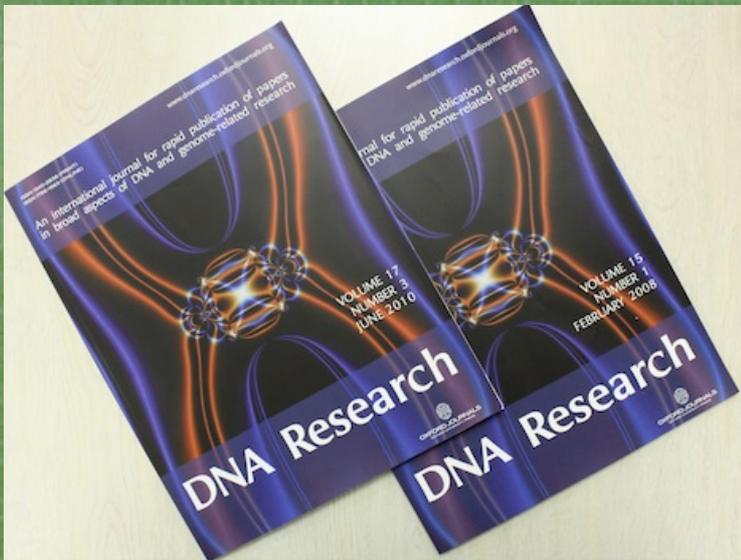




# かずさDNA研究所ニュースレター

第41号

2011年5月11日



## 研究所公開講座

2011年6月18日(土) および25日(土)に本年度の当研究所公開講座を千葉県立中央博物館にて開催します。多数ご参加下さい。

ページへのリンク → [公開講座](#)



## 最近の研究成果

### 大豆の遺伝子地図と分子マーカー

植物分子育種研究室：磯部祥子・田畑哲之

周知のように大豆は世界中で広く栽培されているマメ科の作物であり、紀元前2,500年頃に中国東北部で栽培化されたものと言われています。わが国でも大豆は古くから栽培されており、「枝豆にビール」は夏の風物詩になっています。わが国では大豆を直接豆腐や納豆に加工して食用にしていますが、それに加えて、味噌や醤油などの調味料作りにも欠かせない重要な原材料でもあることは今更言うまでもありません。大豆はタンパク質や油成分に富んでおり、大豆のタンパク質に多く含まれるアミノ酸が大豆の学名 (*Glycine max*) に由来してグリシンと名付けられていることは有名です。また大豆は家畜の飼料としても極めて重要な作物であり、さらに最近では大豆からとれる油がバイオディーゼルの生産原料として使われていることもよく知られています。

さてこのように重要な作物である大豆ですが、その生

産性や品質を高めるためには、何代にもわたる交配と優れた形質をもつ株の選抜がくり返され、多大な労力と年月が費やされて現在に至っています。大豆の生産性は過去20年でほぼ3倍になったと言われていますが、このような従来の育種の方法で大豆の生産性を高めるのには限界があり、しかもその作業に長い時間がかかります。そこで近年登場してきたのが、ゲノム情報を利用した分子育種の方法です。ここに紹介いたしますのは、「大豆の遺伝学、ゲノム科学および育種」(Genetics, Genomics and Breeding of Soybean; CRP Press から2010年5月に出版)の第4章として収録された総説(各種の研究論文に記載された報告をまとめて論評を加えたもの)の概要です。

これまでにニュースレターでも紹介して参りましたが、いろいろな植物のゲノムの塩基配列情報を利用しますと、その植物のもつ遺伝子が他の植物の遺伝子とどのように類似しているのか、とか、その遺伝子から作られる酵素等のタンパク質がどのような働きをするのかという情報が得られ、それによって、いろいろな植物のもつ遺伝子や遺伝子から作られるタンパク質の比較解析を行なうことが容易になります。ただ、多くの場合、育種によって達成したい目的(例えば、病虫害に対する耐性、



