

# クロマグロ等、これまで養殖が困難だった大型魚種について、大型魚種の始原生殖細胞<sup>(注1)</sup>や精原細胞<sup>(注2)</sup>を小型魚種の免疫機能が未熟な孵化稚魚期の生殖腺に移植することで、飼育が容易なサバ等に代理出産させるという世界初の代理親魚養殖技術を確立。

クロマグロをはじめとする大型回遊魚は、資源量が世界的に減少しているにもかかわらず、親魚は魚種によっては最大で600kgを超えるため、卵の採取には多くの困難があり、養殖には広い海面上の生け簀（イケス）を必要とします。さらに、成熟するまでに長期間を要することや技術的に産卵回数を増やせないという問題もあります。このような大型魚種の卵を、同属のマサバのように小型魚を代理親として産ませることができれば、養殖の効率を大きく改善できる可能性があります。



▲ヤマメの稚魚へのニジマスの始原生殖細胞の移植

- 大型親魚からの採卵をマサバ等の小型魚種が入る程度の小型水槽のできるので、スペースと労力、コストの低減となり、水産資源の保護・保全にもつながります。また、一年を通じた（周年）採卵も可能です。
- 凍結した始原生殖細胞あるいは精原細胞を代理親魚に移植することで、生きた個体が生産できるので、商品的に価値のある魚種の増産や絶滅危惧種の遺伝子資源の保存をはかれます。

## 競合技術への強み

種苗生産の方法	親魚の体長	親魚の体重	成熟までの期間	採卵の時期
(1) クロマグロの種苗生産（現状の方法）	△ 約3m	△ 約100~300kg	△ 3~5年	△ 海域によって季節が限定される
(2) サバを親魚としたマグロの種苗生産（本研究）	◎ (1)の1/10程度	○ (1)の1/100~1/500程度	○ (1)の1/2~1/5程度	○ 周年採卵が可能

▲クロマグロを例にした種苗（卵）生産方法に関する従来技術と本研究との比較表

①スペース、労力、コストの削減：体長3m、体重100~600kg（最大種のタイセイヨウクロマグロは全長4.5m、体重680kgを超える）もあるクロマグロの親魚からの採卵が、サバからできれば、必要なスペース、労力、コストが大幅に削減できます。

②周年採卵が可能：自然の海域では採卵できる時期が限られますが、小型水槽であれば水温、照明を調節することで、年間を通じての採卵が可能になります。

③技術の習得が容易：2週間程度の研修で、技術を習得できると予想されますので、容易に技術の普及がはかれます。

## ここがポイント

クロマグロのように大型の魚種の種苗を確保して成魚を生産することは容易ではありません。その解決策としては、小型の魚種を代理親魚として種苗を生産させる技術が考えられます。本研究では、同属であるヤマメからニジマスの個体を産ませることを通じて、大型魚種（クロマグロ）への応用技術へ適用することを検討しました。孵化したばかりのヤマメの稚魚は、免疫系が十分に確立されていないため、異種種の始原生殖細胞を移植されても拒絶反応を起こしません。この事実を手がかりにして、孵化したばかりのヤマメの稚魚の腹腔にニジマスの始原生殖細胞を移植します。移植された始原生殖細胞は、宿主（ヤマメ）の生殖腺の位置を探り出して自力で移動していきます。移動したニジマスの始原生殖細胞は、ヤマメの生殖腺に取り込まれてニジマスの始原生殖細胞として増殖し、機能的な精子が卵に分化します。しかし、この手法では宿主は、自分自身の配偶子ももっていますので、ヤマメも産む可能性があります。そこで、不妊の性質をもつ3倍体<sup>(注4)</sup>のヤマメの稚魚に2倍体（通常）のニジマスの精原細胞を移植しました。その結果、3倍体のヤマメの両親からニジマスだけを産ませることに成功しました。3倍体ヤマメの作出は、ヤマメの受精卵を10℃で培養し、受精から15分後に27℃で15分間処理して行われます。またマウス以外の動物では世界で初めて遺伝子導入技術を使ってニジマスの始原生殖細胞をGFPで標識させることに成功しました。これにより、始原生殖細胞の移動の確認が容易となり、また親魚から生産された稚魚が育つのを待たなくても実験の結果

がわかり、研究の迅速化が可能となりました。しかし、GFP遺伝子を遺伝子組み換え技術によって導入することは、食品としての安全性、商品性を損なう可能性があること、さらに海洋への放流により生態系を乱しかねないという課題が残ります。そこで、精原細胞の細胞膜上にだけあるタンパク質を同定した上で、このタンパク質分子の細胞外ドメインに対する抗体を作成して、蛍光抗体や磁気抗体を使って精原細胞を特定して濃縮する方法を考え、その研究を開始しました。この方法は、まず生殖腺の体細胞では発現せず精原細胞のみで発現している遺伝子を特定します。次にこの遺伝子により精原細胞のみで産生されているタンパク質に免疫反応を起こす抗体を作成します。そこで精巣組織に免疫反応を起こしている細胞だけを着色する色素を用いて精原細胞を着色して、識別できるようにします。このような精原細胞のみで発現している遺伝子および産生されるタンパク質の同定は、魚類では、この研究が初めての報告になりました。従来は、精原細胞は成魚の精巣内に存在していて、精子の元になる細胞と考えられていました。ところが、本研究では精原細胞を雄の宿主に移植すると機能的な精子を生産することが明らかになりました。この発見は、希少な数少ない始原生殖細胞ではなく、精巣に大量に存在している精原細胞を「始原生殖細胞」の替わりとして利用できるため、有用な魚種を大規模に増産する上で大きな意味をもっています。

