

【施設利用者の研究紹介】

リン代謝経路の再構築によるバイオセーフティー技術開発

大学院先端物質科学研究科 分子生命機能科学専攻 廣田隆一

遺伝子組換え技術は現在のバイオテクノロジーを支える基盤技術である。異種生物由来のDNAを宿主微生物に導入することで新たな能力を付与したり、代謝経路を改変してバイオプロセスにおける物質生産性を大きく高めることができる。さらに最近ではゲノム編集技術の発展やDNA合成の大幅な効率化によって、従来の技術では作ることができなかったような、いわゆる「合成生物」と呼ばれるような育種株を作り出すことも可能になってきている。これら遺伝子組換え微生物（GMM）の利用は、もはや実験室内の物理的に封じ込められた範囲だけでなく、環境、医療、農業分野など開放系での様々な局面が想定されている。しかし、GMMの開放利用は、生物多様性の保全に及ぼすリスクの点から、カルタヘナ法による規制を受ける。また、物理的に封じ込められた条件であっても産業目的の様に大規模で培養が行われる場合は、漏出のリスクに備えた拡散防止措置を執ることが望まれる。「生物学的封じ込め」は、GMMが環境中では生存できない遺伝的性質をあらかじめ与えておくことで拡散を防ぐ概念である。合成生物学が進展し、開放系を想定したGMM開発が進められている現在、生物学的封じ込めによるバイオセーフティー技術が注目され始めている。

リンはあらゆる生物の必須元素であり、自然環境中ではリン酸（ HPO_4^{2-} ）あるいはそのエステル体の形態で存在するが、環境中では制限栄養塩となりやすい。バクテリアはリンの獲得系を発達させており、酸化状態が異なるリンを利用する能力を備えているものが存在する。我々は、微生物が有する様々なリンの代謝機構の研究を行ってきた過程で、バクテリアがもつ特殊なリン代謝経路を生物学的封じ込めに利用する事を考えた。亜リン酸（ H_2PO_3^- ）は3価のリンであり、天然にはほとんど存在しない。そこで、リン酸を利用できず、亜リン酸だけしか利用できない性質を作ることができれば、その生物は環境中では生存できなくなると考えられる。つまり、亜リン酸の要求性による増殖のコントロール、すなわち生物学的封じ込めが可能になると考えた。亜リン酸デヒドロゲナーゼ（PtxD）は亜リン酸を酸化する酵素である。亜リン酸利用能の付与はこの遺伝子の導入によって可能であった。次に必要となったのは、リン酸の利用能力を喪失させることであったが、これは内在性のリン酸（および有機リン酸）輸送体遺伝子の破壊により可能であった。問題になったのは、「リン酸を取り込まず、亜リン酸だけを選択的に細胞内に取り込むことのできる輸送体」が存在するかということであった。様々なリン輸送体の探索を行い、幸運にもこの様な性質を示す輸送体を発見することができた。この輸送体の基質選択性のメカニズムはまだ不明であるが、放射性同位元素（ ^{32}P ）で標識されたリン酸を使用した取り込み実験により、この輸送体はリン酸に対しては全く特異性を示さないことが確認されている（図1右）。作製した大腸菌の封じ込め株は、期待通り亜リン酸培地でのみ増殖し、他のいかなる培地（リン源がリン酸あるいはリン化合物である通常の培地）でも全く増殖しないということが確認された（図2矢印）。

この封じ込め手法の重要な特徴のひとつは、エスケープ変異株（リン酸利用能を獲得した変異株）の出現頻度が著しく低いことである。これは、バイオセーフティー技術に求められる最も重要な要素のひとつであり、本手法は現時点で報告されている中で最も効果が高い。さらに、この手法はシンプルであるため原理的にはあらゆる生物に適用可能である。現在我々はバイオ燃料生産の有望な宿主として注目されている微細藻類への適用を試みており、実際に藍藻で利用できることを確認している。

生物を「創る」研究が急速に進展している一方で、安全に「使う」研究は大きく後れをとっており、バイオテクノロジーに対する不安や懸念を生み出すひとつの要因になっている。人類の有益な技術としてバイオテクノロジーを安全に活用するためにも、より実用的で効果の高いバイオセーフティー技術の開発が必要である。今後、様々な利用局面を想定した実験により、封じ込め株の安定性や環境中へのインパクトを評価していく予定である。

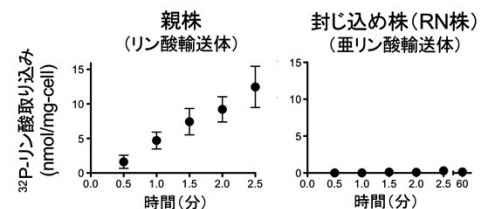


図1: 放射性リン酸 ($^{32}\text{P}\text{-PO}_4^{3-}$) を用いた取り込み試験

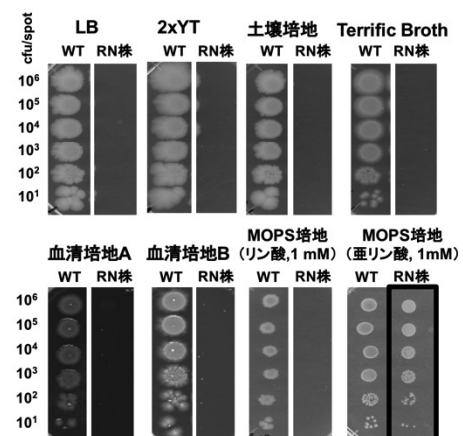


図2: 様々な培地における封じ込め株の増殖