

東京大学農学部公開セミナー
第28回

アグリバイオインフォマティクス
農学の新たな展開

(講演要旨集)

「アグリバイオインフォマティクスとは
食品の研究を例として」

応用生命化学専攻 教授 阿部 啓子

「カイコのゲノム情報解読」

生産・環境生物学専攻 教授 嶋田 透

「ダイオキシン分解酵素はつくれるか
- アグリバイオインフォマティクスの挑戦 -」

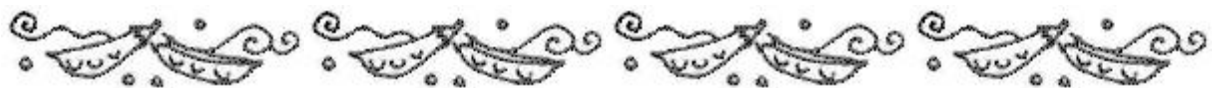
生物生産工学研究センター 助教授 野尻 秀昭

日時：2005年6月18日（土）午後1時30分～4時30分

場所：東京大学農学部 弥生講堂一条ホール

主催：東京大学大学院農学生命科学研究科・農学部

共催：(財)農学会



目 次

アグリバイオインフォマティクスとは 食品の研究を例として	1
---------------------------------------	---

応用生命化学専攻 教授 阿部 啓子

「アグリバイオインフォマティクス」は、農学生命科学という広域・多様な学問に情報科学を導入し、その実践的活用を図ろうとするものです。人材育成をも目的としています。その一例として、本学から世界へ発信し、生活習慣病を予防する新食品として国際的に注目される機能性食品を取り上げ、その効果の科学的評価にバイオインフォマティクスがどのように役立つかを、最新のデータに基づいて、具体的に解説いたします。

カイコのゲノム情報解読	8
-------------------	---

生産・環境生物学専攻 教授 嶋田 透

カイコのゲノムは 5×10^8 塩基対の遺伝情報を含むが、日本と中国で解読が進められた結果、80%以上の塩基配列が明らかになった。他生物のゲノムと比較することで、多くのカイコ特異的な遺伝子の存在や、性染色体の特殊な構造、そしてカイコゲノムで大きな割合を占める反復配列の実体が分かってきた。カイコのゲノム情報から昆虫の進化とカイコの家畜化の過程を考察する。

ダイオキシン分解酵素はつくれるか - アグリインフォマティクスの挑戦 -	14
-----------------------------------------------	----

生物生産工学研究センター 助教授 野尻 秀昭

ダイオキシン汚染の生物修復法の一つとして、細菌の好氣的分解系を利用する方法がある。この方法には、菌体の取り扱いの容易さ・生育の速さ・代謝活性の高さという利点に加え、一段階の反応でダイオキシンの環構造を破壊し無毒化できるという大きな利点がある。一方で、ダイオキシン分子の塩素数が増えると分解活性が劇的に減少するという問題点があり、この問題の解決のために、バイオインフォマティクス的手法が期待されている。

アグリバイオインフォマティクスとは

食品の研究を例として

応用生命化学専攻 教授 阿部 啓子

1. はじめに

平成 16 年度本学研究科で発足した「アグリバイオインフォマティクス人材養成プログラム」は、“生命現象を解明するための情報科学”であるバイオインフォマティクスの手法を農学生命科学の実践的研究と融合させることにより成果を挙げ、この過程を通して人材を育成することにその目的があります(図1)。

情報化時代を迎えた今日、多くの人々が IT テクノロジーの恩恵を受けて生活していますが、科学の分野、とくに農学生命科学においてインフォマティクスは大きな威力を示します。と申しますのも、農学の研究は、

研究対象 (x 軸)

植物、動物 (昆虫を含む)、微生物 (ウイルスを含む)

研究方法 (y 軸)

生物学、生化学、化学、物理学、工学、数学、経済学など

研究目的 (z 軸)

生物生産では：分子育種から農林水産・畜産・発酵まで

環境調節では：土壌・水圏・大気圏・生体環境の調節など

食品開発では：成分解析から機能性・嗜好性評価まで

という 3 つのディメンション (次元) から構成され (図 2)、得られたデータは煩雑を極めるため、どうしても情報の処理・統合というプロセスを導入せざるを得ないのです。

本日は、農学ならではの研究対象として、食品 (阿部)、昆虫 (島田) 環境微生物 (野尻) を例にとり、それらの研究に何故バイオインフォマティクスが欠かせないかについてお話ししたいと思います。

2. 食品研究の抄史

食品研究を行っております私の所属する応用生命化学専攻(旧農芸化学科の一部)は、わが国における“食品”研究の草創期、発展期の中心的役割を果たしてきました。そして本日の話題の“機能性食品”のコンセプトを世界に発信してきました。まずはじめに“機能性食品”研究に至るお話をしましょう。歴史は遡ります。

古代ギリシャの哲人で医学の父といわれるヒポクラテスは“Let food be thy medicine and medicine be thy food”(私訳「汝の薬を食とせん、汝の食を薬とせん」)と述べて

おります。古来、中国には「医食同源」(または「薬食同源」) (“Medicine and food share a common origin”) の考え方があり、わが国へも伝えられていました。おそらくこれが洋の東西を問わず“食と健康”の原点なのです。

食品学が現代科学として本格的に発展したのは20世紀に入ってからであります。当初の主流は栄養学で、その目標はタンパク質、脂質、糖質、ミネラルなどの栄養素の研究に向けられていました。そうした中で、当時の栄養学には一大欠陥のあることを指摘した学者がいました。東京帝国大学農学部教授で農芸化学者の鈴木梅太郎博士(図3)がその人でありました。博士は、明治時代に流行した脚気という致死的な病気の原因が玄米食から白米食への変換にあったことをつきとめ、米糠からオリザニンと名付けた有効物質を発見しました。しかしこの物質を脚気の特効薬とは考えず、さらに膨大な動物実験を重ねた結果、これがヒトにとっても欠かすことのできない栄養素であることを実証しました。後年、オリザニンはビタミンの一員であること、そしてその第1号であること(現在のビタミンB₁)が認定されました。こうして上記の4大栄養素にビタミンが加わり、いわゆる5大栄養素が確定し、食糧不足の時代・地域の栄養不良(脚気も栄養欠乏症の1つ)の人々の健康に大きく貢献したのであります。

第一次世界大戦が過ぎ、「もはや戦後ではない」と言われた高度経済成長期に入って、食糧不足は解消し、栄養事情も好転すると、今度は、ものを食べることに楽しみを求める風潮が世の中に色濃く浮上し始めました。呼応して、大学などでは食品のおいしさを解析する研究、企業などではおいしい食品を開発する業務を本格的に開始しました。こうして私たちは長い間、栄養価と嗜好性に富んだいろいろな食品を楽しむ時代を謳歌してきたのです。これは日本ばかりでなく、他の多くの先進諸国にも共通する状況でありました。

