

ヒト・生命と環境・社会

ゲノム研究の最前線

文部科学省
科学研究費特定領域研究
「ゲノム」4領域
成果公開シンポジウム



要
旨
集

2007年1月31日[水]

10:00—17:10(開場 9:30)

丸ビルホール

東京都千代田区丸の内2-4-1 丸ビル7階

<http://www.hc-marubiru.jp/info/index.html>

シンポジウム専用ホームページ

<http://www.kuba.co.jp/genome4/>

10:00 ~ 10:05	開会挨拶	
10:05 ~ 10:10	挨拶(文部科学省)	
●セッション1		
微生物・植物のゲノム解析と環境との相互作用		
10:10 ~ 10:45	環境ゲノム ヒト腸内細菌叢のメタゲノム解析 服部正平(東京大学)	02
10:45 ~ 11:20	超好熱菌のゲノム解析 特異的遺伝子破壊系の構築と遺伝子の機能解明 跡見晴幸(京都大学)	04
11:20 ~ 11:55	倍数性コムギの比較ゲノム解析 荻原保成(横浜市立大学)	06
●セッション2		
ゲノム解析のヒトへの応用と社会とのかかわり		
13:10 ~ 13:45	脳動脈瘤関連遺伝子の探索 井ノ上逸朗(東海大学)	08
13:45 ~ 14:20	小児癌 cDNA プロジェクト その診療への応用 大平美紀(千葉県がんセンター研究所)	10
14:20 ~ 14:55	ゲノム研究に対する市民と研究者の態度 山縣然太郎(山梨大学)	12
●セッション3		
小型魚類のゲノム解析を通して知る生命システムと進化		
15:25 ~ 16:00	メダカゲノムのアセンブリと比較ゲノムによる進化解析 森下真一(東京大学)	14
16:00 ~ 16:35	メダカゲノムと発生学研究 疾病モデルとしてのメダカ変異体を例として 武田洋幸(東京大学)	16
16:35 ~ 17:10	動物の皮膚模様形成原理の分子レベルでの全容解明 複雑で動的な生命システムを理解する 近藤滋(名古屋大学)	18

プログラムは一部変更される場合がございます。

環境ゲノム

ヒト腸内細菌叢のメタゲノム解析

はっとり 服部 まさひろ 正平 (東京大学大学院)

1. 環境ゲノム：環境と共存する細菌叢生命システムの解明

今日までに、細菌の生態系や多様性の解明、医療や産業に利用できる有用酵素や代謝物の探索等を目的として、数千種の細菌が環境中の細菌集団(叢)から分離培養され、1,000種以上の細菌のゲノム解析など、個々の細菌がもつ性質や機能の研究が行われてきた。しかし、現場環境を技術的に実験室で再現できないことや、細菌間の共生関係の実体が不明であるなどの理由から、これら分離できる細菌は地球上に生息する細菌全体の1%未満と言われている。すなわち、これまで研究されてきた細菌種の大半は培養可能な菌種に限定され、その100倍以上存在する難培養性の細菌種に関する知見は皆無に等しい。そのため、これら難培養性細菌の同定やその遺伝子解析には、PCRや活性相補実験等を用いた環境細菌叢DNAからの16S rDNAや特定遺伝子の直接クローニングなどが行われている。しかしながら、これらの方法は、既知遺伝子に類似した一部の遺伝子の単離には効果的だが、細菌叢に存在する多様で膨大な未知な遺伝子全体をカバーすることはできない。また、16S rDNA配列情報は菌種の同定には有効だが、細菌の性質や機能の解明には直結しない。

このような難培養性細菌を含む環境細菌叢の全体像を解明するには、環境細菌叢ゲノムのシークエンス情報を直接かつ網羅的に獲得するメタゲノム解析がもっとも効果的である。メタゲノム解析の基本プロセスは、細菌叢の全ゲノムDNAの抽出、それらの断片化とクローン化、ショットガンシークエンス、生産された膨大な数のゲノム配列の情報学的な解析からなる(図1)。メタゲノム解析は今日のDNAシークエンス技術とゲノム解析技術の進歩により可能となってきた。

メタゲノム解析では、細菌を分離培養する前に、情報学的に目的の機能や産物を生産する遺伝子や細菌の存在を知ることができる。つまり、そこに存在することを前提とした目的細菌の探索や遺伝子のクローン化を可能にする。これは、あるかないかを探索する従来の方法とはまったく異なったものである。メタゲノム解析は、大半を占める難培養性微生物の新規な遺伝子や物質の発掘だけでなく、微生物共生系としての機能機序や地球規模の物質代謝と循環のメカニズム等を解き明かす糸口となる。これらの情報は医療、エネルギー、食糧、環境等の幅広い産業および学術分野において、これまでをはるかに凌駕した多種多様なバイオ資源になると期待できる。また、今日の多様な環境細菌の生命システムは他の生物を含めた地球環境との共存の中で持続されてきた。つまり、さまざまな環境細菌を解明する環境ゲノム研究は生物と環境の共存とその持続に対してあらたな科学的智慧を提供する。

2. ヒト腸内細菌叢のメタゲノム解析

ヒトの健康と病気は、内なる要因としてのヒト遺伝子とヒトを取り巻くさまざまな環境要因が複雑に関与した結果であると

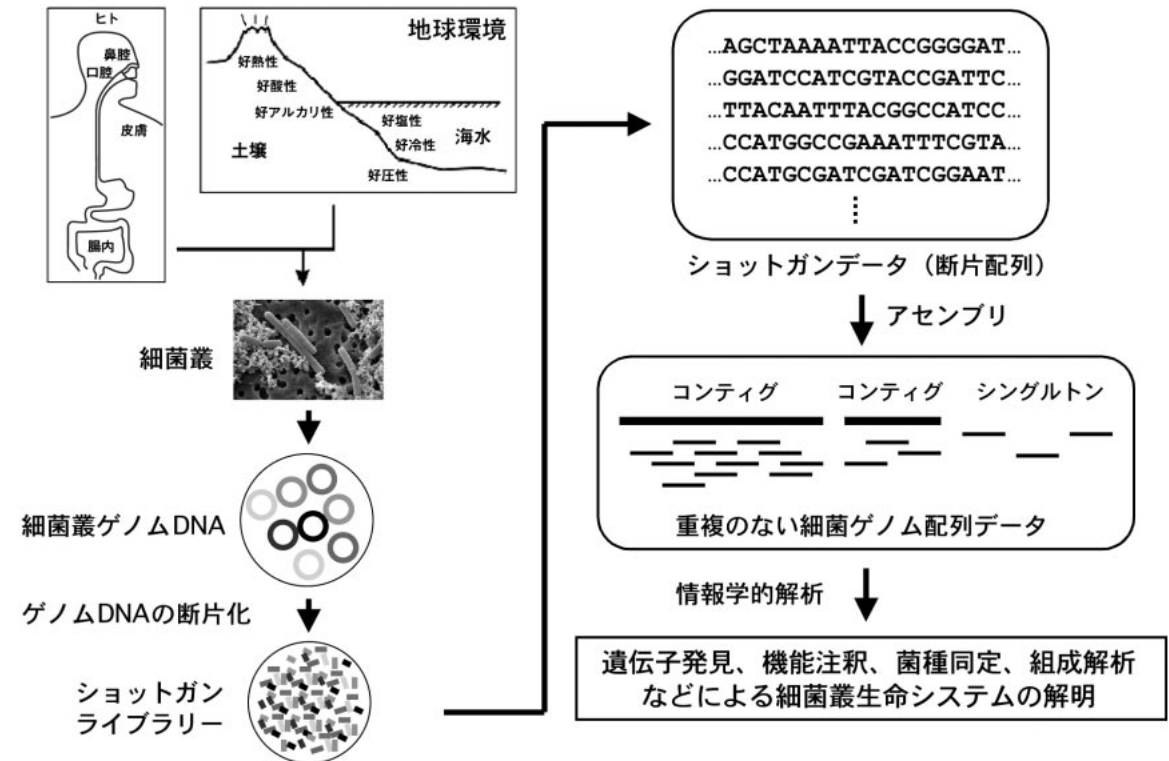


図1. 自然環境中に生息する細菌叢のメタゲノム解析

考えられる。既に2004年にヒトゲノムが完全に解読され、それを基盤としたSNPs、転写、たんぱく質レベルでのヒト遺伝子の(病気を含めた)機能研究が世界的に進められている。一方、環境要因の一つであるヒト常在菌については、その長年にわたる研究にもかかわらず、その詳細はほとんど明らかとなっていない。これは、ヒト常在菌の大部分が難培養性であることやその生体機能が複数種の細菌種によって発揮されることなどが理由であると考えられる。たとえば、ヒト腸内細菌叢は約1,000種の細菌種から構成され、これまでに、人を健康に保つビフィズス菌などが善玉菌で、病気の人で増えているクロストリジウムや大腸菌、老化や疲労にともない発症する日和見感染症の起因菌などは悪玉菌として、ヒトの健康と病気に密接に関係していることが知られている。しかしながら、その構成菌種や数、遺伝子組成、遺伝子と生態機能の関係、細菌叢の形成機構、菌種組成を決定する因子、ゲノムのダイナミクスなどの詳細はわかっていない。私たちのグループは、メタゲノム解析によるヒト腸内細菌叢の実体およびその生命システムの解明をめざしている。本シンポジウムでは、腸内細菌叢の機能を解明する第一歩として、さまざまな個人の腸内細菌叢から得られたメタゲノムデータの情報学的解析結果を紹介する。なお、ヒト常在菌の解明が個々の独立した研究だけでは容易でないことから、より組織立った国際プロジェクト「ヒトメタゲノム計画」の設立が日米欧で提案されている。

