

バイオテクノロジーを活用した地域活性化 ～那珂川産アユの攻撃行動の分子機構解析から地域活性化、人材育成へ～

事業代表者（農学部・教授・飯郷雅之）

1. 事業の目的・意義

農林水産省「漁業・養殖業生産統計年報」によると、平成24年度における全国のアユの生産高は、内水面漁業においては2557トン、養殖業においては5195トンとなっている。栃木県においてもアユの漁獲量は202トン（栃木県全漁獲量の78.3%）、養殖業においては323トン（栃木県全漁獲量の41.3%）であった。栃木県・茨城県を流下する那珂川は日本一のアユ漁獲量を誇る河川であり、多くの友釣り愛好家が訪れていたが、2011年3月11日に発生した東日本大震災とそれに伴う東京電力福島第一原子力発電所の事故により、栃木県北部には放射性セシウムが飛来し、釣り人は激減し、栃木県内のアユに関連する水産業は大きな打撃を受けることとなった。

本研究では、那珂川に釣り人を呼び戻すための方策として、那珂川産の天然アユから友釣りで釣れやすい攻撃性の高いアユをバイオテクノロジーにより作出し、地域活性化を行うための技術開発を行う。また、学生の立場から見ると一見関係のなさそうな「バイオテクノロジー」と「地域活性化」の関連について担当する授業で解説し、地域における課題を見つけ出し解決できる人材の育成に貢献する。

2. 研究方法（又は事業内容）

(1) アユゲノムプロジェクト

アユの攻撃行動に関与する性格関連遺伝子群を網羅的に同定するため、アユゲノムプロジェクト（全ゲノムDNAの塩基配列決定）を進めた。昨年度までに代表者が決定済の38.9Gbの塩基配列（インサート長約300bpの101bp×ペアエンドシーケンス）を効率的にアセンブルする（塩基配列をつなげる）ため、本研究ではNextera Mate Pair Sample Preparation Kit（イルミナ）によりMate-pair

ライブラリー（インサート長2-5kb, 5-8kb, 8-11kbをゲル切り出しプロトコルとBluePippin（日本ジェネティクス）を用いて作成した。次世代シーケンサーMiSeq（イルミナ）により76bp×2ペアエンドシーケンスを行い、アダプターをトリミングした後、前述のシーケンスとともにCLC Genomics Workbench v.7.5により*de novo*アセンブルを行った。

(2) アユの脳に発現する遺伝子群のカタログ化

アユの攻撃行動に関与する性格関連遺伝子群を網羅的に同定するための基礎として、アユの脳に発現する遺伝子群のカタログ化を試みた。

代表者が以前作成したアユ脳完全長cDNAライブラリーをテンプレートとして、ベクターに挿入されたcDNA全長をPCRにより増幅した。この際の伸長反応の時間は、さまざまな長さのcDNAに対応するため、1, 3, 5, 10分の4条件とした。PCR産物をCovaris M220による超音波処理で平均550bpに断片化し、TruSeq DNA PCR-Free Sample Preparation Kit（イルミナ）によりライブラリーを作成した。また、アユ脳由来のTotal RNAを鋳型としてKAPA Stranded mRNA-Seq Kit（KAPA Biosystems）によりmRNA-seq（mRNA塩基配列の網羅的解析）用ライブラリーを作成した。MiSeqにより301bp×2ペアエンドシーケンスを行い、アダプターをトリミングした後、CLC Genomics Workbench v.7.5により*de novo*アセンブルを行った。

(3) アユの攻撃行動に関与する性格関連遺伝子群の探索

栃木県水産試験場武田維倫氏のご協力によりおとりアユルアーを用いた攻撃行動試験（雌雄各61尾）を行った後、脳を採取し、Total RNA調製した。これらを鋳型としてSureSelect Strand-Specific RNAライブラリー調整キット（アジレントテクノ

ロジーズ)により mRNA-seq 用ライブラリーを作成した。また、リアルタイム PCR による候補遺伝子群の定量も試みた。

(4) 「バイオテクノロジーと地域振興」に関わる教育プログラムの実施

基盤教育科目「農業と環境の科学」、専門科目「分子生命科学 II」、「化学と生命」、「生物有機化学 I」、「生物有機化学 II」の授業の中で、本研究の進展状況や栃木県が開発し商標登録した全雌三倍体ニジマス「ヤシオマス」、那珂川町の「温泉トラフグ」の事例を取り上げた(「分子生命科学 II」のシラバスには第 15 回「バイオテクノロジーと地域振興」として記載)。アクティブラーニング形式のグループディスカッションの課題や試験問題に「バイオテクノロジーを活用した地域活性化」を取り上げ、バイオテクノロジーを活用して地域の課題解決を図るための視点を持った人材育成を図った。

申請者が講師を務める「とちぎフードマイスター」講座の「栃木の魚」の授業で本事業におけるアユの事例を紹介し、栃木県の食材に興味を持つ一般市民に対する啓蒙活動も進めた。さらに、「バイオテクノロジーと地域振興」に関わる研究成果を広く社会に知ってもらうため、平成 26 年 12 月 6 日にとちぎ産業創造プラザで開催された第 11 回学生&企業研究発表会において学生が 4 題の研究発表を行った。

3. 事業の進捗状況

(1) アユゲノムプロジェクト

本事業前に 13 万 2269 本あった contig (329.9Mb, N50=4018bp) が、Mate-pair シーケンスを用いたアセンブルにより 76126 本の contig (311.8Mb, N50=7072bp) に集約された。今後さらにシーケンスを追加し、mRNA-seq のデータとあわせてアセンブルすることにより、アユのゲノム上のすべての遺伝子を予測することが可能になると期待される。

