

明治大学農学部からの研究紹介誌

バイオの散歩道

第21号

目次

研究のフロンティア1

復活した水稲再生二期作栽培によるコメの増産

塩津 文隆

研究のフロンティア2

SDGsの達成に向けた
「共感」と「信頼」の行動経済学

岡 通太郎

特集

最新技術で切り開く生命科学研究

連載／キャンパスを食べる 第21回

ゼンマイ(薺)

荒谷 博



明治大学
MEIJI UNIVERSITY

<https://www.meiji.ac.jp/agri/>
(過去に発刊した「バイオの散歩道」をHP上にて公開しています。)

研究の
フロンティア
1

復活した水稲再生二期作栽培によるコメの増産

農学科 作物学研究室 塩津 文隆



塩津 文隆

コメ(イネ)は30億人以上の人々の主食で、熱帯アジア・アフリカでは需要が著しく伸びています。これらの地域では、経済発展や人口増加により、コメの消費量が増加すると予想され、コメの増産が必要不可欠です。コメの生産量は、1960年代の「緑の革命」による多収性品種の開発で飛躍的に増加しました。その後も品種開発が進められ収量は少しずつ増加してきましたが、近年は停滞しています。また、都市化や工業化により、コメの生産に使われる耕地も減少しています。このため、世界の米生産量のさらなる増加が喫緊の課題となっており、その解決策として多収栽培技術のひとつである水稲再生二期作栽培が再び注目されています。

進めています。収量をより高めるためには、再生茎の発生・生長を最大化することが重要であると考えており、栽培技術の工夫によって制御することができないのか、あるいは、どのような品種であれば再生茎の能力が優れているのか、等を明らかにするために取り組んでいます。また、農業現場で普及できる栽培技術を確認することも目指しています。今後も国内の大学、県農業試験場の共同研究者および作物学研究室の学生らとともに、再生二期作栽培の研究を進め、世界の食糧問題の解決に向けて少しでも貢献したいと考えています。



写真1 刈り株から発生した再生茎の様子

水稲再生二期作栽培とは?

水稲再生二期作栽培とは、イネの収穫後、刈り株から再生する茎(ひこばえ)を育てて、同一圃場で年2回、イネを収穫する栽培技術です(写真1)。再生二期作栽培の歴史は古く、日本書紀には「一殖兩収(一度植えて二度採る)」という言葉で表現されています。また、アジア各国においても古くからの栽培技術として知られています。この再生二期作栽培は通常の二期作栽培と比べると、二期作目の耕起、代掻き、移植作業が省略可能で大幅なコスト削減となることに加え、短期間で収穫に至る利点があります(図1)。一方、技術改良が行われなかったため、長年にわたり低収量の栽培技術という評価のままでした。しかし、近年、品種や栽培技術の開発により、中国や日本においては、過去の評価を覆す1000kg/10aを超え(2019年の日本の水稲平均収量は519kg/10a)の多収事例が報告されています。

作物学研究室の取り組み

作物学研究室では、水稲再生二期作栽培で食用米を用いて、玄米収量1100kg/10aを得ることを目標に掲げて研究を

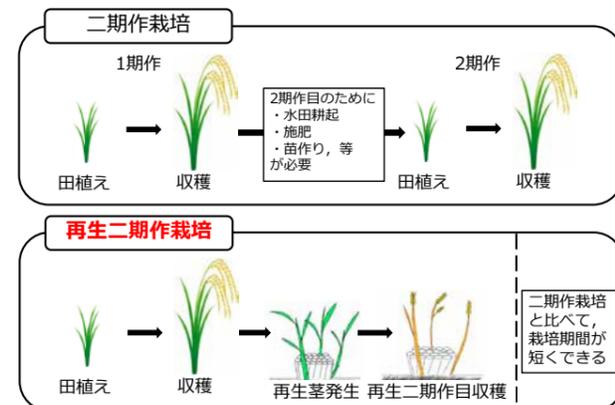


図1 二期作栽培の比較と再生二期作栽培

研究の
フロンティア
2

SDGsの達成に向けた「共感」と「信頼」の行動経済学

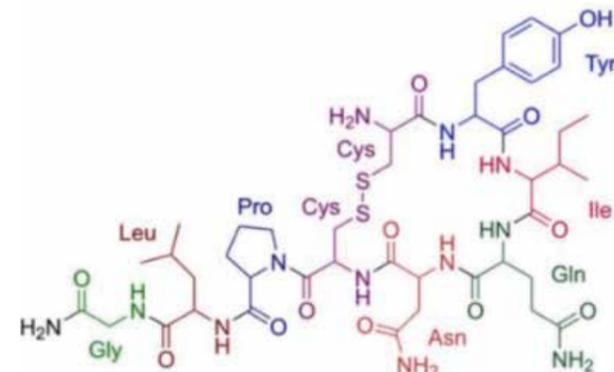
食料環境政策学科 共生社会論研究室 岡 通太郎



岡 通太郎

(1)「共感ホルモン」によるエシカル市場

オキシトシンと呼ばれる脳内ホルモンがあります。女性が出産や授乳をする際に分泌されることで有名かもしれませんが、しかし、この産婦人科に関連するホルモンが、近年、経済学、特に「持続可能な発展目標(SDGs)」の実現に向けた行動経済学において注目され始めています。



