

国立大学法人
 東京海洋大学
Press Release

**冷凍庫で1年間冷凍した魚から次世代が生まれました！
-冷凍庫で凍っていた絶滅種を蘇らせることが可能に-**

東京海洋大学（学長：竹内俊郎）は、1年間冷凍庫内で凍結していたニジマスから機能的な卵と精子を生産し、これらを受精することで正常な次世代個体を生産することに成功しました。具体的には、 -80°C の冷凍庫内でまるごと冷凍していたニジマスを解凍し、これらの個体から精巢を取り出したところ、この中に生きた精原幹細胞（精子の元になる細胞）が存在することを発見しました。これらの細胞をふ化直後のヤマメの稚魚（宿主）へと移植することで、この宿主が雄の場合は冷凍魚に由来する機能的な精子を、雌の場合は冷凍魚由来の機能的な卵を生産することを明らかにしました。さらに、これらの卵と精子を受精させることで、冷凍魚の次世代を生きたかたちで生産することに世界で初めて成功しました。

近年、乱獲や環境破壊により多くの魚種が絶滅の危機に瀕しています。一般に絶滅危惧種の遺伝子資源を保存する方法としては卵や精子の凍結保存が挙げられますが、魚類の卵はサイズが大きいうえ、脂肪分に富むため、卵や胚の凍結保存は全く進んでいませんでした。本法を用いることで、絶滅危惧種を冷凍庫内で冷凍しておきさえすれば、たとえ当該種が絶滅した場合でも、現存する近縁種に冷凍魚由来の精原細胞を移植し、絶滅種の卵や精子を、ひいては受精を介して“生きた魚類個体”をいつでも再生することが可能になりました。

本研究の成果は、文部科学省国家基幹研究開発推進事業海洋資源利用促進技術開発プログラムにおける研究テーマ「生殖幹細胞操作によるクロマグロ等の新たな受精卵供給法の開発」および科学研究費補助金新学術領域「サケ科魚類の進化に伴うGSC制御機構の変化」において、東京海洋大学大学院海洋科学技術研究科教授吉崎悟朗が得たものであります。発表論文はNature Publishing Groupのオープンアクセス誌でありますScientific Reportsに2015年11月2日に掲載されます。

【成果の概要】

<研究の背景と経緯>

近年、乱獲や環境破壊により多くの魚種が絶滅の危機に瀕しています。一般に絶滅危惧種の遺伝子資源を保存する方法としては卵や精子、さらには胚の凍結保存が挙げられますが、魚類の卵はサイズが大きい（凍結保存が可能な哺乳類の10-80倍の直径、体積ではその3乗）、脂肪分に富むため、卵や胚の凍結保存研究は全く進んでいません。また、2013年に吉崎のグループが、単離した精巣中の精原細胞を特殊な凍結保存液に浸漬した状態で凍結し、これを宿主個体へ移植することで、凍結細胞由来の卵や精子を生産可能であることを示しました。しかし、これらの方法は、小さな精巣を単離した後、特殊な凍結保護液に浸漬し、これを-1℃/分の速度で冷却する必要がある上、最終的には液体窒素内で保存することが必要でした。したがって、大学の研究室のように設備が整った特殊な環境でしか利用できないといった制約がありました。そこで、まるごと凍結した魚体から宿主へと移植可能な精原幹細胞を単離することができれば、絶滅危惧種を始めとする多くの魚類の遺伝子資源の保存が飛躍的に簡略化されるうえ、実際に絶滅危惧種を飼育している都道府県の水産試験場やふ化場でも、いつでもこれらの遺伝子資源の長期保存が可能になると考え、本研究に着手しました。

