

主催 NPO 法人くらしとバイオプラザ21  
共催 東京農工大学遺伝子実験施設  
協賛 個人遺伝情報取扱協議会  
バイオ・ラッド ラボラトリーズ株式会社  
協力 東京テクニカルカレッジ・バイオ科

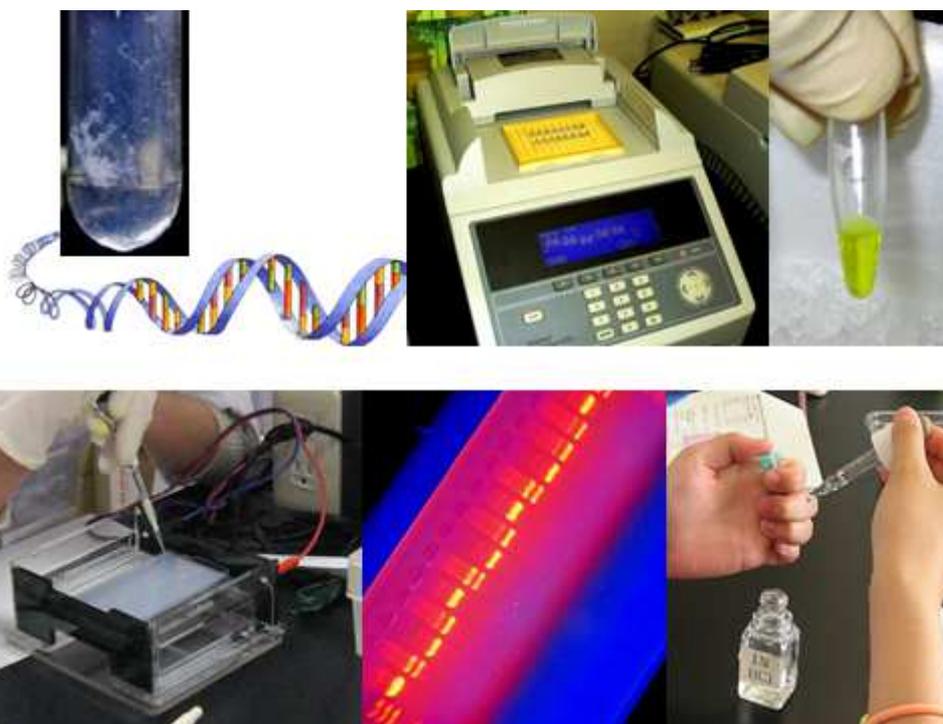
## 第11回ヒトゲノムを用いた実験教室「私たちのDNA」

### 「ゲノム DNA 抽出と Alu 配列の解析」

実験と講義テキスト(2016年版)

おおとう みちえい

大藤 道衛



2016. 9. 24.

## はじめに

DNA、ゲノム、遺伝子などの言葉が新聞や雑誌の紙面を現れて久しくなります。しかし、「DNAとは、どんな形をしているのだろうか?」と興味を抱いたり、「DNA、遺伝子、ゲノムは同じものを指すのだろうか?」、「染色体は遺伝子のことだろうか?」など似たような用語の氾濫で理解に苦しむことはありませんか?

一方、「10年前にヒトゲノムプロジェクトが終了したので、人間の遺伝子が全て調べられ新しい薬や治療方法が続々と生まれる」と期待し、「自分の遺伝子を調べると何時どんな病気に罹るか」、「自分の性格は遺伝子で分かるのではないか」と想像している方もいます。あるいは、「遺伝情報はどのような技術で調べているのだろうか?」と興味をもたれる方もいるでしょう。

### **本教室では、まず実験を行い実物に触れてみます。**

そこで参加者自身が自分の口腔内細胞からゲノム DNA を取り出して、どんな色や形をしているか観察します。更にゲノム DNA 上にある遺伝暗号の一部を調べる実験を行います。

ヒトは、タンパク質の情報が刻み込まれた 2 万以上の遺伝子を持っています。また、霊長類に特異的な配列も多数存在しています。この教室では、ヒト 16 番染色体にある PV92 と呼ばれる部位に Alu 配列が挿入されているかどうかを調べます。この Alu 配列の挿入は、個人個人によって異なる多型です。

個人の遺伝暗号は個人遺伝情報です。遺伝暗号を調べる実験は、文部科学省、厚生労働省、経済産業省「ヒトゲノム・遺伝子解析研究指針」(三省指針)の趣旨に基づいて行います。そこで実験を行うとき、ゲノム DNA を提供する人は、例え自分自身のゲノム DNA を用いて自分で実験する場合でも、「ゲノム DNA を実験に使ってよい。」という同意書が必要です。このため、実験開始前に、実験同意書を各自で作成いたします。

本実験教室では、受講者自身の口腔内細胞からゲノム DNA を抽出し、DNA 解析を行います。

しかし、実験で得られた結果から遺伝子診断や体質診断を行うものではありません。

### **本実験を通じ、ゲノムについて興味を持っていただければ幸いです。**

本テキスト作成に当たり、貴重なご意見ならびにご助言いただきました「NPO 法人くらしとバイオプラザ 21」常務理事佐々義子様、主席研究員笹川由紀様ならびに東京テクニカルカレッジ(TTC)・バイオ科卒業生、須田亙さん、立田由里子さんに感謝いたします。

2016 年 9 月 24 日

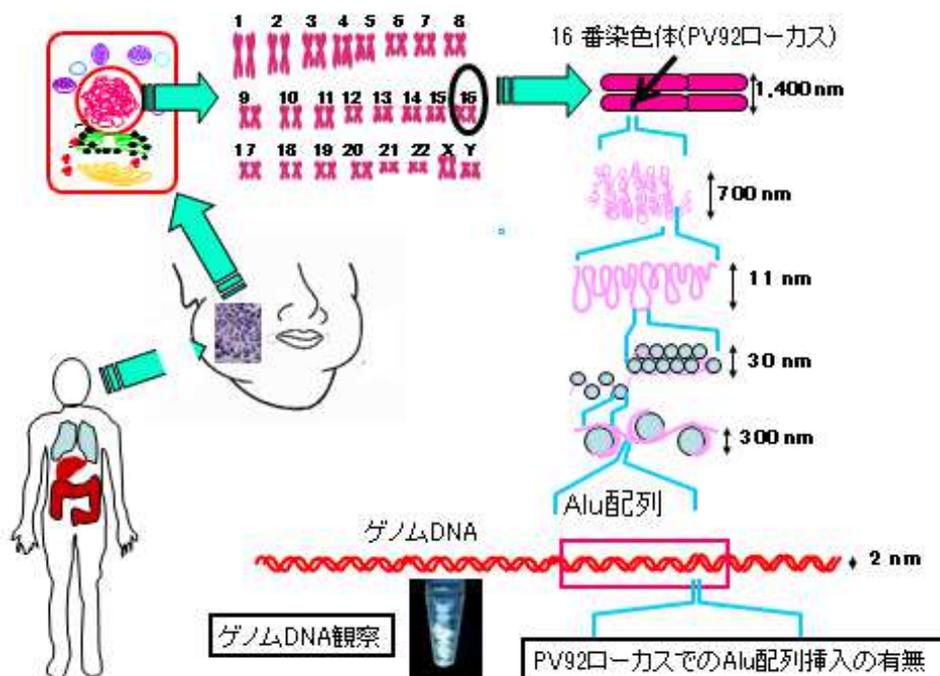
大藤道衛

## 目次

実験の概要と同意書	p. 4～5
言葉や用語の説明(実験でもちいる専門用語)	p. 6～9
機材編、実験操作用語編、用語編、実験するために知っている便利なゲノム DNA の性質	
実験プロトコール(操作手順)編	
1. ピペット操作練習	p. 11
2. 口腔内細胞からの DNA 抽出	
2.1. PCR 実験用ゲノム DNA の抽出	p. 12～13
2.2. 口腔内細胞の採取と粗抽出 DNA の観察	p. 13
3. PCR 反応と電気泳動による解析	
3.1 PCR 仕込みと反応	p. 14
3.2. PCR 増幅産物の電気泳動	p. 15
3.3. 電気泳動結果の見方(Alu 配列挿入の判定)	p. 16
4. DNA の分解によるゲノム情報(個人遺伝情報)の保護	p. 17
6. 実験の詳細をもっと詳しく知りたい方への Q&A !	
6.1. DNA 抽出編	p.17
6.2. PCR 編	p.17
6.3. 電気泳動編	p.18
6.4. 教材編	p.18
6.5. ゲノム情報保護編	p.18
実験背景の講義編	
1. ゲノム、DNA、遺伝子、染色体、Alu 配列とは何か？	p. 20～27
「私たちの DNA」が意味するところ	
遺伝子からゲノムへ～ゲノム DNA を解析する技術の進歩～、PV92 ローカスと Alu 配列	
2. 変異・多型とヒトの進化 ～DNA の多型は、Alu 配列ばかりではない～	p. 27～31
DNA の変異・多型 SNP ～Alu 配列の挿入ばかりでなく変異から多型ができる～	
3. “Nature and Nurture”(生まれ・育ち)とゲノム	p. 32～36
～ジエネティクス(genetics)とエピジエネティクス(epigenetics)～	
個人遺伝情報を保護する仕組み	
4. ゲノムリテラシー・、遺伝子リテラシーを育む	p. 37～39
遺伝子教育教材 “Biotechnology Explorer program”、入門書紹介	
5. 実験方法の原理	
5.1. ヒトゲノム DNA の粗抽出と観察(細胞から DNA を取り出す)	p. 40
5.2. PCR 法による DNA の増幅(遺伝子を増やす仕組み)	p. 40
5.3. 電気泳動	p. 40～41
6. 参考資料	p. 42

## 実験の概要

本講座では、参加者自身がご自分のゲノム DNA を口腔内細胞から取り出し、ヒトゲノム DNA 上にある Alu という配列の有無を PCR-電気泳動技術を用いて調べます。また、取り出したゲノム DNA を目視で観察します。



DNA は、塩酸(HCl)にて分解できますので、実験に使用したゲノム DNA は、塩酸を加え分解することにより、ご自身の手で個人情報を守ります。実験操作自体は簡単ですが、ゲノム研究の現場で用いている試薬や機器を用いますので実践的な体験ができます。

## Alu 配列

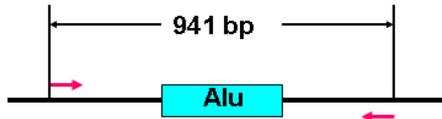
ヒトゲノム DNA 上には、同じ塩基配列をもつ多数の反復配列が存在します。Alu 配列\* は、約 300bp を単位とした配列で、遺伝子内部や遺伝子以外の領域などに存在します。本実験では、第 16 番染色体の PV92 ローカス\*\*にある Alu 配列の有無を解析します。PV92 ローカスには、個人個人により Alu 配列が挿入されている場合と無い場合があります。

このため、Alu 配列周辺を PCR で増幅し PCR 産物の大きさを電気泳動にて解析することで Alu 配列挿入の有無を調べられます。本実験の PCR 産物の大きさは、Alu 配列の挿入があった場合は約 940bp、なかった場合は約 640bp となります。ヒトは 2 つの相同染色体を持つため、Alu 配列挿入の有無による多型は、ホモ接合体(Homozygote)またはヘテロ接合体(Heterozygote)となり、電気泳動バンドのパターンにより解析できます。

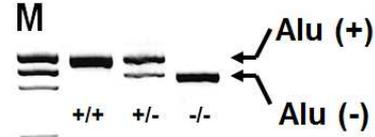
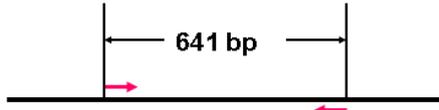
\*この配列は Alu という名の制限酵素(DNA を切断する酵素)で切れることから”Alu 配列”と呼ばれています。

\*\*r ローカス(locus: 遺伝子座)といい、ゲノム DNA 上の遺伝子やある塩基配列がある場所、番地を示します。

### Alu配列挿入 有(+)



### Alu配列挿入 無(-)

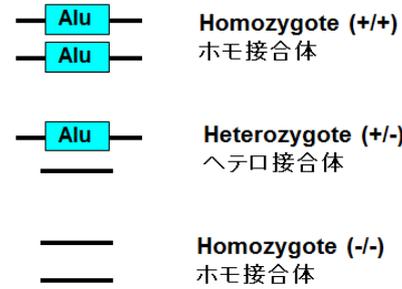


Alu 配列挿入の有無による PCR 産物の大きさの違い

Alu 配列挿入による多型と電気泳動バンド

### 実験の同意書

ゲノム DNA には個人遺伝情報が刻み込まれています。このため基礎医学などの研究でヒトゲノム DNA を用いた実験を行う場合、ゲノム DNA 提供者に対し、研究内容の詳細をご理解いただき(インフォームドコンセント)、その趣旨に同意した証となる同意書を研究機関に提出することが国の倫理指針で決められています。



Alu 配列のホモ接合体とヘテロ接合体

今回行う実験は、研究目的ではなく、自分のゲノム DNA を用いたゲノム教育が目的の実験です。この場合もヒトゲノム DNA を用いた実験が含まれますので、通常のゲノム研究に準じて同意書の記載が必要です。

### 同意書

東京農工大学遺伝子実験施設長殿

私は平成27年9月26日開催の「ゲノム実験教室(私たちのDNA)」に参加し、実験講師大藤進衛より実験の目的、対象とする遺伝子、使用したゲノムDNAの産生方法について説明を受け理解しました。実験教室にて私が実験をおこなう際、私のゲノムDNAを実験に使用することに同意いたします。

