

バイオテクノロジーを活用した地域活性化 ～温泉トラフグの生産技術高度化と人材育成～

事業代表者 農学部・教授・飯郷雅之

1. 事業の目的・意義

トラフグ (*Takifugu rubripes*) は、フグ目フグ科の魚類であり、大きい個体では全長 70cm、体重 10kg に成長する。トラフグは重要な水産資源であると同時に、脊椎動物で最初に全ゲノムがシーケンスされたモデル生物である。よって、バイオテクノロジーを活用した水産増養殖技術の高度化を推進するのに最適な魚類のひとつである。

2013 年の統計によると、全国のトラフグの漁獲量は 4,841 トン、養殖の生産量は 4,965 トン、生産額は漁業で 35 億 8900 万円、養殖業で 85 億 7900 万円になる（農林水産省海面漁業生産統計調査平成 25 年漁業・養殖業生産統計：<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001129478>；漁業生産額平成 25 年漁業生産額：<http://www.e-stat.go.jp/SG1/estat/List.do?lid=000001133788>）。トラフグは、てっさ（刺身）、フグちり（鍋）、唐揚げ等、さまざまな用途に活用される高級食材である。

栃木県内では、近年、那珂川町で「温泉トラフグ」の養殖が進められている。那珂川町小川地区の温泉水は 1.2% の塩分を含み、海産魚の養殖が可能であることから、環境生物化学研究所、那珂川町、東京大学、宇都宮大学などが連携して「里山温泉トラフグ研究会」が組織され、平成 20 年よりトラフグ養殖が開始され、地域の特産品となっている。

我々は、バイオテクノロジーを活用して温泉トラフグ養殖技術の高度化から地域活性化を目指すことを目的として、「トラフグの攻撃性を抑える遺伝子群の同定」、「雌雄判別の早期化による養殖の効率化」、「光を利用した白子の早期成熟促進技術の開発」の 3 つの項目について研究を進めてきた。

本研究では、これらの項目についてさらに研究を進め、地域活性化のための技術開発を行った。

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ことも目的とした。

2. 研究方法又は事業内容

(1) トラフグの生殖関連遺伝子群の cDNA クローニング

トラフグの脳、下垂体を採取して total RNA を抽出し、SuperScriptII もしくは SMART RACE cDNA Synthesis Kit を用いて cDNA を合成した。これらをテンプレートとして、Ensembl ゲノムブラウザから予測した遺伝子の塩基配列から特異的プライマーを作成して PCR を行い、常法によりトラフグの生殖腺刺激ホルモン放出ホルモン (GnRH1, GnRH2, GnRH3) および下垂体ホルモン (CGA, TSHB, FSHB, LHB, POMC, SL) の cDNA クローニングと塩基配列決定を試みた。

(2) 生殖に関わる遺伝子群の次世代シーケンサーによる網羅的同定

脳、松果体、血管囊、下垂体、肝臓、精巣を採取して total RNA を抽出し、SureSelect-Strand Specific RNA ライブラリ調整キットを用いて次世代シーケンサー解析用ライブラリを作成した。次世代シーケンサー MiSeq を用いて 251bp×2 のペアエンドシーケンス解析を行った。GenomicsWorkbench 8.5.1 を用いて、クオリティーチェックを行い、アダプター配列をトリミングした後、de novo アセンブルを行った。アセンブルされたコンティグをデータベース化し、既知の生殖関連遺伝子群の演繹アミノ酸配列を用いて BLAST 検索によりトラフグの生殖関連遺伝子群同定を試みた。また、アセンブルされたコンティ

グにリードをマッピングし、個々のコンティグの下垂体における遺伝子発現量を reads per kilobase of exon per million mapped reads (RPKM) で正規化し、発現量 TOP50 の遺伝子を BLAST 解析により同定した。

(3) 「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」、「分子生理学」の授業の中で、那珂川町の「温泉トラフグ」に関わる本研究の進展状況、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」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温泉トラフグの事例を紹介し、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 27 年 11 月 28 日に宇都宮共和大学で開催された第 12 回学生&企業研究発表会において学生が 3 題の研究発表を行った。

(4) 温泉トラフグに関するシンポジウムでの研究成果発表

平成 28 年 2 月 4 日に開催された産学連携学会東北/北関東支部「地域連携の多面性とその条件を探る」シンポジウムにおいて、「トラフグを巡る研究開発ネットワーク」と題して、温泉トラフグの開発に関わる研究の進展について講演とパネルディスカッションを行った。

3. 事業の進捗状況

(1) トラフグの生殖関連遺伝子群の cDNA クローニング

脳から GnRH1, GnRH2, GnRH3, 下垂体から CGA, TSHB, FSHB, LHB, POMC, SL の cDNA 全長または翻訳領域全長の塩基配列決定を試みた。