参考文献

- 1) 林哲也他：ヒト常在細菌を含む環境細菌叢のメタゲノム解析 細胞工学 25(7), 812-816(秀潤社 2006)
- 2) 服部正平他：メタゲノム解析による生命システム研究の広がり ヒト腸内細菌叢を読む 科学 76(8), 827-833(岩波書店 2006)



東京大学大学院新領域創成科学研究科情報生命科学研究専攻・教授。工学博士。1979年大阪市立大学大学院博士課程修了。九州大学遺伝情報実験施設助手、東京大学医科学研究所助教授、北里大学北里生命科学研究科教授を経て2006年7月より現職。

専門はゲノム科学。現在はヒト常在菌をはじめとした環境細菌(叢)に関心をもつ。著書に『ヒトゲノム完全解読から「ヒト」理解へ』(東洋書店、2005年)、共著に『ホールゲノムショットガン法によるゲノム解析とアノテーション』(学会出版センター、2001年)などがある。

超好熱菌のゲノム解析

特異的遺伝子破壊系の構築と遺伝子の機能解明

あとみ はるゆき
跡見 晴幸 (京都大学大学院)

超好熱菌とは一般に 80 以上の至適生育温度を示す極限環境微生物の一種であり、海底の熱水噴出孔や温泉等地球上の様々な熱水環境に生息している。既に 100 種以上が分離・同定されており、有機物を利用する従属栄養生物やメタン生成菌等の化学独立栄養生物も存在し、代謝様式は非常に多様である。Bacteria に分類される超好熱菌も数種知られているが、大半は Archaea に分類される。超好熱菌が生産する生体分子、特にタンパク質が全て高度の耐熱性を示すことから、タンパク質科学やバイオテクノロジーの分野で多くの注目を集めている。一方、16S rRNA 配列に基づいた進化系統学的解析から超好熱菌は進化の源流に位置し、現存する生物の中で最も原始生命体に近い生物として捉えられている(図1)。したがって、超好熱菌は生命の起源や生命の進化に対しても多くの知見を与える研究対象として期待されており、既に 14 種の超好熱菌ゲノムの全塩基配列が決定されている。

我々は鹿児島県小宝島の硫気孔から Euryarchaeota の Thermococcales に属する *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 を分離・同定した。本菌は直径約 1 μm の不定球菌であり、絶対嫌気性・従属栄養の超好熱菌である。60 ~ 100 という広い生育温度範囲を示し、至適生育温度は 85 である。ゲノム解析の結果、*T. kodakaraensis* のゲノムは 2,088,737 bp からなり、2,306 個の遺伝子の存在が予想された。その内、約半数の 1,165 個の遺伝子に関しては一次構造からの機能予測が可能であったが、残り半数の 1,141 個の遺伝子の機能に関しては配列情報からの推定は困難であった(図2)。

今まで超好熱菌の莫大なゲノム情報に基づいて組換え型タンパク質の解析は盛んに行われてきた。これらの研究から各タンパク質の *in vitro* における機能や立体構造が明らかにされてきた。しかしその一方で、これらのタンパク質の *in vivo* での生理的役割やそれらの遺伝子発現の制御機構についての研究が大幅に遅れていた。その最大の原因は超好熱菌を宿主とした形質転換系の開発が遅れていたからである。特定遺伝子の破壊と形質評価、ランダム変異体の作製と相補遺伝子の同定、変異遺伝子の導入や特定遺伝子の高発現株の作製

といった *in vivo* 研究で頻繁に用いられる手法が最近まで未確立のままであった。

そこで我々は *T. kodakaraensis* を宿主とした遺伝子破壊系の構築を目指した。様々な検討の結果、double crossover recombination による遺伝子破壊が可能であることがわかり、uracil や tryptophan などに対して要求性を示す宿主細胞とそれを相補する遺伝子マーカーも開発できた(図3)。本研究ではこの遺伝子破壊系をさらに改良し、多重遺伝子破壊が可能な系を開発できた。さらに特殊な宿主細胞の作製を必要としない薬剤(simvastatin)と耐性マーカー(HMG-CoA reductase 遺伝子の高発現カセット)に基づいた遺伝子破壊・導入系が開発できた。これを用いれば栄養豊富な培地で薬剤耐性株を選択することができるので、最少培地では困難であった組換え株の単離が可能となる。さらにこの系はあらゆる超好熱性の archaea で利用できる可能



京都大学大学院工学研究科合成・生物化学専攻・助教授。工学博士。1987年京都大学工学部工業化学科卒業。92年京都大学大学院博士課程修了。

独シュットガルト大学博士研究員、京都大学大学院工学研究科助手を経て、97年より現職。専門は極限環境微生物学。特に超好熱菌のゲノムとその操作技術や代謝生理。2004年極限環境微生物学会研究奨励賞受賞。

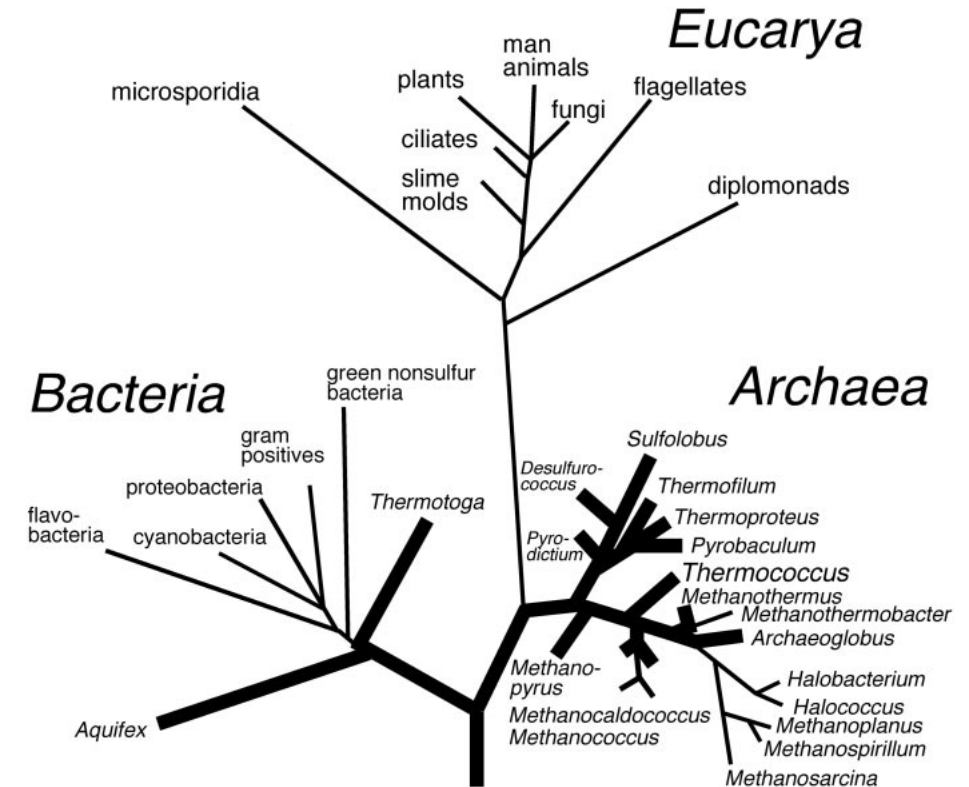


図1. 全生物の進化系統樹
本系統樹は生物の 16S/18S ribosomal RNA の塩基配列に基づいたもので、太線は超好熱菌を示す。

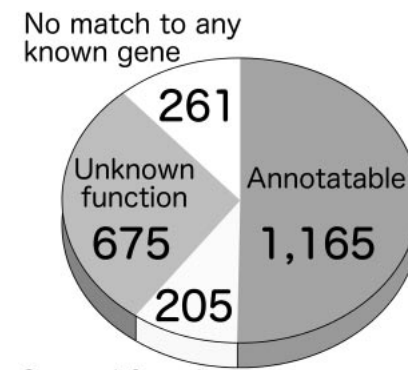


図2. *Thermococcus kodakaraensis* KOD1 株ゲノム上遺伝子の annotation 結果

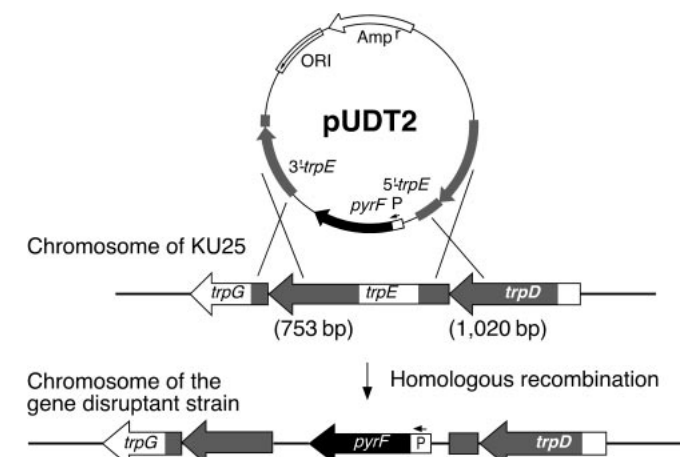


図3. 相同性組換えを利用した特異的遺伝子破壊
Double crossover recombination による trpE 遺伝子の破壊を示す。選択マーカーは pyrimidine 合成系の pyrF 遺伝子を利用している。

