

新春のご挨拶
田畑哲之 所長

かずさDNA研究所ニュースレター 第58号
発行日 平成29年1月15日 (年4回発行)
企画・編集/公益財団法人かずさDNA研究所 広報・社会連携チーム
ニュースレターは以下のサイトからも閲覧できます。
<http://www.kazusa.or.jp/j/information/newsletter.html>
[配信登録: ニュースレターの発行をメールでお知らせします。]

かずさDNA研究所

公益財団法人 かずさDNA研究所
〒292-0818 千葉県木更津市かずさ鎌足2-6-7
TEL: 0438-52-3900 FAX: 0438-52-3901
<http://www.kazusa.or.jp/>
E-mail: nl-admin@kazusa.or.jp

特集: 古代DNAの解析

研究紹介:

「DNAマーカーの開発・利用」技術講習会
遺伝子変異による病変の予測

P02. 活動報告

千葉県野生生物研究会のDNA研修会
長生高等学校のSSH生命科学講座
開所記念講演会開催結果

P12. どんなゲノム こんなゲノム

「地上最強生物」のゲノム
タバコとがん

P14. 遺伝子ってなんだろう?

ヘビのからだのつくり方
熱による痛みを感じない動物

P16. 挑戦! あなたもゲノム博士

58

2017 JAN

千葉県野生生物研究会のDNA研修会

千葉県野生生物研究会は県内の高等学校の教員を中心に県内の生物調査を実施しています。活動の一環として、去る8月29日に当研究所においてDNA研修会が開催されました。内容は「千葉県に生息する二ホンイシガメの雑種のDNA抽出実験および塩基配列に基づく個体群動態の分析」で、検見川高等学校、市原八幡高等学校と敬愛大学八日市場高等学校の生徒19名と教員6名により、採取したカメ151個体の血液からDNAを精製・解析し、二ホンイシガメと外来種であるクサガメの雑種の割合などを分析しています。



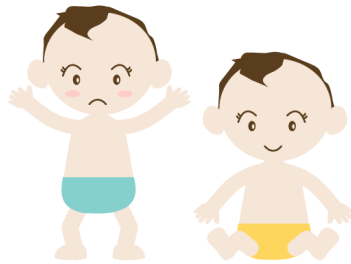
長生高等学校のSSH生命科学講座

長生高等学校との連携事業は3年目となり、SSH生命科学講座の内容もより充実してきました。11月9日と16日には約40名の生徒が来所し、各2時間の実習の中で、制限酵素とDNAリガーゼを用いた遺伝子クローニング、大腸菌の形質転換や大腸菌内での深海エビの遺伝子発現など、遺伝子組換え技術の基本操作を体験しました。具体的には、深海エビの発光酵素遺伝子を大腸菌に導入し、深海エビの発光を再現することができました。



問題4

ヒトは通常両親からそれぞれ23本の染色体を受け継ぎますが、個々人のもつゲノム配列が全く同じなのはどの組み合わせでしょうか？



- A: 親と子供
B: 兄弟や姉妹
C: 二卵性の双子
D: 一卵性の双子

問題5

1996年に世界で初めて乳腺細胞由来のクローン羊が誕生しました。スコットランドのロスリン研究所で生まれ育ったこの羊の名前はなんですか？



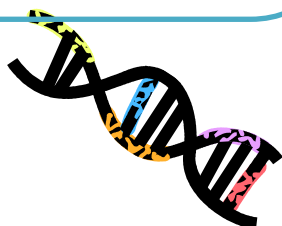
- A: トミー B: ジミー C: ケリー D: ドリー

問題6

1997年公開のアメリカSF映画で、遺伝子操作により管理された近未来社会を描いた「ガタカ」の英語タイトルはどれでしょうか？



- A: GATTACA
B: TAGGACA
C: CATTAGA
D: GACCATA



開所記念講演会開催結果

10月29日土曜日、かずさアカデミアホール 202会議室を会場に「第22回かずさDNA研究所開所記念講演会」を開催しました。390名の皆様のご参加ありがとうございます。

