

# メダカに集まる熱い視線

日本が誇るバイオリソースで、何が、どう研究されているのか

西村 尚子 (サイエンスライター)



メダカ (ニホンメダカ)。上から雄、雌、雄が性転換して雄になった個体。

古来より日本人に親しまれているメダカ。生物学の分野でも日本では伝統的にメダカが用いられ、これまでに発生や遺伝学などに関する多くの知見が蓄積されてきた。さらに最近、日本独自のチームが全ゲノムの完全解読を終えたことで、メダカがモデル生物として国際的に活躍する場が広がっている。

生物学は線虫、ショウジョウバエ、マウスなどの「モデル生物」を対象にして進められることが多い。これらの生物は、遺伝的にどのような特徴をもつのか、体や行動に異常がみられるかといったことが詳細に調べられており、おのおの系統ごとに厳密に管理されたいうで、飼育や交配が行われている。

こうしたモデル生物は欧米で開発されたものが多く、そのゲノム解読も欧米を中心に進められたものが大半である。ヒトのゲノムプロジェクトがアメリカ主導のもとに完了したことはよく知られる

が、前述の線虫、ショウジョウバエ、マウスについても欧米を中心にして解読が終えられた。日本は「ゲノムの解読能」という点では世界トップのレベルを誇るが、ホヤなどの例外を除いて、いつも欧米チームに協力する形をとってきた。ところが2007年、「ある生物」のゲノムを日本のチームだけで解読するという快挙がなされた。「ある生物」とは、日本人にとってはお馴染みの小さな淡水魚、メダカである。実は日本では、生物学の研究材料として古くからメダカが使われてきた。例えば1920年代には、

体の色かどのように遺伝するかを調べる遺伝学に用いられ、1950年代以降は、さまざまな生理学的な実験、初期発生や生殖に関する研究などに用いられた。

日本発のメダカゲノムの解読完了は、2007年6月7日発行のNatureで報告され、世界中に大きなインパクトを与えた。「メダカという日本の淡水魚は、そんなにすぐれたモデル生物なのか」、海外の研究者たちの驚きと興味は相当なものだったらしい。というのは、伝統的な日本のメダカ研究は海外を意識せず淡々と進められてきたもので、国内

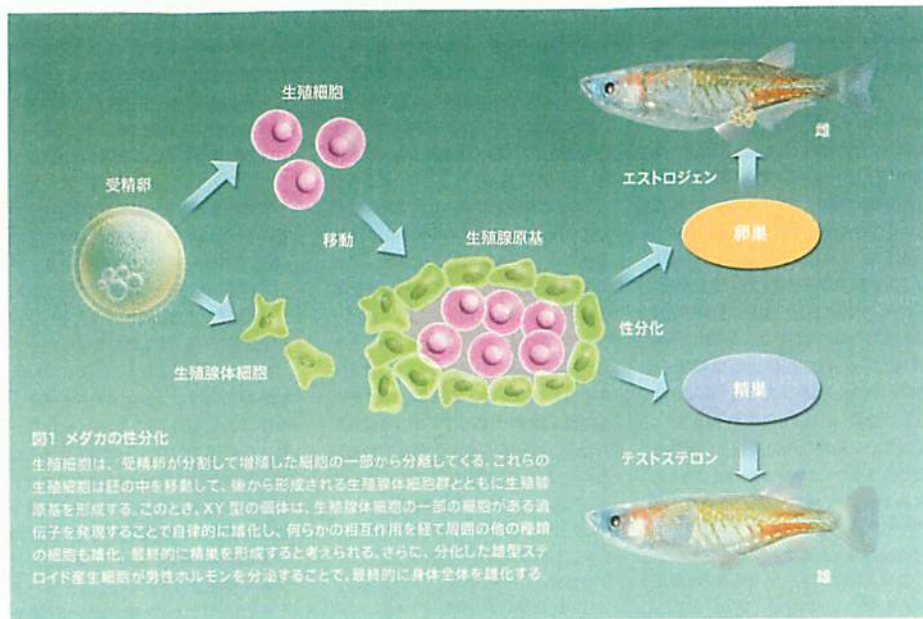


図1 メダカの性分化

生殖細胞は、受精卵が分割して増殖した細胞の一部から分離してくる。これらの生殖細胞は胚の中を移動して、後から形成される生殖腺体細胞群とともに生殖線原基を形成する。このとき、XY型の個体は、生殖腺体細胞の一部の細胞がある遺伝子を発現することで自律的に雄化し、何らかの相互作用を経て周囲の他の種類の細胞も雄化、最終的に精巣を形成すると考えられる。さらに、分化した雄型ステロイド産生細胞が男性ホルモンを分泌することで、最終的に身体全体を雄化する。

