



## 2001年武田賞 選考理由書

生命系応用分野におけるテクノアントレプレナーシップに富む工学知の創造と活用

### 授賞業績

**高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと  
全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立**

### 受賞者

Hunkapiller, Michael W.

(高性能全自動DNAシーケンサの開発とセラ社の設立の推進)

Venter, J. Craig

(セラ社の設立と全ゲノムショットガン戦略の構築による大規模ゲノム解析システムの確立)

アルファベット順に記載

賞金の2分の1ずつを上記の受賞者に贈る。

## 選考理由

生命系応用分野の2001年武田賞は、高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン法を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立に貢献した Michael W. Hunkapiller と J. Craig Venter に贈る。

Hunkapiller は大規模なDNAの解析時代の到来に対し、解析機器の高速化と自動化、省力化を重視して、1998年に高速自動DNAシーケンサ、PRISM3700を開発した。これは蛍光色素とキャピラリー型電気泳動の使用による高速分析能力、および試料自動交換能力を備えたDNA解読装置と、シーフロー検出技術を組合わせたもので、この開発によって塩基配列解読能力はそれまでの10倍に向上し、後に述べるVenterやヒトゲノム国際共同解析チームによるヒトゲノム塩基配列解析の強力な武器になった。

Venterは大量のゲノムDNA断片のシーケンスデータを出し、そのシーケンスを重ね合わせて

## 授賞業績

## 高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立

ゆくという全ゲノムショットガン法に着目、この省力、自動化に向けた方法をヒトゲノムのような大型ゲノムに、最初から適用できるアルゴリズムを発展させた。ヒトゲノム解析においては、国際共同解析チームはDNA断片のゲノム上の位置を確認(地図化)した上で塩基配列を解読するという手法を中心に進めてきたが、既存の技術システムのみによって30億塩基対をもつヒトゲノムの解析に立ち向かうには多くの困難があった。

高速自動DNAシーケンサの登場で、膨大なシーケンス解析データを生産する道が開かれた。これにより、上記の全ゲノムショットガン戦略が展開できる見通しが立ち、1998年、HunkapillerとVenterは民間企業、セララ社(Cerela Genomics)を設立し、ヒトゲノムの全塩基配列解読を事業として行うことを決定した。多くのゲノム研究者は、多数の繰返し配列がヒトゲノム中に存在することから、全ゲノムショットガン法の採用は困難だと考えていたが、彼らは300台のPRISM3700を1カ所に集めたモジュール系稼働システム(個々の作業工程を連続して稼働するシステム)で、大量のデータ処理を可能にし、短期間にヒトゲノムの塩基配列概要を決定することに成功した。こうして高性能DNAシーケンサと全ゲノムショットガン法の解析用アルゴリズムを組合わせ、データの大量・集中収集と処理システムを戦略的に応用することにより、それまで予想できなかったスピードでゲノム解析が可能になるという工学知を生みだした。さらに、ゲノム解析のような基礎研究を、民間企業により公的資金を使わずに行えることを初めて示した。これらはきわめてアントレプレナーシップに富む行為であり、格別に大きな意義をもっている。

HunkapillerとVenterによるヒトゲノムの塩基配列解読への挑戦は、ヒトゲノム国際共同解析チームによるヒトゲノム塩基配列概要版の実現を早める引金となった。彼らによるヒトゲノム塩基配列概要解読が国際共同解析チームと同時に進行したことにより、ゲノム情報の実用的利用もゲノム科学発展の基盤も整備され、生物学に新しいパラダイムが開かれた。これは、医療、農業、製薬、バイオ・情報産業に、これまで経験したことのないインパクトをもたらしつつあり、人類の富と豊かさ・幸福との実現に貢献することが期待されている。

## 業績とその創造性

### 1. 高速自動キャピラリー型DNAシーケンサの開発

#### 1.1. ゲノムのシーケンシング

Michael W. Hunkapillerは、高性能自動化DNAシーケンサを開発し製品化した。それは旧来のスラブゲル型DNAシーケンサに比べると、解読能力が10倍以上で、それによりヒトゲノムのシーケンシングが可能になった。

