



かずさDNA研究所ニュースレター

第39号

2011年3月7日



研究所公開講座に関する お知らせ

公開講座での質疑応答とアンケート
で寄せられた質問への回答をまとめま
した。

ページへのリンク → [公開講座](#)



研究所からのお知らせ

* 今年度の第二回公開講座を開催いたしました。

今年度のかずさDNA研究所公開講座は、昨年度と同様隔週に2回開催し、それぞれの回でテーマに関連した外部の方を含む3人の講師に講演していただくように計画しました。2月5日に開催した「ゲノム解析から見えてくるもの」というテーマでの第2回の公開講座には116名という多数の方々に参加していただきました。

まず最初に、佐藤修正植物遺伝子研究室長が、1977年の塩基配列決定法の開発から始まったDNAシーケンサー（塩基配列解析装置）の歴史と、これまでの植物のゲノム解析の成果を紹介しました。かずさDNA研究所では、開所以来、ゲノムサイズの小さいアブラナ科のシロイヌナズナ（1億2000万塩基）を皮切りに、マメ科のミヤコグサ、ナス科のトマト、トウダイグサ科のナンヨウアブラギリ（ヤトロファ）等のゲノム解析を行なってきたおり、その成果は、マメ科の根に窒素固定を行なう根粒菌が共生する仕組みの解明や、高酸化作用のあるフラボノイドを多く含むトマトの品種開発などに活かされていることが紹介されました。これまでに世界で約24種類の植

物ゲノムの解析結果が公開されていますが、地球上には約250の科に属する20-30万種の植物があります。これらの植物の能力を解析し、それを活かすためのゲノム解析研究の一端とその意義がご理解頂けたかと思います。

続いて、中村保一植物ゲノム情報研究室特別客員研究員が、DNAシーケンサーで得られたデータを収納している塩基配列データベースについて説明しました。2007年頃から新型のDNAシーケンサーが導入されたことによって、それまでは研究に必要な代表種のみで行なわれていたゲノム解析が拡大され、1000人ゲノムプロジェクトなどが行なえるようになってきています。1解析当たり200ギガベース（GB）にもなる大量の「塩基配列データ



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

の津波」にいかに対処していくのかについての取り組みが紹介されました。新型シーケンサーの開発では出遅れた感のある日本ですが、今後の努力に期待する声が多く寄せられました。

最後に、東京大学大学院新領域創成科学研究科の服部正平教授に、私達の病気や健康に関わる腸内細菌を調べる方法をご紹介いただきました。私たちの腸内に1,000種以上存在しているといわれている腸内細菌の多くは単独で培養することが難しく、従来の方法ではゲノム解析が困難でした。最近、さまざまな環境に生息する細胞集団を分離培養することなく、まるごと解析する「メタゲノム」解析の方法が開発されています。服部教授は、日

本人13名をはじめとする各国の腸内細菌集団の解析結果から、腸内細菌は環境中にある細菌類とは種類が異なること、同一家族内でも個人個人で違い、どのような腸内細菌がいるかは、摂取する食事の成分に大きく依存することがわかってきたこと、さらに、病気や肥満の原因となる菌種の同定や、最新の成果として、酢酸を多く生成するビフィズス菌がO157の感染を防御していることなどを紹介して下さいました。

ヒトの健康と病気を理解するためには、ヒトゲノムの解析だけでなく腸内細菌の解析も重要であること、そして、毎日の食事の大切さなどを実感した一時間でした。



ヒトゲノム概要発表から10年

ヒトのゲノムを解読するプロジェクトは1984年に提案され、1991年からスタートしました。当初は15年以上かかると考えられていましたが、配列を読み取るシーケンサーとデータを解析するコンピューターの能力の向上により、2000年6月26日には概要配列が公開され、2001年2月15日号のNature誌（翻訳版：http://www.natureasia.com/japan/nature/genome_pdf/10p.22.pdf）と、2001年2月16日号のScience誌（翻訳版：<http://www.asca-co.com/science/0/body.html>）で発表されました。その後2003年4月14日には、ヒトゲノムプロジェクトの完了を米英日仏独中6カ国の首脳が共同宣言で発表しています。このヒトゲノム解読プロジェクトでは、取り決めにより多様な人種的な背景を持つ数人に由来するDNAが用いられたとされています。

