

ニホンメダカのゲノムが完全解読され、日本のオリジナル実験材料であるメダカが脚光を浴びている。魚類(条鰭類)は脊椎動物の中ではほ乳類の属する肉鰭類と姉妹関係に位置しているの、脊椎動物の発生、進化、環境科学など、さまざまな研究に貢献できると期待されるからだ。2007年には、自然科学研究機構基礎生物学研究所がナショナルバイオリソースプロジェクト「メダカ」の中核機関となった。この特集では、Part 1「メダカ研究の歴史」で日本の優れた研究をたどり、Part 2では「メダカ研究の最前線」を紹介。Part 3「メダカ研究への期待」では、メダカが生物科学にどう貢献できるのか、その可能性を探る。

特集 メダカの科学

Part 1 メダカ研究の歴史

世界に誇る日本のメダカ研究 成瀬 清

総合研究大学院大学准教授 基礎生物学専攻 / 自然科学研究機構 基礎生物学研究所准教授

日本のメダカ研究は、江戸時代から観賞魚として飼育された歴史を背景に明治期以来の蓄積をもつ。体色遺伝、発生、性分化などの研究から突然変異体の同定やモデル動物としての利用へと発展し、ゲノム解析の終了とともに今や重要な研究資源として研究者に広く活用されるようになった。

メダカは、日本、中国、韓国、台湾を中心に、東アジアに広く分布する小型の淡水魚である。分類上ダツ目に属し、海水中でもある程度生存できることから二次淡水魚とくくられることもある。

メダカ飼育の歴史は古く、江戸時代にはすでに観賞用として飼われていたようだ。好んで飼育された理由のひとつは、睡蓮鉢のような小さな水槽で世代を重ねることができる点である。だが、このような環境では近親交配が起こりやすい。江戸時代後期に出版された『梅園魚譜』には、野生のクロメダカとともに劣性突然変異体であるヒメダカやシロメダカが描かれており、このころにはすでに多くのヒメダカが飼われていたことがうかがえる(左ページ上方)。

の発色を支配する遺伝子 R の存在を明らかにした(限性遺伝の発見)。

1953年には、名古屋大学の山本時男によって人為的な性転換の実験が報告されている。この実験には、雄はヒメダカに雌はシロメダカになる系統(d-r系統)が使われた。會田が発見した体色の限性遺伝を利用して作った系統である。これを用いることで体色によって遺伝子型と表現型を区別できるようになり、遺伝的な性にかかわらずホルモン投与によって性分化をコントロールできることがわかった。現在の環境ホルモン研究や性分化過程の発生遺伝学(p.8 田中実の稿参照)にもつながる成果である。

東京大学の江上信雄もメダカの精巣卵形成や生殖生理を精力的に解明した。これらの研究は江上グループの多くの研究者に受け継がれ、メダカ自然集団の遺伝的多様性の研究や脊椎動物で2番目の性決定遺伝子 DMY の発見、メダカ近縁種を用いた性決定システムの進化に関する研究へと広がりを見せている(p.12 竹花佑介の稿参照)。また、遺伝的に均一な系統(近交系)の樹立も江上グループの成果であり、のちにメダカゲノム解析を成功させる大きな要因となった。メダカ連鎖地図の作成に従事した筆者もこのグループの一員である。

尾里健二郎らによって標準的な遺伝子導入法が確立されたことも大きな成果であった。さらに、メダカ突然変異体の研

日本におけるメダカ遺伝学の始まり

江戸時代に広く飼育されていたメダカが遺伝のよい研究材料であることに着眼したのは、東京帝国大学第1回卒業生の石川千代松(1860~1935)であった(図1)。石川は1913年、交配実験によってメダカの体色がメンデルの法則にしたがって遺伝することを明らかにした。

