

## 〈研究内容紹介〉

教育学部教育学科

山本真紀

1988 年に関西女子短期大学保健科助手として採用され、大阪教育大学の遺伝学研究室で学部生から始めたコムギ属等の染色体上への遺伝子マッピングによる系統進化解析の研究で、1994 年に京都大学博士(農学)を取得しました(博士論文「コムギおよびエギロプス属植物の分子細胞遺伝学的解析」)。遺伝子マッピングとは、当時最先端の技術によって染色体上に遺伝子を可視化するもので、染色体に含まれている DNA の塩基配列に、同じ塩基配列の DNA 断片を結合させます。その断片にはあらかじめ化学物質の目印を取り込ませておき、この目印に抗原抗体反応によって蛍光色素を付加することで、遺伝子の所在を可視化することができます(図 1)。この手法は蛍光 in situ ハイブリダイゼーション(FISH)法と呼ばれており、蛍光顕微鏡で観察可能です。植物では、当時の大阪教育大学の恩師、向井康己教授によって確立されました(1988 年)。

学位取得後の 1996 年、自分の研究テーマを模索していた頃、当時の卒研究生とともに、コムギでは世界で初めて DNA ファイバー標本の作成に成功しました。植物細胞の細胞壁と核膜を壊して、核内の DNA をスライドグラス上に引き伸ばす方法で(図 2)、DNA は無色透明ですから感度の高い青色や緑色の蛍光色素で染色して蛍光顕微鏡で観察します(図 3a)。さらに、その DNA 上へ 2 種類のリボソーム RNA 遺伝子を、赤色や緑色の異なる 2 色の蛍光色素で可視化し(図 3b)、両遺伝子の大きさや遺伝子の数の推計に成功しました。その後、この技術を応用し、農業上の有用遺伝子(製パン性に関わる遺伝子など)のコピー数や構造を調べる研究に携わりました。中でも、製パン性に影響するライムギの  $\omega$ -セカリン遺伝子の可視化については、国際会議で発表して大きな反響を得、国際誌へ発表し(図 4)、平成 18 年度関西福祉科学大学・関西女子短期大学学術研究褒賞が授与されました。

その後、コムギの形質転換体作成のために導入されるバクテリアの環状 DNA やウイルスの DNA の標本上で遺伝子構造の可視化を試みたり(図 5)、コムギ以外の植物(イネ、タバコ、サツマイモ、タマネギなど)で、遺伝子組換え体の導入遺伝子の構造を可視化したりする研究に携わりました。以上のように 1996 年に本学園内で始めた約 30 年の長年に渡る研究に対して、令和 6 年の染色体学会第 75 回年会(神奈川大学)において、下記のとおり染色体学会賞が与えられました。

学会賞名:染色体学会賞

受賞日:2024 年 10 月 27 日

受賞年会:染色体学会第 75 回年会(令和6年度、神奈川大学)

