

平成24年2月22日

－ 研究科附属教育研究施設紹介 －

世界トップレベルでオンリーワンの両生類研究・リソースセンター

理学研究科附属両生類研究施設

今回から、学部・研究科の附属教育研究施設の現在・今後予定している「取り組み」などを紹介する「附属教育研究施設紹介」を発表していきます。

両生類研究施設は、実験動物として様々な利点を有する両生類を研究材料とし、生命科学上の重要な問題を解明するため、1967年に当時の学長川村智治郎教授の業績（学士院賞受賞）をもとに創設されました。日本で、両生類を名前に冠した専門の研究・教育機関は他に例を見ません。特に、陸上性のカエルを安定して飼育繁殖できる施設は世界的にも珍しく、この特徴を活かした研究の成果が注目されています。最近では、透明ガエル「スケルピオン」の作出、日本一きれいな「イシカワガエル」繁殖成功、天然記念物「イボイモリ」繁殖成功、新種「アマミイシカワガエル」の記載などが、新聞・テレビなどで報道されています。また、遺伝子破壊「まだらノックアウトガエル」、遺伝子導入「光るカエル」などが作られています。

**1. 各研究部門では、両生類を使って様々な研究を展開**

**【発生遺伝学研究部門】**

オタマジャクシからカエルへの変態のしくみの研究、性転換の仕組みや環境化学物質の影響に関する研究などを行なっています。

**【分化制御機構研究部門】**

卵形成と卵成熟の分子機構、性決定や性分化あるいは体色を決定する機構について、分子細胞生物学的に研究しています。また、過重力や強磁場の影響、ノックアウトガエルを用いた甲状腺機能に対する化学物質の影響なども研究しています。

**【多様化機構研究部門】**

両生類のゲノムの多様化の過程や交雑実験に基づく種分化の過程を研究しています。また、人工繁殖による絶滅危惧種の保全や透明ガエルの作製を行っています。さらに初期発生および形態形成の多様化の機構を遺伝子レベルで解明しています。

**【生理生態学研究部門：客員部門】**上記の3研究部門と連携し共同研究をしています。

**2. 系統維持班は多種多様な両生類を研究リソースとして保存維持**

現在約50種、170系統、総数3万匹以上の野外系統および突然変異系統などを保存維持しています。研究活動としては、飼育管理システムの改良、飼料の安定供給、病気の原因究明と治療法の開発が挙げられます。これまでに確立された系統には、自然・人為的色彩突然変異系統、野外種育成系統（近交系）、人為倍数体系統、四肢形成異常系統、癌多発系統、核細胞質雑種系統、および遺伝子導入系統などがあります。

それ以外にも、日本や世界各地から1976年より30年余りかけて野外から採集した9科27属112種320集団12,600匹および実験的に作製された特殊系統100系統4,000匹のカエルが凍結保存され、遺伝子解析などに用いられています。

### 3. ナショナル・バイオリソース・プロジェクトの中核機関

両生類の中でも、アフリカ原産のネッタイツメガエルは、短期間に成熟し、数千個の卵を産み、両生類で唯一全ゲノムが解明されているため、遺伝学的研究のリソースとして、最も有用といわれています。両生類研究施設は、2002年より文部科学省のナショナル・バイオリソース・プロジェクトの中核機関の一つとして、ネッタイツメガエルの収集、保存、近交系の開発および研究者への提供を行っています。現在、ネッタイツメガエル5系統3,000匹、幼生5,000匹以上を系統維持しており、近交系も10世代まで維持しています。これらを、日本国内のみならず、世界の研究者へ供給出来る体制を整えています。米国のウッズホール、英国のポーツマスにあるツメガエルリソースセンターとともに、世界の3大ツメガエルセンター拠点形成を目指しています。