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

収量の増大、あるいは味の向上など)は複数の遺伝子の働きの結果であることが多く、個々の遺伝子を育種に結びつけることは一般的ではありません。そこで、染色体上のさまざまな領域にある特徴的な塩基配列を「分子マーカー」(目印)として選び、それらの分子マーカーを育種に利用しようという考えが登場してきました。これが「分子育種」と呼ばれる方法です。この方法は、親子鑑定や犯人探して用いられている個体の識別方法と基本的に同じであり、PCR法などを用いることにより、対象とする植物体のごく一部の組織があれば目的とするDNAを増幅して解析することができることを利用しています。したがって、従来の方法のように、交雑後に子孫を生育させて形質を調べて有用な株を選抜するという、時間と手間がかかり、栽培のために広いほ場を必要とするということはありません。

ところで、この方法を大豆の育種に利用するためには、大豆のゲノム中にあるどの塩基配列が分子マーカーとして優れているかを調べ、それらの分子マーカーを用いて、大豆の多種多様な遺伝子を簡単に検出し、より優れた性質を持つ株の選抜を可能にする方法を確立することが必要になります。そこで本論文では、これまでに大豆を対象として世界中で行われてきた研究報告で取り上げられているいろいろな分子マーカーについて詳細に検討するとともに、それらの分子マーカーがどのような大豆の品種集団を対象として解析されてきたのかを調べ、同時に、それらの分子マーカーが大豆のゲノム中のどこに存在するかを明らかにして「分子マーカーおよび遺伝子の連鎖地図」(それぞれのマーカーや遺伝子の染色体上の位置を直線の地図として表したもの; 図1を参照)についても検討を加え、その上で、大豆の分子育種の今後を予測しました。

そもそも、育種に用いることのできる分子マーカーはどのような性質をもっているべきなのでしょう? よい分子マーカーとは、いろいろな品種間にある差異(これを「多形」、英語でpolymorphismと言います)の識別に役立つものです。大豆の分子マーカー開発は、分類学的に同属の野生種であるツルマメ(*Glycine soja*)と大豆とを交配して得られた雑種を解析することで進められ、その後世界各地で栽培されている大豆のいろいろな品種を対象として各種の分子マーカーが探索されて今日に至っています。分子マーカーの代表的なものとしては、ゲノムDNA中にある各種の「くり返し配列」のように、くり返しの回数が品種間で異なるため、PCR法で増幅したゲノムDNAの断片の長さを電気泳動で容易に区別できるものなど(図2を参照)が選ばれてきました。

昨今DNAシーケンサーが長足の進歩を遂げており、今後は代表的な品種の一個体の全ゲノムの塩基配列を決定し、得られたデータを比較して育種に活かす方法がとられるようになることが予想されます。当研究所でも現在この線に沿って国際共同研究を進めております。

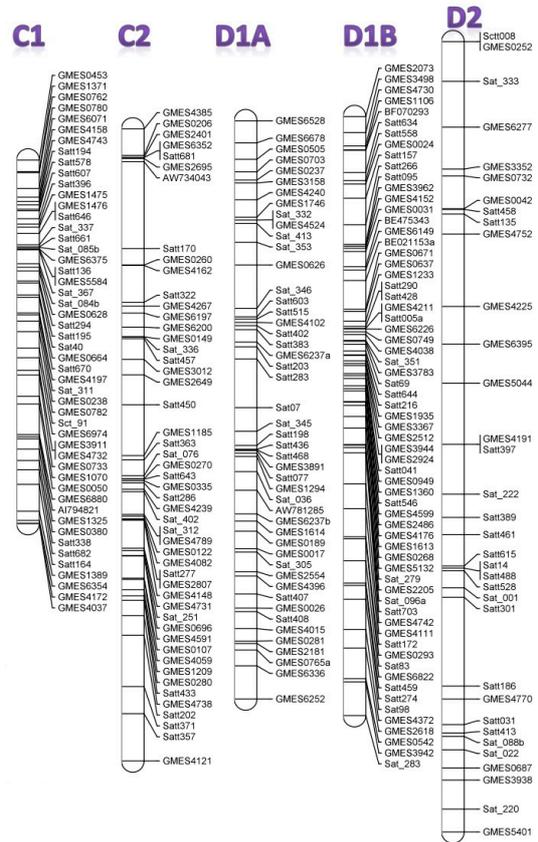


図1:大豆の遺伝子・分子マーカーの連鎖地図の一部

大豆には20本の染色体がありますが、これまでにツルマメとの比較や、各品種間での比較によって同定された遺伝子や分子マーカーは数千に上ります。ここではそれらの一部を関連付けて作製された連鎖地図の一部を示します。

