



夢はバラ色

染色体を自在に加工して新しい生物を創る

原島 俊*

Creation of novel organisms by chromosome engineering

Key Words : yeast, chromosome engineering, chromosome splitting, minimal genome yeast, biotechnology

1. はじめに

20世紀から21世紀にかけての生命科学における最も大きなトピックスのひとつは、言うまでもなくヒトゲノムドラフト配列の決定であろう。1999年の末に第22番染色体の全塩基配列が、続いて半年後の2000年の5月には第21番染色体が、そして、本年2月には、残りの全ての染色体のドラフト配列が、Nature誌に発表された。今、手許にある、2000年5月号の表紙を飾ったヒトゲノムを構成する一セットの染色体を眺めていると、この小さな染色体の中に、ヒトがヒトである所以の全ての情報が存在していることに、今さらながら驚きを禁じ得ない。ヒトゲノムの配列決定に直接関与したわけではないが、同じ生命科学に関係するものとして、ある種の感動を覚える。

こうした偉業が可能となったのは、20世紀の後半に、生命科学におけるいくつかの重要な発見がなされ、それによって、革新的な生命工学基盤技術が発展したためと言えらるが、そのなかでも、とりわけ重要なものは、「組換えDNA技術」であろう。この技術の直接、あるいは間接的な応用によって、「遺伝子のクローニング技術」や「塩基配列決定技術」などの基盤技術が確立し、ヒトゲノムの全配列の決定にも結びついたのである。

「組み換えDNA技術」の応用範囲は広いが、その

ひとつの重要な応用として、この技術によって、いかなる生物のどのような遺伝子でも試験管内で自由自在に改変することができるようになったことが挙げられる。このことによって、改変した遺伝子を様々な細胞に導入したり、染色体上の野生型遺伝子と差し換えたりすることができるようになった。20世紀の後半は、こうした革新的な種々の生命工学基盤技術の発展により、「遺伝子の改変」を通して細胞や生物個体の人為的な改造が可能になり、生命科学が大きく発展・変貌した時代とも言える。

しかし、こうした基盤技術を振り返ってみると、確かに、「遺伝子の配列決定」や「遺伝子の改変」は自在にできるようにはなったが、遺伝子が存在する場である「染色体」を自在に操作する技術、例えば、染色体の任意の領域を取り除いたり(削減)、入れ替えたり(置換)、あるいは特定の染色体領域を取り出して(単離)、他細胞に移したり(移植)、さらには2つの染色体をひとつにしたり(融合)する「染色体の自在な加工・操作技術」を、人類は、いまだ、いかなる生物においても手中にしていなかったことに気づかざるを得ない。筆者らの研究室では、21世紀の生命科学における基盤技術のひとつとして、こうした染色体の自在な加工・操作技術が重要になってくるものと考え、数年前から、研究室の主要なテーマのひとつとして取り上げ、研究を行っている。

2. 染色体の自在な加工・操作を目指して

染色体の自在な加工・操作技術を開発するための材料として、1996年に、真核生物(細胞が核構造を持つ生物)で初めてゲノムの全塩基配列が決定された出芽酵母(*Saccharomyces cerevisiae*)を材料とすることにした。出芽酵母では、DNAの導入技術を始め、多様な分子遺伝学的技術や生命の全体像を包括的に解析できるDNAチップ技術なども駆使できる



* Satoshi HARASHIMA
1949年5月21日生
大阪大学大学院工学研究科修了
現在、大阪大学大学院・工学研究科・
応用生物学専攻、教授、工学博士、
応用分子遺伝学
TEL 06-6879-7420
FAX 06-6879-7421
E-Mail harashima@bio.eng.
osaka-u.ac.jp

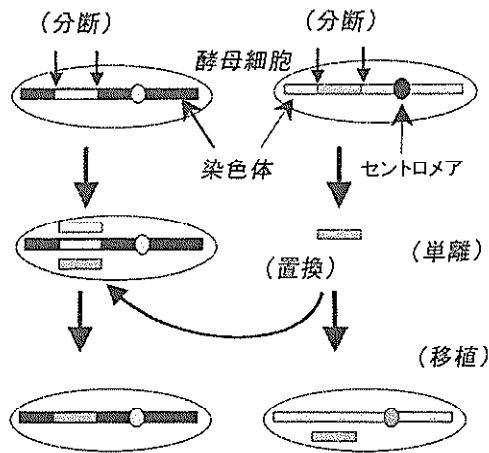
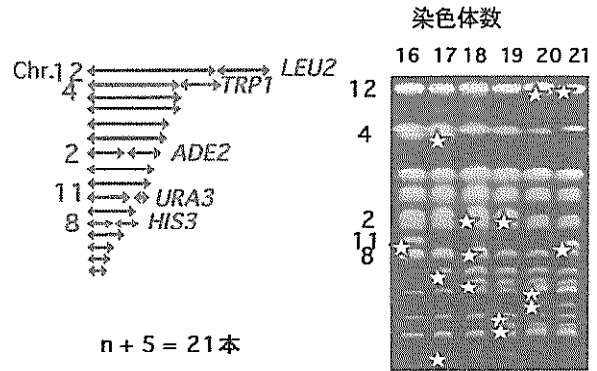