性があるので、超好熱菌 genetics の普及に貢献するものと期待している。遺伝子破壊・導入系の利用に関しても、*in vitro* では証明できなかった多くの酵素や代謝系に関してその生理的役割を解明することができ、また今まで知られていなかった新規な代謝系を発見することもできた。

倍数性コムギの比較ゲノム解析

おぎはら やすなり
荻原 保成 (横浜市立大学木原生物学研究所)

コムギはゲノムの概念が確立された記念碑的生物種である。コムギは倍数性で進化してきたことを特徴とする。倍数化の結果、世界中の様々な環境に適応し、栽培が可能になった。世界各地で生育するコムギは、多様な遺伝的変異を示し、貴重な遺伝資源となっている。パンコムギは倍数化する際、異種間の異なるゲノムを組み合わせた(異質倍数性:ゲノム式 AABBDD、図1参照)。これらのゲノムが内包する遺伝子セットは基本的に同じであると考えられるが、互いに分化している。倍数種のゲノム構成および遺伝子発現調節はそれぞれのゲノムの単なる足し算ではなく、高次な制御機構による相互作用が働いているに違いない。本研究は、パンコムギをモデルとして、倍数種が成立した結果生じたジェネティックおよびエピジェネティックな変化を比較ゲノム科学的に解析することを目的としている。ムギ類は、ゲノムサイズが巨大であるため(各ゲノムとモイネの約10倍) まず発現遺伝子(EST)の大量解析に集中した。

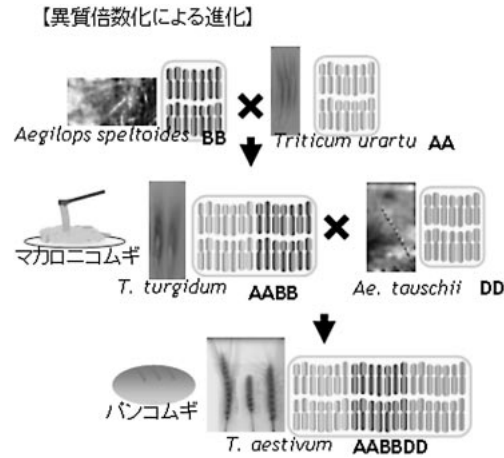


図1. 異質倍数化によるパンコムギの進化
パンコムギは異種交雑の複2倍体化により進化してきた

1) コムギにおける発現遺伝子の大量解析

コムギの生活環の代表的な19組織、および非生物学的ストレスをかけた23組織、生物学的ストレスをかけた4組織からそれぞれcDNAライブラリを構築し、cDNAクローンの両側から塩基を決定した(都合628,226シーケンスがえられている)。これらの塩基配列をCAP3法にて整理化した。パラメーターを設定し、整理化したそれぞれのcontigは各ゲノムから発現した遺伝子(同祖遺伝子)に相当する手法を開発した。現在、89,658 contig、35,604 遺伝子クラスター(2倍体の遺伝子数に相当するもの)がえられている。これは、コムギの遺伝子総数の90%以上をカバーしていると思われている。これらのコムギ遺伝子をイネの全ゲノムと同一性検索をしてみると、約1/3のコムギ遺伝子がヒットせず、コムギ特異的であると推定された。

これらのcontigのうちから比較的発現量の多いものを選び、contigに含まれるメンバー数に基づいて46組織すべてにおける遺伝子発現のボディマップを作成した。このボディマップを視覚化し、*In silico*でコムギの遺伝子発現パターンを解析で

きるようにすると共に、ストレスに反応する遺伝子を *In silico*で抽出できるようにした。

2) 同祖遺伝子のゲノム別発現様式のバイオインフォマティクスの解析

contigの同一性解析により、全体の約58%の遺伝子が3種類のゲノムのうち、1つのゲノムからのみ発現していると推定した。6倍体のパンコムギでこれらの遺伝子は2倍体のように発現している。2、および3種のゲノムから発現される遺伝子のうち、90遺伝子についてA, B, Dゲノムの座乗染色体を決定した。さらに、10組織による3種ゲノムにおけるゲノム毎の遺伝子発現パターンの特徴を明らかにした(図2)。生活環の各組織においてゲノム間で均等に発現している遺伝子も存在したが、組織によって発現遺伝子を使い分けている遺伝子も存在した。遺伝子の発現様式はジェネティックなものと同様にエピソード的なものが見出されている。異質倍数体ゲノム間における遺伝子発現制御の分子機構の体系的解析が求められる。

ゲノム別"VirtualDisplay"

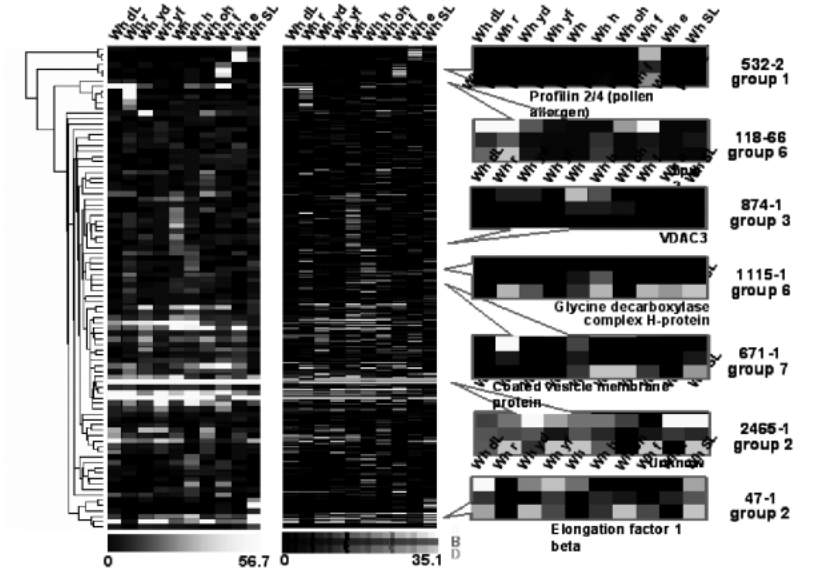


図2. パンコムギの生活環の各組織におけるゲノム別遺伝子発現パターン

Wheat ESTs Clustering Pipeline : WECP

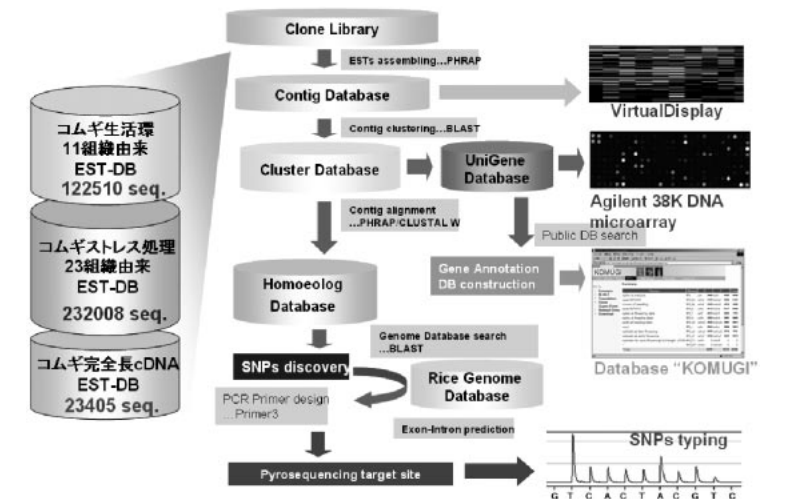


図3. パンコムギ発現遺伝子(EST)の大量解析によるコムギ機能ゲノム科学的基盤整備

3) コムギの機能ゲノム科学的基盤整備

コムギの生活環で発現する遺伝子、環境ストレスに反応して発現が制御される遺伝子の大量データベースが整備された(図3)。この大量遺伝子データベースに基づいて約3万8千遺伝子を登録したコムギ38 KオリゴDNAマイクロアレイを作成した。また、これらのESTを駆使してコムギ染色体をマッピングする発現遺伝子マーカーも開発可能であり、SNPs解析にも応用している(図3)。

植物に特徴的な倍数性に関する比較ゲノム解析が現実的になってきた。



横浜市立大学木原生物学研究所・教授。農学博士。1974年京都大学農学部農林生物学科卒業。京都大学大学院農学研究科博士課程修了。横浜市立大学木原生物学研究所助教授、京都府立大学大学院農学研究科教授を経て、2006年より現職。専門は植物ゲノム科学。特に植物ゲノム工学。現在は、倍数性ゲノムの遺伝子制御機構に関心をもつ。1997年三島海雲記念財団学術奨励賞受賞。著書に、「コムギ(ムギ類)のゲノムとDNAレポジトリ-」ライフサイエンスのための系統保存とデータバンク。共立出版、2000、「Genome science of polyploid wheat. Frontiers of Wheat Biosciences」Memorial issue, Wheat Information Services No. 100(2005) などがある。

脳動脈瘤関連遺伝子の探索

いのうえいつろう
井ノ上 逸朗 (東海大学)

脳動脈瘤の破裂により重篤なくも膜下出血をきたす。脳動脈瘤発生頻度は高く、剖検例で4.6%という報告がある。また家族集積性も高く、相対危険率(OR)は6と報告されている。脳動脈瘤そのものはほとんど症状がないものの、破裂に伴い致死性のくも膜下出血をきたし、かつ脳動脈瘤発生には遺伝要因が強く関与している。脳動脈瘤発生に関する遺伝要因を同定することにより、ハイリスク患者の予測、病態解明から創薬の可能性、喫煙と遺伝要因の相互作用解明などに繋がると期待される。

