

NBRP Zebrafish

News Letter March 2022



平素より、ナショナルバイオリソースプロジェクト(NBRP)・ゼブラフィッシュの活動にご協力いただき、ありがとうございます。代表機関である理化学研究所・脳神経科学研究センターからニュースレターを配信いたします。NBRPゼブラフィッシュはまもなく第4期を終え、2022年度より第5期の活動をスタートいたします。より良いサービスをご提供できるよう努めてまいりますので、今後とも、よろしくお願い申し上げます。

利用者の声

新潟大学脳研究所の松井秀彰先生に小型魚類研究にまつわるお話とNBRPゼブラフィッシュに関するお声をいただきました。

松井 秀彰

新潟大学脳研究所

脳病態解析分野

hide0729@bri.niigata-u.ac.jp

私達の研究室(新潟大学脳研究所 脳病態解析分野、以下松井研)は神経難病や老化および加齢関連疾患の病態の解明を目指しており、そのために*in vitro*、培養細胞、小型魚類、マウス、ヒトサンプルなど様々な対象を扱っています。その中でも特に小型魚類をよく用いており、その重要性を日々感じています。松井研ではゼブラフィッシュ(*Danio rerio*)、メダカ(*Oryzias latipes*)、アフリカメダカ(*Nothobranchius furzeri*)、ジャイアントダニオ(*Devario malabaricus*)の4種類の魚を使い分けている点も特徴の1つです。

きっかけは松井自身が力を入れてきたパーキンソン病という神経難病の病態を再現するモデル動物があまりいなかったことで、現在でもまだ十分とは言えないと思います。マウスでもショウジョウバエでも納得できないと考えた末に、その頃京都大学神経内科に着任されたばかりの高橋良輔教授とご相談させていただき、まずは大学院でメダカを使ったパーキンソン病モデルの樹立と解析をすることにしました。当時は同じ京都大学の谷口先生や武田先生の樹立されているメダカのTILLINGライブラリーが魚のノックアウト(KO)モデルを作るにおそらく唯一の手段でしたので、最初の頃はメダカを扱っていました。この頃にpink1 KO、parkin KO、atp13a2 変異体を解析したり、様々な化合物の投与モデルを報告したりしました。学位取得後魚を続けるか、他のモデルにするかまあ悩んだのですが、結局ゼブラフィッシュを使って小脳の研究をしていたドイツTU BraunschweigのProf. Dr. Reinhard Kösterの研究室に留学しました。そこではゼブラフィッシュで様々なトランスジェニックラインを用いたイメージングや行動実験をし、小脳の機能的な発生地図を描出しました。帰国直前に同じラボの濤川博士とパブのような喫茶店のようなお店でアフリカメダカの話になり、当時まだほぼ無名であったアフリカメダカを帰国後すぐに宮崎大学で開始しました。アフリカメダカの飼育を始めるといかにゼブラフィッシュが優れたモデル動物であるかを逆に認識することになるのですが、飼育繁殖が難しく最初は何回も失敗しました。しかし愛着家の方々や数少ない研究者の先生方のサポートでなんとか系統維持や様々な実験に成功しました。宮崎大学に帰国してからTALENについてCRISPR-Cas9と開発が進み、アフリカメダカやゼブラフィッシュでたくさんKOモデルを作りました。

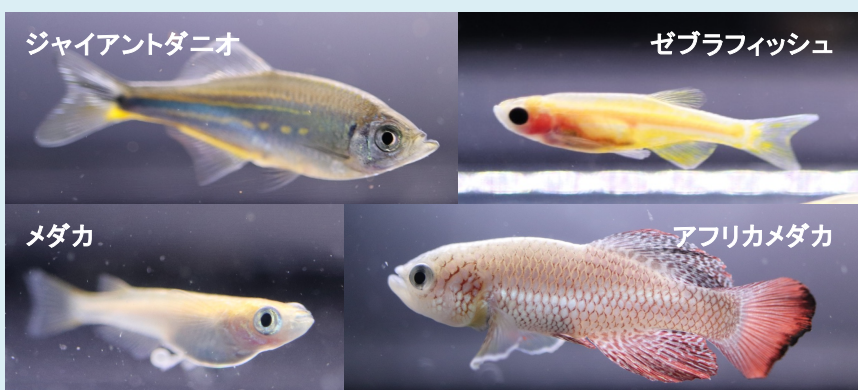


図1: 松井研のラボメンバー(魚類)

実際の大きさは異なります。ゼブラフィッシュ(図はCasper)やメダカは遺伝学にも強くかつ汎用性が高く様々な実験に用いています。アフリカメダカは扱いにくいですがわずか3~5ヶ月の自然経過で様々な加齢関連疾患に罹患することからその研究に用いています。ジャイアントダニオはうまく使いこなせていません。

