

## ヌタウナギ～二つのゲノムの謎～

後藤 友二・久保田宗一郎\*

ヌタウナギは、筆者らのような研究者が思っている以上に、結構有名なのかもしれません。今夜も深夜番組の中で、ヌタウナギに刺激を与えてヌタを分泌させ、海水が瞬時にゼリー状に変わるシーンが流れたのを見ながら、何とも言いようがない微妙な気持ちにさせられました。ヌタウナギは、光は感じますが目は見えません。長年の深海暮らしで目は退化してしまったようですが、身を守る術としてヌタを分泌します。しかし、その場から直ぐに移動しないと、自分自身が分泌したヌタによってゼリー状に変わった海水の中で窒息すると言われてます。つまりヌタの分泌は「諸刃の剣」、生死をかけた非常手段なのです。本稿では、ヌタウナギの非常手段を笑うのではなく、この生物が長い進化の末に獲得した謎「二つのゲノム」について、筆者らの進めた研究の経緯をなぞるかたちで紹介させていただきます。

## ヌタウナギとの出会い

筆者らの恩師、河野晴一先生（現東邦大学名誉教授）が、ヌタウナギを材料に染色体研究を始めてから、もうまもなく30年になります。河野先生は1980年代当時、同じフロアで研究されていた比較内分泌学の大家である小林英司先生（東京大学をご退職後に東邦大学で教鞭を執られていた）から促されて、ヌタウナギの染色体観察を始めたのがこの発端でした。河野先生もヌタウナギを初めて扱う時には、きっと躊躇いがあったに違いありません。



図1. 本邦産のヌタウナギ (*E. burgeri*)。この種の染色体観察が筆者ら研究の原点となった。

ん。ヌタウナギは、どうみてもカワイイ生き物ではありませんから(図1)。しかしこの生物との出会いが、河野先生だけでなく、筆者らのようなその教え子達の人生も変えていく「謎」との出会いとなったのです。

脊椎動物は背中に背骨を持つ新口動物で、魚類や両生類、は虫類（や鳥類）そして我々ヒトが属するほ乳類を含む「脊椎動物門」という大きな分類群です。この仲間は、実は顎がある顎口類と、顎がない無顎類の二つの群に分かれ、上記の魚類からほ乳類までは皆すべて顎口類に含まれます。無顎類に含まれる脊椎動物のほとんどは、長い地球の歴史の中で絶滅したと考えられている化石種で、図鑑などに出てくる甲皮類などがこれに当たります。ヌタウナギの仲間、ヌタウナギ目（Myxiniiformes；旧称メクラウナギ目）は、ヤツメウナギの仲間、ヤツメウナギ目（Petromyzontiformes）とともに、この絶滅を免れた唯一の無顎類で、その口器の形から「円口類」と呼ばれています。円口類は脊椎動物の中ではもっとも原始的な仲間であることから、ナメクジウオのような原索動物から、脊椎動物への進化の起点となった生物群といえます。したがって円口類は脊椎動物の起源を考える意味でも非常に貴重な生物群で、深夜番組とは異なり沢山の書物でとても好意的に紹介されています<sup>1)</sup>。

同じ円口類に含まれるヌタウナギもヤツメウナギもともにウナギのような形をしていますが、生きている両者はちょっと持ち上げただけで、まったく別の生き物であることに直ぐに気が付きます。ヤツメウナギは、からだは硬くガッチリしていますが、一方ヌタウナギは持ち上げると真ん中でグンニャリ曲がる程に柔らかい。それもそのはず、脊索が脊椎に置き換わっていないのです。このからだは実に3億年あまり進化していないらしく「生きた化石」の一つにあげられています。世界には70種あまり現存し、寒すぎず暑すぎない海、それも深い海（水深数百メートル）に生息しています<sup>2)</sup>。日本近海では5種が知られていますが、そのうちの4種、ホソヌタウナギ属のホソヌタウナギ（旧称メクラウナギ属のメクラウナギ、*Myxine garmani*）、ヌタウナギ属のヌタウナギ（*Eptatretus burgeri*）、ムラサキヌタウナギ（*E. okinoseanus*）、そしてクロヌタウナギ（旧称クロメクラウナギ、*Paramyxine atami*）について、筆者らはこれま

