

# 生物のDNA情報を用いた 環境のモニタリング

早川 敏雄  
環境工学研究部  
(生物工学 研究室長)

池畑 政輝  
同  
(同 主任研究員)

志村 稔  
同  
(同 主任研究員)

吉江 幸子  
同  
(同 副主任研究員)



はやかわ としお



しむら みのる



いけはた まさてる



よしえ さちこ

## はじめに

地球上には、微生物からヒトまでさまざまな生物が存在しています。これらの生物は、大きさも形も生活様式も驚くほど多様ですが、細胞の内部にDNA(デオキシリボ核酸)を持つということは共通しています。これはDNAがすべての生物において、生命の設計図である遺伝子を構成する物質であるためです。DNAを調べることによって、生物に関するさまざまな情報を得られるだけでなく、それを通して自然環境の変化や人間への影響などを調べることもできるようになってきました。

鉄道分野ではDNAから得られる情報が活用された事例はまだありませんが、私たちは、DNAの情報を利用して、環境中の因子が健康に与える影響を評価することや、鉄道周辺の土壌・空気環境の状態をモニタリングする技術に取り組んでいます。ここでは、これらの試みについて紹介させていただきます。

## DNAとはどのようなものか

### DNAの構造

DNAは、リン酸と糖と塩基と呼ばれる3つの部分から構成されている比較的簡単な化学物質です。しかし、細胞の中ではリン酸の部分を通じてDNA同士が結合し、非常に長い鎖状になっています(図1左)。塩基には4つの種類(それぞれG, A, T, Cと表します)があるため、DNA鎖の塩基部分に注目すると4つの文字で書かれた文章のようなものができあがります。これを塩基配列と呼び、遺伝情報を記述する役目を果たしています。わずか4種類の塩基でも、たくさんのDNAが繋がることで膨大な遺伝情報を表すことができるのです。

塩基配列は重要な情報なので、これが変化(変異といいます)しないように、細胞の中では常に監視と修復が行われています。しかし、修復が追いつかずに変異が固定してしまうこともあります。ほとんどの場合、影響はないので

すが、場合によっては発がんの原因になることもあります。

### DNAはハサミとノリで切り貼りできる

DNAは、19世紀後半に発見されていましたが、遺伝子として機能していることが証明されたのは1944年のことでした。それ以降、DNAを調べるためのさまざまな技術が開発されてきました。

1970年代に、DNAを特定の塩基配列の場所で切断する「ハサミ」に相当する制限酵素や、逆に、DNA同士をつなげる「ノリ」の役目を果たすDNAリガーゼが発見されました。これらを利用することでDNAを人工的に切ったり、つなぎ合わせたりすることが可能になりました。また、作成した人工DNAを細胞の中に戻す「運び屋」が開発され、遺伝子工学という分野が確立しました。さらに、同時期にDNAの塩基配列を解読することもできるようになり、今日ではヒトの全DNA(30億個以上)さえも比較的容易に解読できるようになっています。

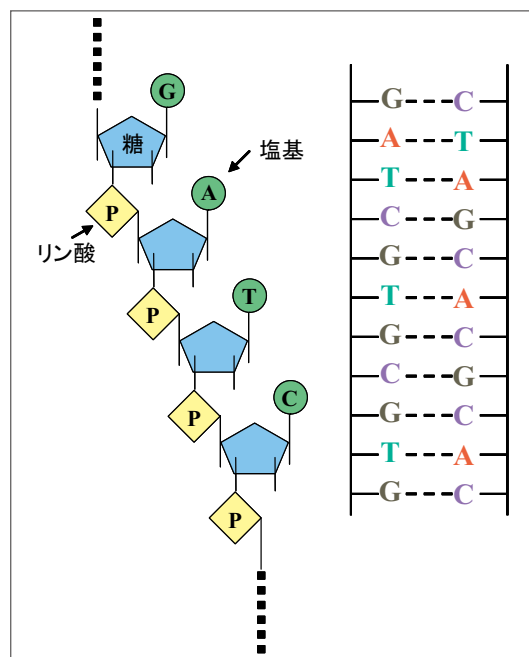


図1 DNAの構造(左)と二本鎖の例(右)

