

かずさDNA研究所ニュースレター

第43号 2011年7月7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 → <u>かずさの森</u>



公開講座を開催しました

さる6月18日(土)と6月25日(土)に、千葉県立中央博物館(千葉市中央区)との共催により、同博物館を会場として本年度の公開講座を開催しました。公開講座のテーマは、「免疫研究の最前線」(6月18日)と「ゲノム解析から見えてくるもの」(6月25日)で、両日とも外部の講師を含むそれぞれ3名の講師の方々に講演をお願いし、また、講演終了後には「講師を囲む懇談会」を行ないました。

千葉市を中心とした県北地域と県外からの参加者を含めて、両日で約250名の方々に参加していただきました。公開講座の開始前から予想はしておりましたが、多くの方にとって身近な問題である「免疫研究の最前線」は参加者が多く、会場は当初の予定を超える約160名の方々で埋まりました。当日のアンケートに、「会場が不便な場所である」とか、「会場が窮屈である」と書かれた方が多くおられました。参加された皆様にご不便をおかけしまして申し訳ございませんでした。

二日目の「ゲノム解析から見えてくるもの」の参加者はやや少なめでした。しかし、ゲノム解析という、参加された多くの方にとってはなじみの少ない分野の講演で

あるにもかかわらず、講演に対して非常に高度な質問をなさる方がおられたのが印象的でした。また、アンケートの中で講師の配布した資料の間違いを指摘した方もおられました。これらのことから参加された方々のレベルの高さを改めて実感しました。

公開講座の両日とも、講演終了後に「講師を囲む懇談会」を開きました。懇談会に出席された方の数はあまり 多くはありませんでしたが、出席された方々は、博物館の閉館時刻まで熱心に議論に参加しておられました。



講演終了後に講師を囲んで話し合う参加者



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



最近の研究成果

シアノバクテリア・データベース (Cyanobase)

植物ゲノム情報研究室:中尾光輝・中村保一ら

地球上に生命が誕生したのはおよそ40億年前とされて いますが、誕生から10億年程経ってから(つまりおよそ 30億年前)、太陽のエネルギーを利用して光合成を行な うことによって酸素を作り出すシアノバクテリアの祖先 が出現したとされています。シアノバクテリアはかつて は「らん(藍)藻」と呼ばれ、微細な原始的藻類(微細藻 類)であると考えられていました。しかしその後の系統 分類学的な解析によって、シアノバクテリアは大腸菌な どと同じようにはっきりした核の構造を持たない原核生 物であり、膜に包まれた核の構造をもつ真核生物の緑藻 や紅藻等の藻類ではないことがわかってきました。その ため現在では、らん藻という呼称の代りに、らん色細菌 とか英語のカタカナ表記であるシアノバクテリアと呼ば れています。ただし、研究者によっては今でもらん藻と いう呼称を使っている人もいますので必ずしもすっきり していません。

シアノバクテリアは地球上での誕生の起源が古いせいもあって、生息する分布域も細胞の形態も多様であり、中にはまさに藻類を思わせるように、沢山の細胞が数珠玉のようにつながったように見える種類もあります。当研究所でゲノム解析を行なったアナベナというシアノバクテリアはそのような例です(写真をご覧下さい)。また、時々池や沼等で大発生して話題になるアオコ(ニュースレターの2008年第2号をご覧下さい)もその主体はシアノバクテリアの一種です。

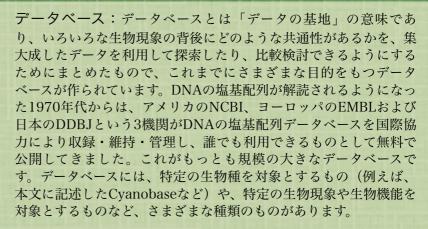
当研究所は平成6年(1994年)10月に開所しましたが、開所後に最初に取り組んだのがSynechocistisという学名(属名)をもつシアノバクテリアのゲノム解析でした。その解析結果は、1年半後の1996年2月に、全長約350万塩基のゲノムの塩基配列情報として公表しました。その後も引き続いて他のシアノバクテリアのゲノム解析を行い、これまでに、アオコを含めて全部で5種類のゲノム解析情報を公表しております。