(2) 生殖に関わる遺伝子群の網羅的同定

POMC と SL をコードする cDNA は部分塩基配列が決定された。CGA, TSHB, FSHB, LHB, GnRH1, GnRH2, GnRH3 については cDNA 全長の塩基配列が決定された。トラフグの POMC, SL, CGA, TSHB, FSHB, LHB, GnRH1 (variant1-3), GnRH2, GnRH3 のコード領域はそれぞれ 648 bp, 505 bp, 390 bp, 441 bp, 363 bp, 444 bp, 294 bp, 291 bp, 291 bp, 258 bp, 273 bp であり、216 個, 167 個, 129 個, 146 個, 120 個, 147 個, 97 個, 96 個, 96 個, 85 個, 90 個のアミノ酸をコードしていた。

cDNA の翻訳領域全長の塩基配列が決定された CGA, TSHB, FSHB, LHB, GnRH1, GnRH2, GnRH3 について遺伝子構造を調べたところ、下垂体前葉の糖タンパク質ホルモン遺伝子のうち、CGA と LHB は 4 つのエクソン、TSHB と FSHB は 3 つのエクソンにコードされていた。GnRH1, GnRH2, GnRH3 はいずれも 4 つのエクソンにコードされていた。

これらの結果から、さまざまな生殖ステージのトラフグの生殖関連遺伝子群の発現量を解析するために必要な塩基配列情報が得られた。

(2) 生殖に関わる遺伝子群の次世代シーケンサーによる網羅的同定

すべての器官からのリードをトリミングしてからアセンブルを行った結果、138,593 本のコンティグ（合計約 67 Mbp, 平均 487 bp, N50=573 bp）が得られた。

下垂体由来のリードのマッピングを行って下垂体における発現量の TOP50 を抽出し、BLAST 検索によりそれぞれのコンティグのコードする遺伝子を同定した結果、上位 8 遺伝子のうち 7 個が下

垂体前葉ホルモン遺伝子 (POMC, CGA, FSHB, PRL, SL, TSHB, GH) であった。LHB は 20 位であった。下垂体前葉ホルモンは 8 種の遺伝子のみで全体のリード数の 9.3% を占めていた。

脳、松果体、血管嚢、肝臓、および精巣由来の塩基配列については、現在解析を進めている。

(3) 「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、「分子生物学等、最先端の技術を活用して農林水産物を対象として、新規技術開発を行いたい。対象を自由に考えて、その技術の名称、概要や特徴、売り込み文句（キャッチフレーズ）を考えて書きなさい。」という問題を出題した。それぞれの学生が自由な発想で、「遺伝子組換えを用いた新規花き類の開発」、「種なしイチゴの開発」、「炎えないシルク」、「蛍光ベジタブル」、「食べるインフルエンザワクチン」、「食用細菌培養」などさまざまな特産品の候補を解答した。

第 12 回学生&企業研究発表会における発表のテーマは、「休耕田を活用したニホンナマズ養殖と環境教育プロジェクト「ゆうゆうなま〜ず♪」〜子どもたちの笑顔の未来のために〜」(深田陽平他 8 名、栃木信用金庫理事長賞受賞)、「ゆうゆう里山☆Biodiversity プロジェクト」(人見愛他 8 名)、「昼行性鳥類ハシブトガラスと夜行性鳥類フクロウの時計遺伝子群同定と発現リズム解析」(梅津輝他 3 名) であった。

(4) 温泉トラフグに関するシンポジウムでの研究成果発表

平成 28 年 2 月 4 日に開催された産学連携学会東北/北関東支部「地域連携の多面性とその条件を探る」シンポジウムのポスターを図 1 に示す。本シンポジウムにおいては、運営サイドからの依頼を受け、共同研究先である株式会社夢創造の野口勝

図 1. シンポジウムの告知ポスター

明社長、ならびに那珂川町福島泰夫町長に連絡を取り、御登壇頂いた。

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、遺伝子の cDNA クローニングと次世代シーケンサーを活用した遺伝子同定を行い、最先端の研究を進めるとともに、担当するアクティブラーニング形式の授業で直近の研究成果を紹介した。トラフグの下垂体ホルモン遺伝子の塩基配列決定はすべて終了し、今後の発現解析の途がついた。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。試験の解答の多様性から考えると、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

那珂川町では「温泉トラフグ」を活用した町お

こしを進めている。生産された温泉トラフグは栃木県内各地の割烹料理等で消費され、地域特産品となっている。しかしながら、温泉トラフグの生産は需要に追いついていないのが現状であり、本研究の進展が期待されている。温泉トラフグ生産技術の高度化は、栃木県、ひいては全国の海産魚内水面養殖に波及効果を持つものである。

代表者の研究室では、本事業で主な対象としたトラフグ以外にも、アユ、サケ、サクラマス、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。また、NPO法人自然史データバンクアニマ net や合同会社モリ田守と共同で行っている生物多様性調査とミトコンドリア DNA の塩基配列決定、矢板市くらし安全環境課および環境文化都市やいた創造会議と共同で行っている環境教育プログラム開発、さらには「中高生の科学研究実践活動推進プログラム」

(栃木県立宇都宮北高等学校、宇都宮高等学校、宇都宮中央女子高等学校) 実施への協力など、地域における活動も活発に進めている。これらの連携がさらなる地域活性化につながるよう今後さらに努力する所存である。一方、教育プログラムにおいては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。