(2) アユの脳に発現する遺伝子群のカタログ化

アユ脳完全長 cDNA 由来のシーケンスは、77812

本 (35.2Mb, N50=686bp) にアセンブルされた。一方、mRNA-seq 由来のシーケンスは、26 万 459 本 (76.4Mb, N50=333bp) にアセンブルされた。これらのシーケンスをデータベース化し、アユの攻撃行動に関与すると予測される性格関連遺伝子群の BLAST 検索を行ったところ、ドーパミン受容体、セロトニントランスポーター、GABA トランスポーターなどの塩基配列が同定された。セロトニントランスポーター A については演繹アミノ酸配列を用いて SWISS-MODEL により分子の立体構造のホモロジーモデリングを行った。



図 1. アユセロトニントランスポーター A (SERTa ; SLC6A4A) の分子モデル

(3) アユの攻撃行動に関与する性格関連遺伝子群の探索

攻撃回数の多いアユ、攻撃を行わなかったアユから雌雄各 8 尾、計 32 尾の脳から抽出した Total RNA を鋳型としてライブラリーを調製した。今後、これらのライブラリーの次世代シーケンスを行い、攻撃回数の多寡による遺伝子発現プロファイルの違いを検討する予定である。また、同定される候補遺伝子群について、リアルタイム PCR による遺伝子発現量定量、*in situ* ハイブリダイゼーションや免疫組織化学による発現部位の同定、トレーサー実験などにより攻撃行動を支配する脳内ネットワークを同定する。

脳内のセロトニントランスポーター A および小胞型モノアミントランスポーター 2 型の mRNA 量

をリアルタイム PCR により定量し、アユの攻撃回数
の多寡の影響を検討したが、二元配置分散分析
の結果、有意な差は認められなかった。

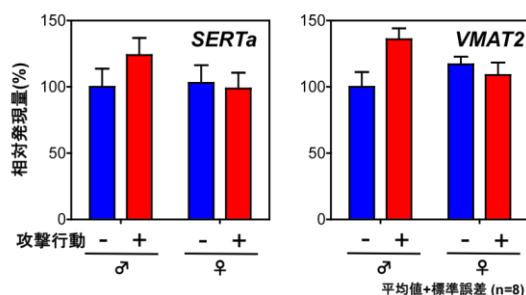


図 2. アユの攻撃回数の多寡が脳内の
セロトニントランスポーターA (SERTa; SLC6A4A)
および小脳型モノアミントランスポーター2 型
(VMAT2 ; SLC18A2) の mRNA 量におよぼす影響

(4) 「バイオテクノロジーと地域振興」に関わる 教育プログラムの実施

多くの授業で「バイオテクノロジーと地域振興」
に関するテーマをアクティブラーニングを取り入
れて行った。特に、分子生命科学Ⅱの最終試験で
は、「バイオテクノロジーもしくは分子生物学を活
用して地域振興につながる研究計画を立案したい。
どのようなテーマを設定し、どのような研究目的
で、どのような方法を用いて研究を進めるか。予
想される研究成果や地域振興に対する効果もあわ
せて自由に記述しなさい。」という問題を出題した。
それぞれの学生が自由な発想で、ニラ、イチゴ、
桜、かんぴょう、トチの実、麻、米、白菜、牛、
アユなどさまざまな特産品の候補を解答した。中
には「遺伝子組換えで作るヤシオツツジ」という
ものもあった。

第 11 回学生&企業研究発表会における発表の
テーマは、「地域活性化とヒトの攻撃行動の分子的
基盤解明を目指すアユの性格関連遺伝子解析」(石
原島由依、菊池 雅子)、「里山生態系の頂点 フク
ロウの DNA 鑑定から考える里山保全」(小菅克弥、
田村拓己)、「遺伝子から考える地域振興～温泉ト
ラフグの DNA 解析が創り出す3つの『美味しさ～』」
(阿部智、栃木銀行賞受賞)、「天然記念物ミヤコ

タナゴと共に生きるふるさと♪～生息地の保全活
動を通じた域活性化～生息地の保全活動を通じた
域活性化～」(深田陽平、金賞受賞)であった。

4. 事業の成果

本事業では、一見関係のなさそうに見えるバイ
オテクノロジーを地域活性化につなげる方策につ
いて、最先端の次世代シーケンサーを活用した新
技術開発、ならびにアクティブラーニングの要素
を取り入れた形式で最先端の研究成果を授業で紹介した。アユの攻撃行動の分子機構解析につ
いては、ゲノムプロジェクト、脳内に発現する遺
伝子群のカタログ化の目処が立った。一方、地
域活性化と人材育成の側面については、代表者
が担当する複数の授業で「バイオテクノロジー
と地域振興」に関わる教育プログラムを実施した。
試験の解答を見る限り、学生自身が自由に
発想し地域における課題を見つけ出すことがで
きたと考えている。

5. 今後の展望

アユの攻撃行動を制御する脳内分子機構につ
いてはさらに研究を進め、栃木県水産試験場と協力
して、東日本大震災とそれに伴う東京電力福島第
一原子力発電所の事故により減少した釣り人を那
珂川に呼び戻すための方策として、那珂川産の天
然アユから友釣り釣れやすい攻撃性の高いアユ
を作出したい。

代表者の研究室では、本事業で主な対象とした
アユ以外にも、トラフグ、ミヤコタナゴ、フクロ
ウ、ハシブトガラスなどさまざまな生物を対象に
研究を進めている。これらの研究成果が地域活性
化につながるよう今後さらに研究を進める。一方、
教育プログラムについてはワールドカフェ方式を
取り入れてディスカッションを行うなど授業内容
のさらなる高度化を行い、地域における課題を見
つけ出し解決できる人材の育成に貢献していきたい。