\*著者紹介 東邦大学理学部生物学科 分子・細胞遺伝学研究室（教授） E-mail: kubota@bio.sci.toho-u.ac.jp

で研究材料にしてきました。

### ヌタウナギの染色体

ヌタウナギの染色体観察を初めて報告したのは、実は上述の河野先生ではありません。1951年と1960年にともに切片観察で精巣における染色体数が48本と、また1975年には当時新しく開発された染色体観察の技術で、体細胞における染色体数が36本と記載されています。先人達はここで、ヌタウナギのトリックを見破れませんでした。河野先生はからだの色々な臓器由来の体細胞と、精巣由来の生殖細胞の両方を、最新の染色体観察法で観察しました。残念ながらまだその当時の研究室にいなかった筆者らは、それを想像するしかありません。しかし、体細胞で36本、生殖細胞で52本と、16本もの染色体数が違うことが明らかになり、かなりの驚きを伴った興奮に当時の研究室は湧いていたに違いありません。

多細胞の高等生物は一般に、からだのどの組織や器官由来でもそれぞれの細胞が持つ染色体数は一定で、核内に含まれるDNA量も原則同じです。しかし、いくつかの生物群では、からだを作る体細胞（体細胞系列）と配偶子を作る生殖細胞（生殖細胞系列）の間で、染色体数（やDNA量）が異なることが知られています。これは個体発生の初期の段階で、二つの細胞系列に分化する際に、始原体細胞から染色体やその一部（染色質）が失われることによって生じます。そのためこの現象は染色体放出あるいは染色質削減などと呼ばれています。この現象は、Boveriによって1887年に線形動物ウマカイチュウで初めて報告され、その後、節足動物のケンミジンコやタマバエなどの生物種でも確認されています。しかし、いずれも先口動物の限られた一部の生物種でしか、1980年代当時は見つかっていませんでした<sup>3)</sup>。

単細胞性の原生動物繊毛虫類に属するテトラヒメナやゾウリムシなどは、細胞内に大核（栄養核）と小核（生殖核）と呼ばれる二つの核を持つことが知られています。大核はその名の通り小核に比べ、DNA量がはるかに大きいですが、実は完全なゲノム・セットを持っているのは小核の方で、小核から大核を作る際にゲノム再編成と呼ばれる一連の工程を踏んで、小核が持つゲノムの一部のみを増幅させています。この工程は、遺伝学的には染色体放出や染色質削減と同義と見なされています。実際の工程は、DNA鎖の断片化および残すDNA断片の末端へのテロメア付加（DNA fragmentation & telomere addition）、あるいはDNA鎖の一部を切り抜くように削除（Internal DNA deletion）する、2種類の削減を行います。興味深いことに、線形動物が行う染色質削減は前者の、そして節足動物が行う染色質削減は後者の削減方法を選択しています<sup>4)</sup>。

### ヌタウナギの染色体放出

ヌタウナギの染色体放出を報告した論文は、1986年、*Cytogenetics and Cell Genetics* 誌（現 *Cytogenetics and Genome Research* 誌）に発表され、ヌタウナギがその号の表紙を飾りました。この論文の中では、生殖細胞の染色体数は52本、体細胞では36本の染色体数であることから、生殖細胞には存在するが、染色体放出により体細胞では失われている染色体は16本であること、また核あたりのDNA量の測定によって、16本の染色体は生殖細胞DNAの約21%を占めることが報告されました（図2）。加えて、この生殖細胞特異的な16本の染色体は、C-bandingと呼ばれる染色体分染法では陽性を示し（いわゆるヘテロクロマチン）、減数分裂中の精母細胞染色体では、この16本の染色体は2次対合と呼ばれる独特の形状を示す傾向にあることなども報告されました。

