

ネマトステラの配偶子放出と受精の誘起方法の検討

*出口 竜作・**吉川 洋史・***阿部 香織・****竹田 典代

Methods for induction of spawning and fertilization in the sea anemone *Nematostella vectensis*

DEGUCHI Ryusaku, KIKKAWA Hirobumi, ABE Kaori and TAKEDA Noriyo

要 旨

イソギンチャクの1種であるネマトステラ (*Nematostella vectensis*) は、原始的な刺胞動物における「モデル生物」としてゲノムが解読されるなど、世界的に注目を浴びている動物である。ネマトステラの配偶子放出と受精の誘起方法については、すでに報告がなされているが、本研究ではそれらをさらに発展させ、卵や精子を用いた実験をより効率的に行える状況を確認することを目指した。性成熟した個体を、温度/光/餌の条件を周期的に変化させて飼育したところ、7日もしくは8日に1回の頻度で、25℃の明状態への移行日に放卵・放精が起こった。また、25℃の明状態への移行日を10日後や2週間後まで延長させても、高い確率で放卵・放精を誘起することができた。さらに、25℃の明状態に移して配偶子放出の刺激をかけた後、8時間後に20℃の暗状態に戻すことにより、その後の放卵・放精のタイミングを同調させることも成功した。次に、放卵・放精によって得られた卵と精子を保存する方法について検討したところ、-1℃の低温下で保存することにより、卵では7時間、精子では30時間後まで、高い受精能を保持させられることが分かった。さらに、オスにおいては、精巣を含む隔膜を単離し、その断片をサイクリック AMPのアナログである8-Br-cAMPで処理することにより、温度/光刺激なしに、短時間のうちに受精可能な精子を放出させることも可能になった。また、隔膜を得るために切断した個体は高い確率で再生し、受精卵から育てた個体の半分程度の期間で再び放精を行うようになった。以上は、ネマトステラの受精や発生を対象とした研究を行う上で、いずれも有用な方法であると考えられる。

Key words : 刺胞動物 Cnidaria
イソギンチャク Sea anemone
放卵・放精 Spawning
卵 Egg
精子 Sperm
受精 Fertilization

1 はじめに

イソギンチャクは、サンゴと同じく、刺胞動物門花

虫綱に属している (白山, 2000)。一般に、刺胞動物の他の綱 (ヒドロ虫綱、鉢虫綱、箱虫綱) には、ポリプ型とクラゲ型の2つの世代を繰り返す種が多いが、

* 宮城教育大学理科教育講座
** 宮城教育大学大学院理科教育専修
*** 宮城教育大学大学院理科教育専修 (現 仙台市立六郷中学校)
**** 東京工業大学大学院生命理工学研究科

花虫類はポリプ型のみを持つ(内田・山田, 1983)。刺胞動物は、多細胞動物の進化過程において、他の高等動物と早期に分岐した原始的なグループであるが、その中でもポリプ型のみを有する花虫類が祖先型であるとされている(Houlston et al., 2010)。

イソギンチャクは、縦分裂、横分裂、出芽、足盤裂片法など、多様な方式で無性生殖を行うことが知られている(内田・楚山, 2001)。また、一部の種を除き雌雄異体であり、性成熟した個体は胃腔内の隔膜に卵巣や精巣を発達させ、成熟した卵や精子を口から放出することによって有性生殖を行う(内田・楚山, 2001)。しかし、有性生殖の時期が1年に1回である種が多いことや(内田・山田, 1983)、放卵・放精を確実に誘起できる方法が確立されていなかったことなどから、同じ刺胞動物のヒドロ虫類と比較すると、イソギンチャクを用いた受精や発生の研究はこの数年間まで極めて少なかった。

ネマトステラ(*Nematostella vectensis*)は、カナダのノバスコシア州からアメリカのジョージア州にかけての東海岸、アメリカのフロリダ州からルイジアナ州にかけてのメキシコ湾岸、カリフォルニア州からワシントン州にかけての西海岸、およびイギリスの海岸などに広く分布しているイソギンチャクである(Hand and Uhlinger, 1992)。一般に、イソギンチャクの下端は円盤状の足盤になっており、ここで硬い基質(岩や石、貝殻など)に付着しているが、砂地などに生息する一部の種は、足盤の代わりに下端をふくらませた底球を形成し、これをアンカーとして体を固定させている(内田・楚山, 2001)。ネマトステラは底球を形成する種であり、潮間帯や河口の潮下帯のやわらかい堆積物中などに生息している(Hand and Uhlinger, 1992)。

ネマトステラは、実験室内において、海水を1/3に希釈した溶液中で良く成長し、有性生殖と無性生殖の両方を行って増殖する(Hand and Uhlinger, 1992)。また、餌はアルテミアのノープリウス幼生のみで十分であり、温度/光/餌の条件を変化させることにより、性成熟した個体に約1週間に1回の頻度で繰り返し放卵・放精をさせることができる(Fritzenwanker and Technau, 2002)。受精率や発生率も高く、受精卵から生じた個体を再び性成熟させることも可能である(Hand and Uhlinger, 1992 ;

Fritzenwanker and Technau, 2002 ; Lee et al., 2007)。以上のことから、ネマトステラは、受精や発生を研究する上で、非常に好都合なイソギンチャクであると言える。本研究では、これまでに知られている方法をさらに発展させることにより、卵や精子を用いた受精や発生などの実験をより効率的に行える状況の確立を目指した。