ところが最近、ここに1つの新しい状況が加わりました。食生活の乱れに伴う生活習慣病の激増がそれです。呼応して、これを食生活の工夫によって予防したいという人々の強い願望が現れ始めました。長らく忘れ去られていた「医食同源」への回帰です。

3. 機能性食品への道

この現代版「医食同源」を従来の栄養学から一步踏み出したものと捉え、最先端の科学に依拠してこれを実証しようとする基礎研究と、その成果を最新の技術の活用によって世に還元しようとする応用研究が、とくに1990年代に入って、活発に行われるようになってきました。しかもこれは世界的な傾向となって今日に至っているのです。

その萌芽的研究は1984年から開始された文部省研究班による組織的研究でありました。これは主に農学系の研究者と医学系の研究者とが手を携えた日本で初めての大型研究(重点領域研究)であるのみならず、世界にもかつて類例をみない出来事でもあったのです。この中で提唱されたのは身体に対する食品の働きを意味する「食品機能」という考え方でありました。そして、食品機能とその効果を食品研究の歴史的推移と符合させて

栄養面での働き（一次機能）・・・健康の増進
嗜好面での働き（二次機能）・・・嗜好の満足
予防面での働き（三次機能）・・・病気の予防

の3つに分類して研究を進めたのです。この研究の中心的役割を演じたのは、私たちの大先輩方、とくにその中心の荒井綜一東京大学教授（現東京農業大学）の尽力があります。余談ですが、機能性食品の“機能性”というネーミングは、その後の産・官・学の“機能性”の流行を生み出しました。

私たちの身体の中ではさまざまな生理活動が行われています。代表的なものは、免疫系、分泌系、神経系、循環系、消化系の活動です。そして食品中にはこれらの生理システムを調節し、その変調によって発症するであろう病気を未然に防ぐ成分（三次機能をもつ成分）が存在します。これらは通常、「三次」という言葉を省略して単に「機能性成分」または「機能性因子」と呼ばれます。その大部分は、従来、栄養価のないもの、香味の劣るものとして邪魔扱いされてきました。それが上記したように見直され、生活習慣病を予防するという意味で、いわゆる5大栄養素以上に評価される時代になったのです。

ところで、私たちが日常摂取する食品にも機能性成分が存在するものの、存在量は一般にごく僅かです。そこに、機能性成分を増強した食品つまり機能性食品の存在意義がでてくるのです。文部省研究班（上記）が1984年に提唱したこの言葉と概念は世界に受け入れられ、“functional food”は国際語として定着しました。現在、多くの国々で合意された機能性食品の定義は「機能性成分の増強によって生活習慣病のリスクを低減することを目的にして作製される新食品」ということです。もちろん、分類上は「食品」であって、病気の治療を目的とする医薬品とは明確に区別されます。

1991年、厚生省（当時）は、国の審査によって機能性が科学的に確認された食品にはその旨の健康強調表示の許可を与える制度を発足させました。その食品を“特定保健用食品”といい、現在までに500にも及び品目が認可されています。

1993年、英国の有名な科学誌「ネイチャー」は、わが国のこの面での研究・行政の状況を“Japan explores the boundary between food and medicine”（私訳「日本は食と医の境界に踏み込む」）と報じました。これが海外に与えたインパクトは大きいものでした。

4. バイオインフォマティクスとの関わり

ミレニアムという言葉が流行した20世紀末、欧米の栄養学者たちは、海外でとくに多い心臓病を食品の正しい摂取によって軽減したいと考えていました。そんな折、日本が発信した「機能性食品」に大きな関心を示し、直ちに受け入れたのは当然の成り行きだったと思えます。さらに彼らは、機能性食品を21世紀の食品産業の中核として育成しようと考えました。そのためには、栄養学に加えて、生理学、生化学、病理学、薬理学をも動員し、機能性食品科学という新しい学問体系を確立することが必要になりました。ここでは、機能性食品の科学的根拠に基づく評価法を調査し、表示の実用化を促進するため、一般に認められてきた栄養上の表示を超えた「高度機能表示」(enhanced function

claim)と「疾病リスク低減表示」(disease risk reduction claim)に役立つ指標であるバイオマーカーの研究が行われています。

ではバイオマーカーとは何でしょうか。私たちは中高年になると人間ドックを利用し、自分の健康をチェックします。ここでは、採血によっていくつかの健康指標が数値的にしらべられます。例えば、GOT や GPT といった血中酵素の活性度が測られ、これらの値が有意に高くなると「肝臓の精密検査を受けなさい」と医師に言われます。人間ドックでは肝臓そのものの診断は行われません。酵素の値がそれを代弁しているわけであり、これがバイオマーカーなのです。

21 世紀に入ってゲノム（遺伝子群）の科学（ゲノミクス）に画期的な進展がありました。ヒトをはじめとする主要生物のゲノム計画の完了がそれであります。これにより、世の中は個々の遺伝子の解読を競った時代から、解読された遺伝情報の利用を競う時代に入りました。「ポストゲノム時代」の幕開きです。

栄養学・機能性食品科学の分野には、ニュートリゲノミクス (nutrigenomics) という応用科学が誕生しました。これは、摂取した成分が生体に与える効果を、22,000 にも及ぶ種類の遺伝子が肝臓、筋肉、血液、腸管、脳などの臓器・組織でどのように発現変動するかの計測 (mRNA 群の測定) によって、予知しようというものです (図 4)。DNA レベルのバイオマーカーも開発されそうです。欧米で爆発的広がりを見せています。日本も負けていません。例えば約 30 の食品企業の助成で東京大学に開設されたイルシージャパン寄付講座「機能性食品ゲノミクス」が活動を開始しています。

ゲノム情報利用の科学です。これはバイオインフォマティクスそのものとさえ言えます。

5 . おわりに

ごく最近になって、個人差を遺伝子レベルで解き明かそうという気運が出てきました。それは、同じ遺伝子でも、個人個人で、DNA のどこか一点にちょっとした違い (変異) があるため、さまざまな形態 (専門的には一塩基多型 : SNP) が生じ、摂取したものの効果の有無強弱が生じてしまうという考えに立っています。間もなく、個にマッチした食品 (personalized food) テーラーメイド食品 も登場しそうです。その研究には SNP 情報とバイオマーカー情報のドッキングが必要です。つまりバイオインフォマティクスが関わってきます。

