

研究室訪問 —トランスジェニックホヤ、出来立てホヤホヤ—

TJB 学生編集部（筑波大学 生物学類）

笹倉靖徳講師が平成19年度文部科学大臣表彰若手科学者賞を受賞した。研究テーマは、「海産脊索動物ホヤにおける突然変異体作製方法の研究」。発生・生殖・ゲノムの研究材料となるホヤにおいて、遺伝子組換え技術を用いた突然変異体作製方法を開発したことは、将来的にあらゆる研究分野への応用が期待できる。今回TJB学生編集部は、その研究内容や研究展望について伺った。

——不思議な生物、ホヤ。

ホヤの生態は、とにかく不思議で謎だらけだ。分類学的には脊椎動物に極めて近い脊索動物に属するホヤだが、その生態からは植物なのか動物なのか、はっきり言ってよく分からない。それは、ホヤが幼生時には両生類のオタマジャクシに近い形態をとり、遊泳生活を送る動物的な特徴を示すいっぽうで、変態して成体になると岩にくっつき固着生活を送る植物的な特徴を示すためだ。

脊索・背側神経索・鰓裂(さいれつ)・内柱(ないちゅう)などの脊椎動物と相同な組織・器官を持ち、幼生期には遊泳生活を送る生物が、進化の過程でどのように分化して固着生活を送る動物になったか。笹倉講師の研究グループでは、ホヤの一種カタユウレイボヤ *Ciona intestinalis* を主な研究材料として、このテーマに取り組んでいる。われわれ脊椎動物と同じ遺伝子を有していた脊索動物のホヤが、一体どのように進化してきたのか。それを、遺伝子の使われ方、遺伝子の役割や機能を明らかにすることで解明するのが研究の大きな目標だ。

注釈

鰓裂(さいれつ)：咽頭から外界に開口する裂孔のこと。

内柱(ないちゅう)：粘液を分泌する腺性組織で繊毛溝のこと。



写真(左) 幼生期のホヤ。



写真(右) 成体期のホヤ。

——突然変異体作製方法の開発

カタユウレイボヤ *Ciona intestinalis* の全ゲノム DNA 塩基配列は既に明らかとなっている。遺伝子サイズはヒトの約2分の1、ゲノムサイズもヒトの約10分の1と非常に小さくシンプルだ。これは同時に全ゲノムに対する遺伝子密度が、ヒトのおよそ5倍も大きいことを意味する。ホヤの遺伝子機能を解析するうえで、このように遺伝子密度が大きいことは非常に大きなメリットだ。

しかし、いくら遺伝子機能を解析するうえでのメリットがあったところで、遺伝子機能の解析技術の開発そのものが遅れていては何も意味をなさない。そこで笹倉講師の研究グループでは、一部のモデル生物でしか成功していなかった突然変異体の作製をホヤでも実現するための研究開発に取り組んだ。

遺伝子機能を解析する手法のなかでも最もシンプルで効果的な方法が、遺伝子を壊してその機能を直接みる方法、つまり、突然変異体の作製である。笹倉講師らは、ショウジョウバエの突然変異体作製方法として主流である、トランスポゾン(動く遺伝子)を用いた突然変異体の作製技術をホヤにも応用し、遂にホヤで突然変異体を作製することに成功した。

ホヤの突然変異体を作製するうえで鍵となるトランスポゾンは、動く遺伝子の中で、別のDNAにポンと入り、たまたま入った部分に遺伝子があれば遺伝子を分断・破壊する、まるで爆弾のような遺伝子だ。ホヤにこのトランスポゾンをプラスミドの形で入れると、プラスミドからゲノムに入り突然変異体が生じるのだ。