ゲノム解析の結果得られるゲノムDNA の塩基配列データは膨大な量になります ので、データの有効利用を図るために、しばしば公表されたデータをまとめて有機的に関連づけた「データベース」が作成され、利用されています。当研究所では、これまでにゲノム解析が行なわれ、ゲノムの塩基配列情報が公開された各種のシアノバクテリアのゲノム解析データを、Cyanobaseというデータベースとしてまとめて公表してきました。このデータベースは、シアノバクテリアの研究者だけでなく、他分野の研究者からも利用されています。

データベースの管理運営は非常に地味な努力を必要とする業務です。まず、収録したデータに誤り(データの生産者に起因する誤りのほか、データを収録する過程で生ずる誤りもあります)がないかどうかを不断に検証する必要がありますし、それに加えて、収録したデータが利用しやすい形式になっているかどうかを検証することも必要です。ただし、一般的に一端設定した表示形式は後々まで踏襲して利用者の混乱を回避する必要がありますので、データベースを使いやすくするために収録・表示の形式を変更・改訂する場合には、従来の形式との継続性をどのように保証して調和を図るかが難しい課題になります。さらに、収録したもとのデータは、多くの場

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~



真核生物と原核生物:細胞の中心部に膜で包まれた核の構造をもつ生物を真核生物と呼び、われわれが通常目にする動物・植物のほとんど(多細胞生物)は真核生物です。核の中には、ヒストンと呼ばれるタンパク質とDNAが結合して存在しており、細胞分裂に際しては高度に凝縮し光学顕微鏡で観察できる染色体となります。これに対して、バクテリアは核の構造をもたず、DNAもはっきりとした染色体の構造としては存在していません。原核生物は単細胞生物ですが、ある種のシアノバクテリアなどでは「群体」の中の細胞に役割分化が見られますし、また他の多くのバクテリアでも、バイオフィルムのような膜状の構造の中で「群体」を形成し、細胞間にある程度の役割分化が見られます。

合一定の頻度で常に改訂されていますので、関連する学 術雑誌に掲載される報告に目を通し、収録したデータが 最新のものになっているかどうかについて注意を払い続 ける必要もあります。

当研究所で管理・運営しているデータベースとして は、Cyanobaseを含めて全部で9種類のデータベースが あります。なかでもCyanobaseは当研究所の運営する データベースとしてはもっとも歴史の古いものであり、 当研究所で最初にゲノム解析を行なったSynechocistisをは じめ、他の研究機関などでゲノム解析の行われたシアノ バクテリアについての分類や生態に関する各種の情報、 解読されたゲノムDNAの塩基配列、それぞれのシアノバ クテリアを対象として行われた研究の紹介、個々の遺伝 子に関する情報(遺伝子の作るタンパク質の性質や比較 などについての記述、それぞれの遺伝子について報告さ れている突然変異、など)を収録してあります。収録し たデータは、各種のシアノバクテリアのゲノムや遺伝子 について生物情報学的 (バイオインフォーマティクス) な観点から解析する研究者の利用の便に供することはも ちろん、一般の実験生物学者が利用しやすいようにする ため、データを視覚的に捉えて見やすくする工夫も重ね てきました。具体的には、シアノバクテリアのゲノムプ ロジェクトを全体として俯瞰したり、個々のゲノムプロ ジェクトの詳細を見るためのツール、それぞれの種のシ アノバクテリアの遺伝情報全般や個々の遺伝子の特徴な どについてわかりやすく表示するためのツール、遺伝子 やその産物の機能などを探索するためのツールなどの開 発と改良を行なっております。

Cyanobaseは1995年に整備して公表したのですが、そ れ以来現在までに5回の主な改訂・拡充を行なっており

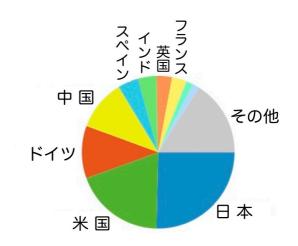


図1: Cyanobaseの国別利用(2010年1月1日-2011年6月30日)