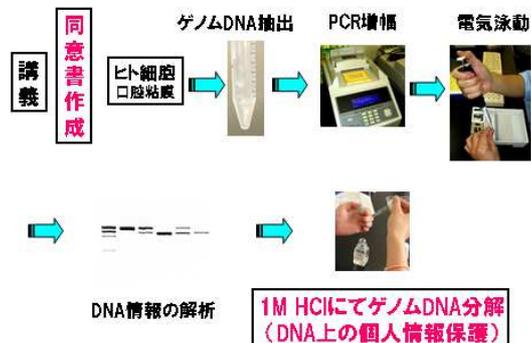
- 説明を受け理解した項目(□の中に自分でいを付けてください。)
- 本講座は、受講者自身のゲノムDNAを用いた実験を通じ、ヒトゲノムについて学ぶ実験教室です。
  - ゲノムDNAには個人の遺伝子情報が含まれています。
  - 他の受講生の個人遺伝情報について知りえても、それを利用しません。
  - 実験では、ヒトに特徴的なAlu配列について調べます。
  - Alu配列の持つ意味や病気の関連について学びます。
  - 実験結果を、他の目的に使用することはありません。
  - 本実験終了後、使用したゲノムDNAを1M HClで分解し情報を保護します。

日付:平成27年9月26日

生年月日: 年 月 日  
住所:  
氏名: 印

ゲノム実験教室(私たちのDNA)・実験責任者  
東京テックカレッジ・バイオテクノロジー科・講師  
東京農工大学・農学部・非常勤講師

大藤進衛 印



## 言葉や用語の説明(実験でもちいる専門用語)

実験では、様々な専門用語が出てきます。専門用語を知ると実験がより理解できます。また、科学雑誌を読んだり、テレビで実験のシーンが出てきた際、イメージしやすいと思います。今回の実験でよく用いる用語を挙げてみました(参考資料 1, 2)。

## 機材編

チューブ→試験管のこと、実験ではプラスチック製のものをを用いる(使い捨て)。



マイクロピペット→液体を採取する道具。



チップ→マイクロピペットの先端に付け、液体を採取するもの(使い捨て)。



## 小型の遠心分離機

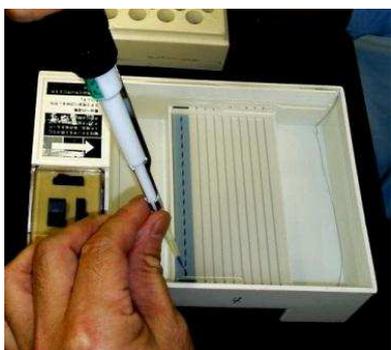
遠心力によりチューブ内の固形物を底に集めることができる機械



PCR→少ない DNA を増やす反応。  
実験は反応温度を一定時間ごとに変化させて行う。



ゲル電気泳動→DNA を大きさに基づいて調べる分析方法



インキュベーター→温度を一定にして反応を行わせる機器  
空気を循環させる機器、水の温度を一定にする機器(ウォーターバスともいう)、アルミブロックインキュベーターがある。



ウォーターバス



アルミブロックインキュベーター

## 実験操作用語編

仕込み→実験のときに、試薬をチューブに加えて反応や機械に掛ける準備をすること

抽出→細胞内から特定の物質を取り出すこと  
(この実験では、細胞内から DNA を抽出する)。

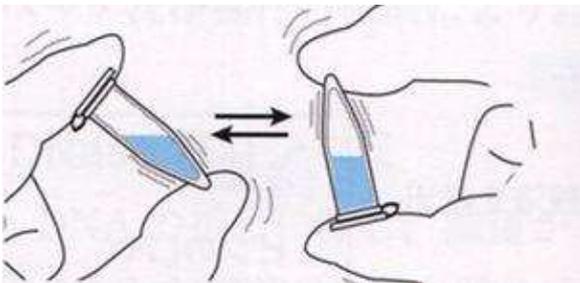
ピペティング→溶液の混ぜ方の1つ。溶液をピペットのチップ中に吸い込んだり、出したりすることを繰り返し、溶液を混ぜる。



タッピング→溶液の混ぜ方の1つ。利き手の中指の腹でチューブの先端を、ゆっくり叩くことで溶液を混ぜる。



転倒混和 (Ups and Downs)→チューブをひっくり返しながら溶液を混ぜる。



## 用語編

**酵素**→からだの中にあるタンパク質で特定の反応を進める物質。生体触媒とも言う。

例：唾液の中にある酵素「アミラーゼ」は、大きな糖分子であるでんぷんを分解して小さな糖に変えます。膵液に含まれる酵素「トリプシン」は、タンパク質を分解します。

**塩基対 (base pair: bp)**→DNA の大きさを表す単位。DNA には、アデニン(A)、グアニン(G)、シトシン(C)、チミン(T)という4種類の塩基が含まれています。この塩基の並び方が遺伝暗号である。このため、DNAの大きさをこの塩基の数で表す。bp数が大きいDNAは多くの塩基を含んでおり、多くの情報を持っています。

**ヒト、人**→人間を示す場合、生物学的に人間を指す場合にヒトといいます。一方、人格や個性をもつ人間を人と表します。今回の実験では、「〇〇さんという”人”から、”ヒト”ゲノムDNAを取り出しDNAを分析します。」

**解析**→分析と同じような意味。物質の化学構造を調べたり、その物質が果たす役割を調べたりする意味です。ここでは、DNAの大きさを調べたり、構成成分の分析を行って、遺伝子情報を調べる意味で使っています。遺伝子解析、ゲノム解析、DNA解析など

**バンド**→電気泳動実験を行うとDNAは帯のような線として見えます。この帯をバンドといいます。(15-16ページ、41ページ 図30)

**多型**→DNAの塩基配列が、人により異なることをいいます。本実験で扱うAluという名前の300塩基対のDNA断片がゲノムDNAに挿入されてる人といない人がいます(4-5ページ、26ページ)。このようなAlu配列の有無は多型の一つです。また、1塩基の配列が人により異なることがあります。これも多型で1塩基多型(SNP)といいます(28-31ページ)。

## 実験するために知っている便利なゲノムDNAの性質

① DNAは熱に強い物質です。

正確には、熱で形が変わります(2本鎖→1本鎖)が、温度を下げれば元に戻ります。

② DNAは、DNA分解酵素で壊れてしまいます。

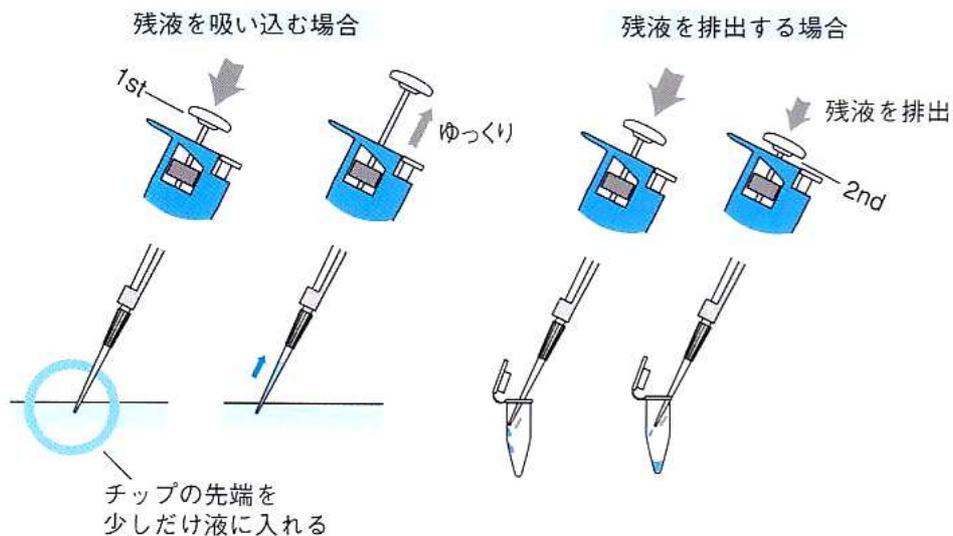
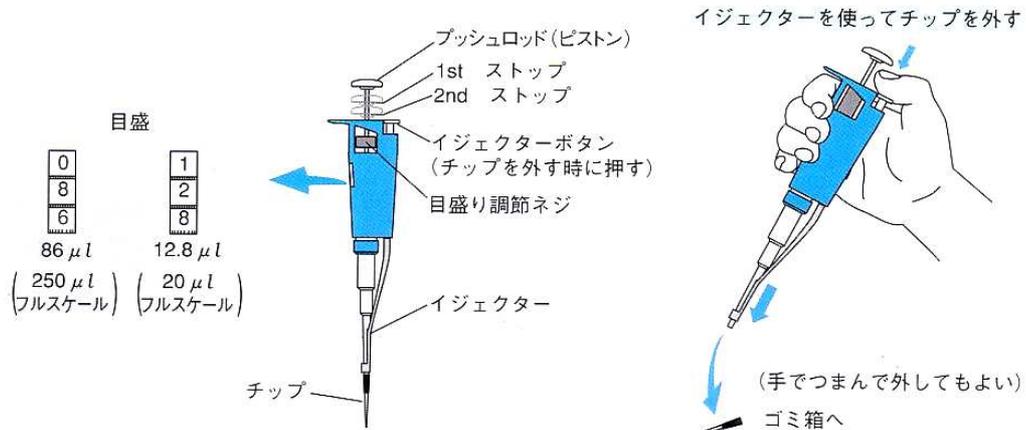
そして、DNA分解酵素は、細胞内ばかりでなく唾や汗の中にも入っています。⇒実験中に、唾液や汗が実験系(チューブなど)に入らないようにします。

③ あまり激しく攪拌すると物理的に切れてしまいます。

# **実験プロトコール(操作手順)編**

# 1. ピペット操作練習

ピペットの使い方を練習します(参考資料1)。



★B.J. (ブルージュース: 青い色素液) を水に溶かし込む練習をしましょう。



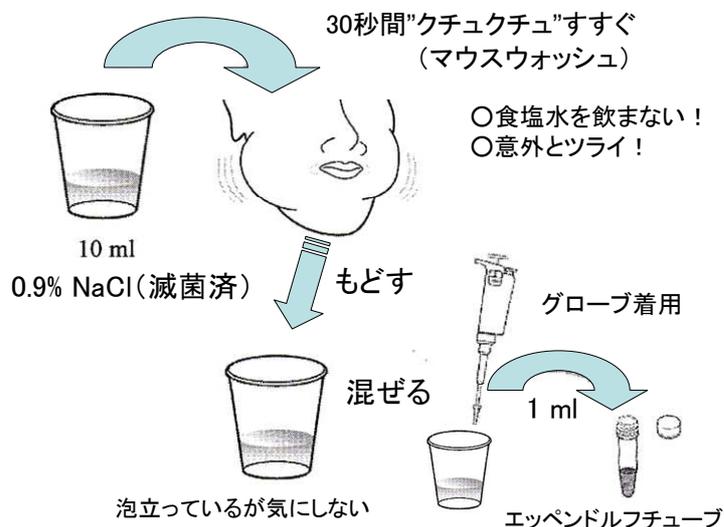
チューブに 100  $\mu\text{l}$  の水が入っています。

その中へマイクロピペットを用いて、20  $\mu\text{l}$  の B.J. 液を加えてピペティングして溶かしましょう。

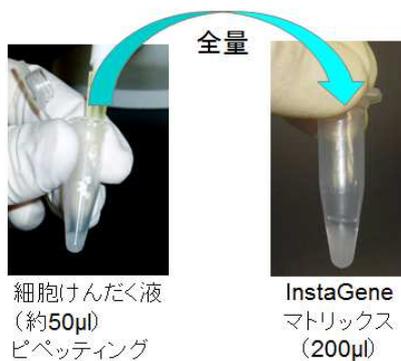
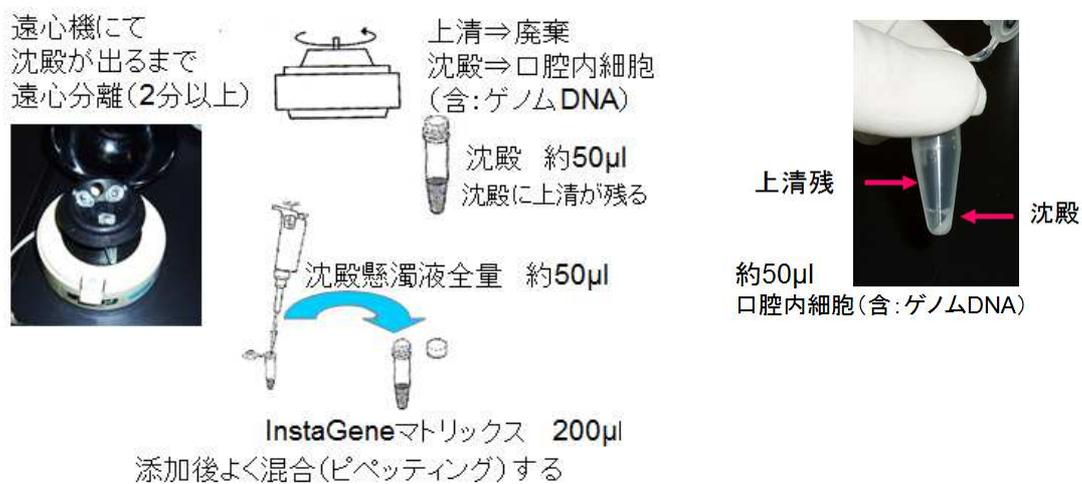
## 2. 口腔内細胞からの DNA 抽出