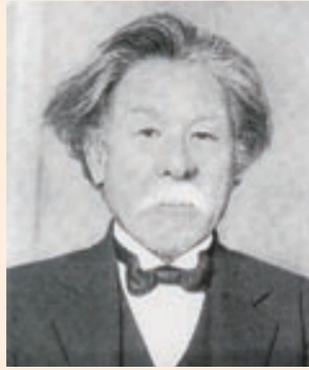
この研究に刺激を受けたのか、同年、會田龍雄(1871~1957)が自宅の庭でメダカの体色遺伝の研究を始めた。そして7年後、Y染色体にある性決定遺伝子(現在は DMY 遺伝子と同定されている)と連鎖している体色遺伝子(緋色を生じる黄色素胞

モロコ池中産地最多或小溝溜水田間流水ニ有其状数品アリ 鱒魚ノ
中交リ海行ル者也鱒ニ似タレテ脊腹ノ中間ニ黒キ一糸ノ文堅ニ通リ膠
下リ下腹ニ至テ銀色ナク久鱒魚ト大異リ晚冬ニ以後春ニ至リ鱒
ナク此魚雌雄分別ニカクニ春ニ三月ヲ賞観ノ時トス京師上ニ鱒奈
ノ宜女ハ此魚熟クテ叶サルガ如ク自採ノ祝魚トス



『梅園魚譜』(1835)に描かれたメダカ。『梅園魚譜』は毛利元寿が写生した図譜。

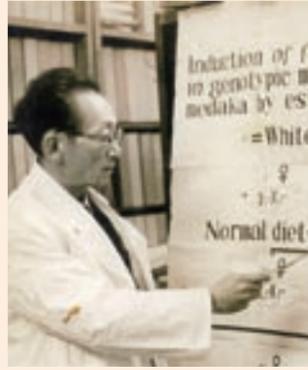
図1 メダカ研究の先達たち



石川千代松 (1860~1935)
メダカの体色がメンデルの法則によって遺伝することを報告した。メダカを遺伝実験の材料として着目した最初の研究者。東京帝国大学教授。



會田龍雄 (1871~1957)
メダカの体色の緋色を発現するR遺伝子が雄決定遺伝子と連鎖することを発見した。京大高等工芸学校(現・京都工芸繊維大学)教授。



山本時男 (1906~1977)
受精波概念の提唱、脊椎動物初の機能的女性転換個体の作成など、メダカを用いて数々の優れた研究をおこなった。名古屋大学教授。



江上信雄 (1925~1989)
メダカの精巣卵の形成機構、魚類を用いた放射線の生物影響、メダカ鱗条数の地理的変異など、幅広い研究をおこなった。東京大学教授。

表1 メダカとゼブラフィッシュの生物学的特徴

	メダカ	ゼブラフィッシュ
体長	3 cm	4 cm
世代時間	2~3ヶ月	2~3ヶ月
寿命	2~3年	約2年
産卵サイクル	毎日	約1回/週
産卵数	20~30	100~200
卵の透明度	透明	透明
孵化までの時間	7~10日	2~3日
生存可能温度	4~30°C	22~30°C
染色体数	48	50
ゲノムサイズ	800 Mbp	1700 Mbp
近交系の存在	多数	少数
系統間の塩基多様性	3~4%	1%

究では名古屋大学の富田英夫の偉業を挙げないわけにはいかない。山本時男の直弟子である富田は、メダカ自然集団にまれに存在する劣性突然変異を交配によって同型接合にすることで、80系統を超す「生存可能な」突然変異体を同定した。この研究で樹立された突然変異体を利用して、ヒメダカ原因遺伝子の同定などがおこなわれた。これがきっかけとなり、突然変異体から遺伝子同定へとというその後の発生遺伝学の流れが決定づけられたことになる (p.18 武田洋幸の稿参照)。

ゼブラフィッシュの登場

国内でこのようなメダカ研究が行われ

ているときに、アメリカで実験動物としてのメダカの将来に大きな影響を与えるできごとが起こった。ストライシンガー(オレゴン大学)が発生遺伝学の研究材料としてゼブラフィッシュを採用したのである。染色体操作によるクローンゼブラフィッシュ系統の作成(1981年)から始まったゼブラフィッシュ研究は、これ以降大きな広がりを見せる。