ヌタウナギの染色体放出は、ヌタウナギだけの特殊な現象なのか、あるいは近縁種でも同じことが行われているのでしょうか。河野先生は研究を邁進させていきました。この頃（1990年代初頭）、ようやく筆者らもこの研究に参加し始めました<sup>5)</sup>。上述の日本近海のヌタウナギの仲間4種をはじめ、カナダ太平洋岸の *E. stoutii* を皮切りに、スウェーデンのバルト海から *M. glutinosa*、ニュージーランドから *E. cirrhatus*、台湾から *P. sheni* と日本以外の世界各地から採取し、染色体観察を行いました。表1にその結果をまとめます。どの種においても、染色体数やヘテロクロマチンの分布様式などは種によって異なりますが、明らかに生殖細胞は体細胞より多くの染色体を持つこと、また多くの場合生殖細胞特異的な染色体は主にヘテロクロマチンから構成されることが明らかになっていきました。これにより、染色体放出はヌタウナギ一種に特異的な現象ではなく、このヌタウナギ目の仲

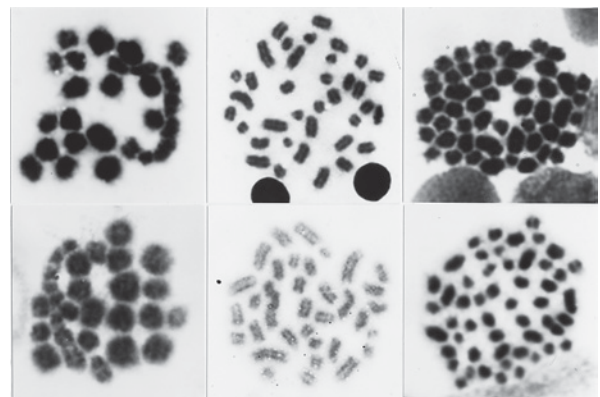


図2. ヌタウナギの染色体（中期分裂像）。写真は左列が精母細胞、中央が体細胞、右列が精原細胞の中期分裂像染色体で、中央上段は血液、下段はえら由来（撮影：中井康晴氏、1987年）。

間に共通する現象であることが強く示唆されたのです<sup>6)</sup>。

**放出染色体は反復配列のモザイク**

河野先生の下、筆者らは染色体研究に並行してDNAレベルでの解析も進めていきました。体細胞と生殖細胞それぞれからゲノムDNAを単離して、制限酵素処理後に電気泳動を行い、生殖細胞特異的なDNA断片を探し出す作業です。ヘテロクロマチンは主に高頻度反復配列

からなると考えられ、線形動物を使った先行研究でも、ブタカイチュウから生殖細胞特異的な高頻度反復配列が見つかっていました<sup>7)</sup>。筆者らが最初に単離した生殖細胞特異的な高頻度反復配列は、ムラサキヌタウナギからもたらされました。ムラサキヌタウナギの放出配列という意味で、Eliminated Element of *E. okinoseanus* 1, 2 (EEEo1, 2) と名づけました<sup>8)</sup>。その後の研究により、8種のヌタウナギの仲間から16種類の生殖細胞特異的な