2 ライフサイクルの制御

本研究で用いたネマトステラは、国立遺伝学研究所の藤澤敏孝博士より2006年に譲り受けたメス2個体とオス1個体の子孫である。以下の方法によりライフサイクル(図1)を廻し、研究室内で個体を増殖させた。なお、本研究における全ての飼育や実験には、東北区水産研究所の濾過海水と脱イオン水を1:2の割合で混合した溶液(以下、1/3海水と記す)を用いた。また、精子を使用する全ての実験においては、精子の付着を防ぐために、10 mg/mLのBSA (bovine serum albumin, fraction V, Sigma)水溶液により予めコートしたシャーレや容器などを使用した。

ネマトステラの性成熟したメスは、数十個から数百個の成熟卵を胃腔内で厚いゼリーで包み、塊として口から放出する。このような卵塊に媒精することによっても受精や発生を誘起できるが(Hand and Uhlinger, 1992 ; Fritzenwanker and Technau, 2002)、ゼリーを除去したほうが種々の実験操作を加えやすい。そこで、L-システイン(Wako)を4%になるように1/3海水で溶解し、pHを7.4~7.6に調整したシステイン溶液を使用してゼリーを除去した(Lee et al., 2007)。23~25℃の恒温下で、卵塊をシステイン溶液中に20~40分間浸した後、新鮮な1/3海水中で軽くピペティングを施す操作を3回繰り返し、未受精卵を洗浄した。次に、オスの口から放出された精子を、最終濃度が $10^5 \sim 5 \times 10^6$ 個/mLとなるように加えて受精させた。その後、100個程度の受精卵を選び、1/3海水で満たした直径6 cm、高さ3 cmのプラスチックシャーレに移した。受精卵は、23℃では、媒精から約2時間後に2細胞期(くびれは入るものの、細胞質分裂が完全には進行しない場合が多い)、3時間後に4細胞期、3.5時間後に8細胞期、4時間後に16細胞期、5~6時間後には胞胚期に至った。媒精から2日後に

はプラヌラ幼生になり、約1週間後にはイソギンチャク型の幼体へと変態を開始した。なお、この間は、餌を与えず、水換えのみを週に3～4回の頻度で行った。

変態直後から体長が2 cm 程度に成長するまでは、直径14 cm、高さ5 cm のプラスチック容器に約200個体を入れ、20℃や23℃の明状態で飼育した。また、餌として、孵化から1日以内のアルテミアのノープリウス幼生をプラスチック容器全体に行き渡るようにして与えた。週に2～3回の頻度で給餌を行い、給餌日とその翌日には、新鮮な1/3海水を満たした別容器に個体を移すことにより水換えを行った。体長が2 cm を超えた後には、体長に応じて容器内に入れる個体数を減らした。また、週に3～4回の給餌の際には、アルテミアのノープリウス幼生を触手と口に直接吹きかけるようにして与え、水換えは給餌日にのみ行った。

媒精から2ヶ月が経過した頃には、個体は2～3 cm に達し、しばしば横分裂により無性的に増殖した。また、媒精から3～4ヶ月後には、体長が4 cm を超え、性成熟した(放卵・放精が可能になった)個体が

見られるようになった。性成熟した後も、頻度は極端に下がるものの、無性生殖を起こす個体が見られた。

3 放卵・放精の誘起

ネマトステラの卵や精子を用いた実験を効率的に進められる状況を確認するための第一段階として、配偶子放出を誘起する条件について検討した。配偶子放出には温度/光/餌の各条件が重要であり、これらを周期的に変化させることにより、およそ1週間に1回の頻度で放卵・放精が誘起できる(Fritzenwanker and Technau, 2002)。そこで、タイマーによって温度を制御できるインキュベーター(MIR-152, Sanyo)により20℃と25℃の間の温度変化を、電源を別のタイマーに接続した白色光の電気スタンド(DL-2714, オーム)をインキュベーター内に置くことにより明暗変化を、それぞれ任意の時間に与えられるようにした。暗状態の日における給餌と水換えは、個体が入った容器をインキュベーターから取り出し、短時間のうちに

