



かずさDNA研究所ニュースレター

第35号

2010年11月5日



開所記念講演会の会場



研究所公開講座

2011年1月22日(土) および2月5日(土)に本年度の当研究所公開講座(免疫研究の最前線・ゲノム解析から見えてくるもの)を開催します。多数ご参加下さい。

ページへのリンク → [公開講座](#)



研究所からのお知らせ

本年度のかずさDNA研究所開所記念講演会ならびに体験教室を開催しました

当研究所は毎年10月26日の開所記念日の前後に講演会と体験教室を開催しています。10月9日(土)に開催した講演会では、石田直理雄氏(独立行政法人産業技術総合研究所・首席研究員)に「体内時計の不思議 ～健康な脳を維持するしくみ～」という講演を、岡田典弘氏(東京工業大学大学院 教授)に「DNAから進化の謎を探る」という講演を行っていただきました。

まず石田氏は、体内時計とは何でありそれはどのような仕組みで働いているのかについて、体内時計に関与している遺伝子の働きや、それらの遺伝子の突然変異によって引き起こされる疾患について話され、さらに、体内時計の働きを計算に入れた抗がん剤投与や輸液の計画的実行という話を含め、最先端の研究成果をわかりやすく解説されました。次いで岡田氏は、生物のゲノムDNA上を移動するSINEと名付けられた構造単位に着目し、生物のゲノム上のSINEを近縁の生物のゲノム間で相互比較するという方法で解析し、「鯨類は陸上動物であるカバと

もっとも近縁である」ということを突き止めたということをお話されました。

当日はあいにくの雨模様の天気にもかかわらず、遠く神奈川県、栃木県、県北地域などからの方々を含め、309名という多数の方々に参加されました。それぞれの講演の終了後には活発な質疑応答が行われ、出席した高校生が、講演終了後も会場に残って講師を囲んで熱心に質問していたのが印象的でした。参加者の方々からアンケートで寄せられたご意見は、今後の講演会の企画・運営上の参考にさせていただきます。

さらに、10月15日(金)と16日(土)には、関連行事として研究所見学・体験教室を開催しました。両日合わせて41名の方々に参加され、ふぐの白子からのDNA抽出実験を行い、その後所内を見学されました。

講演終了後、講師に熱心に質問する高校生の参加者



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



化合物の質量分析情報から 酸素原子の由来を探る

ゲノムバイテク研究室
プロジェクト研究員 嶋田典基



地球上には 25 万種以上の植物が存在するといわれています。自ら移動できない植物は、自身を取り巻く環境の変化(温度変化、化学変化、病虫害など)に対する防御物質等として数多くの代謝物(二次代謝物と呼びます)を作り出してきました。そして、昆虫による受粉や微生物との共生などにも二次代謝物を利用することで地球上の多様な環境に適応しています。一方、古来私たち人類は、生物資源としてさまざまな植物を利用してきていますが、植物の作り出す二次代謝物も、食料や医薬品・サプリメント・化粧品など広く利用されています。現在も有用な食品や医薬品成分などを植物から得るための探索や有効利用のための研究が広く行われています。

植物の二次代謝物は、生物の生存に欠かすことの出来ない糖やアミノ酸などの代謝物(一次代謝物と呼びます)から植物固有の生合成経路によって作り出されます。この生合成には多くの酸素添加反応が含まれており、添加された酸素原子にさらに別の化学反応が起こることで、部分構造が多様で機能が多岐にわたる二次代謝産物が作られます。私は、平成21年4月より文部科学省科学研究費補助金で採択された新学術領域研究の研究課題「代謝物多様性解明に向けたマスマフラグメンテーション解析法の開発(研究代表者:鈴木秀幸)」の研究分担者として、酸素添加反応と構造の多様性の関連に興味を持ち研究を行っています。

では、さまざまな植物において代謝産物の部分構造はどのように異なるのでしょうか?上に述べましたように、代謝物の多様化をもたらす要因の一つとして代謝物への酸素原子の添加があります。そこで私は、以下に述べますように安定同位体である重い酸素を用いて酸素添加反応の過程を追跡する実験を行っていま

す。実験の対象とする生物種としては、すでにゲノム解読が完了している、ラン藻(ラン色細菌)、クラミドモナス、ヒメツリガネゴケ、シロイヌナズナ、ミヤコグサを用いています。これらの生物を通常の酸素の存在下で、および重い酸素($^{18}\text{O}_2$)の存在下で一定期間生育させて代謝物を分離抽出し、質量分析装置で解析して比較し、重い酸素が取り込まれた代謝物がどの程度の種類あるのか、それらはどのような代謝物群に属するか、そして対象とする化合物をMS/MSの方法で分断して得られたデータから、代謝物のどの部分構造に酸素が添加されたのかを解析しています。

