

シロイヌナズナのゲノム分析の現状と応用

京都大学大学院理学研究科 岡田清孝

1980年後半よりこの方、植物分子科学は爆発的といえるくらい急激に発展してきた。花、葉、根などの器官の形態や生理機能を支配する遺伝子が次々に単離され、遺伝子機能があきらかにされてきた。また、植物細胞内のオルガネラの形成や物質輸送の機構、カビや細菌、ウイルスによる感染と防御の機構なども次第にあきらかになってきている。

このような植物分子遺伝学の発展の契機となったのは、遺伝子のクローニングが容易で、多くの突然変異体が分離できるモデル植物が選定され、多数の研究者が集中して研究を始めたためである。このようなモデル植物には、イネ、コムギ、トウモロコシなどの単子葉植物や、タバコ、ペチュニア、キンギョソウ、エンドウなどの双子葉植物が知られているが、最近広く用いられるようになったシロイヌナズナがある。

1. シロイヌナズナを用いた分子生物学の発展

シロイヌナズナは、その学名 (*Arabidopsis thaliana* (L.) Heynh) からアラビドプシスと呼ぶ研究者も多い。シロイヌナズナのニックネームは「植物のショウジョウバエ」であるが、この名には、シロイヌナズナが植物の分子生物学において果たすべき役割について期待が込められているといえよう。シロイヌナズナはモデル植物として用いるために便利ないくつかの特徴がある(表1参照)。

1. 草丈が20-30cmの小型の植物で、世代時間が5-6週間と短く、室内で容易に栽培できるので、大きな温室や農場を持たない研究室でも簡単に育てることができる。
2. シロイヌナズナの属するアブラナ科の植物には同じ個体の花粉では受精できないもの

表1 モデル植物としてのシロイヌナズナとイネの比較

	シロイヌナズナ	イネ
分類	アブラナ科双子葉	イネ科単子葉
染色体数	2n=10	2n=24
ゲノムサイズ	100 Mb	430 Mb
DNA マーカー間の平均的距離	1.5cM	1.1cM
世代時間	1~2カ月	3~6カ月
形質転換	容易	比較的容易
遺伝子単離	ポジショナルクローニング トランスポゾンタギング T-DNAタギング	ポジショナルタギング トランスポゾンタギング

島本 功、岡田清孝編 モデル植物の実験プロトコール イネ・シロイヌナズナ編
細胞工学別冊 1996 より

が多いが、シロイヌナズナは自家受精するので、一本の植物体から種子を得て系統を維持することができる。

3. 染色体数は5対とたいへん少ないので遺伝子座のマッピングが容易になる。また、ゲノムサイズが顕花植物の中でもっとも小さい (1×10^8 塩基対/ハプロイド) ので、ジェノミックライブラリーの作製やクローンの単離など様々な実験が容易におこなえる。

このような特色があるので、1970年代から、シロイヌナズナから様々な突然変異体が分離され、遺伝解析が始められた。ついで、1980年代になると、植物の研究者ばかりでなく、それまで大腸菌や動物の系で研究していた研究者も参加して、より広範な突然変異体を探索し、突然変異体から変異遺伝子を単離して解析する研究が始まった。開花制御、花の形態形成、根の形態と生長、胚の形態形成、感染の成立と防御、などに関わる突然変異体が多数得られ、変異形質が調べられ、遺伝子座が決定された。突然変異体の分離とそれを用いた遺伝子の単離は、これまで複雑で手が付けられないと思われていた生物現象の遺伝的な制御のシステムを解き明かすことが、手に届く範囲に近付いたことをはっきりと示した。1990年代になると、遺伝子導入やタギングなどの実験技術が改良され、遺伝子の機能についての研究が飛躍的に進展した。また、シロイヌナズナを扱った実験書が相次いで出版され、メーリングリストによる国際的な連絡網も整備された。各種の野生型や突然変異体の種子とDNAクローンの保存と配布を目的としたストックセンターの運営が始まり、データベースも公開されるようになった。ゲノムの物理的地図は年々新たなDNAマーカーが加えられて詳細になった(図1)。シロイヌナズナを対象を絞った国際研究集会は、1965年に第1回が開かれ、数年おきに開催されていたが、1987年より2年おきの開催となり、1994年より毎年開催されることになった。また、部分的に重複したYACクローンによって全ゲノムをカバーする努力が続けられており、4番と2番染色体については完成し、他の染色体についても近々完成する予定である。1996年夏には、シロイヌナズナの全ゲノムの構造解析をおこなうための国際的な協力関係を構築する会議がワシントンのNSFで開かれ、1997年からゲノムプロジェクトが開始された。