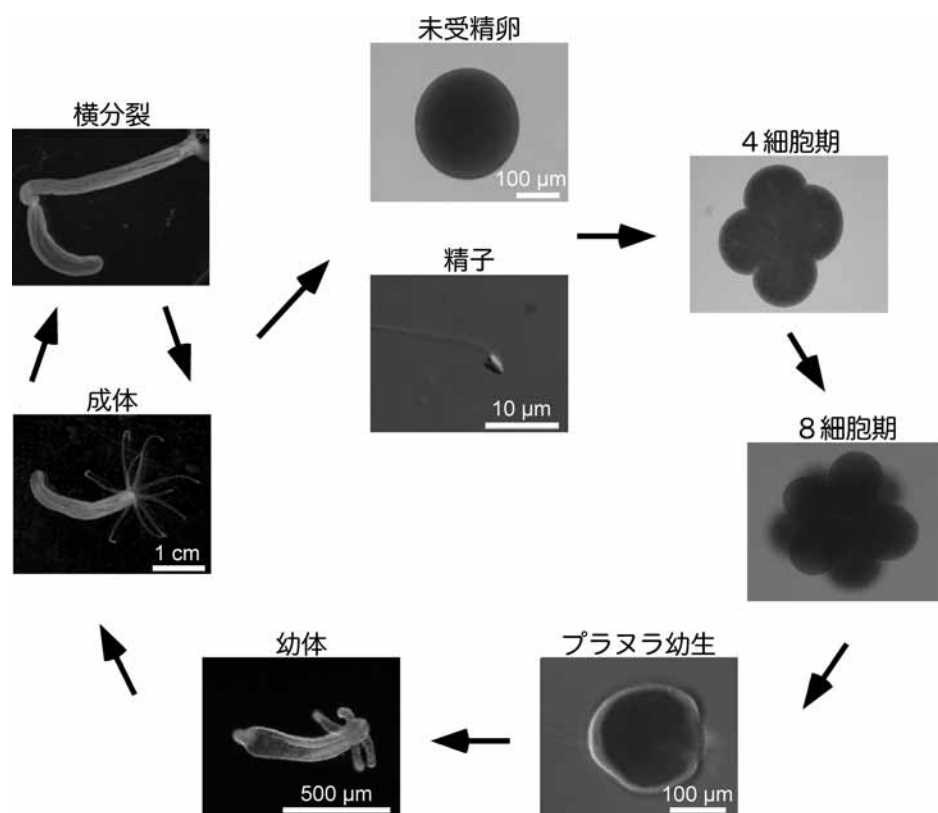


図1 ネマトステラのライフサイクル。受精卵は、卵割を繰り返し、プラヌラ幼生へと発生する。プラヌラ幼生は、自発的に変態し、イソギンチャク型の幼体となる。これ以降、餌としてアルテミアのノープリウス幼生を捕食し、成体へと成長していく。性成熟し、卵巣または精巣を発達させた個体は、温度/光/餌の条件の変化に反応して配偶子を放出する(有性生殖)。また、成長途中の個体や性成熟した個体は、しばしば横分裂による増殖も行う(無性生殖)。

行った。また、温度や光を変化させて配偶子放出を誘起する前には、個体を6穴シャーレに個別に入れ、それぞれの個体の放卵・放精の有無が確認できるようにした。

20℃の暗状態（餌あり）を4日間、25℃の明状態（餌なし）を3日間、交互に行って性成熟した個体を飼育したところ、7日に1回、25℃の明状態への移行の後に放卵・放精を誘起することができた（図2A）。また、20℃の暗状態（餌なし）の日を25℃の明状態への移行日の前に挟んだ8日周期でも、同様に周期的な放卵・放精を引き起こすことが可能であった（図2A）。さらに、7日周期で放卵・放精をさせていた個体群を、前回の配偶子放出の日から7日目には温度／光を変化させず、10日目に変化させた場合や（図2B）、14日目に変化させた場合でも（図2C）、高い確率で放卵・放精が誘起された。また、この後に通常の7日または8日周期の飼育に戻すと、放卵・放精の周期も元に戻った。以上の結果は、性成熟した個体が配偶子放出の可能な状態を少なくとも1週間は維持できることを

示している。また、このことにより、前回の配偶子放出から1～2週間後の任意の日に、卵や精子を用いた実験を設定することが可能になった。

次に、7日または8日周期で飼育している個体を用いて、25℃の明状態に移した後の配偶子放出時間について調べた。メスに関しては、放卵の有無を肉眼で調べ、その都度シャーレから卵塊を取り除いた。オスに関しては、倒立顕微鏡を用いて精子の有無を調べ、放精が確認された場合には、個体が入っている1／3海水を新鮮なものに換えた。1時間ごとに上記の操作を繰り返し、数回放卵した個体や、数時間にわたって放精を続けた個体がいた場合にも、重複してカウントした。図3Aは、この実験の結果を示したものである。メスは温度／光刺激から9時間が経過した頃から放卵を開始し、11～15時間後にピークを迎えたが、21時間後以降に放卵する個体もあった。オスは8時間後から放精を開始し、10～13時間後にピークを迎え、16時間以降には放精する個体はなかった。全体としては、放精のほうが放卵よりも少し早く起こること、また、特

A 通常の周期

日数	1	2	3	4	5	6	7
温度	25℃	25℃	20℃	20℃	20℃	20℃	25℃
光	明	明	暗	暗	暗	暗	明
餌	無	無	有	有	有	有	無

日数	1	2	3	4	5	6	7	8
温度	25℃	25℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	25℃
光	明	明	暗	暗	暗	暗	暗	明
餌	無	無	有	有	有	有	無	無

B 10日目に誘起

日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
温度	25℃	25℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	25℃
光	明	明	暗	暗	暗	暗	暗	暗	暗	明
餌	無	無	有	有	有	有	無	無	無	無

♀ 12/12

♂ 10/12

C 14日目に誘起

日数	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
温度	25℃	25℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	20℃	25℃
光	明	明	暗	暗	暗	暗	暗	暗	暗	暗	暗	暗	暗	明
餌	無	無	有	有	有	有	無	無	無	無	無	無	無	無

♀ 7/8

♂ 12/12

図2 温度／光／餌の条件の変化による配偶子放出の誘起。通常の飼育条件では（A）、性成熟した個体を7日目または8日目に25℃の明状態に移すことにより、周期的に放卵・放精を誘起した。この条件を変化させ、10日目（B）や14日目（C）に25℃の明状態になるようにしたところ、右下に示した割合で放卵または放精が起こった。

にメスにおいて配偶子放出時間にばらつきが大きいことなどが分かる。

次に、25℃の明状態にしてから、8時間後に再び20℃の暗状態に戻した場合の配偶子放出時間について調べた。その結果、25℃の明状態で維持した場合と比較して、配偶子放出時間にばらつきが少なくなり、メス、オスともに、25℃の明状態にしてから10~12時間後に放卵・放精を集中させることができた(図3B)。25℃の明状態は、配偶子放出の引き金としては有効であるが、最終的に放卵・放精が起こる段階では、どちらかというと阻害的に働くのかもしれない。いずれにせよ、この方法を用いることで、放卵・放精のタイミングを揃えることができるようになった。