生物が生きるために必要な遺伝情報全体をゲノムと呼ぶ。この実体は細胞の核に含まれる染色体の中に存在するDNA分子である。遺伝子はゲノム中に存在するDNA断片で、タンパク質をつくるための情報をもっている。情報は4種類の塩基の配列として保存され、子孫に伝えられる。ゲノム解析とは、遺伝子部分だけでなくゲノムDNA全体の塩基配列を決定することである。ヒトの細胞核には22対の常染色体と1対の性染色体が存在し、ヒトゲノムは30億の塩基対からなる。そのうち遺伝子が占めるのは全体の約5%とみられている。

#### 1.2. DNA塩基配列決定技術

DNA塩基配列決定法としては、A. M. MaxamおよびW. Gilbertが開発した化学的切断反応<sup>1)</sup>と、F. Sangerの開発した酵素反応<sup>2)</sup>を利用する方法があり、共に1980年にノーベル賞を受賞している。自動化された解読装置に用いられているのは、もっぱらSanger法であり、ジデオキシヌクレオチドという特殊なヌクレオチドを使用するため、ジデオキシ法とも呼ばれる。この化合物は3'位に水酸基がないため、DNA鎖に取り込まれても、その先の反応が進まず、そこでDNA合成がストップする。従って、これはターミネータと呼ばれる。基本的なジデオキシ法は、配列のわからない一本鎖のDNA断片と、4種類のヌクレオチド、1つの塩基に対応するターミネータ、それに鎖を伸ばしてゆくときの起点となるプライマーと称する短いDNAと、酵素とを加えてDNA合成反応を行い、結果として、加えられたターミネータの塩基ごとに長さの違うDNA鎖が得られる。この方法では、4種類の塩基に対して4つの反応を同時に行う必要がある。反応液はゲル電気泳動にかけられ、その泳動パターンのオートラジオグラフから配列が読みとられる(図1(a))。読みとるための放射性ラベルは、プライマーに付けられる。

#### 1.3. 蛍光検出法の開発

1986年から1987年にかけて塩基配列決定技術に長足の進歩がもたらされた。カリフォルニア工科大学のL. E. Hoodのグループ<sup>3)</sup>と欧州分子生物学研究所(EMBL)のW. Ansorgeのグループ<sup>4)</sup>

## 授賞業績

## 高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立

とDuPont グループのJ. M. Prober<sup>5)</sup> がそれぞれ独立に、4種類の塩基を蛍光物質で標識し、これをレーザー光で励起して検出する方法を開発した。有害な放射性同位体も時間のかかるオートラジオグラフィ操作も不必要なため、もっぱら蛍光法が使われるようになった。

Hunkapillerはカリフォルニア工科大学のHoodの研究室でポスドクだったときに4色の蛍光色素による検出法の開発に携わった(図1(b))。この方法では電気泳動で分離しながらゲルの下端でDNA断片の蛍光を検出する。このリアルタイムで蛍光を検出する技術が、全自動高速DNAシーケンサの開発へつながった。Hunkapillerは1983年に設立されたアプライド・バイオシステムズ社(ABI)に入り、そこで開発したDNAシーケンサに、カリフォルニア工科大学の検出系<sup>6)</sup>を採用した。これによりDNAシーケンサの能力は数百倍に向上した。

#### 1.4. 高性能マルチキャピラリーDNAシーケンサの開発

蛍光色素による検出法の開発にもかかわらず、DNAシーケンサの能力は、ヒトゲノムのように大規模なゲノムの解読を限られた時間内に完成するには不十分で、さらなる性能の向上が必要であった。それはキャピラリー電気泳動の導入によって実現した<sup>7)-9)</sup>。

スラブゲル電気泳動は平板ガラスの間にゲルを作成して電気泳動を行う。電気泳動の速度を上げるためにゲルの厚さを薄くして高電圧をかけると熱が発生するので、かける電圧には限度がある。そこで新しく採り入れられた技術がキャピラリー型電気泳動である。これは通常、内径が50 μm、長さが30 cm程度のキャピラリーを用いたもので、キャピラリーは熱の放散に優れているため、より高い電圧をかけることができる。分離の速度はスラブゲル電気泳動の約10倍にあがった(図1(c))。

解読の速度をさらに上げるためには、多数の試料を同時に処理することが不可欠である。これはマルチキャピラリーシステムの採用によって達成される(図1(d))。しかしここで蛍光の検出に問題が生じる。ゲルの多孔質の構造とキャピラリーのガラス壁に由来する乱反射が測定を妨害する。この問題を解決するために、R. Mathies<sup>10)</sup>は共焦点法による蛍光検出系を開発しているが、PRISM3700には、日立製作所の神原秀記<sup>11)</sup>とJ.C.Dovichi<sup>12)</sup>(当時カナダ、アルバータ大学)がそれぞれ独立に開発したシースフロー法が採用されている。それは、試料がキャピラリーから流れる瞬間に蛍光を測定するという方法である。シースフローセルの中にキャピラリーの先端を導入し、外から加える水流によって試料の流れを絞り込み、そこに横から直接レーザーを当てて蛍光を測定する(図2)。