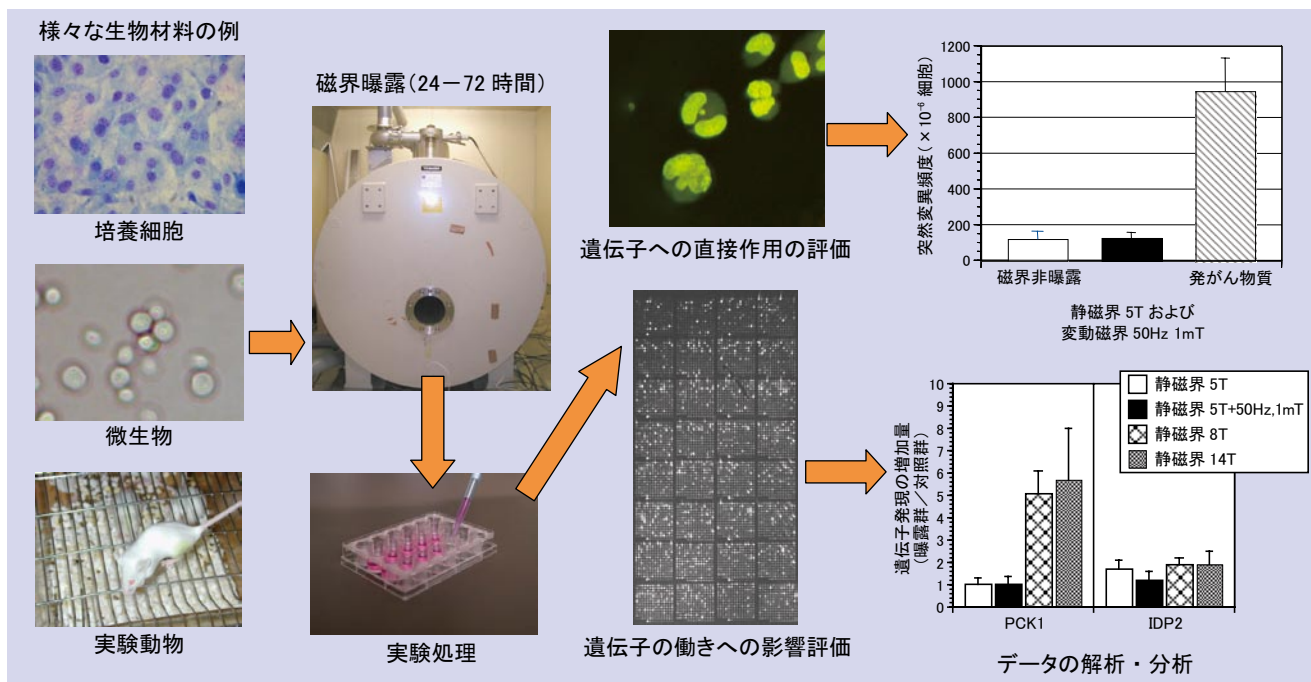


図2 生物を用いた磁界曝露の影響評価実験の流れとデータの例

## PCRによってDNA鎖を複製できる

1985年にポリメラーゼ連鎖反応(PCR)という重要な技術が発表されました。DNAに含まれている4種類の塩基のうち、GはCと、AはTと引き合う性質を持っています。このため、実際のDNA鎖はお互いに対となる塩基配列をもつ2本鎖構造を形成しています(図1右)。このため、2本の鎖を1本ずつに引き離して、端から順番に対となる塩基をもつDNAをつないでいけば、2対の2本鎖DNAが再生できるようになります。これは細胞が増えるときに普通におこなわれていることで、1個の細胞が2つに増える前にこうしてDNA鎖を複製し、それぞれに分配しています。PCRではこの複製作業を容器の中で人工的に繰り返します。20回繰り返すと1対の二本鎖DNAは100万対に、30回では10億対に増えることになります。PCRが発明されたことで、わずかなサンプルからでもDNAを調べることができるようになり、DNAの研究には欠かせない技術になっています。

