



ゲノムとゲノム工学

福井 希一*

Genomes and genome engineering

Key words : Genome, Chromosome, Proteome, Chromosome engineering, Genome engineering

1. はじめに

最近ゲノムという言葉聞く機会が多くなってきたが、分子細胞生物学事典によるとゲノムの定義は以下のようなものである。ゲノム「生物は遺伝情報により設計されるが、その遺伝情報全体をゲノムと呼ぶ。具体的には生物細胞の核に含まれる染色体DNA全てをさす」。すなわち、細胞の核内にある遺伝情報の総体をゲノムと呼ぶわけである。生物の遺伝情報はDNAの塩基配列により決められているので、ゲノム研究の当面の目的は細胞の有する全塩基配列の決定と言うことになる。

90年代から本格的に開始されたゲノム研究で、これまでに大腸菌、酵母やラン藻などの全塩基配列が決定されているが、これは核内の塩基配列の量が相対的に少なくゲノム研究の対象としては取り組みが容易であったためである。酵母やラン藻のゲノム解析研究により、高等動植物にも通ずる種々の有益な情報がもたらされたが、例えばヒト遺伝病の原因遺伝子、イネの感光性の遺伝子など高等動植物に固有な遺伝現象を明らかにするためにはやはり高等動植物のゲノムそれ自体の塩基配列を決定していく必要がある。

実際、ヒトゲノムプロジェクト、イネゲノムプロジェクト、シロイヌナズナゲノムプロジェクト等、人間そのものに始まって、人間生活に密接に関係す

る動植物のゲノムプロジェクトが世界各国で、多くの場合共同研究という形で始まっている。本文ではこうしたゲノムプロジェクトの対象となっているゲノムについて概説すると共にゲノム工学という新しい学問分野について述べたい。

2. 実体としてのゲノム

初めに述べたようにゲノムとは核内の遺伝情報の総体と定義されるが、その実体はどの様なものであろうか？高等動植物の核を時間を追ってその動きを見ていくと図1のようになる。球状の核が次第に繊維状のものに別れ、核膜の消失と共に棒状の染色体という構造を取るようになる。染色体はその後縦列し、新しい2つの核の中に移動し、再びその構造を失って球状の核を作るようになる。これが細胞周期と呼ばれるもので、生物が新しい細胞を作り生長していくために必須の過程である。

遺伝情報を担うDNAは核の中にバラバラに存在するのではなく染色体という構造体の中に含まれている。染色体はヒストンタンパク質、非ヒストンタンパク質およびDNAからなるスーパーモレキュルであり、諸説があるもののその高次構造は現在に至

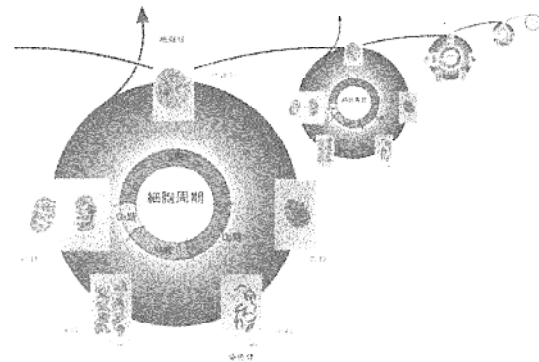


図1 連続する細胞周期の模式図(文献2より一部改変)



* Kiichi FUKUI
1951年1月25日生
1978年京都大学農学研究科博士課程修了
現在、大阪大学工学研究科・応用生物学専攻、教授、農学博士、ゲノム工学
TEL 06-6879-7440
FAX 06-6879-7441
E-Mail kfukui@cell.eng.osaka-u.ac.jp

