

日本における応用微生物遺伝研究の歩み

東京農業大学総合研究所 池田庸之助

序

メンデルが遺伝の法則性を発見したのが 1865 年、それが再発見されたのが 1900 年、ここに遺伝学が誕生したわけであるが、1930 年代までの遺伝学研究の中心はショウジョウバエであった。これが微生物中心に代ったのは 1940 年以後で、ビードル (Beadle)、テータム (Tatum)、レーダーバーグ (Lederberg) らが、最初はアカパンカビで、次いで大腸菌でいわゆる生化学的突然変異株を分離したのが大きなきっかけとなったとされている。このことは、材料が微生物に代ったというだけでなく、研究が生化学的に行われるようになったことを意味し、一般には 1940 年以前の遺伝学は古典遺伝学、以後の遺伝学は近代遺伝学と呼ばれている。

近代遺伝学の初期の花形は微生物遺伝学で、生化学遺伝学はその同義語とされていた。この遺伝学は 1960 年ごろに急発展して分子遺伝学ということばが生まれ、さらに 1973 年ごろに遺伝子工学という新技術を生んだ。現代はまさに遺伝子工学の隆盛期にあるが、このようにことばが変っても変らぬことが一つある。それは、微生物が常に中心的位置を占めていることで、そのことはバイオテクノロジーということばが生まれた現在も変わらない。

このことは、わが国の微生物遺伝学研究を回顧する場合、どこまでを微生物遺伝学とみなすかという問題とつながる。本来なら理学部関係の人たちの業績をも含めて回顧するのが本筋であるが、執筆依頼の趣旨は農芸化学関係に限るようなので、応用微生物の遺伝学に視点を絞り、執筆者の知る範囲内でその歴史を回顧することとする。

I. 1945 年以前

近代遺伝学の誕生は前述のように 1940 年ごろのことであるが、それ以前に微生物の遺伝学的研究がなかった

わけではない。外国ではドッジ (Dodge)、リンデグレン (Lindgren) によるアカパンカビの遺伝の研究、リンデグレン、ウィング (Winge) によるサッカロミセス酵母の遺伝の研究が有名であるが、わが国においても先駆的研究が二つあった。一つは斎藤賢道、長西広輔両博士によるムコール属カビの接合型の研究 (1915)、いま一つは山本幸雄博士によるサッカロミセス酵母の倍数体の研究 (1939) である。

マラー (Muller) が X 線による人為突然変異誘発を発見したのは 1927 年のことである。このことは日本ではあまり知られていなかったらしく、当時の応用微生物学の主流は天然界から優秀な微生物株を分離することにあつた。筆者の知る限り、台湾産北投石の放射するラジウム線によって酵母の突然変異株をとろうとした中沢亮治博士らの研究 (1936) があるだけである。

II. 1946~1974 年

いまから振り返ると、戦争中 (1941~1945) にアメリカでは微生物遺伝学が大きく発展していた。しかしわれわれは知る由もなく、わが国の学者が微生物遺伝学らしいものと最初に接触したのは突然変異誘発法によるペニシリン生産株の改良であつた。当時は突然変異の誘発に X 線や紫外線が頻用されたが、有馬 啓博士らによる色素非生産性ペニシリン生産株の誘導 (1951) はそのなかの先駆的研究といえる。

突然変異法による微生物の改良はペニシリン生産株から他の抗生物質生産株に移り、いまでは数百倍も生産力価を向上させた例など知られているが、ここでは抗生物質生産株以外の例として井口信義博士らによる醬油麹菌のプロテアーゼ力価向上 (1955) を代表例として掲げておく。

東大に応用微生物研究所が設置されたとき (1953)、設立時の 4 部門の中に微生物育種部門 (のちに遺伝・育

種部門)が設けられたのは、一つには微生物遺伝学という新しい学問がアメリカにおいて発達していたという学問上の要請、いま一つは抗生物質工業支援という産業上の要請があったためである。初代所長坂口謹一郎博士の命によって筆者がその部門を担当することになったが、当時国公立を問わず他に例がなく、わが国最初の微生物遺伝学専門の研究室であった。

