

メダカを用いた順遺伝学及び逆遺伝学的解析 -メダカ体色突然変異体の原因遺伝子同定を例として-

基礎生物学研究所 IBBP センター/バイオリソース研究室 特任教授 成瀬 清

メダカは遺伝学的解析が適用できる脊椎動物のモデルとして長く利用されてきた。1970年頃から名古屋大学の富田英夫博士によって野生のメダカや市販のヒメダカを用いて、3世代交配によって自然界に存在する隠れた自然突然変異を同型化することで60系統をこえる突然変異体(富田コレクション)が発見され、ほとんどの系統はメダカナショナルバイオリソースプロジェクト (NBRP Medaka) に寄託され系統維持・提供されている。また ENU を用いた大規模な誘発突然変異体の同定実験も実施され、現在では 150 系統以上が精子凍結保存され、人工受精胚として提供可能である。2000 年頃からメダカ BAC ライブラリーの作成、EST 解析、ゲノム配列の決定などメダカバイオリソースが整備されるにつれて、これらの突然変異体の原因遺伝子の同定が次第に容易となり、興味深い発見が次々となされてきた(新規メラニン形成遺伝子 *Slc45a2* の発見とヒト体色への関与、メダカとその近縁種の性決定遺伝子 *Dmy*, *Gsdf* 及び *Sox3* の同定とその進化、DNA 型転位因子 *Tol1*, *Tol2* の発見と zebrafish 遺伝子導入系への応用、*Zic1/Zic4* の背側エンハンサーの発見と背腹軸決定及びその epigenetic 制御、抗重力因子としての YAP の発見、ヘルペスウイルスと *PiggyBac* 転位因子との融合型トランスポゾンである超大型 DNA 型トランスポゾン *Teratorn* の発見等)。逆遺伝学的手法ではランダムな ENU による突然変異誘発を基礎とした TILLING ライブラリーが樹立され利用されてきたが、近年のゲノム編集技術の進展により逆遺伝学的研究手法はゲノム編集による新規アレルの生成やノックイン系統の作成に移行している。

脊椎動物の体色は色素細胞と呼ばれる細胞内に特定の色素を多量に含む特殊な細胞によって決定されている。哺乳類ではメラニン(黒色の eumelanin と黄色の pheomelanin) 形成をおこなうメラノサイトのみが知られているが他の脊椎動物では含まれる色素が異なる複数種の色素細胞が存在する。メダカでは黒色の melanin を含む melanophore、黄色から赤の carotenoid を含む xanthophore、銀色の guanin を含む iridophore そしてメダカ属を含む少数の魚類のみで知られる尿酸とプテリジンを含む leucophore の4種類の色素細胞が知られている。富田コレクションではこれら4種の色素細胞それぞれの形質に変異をもつ突然変異体が知られているが、私たちは過去10年あまりそれらの原因遺伝子の同定を行ってきた。今回はこれら色素細胞突然変異体の原因遺伝子同定を例として、メダカの色素細胞の形成や分化について分かってきたことと私たちが開発してきた遺伝学的解析技術の例としてメダカ野生集団の多様性を基礎とする bulk 分析用 DNA マーカー M-Marker2009 や CRISPR-Cas9 による KO や KI などの逆遺伝学的研究手法についてご紹介したい。また合わせて NBRP Medaka についてその概要をご紹介したい。