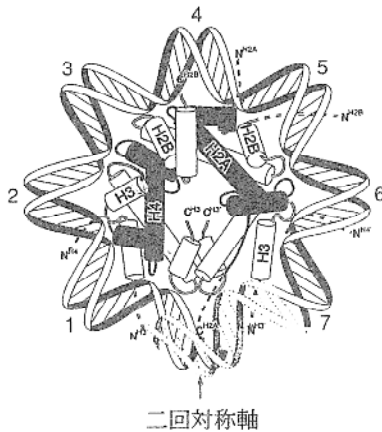


図2 ヒストンコアとDNA繊維との構造から見た相互関係。ヒストンはH3以外は1個のみを示す(文献5より一部改変)

るも良く分かっていない。ただDNAとヒストンタンパク質とが作る最初の構造であるヌクレオソームに関しては研究が進められ、図2に示す構造が明らかになっている。すなわちヒストンH2A、ヒストンH2B、ヒストンH3、ヒストンH4各2分子がタンパク質のコアを作りそれを146塩基対のDNA繊維が2巻きしているというものである。

ゲノムは酵母のような下等真核生物では核内の染色体に含まれているDNAの総和となる。しかしながら高等動植物では一般に同じDNAを持つ染色体を2コピー以上有する。この染色体を相同染色体と呼び、ヒトやイネのように核内に2コピーの相同染色体を持つ場合は片方を父方(花粉)から、もう一方を母方(卵細胞)から受け継ぐ。したがって、核内にある相同染色体の総和がDNAの総体となり、これをゲノムと呼ぶ。例えば図3に示すように染色体を核内に6本しか持たないフタマタタンポポ(*Crepis capillaris*)という植物があるが、この場合ゲノムは

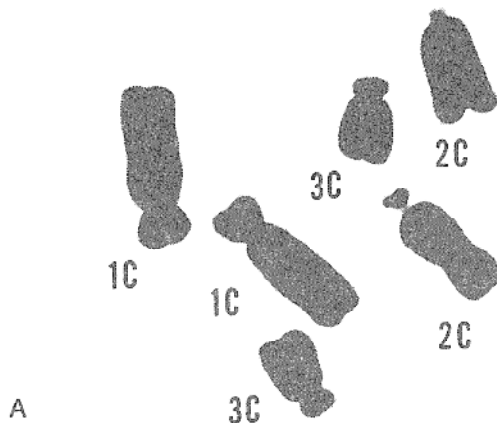


図3 フタマタタンポポの染色体(文献4より一部改変)

大(1C)中(2C)小(3C)3本の染色体中のDNAの総和となる。すなわちフタマタタンポポは2つのゲノムを核内に有することとなる。ヒトを含むほとんどの高等動物は核内にゲノムを2セット持っており、何らかの原因で片方のゲノム上の遺伝子が機能を失った時にでももう一つのゲノム上の遺伝子がそれを補償する安全装置であると考えられている。

DNAの中には特定のタンパク質を作る情報を有している、すなわち機能のある配列とそうでないものがある。例えば同じイネ科の植物であるオオムギとイネは種が違っていても進化上近縁であることからゲノム上の機能を有する遺伝子はほとんどが同じである。これは進化上近縁であるヒトとチンパンジーの場合でも全く同様に当てはまる。しかしながら、オオムギとイネの場合は機能を有する遺伝子以外の配列の量に大きな違いがある。オオムギの核DNA量は11000メガ塩基対と算出されている。したがってゲノム当たりの塩基配列(ゲノムサイズ)は5500メガ塩基対となる。一方イネについてみると核DNA量は860メガ塩基対であり、ゲノム当たりのDNA量は430メガ塩基対となる。ゲノムサイズで見るとイネはオオムギの場合の12分の1以下となる事を示している。しかもイネのゲノムを構成する染色体数(基本数)は12であり、オオムギの基本数の7と比較すると、オオムギの1本の染色体に含まれるDNA量がイネの核当たりのDNA量と大ざっぱに言えば等しくなる。今、我が国でイネを取り上げてゲノムプロジェクトが進められているのはイネが我が国における重要な栽培植物であるという理由だけではないのである。

