

微生物の生命機能応用

生命理工学院 生命理工学系 福居 俊昭 研究室

〇〇〇〇 教授 19XX年〇〇〇〇生まれ。〇〇〇〇大学
大学院〇〇〇〇〇〇研究科〇〇〇〇学専攻博士課程修
了。20XX年より、同〇〇〇〇〇〇研究科〇〇〇学専攻
教授。



世界にはさまざまな微生物が存在し、それらのもつ機能を人々は利用してきた。最近では、その機能を遺伝子に着目して解明することができ、微生物の持つ酵素などを産業に応用できると期待されている。福居研究室では、海底火山に生息している微生物の生体機能や酵素の解明と生分解性プラスチックの微生物合成の研究をしている。本稿ではこれらの研究について紹介する。

微生物の有用活用

微生物は、動植物が生息する常温・常圧の温和な環境から、海底火山周辺や温泉、塩湖・酸性湖などの極限的な環境まで、あらゆる環境で生息していることが現在ではわかっている。このような極限環境にも微生物が生息しているのは、微生物がそれぞれの環境に適応した思いがけない生命維持機構をもっているからだ。

また、微生物の中には燃料・工業用原料・プラスチックや抗生物質など、我々人類にとって有用な物質を生産するものも多数存在する。微生物におけるこのような物質生産機能を解明し、その機能を遺伝子操作で改良すれば、このような機能を大規模に利用しすぐれた機能や特徴のある有用物質を非石油資源から大量生産できる可能性がある。

このように興味深い特徴と可能性を有する微生物について、現在福居先生が進めている研究を見ていこう。

超好熱菌の機能解明

前述のような過酷な環境下で生息する微生物の中で、高温環境で生息しているものを好熱菌と呼び、特に90℃以上で生息できる好熱菌のことを超好熱菌という。このような超好熱菌は火山周辺や温泉のような環境に多く見いだされている。超好熱菌は、現存する生命体の中で、あらゆる生物の祖先となった単細胞生物と系統的に最も近い可能性が示されており、すなわち、全生物共通祖先は高温下で生息していたのではないかと考えられている。そうであれば、超好熱菌に似た原始の生命体が現在のような低温環境にどのように適応していったかを考える上で、超好熱菌の研究は重要な役割を果たすだろう。

超好熱菌がもつ機能を解き明かせば、高温下でも変性せず作用するタンパク質、脂質、核酸などの生体分子がどのように作られ、どのような機能をもつかということや、より低温で生息するため

にはどのような機能が必要であるのかということを理解できるかもしれない。

福居先生は以前より *T. kodakarensis* という超好熱菌の研究をしており、この超好熱菌のもつDNAを全て解読することでどのような遺伝子が存在するかを調べ、既知遺伝子との構造比較から機能が推定できる遺伝子と、機能が不明な遺伝子に分類した。前者についても、その機能が推定どおりであるという保証はない。まず、先生は *T. kodakarensis* における生体内での遺伝子機能の確認方法を確立した。その方法とは、遺伝子操作を用いて着目する遺伝子が正常な細胞と、その遺伝子が壊れて正常に機能しない細胞を作り、比べる方法だ。これによって、遺伝子によっては *T. kodakarensis* 細胞内の機能を明らかにすることができた。

しかし、これだけでは機能が全く推測できていない遺伝子を調べることが難しい。このような遺伝子を壊して機能させなくしても、その結果としてどのような変化が細胞に起こるかが予測できないためだ。そこで福居先生は *T. kodakarensis* についてランダム変異ライブラリというものを作った。ランダム変異ライブラリとは、細胞内のDNAのどこかに変異をもつ細胞の集団である。このようなライブラリを作る方法はいくつかあるが、先生が用いた方法はトランスポゾンという、転移するDNAを用いた方法である。*T. kodakarensis* のDNAを適度な長さの断片にし、これをトランスポゾンと共に試験管に入れてトランスポザゼという転移酵素を作用させると、トランスポゾンがDNA断片のどこかに挿入される。こうすることで、トランスポゾンが挿入された部位の遺伝子は破壊されて機能を喪失する。このトランスポゾンが挿入されたDNA断片を *T. kodakarensis* 細胞に

入れてやると、相同性組換えという現象によって細胞がもつDNAとの入れ替えが起こり、どこかの遺伝子がトランスポゾン挿入によって破壊された細胞の集団を作ることができる(図1)。この細胞の集団の中から、なんらかの表現型に着目し、変化が生じている細胞を獲得する。表現型とは、例えば色や形、ある特定の条件において生育できるかできないかなど、遺伝子の違いが目に表れたものである。ある表現型を持つ細胞のDNAのどこが損傷しているかは、トランスポゾンのDNA配列を目印にして取り出し、解析することで確認することができる。