ABIでのDNAシーケンサ開発の責任者であったHunkapillerは、マルチキャピラリー電気泳動、蛍光色素化学、資料自動交換システム、それに、日立とアルバータ大学から特許権を取得したシースフロー検出系を組合わせた高性能DNAシーケンサ、PRISM3700を完成し、市場に送りだした。PRISM3700は96本のキャピラリーを備え、性能は一挙に8倍になり、時間は60%も節約になった。しかも自動化により、24時間のフル稼働が可能となったため、人手は1日に15分しかかからず、労働力は、これまでのシーケンサに比べて10%にまで低減した。

## 授賞業績

高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立

## 2. 全ゲノムショットガン戦略の確立

### 2.1. 全ゲノムショットガン法

J. Craig Venterは、NIH( 米国立保健研究所 )を離れて私設の研究所TIGR(The Institute for Genome Research)を設立し、そこでヒトのメッセンジャーRNAから合成したcDNA断片の解読とアッセブリのためのアルゴリズムを開発した。このアルゴリズムを使ってVenterと共同研究者は、1995年に、180万塩基からなるインフルエンザ菌のゲノム解読に成功し<sup>13)</sup>、全ゲノムショットガン法が微生物の全ゲノム塩基配列決定に有効であることを初めて示した。それでも、大型で反復配列の多いヒトゲノムに全ゲノムショットガン法を適用するのは無理であると、多くの研究者は考えていた。

全ゲノムショットガン法は、ゲノム全体を最初から物理的手段で断片化する。こうして得られた大量の断片を片端からシーケンサで読んだ後、それぞれの末端領域にある配列を断片ごとに照合して、同じ配列をもつものを探し出して重ね合わせてゆく。理論的には、全ゲノムの約10倍に相当する配列を読めば、それぞれの断片が整列し連続することになる。つまり、全ゲノムショットガン法成功の鍵は、シーケンサから生産される膨大な量の塩基配列情報を処理するためのアルゴリズム開発とそれが作動するコンピュータ能力にあるとも言える

### 2.2. 階層的ショットガン法

これまでのゲノム配列決定法は、先ず、複数の制限酵素による切断部位の位置を決定して、ゲノムDNAの物理地図を作成するところから始まる。この地図に基づいて整列させたクローンをつくり、各々のクローン化された断片を、ショットガン法でさらに細かくして配列を決めてゆく。( 図3 )。

### 2.3. ヒトゲノム解析計画への挑戦

ヒトゲノムを民間資本で短期間に解読するというアイデアをもたらしたのは、PRISM3700の完成を目にして自信を得たHunkapillerである。1998年1月、PRISM3700を市場に送り出す前に、HunkapillerはVenterをABIに招き、PRISM3700を見せた<sup>14)</sup>。

そこでHunkapillerは、ヒトゲノムの解析を行い、そのデータベースを売る会社の設立を提案し、パーキン・エルマー社が、ヒトゲノムの解読に必要な数のPRISM3700と、解読にかかる資金を提供する用意があると、Venterに伝えた。HunkapillerとVenterは、その計画について議論を重ね、全ゲノムショットガン法を採用することにした<sup>15)</sup>。

全ゲノムショットガン戦略では、モジュール系稼働システム( 図4 )<sup>6)</sup>を、試料の調整からデータアッセブリの過程に適用した。その工程は以下のような4段階、( i )DNA断片ライブラリーの作成、( ii )DNAテンプレートの作成、( iii )ジデオキシ塩基配列決定反応と試料の精製、( iv ) PRISM3700 DNAシーケンサによる塩基配列決定に分けられている。

こうして、300台のPRISM3700と、世界最速とも言われるスーパーコンピュータを装備した大規模DNA配列解読工場、セラ社が1998年設立された。ここでヒトゲノムの解読に取りかかる前に、