4 卵と精子の保存

放出された配偶子を常温で保存した場合には、3時間程度で卵割率が下がり始め、4時間後にはほとんど卵割が起こらなくなる(Fritzenwanker and Technau,

2002; Lee et al., 2007)。これは、時間とともに卵と精子の双方の状態が悪化し、受精が不可能になるからであると考えられている(Fritzenwanker and Technau, 2002)。そこで、卵や精子の低温保存が可能かどうかを検討した。

卵に関しては、放卵直後に上で述べた方法でゼリーを除去してから、精子に関しては、放精後すぐに、卵や精子の入ったシャーレを冷蔵庫のチルド室(-1℃)に移すことによって低温にした。一定時間後に、低温保存卵に対しては新鮮な精子を、低温保存精子は新鮮な卵に媒精して、その後の卵割率を調べ、これらが正常な受精能を維持できているか評価した。なお、いずれの場合も、精子は最終濃度が $10^5 \sim 5 \times 10^6$ 個/mlとなるように加えた。

その結果、低温保存卵においては、放卵から4時間後や7時間後に媒精した場合でも、放卵直後と同等の卵割率を示すことが分かった(図4A)。また、14時間後でも、半分程度の割合にまで低下したものの、まだ卵割が起こったが、22時間後には卵割に至るものは

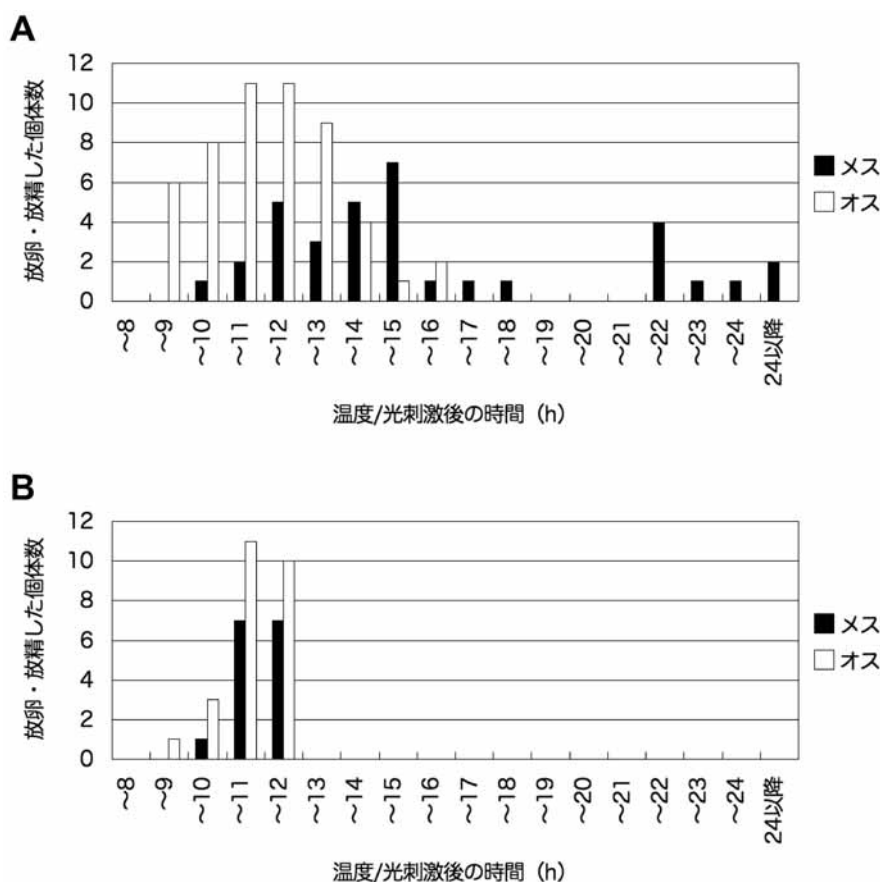


図3 配偶子の放出時間。性成熟した個体(雌雄12個体ずつ)を7日目または8日目に25℃の明状態に移し、そのままの状態を維持した場合(A)と25℃の明状態にしてから8時間後に20℃の暗状態に戻した場合(B)の配偶子放出時間について調べた。