このような目的のための分析法としては、質量分析装置を用いたマスマフラグメンテーション(MS/MS)と名付けられた方法が有効です。この方法の概略は図2に示してありますように、まず、重い酸素($^{18}\text{O}_2$)と通常の酸素($^{16}\text{O}_2$)の存在下で生育させた生物体から対象とする化合物を分離し、質量分析装置で解析することから始まります。もし、ある化合物で得られた質量分析のデータが、図2の中央に示しますように重い酸素と通常の酸素に由来する二つのシグナルを示した場合には、その化合物の構造を特殊な方法で分断し、その結果生じた化合物の部分構造のどちらに重い酸素が

今月のキーワード

～「研究最前線」にでてきた言葉の解説～



酸素の同位体：前号のニュースレターでも窒素の重い同位体について触れましたが、いろいろな原子には、化学的な性質は同じでも、その原子核に含まれる中性子の数の異なるものがあり、これらは同位体と呼ばれます。同位体には放射線を放出して別の原子に変る放射性同位体と、そのような変化をしない安定な同位体があります。本文中に出てくる ^{18}O は安定同位体で、通常の酸素原子 ^{16}O よりも1割以上重い原子です。そこで、質量分析装置でその重さ(質量)の違いを利用して解析することで、同じ化合物の違った位置についている複数の酸素原子を区別して、どれがどのように変化するかを調べるのです。

二次代謝物：本文の冒頭にも書きましたように、生物は植物が光合成によって作り出すグルコースやその派生物(デンプンなど)からエネルギーを得るための基本的な代謝反応に加えて、さまざまな経路で付加的な代謝物を作り出しています。これらを総称して二次代謝物と呼んでいます。二次代謝物には時に問題になる毒物もありますが、有用な生理活性をもつものなどが多くあって利用されています。

酸素添加反応：細胞内で酸素を添加する反応には、各種の酸化還元酵素や、シトクロムP-450と名付けられた一群のヘムタンパク質(血液中にあるヘモグロビンと同じように鉄原子をもつ)が関与する反応などがあります。細胞の中では多種多様な生化学反応が起こりますが、当然のことながら、酸素、水素、リン、炭素、窒素などの主要な元素が関与するものがその中心です。中でも、酸素や水素を添加したり奪ったりする反応はいろいろな代謝経路の主要部分となっており、さまざまな酵素の関与する反応が知られています。



図1. 植物の培養装置

左は、ヒメツリガネゴケ、シロイヌナズナ、ミヤコグサ等の植物を育てる密閉型培養器(写真の植物はミヤコグサ)で、右はラン藻やクラミドモナスなどの微生物の培養器です。このような培養装置の中で植物や微生物を生育させ、重い酸素 $^{18}\text{O}_2$ を与えた場合に解析対象とする化合物の質量がどうなるかを調べるのです(図2をご覧ください)。

含まれるかを解析します。得られる結果は、質量を精密に解析することでその代謝物の部分構造に直接関連づけることができますので、解析データを比較すれば対象とする二次代謝物間の部分構造の類似性や差異を推定することができます。例えば、問題の化合物の構造を分断した後の質量分析のデータが図2の右に示すようになったとしますと、元の化合物は縦の破線のように分断されたことがわかり、その右側の部分構造の中に添加された酸素があると結論づけられ、この部分が二次代謝物で新しく形成された部分だということが推定されるという訳です。このような解析をくり返すことにより、いろいろな代謝物の生成過程を追跡することができるのです。

ところで、さまざまな生物のゲノム情報を調べていきますと、植物のゲノム上には酸素の添加反応の機能を担っていると予想される酵素の遺伝子が非常に多く存在していることがわかります。このことは植物が多様な構造をもつ二次代謝産物を生産する上で酸素の添

加反応が重要な役割を果たしていることを示しているように思われます。しかし、これらの酵素がどのような代謝物の、どのような部分に、どのようにして酸素添加反応を行うのかの詳細はまだほとんど明らかになっていません。

本研究では、重い酸素という安定同位体を活用し、MS/MS解析法を駆使して行なっていますが、このような研究は、代謝物の構造の多様性(したがって機能の多様性)をもたらず酸素添加酵素の機能の解明につながると考えています。そして、このようにして新たに機能が解明された酵素の遺伝子に関する情報は、将来、物質生産の効率化や新規有用物質の開発などに活用されることが期待されます。

