

## 屋外でも利用可能な遺伝子組換え微生物を創る

本村 圭

映画「ジュラシック・パーク」をご覧になったことはあるだろうか？現代に甦らせた恐竜と人間との争いを描いたSF映画で、現在までに4本の続編が製作されている人気作である。琥珀の中の蚊の化石から恐竜の血液を抽出してゲノムを解析するなど、当時広く認知され始めていた遺伝子組換え技術を意識した設定が用いられており、斬新で説得力のある展開にワクワクした方も多かったのではないだろうか。

遺伝子組換え恐竜(?)は難しいものの、近年の急速な遺伝子工学技術の発展に伴い、さまざまな有用物質を持つ組換え生物の作製が可能になってきている。想定される使用場所も広がっており、バイオ燃料を生産する微細藻類のオープンポンド培養や、難分解性物質を分解する組換え細菌による土壌浄化など、開放環境での使用を前提とした組換え生物も作製されている。一方で、組換え生物は人の健康や生物多様性に悪影響を及ぼす恐れがあるため、開放環境で使用するためにはさまざまな生物多様性影響評価を実施し、主務大臣による承認を受ける必要がある(カルタヘナ法に基づく第一種使用)。日本ではこれまでに、青紫色のカーネーションや除草剤耐性トウモロコシなど、350種を超える組換え生物の第一種使用が承認されている。しかし、そのほとんどが植物あるいは宿主特異性の高いウイルスであり、ウイルス以外の微生物(細菌、真菌)での承認は米国などで長い使用実績のあった鶏用生ワクチンの大腸菌のみである(2019年1月10日現在)。微生物は目視での確認が困難で、遺伝子の受け渡し(水平伝播)や突然変異が起りやすいため、環境中に拡散した場合のリスク評価が難しく、承認に向けた大きな障壁となっている。

物理的な隔離が難しい開放環境では、組換え体の不必要な拡散を防止するために、目的の場所以外では生育できないような性質をあらかじめ付与しておく「生物学的封じ込め」がきわめて重要となる。「ジュラシック・パーク」でも、登場する恐竜は生存に必要なアミノ酸であるリシンの生合成遺伝子が破壊されており、万が一脱走した場合でもリシンを含む餌を人為的に与えられない環境では生き延びられないようにされていた。しかし、繁殖施設が置かれた島にリシンを多く含む豆類が自生していたため、この封じ込めは突破されてしまう。現実世界でも、類似の方法(栄養要求性の付与による封じ込め)や、目的の場所以外でのみ作動する自殺遺伝子を利用し

た封じ込めが試みられたが、新たな突然変異や水平伝播によって封じ込めから逃れる株(エスケープ株)の出現などの問題を抱えていた。

そこで近年では、より複雑な仕組みでエスケープ株の出現頻度を低下させる試みがなされている。Mandellらは、合成アミノ酸(4,4'-biphenylalanine)に生育を依存し、エスケープ株の出現頻度がきわめて低い組換え体の作製に成功した<sup>1)</sup>。アメリカ国立衛生研究所では、 $10^8$ 匹の生菌中にエスケープ株が一匹も出現しないこと(出現頻度 $10^{-8}$ 以下)を封じ込めの基準としているが、Mandellらの大腸菌は出現頻度 $2.2 \times 10^{-12}$ 以下と、きわめて高い封じ込め効果を示した。詳細は文献に譲るが、この株はゲノム上のすべてのUAG終止コドンがUAA終止コドンに置き換えられるなど大規模な遺伝子改変が施されており、少数の突然変異では形質が復帰しないことが高い封じ込め効果の要因であると考えられている。他にも、ベンゾチアゾールに生育を依存させる方法でも高い封じ込め効果が得られることが報告されている<sup>2)</sup>。

組換え体由来するDNAが自然界の微生物に影響を及ぼさないことも封じ込めにおける重要な性質である。Wrightらは、栄養要求性による封じ込めに加えて、作用範囲の広いトキシン遺伝子を組み込むなどの手法で組換えプラスミドの宿主特異性を上げ、野生株への伝播を起りにくくした<sup>3)</sup>。また、CRISPR-Casのシステムを組み込むことで、目的の場所以外では組換え体のゲノムを切断して死滅させると同時に、組換えプラスミドを特異的に分解して伝播を防ぐ手法なども開発されている<sup>4)</sup>。

今回紹介した封じ込め手法を搭載することで直ちに第一種使用が許可されるわけではないが、そのハードルは確実に下げることができる。一方で、膨大で複雑な遺伝子操作が必要なため適用できる宿主が限定されるなどの課題も多く、実用性を鑑みた場合、より簡便かつ汎用性が高い手法の開発が求められる。今後の研究の進展に期待したい。

- 1) Mandell, D. J. *et al.*: *Nature*, **518**, 55 (2015).
- 2) Lopez, G. and Anderson, J. C.: *ACS Synth. Biol.*, **4**, 1279 (2015).
- 3) Wright, O. *et al.*: *ACS Synth. Biol.*, **4**, 307 (2015).
- 4) Caliendo, B. J. and Voigt, C. A.: *Nat. Commun.*, **6**, 6989 (2015).