



遺伝子の研究から再利用へ

—— 穴戸研究室～生命理学科 ——



穴戸 和夫 教授

地球上に存在する生命体は、大きく生産者、消費者、そして還元者の3種類に分けられる。生産者である植物は環境中の無機物を加工して有機物を生産し、それを消費者である動物が消費し、還元者である菌類が生産者と消費者の死骸や代謝産物を還元し、環境にかえす、という関係が成立している。たとえあまり目立たない還元者であっても、欠けるようなことがあれば、この地球上の生態系は維持できず、生命体は地球上からいなくなってしまうだろう。

今回、我々はその還元者である菌類について研究なされている穴戸教授の研究室を訪ねた。



廃材を再利用しよう

世界の森林は、毎年日本の四国の面積ほども失われていっている。その原因として、伐採される量が多く、また直ぐに捨てられてしまう木材の量も多いことが挙げられる。また、我々が口にしたりする食物の製造過程においても、大量の植物が廃棄されている。

これらのように捨てられてしまう植物資源、つまり廃植物材をさらに利用することは、植物資源の無駄遣いをおさえることにつながるだろう。そして穴戸教授はその再利用のための方法を自身の研究の中に見いだしたのだ。

木材をはじめとして草木など植物資源というのは主にセルロース、ヘミセルロース、リグニンという成分から成っている。この中でセルロースは分解をすることによりグルコースに変換されるとともに、表に示すように様々なことに利用できる有用な物質である。廃植物材を再利用するためには、有用な物質を取り出してあげたいだろう。つまり、ヘミセルロースとリグニンを分解してやり、セルロースを取り出してやることが、廃植物材を再利用することの起点となる。

セルロースを取り出す上で特にやっかいな存在なのは、リグニンである。このリグニンの構造はその分解物の解析から「元はこういう構造をしていたのだろう」という推定構造しか分かっていない。しかも、その推定構造でさえあまりにも複雑なため、この冊子に図として載せることができないものなのである。ベンゼン環が何十個もあるような図を想像していただければとにかく複雑な構造であることがお分かり頂けると思う。このあまりにも複雑な構造のため、リグニンはかなりの難分解性を示す。従ってリグニンを分解することがセルロース抽出における課題とも言えよう。

表 セルロースの用途

分野	用途
繊維・衣服	繊維、軽系用糊剤
食品・飼料	乳化安定剤（乳製品、飲料など）
タバコ	フィルター、再生タバコバインダー
家庭用品	練り歯磨き、シャンプー、リンス
医薬剤	ガーゼ、包帯、乳化安定剤
製紙	サイズ剤、コート剤、繊維結合剤

ここで穴戸教授が長年研究なさってきた「キノコとそれに関わる遺伝子」が役に立つのである。キノコには元来、リグニンを分解する酵素（以後、

分解酵素と呼ぶ）をつくるという機能があり、その機能を増強して利用すると効率よく廃植物材からセルロースを取り出すことが出来るのだ。



DNA から cDNA へ

では、これからセルロースを取り出す行程を説明していこう。まず、分解酵素の情報を持った遺伝子をキノコから取り出す。本質的にはキノコ類であれば、つまり分解酵素の情報を持つ遺伝子を持つものであればヒラタケでなくともいい。穴戸教授はここでヒラタケというキノコを選ばれた。

ここで少し説明しておきたいことがある。遺伝子（DNA）は二重らせん構造をしていて、塩基対がたくさん形成されている。DNAに含まれる塩基は、アデニン（A）、チミン（T）、グアニン（G）、シトシン（C）の4種類で、Aに対してT、Gに対してC、という具合に対をなしている。ここからしばらくの間、図1を参照していただきたい。細胞内ではDNAの情報を発現させ、タンパク質や酵素をつくるために二つの作業を行っている。まずはDNAの一方の鎖の塩基の並びを写し取る作業。これを転写という。次に、DNAの塩基の並びを基にアミノ酸をつなげてタンパク質を作り出す作業。これを翻訳という。DNAの塩基の並びを写し取ったものがmRNA（mはmessenger、「使いの者」の意）である。mRNAにおいてはTの代わりにUが塩基配列に含まれている。その名の通りmRNAはDNA情報をタンパク質へと橋渡しをしてくれる。mRNAが翻訳の場へ移動すると情報の翻訳が始まる。翻訳の場では、tRNA（tはtransfer、「移す」の意）と呼ばれるものが自分自身に対応したアミノ酸を運んできています。tRNAは、mRNAの塩基の並びを3文字ずつ自分の塩基の並びに対応させて、運んできたアミノ酸を並べていき、DNAの情報に対応するタンパク質を作っていく。

実は、DNA上にはアミノ酸に対応しない部分が存在する。しかし、mRNAはDNAのアミノ酸

に対応する部分のみをつなげたものになっているから、対応しない部分は持っていない。DNAからアミノ酸に対応しない部分を取り除くには、転写によって出来上がったmRNAを逆転写酵素と呼ばれる特殊な酵素を用いて二本鎖のDNAに変換してやればよい。こうしてできたものをcDNAという。ここでcDNAのcとはcomplementary、つまり相補的という意味で、DNAの二本の鎖が相補的な構造をしていることを表している。