私は味覚の研究を行っています。機能性食品といえども食べ物ですから、おいしくなければなりません。ですから、味覚の本質を遺伝子レベルで解明することこそ、食品研究の新しい道だと信じています。ところが、味覚は個人差のとくに大きい生体反応です。

“ 蓼食う虫も好きずき ” (Different worms like different foods) という諺がある所以です。口腔での味応答の階層的ゲノミクスから研究をスタートさせていますが、この研究はバイオインフォマティクスそのものと言えましょう。農学生命科学に新しいディメンションを付与するであろうこうしたデータを紹介し、アグリバイオインフォマティクスの意義を強調させていただきます。

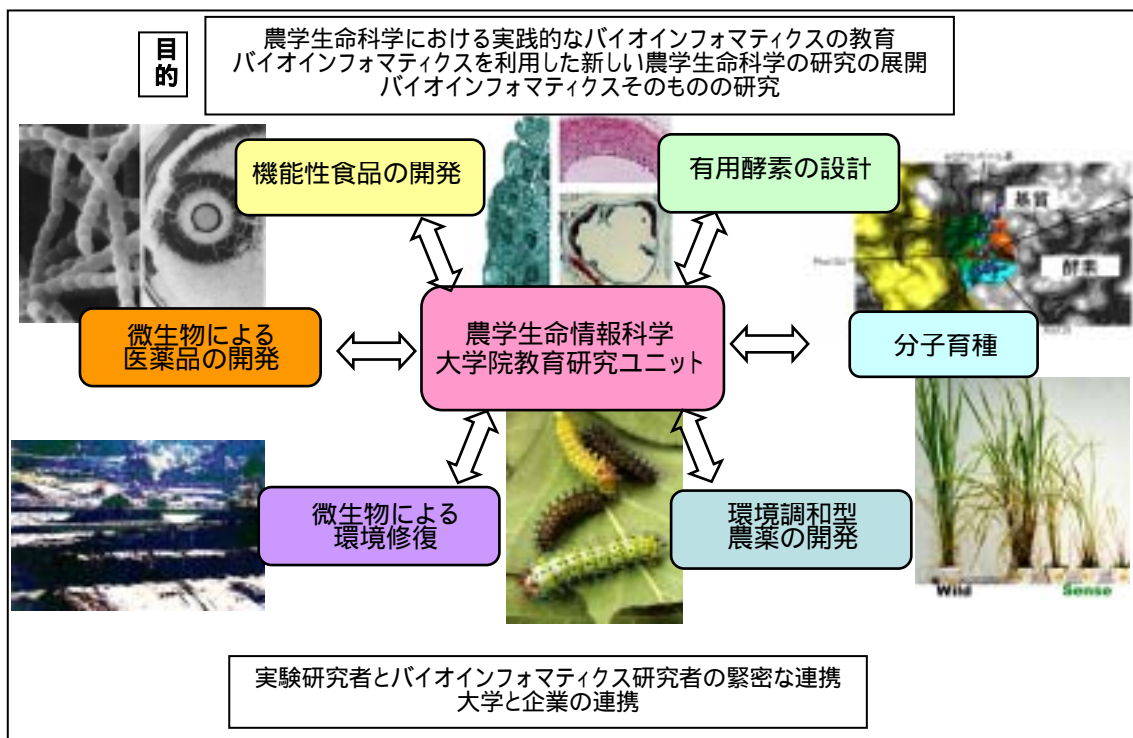


図1 アグリバイオインフォマティクス - 人材養成プログラム

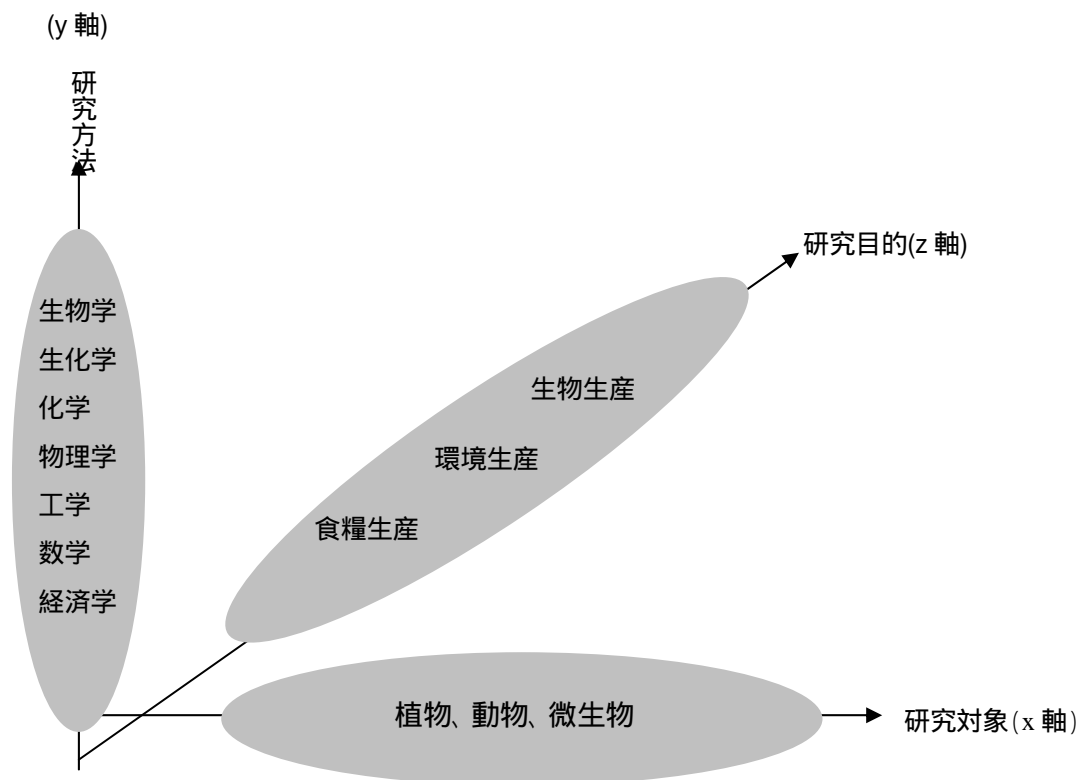


図2 農学生命科学研究のディメンション

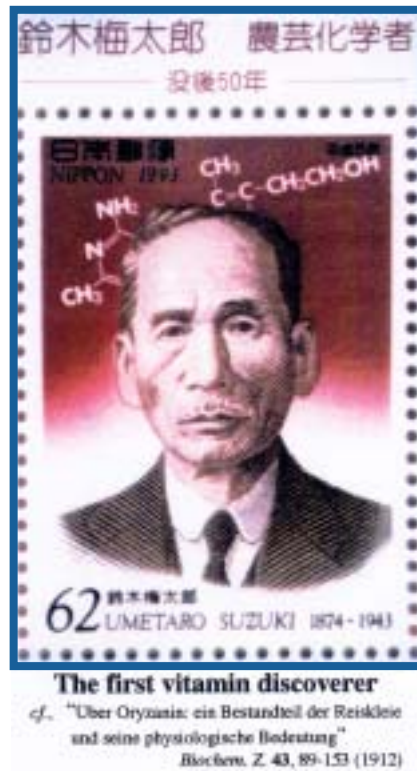


図3 食品研究の開拓者 鈴木梅太郎博士

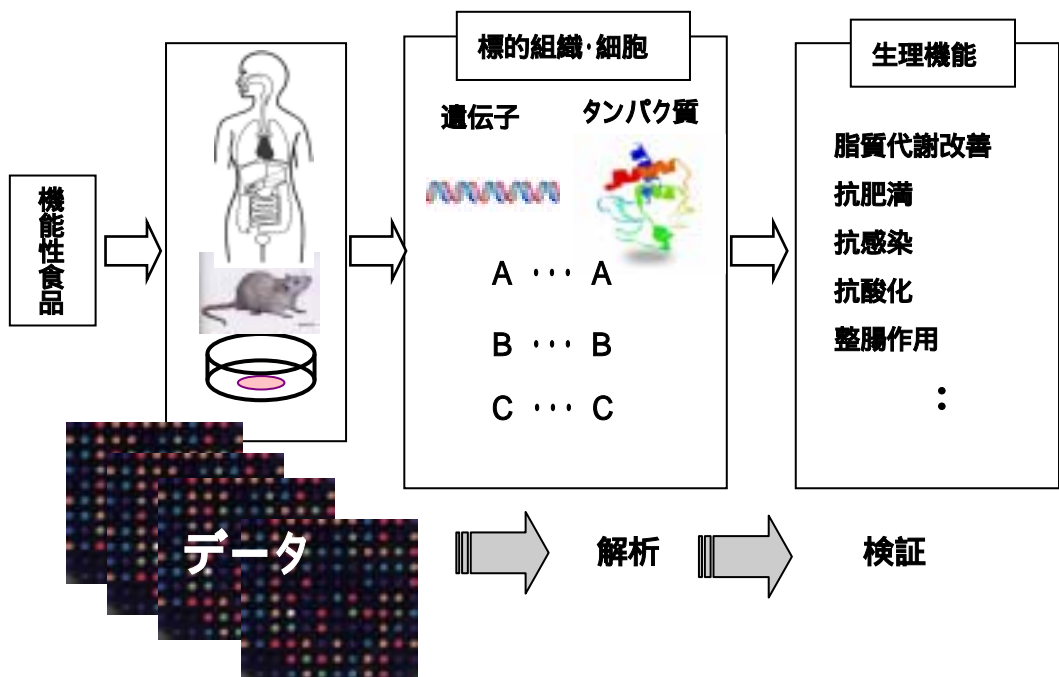


図4 ニュートリゲノミクスによる“機能性食品”の評価

プロフィール

あ べ けい こ
阿 部 啓 子

所 属

応用生命化学専攻生物機能開発化学研究室

専門分野

食品科学、味覚科学、遺伝子科学

主な著書

- 「味覚の分子生物学 最近の進歩」 ミクروسコピア 1996 年
- 「オリザシスタチン・オリザイン系とその周辺 生物学的意義の解析から応用まで、
プロテオリシス蛋白質分解の分子機構とバイオロジー」(共著)
共立出版 1997 年
- 「おいしさの研究の新領域 味覚の分子論」 学術の動向 1998 年
- 「味覚受容体と味細胞内シグナル伝達系」(共著) 細胞工学 2002 年
- 「DNA マイクロアレイを用いた食品研究 味覚の解析を例にして
栄養と生体応答 遺伝子と免疫の視点から」(共著) 昭和堂 2004 年
- 「ニュートリゲノミクス Nutrigenomics」 メディカルレビュー社 2005 年
- 「ゲノムと食品 ニュートリゲノミクス」 東京化学同人 2005 年

*当日は、加藤助教授が代講しました。

プロフィール

かとう ひさのり
加藤 久典

所 属

応用生命化学専攻栄養化学研究室

主な研究活動