2. シロイヌナズナのゲノムプロジェクト

このプロジェクトは、アメリカの3つのグループとヨーロッパのグループ、および日本の千葉県立「かずさDNA研究所」の合計5つの研究グループが、協力しながらシロイヌナズナの5本の染色体を分担して、7年の予定で全塩基配列を決定しようとするものである(表2)。その中でかずさDNA研究所は、他の研究グループに比べてこのプロジェクトに用いられる年当たりの予算規模も大きく、配列決定の速度も大きくできると期待されている。

このプロジェクトでは、まずBACやP1などの中規模(約30万塩基対)クローン

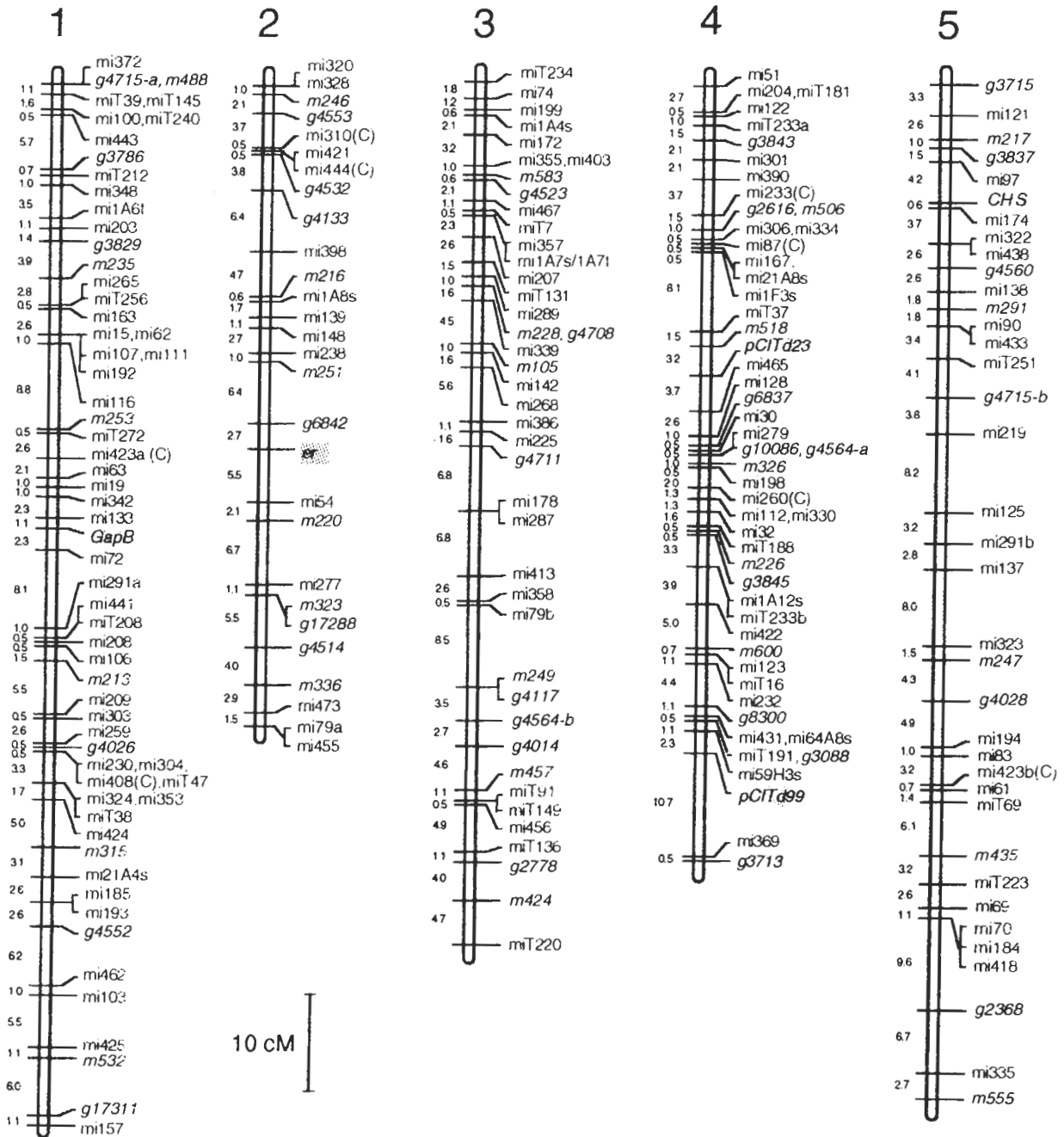


図1 シロイヌナズナの染色体のDNAマーカー地図。

島本 功、岡田清孝編 モデル植物の実験プロトコール イネ・シロイヌナズナ編
細胞工学別冊 1996 より

の中から、それぞれのグループが担当している染色体上の領域を持つクローンを選び、そのクローンの塩基配列を決定する。次いで決定した塩基対のデータを解析して、既知の遺伝子と対応する配列や、既知の遺伝子と似た配列、さらに未知の遺伝子をコードしていると推測される配列、などを同定する。これらの情報と塩基配列のデータは、今年夏から順次公表されるようになった。

シロイヌナズナの5番染色体の一部(260万塩基対)の中には、225個の遺伝子(遺伝子と推定されるものを含む)が見出された(S.Sato et al.: DNA Research 4, 291, 1997)。

この結果は、シロイヌナズナのゲノム上で12,000塩基対に一個の割合で遺伝子が存在することになる。最近大腸菌の全ゲノムの塩基配列（4,639,221塩基対）が決定され、この上に約4300個の遺伝子が存在することがわかった（F.R.Blattner et al.: Science 277, 1453, 1997）。大腸菌の遺伝子は、約1000塩基対に一個の割合で存在することになる。シロイヌナズナと大腸菌のゲノム上の遺伝子の込み具合の違いは、真核生物と原核生物のゲノム構成の違いを示している。

表2 シロイヌナズナのゲノムプロジェクト

J. Kaiser: Science 274, 30, 1996 より



SEQUENCING THE <i>ARABIDOPSIS</i> GENOME				
Lead Scientist	Laboratories	Estimated Funding	Chromosome	Rate (kb/mo)