分解酵素を作る遺伝子をキノコから取り出すというのは、mRNAを取り出してきてcDNAを合成してやることを指している。

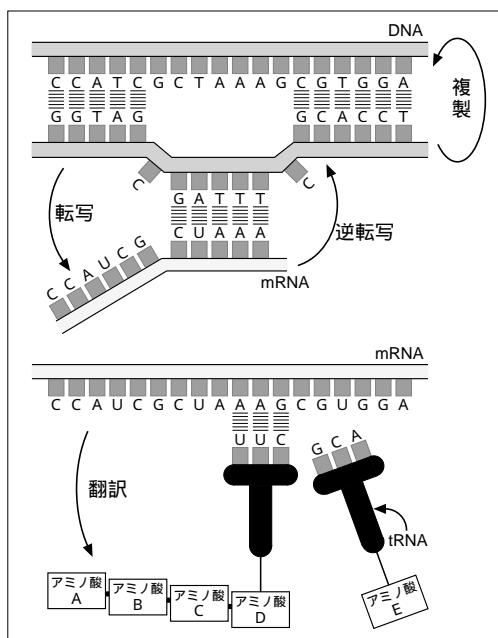


図1 転写・翻訳の略図



大腸菌と一緒に増やそう

取り出してきたcDNAを「プラスミッドベクター（以後、単にベクターと略称する）」と呼ばれるものに組み込み、特定の細胞内に入れて（このとき、

この細胞を「宿主」という）、複製させる（同じDNAのコピーを作り出すこと）というのが作業の流れである。ベクターは特定の宿主の中で複製

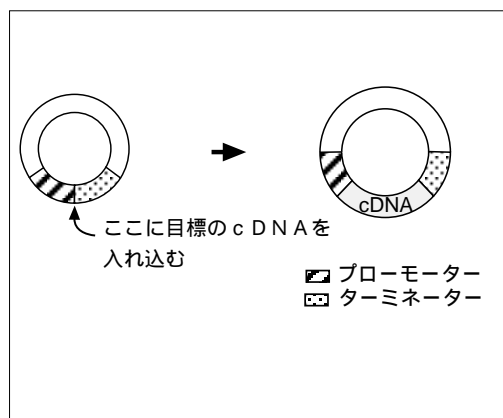


図2 ベクター

出来るという能力を持ち、この能力と宿主自身の増殖力を利用して、取り出してきたcDNAを大幅に増幅させることが出来るのである。

では、ベクターに組み込む、ということはどういうことであろう？ DNA情報を発現させる際、細胞内では先程も述べたように、転写、翻訳の2つの作業が行われている。この転写の際に、転写の開始あるいは終結を指令する情報が必要になってくる。その情報を持っているのが「プロモーター」と「ターミネーター」と呼ばれる部分である。さて、ベクターもDNAであり、プロモーターとターミネーターを持っている。これらの間にcDNAを入れてやる、というのが組み込むということだ（図2）。こうして操作したベクターを、組換えプラスミッドと呼ぶ。

そして、出来上がった組換えプラスミッドを大腸菌の中に導入するのだ。大腸菌内に入り込んだ

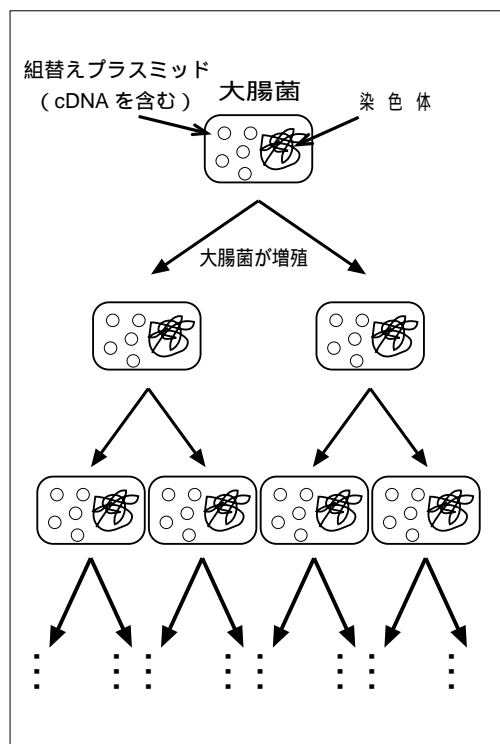


図3 大腸菌の増殖

組換えプラスミッドは、内部にcDNAを含んだまま複製する。組換えプラスミッドは大腸菌の染色体の中に入らず、そのままの形で複製出来る。もし染色体の中に入ってしまうと、そのままの形で複製できないのだ。組換えプラスミッドは、通常宿主である大腸菌に数十個含まれ、大腸菌の爆発的な増殖に伴い、大幅に増幅するのだ（図3）。