### 4. 先駆的両生類研究プロジェクト「両生類絶滅危惧種の保全と標的遺伝子破壊方法の開発」を展開（特別教育研究経費）

このプロジェクトは、「生命科学の基盤研究の発展」に寄与し、さらに、「両生類研究・リソースセンター」の構築を目指した事業です。具体的には、両生類研究施設での長年に亘る研究実績を踏まえ、①「国内外の両生類絶滅危惧種の遺伝的多様性の把握とそれに基づく効率的な保全方法の確立」、②「両生類実験動物の標的遺伝子破壊方法の開発」、③「多様な研究に応じた遺伝子組換え両生類の作製及び収集」などの先駆的両生類研究を戦略的に実施しています。

これまでに、絶滅危惧種かつ、天然記念物である両生類4種について、自然界での遺伝的多様性を解明しつつ、飼育下繁殖にも成功しています。特に、日本で最も美しいと言われるイシカワガエルについては、実験室で2代目までの繁殖にも成功しています。この研究を発展させることで、将来的には、両生類「ノアの方舟」を目指しています。

また、遺伝子破壊技術によって、ネッタイツメガエルの突然変異系統の作製を試みています。現在、黒い色素を作る遺伝子を破壊し、白黒まだら模様のカエルができています。このカエルを交配することで、実験上有用な、白いカエル（アルビノ）が誕生すると期待されます。

### 5. 広島大学総合博物館のサテライト館として一般公開

広島大学博物館のサテライト館として活動を始めました。現在、1階ロビーを一般公開し、最近の研究トピック、両生類標本の展示を進めています。特に、学術的に貴重な新種の基準標本、世界中のオオサンショウウオの標本、これまでに収集・作出された、人為単性発生カエル、核細胞質雑種、複二倍体、癌系統、海外野生種の標本などが展示されています。

#### 【お問い合わせ先】

広島大学大学院理学研究科附属両生類研究施設 落 恵子 TEL:082-424-7328
---

# 広島大学大学院理学研究科附属 両生類研究施設

## 目的

実験動物として独特の利点をもつ両生類を研究材料とし、生物学的諸研究を行い、生物学上の重要な問題を解明し、発生・遺伝・性分化・進化に関する未知の領域の開拓に貢献します。

## 沿革

両生類は実験動物として傑出した点をもちながら、両生類で遺伝に関係した大きな分野が発展しなかったのは、実験室での飼育が困難で、子孫を得ることができなかったためです。この飼育困難という障害を克服した理学部動物学教室の川村智治郎教授が在職中に挙げた業績（学士院賞受賞）を基礎にして、両生類研究施設は、昭和42(1967)年6月に創設された、他に類例のない施設です。

創設時の第1研究部門「発生遺伝学」は、定員が教授1、助教授1、助手2、その他職員2でしたが、昭和49(1974)年4月に系統維持班の附設が認められました。

昭和56(1981)年4月、第2研究部門「生理生態学」が増設され、客員部門として認められました。昭和59(1984)年4月、第3研究部門「進化生化学」が増設されました。平成元(1989)年4月、第4研究部門「形質発現機構」が新たに増設され、増員が認められました。平成2(1990)年11月末には、東広島の新キャンパスに、4つの研究部門の研究棟、飼育棟および野外飼育場が完成しました。新キャンパスへの移転は、平成3(1991)年2月から始まり、平成4(1992)年1月末に完了しました。

平成6(1994)年6月、10年時限が到来した進化生化学研究部門に代わり、種形成機構研究部門が新設され、増員が認められました。また、平成11(1999)年4月からは形質発現機構研究部門に代わり、分化制御機構研究部門が、平成16(2004)年4月からは種形成機構研究部門に代わり、多様化機構研究部門が固定部門として新設され、現在に至っています。

平成14(2002)年7月、ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)の中核機関(ネッタイツメガエル)として選定されて、現在も継続しています。

## 歴史

昭和	平成
四十二年六月 (一九六七年)	元年四月 (一九八九年)
四十九年四月 (一九七四年)	五十九年四月 (一九八四年)
	第二研究部門「生理生態学」が客員部門として増設
	第三研究部門「進化生化学」が増設
	第四研究部門「形質発現機構」が増設
	東広島市の新キャンパスに研究棟および飼育棟、野外飼育場が完成
	附属両生類研究施設の東広島キャンパスへの移転開始
	附属両生類研究施設の東広島キャンパスへの移転終了
六年六月 (一九九四年)	四年一月 (一九九二年)
「進化生化学」研究部門に代わり「種形成機構」研究部門が新設	
十一年四月 (一九九九年)	三年二月 (一九九一年)
「形質発現機構」研究部門に代わり「分化制御機構」研究部門が固定部門として新設	
十六年四月 (二〇〇四年)	
「種形成機構」研究部門に代わり「多様化機構」研究部門が固定部門として新設	