「日本の未来を変える！？-人工知能とは-」

講師：中尾 悠里氏

(株) 富士通研究所人工知能研究センター

パーソナルロボットや自動走行車が開発され、チェスや囲碁で世界チャンピオンに勝利するなど人工知能(AI)の話題をメディアで多く見かけるようになりました。では、人工知能とはどのような技術で、私たちの生活をどう変えていくのでしょうか。

講演では、人工知能の歴史を振り返りながら、機械学習、ディープラーニングなどの関連技術について例をあげてご紹介いただきました。最後に、人工知能が学習できるデータを増やすための取り組みや、医療分野などへの応用例が紹介されました。10年後、私たちと人工知能の関係はどうなっているのか、非常に興味深い話題でした。



「シバの常緑性を科学する-未来への挑戦-」

講師：明石 良氏 宮崎大学農学部 教授

ゴルフ場や競技場、公園や庭に植えられているシバはアフリカから東アジア、オーストラリアにかけて分布しています。日本には、主にノシバ(ジャポニカ)、コウシュンシバ(マトレラ)、コウライシバ(パシフィカ)の3種が自生しています。

講演では、日本列島のシバ属の自生地を回って採取したシバの系統の調査と、宮崎大学がかずさDNA研究所と共同で行っているDNAによるシバ属の解析について(2016年3月論文発表)、マトレラはジャポニカとパシフィカの交雑種と考えられること、また、それぞれの種の耐塩性、休眠性と常緑性の違いについて説明いただきました。

最後に、現在取り組んでいる常緑性のシバ系統の育種についてご紹介いただきました。庭に芝生を張っている聴衆の方も多く、熱心に話を聞かれていました。

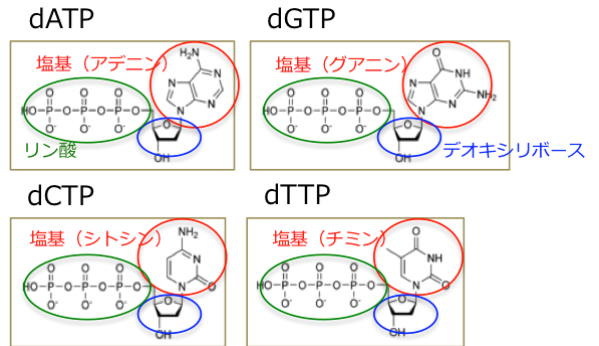


挑戦！あなたもゲノム博士

このコーナーではゲノムに関するクイズを出題します。答えはかずさDNA研究所のHPに掲載。
(<http://www.kazusa.or.jp/j/information/newsletter.html>)

問題1

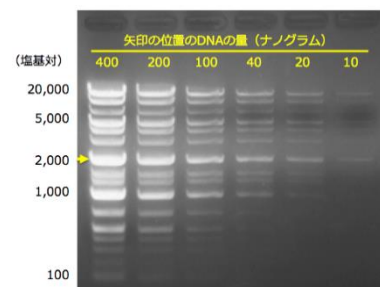
DNAは、デオキシリボース、塩基とリン酸から構成されていますが、水の中では電気的にどのような状態になっているのでしょうか？



- A: プラスに荷電 B: 電気的に中性
C: マイナスに荷電 D: プラス/マイナスが交互

問題2

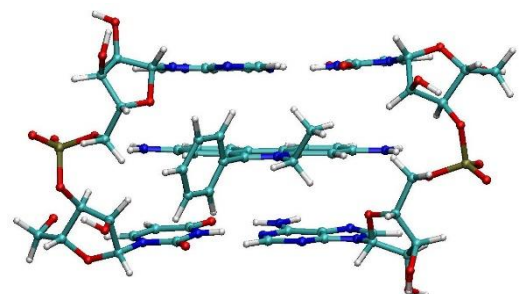
DNAは水中でマイナスに荷電しているので、電場をかけるとプラス極へ移動します。この原理を利用したのがDNAのゲル電気泳動ですが、この手法でDNAの何がわかるのでしょうか？



