



図3. サイズに対応するDNA操作法の概略

マークとなった(図1, 文献3, 4). さらに, ミトコンドリアゲノム, 葉緑体ゲノムも枯草菌ゲノムベクターで完全合成し(文献6), ゲノム合成では世界をリードする独走状態が続いている(文献1, 2).

2. ゲノム移動システム

ゲノム合成も長鎖DNA合成も, 大規模ゲノム設計の中核技術である. しかしながら枯草菌で合成するだけでは片手落ちであり, それらが無傷で所望の細胞に導入して, ゲノムとしての活性を再起動させることでものづくりが達成される.

2-1. 独自の接合伝達の必然性

細胞にDNAを導入するには, 形質転換法が利用される. 形質転換法は細胞ごとに開発されるが, DNAサイズが大きくなると効率は極端に低下する. 10 kbp程度の形質転換はCRISPR-Cas9のゲノム編集には十分なサイズではあるが, 長鎖DNAを汎用的に利用するためには「試験管に取り出す必要のない」移動法が必須である. 筆者はこの点を早々と認識して「接合伝達システム」研究を1998年頃開始した(図1).

2-2. 枯草菌での接合伝達システム開発

枯草菌での接合伝達研究はほとんど無く, 田中室長が単離していた接合伝達プラスミドpLS20を研究対象にした. 10年以上の試行錯誤と事実の積み重ねの結果, 1,000 kbの合成ゲノムを別の枯草菌に4時間で無傷で移動させられる前例のない接合伝達システムを開発した(文献6). この成果により, 接合伝達の最大のメリットである, サイズの制限のない合成ゲノムの導入システムが見えた(文献2, 6).

2-3. 種を超えてゲノムを移動させる接合伝達システム

pLS20は枯草菌から枯草菌への接合伝達法として大いに期待されるが, 枯草菌以外の細胞(シャーシと呼ぶ)へのゲノム移動は行わない. 広範な細胞への接合伝達法の開発を目指してRP4に属する大腸菌接合伝達システムの開発に取り組んだ. 現時点では, 大腸菌から100 kbp以上の巨大DNAが, 藻類(シアノバクテリア, 文献7), サッカロ酵母, メタノール資化性ピキア酵母へ確実に再現よく移動できる(文献2).

3. ゲノム合成とゲノム移動の連結システム

長鎖DNAもゲノムも, 合成から所望の細胞への導入までを枯草菌ゲノムベクターをプラットフォームとする一貫システム構築が残された今後の課題である. 枯草菌を利用しているのは筆者以外には多くなく, 「統合型ゲノム合成移動システム」が, 筆者のライフワークの金字塔となるだろう.

おわりに

ゲノム対象の研究を1990年代に開始する時(図1), 枯草菌(こそうきん)を選んだ. 枯草菌はDNAを能動的に, 正確に取り込む能力を備えており, うまく応用すれば柔軟なゲノム操作に最適だと直感したからである. 役に立つゲノムを「作って学ぶ」の認識が広まり, 対象ゲノムも, 単細胞微生物から動物, 植物まで多様化している. 今を時めくゲノム編集はゲノムを操作できるとされるが, 基本的にピンポイントの塩基配列変異技術であり少なくとも短鎖DNAの導入技術で十分である. 短鎖DNAは20世紀にはほぼ確立した大腸菌での遺伝子工学で調製でき繰り返し適用すれば多数の配列変異を持つ細胞も創製可能である. 筆者の接合伝達システムは, モデル生物以外でも短時間で確実にしかも100 kbpを超えるDNAを送り込めることから, 対象ゲノムの長大な領域を一度の操作で変換できるかもしれない. 大規模にゲノムを改変できる第二世代のゲノム編集技術(仮)に最も近いと考えている. ゲノム(>500 kbp)が合成できるシステムは現在でも枯草菌ゲノムベクターに限られるので「統合型ゲノム合成移動システム」の完成が待ち遠しい. 24時間, 365日常に私の意識と意欲を喚起し続けた枯草菌と今後も長くお世話になることは間違いない.

(引用文献)

1. 板谷光泰, 金子真也 実験医学, 37, 452-457 (2019)
2. 板谷光泰 日本ゲノム微生物学会ニュースレター NO. 20 pp. 2-7 (2019)
3. Itaya, et al: *PNAS*, 102: 15971-15976 (2005)
4. 板谷光泰他: 蛋白質核酸酵素, 51: 61-67 (2006)
5. Itaya, et al: *Nat Methods* 5: 41-43 (2008)
6. Itaya, et al: *Sci Rep* 8: 8792 (2018)
7. Itaya, et al: *J. Biochem.* 164, 15-20 (2018)

謝辞 筆者の生涯プロジェクトは, 多くの方々に支えられました. 現場ではスタッフ, 学生の尽力があってこそその成果であり, また数多くの諸先生にご指導・ご支援を賜ったこと感謝申し上げます. とりわけ, 博士号取得に多大なご指導いただきました井上康男先生(東京大学, 故人)には, 研究者とは何かを擦り込んでいただき深く感謝いたします. 起承転結の機会を作っていただいた, Robert Crouch(米国NIH), 田中暉夫(三菱生命研→東海大学), 吉川博文(東京大学→東京農大), 柳川弘志(三菱生命研→慶應大学), 富田勝(慶應大学)諸先生との出会いがなければここまでの到達は無かったと, ここに深く感謝いたします. また本賞にご推薦いただいた立教大学名誉教授, 河村富士夫先生および選考委員の先生方に厚く御礼申し上げます.