川村智治郎教授の業績を基礎にして、附属両生類研究施設が創設  
創設時の第1研究部門は「発生遺伝学研究部門」  
初代研究施設長は西岡みどり教授  
系統維持班が附設



附属両生類研究施設創始者  
第3代学長川村智治郎教授



附属両生類研究施設初代施設長  
西岡みどり教授

# 組織

Research units

## 両生類研究施設

### 発生遺伝学研究部門

- ・ 無尾両生類幼生の変態のしくみの解明
- ・ 環境化学物質の影響や内分泌器官の発生・分化・機能の解明
- ・ 両生類研究施設のいろいろなカエルの系統を保存・維持

### 分化制御機構研究部門

- ・ 性決定と性分化機構の解明
- ・ 色彩発現機構の解明
- ・ 卵成熟・卵形成の分子機構の解明
- ・ 両生類を用いた生活環境に対する過重力および強磁場の影響
- ・ ノックアウトガエルを用いた甲状腺機能に対する化学物質の影響

### 多様化機構研究部門

- ・ 両生類のゲノムの多様性の解明
- ・ 繁殖隔離機構にもとづく種の多様性の解明
- ・ 稀少種の遺伝的保全と遺伝的多様性の解明と透明ガエルの作製
- ・ 初期発生と形態形成の多様機構の分子的解明

### 生理生態学研究部門(客員部門)

### 系統維持班

両生類(カエル、イモリ、サンショウウオ)はヒトと同じ脊椎動物に属し、類似の体内構造を持ち、マウスと比べて、卵が大きいため扱いやすく、体外受精のために発生過程を簡単に観察できることから発生・器官形成の研究へ、また、再生力が著しいことから再生の研究へ使われています。受精後の卵割は細胞分裂の研究へ使われ、再生医療、癌研究等の生命科学に貢献しています。化学物質の影響評価のモデル生物であり、20年以上生存することからも長期影響や老化への影響も調べることが可能です。

学部・大学院教育

共同研究

## 広島大学

理学部・理学研究科、総合科学研究科、  
生物圏科学研究科、医歯薬学総合研究科、  
原爆放射能医学研究所など

## 国内外の大学・研究所

東京大学、京都大学、名古屋大学、九州大学、岡山大学、県立広島大学、北里大学、  
東邦大学、基礎生物学研究所、東京都医学総合研究所、産業技術総合研究所、  
バングラデシュ農業大学(バングラデシュ)、プラビジャヤ大学、アングラス  
大学(インドネシア)、キャンベラ大学、ラトロブ大学(オーストラリア)、  
ヘルシンキ大学(フィンランド)、成都生物学研究所(中国)など

## 期待される成果

- ① 世界各地で起きている両生類生物遺伝資源消失の防止
- ② 両生類の標的遺伝子破壊による生命科学基盤の発展
- ③ 遺伝子組換え両生類などの研究・リソースセンター