結局ゼブラフィッシュを使って小脳の研究をしていたドイツTU BraunschweigのProf. Dr. Reinhard Kösterの研究室に留学しました。そこではゼブラフィッシュで様々なトランスジェニックラインを用いたイメージングや行動実験をし、小脳の機能的な発生地図を描出しました。帰国直前に同じラボの濤川博士とパブのような喫茶店のようなお店でアフリカメダカの話になり、当時まだほぼ無名であったアフリカメダカを帰国後すぐに宮崎大学で開始しました。アフリカメダカの飼育を始めるといかにゼブラフィッシュが優れたモデル動物であるかを逆に認識することになるのですが、飼育繁殖が難しく最初は何回も失敗しました。しかし愛着家の方々や数少ない研究者の先生方のサポートでなんとか系統維持や様々な実験に成功しました。宮崎大学に帰国してからTALENについてCRISPR-Cas9と開発が進み、アフリカメダカやゼブラフィッシュでたくさんKOモデルを作りました。

その後2016年に新潟大学で准教授PIとして独立しましたが、スタッフは私1人だったのでなかなか大変な日々でした。2020年から脳研究所の教授となり大変さは変わりませんが、様々なスタッフや学生さんに恵まれるようになりました。ちなみに松井研は小型魚類経験者は松井だけで、他のスタッフや学生さんは様々な分野から小型魚類の可能性に惹かれて集まってきた皆さんになります。海外の方も多くなってきて国際色豊かな研究室でもありますが、英語下手でもなんとでもなるように皆で工夫しています。松井研のスタッフは親切な方が多く、外国の方の生活の面倒を見たり、学生さんの研究指導をしたりと大変に助かっています。松井自身は最近老眼に悩まされつつあり(大体45歳前後で老眼を自覚する方が多いそうです)、マイクロインジェクションを自分よりうまくできる人を育てないといけないです。最近新潟大学は留学生募集および国内学生募集や若手研究者の採用に力を入れており、うちのホームページ(https://www.bri.niigata-u.ac.jp/~neuroscience_of_disease/)などを見ていただいて興味がある方はぜひご連絡ください。

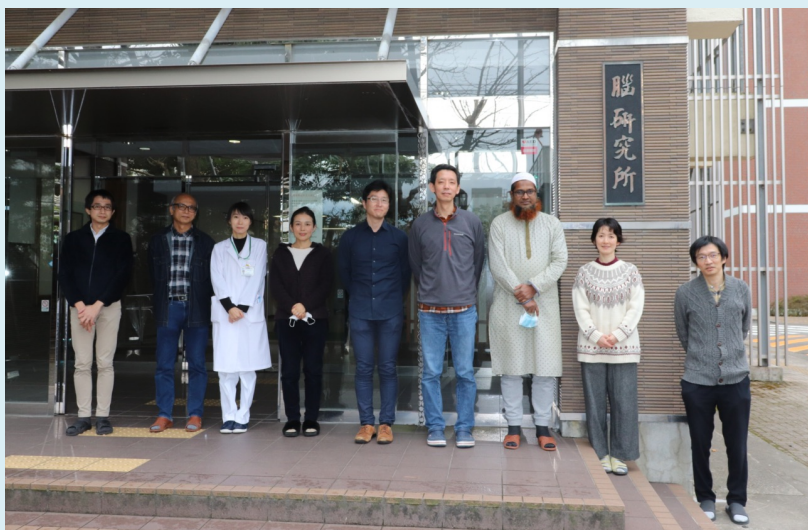


図2: 松井研のラボメンバー(人類)

実際の大きさは異なります。全員ではありません。向かって右端が松井。分子生物学、生化学、組織学、生理学、データ解析など各自の様々な強みを活かして難病や障害に立ち向かっています。

現在はアフリカメダカが自然経過でヒトと同様の様々な病気にかかることを見出し、その病態の解析を進めるという方向性が松井研の中心課題その1です。この課題の代表例はアフリカメダカが自然経過でパーキンソン病に類似の表現型を呈すること、それが α -synucleinのKOで改善することを示した研究になります(Matsui et al., *Cell Rep.* 2019)。また培養細胞やマウスモデルあるいはヒト剖検脳などで見出した知見をゼブラフィッシュの遺伝学や可視性を活かして*in vivo*で解析を進めるという方向性が中心課題その2です。この課題の代表例はミトコンドリアDNAが細胞質に漏出することで細胞死や神経変性を呈することを示した研究になります(Matsui et al., *Nat. Commun.* 2021)。その他にも小児の発達障害やミトコンドリア病の研究も小児科と連携してゼブラフィッシュを中心に用いて実施しています。いずれの場合も魚とヒトサンプルでの知見を行ったり来たりすることで、答え合わせをしたり新しいヒントを得たりすることが松井研のまた別の大きな特徴になります。特に脳研究所にはヒト剖検脳あるいはその他のヒト臓器が非常に良好な状態で管理維持されており、病気や障害に立ち向かう上で大きな武器になります。魚の飼育室のとなりが剖検脳の部屋になりとてもアクセスが良好です。