オキシトシンは出産や授乳時だけでなく、実は他者への「信頼」や「共感」を感じている時にも分泌されていることがわかっています。そして「信頼」や「共感」を感じていると、人は「利他的」な行動、つまり目先の自分の利益ではなく相手を助けるような行動をとることも知られています。

こうした人間の感情をうまく理解し活用することで、持続的な社会や本人の将来のために望ましいエシカル市場を構築することができるかもしれません。以下そうした新たな挑戦を紹介します。

(2)オーガニック・コットンの販売実験

オキシトシンを分泌させることで環境にやさしいオーガニック・コットンの販売を促進させることができるかどうか、私の研究室で実施した販売実験の結果があります。

		方程式中の変数				
		B	標準誤差	Wald	自由度	有意確率
ステップ1 ^a	オキシトシン有=1	.547	.334	2.679	1	.102
	定数	-2.004	.308	42.455	1	.000

a. ステップ1: 投入された変数オキシトシン有り=1

実験結果:回帰分析

学園祭においてインド産のオーガニック・コットン製のタオルを、教室Aではインドで苦しむ農家の家族と目が合うようなビデオで説明し、教室Bではインドの農家の苦しみを数値や文字データで詳しく説明して販売しました。そしてお客様のオキシトシン分泌量を計測しました。その結果、分泌量の多いお客様の購買率が一定程度高くなることがわかりました。研究室ではどのような広告がオキシトシンを分泌させるのに有効か、その研究を続けています。



インドの生産者と研究室の学生たち

(3)最後は「信頼関係」がものをいう

さて、人が「利他的」な行動をとるのはなぜでしょうか?近年の進化生物学では人が「利他的」な行動をするのは進化上有利だからと説明しています。つまり、「利他的」な行動をしたほうが、そうしないよりも生存確率(適応度)が高いということです。まさに目先の利益を優先するよりも、一旦他者や環境のことを考えて行動したほうが、巡り巡って利益が数倍になって自分に返ってくる、という仕組みです。人間のそうした行為を可能にするオキシトシンは、今まさに持続可能な発展を目指す世界経済に欠かせないホルモンなのかもしれません。

特集 1 次世代シーケンサーを用いた マイクロバイーム解析の進展

生命科学科 動物栄養学研究室 浅沼 成人



浅沼 成人

21世紀に入り、長年の苦勞の末、ヒトゲノムが完全解読されました。この頃からコンピューターの性能も大きな発展を遂げ、今では皆さんが手に取るスマートフォンに至るまでになりました。それと同じくして、シーケンサーや質量分析計などの研究に用いる解析装置も飛躍的な発展を遂げました。このコンピューターと解析装置が両輪となり、生物を情報化して理解しようという学問としてオミックス研究が生まれました。ヒトであれば、健康なヒトと病気になったヒトの全ゲノムを比較して、どの遺伝子に違いがあるのかを知ることで、どの遺伝子に変異が見られると病気になりやすいのか予測することができるようになりました。これには、数十億もの膨大なシーケンシング反応を同時並行して解析できる次世代シーケンサー(NGS)と呼ばれる技術の発達によるところが大きいです(写真1)。このNGSを用いることで、微生物の解析方法も変わってきました。種々の微生物を集団として捉え、その集団が有する遺伝情報全体をマイクロバイームと呼んでいます。

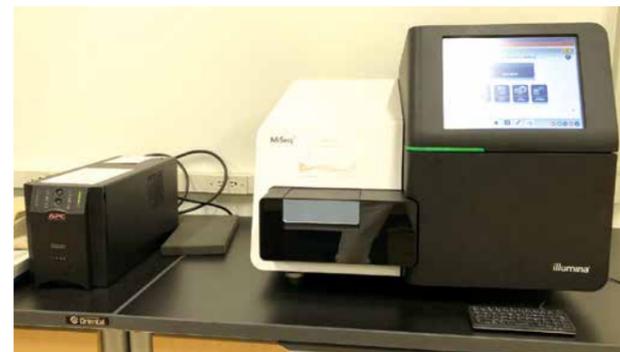


写真1 明治大学農学部に設置されているNGS

ヒトをはじめ、動物のカラダの中には、数多くの細菌が生息しており、腸内細菌と呼ばれています。この腸内細菌は、それぞれのヒトによってその構成(種類と数)が異なります。では、“私のお腹にはどのような腸内細菌がいるのかな?”と思った場合、どのように調べれば良いのでしょうか。一昔前は、腸の内容物、つまり糞便から個々の腸内細菌を分離培養して、その化学的性質を調べて解析していました。しかし、腸内の環境は酸素濃度の低い嫌気条件下ということもあり、我々が生活する