表1. スタウナギ目8種の細胞遺伝学的研究のまとめ

種名	採集域	染色体数 (Cバンドパターン) *			体細胞では失われる 放出DNA量 (%)	
		体細胞	生殖細胞	放出染色体		
<i>Eptatretus stoutii</i>	カナダ太平洋沿岸産	34 (-)	48 (++)	14 (++)	52.8%	
<i>E. okinoseanus</i> (ムラサキヌタウナギ)	本邦産	Aタイプ	34 (-)	54 (++)	20 (++)	44.2%
		Bタイプ	34 (-)	54~62 (++)	20~28 (++)	49.4~57.7%
<i>E. cirrhatus</i>	ニュージーランド産	Aタイプ	34 (-)	72 (++)	38 (++)	48.7%
		Bタイプ	34 (-)	80 (++)	46 (++)	54.6%
<i>E. burgeri</i> (スタウナギ)	本邦産	36 (-)	52 (++)	16 (++)	20.9%	
<i>Paramyxine sheni</i>	台湾産	34 (-)	66~96 (++)	32~62 (++)	70.8~74.5%	
<i>P. atami</i> (クロスタウナギ)	本邦産 (鹿島灘)	Kタイプ	34 (-)	48 (++)	14 (++)	40.0%
	本邦産 (駿河湾)	Sタイプ	34 (-)	52~54 (++)	18~20 (++)	35.2%
<i>Myxine glutinosa</i>	スウェーデン産	28 (-)	44	16	43.5%	
<i>M. garmani</i> (ホソスタウナギ)	本邦産	14 (-)	16 (++)	2 (++)	29.8%	

\* 表中の( )内はCバンドパターンを示す。-はCバンド染色陽性部位を含まない、+は陽性部位を含む、++は陽性部位を多量に含むことを示す。

表2. スタウナギから検出された反復配列

放出配列名	反復単位 (bp)	GC含有量 (%)	2倍体ゲノム中のコピー数 [2倍体ゲノムを占める割合 (%)]	
			体細胞ゲノム	生殖細胞ゲノム
EEEb1	64	59.4	$3.8 \times 10^2$ [ $4.8 \times 10^{-4}\%$ ]	$5.5 \times 10^6$ [5.4%]
EEEb2	57	26.3	— [—]	$3.9 \times 10^5$ [0.34%]
EEEb3	404~446	45.1	$6.7 \times 10^4$ [0.56%]	$9.8 \times 10^4$ [0.64%]
EEEo1	161	40.4	$4.5 \times 10^4$ [0.14%]	$9.4 \times 10^4$ [0.22%]
EEEo2	84	29.8	$1.3 \times 10^4$ [ $1.7 \times 10^{-2}\%$ ]	$1.7 \times 10^4$ [ $2.2 \times 10^{-2}\%$ ]
EEPa1	83	38.6	$7.0 \times 10^4$ [0.19%]	$3.6 \times 10^5$ [0.46%]
EEPs1	39-40	60	$5.9 \times 10^2$ [ $3.7 \times 10^{-4}\%$ ]	$7.8 \times 10^2$ [ $4.8 \times 10^{-4}\%$ ]
EEPs4	15	33.3	nd	nd
EEEb4	67	55.2	$6.4 \times 10^4$ [0.08%]	$9.7 \times 10^5$ [1.00%]
EEEb5	58	43.1	$6.2 \times 10^2$ [ $7.1 \times 10^{-4}\%$ ]	$8.9 \times 10^4$ [0.08%]
EEEb6	56	37.5	$6.3 \times 10$ [ $6.9 \times 10^{-5}\%$ ]	$1.0 \times 10^6$ [0.88%]

表中のndはデータがないことを、—は計測できなかったことを示す。

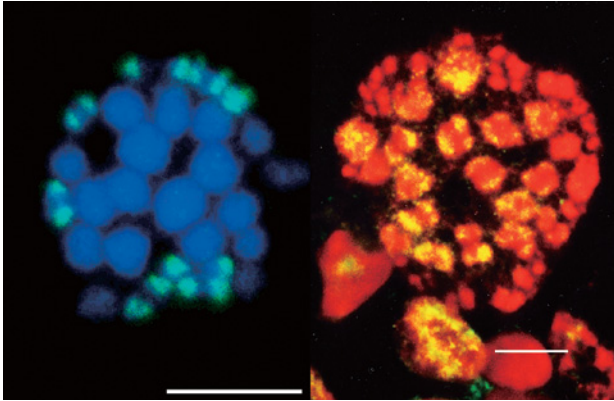


図3. 精母細胞染色体へのFISH解析像. 写真は左がヌタウナギの精母細胞中期染色体へEEEb1をプローブとした, 右が台湾産*P. sheni*の精母細胞中期染色体へEEEo2をプローブとしたFISH解析像で, スケールバーはともに10マイクロメートルを示す. 左のヌタウナギではEEEb1が存在する緑色の染色体は体細胞に存在しないが, 右の*P. sheni*では, EEEo2が存在する染色体は黄色の末端部分を切り離して体細胞にも存在する(撮影: 左 大沢大樹氏, 2014年; 右 藤原美香氏, 2000年).