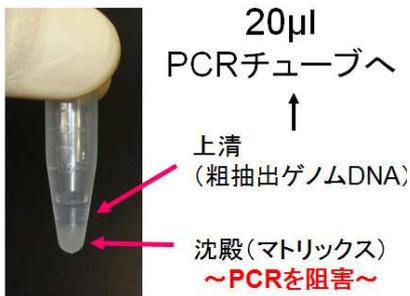
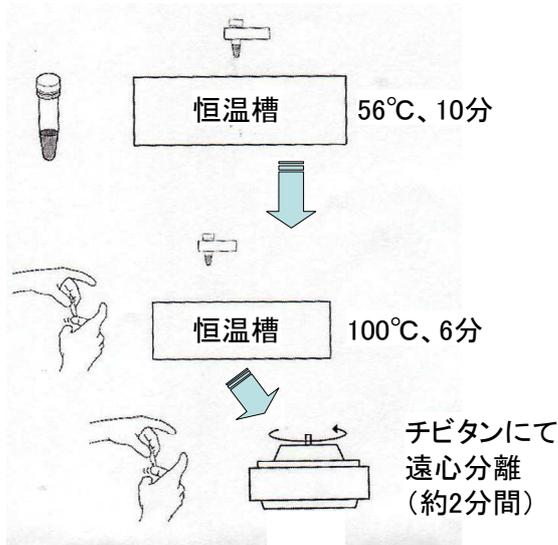
### 2.1. PCR 実験用ゲノム DNA の抽出

マウスウォッシュにより自分の口腔内細胞を採取し、そこからゲノム DNA を抽出します。



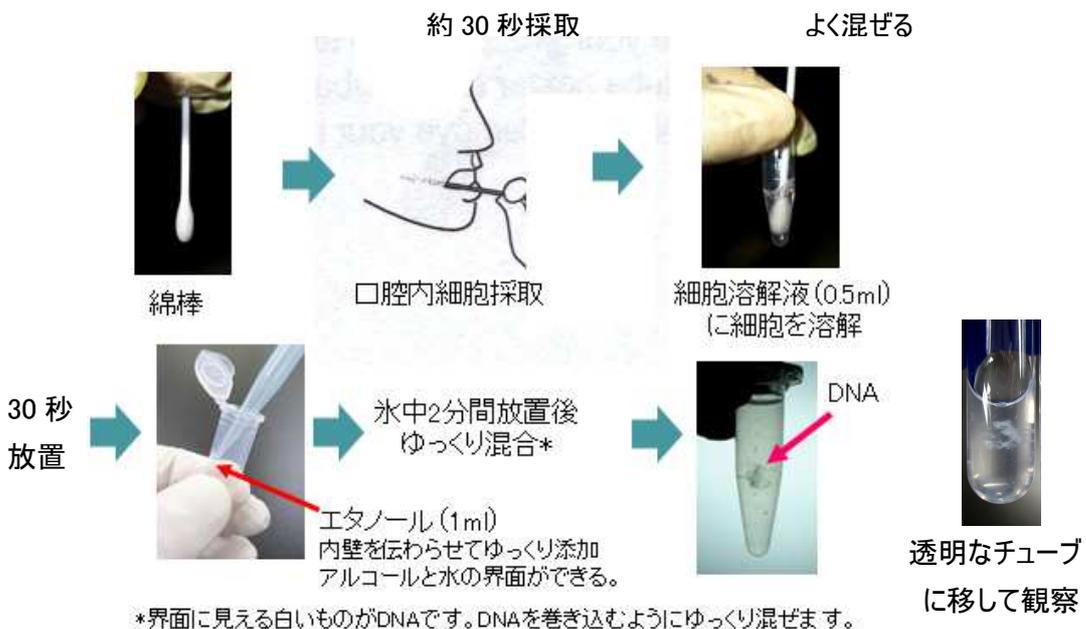
**手袋着用**





InstaGene マトリックスは PCR 反応を阻害するので PCR チューブに入らないように注意。

## 2.2. 観察用ゲノム DNA の抽出 (口腔内細胞の採取と DNA の粗抽出)



### 3. PCR 反応と電気泳動による解析

PV92 部位を増幅します。電気泳動で分析するために、抽出したゲノム DNA を鋳型とし PCR 反応を用いて PV92 部位を増幅します。続いて増幅した DNA を電気泳動にかけます。

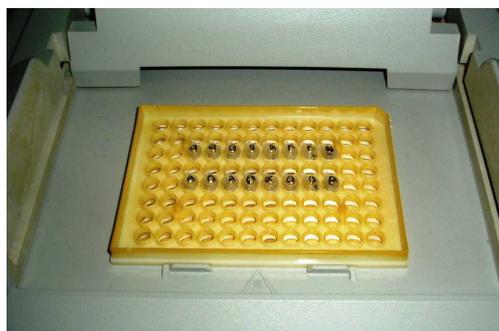
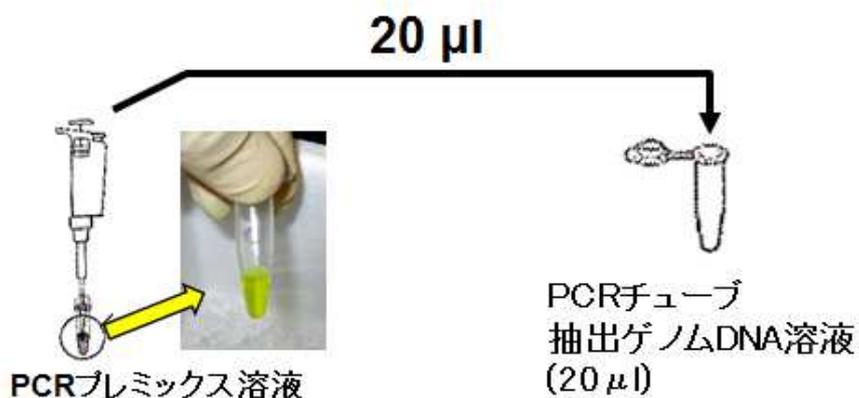
#### 3.1. PCR 仕込みと反応

抽出ゲノム DNA (自分の口腔内細胞の DNA)	20.0 $\mu$ l
PCR プレミックス溶液(黄色に着色)	20.0 $\mu$ l

---

全量	40.0 $\mu$ l
----	--------------

注:PCR プレミックス溶液(黄色溶液)の添加は、スタッフが行います。



プログラムインキュベータ(ABI 9700)を用い、約 3 時間で DNA の PV92 領域が増幅します。

### 3.2.PCR 増幅産物の電気泳動

PCR 産物	40 $\mu$ l
色素液(オレンジ色)	10 $\mu$ l
全量	50 $\mu$ l

↓

ピペットを用い 20  $\mu$ l をゲルの穴に添加。

- ・ゲルには、変異原性をもつ EtBr (50  $\mu$ g/ml) が含まれています。
- ・サンプル添加時には、素手でゲルを触らないようにしましょう。
- ・実験を評価するためのマーカーやコントロールの DNA は、スタッフが添加します。

↓

ゲル電気泳動 100V、約 30~40 分

(マーカーの青い色素が、トレイの指示バー5 本目まで泳動)

↓

UV(254 nm 紫外線)

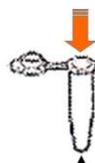
トランスイルミネータ上で写真撮影(注)

↓

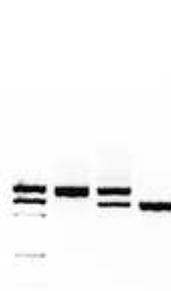
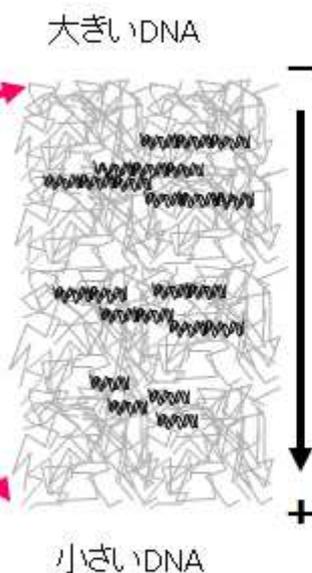
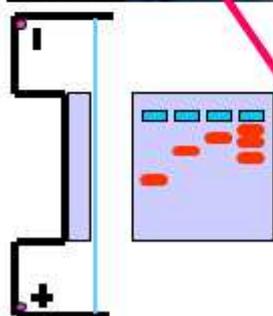
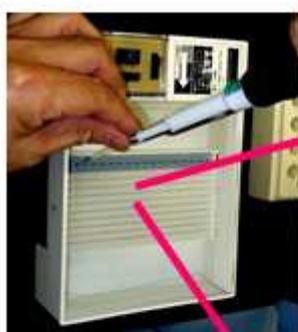
電気泳動バンドの検出

注: 変異原性があるエチジウム・ブロマイド(Ethidium Bromide)ならびに紫外線を用いるため、スタッフが行います。また、大きさが分かっている「塩基対マーカー」、「コントロール DNA」は、スタッフが、別のレーンに各 10  $\mu$ l を添加します。

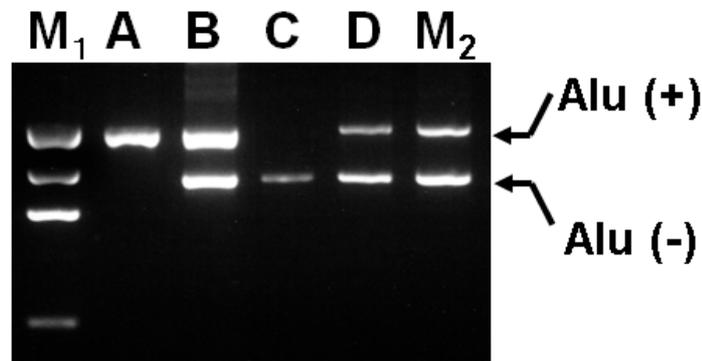
色素液(オレンジ色) 10 $\mu$ l



PCR増幅DNA 40 $\mu$ l



### 3.3.電気泳動結果の見方 ～Alu 配列挿入の有無(多型)判定～



#### 電気泳動結果の例

M<sub>1</sub>:塩基対マーカ(1,000, 700, 500, 100bp)、M<sub>2</sub>: PV92 Alu マーカ(+/-)、A～D:検体  
私たちは、遺伝子を父、母のゲノムから受け継いでいるためPV92 部位も 2 つ持っています。  
この実験では、Alu の挿入は、+/+、+/-、 +/- の 3 種類のいずれかになります。ただし、父由来か母由来かは、この実験だけでは決められません。

この事例結果の判定は、下記のようにになります。

A: +/+、B: +/-、C: -/-、D: +/-

## 4. DNA の分解によるゲノム情報(個人遺伝情報)の保護

実験の用いたゲノム DNA ならびに PCR 増幅した DNA は、1M HClを加えて分解し、ゲノムに含まれる遺伝子情報を保護します(参考資料 3)。

1. 粗抽出ゲノム DNA
2. PCR 増幅 DNA

マイクロピペットにて 50  $\mu$ l の 1M HCl を、各チューブに添加して分解します。



分解された DNA を含む溶液は、酸性廃液として中和後、廃棄します。

## 6. 実験の詳細を知りたい方への Q&A !

### 6.1. DNA 抽出編(参考資料1, p. 88)

#### Q:細胞溶解液(Lysis Buffer)にはどんな物質が入っていますか？

A: 50 mM Tris/HCl pH 8.0, 10 mM EDTA, 3.0 M Urea, 0.3 M NaCl, 1.0% SDS です。  
DNA を目視しやすく Urea の濃度を最適化しています。

#### Q:細胞溶解液(Lysis Buffer)の各成分の役割は何ですか？

A: 各々の試薬は細胞を溶かし、DNA を取り出す役割を持っています。

Tris/HCl pH 8.0→緩衝液(pH を一定にする溶液)DNA が安定な pH を保ちます。

EDTA→DNA 分解酵素を阻害します。このため抽出中に DNA の分解を防ぎます。

Urea(尿素)→細胞膜を破壊し、共存するタンパク質を変性する物質です。

NaCl→エタノール(アルコール)を加えたときに DNA が固まりになりやすくします。

SDS→界面活性剤:細胞膜を溶かす試薬です。

### 6.2. PCR 編(参考資料1, p. 105-108)

#### Q:プレミックス溶液にはどのような成分が入っているのですか？

A: プレミックス溶液には、PCR 反応による DNA 合成に必要な成分が含まれています。

H<sub>2</sub>O、dNTP(DNA の素材:A、G、C、T)、10 倍濃縮緩衝液(pH を一定する役割)\*

プライマー(特異的プライマー2 種類)、耐熱性 DNA polymerase(DNA 合成酵素)\*\*

\* Mg イオンを含む 10x 緩衝液(耐熱性 DNA polymerase に至適な緩衝液)

\*\* dNTP(dATP、dGTP、dCTP、dTTP の混合溶液)

#### Q:PCR 反応の条件は、どのような温度で行われるのですか。

A: プログラムインキュベータを用いて一定時間ごとに温度を変化させて行います。

まず、94°Cで 2 本鎖 DNA を1本鎖に DNA にします(熱変性)。続いて 60°Cにてプライマー DNA を結合させます。更に、72°Cで DNA ポリメラーゼ(合成酵素)を働かせ、プライマーを起点として DNA を合成し伸長させます。この 3 つの温度を 40 回繰り返す中でプライマーに囲まれた DNA 領域を増幅します。

94 °C                      2 min

94 °C	40 sec	40 cycle
60 °C	40 sec	
72 °C	90 sec	

72 °C                      10 min

4 °C                        ∞

本実験での使用機器: ABI 9700 (Thermofisher Scientific, Life technologies)

