

究にも絶好の材料である。野生で生息するメダカの研究では生息温度域の広さや地域集団の存在を考慮しなければならない。

ii) ファットヘッド・ミノーは発生や成長については、前二者と同等である。しかし、性成熟までの期間が4～6ヶ月と長く、世代の継続を必要とする遺伝的研究には不利になる。サイズがやや大きいことは、維持、管理に手間がかかる不利はあるが、臓器などを採取するような研究では大きいことが有利となるう。

iii) ゼブラフィッシュは発生や成長について多くの点でメダカと同等である。成長の過程で性転換が起こるので、生殖関係の試験には向いていない。また、生息温度の関係から低温での試験は出来ない。

4. 研究基盤の整備

研究の現状を把握し、将来の展開を見定めるために、研究基盤の整備状況を調査した。その結果、メダカ、ファットヘッド・ミノー、ゼブラフィッシュは研究基盤についてそれぞれ独自のものをもっていることが明らかになった。

1) 系統動物

メダカの系統については巻末に別刷りを添付したので参照していただきたい。

i) 地域集団

前に述べたように、メダカにはいくつかの地域集団があることが知られている。この研究のために日本、韓国、中国の各地から採集されたメダカが約100系統、東京大学と新潟大学で保存されている。これらの系統は地域の在来メダカの環境保全を考えるとときに重要な資料となろう。

ii) 近交系

遺伝的に厳密な研究を行うためには近交系動物が必要である。これは数十代にわたる姉妹交配によって作られる。メダカでは放射線総合医学研究所の田口らによって作られたものが約10系統ある。この中には生殖の研究に用いられる系統もいくつか含まれているが、これについては後に詳しく述べる。ファットヘッド・ミノーやゼブラフィッシュではこのような近交系は作られていない。

表 2-2 研究基盤の整備

	メダカ	ゼブラフィッシュ	ファットヘッド・ミノー
系統動物			
地域野生集団	100 系統		
近交系	10 系統	なし	なし
自然突然変異	100 系統	少数	
人工（誘発）突然変異	50 系統	1,000 系統	
生殖研究用系統	5 系統		
系統保存体制	貧弱・分散的	国際センター建設予定	
培養細胞株	多数	少数	少数
トランスジェニック技術	あり	あり	なし
核移植技術	あり	なし	なし
ゲノム研究			
遺伝子地図	500 マーカー	4000 マーカー	なし
ゲノムプロジェクト	なし	指定種として進行中	なし
性判別DNAマーカー	あり	なし	なし
データベース	あり	あり	
環境因子検査の標準化			
政府・大学によるもの	なし	なし	試験法の標準化
企業によるもの	試験法の標準化	なし	水質検査キット

iii) 自然突然変異系統

町の金魚屋さんで市販されているメダカは、黄～赤色をしている。これはヒメダカと呼ばれ黒色素細胞を欠いている突然変異である。これは江戸時代から観賞用に売られていたと云われる。現在、研究に最も多く利用されているのはこの品種である。脊椎動物におけるメンデルの法則はヒメダカの体色の研究によって初めて確認された。1930年には二つの形態形成突然変異が発見され、その一つは現在も名古屋大学で保存されている。1940年代に名古屋大学の山本は体色の突然変異シロメダカを名古屋近郊で採取した。性の研究で有名な d-rR 系統はヒメダカとシロメダカの交配によって作られたものである。1960～90年代にかけて名古屋大学の富田は約100系統の突然変異を収集した。これらの系統は名古屋大学に保存されている。d-rR や名古屋大学における系統保存については後で述べる。自然突然変異についての報告はファットヘッド・ミノーではほとんど無く、ゼブラフィッシュでは少数あるだけである。

iv) 人工（誘発）突然変異系統

放射線や化学物質によって突然変異を誘発することはショウジョウバエなどで広く行われていた。1990年代の半ばに、ドイツのノーベル賞受賞者ニスライン・ホルハートはショウジョウバエで用いられていた飽和突然変異法をゼブラフィッシュに応用して突然変異を大量に誘発することに成功した。さらにこの手法は欧米の多くの研究室で用いられ、今日ではゼブラフィッシュの突然変異