受賞題目:「DNA Fiber FISH 法による植物ゲノムの微細構造の可視化に関する研究」

## FISH法およびDNAファイバーFISH法の概要

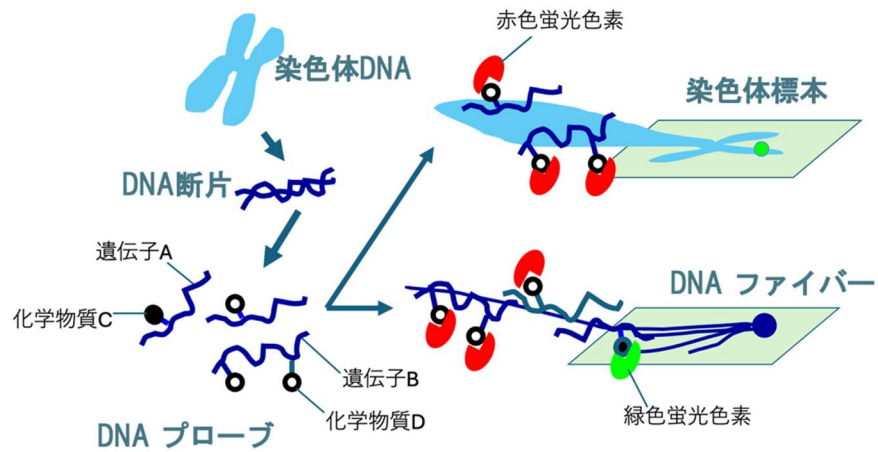


図1 蛍光 in situ ハイブリダイゼーション (FISH) 実験の概要

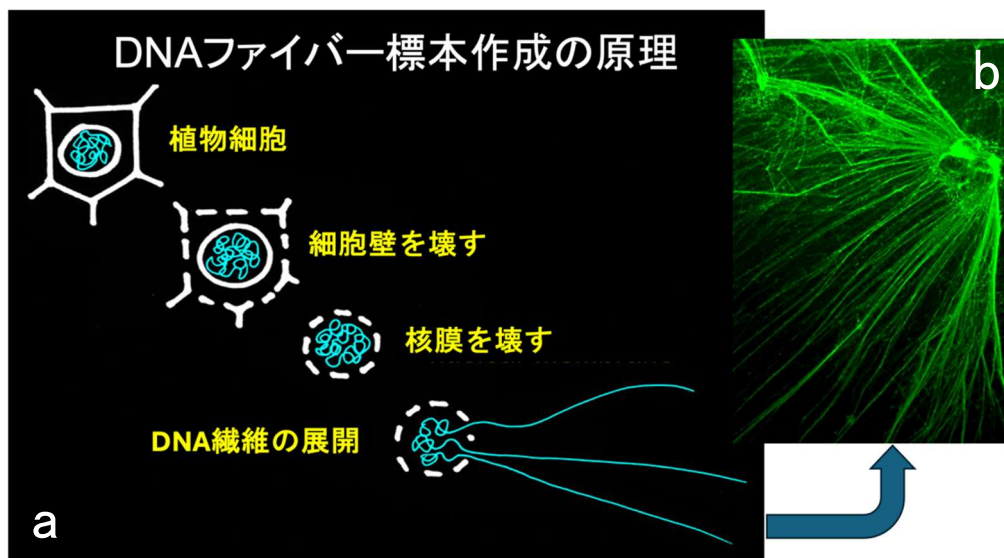
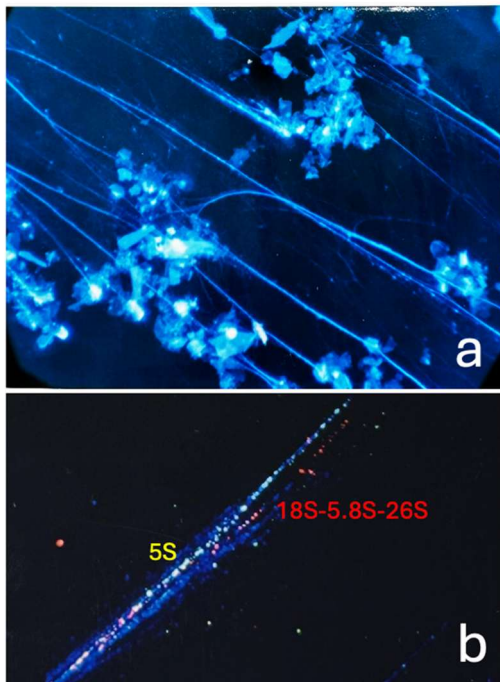


図2 DNA ファイバー標本作成の原理 (a) と YOYO-1 染色されたタマネギの DNA ファイバー標本 (b)



多色FISH法によるコムギのDNAファイバーにおける5S  
および18SリボソームRNA遺伝子の検出  
桂と山野（1996）関西女子短期大学卒業論文

図3 コムギで初めてのDNAファイバー実験

- a) DAPI染色されたコムギDNAファイバー標本
- b) FISH法による2種類のリボソームRNA遺伝子のin situマッピング

## ライムギ種子貯蔵タンパク質遺伝子 (*Sec-1*)

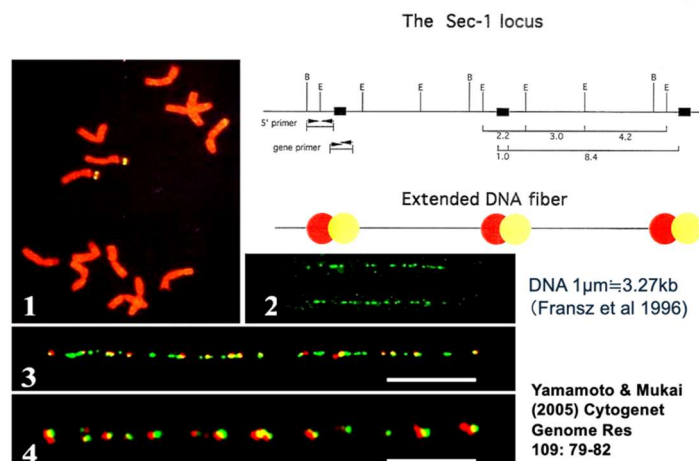


図4 DNAファイバーFISH法によるライムギ種子貯蔵タンパク質遺伝子 ( $\omega$ -セカリン遺伝子、*Sec-1*) の高解像度マッピング

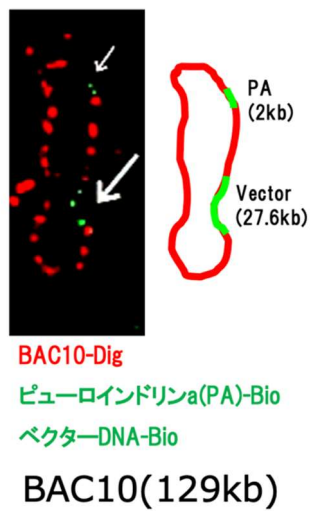


図 5 バクテリア人工染色体(BAC)の DNA ファイバー標本上への in situ 遺伝子マッピング