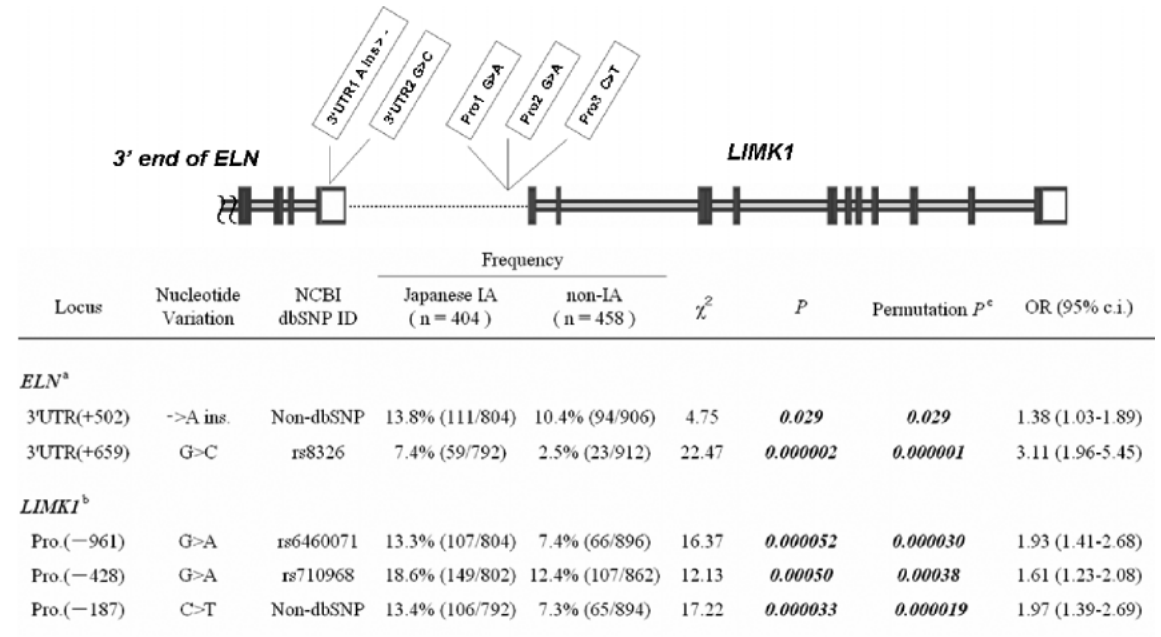
すでに我々は104組の脳動脈瘤罹患同胞対を全国レベルで収集し、ゲノム全域連鎖解析をおこなった。結果、5、7、14番染色体において連鎖を得ている。最も強い連鎖を認めた7q11(最大ロッド値=3.0)について、SNPによるポジショナル・クローニングを試みた。連鎖を得た領域4.6M塩基にわたり188個のSNPをデータベースから同定し、患者192例、対照192例で第一次スクリーニングのアソシエーション・スタディをおこなった。多重検定となるので、permutation法による補正を試みつつ、有意差検定をおこなった。すべてのSNPをTaqMan法にてタイピングした結果、ひとつの限局領域(6 SNPs)で有意差を得た。そこにはelastin(ELN)、lim domain kinase 1(LIMK1)そしてcytoplasmic linker 2(CYLN2)が存在していた。有意差を得た領域において新たに16個のSNPを同定し、400例の患者と400例の非患者対照で第二次スクリーニングをおこなった。その結果、ELNとLIMK1の間に存在する複数のSNPで有意差なアソシエーションを得ることができた。ELN 3' UTR(+659)SNPでもっとも強い有意差を得ている(P=0.00002)。それと比較すると弱いながらLIMK1 promoter(-187)SNPでも有意差を得ることができた(P=0.000033)。

機能解析実験において、ELN 3' UTR(+502)に存在するA insertionがELN mRNAを不安定化することを臍帯動脈平滑筋細胞での*ex vivo*実験、またルシフェラーゼ活性による*in vitro*実験で示すことができた。同様にLIMK1(-187)SNPは転写活性を減少させることも見出した。しかしながら、ELN(+502)SNPとLIMK1(-187)SNPは強い連鎖不平衡にはなかった。ハプロタイプ解析によるアソシエーション・スタディを試みたところ、もっとも有意差の強かったELN(+659)SNPをタグSNPとするハプロタイプで強い有意差を得(P=0.0000011)、リスクハプロタイプであるといえる。興味深いことにこのハプロタイプは機能的SNPであるELN(+502)A insertion SNPとLIMK1 promoter(-187)SNPを共に含んでいた。すなわち、

リスクハプロタイプを有すると、エラスチン、LIMK1両方の減少があることが予測される。最近の研究では、エラスチンはRho kinase活性化に関与しており、LIMK1のリン酸化を促進することが示され、パスウェイとしてリンクしている。ふたつの遺伝子の量的減少がどのように脳動脈瘤発生に関わるか、病態解明に繋がる今後の研究課題である。

東海大学医学部基礎医学系分子生命科学・教授。
1988年鹿児島大学大学院博士課程卒業。
ユタ大学人類遺伝学研究者、群馬大学助教授、東京大学客員

助教授を経て、2006年より現職。
専門はゲノム医学、特にcommon diseaseの遺伝解析。



^aNumbers in parentheses indicate the nucleotide position from the stop codon.

^bNumbers in parentheses indicate the nucleotide position from the first nucleotide of exon 1.

^cPermutation P values were generated after 1,000,000 iterations.

表1. ElastinとLIM kinase 1遺伝子の脳動脈瘤への関与

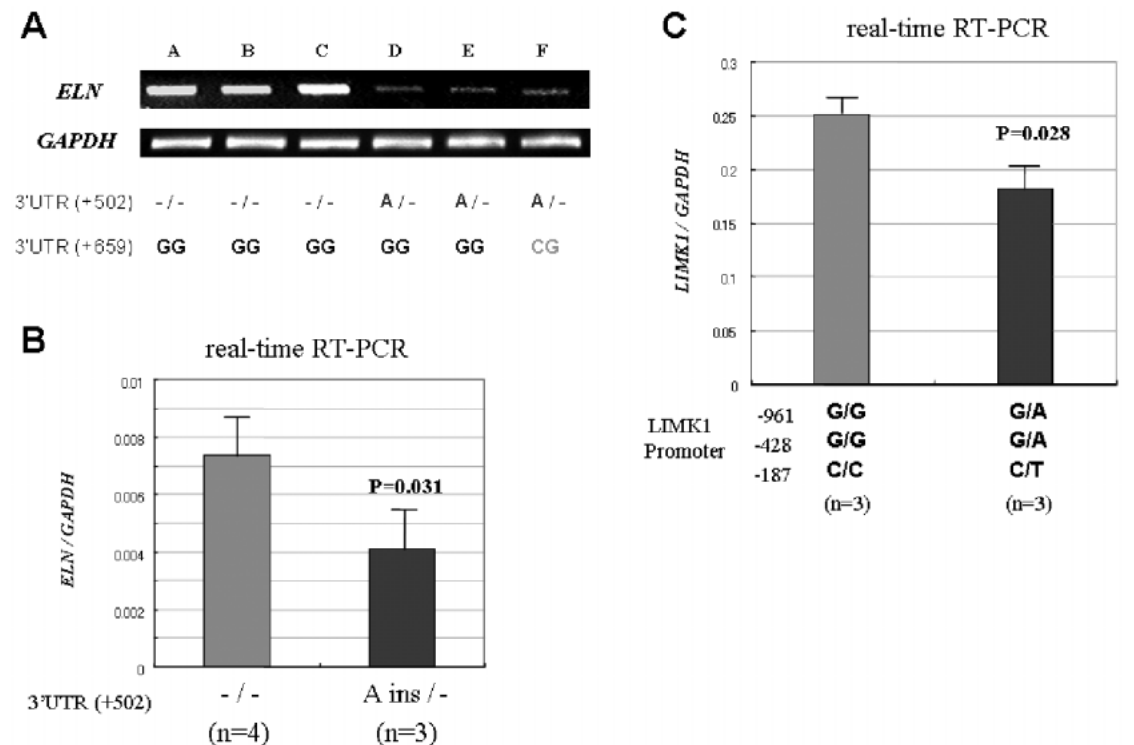


図1. Expressions of ELN mRNA (A and B) and LIMK1 mRNA (C) in human SMC from umbilical artery according to genotypes of the 3' UTR and the promoter region, respectively.