ような大気中で培養条件を整えるのは難しく、培養することができない菌が多く、研究もなかなか進展しませんでした。

細菌などの原核生物が必ず保持する遺伝子として、リボソーム遺伝子があります。タンパク合成に関わるという重要な分子であり、生物間で共通している保存性の高い領域もあれば、ある特定の生物種や群に特異的な配列もあるので、生物の系統分類に用いられます。このうちの16S リボソーム RNA (16SrRNA) 遺伝子を解析することで、腸内細菌の存在を明らかにしようという研究が行われるようになりました。この方法では、死んだ細菌からも遺伝子があれば解析できるので、培養を介さないで細菌を検出できるようになりました。NGSを用いて、大量の菌群からの16SrRNA 遺伝子の情報を網羅的に解析することで、個々人が保持する腸内細菌の構成を、より正確で詳細に短時間で知ることができるようになりました(図1)。食事のパターンの違い(西洋食中心か、和食中心か)、住んでいる環境の違いなどにより、腸内細菌の構成が異なることが明らかになっています。このパターンはエンテロタイプと呼ばれています。また、肥満型と痩せ型といった体型の違いでも腸内細菌の構成に違いがあるようです。更に研究が進めば、痩せ型に誘導する菌の入った錠剤を飲んでダイエットしようということになるかもしれません。現在ではその他にも、健康なヒトと病気のヒトの腸内細菌を比較することで、病気の原因となる細菌を見出そうという研究が行われています。マイクロバイーム解析は生命科学研究の最先端で役立っています。

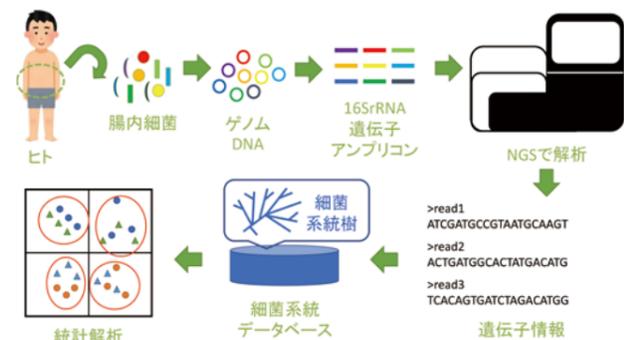


図1 マイクロバイーム解析の概念図

特集 2 光技術による神経科学研究の進歩

生命科学科 動物生理学研究室 中村 孝博



中村 孝博

私が主宰する動物生理学研究室では、「リズムを知って活用する」をスローガンに時間生物学研究を進めています。

多種多様な生体リズムの中でも本研究室では、動物の約1日のリズムを駆動する“概日時計”の本体についての研究を進めています。概日時計は、体のそれぞれの生理機能が最も働くべき時刻にピークを迎えるように整える役割があります。例えば、起床時刻が近くなると血圧を上昇させ、目覚めた直後から活動できるようにしているのです。

様々な実験系を用い体内時計の仕組みを 解明する

本研究室では主に実験動物としてマウスを用い、輪回し活動リズム計測などの行動観察、古典的な神経発火活動の記録、最新の光遺伝学を用いた神経細胞の興奮と抑制、蛍光発光を用いた脳内イメージング、免疫組織化学、脳組織の長期培養、動物組織から採取したRNAサンプルによる発現解析などを用い、概日リズムを示す行動(活動リズム)や生理機能を分子レベルから解明することを行っています。様々な実験系を用いていますが、そのほとんどが「光技術」を用いた実験系です。本研究室で用いている実験について少し紹介します。

ホタルの発光タンパク質を使って 時計遺伝子の変動を観察する

ホタルの灯を見たことがある人は多いと思います。ホタルはルシフェラーゼという発光タンパクを持ち、そのタンパク質がルシフェリンという基質と反応することによって発光します。遺伝子改変技術を用いて、ホタルの発光タンパク質をマウスの特定の遺伝子が発現すると同時に発現するようにすると、特定の遺伝子発現がホタルの光によって検出することができます。この技術を使うと体内の時計遺伝子が約24時間周期をもって発現していることが観察できます(図1)。

光を使って神経細胞を制御する

現在では、脳内の神経細胞に光で制御できるタンパク質を遺伝子改変技術によって発現させ、光照射によって神経細胞のON/OFF制御をすることができます。具体的に本研究室では、光照射によって細胞の塩化物イオン(Cl⁻)チャンネルを開くことができるタンパク質をアデノ随伴ウイルスによって発現させるようにして、そのウイルスをマウスの脳内に微量(100-500 nl)注入し神経細胞に感染させます。その後、脳内に光ファイバーを挿入し光を照射すると光が当たっている時間だけその神経細胞が担っている機能を抑制することができます(図2)。

技術の進歩が新しい発見を生む

上記の他にも、共焦点レーザー顕微鏡やマウスの頭に載せられる蛍光顕微鏡(miniscope)など「光技術」を用い研究を進めています。生命科学で用いる光技術は日々進化していて、昨日まで観察できなかったものが、新しい装置を入れた途端にできるといった事がよく起こっています。