- A: 長さと同列 B: 長さと同量
C: 長さと同分子数 D: 配列と同分子数

問題3

DNAは小さな分子なので、ゲル電気泳動したDNAを直接見ることはできません。DNAに特異的に結合して間接的にDNAを観察するために用いられる試薬はどれでしょうか？



- A: 臭化エチジウム B: ヨウ化ナトリウム
C: 塩化ナトリウム D: 塩化セシウム



熱による痛みを感じない動物

ネズミの仲間なのに30年も生きるハダカデバネズミは、地中に集団で棲息しています。外見も変わっていますが、長寿のほか、がんになりにくかったり、炎症反応を促進する唐辛子の成分カプサイシンに抵抗性があるなど変わった特徴を多くもっています。

このハダカデバネズミは、熱に対する痛覚の反応がないことも知られています。ヒトやネズミが炎症や熱による痛みを感じる際には、炎症部位で産生した神経成長因子（NGF）が感覚神経の細胞表面にある受容体（TrkA）に結合して、痛みを増感させ、信号が脳に伝わります。そのため、痛みを感じることができない全身無痛症の患者さんに、NGFやTrkAの遺伝子に変異が見つかる場合があります。

ドイツとイギリスの研究グループが、なぜハダカデバネズミが熱を感じないのかを調べたところ、ハダカデバネズミのTrkA遺伝子のDNA配列が変化していることを見つけました。そして、細胞を使った実験で、ハダカデバネズミのTrkAはNGFの刺激に対する反応性が低いことを明らかにしました。

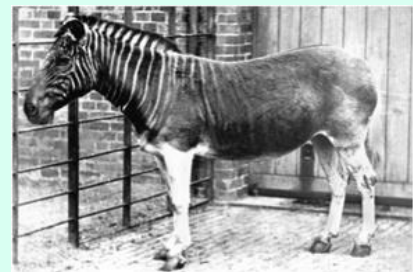
ハダカデバネズミは温度変化の少ない地中に住み、常に密集して肌をこすり合わせる生活の中で、熱に対する敏感なセンサーが必要なくなったのかもしれませんが。

2016年10月11日 Cell Reports

考古学や古生物学の分野でもDNAの研究が行われるようになってきました。例えば、現生生物のDNAから推定される種の分岐年代は正しいのか、古人類の骨や歯の形態の比較から得られる系統は遺伝的関係を反映しているのかなどのような疑問も、もし過去のDNAを直接調べることができれば、解決できるかもしれません。そのような古い標本からのDNA（古代DNA）の解析の今をご紹介します。

古代DNA解析の歴史

まだPCR法が発明されていない1984年に、約100年前に絶滅したクワツガ（Quagga）の皮膚標本から採取したミトコンドリアDNAを現生のウマ類と比較し、シマウマの仲間であることを確認したのが、古代DNA解析の先駆的研究とされています。



生きたクワツガの写真/1870年撮影
(Wikimedia Commonsより)

21世紀になって次世代シーケンサーが登場すると、後述するようにその解析方法が古代DNA解析に向いていたこともあり、2万8000年前の冷凍マンモスや4万3000年前から5万年前のネアンデルタール人に始まり、多くの生物の古代DNAが解析されるようになりました。

このまま技術が進めば、恐竜のDNAも解析できるのでは、と期待される方もでてくると思いますが、残念ながらDNAの半減期は521年と算出されており、およそ150万年あたりで意味のある配列はほとんど失われるだろうといわれています。約70万年前のウマのゲノムがほぼ最古の例になると考えられます。