高等動植物でもゲノムサイズの小さい方が有利ということで、動物ではフグが、植物ではシロイヌナズナが注目されている。以前から実験植物として使われていたシロイヌナズナ(*Arabidopsis thaliana*)はゲノムサイズが120~140メガ塩基対とイネより更に小さく約3分の1の大きさである。したがってシロイヌナズナはゲノム研究の対象となっており、ここ数年の内には全ての塩基配列が決定されるものと期待されている。我が国ではかずさDNA研究所が大きく貢献している。フグのゲノムサイズはヒトの約8分の1ほどである。

3. ゲノム解析研究の現状

ゲノム解析研究は既に各省庁ごとに大きなプロジェ

クト研究として進められている。文部省では重点領域研究として、「ゲノムサイエンス」(研究代表、東大医科研、榊佳之)が3つの班で課題を分担して進められている。大阪大学からもヒトゲノム構造解析班に医学研究科倉橋弘樹、三木哲朗氏、ゲノムの機能解析班に細胞生体工学センター大久保公策、理学研究科前田ミネ子、工学研究科原島俊氏、ゲノムの生物情報班に細胞生体工学センター中井謙太、基礎工学研究科松田秀雄氏など多数の研究者が参画している。班員の研究紹介や、活動報告、さらにはゲノム解析研究に関する種々のニュース等が記載されたニューズレターが配布されており、配布依頼は国立遺伝研 藤山秋佐夫氏(ファックス 0559-81-6716, e-mail: afujiyama@lab.nig.ac.jp)で受け付けている。

また科学技術庁では省庁を横断したゲノム解析研究として、特に塩基配列が決定された後に残る課題を取り上げる、いわゆるポストゲノムプロジェクトが進行中である。このプロジェクトでは塩基配列が明らかになった以降の問題に焦点を当てた萌芽的な研究を進めるプロジェクトである。本課題は、推進委員長に松原謙一氏(先端科学研究所)、また細胞生体工学センターの花岡文雄氏をプロジェクト責任者としてとして、ゲノムDNAの不安定性に関連する疾患発症・老化の機構に関する研究とゲノムダイナミクスを支配する染色体の機能的構造の解明に関する研究という2つの班で分担して研究が進められている。阪大関係者は前者の課題に細胞生体工学センター中津可道氏、後者の課題に工学研究科福井希一が参画している。

シロイヌナズナのゲノム解析研究は我が国ではかずさDNA研究所(<http://www.kazusa.or.jp/arabi>)が中心となり、進められている。シロイヌナズナはゲノム当たり5本の染色体を持っているので、国際的な取り決めにより、1番染色体はスタンフォード大学、ペンシルバニア大学など、2番染色体はTIGR(The Institute of Genome Research)およびカーネギー研究所、3番染色体はかずさDNA研究所など、4,5番染色体はコールドスプリングハーバー研究所、ワシントン大学、英国ジョン・インネス研究所などが分担して塩基配列を決定している。シロイヌナズナ全体のデータベースはスタンフォード大学が構築している(<http://genome-www.stanford.edu/Arabidopsis>)。

その他に各省庁、大学等で種々の生物のゲノム研究が進められている。例えば農水省ではイネ、昆虫、家畜、林木等のゲノム解析研究が進められている。通産省・郵政省では有用微生物のゲノム解析研究が、また厚生省ではヒトのゲノム解析研究が進められている。これら各省庁で独自に進められているゲノム研究を推進するためのゲノム科学委員会が昨年、各省庁のゲノム解析研究の担当者を集めて組織された。この委員会は我国のゲノム研究での重点領域を決め、財政的な裏付けを行うと伴に、各省庁でのゲノム研究が重複する無駄を避けるというものである。この委員会の発足により、各省庁でのゲノム解析研究には一定の方向性が与えられるようになった。重点的に研究推進することが必要とされた分野はゲノム情報科学、ゲノム構造解析、ゲノム機能解析および技術開発の4つがあげられている。