130カ国・地域からの総利用数104,194件のうち、日本国内から の利用者は全体の約25%であり、上位10カ国からの利用者が全 体の約84%を占めます。

ます。これらの改訂・拡充につきましては、そのつど論 文発表を通じて公表し、同時にデータベースにも記載し てきました。現在のCyanobaseには、これまでに解析さ れ発表された合計35種類のシアノバクテリアのゲノム解 析データ (総計2億6,700万塩基) が収録され、利用者 に供されています。図1には、Cyanobaseがどの国の研 究者によってどれくらい利用されているかを示してあり ます。日本国内からだけでなく、国外の多くの研究者に よっても利用されていることがおわかりいただけると思 います。

【ここに紹介しましたのは、2009年10月に学術雑誌 Nucleic Acids Research誌に発表した「Cvanobase: シアノバクテリアゲノムデータベース・2010年更新」と いう論文(原文は英語)の概要です。】

🙏 どんなゲノム こんなゲノム 🙏



* アコヤガイで発現している遺伝子の解析 (2011年のPLoS One誌で発表)

アコヤガイはPinctada fucata martensiiという学名をもつウグイスガイ科アコヤガイ属の二枚貝であり、古くか ら日本の太平洋岸の各地や、アジア諸国やインド等で天然の真珠の採れる貝として知られてきました。19世紀末 に、御木本幸吉により人工的に貝片を挿入することで真珠を作らせる技術が開発され、いわゆる養殖真珠が生産 されるようになったことはよく知られています。しかし、アコヤガイの体内で実際に真珠ができてくる過程は複 雑であり、アコヤガイの多くの遺伝子が関与していることが推測されています。今回東京大学大学院農学生命科 学研究科の研究者らが、真珠のもととなる炭酸カルシュウムの結晶がどのようにしてプリズム層や真珠層と呼ば れる層構造を経由して真珠の形成に至るのかについて、アコヤガイで実際に発現している遺伝子を調べて解析し ようと試みました。そのためにこれらの研究者らは、外套縁膜とか真珠袋と呼ばれる真珠の形成に関与する組織 の細胞からメッセンジャーRNAを抽出し、その塩基配列を第二世代シーケンサーで解析しました。その結果得ら れた26万あまりの塩基配列データから、外套縁膜や真珠袋でより強く発現している3万弱の候補遺伝子が得られ ました。その中には、真珠層でもっとも強く発現している遺伝子として、ガラクトース結合型レクチンに似たタ ンパク質を作る遺伝子など、いくつかの特徴あるタンパク質を作る遺伝子が同定されています。今後これらを解 析していくことで、アコヤガイの真珠の形成の秘密が解き明かされるのでしょうか?

•

DNA物語 (16)

前回、大腸菌のラクトースオペロンについて少し専門的なことを含めて紹介し、ジャコブとモノーらの精力的な研究により、遺伝学の歴史上初めて、「遺伝子の発現の制御」という概念が生れたことを述べました。ところで、ちょうどその頃、同じ大腸菌を対象として発見された「制限」という奇妙な現象の追求から、生物学を根底から変えるに至った新しい技術が生れました。今回はその制限という現象と、そこから生れた「組換えDNA技術」について述べます。

第7回のDNA物語(2010年9月)で、 バクテリオファージ(あるいは単にファージ)と呼ばれる大腸菌に感染するウィルスについて、さらに、第11回のDNA物語(2011年1月)とその別紙でファージが感染してできるプラークについて説明しました。その際に触れましたように、ファージを用いた実験は一晩で結果がわかることから、多くの研究者がファージを用いた実験を行ないました。その過程で、これから述べる「制限」という現象が発見されたのです。それでは、制限とはどういう現象であり、どうしてそう呼ばれたのでしょうか?

