



微生物を使って21世紀に取り組む

—— 正田研究室～化学環境工学専攻 ——



正田 誠 教授

バイオテクノロジーと一口に言っても、クローン、バイオセンサーなど実に様々な研究内容が含まれている。今回は、遺伝子の組換えを用いて微生物の研究をされている正田先生にお話をうかがうことにした。先生の研究の大きなテーマは環境問題

の解決に、生物の反応や機能の利用を考えることである。ここでは、高磁場が生物に与える影響と微生物農薬の開発についての2つの研究を取り上げる。



高磁場における生物反応

地球は大きな磁石であるため、地球上に生存している全ての生物は磁場の中での生活を強いられている。ところが最近、リニアモーターカーなど、超電導を利用した強力な磁石がいろいろな方面へ利用される可能性が出てきた。この新しい磁石は地球の磁場の何十万倍もの高磁場を発生するため、我々はこの高磁場にさらされる可能性が高まってきた。高磁場が与える影響について詳しいことは分かっていない。そこで本研究室では構造が簡単で基礎的な研究が最もされている大腸菌を用いて磁場と生物との関係にメスを入れた。

今まで、磁場が生物にどう作用するかということにはきちんとした理論がなく、研究は単なる現象の報告にとどまってきた。これは磁場の効果の有無について確かな証拠を得る為の最適な生物材料を選択することが難しい上に、生物には外部の異常事態に対する防御機構が存在するためだと考えられる。高磁場を作り出すことも難しいが、これを用いた生体反応を解析する装置の開発が遅れたことも研究がなかなか思うように

進まなかった原因の一つである。

図1を見ていただこう。これは、3種類の大腸菌に殺菌効果のある紫外線を照射したときの菌の生存率をグラフにしたものである。

大腸菌は遺伝子が傷つくとその傷を修復する機構を5つ持っている。ここにあるWP2株はその機構を全部備えているもので、WP2S株は遺伝子を操作することにより、そのうちの1つの機能を欠損させたものだ。見て分かるように、紫外線が強すぎると修復が追いつかず死んでしまっている。WP100株は、この修復機構が2つ欠けていて、WP2S株に比べてはるかに弱い紫外線で生存数が少なくなっている。

もし磁場が遺伝子に損傷を与えるとすれば、この3つの大腸菌を磁場内に置くと紫外線の時と同じような結果が出るはずである。ところが、結果は予想と食い違い、11.7T（テスラ）という地球の磁場の20万倍以上の高磁場でも、3種類とも死ぬことはなかった。つまり、磁場は遺伝子に傷をつけることはないということが分かったのである。