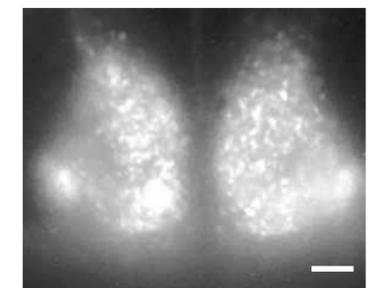


図1:極微弱光の観察に適したEM-CCDカメラを用い、体内時計中枢である脳内の視交叉上核という場所のルシフェラーゼの発光を記録した写真。時計遺伝子のPer2が発現すると同時に発光が観察できる。一つ一つ粒のように見えるのが一つの細胞の発光である。写真の白いバーの長さは100μm。



図2:光遺伝学用の光ファイバーを頭に装着したマウスが輪回し活動をしている様子のイラスト(左)と実際にマウスに光を当てている時のイラスト(右)。

特集
3

タンパク質の分析： その網羅性と精密度

生命科学科 プロテオミクス研究室 紀藤 圭治



紀藤 圭治

生命科学の分野では、様々な分析手法が活用されています。生命活動の中核を担っているタンパク質では、細胞内で機能している数千種類から1万種類以上におよぶ多数のタンパク質、つまりプロテオーム全体を分析対象とした研究手法が、近年の生命科学研究で欠かせないアプローチの一つになってきました。

タンパク質の大規模解析とその課題

プロテオーム解析で広く活用されている分析手法に質量分析があります。タンパク質をペプチドに断片化し、その精密質量と分析装置内部で生じた断片化分子の質量を計測することでタンパク質を特定することができます。さらに液体クロマトグラフィーなどの分画手法と組み合わせることでプロテオーム全体を対象とした網羅的な解析が可能になり、異なる生物種や様々な生育条件間でまとめて比較することができます(図A)。一方で、検出されるシグナル強度がそれぞれの分子種により極めて大きく異なることから、定量解析や高感度検出には分析の前段階での工夫がとても重要です。

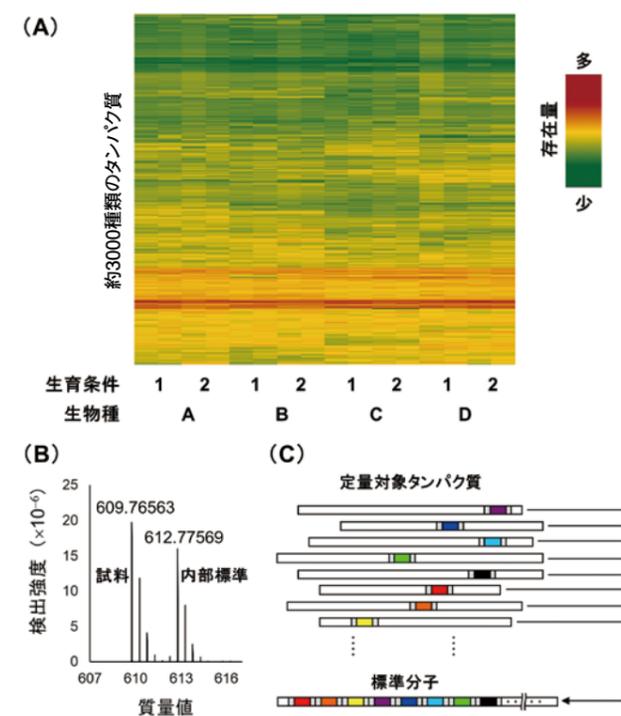
高効率かつ高感度解析の工夫

質量分析での定量解析では、安定同位体標識された既知量の内部標準ペプチドを試料に添加し、試料中のペプチド存在量を両者の強度比から精度よく求めることができます(図B)。数多くのペプチドやタンパク質を定量対象とする場合は、それぞれの標準ペプチドを連結させた人工的な標準分子を準備し、単一の標準分子から多数のタンパク質の定量解析を可能にする工夫をしています(図C)。多数のタンパク質の高精度定量解析に有用な方法として現在広く活用されています。

生物種が有するタンパク質のなかには、その配列の特性から質量分析での検出に適さない分子も数多く存在していま

す。そこで、本来のタンパク質配列に検出に適したペプチド配列を付加し、その検出を介してタンパク質分子の存在を解析するアプローチの開発も進めています。天然のままでは全く検出できなかった存在量の少ないタンパク質分子でも、再現性よく捉えることが可能になってきました。

プロテオームの大規模解析は汎用的な分析手法となりつつあり、質量分析装置の性能向上がそれを大きく下支えしてきました。一方で、一見万能に見える分析手法ですが、定量精度や検出効率などは依然として解決すべき課題があります。生命科学の研究者として、必ずしも分析装置に依存しない様々なアプローチや工夫は今後も変わらず大切だろうと考えます。



図：質量分析を活用したプロテオーム解析

(A)異なる生物種または生育条件でのタンパク質存在量の比較。約3000種類のタンパク質について存在量に応じた色で図示した。(B)安定同位体標識した内部標準による定量。(C)ペプチド連結型の標準分子。