ニュートリゲノミクスによる食品成分の機能解析、栄養素による遺伝子発現制御、
インスリンの情報伝達における栄養素の関与、アミノ酸の機能性、食品の安全性

主な著書

Toyoshima, Y., Ohne, Y., Takahashi, S.-I., Noguchi, T. and Kato, H.

Dietary protein deprivation decreases the serine phosphorylation of insulin receptor
substrate-1 in rat skeletal muscle. J. Mol. Endocrinol. 32, 519-531

「健康栄養学・健康科学としての栄養生理化学」

小田裕昭、加藤久典、関泰一郎（編著） 共立出版 2005年

「内分泌系における食情報の受容と伝達」

『食品の科学』（上野川修一、田之倉優編） pp134-138 東京化学同人 2005年

「栄養学の新しい潮流・分子栄養学からニュートリゲノミクスへ」

『食品と技術』 404, 1-9 2005年

「食餌タンパク質の機能解析とトランスクリプトミクス」

日本臨床栄養学会雑誌 26, 207-211 2005年

カイコのゲノム情報解読

生産・環境生物学専攻 教授 嶋田 透

なぜカイコのゲノムを解読するか

1980年代の後半から1990年代にかけて、ゲノムの全塩基配列を決定するプロジェクトが、さまざまな生物を対象にして推進されてきた。その結果、1995年に細菌の一種で初めて全ゲノムの配列が解読されたのに続き、多数の微生物ゲノムが解読された。一方、多細胞生物のゲノム解析は、ゲノムサイズが10倍以上大きいため、多くの労力と経費と時間を要したが、ハイスループットのDNAシーケンサーの登場や計算機処理能力の向上などに助けられて近年急速に加速した。1998年に線虫(*C. elegans*)のゲノムの概要配列が明らかになったのを皮切りに、1999年にはキイロショウジョウバエ、そして2000年にはとうとうヒトゲノムの概要配列が公表された。

このように代表的なモデル生物のゲノム配列が解読されたが、今日でもまだ多くの動物・植物・微生物でゲノムの解析が続けられている。全生物に共通する基本的な遺伝子の機能は、モデル生物やヒトのゲノムで解明されるかもしれないが、しかし現実の生物はモデル生物をはるかに超える多様性を持っている。そこにはモデル生物には存在しない個別の生物現象が見られ、それを支える固有の遺伝子システムがあるに違いない。

