にした劣性有害遺伝子排除は既に実用化の域に達している。

発表論文の概要

研究論文名

Identification of the causative gene of a transparent phenotype of juvenile red sea bream *Pagrus major*.

著者

Eitaro Sawayama¹, Yoshihiro Handa², Koichiro Nakano², Daiki Noguchi³, Motohiro Takagi⁴, Yosuke Akiba⁵, Shuwa Sanada⁵, Goro Yoshizaki⁵, Hayato Usui¹, Kenta Kawamoto¹, Miwa Suzuki¹, Kiyoshi Asahina¹

1. 日本大学 生物資源科学部 海洋生物資源科学科
2. 株式会社 生物技研
3. 株式会社 日本総合科学
4. 愛媛大学 南予水産研究センター
5. 東京海洋大学大学院

公表雑誌

Heredity, オンライン先行出版

<https://doi.org/10.1038/s41437-021-00448-3>

お問い合わせ先

日本大学生物資源科学部海洋生物資源科学科 海洋生物生理学研究室

専任講師 澤山英太郎 (さわやま えいたろう)

TEL/FAX 0466(84) 3724 E-mail: sawayama.eitaro@nihon-u.ac.jp

文責：海洋生物生理学研究室 専任講師 澤山英太郎