

3-4 遺伝子機能のゲノムワイド解析

3-4 Genome-wide Analysis of Gene Functions

近重裕次 丁大橋 山本歩 林亜紀 浅川東彦 升田裕久 原口徳子 平岡泰
CHIKASHIGE Yuji, DING Da-Qiao, YAMAMOTO Ayumu, HAYASHI Aki,
ASAKAWA Haruhiko, MASUDA Hirohisa, HARAGUCHI Tokuko, and
HIRAOKA Yasushi

要旨

生物の情報処理の根幹をなすゲノム情報の制御を知ることが、究極の情報処理マシンである生物を動かしている原理的な仕組みを知ることになる。それによって、生物的な特性を利用又は積極的に改変した新規の情報読み出しや情報処理の開発につながるものと期待される。このような目的のために、分裂酵母という生物1匹が持つ全ゲノムの遺伝情報に対して、その約4500個に及ぶ全遺伝子の働きを網羅的に解析する研究を行ってきた。ここでは、一つの生物システムを作動させている遺伝子の働きをゲノムワイドにとらえた研究と、ゲノムから読み出されたタンパク質の細胞内での挙動を4次元マップとして作成する研究を紹介する。

Cellular events are regulated by a number of genes contained in the genome. Understanding mechanisms of such genetic regulations can lead to breakthrough in communications technology. Toward this end, we have carried out genome-wide analysis of about 4,500 genes and their protein products in the fission yeast genome. Here we introduce a DNA microarray for monitoring expression profiles of the genes, and a library of fluorescent proteins for imaging four dimensional localization of the gene products.

[キーワード]

ゲノム, 遺伝子発現, 遺伝情報ネットワーク, DNAマイクロアレイ
Genome, Gene expression, Genetic network, DNA microarray

1 まえがき

ヒト細胞の遺伝情報をコンピュータで使われているメモリー容量に換算すると、およそ1Gbyteのメモリーが使われていることになる。これを多いと見るか、少ないと見るか、難しい問題であるが、1Gbyteのメモリーを持った1個の細胞(受精卵)から人間ができてきて、高次で高度な活動をしていることを思えば、ほとんどの人が少ないと感じるだろう。それに対して大人の人間では、約1兆個の細胞があると考えられているが、その1個1個の細胞が1Gbyteのメモリーを持っているコンピュータだとすると、莫大なメモリーとなることが容易に分かるが、それ以上に1兆個ものコンピュータをつないで有機的な活動をしていることは全く驚異的なことに

思えるのである。生物はDNAという比較的シンプルな化学物質をメモリーとして選んだ。それを元に、生物という柔軟かつ堅牢な情報処理システムを作り上げた。生物の情報処理の中心的な役割を果たしている遺伝物質とその制御方法を知るのが、生物情報グループのプロジェクトの一つである。本稿では、生物情報グループが行っているゲノムワイドな遺伝子機能の解析をするために行っている二つの研究プロジェクトについて紹介する。一つは、一つの生物のすべての遺伝子のON/OFF情報をモニターする研究である。これは、様々な環境に細胞が置かれたときに、細胞がどのように遺伝情報を利用するかをゲノムワイドに調べる試みである。もう一つは、ONになった遺伝子から作り出されたタンパク質が、細胞内のどこにあって、どのように

細胞内を動くのか、細胞内局在の4次元マップ(3次元空間+時間)を作成する試みである。これらの研究の発展により、生物の遺伝情報読み出しなどの仕組みが、統合的な生物システムとして理解され、新しい情報処理原理の開発につながると期待されている [1]。

2 ゲノムワイドな遺伝子機能の解析

全ゲノムを対象とした網羅的な解析を始める場合、どの生物をその対象として選ぶかが重要である。ヒトを対象とした研究は病気の治療目的で多数の研究室が行っているが、情報処理システムとしての生物を考えた場合には、ゲノムサイズが小さく、培養操作が簡単で、かつヒトなどにも共通した生命活動をする生物がふさわしい。我々は、そのような対象として、分裂酵母を選択した。この生物は、ゲノムサイズがヒトの100分の1しかなく、培養が簡単で、通常の細胞分裂に加えて、減数分裂という生殖細胞を作る課程がヒトなどの高等生物と共通しているとして注目されている生物である。また、ゲノムの全塩基配列が発表されており、遺伝子が約4500個しかなく解析が比較的容易である [2]。以下に、DNAマイクロアレイを用いて全遺伝子の発現状態を網羅的に解析した研究と、遺伝子から読み出されたタンパク質の細胞内局在の3次元マップとして表し、データベース化する試みを紹介する。