## 磁界の安全性を評価する

### 磁界と健康

現代は、テレビ、IH調理器、暖房器具など電気を使用する機器や装置が身の回りにあふれています。そして、電気が流れるとその周囲には必ず磁界が発生するため、私たちは磁界(電磁界)に囲まれて生活をしていることとなります。1979年に米国で実施された疫学調査において、小児白血病(がんの一種)と磁界の間に関係があることが示

唆されました。これをきっかけとして、磁界と健康(発がん性)の関係に注目が集まり、これまでに世界中でたくさんの研究が行われています。今までのところ、関係があるという疫学調査の結果がある一方で、影響は認められないという結論を提出した研究もあります。また、動物を使った実験では磁界の発がん性を証明する結果は得られていないようです。こうした状況から、磁界と発がん性の関係について科学的に結論を出すためには、さらに詳細に研究をすることが必要だと私たちは考えています。

### なぜDNAで評価するのか

鉄道でも電気を使用していることから、鉄道総研では以前より磁界の生物影響を評価するための科学的データの蓄積に励んできました。最近では、微生物、培養細胞、実験動物を使って、DNA1個~数個程度の範囲の損傷(変異)を検出する試験や、数百個~数万個単位のDNAの変化をとまなう大規模な変異を検出できる試験など、いろいろな方法でDNAに対する影響を調べています。また、DNAの変異だけでなく、遺伝子としての働きへの影響も調べています(図2)。

微生物や動物細胞を用いた試験で、ヒトへの影響を知ることができるのかと質問されることがありますが、DNAの変異が起こるメカニズムは、生物の種類にかかわらず基本的に同じです。むしろ、細菌や動物細胞を使うことによって、人体ではできない試験ができるほか、たくさんの試験を繰り返して行うことも可能になります。これによって、精度が高いデータを効率的に得ることができるのです。

### 磁界によるDNAへの影響は？

これまでの研究では、地磁気の10万倍もの強さに相当する5Tの静磁界（時間的に強度・方向が変化しない磁界）に長時間連続して曝露すると、わずかながら生体影響が検出されることがわかりました。しかし、その大きさは紫外線やディーゼル排ガス・たばこに含まれる発がん物質等の影響と比較すると極めて小さいものでした。このことから、通常的环境中で経験する極めて弱い磁界（定常磁界で1mT程度、変動磁界で20 $\mu$ T程度）の影響は更に小さく、無視できる程度であると考えています。

現在は、中間周波帯と呼ばれる周波数（2kHz～20kHz）の磁界の影響を中心に調べています。まだ研究の途中ですが、これまでに調べた条件（2kHz, 20kHzで、最大1.1mT）では、DNAに変異を引き起こすことはありませんでした。引き続きデータを集めるとともに、今後はいくつかの周波数の磁界が同時に暴露した場合の影響についても調べていく予定です。

### 微生物を使って環境汚染をモニタリングする

#### 微生物は環境を感じている

私たちの生活は様々な化学物質によって支えられています。一説によると現在では5万種類以上もの化学物質が利用され、さらに毎年300種程度の新規の化学物質が開発されているということです。こうした化学物質は私たちの生活に役立つものですが、野放図に土壌、水、大気などの環境中に流出させてはいけない物質もあります。そうした物質は、化学分析により環境中への流出を監視することが必要です。しかし、化学分析は誰でも簡単に行えるというものでもありません。

一方、土や水の中には非常にたくさんの微生物が生活しており、そうした微生物の中には環境汚染物質といわれる化学物質を食べてしまう（＝分解する）ものがあることがわかっています。こうした微生物も普段は土や水の中にある普通の物質を食べていたり、眠っていたりしますが、汚染物質に出会うと、これを分解するための遺伝子が働き出し、分解酵素というものを作って、分解力を発揮するようになります。このことを利用して、微生物に環境中に紛れ込んだ汚染物質を監視させることができるのではないかと考えました。

