

合成生物学での進化分子工学

浦野 信行

2010年に米国のCraig Venter博士らの研究グループは、化学合成により人工的に作成されたDNAだけを使って微生物のゲノムを構築し、それを、DNAを取り除いた微生物に移植することによって、導入された人造ゲノムの性質を持ち、増殖を続ける「新しい細菌」を創り出すことに成功したり、これは既存の生命体を利用しているという観点から、ゼロから人工生命の完全合成に成功した、ということの意味するわけではない。しかし、この方法で任意の遺伝子を持った細菌が創出できるようになったという意味で非常に意義深い研究成果であるといえよう。このような新しい生物の創造とは少し異なるが、既存の生物に特定の機能を付与した「自然界には存在しない機能を有する生物を人工的に創り出す」研究、たとえば微生物に特定物質の生合成機能を付与するような研究は、それ以前より実施されている。すなわち、欲しい物質を生産するための「回路」（代謝経路）を設計し、それに必要となる生物の「部品」を組み合わせ、それをきちんと働くように「制御」する、合成生物学的な研究である。

近年、こうした研究により創り出された微生物や微生物機能を、進化分子工学的手法でさらに進化・改良・最適化するような研究が行われている。地球誕生から現在に至る地球上生物の機能進化は、突然変異などによる多様性の創出とそれに続く機能選択(淘汰)の繰返しによってなされており、そのサイクルを実験室内で「早回し」に繰り返す、生物機能の担い手であるタンパク質やさらに高次な生物機能に改良を加えていくのが進化分子工学である。すなわち、対象遺伝子へのランダム変異導入や近縁遺伝子とのシャッフリングなどによって元の遺伝子と似ているが少し異なる何万といった遺伝子集団を作成し(多様性の創出)、この中から巧妙にデザインされた方法を用いて望む機能を有するものの効率的な選択(淘汰)を繰り返す。自然界での進化では、生物の本質的な目的である増殖や環境適応などに関与しない機能は淘汰されていく運命にあるが、実験室内では本来淘汰されるべき機能、たとえば生育にまったく益のない物質の生産能力、を強化するように方向性を持って生物を進化させることも可能である。以下にそうした、微生物に特

定の物質生産能を付与し、それを進化分子工学的手法で進化・改良・最適化を行った研究事例を紹介したい。

1-プロパノールや1-ブタノールはバイオ燃料として期待されている物質であるが、自然界からはこれらを著量生産する微生物は見つかっていない。Atsumiらはこれら物質の生合成経路を設計し、反応に関わる酵素遺伝子(異種生物種由来のものを含む)を導入した大腸菌株を作成することで、本来生産できない両者の微生物生産に成功した。さらにその生合成経路内の鍵酵素を、進化分子工学的手法を用いて最適化し、生成量を大幅に増やすことに成功した²⁾。この例は、酵素としてのタンパク質における進化分子工学的手法を用いた機能改変と生合成経路最適化の例であるが、生物機能を担っているのはタンパク質だけではない。Alperらは遺伝子発現を調節するプロモーターに着目した。目的物質生合成経路遺伝子のプロモーターを、進化分子工学的手法により作成したさまざまな特徴を有するプロモーターで置換した結果、目的産物の生産量を増大させるようなプロモーターの選抜に成功している³⁾。また、複数の酵素遺伝子を細菌内で発現させる際には、一つのプロモーターの下流に複数の遺伝子を並べオペロンとして導入する方法が広く用いられている。Pflegerらはオペロン内の各遺伝子間にmRNAの構造や安定性を変化させる目的で短い断片を導入し、それを多様に変化させることで、各遺伝子産物の発現量を調節・最適化する方法を確立し、目的物質の増産に成功している⁴⁾。このようにタンパク質レベルだけでなく転写や発現レベルにも、進化分子工学的手法による生合成経路の最適化は有効である。

進化分子工学の目的の一つは、多くの試行の結果得られる知見の拡充による、理論設計能力の向上である。現状では、ゼロから生命体を創造するのは難しいが、その足りない部分を埋めるのに進化分子工学的なアプローチは大きな力を発揮すると期待される。

- 1) Gibson, D. G. *et al.*: *Science*, **329**, 52 (2010).
- 2) Atsumi, S. *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **74**, 7802 (2008).
- 3) Alper, H. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 12678 (2005).
- 4) Pfleger, B. F. *et al.*: *Nat. Biotechnol.*, **24**, 1027 (2006).