



# かずさDNA研究所ニュースレター

第42号

2011年6月8日



## かずさの森DNA教室

2011年7月20日(水)、22日(金)、  
26日(火)に開催します。木更津、  
君津、富津、袖ヶ浦の各市に在住・  
在学の中高生の参加をお待ちしてい  
ます。

ページへのリンク → [かずさの森](#)



## 最近の研究成果

### ナス科のモデル植物としてのトマト

ゲノムバイテク研究室：青木考・柴田大輔ら

毎日の食卓に並ぶ料理の原材料となる作物は非常に多くの種類があるように思えますが、実はそのほとんどはイネ科（イネ、トウモロコシ、麦など）、マメ科（大豆、ソラマメなど）、ナス科（ジャガイモ、トマト、ナスなど）、アブラナ科（キャベツ、大根、ブロッコリーなど）、セリ科（人参、パセリなど）などの比較的少数の分類群に属するものです。ナス科の作物にはジャガイモやトマトの他に、トウガラシやタバコ等がありますが、これらの世界的に広く栽培されているナス科の作物は、すべてが南アメリカ原産であるという特色をもち、南アメリカの国々で自然界にある原種が栽培化されて改良され、中世の大航海時代にスペインやポルトガルの人々によってヨーロッパにもたらされ、その後世界各地に広まったものなのです。

前号のこの欄で取り上げた大豆にしてもそうですが、

人類の祖先は、「食べ物」となる植物を自然界から探し出した上でさまざまな改良を重ねて今日見られるような作物を作り上げてきました。世界中で広く食べられているトマトも、自然界の原種を栽培化した後、数千年といわれる時間をかけてさまざまな育種をくり返し、原種の数十倍の大きさの実を付ける現在のトマトができあがってきたことがわかっています。最近、トマトのゲノムを解析し、分子生物学的な手法を用いて今後の育種に役立てていこうという動きが加速されてきました。その理由は、世界中には1,000-2,000種以上のナス科の植物があると言われていいますので、それらのナス科植物の植物体に含まれる機能未知の化合物を探索し、それらの化合物の合成にかかわる遺伝子を解明することにより、有用な働きをもつ栄養素等を含むトマトなどのナス科植物の育種が可能になるだろうと考えられるからです。

このような観点から、これまで国際協力事業の一環としてトマトのゲノム解析（近い将来に公表されます）に携わってきた当研究所としては、実験室での栽培が比較的容易なマイクロトム（次ページの写真を参照）という品種を研究対象に選び、多数の遺伝的変異株を収集するとともに、いろいろな生育環境条件の下で発現している遺伝子の「cDNAセット」を作成し、トマトのゲノムレ



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

ベルでの総合的な解析を進めるとともに、他の植物との比較を通じてトマトに固有な遺伝子を同定し、今後の基礎的ならびに応用的研究の発展に貢献したいと考えております。

このような経緯から、まず、マイクロトムに由来する1万種以上の遺伝子のcDNAを作り、そこから重複するものや二種以上のcDNAの混合物などを除いて、最終的に11,502種類の重複のないcDNAのセットを作成しました。すでにこれまでのニュースレターで説明しましたように（例えば2008年11月号）、cDNAは対象とする植物組織の細胞内で実際に働いている遺伝子から作られるメッセンジャーRNA（mRNA）をコピーしたものですから、cDNAのセットを解析すれば、その植物で「実際に働いている遺伝子」の全貌を知ることができます。真核生物では、遺伝子から作られるmRNAはスプライシングと呼ばれる過程でイントロン配列が除去されます。そこでまず、得られたcDNAセットをトマトのゲノムDNAの塩基配列データと比較し、それぞれの遺伝子のイントロンとエキソン（スプライシング後にmRNAに残り、アミノ酸に翻訳される配列）を明らかにするとともに、マイクロトムと、ゲノム解析に用いられたHeinzというトマトの品種の遺伝子の塩基配列の差を解析しました。その結果、両者の差異は0.06%という小さなものでした。さらに、得られたcDNAセットを用いて、解析の進んでいるジャガイモやタバコ等の遺伝子や、ナス科以外の植物の遺伝子と比較することで、トマトに固有な遺伝子やナス科植物に固有な遺伝子等が推定できます。