#### トルエンを検知できる微生物を作る

環境汚染の原因となる物質はたくさんあります。この研究では、トルエンという物質を対象としました。トルエンは人体に有害なのですが、塗料などの溶剤として使われて

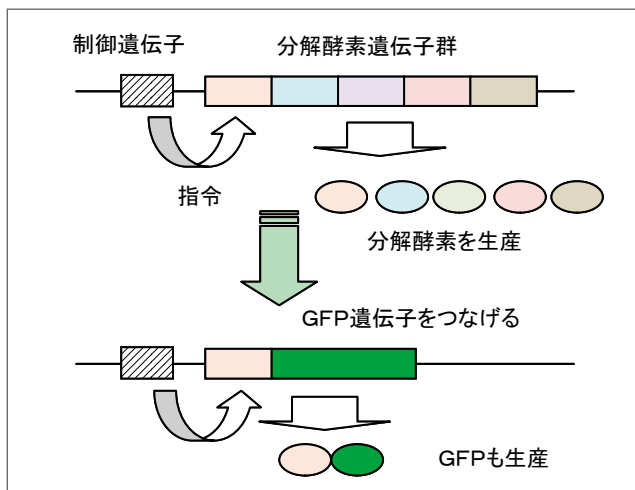


図3 遺伝子組換えにより光るタンパク質を作らせる

います。また、ガソリンにも含まれているので、ガソリンの漏洩を監視することに利用できると考えられます。

次に、利用する微生物には、*Azoarcus* sp 9506菌というトルエン分解性細菌を選びました。この細菌は、非病原性の嫌気性細菌です。嫌気性細菌は培養が少し難しいのですが、土壌中や地下水は酸素が少ない（嫌気状態）ので、そういう環境の監視には適しています。また、トルエンは微生物にとっても有害な物質であるため、トルエンがあると多くの微生物は死んでしまいます。しかし、*Azoarcus* sp 9506菌はトルエンがある環境でも生活できることがわかっています。

この*Azoarcus* sp 9506菌の遺伝子を改変することで、トルエンの存在を知らせる機能を与えることにしました。

#### 遺伝子を入れ替えて新しい機能を付加する

初めに*Azoarcus* sp 9506菌から全DNAを取り出し、PCRによってトルエン分解遺伝子群を含む部分を増幅しました。この中には、トルエン分解酵素をつくるための遺伝子群と、その上流にあって、分解酵素の生産のオン・オフのスイッチの役割を果たす制御遺伝子が含まれています（図3）。制御遺伝子がオンの指令を発すると、上流側から順番に分解酵素遺伝子が働きはじめ、それぞれの遺伝子に対応した分解酵素が作られます。

少し前に書いたように、制限酵素やDNAリガーゼを使うとDNAを切り貼りすることができます。これを利用して、分解酵素遺伝子の下流にGFPというタンパク質をつくる遺伝子をつなげた人工遺伝子を作りました。GFPはオワンクラゲという発光クラゲが持っているタンパク質で、これを発見した下村脩先生が2008年度のノーベル化学賞を受賞されたことで有名になりましたので、皆さんもご存知かもしれません。GFPは、紫外線が当たるとGreen Fluorescence（緑色の蛍光）を発するという性質を持って

