

# 遺伝子・環境が同じメダカを頭の斑点で識別 —均質な実験動物のバイオメトリクス—

## 概要

森泉元医学研究科博士後期課程学生、杉本直三同教授、上野智弘同助教の研究グループは、均質な環境下で飼育された近交系メダカにおいて、頭部の斑点を利用して個体を識別する手法を確立しました。

メダカは近年のゲノム編集技術の進歩に伴い、人間で発症する病気を模した動物モデルとして利用されています。アルツハイマー病などのゆっくりと進行する病気の研究では、どのような症状が現れ、薬や運動がどのように効くかを、長い期間にわたって個々の動物で観測することが望まれます。しかし、動物実験では、遺伝子（生まれ）も飼育環境（育ち）も同じ動物が必要とされるため、遺伝子・環境が同じメダカを区別する方法は確立されていませんでした。本研究では、メダカの頭部に存在する黒い斑点に着目し、斑点のパターンの時間的な変化や個体ごとの違いを検証しました。その結果、4週間ごとにデジタルカメラで撮影・記録された頭部の斑点パターンからメダカを特定できることが分かりました。このシンプルな特定手法は、メダカを利用した医学・創薬研究へのバイオメトリクスとしての貢献が期待されます。

本成果は2023年1月12日に、国際学術誌「*Scientific Reports*」にオンライン掲載されました。

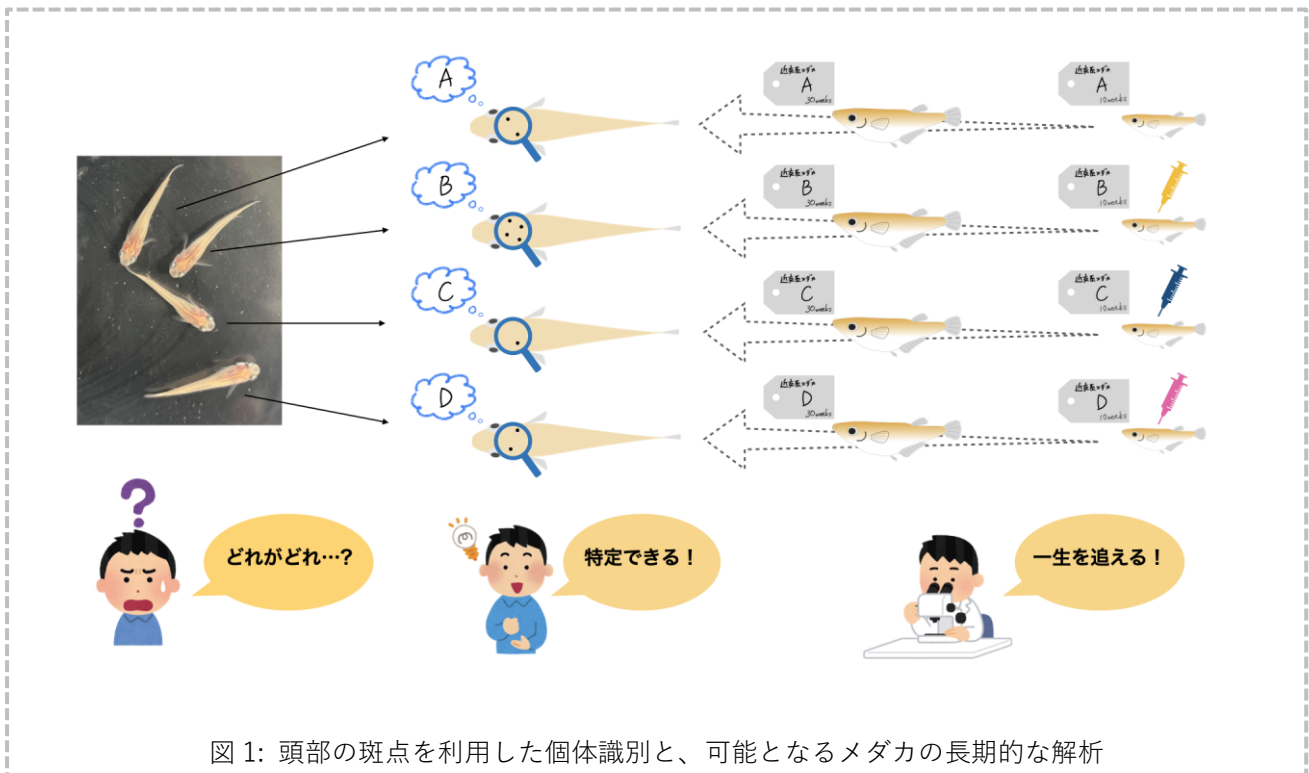


図1: 頭部の斑点を利用した個体識別と、可能となるメダカの長期的な解析

## 1. 背景

メダカは遺伝学や発生生物学において古くから用いられてきた実験動物であり、近年ではゲノム編集技術の進歩に伴って、ヒト疾患モデルとしても利用されています。疾患モデル研究、特に神経変性疾患<sup>\*1</sup>のような遅発性疾患の研究や創薬研究では、疾患の発症や進展に個体差が生じるため、各個体を長期間に渡って追跡し、解析することが望まれます。そのために必要となるのが個体識別です。しかし、畜産業や水産業で利用されるタグ付けや入れ墨といった手法は、動物の生存率や行動等に影響を与える可能性があり、実験動物への適用は慎重に検討する必要があります。また、実験動物は遺伝的・環境的均質性<sup>\*2</sup>が重要であるため、外見的な違いも小さいと推測されます。各個体を隔離して個別に飼育することも可能ですが、成長速度や高い社会性を持つメダカの行動を変化させてしまうかもしれません。こうした理由から、これまではメダカに一切の影響を与えずに個体識別を行うことは困難でした。

そこで本研究グループは、メダカの頭部に存在する黒い斑点に着目しました。この斑点はメラノフォア<sup>\*3</sup>によって形成されていると考えられ、肉眼でも観察できるため、デジタルカメラで簡単に記録できます。本研究では、近交系<sup>\*4</sup>メダカの斑点の分布パターン（数や位置）を様々な時間間隔で記録し、その変動や個体差を検証することで、メダカのバイオメトリクスとして確立することを目指しました。

