

3. 寄稿

3.1 植物遺伝子研究に志す

植物遺伝子研究に志す

生体制御情報系 助教授 湯川 泰

動物か植物か

今でこそ、四十にして惑わず植物遺伝子の研究を行っているが、そもそも植物の研究を始めたのは、富山大学理学部生物学科で4年次にさかのぼる。バイオテクノロジーを学ぼうと大学へ入り、はじめは漠然と動物学を修めようという気持ちが勝っていたが、3年の後期の段階では、そういう気持ちは完全に消え失せていた。動物実験では避けられない殺生に少なからず抵抗があったからである。しかし、人間の慣れとはすごいもので、動物学の諸先輩方はまさにすばらしき順応性を示していた。ただ自分的には、うなぎ数千匹の頭部から松果体を取り出すような実験にはあえて慣れたくはなかった。実験材料の残りで、蒲焼きパーティーができないのは誠に残念であるが、それは仕方がない。しかし、そういうことなら、大腸菌でも、酵母菌でも、ゾウリムシでも良かったのであるが、当時遺伝子をやっていた研究室がたまたま植物専門だったのである。

実際に、山田恭二助教授（当時）の研究室に飛び込んで、実験を始めてみるとこれが失敗の連続であった。ご存じの方も多いと思うが、植物は細胞が堅牢な細胞壁に囲まれている。故に、カルフォルニアのジャイアントセコイアは100メートル以上の高さになっても倒れない。しかし、細胞をつぶしてそこから何かを取ろうとすると、細胞壁は最大の障害となる。実際にはワラビの葉から葉緑体を単離して、そこからDNAを抽出するのであるが、細胞を壊すと、細胞壁もろとも葉緑体も一緒に壊れてしまう。更に、植物細胞の中には大きな液胞という構造がある。細胞の中にある巨大水袋であるが、これが曲者でタンパク質やDNAを分解する酵素をたっぷり含んでいる。細胞を壊すと、液胞も壊れ、細胞を構成する物質も分子のレベルで破壊される。これが、植物のもつ生化学・分子生物学的研究を妨げる最大の障壁である。さらにワラビには、ねばねばした多糖類が大量に含まれている。食べたときには、なんとも日本人好みの食感を生むが、DNA取りには邪魔者である。いくら精製してもねばねばがDNAと行動を共にする。生物学の素養だとか、小手先の器用さには多少なりの自信があったが、この時点で自尊心は完全に打ち砕かされた。ワラビはなぜか墓場によく生えているので、そういう場所から実験材料をよく収穫した。実験がうまくいかないのは、霊のたたりで

はないかと疑ってみたりした。しかし今思えば、このとき大いにもがき苦しんだ経験は、プロの実験系として生きていく上で計り知れない財産となった。また、困難な材料としての植物に挑戦するおもしろみを覚えた。はっきり言ってこの分野は、実験は10回に1回うまくいけばよい方だが、その一回のために失敗の困難を乗り越えているとあってよい。

遺伝子の発現機構研究

名古屋大学の博士課程に移ってからは、植物の生化学・分子生物学的研究に本格的に取り組むことになった。最近をよく知られているが、生物は全て遺伝子を持っている。生物が遺伝子に含まれている遺伝情報を実際に使うことを発現という。発現には大きく分けて転写と翻訳がある。遺伝情報はDNA上にACGTの四つの情報として刻まれており、例えてみるとDNAという磁気テープの上に2bitシーケンシャルデータが記録されているようなもので、ヒトのDNAの場合で約30億個連なっている。DNAは記録の保管場所なので、使うときにはそのコピーをRNAに写し取る。これが転写で、RNAはその後タンパク質情報を持つものに限って翻訳という仕組みでタンパク質合成の鋳型として使われる。(注:実は、タンパク質情報を持たないRNAが大半であることが最近分かってきて、大部分のRNAはそれ自身が何らかの機能を持っている。)これら、遺伝子の発現に係わる分子機構は、主に大腸菌や動物、酵母菌を使って明らかにされたものである。それには理由がある。細菌類は、自らの構造を単純にすることで進化してきた生き物であり、材料として扱いやすい上に遺伝子の発現機構もシンプルで、研究が早くから進んだ。同じ理由で、真核生物でありながらもっともコンパクトな形態を持つ酵母菌も分子生物学的研究が進んでいる。動物は医学的な見地から莫大な予算をつぎこまれている。それに対して、植物は分子生物学的研究がほとんど進んでいないとあって良い。それには2つの理由があり、一つは前述したとおり材料としての困難さである。もう一つは一般論として、植物はヒトにとって緊急の生き死に関わる問題ではないので、研究が後回しにされている。確かに、ガン撲滅やAIDS撲滅の方が先のような気がする。

植物の遺伝子研究

そんな中、名古屋大学の遺伝子実験施設では、杉浦昌弘教授の下、植物の分子生物学研究に取り組んでいた。そこで、転写の分子生物学的研究を始め現在に至っている。高等植物遺伝子の転写の分子機構というのは、ほとんど分かっていないことは述べた。しかし植物は、研究の進んでいる細菌、酵母、動物に比べると似ていない部分がかかなり大きい。したがって、先行した研究そのまま、全く同じとは考えてはいけない。ではどうやって、転写の分子機構