は 1000 越えると数に達していると言われている。これが 1990 年代にゼブラフィッシュ研究が大きな成功を収めた要因になっている。メダカは放射線総合医学研究所、東京大学などで行われているが、数は 50 系統ほどである。

iv) 生殖研究用系統

メダカには生殖の研究に好適な系統が近交系も含めて開発されている。

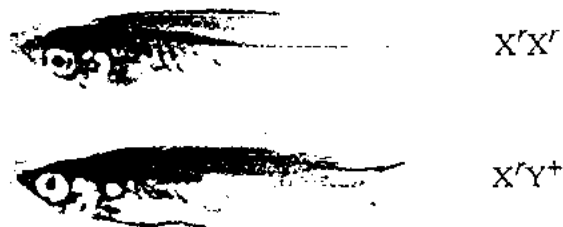
a) d-rR (シロアカメダカまたは Yamamoto 系統)。

この系統は 1950 年に名古屋大学の山本によって二つの自然突然変異シロメダカとヒメダカを交配して開発されたものである。この系統では黄色素細胞の遺伝子 R が Y 染色体の上にある。雄は XY 型で体色が赤く、雌は XX 型で体色が白色であることからシロアカメダカと呼ばれている (図 2)。このようにこの系統では体色によって遺伝的性を知ることが出来る。山本はこの系統を用いて雄性ホルモン (アンドロゲン) 処理による雌から雄への転換、雌性ホルモン (エストロゲン) 処理による雄から雌への転換を誘導し、脊椎動物における性転換を初めて実験的に証明した。それ以来 d-rR 系統は魚類の性の決定、分化、転換などの研究に好んで用いられて来た。魚類を内分泌攪乱化学物質で処理すると雄の精巣の中に卵様構造見られるとか、雌への転換が起こるとかの研究は山本の研究を基礎にしている。d-rR 系統は国外でも知られており、わが国で内分泌攪乱化学物質の問題が表面化する数年前から、ドレスデン大学 (独)、国立農業科学研究所 (仏)、サウスカロライナ医科大学 (米)、UMS 海洋科学

研究所（米）、ハイデルベルグ大学動物学研究所（独）などの欧米の研究室から名古屋大学に分譲依頼が寄せられている。メダカを用いた内分泌攪乱化学物質の生殖機能の障害については欧米の研究室から論文がいくつか発表されているが、いずれも一般に市販されているメダカを用いている。これらのメダカでは遺伝的な性が明らかでないために、結果の信頼性に問題を残している。わが国では住友テクノスが d-rR 系統を用いて内分泌攪乱化学物質の試験法の開発を行っている。ただ、d-rR にもいくつかの問題がある。一つは赤い体色の発現が見られる発生段階が比較的遅いこと、従って遺伝的雌雄の判定もその時点では出来ないことである。また X 染色体と Y 染色体の間の交差率が 0.3%程度あるので、それだけの誤差は見込まねばならないことである。



シロアカメダカ
(d-rR, Yamamoto strain)



突然変異シロメダカ (雌 $X'X'$; 雄 $X'Y'$; 1946年
弥富にて発見) とヒメダカ (雌 X^+X^+ ; 雄 X^+Y^+)
と交配して1953年に系統化される。組換え率 0.3%。
(Yamamoto, T., 1953)

図2. 山本時男と d-rR 系統

(上) 名古屋大学におけるメダカ研究の創始者山本時男、(下) 彼が 1950 年に作った d-rR 系統。遺伝的雌雄を体色で判別できるので (雌は白、雄は赤) シロアカメダカとも呼ばれる。山本はこの系統を性ホルモンで処理することによって、性転換を脊椎動物で初めて実証した。この系統は内分泌攪乱化学物質の実験モデルとして国内外で使用されている。