図. トランスポゾンの導入

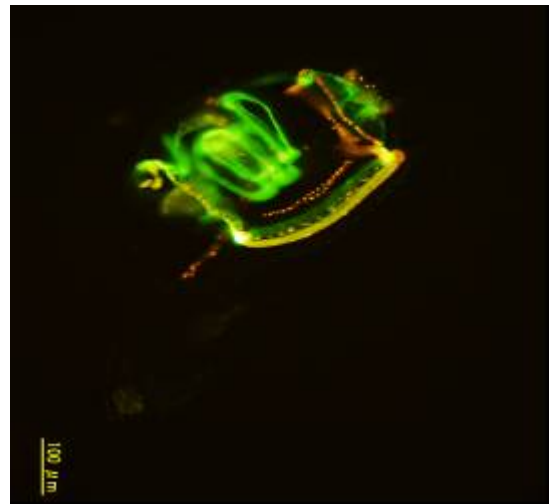
ショウジョウバエのトランスポゾン *Minos* をカタユウレイボヤのDNAに導入し、突然変異体を作製した。

——世界初のホヤ突然変異体！！

ホヤに導入するトランスポゾンは、必ずしもホヤ由来である必要はない。笹倉講師らは、他の生物で明らかにされていたトランスポゾンのうち、ホヤでも活性を示すトランスポゾンを用いて突然変異体の作製を目指した。しかし、他の生物で活性のあるトランスポゾンが、ホヤにおいても必ず活性を示すとは限らない。そのため、他の生物で活性のあるトランスポゾンの中から、ホヤでも活性があるトランスポゾンを見つけ出さなくてはならなかった。この作業は困難が予想された。しかし、偶然にもキイロショウジョウバエの *Tc1/mariner super family* トランスポゾン *Minos* が、カタユウレイボヤでも活性を持つことをすぐに突き止めたため、予想以上に早く世界初の「トランスジェニック・カタユウレイボヤ」と「ホヤ突然変異体」の作製に成功することができた。



写真(左) トランスジェニックホヤ(幼生期)の表皮で GFP が発現している。



写真(右) 変態後のトランスジェニックホヤ。鰓などで GFP、内柱などで RFP が発現している。

——世界初のホヤ突然変異体が、セルロース突然変異体 (*swimming juvenile*) だった。

作製した世界初のホヤ突然変異体が、何の突然変異体だったか。実は、セルロースを合成できない突然変異体 (*swimming juvenile*) であつた。これも極めて偶然のことだったというから驚きだ。

セルロースは、基本的に植物・バクテリア・キノコ類などしか持っていない多糖類の生体構成物質である。そのため、動物で自らセルロースを合成し、利用しているものはあまり知られていないのだが、ホヤはその数少ない動物のうちの一つなのだ。(ホヤの体を覆う「被のう」と呼ばれる膜の主要成分がセルロース。)

多くの研究者達は、ホヤが動物としては異例にセルロースを合成することに興味を持ち、かねてからホヤのセルロース合成酵素の機能について研究したいと考えてきた。だが、突然変異体の作製方法が確立されていなかったために、そうした研究ができずにいた。笹倉講師も突然変異体の作製方法を自ら開発する以前から、できることなら将来的にセルロース合成酵素の遺伝子を破壊した突然変異体を作製したいと考えていたそう。結果的に、笹倉講師はホヤのセルロース突然変異体の作製に誰よりも早く成功したわけだが、突然変異体の作製方法を確立した当初は、狙ったところにトランスポゾンを挿入できるほどの技術はなく、作製した第一号の *Minos* トランスポゾン挿入変異体が、まさにセルロース合成酵素遺伝子を破壊した突然変異体であったことは単なる偶然だったのだという。

世界初の *Minos* トランスポゾン挿入変異体が、実際にセルロース突然変異体であることを突き止める以前、笹倉講師はセルロース合成酵素遺伝子が破壊された突然変異体であれば、「被のう」は消失していると推測していた。しかし、実際に観察される突然変異体と思いきホヤには「被のう」が存在していた。通常であれば、この段階でセルロース突然変異体の可能性がなくなったと考えてしまうところだが、笹倉講師は「被のう」が通常の固さでないことに気づき、「被のう」に含まれるセルロース量が突然変異体では激減していることを突き止めた。「やっぱり変だな」と観察を続けたことが、セルロース突然変異体の発見に繋がり、さらには今回の受賞にまで繋がったのだ。