小児癌 cDNA プロジェクト

その診療への応用

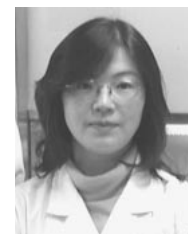
おおひら みき
大平 美紀 (千葉県がんセンター研究所)

小児期に生じるがんは、環境や食物などの外的要因の割合が成人のがんに比べ極めて少なく、発生・分化の過程で働く遺伝子に何らかの変化が生じて発症すると考えられることから、小児がん組織で働く遺伝子をゲノムレベルおよび遺伝子発現の両方から網羅的に研究することにより、がんだけでなく、正常な発生分化の機構や、その他の様々な疾患のメカニズムの解明につながることを期待される。我々はこのような比較的「きれいな」システムである小児がんが、ゲノム解析および遺伝子解析と疾患への応用のよいモデルケースになると考え、研究を進めている。本講演では、これまでの解析からどのようなことが明らかになり、その成果をどう医療へ還元し応用していけるか、その可能性についてお話したい。

小児の代表的な腹部固形腫瘍である神経芽腫は、副腎などの交感神経組織に発生する神経のがんである。この腫瘍は悪性度によって大きく2つのタイプに分けられ、1歳未満の乳児に見つかり、腫瘍細胞がしばしば正常に分化し自然に腫瘍が消える予後良好タイプと、1歳以降に生じ増殖能の強い予後不良タイプが存在する。これまでのさまざまな解析から、予後良好な神経芽腫細胞では、個体発生における神経の分化や細胞死に関わる重要な遺伝子が正常に近い状態で働いていると考えられる一方で、予後不良タイプでは細胞は増殖能の強い未分化な状態のままになっていると考えられる。これら2つのタイプの腫瘍細胞の遺伝子発現パターン(それぞれの腫瘍組織でどのような遺伝子がどのくらい働いているか)の特徴や相違を詳細に解析することにより、神経細胞の増殖・分化・細胞死のメカニズムの解明と、神経芽腫やその他の様々な神経系疾患の病態の解明に繋がることを期待される。そこで、これまでに我々はこの2つのタイプの腫瘍組織から10,000クローンからなる遺伝子ライブラリー(cDNAライブラリー)を作製し、約5,340個の遺伝子断片を単離した。これら全てについて塩基配列を決定したところ、新規遺伝子や神経特異的遺伝子が多数含まれていることが判明した。また、2つのサブタイプの典型的な症例の腫瘍組織を16例ずつ用いて、単離した遺伝子のうち約

3,000個について発現を比較したところ、両群間で発現に差のある遺伝子を約700個同定した。これらの遺伝子群には神経の分化に関与する遺伝子や、細胞の増殖に関わる遺伝子などが高頻度に含まれていたほか、機能未知の遺伝子も多数含まれていた。これらの中には、進行神経芽腫に対する治療標的の候補となるような重要な遺伝子が含まれると考え、詳細な解析を順次進めている。

本研究で単離収集した小児がん由来の遺伝子群は、疾患メカニズムの解明のみならず、がんのリスク分類など臨床への応用も期待される。本講演ではわれわれが進めている小児がんDNAチップの作製と臨床への応用例についても紹介したい。臨床においては、悪性の神経芽腫は5年生存率が30%程度と非常に予後が悪く、このような進行神経芽腫に対する新たな治療法の開発が急務である。また、現在用いられている予後マーカーのみではリスク予測が困難な中間予後群も存在し、治療戦略



千葉県がんセンター研究所・ゲノムセンター・室長。薬学博士。
 1989年東京大学薬学部薬学科卒業。東京大学大学院薬学系研究科修士課程修了。

(財)かずさDNA研究所 研究員、千葉県がんセンター研究所 生化学研究部 研究員を経て、2005年より現職。

専門はゲノム医学。特に小児固形腫瘍のゲノム解析を通して、癌などの疾患の発症・進展のメカニズムの解明と新規診断法・治療法開発など臨床への応用に関心をもつ。2004年第11回国際神経芽腫学会ルカロッティ賞(遺伝学部門)受賞。

千葉県がんセンター 小児癌 cDNA プロジェクト

- ・神経・肝の発生分化における遺伝子発現ネットワークの解明
- ・神経芽腫・肝芽腫の発生およびその他の疾患の病態メカニズムの解明

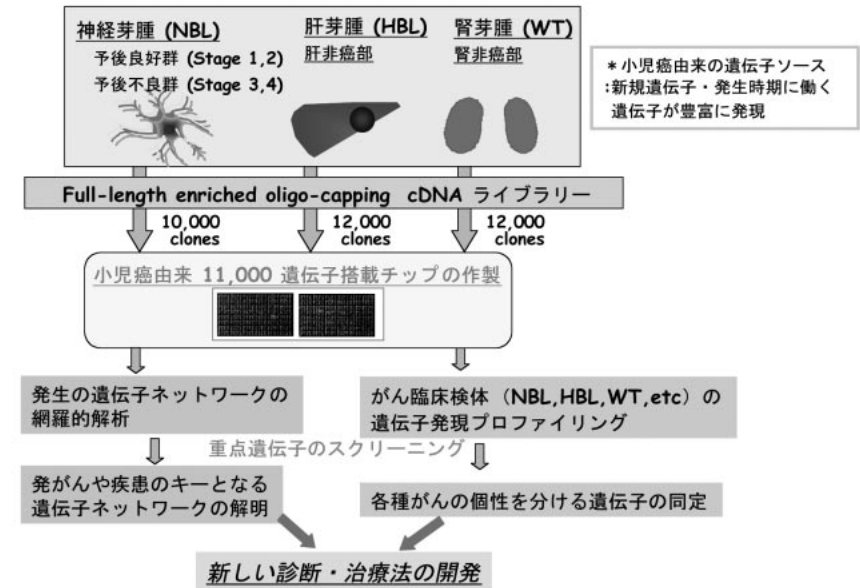


図1. 千葉県がんセンター小児癌 cDNA プロジェクトの概要

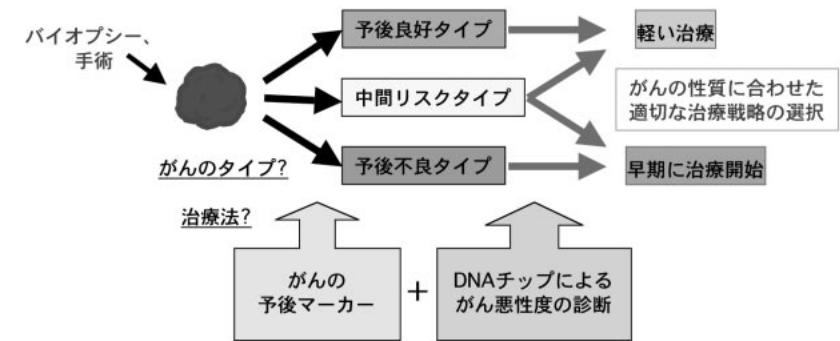


図2. 腫瘍特化型DNAチップの臨床への応用

の決定に迷う症例も少なくない。まず診断後早期に、腫瘍の性質に合った適切な治療方針を決定するための新しいリスク分類システムを構築する必要がある。近年開発されたDNAチップを用いた網羅的遺伝子発現解析から、これらの腫瘍の性質を決めているのも、それぞれの腫瘍細胞で働いている遺伝子の顔ぶれと、その発現量であることが様々ながんで示されてきた。そこで、前述の神経芽腫組織から収集した約5,340個の遺伝子を、1枚のスライドグラスに搭載した神経芽腫特化型DNAチップを作り、腫瘍組織の遺伝子の発現量を測定した。このDNAチップは、一度に5,340個の遺伝子の発現量を網羅的に測定する事ができる。この解析を多検体の腫瘍について行い、コンピューターによる統計的解析により、腫瘍の悪性度と強く関連する遺伝子を多数選出した。これらの遺伝子の発現データを用いることにより、従来の予後因子では予測が困難であった中間予後群についても、予後不良腫瘍と予後良好腫瘍とに高確率に分類できることが示された。このアレイからの結果と、他のあらゆる臨床データを合わせ、総合的に判断する事により、治療が見込めるタイプには、病後のQuality of Life(生活の質)に配慮した副作用の少ない治療法を適用し、逆に悪性度の高いものには初発段階から早期の治療を施すなど、腫瘍の個性に合わせた最適な治療法の選択が可能になると期待される。

ゲノム研究に対する市民と研究者の態度

やまがた ぜん たろう
山縣 然太郎 (山梨大学大学院)

はじめに

ゲノム基礎研究や研究成果が社会で円滑に活用されるようになるためには、国民の意識と態度に基づき、行動のメカニズムを解明し、研究者自らが課題を先取りして対応を練っておくことが不可欠です。そこで、本計画研究では、ゲノム科学の推進および社会に応用される際の社会的基盤を整備するため、具体的な提言をすることを目的としています。

研究方法

本研究や大規模調査による量的調査とフォーカスグループミーティングなどによる質的研究を実施しています。一般市民に対する調査の対象は日本に在住する20歳から69歳の一般市民から階層化二段階無作為抽出法によって抽出された4,000名です。郵送法により2005年11月に実施しました。調査内容は、ゲノム研究をめぐる態度(ゲノム基礎研究、農作物に応用されるゲノム研究、医療に応用されるゲノム研究)や教育歴、経験、属性など、回答者の態度(行動・認知・感情)との関係性をみる構造となっています。



山梨大学大学院・医学工学総合研究部・社会医学講座・教授。医学博士。
1961年山梨医科大学卒業。臨床遺伝学専門医、指導医、人間ドック学会認定医。

99年より現職。

日本疫学会 理事、日本公衆衛生学会 評議員、厚生省健やか親子21検討会委員(2000年) 厚生労働省健やか親子21推進検討会委員(中間評価研究会座長) 科学技術・学術審議会生命倫理・安全部会、厚生労働科学審議会技術部会疫学研究に関する倫理指針の見直しに関する専門委員会委員ほか。専門は、公衆衛生学、疫学、人類遺伝学。ゲノム疫学分野では禁煙や運動による体重減少など健康行動に関連する遺伝子多型の研究およびゲノム科学と社会との接点について研究している。

著書に「地域保健活動のための疫学(第2版)」(2006年 日本公衆衛生協会)、「図説 国民衛生の動向」(2000年~2006年 厚生統計協会)、「人間と情報」(山梨日日新聞社2000年)などがある。

結果

一般市民調査の回収数は2,171票で、回収率は54.3%でした。ゲノム研究を「基礎研究」「農作物に応用される研究」「医療に応用される研究」の3つの領域に分けて関心の度合いと推進の是非について尋ねたところ、いずれも最も関心が高かったのは医療に応用されるゲノム研究であり(70.5%)、関心がないと答えた人も他の2つに比べて少なくなっていました(4.6%)。