個体の死後に起こるDNAの変化

生物が死ぬと、ゲノムDNAは自身の持つ酵素や微生物によって断片化され、50~60塩基以下の長さになります。また、塩基が化学的に変化し、別の塩基に近い形になることもあります。これまでの解析により、AとTの塩基の割合が高い領域は分解されて残りにくいこと、切断部位近くの配列は信頼性が低いこと、GとTの塩基が切断部位末端に多いことなどが分かってきました。

DNAサンプルの調製と解析

現在の解析装置の主流である次世代シーケンサーは、長いDNAを短く断片化して解析します。そのため、経年劣化により50~60塩基以下に断片化されている古代DNAは解析しやすいサンプルといえます。とはいえ、それらのDNAサンプルには、採取現場や周辺環境、実験者などから持ち込まれた目的外のDNAも含まれることもあり、古代DNAから得られるデータがわずかであることも多いのです。

また、古代人骨から信頼性の高いデータを得るためには、同じヒトである現代人DNAの混入に対して特に注意が必要です。例えば、サンプル採取の際に下顎の奥歯の根元などの汚染されにくい部分を用いたり、サンプルを扱う作業者を限定する一方で、複数の研究室で解析を行って結果を照合するなど正確性を期す工夫がなされています。



シーケンス装置で得られた多くの配列データから、古代DNAの解析用に開発されたソフトウェアなどを用いて古代DNA由来の配列データをフィルタリングした後、集団遺伝学的な解析を行い、結果を考察します。



ヘビのからだのつくり方

多くの動物では胚発生時に、手足などのできる場所を決める“体節”が体軸に沿ってつくりられます。爬虫類のなかでも、胴が長く、手足のないヘビはゲノム配列のどのような変化でその体を手に入れたのでしょうか。

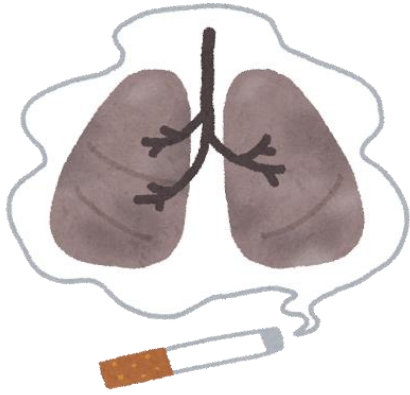
欧米の研究グループは、*Gdf11* 遺伝子を欠いたマウスで肋骨の数が増えることに気づき解析したところ、iPS細胞作製に必要な*Oct4* 遺伝子が、胚発生時に体軸の後方で発現していました。そこで、*Oct4* を体軸の後方で長く発現するようにしたマウスを作製したところ、肋骨が30本にまで増加しました。肋骨の多いヘビでも同様な*Oct4* の発現があり、*Oct4* の発現時間の長さが肋骨の数を増やし、胴の長さを決めていることが示唆されました。

また、米国のグループは、手足の形成に関わる*Shh* 遺伝子の上流部分であるZRSと呼ばれる領域のDNA配列を6種のヘビとシーラカンスやヒトなどと比較し、ヘビに特異的な17塩基の欠失を見つけました。そこで、マウスの同じ部分をゲノム編集技術を用いてヘビ型に変えたところ、手足のもととなる場所で*Shh* 遺伝子の発現がなくなり、手足が失われたマウスが誕生しました。

これらの研究は、遺伝子発現のちょっとした変化で見た目の変化が生じることを示しています。

2016年8月8日 *Developmental Cell*

2016年10月20日 *Cell*



タバコとがん

喫煙ががんの発症と関連があることは、疫学的調査やタバコに含まれる多種類の発がん物質により明らかですが、実際にタバコが私たちの体にどのような影響を与えているのかについては、まだよく分かっていないところがあります。

そこで日米欧の研究グループは、国際がんゲノムコンソーシアム (ICGC) が17ヶ国で収集したがんゲノムデータから、喫煙者と、喫煙歴の全くない人に生じた、17種類のがん (5243症例) のがんゲノム変異データを解析し、タバコがゲノムに与える影響を調べました。