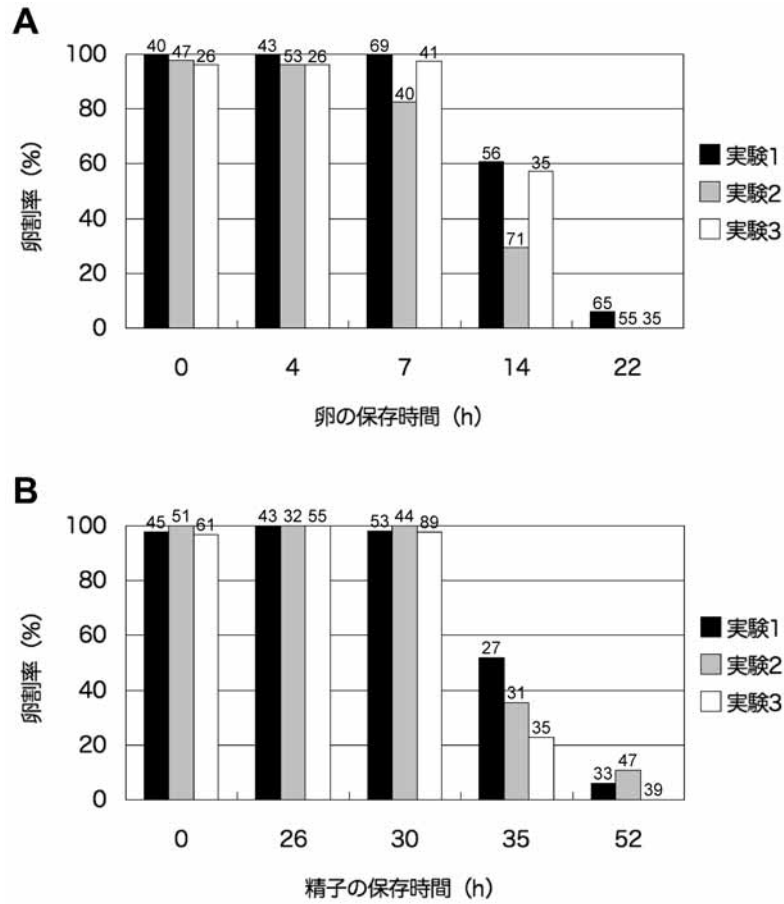


図4 卵と精子の低温保存。放卵後にゼリーを除去した卵と放精された精子を、 -1°C の低温下で保存した。一定時間後に、低温保存卵には新鮮な精子を（A）、低温保存精子は新鮮な卵に受精して（B）、その後の卵割率を210分後に調べた。それぞれのバーの上の数値は、用いた卵の個数を示している。

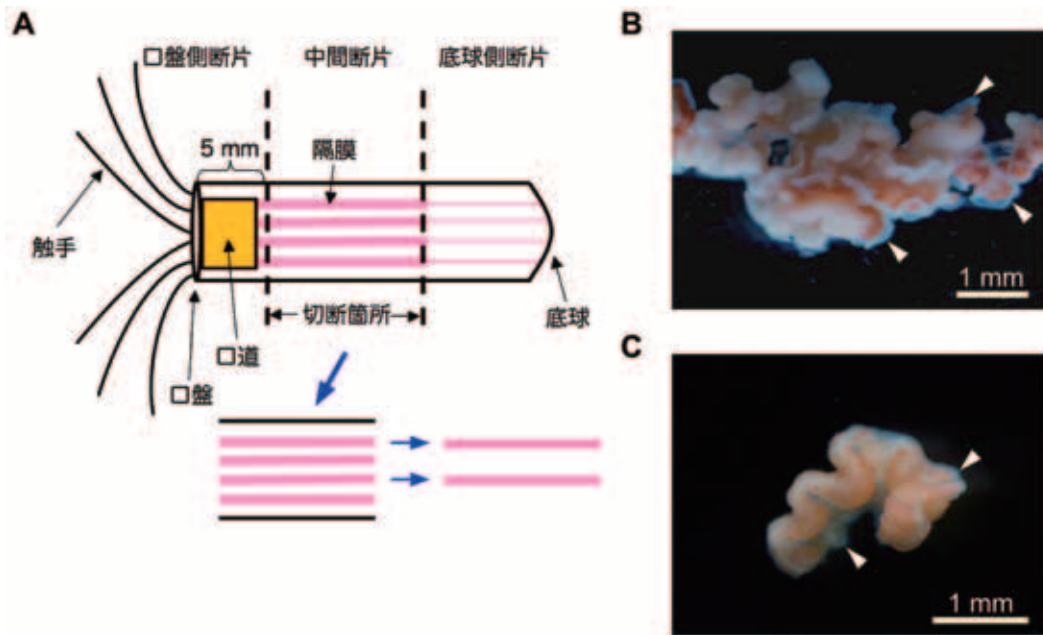


図5 隔膜的単離と隔膜片の作製。性成熟した個体を3つの断片に切断し、その中間断片から隔膜を吸い出すことにより単離した（A）。このようにして得られた隔膜（B）を、さらに2mmの長さで細断し、隔膜片（C）を作製した。BとCにおける矢じりは、精巢の位置を示している。

ほとんどなかった (図 4 A)。低温保存精子では、30 時間保存した場合でも、放精直後の精子と同等に卵割を誘起した (図 4 B)。しかし、35 時間後には卵割率は低下し、52 時間後にはごくわずかしか卵割を誘起できなくなった。低温保存した卵や精子を用いた場合も、卵割に至った後の正常発生率は通常と同等であった。以上のような低温保存法を開発したことにより、一旦卵や精子が得られた場合には、長時間にわたってそれらを用いて受精や発生の実験が行えるようになった。

5 隔膜片からの放精の誘起

同じ刺胞動物のヒドロ虫類では、サイクリック AMP (cAMP) のアナログであり、膜透過性のある 8-Br-cAMP を単離した卵巣に投与すると、卵成熟が誘起され、結果として放卵が起こることが知られている (Houliston et al., 2010)。ネマトステラにおいても、生殖巣が位置している隔膜を単離し、そこからの放卵・放精が誘起できるかどうかを検討した。

隔膜を単離するために用いた方法を図 5 A に示す。まず、性成熟した個体を、直径 9 cm、高さ 3 cm のプラスチック容器内に移し、収縮した体が再び弛緩するまで 10~20 分間放置した。次に、刃渡り約 1 cm のカッターナイフの刃を接着剤で割りばしに固定して作製した「切断用ナイフ (大)」を使用し、口盤から約 5 mm の位置を切断した。続いて、底球側の隔膜の太さが増えている位置を切断した。その後、中間断片の切断面から、パストゥールピペットを用いて太い隔膜を静かに吸い出した。このようにして単離した隔膜 (図 5 B) を、刃渡り約 5 mm のカミソリの刃を接着剤で竹串に固定した「切断用ナイフ (小)」を用いて細断し、長さ 2 mm の隔膜片 (図 5 C) を作製した。