高頻度反復配列を検出しています. このうちヌタウナギで検出されている反復配列を表2にまとめました.

現在までに検出された高頻度反復配列は, どれもその機能については解っていませんが, 種に特異的な配列もあれば, 種を跨いで複数種に存在するものもあります. さらに当初は生殖細胞特異的な高頻度反復配列と報告してきましたが, そのほとんどは体細胞ゲノムにも存在することが解ってきました. 生殖細胞ゲノムに比べ体細胞ゲノムにおけるコピー数があまりにも少なかったため, 体細胞ゲノムでの存在に気づかなかったのです. たとえば, ニタウナギの生殖細胞特異的な反復配列の中で, 一番大きな割合を占めるEEEb1 (図3左) は, 生殖細胞ゲノムの中には550万コピーも存在し, これは放出されるDNA量の1/4以上に相当しますが, 体細胞ゲノムでは数百コピーしかなく, またこの配列は他の近縁種からは見つかっていません<sup>9)</sup>. 一方, EEEo2はヌタウナギでは体細胞ゲノムと生殖細胞ゲノムで大きな差はなく, ともに数万コピー程度しか存在しませんが, この配列はヌタウナギ目に広く分布することが解っています. このEEEo2は上述のように最初にムラサキヌタウナギで見つかった配列ですが, 大変興味深い動態を示す配列です. この配列はムラサキヌタウナギやクロヌタウナギ, ニューゼaland産の*E. cirrhatus* いずれにおいても生殖細胞特異的なヘテロクロマチン化した染色体に分布しています<sup>10)</sup>. ところが, 台湾産の*P. sheni*では, このEEEo2は生殖細胞中の34本の染色体の両末端に存在しますが, 体細胞中のこれら34本の染色体上には存在しません(図3右, 図4). すなわち, 染色体放出時に明確

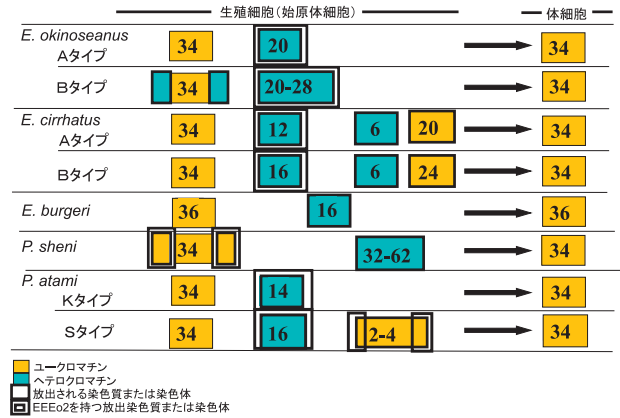


図4. 染色体放出様式の種類. 図は EEEo2 の分布様式に注目した概略図で, 種名は表1を参照のこと. *E. stoutii*, *M. garmani*, *M. glutinosa* は載せていない.