すると、これまでの研究でも示されているように、喫煙者のがんでは突然変異が有意に多く見つかりました。その増加率を喫煙量で計算したところ、1年間毎日20本喫煙した場合に、肺で150個、喉頭 (のどの下方) では97個の突然変異が蓄積すると推計されるとのことです。

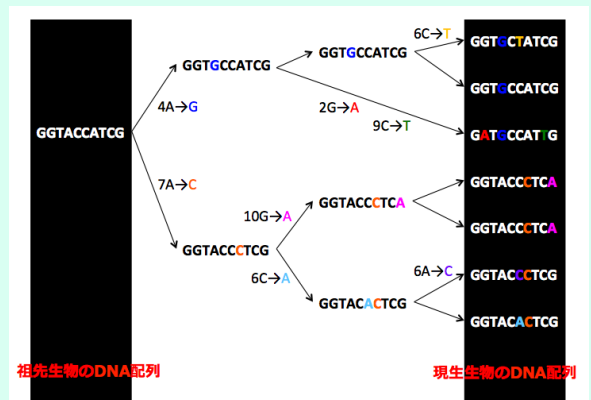
また、さまざまな部位にあるがん細胞の突然変異のパターンから、肺や喉頭、肝臓などではタバコに含まれる発がん物質の直接的な作用により突然変異が生じていること、膀胱や腎臓などでは、発がん物質とは異なる別の間接的な影響により突然変異が生じている可能性があることなどが分かりました。

日本では喫煙者のがんで死亡するリスクは、吸わない人に比べて男性で2倍、女性で1.6倍あるのだそうです。まずはその1本から、減らしてみませんか。

2016年11月4日 Science

DNA配列の比較

もし生殖細胞のDNAに変異が生じると、それが子孫に伝わる可能性があります。その変異が生存に有利な場合は集団内に広がり、有害な場合は淘汰されていきますが、どちらでもない (中立な) 場合はその変異がゲノムに蓄積していきます。ゲノムDNAに起きる変化のうち、A,T,G,Cの4種類の塩基の特定の場所での一塩基の違いを一塩基多型 (スニップ; SNPs) といいます。ヒト集団全体では約1000万個のSNPsがあり、共通するSNPsを持つかどうかで系統関係を辿ることができます。



DNAに変異が蓄積していくイメージ

古代DNAの解析技術の進歩により、世界各地の遺骨が研究され、初期人類の拡散ルートが徐々に明らかになってきています。日本はもちろん、中国や太平洋諸島の島々などから見つかった遺骨からも古代DNAの解析が行なわれているとのことですので、近い将来には「人類はどのルートで広がったのか」、日本人のルーツも明らかになることでしょう。



古人類のDNAが解析されている場所 (DNA Research, 2016, 23(4), 295-310. Figure 2)

赤紫: 鉄器時代、青: 青銅器時代、紫: 金石併用時代、赤: 新石器青銅器時代、緑: 新石器時代、黄: 中石器時代、水色: 旧石器時代

古代DNAから分かってきたこと

ドイツの研究グループによるネアンデルタール人のゲノムの解析から、アフリカ人以外の現代人は、ネアンデルタール人由来のDNA配列をもっていること、現代オセアニア人はネアンデルタール人以外の古人類（デニソワ人）由来のDNA配列ももっていることが分かりました。また、ユーラシア人におけるネアンデルタール人のDNAの割合は、石器時代には4～6%だったのが、現代人では1～2%に減少してきていることも分かっています。