国際ヒトゲノム解読共同研究体では、ゲノムを染色体ごとになわけて、分担して解析しました。日本のいくつかの研究機関も21番と22番染色体の解読に参加しています。解析には染色体DNAから大腸菌の中で増幅するBACと呼ばれるクローンを作成し、クローン単位で塩基配列を決めていきました。その過程で、共同研究体を離脱したベンター（John Craig Venter）が全ゲノムを物理的に短い断片に切断して作成したクローンをランダムに配列決定し、コンピューターで元の配列を構築する「ショットガン・シーケンス法」を導入したことで、解析速度が急速に早まりました。

概要配列の発表時には、タンパク質

を作っている遺伝子は31,778個だと予測されていましたが、その後のNature誌の論文では遺伝子数が21,787個と訂正されています。数が減少したのは、当初は遺伝子と想定されたものの中に、機能を失って遺伝子として働いていない「偽遺伝子」が含まれていたからだといわれています。しかし、偽遺伝子とされた遺伝子でも機能しているものがあるという実験結果もあり、未だに正確な遺伝子数は確定されていないのが実情です。

ヒトをはじめとする高等生物の遺伝子の同定が困難である理由のひとつに「イントロン」の存在があります。イントロンは遺伝子がmRNAに転写された後に「スプライシング」という反応で取り除かれる部分です。ヒトの遺伝子は、平均の長さが2万7000塩基で、その中に平均長が3,300塩基のイントロンが複数個あります。

イントロンを取り除いた部分がタンパク質に翻訳される「エクソン」で、その長さの平均は145塩基です。ひとつの遺伝子は、平均して10.4個のエクソンから構成されています。同じ遺伝子から、エクソンの組み合わせを

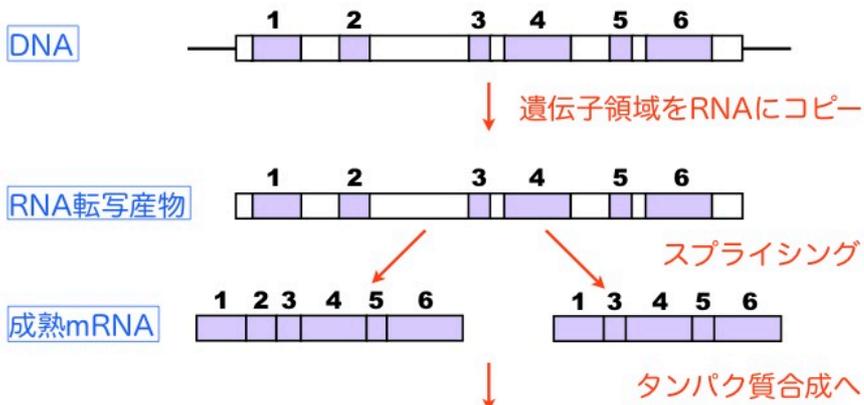


図1：一つの遺伝子から複数のタンパク質が作られるしくみの模式図

遺伝子の領域のうち、■でエクソンを、□でイントロンを、また数字でそれぞれのエクソンを示しています。DNA配列を元にして作られたRNAのコピー（RNA転写産物）から、スプライシングによりイントロンが取り除かれて成熟したmRNAになりますが、その際、特定のエクソンをとばしてスプライシングが行なわれると、違った配列のmRNAが作られ、その結果少し違ったタンパク質が作られます。

替えることで複数の成熟mRNAが作られ(図1)、複数の少し機能の異なるタンパク質が作られます。実際、ヒトの場合には、50%以上の遺伝子から平均3種類の成熟mRNAが作られており、ヒトの成熟mRNAの種類は全部で12万種類になると推定されています。ゲノムプロジェクトの開始当初、ヒトには10万種類の遺伝子があると想定されていましたが、作られるタンパク質の種類という点からすれば妥当な数であったということになります。ところで、ゲノム全体からすると、エクソンは1.5%、イントロンは24%を占めるに過ぎません。ゲノムの残りの部分は未解明で、「ジャンク(ごみ)DNA」と呼ばれることもあります。そのうちの53%は、同じ塩基配列が何度も登場する繰り返し配列で、残りの約30%の領域がどのような役割を果たしているのかはあまりよくわかっていません。

かずさDNA研究所では、ヒトの細胞中で多様な働きをしているタンパク質を作る遺伝子を探すため、いろいろな組織の細胞から成熟mRNAを集め、試験管内で相補的なDNA(cDNAといいます)を作ってその塩基配列を解析しました。集められたcDNAクローンはKIAAと名付けて整理し、それらのうちの約2,000個について解析結果を発表しました。これらのcDNAクローンの塩基配列データは、ゲノム解析でDNA断片を並べるための位置情報としても役立ちました。

