



かずさDNA研究所ニュースレター

第30号

2010年6月2日



公開講座のお知らせ

2010年6月5日(土)に千葉県立中央博物館に於いて公開講座を開催いたします。詳細はホームページをご覧ください。

ページへのリンク → [公開講座](#)

* 「かずさの森のDNA教室」の開催について

かずさDNA研究所では、開所以来毎年の夏休み期間中に、母都市(木更津、君津、富津、袖ヶ浦)の将来を担う世代である中高生に、少しでも科学への興味を持ってもらうことを目的として「かずさの森のDNA教室」を開催してまいりました。

今年は以下の日程で実施することになりました。

日程：7月26日(月) および7月29日(木)

両日とも、10時から16時の予定

テーマ：DNA研究で用いられるPCR法を体験しよう

募集人員：両日とも20人

内容：DNAの性質に関する基本的な講義に引き続き、実験に使う機器やピペットなどの使い方を練習します。そのあと、DNAを部分的に増幅するための方法であるPCR法の実習を行ないます。PCR法は犯罪捜査などでも用いられる方法です。

両日とも同じ内容で開催いたしますので、どちらか都合の良い日を選んで参加して下さい。申込み方法はホームページでご案内しています。→[かずさの森HP](#)



研究最前線

1 滴の汗や血液から身体の状態を調べる ～ 高速で鋭敏な検出法の開発 ～

ヒトゲノム研究部 小原 収

これまでかずさDNA研究所では、遺伝子の構造解析を中心に研究を行ってきました。しかし、ヒトの健康問題を考えますと、遺伝子レベルでの解析に加えて、血液その他の採取可能な検体に含まれる特定のタンパク質分子の量を測定し、それによって身体の状態を調べる等の方法を開発することも重要です。従来の健康診断では、痛いのを我慢して数ミリリットルの血液を採取されるのが普通でした。もし血液や汗・唾液・涙などのほとんど目に見えない位の量で、しかも10分位の時間があれば同程度の検査結果が得られるとしたら、採血が難しい赤ちゃんや老人の検査には大きな福音になります。

これまでDNA研究の各種の分野では様々な解析技術



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

が開発され、それらが研究の進捗に大きな影響を与えてきており、その結果、解析対象とする試料の大幅な微量化と解析の迅速化が実現されてきています。そこで私たちは、そのような技術の発展を踏まえ、数年前から極微量のタンパク質分子などを解析するための装置の開発に取り組んできました。これまでに、10分程度の時間と1ナノリットル(10億分の1リットル)程度の血液があれば各種の解析ができるマイクロデバイスを開発しました(図1)。マイクロデバイスとは微小な流路を組み合わせた技術であり、lab-on-a-chip(チップ上に実現された研究室)とか μ TAS(微小統合分析システム)などと呼ばれています。私たちの開発した装置では高感度の蛍光を検出することにより、たった1個の蛍光分子でも検出することができます。さらに、千葉県に立地した企業と共同して、微量の血液試料からでも血球の細胞を分離できるように工夫したマイクロデバイスの開発も行っています。

今後の課題は、こうした新しい分析方法をどうやって実際の臨床の場で使ってもらえるようにするかです。私たちは、DNA研究の成果を健康問題の解決のために役立てるようにするべく、臨床研究者のグループとの連携を深めています。それによって、私たちが保有するマイクロデバイスなどの技術の実用化に向けた研究を進めることを目指します。その一環として、昨年度から開始された文部科学省の「都市エリア産学官連携促進事業」(平成22年度から地域イノベーションクラスタープログラムに統合され名称変更)では、千葉県に立地する企業を中心とする企業の方々と共に、各種のシーズ(種)となる技術の実用化へ向けた開発研究を進めています。

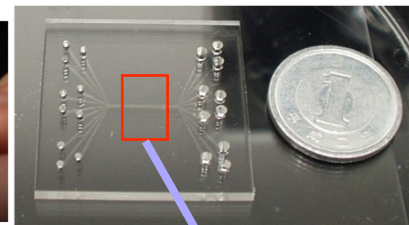
私たちは、どのような技術や知識も、一般の県民・市民の方々の生活に届くことがなければ意味が半減すると思っています。もちろん私たちは、研究者の当然の使命として、基礎研究のレベルを高めていく必要がありますが、同時に、得られた成果を活用できるようにすることも大切だと考えています。時には、そうした実用化や健康問題の解決を目指す中から、革新的な基礎研究の課題が見つかってくることもあるのです。私たちの研究は、本当に私たちが挑

