



兵庫県立大学附属高等学校

岡本光平, 中川英恵, 村田千明 (顧問: 岩本英男)

## カタユウレイボヤの発生に関する研究

本研究は、平成 18 (2006) 年度日本農芸化学会大会 (開催地 京都) での「ジュニア農芸化学会」において最優秀ポスター賞に選ばれた。脊椎動物と同じ脊索動物門に属するホヤの卵のモザイク発生の機構と卵の凍結保存に関する研究内容であり、哺乳類の生殖細胞の凍結保存技術とも関連していることから大学や企業の研究者の注目を集めた。

**本研究の背景、実験方法および結果** (講演要旨集を部分的に改変転載)

**【導入】** ホヤは、脊椎動物と同じ脊索動物門に属する海産動物である。中でもカタユウレイボヤは、日本近海はもとより、世界中の海の岩陰や岸壁などに固着して生活している。比較的簡単に採取することができる上に、18°C の環境では受精から 18 時間でオタマジャクシ型幼生へと発生が進み、さらに 10 時間で固着し成体となる (図 1)。単純で早い発生は、実験を行なう上で有用である。さらに、2002 年にはドラフトゲノム配列が決定された。カタユウレイボヤは、ゲノムサイズが 160 Mbp でヒトの約 1/20 と小さい。また、約 2,500 個ほどの細胞からなるオタマジャクシ型幼生は、脳と背側に神経索をも

つという脊椎動物の基本的な体制を備えている。これらのことから、カタユウレイボヤは脊椎動物の発生メカニズムを探る単純なモデル動物として有用である。

**【実験 I】** ホヤの発生初期の胚、特に 2 細胞期胚で一方の割球を物理的手法によって分離させ、それぞれの割球から完全な幼生が得られるか検証した (図 2)。一般に、ホヤ類は、著しいモザイク的発生を行なうといわれているが、脊椎動物に近い動物がどれだけの調節能力をもっているのかを割球分離実験を通して検証した。

**【実験 II】** カタユウレイボヤの卵や精子の凍結保存技術の開発にも取り組んだ。カタユウレイボヤは、18°C 程度が良い環境とされている。そのため、夏や冬の発生実験は困難である。そこで、卵や精子を凍結保存しておき、使いたいときに使いたい量だけを解凍し、発生させることができれば、カタユウレイボヤを用いた実験がより手軽に、そして、さまざまな環境で行なえるはずである。カタユウレイボヤは、幼生期に重力や光の明暗を感じた遊泳行動をすることが知られている。そうした外界からの刺激に応答した行動学的研究が、宇宙ステーションの



図 1 ■ ホヤの成体と幼生

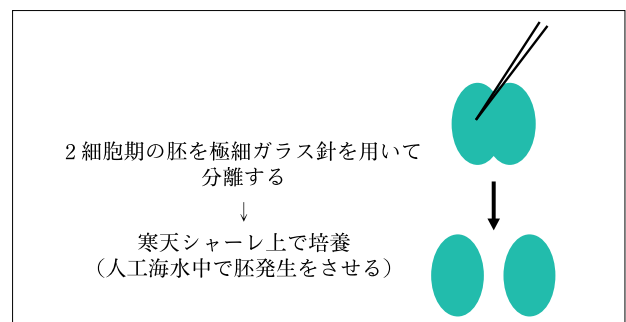


図 2 ■ 割球分離法

表 1 ■ 発生率

実験での受精パターン	発生率
(1) 卵-精子	>80%
(2) 卵-凍結精子	>90%
(3) 凍結卵-精子	0%
(4) 凍結卵-凍結精子	0%

日本の実験モジュール『きぼう』で行なわれようとしている。こうした研究においても、この技術開発は必要な条件である。

**【結果】** 実験 I (割球分離実験) で、発生初期胚、特に 2 細胞期胚で一方の割球を分離させ、それぞれの割球から幼生が得られるか検証したが、いずれも発生にいたらなかった。現在、さらに検証を重ねている。実験 II (凍結保存技術の開発) では、精子の凍結保存技術の開発に成功し、受精および発生に成功した (表 1, 図 3)。さらに優れた保存条件の確立を目指している。

**【協力・参考文献】** 兵庫県立大学大学院生命理学研究科生命科学専攻細胞機能解析学部門生体情報学 I 分野。

N. Mitsuaki & T. Toshikazu: *J. Exp. Zool.*, **227**, 155 (1983) など

## 本研究の意義と展望

カタユウレイボヤ (*Ciona intestinalis*) は、発生学研究に古くから用いられてきた動物であり、多くの知見が蓄積されている。ホヤの属する脊索動物門には、ヒトを含む脊椎動物亜門が含まれているため、ホヤの発生を研究することで、脊椎動物の発生と進化につながる手掛かりが得られると期待されている。ホヤの卵は「モザイク卵」として知られ、受精後早い時期に割球の予定運命が決定される。2 細胞期胚の割球を分離させ、それぞれの割球 (図 2) からの幼生形成 (実験 I) はうまくいかなかったようであるが、この試みは、ホヤ初期胚における細胞の運命決定の機構を理解する上で重要である。今後の進展に期待したい。

一方、精子の凍結保存法の研究 (実験 II) は、トランスジェニック動物などの保存や維持に重要である。本研究では、ホヤ精子を液体窒素中に保存する簡単な方法を見いだした。凍結保存精子は、解凍後も運動性を維持して

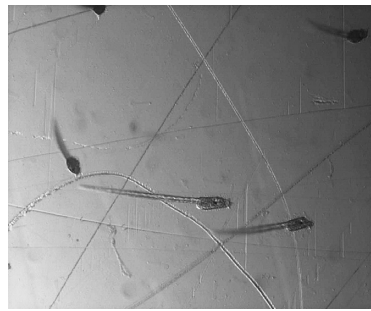


図 3 ■ 凍結保存精子から発生した幼生 (図表は、ポスターより転載)



写真 1 ■ 最優秀ポスター賞の前で (中央: 大東 肇大会実行委員長)

おり (図 3)、未凍結卵との受精で 90% 以上の高い発生率を示した (表 1, 図 3)。しかし、凍結保存卵を使用した場合には、凍結精子と未凍結精子いずれの場合も発生は認められなかった。

卵や精子の凍結保存には、多くの因子が影響する。卵や精子の凍結保存に保護剤として最も一般的に用いられているジメチルスルホキシドやグリセロールなど、精子を希釈する保存液の組成 (希釈液や凍害防御剤の種類と濃度) や冷却・解凍速度などの影響を詳細に検討することによって、ホヤ卵や精子の優れた凍結保存法が確立されることを期待したい。

宇宙ステーションでの実験にこの精子凍結保存法が採用されれば、最優秀ポスター賞を受賞した学生達 (写真 1) にも大きな励みになるであろう。

(文責「化学と生物」編集委員会)