1950年代のはじめに、アメリカのいくつかの研究グ ループが「バクテリオファージには、宿主に依存した一 過性の変異が生ずることがある」ということを発見して 報告しました。それらの報告によれば、大腸菌に感染す るファージの「感染力」は大腸菌の株に依存し、ある株 (X株)で生育したファージをもう一度同じX株に感染 させた場合にはすべてのファージがプラークを作ります が、そのファージを別のY株に感染させると感染力(プ ラークを作る能力)が一万分の一以下に低下するという ものです。ただし、奇妙なことは、一度Y株でプラーク を作ったファージはY株で100%プラークを作ります が、今度はX株への感染力が一万分の一以下に低下して しまうというのです。この現象から、「一つの株で生育 したファージは、その株で独特な修飾を受けるため、そ の株では生育できるが、別の株での生育は制限される」 と説明されました。ただし、この現象は、当時ファージ を研究対象としていた一部の研究者に知られていたのみ であり、広く一般には注目されませんでした。

その後、1950年代の末になってこの現象に再び注目したのが、ジュネーブ大学のアーバー(Werner Arber)でした。彼は大腸菌のBおよびB/rという株にλ(ラムダ)ファージを感染させるという実験を行っている過程で、上述した宿主依存性の修飾と制限という問題に直面したのです。アーバーの優れた点は、この現象を単に説明するだけでなく、この現象の背後に隠された仕組みを解明しようと挑戦したことです。アーバーの述懐によれば、ジュネーブ大学で彼に課せられた任務の一つに生物

に対する放射線の影響の調査があり、そのために大腸菌 にλファージを感染させた後に放射線を当ててλファー ジのDNAがどうなるかという実験を行いました。そし て、λファージのDNAが放射線によって切断されて断片 になることを見いだしたのですが、それと平行して行 なった実験で、λファージを制限する宿主内でも同じよ うにλファージのDNAが断片になることを見いだした のです。アーバーは、放射線と制限という、一見何の共 通性ももたないように見える二つの事象の間の共通性は 何かということを考え、「大腸菌の宿主間を移動する ファージのDNAは宿主固有の修飾を受けるため、その 宿主では分解されないが、修飾の仕方の異なる新しい宿 主では分解される。これが制限という現象である。」と 考えるに至ったのです。こうして、制限という現象は大 腸菌の株に特異的な「制限酵素」と名付けられたDNA 分解酵素によるDNAの分解であることが推測されるに 至り、その後実際に制限酵素が分離されて確かめられま した。序でですが、修飾は同じ配列を認識する別の酵素 によって行われることもわかりました。

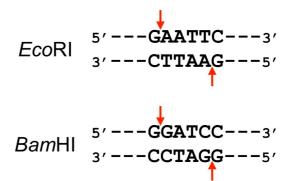


図1:制限酵素によるDNAの切断

本文に述べたような過程でその存在が推測され、実際に生化学的に分離された制限酵素がどのようにDNAを切断するのかを代表的な二つの制限酵素で示しました。これらの酵素は、互いに相補的な二本鎖の6塩基の「回文構造」を認識して、DNAを↑↓の位置で切断します。これらの酵素による切断によって生じた断片の末端は片側の4塩基が突出しており、したがって、同じ酵素で切断された別の断片の末端と相補的な4塩基の「親和性」をもちます。したがって、もしこの親和性をもったDNA末端を再結合させることができれば、人工的なDNAの「組換え体」を作ることができまれば、人工的なDNAの「組換え体」を作ることができます。詳細は省きますが、その再結合を行なう能力を持つものとして見いだされたのがリガーゼという結合酵素です。

実際にはいろいろな事象がからんでもっと複雑だったのですが、これらを踏まえて1970年代には、制限酵素と制限酵素によって生じたDNA断片を結合することのできるリガーゼを用いれば、二つの異なる生物のDNA分子を繋ぎ合せる(すなわち、人工的に組換えを起こす)ことができることが実験的に確かめられ、ここに「組換えDNA技術」が確立されたのです。そして、この技術を応用し、大腸菌の細胞内で自律的に増殖することのできるプラスミドやファージを使うことにより、別の生物の遺伝子を大腸菌の中で増やすという「クローニング」の技術が生まれたのです。