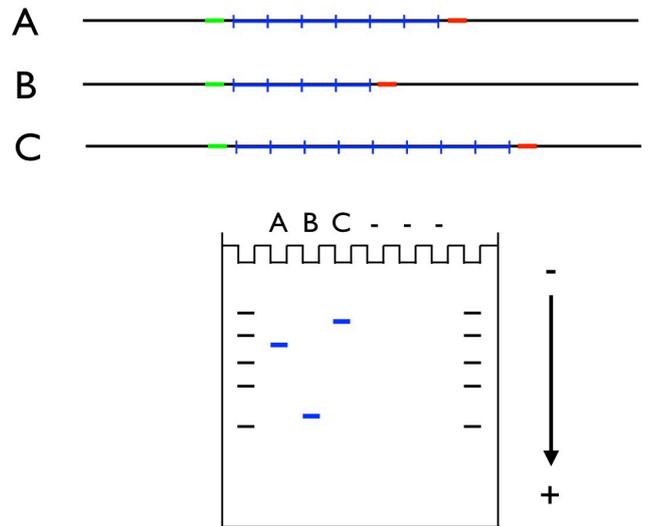


図2:ゲノム上の特定の位置にあるくり返し配列の検出

ゲノム上の特定の位置にあるくり返し配列(上の図中の青い線)の数が品種A、B、Cの間で異なっている場合、くり返し配列の両端を挟む共通配列(図中の緑と赤の線)の間でPCR増幅を行ない、得られたDNA断片を電気泳動しますと、断片が小さいほど早く+の方向へ移動しますので、それぞれの品種から得られる長さの異なる断片(下の図の青いバンド)を容易に区別することができます。なお、下の図の両端のバンドは、長さの異なる既知のDNA断片の混合物を同じように電気泳動したもので、DNA断片の大きさの測定に用います。

## ◆ どんなゲノム こんなゲノム ◆

### \* ショウユコウジカビのゲノム (2011年第2号のDNA Research誌で発表)

ニュースレター38号 (2011年2月号) で紅麴菌 (*Monascus pilosu*) とニホンコウジカビ (*Aspergillus oryzae*) のゲノム解析について紹介しました。ショウユコウジカビ (*Aspergillus sojae*) は醤油やみその製造に欠かせない麴カビの一種であり、ニホンコウジカビの近縁種ですが、ニホンコウジカビに比べてタンパク質を分解してアミノ酸やペプチド (タンパク質の部分的な分解産物) を作り出す能力が高いとされています。今回、キッコーマン (株) などの研究グループは、ゲノムの95%以上に当る約3,900万塩基の「概要配列」(最終的なゲノム塩基配列の一段階前のもの) を新型DNAシーケンサーを用いて決定しました。今後、得られたデータをニホンコウジカビなどと比較して醤油や味噌などの発酵食品の製造上有用な酵素についてより詳細な情報を得ることで、これらの発酵食品の品質や製造効率を向上することができるようになることが期待されます。



### DNA物語 (14)

前回の物語でtRNAの構造と機能について述べました。その過程で、なぜtRNAにはいろいろな構造変化をもつ「修飾された塩基」があるかなど、まだ生物学的な意義のわからないことがあるということにも触れました。あまりに専門的になり過ぎるので詳細な説明は省きますが、tRNAに含まれる多数の修飾塩基の構造の解明には、国立がんセンター研究所の西村博士らが大きな貢献をされています。ところでそのこととは別に、tRNAについて触れなければならない生物学史上で極めて重要なもう一つの側面があります。それはインドからアメリカに帰化した生化学者であるコーナ (H. Gobind Khorana) らによるtRNA遺伝子の全人工合成です。

