

■ 研究課題名

精原細胞移植を用いた代理親魚技法の構築：サバにマグロを生ませる

■ 研究の目的

マグロの配偶子を、短期間で成熟する小型の代理親魚に生産させる技術の構築を目指す。そのため、研究代表者らが開発した精原細胞の移植によりヤマメにニジマスを生ませる技法を、マグロ生産に応用する技術の開発にチャレンジする。さらに、シャーレの中で増殖させたマグロ精原細胞を、内在性生殖細胞を除去したサバ等の宿主に移植することで、シャーレ内の細胞に由来するマグロの卵・精子を生産する代理親魚の生産を目指す。

■ 研究項目・実施体制（◎は研究代表者）

- ①海産魚における生殖細胞移植系の構築
（竹内裕、◎吉崎悟朗／東京海洋大学海洋科学部）
- ②海産魚精原細胞の *in vitro* 培養系の構築
（◎吉崎悟朗、竹内裕／東京海洋大学海洋科学部）
- ③内在性生殖細胞を欠如した宿主魚の大量生産
（◎吉崎悟朗、竹内裕／東京海洋大学海洋科学部）



吉崎悟朗

■ 研究の内容・主要な成果

- ①クロマグロの精原細胞をフローサイトメーター（FCM；細胞分取装置）、あるいは培養皿底面への接着性を利用して濃縮する技法を開発した。
- ②クロマグロの精原細胞をスマ等の亜熱帯性サバ科魚類へと移植することで、移植細胞が宿主生殖腺へ着生し、長期間にわたり生存、さらには減数分裂を開始することを見出した。
- ③精巣から酵素処理により単離した精原細胞を *in vitro* で短期間培養することで、宿主への移植効率が飛躍的に高まることを見出した。
- ④ニジマスを用いた Cre/loxP（DNA の部位特異的組換え）システムを構築し、生殖細胞で特異的に毒素を生産させ、これらの細胞を除去する系の基盤作りを行った。
- ⑤クロマグロの生殖細胞マーカー、減数分裂マーカーを単離、さらには抗体を作成し、宿主生殖腺内でクロマグロ由来の生殖細胞を探索し、その成熟状況を同定する方法を開発した。

■ 今後の展開方向・見込まれる波及効果

- ①本課題で作出したスマを継続飼育することで、クロマグロ配偶子の生産が期待できる。これが実現すれば、クロマグロ受精卵の供給が大幅に簡略化可能である。
- ②本課題で開発した海産魚仔魚への精原細胞移植技術を応用することで、多くの水産上有用種の受精卵供給を、飼育が容易な代理親魚に託すことが可能になる。実際にすでにアジ科魚類やフグ科魚類へ本技法は応用され、移植細胞に由来する配偶子を代理親魚が生産するに至っている。

■ 公表した主な特許・論文

- ①K. Kise, et al. Flow-cytometric isolation and enrichment of teleost type-A spermatogonia based on light-scattering properties. *Biol. Reprod.* in press.
- ②G.. Yoshizaki, et al. Sexual plasticity of ovarian germ cells in rainbow trout. *Development* 137: 1227-1230 (2010)
- ③R. Yazawa, et al. Chub mackerel gonads support colonization, survival, and proliferation of intraperitoneally transplanted xenogenic germ cells. *Biol. Reprod.* 82: 896-904 (2010)
- ④K. Nagasawa, et al. cDNA cloning and expression analysis of vasa-like gene in pacific bluefin tuna *Thunnus orientalis*. *Fish. Sci.* 75:71-79 (2009)
- ⑤Y. Takeuchi, et al. Development of spermatogonial cell transplantation in Nibe croaker, *Nibea mitsukurii*(Perciformes, Sciaenidae). *Biol. Reprod.* 81:1055-1063 (2009)

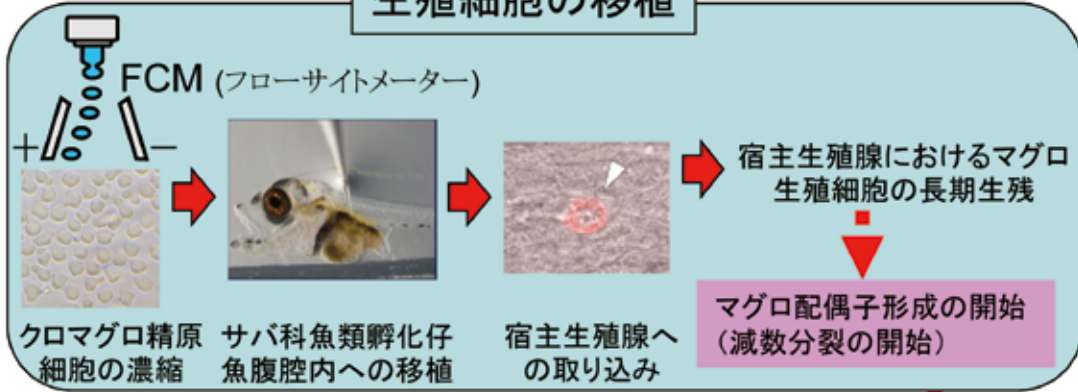
■ 研究成果の具体的図表

精原細胞移植を用いた代理親魚技法の構築：サバにマグロを生ませる

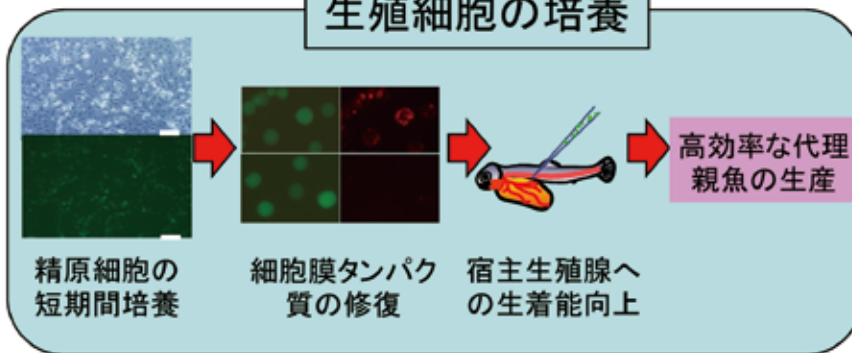
研究目的

- ① クロマグロの生殖細胞を移植することで、代理の親魚にクロマグロの配偶子を生産させる技術の構築
- ② 移植用のクロマグロ生殖細胞を培養皿の中で増やす技術の開発
- ③ 個体内で遺伝子を組み換える技法を開発し、これを利用することで自らの配偶子を作らない宿主を作出する

生殖細胞の移植



生殖細胞の培養



展望

培養皿で増やしたマグロ細胞を生殖細胞欠損サバ宿主へ移植
 ↓
 サバからマグロの生産へ

魚類個体内での遺伝子組み換え