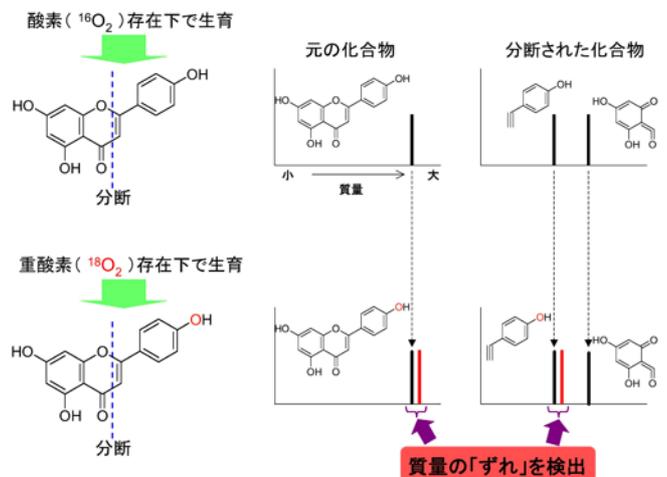


図2. 高性能質量分析装置(Orbitrap-MS)によるMS/MS分析

図1に示す装置で、赤い色で示した重い酸素 $^{18}\text{O}_2$ を与えて生育させた植物と通常の酸素 $^{16}\text{O}_2$ で生育させた植物から、ある化合物を分離して質量分析装置で構造を分断して比較します。するとこの図に示すように、両者に酸素原子の質量の違いに由来する差が見出され、 $^{18}\text{O}_2$ を投与した場合には質量が+2大きい化合物として検出され、さらに分断後の解析により、その差は化合物の右半分で見られることを示しています。このことから、この化合物の生合成の過程には、元の化合物の右側の部分構造に酸素原子が添加される反応の存在することが推測できます。

◆ どんなゲノム こんなゲノム ◆

* 1000ゲノムプロジェクトの最初の報告(2010年10月28日号のNatureとScienceで発表)

2003年に公開されたヒトゲノムの概要配列は数人のゲノムを寄せ集めたものでした。2007年に2人の研究者の個人ゲノムが解読されて以降、個人ゲノムが続々と解読されています。「1000ゲノムプロジェクト」では、最終的に世界の20集団のおよそ2,000人(うち日本人は100人程度)についてゲノム解読を行うことにより、詳細かつ医学的に有用なヒトの遺伝的変異の情報を集めようとするものです。

Natureの論文では、A: 3つの集団の179人の全ゲノム、B: 母・父・子3人からなる2組の全ゲノム、C: 7つの集団からの697人についてタンパク質をコードしている領域を対象とした配列解析、の3つのパイロット実験から得られた、およそ1,500万個の一塩基多型、100万個の短い挿入や欠失などが報告されています。

Scienceの論文では、ゲノム中に見られる似た配列の繰り返し回数の違い(コピー数多型)の解析法の研究と結果が報告されています。これらの結果から、ヒトのゲノムは予想以上に多様であるということがわかりました。また、ある日本人男性のゲノムも10月25日にNature Geneticsのオンライン版で発表されています。



DNA物語 (8)

前回は、この「DNA物語」のいわば中心となるメインイベントであり、生物学の歴史的な転換点となった、ワトソンとクリックによるDNAの二重らせんモデルの発表とそれにまつわる話を述べました。それではこの二重らせんモデルによって生物学はその後どう変わったのでしょうか？

今更言うまでもないことですが、ヒトをはじめとするあらゆる生物のもつ最も重要な性質は「絶え間なく自己増殖すること」であり、同時に、何千年・何万年という長い時間自己増殖をくり返して行く過程で、それぞれの生物のもつ性質が少しずつ変化していくこと、すなわち進化することにあります。そしてそのような生物のもつ性質や行動を規定し、種の継続と進化を可能にしているのが遺伝子なのです。1953年までには、メンデルが発見した遺伝子の本体がDNAであることはほぼ間違いないと思われてはいましたが、そこに横たわる最大の問題点は、どの生物から抽出しても性質がよく似ているDNA分子が、どのようにしてさまざまな働きをもつ遺伝子として働くことができるのかという点の解明でした。

ここで、遺伝子の持つべき性質を考えてみますと：

- ・細胞分裂に際して高い精度で複製して二つの細胞に均等に分配される
- ・いろいろな生理条件下における多種・多様な働きを説明できる
- ・物理化学的に安定であるとともに、一定の頻度で突然変異が生ずることを説明できる
- ・近縁の生物では類似し、分類的に隔たったもの間では類似度が低くなることを説明できる