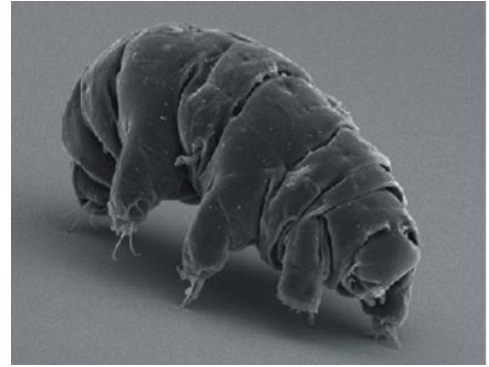
さらに、歯石に残る細菌のDNAとタンパク質の解析から、青銅器時代のユーラシアでペスト菌が流行したことや、新石器時代初期に農耕が広がるにつれて歯周病菌が増加したことなど、古代DNAによる過去の病気についての研究が進んでいます。

解析技術の進歩により、古代DNAの“修飾”も解析できるようになってきているのだそうです。ゲノムDNAの中の4つの塩基のうち、C（シトシン）についている水素がメチル基（-CH₃）に変わっているものがあり、これを「メチル化」といいます。最近の研究で、ゲノムDNAのメチル化のパターンから年齢が推測できる方法が提案され、このアプローチを応用することで、一部の骨しか得られていない古代人の死亡年齢を予測することが可能になっています。

古代DNAの解析は日本でも進んでおり、縄文遺跡に残るクリのDNAを調べたところ、中期縄文人が人為的にクリの木を植えていたことを示唆するデータなども出ています。日々の研究の進展により、有史以前の歴史像がより明らかになってきています。



参考文献：
2016年7月19日 DNA Research



「地上最強生物」のゲノム

「地上最強生物」と呼ばれることもあるクマムシという生物をご存知でしょうか？

クマムシは体長0.05～1mmぐらいの緩歩（かんぽ）動物門に属する動物で、乾燥させても仮死状態になって生きのびることができ、さらに、真空や大量の放射線にも耐えることができます。

東京大学を中心としたグループは、クマムシが極限的な環境に耐性を示す仕組みを明らかにする目的で、特に強い耐性を持つヨコヅナクマムシのゲノムを解析し、約2万個の遺伝子を同定しました。うち50%強は他の動物に似た遺伝子があり、40%が新規遺伝子、1.2%が微生物などに由来する外来遺伝子でした。

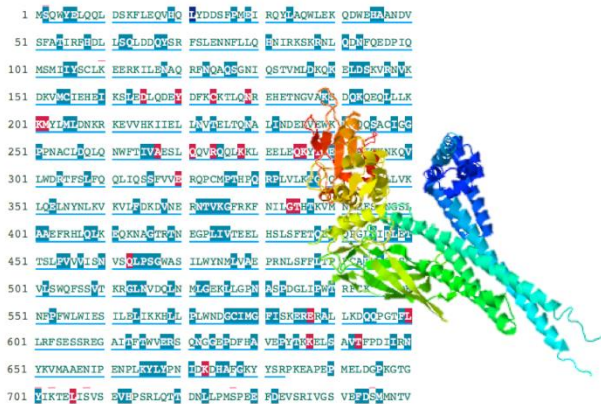
そのうち、Dsup (Damage Suppressor)と名付けられたクマムシ固有のタンパク質は、クマムシの核DNAに結合します。そこで、Dsupタンパク質をヒトの培養細胞に導入したところ、X線照射によるDNAの切断率が半分に減少し、また活性酸素による切断からもDNAが保護されていることが分かりました。

クマムシの研究が進むと、ヒトも放射線に耐えられるようになるのでしょうか。

2016年9月21日 Nature Communications

写真はオニクマムシ

https://commons.wikimedia.org/wiki/File:SEM_image_of_Milnesium_tardigradum_in_active_state_-_journal.pone.0045682.g001-2.png?uselang=ja



遺伝子変異による病変の予測

かずさDNA研究所と広島大学、岐阜大学、米国ロックフェラー大学との共同研究/国立研究開発法人日本医療研究開発機構 (AMED) のサポートによる

次世代シーケンサーが医療現場に導入されるようになり、患者さんのゲノムを調べることで、病気の原因となる変異を容易に見つけられるようになりました。しかし、病気の原因となる遺伝子の中には、変異が入った場所により全く異なった症状を示すものもあり、病気になる仕組みの解明と治療法の確立を難しくしています。