まなければならない問題へ挑戦することでありたいと考えています。私たちは、様々な健康のバロメーターとなる計測技術の開発をその一環として進めて行く計画です。近い将来、かずさ発のマイクロデバイスを臨床の場でご覧いただけるようにすることを目指したいと思います。

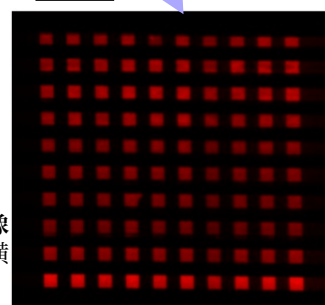
開発した診断用のマイクロデバイス
(右は大きさの比較用の一円硬貨)



百万分の一リットルの液
(赤い矢印の先に見える
青い液。1ナノリットル
はこのさらに千分の一)



タンパク質の蛍光検出像
を拡大したもの(左上の横
棒は長さ100ミクロン)



今月のキーワード

～「研究最前線」にでてきた言葉の解説～

マイクロデバイス：マイクロとは百万分の一のことであり、デバイスとは装置という意味です。したがって、マイクロデバイスとは、マイクロリットル程度あるいはそれ以下の量の試料を用いて各種の検査を行なうための装置という意味になります。技術的にもっとも困難な点は、そのような極微量の液体をどのようにしてスムーズに分析装置内で混合したり分画したりする流路に導くかということで、コンピューターの微細加工技術の基盤の上に、各種のDNA解析装置の開発で培われた技術が応用されています。

血液と検査：一般の健康診断で行われる血液の検査項目は多岐に亘っており、血球数を始め、各種の酵素の活性、コレステロールなどの量、ガンなどの指標となるマーカー値などの測定が行なわれます。例えば赤血球の数は、通常1マイクロリットル(1リットルの百万分の一)当り450万(女性)から500万(男性)ですから、1ナノリットル当りでは4,500-5,000個になります。ですから、含まれる分子の数としてはこれでも十分各種の測定が可能なるものであるということになります。

DNA研究と健康問題：病気には外来性の細菌やウイルスなどの感染によるものの他、遺伝的な原因によって起きるものがあります。さらに、遺伝的な原因による病気の中にも、環境の変化や加齢による生理条件の変化によって誘発されるものがありますし、細菌感染などによって起る病気でも、特定の遺伝子の組み合わせによって症状が重くなる場合もあります。今後DNA研究が進展すれば、個々の場合の最適な医療の方法がより明確になるでしょう。



DNA物語 (4)

これまでの3回の物語で、白血球の細胞核から物質として発見されたDNAと、「生物のもつ形や色などの性質がどのように親から子に受け継がれていくか」を調べる遺伝学の成り立ちとその発展について説明してきました。今回は、この両者がどのようにして結合するに至ったのかについての歴史を振り返ります。

前回述べましたように、キイロショウジョウバエを対象として精力的に行われた多くの研究によって、細胞内で遺伝子の存在する場所は染色体であり、さまざまな働きをする遺伝子が染色体上にならんで存在しているのだということが次第に明らかになってきました。そこで次に問題になるのが、それでは一体遺伝子とはどんな物質でできており、それがどのような仕組みで遺伝を司っているのかということになります。当時すでに、染色体は物質としてはタンパク質とDNAからできていることが明らかにされていきましたので、この問題は結局「タンパク質とDNAのどちらが遺伝を司る物質なのか」ということに帰着します。この問題について当時の研究者の多くは、「タンパク質には性質や大きさの異なる多くの種類があるが、DNAはどの生物由来のものも多様性に乏しく、化学的に類似している。したがって、遺伝子の本体はタンパク質であろう。」と考えていたようです。