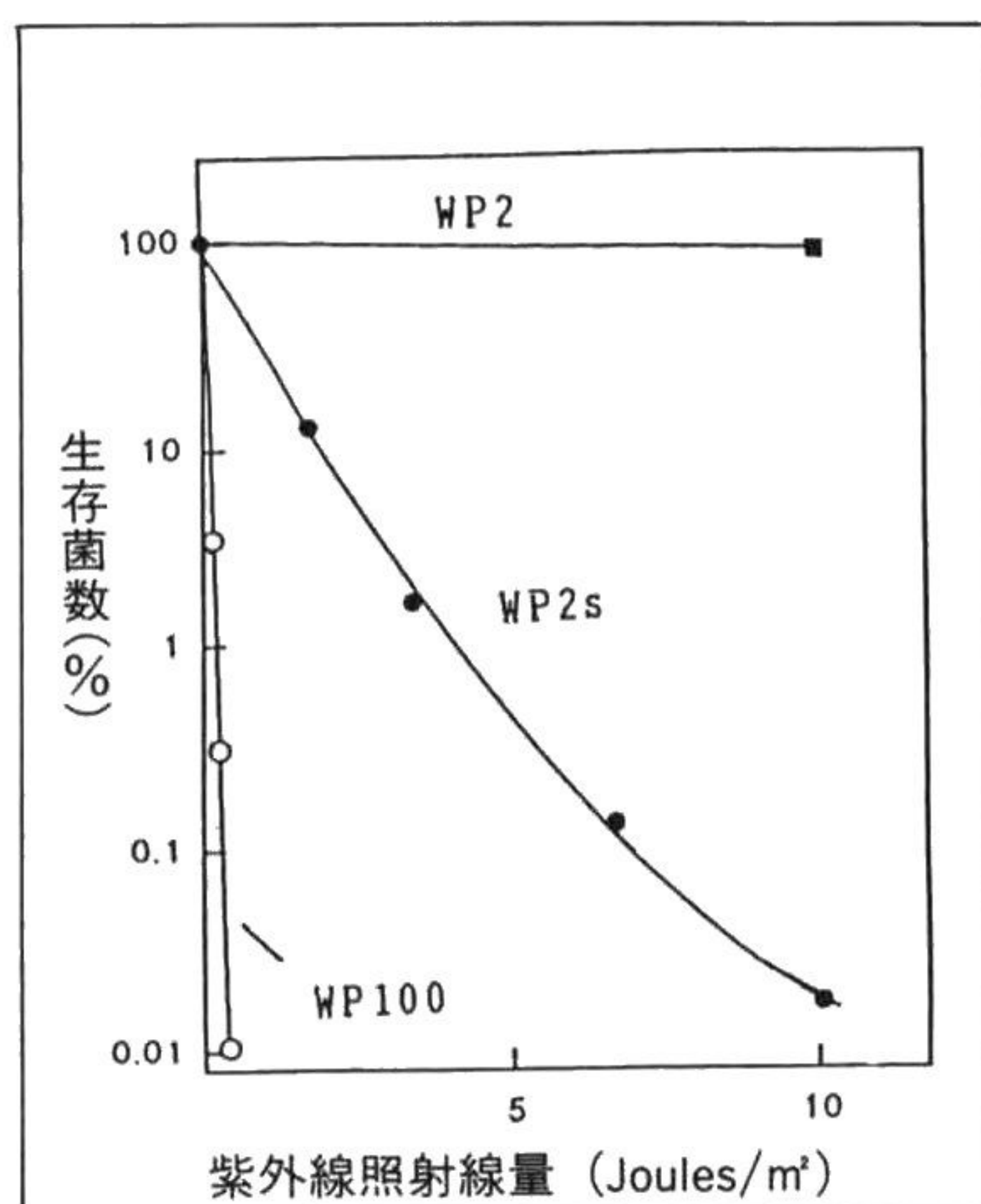


図1 紫外線照射線量と3種類の大腸菌の生存菌数との関係

次に大腸菌の増殖速度を調べてみた。表1がその結果である。遺伝子进行操作してない大腸菌を11.7Tの高磁場の中へ置いたものと、地球磁場のままのものとの、菌の増える速度を比較をしてある。この時、菌が必要とする培地（栄養源）の内容を変えてみた。この表のL培地とは、菌に必要な栄養源は過剰なほど入っているもの、反対にVB培地というのはこの菌が生きるためのぎりぎりの栄養分しか含んでいない培地のことを指す。この結果から栄養の条件により、磁場をかけることで速度が早まったり遅くなったりすることが分かった。

なぜこのようなことが起こるのだろうか。正田先生は2つの可能性を考えている。一つは、磁場によって細胞の膜に変化が起こり、細胞内へ外部物質が容易に侵入できるようになるという考えである。この結果、菌による栄養分の吸収速度が普段よりも大きくなり、増殖の速さを高めたというのである。もう一つは、細胞中の酵素が少し変化して活性が上がったと考えられることだ。

今のところ分かっているのは、磁場の生物に対する影響は周囲の環境条件で変化するらしいということだ

けである。もし、この変化を自由に制御できるようになれば、遺伝子組換え技術によって大腸菌などの微生物で有用な物質を生産する場合に、外部から磁場を与えるだけで簡単に生産の効率が上がることになる。普通は、化学物質を投入して生産を向上させるが、最後にはこの物質を精製して除くという問題が生じる。しかし磁場にはこの欠点がない。