——ホヤで突然変異体の作製ができるようになり、どういう研究が可能になりましたか。

簡単に説明すると2つあります。ひとつはGFPなどで各組織を構成する細胞をラベルできるようになったため、今までは見ることができなかったレベルでホヤを観察できることです。そのことを利用して、現在はホヤ幼生の持っている神経ネットワークの全体像を、細胞レベルで解明しようとしています。2つ目は初期発生以外の時期における遺伝子機能を解明できるようになったことです。特にホヤが成体になったときの研究もできるようになりました。成体のホヤがどういう遺伝子の機能で作られるのかを明らかにできるようになったので、卵や精子など生殖細胞の形成メカニズムを現在は特に興味を持って研究しています。

——今後の研究展望について教えてください。

今はホヤの遺伝子機能を調べたいとも思っていますが、それと同時にホヤのトランスポゾン技術の向上にも貢献したいと考えています。世界で初めて、トランスポゾンを利用した突然変異体の作製方法を開発した者として、突然変異体の作製効率を高める技術の開発に力を入れて取り組んでいきたいです。

——突然変異体の作製技術向上のために、現在どのような研究をされていますか。

*Minos*の活性もかなり高いとは思いますが、正直なところ、まだ*Minos*では満足していないんです。*Minos*より活性の強いトランスポゾンを見つけたいと、いろいろな生物のトランスポゾンはずっとトライしています。なかなか上手くいかないですけどね。

不思議なことです。昆虫から哺乳類まで活性のあるトランスポゾンが、なぜかホヤでは活性を示さないことが、非常に多く見られます。これは、突然変異体の作製方法を研究していたからこそ、逆に分かったことです。いろんな生物で活性があるのに、ホヤでは活性がないトランスポゾンというのは、とても不思議です。ホヤで動かないトランスポゾンが、何で動かないのか、その理由が分かれば、どんな生物でも活性を示すようなスーパートランスポゾンの発見に繋がるかもしれないですね。これは、僕の大きな野望です(笑)。チャンスがあれば、ホヤで動かないトランスポゾンを動かしてみたいですね。

——研究の面白いところや醍醐味は何だと感じますか。

自分で考えたアイデアを実験で検証し確かめることができる、これが研究の一番面白いところです。しかも、相手が生物なので、自分のアイデア力を試しながら、新しい真理を導きだすことができるんですよ。自分の考えたアイデアさえ合っていれば、真理を反映しているから、ばっちり決まる。そういう時って、本当に気持ちいいし、快感です。考えて、それを検証できるところが、研究という職業がクリエイティブと言われる所以だと僕は思います。

——ホヤの研究をしていて感動したことは何でしょうか。

そうですね、本当に感動したのなら三回あります。まず一つは、ホヤでトランスポゾン活性の確認が初めて上手くいったとき。どうやら*Minos*で活性がありそうだなと電気泳動のパターンを見て分かったときは背筋がゾクッときました。二つ目は、トランスポゾンのラベリングをGFP(蛍光タンパク質)でしたのですが、実際にスクリーニングをして、緑色に発現したホヤを初めて見たときは感動しましたね。そして、三つ目は、突然変異体の原因遺伝子をセルロース合成酵素遺伝子だと同定したときです。何にしても、初めてのデータを見たときは感動しますね。

——受賞の感想を聞かせてください。

正直なところ、嬉しいというより驚きました。周りの人が祝福してくれることで、じわじわとよかったと思うようになりました。下田臨海実験センターの宣伝にも少しはなったんじゃないかなと思いますし、センターのスタッフに研究成果を出してお礼ができたことが何よりも嬉しかったですね。