2.1 DNAマイクロアレイによる遺伝子発現の解析

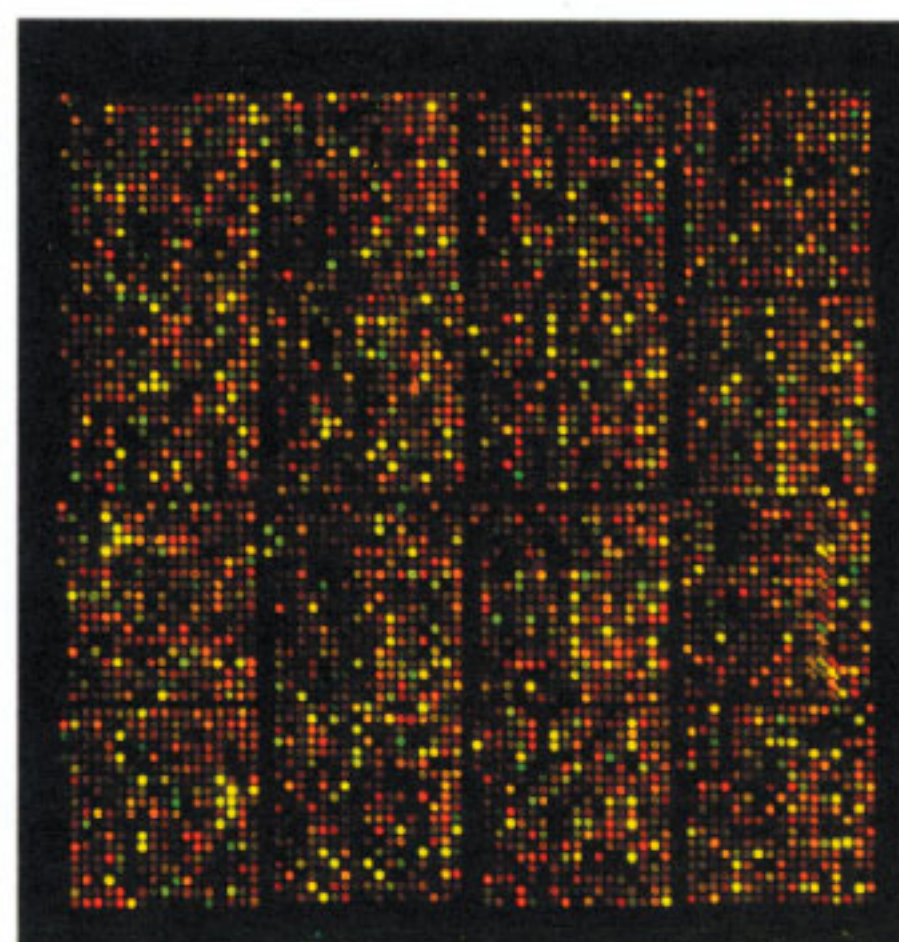
遺伝子の発現のON/OFFを調べる方法としてDNAマイクロアレイが最近よく使われている。その原理を説明する。遺伝子が発現するときには、鋳型となるDNAからmRNAが作られる。特定の遺伝子DNAから作られたmRNAは、その塩基配列が同じであるから特異的な結合を起こすが、配列が異なるmRNAとは結合しない。この原理を利用して、目的とするDNA(遺伝子)配列をガラス基盤上の特定の番地にはアレイ状に張り付かせておき、細胞から取り出したmRNAと反応させると、mRNAが作られた遺伝子DNAだけが結合反応が見られる。基盤上のDNAと細

