

5. バイテク応用技術開発研究費

1) ニゴロブナおよびホンモロコのクローン作出とその問題点

小林 徹

【目的】ニゴロブナ(フナ)の高成長系統、良型系統の作出と、ホンモロコ(モロコ)の全雌生産を可能とするため、卵割阻止処理(CV)によって作出した雌性発生二倍体第一代(1CV)から次世代候補を選抜し、さらに雌性発生法による継代でクローンにすることによって、目的形質を遺伝的に固定化する。

【方法】①フナのクローンの作出と高成長選抜群からの雌性発生世代の作出
1994年5月に放流用種苗として採卵養成された魚群から、同年10月に魚体型選別器で体幅16.5mm以上の個体として成長優良個体を選抜し、これらを成長優良選抜群とした。選抜後はL×W×D = 8×5×1m (40m²)の池で飼育し、成長の追跡を行った。1996年6月に本群中の大型2尾、中型1尾、小型1尾を選抜し雌性発生で1CVを作出した。一方、1994年に作出していた1CVが成熟したのでこれらから次世代を雌性発生で作出して、DNA分析によるクローン性判定を行った。

②モロコの雌性発生二倍体の性分化期高温飼育による全雌親魚候補の選抜
発育初期から性分化時期を雄になりやすい高温(30℃)で飼育した1CVを選抜用遺伝子プールとして、機能的雌を維持した個体から採卵し、再度雌性発生によってCV型雌性発生第二代、通常雄との交配対照を作出するとともに、卵割阻止型雌性発生異系統の交配によるヘテロクローンの作出試行を行った。

両魚種のDNA分析による遺伝的均一性の判定にはRAPD-PCR法を用いた。

【結果】高成長選抜フナからの雌性発生継代、CV型雌性発生の第二代、高温飼育CV型雌性発生モロコの第二代の作出では低率ながら次世代が確保できた。これらの1CVからの雌性発生第二代のうち、RAPD分析を行ったフナの4系統およびモロコの4系統については交配対照区より近交度は高いものの、すべての系統がクローンではなかったことが判明し(表1~3)、CV型雌性発生二倍体第一代を作出する際に、第二極体放出の自然抑制が高頻度で起こっていることが示唆された。今後、クローンの効率良い作出のためには、第一世代作出の際の第二極体の放出促進措置、または雄性発生等による完全ホモ型魚を確実に作出する方法の開発が必要であると考えられた。

表1, 雌性発生第二代ニゴロブナ各系統の個体間平均BSI値

系統名	Primer	G2N系統内	交配対照内	全体
FST-10	OPA12	0.374	0.416	0.353
	OPA15	0.730	0.535	0.593
FST-11	OPA12	0.338	0.303	0.283
	OPA15	0.612	0.497	0.446
FST-12	OPA12	0.597	0.392	0.393
	OPA15	0.836	0.609	0.575
FST-13	OPA12	0.303	0.613	0.407
	OPA15	0.475	0.478	0.359

表2, 雌性発生第二代ホンモロコ各系統の個体間平均BSI値

系統名	Primer	G2N系統内	交配対照内	全体
MST-1	OPA12	0.720	0.438	0.500
	OPA15	0.565	0.413	0.488
MST-15	OPA12	0.637	0.672	0.630
	OPA15	0.534	0.647	0.535

表3, 卵割阻止型異系統交配ホンモロコ系統の個体間平均BSI値

系統名	Primer	HCL系統内
MST-5	OPA12	0.604
	OPA15	0.598
MST-4	OPA12	0.334
	OPA15	0.357