### 6.3. 電気泳動編(参考資料1, p. 64-65, 108-109)

#### Q: 電気泳動で用いる緩衝液の中身(組成)は何ですか?

A: TAE 緩衝液です。アガロースゲル内には、EtBr(Ethidium Bromide)が含まれています。TAE の組成は、20mMTris/Acetate buffer pH7.8, 1mMEDTA です。

**DNA を検出するためゲルには、50  $\mu$ g/ml の EtBr が含まれています。これは、変異原性物質であるため、使用の際は手袋を着用します。**

**使用後の EtBr は、チャコール吸着、焼却(融解温度約 260°C)により処理します。**

#### Q: 電気泳動で用いるゲルの濃度はどれくらいですか?

A: 2%アガロースゲルです。

本実験では、アガロース ME (Lonza Rockland, Inc)を用いています。

### 6.4. 教材編

#### Q: 本実験では、教育用キットを使ったのですか?

A: PCR 実験は、“Bio-Rad Explorer™ program (Bio-Rad Laboratories)” の“Chromosome 16 PV92 PCR/Informatics kit”という教材キットの仕様を変えて使っています。Catalog 番号:#166-2100EDU

このキットは、米国 Bio-Rad Laboratories 社が開発した高等学校向け教育教材です(詳細は、35~37 ページ参照)。キットの仕様では、実験に2日間を要するため、本実験では以下の点を変更して行っています。

1. PCR 反応の各ステップで時間を短縮している。
2. DNA の染色方法は、キットで推奨している FastBlast ではなく、短時間で感度よく検出できる EtBr をゲル内に加える方法(先染め法)で行っている。
3. キットには含まれていない DNA 観察は、自家製試薬を用いて行っている。  
処方は、17 ページおよび参考文献 4 に記載。

### 6.5. ゲノム情報(個人遺伝情報)の保護編

#### Q: 塩酸を加えるとどうして DNA は分解するのですか?

A: DNA は、塩基と糖がリン酸ジエステル結合した高分子物質です。塩基の並び方が遺伝子情報を含むゲノム情報です。配列があつて意味のある情報です。塩酸を加えると、リン酸ジエステル結合が離れて、塩基の配列がばらばらになってしまいます。このため、情報がわからなくなってしまいますので、情報が解読できません(保護されます)。終濃度 0.5M 以上で分解することを確かめています。

# 実験の背景

## 講義編

A. ゲノム、DNA、遺伝子、染色体とは何か？

G. Alu 配列の話(ヒトの DNA と進化)

C. 生まれと育ち(ジェネティクスとエピジェネティクス)

T. ゲノムリテラシー・遺伝子リテラシーを育む

(米国で始まった遺伝子リテラシー教育)

## 1. ゲノム、DNA、遺伝子、染色体、Alu 配列とは何か？(参考資料 2)

ゲノムは、その生物がもつ遺伝子の1セットという概念です。

例えば人間で言うならば、「私」は、父親から遺伝子の1セット(ゲノム)を母親から遺伝子の1セット(ゲノム)をもらっています。ではゲノムは、どのような物質で、どこにあるのでしょうか？そして、遺伝子とはなんのでしょうか？図1を見てみましょう。

遺伝子は、遺伝暗号を持っているなどと言われますが、実態はタンパク質を構成しているアミノ酸の配列を決めている情報です。そして、遺伝子はDNA(デオキシリボ核酸)という物質で出来ていて(図2)DNAの成分である4種類の塩基(アデニン:A、グアニン:G、シトシン:C、チミン:T)の並び方(塩基配列)がアミノ酸配列を決めています。

遺伝子はタンパク質の情報を蓄えたDNAです。

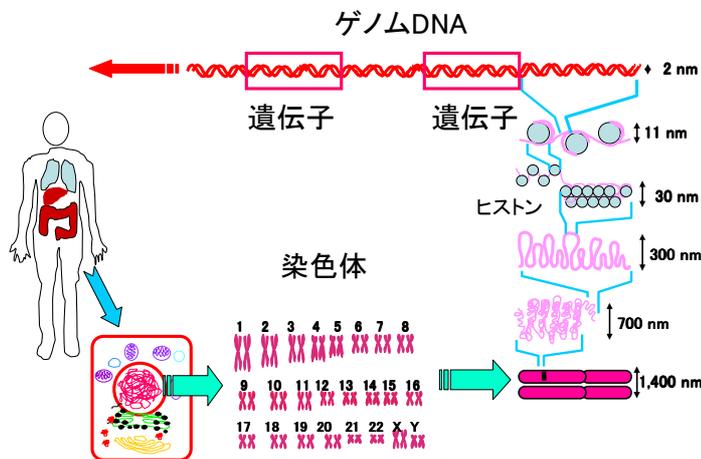


図1 ゲノム、遺伝子、DNA、染色体の関係(参考資料1, p. 76 より改変して引用)

ヒトの体は約 60 兆個の細胞から出来ています。細胞が分裂するとき、各々の細胞の核内には染色体が出来ます。その染色体をほぐすとヒストンタンパク質とDNAからできています。DNAの一部は遺伝子となっています。

😊 チョット一言:「ヒト」と「人」。「ヒト(human being)」は生物学で言う人間、「人(people)」は社会の中での人間。

😊 チョット一言:ゲノムとは、genome=gene(遺伝子)+chromosome(染色体)から生まれた造語です。また、ome は全体を意味する接尾語です。このため、ゲノム=遺伝子全体となります。核酸(nucleic acid)とは、細胞の「核(nucleus)」にある「酸(acid)」性物質(pH7付近でマイナス電荷)が語源です。

遺伝子の1セットであるゲノムの実態(物質)は、細胞の核の中にあるDNAであることからゲノムDNAということがあります。ゲノムDNAの上には、遺伝子がたくさんあります。このゲノムDNAはヒストンというタンパク質と結びついた複合体を作っています。そして、細胞分裂の際、ゲノムDNAとヒストンタンパク質の複合体は凝集し染色体として観察されます。染色体は、

細胞分裂で新たな細胞にも分配されるため、細胞ごとに同じ遺伝子が分配されます。ゲノム、DNA、遺伝子、染色体の関係を文章で書くとこのようになります。

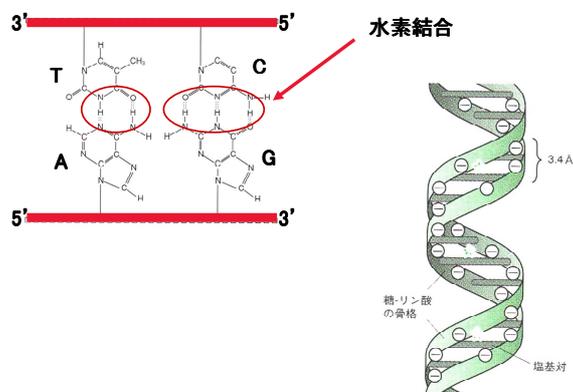


図 2 DNA の構造

DNA は糖とリン酸の骨格に 4 種類の塩基 (A: アデニン、G: グアニン、C: シトシン、T: チミン) が結合した物質です。4 種類の塩基の並び方が遺伝暗号となっています。

### ★ゲノム DNA そして遺伝子はどこから「私」の細胞にやってくるのでしょうか？

「私」の体細胞にある染色体には、ゲノム DNA が 2 セット含まれており、遺伝子が存在します。「私」は、卵や精子という生殖細胞を通じて両親からゲノム DNA を 1 セットずつ貰っています (図 3)。このため「私」は両親からゲノム DNA に含まれている遺伝子を受け継いでいます。「私」は同じ遺伝子を最低 1 ペアールをもっています (図 4)。しかし、両親で遺伝子の構造 (塩基配列) が少し異なる場合があります。このような違いには、変異・多型があります。

ところで、遺伝子はゲノム DNA の上に密集して存在しているわけではありません。2003 年に終了した国際ヒトゲノムプロジェクトの成果によるとヒトゲノム DNA は約 30 億塩基対 (体細胞では 60 億塩基対) からなりタンパク質の情報をもっている遺伝子は、ゲノム DNA 全体の 2-3% 程度であることがわかっています (図 5)。では、遺伝子以外のゲノム DNA には、どのような情報があるのでしょうか？ゲノム DNA には、遺伝子の情報を引き出し、タンパク質をつくるために必要なプロモーターなどの調節配列 (図 5)、更には、遺伝子の情報を引き出す際に重要な役割を担う RNA という物質の情報も含まれています (図 6)。このように、ゲノム DNA のほとんどの領域は、生命活動に必要な様々な情報を持っています。

### ★遺伝子とタンパク質の関係

遺伝子は、DNA でできています。細胞内では DNA の塩基配列に従って、様々な RNA が作られます。この中のメッセンジャー RNA を介して、タンパク質のアミノ酸配列が決まります。3 つの塩基配列 (コドン) が 1 つのアミノ酸を決めています (図 7)。DNA の塩基配列が RNA に写し取られ (転写)、タンパク質のアミノ酸配列に翻訳される過程は基本的には全ての生物で同じです (セントラルドグマ、生命の骨格)。

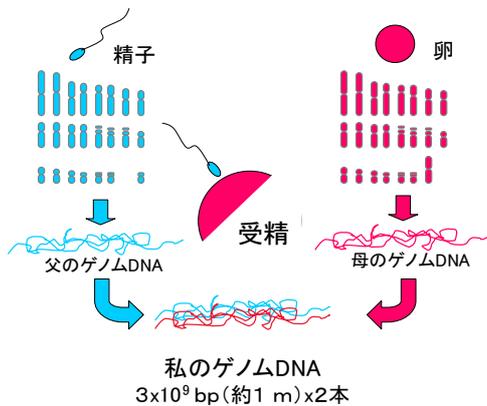


図3 生殖細胞(卵と精子)とゲノム(参考資料1, p. 77 より改変して引用)

「私」のゲノム DNA は両親から受け継いでいます。卵や精子のゲノム DNA は、両親からもらった遺伝子をシャッフルして半分になっているため 1 セットのゲノム情報が含まれています。

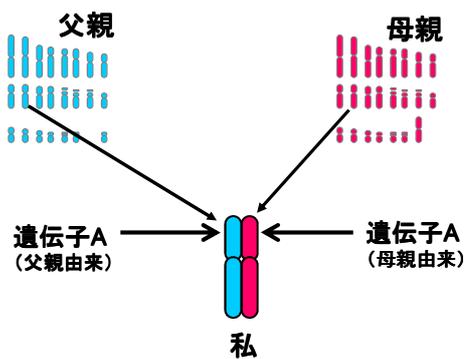


図4 両親から受け継いだ「私」の遺伝子

「私」は、各遺伝子は両親から受け継いでいます。このため少なくとも各遺伝子は1ペアあります。

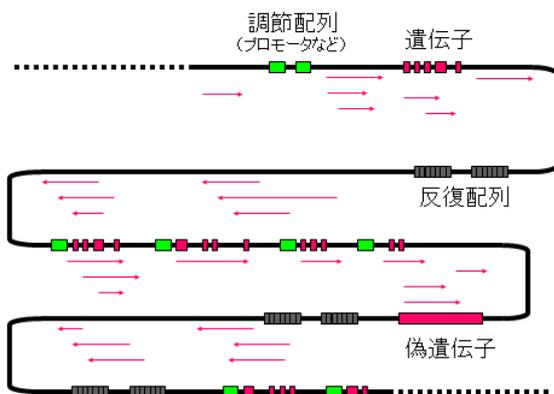


図5 ゲノム DNA と遺伝子

ゲノム DNA 上には、タンパク質のアミノ酸配列の情報を持つ遺伝子があるばかりではありません。遺伝子の情報を引き出すために必要な調節配列(プロモータ等)や特定の塩基配列の繰り返し配列領域なども

存在します。これらは、全て4種類の塩基の配列です。さらに、機能をもったRNAの情報をもつ領域(細い赤い矢印が、発現する領域)も含まれており、ゲノムDNAの大部分は重要な情報をもっています。

😊 チョット一言：ゲノムDNAのうち遺伝子でない部分には、数多くの繰り返し配列(例えば、CACACA——というCとAが繰り返している領域など特定の塩基の繰り返し配列)が存在します。その繰り返し数が、個人個人で異なることがあります。個人よるDNA配列の違いを多型(polymorphism)といい、マイクロサテライト配列や1塩基多型(SNP)などが含まれます。DNAの多型を利用して、個人鑑定や親子鑑定も可能であり、犯罪捜査などに利用されることがあります。これは、DNAの指紋のようなものです。本実験教室では、Alu配列挿入の有無(insertion/deletion: indel)という多型を調べています。

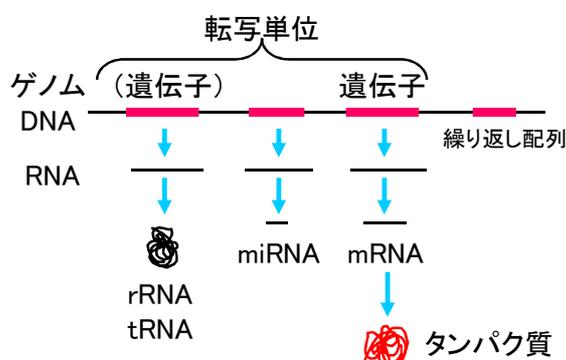


図6 ゲノムDNAに蓄えられている更なる情報(参考資料1, p. 77より改変して引用)

タンパク質の情報を持つ遺伝子の他に、ゲノムDNAには様々RNAを作るための情報も含んでいます。RNAは、遺伝子の情報に沿ったタンパク質合成に直接関与したり、合成の調節を行っています。遺伝子を含めて、RNAができる領域を転写単位と言うことがあります。mRNA:メッセンジャーRNA、rRNA:リボソームRNA、tRNA:トランスファーRNA、miRNA:マイクロRNA(遺伝子発現の調節機能を持つRNA)