4. ゲノム工学の誕生

ゲノム研究は特定の生物を選んで全塩基配列の解読という当面の目標のために大半の精力が傾けられているが、一方で生物種を横断してゲノムの解析、操作をする技術、ゲノムの有する遺伝情報を意味のあるものとして解析する研究さらには直接ゲノム・染色体を操作する研究すなわちゲノム工学が模索されている。ゲノム工学は未だ確立された学問分野とは言い難いが、ゲノムの情報を人類にとって価値あるものへ、あるいは役立つものへと自由に操作しようとするものである。ゲノム工学は大別して染色体を扱う染色体工学、プロテオーム解析、狭義のゲノム工学といったものが考えられるが、その境界は定まったものではない。染色体工学はゲノムを構成する個々の染色体の構造と機能を明らかにすることにより、染色体機能を模擬し、染色体機能の改変さらには人工染色体を創り出すというものである。またゲノム解析研究から得られる塩基配列のみではタンパク質の機能に関する情報を得ることが困難である場合が多いことから、ゲノム中のタンパク質の情報とゲノム情報を一致させ、全てのタンパク質をカタログ化しようとするプロテオーム解析がある。更に現在のマイクロマシニング、レーザー工学、等を用いて、長さが1から5マイクロメートルの大きさがあるヒト、イネ等の染色体さらには核の物理的な操作を目指す分野がある。この分野がいわゆる教義のゲノム工学であり、種々の物理的手法が有効となる分

野である。

5. 染色体工学

染色体工学は既に30年以上も前から主として交配により試みられていたものであり、その結果として、コムギでは種々の染色体異常を有する系統のシリーズが完成されている。その中には特定の染色体を1本余分に持ったモノソミックシリーズと呼ばれるもの、相同染色体を全く持たないナリソミックシリーズ、片方の染色体腕のみを持たないシリーズなどおよそ考え得る全ての組み合わせの染色体異常の系統が、植物体が生存不可能なものを除いて作られ、維持されている。

ただこうした交配とその後の検定による染色体の操作は極めて長年月を要するのが普通であり、かつ一つの核の中に6個のゲノムが存在するコムギにおいてのみ種々の染色体異常が残りのゲノムからの補償作用により生存可能な場合であり、全ての種に適用することは困難である。動物の場合、植物での交配は不可能な場合が多くそれに代わって細胞融合により、雑種細胞が作られてきた。ところがヒトとマウスの細胞を融合させるとヒトの染色体が選択的かつランダムに脱落する。そこでこの現象を利用して、ヒトの1本の染色体が残った時を選ぶと、ヒトの特定遺伝子の染色体へのマッピング、特定のヒト染色体の単離等種々の用途に利用可能となる。こうして80年代の初めまでに400を越える遺伝子がヒト染色体上に位置づけられた。

現在考えられている染色体工学はこうした永年にわたる染色体操作法の開発の上に立つものではあるが、より直接的である。たとえばヒトでは1本の染色体を微小核として分離し、細胞融合法により細胞

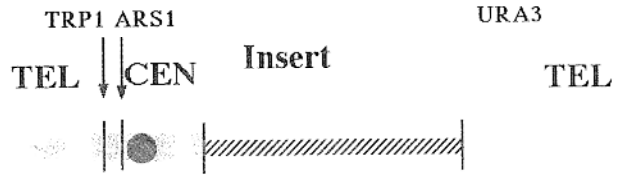


図4 酵母人工染色体の例。CEN, TEL, ARUはそれぞれ動原体, テロメア, 自己複製開始点を表す(近江戸原図)

内に導入することが一般的に行なわれるようになってきた。また染色体の構造解析により、末端にあるテロメアと呼ばれる反復配列、マイクロチューブルの付着点で、細胞分裂の際に染色体を新しい2つの極に配分する上で不可欠な動原体、さらには自己複製起点など、染色体の機能を必要最小限満足する機能要素を組み合わせて人工染色体が作ることが試みられている。酵母の人工染色体(YAC)は図4に示す様なものであるが、YACにヒトのDNAを組み込んだところ、ヒト細胞中でたてにいくつもつながったYACがヒト細胞中で、染色体として機能することが証明されている。こうした人工染色体の開発により、例えば多くの遺伝子が関与する遺伝病に関する正常な遺伝子を全て組み込みかつ細胞周期を通じて安定的に伝えられるベクターを持つことが期待できるわけである。