ということが考えられます。このうち、最初の自己複製については「DNAが互いに相補的な(すなわち、A-TとG-Cの対合形成により、二重らせんの一方の構造が定まれば他方は自動的に定まる)性質をもつこと」により説明され、かつ実験的に証明されたということを前回述べました。しかし、それ以外の点については何もわかっていませんでした。

一方、1940年代の前半には、スウェーデンのカスパーソン (Torbjörn Oskar Caspersson) とフランスのブラシェ (Jean Louis Auguste Brachet) によって、タンパク質の合成にはRNAが関与しているらしいという組織化学的な報告が独立になされておられ、さらにその後、前号で述べたクリックにより、細胞の中には遺伝子 (DNA) とタンパク質を「橋渡し」する何らかのアダプター分子 (おそらくRNA) の存在が予測されたのです。それまでの研究によってDNAが細胞の核に存在することはわかっていましたが、タンパク質の合成は、核の外側にあつてRNAとタンパク質からできているリボソームと呼ばれる構造の上で行われるということが次第に明らかになってきまし

た。すでに、いろいろな組織に多種類の性質の異なるタンパク質 (その多くは酵素) があつて生命活動を支えていることが知られていましたので、「遺伝子はどのようにして働くのか」ということを突き詰めて考えると、それはタンパク質を合成することなのではないかという考えに至ったのでしょうか。

それでは、当時タンパク質が合成されることと遺伝子が働くことを結びつける何らかの根拠が存在したのでしょうか？前回書きましたように、1952年にハーシーとチェースは、大腸菌のウイルスであるバクテリオファージの感染に際してはDNAのみが細胞の中に入り、その後何らかの過程を経てタンパク質ができ、ファージ粒子がタンパク質に包まれて出てくることを示しました。また、1941年に、ビードルとテータムがアカパンカビの突然変異の解析から「一遺伝子・一酵素仮説」を唱えたことについても触れました (第5回の物語)。酵素はタンパク質ですから、彼らもDNAからタンパク質ができてくることを考えていたことになります。ですから、これらの知見をまとめますと、「DNAは遺伝情報を担い、その情報に基づいてタンパク質を作ることと機能を果たしている」ということになります。程度の差はあつたにしても、多くの科学者はこのように理解していたようです。それに加えて、一部のウイルスではRNAがDNAに代って遺伝情報を担っているということもわかっていましたので、彼らは、DNAとRNAの間には遺伝情報の伝達の過程での密接な関係が存在すると考えていたと思われま

す。このような背景に立つてクリックは、アダプター分子の予想からさらに進めて、1958年にいわゆる「セントラルドグマ (central dogma ; 中心教義)」を提出しました。これは、図1に示しましたように、遺伝情報はDNAに保存されており、そこからDNAの塩基配列 (の一部) を写し取ったRNAが作られ、さらにそのRNAの塩基配列が何らかの仕組みでアミノ酸の配列に変換されてタンパク質になるというものです。その後実際に細胞内には多種類の低分子のRNAがあり、それぞれのRNAには異

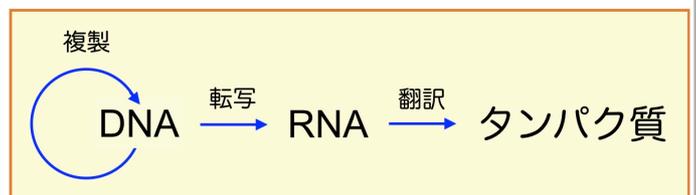


図1：クリックの提唱した遺伝情報の伝達に関する「セントラルドグマ (中心教義)」

遺伝情報はDNAからDNAに複製され、メッセンジャーRNAに転写 (おそらく遺伝子単位で) され、その上でタンパク質のアミノ酸の配列へと翻訳されることを仮定しています。後になって、RNAに転写された後に一部が除去されるスプライシングという仕組みのあること、RNAに転写されてから塩基配列が変更される場合のあること、RNAからDNAに「逆転写」される場合のあること等がわかって現在に至っています。

なるアミノ酸がついていることが発見され、これらのRNA分子はクリックの予想したアダプター分子の一種であり、タンパク質合成でアミノ酸を運ぶ役割を担うtransfer (転移) RNA (tRNA) と名付けられました。

しかし、それではDNAの担う遺伝情報を核からリボソームへと導くという重要な役割を果たすのはどの分子なのでしょう？一時期、それはリボソームRNA自身ではないかとも考えられたことがありましたが、よく調べてみると、リボソームRNAは全体として均一であり、個々の遺伝子に対応する多様性のないことが明らかになり、この考えは捨てるを得ませんでした。