先生はこの方法を使って、*T. kodakarensis* が最も好む85℃より高い93℃、またはより低い60℃で生育能を失った、あるいは低下した細胞を選び出し、解析を進めている。高温条件で生育能に変化があった細胞の解析からは、生命が90℃以上で生育するために必要な遺伝子機能を見いだすことが期待されており、これまでにRNA修飾が重要という結果が得られている。低温条件で生育能に変化があった細胞の解析からは、生命が低温環境に適応していくために必要な遺伝子機能を明らかにすることが期待される。先生は *T. kodakarensis* における様々な表現型にも着目し、新たな遺伝子機能を解明しようと試みている。

微生物プラスチックの改良

先生の行なっているもう一つの研究である微生物を用いたプラスチック生産についてみていこう。現在プラスチックのほとんどは石油をもとに作られている。これまでに軽くて丈夫で加工しやすいといった優れた性質をもつ多種多様なプラスチックが開発され、幅広い用途で使われてきた。だが、

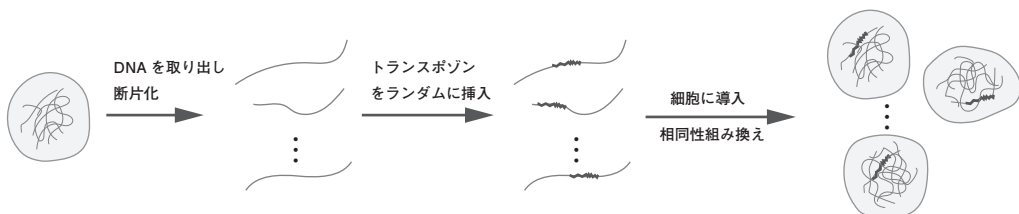


図1 トランスポゾンのランダム挿入による遺伝子変異

ランダム変異ライブラリの製作過程の一部。ランダムにトランスポゾンが挿入されることでDNAがランダムに変異する。

これらのプラスチックは自然環境に流出した際には簡単には分解されないために環境問題を引き起こすという欠点もある。

その改善策の一つとして、微生物を用いてバイオマスからプラスチックを作る方法が挙げられる。微生物の中にはプラスチックとして利用可能なポリエステルを、エネルギー貯蔵物質として蓄積するものが多数知られている。このような微生物プラスチックは自然環境中の微生物によって分解されるという生分解性があり、環境にやさしい。しかし、微生物プラスチックは物性や生産コストの面で課題があり、未だに実用的ではない。そこで、微生物に遺伝子操作を施すことでこれらの欠点を克服したプラスチックを作り、実用化を目指す研究が進められてきている。福居先生もそのような研究を行う一人であり、先生はプラスチックを作り出す微生物として、*Ralstonia eutropha*を用いることにした。

この *R. eutropha* は、炭素数4の3-ヒドロキシブタン酸 (3HB) をモノマーとしたポリエステルを多量に生産することができる微生物である。実用化における欠点としては、このポリエステルが硬くてもろいということだ。これでは石油由来のプラスチックを代替することはできない。そのため、合成されるポリエステルの構造を変え、より良いプラスチックへと改善する必要がある。

微生物ポリエステルにおいては、炭素数4の3HBと炭素数6の3-ヒドロキシヘキサン酸 (3HHx) が適切な割合で重合された共重合体が柔軟性が高くプラスチックとしてよい性質を示すことが分かっていたが、*R. eutropha* はこのような共重合体を合成することはできない。一般に微生物の物質生産に

ついての性質を変えるには、もともと存在する代謝経路に手を加えて調節したり、別種の微生物から新たな酵素遺伝子を導入したりする方法が採られる。そこで先生は、これらの問題を解決するために *R. eutropha* に遺伝子操作を行なった。プラスチックの原料として植物油と糖それぞれを用いた研究を紹介しよう。

■ 植物油

R. eutropha において、取り込まれた植物油はまず加水分解されて脂肪酸を生じる。続いて、 β 酸化という代謝経路でこの脂肪酸の炭素が2つずつ短くなっていく。この経路の中間体の中で、炭素数6のものが3HHxの前駆体、炭素数4のものが3HBの前駆体となる (図2)。

まず先生は *R. eutropha* が有している重合酵素が3HHxを取り込めないので共重合体を合成できないと考え、別の微生物から見いだした3HHxを取り込むことが可能な重合酵素の遺伝子を *R. eutropha* に導入した。その結果、作製した組換え株は植物油から共重合体を合成したが、その3HHxの量は少なかった。*R. eutropha* では炭素数6の物質を3HHxに変換する機能が弱いことが推測され、さらに2つの遺伝子操作を行なった。一つ目は、炭素数6の中間体から3HHxへ変換を効率良く行うことのできる酵素の遺伝子を導入することである。二つ目は、炭素数6の中間体から炭素数4の中間体への反応を緩やかにするものだ。これにより、3HHxへの変換に使える炭素数6の中間体の量を増やすことができ、これらの結果、*R. eutropha* においても3HHxを十分な量を含む共重合体を作らせることができるようになった。