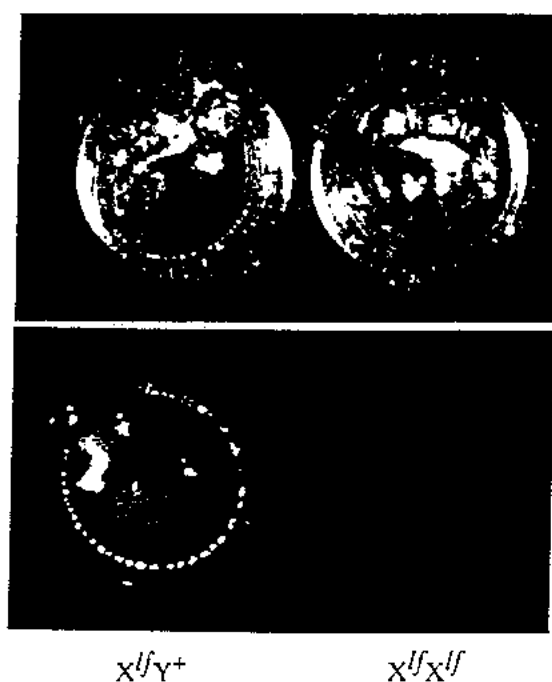
b) FLF と Qurt

魚類の色素細胞の一つに白色素細胞がある。顕微鏡で見ると、この細胞は体表に白い点として散在していることがわかる。この白色素細胞を欠いている突然変異が lf (leucophore free) の名前で名古屋大学に保存されている。FLF はこの lf と野生型を交配して最近名古屋大学で作製されたものである。これと類似の系統は東京大学においても作製され Qurt と命名されている。これらの系統では Y 染色体の上に白色素細胞の遺伝子がある。そのために X Y 型の雄では体表に白色素細胞のスポットが多数見られるが、X X 型の雌ではこのスポットはない。これを利用して雌雄の遺伝的性を判定するのである。FLF という名称は female leucophore free (雌に白色素細胞が無い) からつけられたものである。この系統の利点は、白色素細胞が受精後 3 日の胚の発生段階で見られるので、遺伝的雌雄の判定が発生の早期に可能なことである (図 3)。ただ、これらの系統の欠点は X 染色体と Y 染色体の間の交差率が 3~4% と高いので、この割合で雌雄の判定に誤差が出ることである。FLF 系統は内分泌攪乱化学物質の研究に使用できることが名古屋大学の研究で明らかにされた (図 3)。

c) Hd-rR

d-rR 系統の近交系で、放射線医学総合研究所で開発されたものである。しかし、自然に生息している動物は遺伝的には多様な雑系であるから、環境因子の研究に遺伝的に均一な系統が適しているかどうかは議論のわかれる所である。

FLFメダカ (5日胚)



1997年に生物分子応答研究センターで作られた、
雌に白色素細胞が存在しないことから、FLF
(female leucophore free)と命名された。組換え率3%。

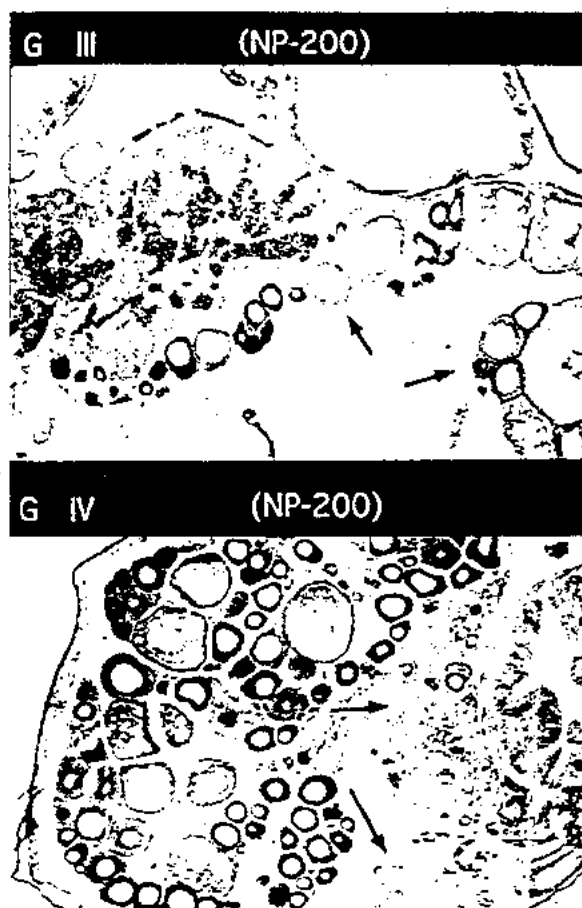


図3. FLF 系統メダカ

名古屋大学生物分子応答研究センター淡水魚類系統保存実験施設で保存されている突然変異の系統を交配して作製された。(左) この系統では3日胚で遺伝的雌雄の判別が出来る。5日胚の可視光(上)および蛍光(下)像。雄(左側)では背中に白色素細胞の白いスポットの列が見えるが、雌では見えない。雄のスポットの列は黄色い蛍光を発する。(右) FLFメダカを用いた内分泌攪乱化学物質の試験。孵化直後から成魚まで p-ノニルフェノール 200 μ g/l を加えた飼育水で処理した。精巣の中に多数の卵様構造が見られる。

研究者によっては出来るだけ自然のものに近い雑系で実験すべきだと云う意見もある。

d) Hd-rR コンジェニック系統

近交系 HNI の雄をベースにしてこれに Hd-rR の雌を繰り返し戻し交配することによって作製されたコンジェニック系統である。新潟大学の酒泉らによって作られた。この系統では Y 染色体上の雄決定因子およびその近傍 (HNI の DNA) 以外はすべて Hd-rR 由来の染色体に置き換えられている。このように Y 染色体上で、雄決定因子とそれ以外のところでは染色体構成に系統差ができる。その差を利用して雄決定遺伝子の探索をしようという研究がわが国において開始されている。

e) 現在開発中の系統

e-1) d-rR-FLF 系統

d-rR と FLF は体色によって遺伝的性を判別できる系統である。しかし、この二つの系統にはそれぞれに長所と短所がある。d-rR では遺伝的性の判別の誤差は少ないが、判別ができる時期が比較的遅い。FLF では遺伝的性の判別は比較的早い段階で出来るが、判別誤差が大きい。現在この二つの系統を利用して、それぞれの長所を兼ね備えた系統の開発が名古屋大学の若松によって行われている。1～2 年以内に開発される予定である。