現在の若い研究者はさほど重きを置いていないように思いますが、Journal of Molecular Biology (JMB) という学術雑誌は、かつては次々と重要な論文を掲載したことで有名な雑誌であり、JMBに掲載された論文のもつインパクトは非常に大きなものでした。ただしその当時は、現在のように、学術雑誌が当該分野の研究者に与える影響力を示す指標としてのIF (impact factor; 影響力指数) というものはありませんでしたので、残念ながら現在の状況と比較することはできません。いずれにせよ、そのように大きな影響力をもつ雑誌であるJMBの丸々一冊 (1972年12月28日号) に、コーナらのtRNA遺伝子の全化学合成の詳細を報ずる、13編の論文 (総ページ数283ページ) が一挙に掲載されたのです。その標題は「出芽酵母のアラニンtRNA遺伝子の全合成」というものでした (ただし、この論文で「遺伝子」と呼んでいるのは、tRNAというRNA分子の塩基配列をDNAの塩基配列にしたものというだけの意味であり、発現に必要な塩基配列を含む遺伝学的な意味での遺伝子という意味ではありません)。前回の物語で詳細を述べたように、コーナらが酵母のアラニンtRNAの塩

基配列を直接解析した結果、このtRNAにはジヒドロウリジンやリボチミジンといった多数の修飾塩基が存在していることがわかりましたが、コーナらが合成したのは、いわばそれらの塩基の修飾が行われる前の段階のtRNAの塩基配列に対応するDNA (遺伝子) であり、その時点ではコーナらにより全長は77塩基であると報告されていたので、77塩基の長さをもつ二重らせんのDNAでした。

現在では、DNAの化学合成はコンピュータープログラムによって自動化された「DNA合成機」を使えば誰にでも容易にできますが、当時はもちろんすべての過程が経験を積んだ化学者の手作業に依っていました。DNAを構成する塩基には、化学的な反応性に富んだアミノ基や水酸基などの「官能基」が多く含まれていますので、コーナらは、それらの官能基を一時的に保護して部分部分の短いDNAを合成しては繋ぎ合せていくという作業を重ねて、最終的なアラニンtRNA分子の全長に対応するDNAを作り上げたのです。そして、このそれぞれの短いDNA断片の合成過程の詳細を記述したのが上記のJMBの13編の論文です。そのうち、最初と最後の論文は合成計画と合成過程のまとめですので、実際の合成過程の記述は残りの11編の論文になります。このようにして、生物学史上初めて、ひとつの小さな、しかし生物学的に意味をもつDNA分子 (遺伝子) が全くの手作業で化学的に人工合成されたのです。

現在でも、DNAの塩基配列を決定したり、細胞中の特定の遺伝子の働きを調べたりするためには、塩基配列のわかったDNAを化学的に合成することが必要不可欠です。上述したコーナらの研究は、そのように重要な意義をもつDNAの化学合成を初めて成し遂げたものです。昨年5月にバンターらによって報告されたヘモフィルス・インフルエンザ菌の全ゲノムDNA (約180万塩基) の人工合成は、いわば上述したコーナらの研究の延長上にあるものであり、その質的な差は、30年間の分子生物学のめざましい進歩を物語るものだと言えます。



## トピックス

### 2つのアミノ酸からできるアミノ酸

長い間天然のタンパク質に含まれているアミノ酸の種類は20種類であるとされてきました。実際、ごく少数の例外を除いてこのことは今も事実です。ただし、タンパク質以外に存在するアミノ酸の種類となると話は別で、200-300種類のアミノ酸があることが知られています。