両生類研究の  
世界3大拠点  
の1つになる

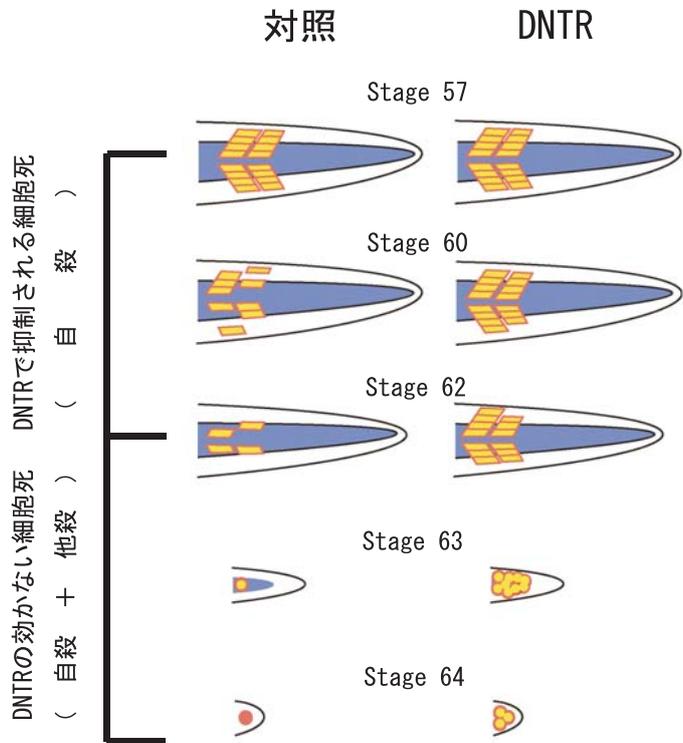
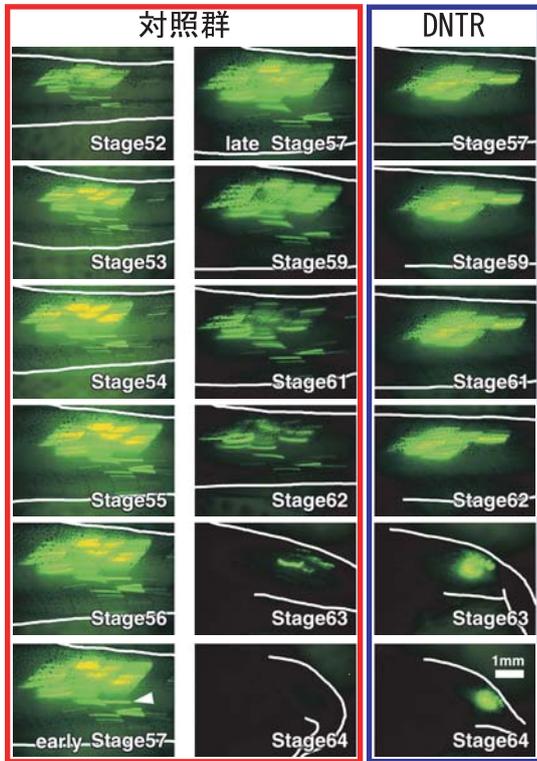
# 発生遺伝学研究部門

*Division of Embryology and Genetics*

現在、無尾両生類幼生の変態のしくみの解明について、また環境化学物質の影響や内分泌器官の発生・分化・機能について、古典的な発生学的手法、細胞工学的技術、分子生物学的手法などマクロからミクロまでの手法を駆使して研究しています。またこの部門が中心となって両生類研究施設のいろいろなカエルの系統を保存維持しています。

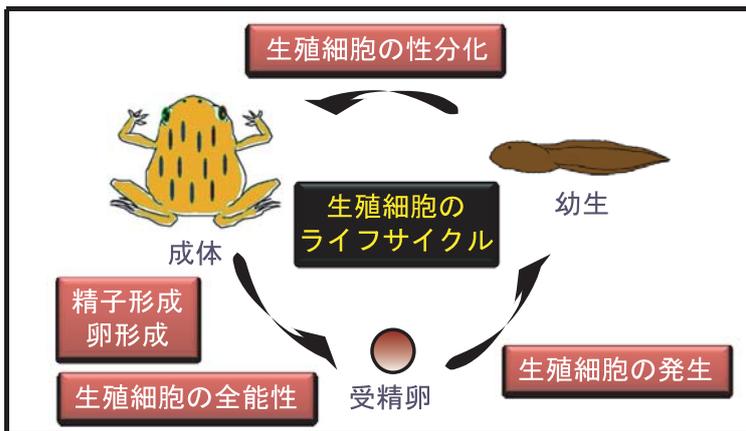
This Division has originally been founded to exploit a boundary field between genetics and embryology. We focus on the molecular mechanism of amphibian metamorphosis, the influences of environmental chemicals, and the differentiation, development and function of endocrine organs by making use of various techniques in experimental embryology, genetics, cell biology, molecular biology and gene engineering. In addition many amphibian strains are being maintained in this laboratory.

