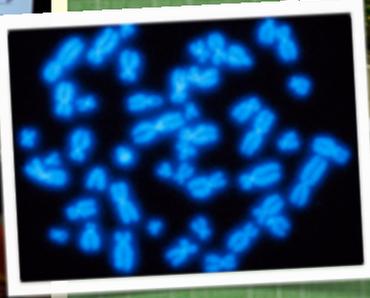




# かずさDNA研究所ニュースレター

第26号

2010年2月4日



## \* 公開講座を開催しました。

今年度の公開講座は従来とやり方を変え、1月16日と1月30日の2回、外部の方を含む3人の講師に、それぞれのテーマに沿って講演していただきました。

第1回(1月16日)の講演には113名の方々が参加されました。まず舂本細胞工学研究室長が、細胞分裂に際して染色体が両極に分かれる際に中心となる「セントロメア」の構造について解説し、さらにその構造を基盤として作成した「人工染色体」について紹介しました。動画により細胞分裂の観察を疑似体験できたことが印象深かったようです。

続いて、千葉県がんセンター・発がん制御研究部の上條 岳彦氏により、がんになると染色体に何が起こるのか、またそれをどのようにして調べるのか、さらに、発がんの際にアクセルとブレーキの役割を果たす遺伝子や小児がんの話題などについて講演していただきました。聴衆の方々からは、今後のがん研究に期待する声が多く寄せられました。

最後に小原ヒトゲノム研究部長が、DNAの変異が原因で起こる病気について、花粉症や原発性免疫不全症(PID)の研究を軸に説明しました。ヒトゲノムの研究

がどのように私たちの生活に関わっているのかの一端をご理解頂けたかと思います。

第2回(1月30日)には104名の方々が参加されました。最初に柴田産業基盤開発研究部長が、環境・食糧・人口問題の現状について説明し、その上で、DNA研究で何がどのように解決できるのかについて、ここ数年話題になっている「バイオ燃料」の問題を取り上げました。再生可能なエネルギー資源としての植物の力を認識していただくことが主眼点でした。

続いて、(株)みらいの鳴村 茂治氏より、葉野菜を人工環境下で生産する新しい農業空間としての「植物工場」の紹介がありました。味、コスト、生産可能な植物種など、まだ解決しなければならない問題が多いようですが、多くの方がアンケートに今後の発展に期待する旨のご意見を寄せておられました。

最後に田畑植物ゲノム研究部長が新しい育種法について解説しました。新しい品種を作り出すいろいろな局面で広くDNA技術が活用されている状況や、今後予想される地球規模の食料不足に対処するためには、遺伝子組換え技術の普及が不可欠だという考えがどのように受け止められたのでしょうか？



財団法人 かずさDNA研究所 <http://www.kazusa.or.jp/>

〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-6-7 TEL : 0438-52-3956 FAX : 0438-52-3901



## 研究施設・機器の紹介 (9)

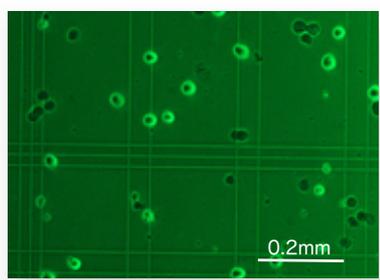
今回は数種の顕微鏡について紹介します。

生物のいろいろな構造を詳細に観察することは生物学の基本のひとつです。わたしたちヒトを含む生物の体を構成する細胞に核や染色体があり、生命活動のいろいろな局面で動的に変化しつつ働いているということも顕微鏡の進歩により解明されてきたものです。

しばしば、「DNAの二重らせんは顕微鏡で見えますか？」という質問を受けますが、DNAの二重らせんの直径は2.5 nm (0.0000025 mm) ですから、残念ながら波長がそれよりずっと長い400~800 nmの可視光(赤から紫までの通常の光)を光源として使う光学顕微鏡では見ることはできません。DNAを見るためにはより波長の短い電子線を用いる電子顕微鏡を使う必要があります。