e-2) シースルー・メダカ (See-through medaka, 透明メダカ) 系統

メダカやゼブラフィッシュでは、胚の時期に体の透明度が高いことから、発生や成長について観察や実験をする時に、体の内部を直接見ることが出来る。しかし、これらの魚種でも成長するに従って体表が多数の色素細胞に覆われるようになるので、透明度は次第に失われていく。そこで名古屋大学の若松は、系統保存されている多数の色素細胞突然変異を利用して、成魚でも比較的透明で内部臓器の観察が可能なメダカを開発している。これは交配を繰り返し行って作製するのであるが、現在最後の段階に入っている。今後、どのような臓器が外部から観察できるのかなどの検討を行っていく予定である。この系統が開発できれば、化学物質の影響を生きたままの成体で体外から直接調べることができる。またトランスジェニック法によって化学物質に反応して発色する遺伝子を組み込むことが出来れば、生きた個体のバイオモニターとして利用することができる。

ファットヘッド・ミノーとゼブラフィッシュには生殖研究用を目的として開発された系統は存在しない。

2) 系統保存体制

動物を用いる実験において系統動物は重要な研究基盤である。メダカについては、地域集団、近交系、突然変異など多数の系統が保存されてきた。地域集団は国内のものが東京大学と新潟大学、東南アジアのものが信州大学、近交系

が放射線総合医学研究所、自然突然変異が名古屋大学で保存されている。詳細は添付した資料を参照していただきたい（巻末添付別刷）。系統保存の一つの例を名古屋大学について述べる。多くの系統が1960年代から富田によって集められたもので、現在までに約30～40年にわたって保存されてきた（図4、巻末1）。1981年淡水魚類系統保存実験施設が名古屋大学に設立され、現在この施設で100系統を保存し、国内外の研究機関に分譲を行っている（巻末2-3）。

しかし、その名古屋大学の施設にしても、大学の通常の一講座が教育・研究の傍ら運営しているのであって制度として保証されているわけではない。系統の保存や分譲の業務は一つの事業であって、教育・研究とは別の性格のものである。このような状況では系統保存は研究者個人の言ってみればボランティア精神に頼りながら辛うじて行われているのである。このことは他の大学や研究所も同じで、予算、人員、施設ともに極めて貧しいことが巻末の資料からうかがえる。このようにメダカの系統保存体制は小規模のものが分散的にあるだけで、研究者の個人的な献身がなくなれば、消滅する運命にある。

ゼブラフィッシュでは約1000 m²の規模の国際系統保存センターがオレゴン大学に2000年夏に完成予定である（巻末4）。設立目的として、1）動物の保存、2）情報センター、3）動物の病気の管理、などが謳われている。このセンターの設立資金はNIH（国立健康研究所）から支出され、オレゴン大学の学長が運営委員会の長になることになっている。規模、資金の出所、運営



図 4. 名古屋大学におけるメダカの系統保存 名古屋大学生物分子応答研究センター淡水魚類系統保存実験施設では 100 系統の自然突然変異を保存している。(上) その多くは 1960 年代に富田英夫により蒐集されたものである(写真は自然 1978 年 8 月号から)。(下) 現在の野外圃場における保存風景。

体制のいずれをとっても本格的な施設を作ろうとする意欲がうかがわれる。フ
アットヘッド・ミノーについては資料が入手できなかった。

3) 培養細胞株

わが国では1980年代にメダカを用いた発がんや放射線の研究、90年代
には、胚幹細胞やキメラ形成などの研究が盛んに行われてきた。これらの研究
を通じてメダカの培養細胞株が多数確立された。これらの細胞株は東京大学、
放射線総合医学研究所、名古屋大学などに保存されている。

4) トランスジェニック魚類

魚類で最初の本格的なトランスジェニック法はメダカで確立されたものであ
る（巻末5）。その後ゼブラフィッシュでも盛んに研究されるようになった。
トランスジェニック法は卵に遺伝子をマイクロインジェクション法によって注
入することの他（図5上）、現在ではエレクトロポレーションやパーティクル・
ガンによる方法も開発されている。図5下に示すものは、メダカのペプチド鎖
伸長因子遺伝子のプロモーター（EF-1 α -A）にクラゲの発光タンパク質遺伝子
（GFP）を結合した遺伝子を導入した系統である。ここでは胚と成魚での発現
を示してあるが、初期胚では全身で、中期胚では頭部で、成魚では外部から見
ると眼のレンズと皮膚に発現がみられる。これを解剖して調べるとほとんど全
ての内臓で発現が見られる。この GFP トランスジェニック・メダカは京都大学
の木下らにより開発されたものである。現在、二系統の GFP（発光）トランス