

機関番号：12601

研究種目：研究活動スタート支援

研究期間：2009～2010

課題番号：21880016

研究課題名（和文）魚類の成長速度を決定する遺伝子を探す

研究課題名（英文）Fishing growth rate determinant genes of fish

研究代表者

細谷 将 (HOSOYA SHO)

東京大学・大学院農学生命科学研究科・特任研究員

研究者番号：60526466

研究成果の概要（和文）：本研究は、魚類における種特異的な体サイズを決定するゲノム領域を特定することを目的とした。実験魚には、体の大きいトラフグと体の小さいクサフグの雑種第2世代を用いて両種の成長速度の差に影響する遺伝子領域を QTL 連鎖解析により 1 領域に特定した。また、最も影響力の強い領域にあたるトラフグゲノム領域をクサフグに導入して、その影響力を評価するための家系を作出した。

研究成果の概要（英文）：This study aimed at locating genomic regions which determines species specific body size in fish. We used second generation hybrid (F<sub>2</sub>) and backcross (BC) between *Takifugu rubripes* (fugu) and *T. niphobles* (kusa-fugu) to conduct QTL analysis for growth rate. In the first year, we locate a QTL harboring 1.5Mbp on a single linkage group of fugu. We introduced a fugu BAC, included the region with highest LOD score, into *T. niphobles* by microinjection. These injected individuals are to be used to examine the effects of genes included in the BAC.

交付決定額

(金額単位：円)

	直接経費	間接経費	合計
2009年度	900000	270000	1170000
2010年度	800000	240000	1040000
年度			
年度			
年度			
総計	1700000	510000	2210000

研究分野：農学

科研費の分科・細目：

キーワード：トラフグ・成長速度・交雑種・QTL解析・BAC

## 1. 研究開始当初の背景

生物には種固有の体サイズがある。動物にとって体サイズは生態系での位置を決める特に重要な形質であり、生物の生態や進化と深く関わる基礎科学研究の重要な課題として取り上げられてきた。また、飼育個体のサイズの人為的コントロール、特に大型化技術の開発への期待から、養殖業界や畜産業界など応用的側面からも体サイズ決定機構の解明が長く望まれている。これまで体サイズ決

定機構は GH-IGF 系のホルモンを対照とした内分泌学的アプローチが主であったが、近年、ゲノム情報を利用した QTL 連鎖解析が開発され、研究の可能性が大いに広がりつつある。

## 2. 研究の目的

本研究は、成魚の体長が 70cm に達するトラフグと、その近縁種であるものの体長が 20cm に満たないクサフグの雑種第2世代を

用いて、両種の体サイズの差を規定するゲノム領域を明らかにすることを目指す。本研究の第一の目的は、トラフグとクサフグの成長速度に強い影響力を持つ遺伝子領域を、両種の雑種を用いた QTL 解析によって同定することである。また、この領域に含まれる候補遺伝子を含む BAC クローンをクサフグ受精卵に対して顕微鏡注入法により導入し、機能解析を行うことを第二の目的とする。

### 3. 研究の方法

まず、複数家系の雑種第 2 世代を作出する。トラフグとクサフグは孵化直後に明瞭なサイズ差が認められないが、共通環境で飼育した場合、孵化後 4 週目以降に有意なサイズ差が現れる (図 1)。また、両種の雑種第 2 世代の体長は両種の間程度である (図 2)。そのため、両種の稚魚期における成長速度の差に注目した QTL 解析を行うこととした。孵化後 56 日目に、それぞれの家系について 200 個体ずつを用いて QTL 解析を行った。これによって家系間で共通して成長速度に影響を持つゲノム領域を同定し 1 段階目の候補領域選別を行った。

次に、同定したゲノム領域に焦点を絞り、500 個体の交雑個体を用いた高解像度連鎖解析により 2 段階目の選別を行い、100 個前後 (約 1500kb) の遺伝子を含む程度まで候補領域を絞り込んだ。フグはゲノム上の遺伝子密度が著しく高いため、比較的少数の BAC クローンを、この領域をカバーすることができる。この領域に含まれる候補遺伝子を含む BAC クローンを調製し、このクローンをクサフグ受精卵に対して顕微鏡注入法により導入した。これらの BAC のうち成長速度への影響が認められたクローンに原因遺伝子が存在すると考えられる。