基礎研究と農作物研究の推進の是非については、「どちらともいえない」立場を取る人がそれぞれ41.7%、43%を占めていましたが、これらの回答者の背景をみると、基礎研究については、ゲノム科学リテラシースコアの低い人、年齢の若い人、遺伝子組換え原料表示の食品を買い控える人が、農作物研究では、同じくリテラシースコアの低い人、女性、遺伝子組換え表示原料の食品を買い控える人、都市部以外に在住している人が、それぞれ態度を決めかねている傾向がみられました。

用語の認知状況についてみると、図1に示すように、「ゲノム」という言葉を理解している人は14.7%、聞いたことがある人が55.5%、聞いたことがない人が29.8%でした。認知度は男性のほうが高くなっていましたが、年齢差は認められませんでした。一方、「遺伝子」や「DNA」は理解している人が55%、聞いたことがない人が1%前後であり、「ゲノム」の認知度を他の

遺伝関連の言葉や生物学の専門用語と比べると、その認知度の低さが際立っていました。

本調査では、回答者の科学リテラシーを確認する手段として、ゲノム化学用語と他の科学用語の単語としての理解度(単語理解)、ゲノム科学用語と他の科学用語の文脈での理解度(文脈理解)、価値認知・リスク認知という3つの観点から、回答者の「ゲノム科学リテラシー」として得点化しました。得点に男女差はなく、年齢については男女とも30歳代が最も点数が高く(理解度が高く)、年齢が高くなると得点が低くなっていました。また、図2に示すように、ゲノム科学リテラシー得点が高いと、ゲノム研究に関心がある人が増え、ゲノム研究を推進する傾向にありました。

一方、医療に応用される研究では関心も高く推進賛成者が多くいましたが、研究推進のために自分の血液を提供してもよいと答えた人は39.1%に留まっています(図3)。

ゲノム科学研究に関する

情報源を尋ねたところ、テレビ・ラジオが圧倒的に多く、研究機関を訪ねたり、研究者の話を聞いたりするなど、研究者と直接交流する機会をあげている人は多くありませんでした。これをゲノム研究者自身の経験と照らしてみると、所属研究機関の公開や見学、あるいは市民を対象とした講演や授業など、直接的に市民と交流する機会を挙げる研究者が半数に上る一方、多くの市民が情報源としているラジオ・テレビに携わっている研究者は少ないことがわかりました。

おわりに

市民がゲノム科学を理解するには研究成果が市民にわかりやすく情報提供されることが不可欠ですが、それを担うのはメディア(マスメディア、市民メディア)であるとともに、ゲノム科学研究者自身が市民とのコミュニケーションに手ごたえを感じられるような環境をよりいっそう醸成していく必要があります。

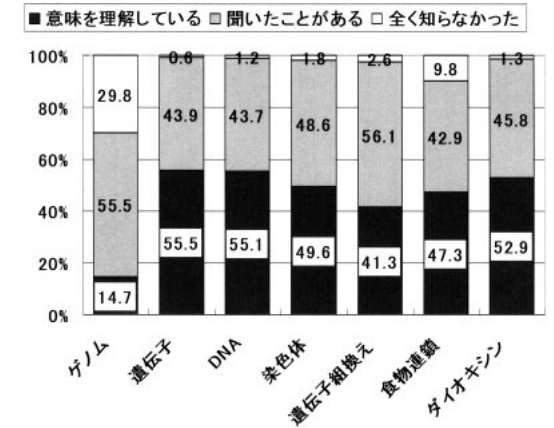


図1. ゲノムの認知度

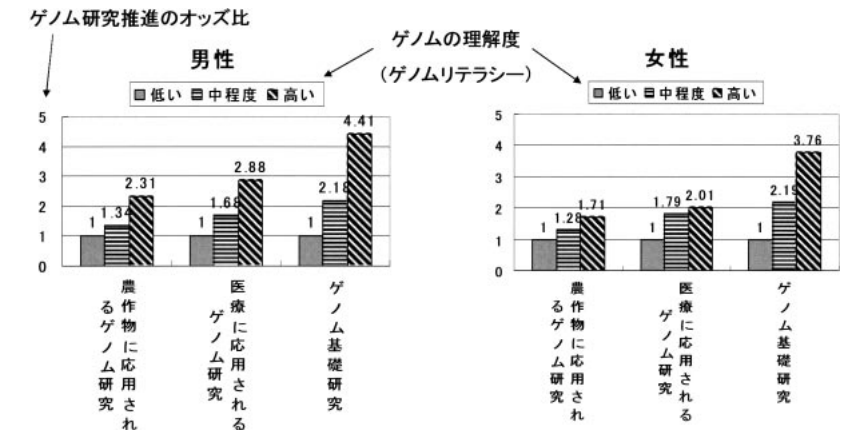


図2. ゲノムリテラシーと研究推進との関連

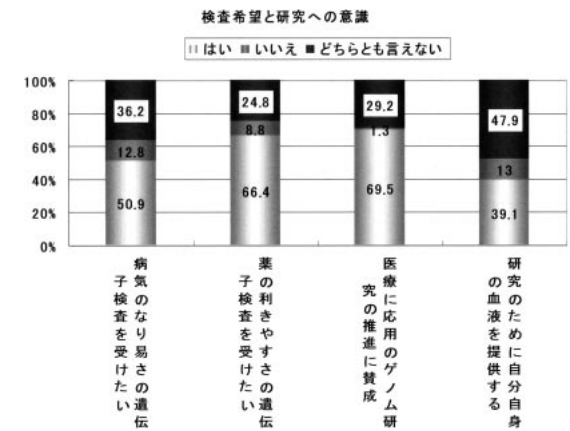


図3. ゲノムの医療応用に対する意識

メダカゲノムのアセンブリと 比較ゲノムによる進化解析

もりした しんいち
森下 真一（東京大学大学院）

脊椎動物の祖先から現在にいたるまでゲノムにどのような染色体レベルの大規模な構造変化が起こったかは長い間の謎であった。2001年以降、脊椎動物のゲノム解読は進展し、染色体のDNA配列を広い範囲で解読した完成度の高いゲノムがいくつか報告され、ようやくゲノムを比較してゲノム進化の謎を詳しく調べることが可能になってきた。

ゲノムを解読するまでの長い道のり

2004年10月、アメリカ、イギリス、日本、フランス、ドイツ、中国の6か国が分担して取り組んできたヒトゲノムの解読が一段落し、約28.5億塩基対を解明したことが報告された。2002年以降、他にも脊椎動物ゲノムが解読されたものの、ゲノムを解読して染色体を構成するDNA配列を決めてゆくことは長い道のりの研究となる。脊椎動物の場合、染色体のDNA配列の90%以上を被覆することに成功するまでには3~5年ぐらいかかっている。この条件を満たすゲノムが解読された脊椎動物は2007年1月の時点でヒト、マウス、ラット、ニワトリ、チンパンジ、ドッグ、メダカであり10種に満たない。ミドリフグのゲノムも報告されているが被覆率は65%である。脊椎動物に近い脊索動物ではホヤ、ウニのゲノム解読が報告されているが、前者は60%を超える被覆率なのに対してウニは未完成である。近い将来、高い完成度のゲノム解読が期待されている脊椎動物はゼブラフィッシュ、アフリカツメガエルである。

ゲノムを解読するにはシーケンサーという機械を使用するが、一度に解読可能な長さは500~800塩基対であるところが技術的ボトルネックになっている。過去4半世紀で解読可能な長さが2~3倍しか改善できていない難問である。そのため、ゲノムは細かい断片に分けて解読し、これら断片配列から元のゲノム文字列を再構築する逆問題をとく（全ゲノムショットガン配列決定法と呼ぶ）。その断片の数はマウスの場合ではおよそ4,100万、メダカでも1,400万個にのぼった。ゲノムの再現はジグソーパズルに喩えられるが、より難しい。なぜなら、元の絵を教えてもらえず、しかも半分ちかくが青い空の絵、つまり多数の極めて似たピースから元の絵を復元するようなものだからである。

日本では独自にメダカゲノムを解読する研究が2002年より開始された。解読にあたっては、ゲノム解読に必要なバイオインフォマティクス・ソフトウェアを外国製に頼らずに自製することも主眼に置いたため、ゲノム解読および解析に関するアルゴリズム技術については欧米並みの水準を維持できた。また、転写開始点を大量に収集する5 SAGE法も用いて新しい遺伝子予測法を導いた。

メダカはゲノム解読を進めるにあたって障害が少ない生物種であった。なぜなら、ゲノムの塩基対数は約8億で哺乳類にくらべ少なく、2つの相同染色体の間でDNA配列の違いが極めて少ない近交系が系統保存されており断片配列からの復元時に混乱が少なく、繋げた断片が由来する染色体上の位置を決定する

ためのゲノムマーカーが豊富であり元のゲノム配列の復元を容易にした。この結果、メダカゲノムは魚類ゲノムでは最も完成度の高いゲノムとなり、他生物種のゲノムとの比較を容易にした。2005年頃には脊椎動物のゲノム進化を解明するには丁度よい時期にさしかかっていた。なぜなら、ゲノム解読が報告された脊椎動物は10種に満たないものの、ゲノム進化の全体像を描出するには十分な数になってきていたからである。