特集
4

最新鋭の顕微鏡で観る ミクロの世界から紐解く生命現象

生命科学科 環境応答生物学研究室 吉本 光希



吉本 光希

最近の生命科学研究分野のトレンドとして、生きたままの細胞内でタンパク質などの生体分子の動態や機能を解析することが多くなっています。生命の本質は絶えず変化していることであり、生物はすべて動的であることから、生命現象をより深く理解するためには、細胞や生体分子の時空間的動態をつぶさに観察する必要があるからです。これまでの生化学的・分子生物学的技術に加えて、生物が生きたまま経時的に細胞や分子の動態を解析できるバイオイメーキングは生命科学研究においてますます重要になってきています。このバイオイメーキングを支えるのは、2008年のノーベル化学賞受賞対象となった緑色蛍光タンパク質(green fluorescent protein: GFP)の発見とその応用だけではなく、顕微鏡技術の発展も大きく貢献しています。共焦点レーザー顕微鏡が広く普及したことで、近年の生命科学研究が飛躍的に進歩したといっても過言ではありません。

共焦点レーザー顕微鏡は、基本的な光学系は通常の蛍光顕微鏡と似ているものの、レーザー光を対物レンズで集め一本のビームにして、三次元試料中のある深度の一点に焦点を合わせる点が異なります。そして、レーザーで試料面をスキャンし、試料中の焦点面から出てきた蛍光を検出し画像にします。検出器の前にピンホールと呼ばれる穴を配置することで、観察しない面からの蛍光シグナルを除くため、焦点距離がばらばらになるような厚みのある試料でもボケのない鮮明な画像を得ることができるのです。さらに、最近の技術革新により2,000コマ/秒もの速さで共焦点像を取得できたり、30 nm(3 mmの100万分の一)もの小さな分子を検出できたりする超高速・超高解像度な顕微鏡も開発されています。

私たちの研究室では、そのような最新鋭の顕微鏡(図1)を駆使し、生きたままの細胞の細胞小器官の動態を観察することで、オートファジーと呼ばれる真核生物が備え持つ巧みな生命現象を紐解こうと研究に励んでいます。オートファジーとは、自己成分を液胞(動物細胞ではリソソーム)に輸送し分解する

ための仕組みで、2016年に大隅良典博士がノーベル生理学・医学賞を受賞され、一躍話題となったので良く知っている人もいるかもしれません。オートファジー経路において、分解対象物の液胞への取り込み方は複数ありますが、私たちは最近、液胞膜を直接陥入させることによって分解対象物を液胞内に取り込むマイクロオートファジー経路に注目しています。これまでに、蛍光タンパク質でラベルした液胞膜のライブイメージングにより、マイクロオートファジー過程のダイナミックな膜動態観察に成功しています(図2)。今後は、このような膜動態が起こらない変異体を単離し、その原因遺伝子を同定することで、未解明の植物マイクロオートファジーの分子機構を明らかにするとともに、その生理的役割についても解明していきたいと考えています。



図1:生命科学科の共通機器、高速の超解像と高感度の共焦点画像取得が可能な最新の共焦点レーザー顕微鏡(Zeiss LSM880 with Airyscan Fast)

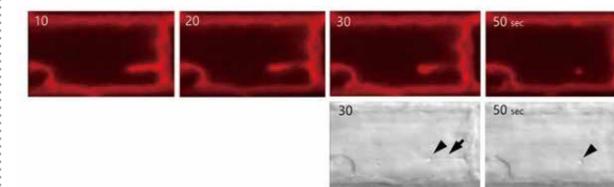


図2:液胞膜に局在するタンパク質に赤色蛍光タンパク質mRFPをつないだ融合タンパク質を発現させたシロイヌナズナの根細胞の経時的蛍光共焦点像と微分干渉像。液胞膜が液胞内腔に向かって陥入し、30秒後には先端に球形の構造が現れる(矢頭)。この時、液胞膜はまだ球形構造につながっているが(矢印)、50秒後にはちぎれて球形構造物が液胞内腔に放たれる(矢頭)。撮影:柳生 真子(M1)

特集
5

あなたにも作れる? お手軽になった遺伝子改変マウス

生命科学科 生体制御学研究室 河野 菜摘子・生命科学科 佐藤 伴



河野 菜摘子 佐藤 伴

生物の遺伝情報を自在に書き換える「ゲノム編集」という言葉を聞いたことはありますか?ゲノム編集技術の代名詞でもあるCRISPR-Cas9システムの開発者が、2020年のノーベル化学賞を受賞したことも記憶に新しいと思います。CRISPR-Cas9システムを簡単に説明すると、どんな生物のゲノムでも特定の部位を切断することで突然変異を導入する技術です。生命科学科の多くの研究室では、ゲノム編集技術を使って実験を行っていて、最近ではCRISPR-Cas9システムを更に応用したiGONAD法 (Gurumurthy et al., 2019) を使用しています。これは東海大学の塚正人教授によって開発された方法であり、実験を始めたばかりの大学生でも遺伝子欠損(KO)マウスを作ることのできる画期的な方法です。この革新的な技術によって、これまで特定の研究室に限定されていた、遺伝子改変動物の作製が身近に行えるようになりました。

