

組換え魚の安全性に関する研究

研究分担者 名古屋 博之 独立行政法人水産総合研究センター 増養殖研究所
養殖技術部育種グループ グループ長

研究要旨：

米国において成長ホルモン(GH)遺伝子を導入した遺伝子組換え大西洋サケはFDAの審査が終了したが、許可されていない状況である。許可が遅れている理由は公表されていない。その他の国でもコイ、ティラピア、ギンザケ等で遺伝子組換え魚を作出し、一部では食用として利用することを想定しているが、こちらの情報も公表されていない。遺伝子組換え魚の安全性に関する資料はAquaBounty Technologies社がFDAの審査を受ける際に提出した資料が公開されているだけで、その他の魚類で安全性に係わる資料が公開された例はない。そこで、日本で開発されているGH遺伝子を導入した遺伝子組換えアマゴを実験動物として、安全性に関する研究を行う。本年度は昨年度に引き続き、遺伝子組換え大西洋サケと同様にベクター領域を除去したプロモーターとGH遺伝子だけの配列をアマゴにマイクロインジェクションして新しい系統の作出を試みた。遺伝子組換えアマゴを用いた実験では肝臓の形態がコントロールと比べ顕著に異なることから、肝臓の代謝について網羅的に調べた。その結果、本研究で行った網羅的イルミナ解析によって、GH transgenic アマゴは肝臓での脂肪酸の異化作用を活発にさせることで、高成長の維持に必要なエネルギーを生産していることが明らかとなった。また、GH transgenic アマゴ肝臓の形態変化には微小管繊維の減少や安定性の低下が関与していることが示唆された。

協力研究者

森 司 日本大学生物資源科学部 教授

A. 研究目的

米国において成長ホルモン(GH)遺伝子を導入した遺伝子組換え大西洋サケはFDAの審査が終了し、パブリックコメントを求め期間は終了したにもかかわらず、その後何の進展も無い。また、その他の国でもコイ、ティラピア、ギンザケ等で遺伝子組換え魚を作出し、一部では食用として利用することを想定しているとの論文もあったが、その他の国でも遺伝子組換え魚の利用が開始されたという報道は無い。

遺伝子組換え魚の安全性に関する資料はAquaBounty Technologies社がFDAの審査を受ける際に提出した資料が公開されているだけで、その他の魚類で安全性に係わる資料が公開された例はない。そこで、日本で開発されているGH遺伝子を導入した遺伝子組換えアマゴを実験動物として、安全性に関する研究を行う。

B. 研究方法

1. 遺伝子組換えアマゴの作出

米国で申請中の遺伝子組換え大西洋サケに導入されている遺伝子配列にはベクター領域は挿入されていない。そこで、ベクター領域の入っていない

い遺伝子組換え魚を作出するため、ベクター部分を取り除いたベニザケメタロチオネインプロモーターとベニザケ成長ホルモン遺伝子をつなげた配列を準備し、50ng/ μ l になるように調整し、昨年に引き続きアマゴ受精卵にマイクロインジェクションした。

2. 遺伝子組換えアマゴの肝臓における脂質代謝の解析

昨年に引き続き、導入遺伝子がホモに入っている遺伝子組換えアマゴと非遺伝子組換えアマゴ(コントロール)のそれぞれ 5 検体ずつの肝臓から抽出した mRNA を用いて cDNA ライブラリーを構築し、そのライブラリーを Illumina GA IIx sequencer で解析した。さらに、ガスクロマトグラフィーを用いて、GH 遺伝子組換えアマゴとコントロール肝臓の脂肪酸分析を行った。

3. 遺伝子組換えアマゴの筋肉(可食部)におけるオミックス解析

サケ科魚類の可食部分である筋肉中のオミックス解析を行うため、体重 100、125、150 g の遺伝子組換えアマゴ、それぞれ 3 から 9 尾の筋肉を採取後、すぐに液体窒素で急速凍結し、試験を実施する機関へサンプルを提供した。

4. 遺伝子組換え魚の情報収集

文献やインターネットを用いて、遺伝子組換え魚の開発状況について収集を行った。

C. 研究結果

1. 遺伝子組換えアマゴの作出

3 組の異なったアマゴを用いて、それぞれ 105 粒、106 粒及び 128 粒の受精卵にベニザケメタロチオネインプロモーターの下流にベニザケ GH ゲノム遺伝子をつなげた配列を 50ng/ μ l になるようにリバース PBS で調整してマイクロインジェクションした。ふ化率はコントロールが 52.4、7.7 及び 7.6%であったのに対し、マイクロインジェクション区ではそれぞれ

18.1、13.2 及び 27.3%と低い値であった。ふ化死魚はマイクロインジェクション区で合計 399 尾がふ化した。2014 年 4 月現在 61 尾が生存して、飼育中である。昨年マイクロインジェクションしたアマゴも 2 尾生存しており、飼育中である。