命を受けたとき筆者は任にあらざと固辞したが、先生から“いま日本中を見渡しても専門家は少ない、要はやる気があるかどうかだ”といわれた。これが実情であったと思われる。筆者の経験といえばそれより前の3年間ほど理研で抗生物質生産菌の改良に従事しただけである。その窮状を見かねたのか先生は、アメリカから微生物遺伝学の専門家を招聘することを考えられ、1955年コロンビア大学教授ライアン(F. J. Ryan)博士の来日として結実した。同博士は夫人とともに1956年秋までの1年間応用微生物研究所に滞在され、筆者の研究室の研究を指導しただけでなく、東大農学部で微生物遺伝学の公開講義を行った。いまでも講義のテキストが残っているが、それは本格的なもので、わが国の微生物遺伝学はこの年に始まったといえる。講義には他大学の研究者だけでなく企業の人たちも参加し、わが国でその後発達したアミノ酸工業にも大きな影響を及ぼしたといわれている。

なお、微生物遺伝学を扱った成書としては、筆者が1956年共立出版社刊“微生物工学講座”第1巻に執筆した約160頁の解説が本邦最初のものといえる。

以下、いわゆる組換えDNA技術が採用されるまでの微生物遺伝学関係の研究を微生物種ごとにまとめてみることにする。

1. カビの遺伝

本格的な研究としては、1955年から61年にかけて東大応微研の石谷(現姓武市)千代子博士を中心になされた麴菌の遺伝研究が最初のものといえる。同博士らは麴菌にバラ有性的生活環のあることを証明、交雑法で改良する道を開いた。3倍体、4倍体を育成するなど応用面を加味して研究したので、いまだに成書に引用されている。この方法を利用しての改良成果も他の研究者によりいくつか報告されている。しかし、実用面でどれだけ貢献しているかは明らかでない。麴菌以外では、同じ応微研で研究されたリゾプスのヘテロカリオン形成、東大農学部で研究された微生物レンネット生産菌の細胞融合以外あまり例を知らない。ただし、異種カビの細胞融合は、現在の大きな研究課題の一つである。

2. 酵母の遺伝

戦後最初の研究は、東大応微研でなされた高橋俊明博士らの研究(1958~60)である。同博士らは主としてホモ型酵母を研究、ホモ型にも隠れた接合型のあることを発見、ホモ型 \rightleftharpoons ヘテロ型相互変換など輝かしい成果を米国遺伝学会誌に発表した。そのあとわが国の声価を高めたのは大阪大学の大嶋泰治博士らで、接合型変換の機構解明(1970~)などで学界に大きく貢献し、またしつつある。現在、酵母遺伝集談会が設置され、毎年1回研究会を開いているが、レベルは国際的に見てもかなり高いようである。

酵母の遺伝関係での最近の貢献の一つは、三菱化成の郡家徳郎博士らによる線状プラスミドの発見(1981)である。この発見を契機として酵母類からいくつかの線状プラスミドが見出されるようになった。

酵母の遺伝の応用で忘れてはならないのは、醸造試験所の秋山裕一、大内弘造博士らによる泡なし酵母の育成(1971)、キラー酵母の育成(1976)である。アイデアがユニークであるだけでなく、応用面でも大きく貢献しつつある。

なお、遺伝とは直接関係がないが、酵母類のホルモン研究でわが国の学者は特異な地位を占めている。

3. 放線菌の遺伝

突然変異誘発法を除く放線菌の遺伝研究の第1号は、東大応微研の斎藤日向博士らであった。放線菌の1種からまず栄養素要求突然変異株を誘導、次いでそれらの混合培養によって遺伝的組換え型の取得に成功した(1958)。これは、放線菌においても遺伝的組換えのおこることを証明した世界の第2の例となった。

その後放線菌で世界の注目を浴びたのは、予研の岡西昌輔博士らの研究で、抗生物質の生産とプラスミドの有無の間で密接な関係のあることを指摘した(1970)。この説はその後多少修正されたが、この方面の研究を大きく刺激したことは事実である。岡西博士らはまたプロトプラスト融合(1974)などにおいても、大きな功績を残している。

4. 細菌の遺伝

細菌の遺伝の中心は大腸菌で、農芸化学関係の人も大腸菌およびそのファージでいくつかの貢献をしているが、ここでは触れないことにする。

枯草菌の遺伝を最初に研究したのも東大応微研のグループで、最初はK株で研究された。この株からDアミノ酸要求株その他の突然変異株が誘導されたが、そのなかの1株はさらに改良されて味の素の人たちによりイノシンの工業生産に用いられた(1963)。研究室での常用株