6. プロテオーム解析

ゲノムが有している全タンパク質に関する情報はプロティンとゲノムの二つの言葉を合体させてプロテオームと呼ばれる。プロティオームは特定の生物体、器官、組織、細胞さらには細胞器官に含まれているタンパク質の総体である。プロテオーム解析は生体内のタンパク質を全て解析の対象とする事によ

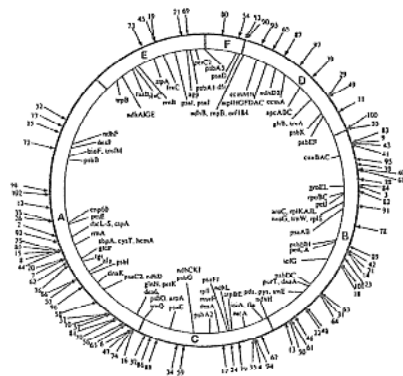
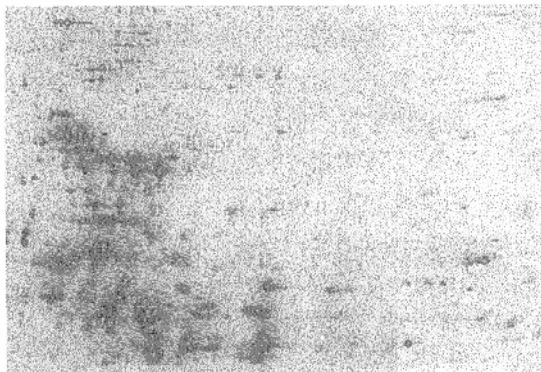


図5 ラン藻タンパク質の2次元電気泳動像とそれらのゲノム上の位置(文献1より)。

り、機能と構造に関係する生体情報を全て明らかにしようとするものであり、ゲノム内の全塩基配列が明らかになりつつある現在、ポストゲノム研究の有力な一分野である。すなわちゲノム解析研究から得られる塩基情報からタンパク質を推測する事もできるが、塩基配列に対応するタンパク質の実際の機能が推定できるものは全てのタンパク質の20%から50%程度と見積もられている。したがってゲノムが有するタンパク質の確実な情報を得るためには塩基配列の解析とは異なったアプローチが必要となる。すなわちゲノムDNAから予測されるタンパク質を対応させ、遺伝子と実際の翻訳産物の機能を比較検討する必要がある。図5はラン藻タンパク質の2次元電気泳動像とラン藻ゲノム上に位置づけられたタンパク質である。

プロテオーム解析はまず多種類のタンパク質を分離精製し、等電点、相対分子量、NおよびC末端配列、アミノ酸組成等の各種特性を明らかにする。そして構造に関する情報を基に、タンパク質と遺伝子の対応を解析する。更にタンパク質の発現状況、翻訳後の修飾などに関する情報や、遺伝子発現系で調整したタンパク質を用いて解析した立体構造情報を基に全てのタンパク質機能の解析を目指すというものである。

先にも述べた科技厅のポストゲノム解析プロジェクトにおいてはまた別のアプローチによりタンパク質の位置情報の解析が行なわれている。ここでは分裂酵母のゲノムDNAを制限酵素で適当に分解し、そのゲノムDNAをGFPと連結したものを全体を用いて分裂酵母を形質転換して融合蛋白の細胞内での発現位置をGFPの蛍光で可視化するというものである。これにより、ゲノム情報とタンパク質の機能に加えて細胞内でのタンパク質の位置情報が得られることとなり、細胞の中で発現しているゲノム情報が余すところなく捉えられることになると考えられる。

7. ゲノム工学

ゲノムの物理的な操作、すなわち狭義のゲノム工学には種々の方法が試みられている。その目的とするところは生物の種類、塩基配列に関係なく染色体を自由に切断、加工し、任意の遺伝情報を組み込み、削除し、組み替えることである。ゲノムの物理的操作の中では走査型プローブ顕微鏡とレーザー光を用いた光生物学が有望である。