作製した隔膜や隔膜片に 8-Br-cAMP を投与したところ、メスでは卵成熟や放卵は起こらなかったが、オスでは放精が誘起されることが分かった。放出された精子数を調べるために、各濃度の 8-Br-cAMP を含む 1/3 海水をチャンバー (24mm × 36mm のカバーガラス上に厚い両面テープを貼って作製したもの) に 200 μ L 取り、その中に隔膜片を入れた。20°C の明状態で 1 時間置いた後にチャンバーから隔膜片を取り除き、残った溶液から 3 μ L だけを取って新たなカバーガラス上に滴下し、その上から 1 辺 10mm に加工した

カバーガラスを乗せた。このプレパラートをノマルスキー微分干渉装置の付いた顕微鏡 (80i, Nikon) で観察し、無作為に選んだ 2 カ所の視野をデジタルカメラ (DS-5M, Nikon) で撮影し、それぞれの写真につき 3 カ所 (計 6 カ所) に含まれている精子の個数から放出された全精子の個数を算出した。その結果、隔膜片から放出される精子の個数は、8-Br-cAMP の濃度依存的に増加することが明らかになった (図 6 A)。

次に、8-Br-cAMP により放出された精子の運動性を評価した。上記のチャンバーを 8-Br-cAMP の投与から 30 分後の段階で観察し、無作為に選んだ 2 カ所の視野をビデオカメラ (HDR-SR8, Sony) により撮影した。撮影されたビデオ中の精子を無作為に観察し、1 秒間に 10 μ m 以上移動している精子を運動性を持つとみなし、運動率を算出した。その結果、放出数と同様に、8-Br-cAMP の濃度が高いほど、放出される精子の運動性も高くなることが分かった (図 6 B)。

さらに、8-Br-cAMP の投与後に、隔膜片にどのような形態変化があるかを詳しく観察した。500 μ M の 8-Br-cAMP で処理した直後から、隔膜片を継続的に観察したところ、処理から 10 分後あたりまでには隔膜表面に複数の膨らみが見られるようになり (図 6 C)、その中で精子が動いていることが確認された。また、処理から約 15 分後には、その突出部から精子の放出が開始された (図 6 D)。その後、放精は 30 分間ほど継続され、放精終了後には突出部は消失した。以上のような精子放出過程は、温度/光刺激後の精巣でも起こることが確認されている。また、8-Br-cAMP により放出された精子を未受精卵に媒精した時の卵割率を調べたところ、温度/光刺激により放出された精子を用いた場合と同程度に高かった。さらに、隔膜片は -1°C の低温下での保存が可能であり、24 時間の低温保存後の隔膜片を 8-Br-cAMP で処理した場合にも、同様に運動性のある精子の放出が誘起できた。以上の方法は、受精可能な精子を、温度/光刺激なしに、短時間のうちに得られるという点で優れていると考えられる。

6 切断個体の再生

イソギンチャクを含む刺胞動物は、再生能力が高いことが知られている (Sullivan and Finnerty, 2007; Houliston et al., 2010; Renfer et al., 2010)。最後に、

隔膜を得るために切断した個体が再生するかどうかを確かめた。

オスの底球側断片(図5 A, 図7 A)を6穴シャーレに個別に入れ、20℃の明状態で、週3~4回の水換えを行って飼育したところ、10個の断片中10個ともが、約1週間後には触手を再生した。その後、週3~4回の給餌とその後の水換えを継続したところ、体長が次第に増加し(図7 B)、切断から8~10週目には全ての断片が放精を行うようになった(図7 C)。これに対し、受精卵から飼育した場合には、放精までに約20週間を要した(図7 C)。

さらに、切断の際に生じる口盤側断片や中間断片(図5 A)における再生能の有無についても調べた。この実験はメスとオスの両方で行ったが、底球側断片よりは割合が低いものの、口盤側断片の半分以上は1週間以内に底球を再生し、切断前の形態になった(図7 D)。また、中間断片については、全ての隔膜を除去してしまうと元通りに再生しないことが予備実験で判明していたため、8本の隔膜のうち1本だけを体内に残すようにした。その結果、多くは、再生しない、もしくは、切断面の両方に口盤と触手ができるという異常な再生を行ったが、一部は2週間以内に切断前の

形態にまで再生した(図7 D)。以上の結果は、性成熟した個体を隔膜を得るために切断しても、個体数を減らすことなく、再び「同じ個体」を用いて実験が行えることを示している。

7 おわりに

遺伝子の実体がDNAであると判明して以来、生体内の特定の遺伝子の発現を人為的に制御する技術が日進月歩の勢いで発展している。その結果、多くの遺伝子の機能が解析され、そして解明されつつある。ある生物のある遺伝子を操作するためには、当然ながらその遺伝子の塩基配列の情報が不可欠となる。そこで、多くの研究者が実験材料として用いている「モデル生物」においては、その生物が持つ全てのDNA、いわゆるゲノムの全塩基配列を決定し、そこに含まれている全遺伝子を明らかにすることを目的とした「ゲノムプロジェクト」が盛んに展開されている。そして、現在では、ヒトから細菌に及ぶまで、様々な生物におけるゲノム情報が公開されている。ネマトステラも「選ばれし者」として、刺胞動物では初めてゲノムプロジェクトの対象となり、2007年にはゲノムの概要が発