## ブレイクスルーへの道のり

1998年：生殖細胞は精子や卵に分化し、受精を介して個体に改変できる細胞であるとの考えから、ニジマスの生殖細胞を操作する研究を開始。

2000年：マウス以外では初めて、ニジマスの始原生殖細胞にクラゲ由来のGFP<sup>(注5)</sup>を導入して標識することに成功。

2002年：ニジマスの始原生殖細胞が発する緑色蛍光を指標に始原生殖細胞の大量単離技術の開発に成功。

2003年：始原生殖細胞の移植技術を開発。孵化直後の稚魚は異個体由来の細胞を免疫的に拒絶しないこと、腹腔内に移植した始原生殖細胞は宿主の生殖腺に誘引されて移動し、そこに取り込まれることを発見。

2004年：ニジマスの始原生殖細胞をヤマメに移植することで、異種間でも拒絶反応が起きずニジマス由来の精子を生産させ、得られた精子を用いて正常なニジマスを生産することに成功。本研究成果はNature誌<sup>(注6)</sup>（2004年8月5日）に掲載された。

2005年：産業技術研究助成に採択される。

2006年：成魚の精巣由来の精原細胞を孵化稚魚に移植すると、移植細胞は宿主の生殖腺に取り込まれ、機能的な配偶子を生産することを発見。特に、雌の宿主に移植した精原細胞は卵に分化することを見出

し、全動物種を通じて初めて精原細胞の性的可塑性を証明。本研究成果は、米国科学アカデミー紀要<sup>(注7)</sup>（2006年2月9日）に掲載された。

2007年：ニジマスしか産まないヤマメの作出に成功。本研究成果はScience誌<sup>(注8)</sup>（2007年）に掲載された。

## ■サクセス・キー

研究を成功させる原動力は、生き物をじっくりと飼うこと、じっくり見ること、そして生き物の持つ“すごい能力”を見出し、それを組み合わせることです。

## ■ネクスト・ストーリー

サバにクロマグロの種苗を生産させるためには、まず、クロマグロの精原細胞を濃縮する技術の確立が必要です。クロマグロの精巣は大部分が筋様細胞<sup>(注9)</sup>で精原細胞が少ないため、本研究で作出した特異抗体を用いて、精巣から精原細胞のみを濃縮し、得られた細胞をシャーレ内で増殖させた上で宿主であるサバに移植する研究を進めています。絶滅危惧種の保存への利用も考えています。サケマス類は、水系ごとに適応した特異な遺伝子をもっている可能性がありますので、各水系それぞれのサケマス類を保全するためにも異種間移植の技術を役立てたいと考えています。

(注1) 始原生殖細胞：受精卵から胚発生（多細胞生物が成体になる過程）の初期に分化（注3）する生殖細胞で、胚が分化している際にも増殖するが、体細胞性の生殖腺の分化が進むとその中に移動し、精巣内では精原細胞を経て精子に、卵巣内では卵原細胞を経て卵に分化する。

(注2) 精原細胞：精子の元となる細胞で、従来は精巣で精子にしかならないと考えられてきたが、本研究で全動物種を通じて世界で初めて雌の稚魚の腹腔に移植すると卵になることが発見された。本研究成果2006年2月9日発行の米国科学アカデミー紀要に掲載された。

(注3) 多細胞生物に於いて個々の細胞が構造機能的に変化する事。 (注4) 3倍体：通常の染色体は2セットで1対となっていて、動物では配偶子を形成する際に1セットずつに減数分裂し、減数分裂で染色体数が分裂前の細胞の半分の娘細胞をつくる。精子と卵（それぞれ1セットの染色体を有する）が受精して再び2セットの対になるが、何らかの原因で3セットになったものを3倍体という。

(注5) GFP：Green Fluorescent Protein、緑色蛍光タンパクのこと。 (注6) Natureは、自然科学全般を対象とする世界最高の学術雑誌である。イギリスのNature Publishing Group (NPG) によって発行されている。

(注7) 米国科学アカデミー紀要は、1915年に創刊された米国科学アカデミーの機関誌。総合学術雑誌として、ネイチャー、サイエンスと並び世界で最も権威のある学術雑誌の一つである。

(注8) サイエンス(Science)は、Natureと並んで世界で最も権威がある学術雑誌の一つである。アメリカ科学振興協会(AAAS)の発行している学術雑誌。

(注9) 精巣内に存在する筋様細胞の細胞のこと。



プロジェクトD・研究テーマ名・年度

05A07006d「生殖細胞の異種間移植による代理親魚養殖技術の確立」（平成17年度第1回公募）

代表研究者・所属機関・所属部署名・役職名

吉崎 悟朗 東京海洋大学 海洋科学部 准教授