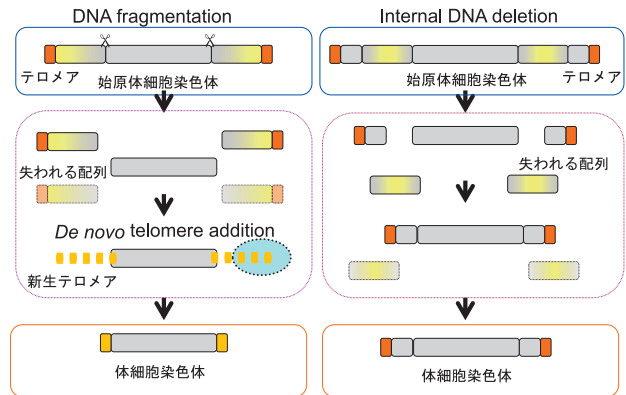


図5. 台湾産*P. sheni*の染色体切断の模式図. 図は台湾産*P. sheni*の精母細胞中期染色体でEEEo2を観察された染色体末端部切断についての二つのモデルを表す. 左が「DNA fragmentation & telomere addition」, 右が「Internal DNA deletion」(モデル作成: 小島典子氏, 2010年).

に染色体切断が起きていることとなります. この切断工程が, 上述の「DNA fragmentation & telomere addition」なのか, あるいは「Internal DNA deletion」なのかは, 現在までのところ解っていませんが, どちらにせよヌタウナギの仲間も染色体放出は, 染色体ごとに失われる以外に, 切断機構を兼ね備えていることは明らかです(図5)<sup>11)</sup>.

### デュアル・エクスペリション・システム

反復配列は, 一般にヘテロクロマチンに座することが多く, またその機能解析が十分に進まなかったため, ジャンクDNA (がらくた配列) と呼ばれてきました. そのため, ニタウナギの仲間が持つ生殖細胞特異的な染色体は, 「ジャンクの海」との解釈に陥りがちでした. しかし今では機能を持つ反復配列が見つかり始め, 反復配列 = ジャンクの考えは通じなくなってきています. 上記の

16種類の反復配列の中でも、転写されていることが明らか配列も存在します。実際、この16種類の高頻度反復配列以外に、明確な機能を有する反復性の遺伝子を筆者らは見つけました。それは、タンパク質合成を担うリボソームを構成するRNAの一つ、5S rRNAをコードする5S rRNA遺伝子(5S rDNA)です。

真核生物におけるリボソームDNAは二つの異なった遺伝子グループによって構成され、ゲノム中に多量に縦列して存在する多重遺伝子族です。そのうちの一つはメジャーrDNAと呼ばれる遺伝子群で、三つのrRNAをコードしています。もう一つのグループは、5S rRNAのみをコードするマイナーrDNAで、高等真核生物では一般にメジャーrDNAとは離れたゲノム内の別の位置に存在しています。この5S rDNAはその塩基配列がよく保存された120 bpの5S rRNA遺伝子領域と、種によってその長さや配列が大きく異なるNTSと呼ばれるスペーサー領域によって構成されています。この二つの領域を一単位として、5S rDNAは縦列反復し、ゲノム内では一般に数百~数千回繰り返して存在しています。円口類のヤツメウナギや硬骨魚類・両生類の一部では、発現時期の異なる2タイプの5S rRNA遺伝子が知られており、このような5S rRNA遺伝子の発現調節の機構を、デュアル・エクスペッション・システム(Dual Expression System)と呼んでいます<sup>12)</sup>。

筆者らはヌタウナギからも2タイプ(体細胞型と生殖細胞型)の5S rRNA遺伝子ファミリーを見つめました。それぞれは別々の染色体上で高度に反復し大きなクラスターを形成していますが、捨てられる染色体上のみならず大量に存在する生殖細胞型遺伝子のクラスターは体細胞には存在しません。そのため体細胞と生殖細胞では発現する遺伝子型も異なる、つまりこの種では、染色体放出によって二つの細胞系列で発現する5S rRNA遺伝子を調節していることとなります。この現象は、その後の解析で染色体放出を行う8種のヌタウナギ目全種で観察され、2タイプの分化はヌタウナギ目とヤツメウナギ目が分岐した後、比較的直ぐに生じたヌタウナギ属とホソヌタウナギ属の分岐と同じ頃に生じていることが解りました。まさにヌタウナギ目が獲得したゲノム戦略と言えます。