ところで、天然のタンパク質に含まれるアミノ酸が20種類以外にもあるらしいということは、すでに1970年代に報告されており、1976年には破傷風菌と近縁の細菌の酸化還元酵素の一種に、硫黄原子の代りに周期律表で硫黄と同族のセレンニウムが入ったセレノシステイン (Sec) を含むものがあることが同定されていました。その後1980年代になって、大腸菌でセレノシステインの合成と、セレノシステインがタンパク質に取り込まれる過程の詳細が明らかにされ、天然のタンパク質に含まれる第21番目のアミノ酸として確定しました。

さらに2002年には、いわゆる古細菌 (アーキア) のメタン菌で、天然のタンパク質に含まれる22番目のアミノ酸としてピロリジン (pyrrolysine; Pyl) の存在が報告されました。そして最近、このPylというアミノ酸の合成の過程が明らかにされたのです。その結果、Pylの合成は互いに隣り合った5個の遺伝子から作られる酵素群によって行われ、アミノ酸のリジンの二つの分子が結合後、一部の構造が変化してピロリジンというアミノ酸になるという経路が明らかにされました。

非常に興味深いことに、Secの場合もPylの場合も、タンパク質に取り込まれる過程で対応する遺伝暗号としては、それぞれ通常の場合は意味を持たない「終止暗号」であるUGAとUAGが対応しているということです。生物がなぜこのような多数の遺伝子の働きを必要とする複雑な経路を発達させ、特殊なアミノ酸を合成してタンパク質に取り込むのか不思議ですが、SecについてもPylについても、残念ながらまだその分子レベルでの働きの詳細は明らかにされていません。

### 「静寂」の音

遺伝子DNAの塩基配列が突然変異によって変化しても、その遺伝子から作られるタンパク質には変化をもたらさない場合が多々あり、そのような突然変異を英語で 'silent mutations' と言います。前々号の「DNA物語」で遺伝暗号表について説明しましたが、その表を見ていただくとおわかりいただけますように、遺伝暗号には多くの「曖昧さ」があります。例えば、アミノ酸のロイシンに対応する暗号は全部で6種類あります。もし突然変異によりロイシンに対応するCUAという暗号がCUGに変化したとしても、ロイシンに対応するという点では変わりませんので、この突然変異は作られるタンパク質のアミノ酸のならばに変化を及ぼしません。つまりこの変異は上述した「静かな」突然変異の例になります。

しかし最近、このような「静かな」突然変異の一部が別の形で遺伝子の発現に影響を及ぼす場合があるという研究成果が発表され、Nature誌に、「静かな」突然変異が実際に形質の変化として現れてくることを、silenceとsoundを対比した言葉遊びのタイトルとして「静寂の音」(The sound of silence) と題したコラムで紹介されています。

そのような「静寂の音」を出す突然変異の例としてもっとも興味深いものは、突然変異によって遺伝子の塩基配列が変化した結果、作られるメッセンジャーRNA (mRNA) の塩基配列が変化すると、たとえその遺伝子から作られるタンパク質のアミノ酸の配列には変化がなくても、そのmRNAに結合するマイクロRNA (miRNA) と名付けられたRNAの結合効率が低下する場合のあることがわかったことです。miRNAはここ数年研究されてきている低分子のRNAであり、mRNAに相補的に結合することで遺伝情報の翻訳の過程を制御するRNAとして注目されてきているRNAです。つまり、これまでは突然変異がアミノ酸のならばに変化をもたらすかどうかだけに注目されてきたのですが、アミノ酸のならばに変化をもたらさない場合でも、mRNAの翻訳の制御に目を向けると「静かな」突然変異ではない場合があるということがわかってきたということです。

#### <今月の花>

イヌノフグリ (ゴマノハグサ科)  
*Veronica polita* var. *lilacina*

(2010年5月22日撮影)

早春からコバルトブルーの花を咲かせるオオイヌノフグリ (帰化植物) は今では人里近くならほぼどこでも目につくが、在来種であるイヌノフグリはこれまでずいぶん探したもののお目にかかることができずにいた。しかし昨年、偶然のことから近くの田んぼの畦で初めてイヌノフグリを見つけた。花の色はきれいなピンクで、オオイヌノフグリとは大分趣が異なる。