での情報交換すら十分とはいえないほどだったからである。欧米では、淡水魚のモデル生物といえばゼブラフィッシュを使うのが当たり前だった状況だった。

### 愛すべき小さな淡水魚

日本人なら「メダカの学校は川の中…」で始まる童謡を知らない人はいないであろう。この歌は、戦後まもない小田原市内の用水路のメダカをモデルに作られたようだが、メダカといえば北海道を除く列島各地の田や小川に分布し、日本人にとって最も身近な淡水魚だった。一方で、観賞魚としても古くから愛されてきた。小さな体の割に大きな頭や目をもつユーモラスな姿や、手軽に飼育できること、人目に触れる水面で群れることなどが好まれた理由である。

実際に飼ってみるとわかるが、メダカは熱帯魚などに比べて非常に扱いやす

い。餌や水温、水中の酸素濃度などの点で細かい神経を使う必要はなく、比較的狭い水槽でも元気に泳ぎ回る。餌はミジンコなどの動物性プランクトンを好むが、植物性プランクトンも食べる雑食性で、市販のドライフードでも十分育つ。体長は2〜3センチほどしかなく、日本の淡水魚としては最小である。胸びれと腹びれはメスの方が大きく、背びれと尾びれはオスの方が大きいのが特徴で、素人でも簡単に見分けることができる。

繁殖も容易で、何匹か飼えば、いつの間にか子メダカが増えている感じである。ふ化後は約2〜6か月で生殖可能となり、寿命は1〜2年ほど。その間、雌は何度も産卵をくりかえして、直径1.3ミリほどの卵を水草にからみつけていく。卵は約2週間であふ化し、卵黄を吸収しつくと微生物を食べて成長する。

### ゆらぐ性と性分化

では、メダカを使ってどのような研究が進められ、どのような成果がもたらされているのだろうか。ここでは、成果が上がりつつある代表的な研究をいくつか紹介したい。

基礎生物学研究所の田中実准教授は、メダカの細胞レベルの雌雄差を調べることで、脊椎動物の性分化の仕組みに迫ろうとしている。ヒトを含む多くの動物は、雌に生まれれば雌のまま、雄に生まれれば雄のまま成長し、途中で性が変わってしまうことはない。メダカはヒトと同様に、1セットの性染色体をもち、その組み合わせがXYだと雄に、XXだと雌になる。発生の初期段階においてXY型の「生殖腺のもと(生殖線原基)」は雄型の細胞に分化し、卵黄を吸収しつくと微生物を食べて成長する。XX型の場合には、生殖線原基が雌型の細胞に



分化した後に卵巣が作られる。このように生殖腺の性が決まった後、精巣や卵巣からはテストステロンやエストロゲンなどの性ステロイドホルモンが作られるようになり、それが全身に作用すると、胸びれ、背びれ、尾びれなどに身体全体の雌雄差がもたらされる(図1)。

田中准教授は、発生初期の細胞を数個だけ蛍光色素で標識する技術を独自に開発し、生殖腺と生殖細胞が胚のどこから出現するのか調べた。その結果、胚の特定の部位(側方後端部)に生殖腺を作るための領域があり、そこに「別の領域で作られた生殖細胞」が移動し、互いの細胞が相互作用することで完成された生殖腺になることを突き止めた。

次に、生殖細胞の生殖腺への移動を阻害した場合に、そのメダカの性がどうなるかを調べ、実に興味深い結果も

たらした。「これらのメダカは卵も精子も作ることができなくなりますが、性染色体がXY型であろうがXX型であろうが、身体の性がいずれも雄型になってしまいました(P.22の写真参照)」と田中准教授。これらのメダカは一見したところ、行動も雄型を示しているようだという。つまり、性染色体がXX型であるにもかかわらず、生殖細胞がないと、身体の性、つまり「体細胞の性」が雄型に性転換してしまうことが明らかになったというのである<sup>2</sup>。