最初のヒトゲノム解析の終了(2003年)後は、研究の主流はヒトの遺伝的な多様性を解析する方向にシフトしました。その結果、人類集団には予想以上に多くの遺伝的多様性があることが明らかになってきました。集団中の1%以上で見られる塩基配列の一塩基の違いを「一塩基多型(SNP)」といいます。ABO血液型や、お酒に強い/弱いなど、いくつかの形質の差は、タンパク質を作る遺伝子中のSNPにより生じています。SNPを見つける研究は、日米を中心とした国際プロジェクトで行われてきました。2010年9月2日号のNature誌には、プロジェクトの3期目の成果として、世界の11のヒトの集団に由来する1,184人について、約160万個の比較的高頻度のSNPの遺伝子型を決定したことを報告しています。

さらに最近、遺伝子数の個人差(コピー数多型=Copy Number Variation: CNV)というより大きな変異があることもわかってきました。これは、個人によって細胞あたりに存在する遺伝子が1個(1コピー)しかなかったり、あるいは逆に3個(3コピー)以上存在したりするということを言います。ヒトゲノム構造多型コンソーシアムが、2006年11月23日号のNature誌に発表したデータによると、ヒトゲノム全体の12%以上にあたる3億6000万塩基の領域でコピー数の違いがみつかっています。こ

の領域には約3,000の遺伝子が含まれており、コピー数の違いによってその遺伝子の発現量(作られるmRNAの量)が増減し、結果としてさまざまな形質の差がもたらされていると考えられています(<http://www.lsbm.org/news/2006/1123.html>)。

このようなヒトゲノムの多様性をより具体的に解析し、個人個人の遺伝的差異を塩基配列レベルで明らかにするためには、多数の個人のゲノムを解析し、それらの人々の個人的な生活環境や生活習慣ならびに病歴などを長い時間をかけて追跡していく必要があります。そしてこの目的のために、個人のゲノムをできるだけ安価に解析するための努力がなされ、その結果新しい「次世代DNAシーケンサー」が実用化されています。また、2007年に公開されたワトソンとベンターの2人の研究者の個人ゲノムデータに引き続き、2008年1月からはより高精度のヒトゲノムデータを得るために、世界中のさまざまな集団のゲノムを解読する「1000人ゲノム計画」が始まりました。次世代シーケンサーでは1回の解析(約10日)で2人分の個人ゲノムが解読できます。2010年10月28日号のNature誌と10月29日号のScience誌には、2家族6人分と3つの集団179人の解析結果が報告されています。Nature誌が調べたところによると、2010年10月末までに2700人の個人ゲノムが解読されており、2011年末までには3万人分の個人ゲノムの解読が終了する予定だということです。

また、次世代シーケンサーを用いると、扱うDNAサンプルの量が少なくても解析ができます。ですから、縄文時代の人骨からDNAを回収して解析を行なうこともできますし、また約20万年前に出現し、2万数千年前に絶滅したネアンデルタール人などの旧人類の骨から得られたDNAの解析も可能です。2010年5月7日号のScience誌によると、さまざまな地域の現生人類のゲノム配列とネアンデルタール人のものを比較したところ、アフリカ以外の地域の現代人のゲノムの中にネアンデルタール人に近い領域がみつかったそうです。現生人類がネアンデルタール人との混血であるかどうかは引き続き検討する必要がありますが、人類がどのように進化してきたのかを探る研究も世界中で行われています。

ゲノム情報の解明は、医学や農学を始めとする生物学の飛躍的な発展に貢献することが期待されます。今後の10年間にどのような発見があるのか興味を持たれるところです。

参考書籍:「ブルーバックス DNA」講談社、「ヒトゲノムを解読した男:クレイグ・ベンター自伝」化学同人、「ゲノムを支配するものは誰か:クレイグ・ベンターとヒトゲノム解読競争」日本経済新聞社



複数の遺伝子の導入による有用形質付与の試み ~遺伝子を連結する技術の開発~

ゲノムバイテク研究室
特別研究員 戸松 創



遺伝子導入技術の進歩により、現在では研究対象とする生物にさまざまな遺伝子を導入することが可能となりました。遺伝子を導入することにより生物に新しく有益な特徴を付け加えることができます。たとえば、除草剤に対する耐性や病気に対する抵抗性を与える遺伝子を導入して生産効率を向上した作物が作られています。