脊椎動物ゲノム進化のモデル

ゲノムには様々な規模の変化が起こる。染色体全体が重複、融合、分裂する大規模な再編成、染色体一部が重複、逆位、転座する中規模な変化、そして塩基対の変異による遺伝子機能の変化や喪失など塩基レベルの変化、等のさまざまなレベルの変化により生物は進化する。そのため脊椎動物ゲノムの祖先がどのような形をしていたか、進化の過程で染色体が受けた変化を推定することは単純ではない。もし原型を留めないほどの変化が頻繁に起こっていたとすれば、ゲノム進化を推定することは所詮無理である。幸い現実には、祖先染色体を推定することが可能な程度の変化が起こっていたことが、進化的に離れたヒトとメダカのゲノムを比較することにより分かってきたため、脊椎動物のゲノム進化の様子を復元する見通しが立ってきた。

このような明るい状況の中で、ゲノム全体が重複するという全ゲノム重複の解明が可能になってきた。1970年に大野乾は、全ゲノム重複は遺伝子の種類を増やし生物の進化に大きな影響を与えたと唱えた。脊椎動物ゲノムでは、顎口上綱の祖先で6~8億年前に2回の全ゲノム重複が起こり、真骨魚類の祖先で約3.5億年前にさらに1回の全ゲノム重複が起こったのではないかということが、HOX遺伝子のクラスターの重複数から示唆されてきた。しかしゲノム全体から見るとHOXクラスターは非常に狭い領域であり、全ゲノム重複の根拠として一般化することは危険である。局所的な重複により生まれたという対立仮説も否定できなかった。そのためゲノム全体を比較することでしか是非を判定できないと考えられてきた。

2004年、ミドリフグのゲノムが解読されたとき、ヒトゲノムとの全ゲノム比較により真骨魚類の全ゲノム重複は詳細に立証された。メダカゲノムを使った我々の解析では、さらに新しい結果として、全ゲノム重複からメダカ、ゼブラフィッシュ、フグの祖先が分岐した約0.5億年の短い期間に染色体間での大規模な再編成が8回起こり、そのあと対照的に染色体変化は緩やかになり、特にメダカの場合は染色体間の大規模な再編成が起こっていないことがわかった。

一方、6~8億年前に起きたと推定される顎口上綱の祖先での2回の全ゲノム重複も、メダカゲノムをヒトゲノムと比較することで初めて詳細に確認することができた。この立証を手がかりに、脊椎動物の進化上の重要な祖先(顎口上綱、硬骨魚類、有羊膜類)のゲノムを推定することが可能になった。その結果、真骨魚類の全ゲノム重複と同じように、全ゲノム重複の直後には、やはり染色体間の大規模な変化が起こり、その後緩やかな染色体変化が続くことが確認された。

以上のようにメダカゲノムを利用することで、脊椎動物ゲノム進化のなかで全ゲノム重複のあとに起こった染色体再編成の大規模なダイナミックスが明らかにされた。

謝辞

メダカゲノムの解読は、小原雄治研究室(遺伝研)、武田洋幸研究室(東大)、藤山秋佐夫研究室(情報研)、橋本真一博士(東大)、清水信義研究室(慶大)、菅野純夫研究室(東大)、森下真一研究室(東大)の共同研究の成果であり、関係者の皆様に深謝します。



東京大学 大学院新領域創成科学研究科情報生命科学専攻・教授。

1983年東京大学理学部情報科学科卒。理学博士。記号論理学、データベースシステ

ム、機械的学習の研究を経て、97年頃からバイオインフォマティクスの研究に従事。2003年より現職。

著書に「Large-scale genome sequence processing」「発見科学とデータマイニング」「情報数学講座：知識と推論」など。

メダカゲノムと発生学研究

疾病モデルとしてのメダカ変異体を例として

ただ ひろゆき
武田 洋幸 (東京大学大学院)

1) メダカと発生学

メダカは、ダツ目(サンマ、サヨリも含まれる)に属する東南アジア原産の小型淡水魚である。メダカやゼブラフィッシュ(米国で開発された実験魚)を代表とする小型魚類は実験動物として以下のような優れた特徴を有している。

飼育が容易、多産、短い世代サイクル(2か月)といった遺伝学の研究に適した特徴。

胚が透明で、発生速度が速く、哺乳類と同等の器官、組織を備えていることで実験発生学としての優れた特徴(図1)。

特に魚類は単純な体制にもかかわらず、ヒトを含む哺乳類と類似した器官群を持っている。このことはヒトの遺伝子疾患の研究に応用できる可能性を秘めている。

メダカはかつて日本の水田のどこでも群れており、また古くは江戸時代よりペットとして庶民の家庭に入り込んでいた。そして、当然のことながらメダカ研究の大部分は日本産であった。そのなかでも特筆すべきことは、先輩研究者たちの努力より健康な近交系(遺伝的に均一な系統)が多数確立されており、遺伝学の実験に非常に適していることである。また、メダカのゲノムサイズがヒト(3,000 Mb)の3分の1弱(800 Mb)と小さいことから、ゲノム科学を推進する上でも有利といえる。このようなメダカの将来性に注目して、2002年9月よりメダカゲノムプロジェクトが開始され、2005年末までには配列決定作業が終了した。メダカゲノムの概要配列発表までわずかとなっている。

2) 疾病モデルとしてのメダカ変異体

私たちは脊椎動物のからだづくり(個体の発生)を支配する重要な遺伝子群を明らかにする目的で、2000年

より国立遺伝学研究所で、また2002年からは一部東京大学、東京工業大学(工藤明研究室)で、発生に異常を示すメダカ突然変異体の単離を実施した。今回は現在解析中のメダカ変異体のうち、内臓逆位(内臓器官の位置が左右逆転する)を示す変異体を紹介したい(図2)。内臓逆位を示すメダカ変異体は合計7系統単離され、表現型の解析とゲノム情報を駆使した原因遺伝子の同定が進んでいる。これらの変異体の一つ、*kint-oun(knt)*は、成長の過程で必ず腎臓肥大を発症する(図2)。この異常を示す腎臓では、たくさんの空胞(嚢胞)が形成されている。この病変は、ヒトで1,000人に一人程度という高頻度で発症する多発性嚢胞腎症と一致している。多発性嚢胞腎症は、主に遺伝的要因で発症し、一旦発症すると腎臓機能が低下または喪失する。現在これに対する効果的な治療法はなく、発症の原因解明や治療法の開発が急がれている。最近我々は、この*knt*変異体の原因遺伝子の同定に成功した。そしてこの変異体において、

機能未知であった新規遺伝子、*knt*の機能が失われていることを見出した。さらに詳しい解析により、*knt*変異体では細胞の表面に生えている繊毛がその運動機能を失い、その結果内臓逆位と多発性嚢胞腎を発症することが明らかとなった。*knt*遺伝子がコードするタンパク質のアミノ末端領域は、節足動物からヒトまで高く保存されており、繊毛の運動機能に必須な新規遺伝子と考えられる。*knt*変異体の解析により、ヒト多発性嚢胞腎症や線毛の運動性欠失によって起こるKartanger症候群(気管支の拡張や内臓逆位などの症状を示す)についての新たな知見が得られている。

現在解析しているメダカ変異体はメンデルの劣性遺伝の様式に従って遺伝することから、一つの遺伝子の機能異常によることは間違いない。そして脊椎動物の発生機構の共通性(保存性)を考えると、これらのメダカ変異体(遺伝学)とゲノム科学を融合した研究により、ヒトを含めた脊椎動物の重要な発生機構や疾病の原因が明らかになると期待される。