2. 遺伝子組換えアマゴの肝臓における脂質代謝の解析

遺伝子組換えアマゴの内臓組織をコントロールと比較した結果、肝臓の形態に著しい変化があった。そこで、GH 導入遺伝子組換えアマゴの肝臓の形態変化は肝臓の成長に伴う形態変化なのか、過剰量の GH の影響なのかを調べた。

リコンビナント GH を餌に混ぜ、アマゴに与えた結果、遺伝子組換えアマゴのような形態の変化を起こすことは無かった。そこで、GH 組換えアマゴに観察される肝臓の形態変化は成長ホルモンの過剰投与が原因で無く、遺伝子組換えによる影響と考えられた。

肝臓における遺伝子発現の解析結果から細胞骨格遺伝子の発現に低下が認められ、このことによって細胞内骨格が不安定になり、細胞形態の歪みに繋がって、形態異常を示していることが考えられた。

また、CE-TOFMS による肝臓のメタボローム解析の結果、餌料由来の物質が認められた。この物質は通常のアマゴでは代謝され認められないが、遺伝子組換えアマゴでは代謝されずに残っていて、これが肝臓での代謝異常を起こしていることも考えられた。

3. 遺伝子組換えアマゴの筋肉(可食部)におけるオミックス解析

体重 100、125、150 g の時に、それぞれの分析で必要量になるように遺伝子組換えアマゴの筋肉をサンプリングし、それぞれの解析機関に送った。

4. 遺伝子組換え魚の情報収集

マスコミ報道によれば 2012 年 12 月 21 日

FDA は、AquaBouty Technologies 社の遺伝子組換え大西洋サケに対する環境影響評価を発表し、仮承認を行った。60日間のパブリックコメントと、その後の延長期間が終了したにもかかわらず、FDA が遺伝子組換え大西洋サケを承認したとの情報は未だに無い。FDA のホームページを見ても何も情報が無く、どのような理由によって認可が遅れているかはわからない状況である。一方、カナダ環境省は AquaBouty Technologies 社の遺伝子組換え大西洋サケを飼育する施設が研究施設としてだけでなく、環境や人間の健康に害を与えること無く、商業規模で遺伝子組換え大西洋サケの受精卵を生産する施設であることを認めた。既に、パナマにある施設で受精卵から出荷するまでの許可は FDA によって承認済みである。

また、遺伝子組換え魚に関する論文では Lian et al. (2013) が遺伝子組換え魚は生産性に有利な展が無く、稚魚期の生存率も低いので、逃げたとしても自然集団を破壊するようなことは無いと結論した。他に Zhong et al. (2013) は組換え魚の餌の摂取量の増加は視床下部で発現している因子で食欲を促進させる AgRP 1 の発現増加によるものであることを報告した。

D. 考察

肝臓における脂質代謝の解析や形態異常の解析の結果から魚類で本来存在したい代謝産物を見つけた。この代謝産物は餌由来で有り、コントロールの非組み換え魚では分解してしまい、認められないが、組換え魚は分解できずに存在が確認されたと思われる。今後も詳しい解析によりこの様な代謝産物があるかを見つけることは重要である。しかし、実際には食品として生産しようとする遺伝子組換え魚を用いて調べなければ、これと同じことが起こっているかは全くわからない。本研究では遺伝子組換えアマゴを用いて起こっている現象を把握し、前もって遺伝子組換え魚の申請が日本においてなされた場合、考慮すべき点について前もって把握しておくことが重要である。

E. 結論

本研究で行った肝臓中での代謝産物の解析によって、本来動物で存在したい産物があることが確認された。これは餌由来で有り、コントロールでは代謝してしまい、存在したいが、遺伝子組換え魚では何らかの原因で代謝されずに残っていることが推測された。これらの問題を解決するための手段として、ベクター領域を除いた遺伝子組換え魚の作出に取り組んだ。最初の世代は導入遺伝子がモザイク状になっているので、染色体上に導入された次世代を得なければ実験には使用できない。

遺伝子組換え大西洋サケはすべての審査が FDA で終了したが、未だに許可されていない状況である。カナダ環境省は AquaBouty Technologies 社の研究施設を種苗生産施設として認めた。

F. 健康危険情報

無し

G. 研究発表

1. 論文発表

無し

2. 学会発表

無し

H. 知的財産権の出願・登録状況

1. 特許取得

無し

2. 実用新案登録

無し

3. その他

無し

I. 参考文献

1) Lian et al. (2013) Transgenic common carp do not have the ability to expand populations. PLOS ONE 8(6), 1-6.

2) Zhong et al. (2013) Increased food intake in growth hormone-transgenic common carp (*Cyprinus carpio* L.) may be mediated by upregulating agouti-related protein (AgRP). Gen. Comp. Endocrinol. 192, 81-88.