を調べるのかというと、*in vitro* 転写系という方法を使う。転写は細胞の中で行われているが、転写を行う装置を生化学的に分離して、それを試験管の中で再現するのである。実は細菌、酵母、動物はこの方法の確立が早い時期になされていた。大腸菌で1970年代初めに、精製したRNA合成酵素（RNAポリメラーゼ）を使って、tRNAやrRNAの*in vitro*転写が行われている。真核細胞由来では、1979年にWeilら(1)によって、精製したRNAポリメラーゼII（Pol II）と細胞抽出液を混ぜることによって*in vitro*転写が実現した。その後1980年にはManleyら(2)がヒトの不死化したガン細胞であるHeLa細胞の全抽出液を使って、1983年にはDignamら(3)が、HeLa細胞の単離核を用いる方法で優れた*in vitro*転写系を完成させた。今日までDignam法は*in vitro*転写系のスタンダードであり、広く用いられている。植物での試みは、動物からさらに7年遅れて、Yamazakiら(4)とFlynnら(5)によってなされた。しかし、材料として当時植物の生化学に広く用いられていた小麦胚芽を用いていたため、転写する遺伝子と決して転写しない遺伝子があり、植物の転写研究に一般化しなかった。時は過ぎ、材料に起因する困難さを克服するために、培養細胞が使われるようになった。転写の研究に大きな貢献を果たしたのが、日本専売公社（現 JT）で開発されたタバコの培養細胞 BY-2 細胞である。BY-2 細胞は成長速度が速く、液体培養しても大きな固まりにならず、細胞内に固い構造を有しないので、マイルドな条件で核を単離することができる。通常は 1.5 リットルの培養液から 1 グラムの核を単離して使用しているが、植物で 1 グラムという“大量”の核を単離できるのは BY-2 が唯一の例といってよい。単離した核からは、HeLa 細胞の Dignam 法を踏襲した方法で、核抽出液を調製する。するとそこには転写を行うのに必要となる装置が含まれており、試験管の中で鋳型となる DNA と RNA の材料であるデオキシヌクレオチド三リン酸を加えて温めると、試験管の中で DNA のコピーとなる RNA が合成される。実際やることは、混ぜて温めるだけであるが、そこには膨大な失敗と努力の成果が詰まっている。杉浦研で初めて高等植物由来で一般使用可能な *in vitro* 転写系が確立したのは 1995 年であり(6)、動物に遅れること 15 年でやっと分子のレベルで転写の仕組みを解析できる道具を手にしたことになる。細胞核の中で行われる転写は、大きなタンパク質複合体（RNAポリメラーゼ）でその反応が触媒されている。RNAポリメラーゼには、これまで3種類が知られていた。リボソームRNAを合成するRNAポリメラーゼ I（Pol I）、メッセンジャーRNA合成を触媒するRNAポリメラーゼ II（Pol II）、そして低分子安定RNA合成を触媒するRNAポリメラーゼ III（Pol III）である。タバコ由来の *in vitro* 転写系はその全ての転写活性の解析が可能な極めて汎用性の高いものである。（注：植物では最近、遺伝子のサイレンシングに関わる4番目のRNAポリメラーゼが見つかった。）

植物学の現状と将来

植物の遺伝子発現に関する分子学的研究は立ち後れていると述べた。それは、ヒトの生き死に関わらないためと述べた。しかし自分で述べていてなんだが、この表現はいささか正確性に欠いている。確かに、緊急性を要する病気治療に資金や人材を投入する必要がある。しかし、これから深刻になるであろう環境悪化や人口爆発に伴う食料問題、エネルギー問題を解決するには植物のもつ潜在力に頼らざるを得ないことは間違いなさそうである。例えば、最近の石油価格高騰のため、植物から作られたバイオエタノールの利用が急速に増えつつあり、北米では遺伝子組換えトウモロコシの作付けが急速に伸びている。これは、工業原料となる植物の生産性を向上させるためである。植物の遺伝子を操作して、作物の生産性向上や高付加価値植物の開発する試みを効率的に進めるためには、遺伝子の発現制御をよく知っておくのが理想的である。遺伝子発現の詳しい仕組みが分からない現段階としては、有用な遺伝子を植物に入れてそれが有効に機能するかどうかは実は予測できない。つまりうまくいくかいかないかは、一か八かの賭なのである。ただでさえ、少ない予算と人材を無駄に浪費していることになる。今後のことを考えると、遺伝子発現機構の基礎研究の重要性は強調してもしすぎることはないことがお分かりだと思う。現在は、遺伝子組換え植物の風当たりは決して良いとはいえないが、将来のことを見据えて基礎研究を進めておく必要がある。

参考文献

- (1) Weil, P. A., Luse, D. S., Segall, J., Roeder, R. G., *Cell*, 22, 787-797 (1979)
- (2) Manley, J. L., Fire, A., Cano, A., Sharp, P. A., Gelfand, M. L., *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 77, 5706-5710 (1980)
- (3) Dignam, J. D., Lebovitz, R. M., Roeder, R. G., *Nucleic Acid Res.*, 11, 1475-1489 (1983)
- (4) Yamazaki, K., Imamoto, F., *Mol. Gen. Genet.*, 209, 445-452 (1987)
- (5) Flynn, P. A., Davis, E. A., Ackerman, S.: *Plant Mol. Biol.*, 9, 159-169 (1987)
- (6) Fan, H., Sugiura, M., *EMBO J.*, 14, 1024-1031 (1995)