ここからは、生命科学科の研究室で研究をはじめた大学3年生になったつもりで読んでください。あなたは遺伝子Xを調べているうちに、「遺伝子Xがとても大事そうなのはたつきをしている」ことがわかってきました。もし本当に重要なのであれば、遺伝子Xがはたらかなくなった場合には、その生物は生きられないとか、病気になりやすいとか、大きな変化が見られるかもしれません。あなたは、それを確認するために、KOマウスを作る必要があると感じました。

遺伝子Xをゲノム編集技術で欠失させるには、この遺伝子の開始コドンの下流に15塩基ほどのガイドRNA (gRNA) を設計します。このgRNAと二本鎖DNAを切断するCas9タンパク質は、通常であればマイクロインジェクションという方法で約100μmの小さな受精卵へ注入します(表の写真A)。この方法は高価な装置が必要であり(表の写真C)、さらにその技術の習得には数年かかります。しかしiGONAD法を用いることによってそれも必要ありません。gRNAとCas9タンパク質は、受

精卵を含んだ卵管(約2mm)へ注入し(色のついた溶液を注入が終えた卵管が表のBの写真)、その後、卵管全体に電気ショックをかけます(表の写真D)。手術を終えたメスマウスはそのまま妊娠を継続させることで、高確率で開始コドン近傍に突然変異が入ったマウスを産みますので、あなたは遺伝子Xがはたらかなくなったマウスを手に入れることができます。

では遺伝子Xが機能しなくなったKOマウスの解析はどうするのか?それを観察するのが表現型解析です。これは言わば、マウスを使った「間違い探しクイズ」です。正しいマウスの発生や形態・行動を知った上で、KOマウスとの違いを探します。違いのある個所はゼロかもしれませんが、膨大にあるかもしれません。この間違い探しで、予想通りの表現型のこともありますし、もちろん期待外れな結果になることもあります。さらには、予想もしていなかった結果となった場合、大発見につながる可能性もある夢のある実験です。

表 昔と今の遺伝子改変マウスの作製方法のちがいを

	昔の方法	通常の方法	iGONAD法
遺伝子操作	ES細胞を用いた相同組み換え	CRISPR/Cas9システム	
導入方法	マイクロインジェクション 	電気ショック 	
費用	マイクロマニピュレーター (500万円) 倒立顕微鏡 (500万円) 実体顕微鏡 (30万円) 	エレクトロポレーター (150万円) 実体顕微鏡 (30万円) 	
マウスの数	合計15匹以上 (卵・精子回収用マウス 偽妊娠用マウス 里親用マウス)	合計1匹 (交配したメスマウス)	
必要な技術	3年 (マニピュレーション技術 胚操作 マウスの操作)	2週間 (マウスの操作)	
成功率	100個の受精卵から、5匹 (5%)	10個の受精卵から、5匹 (50%)	

特集
6

DNA配列解析技術の進歩と 新しい生命科学へのアプローチ

生命科学科 ゲノム機能工学研究室 大鐘 潤



大鐘 潤

生命科学では技術の進歩とともに、目に見える生物からその中の細胞へ、さらにはDNAやタンパク質を対象として様々な研究が発展しました。私の専門であるゲノム科学分野でも、私が初めてDNA塩基配列解析をした1990年代は、X線フィルム上に焼き付けた放射性同位元素を含むDNA断片のはしごのような模様から、手作業でわずか100塩基程度の配列を決められるだけでした。しかもこれは解析者が疲れている時などには非常に間違いの多い作業でした。それがほんの20年ほどの間に、DNAを機械にセットして画面を数回クリックするだけで、同じ時間で手間なく自動で数十億塩基の配列決定ができるようになりました。

このように21世紀の技術革新により誕生した高速次世代シーケンサーによって、手軽に、想像もできなかったスピードとデータ量のDNA配列解読が可能になりました。これにより、農学部特有の配列情報に乏しい生物のゲノム解析のみならず、現在注目されているエピジェネティクスなどのポストゲノム解析も可能になっています。DNAメチル化などのエピジェネティクスは、遺伝子発現制御の根幹として正常な個体発生に必須で、その破綻は慢性疾患の原因ともなります。フォアグラを考えると分かり易いように、食肉の有用形質(フォアグラ)がヒトでは慢性疾患(厄介な脂肪肝!)といった表裏一体と考えら

れるものが多く見られます。ブタではゲノム配列情報は乏しいながら、高速次世代シーケンサーの利用により正常異常のエピジェネティクスとその改変が可能になったことで、解析結果を表と裏から俯瞰することで、有用食肉形質の発現促進のみならず、ヒト疾患モデル動物の作製も可能になるはずですが、

DNA配列解析技術は現在もさらに技術開発や改良が進んでおり、今後はますます短時間で膨大なデータを得られるようになるはずですが。このスピード感を活かしつつ、データの大海原にただ溺れ流されるのではなく、主体的に逞しく泳ぎ渡ってゆくような研究を進めてゆけたらと考えています。