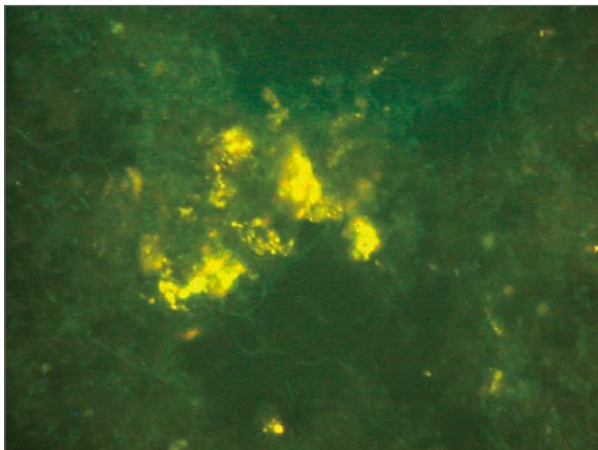


図4 トルエンを検知して蛍光を発する様子

います。分解酵素の下流にGFP遺伝子をつなげておけば、初めは分解酵素が作られますが、途中からはGFPが生産されるはず（図3）。

#### トルエンがあると蛍光を発して知らせる

作成した人工遺伝子を *Azoarcus* sp 9506 菌に導入し、これに栄養素とトルエンを与えて培養しました。普通の顕微鏡で見ると何も変化がありませんが、蛍光顕微鏡という紫外線を使う顕微鏡で見ると、菌体が蛍光を放っている様子が観察できました（図4）。蛍光の有無を調べるだけです。化学分析よりも簡単にトルエンによる環境汚染の監視ができるのではないかと考えています。ただし、実用化のためには蛍光を発し始めるトルエンの濃度の下限値をもっと下げることや、蛍光の強弱を利用してトルエンの濃度を算出できるようにすることも必要です。今後、これらの課題を乗り越えることで、鉄道施設周辺の土壌や地下水中の化学物質のモニタリングに利用し、環境汚染の防止に貢献したいと考えています。

### 有害な微生物の存在を検知する

#### 感染症への注意は常に必要

数年前にはSARS（重症急性呼吸器症候群）に、そして昨年は、新型インフルエンザに注目が集まりました。また、最近では結核にかかる人が増えているということです。これらの病気は、ウイルスや細菌が引き起こす感染症です。感染症の予防には、病原体がいる場所には近づかないことが重要なのですが、病原体はあまりにも小さくて目に見えませんし、交通機関や商業施設などでは病原体の持ち込みを完全に防ぐことは難しいと考えられます。

#### 病原体を検知する試み

空気中の病原体を検知する技術の開発は、国内外ですで行われています。アメリカでは、BioWatchというプロ

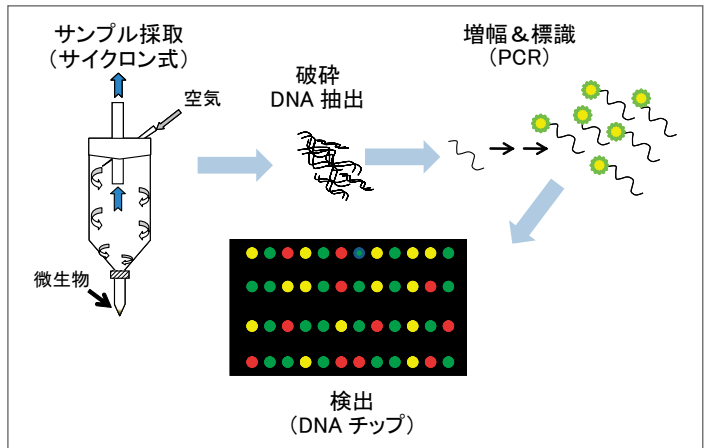


図5 有害微生物検知の検知方法（イメージ）

ジェクトにおいて、30の主要都市で空気中の生物サンプルを毎日一回採取し、危険な病原性生物がないかチェックするということが行われています。また、日本でも、危険な微生物を簡便に短時間で検出する装置の開発が進められています。

#### 課題は微生物の採取とDNAの調製

私たちは、駅や車両内の空気の安全性と快適性の向上を目的として、有害な微生物をモニタリングしたいと考えています。微生物の存在を検知することや、その種類を調べることはPCRやDNAチップ（たくさんのDNAの種類や量を一度に調べる技術）などの最新の技術を利用することで可能と考えられます（図5）。しかし、こうした技術を使うためには、空気中から微生物を含む試料を効率的に集める方法や、そこからDNAを抽出する方法、そしてそれらを自動化することが必要になります。このため、それらの検討を行うことにしました。現在までのところ、吸引した空気をサイクロン式の捕集器に通すことで、微少な固形物を採取できることを確認しています。また、集めた固形物そのものをサンプルとしてPCRを行うことによって、微生物の有無を判定できることもわかりました。今後は、病原性微生物に似かよった（しかし、病気を引き起こすことはない）微生物を使って、どのくらいの微生物がいれば検出できるかを検討する予定です。

### おわりに

DNAを利用して環境中の電磁界の安全性を調べたり、化学物質による環境汚染や有害微生物をモニタリングする研究を紹介しました。これら以外にもDNA情報を利用できる分野があるかもしれません。今後も、鉄道を取り巻く環境中の様々な因子をモニタリングし、安全や快適性の向上に役立てていきたいと考えています。 [RRR]