田中准教授は「ヒトやメダカは、たまたま性決定を染色体上の特定の遺伝子に依存しているが、本来の性は、その生物種の生存に都合のよいように決まればよいはず」と考えており、「細胞レベルでゆらく、あいまいな性を制御することこそが、性分化機構として重要な

のではないのでしょうか」とコメントする。今後は、メダカでみられたような「性のゆらぎ」がどのような原理でもたらされるのか、生殖細胞や生殖原基を作るための幹細胞にも性差があるのか、といった難題に取り組みたいとしている。

**色覚の進化と行動への影響**

東京大学大学院新領域創成科学科の河村正二准教授は、進化の道筋を遺伝子から行動に至るさまざまなレベルで解析するためにメダカを使っている。テーマは「色覚」である。ヒトは世界を3色型のカラー映像としてとらえているが、実は、ほ乳類の大半は2色型の色覚しかもたない。恐竜が繁栄していた時代に夜行性になり、それまでもっていた色覚のレパートリーを大幅に縮小させたためだとされている。ところが、その後、森林の樹上で生活することなどにより、霊長類だけが緑を背景に日の光でものがよく見える「解像度のよい3色型色覚」を手に入れた。「ただし、霊長類でも4色型色覚をもつ鳥類、爬虫類、魚類にはありません。なかでも魚の視覚はずばぬけてすぐれています」と河村准教授。

具体的に調べているのは、光を情報として受け取るオプシンというタンパク質のはたらきである。オプシンは、網膜にある視細胞の細胞膜表面に局在する7回膜貫通型のタンパク質で、錐体視細胞のオプシンとしては受け取る光の波長が異なる4種(赤型、緑型、青型、UV型)が知られている。

河村准教授はまず、ゼブラフィッシュがどのような錐体オプシンをもつのかを、遺伝子の配列レベルで調べてみた。「その結果、赤型オプシン遺伝子が2種、緑型オプシン遺伝子が4種、青型オプシンが1種、UV型オプシンが1種と、合計8種もあることがわかり(ヒトでは合計3種)、同型のオプシンでも種類によって吸収する波長や遺伝子の発現パターンが異なることがわかりました<sup>3,4</sup>」と話す。ただし、ゼブラフィッシュでは、こうした遺伝子が異なる環境に

よってどのように変化し、それぞれの環境に適応していったのかを調べるのがむずかかったという。ゼブラフィッシュでは、メダカのように異なる環境に由来する系統があまり知られていないからである。

そこで河村准教授は、ゼブラフィッシュで得られた情報をもとにメダカのオプシン遺伝子も調べ上げ、例えば緑型オプシン遺伝子(メダカには3種あった)の1つであるRH2-A遺伝子が、進化のどのあたりで出現したのか、この配列にメダカの近縁種間で違いがみられるのか、配列の差によって吸収波長が異なるのか、といったことを検討したいと考えた。「これまでに、シクリッドなどもRH2-A遺伝子をもつが、ゼブラフィッシュはもたないこと、この遺伝子が進化のかなり古い時期に遺伝子重複を起こして、その後さまざまな魚種の系統に分かれていったことなどを明らかにできています<sup>5</sup>」と河村准教授(図2)。

今後は、オプシンタンパク質の遺伝子発現制御メカニズムについてゼブラフィッシュで突き止め、その仕組みがど

のように進化し、行動や生態にどう影響したのかをメダカで検討したいと考えている。河村准教授は、ほかにサルなども研究対象としており、それぞれの生物の特徴を生かして、脊椎動物の色覚の進化に迫るべく、研究を続けている。

**海外の研究例**

数はそう多くないものの、海外にもメダカによる生物学研究の例はある。水質毒性学を専門とするアメリカ、ジョージア大学ウォーネル校 森林・自然資源学部のリチャード・ウィン准教授は、塩素などの化学物質がゲノム中にどのくらいの頻度で突然変異を起こしているのかを、メダカを用いて調べている。ごく少量の化学物質が長時間作用した場合の影響をみるには、マウスなどよりもメダカの方が低コストで済むし、何世代にもわたる影響を調べやすいからである。