## 変態期の尾部筋細胞死の分子機構



甲状腺ホルモンシグナルを遮断して自殺的な細胞死のみを抑制するドミナントネガティブ甲状腺ホルモン受容体(DNTR)の発現により、Stage 57-62の筋細胞死は完全に、62-64は部分的に抑制されます。

## 生殖細胞の発生・分化・機能



# 分化制御機構研究部門

## Division of Differentiation Mechanism

分化制御機構研究部門では、卵形成と卵成熟、生殖線の分化あるいは体色を決定する機構について、分子細胞生物学的に研究しています。

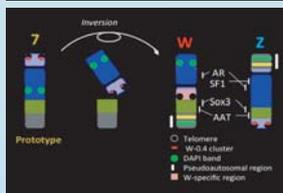
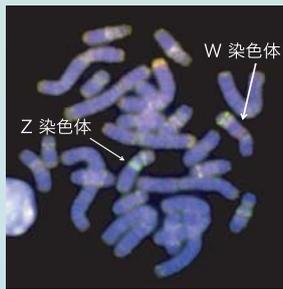
- 1) 性決定と性分化機構の解明
- 2) 色彩発現機構の解明
- 3) 卵成熟・卵形成の分子機構の解明
- 4) 両生類を用いた生活環に対する過重力および強磁場の影響
- 5) ノックアウトガエルを用いた甲状腺機能に対する化学物質の影響

The mechanism of differentiation during amphibian development is studied on cellular and molecular levels: the major subjects are (1) the mechanisms of sex determination and differentiation, (2) the mechanism of pigment cell differentiation, (3) the mechanism of oogenesis and oocyte maturation, (4) effects of hypergravity environments and strong static magnetic fields on amphibian life cycle, and (5) the use of knock-out frogs for investigating the possible effects of chemical substances on normal thyroid functioning.