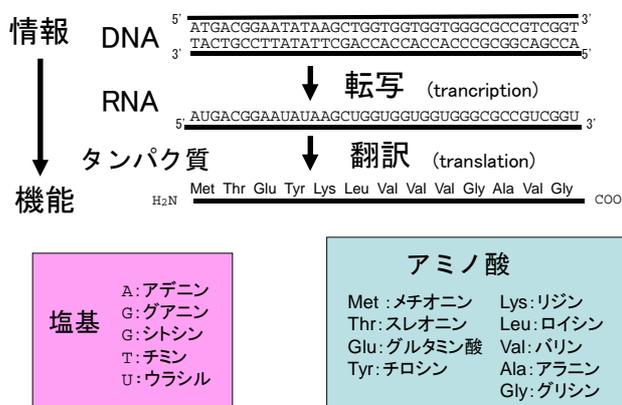


図7 遺伝子とタンパク質の関係

DNAの塩基配列(遺伝暗号)に従いメッセンジャーRNAが合成され、アミノ酸配列が決まり、タンパク質が合成されます。この仕組みは、ほとんど生物で共通の流れであることから「生命の中心命題(Central dogma)」または「生命の骨格(Framework of life)」言われています。

😊 チョット一言: 塩基 3 つが、1 つのアミノ酸の暗号です。これをコドンといいます。例えば、ATG はメチオニンというアミノ酸を作りなさいという暗号です。コドンは遺伝暗号の 1 単位みたいなものです。

### ★「私たちの DNA」が意味するところ

私のゲノム DNA には、私の両親、両親の両親、そのまたご先祖のゲノム情報が受け継がれ、私の子供に伝えていくこととなります(図 8)。このため、私のゲノム DNA にある個人遺伝情報を調べることは、私個人ばかりでなく私の両親や子供たちの個人遺伝情報の一部を垣間見ることとなります。つまり「私の DNA」は、「私たちの DNA」です。本実験教室のテーマが「私たちの DNA」であるのは、このような意味を持っています。

そして、ゲノムは、2 つの役割を持っています。

- ① 遺伝子に刻まれた遺伝情報を親から子へ(遺伝)、細胞から細胞へ伝える役割
- ② 遺伝情報をもとにしたタンパク質や RNA による生命活動を担う役割(遺伝子発現)

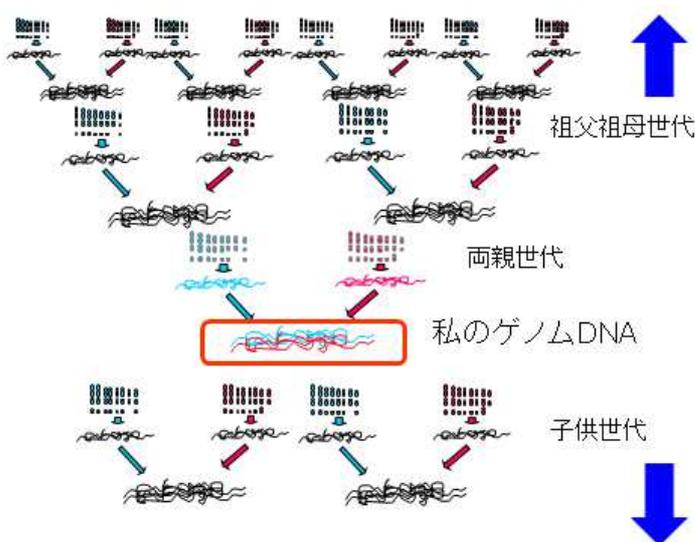


図 8 受け継がれるゲノム

ゲノム DNA に乗っている情報は、世代を超えて受け継がれます。

### ★遺伝子からゲノムへ～ゲノム DNA を解析する技術の進歩～

ゲノム概念は 20 世紀に確立したものの、実際にゲノム DNA としての網羅的解析は技術的に困難でした。遺伝子の全体を含むゲノム DNA を調べられるのは、21 世紀に入っての技術の進歩によるものです。ヒトゲノムプロジェクトがほぼ終了する 2002 年に米国 NIH が打ち出した 1000 ドルゲノムプロジェクトを受けて DNA の塩基配列を調べる装置(DNA シークエンサー)が 2005 年以降急速に進歩しました(図 9)。

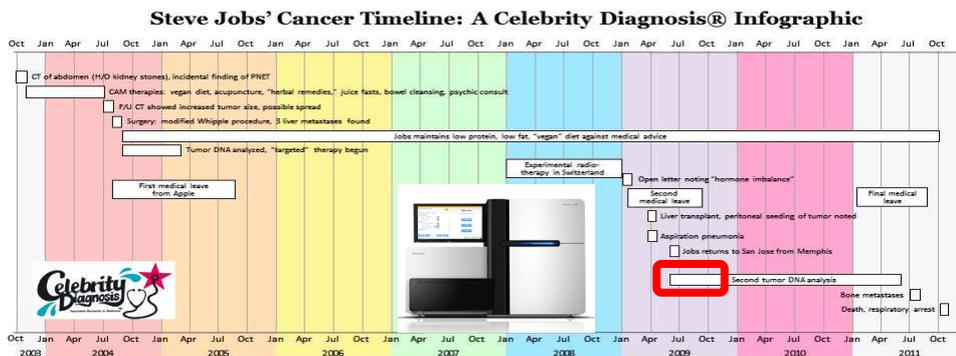


図9 DNA シークエンサーの進歩(電気泳動によるシーケンサーから NGS へ)

1ヒトゲノム/台は、約30億塩基対のDNAを1回分析した時の時間を表しています。実際には、同じ配列を何度も分析しますからさらに時間がかかります。費用は、十分な解析を行った場合を示しています。(Nature News, 494, 290-291(2013)、参考資料9および各社仕様書をもとに作成)

2005年以前のDNAシーケンサーはキャピラリー電気泳動をもちいた装置で、1回の解析量に限界がありました。超高速でDNA解析できる新しいDNAシーケンサーは、「次世代シーケンサー(next generation sequencer: NGS)」と呼ばれ、DNA配列を並列に網羅的に調べることで、個人のゲノムDNA解析ばかりでなく、網羅的な遺伝子発現解析、さらには環境中にある微生物のDNAを網羅的に調べるメタゲノム解析など幅広く応用できる技術となりました。大量のデータが生産されるため超高性能のコンピュータが必要です。このような装置により各遺伝子ではなく、ゲノム全体を見ることができるようになりました。まだ未発売ですが、ナノテクノロジーをもちいたフラッシュメモリーほどのNGSも開発されています。

😊 チョット一言: 2011年に亡くなられたSteve Jobsさんは、がん治療の過程でNGSを用いて自分のがんにおこっている遺伝子の変異を網羅的に調べ、治療に役立てようとした。残念ながら亡くなられましたが、近い将来、ゲノムDNAを調べて治療に結びつける時代がくることを示唆してくれました。



Celebrity Diagnosis <http://www.celebritydiagnosis.com/>

“Steve Jobs’ Cancer Timeline and Eating Disorder: An Infographic”

Stanford、Johns Hopkins、Broad Institute of MIT、Harvard のグループが、Steve Jobs さんのがんの遺伝子解析を行いました。2016 年現在、多数のがん患者さん、健常人の協力のもと NGS を用いて網羅的ながんの原因遺伝子変異を調べ将来の診断・治療に結びつけようとする研究が米国を中心に進められています。これを Precision Medicine といいます。

### ★PV92 ローカス(座位:位置)と Alu 配列

本実験教室で PCR 増幅する Predicted variant (PV)92 ローカスは、第 16 番染色体上の H-cadherin (CDH13) 遺伝子のイントロン\* 内に位置します(参考資料 4)。Alu 配列は、約 300 塩基の反復配列で、配列内に制限酵素 Alu の切断部位をもちます(図 10)。

Alu 配列は、霊長類に広く分布し、ヒトでは、100 万以上のコピーが存在します。一度挿入された Alu 配列は安定であるため、生殖細胞を介して親から子に伝わります。PV92 ローカスの Alu 配列は、ヒトに特徴的な反復配列です。

```
5' GGCCGGGCGCGGTGGCTCACGCCTGTAATCCAGCACTTTGGGAGGCCGAGGCGGGCGGATCA
CGAGGTCAGGAGATCGAGACCATCCCGGCTAAAACGCTGAAACCTCGTCTCTACTAAAAATACAAA
AAATTAGCCGGGCGTAGTGGCGGGCGCCTGTAGTCCCAGCTACTTTGGGAGGCTGAGGCAGGAGA
ATGGCGTGAACCCGGGAGGCGGAGCTTGCAGTGAGCCGAGATCCTGCCACTGCACTCCAGCGTG
GGCGACAGAGCGAGACTCCGTCTCAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAAA3'
```

図 10 Alu 配列 306 base pairs (bp)、Alu の切断部位の配列は、AGCT。

Alu 配列は、Short Interspersed Repetitive Element (SINE) \*\* と呼ばれる反復配列に属し、細胞内で転写と逆転写を行うことで、コピーアンドペーストのようにして、ゲノム DNA 内に散在しています(図 11)。このようにコピーアンドペーストで移動する DNA をレトロトランスポゾンといいます\*\*\*。

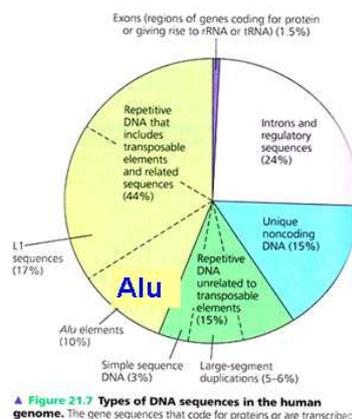
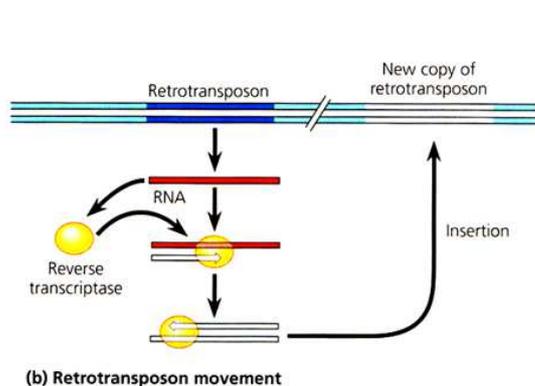


図 11 レトロトランスポゾンのゲノム内での移動

Alu 配列はゲノム全体の約 10%におよぶ。(参考資料 5(米国高等学校教科書)より引用)



図 12 PV92 ローカスへの Alu 配列挿入の人種による違い(青:挿入有、黄:挿入無)

The Allele Frequency Database: ALFRED (<http://alfred.med.yale.edu/alfred/index.asp>)

Alu 配列の機能は不明ですが、挿入されるローカスによりほかの遺伝子の発現を抑制することもあります。一方では、Alu 配列の挿入多型は、ゲノムの多様性を示しており、各地域に住む人により(Ethnicity により) Alu 配列挿入のプロファイルが異なります(図 12)。

\*イントロンとは、遺伝子の中でアミノ酸配列の情報を持つエクソン同士の間にある DNA 配列でアミノ酸の情報はコードされていません。

\*\*ゲノム DNA には、数千塩基の Long Interspersed Elements (LINE) と呼ばれる反復配列もあります。

\*\*\*他にカットアンドペーストでゲノム内を動く DNA であるトランスポゾンもあります。

## 2. 変異・多型とヒトの進化～DNA の多型は、Alu 配列ばかりではない～

アフリカでチンパンジー、ボノボ、ヒトの共通祖先からヒトが分かれたのは、700～600 万年といわれています。その後、約 200 万年前のホモ・エレクトスの一部は、アフリカから現在のヨーロッパ、アジア地域に移動(出アフリカ)し、絶滅したネアンデルタール人、北京原人、ジャワ原人の祖先となりました。一方、アフリカに残ったのホモ・エレクトスを起源とし、現生人類であるホモ・サピエンスが誕生しました。ホモ・サピエンスは、10 万年ほど前に出アフリカして、数万年をかけてヨーロッパ、アジア、オセアニア、更には北南アメリカと世界中に移動して定住しました。このように現在の私たちは、アフリカ起源の単一のヒトと考えられます(図 13)。

## 人類(現代人)の大旅行



出典: 国立科学博物館  
<http://www.kahaku.go.jp/special/past/japanese/ipix/1/1-14.html#>

図 13 人類の祖先の出アフリカ

現生人類が、アフリカを起源として世界中に移動したホモ・サピエンスであることは、現在の私たちのミトコンドリア DNA や Y 染色体 DNA の解析によりここ 20 年くらいでわかってきました。

下記のウェブサイトでビジュアルに学べます。

国立科学博物館バーチャル展示「日本人はるかな旅展」第 1 章私たちはアフリカに生まれた

<http://www.kahaku.go.jp/special/past/japanese/ipix/index.html>

### ★DNA の変異・多型、SNP ～Alu 配列の挿入ばかりでなく変異から多型ができる～

Alu 配列のように配列が入ったり抜け落ちたり(挿入欠失)ばかりなく、遺伝子を含む DNA では、DNA の塩基配列が 1 つだけ変わってしまったり(点(突然)変異)、一部が増えてしまったり(増幅)など色々な変化が起こることがあります。細胞は分裂して増えてきます。このとき DNA 量は一時的に細胞あたり 2 倍となり、分かれた各細胞に分配されます。この過程で、細胞の中で DNA の複製(DNA 量が 2 倍になること)が、DNA 合成酵素により起こります。一方、細胞は、複製で誤った塩基配列ができた場合、それを修復する機構も備えているため、複製が上手くいきます。ところが、複製のミスや「外部環境の影響」でたくさんの塩基配列の変化が起こり、修復できなかった場合には、その変化は「変異」として残ります。このなかで、1 塩基の変異があった場合を点(突然)変異 (point mutation: PM)といいます。