『電子顕微鏡』には透過型(TEM)と走査型(SEM)があります。透過型では試料の薄い切片を通り抜けた電子を蛍光板に衝突させて試料の像を得るのに対し、走査型では試料の表面に細く絞った電子線を当て、その結果生ずる二次的な電子線を捕捉して像として表示するのです。TEMでは0.1 nm、SEMでは1 nm程度の分解能が得られます。この値はほぼ原子の「大きさ」に等しく原子や分子を直接観察できることとなりますので、DNAの二重らせんから直接塩基配列を読み取るという研究も行われています。

顕微鏡は日常の研究の様々な場面で用いられています。まず、実験に用いる細胞がきちんと増えているかを確認するために、100倍程度の倍率の『光学顕微鏡』に「血球計算盤」と呼ばれるスライドガラスに細かい目盛りがついたものを載せ、定時的に細胞の数を数えます。また、ヒトやマウスの培養細胞のように培養皿の底に貼りついて増殖する細胞を観察するには、対物レンズが上向き



ヒトの細胞を載せた血球計算盤  
中央より下の正方形の一マス当り一個の細胞があると、細胞の濃度は1 ml当り100万個と計算されます。

透明な培養細胞や線虫などを観察する際に透過光のままだと観察しにくいので、光が波の性質を持つことを利用して、透明な標本の像に一種の「影」をつけることができるようにした『位相差顕微鏡』という顕微鏡もあります。これを用いると、透明な細胞内の核や染

色体を染色しないで観察することができます。

動物の脳などのように、形や働きの違いからなる組織は、スライドガラス上に薄く載せた組織切片を特殊な染色液で染めて光学顕微鏡で観察します。紫やピンクに染められた染色体や組織切片の写真などを生物の教科書・参考書でご覧になった方も多いと思います。

組織や細胞に含まれる特定のタンパク質を識別するには、2008年のノーベル化学賞で有名になったGFP(オワンクラゲのもつ緑色の蛍光タンパク質)などが用いられます。GFPというタンパク質は、395 nmの紫外線を当てると、励起されて509 nm(緑色)の光を蛍光として放射するという性質をもっています。現在では、もとのGFPの遺伝子を人工的に改変して作った変種が多数あり、赤色から青色までの波長の異なる蛍光を発する7種類のもので作られています。ですから、複数の遺伝子に異なるGFPの変種の遺伝子を結合して観察することにより、どの遺伝子の作るタンパク質がどこで働いているかを同時に観察することもできるようになっています。

GFPのような蛍光タンパク質を観察するには『蛍光顕微鏡』を用います。蛍光照明装置には強い光を発する水銀ランプや特定の波長の光を通すフィルターなどが入っています。水銀ランプは劣化が早いことや、発生する熱による試料の損傷が問題になっていましたが、最新の蛍光顕微鏡では、光源が熱を少ししか発生しない発光ダイオード(LED)のものもあります。

GFPによって生細胞の内部構造が容易に観察できるようになると、微速度撮影装置などがついた蛍光顕微鏡が登場してきました。この装置では一定時間毎に特定の波長の光を当てて撮影することができますので、細胞分裂の過程でどの遺伝子がどこで働いているかなどがより詳細にわかるようになりました。

詳細で鮮明な画像データを得るためには、強い光を当てる必要があります。この問題を、『共焦点(コンフォーカル)レーザー顕微鏡』と呼ばれる顕微鏡では、レーザー光を光源に用いて焦点位置にのみ光を当てるようにすることで解決し、より鮮明な画像が得られるようにしました。微細な構造を観察するためには外部からの迷光が問題になることから、多くの場合、これらの顕微鏡は暗室内で使用されます。



展示室にある蛍光顕微鏡



植物のシスプレニルトランスフェラーゼ研究

NEDO基盤研究チーム  
研究員 佐野 亮輔



図1：パラゴムノキの農園 (左) と幹からの乳液採取 (右)

私は、植物の生産するイソプレノイドと呼ばれる一連の物質に関する研究を進めています。具体的には、シスプレニルトランスフェラーゼ (cPT) という、イソプレノイドを繋げて高分子化する酵素の機能について、シロイヌナズナを使って解析しています。