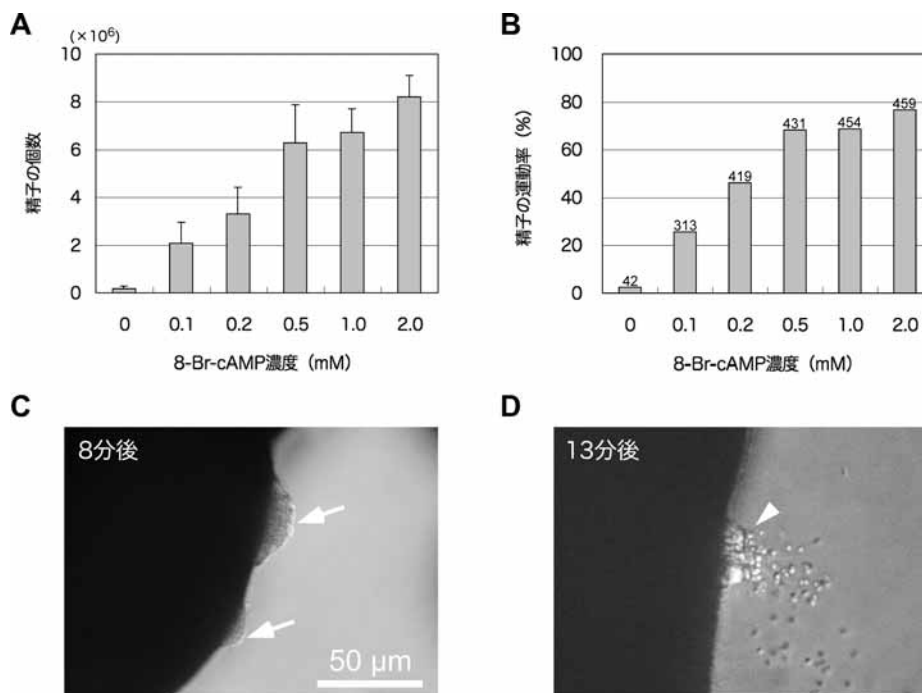


図6 8-Br-cAMPによる隔膜片からの放精。隔膜片に各濃度の8-Br-cAMPを投与し、放出された精子の個数(A)と運動している精子の割合(B)を調べた。各実験では、6個体から得られた6個の隔膜片を用いた。Aにおけるエラーバーは標準偏差を、Bにおけるバーの上の数値は調べた精子数を、それぞれ示している。また、500 μ Mの8-Br-cAMPを投与した後の形態変化を調べたところ、精巢の表面が膨らんで突出部が形成され(C、矢印)、そこから精子が放出された(D、矢じり)。

表された (Putnam et al., 2007)。同じ刺胞動物であり、実験動物として300年以上の歴史を持つヒドラのゲノム解析がそれよりもかなり遅れた (Chapman et al., 2010) ことを考えると、ネマトステラがいかに特別な存在であったのかが分かる。

ゲノム解析の結果、ネマトステラの遺伝子は、考えられていたよりも複雑であり、遺伝子のレパートリーやエキソン/イントロンの構造などが、ショウジョウバエやセンチュウよりも、我々脊椎動物に似ていることが明らかとなった (Putnam et al., 2007)。この事実は、多細胞動物の共通の祖先となる動物は同様に複雑な遺伝子を持っていたこと、ショウジョウバエやセンチュウでは進化過程での分岐後に遺伝子の喪失や大

幅な変化が生じたことなどを示唆している。また、ネマトステラと脊椎動物の遺伝子の類似性に関連しては、ヒトの病気の原因となっている遺伝子と相同の遺伝子がネマトステラに多く存在していることも明らかになっており、ネマトステラはこれらの遺伝子についての基礎研究が行える新たな実験材料としても注目されている (Sullivan and Finnerty, 2007)。さらに、ごく最近では、体内の特定の筋肉領域に蛍光タンパク質が発現するように遺伝子が組み込まれた「トランスジェニック・ネマトステラ」の作製に成功したことも報告されている (Renfer et al., 2010)。以上のように、ゲノム情報が得られて以来、ネマトステラは特に発生や再生の研究分野におけるモデル生物として、その地