現在の地球上には、細菌から高等動物まで全部で約1000万の種が存在していると言われている。昆虫は、全生物種の約50%すなわち約500万という途方もない数の種を擁していると推定され、地上最大の生物群である。しかしながら、今までに全ゲノムの解読が行われた昆虫はキイロショウジョウバエとマラリア媒介蚊 *Anopheles gambiae* の2種にすぎず、多様性を代表するような複数の昆虫でのゲノム解析が望まれてきた。

カイコゲノムは、昆虫としては3番手のプロジェクトである。カイコは鱗翅目というグループに属する昆虫であり、蝶や蛾の代表である。ショウジョウバエと *Anopheles* は双翅目という別のグループに入る。鱗翅目は、今から約2億7000万年前に双翅目との共通祖先から分かれて独自の進化を遂げてきた昆虫群であり、蝶・蛾を合わせて地球上に約80万種を含むと推定されている。しかも、鱗翅目の昆虫は人間と深いつながりがある。現在、地球上の農業生産の約2割が害虫によって損失しており、その中でも鱗翅目昆虫の幼虫による食害は農作物に最も大きな被害を与えている。昆虫のゲノム解析は、農業害虫の防除の分野から大きな期待を掛けられており、中でも鱗翅目昆虫のゲノム解析は新規殺虫剤の開発

などに役立つものと想像されている。しかも、カイコは言うまでもなく生糸を生産する有用昆虫であり、繭の生産性と糸質の向上や幼虫への耐病性の付与などの重要な育種目標の達成に向けて、ゲノム情報が有効に活用されることが望まれている。

カイコゲノムはどのような方法で解読されているか

カイコの半数体ゲノムは、約 5 億 3 千万塩基対の遺伝情報から成っており、28 本の染色体に分割されている。ショウジョウバエの約 3 倍の塩基配列を含んでいる。この塩基配列上にショウジョウバエより 40%ほど多い約 20,000 個の遺伝子が存在すると推定されている。カイコゲノムの研究は 1990 年代の中頃から活発化した。1996 年に、三田和英（放医研のち農業生物資源研）、前田進（理研、逝去）および演者を含む共同研究により、物理地図と cDNA の解析が始まった。物理地図というのは、BAC（Bacterial Artificial Chromosome）の整列化とその配列決定を意味している。BAC は 170kb もの長い DNA をクローニングできるベクターであり、その BAC クローンを使ってカイコの染色体ゲノム全体をカバーするプロジェクトが進められた。

一方、ゲノムにコードされる遺伝子機能を代表しているのが cDNA である。cDNA はゲノムから転写された mRNA を鋳型にして試験管内で合成される。cDNA の末端の塩基配列を EST（Expressed Sequence Tags）と呼び、ゲノムの機能情報のタグとして利用される。カイコの EST プロジェクトは、異なる発育段階の多くの器官・組織から独立の cDNA ライブラリーを作製している点に特徴がある。カイコの遺伝子発現は発育段階や組織が異なると大きく異なっているため、ゲノムの遺伝子をできるだけ広くカバーするには、様々な組織から EST を得ることが必要だったからである。これによって、2003 年にはカイコの推定遺伝子数の約 55% に相当する 11,000 種類の非重複 EST が得られた。

さらに、2002 年から 2004 年にかけてカイコゲノムの解読が飛躍的に進んだ。日本および中国の 2 国で、それぞれ全ゲノムショットガン法（WGS）によるゲノム塩基配列の解読が行われたのである。WGS とはゲノム DNA をランダムに切断し、その断片を大量に配列決定する技術であり、他の多くのゲノムプロジェクトで試みられている。日本では農水省の予算によりカイコゲノムの約 3 倍にあたる塩基配列を解析し、それらをつなぎ合わせて全ゲノムの約 80% の塩基配列を明らかにした。中国も約 10 ヶ月遅れて、ゲノムの 6 倍に相当する塩基配列を解読した。これらの配列はコンピューター上で連結され、最終的には「コンティグ」と呼ばれる塩基配列に編集された。現段階では 10kb 以下の短いコンティグが多く、今後、日本と中国のデータの統合ならびに新しいゲノム DNA ライブラリーの解読結果を追加することにより、より長いコンティグへ伸ばして行く必要がある。しか

し、現段階でも 90%以上の遺伝子について、少なくとも断片的な塩基配列が WGS に発見されており、カイコの WGS 塩基配列は昆虫分野の研究者にとって必須の情報源となっている。

カイコゲノムには特異的な遺伝子があるか

カイコゲノムには約 20,000 個の遺伝子が存在する。それら遺伝子の塩基配列を他の生物と比較してみた。カイコの遺伝子には、微生物から動物まで多くの生物の遺伝子に相同性を示すような普遍的な遺伝子も多く存在するが、中には動物界にしか存在しない遺伝子、または昆虫に特異的に存在する遺伝子も多数存在していた。演者が興味を持ったのは、同じ昆虫であるショウジョウバエにすらオーソログ（同一起源の遺伝子）が存在しないようなカイコ特有の遺伝子である。その典型はフィブロイン遺伝子などの絹糸タンパク質遺伝子や、抗菌タンパク質遺伝子などの生体防御系遺伝子に見ることができる。これらは鱗翅目の他種にはオーソログが存在するが、鱗翅目以外には相同な遺伝子を見ることができない。これらの進化起源は不明である。

また、カイコゲノムには鱗翅目と細菌にのみ存在するような遺伝子があることに気づいた。カイコのキチナーゼ遺伝子 *BmChi-h* は、真核生物には相同な遺伝子が見えないのに対し、腸内細菌科の細菌には *BmChi-h* に高い相同性を示す遺伝子が存在する。分子進化的な解析から、*BmChi-h* は過去にセラチア菌に近い細菌から鱗翅目昆虫へ水平移動した遺伝子であることが推定された。遺伝子は通常同じ生物の親から子へと伝えられるが、進化の長い歴史のなかでは、稀にまったく別の生物の遺伝子が他の生物へ転移することがあることが知られている。水平転移の実例は微生物で多く知られているが、動物では非常に稀である。ところが、カイコのゲノムにはこの *BmChi-h* 以外にも細菌から水平移動したと推定される遺伝子が何個か存在していることが分かっている。

水平移動で獲得した遺伝子は、カイコでどのような機能を果たしているのだろうか。カイコには *BmChi-h* にもう一つのキチナーゼ遺伝子 *BmChitinase* が存在している。*BmChitinase* がコードするキチナーゼは、カイコのクチクラ（外皮）に存在するキチンを加水分解する活性を持っているが、このキチナーゼ活性はエンドキチナーゼであり、それ単独ではキチンを単体にまで完全に分解することはできない。しかし、*BmChi-h* のコードするキチナーゼはエクソキチナーゼとしての性質を持っており、しかもこの 2 種類のキチナーゼは脱皮期に同時に現れる。私たちは、両者のキチナーゼの共存によって、カイコでは効率的なキチンの分解が実現している、すなわち細菌から獲得した遺伝子が有効に活用されていると考えている。