さらに、表1の大腸菌の結果が人間にも当てはまるとすると、胎児と

老人に磁場をかけた時それぞれに異なった影響がでてくるはずである。胎児の時期は栄養も十分にあるため、この細胞は最高の速度で増殖している。だから磁場が当たると影響がでる可能性もある。また、VB培地という条件は人間でいうと、老人の時期ということになる。老人に磁場を当てるとひょっとしたら、長生きするかも知れない。早くこの機構が解明されることを望みたい。

培地	菌数（細胞の数／ml）			A/B
	実験前	A 11.7T 磁場	B 地球磁場	
L培地	1.7×10^3	7.9×10^5	4.3×10^5	1.8
	4.5×10^2	2.4×10^5	1.7×10^5	1.4
	3.5×10^2	3.3×10^5	2.6×10^5	1.3
VB培地	1.5×10^2	1.8×10^5	4.5×10^5	0.40
	9.7×10^2	2.3×10^5	3.9×10^5	0.59
	6.9×10^2	2.8×10^5	2.5×10^6	0.11

表1 大腸菌W P 2株を高磁場(11.7T)におくと栄養条件(培地)によって増殖が加速されたり抑制されたりする例。



磁場のバクテリオファージに対する影響

最近、先生が学会で発表されたものにバクテリオファージと磁場の関係についての話がある。ファージはウィルスと似たようなもので、高等生物に寄生するものをウィルスといい、下等生物にかかるのをファージという。その中でもバクテリアにかかるものをバクテリオファージと呼ぶ。これは、自分では増殖せず、バクテリアに自分のDNAを送り込みその栄養源を使い増殖していく。そして、ある程度細胞の中で増えると

今度は細胞を溶かす（溶菌）酵素を作って細胞の中から外界に出て行きそれぞれが別の細胞へ寄生する。これが普通の生活環なのだが、なかにはバクテリアの遺伝子にはまり込んで共存共栄していくものもある。そこで、この状態のファージがある温度以上になると溶菌が始まるように遺伝子操作を施してみた。

溶菌し始める温度条件の下で磁場(11.7T)をかけてみると、バクテリアの遺伝子にはまり込んで共存してい

るファージの遺伝子がはずれ、溶菌に向かうスピードが10倍も大きくなることが分かった。

将来このことの応用として、エイズのようなウィルスの保菌者からそのウィルスを取り除いてしまうこと

ができるようになるかも知れない。今後は、生物に広く使える磁場装置の開発も含め、動物を使った現象も解明していきたいと先生は言っておられた。



微生物農薬の開発

農薬というのは元来、害虫や植物病原菌を駆除するために開発されたもので、食料生産の増大を通して人類に貢献してきた。しかし一方で、人間を殺すほどの力もある。戦争で使用される化学兵器も農薬の類似物だ。

そこで農薬をより安全な、生物が生産する物質に置き換えることはできないか、ということで始められたのがこの研究である。

研究は農薬の作用を示す微生物がいると仮定して、まずそれを土壌の中から探すことからスタートする。ところが土壌1g中には、1兆~10兆ぐらいの微生物が生息しており、毎日1000個ずつ探していたとしても200~300年かかることになる。ここで、もっと効率よく探すために堆肥に注目したことが、成功の出発点となった。堆肥を使うと病害が起こらないという言い伝えからヒントを得たのだそうだ。

まず、堆肥を集めいろいろな病原菌が繁殖しないものを見つけた。次にこの中から微生物を見つけ出して

培養し、ろ過して微生物とろ液とに分け、病原菌に対するテストを行ったところ、ろ液だけでも病原菌が抑えられていた。この結果から、この微生物は何らかの物質を生産し、それが病原菌に対して効いているということが分かった。

このようにして見つけだされたものが、枯草菌が作るイチュリンというタンパク質であった(図2参照)。

このイチュリンが、いったいどんな病気に効くかということは重要な問題である。植物の病気は、ウィルス、バクテリア、そしてカビによって引き起こされる。この物質はバクテリアの引き起こす19種、カビが引き起こす8種の病気に効き、人体には影響がないことが既に判明している。また、化学農薬の場合たびたび使用していると病原菌は抵抗力を持つが、この場合イチュリンに分解性があるため、病原菌に抵抗力がつく前に分解されてしまうので、その心配はないらしい。まだまだ研究の余地はあるが、本当に理想的な農薬となりそうだ。