突然変異源(ENU)による生殖細胞突然変異の誘発実験がおこなわれ、この研究はゼブラフィッシュの人為的な突然変異誘発と大規模な変異体の同定実験へと発展していく。さらに、蛍光デキストランを使用した割卵の発生運命解析(オレ

ゴン大学のキンメルら)、ゼブラフィッシュ連鎖地図の作成、そして脊椎動物初の大規模な突然変異体のスクリーニング計画(ハーバード大学のフィッシュマンらと、マックスプランク研究所のニュスライン-フォルハルトら)が展開した。これらの研究によって膨大な数の突然変異体が同定され、ゼブラフィッシュは発生遺伝学のモデル動物として完成された。現在、ゲノム解析も進行中である。

一方、メダカを用いた発生学的研究の始まりは1930年代にまで遡る。1949年には松井喜三によってメダカの発生過程を記載した発生段階表が発表されている。メダカを用いた発生研究は、胚表層の律動性収縮運動の温度変化解析や受精にとりまなう表層顆粒崩壊の生理学などが関心の対象であった。この研究から受精波の概念(1944)が提唱され、受精時のカルシウム波の発見(1977)につながっていく。当時においては、メダカの発生研究は初期発生や器官形成のような形作りのメカニズムに主眼を置いたものではなかった。

変化が現れるのは1990年以降である。メダカ研究者が初期発生や器官形成の材料としてメダカを再認識したのは2000年に発表された2つの報告がきっかけだった。ドイツのヴィットプロット(EMBL)

グループと石川裕二(放射線医学総合研究所)のグループはそれぞれ独立に、メダカを用いた小規模な突然変異体同定実験をおこなった。ゼブラフィッシュを対象とした突然変異体同定実験はかなり大規模で網羅的なものだったので、小型魚類で同定できる突然変異体はおおかた既知と考えられていた。ところが、彼らがおこなった小規模な実験でも、それまで同定されなかった表現型が続々と発見されたのである。この原因はメダカとゼブラフィッシュが系統的に大きく異なるため、それぞれの種が持つ遺伝子レパートリーが異なることや、遺伝子発現のパターンが種によって多少違うことなどが考えられる。いずれにしても、メダカとゼブラフィッシュは発生遺伝学のモデル動物として相補的に使えることが示されたわけである。

これらの研究に影響され、メダカを用いた突然変異体の大規模な同定実験が

始まった。なかでも近藤寿人(大阪大学)と古谷清木誠(科学技術振興機構)を中心に内外の研究者が加わって進められた「近藤ERATOプロジェクト」は、最も大規模かつ網羅的なものであった。このプロジェクト以外にも特定の表現型(再生、体節形成、左右性、内胚系系の器官形成など)に異常を持つ突然変異体の同定が精力的におこなわれ、現在では400系統以上が報告されている。