一方、得られたcDNAセットとゲノムの塩基配列を比較することにより、それぞれの遺伝子の発現の制御にかかわる「制御領域」の特徴を知ることができますし、さらにそのような制御領域に結合する種々の転写因子（遺伝子の制御領域に結合して、遺伝子の転写を促進したり抑制したりする因子）などの解明が進むことが期待されます。このような解析を通じて、トマトひいては他のナス科の植物の基礎研究と応用研究を橋渡しし、有用な作物の育種を進める上で重要になる塩基配列を選択したり、ゲノムの特徴などの情報を得ることができると期待されます。【ここに紹介したのは、2010年3月に学術雑誌 BMC Genomicsに発表した「トマトの栽培種マイクロトムの全長cDNAの大規模解析」という論文（原文は英語）の概要です。】

写真：ナス科のモデル植物であるマイクロトム



マイクロトム（Micro-Tom；小さなトマトの意）は、実験室での栽培に適したトマトの品種であり、通常のトマトと比べて背丈が低く、全高が20-30センチほどにしかありません（写真のトマトは約25センチ）。したがって栽培が容易で栽培面積も小さくて済み、各種の実験を行なう目的に適しています。このような理由から、マイクロトムはナス科のモデル植物とされています。

## 今月のキーワード

～「最近の研究成果」にでてきた言葉の解説～

**cDNAセット**：これまでのDNA物語（第8回：2010年10月6日号および第9回：11月5日号など）で説明しましたように、遺伝子が発現する際はまずその遺伝子からメッセンジャーRNA（mRNA）が作られます。DNAの2本のらせんは、互いに向き合ったらせん上にある塩基が、A-TおよびG-Cの対合をしていますので、二本のらせんは互いに相補的（complementary）であると言います。遺伝子が発現する（転写される）際に、mRNAは遺伝子DNAの一方のらせんと相補的になるように作られます。その際、RNAはTの代わりにメチル基のないUで構成されていますので、A-UおよびG-Cの対合になります。一般にRNAは不安定で分解されやすく、長期の保存には向きません。そこで、それぞれの組織の細胞で発現している遺伝子から作られるmRNAを抽出し、それらのDNAコピー（相補的DNA、略してcDNA）を作成して保存するのです。通常、作成したcDNAをプラスミドに結合させ、大腸菌などに入れて保存します。特定の条件下で発現しているすべての遺伝子のmRNAを用いて作成したものが本文中で述べる「cDNAセット」です。

**スプライシング**：真核生物で、遺伝子から転写されたmRNAの塩基配列からイントロンの配列を除去し、残りのエキソンの配列を再結合する過程をスプライシングと呼び、スプライソゾームという複雑な反応系が関与することが知られています。トマトのcDNAの解析から、トマトのイントロンはシロイヌナズナやイネのものよりも長いことがわかりました。遺伝子の中には、発現する組織などによってエキソンの再結合の組み合わせの変わる「選択的スプライシング」と呼ばれる現象のあることが知られており、最終的に、一つの遺伝子から複数の成熟mRNAが作られることになります。したがって、cDNAを解析することによって初めて、ゲノム解析からだけでは得られない「発現している遺伝子の全貌」の情報を得ることができるのです。