カイコの雌雄はどのようにして決まるか

カイコの性染色体構成は、雌がZW、雄がZZである。ショウジョウバエは雌XX、雄XYという性染色体を有するが、ショウジョウバエの性決定ではY染色体は必要がなく、X染色体の本数が重要な役割を果たす。カイコの性決定ではW染色体の存否が最も重要であることが分かっており、Z染色体上にも性差に關与する遺伝子がコードされている。他の生物にはカイコのZ・Wに相同な染色体は存在せず、これら性染色体はカイコゲノムの大きな特徴である。

ショウジョウバエの性決定では、マスタースイッチ遺伝子である*Sxl*が雌でのみONになり、それが*tra*遺伝子の中継を経て最下流遺伝子*dsx*のスプライシング(mRNA前駆体から成熟型mRNAへの加工)を雌型に切り替えることで実現する。その性決定経路の要所にある*tra*のオーソログが実はカイコゲノムに存在していない。私たちはカイコの*dsx*オーソログである*Bmdsx*を単離し、それがカイコの雌雄の分化を支配することを証明した上で、*Bmdsx*のスプライシング機構を解析した。その結果、*Bmdsx*はショウジョウバエの*dsx*と異なり雄特異的なスプライシング抑制機構によって調節されていることが明らかになった。その抑制機構はW染色体に支配されている。したがって、カイコの性決定機構は*dsx*のオーソログを使っていることだけがショウジョウバエと一致しているが、より上位の機構はまったく違うことが分かった。

カイコのゲノムはなぜ大きいのか

カイコのゲノムサイズはショウジョウバエの約3倍あるが、タンパク質コード遺伝子の数は40%ほど多いただけである。したがって、カイコのゲノム上には余分な配列が多量に存在している。ゲノム解析の結果、その余分な配列の中で大きな割合を占めているのが転移因子様の配列であることが分かってきた。カイコの遺伝子は、一般的にショウジョウバエよりも多数の、そして長いイントロン(mRNAの成熟過程でスプライシングによって除去される配列)を持っている。また、遺伝子の非翻訳領域(タンパク質をコードしない部分)もショウジョウバエの遺伝子より長い場合が多く、さらに遺伝子間領域も長くなっている。これらの非コード領域には多くの転移因子様配列が存在する。転移因子様配列は、過去にゲノム上で移動し、またはコピーを作ってきたトランスポゾンと呼ばれる可動因子の残骸と考えられる。中には今でも転移能力を保持しているように見えるものも少なくない。カイコゲノム上で最もコピー数の多い配列であるBm1は、実に12万コピーも散らばっている。カイコの自然突然変異のいくつかは、アクティブな転移因子が遺伝子に挿入することによって生じたことが知られており、カイコゲノムはこれら内なる寄生者の利己的な増殖活動と常時戦っている。

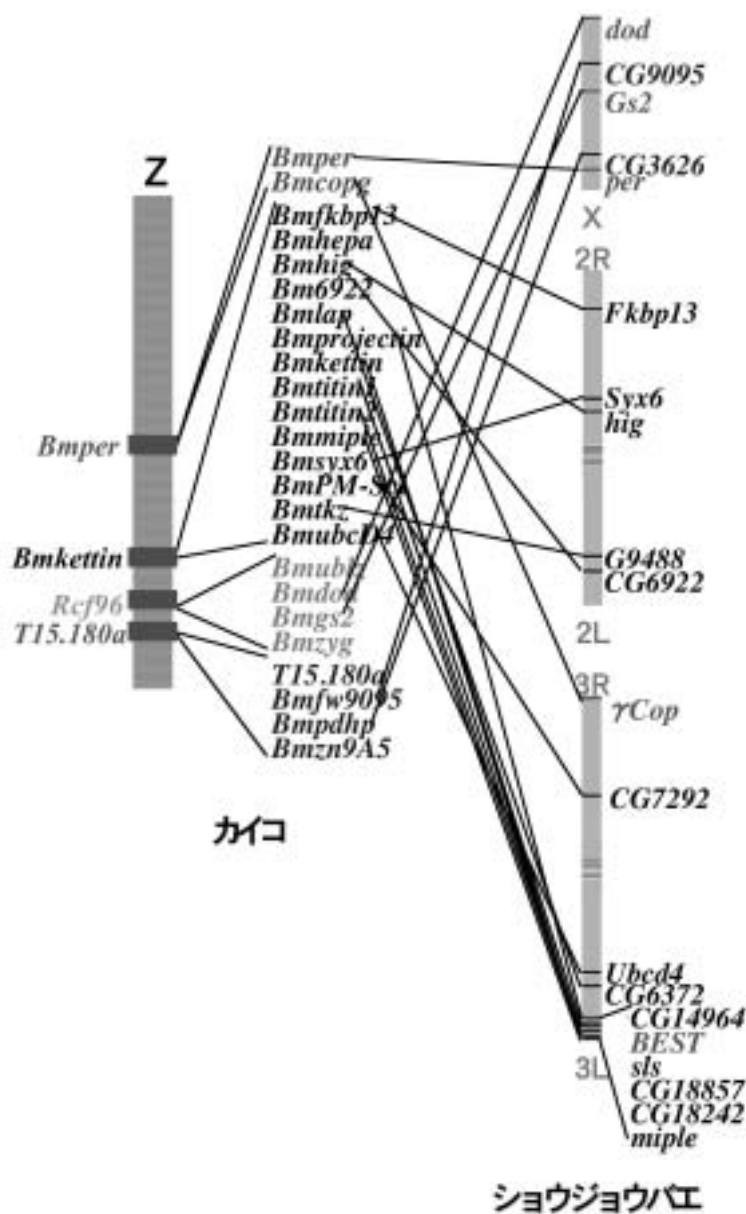


図 1. カイコの Z 染色体とショウジョウバエの染色体の比較
 両種の間には遺伝子の配列順序の類似は見られない。

おわりに

カイコのゲノムには以上のような興味深い特徴が見られる。しかし、カイコゲノムの解析は、まだイネゲノムや家畜ゲノムに比較して未完成であり、特に遺伝子のアノテーション情報が未整備であるので、真の特徴解明は今後の情報解析に委ねられている。本研究科に設置されたアグリバイオインフォマティクスユニットの協力を得るのはもちろん、国内・国外のゲノム研究者との連携を強化して、わが国固有の農業資源であるカイコのゲノム情報解析を完成させ、それを農業と生物学へ応用してゆきたい。

