

研究課題 (テーマ)	微生物を用いた効率的な有用物質生産を可能にするゲノム改変方法の確立		
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学	教授	西田洋巳
	生物工学	教授	中島範行
	生物工学	教授	榊利之
	生物工学	教授	加藤康夫
研究結果の概要			
<p>本研究の目的はゲノム DNA の塩基配列における特徴や偏り (バイアス) をバイオインフォマティクスによって明らかにし、その特徴やバイアスを微生物ゲノムの改変や設計に利活用し、微生物を用いた有用物質生産の効率化などを行うことにある。この課題は平成 25 年度からの継続で実施しており、今年度における主な成果は次の 2 点である。</p> <p>1. 真核生物におけるゲノム DNA はヒストンタンパク質に巻きつきヌクレオソームを形成して核内において存在している。DNA のグアニン・シトシン含量 (GC 含量) において GC に富む配列が AT に富む配列よりもヌクレオソームを形成しやすいというバイアスがあることが報告されている。そこで、GC 含量のバイアスとヒストンタンパク質の等電点に進化的関連があるかどうかを調べた。菌類の進化系統群 (担子菌類、子囊菌酵母、糸状子囊菌類、古生子囊菌類) におけるゲノム GC 含量の分布には特徴があり、担子菌類と糸状子囊菌類は他の菌類に比べて GC 含量が高かった。しかし、ヒストンタンパク質の等電点の分布では担子菌類がヒストン H2A で他の菌類よりも低く、ヒストン H3 では担子菌類が高く、糸状子囊菌類が低いという異なる分布となった。このことは GC 含量の変化とヒストンの変化が各系統群において異なる進化をしたことを示している。</p> <p>2. 細菌の細胞への異種 DNA の取り込み実験を行うため、紅色細菌の細胞壁を溶解したスフェロプラストに対してペニシリンにより細胞壁合成を阻害しながら培養し、直径で 10 倍、体積で 1000 倍までに細胞を巨大化させた。巨大化細胞を電子顕微鏡で観察したところ、細胞表層における細胞壁および外膜が欠落 (一部には結合している) していること、細胞内部に液胞様構造体が形成されていることを確認した。また、脱巨大化にも成功し、もとのサイズの細胞に戻した。脱巨大化の過程においては、スフェロプラストが繊維状化し、一部の繊維化細胞には隔壁様構造体を確認した。また、電子顕微鏡観察により、繊維化にともなって細胞壁および外膜の再合成が生じていること、繊維状化している部分に核様体が移動していることがわかった。さらに、定量 PCR により、クロモソーム DNA の複製およびプラスミド DNA の複製が巨大化細胞において一定の比で生じていることを明らかにした。現在、人工プラスミドを設計し、安定して細胞内に存在できるかどうかの実験を行っている。</p>			
今後の展開			
<p>ゲノム DNA における塩基配列のバイアス (例えば、プラスミドはクロモソームに対して GC 含量が低くなっていることなど) について明らかにしたことに基づきゲノム塩基配列を設計する。さらにデザインされた DNA を巨大化スフェロプラスト等に導入する実験を行うことにより、塩基配列のバイアスが細胞導入時に影響しているか、細胞導入後に影響しているかについて明らかにする。</p>			