■ 糖

次に先生は、毎年莫大な量が再生産される糖質を原料として上述の共重合体を *R. eutropha* を使って合成することをねらった。糖質を原料とできれば、食料供給と競合しないセルロースといった非可食性の多糖類を原料とする道が開ける。

R. eutropha における糖の代謝経路では、3HBは作ることができるが、3HHxは生成しない。3HHxを作るためには、3HBを作る経路を活用し、その

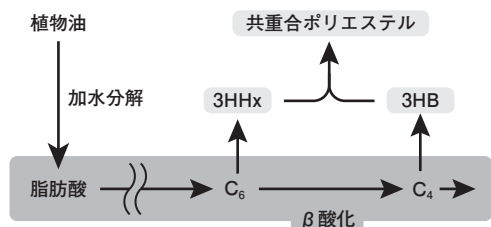


図2 β 酸化を利用した共重合ポリエステル合成経路

β 酸化の経路を利用してできた共重合ポリエステル合成経路。炭素数6の中間体までの反応は省略している。

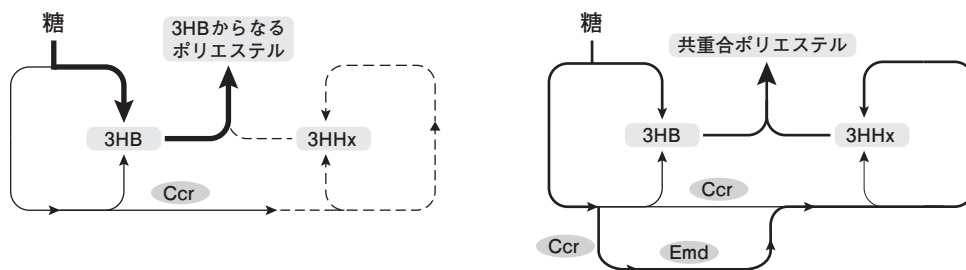


図3 遺伝子改良前後における経路の違い

福居先生の行なった遺伝子操作によって、もともとできなかった共重合ポリエステルを作ることに成功した。

橋渡しとなる経路を新たに作ればよい。このために先生は放線菌と呼ばれる菌の持つCcrという酵素の遺伝子を*R. eutropha*に導入し、3HHxを生成する新たなサイクル状の経路（図3－左）を作ろうとした。ところが遺伝子操作をした*R. eutropha*組換え株は3HHxを含む共重合体を糖質から重合できなかった。その原因として、3HBを作る反応が優先的に起こりCcrが機能する3HHx生成反応がほとんど起きていない可能性が考えられたため、3HBを生成する反応を弱める遺伝子操作を行なった。すると、ポリエステル中の3HHx量は増加したが、その反動でポリエステル量そのものが大幅に減ってしまった。先生は改良のためいくつかの遺伝子操作を加えたが、生成量を戻すことができず、頭打ちとなってしまった。

四年ほど経って、この新しい経路がうまく機能しない理由が判明した。実は、3HHxを生成する反応への橋渡しに利用していたCcrは2種類の反応を触媒する酵素であり、3HHxを作るのに必要な反応は副次的な反応であったのだ（図3－右）。さらにその後、動物細胞においてEmdという酵素がCcrによる主生成物を3HHx生成に必要な副成生物に変換することが発見されたことから、このEmdの遺伝子を*R. eutropha*に導入した。その結果、生産されるプラスチックの量は大きく改善し、また十分過ぎるほどの量の3HHxを含む共重合体を糖質から生合成することに成功した。さらに研究を重ね、適度な柔軟性を示す共重合体をさらに効率良く生産できる株への改良を続けている。

微生物研究の展望

取材の中で、先生は学生に向けて「自分が不思議に思ったところをすごく大事にして、そこに興味をもてるような感性をぜひ持ってもらいたい。」と話していた。研究は自分自身で新たな答えを導いていくもので、その過程も自ら作り出していく。特に生物分野では解明されていないことも多いため、予想外のファクターにより思い通りの実験結果が得られないこともある。そのような状況でもより良い結果を得るために探求し続ける先生の姿勢が先生の研究結果に結びついているのではないだろうか。

十数年前までは、ヒトを含めた生物のDNA情報を解読することですべての生物現象が理解できると考えられていた。しかし、DNA情報を解読してもそのすべての機能は解明できず、解明できた機能も複雑な生体内ネットワークの中に埋もれて、その全体像は依然としてわかっていない。それは微生物においても変わらない。微生物のすべての機能を解くためには、ひとつひとつの機能を直接調べてまとめていくことが大切だ。福居先生はネットワークを紐解くために微生物の研究を日々続けている。

執筆者より

本稿の執筆にあたり、福居先生にはさまざまな面でお力添えいただきました。

至らない私に対しても、長い間貴重なお時間を割いてご協力していただいた福居先生に感謝申し上げます。（今井 龍）