### (1) 性染色体と性決定

生殖線の性を決める遺伝的しくみ

性染色体の進化

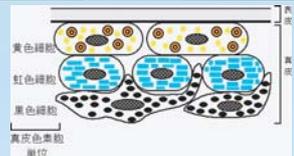


ツチガエルのZW型性染色体

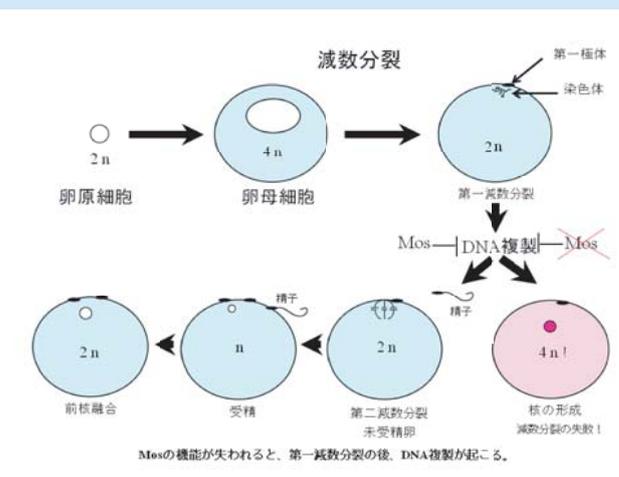


ツチガエル性決定機構の地域多様性

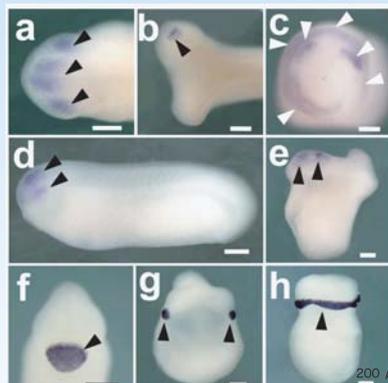
### (2) 色素細胞の分化と色彩発現



### (3) 減数分裂

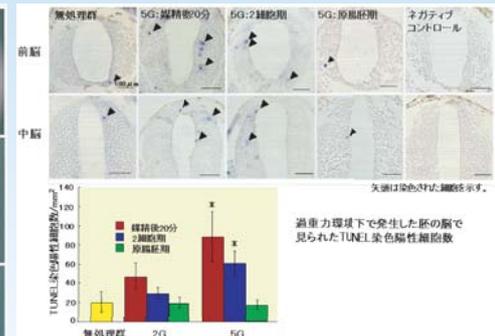


### (4) 過重力の影響



アフリカツメガエル胚におけるXotx2 (a-e)およびXag1 (f-h)発現に対する強磁場の影響

a, d, f 無処理胚。 b, c, e, g, h 奇形胚。



# 多様化機構研究部門

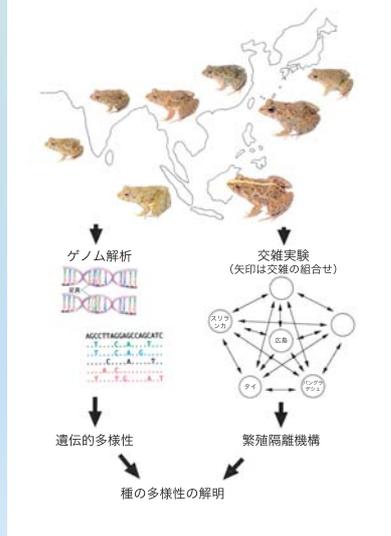
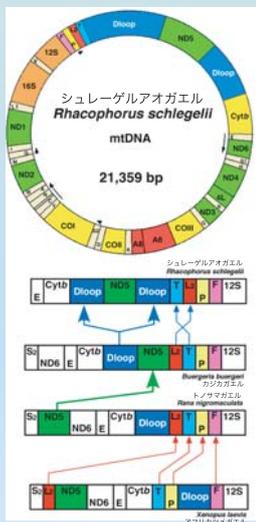
## Division of Diversification Mechanism

多様化機構研究部門では、両生類におけるゲノム構造の多様性の過程を最新の分子生物学的手法を駆使して解明すると共に、種が分化する要因を繁殖隔離機構の成立という観点から追求しています。また人工繁殖による絶滅危惧種の遺伝的保全を進めています。さらに初期発生および形態形成の多様化の機構を遺伝子レベルで解明しています。

- 1) 両生類のゲノムの多様性の解明
- 2) 繁殖隔離機構に基づく種の多様性の解明
- 3) 稀少種の遺伝的保全と遺伝的多様性の解明
- 4) 透明ガエルの作製
- 5) 初期発生と形態形成の多様機構の分子的解明

The Division of Diversification Mechanism engages in experimental research to reveal the process of diversity of genome structures during amphibian evolution, as well as to elucidate the process of speciation and the factors affecting the process and establish the concept of species. Genetic conservation of endangered species is also forwarded by artificial reproduction. The division is currently conducting the following four major research projects. 1) Comparisons of mitochondrial DNA and nuclear DNA to elucidate the genomic diversity of amphibians. 2) Species diversity and reproductive isolating mechanisms based on hybridization experiments. 3) Conservation of and genetic variation in endangered species. 4) Production of see-through frogs. 5) Molecular bases of early development and the formation of morphological diversity during animal evolution.

- 1) 両生類のゲノムの多様性  
ミトコンドリアゲノム構造の進化
- 2) 交雑実験に基づく種の多様性  
従来単一種のヌマガエルの種分化の実態の解明
- 3) 絶滅危惧種の人工繁殖による効率的な保全  
天然記念物「イシカワガエル」の人工繁殖と系統保存



### 4) 透明ガエルの作製



### 5) 初期発生と形態形成の多様機構の分子的解明

後期原腸胚

前期原腸胚

後期原腸胚の予定神経組織は、移植先（予定表皮組織）からの影響を受けずに自律的に神経へと分化する（緑色）。一方、初期原腸胚の予定神経組織は、移植先と同じ表皮へと分化することから、原腸胚期の間に予定神経組織の応答能力が失われることが分かる。