「アメリカでは、明らかな発がん物質の規制については厳しいが、『突然変異を起こす可能性がある』という程度の化学物質については規制がありません。

私たちは、身近に存在する化学物質がメダカに突然変異を起こすかどうかを、正確な変異誘発頻度として求める手法を開発しました」とウィン准教授。

ウィン准教授の解析は、大腸菌に感染するλファージのDNA(λ DNA)をメダカの受精卵に針で注入して「λトランスジェニックメダカ」を作ることから始まる。このときλ DNAはメダカゲノム中にランダムに取り込まれる。次に、λトランスジェニックメダカが成長したところで細胞からλ DNAを回収し、ある操作を加える。すると、λ DNAが再びパッケージされて、λファージに戻る。この再パッケージされたλファージは、普通のλファージのように大腸菌に感染させることができる。ただし、メダカに与えた化学物質によってたまたま「λ DNA中の特定の領域」に突然変異が起きたものだけは、増殖数が極端に減る、ある温度でしか増殖できなくなる、といった異常が生じる。つまり、「普通のλファージの増殖数」と「再パッケージされたλファージの増殖数」の比を

**生物学にとって利点の多いメダカ**

日本の生物学研究でメダカが使われてきた理由も、飼育や繁殖が容易であることによる部分が大いだが、ほかに、モデル生物としてとくにすぐれた点がたくさんある。

第1に、日本のどこどこでもみられるもの、大きく「北日本集団由来の近交系」と「南日本集団由来の近交系」に分けられる点が挙げられる。両者には全ゲノム配列の3パーセント以上に差(多型)がみられるため、形や行動などにかかわる遺伝子の変化がそれぞれの系統に蓄積していると考えられる。これらの多型は

遺伝子の解析を行う際の目印(マーカー)として利用できる。

第2に、欧米で使われるゼブラフィッシュに比べてゲノムサイズが格段に小さい点。ゲノム解読の結果、メダカは約8億塩基対のゲノムをもち、遺伝子が約2万1000個あることがわかった。ゼブラフィッシュの遺伝子もメダカとほぼ同数だが、ゲノムサイズは約17億塩基対とメダカの倍もあり、その構造も複雑なために、いまだに解読が終了していない。遺伝子の位置や構造、機能を探るには、ゲノムサイズが小さいメダカの方が断然有利である。

第3の利点は、生育温度の許容範囲が広いことである。ゼブラフィッシュが熱帯性で22~30℃の水温を必要とするのに対し、メダカは温帯性で4~40℃の水温に対応できる(ただし、繁殖させるには25℃以上が必要)。そのため、メダカに「遺伝子のスイッチが温度の違いによって入ったり、切れたりするような操作」を施すことで、特定の遺伝子の発現を抑制した場合の影響(すなわち、その遺伝子の機能)を容易に調べることができる。

第4の利点はゼブラフィッシュにも共通する。体が透明に

近いために、発生初期から成熟後までに起きる変化を追いやすいことである。発生学で伝統的に用いられるカエルやウニの場合、初期の胚は透明だが、時間が経つにつれ不透明な体表や殻で覆われ、体内で何が起きているかが観察できなくなってしまう。その点、メダカでは色素が形成されない透明メダカ系統が開発されている。これらのメダカでは、蛍光色素などを使って特定のタンパク質だけを光らせることで、遺伝子の発現部位を比較容易に特定することができる。

N.N.

東京大学大学院 河村正二

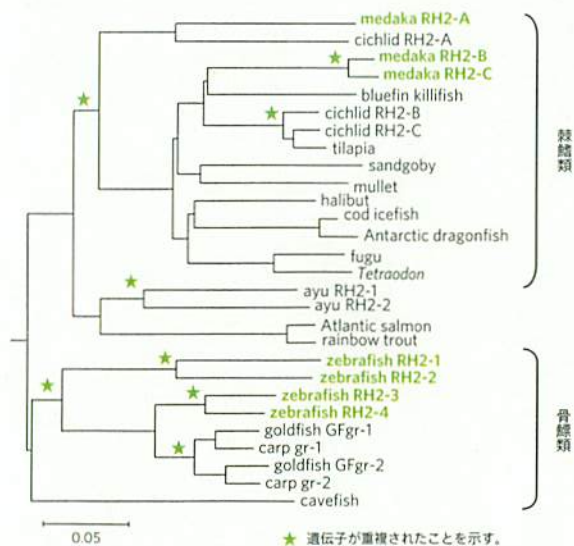


図2 光を情報として受け取る働きをするオプシン遺伝子の1つ、RH2-A遺伝子の進化を表す系統樹。左下のスケールバーは5%のアミノ酸置換、すなわち、「100アミノ酸あたり5個の置換」という意味である。