何万分の一を選び出す

そして最後に大腸菌で大幅に増幅させた組換えプラスミッドをキノコの中に入れ込むのだ。キノコはカビと同じ菌類であるが、カサのような形をしたものを形成する珍しい菌類である。このカサのようなものを形成する前の、キノコの菌糸細胞を取り出してきて、細胞壁を分解してやる。こうして出来たものを「プロトプラスト」と呼ぶ。これと組換えプラスミッドを接触させると、組換えプラスミッドが、プロトプラストの核内に存在する染色体の中に入り込む。宍戸教授らのグループ

ではヒトヨタケという名のキノコからこのプロトプラストを取り出した。ヒトヨタケを選んだ理由というのは、その「一夜^{ひとよ}」という名前に示されるように成長が速く、したがって、増殖が速いためである。このヒトヨタケのプロトプラストと、先程までの作業で出来上がった組換えプラスミッドをポリエチレングリコールという物質が存在する培地で接触させてやると、プロトプラストの中に組換えプラスミッドが入り込んでいく。しかし、これは100%の確率で入るわけではなく、何

万個に1個ぐらいの割合でしか入ってくれない。しかも、数々の操作を経てリグニン分解力の高まったキノコ細胞になり得るプロトプラストは、わずか1%ほどしかない。もし、 10^8 個のプロトプラストを用意したとすると、キノコ細胞になり得るのは 10^6 個であり、さらに内部に組換えプラスミッドが入るのは 10^2 個でしかない。実際に、キノコ細胞になりうるプロトプラストを 10^6 個作り出すことは簡単である。しかし、 10^6 個のキノコ細胞になり得るプロトプラストから、内部に組換えプラスミッドが入り込んだ 10^2 個のものを区別するのは、何の工夫もしないままでは楽ではない。

そこで組換えプラスミッドを入り込ませる際に、目印（マーカー）となるプラスミッドを同時に入れる。目印にはトリプトファン（アミノ酸の一種）の合成に関わる酵素の遺伝子（以後、TRP1と記述）を利用する。そして入れ込むプロトプラストは、培地にトリプトファンを入れなければ成長できないヒトヨタケの菌糸細胞から作ったものを用いる。言い換えれば、このヒトヨタケは培地中からトリプトファンを取り込んで成長していくというものだ。

プロトプラストと、目標の組換えプラスミッドおよびTRP1を持つプラスミッドを同時に接触させる。そうするとその中にはTRP1を持つプラスミッドが入っていたり、入っていなかったりする。TRP1が入ったものだけは内部でTRP1遺伝子の情報を元にトリプトファンを合成するので培地中にトリプトファンがなくても増殖出来るようになっている。この結果は目で見ても認識出来る。この時、プロトプラストは細胞壁を合成して菌糸細胞となっており、培地にコロニーを作り出すのだ。

このコロニーを取り出してやると、3～4割の割合で、リグニンを分解する力の強まった菌糸細胞のコロニーが取り出せる。何故分解力が強くなるかということ、分解酵素を作る遺伝子を持つ組換えプラスミッドがたくさん染色体の中に入り込むためである。何もしないままでは何万個に1個程の確率しかないが、こうして目印を付けてやると3～4割にまで確率は上昇する（図4）。

こうして分解酵素を作る遺伝子を通常よりも多く持ったキノコ細胞が出来上がる。そして、この細胞を成長させて菌糸の状態にしてやり、廃植物材と共に培地の中に入れてやる。するとこのキノコの細胞は、何もなかったキノコの細胞の何十倍もの分解力で廃植物材中のリグニンを分解しながら成長していく。まだ廃植物材中にはヘミセルロースが残っているが、こちらはリグニンほど難分解性を持たないので簡単に分解することが出来る。こうして取り出されたセルロースは、先に挙げた表のように様々なことに利用することが可能である。

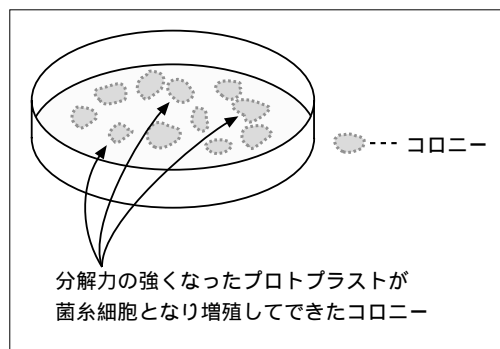


図4 シャーレ内でのコロニーの様子

穴戸教授の研究は何も今回挙げたキノコに関するだけではない。教授が主に研究している内容は遺伝子の基礎的なことで、今回紹介した内容はその基礎的な研究の最中に生まれた「副産物」だとおっしゃっていた。我々にとっては画期的とも言えるこの研究を「副産物」と言ってしまう教

授のスケールの大きさに正直感服した。

最後になりましたが、今回取材に応じて下さり、さらに数々のご助力をして下さった穴戸教授と助手の方に心から御礼を申し上げます。

（竹林 隆）