# 系統維持班

## Subdivision of Breeding and Maintenance of Frogs

昭和 49 (1974) 年 4 月に両生類研究施設に系統維持班が附設されました。

現在、准教授 1、助教 2、技術員 1、契約技能員 2、契約用務員 2 で両生類 50 種 170 系統 30,000 匹以上の野外系統及び突然変異系統等の特殊系統を保存しています。

研究活動として、国内種の系統開発、飼育管理システムの改良、飼料の安定供給、病気の原因究明と治療法の開発が挙げられます。これまでに確立されている系統には、自然・人為色彩突然変異系統、野外種育成系統（近交系）、四肢形成異常系統、癌多発系統、遺伝子組換え系統、遺伝子連鎖群解析系統、人工新種系統、核細胞質雑種系統および人為倍数体系統などがあります。

また、日本や世界各地から 1976 年より約 30 年かけて野外収集した 9 科 27 属 112 種 320 集団 12,600 匹及び実験的に作製された特殊系統 100 系統 4,000 匹のカエルがマイナス 80 度に凍結保存されています。



(写真撮影: 檜垣忠俊)

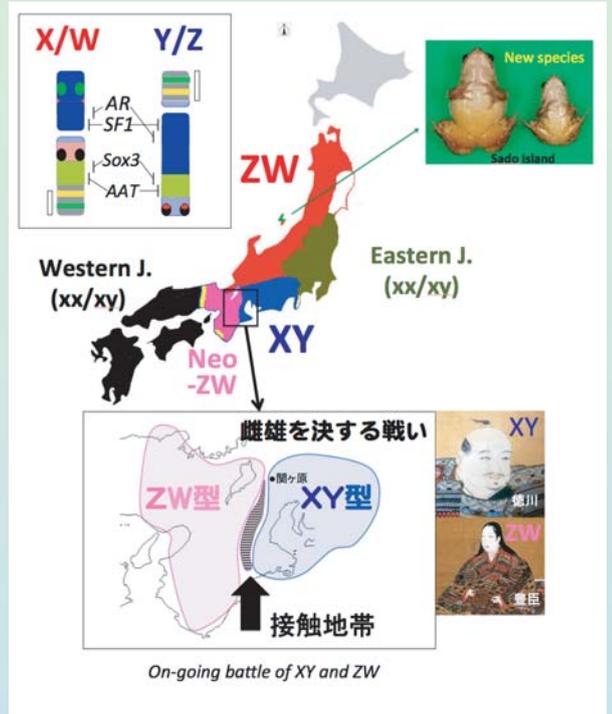
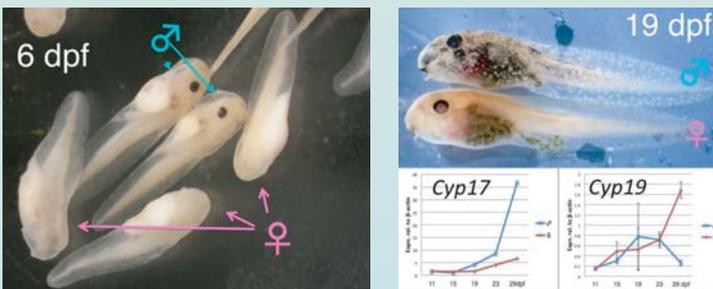
# 最新研究トピック

Recent research topics

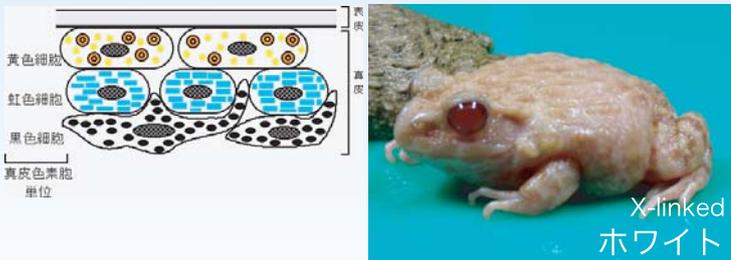
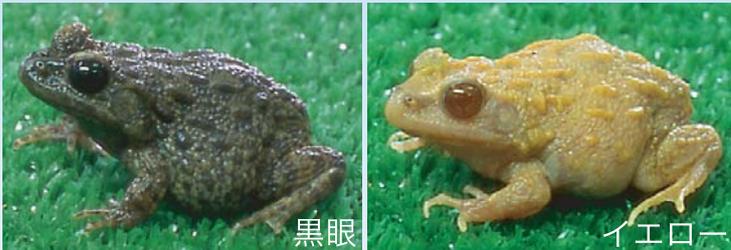
## 性決定機構の進化