そこで研究チームは、それぞれの遺伝子変異によりどのような病変がもたらされるのかを高精度に予測する方法の開発に取り組みました。

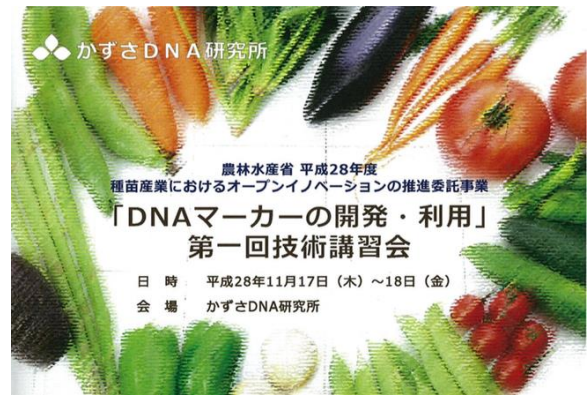
私たちの体を感染症などから守るのに働く遺伝子のひとつであるSTAT1を例として、遺伝子を人為的に改変し、変異の参照データベースを確立しました。そして、既知のSTAT1遺伝子変異と比較したところ、既存の予測方法より高い確率で症状を引き起こす変異かどうかなどを判定できることが分かりました。

このようなデータベースが他の遺伝子でも確立できれば、網羅的解析により同定される多数のアミノ酸置換から病気の原因となる変異を判定できることが期待されています。

図はSTAT1のアミノ酸配列 (青; 変異部位、赤; 疾患と関係する変異部位) と3次元構造モデル

A Hijikata, et al. Mutation@A Glance: an integrative web application for analysing mutations from human genetic diseases. *DNA Res.* 17, 3, 197-208, 2010.

2016年12月20日 *The Journal of Allergy and Clinical Immunology*



「DNAマーカーの開発・利用」技術講習会

かずさDNA研究所では、トマト、イチゴ、ダイコンやナスなどの有用作物の全ゲノム配列の解析を進めてきました。何で植物ばかり?と聞かれることもあります。ゲノムは生き物の設計図と言われますが、もし有用な植物の設計図があらかじめ分かっていたら、DNAを調べることで、多数の交配してできた植物の中から、有用な遺伝子をもっている個体を簡単に選別することができます。結果、品種改良の時間を短くすることができると期待されています。

形質の良い植物にはどのような遺伝子に関係しているのだろうか?自分が育てている植物には両親の形質がきちんと入っているのだろうか?このようなことを簡単な実験で調べるときに「DNAマーカー」というものを利用します。

当研究所では、この「DNAマーカー」を利用した植物の品種確認、品質管理や純度検定などに関わる研究や受託解析を行っていますが、この「DNAマーカー技術」を広く普及させることを目的とした技術講習会を開きました。

11月17日からの2日間で開催した「DNAマーカーの開発・利用」と題したこの技術講習会は、農林水産省の「種苗産業におけるオープンイノベーションの推進委託事業」の一環として行われ、全国23社の種苗会社から30名の方が参加されました。

技術講習会の実際

今回の講習会では、「DNAマーカーによる種子の純度検定」を行いました。どのような内容だったのでしょうか？皆さんもバーチャルでお楽しみください。

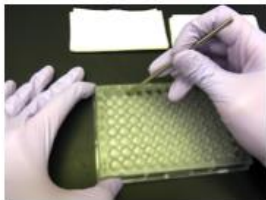


何を調べるの？

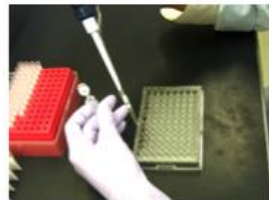
性質の異なる2つの品種を掛け合わせると、次の世代の子孫（F1）は、両親の良い性質が優先して現れますが、スーパーに並んでいる野菜のほとんどはこのF1品種です。両親のもつ遺伝子が次世代の種子にきちんと入っているのかを調べるのが、「F1種子純度検定」です。農家の方にもとても重要なポイントになります。今回はある植物の種子10粒のDNAを調べます。