## 2. 研究手法・成果

本研究では、最初に近交系メダカ（Hd-rR 系統）6 個体の斑点パターンを、デジタルカメラを使い 34 週間にわたって様々な時間間隔で記録しました。その結果、時間経過に伴って斑点の消失や出現といった変化が生じるものの、4 週間間隔であればその変化は小さく、各個体を追跡可能であることが明らかになりました（図 2）。次に、30 個体の斑点パターンを比較したところ、全ての個体が区別可能な異なるパターンを有していました。また、この 30 個体の斑点パターンを 4 週間間隔で記録した画像セットを利用し、3 人の被験者に対して識別テストを行ったところ、被験者全員が全ての個体を識別することができました。以上の結果から、頭部の斑点パターンを 4 週間ごとに記録していくことで、近交系メダカのバイオメトリクスとして利用可能であることが明らかになりました。

さらに、非近交系メダカの中でも特に広く利用されている Cab 系統の一種である Kyoto-Cab 系統を利用して同様の識別テストを実施したところ、非近交系メダカでも斑点パターンをバイオメトリクスとして利用可能であることが分かりました。

## 3. 波及効果、今後の予定

本手法により、侵襲的な操作を伴わず、飼育環境の均質性も維持したまま、メダカの個体識別を行うことが可能となりました。これまでに検討されてきた手法と比較して、メダカに与える影響が極めて小さいため、医学・創薬研究におけるメダカの長期観察において、より正確な結果を導くことが可能になると考えられます。また、本手法はデジタルカメラとコンピュータがあればどの実験施設でもすぐに実施可能であるところも大きな利点です。今後は画像処理や機械学習と組み合わせ、識別の自動化を目指したいと考えています。

識別の手法とは別に、近交系という遺伝子がほぼ完全に同じで、ほぼ同じ環境で育てられたメダカでも、なぜ個体を特定できるほど頭の斑点のパターンが異なるのかについては、今後の更なる研究が必要です。また、本研究で用いた近交系と非近交系は、遺伝子の均質性だけでなく、メラノフォアに関する遺伝子も異なっていますので、近交系と非近交系のメダカでの斑点パターンの違いについても、さらに比較と検証が必要となります。

#### 4. 研究プロジェクトについて

本研究は

- 日本学術振興会科学研究費補助金「基盤研究 B (JP20H03623)」
- ナショナルバイオリソースプロジェクト メダカ

の支援を受けて実施されました。

##### <用語解説>

- ※1 **神経変性疾患**: パーキンソン病やアルツハイマー病のような、神経細胞の機能が障害される疾患の総称。
- ※2 **遺伝的・環境的均質性**: 実験動物の遺伝的な背景や、飼育・実験環境の均質性。動物実験には遺伝的要因と環境的要因の2つが大きな影響を与えるため、これらが不均質であると実験データにはばらつきが生じてしまう。そのため、これらが均質になるようコントロールすることが正確なデータを得るために重要。
- ※3 **メラノフォア**: 黒色素胞。メダカの体表面に存在する色素胞（色素細胞）の1種。内部に黒い色素であるメラニンが存在している。メダカは黒色素胞に加え、白色素胞、黄色素胞、虹色素胞を持つ。
- ※4 **近交系**: 20世代以上の兄妹交配を繰り返し、遺伝的にほぼ同一とみなせる系統。本研究では97世代を使用。

##### <研究者のコメント>

我々の研究グループでは疾患モデルメダカの経時解析に取り組んできましたが、良い個体識別法が存在せず、それが大きな悩みのひとつでした。様々な手法を考え実際に試していく中で、本手法にたどり着き、成果として発表できたことを嬉しく思います。また、本手法が、メダカを利用した医学研究や創薬研究のさらなる質の向上に貢献することを期待します。(森泉)