従来の遺伝子組み換え生物の多くは遺伝子をひとつだけ導入して作製されたものですが、再生医療への道を拓くものとして注目されているiPS細胞は、遺伝子の発現を調節する遺伝子（転写因子）を4つ導入して作製されて

います。このように最近では、より複雑でより有益な特徴を付け加えるために、複数の遺伝子を導入する試みが広がっています。2010年にはある細菌のすべての遺伝子を含むゲノムDNAを人工的に合成して導入することに成功したことが報告されました。しかし、多数の遺伝子を同時に導入する技術は複雑で多大な時間と作業が必要とされるため、現在のところ多くの研究者にとってまだ一般的ではありません。iPS細胞のように複数の遺伝子を同時に導入することで初めて付け加わる有益な特徴を調べる研究は困難を伴います。そのため、多数の遺伝子を同時に効率よく生物へ導入できる方法の開発が求められています。

私たちは、多数の遺伝子をまとめて生物へ導入する方法を開発してきました。この方法は、遺伝子を連続的に連結する技術（図1）と複数の遺伝子を連結したまとまり同士を結合する技術（図2）からなります。生物に遺伝子を導入する場合、目的の遺伝子をベクターと呼ばれる、自律増殖の可能なDNAの単位に一旦組み込んでから、そのベクターの機能を利用して遺伝子を目的の生物へと組み込みま

す。従来の手法では、一度にベクターへ組み込むことができる遺伝子の数は基本的にひとつだけでした。私たちの研究室で開発した技術を用いると、表面にDNAを結合するための特殊なコーティングを施したビーズに遺伝子を接着しておき、別の遺伝子を含む連結用反応液を順次入れ替えていくことにより、ビーズに接着した遺伝子に複数の遺伝子が次々に連結されます。連結された遺伝子はまとめてベクターへ組み込むことができるため、このようにしてできたベクターを用いることで、多数の遺伝子を一度に生物へ導入することが可能となりました。

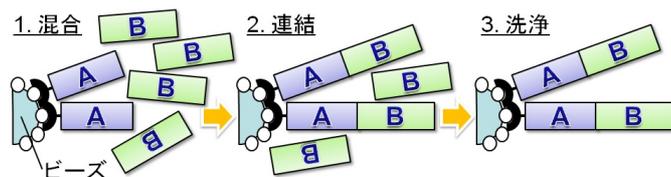


図1：遺伝子を連結する方法。2のステップでB遺伝子の代わりにC遺伝子やD遺伝子を連結することもできますし、さらに、最初にビーズに結合する遺伝子を変えれば、B-DやC-Aなどの連結も可能になります。

今月のキーワード

~「研究最前線」にでてきた言葉の解説~



ベクター：ベクターという語は2009年2月号のニュースレターで簡単に解説しましたように、「運び屋」を意味するラテン語に由来し、大腸菌などの細胞内でゲノムとは独立に増殖（自律増殖）することのできる能力をもち、その中にいろいろな遺伝子を組み込んで対象とする生物に導入する目的で用いられるDNA分子を指します。プラスミドやウイルスなどがベクターとして使われます。

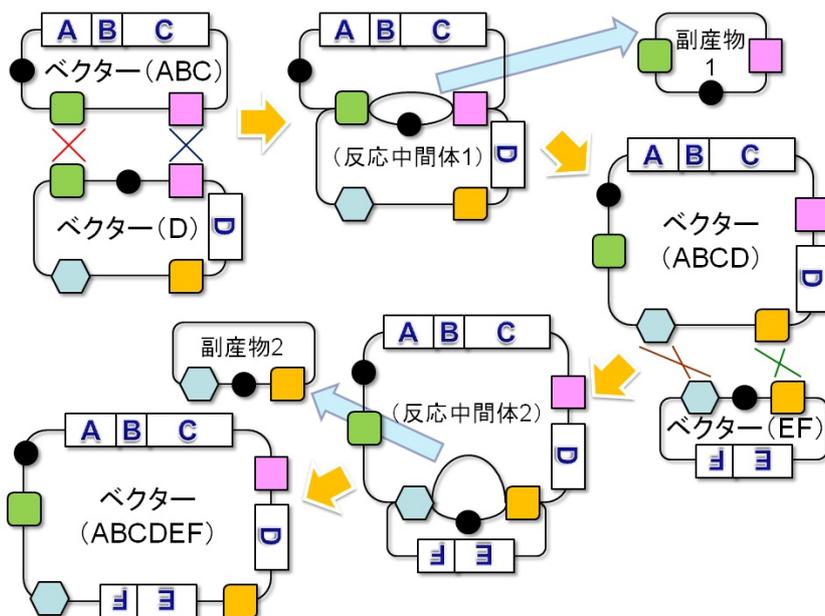
レプリコン：生物は自己を複製することで世代を超えて種の保存を行なっていますが、その根幹を支えるのは染色体DNAのもつ自己複製能です。この染色体DNAの自己複製能をもつ単位をレプリコンと呼びます。レプリコンはDNAの複製の開始点となる特有な塩基配列と、DNAの複製を行なう酵素（DNAポリメラーゼ）等からできています。例えば、大腸菌のゲノムDNAはそれ自身で一つのレプリコンを形成していますし、プラスミドなどのベクターはそれぞれが異なるレプリコンです。ですからプラスミドは大腸菌細胞内でゲノムとは独立に自律増殖できるのです。

