



魚類の合成生物学的利用法

アヴシャル-坂 恵利子

海に囲まれた島国・日本。その日本の食生活に深く根づいてきたのは魚である。さらに、魚食のみならず観賞魚を楽しむ文化の歴史も古く、室町時代に中国からキンギョが渡来し、江戸時代後期には養殖が盛んになり、一般の町民たちにも飼育されるようになった。読者の中には熱帯魚などの観賞魚を飼っているという方もいるのではないだろうか。筆者もその一人であり、魚は一般人にとってとても身近な存在である。翻って、アカデミックの世界でも魚類を用いた研究は盛んに行われており、魚類の繁殖・生理学・病理学・生態学・分類学などの分野において沢山の研究成果が報告されている。さらに近年では、メダカやゼブラフィッシュといった魚類を脊椎動物モデルとして扱う研究も行われるようになり、魚類の活躍する場は増えている。余談ではあるが、今上天皇陛下はハゼの研究で、秋篠宮殿下はナマズの研究で有名である。

ゼブラフィッシュ (*Danio rerio*) は、インド原産のコイ目コイ科の小型魚類である。飼育・繁殖が簡単で価格も安いため、観賞魚としても愛されている熱帯魚である。1980年代、オレゴン大学のGeorge Streisingerによって、ゼブラフィッシュの発生生物学における本格的モデル生物としての歴史が始まった¹⁾。現在では、世界中の多くの研究室にて脊椎動物モデルとして用いられている。母体外で受精・発生し、胚が透明で観察がしやすい、多産で世代交代が3か月という短さで、次世代への影響評価の研究にも有用性が高い。さらに、受精卵や胚に、DNA・RNAなどのサンプルの注入が簡便で、遺伝子ノックアウトなどの組換え体の作出も容易に行える。2013年4月には全ゲノム配列の解読が完了し、26,000の遺伝子のうちヒトと共通の遺伝子が70%保存されており、それらは疾患に関わるヒト遺伝子の約80%に相当することが明らかとなった²⁾。30年以上にわたり世界中で行われてきた脊椎動物モデルとしての研究データの蓄積に加え、全ゲノム配列が明けたことにより、疾患モデルとしてのゼブラフィッシュの有用性がますます高まっている。

ゼブラフィッシュの利点のうち、発生が速く(細胞分裂が速い)、遺伝子操作が簡便で組換え体が作りやすいという点に着目し、ゼブラフィッシュ胚を用いたタンパク質発現系が開発されている³⁾。標的タンパク質をゼブラフィッシュ胚の全身に発現させるベクターと遺伝子導入の有無を確認するためのレポータータンパク質(EGFP)を発現させるベクターとをタンデムに結合したプラスミドベクターをゼブラフィッシュの受精卵へ微量注入し、28°Cの淡水(つまりカルキ抜きをした水道水)にて1~2日間培養することでEGFP発現胚では標的タンパク質も発現するという至って単純なシステムである。

大腸菌タンパク質発現系は、目的タンパク質を短時間

で大量に得られることや操作が簡便で安価であることからもっともよく用いられているが、ジスルフィド結合を有する分泌性タンパク質や膜タンパク質の発現では収量が低かったり、そもそも発現させられないといったことが起こる。また、翻訳後修飾が行われないため、研究目的によっては大腸菌の系は適さない。大腸菌で発現が困難であるタンパク質の発現には、酵母や昆虫細胞、哺乳類細胞の発現系が用いられるが、その発現量は目的タンパク質に大きく依存し、大腸菌に比べると生産量が低く、高コストである。無細胞発現系は、細胞毒性を有するようなタンパク質発現に用いられるが、高コストである上に、還元的環境で合成反応を行うため、ジスルフィド結合を有するタンパク質生産には不向きという欠点がある。一方、ゼブラフィッシュ胚を用いたタンパク質発現系は、比較的安価に既存の系では発現が困難であったGPCRなどの膜タンパク質の発現が可能であると言われており⁴⁾、今後の研究動向が注目される。

また、魚類は脊椎動物共通の獲得免疫系を有しており、抗体生産の宿主としての研究開発が進められている。養殖の現場では魚の感染症対策が求められているため、水産増養殖における免疫学的防疫技術の研究開発は昔から行われてきた⁵⁾。つまり、これまで魚病に関連するウイルスや細菌に対するワクチンの開発などが魚類を用いた免疫研究の主流であった。三重大学の田丸らは、この魚類の獲得免疫系を利用し、ゼブラフィッシュやキンギョを用いて抗体生産システムの開発を行っている⁶⁾。標的タンパク質に対する抗体の生産は、ウサギやマウスといった哺乳動物を用いるのが一般的である。しかし、タンパク質によっては抗体を産生させることができない場合があり、免疫に用いるペプチドの設計やアジュバント、免疫ホストなどを変えて抗体を作る試みが行われている。その中で、哺乳動物から進化的に離れている魚類をホストとして用いることは、抗体生産のブレークスルーになるかもしれない。

組換えタンパク質や抗体生産など、有用物質を生産させるホストとしての魚類の利用法をかいつまんで紹介したが、これらの技術が我が国で衰退する一次産業の発展に寄与することを期待し、本稿を終える。

- 1) Grunwald, D. J. et al.: *Nat. Rev. Genet.*, **3**, 717 (2002).
- 2) Howe, K. et al.: *Nature*, **496**, 498 (2013).
- 3) Avsar-Ban, E. et al.: *J. Biosci. Bioeng.*, **114**, 237 (2012).
- 4) 額田夏生ら:日本生化学会大会講演要旨集, 3P-833 (2012).
- 5) Nakajima, K. et al.: *Dis. Aquat. Organ.*, **36**, 73 (1999).
- 6) 石川文啓ら:バイオ医薬品製造の効率化と生産基材の開発, シーエムシー出版 (2012).