ところで、この問題を考えていく上では、遺伝という現象をより一般的に定義する必要が生じてきます。それはつまり、メンデルが解析の対象とした花の色とか種の形、あるいはその後キイロショウジョウバエで研究された目の色、体毛や翅の形状などといった「遺伝的形質」は遺伝子によってどのように「決められるのか」ということを考えることです。

そのように遺伝現象の本質を考え、遺伝の仕組みを明らかにしようと迫った研究者の一人に、肺炎双球菌という病原菌を対象として研究していた、イギリス人のグリフィス (Frederick Griffith) という細菌学者がいました。肺炎双球菌には、S (smooth) 型と呼ばれる病原性をもつ型と、R (rough) 型という非病原性の型があることが知られていました (表1)。両者はコロニーの形状が異なり、R型の菌は寒天培地上で周囲がぎざぎざしたコロニーを形成しますが、S型の菌はのっぺりしたコロニーを形成するので容易に区別できます。S型菌は細胞の周りに多糖類でできた「莢膜 (きょうまく)」と名付けられた膜を持っており、宿主の抗体からの攻撃に耐えることができるので病気を引き起こします。これに対してR型菌はそのような防御膜をもっていないので病原性を持ちません。グリフィスは1928年に、予め加熱処理をしたS型菌 (死滅しているので肺炎を起こさない) と生

きているR型 (非病原性で肺炎を起こさない) を混合してマウスに感染させると、マウスは肺炎を引き起こし、病気になるマウスから生きたS型菌が回収されるという実験結果を報告したのです。そしてこの実験結果を、「死んだS型菌の菌体のもつ何かがR型菌に入って、R型菌の遺伝的な形質をS型菌に転換したことによるのだ」と説明し、S型菌からR型菌へ移行した物質を「形質転換因子」と名付けたのです。このグリフィスの実験結果はドイツやアメリカの研究者によって確認され、その実験の正しいことが証明されました。

表1：肺炎双球菌の形状と性質

菌の型	コロニーの形状	莢膜	病原性
R 型	周囲がギザギザ	なし	なし
S 型	周囲は円滑	あり	あり

このグリフィスの論文に触発され、グリフィスの言う形質転換因子の本体が何であるのかを明らかにしようと考えたのがアメリカのロックフェラー大学のエイヴェリー (Oswald T. Avery) でした。彼はそれまで長い間肺炎双球菌の型の特性を研究テーマとしてきたこともあって、最初グリフィスの「肺炎双球菌の型は互に変換できる」という考えに同調しなかったのです。しかし、グリフィスの報告は確かに実験的に確認できましたので、その実験で用いた加熱処理をしたS型菌を使って、多量の莢膜多糖類を含む多種類の成分からなる抽出液を注意深く分別して実験を重ねたのです。その結果、抽出液に含まれる形質転換因子はDNA分解酵素によって失われるが、タンパク質や脂質の分解酵素では失われないということを見だし、その結果を1944年に発表しました。それによって、肺炎双球菌の「莢膜を作るという遺伝的性質」がDNAによって伝達され、莢膜を作らない菌が莢膜を作るように転換されるということが明らかにされたのです。これが後に有名になった肺炎双球菌のDNAによる形質転換実験です。

上記の1944年のエイヴェリーらの論文を読んでみると、彼らは非常に注意深く実験を行ない、その結果を慎重に解釈していることがわかります。実験は今から見ても論理的に正確に進められており、その説明はほぼ疑いのないものとも言えるのですが、時あたかもアメリカも参戦した第二次世界大戦の真っ最中であつたこともあり、この論文は残念ながらあまり大きなインパクトを与えることはありませんでした。ただし、このエイヴェリーらの実験結果を非常に高く評価した人の中に、後にいろいろな生物のDNAを調べ、DNAを構成する4種の塩基のもつ重要な特徴を明らかにしたフランスのシャルガフという生化学者がいました。このシャルガフの発見の中にこそ、遺伝子の多様性とDNAの示す見かけ上の均質性というパラドックスを解く鍵があつたのです。



トピックス

人工のゲノムDNAを持った細菌

マイコプラズマ (*Mycoplasma*) は直径0.2ミクロン程の極めて小さい細菌であり、多くは動物に寄生し、ヒトでは肺炎の原因菌になることもあります。ゲノムの大きさは50-150万塩基対と小さく、遺伝子も500個ほどしかありません。ヒトのゲノム解読を遂行して話題の人となったアメリカのヴェンター (C. Venter) は自分で研究所を設立し、マイコプラズマを対象として細胞の基本的なしくみを明らかにするための研究を行っています。