現生人類が世界中へ旅していたときにも様々な環境要因により変異が起きたと思われるます。例えば、図 14 のように地域 A で 1 塩基の変異が起こった場合、その変異が病気などと関係し人の生存に影響する場合は、その変異を持つ人が少なく変異のまま存在します。ところが、生存への影響が少ない場合、その変異は多くの人々に受け継がれます。これが、人それぞれの DNA の違い(多型)となります。1 塩基の違いによる多型は、1 塩基多型 (single nucleotide polymorphism: SNP(スニップ))といいます。

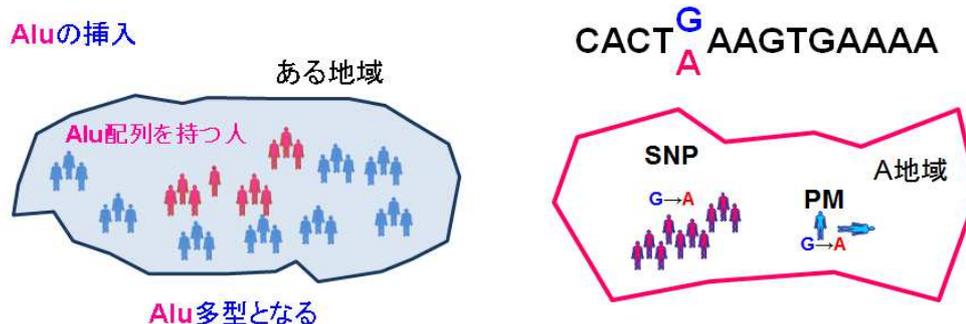


図 14 Alu 配列の挿入が多型となる(左)。同様に DNA の変異から多型が生まれる(右)。

😊 チョット一言: SNPと点(突然)変異はどちらも1塩基配列が違います。このため大きな集団で1%以上に1塩基の違いがあるとき1塩基多型(SNP)といい、1%以下の場合点(突然)変異といいます。

ヒトゲノムDNAは約30億塩基対のうちSNPは約1000万箇所を上り、遺伝子内でも100万か所を上るといわれています。PMは病気と関連していることが多い。

## ★SNPの事例紹介

### ～ALDH2 遺伝子の SNP と体質～

ALDH2とは、Aldehyde dehydrogenase type 2(2型アルデヒド脱水素酵素)という酵素で、アルコールの分解に関わります。この酵素の遺伝子は、第12染色体(12q24)に位置しています。アルコールは、肝臓でアルコール脱水素酵素(alcohol dehydrogenase: ADH)によりアセトアルデヒドに分解されます。そしてアセトアルデヒドは、ALDH2により酢酸となり、最終的には水と二酸化炭素に分解します(図15)。

ALDH2酵素がアセトアルデヒドを分解する力(活性)は、遺伝子のコドン487番がGAA(Glu: 活性型)あるいはAAA(Lys 不活性型)できまります。このためコドン487番の塩基配列のSNPがGかAかを調べるとアセトアルデヒドを分解しやすい体質かが分かります。

(本教室でも、以前このSNP型をPCR-電気泳動で調べる実験を行いました。)

「私」のゲノムDNAは父親、母親からもらっているため、ALDH2遺伝子も父親、母親から各々1ずつもらっています(図16)。このため、「私」は2つのALDH2遺伝子もらっています。両親からGの塩基配列をもらった人(G/G型)は、アセトアルデヒドを分解する力が強いですが、両親のどちらかからAの塩基配列をもらった人(G/A, A/A型)は、アセトアルデヒドを分解する力がかなり弱くなります。日本人を含め東洋人ではALDH2の活性には個人差があり、日本人では両親のどちらかからAの塩基配列をもらった人(G/A, A/A型)が全人口の約半数、完全な不活性型の人(A/A型)が全人口の約4~5%いると言われています(参考資料9)。

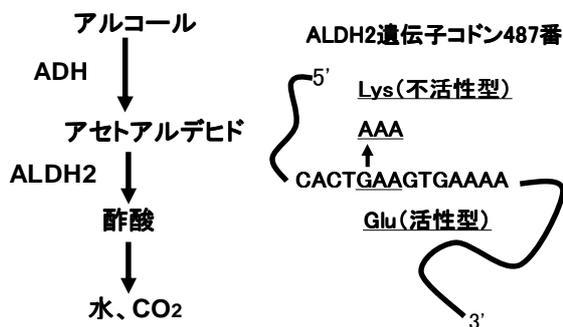


図 15 アルコール代謝と酵素

😊 チョット一言: アセトアルデヒドは、毒性があり悪酔いの元となります。一方、アセトアルデヒドは発がん性がある物質です。このため、ALDH2 のコドン 487 番に A の塩基配列を持っている人は、アセトアルデヒドが体内に残りやすいので、食道がんなどのリスクが上がるとの報告もあります(参考資料5)。いずれにせよ、アセトアルデヒドの元になるアルコールを取り込まなければ(飲酒しなければ)リスクは下がります。

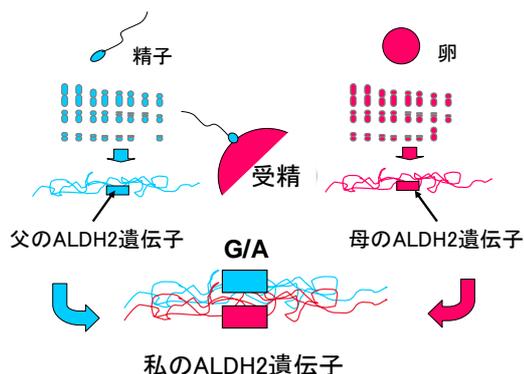


図 16 ALDH2 遺伝子の SNP

### ～SNP と薬の代謝～

薬には副作用などのリスクを伴うことがあります。薬の副作用には、薬そのものに問題があることや薬の使い方の誤りから起こりますが、体質に合っているかどうかに関係します。この体質と薬の相性については、例えば肝臓に含まれるチトクローム P450 (Cytochrome P450: CYP) が関係します。CYP は、水に溶けにくい(脂溶性の)薬物を水に溶けやすく(水溶性に)し排泄しやすくします。CYP は 1 つの酵素ではなく、CYP2C9、CYP2C19、CYP2D6 など多くの酵素の総称です。そして、各 CYP の SNP の型により特定の薬物を代謝する力が異なります。ある薬物の代謝に関与する CYP が不活性型であると、薬物が体内に長時間にわたり高い濃度で留まることになり、副作用の原因になることがあります(図 17)。また薬によっては CYP による代謝が進むと薬物濃度が早く低下することもあります。

このような SNP の違いを調べることは、特定の薬剤が効果を持つかどうかを調べ、個人個人に適した薬剤の選択や使用方法を決めるテーラーメイド医療(オーダーメイド医療)に寄与します。

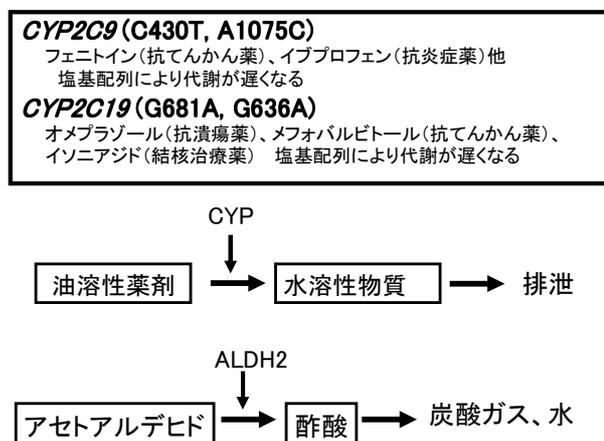


図 17 薬物代謝酵素 CYP の 1 塩基多型(SNP)と薬の代謝  
 ALDH2 がアセトアルデヒドを無毒化するように、CYP は薬剤の代謝排泄に関係する酵素です。

### 3. "Nature and Nurture" (生まれ・育ち)とゲノム

～ジエネティクス(genetics)とエピジエネティクス(epigenetics)～

#### ★「生まれ」=遺伝により親や先祖から受け継いだもの

ヒトゲノムプロジェクトの結果、ゲノム DNA にある遺伝子は、ヒトでは約 2 万数千個とわかってきました。そして、体中どの細胞も基本的には同じ種類の遺伝子セット(ゲノム)を持っています。遺伝子は、タンパク質のアミノ酸配列を決めています。言い方を変えると、「例えば、遺伝子 A はタンパク質 A を作りなさい。」という暗号を持っています。遺伝子がタンパク質を作らせていることを、「遺伝子が読まれている」とか「遺伝子が発現している」といいます。このようなゲノム DNA に載っている遺伝子は両親から受け継いだものです(図 3, 4)。

😊 チョット一言: 英語で、「遺伝子」、「遺伝」は、各々 "gene"、"inheritance" です。これら2つの概念は、日本語だと「子」が付くか付かないかだけの似た単語ですが、英語では、見た目も違う単語で表しますから、違いが明確になります。

#### ★「育ち」=生まれてから環境により培ったもの

全ての遺伝子はいつもタンパク質を作らせているわけではありません。細胞が属している組織(体の部分)により読まれている遺伝子の種類が違います。図 8 を見てみましょう。A、B、C 3つの組織(体の部分)にある遺伝子の種類は同じですが、読まれている(発現している)遺伝子の種類が違います。このように細胞により読まれる遺伝子の種類が体の部分により

異なるため、体の特徴が生まれます。例えば、消化管では消化酵素がたくさん作られ食べ物の消化を助け、食べ物に含まれる栄養を吸収します。また、肝臓では、解毒の酵素が作られ体に悪いものを分解します。一方、同じ組織でも生まれてから成人するまで、作られるタンパク質の種類や量が異なることもあります。どの遺伝子が「何時」、「どこで」、「どのくらい」読まれるかは分子レベルの「環境」により異なります。このようにゲノム DNA にある遺伝子の種類は同じであっても、どの遺伝子が読まれるかは環境により培うことになります(図 18)。

☺ チョット一言: 遺伝子発現は、gene expression といいます。Expression とは、「表現すること」、「言い表すこと」という意味ですから、遺伝子の AGCT の暗号をアミノ酸の配列(並び方)に「言い表すこと」で、細胞により異なるタンパク質が作られ、その結果、それぞれの細胞の性質が決まり、細胞が集まった組織の性質が決まります。受精卵発生に伴う分化も分裂した細胞により遺伝子発現が異なるために起こります。その結果、各細胞により異なる遺伝子の発現プロファイルとなります。

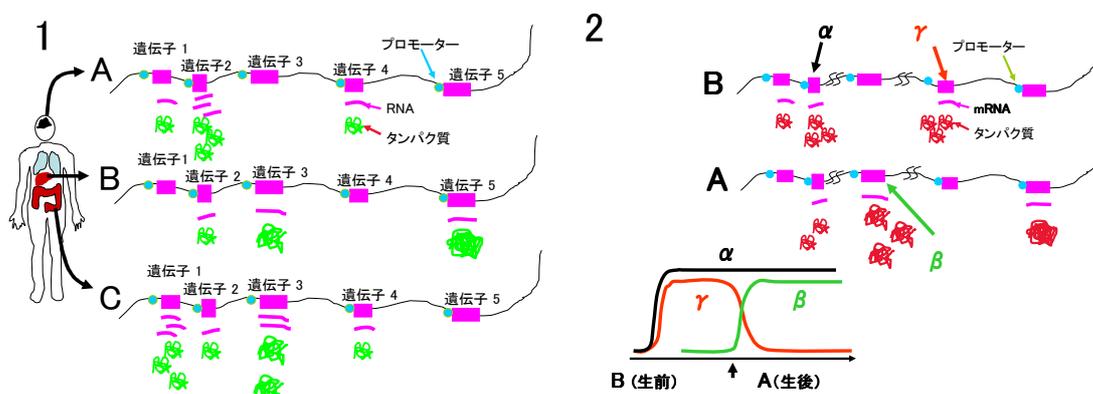


図 18 遺伝子発現(1, 2)

組織(体の部分)により読まれる遺伝子の種類が違います(1)。同じ遺伝子が、共通に読まれる場合と異なる場合があります。また、時期により読まれる遺伝子が異なる場合もあります(2)。図の中のプロモーターとは、遺伝子が適切に読まれるように調節している DNA 配列のこと。

### ★育ちはどのように決まるのでしょうか? 「エピジェネティクス」

遺伝子の発現は、DNA の塩基配列以外の要因によっても左右されます。たとえば遺伝子のプロモーターがメチル化されると遺伝子発現が抑えられます(図 19)。また、細胞の核の中で DNA と結合しているヒストンタンパク質のアセチル化や脱(外れること)アセチル化によっても遺伝子の発現が変わります。このような変化は、DNA の配列に依存しないことからエピジェネティック(epigenetic)変化といい、ジェネティクスに対しエピジェネティクスといいます。一卵性双生児の人でも年齢とともに体質に違いが出てくるのは、エピジェネティクスが関係していることがわかってきました。環境に応じた遺伝子発現の違い(どの遺伝子が使われるか)は、このようなエピジェネティックな違いも関係しています。