種子からDNAを抽出しましょう！

種苗会社の方でも簡単に実験ができるように、DNA抽出の実験にはできるだけ安価で簡単な方法をご紹介します。



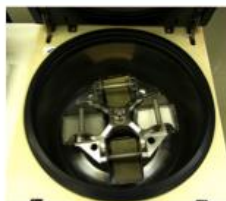
①96個のくぼみがあるプレートに入っている種子をヘラピンで切断



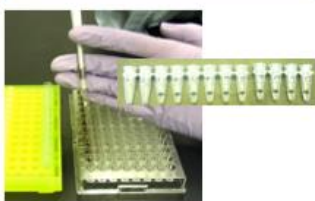
②切断した種子にDNA抽出試薬を加える



③プレートシェーカー（左）でサンプルを振とうした後、恒温器（右）で60℃・30分間反応させる



④プレート遠心機で遠心して、固形物と上清を分離



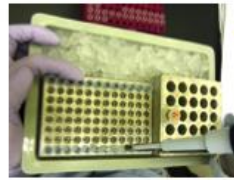
⑤DNA抽出液の上清の一部を滅菌水の入ったマイクロチューブに移して希釈



⑥ボルテックス（左）で希釈サンプルをよく混合し、卓上小型遠心機（右）で液を集め、98℃で2分加熱すると完成です

抽出したDNAの一部を増やしましょう！

DNAマーカーでの解析を行うためには、両親の間で異なる目印（=多型）があることが必要です。今回はF1にその違いが引き継がれる多型配列 [短い塩基の繰り返し配列（SSRマーカー）] を含むDNA断片をポリメラーゼ連鎖反応（PCR）で数百万倍に増幅します。



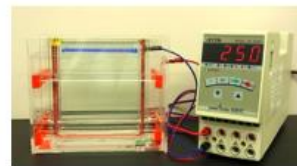
⑦PCR反応に必要な反応液が入った新しいマイクロチューブに、調製したDNA抽出液の一部を入れます



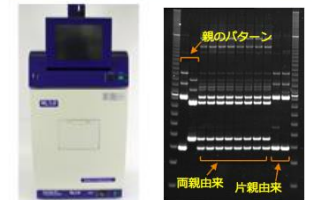
⑧PCR反応を行うサーマルサイクラーにマイクロチューブをセットし反応開始

増幅したDNAの長さを比較しましょう！

SSRマーカーは、系統が違うとその繰り返し配列の長さが異なるので、両親由来のSSRマーカーを含む2種類の長さの異なるDNA断片をもっていれば交配がうまくいったこととなります。そこで、ゲル電気泳動法によりPCRで増幅したDNA断片の長さを比較することによって、期待されるF1種子かどうかを判定できます。



⑨PCR反応液の一部をポリアクリルアミドゲル電気泳動で解析し、泳動後にゲル中のDNAを蛍光色素で染色します



⑩DNAを染色したゲルをゲル撮影装置で撮影し、結果を写真で保存します

純度検定の結果はどうだったでしょうか？

ゲル電気泳動の結果（上図右）を見てみましょう。左から2列目と3列目に両親のSSRマーカー由来のDNA断片のパターンが示されています。10粒の種子のDNA断片のパターンを見ると、8粒は両親由来で、2粒は片親由来のパターンでした。結果、F1種子純度は80%となります。

講習会では、実験のほか、「F1種子純度検定」、「DNAマーカーの探索・作成方法」、「DNA抽出法や多型検出法」などの講義も行われました。