カエルの性を色で見分ける

XY型からZW型への変換



## カエルの色変わり



# 最新研究トピック

Recent research topics

両生類研究施設では、沖縄県と鹿児島県の天然記念物であり、環境省レッドリストで絶滅危惧Ⅱ類に指定されている生きた化石「イボイモリ」と、やはり天然記念物かつ絶滅危惧ⅠB類に指定されている、日本で最もきれいなカエルと言われる「イシカワガエル」について、実験室での飼育下繁殖を試みています。さらに、人工交配技術により、色変わりで透けたニホンアカガエルを用いて、透明ガエル「スケルピオン」の量産化に成功しています。

## 生きた化石「イボイモリ」



イボイモリ（徳之島産）

イボイモリ *Echinotriton andersoni* は両生綱・有尾目・イモリ科・イボイモリ属に分類され、奄美大島、請島、徳之島、沖縄島、渡嘉敷島に分布しています。全長 130 ~ 200mm で、平地から山地にかけての森林地帯とそれに接する畑などの石や倒木、落ち葉の下などで生活しています。森林伐採・外来種による食害・乱獲などにより個体数が激減しており、環境省レッドリストで絶滅危惧Ⅱ類に、沖縄県と鹿児島県で天然記念物に指定されています。私たちは、実験室で絶滅危惧種イボイモリの保全手段の一つとして有効である飼育下繁殖を試みています。

正常発生（幼生から孵化まで）



実験室で生まれたイボイモリ



現在、実験室で生まれた幼体約 80 個体が順調に発育

- ・ 実験室でも条件さえそろえば産卵可能。
- ・ 産卵場所には浸水しない、乾燥しにくいなどのポイントがあります。

## 日本一美しい「イシカワガエル」



新種「アマミイシカワガエル」（奄美大島産）

イシカワガエルは、日本で最も美しいカエルと言われ、沖縄島北部および奄美大島の森林地帯のみに生息する、体長 10cm ほどの比較的大型のカエルです。近年、環境破壊やペットトレード目的の乱獲などが原因で、絶滅が危惧されており、沖縄県および鹿児島県では県の天然記念物に、環境省レッドデータブックでは絶滅危惧ⅠB類に指定されています。当施設では、保全手段の一つとして有効であると思われる人工繁殖を試みています。また、最近の研究から、奄美大島産は沖縄産とは遺伝的にも形態的にも異なる別種であることが明らかになり、新種「アマミイシカワガエル」と命名されました。

初期発生の様子



人工繁殖で生まれたイシカワガエル



- ・ イシカワガエルの人工繁殖に成功し、千個体分の子孫が維持されています。
- ・ 人工繁殖個体間の繁殖も成功しました。この飼育および繁殖技術は、イシカワガエルの種の保全に有用です。

## 透明ガエル「スケルピオン」



透明ガエル「スケルピオン」

カエルは幼生期も成体期も色素細胞が覆われているため、外部から内臓を観察することは容易ではありません。今回、系統保存している2種類のカエル色彩突然変異系統（ブラックアイとグレーアイ）を交配して、色素細胞を欠損しているカエルの系統を作製し、透明ガエル「スケルピオン」と名付けました。

「スケルピオン」は体壁が透明で、幼生期から成体期にいたるすべての段階で、内臓を外から透視できます。このような、内臓透視ができるカエルはきわめて稀で、新たな実験動物として利用価値が高いと考えられます。

ニホンアカガエルの色彩突然変異とスケルピオン



スケルピオンの幼生



排卵したスケルピオンの雌（排卵の様子が確認できる）



量産化されたスケルピオン