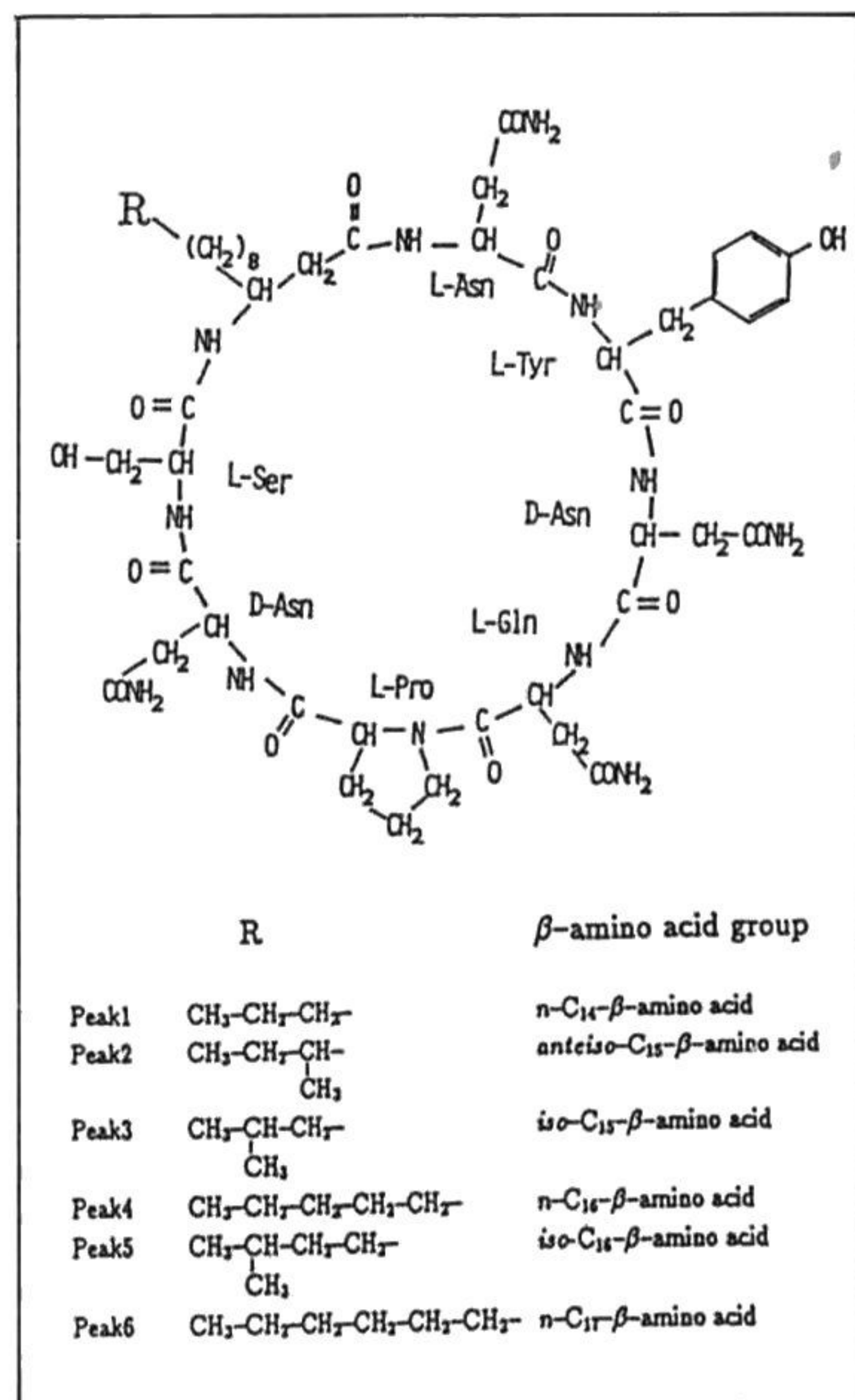


図2 微生物農薬として利用できるイチュリンの構造式



農薬として働く機能を探る

現在、この物質がなぜ病原菌に効くのかというメカニズムを研究しているが、先生は、リン脂質の二重膜構造である生体膜に、イチュリンの側鎖の疎水基が入り込んで病原菌の膜を破壊してしまうのではないかと考えている。そして、このきれいな