胞から採取されたmRNAをそれぞれ緑と赤の蛍光色素で染め分けて、表示したのを読み取って解析することにより、それぞれの遺伝子から発現したmRNAの量が測定できる(図1)。図2は、我々が用いている、特定の遺伝子DNAを特定の番地へスポットティングしている装置を示した。この装置は、直径約100 μm のスポットを、200 μm 間隔で並べることが可能で、一つのマイクロアレイで分裂酵母の約4500個の遺伝子の解析を行うことができる。このような実験では、DNAを安定に基盤に貼り付けることが重要であるが、我々の実験では、一本鎖DNAをガラス基盤上にアミド基を介して共有結合させているために、精度と再現性の高いデータが得られている。現在、このような方法を使って、環境状態の変化に応じた遺伝子発現の変動を調べている。ゲノム全域に及ぶ遺伝子発現の変動とその仕組みが理解されることにより、生物の情報処理のアルゴリズムが理解されると期待される。

2.2 生体分子の細胞内局在の4次元マッピング

DNAマイクロアレイを用いることにより遺伝子DNAからRNAが読み取られる度合いを測定

DNAマイクロアレイで得られたデータの例



1個のスポットは、直径約200マイクロメートルです(1マイクロメートルは1/1000ミリメートル)。スポットは約5000個あり、この場合、1度の実験で5000個の遺伝子の計測を行えます。

図1 分裂酵母全遺伝子のON(赤)とOFF(緑)を示すDNAマイクロアレイ

作成のようす



16本のピンでDNA溶液を吸い上げる



吸い上げたDNA溶液を、スライドガラスにスポットする

図2 DNAマイクロアレイ作成機

することが可能になったが、次の段階として、RNAから実際にタンパク質が作られて細胞内で働いているかどうかを確かめる必要がある。その一つの手段として、遺伝子から作られるタンパク質に蛍光タンパク質を遺伝子レベルで融合させたものを発現し、その蛍光を指標にタンパク質の有無を調べることができる。さらに蛍光性タンパク質を指標に、目的タンパク質の細胞内での局在の状態を、生物情報グループが開発した生細胞蛍光イメージング技術を使うことによって、細胞を生かした状態で観察することが可能である。我々は、分裂酵母のゲノムDNAに蛍光性タンパク質であるGFPの遺伝子をランダムに融合したDNAを使って、分裂酵母の約250個の遺伝子の細胞内局在をマッピングすることに成功した[3]。その一部を図3に示した。これら一連の研究により、細胞構造とその変動に関して、多くの有用な情報が得られ生物の遺伝情報処理の仕組みに関する理解が格段に進んだ[4]~[8]。さらに詳細な学問的成果については、生物情報グループのHPに掲載しているので参照して

いただきたい[9]。しかし、この250個という数は、約4500個ある分裂酵母遺伝子の数に対してかなり少ないために、現在、より多くの遺伝子に対し、そこから作られるタンパク質の細胞内局在の3次元マッピングを行っている。現在、約1500個の遺伝子に対して検討を行い、そのうちの約800個に関しては蛍光タンパク質を融合させた細胞株を作成することに成功している。現在、それらの細胞株に対して、タンパク質の局在とその変動を示す細胞内局在4次元マッピングを行っているところである。これらの情報は世界的にも有意義な情報となるために、現在、生物情報グループのHPで公開する準備を進めているところである(図4)。