モデル動物としてのメダカの利点

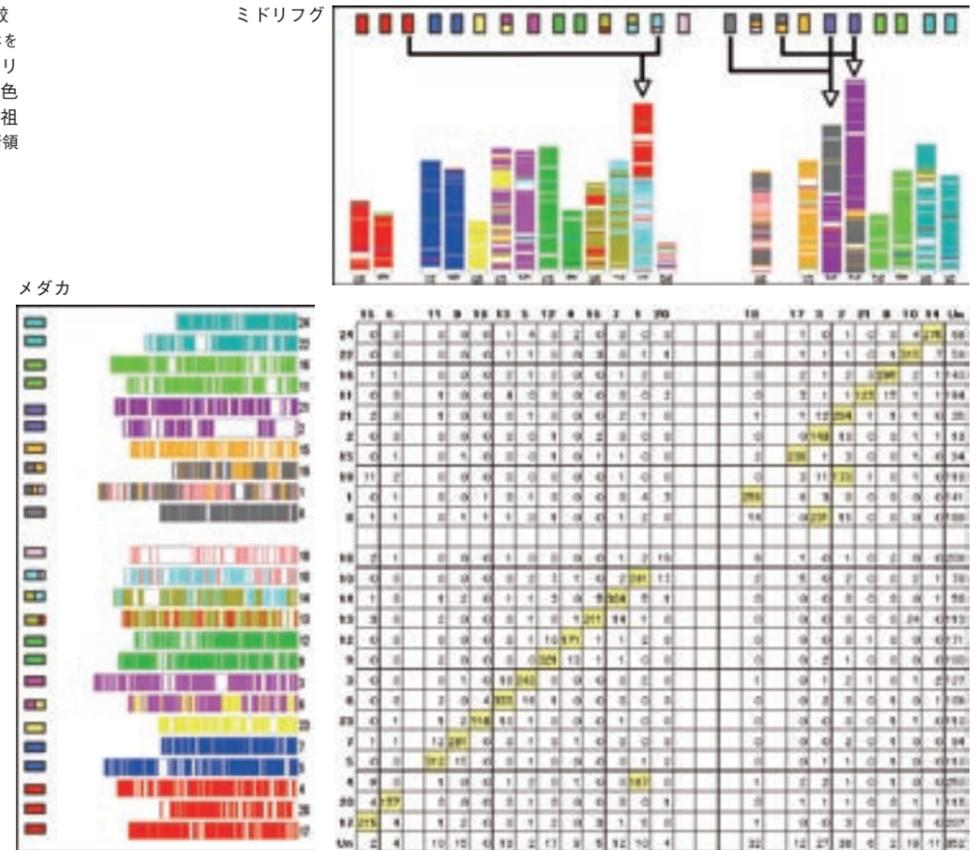
実験動物としてのメダカとゼブラフィッシュの特徴を見ると、生物としての基本的な点はほとんど変わらないことがわかる(表1)。だが、メダカ固有の利点も少なくない。

メダカは温帯域の魚なので、越冬に必要な低温耐性を持っている。このため、たやすく温度感受性突然変異体の同定ができる。エアレーションのない小さな水

槽で簡単に飼育でき、次世代を得ることができるのも実験動物としては大きなメリットと言えよう。近縁種を含めて自然集団に由来する多数の系統が実験用に保存されていることも重要な点である。ゲノムサイズが約8億塩基対(800 Mbp)とゼブラフィッシュの半分程度であることも、調節領域の同定や遺伝子導入個体の作成に有利な点であろう。

2000年ごろから高密度連鎖地図が作成され、cDNA/EST配列など転写産物のカタログ化が進んでいる。2002年から始まったメダカゲノム解析は2006年に完了し、今では高品質のゲノム塩基配列を自由に使うことができるようになった。ゲノム解析に利用されたBAC/Fosmidゲノムライブラリーが整列化されて凍結保存され、しかもゲノムブラウザーによってネット上で必要なクローンを同定できるようになった。この利便性はゼブラフィッシュではまだ実現していない。

図2 ミドリフグとメダカ間の遺伝子配置の比較
ミドリフグとメダカの共通祖先(24対の染色体を持つ)からそれぞれの系統が分岐した後、ミドリフグの系統では3回の染色体融合がおこり、染色体数は21対となった。一方、メダカの系統では祖先の染色体数を保持している(東京大学大学院新領域創成科学研究科・中谷洋一郎提供)。



小規模な突然変異体の同定実験をきっかけとして始まったメダカの発生遺伝学は、ゲノム科学を巻き込むことによって世界有数の充実したゲノムリソースを構築することに成功した。現在ではこれらのゲノムリソースを活用して、続々とメダカ突然変異体の原因遺伝子が同定されている (p.8 武田洋幸の稿参照)。

脊椎動物ゲノムの進化のシナリオを作る

メダカゲノム解析の対象となったのはd-rR系統から作出した近交系Hd-rR (図4)である。またゲノムの多様性を解析することを目的としてHd-rRとは遺伝的に大きく異なる近交系HNIのゲノムも決定した。2系統の遺伝的多様性は塩基置換率で3.42%に及ぶ。つまり、ゲノム全体の3.42%の塩基が2系統で異なっているのである。この遺伝的な相違は現在、脊椎動物の中で最大の値でもある。