求めれば、その化学物質による突然変異頻度になるのである。「ヒトでは、遺伝子に変異が起きてからがんが発症するまでに30年かかるといわれています。私たちの手法で化学物質の変異誘発率を求めれば、なんらかの手が打てるようになるかもしれません」。ウイン准教授はそうコメントする。

一方、海外ではゼブラフィッシュを用いた研究も依然として盛んである。アメリカ、オレゴン大学神経科学研究所のモンテ・ウェスターフィールド教授は、遺伝子疾患の1つであるアッシャー症候群の原因遺伝子を解析するためにゼブラフィッシュを使っている。「アッシャー症候群は、アメリカでは7万人に1人の割合で発症し、視覚と聴覚が障害される病気です」とウェスターフィールド教授。これまでに、この疾患の原因となる遺伝子を11種同定し、そのうちの9遺伝子についてはゼブラフィッシュにも同様の遺伝子があることを突き止めた。

「このような遺伝子が発現したゼブラフィッシュは、難聴で平衡感覚が異常になり、水槽の周りの模様動きに合わせて泳げなくなるなどの病態がみられました。内耳や網膜などの細胞の機能が障害されるからだと思われます。自らの研究成果についてそう話すウェスターフィールド教授は、臨床医との共同で患者のスニップ解析を行うことで未知の原因遺伝子を突き止め、その機能についてもゼブラフィッシュを用いて解析したいとしている。

**変異体作製とバイオリソースプロジェクト**  
現在、日本は国家プロジェクトとして、マウスなどのモデル生物を一括して収集し、その維持と希望者への分配を目的としたバイオリソースプロジェクトを進めている。メダカ<sup>3</sup>については基礎生物学研究所が中核機関（代表：成瀬准教授）として機能しており、放射線医学総合研究所、新潟大学、国立遺伝学研究所、東京大学などととも、野生の系統およびすぐれた遺伝子変異系統の収集、精

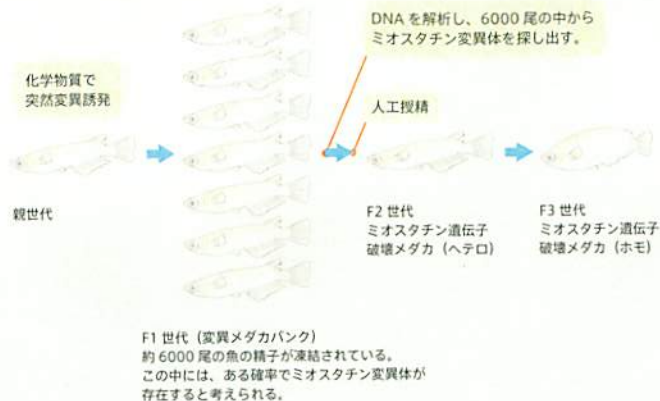


図3 ティリング法の仕組み  
図は、筋肉の分化に関係するミオスタチン遺伝子の変異体作製を例にティリング法の仕組みを説明したもの。谷口助教らは、筋肉量が多い魚の開発を目指し、ミオスタチン遺伝子破壊メダカをすでに作り出している。

子の凍結、遺伝子配列情報などのデータベース化、分配などの業務を行っている。「すでに特定の遺伝子に多型や変異がみられる400系統のメダカを収集しているが、国内外を問わず、新たな系統が開発された場合には、バイオリソースとしての寄託をよびかけています」と田中准教授。

こうしたなか、京都大学大学院医学研究科放射線遺伝学の谷口善仁助教は、「ティリング法」を用いた遺伝子変異系統の開発を進めている。ティリング法は、2002年にオランダのR.H. Plasterk博士のグループが発表した遺伝子を破壊するための手法で、谷口助教は同博士らとの共同研究によって、メダカでも同様の手法が行えるようにした<sup>4</sup>。「これまで、メダカの遺伝子機能を抑制するには、アンチセンスオリゴなどを使うしかなく、抑制できる時間が発生初期に限られていました。ティリング法では発生時から寿命が尽きるまで、一貫して遺伝子の機能を抑制できるので、発がんや老化などの研究にも使えます」と谷口助教。