### NGSデータが導くものは？

5S rDNAの2タイプへの分化時期の推定や、生殖細胞特異的な反復配列の分子進化的解析結果は、ヌタウナギ目の染色体放出がヌタウナギ目とヤツメウナギ目の分岐の後に生じたであろうことを裏付けるものと捉えてきました。また、筆者らはこれまで本邦産のヤツメウナギ目であるスナヤツメやカワヤツメを材料に染色体観察を重ねてきましたが、染色体放出現象の明確な証拠は得ら

れませんでした。ところが、ヌタウナギ目の染色体放出の研究を長く牽引してこられた河野先生が2008年にご退職された直後の2009年、北米大西洋岸に生息するヤツメウナギ目の一種ウミヤツメ(*Petromyzon marinus*)において染色体放出を行っているとの報告が届きました<sup>13)</sup>。さらに次世代シーケンサー(next generation sequencer: NGS)によるウミヤツメの体細胞の全ゲノム・データが、2013年に明らかにされました<sup>14)</sup>。

真核生物は「体細胞と生殖細胞に分化する」ことで大きくゲノムを進化させてきたと言えます。生殖細胞は万能性や継続性、体細胞は特異性や有限性を担いますが、一般的に両者のゲノムに本質的な差はありません。しかし、この2細胞系列の「分化」を「染色体放出」というダイナミックなゲノム再編成で表現しているのが円口類ヌタウナギ目、そしてヤツメウナギ目です。いわゆるタンパク質をコードしている何らかの遺伝子が、ヌタウナギの生殖細胞特異的な染色体の反復配列の海に隠れて存在していても、何も不思議はありません。ほとんどヒトと変わらぬサイズを持つヌタウナギ・ゲノムから、この隠れた遺伝子の一本釣りは難儀な話です。そこでNGSによりヌタウナギの生殖細胞と体細胞の全ゲノムを決定し、両者を比較することで、生殖細胞に特異的なゲノムの中身を網羅的に把握する研究を、すでに筆者らも進めています。30年も筆者らを虜にしてきたヌタウナギの二つのゲノムの謎、この仲間が行う染色体放出という現象そのものやその起源と進化、そしてこの現象と2細胞系列の「分化」との関わりが白日の下に曝される時が間もなくやってきます。

### 文 献

- 1) リチャード・ドーキンス著、垂水雄二翻訳：祖先の物語(下)、小学館、p. 54 (2006)。
- 2) Fernholm, B. (eds. Jørgensen, M. J. *et al.*): The biology of hagfishes, p. 33, Chapman and Hall (1998)。
- 3) Tobler, H. (ed. Hennig, W.): Germline-soma differentiation 13, p. 1, Springer-Verlag (1986)。
- 4) Meyer, E. and Chalker, D. L. (eds. Allis, C. D. *et al.*): Epigenetics, p. 127, Cold Spring Harbor Laboratory Press (2007)。
- 5) Nakai, Y. *et al.*: *Cytogenet. Cell Genet.*, **54**, 196 (1991)。
- 6) Nakai, Y. *et al.*: *Chromosome Res.*, **3**, 321 (1995)。
- 7) Müller, F. and Tobler, H.: *Int. J. Parasitol.*, **30**, 391 (2000)。
- 8) Kubota, S. *et al.*: *Chromosoma*, **102**, 163 (1993)。
- 9) Kubota, S. *et al.*: *Genetica*, **111**, 319 (2001)。
- 10) Goto, Y. *et al.*: *Chromosoma*, **107**, 17 (1998)。
- 11) Kojima, N. F. *et al.*: *Chromosome Res.*, **18**, 383 (2010)。
- 12) Fujiwara, M. *et al.*: *Genetica*, **135**, 355 (2009)。
- 13) Smith, J. J. *et al.*: *PNAS*, **106**, 11212(2009)。
- 14) Smith, J. J. *et al.*: *Nat. Genet.*, **45**, 415(2013)。