ゲノム DNA 配列で全てが決まるわけではありません。

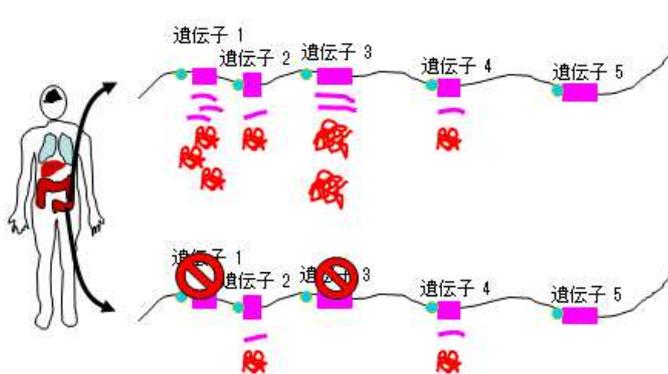


図 19 DNA のメチル化と遺伝子発現

⊘ : DNA がメチル化されたプロモーター。環境因子の影響により DNA は、メチル化されているプロモーターがある。プロモーターがメチル化されると遺伝子発現が抑えられる。図では、遺伝子 1、3 の発現が抑えられている。メチル化は可逆的(=もとに戻る)

### ★病気や体質は遺伝的要因と環境要因が関係する。

病気は、遺伝的要因と環境要因が作用して起こります。ここでいう環境要因とは、化学物質、食生活、年齢など、DNA や細胞を取り巻くミクロからマクロまでの色々な環境を指しています。単一遺伝子病は、100% 遺伝的要因により起こります。しかし、怪我などの外傷は、環境要因が 100% でしょう。また、高血圧、糖尿病、がんなどの生活習慣病は、遺伝的要因と環境要因の両方が関わってきます(図 20)。

単一遺伝子病(いわゆる遺伝病)とは、1 つの遺伝子により起こる病気できわめて限られています。このような遺伝病は、遺伝子診断で調べられますが、ハンチントン舞踏病のように現時点で治療法がない場合もあり、遺伝子診断が是か非かは、多くの議論があります。

遺伝子分析で体質に関する遺伝情報を得ることは、体質にあった食生活や生活習慣を身につけることで、病気の予防の助けになる可能性があります。しかし、肥満、高血圧、がんなどになりやすいかどうかなどは、複数の遺伝子(多遺伝子)が関連し、更に環境要因に左右されます。このようにゲノムで体質や病気の全てが決まるものではありません(表 1)。

米国では 2005 年ごろから、このような多遺伝子による体質や病気のリスクを解析する消費者直結型(Direct-to-consumer: DTC) 遺伝子検査サービスがいくつかの企業で始まりました。日本でも DTC 遺伝子検査が普及し始めています。これらは医師を介さない検査で医療とは区別されています。このため日本では、個人遺伝情報取扱協議会が定める認定制度「CPIGI 認定」による運用が行われています(<http://www.cpigi.or.jp/nintei/>)。

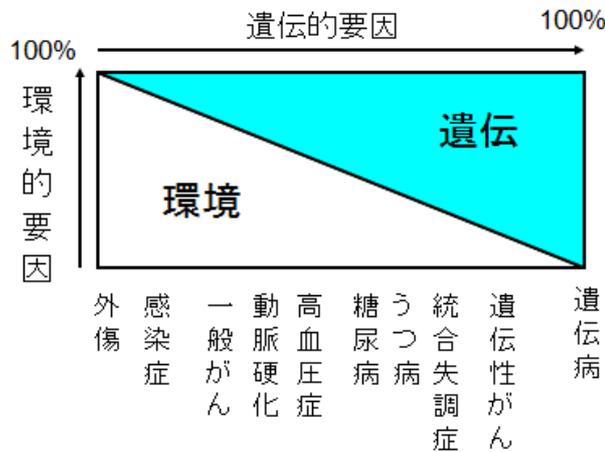


図 20 病気が起こる原因: 遺伝的要因、環境要因 (参考資料 2)

😊 チョット一言: 環境によりどの遺伝子が使われるかが決まる仕組み

遺伝子のプロモーターの塩基配列にメチル基が結合すると、遺伝子が発現されない(使われなくなる)ことがあります。これは、C 塩基にメチル基が結合すると遺伝子情報の転写が阻害されるためです。点変異や多型など塩基配列の変化をジェネティクスな変化というのに対しメチル化は塩基配列をとみなわない変化のためエピジェネティクスな変化と言います。ヒトのがんでは、食生活や生活習慣などにより DNA のメチル化に変化が起こり、特定遺伝子の発現が変わることでがんが起こる仕組みが現在研究されています。

😊 チョット一言: 私たちの日常生活での身近な「環境要因」とがんについては疫学的に調べられています。米国人を対象として研究結果では、がんの主な要因として、「タバコ」や「食事」が挙げられています(図 21)。

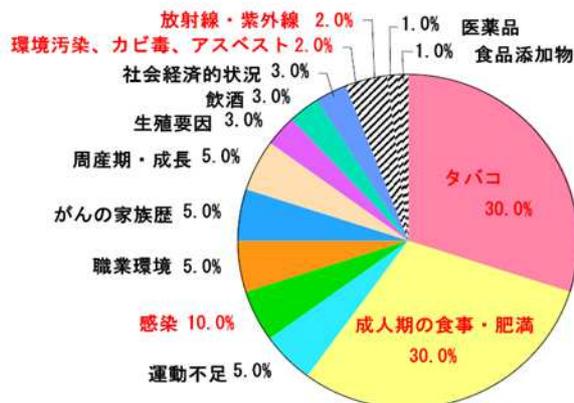


図 21 米国人のがん死亡要因に関する研究(ハーバード大学) 1996

Harvard report on cancer prevention: Cancer Causes & Control 7: 55-58 (1996)

体質と遺伝子・環境要因の関係～事例～

体質	遺伝因子	遺伝子事例	環境因子 (含:エピジェネティクス)
ABO 血液型	1 遺伝子	N-アセチルガラクトサミン転移酵素(ABO)の SNP	無し
飲酒	2 遺伝子	アルコール脱水素酵素(ADH1B)、アルデヒド脱水素酵素(ALDH2)の SNP	
身長	多遺伝子	成長ホルモンと受容体(GH1, GHR)、甲状腺ホルモン受容体(THRA, THRB)、クロマチン因子(HMGA2)、転写因子(SHOX)	食事(栄養バランス)、睡眠、運動、子宮内発育、骨・軟骨の成長、ホルモン、精神的な因子(愛情、ストレス)
高血圧	多遺伝子	アンジオテンシノーゲン(AGT)、アンジオテンシノーゲンI 変換酵素(ACE)、上皮ナトリウムチャンネル(SCNN1B)、エンドセリン変換酵素(ECE1)	塩分摂取、肥満、精神的な因子(緊張、ストレス)、ホルモン、血管・腎臓・心臓の動き、加齢
2 型 糖尿病	多遺伝子	アディポネクチン(ADPN)、カリウムチャンネル(KCNQ1)、インスリン受容体(IRS1)、転写因子(TCF7L2、PPARD)	加食、運動不足、肥満
アルツハイマー型 認知症	多遺伝子	アミロイドβ 前駆体タンパク質(APP)、アポリポタンパク質(APOE)、プレセニン(PSEN)	生活習慣(食事、運動、睡眠)、肥満、2 型糖尿病、ホルモン
精神 不安定	多遺伝子	セロトントランスポーター(SLC6A4)、脳由来神経栄養因子(BDNF)	精神的な因子(愛情、ストレス)、外傷、ホルモン(グルココルチコイド、アドレナリンなど)、季節・日照時間、薬剤

表1.

中尾光善/著 「体質と遺伝子のサイエンス」羊土社(2015)221-222 ページより改変

## ★個人遺伝情報を保護する仕組み

個人情報とは、なんでしょうか？個人に関わる情報を個人情報といいます。

例えば、住所、生年月日、性別、身長、体重、病歴、職業、家族構成などです。

ヒトゲノム DNA 上には 2 万個以上の遺伝子があります。遺伝子には、タンパク質の情報が載っており、作られるタンパク質の種類や質（変異を持っているなど）は体質や病気に関係することがあります。また、個人識別や親子鑑定が可能な DNA 配列の多型も数多くあります。このように、ゲノム DNA には、病気や体質、個人を特定する DNA 配列など多くの個人情報が含まれています。これらを、**個人遺伝情報**と呼んでいます。

個人遺伝情報を調べることで、病気の予防や治療に役立つ可能性があるため、多くの研究がなされ、一部は遺伝子診断として実用化されています。（最近では、direct to consumers: DTC で、インターネット経由の遺伝子検査まであります。）

一方、誰かのゲノム DNA を入手することで、このような個人遺伝情報を調べることもできます。現時点で全ての情報を分析して調べられるわけではありませんが、NGS など分析技術の進歩によりゲノム DNA の分析は一段と早くなっています。

ゲノム DNA 上の遺伝情報の取り扱いについては、ユネスコ（国際連合教育科学文化機構）の「ヒト遺伝情報に関する国際宣言」があります。

この中では、「ヒト遺伝情報は特別なものである」としています。その理由は、

- ① 遺伝的な病気の体質を予見できる可能性がある。
- ② 子孫や家族・親戚に影響を与える可能性がある。
- ③ 遺伝子情報を収集した時点では予想できないことが起こるかもしれない。

という 3 つの点からです。このため、ヒトのゲノム DNA を研究するための規則が各国で作られました。日本では、大学・研究所・病院などの研究で、ヒトのゲノム DNA を使用する場合の指針（ガイドライン、約束事）が作られています。これを三省指針、正確には「ヒトゲノム・遺伝子解析研究に関する倫理指針」といいます

（ [http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/40\\_126.pdf](http://www.lifescience.mext.go.jp/files/pdf/40_126.pdf) ）。

研究目的でゲノム DNA を使用する場合の約束は、

- ① ゲノム DNA 提供者に対し研究内容を説明し理解してもらい承諾を得ます。（このような手続きをインフォームドコンセントといいます。）
- ② 研究実施機関では、倫理委員会を設置して実験内容を検討します。
- ③ 研究の結果は、外部に発表して世の中に分かるようにします。

更に個人情報保護法（平成 17 年 4 月施行）に基づき三省指針が度々改訂され、医学研究においてはカルテなどの個人情報とゲノム DNA 自体がリンクしないようにし、リンクする場合は十分な管理体制整備が必要だとされています。

最近では、ヒトゲノム DNA を教育目的実験で用いる場合の扱いも議論され、ガイドラインも模索されています（参考資料4、7）。

#### 4. ゲノムリテラシー・遺伝子リテラシーを育む

生命科学やバイオテクノロジーの成果により、病気、老化、進化、さらには、生命自身に対する私たちの見方が変わってきました。通常リテラシーは、読み書きする力のことを指しますが、科学におけるリテラシーとは、**自分で意思決定ができるための知識や考えかた**を指しています。これは、日常生活のなかで「**知らないため、解らないため起こる無用な不安を解消する**」ために必要な知識や考え方です(参考文献 10)。

生命科学やバイオテクノロジーに早くから取り組んでいる米国では、特にバイオテクノロジー研究やベンチャーが早くから勃興したカリフォルニアでは、1980年代からリテラシーとしての遺伝子教育への取り組みがはじまりました。1990年代には、学校教育ばかりでなく、科学館でも市民向けの展示や体験からゲノム・遺伝子を学べる仕組み作られました(参考資料 11)。



図 22 San Jose の The Tech Museum of Innovation における体験型展示

右: DNA の変異・多型検出のシミュレーション体験、左: 大腸菌の遺伝子組換え実験

旧式の DNA シークエンサーによるシミュレーションや大腸菌に GFP(蛍光タンパク質) 遺伝子を導入する安全な遺伝子組換え実験を子供たちも気楽に体験しています。 <http://www.thetech.org/>

#### ★遺伝子教育教材 “Biotechnology Explorer program”

この教材は、Stanford 大学の高校教員教育プログラムを参考に、元高校教員の Ron Mardigian 氏(故人)(図 23)が Bio-Rad laboratories で教材化したプログラムです。プログラムのいくつかは米国高校のハイレベル教育プログラムの advanced placement (AP)プログラムに対応しています。本キットは、Bio-Rad laboratories の製品であり、使用する試薬・器具を含むばかりでなく、実習実施に際してのカリキュラムと先生用ならびに生徒用マニュアル、理解度確認の練習問題が含まれています。実験の至適条件は、すでに設定されているため高等学校、中学校などの教育現場で容易に用いることができます。1995 年に β 版を開始し、1997 年から本格的に販売されました。学校やゲノムリテラシー、遺伝子リテラシーを育むため、まずは実験を体験できるキットがラインアップされています(図 24)。

Bio-Rad Explorer™ URL: <http://explorer.bio-rad.com>

😊 チョット一言: Bio-Rad Laboratories は、教材に特化した会社ではありません。同社は“Helping science serve mankind”を社是とするグローバル企業で、生命科学に用いる実験機器(PCR や電気泳動、クロマトなど)や試薬(DNA/RNA 抽出等々)を開発し販売しています。 [www.bio-rad.com](http://www.bio-rad.com)



図 23 米国理科教員学会 (NSTA) の”Ron Mardigian Award”  
優秀教員 (中等教育) は、賞としてキットが供給されます。NSTA は、小学校から大学までの理科教育に携わる多くの教員が会員になっており、毎年 1 万人規模の総会を行います。Biotechnology Explorer program は、米国高等学校の教育現場で、生命科学教育の普及に貢献したことを評価されています。



図 24 Biotechnology Explorer program キット  
各キットは、遺伝子工学技術を用いた実験、PCR による遺伝子解析実験、タンパク質の解析実験などを体験しながら生命科学を学べる構成となっています。STEM 教育は下記参照。