ジャイアントダニオの研究は挫折しかかっています。ゼブラフィッシュに遺伝的に近い種でしかし成魚のサイズが10cmほどと小型魚類に慣れた身にとってはかなり大きめです。2年前のニュースレターをご執筆された長浜バイオ大学の森義裕先生にその存在を教えていただいて、海外から輸入したのですが飼育は簡単ですがこれまた繁殖が難しいです。繁殖経験がある方が少なく、やっとの思いで世界淡水魚園水族館アクア・トギ・フ様にお聞きしたところ、水を変えたり水槽の掃除をしたりした後に産卵するとのことで実際にやってみたらまさかそうでした。ただ急にパタッと産卵をしなくなったりするので、マイクロインジェクションがしたくてもタイミングが合いません。卵もゼブラより小さくネトネトしており、扱いにくいです。研究費もなかなか獲得できないのでほそぼそ飼育しています。

NBRPのゼブラフィッシュとメダカはともに小型魚類研究会と密接に関係しています。博士課程の学生の頃に初めて小型魚類研究会に参加して以来、いつもとっても親切にいただいています。共同研究をしていただいたり、インドに連れて行ってもらったり、そこでお金を貸してもらったり、物品を頂いたり、メーリングリストでいろいろ教えていただいたり、RIKENのリソースの魚を使用させていただいたり、などなど枚挙にいとまがありません。私は懇親会の類が大の苦手なのですが、小型魚類研究会のそれだけはなんとか参加可能です。小型魚類研究会はとっても懐が広く、初めて小型魚類を使うユーザーにもいつでも門戸が大きく開かれています。また小型魚類研究会以外でも、水産学科の先生、魚の飼育愛好家の方々、水族館の飼育員や研究員の方々、たくさんの方々の励ましやアドバイスのおかげで、衰退しつつある日本の研究社会の中でギリギリ生き残ることができています。まだまだ疾患研究や障害研究に使う研究室は多いとは言えないかもしれませんが、今後確実に様々な分野で利用が増えていくと思いますし、小型魚類研究会のずっと継続されている懐の広さがNBRPのリソース充実と並行して、今後も続いていくことを願っています。

寄託募集

-あなたも寄託をしませんか -

理化学研究所脳神経科学研究センターは、ゼブラフィッシュ系統保存の代表機関であり、20万尾収容できる施設を設けております。外部研究機関からの系統の寄託受け入れを進んで行なっておりますので、遠慮をせずにぜひ寄託をしてください。寄託する際、寄託者の知的財産権は保護されます。

-凍結精子保存が可能です -

凍結精子保存は系統のバックアップに最適です。魚をお送り頂けましたら、こちらで速やかに処理しサンプルを保存致します。処理する魚の条件は、健康な雄魚3~5匹を目安としております。5匹から人工授精45回分のサンプルが確保できる計算です。

凍結精子サンプルは理化学研究所脳神経科学研究センターと基礎生物学研究所で相互バックアップ保存することにより災害対策をしており、「預けて安心!」です。

臨機応変に対応させていただきますので、お気軽にご相談ください。お待ちしております。

お知らせ

-料金表が改正されます-

2022年4月1日より、理化学研究所脳神経科学研究センターの料金表が改正されます。理化学研究所では任期制職員の給与制度の変更に伴った人件費単価の変更および物品費の単価の変更があり、提供実費手数料に改正の必要が生じました。何卒ご理解のほどよろしくお願いいたします。

新料金表

	単位	手数料(円)	
		学術研究機関	非学術研究機関
成魚	系統	3,890	7,780
卵	系統	3,810	7,620
卵(凍結)	系統	8,060	16,120
箱代	発送	530	1,060
カイロ代	発送	490	980
繁殖代	系統	16,990	33,980

実施機関

NBRPゼブラフィッシュは下記の3機関で実施しております。

-代表機関-

国立研究開発法人 理化学研究所・脳神経科学研究センター

代表者 岡本 仁

-分担機関-

大学共同利用機関法人 情報・システム研究機構

代表者 川上 浩一

-分担機関-

大学共同利用機関法人 自然科学研究機構

代表者 東島 真一

ニュースレターに関する連絡先:

理化学研究所・脳神経科学研究センター

意思決定回路動態研究チーム

岡本 仁 (hitoshi.okamoto@riken.jp)

〒351-0198 埼玉県和光市広沢2-1

Phone:048-467-9712 Fax:048-467-9714