この多型解析結果を利用して、脊椎動物ではどのような遺伝子が進化しやすいのか、それはヒトとメダカで共通なのか異なるのかなど、生物における遺伝的な変異の一般性と多様性を探る研究も始まった (p.15 太田博樹の稿参照)。

塩基配列の決定法としては全ゲノムショットガンシーケンス法を採用した。この方法ではさまざまなサイズのゲノム断片を含むライブラリーを作り、そのクローンの両端塩基配列を決定後、ゲノムアsemblerと呼ぶプログラムで全体をつなぎ合わせる。この方法の利点は、比較的手早くゲノム全体の塩基配列情報が得られることである。私たちはこのほか、極めて正確な連鎖地図を作成し、アセンブリーによって作成された塩基配列を連鎖地図上に併置するという戦略をとった。これにより約800 Mbpと推定されるゲノムのうち700.4 Mbpの塩基配列

を決定し、その約90%については染色体上の位置についても一意的に決定することができた。魚類ではもっとも高精度のゲノム解析ができたと自負している。

メダカ遺伝子の同定ではmRNAが転写される位置を網羅的に解析し、その結果と遺伝子予測ソフトの協同作業によって遺伝子を同定した。こうして予測遺伝子2万141個が見つかった。このうち60%程度がヒトを含む脊椎動物共通の遺伝子であり、80%は他の脊椎動物との間で相同性を持つものであった。これらの遺伝子を用いて、メダカとゼブラフィッシュ及びミドリフグとの間で相同遺伝子の染色体上の位置を比較したところ、メダカとミドリフグでは染色体はほぼ1:1の関係を保っていた(図2)。ゼブラフィッシュとの間でも約半数の染色体は同様な関係を保っていた。