研究の背景であるパラゴムノキは、現在天然ゴム生産を支える唯一の植物であり、タッピングと呼ばれる、幹に少しずつ傷を付けるやり方で、継続的に乳液が採取されます (図1)。天然ゴムから作られる主要な製品はタイヤですが、石油を原料とする合成ゴムに比べて丈夫であり、パラゴムノキが取り込む二酸化炭素の10~20%を継続的に乳液として収穫できます。

天然ゴムは、主成分のポリイソプレンが他の化合物と複合した超高分子で、数百万の分子量を持っています。cPTは、基本となるイソプレンを重合してポリイソプレンを作る酵素であり、パラゴムノキの乳液に見出され、ゴムの品質にも大きく影響を及ぼします。しかしこの酵素はパラゴムノキだけではなく、他の植物や、動物、菌類、バクテリアにもあります。このことから、cPTが生物共通の基本的な機能を持つ可能性が考えられ、実際にパン酵母では、cPTの遺伝子を壊すと生きていけないことが知られています。

パラゴムノキの乳液で見られるcPTの機能は、パン酵母で見られる必須の機能とは違った派生的な機能であると考えられます。そのような理由から乳液を作らないシロイヌナズナで解析を始めたのです。シロイヌナズナのゲノムには、パン酵母と異なり9個ものcPT遺伝子が存在し、それらは進化的に異なる2つのグループに

分かれることがわかりました。

私はこのうち、パラゴムノキの乳液のcPTに一番良く似た遺伝子をUPPS1と名付け、この遺伝子が壊された変異体を手に入して解析しました。図2に示しますように、この変異体では、葉、茎、花は野生型と差がないのですが、野生型と違って種子の色が濃く、少ししわが寄った感じに見えます。シロイヌナズナの種子は水に入れると吸水したペクチン多糖の層が周りを覆うのですが、変異体ではこれが見られません。さらに、野生型では規則的な模様となって見える種皮表面の構造が変異体ではうまく形成されていませんので、

今月のキーワード

～「研究最前線」にでてきた言葉の解説～



シロイヌナズナ：ナズナに似た白い花をつける小型のアブラナ科の植物 (「イヌ」とは似て非なるものの意) で、栽培が容易で最短約1ヶ月で種子を収穫でき、狭い面積で多数の個体を扱うことができることから実験植物として世界中で用いられています。当研究所も参加した国際協力チームにより、2000年に高等植物として初めてゲノムが解読されました。

ゴム：パラゴムノキは学名の *Hevea brasiliensis* にも示されているように、もともとブラジル産のトウダイグサ科の木であり、現在は熱帯地方の国々で広く栽培されています。この木の樹液から採れる炭素と水素から成るイソプレレンという化合物が沢山結合した長い分子が天然ゴムであり、それを加工していろいろなゴム製品が作られます。ただし、本文にもありますように、パラゴムノキ以外にも、ユーカリやイチジクの仲間の植物 (観葉植物のインドゴムの木など) の樹液からもゴムを作ることができます。

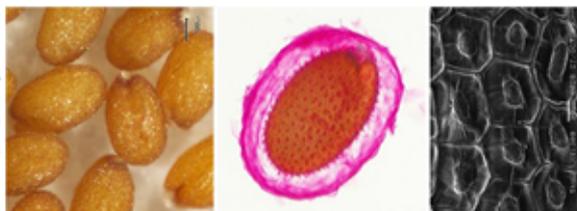
遺伝子の重複：生物のゲノムには時に特定の遺伝子が重複して存在していることがあります。進化の過程である遺伝子が重複し、その後重複した一方の遺伝子に変異が生じた結果、類似した、しかし異なる機能をもった遺伝子となったと考えられる場合もあります。また、構造も機能もほとんど同じで、その遺伝子から作られるタンパク質やRNAが多量に必要なために重複したと考えられる例もあります。さらに、これらとは直接関係ありませんが、生物のゲノムにはもともと他の生物の遺伝子だったと考えられる遺伝子も多数あり、ゲノム中の遺伝子の成り立ちは単純ではありません。