## 授賞業績

高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立

Venterは、ハエゲノム解析プロジェクトの研究者と共同で、先ず、1億2000万塩基からなるショウジョウバエゲノムの解読を行った<sup>17)</sup>。解読期間はわずか4カ月だった。ここでは主として、全ゲノムショットガン法の中核ともいえるアッセムブラ・アルゴリズム、すなわち、シーケンサから生産される膨大な塩基配列の生データを整列化するコンピュータ・プログラムがヒトゲノムと同じように複雑で反復配列の多いハエゲノムDNAの整列化にも有効かどうかを試された。その結果、全ゲノムを読む回数が10回以下でも機能する、優れたアッセムブラを開発したことが明らかになった。

#### 2.4. ヒトゲノム概要の解読

ヒトゲノムの塩基配列を、全ゲノムショットガン法で読みとる作業は、1999年9月8日に開始され、2000年6月17日に完了している。それは、2001年2月16日号の*Science*誌上で、「The sequence of the human genome」と題して報告された<sup>16)</sup>。そして、その前日に発行された*Nature*誌には、国際ヒトゲノム計画に携わった世界中の科学者の名前と共に、「Initial sequencing and analysis of the human genome」と題する論文が掲載された<sup>18)</sup>。HunkapillerとVenterの挑戦が、「国際ヒトゲノム計画」の当初の予定を繰上げさせる結果となり、まさに新世紀が始まんとする時期に、概要版とは言え、われわれはヒトゲノムの、これまでで最も詳細な全ゲノム情報を、二つも目にすることができたのである。

### 3. ゲノム研究の社会に与えた影響

セララ社によるヒトゲノムDNA塩基配列決定は、大量情報の集中的収集と処理を行える全ゲノムショットガン法を適用すれば、ヒトゲノムのような大型ゲノム塩基配列決定を迅速に行えるという工学知を生んだ。また大規模コンピュータの力が生物学にも有用であることを印象づけた。

HunkapillerとVenterの業績は、公的資金に支えられた従来の研究体制に疑問を投げかけた。ヒトゲノム解析のような大規模基礎研究でも一民間企業が事業として行えるという認識は、ゲノム関連ベンチャー企業の進出を促し、その数は2年間で倍増している<sup>19)</sup>。

高性能DNAシーケンサでのヒトゲノム解読の成功をみた研究者は、他の動物や植物のゲノム解析を進めている。これらは医療や農業に計り知れない成果をもたらす。高性能DNAシーケンサが製品化されたことは、DNAシーケンサだけでなく、DNAあるいはペプチド合成機、ペプチドシーケンサ、質量分析機などのバイオテクノロジー機器関連産業を盛んにした。

HunkapillerとVenterの業績は、このように、科学および産業界に強いインパクトを与えた。人類の富と豊かさ・幸福との実現に貢献することが期待される。

## 授賞業績

高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立

## 4. 受賞者の略歴

Michael W. Hunkapiller, Ph. D

オクラホマ・バプティスト大学化学学科卒業。

カリフォルニア工科大学で生化学の博士号取得。

1983年 アプライド・バイオシステムズ社(ABI)の最高経営責任者に就任。

1993年 ABIはパーキン・エルマー社(PE)に買収され、ABI事業部門となる。

1997年 PE(現アプレラ・コーポレーション)の副社長に就任。

1998年 アプレラ・コーポレーション事業部門アプライド・バイオシステムズ社長。

J. Craig Venter, Ph. D.

カリフォルニア大学サンディエゴ校生化学科卒業。生理学と薬理学の博士号取得。

1984年 NIHの国立神経疾患・卒中研究所に移る。

1992年 NIHを退職し、The Institute of Genomic Research (TIGR)を設立。全ゲノムショットガン法の技術は、ここでほぼ確立された。