レーザー光は現在顕微鏡の対物レンズの中を通すことにより、極めて焦点を絞ったものを得ることが出来る。こうしたマイクロレーザー光を用いて、可視光の下で可視的な染色体の種々の加工が試みられている。図6にその模式図を示す。この図の中にあるようにレーザー光を用いた加工法としては光ピンセット法が試みられている。光ピンセット法はレーザー光束の中に対象となる微小物体を補足し、自由に動かすもので、特定の酵素を張り付けた小ビーズを操作し、染色体上の特定の位置でDNA鎖を切断することや、特定の塩基配列をつけたビーズにより染色体上の相補的DNAと二重鎖を作らせて引っ張ったり自由な加工を可能にする。図の中では2本のマイクロレーザービームがそれぞれ、染色体の両端をテロメア配列をつけたビーズで固定および引っ張ることにより、染色体を引き延ばし、染色体の構造繊維を露出させる。その上で何らかの酵素を付着させたビーズを残りの1本の光ピンセットにより染色体の構造繊維の特定位置に押しつけることにより、その部分をうまく切断することが出来、遺伝病に関係する遺伝子を取り除くことが可能となる。あるいは何らかの新しい塩基配列を挿入することも可能となる。

種々の走査型プローブ顕微鏡は基本的には微小な探針を用いて物体の表面をなぞり形状を把握するものである。種々の操作モードの中でコンタクトモードを取ると物体の表面をタッピングしながら表面をなぞるが、それを用いて染色体あるいはDNAファイバーのような微小な物体を切断する事も可能である。図6の中では走査型プローブ顕微鏡の一つである原子間力顕微鏡の探針を用いて染色体の特定の位置をナノオーダーで切開、切除する様子を表している。

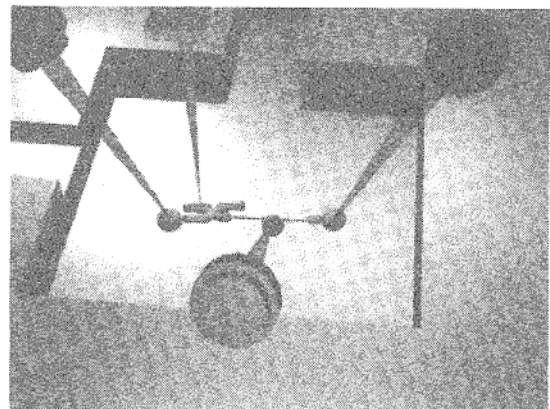


図6 染色体の物理的加工(乙部原図)

8. お わ り に

この様にゲノムあるいは染色体を対象に様々な手法を用いてその全体像を解析しさらには操作をする方法が実用化されれば、これらの手法の利用価値は用いる生物種に依存しないため極めて大きいものがあると考えられる。こうしたゲノム・染色体の操作は始まったばかりであり、今後の大きな発展が期待される。

参 考 文 献

- 1) 平野久：「プロテオーム解析の現状」, 化学と生物, 第36巻, 第12号, (1998), p771-777.
- 2) 福井希一：「染色体：その構造と機能的意味」,

植物のゲノムサイエンス, 秀潤社, (1997), p3-12.

- 3) 福井希一：「染色体・ゲノム解析機器における最近の進歩」, クロモソーム, ユニバーサルアカデミープレス, (1998), p87-97.
- 4) Fukui, K. and Y. Kamisugi : "Mapping of C-banded Crepis chromosomes by imaging methods", Chromosome Res., Vol.3, No.1, (1995), p79-86.
- 5) 堀越正美訳：「クロマチン」, メディカルインフォーメーション社, (1997), p1-291.
- 6) 光永伸一郎・福井希一：「レーザー光を用いた植物細胞の操作」, オプトロニクス, 第17巻, 第12号, (1998), p141-145.