UPPS1遺伝子が壊された変異体では、種皮が正常に作られなくなるのだと考えています。

一般に、ある生物が複数の似た遺伝子をもつ場合、そのうちの1つが壊れても他の似た遺伝子が働くことで変異が現れないことが多いのですが、UPPS1遺伝子の働きは他の遺伝子が代替できないので、変異体を得ることができたのだと考えられます。

現在、どのようにして変異体の性質が現れるのかの具体的な説明はまだできませんが、植物のcPTの機能の一端が初めて明らかになりましたので、より詳細に解析を進めていきたいと思っています。そもそも、乳液(天然ゴム)を作る植物で、乳液が植物自身の何に役にたっているのか良くわかっていません。植物のcPTの研究が、パラゴムノキの天然ゴム生産の改善という実用面だけでなく、植物の持つこうした謎を解き明かす手がかりになればと考えています。

野生型



変異体

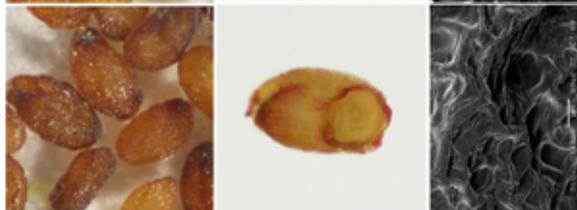


図2：シロイヌナズナのUPPS1遺伝子の変異体の種子(下列)。野生型(上列)と異なり、種の色は黒っぽく(左)、吸水すると現れる種子を包むペクチン層(赤く染色してある)がありません(中)。表面を拡大すると、規則的な模様に見える表面構造を失っていることがわかります(右)。

## 遺伝子間の相互作用を網羅的に解析する

生命現象の基本的なカタチは、酵母からヒトまでとてもよく似ています。大きさに言うと、ヒトの細胞は酵母細胞を複雑に改造したもの、といえます。

出芽酵母は古くから遺伝学の分野で用いられており、様々な方法でそれぞれの遺伝子の働きが調べられてきました。その方法のひとつが遺伝子を薬剤耐性遺伝子などと置き換える「遺伝子破壊法」と呼ばれるものです。細胞の生育に必要な遺伝子ならば、壊せば生育できないので容易にわかるのです。

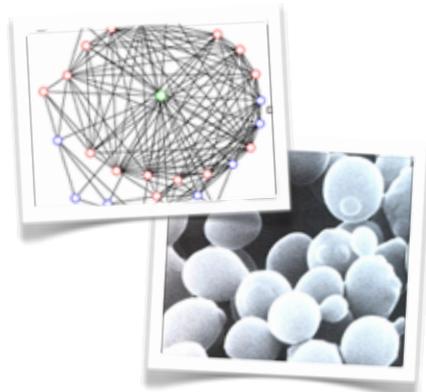
出芽酵母には約6,200の遺伝子があると予測されており、そのほぼすべての遺伝子を破壊する実験が行われています。その結果は、約1,100の遺伝子は壊すと致死とな

りますが、その他の遺伝子は破壊しても何の問題もおきません。

このような時に、別の遺伝子を同時に壊してみます。もし二つの遺伝子が機能的に関係しているならば、両方を壊したら破綻が生じますので、それによって遺伝的相互作用が確認できるのです。

かつてはそれぞれの遺伝子についてひとつずつ地道に潰していくという実験を行っていたのですが、最近カナダの研究グループは、これを遺伝学的手法と微細加工のできるロボットを組み合わせる方法を開発し、短時間で約2,000の遺伝子間の540万もの相互作用を解析することに成功しました。そして、互いに関係をもつ遺伝子をつなぐことで、似た機能を持つ遺伝子が集まってみえるというネットワーク地図を描いたのです。

今後は、このような大量解析で得られた結果をもとにして、それぞれの遺伝子の働きを個別に調べていきます。このような解析が、より複雑なヒト遺伝子の研究の基礎となるのです。



<今月の花>  
ヤマルリソウ  
*Omphalodes japonica*  
ムラサキ科  
(2009年2月17日撮影)

早春の山道で出会う瑠璃色の花を咲かせる草丈の低い植物であり、ヤマルリソウの名の通り、つつまじやかな美しさを見せてくれる。この花の種子は非常に変わっており、可愛らしい花の種子とは大分趣が異なる。