1998年 セレラ・ジェノミクスを設立。現在は、アプレラ・コーポレーション事業部門セレラ・ジェノミクス社長。

## 参考文献

- 1) Maxam, A.M., and Gilbert, W., "A new method for sequencing DNA," *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.* 74, 560-564 (1977).
- 2) Sanger, F., Nicklen, S., Coulson, A.R., "DNA sequencing with chain-terminating inhibitors," *Proc. Acad. Natl. Sci. U.S.A.* 74, 5463-5467 (1977).
- 3) Smith, L.M., Sanders, J.Z., Kaiser, R.J., Hughes, P., Dodd, C., Connell, C.R., Heiner, C., Kent, S.B.H., and Hood, L.E., "Fluorescence detection in automated DNA sequence analysis," *Nature* 321, 674-679 (1986).
- 4) Ansorge, W., Soroat, B.S., Stegemann, J., and Schwager, C., "A non-radioactive automated method for DNA sequence determination," *J. Biochem. Biophys. Methods* 13, 315-323 (1986).
- 5) Prober, J.M., Trainer, G.L., Dam, R.J., Hobbs, F.W., Robertson, C.W., Zagursky, R.J., Cocuzza, A.J., Jensen, M.A., Baumeister, K., "A system for rapid DNA sequencing with fluorescent chain-terminating dideoxynucleotides," *Science* 238, 336-341 (1987).
- 6) Smith, L.M., Hood, L.E., Hunkapiller, M.W., and Hunkapiller, T.J., "Automated DNA sequencing technique," USP 5,171,534 (1992).
- 7) Drossman, H., Luckey, J.A., Kostichka, A.J., D'Cunha, J., and Smith, L.M., "High-speed separation of DNA sequencing reactions by capillary electrophoresis," *Anal. Chem.*, 62, 900-903 (1990).
- 8) Guttman, A., Cohen, A.S., Heiger, D.N., Karger, B.L., "Analytical and micropreparative ultrahigh resolution of oligonucleotides by polyacrylamide gel high-performance capillary electrophoresis," *Anal. Chem.* 62, 137-141 (1990).
- 9) Swerdlow, H., and Gestaland, R., "Capillary gel electrophoresis for rapid, high resolution DNA sequencing," *Nuc. Acids Res.* 18, 1415-1419 (1990).
- 10) Huang, X., Quesada, M.A., and Mathies, R.A., "Capillary Array Electrophoresis Using Laser-induced Confocal Fluorescence Detection," *Anal. Chem.* 64, 967-972, (1992).
- 11) Kambara, H., and Takahashi, S., "Multiple-sheath flow capillary array DNA analyzer," *Nature* 361, 565-566, (1993).
- 12) Dovichi, N.J., and Zhang, J.Z., "Multiple capillary biochemical analyzer," USP 5,439,578 (1995).
- 13) Fleischmann, R.D., et al., "Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae*," *Science* 269, 496-512 (1995).
- 14) Davies, K., in "Cracking the Genome", Free Press, New York, 2001.
- 15) Venter, J.C., Adams, M.D., Sutton, G.G., Kerlavage, A.R., Smith, H.O., and Hunkapiller, M., "Shotgun sequencing of



## 授賞業績

## 高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立

the human genome," *Science*, 280, 1540-1542, (1998).

16 ) Venter, J.C., et al., "The sequence of the human genome," *Science* 291, 1304-1351, (2001).

17 ) Myeres, E.W. et al., "A whole-genome assembly of *Drosophila*," *Science*, 287, 2196-2204 (2000).

18 ) International Human Genome Sequencing Consortium, "Initial sequencing and analysis of the human genome," *Nature* 409, 860-921 (2001).

19 )"Convergence: the Biotechnology Industry Report," *Ernst & Young LLP, Millennium edition*. p16, 2000.