ティリング法では、まず、成熟した約100個体の雄に、ある化学物質を投与してゲノム中にランダムに変異を起こさせる。その子孫 (F1世代) を6000

個体作り出すと (各個体の精子を保管しておく)、一定の確率で目的とする遺伝子 (ターゲット遺伝子) に点変異 (1つの塩基が別の塩基に置き換わる) が入っていることが期待できる。次に、ターゲット遺伝子の塩基配列を調べ、その機能を失うような変異が入った個体だけを選び出す。そのような個体の精子と野生型の雌の卵を交配して子 (F2) を作り、さらに、F2どうしをかけ合わせると、その子 (F3) にはターゲット遺伝子が2つとも変異した個体も出てくるはずで、それが目的の変異系統となる (図3)。

「変異バンクをスクリーニングして人工授精により変異系統を得るまでに4~5か月かかりますが、1件30万円ほどの実費を負担してもらう形で特定の遺伝子変異体作製の受注を行っています」と谷口助教。これまでに、細胞増殖やアポトーシス、がん化など、さまざまな現象に関与するp53という遺伝子を変異させた系統を開発しており、すでに多くの研究者がこの変異体を自分の研究に利用している。現在は、ターゲット遺伝子内に、より高密度で変異が入るような工夫を試みており、「開発した系統は、近い将来、皆が使えるように基礎生物学研究所に寄託したい」とコメントする。

**情報の共有と統合にむけて**

このようにして、生物学研究の最先端で使われているメダカであるが、この2月には、モデル動物としてのメダカをアピールし、メダカによる研究成果を共有すべく、基礎生物学研究所においてメダカ国際会議 (第54回 NIBB International Conference) が開かれた。「日本の成果を発信し、世界から情報を集め、今後の研究の方向性のコンセンサスを得ようというのがねらいでした。代表を務めた田中准教授はそうコメントする。

海外からの参加者を含め総勢90人ほどが、2泊3日にわたる会議で互いの情報を交換し、会議は盛会のうちに幕を閉じた。今回紹介した河村准教授、ウェスターフィールド教授、谷口助教も自身の研究成果について報告した。そのほかにも、東京大学理学系研究科の武田洋幸教授は、体の左右軸の異常を示すメダカの解析がヒトの織毛病に結びつい

た成果を、同大学院新領域創成科学研究科の森下真一教授は、「バイオフィーマティクスを駆使して脊椎動物の祖先ゲノムを再構成した成果を発表するなど、発生、進化、行動、生物情報学と、多岐にわたる最新の研究成果が報告され、活発な質疑応答が行われた。

「バイオリソースとしてのメダカの利用、ゲノム情報、技術開発、具体的研究成果などが順調に統合されていく道筋がみえました。また、他の生物種では解析が難しい研究をメダカでしようと、非常にユニークな挑戦が始まっていることを概観できました。田中准教授は、会議をそう振り返り、海外の研究者にメダカのさらなる利用をよびかけたとしている。私たちに生命の営みの基本情報をもたらす、進化、行動、疾患、治療、創薬、環境と、実に幅広い領域の発展に寄与するメダカの研究。日本を中心に、世界が連携する形でますます発展していくことが期待される。■



2月に基礎生物学研究所で開かれたメダカ国際会議のようす。活発な議論が続けられた。

注：正式名称は「ナショナルバイオリソースプロジェクト 中核的拠点整備プログラム メダカ」。現在は第2期 (平成19年~23年度) が進められている。初年度配分の予算は、基礎生物学研究所が3270万5000円、新潟大学が2000万円、放射線医学総合研究所が400万円などとなっている。

1. Kazahara, M. et al. *Nature* **447**, 714-719 (2007)
2. Kurokawa, H. et al. *PNAS* **104**, 9691-9696 (2007)
3. Chinen, A. et al. *Genetics* **163**, 663-675 (2003)
4. Takechi, M. and Kawamura, S. *JExpBiol* **208**, 1337-1345 (2005)
5. Matsumoto, Y. et al. *Gene* **371**, 268-278 (2006)
6. Taniguchi, Y. et al. *Genome Biol.* **7**, R116 (2006)