環状構造も作用のメカニズムの鍵を握っているのではないかと考えておられる。

枯草菌はD体とL体のアミノ酸を環状に合成して、図2にある6種の側鎖を使い分けこれらを同時に外へ放出している。(この出す量につい

てのデータが図3である) 普通、生物の体に必要なのはL体のアミノ酸で、その鏡像体のD体は使えない。しかし不思議なことに、この菌はL体をラセミ化(光学活性な物質が鏡像体どうしの等量混合物の状態へと変化することをいう)してD体を作り図2のように環状にしているのである。なぜこのような手の込んだ反応を行うのか、解明が待たれるところだ。

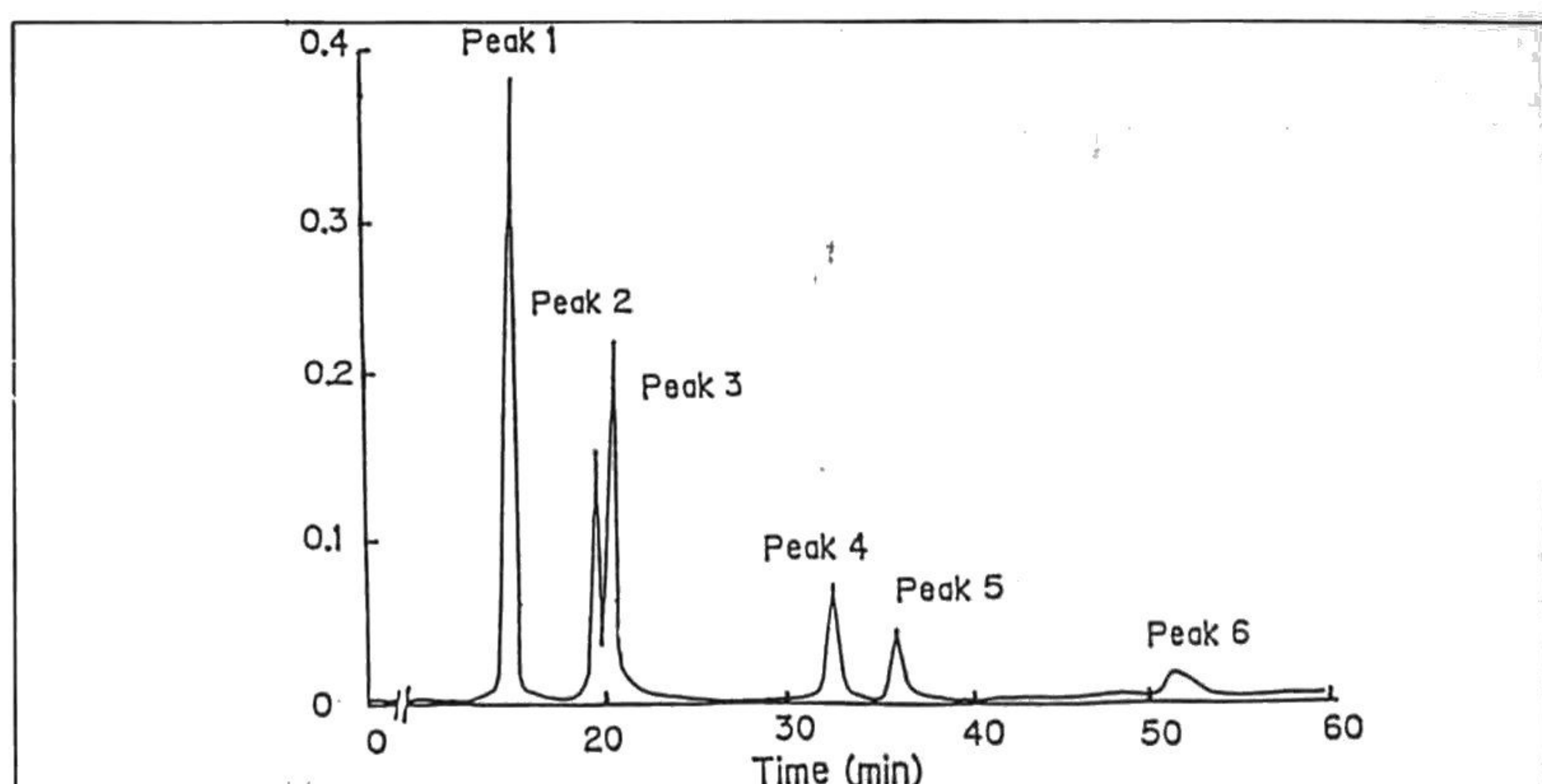


図3 高速液体クロマトグラフィーによるイチュリン6種類の分離パターン
(上のPeak 1~6は図2のPeak 1~6に対応)



遺伝子操作を用いての物質合成

上に述べた有用な枯草菌の能力を飛躍的に向上させるには遺伝子操作が必要である。これには、法律で規制があり、実験室も指定した場所で行わなければならない。長津田にある先生の研究所には日本の大学では最大の実験設備があり、これを十分に活用している。

遺伝子操作には、イチュリンの生産量を増やすという目的がある。また、先生が今後最も研究されたいとおっしゃる、タンパク質工学の手法を用いると新しい活性物質の生合成が設計通り行えるという。

遺伝子操作をしていく上で重要なのは、外から遺伝子を細胞の中に入れることである。このために形質転換法と呼ばれる2つの方法が良く使われる。一つは、コンピテントセル法といい、化学薬品を使ってコンピテント(細胞を外から遺伝子が入り易いようにすること)にする。もう

一つはプロトプラスト法といい、細胞壁を酵素で溶かし遺伝子を入り易くするものだ。