<研究の内容>

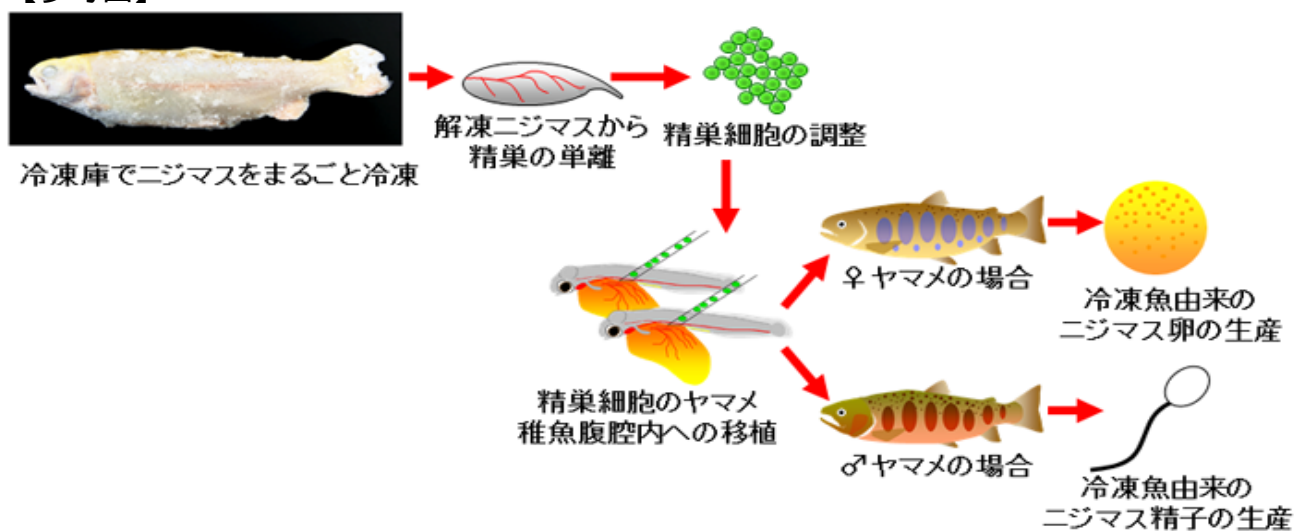
まず、ニジマスを丸のままの状態をジッパー付袋に入れ、これをそのまま-80℃の冷凍庫内で凍結しました。これを経時的に解凍し、精巣を酵素でばらばらに解離することで、その中に含まれる生きた精原細胞の数を解析しました。その結果、1週間から3年間のいずれの凍結期間においても、再現性よく1300程度の精原細胞が得られることが明らかになりました。そこでこれらの細胞を500細胞ずつふ化直後のヤマメ宿主に移植しました。この際に宿主ヤマメが自身の卵や精子を生産しないように、通常の個体（父由来の染色体セットと母由来の染色体セット、合計2セットの染色体を保持する）に加え、1セット余計に母由来の染色体セットを保持する三倍体ヤマメを作出し、これを移植実験に用いました。なお、これらの三倍体は、卵や精子の成熟が進まず、完全に不妊になることが知られています。また、ふ化直後の稚魚は、免疫系が未熟であるため、異種由来の細胞を移植しても拒絶が起こらないことが明らかになっています。移植したニジマスの精原細胞は自発的に宿主ヤマメの生殖腺に向かって、アメーバー運動により移動し、そこに取り込まれました。さらに、三倍体ヤマメ宿主を2年間飼育した結果、冷凍ニジマス由来の精原細胞は雄ヤマメ精巣内では正常な精子を、雌ヤマメ卵巣内では正常な卵を生産することを明らかにしました。次に、ヤマメ宿主から得られた卵と精子を人工授精した結果、冷凍ニジマスに由来する正常なニジマス次世代を大量生産することに成功しました。

従来は、絶滅危惧種等の貴重な個体が疾病や飼育施設の事故等で斃死した場合は、これらの遺伝子資源の維持は、諦めざるを得ませんでした。しかし本研究により、これらの個体を斃死直前に冷凍庫内で凍結保存しておけば、いつでも冷凍魚の次世代を生産することが可能になりました。また、たとえ当該種が絶滅してしまった場合でも冷凍個体があれば、そこから絶滅種を復活させることも可能になります。

＜今後の展開＞

- ① 米国で絶滅の危機に瀕しているベニサケの地域集団を保存するプロジェクトが進行中です。
- ② 最近、山梨県西湖で再発見されたクニマスの精巣凍結プロジェクトが進行中です。
- ③ 近年、養殖魚においても多くの品種が樹立されようとしています。これらの魚が病気で死にそうになった場合でも、魚をまるごと冷凍しておけばいつでもその魚の次世代生産が可能です。わが国で口蹄疫が発症した際に、種牛の処分が問題になりましたが、同様の問題が魚類で発生した場合には有効な方法です。

【参考図】



冷凍魚からいつでも機能的な卵や精子、ひいては次世代個体の生産が可能に

【用語解説】

- 1) 精原細胞：精巣内に存在する精子の源となる細胞。精原細胞の一部は幹細胞としての能力を保持している。従来、精原細胞は精子になることが決定されていると考えられていたが、本研究グループ研究により、この細胞は卵と精子の両者に分化する能力を保持していることが近年明らかとなった。

【掲載論文名】

“Production of viable trout offspring derived from frozen whole fish”

(まるごと冷凍したマスからの生残性の次世代の生産)

Scientific Reports 2015年11月2日号

* これ以前の研究の背景に関しましては、岩波科学ライブラリー231
サバからマグロが産まれる！？(吉崎悟朗 著)をご参照ください。

【取材等のお問い合わせ先】

東京海洋大学 広報室

〒108-8477 東京都港区港南 4-5-7

TEL・FAX: 03-5463-0355・1609

E-mail: so-koho@o.kaiyodai.ac.jp