★STEM 教育

現在米国では、Science, Technology, Engineering & Math (STEM)教育とは、一つの課題を科学的、工学的、技術的、数学的側面から総合的に学ぶ考え方です(図 25)。科学教育、工学教育、技術教育、数理教育を統合・体系化した教育で、新たなイノベーションを生み出す人材を育む教育としてオバマ政権の最優先課題の一つとなっています。米国 26 州で進められている NGSS(次世代科学カリキュラム)は、STEM 教育を推進するものです。



図 25 STEM 教育における Alu 解析実験

Alu 解析を、①DNA 多型とヒトの進化(科学)、②電気泳動による多型解析(工学)、③PCR や電気泳動機器(技術)、④得られた結果からハーディーワインバーグの法則に則っているかどうかを統計解析(数学)として掘り下げて学ぶことができます。本教室は、①、②、③の入門編です。

### ★ゲノムリテラシー・、遺伝子リテラシーを育むには(入門書)

実体験の入口は、実感を持って学べる第一歩でしょう。

さらに書物から学ぶことも大切です。書店の科学コーナーには多くの書籍がならんでいます。ここでは、実験を体験したのちの入門書を、読書ステップを踏んでリストアップしてみます。

#### ●ステップ1: 時間軸に従って物語のように展開する書籍。

- ・榎佳之著:「ゲノムサイエンス」(2006) 講談社サイエンティフィック
- ・服部正平著:「ヒトゲノム完全解読から「ヒト」理解へ」(2005) 東洋書店

#### ●ステップ2: 全体を網羅的に学べる書籍。

- ・鎌谷直之:「オンリーワン・ゲノム」(2009) 星の環会
- ・林崎良英:「教科書ではわからない遺伝子のおもしろい話」(2009) 実業之日本社
- ・高校生物基礎(実教出版)、高校生物(東京書籍)←文科省検定教科書  
(社)全国教科書供給協会:教科書購入・販売についてのお問い合わせ先

<http://www.text-kyoukyuu.or.jp/otoiawase.html> 例:第一教科書(JR 大久保駅前)

#### ●ステップ3: 断片的な話題から掘り下げて解説されている書籍。

- ・中尾光善:「驚異のエピジェネティクス」羊土社(2014)
- ・中尾光善:「体質と遺伝子のサイエンス」羊土社(2015)
- ・Newton 別冊:「すべての生命をかたちづくる設計書 DNA 第2版」(2012)
- ・Nature ダイジェスト Nature Japan (<http://www.nature.com/ndigest/>)  
⇒Nature に掲載された最新の知見がまとめて解説されています。

## 5.実験の原理

### ★ヒトゲノム DNA の粗抽出と観察

細胞は、脂質(油)とタンパク質を含む細胞膜に囲まれ、ゲノム DNA は核膜に囲まれた核内にある水に溶けやすい物質です。そこで、細胞を集めたあとで、界面活性剤(洗剤)やタンパク質分解酵素で膜を壊し溶けてきたゲノム DNA を取り出します。ここにエタノールを加えると、「もやもや」した糸状のゲノム DNA が見えてきます(図 26)。

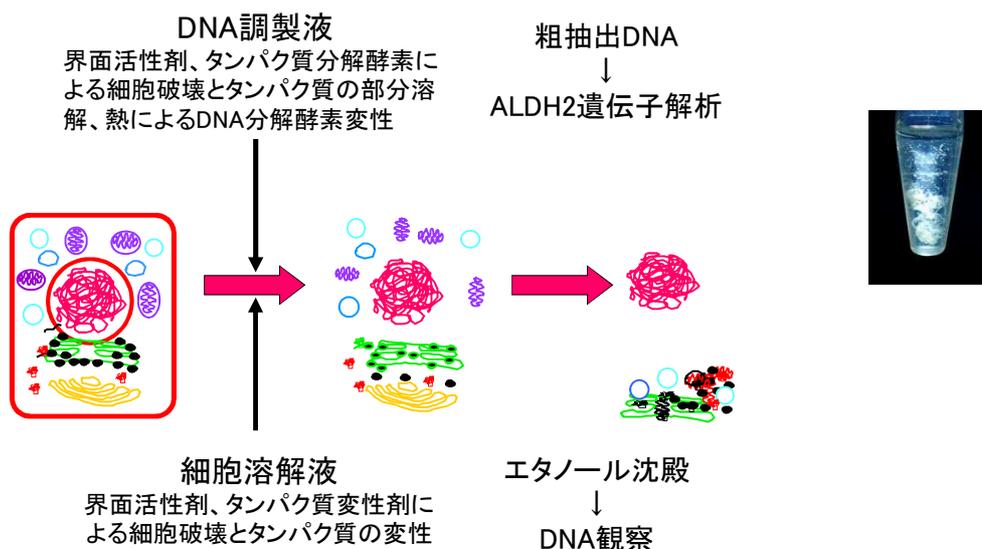


図 26 DNA の抽出原理(参考資料1, p.83 より改変引用)

### ★PCR による DNA の増幅の原理(参考資料 1 (p.89-94)、6 (p.77-81))

細胞分裂を考えてみましょう。試験管の中で細胞が一回分裂すると試験管あたりの DNA は二倍になります。二回分裂すると試験管あたりの DNA は四倍になります。このように試験管の中に細胞を入れて培養すると DNA を増やすことができます。これは、細胞分裂に伴う DNA の複製(DNA が倍々に増えていくこと)によります(図 27)。

DNA の複製だけを試験管内で行えば、DNA を増やす(増幅)することができます。試験管の中にゲノム DNA と DNA ポリメラーゼ(合成酵素)を混ぜることで DNA を増幅することができます。ここで、DNA ポリメラーゼはプライマーと呼ばれる短い DNA が結合した部分から DNA を増やす性質があるため特定の DNA を増幅できます(図 28)。この実験方法は 1983 年米国のマリス博士が発明した方法で、PCR(polymerase chain reaction: DNA 合成酵素連鎖反応)といいます。マリスは 1993 年にこの実験方法を発明開発した業績でノーベル賞を受賞しています(参考資料8)。

😊 チョット一言: PCR によりゲノム DNA がチョット取れば、遺伝子の一部を増やして分析できるようになりました。だから、PCR 法はゲノム研究や遺伝子診断・DNA 鑑定には無くてはならない実験方法です。

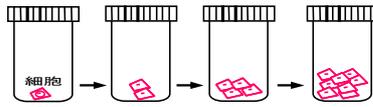


図 27 細胞分裂による DNA の増幅

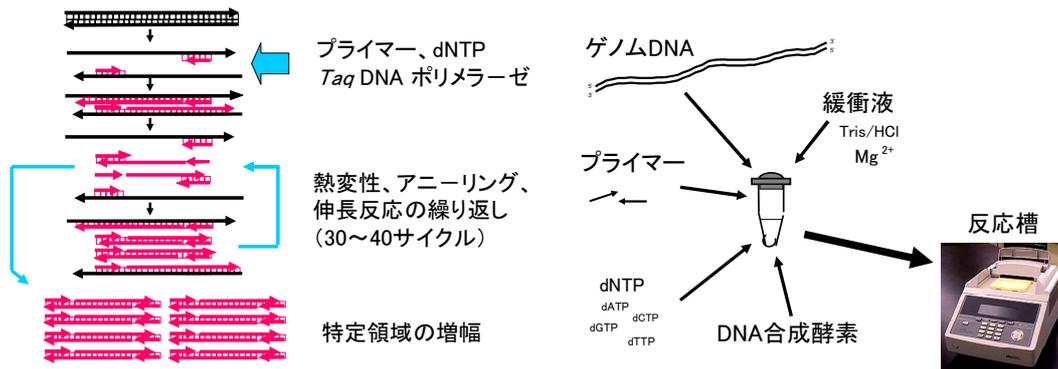


図 28 PCR による DNA の増幅

細胞分裂の際に起こる DNA の複製に関わる DNA ポリメラーゼを用いて DNA を増幅します。図中短い矢印(→、←)は、プライマー(1 本鎖 DNA)を示しています。プライマーに挟まれた DNA が増えます。  
 熱変性: 95°C に熱し 2 本鎖の DNA を 1 本鎖とします。アニーリング: プライマー(1 本鎖 DNA)が 1 本鎖の DNA と結合することをさします。伸長反応: DNA ポリメラーゼによりプライマーから DNA が合成され 1 本鎖 DNA が伸びて最終的に 2 本鎖 DNA となることをさします。

★電気泳動(参考資料 1、6 (p. 189-190)、12 (p.198-201))

電気泳動は、分子を大きさで分ける分析方法です。DNA は、マイナスに荷電した(マイナスの電気を帯びた)分子です。このため、電場に置くとプラスの方向に動きます(図 29)。

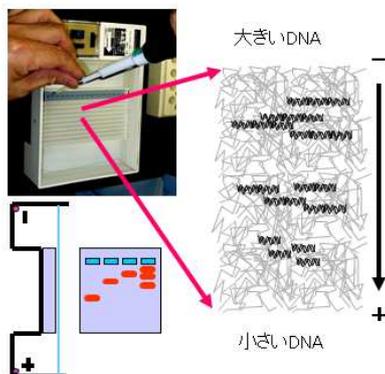


図 29 電気泳動の原理

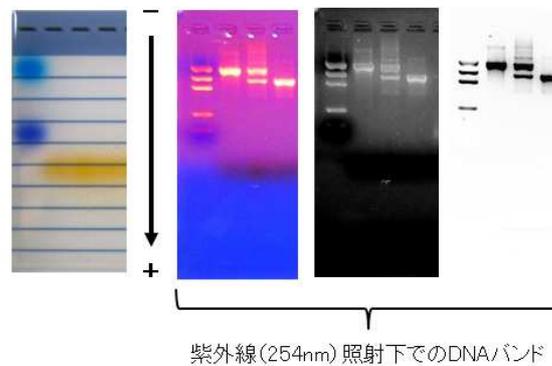


図 30 ゲルの写真(条件を変えて撮影します。)

電気泳動装置のゲル(アガロースゲル)の中は網目状になっていますので、網目を通りやすい小さい分子は速く流れ、大きい分子は遅く流れます。DNAは、無色で目には見えません。そこでDNAに結合して蛍光を発するEtBr(エチジウム・ブロマイド)という物質をゲルに入れておき、紫外線照射してDNAを検出します(図30)。

## 6. 参考資料

1. 大藤道衛 「バイオ研究のためのラボワーク入門」講談社(2010)
2. 大藤道衛:「バイオ実験超基本 Q&A 改訂版」羊土社(2010)
3. 笹川由紀、佐々義子、大藤道衛、小野道之:教育目的ヒトゲノム・遺伝子解析実験の普及と実施指針についての検討. 生物教育 49: 90-107 (2009)
4. Matera AG et al. "A transpositionally and transcriptionally competent Alu subfamily." Mol Cell Biol .10:5424-32.(1990)
5. Campbell, N. A & Reece, J. B. "Biology with MasteringBiology" 8<sup>th</sup> ed. (2008) (米国高等学校教科書)
6. 大藤道衛:「最適な実験を行うためのバイオ実験の原理」羊土社(2006)
7. 大藤道衛:リテラシーとしての遺伝子教育③「実験を含むヒトゲノム教育」 バイオテクニシャン 14, 27-33 (2006)
8. キャリー・マリス、福岡伸一訳 「マリス博士の奇想天外な人生」早川書房(2000)  
原本 "Dancing Naked in the Mind Field," published by Pantheon Books (1998)
9. 服部正平、金相完、須田亙:臨床検査 57, 406~414 (2013)
10. Oto M, Ono M, Kamada H.: Gene literacy education in Japan. ~Fostering public understanding through practice of hands-on laboratory activities in high schools~ Plant Biotechnology 23, 339-346 (2006)
11. 大藤道衛:リテラシーとしての遺伝子教育①「遺伝子教育と米国における動向」 バイオテクニシャン 13, 27-35 (2005)
12. 大藤道衛「電気泳動なるほど Q&A」羊土社(2012)
13. ケヴィン・デイヴィーズ, 篠田 謙一 監修, 武井 摩利 翻訳  
「1000ドルゲノム:10万円で作る自分の設計図」創元社(2014) 原著 Kevin Davies "The \$1,000 Genome The Revolution in DNA Sequencing and the New Era of Personalized Medicine"

## 筆者プロフィール

大藤道衛(OTO Michiei)

東京テクニカルカレッジ・バイオテクノロジー科講師、東京農工大学農学府非常勤講師、公立前橋工科大学工学部非常勤講師、工学院大学工学部非常勤講師、放送大学非常勤講師。千葉大学園芸学部農芸化学科卒業、医学博士(東京医科歯科大学)。民間製薬企業、群馬大学医学部、東京医科歯科大学でのヒト癌関連遺伝子の変異・多型解析、DNAメチル化解析研究の後、現職。Bio-Consulting Japan, Director 兼務。現在の研究テーマ:DNA診断技術の開発・改良、遺伝子教育教材の開発と普及。DNA診断に必要な電気泳動分析技術、ナノテク技術を応用したチップ型電気泳動。バイオの基礎技術を学ぶための教材開発や遺伝子リテラシー教育の普及に取り組む。主な著書:「ゲノム情報解析」(監訳)エヌ・ティー・エス(2016)、「電気泳動なるほど Q&A 改訂版」(編・著)羊土社(2012)、「バイオ実験超基本 Q&A 改定版」羊土社(2010)、「最適な実験を行うためのバイオ実験の原理」(著)羊土社(2006)他。所属学会:日本分子生物学会、日本癌学会、日本遺伝子診療学会、日本電気泳動学会、NSTA(米国科学教員協会)、日本バイオ技術教育学会(顧問)。趣味:スキー、パソコン。1957年生