## ◆ どんなゲノム こんなゲノム ◆

### \* イヌカタヒバ（シダ植物）のゲノム（2011年のScience誌で発表）

一般にワラビやゼンマイなどのシダ植物は花を付けないので「隠花植物」と呼ばれます。シダ植物では、われわれが目にする通常の葉や、種類によっては独立した孢子葉に孢子ができ、孢子が発芽して「前葉体」となり、そこに造卵器（雌性）と造精器（雄性）ができて有性生殖が行われます。シダ植物は花を咲かせる植物（顕花植物）よりも進化的に起源が古いと考えられており、植物の進化を理解する上で興味を持たれてきました。今回、シダ植物の中でも特に起源が古いとされる、ヒカゲノカズラ類のイワヒバ科に属するイヌカタヒバ（イヌとは似て非なるものの意； *Selaginella moellendorffii*）の全ゲノムが解析・公表されました。顕花植物以外の維管束植物（根で吸収された水分や養分、および光合成で作られたデンプンなどの輸送通路となる「導管」や「篩管」をもつ植物）では初めての例です。解析の結果、維管束を持たないヒメツリガネゴケ（コケ類）に比べて516遺伝子が新たに増え、逆に89遺伝子が失われていることがわかりました。一方、イヌカタヒバと顕花植物を比較すると、後者で増えた遺伝子は1,350、失われた遺伝子は442であることがわかり、遺伝子の数から言えばイヌカタヒバは進化的にコケ類により近い植物であることがわかりました。さらに、イヌカタヒバにおいては遺伝子の発現の制御などが顕花植物とは異なっていることが見いだされており、今後の詳細な解析に興味を持たれます。



### \* ナツメヤシ（ヤシ科の植物）のゲノム（2011年のNature Biotechnology誌で発表）

ナツメヤシは5,000年以上前から、中東から北アフリカ地域で栽培されているもっとも経済的に木材を得られる植物であり、同時に乾燥地帯の酸性土壌の改善に適した植物であると言われています。7,000-8,000年前のエジプトのファラオの墓からナツメヤシの種が見つかることから、ナツメヤシは古くからエジプトの人々の栄養源としても重要な役割を果たしていたことが推測されています。ただし、生育に年数がかかる（5-8年）ことと、雌雄異株であって、幼木の性を判別することが困難なために栽培が煩雑になり、育種が容易でないことが欠点としてあげられます。今回、カタールの研究チームがアメリカ、フランス、アルゼンチンの研究者らとともに、雌のナツメヤシのゲノム解析を行ない、全ゲノムの約60パーセントで全遺伝子の約90パーセントを含む領域の塩基配列を決定して発表しました。その上でこれらの研究者らは、雌雄の株を含む他の8種類の栽培種や戻し交配した株の塩基配列を決定して相互に比較し、ナツメヤシの性決定に関連するゲノム領域を突き止め、染色体の観察によって報告されていた、ナツメヤシの性決定がヒトと同じXY型（雄がXY、雌がXXで性が決まる）であることを確認しています。さらに、各栽培種間の差異の検定に用いることのできる配列も同定しています。今後、このゲノム解析の結果がナツメヤシの育種にどのように活かされていくのかわかりませんが、ヤシ科の植物には、アブラヤシやココヤシ等の重要な植物が含まれていますので、新しい育種の方法の確立が望まれます。



## DNA物語 (15)

2010年11月号に掲載した第8回のDNA物語で、フランスのパスツール研究所のジャコブ (François Jacob) とモノー (Jacques Lucien Monod) らが、大腸菌のβガラクトシダーゼという乳糖を分解する酵素の遺伝子の働きを研究中に、遺伝子 (DNA) からタンパク質ができる際には、Xという未同定の物質が関与しているという考えに至り、そのXが、ちょうどその頃ヴォルキンとアストラカンの見いだした「DNAに似たRNA」ではな

いかということから、メッセンジャーRNAと名付けられたという経緯を述べました。今回は、時系列的に少し遡りますが、ジャコブとモノーらの研究者がどのようにしてそのような考えに至ったのかということの説明します。そのために、当時彼らが行なった研究で、遺伝学・分子生物学の発展の歴史の中で非常に重要な位置を占める「βガラクトシダーゼ遺伝子の発現とその制御機構」についての研究の概要を述べます。