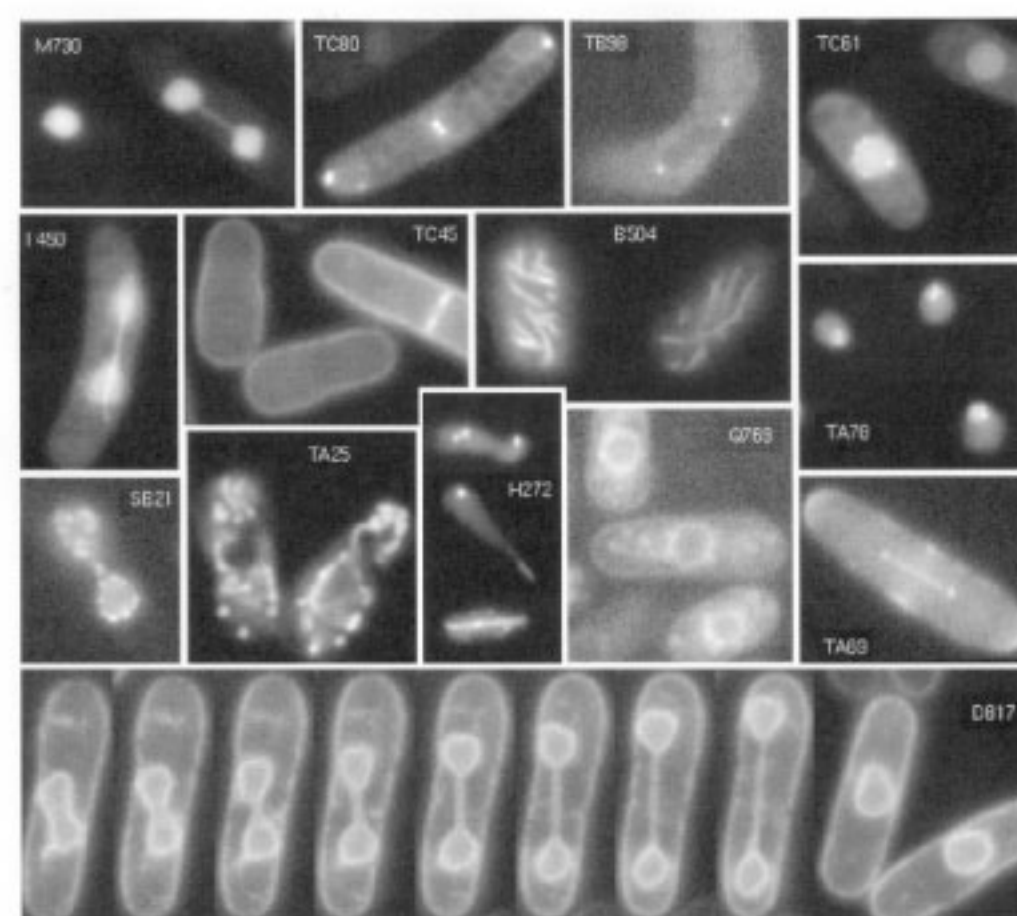


図3 タンパク質の細胞内局在の解析

分裂酵母全遺伝子産物の
細胞内3次元マッピング

目的：
どのタンパク質が
いつ、どこで、機能するか
を知る

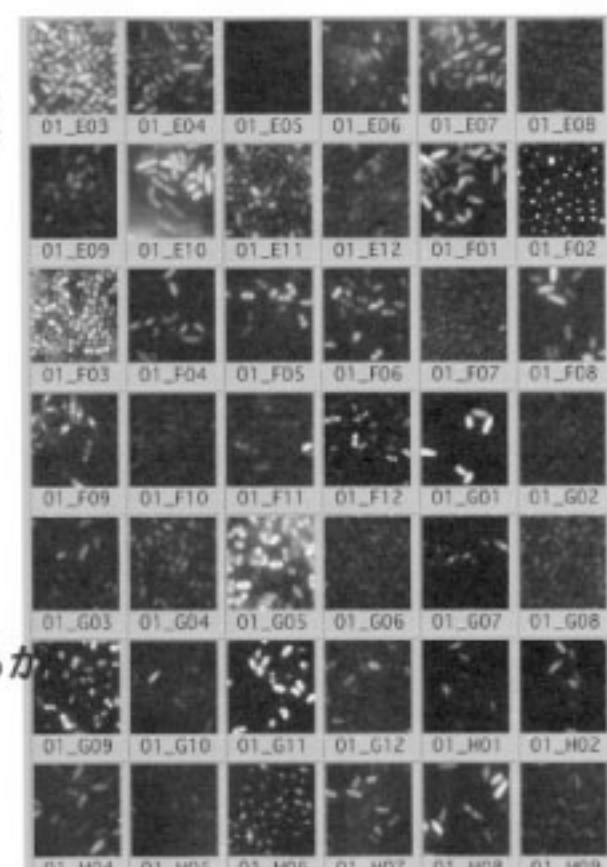


図4 タンパク質細胞内局在の画像データベース

3 むすび

生物は少ない情報を最大限に使って、危険を乗り越えながら、生き延びてきた実績を持つ。生物の持つ柔軟でしたたかな情報処理戦略を学ぶことにより、より人に優しく柔軟な方式の情報通信が生まれる可能性がある。そのために、生命の基本となるDNAの情報処理の仕組みと、細胞がそれらをどのように利用しているかを知