図 1

ことから、染色体操作技術を開発するための材料として、現時点では、最も適した材料と考えた。筆者らは、こうした特徴を持つ出芽酵母を材料に、染色体を任意の位置で分断する新しい染色体工学技術を開発してきた。「染色体の分断技術」は、その応用として、望みの染色体領域の「除去」、「単離」、「置換」、「移植」なども可能とするので(図1)、次世代の生命操作の基盤技術に成り得るものと考えている。それでは、染色体を望みの位置で、どのようにして分断するのか？

筆者らは、染色体の構造や複製、娘細胞への安定な分配についての現在までの知見から、「染色体分断ベクター」と呼ぶベクター(目的に応じた異種あるいは同種DNAを運ぶDNA構造体)を構築した。誌面の制約上、詳しいことを述べられないが、「染色体分断ベクター」には、1本の染色体を2つに分断し、その結果、生成した染色体のどちらもが、新しい染色体として正常に挙動できるように1個のセントロメア、2個のテロメア、そして染色体の複製を可能とする配列を持たせてある。この染色体分断ベクターに、分断したい部位を含む約1kbの大きさの染色体領域をクローン化し、分断部位で線状化後、酵母細胞に導入することによって、酵母の染色体を望みの部位で分断することができるようになった。従って、分断を繰り返すことによって、特定の染色体を複数の染色体に分断したり、複数の異なる染色体を、それぞれ2つに分断することなども可能である。実際、筆者らは、この方法によって、正常には、16本の染色体数を持つ野生型1倍体酵母から、17本~22本の染色体を持つ自然界には存在しない酵母細胞



パルスフィールドゲル電気泳動

図 2

胞を創製した(図2)。また、同じ染色体を2回分断することによって、染色体の任意の領域を単離し、単離した染色体領域を別の酵母細胞に移植することができることも示した(図1)。

3. 染色体の自在な操作技術は次世代の生命科学を切り拓くか？

染色体の分断技術にはどのような応用が可能であろうか。筆者らは、以下のような多様な分野での応用が可能であると考えている。

1) 酵母バイオテクノロジーへの応用

最も直接的な応用は、酵母バイオテクノロジーへの応用である。アルコール耐性、低温での旺盛な増殖力、発酵性をはじめとするいわゆる産業用酵母の有用形質は、多くの遺伝子によって支配されていることが知られている。染色体の分断によって、酵母の特定染色体領域の除去、単離、置換、移植が可能になったので、アルコール耐性や低温増殖性などの多因子性形質について相反する形質を示す2つの菌株の染色体上の相同領域の大規模な置換や移植効果を評価することができる。このことにより、多因子性有用形質に責任のある遺伝子群を効率よく同定することが可能になろう。また、染色体の望みの領域の移植は、産業酵母の直接的な育種法としても有用である。すなわち、8兆円とも言われる酵母バイオテクノロジー産業に新しい展開をもたらす可能性が大である。

2) 基礎生命科学への応用

染色体の分断によって、様々な長さや数を持つ酵母細胞を作り出すことができるので、染色体の数や長さの様々な細胞生理(遺伝子発現や増殖速度など)

に及ぼす影響を系統的に解析するための有用な生物材料ができる。さらに、分断による染色体の核内での配置や動態変化の解析など、細胞遺伝学の有用な材料にもなる。それぞれの生物は何故現在のゲノム量を必要とするに至ったのか、どのようにしてゲノムが現在の姿になったのか、染色体の数はどのようにして決まったのかなど、「ゲノムの構築原理」を明らかにするためのシステムとしても有用であろう。

3) 動・植物染色体の操作と医療、植物バイオテクノロジーへの応用

酵母では、YAC(Yeast Artificial Vector)テクノロジーと言われる技術が確立している。これは、巨大DNAを線状の酵母人工染色体ベクターにクローン化する技術であるが、この人工染色体ベクターによって、ヒトなど、様々な動物や植物の巨大染色体DNAを酵母細胞の中にクローン化できるようになった。酵母における染色体の分断技術は、もちろん、酵母自身の天然の染色体だけでなく、酵母人工染色体にクローン化された動・植物染色体に適用できる。従って、分断による動・植物染色体の任意領域の単離など、酵母を細胞工場とした高等生物染色体の自在な加工・操作が可能となる。単離した染色体領域は、構造解析や動・植物細胞への移植による機能解析に用いることができる。高血圧や糖尿病などの多因子性疾患の原因遺伝子を効率良く同定する道を拓くかもしれない。望みの染色体領域を単離することができることから、将来は、遺伝子治療などの医療への応用も期待できる。