一方、1956年にヴォルキン (Elliot Volkin) とアストラカン (Lazarus Astrachan) は、大腸菌にT2ファージを感染させ、直後に放射性のリン (^{32}P) を与えて塩基の化学分析を行なうと、「大腸菌のDNAではなくT2ファージのDNAによく似た短い寿命のRNA (DNA-like-RNA) ができる」ということを報告しました。この報告は、大腸

菌の β ガラクトシダーゼという酵素についての研究から、遺伝子から酵素タンパク質ができる際には不安定なXという分子の介在が必要だと考えていたパスツール研究所のジャコブ (Francois Jacob) とモノー (Jacques Monod) にもたらされ、彼らはXがヴォルキンとアストラカンの発見したDNA-like-RNAであり、核のDNAの遺伝情報をコピーしてリボソームへ受け渡す役割を担う重要な分子であることに気がついたのです。こうしてXは、遺伝情報を伝達するという意味でメッセンジャーRNA (mRNA) と名付けられました。

このように、DNAの二重らせん構造の発見とともに、現代生物学上でもっとも重要とされるmRNAの発見の端緒はヴォルキンとアストラカンのDNA-like-RNAの発見によって作られました。しかし、1965年のノーベル賞はパスツール研究所の3名の研究者に与えられたのです。爾来、ヴォルキンとアストラカンが歴史上正当に評価されていないという意見は今も根強く残っています。

肝臓の細胞の倍数性

肝臓は内臓の中でも大きな体積を占める臓器であり、各種の代謝、老廃物の排出、解毒、体液の恒常性の維持など、一説によると500以上もの重要な役割を担っていると言われています。肝臓は、部位による機能の分化が少なく、一部に損傷があっても再生することができることもよく知られています。

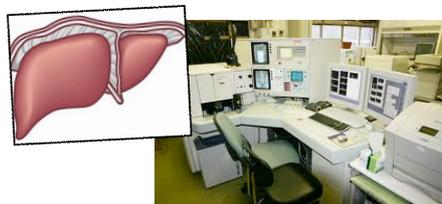
肝臓の細胞を調べてみますと、多くの細胞が倍数化 (染色体数が2倍や4倍になること) しているということです。ご存知のように、わたしたちの体を構成するほとんどの細胞は通常は2倍体なのですが、肝臓には4倍体、8倍体、16倍体、あるいはそれ以上になった細胞があるということです。このような細胞があることがどういう生物学的意味をもつのかについては、今のところ何もわかっていません。

最近アメリカのグループは、マウスを用いて、細胞の倍数性がどのようにして維持されているのかを観察しました。具体的には、マウスの肝臓を取り出して細胞をバラバラにした後にDNAを蛍光色素で染色し、蛍光の強さで細胞を選別するフローサ

イトメトリーという機器にかけ、細胞の持つDNA量が4倍体や8倍体になっている細胞を集めました。集めた8倍体の細胞を数日間培養して細胞の倍数性をフローサイトメトリーで調べたところ、2倍体や4倍体の細胞ができていることがわかりました。同様にして、4倍体の細胞からは、2倍体や8倍体の細胞ができていました。

倍数性の増加はゲノムDNAの複製が行なわれたあとに起こる細胞分裂の過程で、細胞質の分裂が正しく起こらないことによります。他方、倍数性の減少は細胞分裂時に紡錘体 (染色体を分ける装置) が同時に複数形成されることによるものだとわかりました。これまで、倍数性の減少をもたらす分裂は生殖細胞をつくりだす減数分裂のみであると考えられていましたが、この観察からは体細胞でも倍数性を減らす細胞分裂が起こることを示しています。

個々の細胞の能力は各々の持つ遺伝子の種類やその重複度、そしてそれらの遺伝子の発現のバランスによって規定されます。細胞の倍数性の変化によってもたらされる遺伝学的な不均一性は、肝臓という組織が損傷を受けたときに有利に働くのかもしれない。多様な遺伝子型をもつ細胞集団が存在していれば、さまざまな状況にうまく対応できる細胞が存在する可能性を高めると考えられるからです。



＜今月の花＞
コウヤボウキ (キク科)
Pertya scandens
(2009年11月3日撮影)

この植物体を高野山で本当に筍として使うのかどうかは知らないが、細かく分れた枝は集めればなるほど筍のようになりそうではある。秋の深まりとともに枝先に一つずつ白い花を咲かせるが、花をよく見るとなかなか優雅である。