図1 高速次世代シーケンサー

このシーケンサーは実は簡易型ですが、2-3日でヒトゲノム(30億塩基対)の数倍の配列決定・解析が可能です。現在ではより手軽に大量の配列解析ができる機器も存在しています。

7 形質転換植物を用いたオルガネラの可視化

生命科学科 植物発生制御学研究室 田中 博和



田中 博和

真核生物では、細胞内の膜系が高度に発達していて、細胞の中には核、ゴルジ体、トランスゴルジ網、ミトコンドリア、液胞などの様々なオルガネラがあり、それぞれが特徴的な働きをしていることは良く知られています。オルガネラの働きは、植物の葉や根などの器官が適切な配置できちんと作られるためにも重要です。例えば、ゴルジ体やトランスゴルジ網は、膜タンパク質の成熟や選別、最終目的地への輸送に関わっていて、細胞膜で働く植物ホルモン輸送体などの様々なタンパク質を、正しく配置するために必須の役割を担っています。そのようなオルガネラの機能を担うタンパク質の働きを個別に詳しく調べるためには、特定のタンパク質の分布を正確に知る必要があります。しかし、オルガネラはとても小さく、植物のゴルジ体は、直径が600nm程度、厚さは50nm以下の円盤が何層にも重なった構造をしていて、片面にトランスゴルジ網と近接しているという複雑な構造をとっています。光学顕微鏡の分解能は光の波長に依存するため、分解能は200 nm 程度です。これよりも近くに2つの物質が存在していても、それは1つの点のように見えてしまいます。つまり、ゴルジ体やトランスゴルジ網の形を捉えるには、光学顕微鏡の分解能の限界に迫るような観察手法が必要とされます。ここでは、形質転換の手法を用いて、ゴルジ体とトランスゴルジ網を別々に「蛍光タンパク質」で標識して、生きた植物の中での様子を顕微鏡で観る方法について紹介します。ゴルジ体とトランスゴルジ網に分布するタンパク質を別々の色で標識するためには、例えばゴルジ体に分布するタンパク質(図のタンパク質A)には緑色、トランスゴルジ網に分布するタンパク質(タンパク質B)には赤色の蛍光を発する蛍光タンパク質を融合させて、同じ細胞に発現させます。実際には、DNAを操作することで融合遺伝子を作成し、アグロバクテリアに2つの遺伝子を持つプラスミドを導入し、アグロバクテリアが植物に遺伝子を送り込むことを利用して植物の染色体にその遺伝子を組み込むことで、人工

的に導入された遺伝子(トランスジーン)を発現する「形質転換植物」を作ります。両方のトランスジーンを持つ形質転換植物が準備できたら、その植物を蛍光顕微鏡で観察します。図1に示した蛍光像は、共焦点顕微鏡という、焦点が合った面の蛍光だけを検出する顕微鏡を用いて撮影し、さらにデコンボリューションと呼ばれる数学的処理を行うことで、より鮮明にしたものです。一つの細胞に多数の粒状のシグナルがあり、GFPとRFPが隣り合う場所から検出されているのがわかります。蛍光タンパク質を利用して機能未知のタンパク質が働く場所を調べる研究や、タンパク質のダイナミックな動きを調べる研究も活発に行われています。

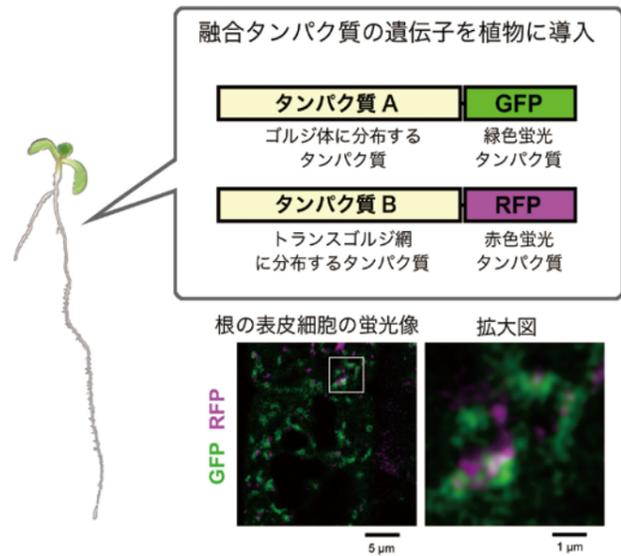


図1. 植物のオルガネラの可視化の例

2種類の融合タンパク質を発現する形質転換シロイヌナズナの根の表皮細胞。多数のゴルジ体(緑)とトランスゴルジ網(マゼンタ)が検出されている。

8 組織透明化技術を使った筋肉と腱の観察

生命科学科 動物再生システム学研究室 乾 雅史



乾 雅史

腹部が半透明で内蔵の様子が見えるガラスカエルや、頭部が透明で大きな眼球が外から見えるデメニギスなど、体の一部が透明な動物について見たことがある人も多いと思います。我々の体は不透明なのでこれらの動物のように内蔵の様子や頭の中が見えることはありませんが、もし見ることができたらどうでしょうか?臓器や細胞の様子を詳細に観察し、働く仕組みを理解したり、病気の兆候を捉えることができるかもしれません。