も用い方によっては工業生産に使えることを示した例として高く評価される。

枯草菌には大腸菌のような接合による組換え現象はないが、他の現象すなわち形質導入、DNA 感染などは上記応徴研の人たちにより 1965 年ごろまでに証明された。なお、形質転換の技術はアメリカから導入されたものであるが、斎藤日向、三浦謙一郎博士は形質転換用 DNA の調製法 (1963) で貢献した。

枯草菌の遺伝の応用で大きく貢献したのは東大応徴研の丸尾文治博士を中心とするグループで、アミラーゼ生産の遺伝的背景を明らかにするとともに力価の向上にも成功した (1969)。

細菌の遺伝で特記しなければならないのは、*Corynebacterium* ないしは *Brevibacterium* を中心とする企業の人たちの活躍であろう。結果的にはアミノ酸発酵という世界に誇る工業を確立したことになるが、その学問的功績は次のように要約されよう。第 1 は協和醗酵の研究者を中心とする 1 菌株の多面的利用で、1 つの菌株から突然変異株を誘導、10 に近いアミノ酸の発酵生産に成功した (1957~67)。いま 1 つは、当時発表されたばかりの代謝制御理論を巧みに生産に活用、生産性を一段と高めたことである。この即応性は、わが国の応用微生物学者の学問的水準の高いことを示すものとして、諸外国で高く評価されている。この一連の研究は、応用面だけでなく基礎面でも新しい知見を多く提供したが、例示は避けることとする。

田辺製薬の木住雅彦博士らの研究は、同じアミノ酸生産であってもユニークである。細菌は *Serratia marcescens* で、ここでは突然変異法のほかに形質導入などいわゆる細胞内遺伝子組換え法が用いられている (1977~)。

5. その他

ここで各論的記述をやめて、遺伝学全般に及ぶ面での農芸化学研究者の貢献に移ることとする。その第 1 号は、なんといっても理研の安藤忠彦博士によるヌクレアーゼ S1 の発見であろう (1966)。この発見は筆者の研究室でなされたのでとくに関心が深い。DNA の高次構造決定で大きな役割を果たしているだけでなく、組換え DNA 技術においても頻用されている。わが国で発見された酵素のうち、世界の研究室で最も広くまた感謝されて使われている酵素といえよう。同じ理研の野本正雄博士によって創製されたプロナーゼもまた遺伝学研究室の常備酵素の一つになっている。

DNA 鎖を大きく切る酵素のうち制限酵素は外国で先に発見されたが、理研の筆者の研究室ではそれより前にニックエースを分離している。そして、 λ ファージ感染菌

から分離した λ DNA ニッケースと同じ菌から分離した λ DNA リガーゼを用いて、1970 年にすでに試験管内切断と再結合に成功していたことは、組換え DNA 技術誕生の前夜の事実として記録に残すに値しよう。

酵素といえば、酵母や植物細胞の細胞壁分解酵素の分離・提供の大半は農芸化学研究者の手による。国際会議で細胞 (プロトプラスト) 融合の講演を聞くとき、用いている酵素が日本産であるという経験は多くの人がもっていると思う。

微生物遺伝学の応用の一例として、前向きまたは復帰突然変異を利用しての生理活性物質または自然突然変異誘発物質の検出がある。この研究は、東大、理研の筆者の研究室でもなされたが、その後遺伝研の賀田恒夫博士によって大成された (1978~)。

III. 1975 年以後

いわゆる組換え DNA 技術が確立されたのは 1973~74 年ごろであるが、筆者の知る限り最初にこの技術に興味を示し研究テーマとして取り上げたのは東大農学部魚住武司博士であったと思う。この技術には実験上の規制が伴う。しかし、プラスミドの分離自体は規制外である。またアガロース法という簡便な検出法も考案され、各種の細菌でいろいろなプラスミドが発見された。三菱化成生命研の坂口健二博士らによる枯草菌プラスミドの分離とその系統的分類はその 1 例である。そのほか、九大上田誠之助博士らによる納豆の糸ひきに関係するプラスミドの発見 (1982)、阪大岡田弘輔博士らによるナイロンオリゴマー分解に関係するプラスミドの発見 (1982) は、興味ある発見といえることができる。