相同組換え：生物の遺伝的多様性をもたらす一つの要因は、ゲノムDNAが再編成されることにあります。高等生物の生殖細胞における減数分裂の過程で、しばしば相同染色体の間で見られる「乗り違い」という現象は、塩基配列がよく似た部分でDNAが切断と再結合を行なう結果です。このように塩基配列の似た部分でDNA分子が部分的に置き換わることを相同組換えと呼び、下等であると高等であるとを問わず生物界で広く見られる現象です。

さらに、従来の手法では一度ベクターに組み込んだ遺伝子同士を連結することは困難でした。新しい手法では、それぞれのベクターに共通した塩基配列を持たせることで、その共通の塩基配列を介した相同組み換えを利用して、別々に組み込まれて連結された遺伝子群をひとつのベクターにまとめることができます。この操作をくり返すことによって、多数の遺伝子をまとめて一度に生物へ導入できるようになりました。

生物の設計図であるゲノムから複数の遺伝子を集めて同時に導入する研究は、さまざまな種類のプラモデルからパーツを寄せ集めてひとつの作品にする試みの様なものです。複数の遺伝子を組み合わせて生物に導入することで、それぞれの遺伝子単独では

図2：それぞれ別のベクターに組み込んだ遺伝子を、ベクターにある共通の塩基配列（図中の着色を施した部分）を利用して「相同組み換え」を起こさせて結合を重ね、最終的に目的とするすべての遺伝子を一つにまとめる方法の概略を示します。ベクター中の●は、ベクターが自律増殖するために必要なレプリコンと呼ばれる領域を示します。この図では、二回の相同組み換えを起こさせることにより、最終的にAからFまでの6個の遺伝子が一つのベクターに結合されることを示しています。



誘導されない大きな変化が現れることが期待されます。私は現在、植物の形態形成に関与が予測されている9種類の遺伝子を一つのベクターに組み込み、それらを導入した植物でどのような現象がみられるかを解析しています。この研究により、効率よくバイオエタノールやバイオディーゼルへ転換できる植物組織をより多く生産できるようにすることや、さらに将来は、新しい医薬品を作ることができるようにすること等を期待しています。

◆ どんなゲノム こんなゲノム ◆

* ミジンコのゲノム (2011年2月3日号のScienceで発表)

ミジンコは、プランクトン的一种でエビやカニと同じ甲殻類に属し、注意して探せば身の回りの池や沼に生息しているのが見つかります。今回ゲノムが解読されたのは、中型種のもので、体長1.5-3.5mmのミジンコ属ミジンコ (*Daphnia pulex*) であり、染色体の数は $2n=20$ です。解読されたミジンコのゲノムの大きさは約2億塩基 (ヒトは30億塩基) であり、体があまり大きくはないのに、ゲノムにある遺伝子数は3万907個 (ヒトは約2万3,000個) とされており、これまでにゲノムが解読された動物の中でも最も多い種類ということになります。さらに、ゲノム中に見いだされた遺伝子の1/3以上はミジンコだけで発見されたミジンコ特有の遺伝子と考えられるものであり、その多くはミジンコが生息環境の変化に対応するために必要な働きをしているものと考えられています。



＜今月の花＞
ジロボウエンゴサク
Corydalis decumbens
ケシ科
(2010年3月27日撮影)

ジロボウエンゴサクは、春になると何処にでも見られる近縁のムラサキケマンと異なり、ごく限られた場所にしか生育していない。花はムラサキケマンに似た独特な形であるが、その物静かな雰囲気をもった清楚な佇まいに惹かれ、毎春会うのを楽しみにしている花の一つである。