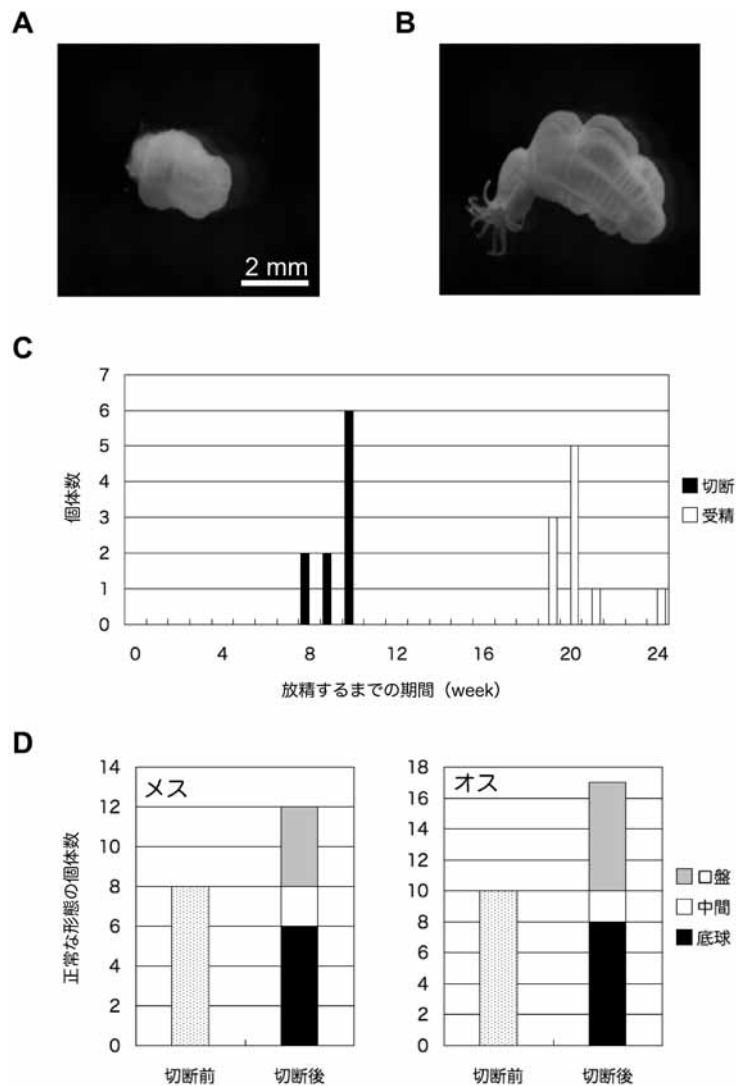


図7 切断個体の再生。底球側断片 (A) は、口盤と触手を再生し (B)、オスでは受精卵から生じた個体よりも早期に放精を行うようになった (C)。また、底球側断片のみならず、口盤側断片や中間断片も再生可能であり、正常な形態にまで再生した断片の合計は、切断前の個体数を大きく上回った (D)。

位を着実に固めつつある。

最後に、ネマトステラの教育現場での利用についても考えてみたい。上でも述べたが、ネマトステラの飼育は非常に容易である。天然海水のみならず、人工海水での飼育も可能であり、しかも通常の1/3の濃度で飼育できることから (Hand and Uhlinger, 1992; Fritzenwanker and Technau, 2002)、海産動物よりは安価に飼育用の溶液を調達することができる。また、5℃の低温下に6ヶ月間置き、その間の水換えを1回しか行わなかった場合でも、ネマトステラは生存し、常温に戻して飼育した後に再び生殖を行うようになるという結果も得られている (吉川, 未発表データ)。そして、最も重要なこととして、ネマトステラは有性生殖と無性生殖の両方で増殖する点が、教育現場での利用に適していると考えられる。現行、並びに平成20年3月に出版された新しい中学校学習指導要領においては、理科の第2分野で、生物の殖え方として有性生殖と無性生殖の2つを学習させることになっている。現行の中学校理科の教科書 (東京書籍など) には、ジャガイモが有性生殖 (種子からの個体形成) と無性生殖 (塊茎からの個体形成) の両方で殖えることが記載されている。ネマトステラの場合、放卵・放精、卵と精子の受精から始まり、卵割を経て、1週間程度で小型のイソギンチャクになる有性生殖過程と、イソギンチャクの体が上下に分かれる横分裂の結果、2個体が生じる無性生殖過程の両方が、ジャガイモよりも短時間で起こる上に、視覚的にも分かりやすい。すなわち、動物でもネマトステラのような例を紹介することにより、学習指導要領に挙げられた2つの生殖様式の理解がより深まることが期待される。

もちろん、ネマトステラが研究面のみならず、教育面でのモデル生物となっていくためには、さらに簡便な飼育方法や無性生殖/有性生殖の誘起方法の確立、材料の供給体制の構築など、様々な課題が存在する。本研究をきっかけに、ネマトステラを研究と教育の双方で利用するための方策について検討していきたい。

謝辞

塩竈市にある東北区水産研究所からは、本研究に不可欠な濾過海水を定期的に譲っていただいた。深く感謝申し上げる。本研究の一部は、科学研究費補助金・

新学術領域研究 (動植物アロ認証、領域代表者: 澤田均) の助成を受けて行われたものである。

文献

- Chapman, J. A. et al. (2010). The dynamic genome of *Hydra*. *Nature* 464, 592-596.
- Fritzenwanker, J. H. and Technau, U. (2002). Induction of gametogenesis in the basal cnidarian *Nematostella vectensis* (Anthozoa). *Development, Genes and Evolution* 212, 99-103.
- Hand, C. and Uhlinger, K. R. (1992). The culture, sexual and asexual reproduction, and growth of the sea anemone *Nematostella vectensis*. *Biological Bulletin* 182, 169-176.
- Houliston, E., Momose, T., and Manuel, M. (2010). *Clytia hemisphaerica*: a jellyfish cousin joins the laboratory. *Trends in Genetics* 26, 159-167.
- Lee, P. N., Kumburegama, S., Marlow, H. Q., Martindale, M. Q., and Wikramanayake, A. H. (2007). Asymmetric developmental potential along the animal-vegetal axis in the anthozoan cnidarian, *Nematostella vectensis*, is mediated by Dishevelled. *Developmental Biology* 310, 169-186.
- Putnam, N. H. et al. (2007). Sea anemone genome reveals ancestral eumetazoan gene repertoire and genomic organization. *Science* 317, 86-94.
- Renfer, E., Amon-Hassenzahl, A., Steinmetz, P. R. H., and Technau, U. (2010). A muscle-specific transgenic reporter line of the sea anemone, *Nematostella vectensis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 107, 104-108.
- Sullivan, J. C. and Finnerty, J. R. (2007). A surprising abundance of human disease genes in a simple "basal" animal, the starlet sea anemone (*Nematostella vectensis*). *Genome* 50, 689-692.
- 内田亨・山田真弓 (1983). 腔腸動物 COELENTERATA. 無脊椎動物の発生・上 (団勝磨・関口晃一・安藤裕・渡辺浩 共編). 103-133, 培風館.
- 内田絃臣・楚山勇 (2001). イソギンチャクガイドブック. TBSブリタニカ.
- 白山義久 (2000). 無脊椎動物の多様性と系統. 裳華房.

(平成22年9月30日受理)