これらの方法は、先生が見つけた枯草菌に使えないことが分かった。それはこの枯草菌が頑丈な野生の菌だからである。

そこでアルカリ金属塩で処理するという新しい方法を開発した。微生物というのはある一定まで増え、周囲の栄養が少なくなると自分で自分を溶かしてしまう溶菌という機構が働く。アルカリ金属のイオンを入れると溶菌する酵素がたくさん作られ細胞が溶けかかり、遺伝子が入り込めるようになるのだそうだ。

この方法を用いて、取り出したイチュリンを作る遺伝子を、枯草菌のプラスミドという小さな運び屋(ベクターという)となる遺伝子につなぎ細胞の中に入れる。

このベクターは、細胞内で自分自

身を何個も複製することができるので、イチュリンを作る遺伝子を1個入れれば遺伝子量が何十倍にも増えることになり、その分だけ生産性が上がる。

またタンパク質工学という方法で遺伝子にいろいろな情報を組み込ませ、イチュリンに含まれるアミノ酸の種類や数を変えたり、側鎖の長さを自由自在に変えることができる。これで新しい有用な物質が生合成される。今まで有機化学は膨大な数の物質を合成してきたが、今後は生体の反応によって環境にやさしい物質の合成が自由にできると期待されている。こうして作られた物質の性質を丹念に調べていくという大変な作業もあるが、宝物箱の中のものを一つ一つ手に取ってみたいような夢のある研究でもある。本当に価値のある宝石がたくさん発見されることを願う。

「遺伝子を操作する上で常に守らなければいけないことは、決して危険なものを作らないこと。安全であるということが重要なんです。」と先生は何回となくおっしゃっていた。周囲の人々の理解と、人々の生活を

より良くしていくためには研究者一人一人のこういう心がけが必要なのだと改めて感じた。

先生のご研究が、今後ますます発展なされることを願っております。

(太田)