トピックス

イネの体内リズムに関与する遺伝子

地球は24時間周期で自転しており、また一年周期で太陽の周りを回って(公転)いることはよく知られていることです。この地球の自転や公転が生物のもつさまざまな活動のリズムに影響していることはかなり古くから注目されており、動物だけでなく、カビや植物などでも、日周活動のリズムのもとになる「時計遺伝子」が発見されて研究されてきております。高等植物のモデルとして最初にゲノム解析が行なわれたシロイヌナズナでは、体内時計の遺伝子の突然変異株が分離されており、その生育への影響等が研究されています。

最近、独立行政法人・農業生物資源研究所は、東北大学や理化学研究所と共同で、イネの体内リズムが乱れる表現型を示す突然変異株を分離・同定し、その原因がイネの体内時計に関連するOs-GIと名付けられた遺伝子の機能の消失によるものであることを発見しました。自然環境下で栽培したイネの遺伝子の発現を、遺伝子から作られるメッセンジャーRNAの量を測ることで調べますと、正常なイネでは遺伝子の発現のパターンが24時間周期で徐々に変動するのですが、Os-GI遺伝子の機能が失われて体内リズムの乱れた突然変異株では、多くの遺伝子の発現の日周変動に異常が見られ、Os-GI遺伝子がイネの体内のリズムに関与していることを示していることがわかりました。

植物の多くでは日長時間の変化によって開花時期が定まっていますが、イネはもともと日長時間の変化の少ない赤道付近の地方の原産であり、温暖な地方では二期作や三期作が可能です。しかし、田植えの時期を遅くしてOs-GI変異体を栽培しますと収量の低下が認められました。これは、体内リズムを維持する能力が弱くなったため、環境変化というストレスの影響を受けたのであろうと説明されています。これらのことから、異なる時期の作付けや栽培地域に適した品種育成を進める際には、体内リズムを指標として選抜することで、環境適応能力の高い品種を得ることができると期待されます。

DNAシーケンサーの犯す誤り

これまでこのニュースレターでもたびたび紹介してき ましたが、生物のゲノムDNAの塩基配列を決定し、その 生物のもつ遺伝子にどのような特徴があるかということ などを解析するためには、いかに早くかつ容易に塩基配 列決定を行なうかということが重要になります。数年前 から「第二世代シーケンサー」(ニュースレター2009年 8月号を参照して下さい)が登場し、いろいろな利用法 が開発されています。これらのDNAシーケンサーの特徴 は、それまでのサンガー法と呼ばれる塩基配列決定法で は不可欠であったDNA断片のクローニング(プラスミド 等に埋め込んで、大腸菌で保存し、必要に応じて増やし て塩基配列決定に用いる)が不必要であることでしょ う。その一方で、一つの塩基配列決定反応における「読 み取る塩基の長さ」が短いことが問題点としてあげられ ますが、反面、解析できる試料の数は膨大であり、一回 シーケンサーを運転すると総計数十億塩基という膨大な 量の塩基配列情報が得られるのです。

このような特徴をもった第二世代シーケンサーの使い道の一つとして、ヒトのSNPs(一塩基多型;個体間で見られる一塩基の差異)の解析や、いろいろな組織で発現している遺伝子の網羅的な解析(すなわち、メッセンジャーRNAの塩基配列解析)などがあげられます。そこで問題となるのがシーケンサーの精度です。もし間違いが全くランダムに起るものであれば、第二世代シーケンサーの特徴である「解析量の膨大さ」で平均化できますので問題はあまり深刻ではありません。しかし今回、第二世代シーケンサーのうちもっとも広く使われている機種から得られるデータを解析した結果、解析対象のDNA中に特定の塩基配列があると、その近傍でシーケンサーが誤りを犯す癖のあることを奈良先端大学院大学の研究者等が世界に先駆けて見いだしました。

今後、見いだされた塩基配列の近傍で何故誤りを犯すのかという原因が解明され、それによってDNAシーケンサーの塩基配列決定の精度を向上させることができれば、それによって、上述した各種の研究や解析は大いに進展するでしょう。