## 授賞業績

高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立

図1 DNAシーケンサの進歩：同位体標識スラブゲルから蛍光標識キャピラリー法へ

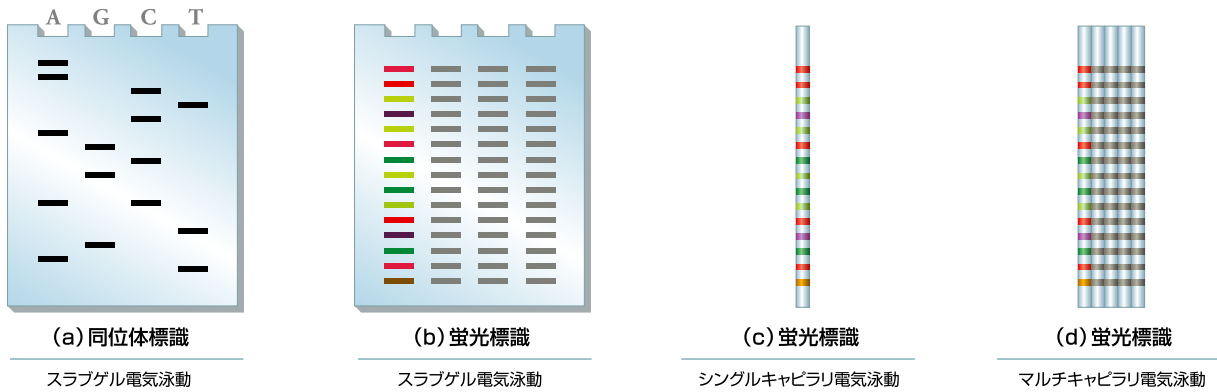


図2 シースフロー検出装置

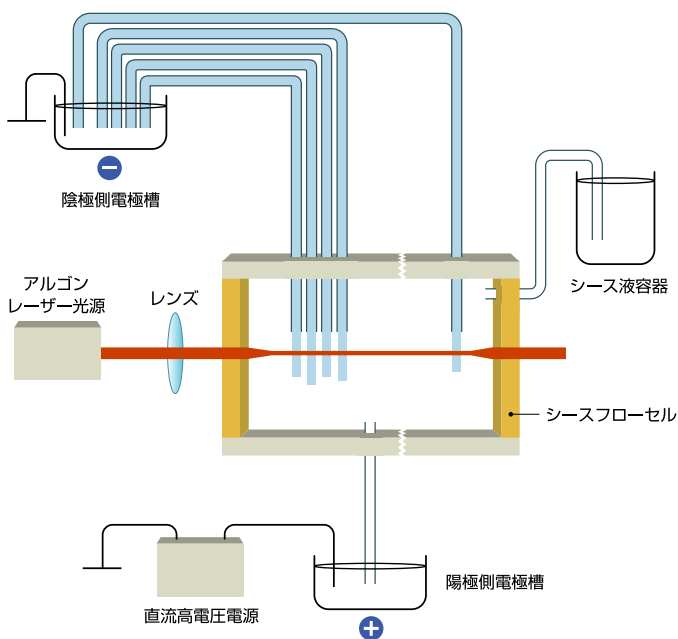
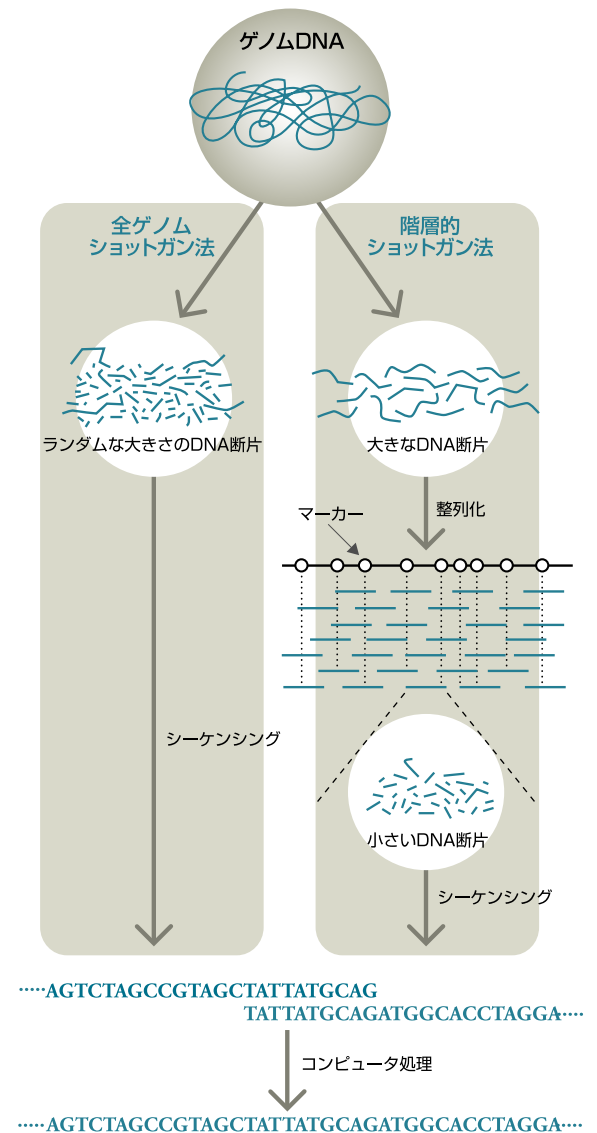


図3 ゲノム塩基配列決定法



## 授賞業績

高性能DNAシーケンサを用いたモジュール系稼働システムと全ゲノムショットガン戦略を組合わせた大規模ゲノム解析システムの確立

図4 全ゲノムショットガン法による塩基配列解読システム (Venter, J.C., et al., Science 291, 1304-1351(2001))