プロフィール

しまだ とおる
嶋田 透

所 属

生産・環境生物学専攻 資源創成生物学大講座 昆虫遺伝研究室

専門分野

昆虫遺伝学、比較ゲノム科学、蚕系科学

主な著書

- 「Transgenic Silkworms」(共著) Landes Bioscience 2005年
「Annual Review of Entomology 2005 (The genetics and genomics of the silkworm, Bombyx mori)」(共著) Annual Reviews 2005年
「ゲノム命の設計図 東京大学公開講座76」(共著) 東京大学出版会 2003年
「昆虫 [超能力の秘密] ネオ生物学シリーズ
ゲノムから見た新しい生物像 第9巻」(共著) 共立出版 1996年

ダイオキシン分解酵素はつくれるか

- アグリバイオインフォマティクスの挑戦 -

生物生産工学研究センター 助教授 野尻 秀昭

1. ダイオキシンとは

ダイオキシンは、ジベンゾ-*p*-ダイオキシン [dibenzo-*p*-dioxin (DD)]、ジベンゾフラン [dibenzofuran (DF)] の塩素置換体 [各々、ポリ塩化ジベンゾ-*p*-ダイオキシン (polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin; PCDDs)、ポリ塩化ジベンゾフラン (polychlorinated dibenzofuran; PCDFs)] の総称です (図1)。両者とも、二つのベンゼン環が平面構造を取り、最大8個までの塩素をベンゼン環に結合することができるため、PCDDs には75種、PCDFs には135種の化合物が含まれます。ダイオキシンの毒性の発現には、この平面構造が重要なことが知られています。

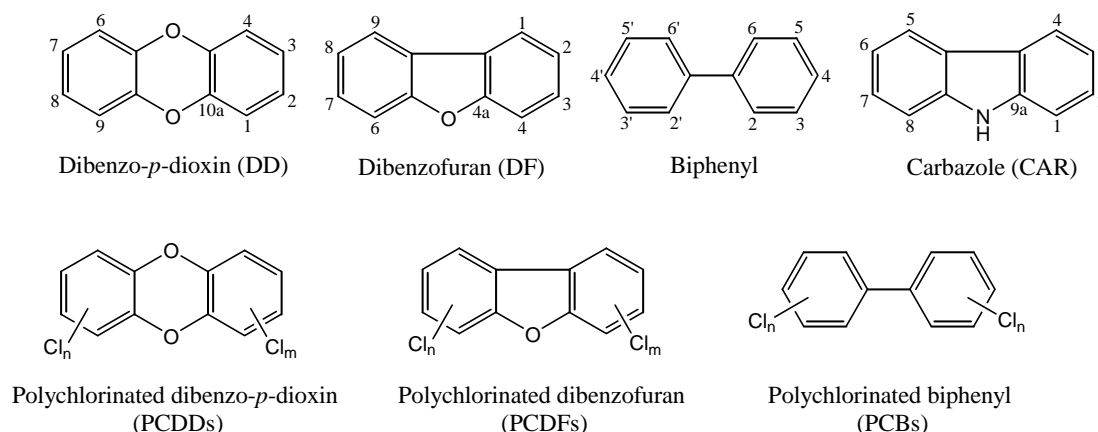


図1. ダイオキシン関連化合物の構造

一方、ビフェニル (biphenyl) の塩化物であるポリ塩化ビフェニル [polychlorinated biphenyl (PCBs)] (図1) にも、結合する塩素数・位置が異なる多くの化合物が含まれます。それらの中で、2,2',6,6'位に塩素が結合していない PCBs (コプラナーPCBs [Co-PCBs] と呼ばれます。) は、2つのベンゼン環が同じ平面となる立体構造を取ることができるため、ダイオキシンと類似の強い毒性を示します (上記4カ所中で1カ所のみ塩素が結合する場合も、他の位置の塩素の結合度合いによっては、毒性を持つ場合があります)。この様な理由から、PCDDs、PCDFs、Co-PCBs はダイオキシン類と総称されています。ダイオキシンは人為起源物質としては最強と言われる毒物です。その毒性は、図1に示す環構造のうち、どの位置に塩素が結合しているかによって大

きく左右されます。PCDDs や PCDFs では 2,3,7,8 位全てに塩素を有する化合物 (17 種) が特に高い毒性を示し、Co-PCBs の場合 3,3',4,4' 位、3,3',4,4',5 位、3,3',4,4',5,5' 位に塩素が結合している場合に高い毒性を示します。

2 . 微生物によるダイオキシン類分解

微生物 (特に、細菌とカビ) は自然界では分解者として働いており、生物遺体などの複雑な有機体を小さな物質まで完全に分解してしまいます。ダイオキシンのように最近になって初めて大量に自然界に排出された化合物は、自然界での微生物による分解系では分解できないように思えます。しかし、驚くべき多様性と極めて広い代謝能力 (様々な有機物を分解しエネルギーを得ると共に、自らの細胞の成分を合成する能力) を持った微生物の中には、ダイオキシンの様な物質を見事に分解してしまうものが存在しています。既知の微生物によるダイオキシン分解系は、3 つに大別することができます。一つは木材腐朽菌 (カビ) のリグニン (植物の細胞壁成分として存在する無定型高分子芳香族化合物) 分解系酵素によるラジカル分解、一つは嫌気的条件下 (酸素がない条件下) で細菌の作用によりダイオキシンの塩素が脱離する反応、さらに一つはダイオキシン分子に酸素が導入される反応により開始される好気性細菌による一連の分解反応です。これらの反応は、いずれも一長一短なところがあり、全てに満足できるものではありません。その意味で、ダイオキシンを微生物の作用により分解する技術は、未だ実用化の域には達していないと言えます。

3 . 細菌の好氣的ダイオキシン分解系の有用性と問題点

上記の様な状況の中、我々は細菌の好氣的ダイオキシン分解系について研究を行ってきました。これは、好氣的分解反応には下で述べるような、他にない大きな特徴があるからです。まず、カビや嫌気条件下の細菌に比べて、好気条件下で生育する細菌は高い代謝能力 (分解能力) を有しており、微生物自体の生育速度も早いという利点があります。生育が早いということは、分解力を発揮する微生物菌体そのものの量を増やすことが容易ということを意味します。さらに、好氣的条件下での分解菌の取り扱いが容易です。嫌気微生物の場合は、酸素が存在すると分解力が減少しますし、微生物そのものが死んでしまう場合も多いため、分解反応を行わせる系内から酸素 (空気) を取り除いてやる必要が出てきます。