これら3種の魚類の共通の祖先は約3億

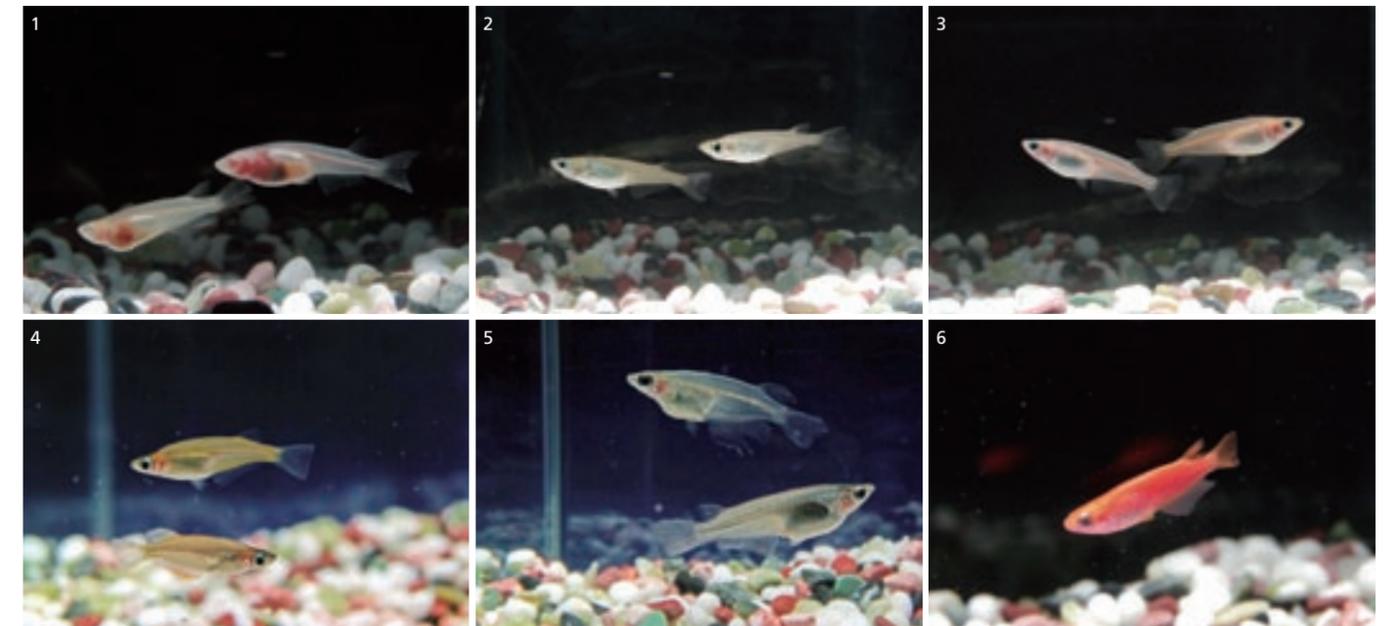
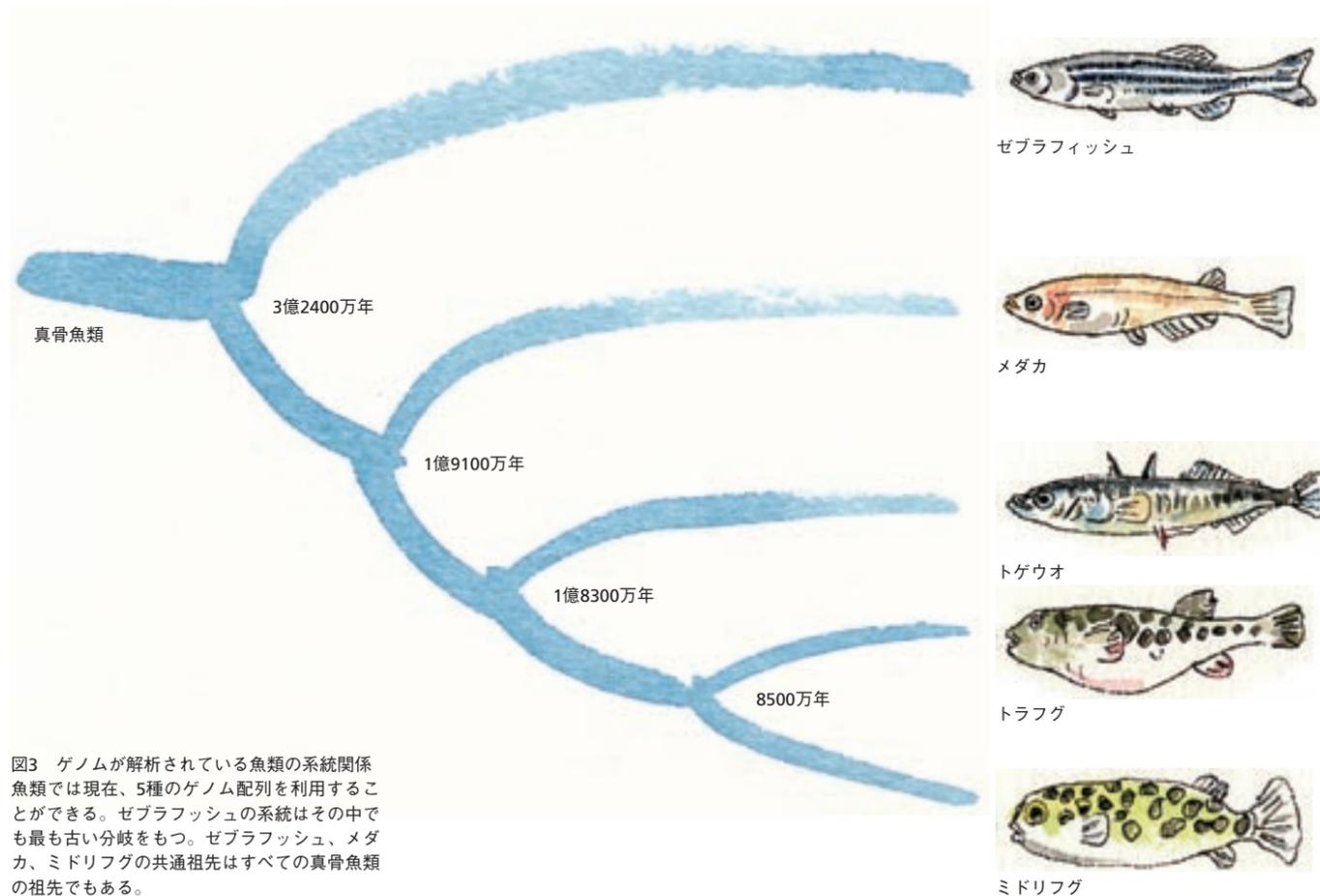