ることが重要である。本研究は、やっとこれらの仕組みを知るための道具を作ったに過ぎない。これから、これらの道具を活用して生物の仕組みを探ることが特に重要であると考えている。本研究は、情報通信研究機構(旧、通信総合研究所)からの予算に加えて、科学技術振興機構(旧、科学技術振興事業団)・戦略的創造研究「ゲノムの構造と機能」からの支援を受けて行ったものである。その支援に対し深く感謝する。

参考文献

- 1 北野宏明, “システムバイオロジー：生命をシステムとして理解する”, 秀潤社, 2001.
- 2 Wood et al., “The genome sequence of *Schizosaccharomyces pombe*”, *Nature* 415, 871-880, 2002.
- 3 Ding D.-Q, Tomita Y, Yamamoto A, Chikashige Y, Haraguchi T, and Hiraoka Y, “Large-scale screening of intracellular protein localization in living fission yeast cells by the use of a GFP-fusion genomic DNA library”, *Genes to Cells* 5, 169-190, 2000.
- 4 Chikashige Y, Ding D.-Q, Funabiki H, Haraguchi T, Mashiko S, Yanagida M, and Hiraoka Y, “Telomere-led premeiotic chromosome movement in fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*”, *Science* 264, 270-273, 1994.
- 5 Watanabe Y, Shinozaki-Yabana S, Chikashige Y, Hiraoka Y, and Yamamoto M, “Phosphorylation of RNA-binding protein controls cell cycle switch from mitotic to meiotic in fission yeast”, *Nature* 386, 187-190, 1997.
- 6 Chikashige Y, Ding D.-Q, Imai Y, Yamamoto M, Haraguchi T, and Hiraoka Y, “Meiotic nuclear reorganization: switching the position of centromeres and telomeres in the fission yeast *Schizosaccharomyces pombe*”, *EMBO J.* 16, 193-202, 1997.
- 7 Yamamoto A, and Hiraoka Y, “Monopolar spindle attachment of sister chromatids is ensured by two distinct mechanisms at the first meiotic division in fission yeast”, *EMBO J.* 22, 2284-2296, 2003.
- 8 Ding D.-Q, Yamamoto A, Haraguchi T, and Hiraoka Y, “Dynamics of homologous chromosome pairing during meiotic prophase in fission yeast”, *Developmental Cell* 6, 329-341, 2004.
- 9 http://www-karc.nict.go.jp/d332/CellMagic/paper_n.html

ちか しげ ゆう じ
近重裕次

基礎先端部門関西先端研究センター生
物情報グループ主任研究員 理学博士
細胞生物学
chika@nict.go.jp

やま ちと あゆむ
山本 歩

基礎先端部門関西先端研究センター生
物情報グループ主任研究員 農学博士
細胞生物学・分子生物学
ayumu@nict.go.jp

あさ かわ はる ひこ
浅川東彦

基礎先端部門関西先端研究センター生
物情報グループ専攻研究員 理学博士
細胞生物学、分子生物学
askw@po.nict.go.jp

はら ぐち とく こ
原口徳子

基礎先端部門関西先端研究センター生
物情報グループ主任研究員 医学博士
細胞生物学
tokuko@nict.go.jp

丁 大橋(DING Da-Qiao)

基礎先端部門関西先端研究センター生
物情報グループ主任研究員 理学博士
植物生理学、細胞生物学
ding@nict.go.jp

はやし あ き
林 亜紀

基礎先端部門関西先端研究センター生
物情報グループ専攻研究員 理学博士
分子遺伝学、細胞生物学
ahayashi@po.nict.go.jp

ます だ ひろ ひさ
升田裕久

基礎先端部門関西先端研究センター生
物情報グループ専攻研究員 理学博士
分子細胞生物学、細胞分裂と中心体
hmasuda@nict.go.jp

ひら おか やし
平岡 泰

基礎先端部門関西先端研究センター生
物情報グループリーダー 理学博士
生物物理学、細胞生物学
yasushi@nict.go.jp