すでに2007年には、*M. mycoides* という種類の菌のゲノムDNAを、近縁種の *M. capricolum* の細胞中に入れて働かせるという「ゲノム置換」に成功していました。2008年には当時知られていた生物の中で最も小さなゲノム (58万塩基対) を持つ、*M. genitalium* のゲノムDNAを人工的に合成 (一定の長さのDNAを化学的に合成してつなぎあわせたもの) してゲノム置換を試みましたが、成功しませんでした。

しかし今回、108万塩基からなる *M. mycoides* のゲノムDNAを人工合成して *M. capricolum* に入れた結果、ゲノム置換に成功したのです。具体的には、まず化学合成した短いDNAを組み合わせて1000塩基の長さのものを作ります。次にこれを酵母の細胞内で10本を合わせて1万塩基にし、さらに10万塩基につなぎ合わせた後に、全ゲノムDNAに合成し、それを予めゲノムDNAを取り除いた *M. capricolum* の細胞に導入したのです。その結果、*M. mycoides* の遺伝情報によって育成する細菌ができました。つまり、「人工細菌」ではありませんが、既存の細菌細胞のもつさまざまな機能を利用して、「ゲノム置換細菌」を作ることができることが示されたのです。

この技術は、将来、生命を維持するために最低限必要な遺伝子の組み合わせを明らかにすることや、バイオ燃料を産生するなどの特殊な機能をもつ細菌を作成することに役立つことでしょう。

稲の収量を大幅に上げることが可能に？

世界の人々が摂取するカロリーの約半分は、イネ、コムギ、トウモロコシなどのイネ科の作物から得られています。今後の世界的な人口増加により予想される食糧危機を乗り越えるためにも、これらの作物の収量を増加する方法を開発する必要があります。

名古屋大学のグループは、生物機能開発利用研究センターに保存されている稲のストックの中から、1970年代の主要品種である「日本晴」と比較して、一本の花序に3倍以上も多くの穀粒をつけるST-12という品種を見いだししました。ST-12では、1次枝梗 (しこう；花穂内のイネの穀粒が付く小さな分枝) の数が約3倍でした。そこで、ST-12を日本晴と交配して得られた子孫の遺伝子を解析して、問題となる染色体上の領域を明らかにしました。そのうちのひとつである1番染色体上の領域には、2005年に同グループが収量を上げる遺伝子として発見した、植物ホルモンの量を調整するGNIA遺伝子が含まれています。

また、もうひとつの領域として8番染色体上の *OsSPL14* 遺伝子があります。ただ、不思議なことに、日本晴とST-12のDNAの塩基配列を比較しても、この領域に差異は見いだされませんでした。ST-12には1次枝梗でこの遺伝子の発現量を10倍に増加させる未解明のしくみがあり、日本晴でもこの遺伝子の発現量を人為的に増やすと1次枝梗の数が増加したのです。

しかし、問題はこれで解決したわけではありません。 *OsSPL14* の発現量を上げると、芽生えの時の枝分かれの数が逆に減少したのです。より詳細な解析から、特異的な短いRNAによる遺伝子の発現量の調節が行なわれていることが明らかになりました。中国の研究グループも別の系統を用いた解析で、 *OsSPL14* 遺伝子を含む領域の影響を見いだしています。

今回発見された2つの領域は、分子マーカーを利用した交配により効率的にイネの品種に取り込むことが可能です。この成果を他のイネ科の作物に応用すれば、穀類全般の増収につながることでしょう。



<今月の花>

スナビキソウ (ムラサキ科)

Messerschmidia sibirica

(2009年6月6日撮影)

スナビキソウは絶滅危惧種の一つであり、極く限られた場所ではしか自生が見られないが、自生地での生育の様子からすると、か弱い植物ではないように見受けられる。この植物は、何千キロも飛翔することが明らかになってきた、アサギマダラの雄の生殖行動と関連する物質を含んでいるらしい。