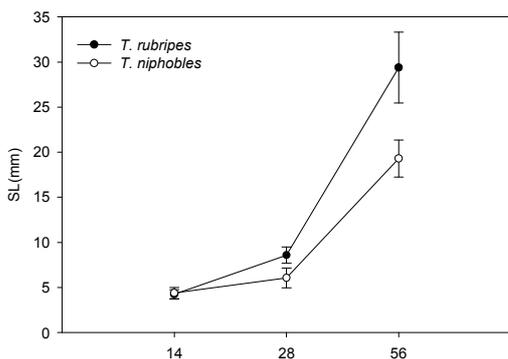


図 1 トラフグとクサフグの成長曲線。黒丸がトラフグの平均体長、○はクサフグ平均体長を示す。横軸は孵化後の日齢を示し、縦軸は体長を示す。エラーバーは標準偏差。

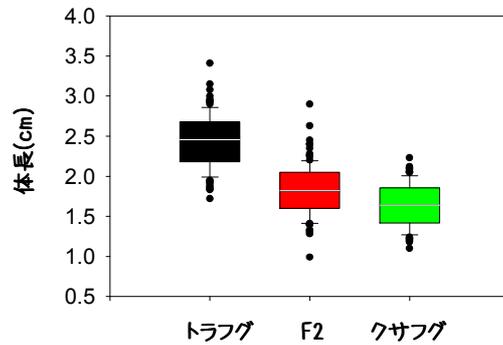


図 2 孵化後 56 日齢におけるトラフグ、雑種第 2 世代 (F2) およびクサフグの体長。箱の下限は下位 25%、上限は同 75% を示す。髭の下端は下位 10%、上端は同 90% を示し、黒丸はその範囲からはずれた値を示す。

### 4. 研究成果

雑種第 2 世代 (F2) に加えて、F1 雄とクサフグ雌とを戻し交配して得た集団 (BC) について解析を行い、両種の成長速度に差をもたらすゲノム領域を連鎖群 A 上の 1.57Mbp に絞った (図 3)。この領域には 100 個程度の遺伝子が含まれていたが、GH-IGF 系のホルモンや受容体は存在しておらず、新規の体サイズ決定因子の存在が示唆された。この領域には従来の研究対象であった GH-IGF 系の遺伝子は含まれておらず、新規の因子が影響していることが示唆された。また、当該領域は、市販されているトラフグ Cosmid および BAC でその 98% がカバーされ、必要なクローン数はそれぞれ 6 個と 9 個であった。これらのクローンのうち、QTL 解析で最も LOD 値の高い領域にある 1 つの BAC についてメダカ由来のトランスポゾン (TOL2) を利用した遺伝子導入を顕微鏡注入により行った。導入世代では、個体間の差が大きく有意な成長速度の促進は認められなかった。別途、生殖腺への遺伝子導入された個体を得るために顕微鏡注入された個体を継続飼育しており、今後、次世代への影響を検討する。

種特異的な体サイズ決定機構を対象の一種のみで解明することには限界がある。一方、我々は異種間交雑種を用いた QTL 解析を試み、新規因子の存在を明らかにした。また、魚類における顕微鏡注入法の利用はメダカやゼブラフィッシュなど小型魚に限られていたが、我々は海産魚にこれを応用した。これら画期的な手法により最終的に得られる成果は、従来の魚類の体サイズ制御機構の解明の試みに対して新機軸をもたらす、脊椎動物全般を含めた体サイズ制御機構の解明という分野に対しても非常に大きなインパクトを与えると期待される。また、その成果を応用することで養殖魚の早期成長と大型化が可能と

