

平成 27 年度ナショナルバイオリソースプロジェクト 成果報告書（公開）

補助事業 代表機関管理者 （所属機関・氏名）	国立大学法人広島大学 両生類研究センター 特任教授 柏木昭彦
補助事業課題名	ネッタイツメガエルの近交化・標準系統の樹立・提供

1. 補助事業の目的

ネッタイツメガエルにはヒト疾患関連遺伝子（がん、アルツハイマー病、自閉症、急性骨髄性白血病、糖尿病、うつ病など）の 79%がオルソログとして入っていることから、ヒトの健康増進・病気の研究における主要なモデル生物になるものと大きな期待が寄せられている。この動物種がサイエンスコミュニティに登場したのはごく最近のことで、実験動物としてはまだ開発途上の段階にある。広島大学両生類研究センター（平成 28 年 10 月 1 日から名称変更）では高品質で汎用性に富んだネッタイツメガエルを育成し、できるだけ多くの研究者に提供し生物医学研究の発展に貢献するのが目的である。

2. 補助事業の概要

以下の目標を掲げて事業を推進する。

- (1) 近交系作出・標準系統確立：①兄妹交配を継続して実施しさらなる近交化を進める。② 2 倍性雌性発生法による短期間でのクローン系統の作出を目指す。③凍結による配偶子の長期保存に着手。
- (2) 供給体制の改善：平成 25 年度に運搬システムの改善に成功し通年輸送体制が確立。今後はニーズに応じ、新運搬システムの可能性を検討していく。
- (3) ユーザー支援：①非生体リソースの収集、塩基配列解析・in situ ハイブリダイゼーション・CR 解析による品質チェック、および提供。②Web フォーラムによる情報提供と技術支援を継続する。
- (4) 講習会・シンポジウムなど：①飼育・実験技術講習会を実施。②希望者には不定期に個別指導も行っている。③広報活動に関しては、日本分子生物学会でのリソース展示、日本動物学会での「NBRP-ネッタイツメガエル」関連シンポジウムを開催、そして国際シンポジウム開催（NBRP-ネッタイツメガエル、メダカ、ゼブラフィッシュ、カタユウレイボヤ共同）。
- (5) 国際連携：テレビ電話によるリソース拠点会議。英国リソースセンターの Strategic Board Meeting からの招聘に応じ、国際リソースの整備に参加。Xenbase の *Xenopus* Gene Nomenclature Committee に参画。米国ウッズホールで開催の国際ツメガエル研究室主宰者リソース会議に参加。

3. 補助事業の成果（平成 27 年度）

平成 24～27 の 3 年間で本事業は著しく整備され発展した。本リソースの品質は世界最高水準に到達しているが、ユーザー数が増えないのが残念。

1) リソースの収集

広島大学両生類研究センター(ARC)ではNigerian A (NA)や Nigerian H (NH)、Ivory Coast (IC)、Golden、Asashimaの基準集団に由来する雌性発生2倍体、3倍体、遺伝子組換え体等を合わせて125系統を収集した。昨年度よりも20系統も増加。兄妹交配を継続した結果、① NAは最長世代数15、系統数7、② NHは最長世代数10、系統数36、③ ICは最長世代数4、系統数18、④ Goldenは最長世代数8、系統数33。これらのうち、NAを除く3基準集団のカエルの繁殖力は旺盛である。多型性に富む60種類のマイクロサテライトマーカーを用いて、NA13世代、NH8世代、IC2世代、Golden5世代のネットイツメガエルと米英の他の研究所のものとの間の近交度レベルや遺伝的関係を調べたところ、ARCの近交系は兄妹交配の度毎にヘテロ接合度が着実に減少していることや、特にNAとNHはほぼクローンになっていることなどが明らかになった(Igawa et al., 2015)。ARCではアウトブリードからインブリード・クローンに至るまでの系統を揃えている。Golden系統にCRISPR/Cas9システムを使うと、F0世代で迅速かつ高効率で遺伝子破壊が起きる(Shigeta et al.) ことがわかり、その成果はまもなく公表される。さらにMALDI-MSI解析によるネットイツメガエルオタマジャクシにおけるメタボロミック分子マーカーの同定・可視化についても研究中である(Mori et al.)。ゲノム編集やトランスジェニックのツールによって作製された遺伝子組換えガエルの寄託および提供も始めた。

2) リソースの保存

カエルおよびオタマジャクシを合わせて総数 9,786 匹を保存、今期の目標値を大幅に上回っている。一方で飼育に要する莫大な労力と時間が緊急の課題となって浮上してきた。それを回避する最良の方策が配偶子冷凍保存である。メダカ精子保存の専門家、成瀬 清・笹土隆雄両博士との共同研究によってネットイツメガエル精子の長期冷凍保存に成功している。

3) リソースの提供

提供件数150、提供匹数7,460で、今期目標数をはるかに上回った。提供先は大学・研究所が96 %と圧倒的に多く、残りは教育関連機関。提供したネットイツメガエルは、発生・遺伝(50%)、生理(48%)、生態・環境(1%)、進化(1%)の研究材料として使われた。