また、近年、食糧や環境問題の観点から、その重要性をとみに増している植物バイオテクノロジーへの波及効果も期待できる。すなわち、従来不可能であった植物種への巨大染色体DNAの導入が、近い将来、レーザー加工などによって可能になることが予想される。染色体の分断技術を、こうした新しい遺伝子導入技術と組み合わせれば、植物遺伝子の機能検定、物理マッピング、ポジショナルクローニングなども飛躍的に効率よく行えるようになるであろう。いずれにしても、こうした研究によって得られる知見は、既にドラフト配列が決定されているヒトを始めとして、近い将来ゲノムの全塩基配列が決定されるであろう多様な動・植物の染色体を自在に操作する技術を開発する上で、先駆的な情報を与えるものと期待できる。

4. 夢はバラ色？

—染色体操作技術による新しい生命の創製—

上記の応用は、筆者らが確立した技術によって、現時点でもある程度実現可能である。しかし、筆者らは、染色体の分断技術を、さらに、進化の時間軸を一挙に逆行して、「最小ゲノム生物」の創製を始めとする様々なゲノム組成を持つ細胞生物を自在に創り出すことにも応用できないかと考えている。

生命科学が向かうひとつの方向は、ヒトを究極とする複雑な生命体を理解しようとする方向であろう。しかしその対極として、限りなく少ない遺伝子のセットを持つ“最小ゲノム生物”，特に“最小ゲノム真核生物”とはどのようなものであるかを明らかにすることも、現存する多様な生命体を理解するための基盤的知見として重要な課題である。出芽酵母の染色体は約200kb～2000kbの大きさである。酵母では、150kb以下の大きさの染色体は、細胞分裂時に娘細胞への分配がうまくいかず、その染色体を持たない細胞が高頻度で現れてくることが知られている。また、最近の知見によれば、栄養が豊富な条件下では、生存に不要な遺伝子が多い事も明らかになりつつある。従って、もし、染色体の分断技術を繰返し適用して酵母染色体を次々に分断し、150kb以下の多数の小さな染色体のみにすることができれば、その細胞を様々な培養条件下で培養することにより、その培養条件下での生存には不要な遺伝子を担う分断ミニ染色体を除去することができるかと期待される(図3)。このストラテジーがうまくいけば、特定の培養条件

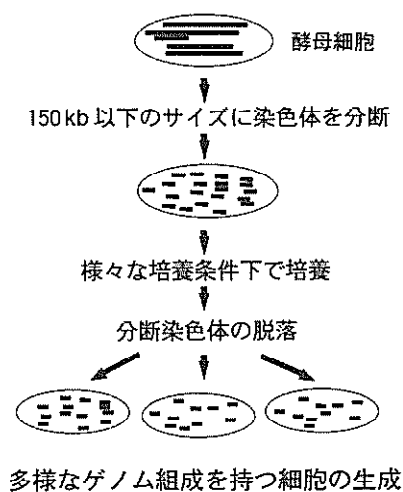


図 3

下で、生存に必要な無い遺伝子を乗せているミニ染色体を脱落させることにより、ゲノムの大規模な改変(削減)を行うことが可能となる。その結果として、それぞれの培養条件下での生存に必要な遺伝子だけから成る最小ゲノム生物を始め、多様なゲノム組成を持つ新しい細胞生物を、自由自在に創り出すことができるのではないだろうか。

確かに、この予想(夢?)は、筆者らが現在までに確立した染色体の分断技術をそのまま適用することによって、理論的には実現可能である。しかし、残念ながら、現在の染色体分断技術では、1回の分断とその確認に約2週間を要し、次々と数多くの分断を行うには相当な時間が必要である(例えば、16本ある出芽酵母の染色体数を倍の32本にするのに、約1年かかる)。従って、この問題を解決するためには、多数の分断を短時間で行えるような革新的な技術が必要である。例えば、1回の分断操作によって、次々と連続的に、あるいは同時に、何十箇所かの染色体部位で分断を起こさせるような技術の開発が必要である。こうした革新的な生命工学技術を容易に開発できるとは思わないが、転移因子(トランスポソン)や出芽酵母の染色体に約200コピー存在する

デルタ繰り返し配列などを標的として、なんとか実現したいものと思っている。

5. おわりに

生命科学者、あるいは生命工学者の夢には色々あろう。医学者や薬学者であれば、どのような病気であっても、それらの病気を治すことができる治療法や薬の開発、あるいは工学者、農学者であれば、人々の生活を豊かにするために有用な細胞や生命の創造とそれらを利用した有用物質、食糧などの効率的な生産、心地よい環境の創造などであろう。倫理的な問題は別として、それは、遺伝子や染色体、ひいては細胞や生命を自由自在に操作できる基盤技術が確立されてこそ可能となる。しかし、そうした生命の自在な操作を実現するには、生命科学はまだ未熟であり、言い古された表現ではあるが、生命の神秘は奥深く、生命について人類が知っていることは、現在でもほんのひとにぎりのことであると言わざるを得ない。それだけに、生命科学には、まだまだ解き明かされるべき多くの謎が残されており、筆者を含む生命科学者、生命工学者を夢中にさせる魅力と夢で満たされているように感じる。