ジャコブとモノーらは、当時「適応酵素」と呼ばれていたβガラクトシダーゼがどのように作られるのかに着目しました。この酵素がどうして適応酵素と呼ばれてい

たかと言いますと、大腸菌は培地に乳糖がなければβガラクトシダーゼを作りませんが、培地に乳糖を与えると直ちにβガラクトシダーゼを作って乳糖を分解して摂取することがわかったためです。つまり、見かけ上、βガラクトシダーゼは乳糖があるかないかという状況に適應して作られる酵素のように思われたのです。そこでジャコブとモノーらは、大腸菌がどのようにして状況に適應するのかということを解明しようと試みました。そのために彼らのとった戦略は、大腸菌のいろいろな突然変異株を分離し、それらを遺伝学的・生化学的に詳細に解明するというものでした。つまり彼らは、多数の「ペトリ皿」【コッホの弟子であったドイツ人のペトリ (Julius Richard Petri) が考案したとされる直径10センチほどの蓋付きの円形のガラス容器。通常シャーレとも呼ばれ、培地を寒天で固めて使用するために用います】を使用し、いろいろな糖の誘導体、および、与えた糖が分解されれば色の変わる色素を加えた培地 (図1に例を示します) を使うことによってこの問題に挑戦したのです。そして、分離した膨大な数の突然変異株とそれらのかけ合わせによる遺伝学的解析結果から彼らは、「遺伝子の中には他の遺伝子の発現を制御する遺伝子がある」という驚くべき結論を導いたのです。

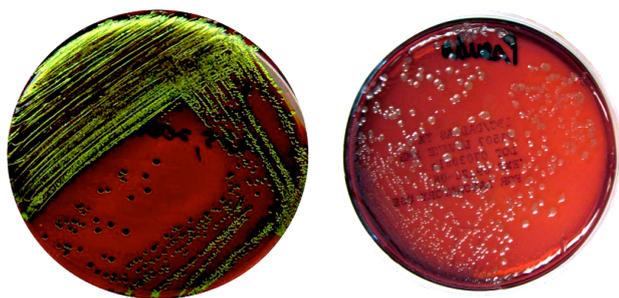


図1：大腸菌の乳糖を利用できる株とできない株

培地にエオシンとメチレンブルーという二つの色素を加え、乳糖のみを糖として培養する (EMB-乳糖培地) と、野生型の大腸菌は乳糖を分解できますので、金属光沢をもった青黒いコロニーを生じます (左)。しかし、突然変異によって乳糖を分解できなくなりますと、コロニーは無色透明になります (右)。ジャコブ・モノーらはこのようにして分離同定した多数の突然変異株を用いてさまざまなかけ合わせを行ない、その結果を解析したのです。

ジャコブとモノーらの行なった各種の実験から得られた結論であるラクトースオペロン (オペロンとは、特定の働きに関連した一つ以上の遺伝子をもち、遺伝子の発現を調節する仕組みを含んだ機能の単位) の構造とその働きを概略を示しますと図2のようになります。この図は、培地中に乳糖のある時とない時で何が異なるのかということに焦点を当てて説明を簡略化したものであり、そのもっとも重要な点は、リプレッサー遺伝子という他の遺伝子を制御する遺伝子の存在を予測したことです。後年、実際にリプレッサータンパク質が単離され、この考えの正しかったことが実験的に証明されました。最初