Richard McCombie (Cold Spring Harbor)	Cold Spring Harbor Lab; Washington U.; Applied Biosystems, CA	\$4.2 million/3 years	4, 5	150
Ron Davis (Stanford)	Stanford U.; USDA/UC Berkeley; U. Penn.	\$3.8 million/3 years	1	150
Craig Venter (TIGR)	The Institute for Genomic Research, Md.	\$4.7 million/3 years	2	220
Satoshi Tabata (Kazusa Institute)	Kazusa DNA Research Institute, Chiba	\$4.5 million/year	3, 5	500
Mike Bevan (John Innes Center)	17-lab consortium of European Union	\$7.5 million/2 years	4, 5	200

SOURCE: MULTINATIONAL *ARABIDOPSIS* STEERING COMMITTEE

3. 今後の展望

シロイヌナズナのゲノムプロジェクトが進展するにしたがって、研究のスタイルが変化してきた。これまでは、突然変異体を分離して解析し、遺伝子を単離して構造と機能を明らかにする研究が主流であったが、ゲノムの塩基配列があきらかになると、遺伝子のクローニングにかかる労力が大きく軽減されることになる。一方、ゲノムの塩基配列を調べ、何か特徴のある遺伝子が見つかった場合に、その遺伝子の機能を調べるための新たな研究方法が必要である。ゲノム上のランダムな位置に挿入変異を持つシロイヌナズナ系統を多数作製しておき、その遺伝子が機能を失った系統を探し出して、異常形質がないかどうかを調べる実験系が開発された。このように、突然変異体から出発して遺伝子を解析する研究（分子遺伝学研究）と、遺伝子から出発して突然変異体を調べる研究（逆遺伝学研究）が両輪となって、シロイヌナズナという高等植物の生命現象の基礎的な機構をあきらかにすることができると思われる。

また、シロイヌナズナの全ゲノム配列のデータを用いて、他の有用植物のゲノム構造を比較的容易に調べることができるようになるだろう。シロイヌナズナの遺伝子と類似した遺伝子を単離して調べるだけでなく、多因子による遺伝形質の解析も進むと期待される。