我々の体の内部を見ることできないのは、私たちの皮膚や組織が不透明で光が通らないから(屈折率の違いや、脂質や結合組織で光が散乱してしまうから)です。近年様々な方法でこの問題を解決し、内部を観察するための「組織透明化」と呼ばれる手法が広く用いられるようになりました。生きたままの個体の観察はまだ無理ですが、固定された動物や植物の組織について、組織中の脂質を取り除く、組織を浸す溶液と観察のレンズの屈折率を調整するなどの方法を組み合わせ、組織の中を光が直進し、向こう側がそのまま見えるくらい透明にできる手法です。この技術と、興味のある細胞や組織に蛍光タンパク質を発現させる手法(この特集の田中先生の記事参照)や、抗体で蛍光標識をつける「免疫染色」という手法を組み合わせると、組織全体が透明になった中で興味の対象となる細胞だけが蛍光で光るサンプルを作ることができます。そして共焦点顕微鏡やライトシート顕微鏡といった顕微鏡(この特集の吉本先生の記事参照)や、多数の平面画

像を三次元画像に再構成するソフトウェアを使い、興味のある組織や細胞を立体的に「見る」ことができるようになります。

このような技術を使うと、3次元的位置や結合が大切であるような組織、例えば脳の中の神経細胞のネットワークなどを詳細に観察する事が可能となります。私たちの研究室ではこれを筋肉や腱といった体を動かすための組織の観察に利用しています。私たちの体には数百もの筋肉が存在し、それぞれが末端で腱につながり、また腱が骨につながることで体を動かしています。我々の手足の筋肉と腱は、元々は別の場所で生じた細胞が正しい場所で結合を作るのですが、その仕組みがわかっていません。私たちの研究室ではこの筋肉と腱が出会うための仕組みを研究しており、組織透明化技術は発生の様々な段階で二つの組織の空間的な配置を知るためのツールとして活躍しています(図1)。

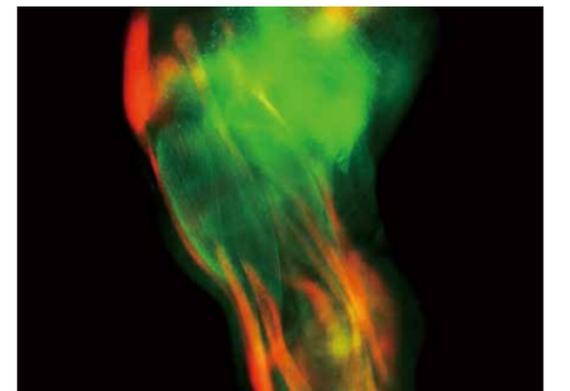


図1. 組織透明化でマウス胚後肢の筋肉(緑)と腱(赤)を可視化した様子。多数の筋肉が腱と結合している様子が三次元的に理解できる。



第21回
ゼンマイ(薇)

ゼンマイはシダ植物の山菜の一つです。ゼンマイ仕掛けの時計やおもちなどのゼンマイはこの植物の新芽の形から名付けられたようです。野生種には草丈が1m以上のものから、30cm以下のものまであります。昭和40年代以降には大型になる株が選抜されて、栽培されています。一方、特に小型の株は園芸用に取引されています。学内では中型の株が南圃場の法面に生えています。周辺植物の夏の草勢に押されて大きく成長できていない可能性もあります。

ゼンマイは生のまま市場にでることはありません。食べるための手順が面倒で、時間がかかることが理由

でしょう。生のものを手に入れたら、乾燥ゼンマイになるまで処理しなければなりません。

同じシダ植物の山菜であるワラビやクサソテツと同様に、新芽がゼンマイの状態写真のように綿毛をかぶっている時に採取します。新芽は孢子葉(写真左二つ)と栄養葉に区別できます。孢子葉のものは味が落ちるとも言われますが、区別しないで採取するのが普通ようです。

採取した新芽は綿毛を丁寧に取り除いた後、重曹などを加えた湯でゆでて灰汁抜きして天日で干します。干す際にはできるだけ何度ももみほぐすことで、より良い品質になります。3~5日かけて乾燥したものは元の1割以下の重量までに減ります。出来上がった乾燥ゼンマイは保存食として利用されますが、食用時には湯戻してから煮物などに加えます。

普段口にするナムルや水煮の山菜ミックスのゼンマイが好みではない人も国産の手作りゼンマイは驚くほどおいしいので、試してもらいたいものです。国産ゼンマイは通販や田舎の道の駅などで購入できますが、100g当たり1500~3000円が相場です。100gでも生で1kg以上の材料から手間をかけて作られていると思えばそれほど高い買い物ではないはず。

ゼンマイの綿毛もかつては利用されていました。ゼンマイの綿毛には防虫、防カビ、防水効果があることから、木綿に2~3割程度加える形で混紡されていたようです。新潟県の亀田縞などでゼンマイの綿毛を含む織物が作られていました。また、和手芸の手毬の心材としても利用されていました。

(農芸化学科 荒谷 博)