##### <論文タイトルと著者>

タイトル: Individual identification of inbred medaka based on characteristic melanophore spot patterns on the head (頭部の特徴的なメラノフォア斑点パターンに基づく近交系メダカの個体識別)

著者: Hajime Morizumi, Naozo Sugimoto & Tomohiro Ueno

掲載誌: *Scientific Reports* DOI: 10.1038/s41598-023-27386-w

< 参考図表 >

a



b

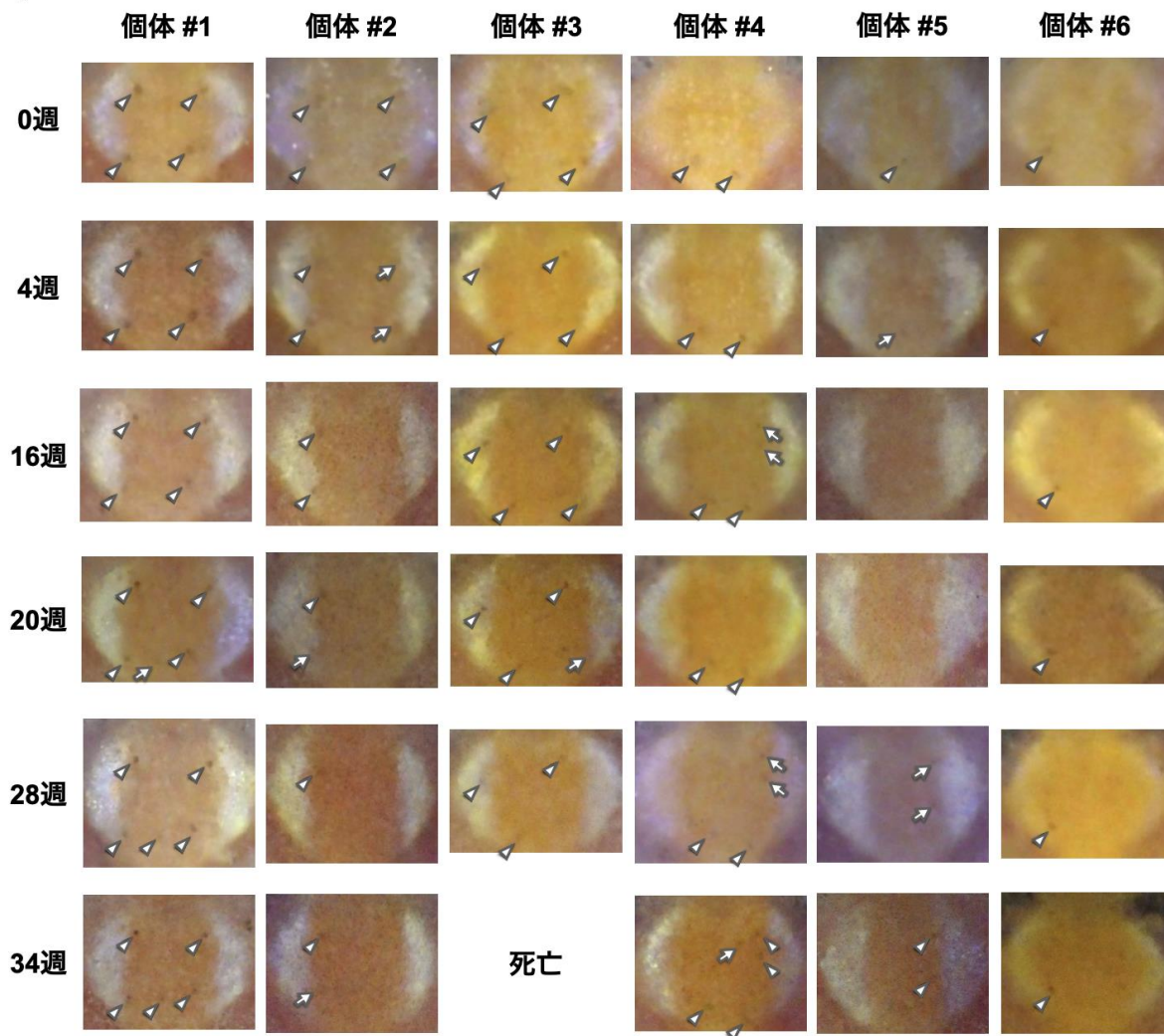


図 2: 近交系メダカの頭部の斑点パターンと時間変化

(a) デジタルカメラで撮影したメダカ画像の頭部領域を四角く切り取り（赤枠）、その中の斑点パターンを記録しました。

(b) 近交系メダカ 6 個体の斑点パターンを、34 週間にわたって 6 つの時点で記録しました。時間経過に伴い斑点の出現や消失が認められましたが、4 週間隔ではその変化は僅かでした。矢印が斑点、矢頭がその前後の時点で変化した斑点を示しています。