ダイオキシンと構造が類似なカルバゾール [carbazole (CAR)] (図 1) も含めて、ダイオキシン類は図 2 に示す分解経路で好氣的に (酸素を使って) 分解されて行きます (図 2 は DF 骨格を有する化合物を示しています。DD 骨格の

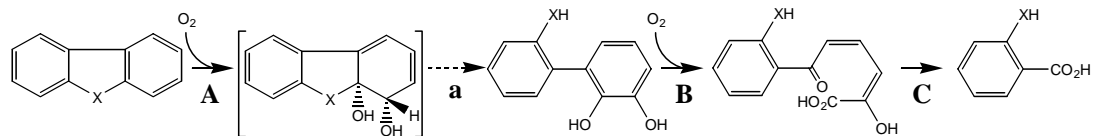


図 2 . ダイオキシン関連化合物の細菌による好氣的分解経路

‘ A ’ , ‘ B ’ , ‘ C ’ は酵素による変換反応、

‘ a ’ は括弧内の化合物 (化学的に不安定) の自発的開裂反応

ダイオキシン、PCBs の場合も多少の違いはありますが類似の経路で分解します。まず、分子の X 原子団 (ダイオキシンの場合は酸素 O、CAR の場合はイミノ基 NH) の隣の炭素原子とその隣の炭素原子に空気中の酸素分子が、2つの水酸基として導入されます。生成した図 2 括弧内の化合物は不安定なため、自発的に中央の環が開裂し、biphenyl 骨格を有する化合物が生成します。その後、ベンゼン環開裂、末端アルキル側鎖の開裂が起こり、単環の化合物が生成します。ダイオキシン分解を考える上で、この反応経路の最も大きな特徴は、一段階目の酵素反応とその後の自発的開裂によって、ダイオキシンの毒性の所以である平面構造が破壊される、言い換えれば一段階の反応でダイオキシンがダイオキシンで無くなってしまおうと言う点です。ただし、良いことばかりではなく、ダイオキシンの強力な毒性のもう一つの所以である塩素の結合数が増えれば増えるほど、分解力は急激に弱くなってしまいます。

4 . ダイオキシン酸化酵素の構造解明と分解力強化

この様な問題点の解決のためには、分解酵素を適当に改変することで、塩素数が増加しても強い活性を発揮できるようにする方法が考えられます。我々が研究している図 2 の経路中の最初の水酸化反応を触媒する酵素は、はじめに CAR の分解菌から見つかったことから CAR 1,9a-dioxygenase (CARDO) と呼ばれています。この酵素は、実際に分解反応を行う酸化酵素と、酸化酵素に反応を起こさせるためのエネルギーを与える電子伝達タンパク質から構成されています。この酸化酵素にはダイオキシンを捕まえる部分 (基質結合ポケット) があり、この部分の形状が、多塩素化ダイオキシンが結合しづらい形になっているものと思われます。活性向上のためには、酵素の基質結合ポケットを構成するアミノ酸を変化させれば良いのですが、活性が強化された変異体酵素を効率

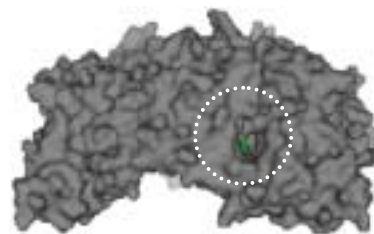


図 3 . CARDO 酸化酵素の分子表面

白点線内に基質結合ポケットが存在

よく探し出す方法がないために、ランダムに変化させても都合の良い変異体が得られる確率は低いのが現状です。

そこで、我々はまず CARDO 酸化酵素の構造を X 線結晶構造解析により決定しました (図 3)。この酵素の基質結合ポケット内に、ダイオキシシンや CAR がどのように結合することで反応が起こるのかを明らかにするため、我々は 2 つの方法で解析を進めてきました。まずは、X 線結晶構造解析によりダイオキシシンや CAR が結合した状態の結晶構造を明らかにする方法です。もう一つは、構造解析で得られた構造を基に、コンピューターによる結合シミュレーションを行って、ダイオキシシンとの結合状態を予測することです。前者は正確な構造が得られるという利点がありますが、結合状態が複数あったり、結合が十分安定でなかったりしたときは結晶構造解析自体が成功しないという問題があります。一方、コンピューター予測は、確実性に課題は残るものの、解のばらつきが結合状態のばらつきに対応するなど、結晶構造解析にない利点を持っています。これらの両手法を併用することで、現在までに「DD (塩素が結合していないダイオキシシンのモデル) や CAR が、CARDO 酸化酵素の基質結合ポケットにどのように結合しているか?」、「なぜ DD/CAR 分子中の酸素・窒素原子の隣に水酸基が導入されるのか?」について明らかにできました。また、これと同時にダイオキシシン分子中の塩素が干渉する基質結合ポケット内のアミノ酸も明らかになってきました。分解活性を上げるためには、このアミノ酸によって狭められている空間を広げることで、反応が起こるのに適切な位置に、塩素数が多いダイオキシシンが結合できるようにしなければなりません。これは、言うほど簡単ではなく、その部分をいじっても他の部分に影響が出て、結局酵素が活性自体を失う場合も多いのが実情です。従って、コンピューターを用いたシミュレーションの重要性が高まってくるのです。現在、我々は「結合シミュレーション 変異体生成 機能解析 変異酵素の構造解析 (予測)」のステップを繰り返すことで、活性強化に向け研究を進めています。ダイオキシシン分解性を増強させたスーパー酵素が創れる日もそう遠くないかもしれません。

プロフィール

のじり ひであき
野尻 秀昭

所 属

生物生産工学研究センター 環境保全工学部門

主な研究活動

微生物そのもの、もしくはその有用機能を、環境保全・有用物質生産に応用するための微生物機能の解析。具体的には、環境汚染物質分解菌の取得と分解能の解析、分解系遺伝子の機能解析、分解酵素の構造・機能相関、自然環境下における環境汚染物質分解能の伝播機構の解析、微生物の進化機構の解明など。

主な著書

Nojiri, H., Y. Ashikawa, H. Noguchi, J.-W. Nam, M. Urata, Z. Fujimoto, H. Uchimura, T. Terada, S. Nakamura, K. Shimizu, T. Yoshida, H. Habe, and T. Omori.

Structure of the terminal oxygenase component of angular dioxygenase, carbazole 1,9a-dioxygenase. J. Mol. Biol., in press.

「Rhizosecretion - 汚染物質分解酵素分泌植物体の環境浄化への応用」

野尻秀昭, 内田英二, 大森俊雄 ブレインテクノニュース 2004年

「ダイオキシンを破壊する鍵反応 核間への酸素二原子添加」

野尻秀昭、大森俊雄 バイオサイエンスとインダストリー 2002年