なれば、養殖効率の飛躍的向上に貢献できると期待される。

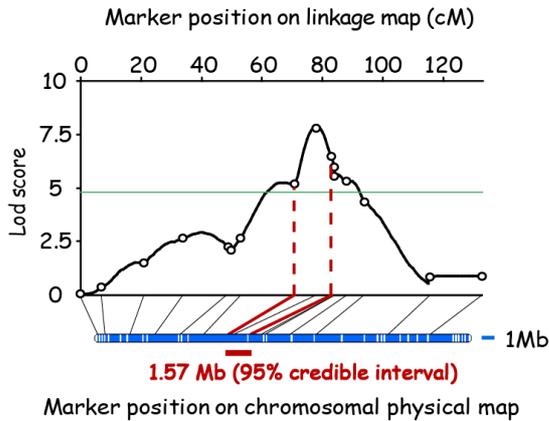


図3 QTL マッピング。連鎖群 A 上の 1.57Mbp の領域(95%信頼区間)に QTL の存在が示された。白丸はマーカーの連鎖地図上の位置と LOD 値を示す。横軸(グラフ上)は連鎖地図上の距離、縦軸はマーカーと QTL の連鎖の強さを示す。緑色の横線は LOD の 5%有意水準を示す。また、グラフ下の青棒はトラフグ染色体物理地図を示し、各マーカーの物理地図上の位置を示す。

#### 5. 主な発表論文等

(研究代表者、研究分担者及び連携研究者には下線)

〔雑誌論文〕(計2件)

① Kai, W, Kikuchi, K, Tohari, S, Chew, A, Tay, A, Fujiwara, A, Hosoya, S, Suetake, H, Naruse, K, Brenner, S, Suzuki, Y. and Venkatesh, B. Integration of the genetic map and genome assembly of fugu facilitates insights into distinct features of genome evolution in teleosts and mammals. *Genome Biol. Evol.* 査読有り (2011, in Press)

②菊池潔, 甲斐渉, 細谷将, 末武弘章, 鈴木讓. フグ類の多様化をもたらした遺伝子の探索-種間交雑を利用したゲノムワイドマッピング-, 月刊海洋, 査読無, 42 巻, 2010, 363-371

〔学会発表〕(計6件)

①細谷将, 穴井康崇, 竹内裕, 中村修, 鈴木重則, 水野直樹・田角聡志・鈴木讓・菊池潔. フグのトランスジェネシス. 日本水産学会春季大会. 2011. 3. 28, 東京.

②Kikuchi, K, Kai, W, Kuroyanagi, M, Nozawa, A, Hosoya, S, Suetake, H, Suzuki, Y. Genetic Basis of Parallel Evolution for the Spiny Scale in the Rapid Radiation

of Pufferfishes., The 20th CDB Meeting Molecular Bases for Evolution of Complex Traits, 2011.2.23, Hyogo.

③甲斐渉, 細谷将, 菊池潔, 黒柳美和, 合田知樹, 野澤碧, 末武弘章, 鈴木讓, フグにおける形態多様化の遺伝的背景: 種間交配を利用したゲノムワイド連鎖解析, 日本進化学会第12回東京大会, 2010.8.5, 東京.

④Hosoya, S, Kikuchi, K, Kai, W, Mizuno, N, Suetake, H, and Suzuki, Y. Genetic architecture of interspecific differences in growth of pufferfishes. 9th International Congress for the Biology of Fish. July, 5th, 2010. Spain, Barcelona.

⑤合田知樹, 細谷将, 甲斐渉, 菊池潔, 水野直樹, 末武弘章, 石川智士, 鯉江洋, 鈴木讓. フグの脊椎骨数と成長を支配する遺伝子の関係, 平成22年日本水産学会春季大会, 2010.3.27, 神奈川.

⑥菊池潔, 甲斐渉, 細谷将, 木戸慎一, 末武弘章, 鈴木讓, フグ類の多様化をもたらした遺伝子の探索: 種間交雑を利用したゲノムワイド QTL 解析, 2009年度日本魚類学会シンポジウム, 招待講演, 2009.10.12, 東京

〔図書〕(計0件)

〔産業財産権〕

○出願状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

出願年月日:

国内外の別:

○取得状況(計0件)

名称:

発明者:

権利者:

種類:

番号:

取得年月日:

国内外の別:

〔その他〕

ホームページ等

#### 6. 研究組織

(1) 研究代表者

細谷将 (Hosoya Sho)  
東京大学・大学院農学生命科学研究科・特  
任研究員  
研究者番号：60526466