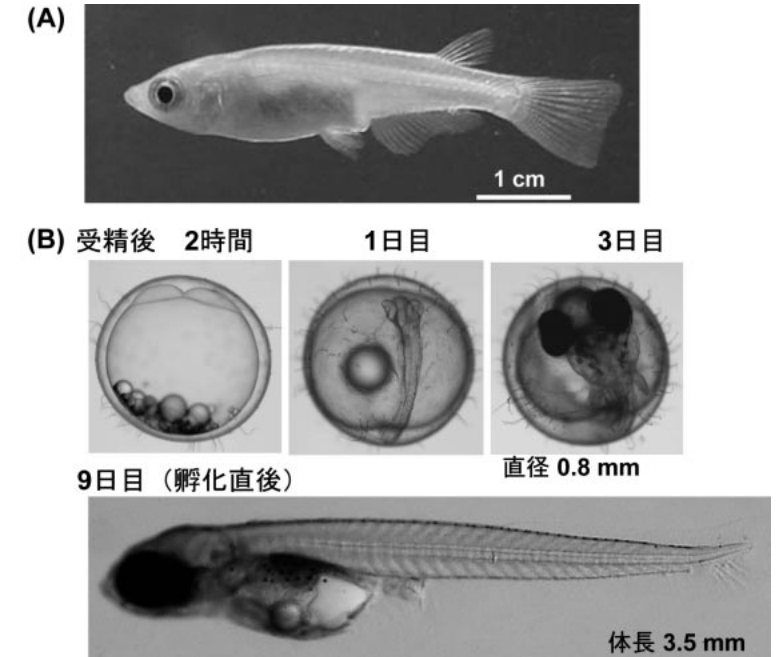


図1. メダカ成体(A)と胚発生(B)
(A)は実験に良く使用されるヒメダカ

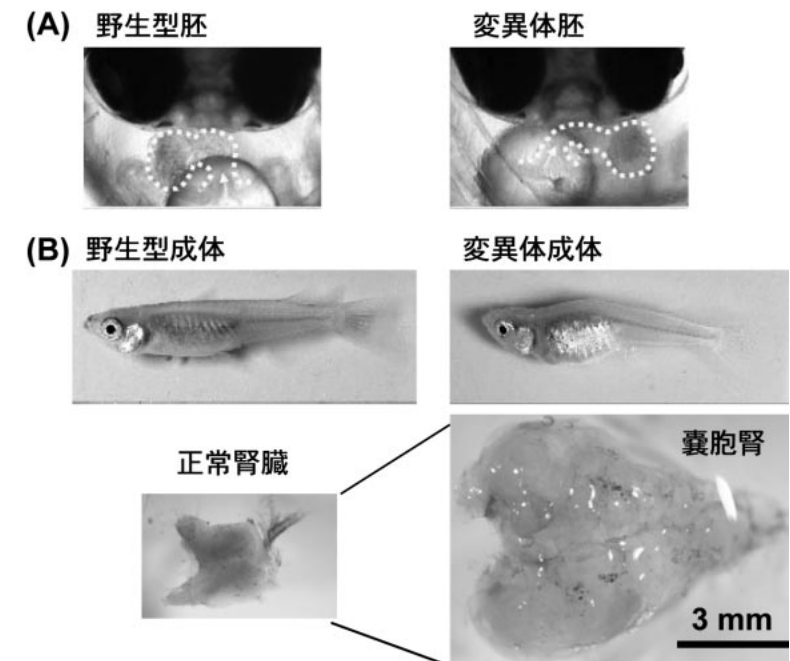


図2. 内臓逆位と腎臓病(嚢胞腎)を発症するメダカ変異体
(A)胚期の心臓のループの方向 (B)成体の外見と腎臓



東京大学大学院理学系研究科生物科学専攻・教授。理学博士。1982年東京大学理学部生物学科卒業。84年同大学大学院修士課程修了。名古屋大学理学部・助教授、国立遺伝学研究所・教授を経て、2001年より現職。
専門は発生遺伝学。特に脊椎動物のからだづくりのメカニズムに関心をもつ。
著書に『動物のからだづくり - 形態発生の分子メカニズム -』(朝倉書店、2001年)、『発生遺伝学 - 脊椎動物のからだど器官のなりたち』相賀裕美子博士と共著(東大出版会、2007年)

動物の皮膚模様形成原理の分子レベルでの全容解明 複雑で動的な生命システムを理解する

こんどう しげる
近藤 滋 (名古屋大学大学院)

ポストゲノム時代のひとつの方向は、より簡単に手に入るようになった分子レベルの情報を利用して、今までは解析するのが困難だった、1)複雑で、2)動的な、生命現象を解明することにある。それらの現象がおきる原理は、個々の分子の性質よりも分子間相互作用のネットワークに依存し、また、動的な性質を持つことが多いため、その理解のためには、計算機シミュレーションを使うことが必須である。しかしながら、シミュレーションは一見万能のように思えるが、生物体(細胞)のように極端に複雑かつ構成要素の多い構造の計算にはそもそも向いていない面があり、そのため、実験研究者が対象とするような系にシミュレーションが有効に利用された例はまだまだ非常に少ない。動物の皮膚模様形成は、そのような目的に非常に適した研究対象である。我々は既に、皮膚模様形成が Turing system と呼ばれるネットワークの動的な性質によって行われることを、マクロレベルの実験で証明した。また、遺伝子レベルのネットワークの解明にも着手し、既に複数の関与遺伝子を特定しつつある。今後、1)遺伝子レベルのネットワークの解明、2)同じネットワーク

が関与する形態形成現象の探索、を行うことにより、ネットワークの動的な挙動が形態形成現象に深くかかわっていることの証明を目指している。

ゼブラフィッシュの模様は、Turing Pattern 特有の挙動を示す

実験動物としては、飼育が容易で変異体のレポーターがそろっているゼブラフィッシュを使う。レーザーを使うと、任意の領域の色素細胞を消去することが出来、再生の過程を観察できる。下の図の例(図1)では、黒い縞部分にある色素細胞を消去したときに、下にある縞が上に移動してくることがわかる。この結果は Turing Model のシミュレーションとぴったりと合っており、魚の縞模様が、Turing Model が予言したところの動的特性を持っていることが証明できる。また、レーザーを使っていろいろなパターンで色素細胞を消去し、模様の再生過程を観察すると、2種類の色素細胞が、どのような相互作用をして自分や相手の増殖や細胞死を制御しているのが推定できる。そのネットワークを構築してみると(図2)、チューリングの理論と一致しており、シミュレーションを行うと、実際にいろいろな模様を作れること証明できた。

パターンを作る遺伝子・分子

現在までに jaguar (幅広ストライプ) と leopard (斑点) の2つの変異遺伝子をクローニングした。Jaguar は左記のとおり Kチ

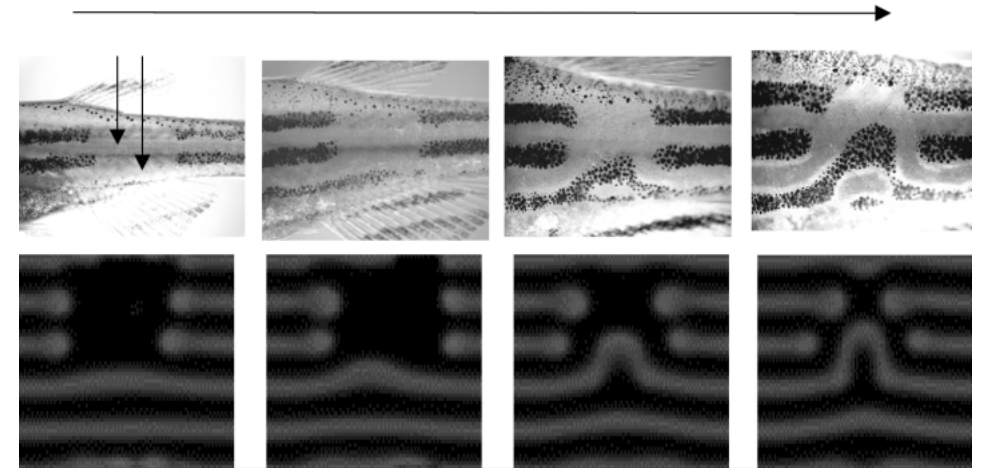


図1. レーザーで2本の黒いバンドを消した場合の再生の時系列と反応核酸モデルによる予測

ャンネルであり、Leopard の原因遺伝子は、gap junction であることがわかっている(図3)。残念ながら、模様を作るシグナル伝達分子はまだまだ特定されていないが、クローニングされた遺伝子が、イオンなどの低分子の膜透過に関連するものであったことから、模様形成シグナルはタンパクなどの高分子リガンドではない可能性が高いと考えられる。

現在、インビトロでの色素細胞の培養系の確立を進めており、培養条件化で、種々のサイトカインやイオンの影響、あるいは異種細胞間の接触による影響を調べている。

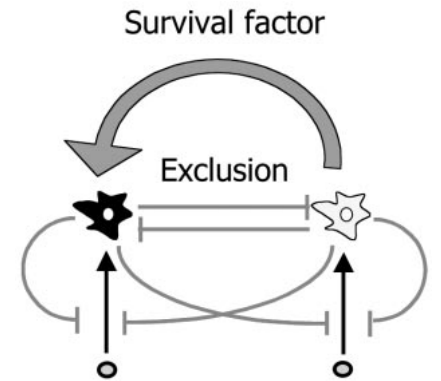


図2. 推定されたネットワーク

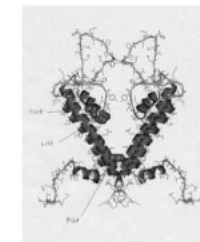
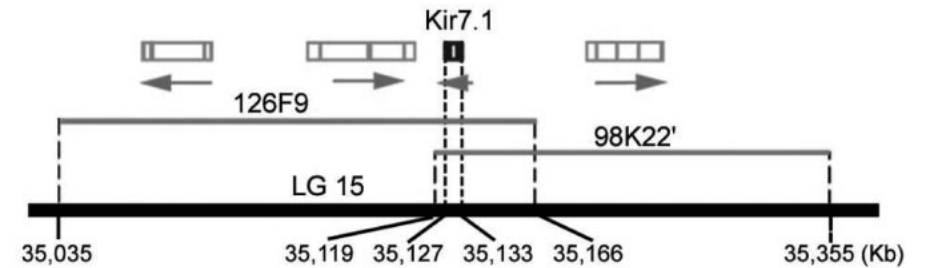


図3. 幅広変異体(ジャガー)の模様と、クローニングされた原因遺伝子(Kir7.1)の立体構造(推定)



名古屋大学大学院理学研究科生命理学専攻・教授。
1982年東京大学理学部生物化学科卒業。
84年大阪大学医学部医科学修士過程修了。
88年京都大学大学院

医学研究科博士課程修了、博士号取得。東京大学医学部第一生化学教室 日本学術振興会特別研究員、パーゼル大学バイオセンター細胞生物学日本学術振興会海外特別研究員 スイスナショナル基金研究員、京都大学遺伝子実験施設・助手、京都大学医学部医化学1講座・講師、徳島大学総合科学部・教授、理化学研究所 発生・再生科学総合研究センター位置情報研究チーム・チームリーダーを経て、2003年より現職。専門は発生生物学、理論生物学。1997年ベックマン奨励賞受賞。

著書に「The reaction-diffusion system: a mechanism for autonomous pattern formation in the animal skin.」(Genes to cells. 2002 7, 535-542)、共著に「A viable reaction-diffusion wave on the skin of Pomacanthus, a marine angelfish.」(Nature, 1995, Aug, 31, 376, 765-768)、Traveling stripes on the skin of a mutant mouse(PNAS 2003, 100, 9680-9685)などがある。