

アフリカツメガエル (*Xenopus laevis*/*Xenopus tropicalis*) を用いた マイクロアレイの現況

ブルース ブルンバーク

米国 カリフォルニア大学アーバイン校

ご紹介ありがとうございます。簡潔にお話したいと思います。私は両生類モデル系である *Xenopus laevis* と *Xenopus tropicalis* のマイクロアレイの利用状況を報告するように依頼されました。

ご存知の通り、アフリカツメガエルは毒物学的研究に比較的広く使用されており、FETAX 法が最もよく知られています。また、アフリカツメガエルは細胞生物学および初期胚の発生に非常に重要なモデル系でもあります。アフリカツメガエルにおける遺伝子導入が最近開始されたことにより、器官発生と形態発生の研究に使用する可能性が広がりました。

アフリカツメガエルを使用する利点は、非常に大きい知識ベースが存在することです。我々は、この動物については、種々の化学物質の投与に高い感受性を示す時期である初期発生について多くの知識を有しています。また、胚操作、遺伝子導入、およびモルホリノアンチセンスオリゴヌクレオチドを使用した遺伝子ノックアウトなど、あらゆる種類の機能研究を実施できる可能性があります。初期胚は非常に容易に培養できます。*Xenopus laevis* は、ご存知の通り四倍体であるという欠陥を持っており、遺伝学的分析には使用できません。また、世代時間も1年を超える長期間です。

近年、近縁種である *Xenopus tropicalis* を利用することに関心が寄せられています。*Tropicalis* は *Xenopus laevis* に非常に近縁の動物です。*In situ* ハイブリダイゼーションおよびマイクロアレイ分析で、プローブのクロスハイブリッド形成を行います。これまでの研究では、胚発生は *Xenopus laevis* と同一です。

Tropicalis には多くの利点があります。真の二倍体であるため、順と逆の両遺伝学的解析、遺伝子導入、挿入変異体作成が実施できます。最近、米国国立衛生研究所は、突然変異誘発の実施とその結果得られた突然変異種のマッピングに対する5、6件の助成金研究に資金提供しており、この分野を大きく後押しすることとなるでしょう。

Tropicalis の世代時間は短く、3、4カ月です。体が *laevis* より小さいため、大きなスペースは必要ありません。また、*Tropicalis* ゲノム・プロジェクトも開始されています。別種類の生物資源ですが、間もなくゲノム配列全体が明らかになるでしょう。

わずかながら問題点もあります。*Xenopus tropicalis* は研究室内で飼育することがやや困難で、*Xenopus tropicalis* を使用している研究室は数多くありません。最新の EST データベースによると、*Xenopus laevis* の遺伝子解析は大きく進んでいます。我々はリストの8番目にあり、上野教授が作成した配列を発表すれば、6番目に上がります。

複数の *Xenopus* EST プロジェクトがありますが、初期のプロジェクトの1つは、NIESH (国立環境保健科学研究所) で Perry Blackshear が進めているプロジェクトです。NIESH では1個の卵のライブラリーから比較的多数の EST を作成しました。過去1年半に NIH はかなりの金額を EST 配列研究に投入しており、現在、EST の合計数は約147,000で、最近60,000を私が送っていますので、少なくとも60,000がさらに加算されるでしょう。

ここ日本では NIBB で上野教授が60,000以上の EST 配列を作成し、ほぼ25,000の固有配列であると報告しています。

現在、*Xenopus laevis* は UniGene 生物の1つです。これは、米国の国立バイオテクノロジーインフォメーションセンター (NCBI) が、作成された配列の分析を行っていることを意味します。これまでのところ58,000を完了し、そのうち、12,000は完全に固有遺伝子であることを示しています。従って、我々が知る限り、少なくとも12,000の遺伝子が得られています。

まだ広く販売されるまでには至っていませんが、マイクロアレイが使用されるようになってきています。小型のアフリカツメガエル用マイクロアレイは2つの企業が生産しています。現在のところ研究の多くは学術機関の研究室で行われており、NIBB では上野教授の研究室が主導的立場にあります。この研究室はマイクロアレイ

を供給しており、UCI の Ken Cho の研究室と共同で 42,000 のスポットがある比較的大型のマイクロアレイを生産しています。

私の研究室は EST に基づいたマイクロアレイの開発を行っており、現在、76,000 個を開発しています。それらの配列が決定されれば、薄膜上に搭載することができるでしょう。ロックフェラー大学の Ali H. Brivanlou の研究室では、12,000 個の EST を搭載したマイクロアレイチップをチップに要したコストで供給しています。

Xenopus tropicalis では、1 つの EST プロジェクトが始まったばかりです。NIH の努力はこれまでのところ 30,000 近くへのぼり、Sanger Centre も類似した量に達しています。私の研究室では、この EST プロジェクトに活用される多数の cDNA ライブラリーを作成しています。*Tropicalis* の配列については、残念ながらまだ利用可能な cDNA マイクロアレイはありませんが、私の研究室では、EST 配列が得られて UniGene セットが利用可能になり次第、それらをマイクロアレイに変換して、マイクロアレイを利用できるようにする予定です。

既に言及しましたが、始まったばかりの *Xenopus tropicalis* ゲノムプロジェクトがあります。ゲノムプロジェクトに必要なものの 1 つは BAC ライブラリーです。NIBB では、いくつかの BAC ライブラリーが開発されており、ここでも上野教授の研究室はかなり優れたライブラリーを所有しています。Institute for Systems Biology は 1 件の BAC ライブラリーの開発を進めており、National Human Genome Research Institute には、ゲノム配列に基づいた 2 件の非常に大型のインサートライブラリーを開発するための助成金の提供が計画されています。

少なくとも 2、3 件のゲノム分析が進行中です。パークレーの Joint Genome Institute は、2002 年末までに決定された *tropicalis* ゲノム配列のカバー範囲はゲノム 3 倍相当に達すると予測しています。National Genome Research Institute では、ゲノム 7 倍相当のカバー範囲を達成することが提案されています。Sanger Center も同様の計画があり、どの程度の規模にするかを現在検討中です。

以上で私の報告を終わります。この研究に参加している研究室をご紹介したいと思います。次いでご質問にお答えしたいと思います。