図4 メダカバイオリソースプロジェクトで提供されているメダカ系統。研究一般に利用しやすい標準系統、遺伝的に均一な近交系、さまざまな突然変異体、遺伝子導入系統、近縁種など400種類あまりの系統を利用者の要求に応じて提供している。1.半透明系統 2.北日本集団由来近交系HNI 3.南日本集団由来近交系Hd-rR 4.マルモラータスメダカ 5.インドメダカ 6.珊瑚赤色蛍光タンパク質遺伝子導入系統

年前にまで遡る (図3)。一方、ヒトが属する哺乳類を用いた同様の解析では、染色体の分断や染色体間の融合がかなり頻繁に起こっていることが知られている。ちなみに胎盤をもつ哺乳類の共通の祖先が現れたのは約1億年前のことである。この結果から、魚類は哺乳類に比べて染色体の分断や融合が起こりにくいこと、またヒトゲノムとの比較から、魚類の共通祖先は13対の染色体をもっており、その後ゲノム全体の倍加と染色体再編によって24対の染色体を持つに至ったという進化のシナリオを構成することができたのである。

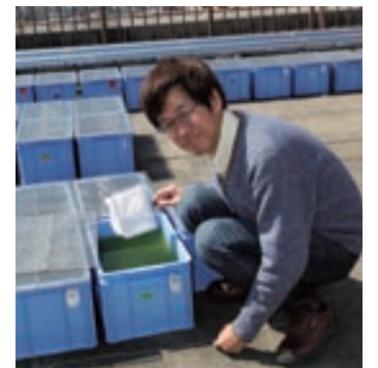
ナショナルバイオリソースプロジェクト「メダカ」(NBRP Medaka)

これまで述べたてきたように、メダカを用いた多くの研究から膨大な生物遺伝資源が開発された。2002年から始まったNBRP Medakaでは、これらの生物遺伝資源を求めに応じて研究者に提供する活動をおこなっている (図4)。2007年からは、基礎生物学研究所を中核機関として、

新潟大学、放射線医学総合研究所の3機関で第2期プロジェクトが始まった。第2期では、先に述べたd-rR系統や近交系などの生きた魚とともに、cDNA/ESTクローンなどの転写産物、BAC/Fosmidなどのゲノム断片を含むクローンあるいはゲノム塩基配列や転写開始点情報などの情報を統合的に提供し、広くメダカ利用を促進することをめざしている。

この活動によってメダカを用いた新たな研究が生まれ、生物に対する新しい認識が育っていくことを私たちは強く願っている。この特集の読者は、それがすでに始まりつつあることを理解しておられるのではないだろうか。

● 貴重な写真と研究史に関する原稿をご提供いただいた岩松鷹司先生に感謝いたします。メダカゲノム解析は森下研究室 (東京大学)、武田研究室 (東京大学)、小原研究室 (国立遺伝学研究所) を中心に多くの方々との共同研究によっておこなわれました。



成瀬 清 (なるせ・きよし) ストライシニング博士のクローンゼブラフィッシュ研究に触発され、名古屋大学の卒業研究でメダカを使って魚類の研究を始めた。東京大学大学院における博士論文は「メダカ遺伝子の連鎖解析」がテーマ。最近ではメダカ高密度連鎖地図の作成と魚類のゲノム進化に関する研究を進める一方、ポリプテルスなどメダカ以外の魚にも熱い視線を向けている。2007年4月から基礎生物学研究所・総合研究大学院大学准教授 (バイオリソース研究室)。