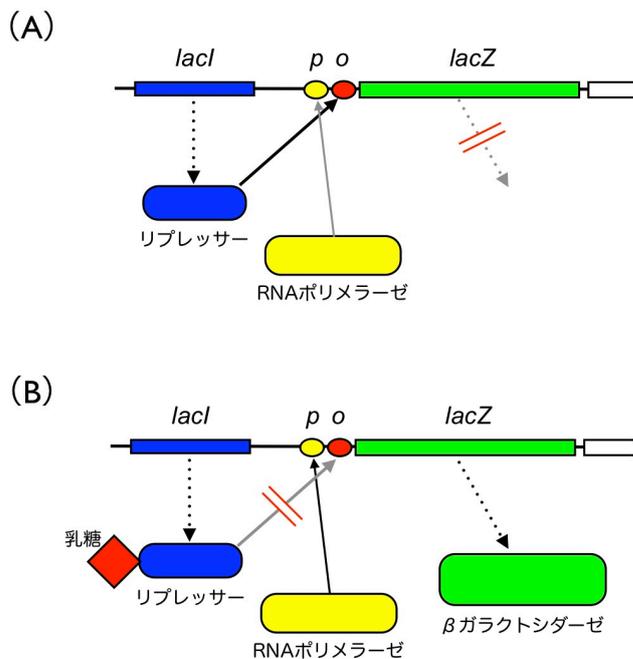


図2：大腸菌のラクトースオペロン (簡略化したもの)

図は、大腸菌の乳糖分解酵素であるβガラクトシダーゼについて行われた一連の遺伝学的な実験の結果得られたものをまとめたものです。βガラクトシダーゼを作る遺伝子 (*lacZ*) にはオペレーター (作用子) と呼ばれる領域があり、培地中に乳糖のない時 (Aの場合) は、ここに*lacI*と名付けられた遺伝子から作られるリプレッサーと呼ばれるタンパク質が結合する結果、*lacZ*遺伝子の転写が起りません。しかし、培地に乳糖を加えると (Bの場合)、乳糖からできる化合物がリプレッサーに結合して不活化し、その結果*lacZ*遺伝子の転写が起り、βガラクトシダーゼが作られるのです。

にジャコブ・モノーらが考えたラクトースオペロンの説明図はほぼ図2に示したものと同じでしたが、その後、グルコース (ブドウ糖) が存在すると、たとえ乳糖を加えてもβガラクトシダーゼは作られないことがわかり、実際にはこの図に示したよりもさらに複雑な系であることがわかりました。

このようにしてその働きが解明されたラクトースオペロン (ジャコブとモノーらは1965年にノーベル医学生理学賞を受賞) ですが、その後の研究から、このオペロンの働きを利用した応用例が多数生まれました。特に、DNAの人工的な繋ぎ換えができるようになると、*lacZ*遺伝子を他の遺伝子の発現調節領域に結合させ、その遺伝子の発現量を簡単かつ定量的に測定できるβガラクトシダーゼの活性に置き換えて測定することや、βガラクトシダーゼで切断されると水に不溶性の化合物を遊離して青色を呈するX-galという特殊な糖の化合物を利用し、特定の遺伝子の発現領域に結合させた*lacZ*遺伝子が生体内のどの部位で発現するかを、X-galから遊離する化合物の青色を目印として観察するなどという応用例は、いろいろな生物の遺伝子の作用を調べる上で極めて有効な方法だったのです。



## トピックス

### 人は腸内細菌によって支配されている？

近年、目覚ましい進歩を遂げてきたDNAシーケンサーを用いることによって「メタゲノム解析」と呼ばれる方法が可能になり、定着してきました。例えば、ある環境中（人の大腸内とか口中あるいは皮膚等）に生息する細菌のゲノム解析を行なう場合、従来は個々の細菌を単離して純粋培養した後にゲノムDNAを抽出して解析していました。皆様もよくご存知である大腸菌を始めとして、肺炎菌や結核菌など、数多くの病原菌のゲノム解析はすべてそのようにして解析されてきたものです。しかし、ヒトの体内に生息する細菌は単離して純粋培養するのが難しいものが多く、これまではゲノム解析ができませんでした。そこで、個々の細菌を分離培養することなく、特定の環境にいる細菌の集団全体からDNAを混合物として抽出して塩基配列を決定し、得られたデータをコンピューターで解析するという方法が登場したのです。これがメタゲノム解析と呼ばれる方法です。