酵母のプラスミドについては、前述の郡家博士らによる線状プラスミドがあるが、阪大大嶋博士らによる研究は系統的である。なお京大木村 光博士らによって考案された形質転換法はプロトプラストを用いない方法で (1981)、最近では各国で常用されている。

放線菌のプラスミドもわが国でいくつか分離されているが、研究面では外国から分与されたプラスミドに負いきらいがなきにしもあらずである。

これらのうち庄巻は、東大別府輝彦博士らによる放線菌の A ファクターの発見 (1982) であろう。これは本体は核酸でないが抗生物質の生産性だけでなく他の形態的生理的性質にも多面的に影響を与える因子で、現在世界の学界の注目を浴びている。

組換え DNA 技術が研究されまた応用されるようになったのは、文部省のガイドラインが制定 (1979) された以後である。現在は、大腸菌、枯草菌、酵母での実験

が許され、他は特別許可になっているが、自己系内の実験は許可を得やすいようである。そして事実、大学だけでなく企業において組換え DNA 技術がさかんに研究・応用され、どれを代表例にあげてよいか判断に迷う。

大腸菌の組換え DNA 系で筆者が最も興味を覚えるのは、野田産研中野衛一博士らの研究(1982)である。これは入フェージを用いる方法で、プロフェージの形で保存、培養中加熱によって誘導、クローン化した遺伝子を含むフェージ DNA を細胞内に蓄積させて生産性を高める。

枯草菌では、東大応微研河村富士夫博士らによって開発されたプロフェージ形質転換法が国際的に有名である(1979)。これはフェージを用いる方法で、筑波大の山根国男博士らはこの方法でアミラーゼ遺伝子などをクローニングして赫々の成果をあげている。

同じようなことが東大応微研高橋秀夫博士(1982~)らによって放線菌で研究されているが、他の方法と比較しての得失は明らかでない。

細菌では以上のほかに、好熱細菌での組換え DNA 系の確立、前述アミノ酸生産菌での組換え DNA 系の確立、蛋白質分泌性細菌での組換え DNA 系の確立などほかにも例が多いが、お名前は省略させていただく。

また生産の実例となると例が多く、記名洩れのおそれがあるので、これも省略させていただく。ただし、大量生産となるとわが国にはすぐれた発酵技術があり、他の国から警戒されていることは記しておく必要がある。

最後に、1982年6月、京都において第4回応用微生物遺伝国際シンポジウムの開かれたことを記しておくこととする。これは筆者が会長として開いたものであるが、当時のわが国の代表的研究者が研究発表を行い、この分野でのわが国の研究水準の高いことを世界に印象づけたと考える。

結 語

筆者が微生物遺伝学に関係するようになったのは1953年のことである。したがって、現在(1986)までに30余年経っているが、この間における微生物遺伝学の進歩は、筆者のとりあげた研究テーマからみても、カビの遺伝で出発し、酵母、放線菌を経て枯草菌へ、さらにバクテリオフェージを経て核酸に及んでいる。これは、微生物遺伝学→分子遺伝学→遺伝子工学と進んだ学問の発展を反映したもので、生化学的突然変異株の取得だけが報文となった30年前のことを考えると今昔の感に耐えない。

筆者は1968年名古屋で開かれた農芸化学会大会の“農芸化学の未来を考える”というシンポジウムで、農芸化学は化学を取り入れることによってこんにちの大をなした、今後は遺伝学を取り入れてさらなる発展をはかるべきであると主張したが、いまや微生物遺伝学の手法は農芸化学の大部分の研究室に取り入れられて、研究推進の大きな力となっている。これも今昔の感に耐えない。

生産の科学としての農芸化学は、今後バイオテクノロジーの中心的存在となろう。組換え DNA といっても、それはまだ発展の第1期にすぎない。次の目標としては代謝物生産への活用があるが、さらなる目標には窒素固定、炭酸固定、水素生産などがあり道は遠い。そして、さらに20年経ったときには微生物遺伝学はすでに存在しないのではないか。微生物、植物、動物が混然一体となった姿を筆者は予想している。

これで筆をおくが、本文にお名前を引用しなかった人たちを含め、斯学の発展のために努力された方々に改めて敬意を表する。