最近、欧州分子生物学機構の研究者らは、このようにしてヒトの腸内の細菌のメタゲノム解析を進め、ヒトの腸内細菌群は三つの「腸型」（enterotypes）と名付けたグループに分けられるということを報告しています。彼らは、三つの腸型をヨーロッパ人、アメリカ人および日本人について調べた結果、人種や住んでいる地域とは無関係であり、また、それぞれの腸型の細菌群は互いに異なるビタミン合成酵素をより多く持つことから、ヒトの栄養摂取に差異をもたらしていることが考えられると報告しています。

今後、腸型がどのようにして生ずるのかという研究をはじめ、投薬効果と腸型との関連の解析、さらに腸型を変えることが医学的・栄養学的にどのような意味を持つのかなどの研究が進んでいくことが考えられます。何しろ、単純に細胞の数を比較すれば、腸内、口中および皮膚に寄生する細菌の総数はヒトの全細胞数よりも多いと言われているので、これらの細菌群が人の健康に与える影響はかなり大きいと考えられます。

### 翅などの器官の形成を促す仕組み

多細胞生物の受精卵の発生過程は古くから研究されてきました。1924年にドイツのシュペーマンは、イモリの胚発生を調べる過程で、原口（げんこう；胞胚期から囊胚期に移行する過程で見られる原腸の陥入部のこと）の背側の縁の「原口背唇部」と呼ばれる部分が、分化していない細胞の分化を誘導する能力をもつことを発見し、それを形成体（オーガナイザー）と名付けました。そして、発生過程での分化の誘導現象は何段階にも分かれており、一次形成体や二次形成体などと名付けられた形成体が連鎖的に働くことが解明されていきました。

遺伝学的・分子生物学的な解析が進むと、分化の誘導に関与するいろいろな遺伝子の働きが解明されてきました。中でも驚きをもって迎えられたのがキイロショウジョウバエの‘bithorax’（胸部の二つの体節にかかわるのでこう名付けられた）遺伝子群に関する突然変異でした。この突然変異により、胸部の第3体節が第2体節と同じになり、その結果翅が4枚のキイロショウジョウバエが生じたのです。この突然変異そのものはすでに1915年に発見されていたのですが、その原因遺伝子を分子生物学的に解析した結果、昆虫から哺乳類まで広く存在する一連の器官形成を促す「ホメオティック遺伝子」の存在が明らかになり、生物の発生の過程で重要な働きをしている遺伝子に共通性のあることがわかったのです。

最近、烏骨鶏がなぜ4本でなく5本の指をもつのかということが名古屋大学の研究者によって突き止められ、ソニックヘッジhogと名付けられたホメオティック遺伝子に起こった変異によるものであることが明らかにされました。また、セミ類に近縁のツノゼミと呼ばれる昆虫に見られるヘルメットと呼ばれるいろいろな形の構造が、胸部の第一体節の付属物が進化の過程で変化したホメオティック変異であることがフランスとアメリカの研究者によって明らかにされました。絶滅昆虫の中には胸部の第一体節から生じた翅をもつものが知られており、したがってツノゼミはそのような絶滅昆虫と同じように、ホメオティック変異で、胸部の第一体節からいろいろな構造を作る能力を獲得したのだということになります。

#### <今月の花>

ツルアリドオン (アカネ科)

*Mitchella undulata*

(2010年6月10日撮影)

同じアカネ科の低木で、蟻をも突き刺す(?)という程の鋭い棘を持つアリドオンに似た蔓性の植物であり、初夏に白いきれいな花を付ける。しかしツルアリドオンには名前に反して棘はない。花は必ず二つ一組で咲き、基部にある子房が合体して二つの花から一つの果実ができる。その結果、花の咲く頃まで残る赤くきれいな果実には2個の「へそ」が見られる。

