

■ はじめに

大腸菌は遺伝子組換え技術が最も整備されている微生物の一つである。その利用は学術的な研究から産業的な物質生産まで多様である。故に大腸菌における様々な遺伝子変異の影響に関する研究は進んでいるが、菌体内のタンパク質合成装置であるリボソーム遺伝子への変異に関しては十分に研究されているとは言えない状況であった。

我々は、大腸菌においてリボソーム改変技術を用い、大腸菌のリボソーム遺伝子の一部を異種由来のものに置換することで菌体に起こりうる表現型の変化を探った。

リボソーム改変に伴う翻訳特性の変化はゲノムにコードされる遺伝子全体の発現変動や代謝も変化させると考えられ、細胞機能工学としての発展も期待される。

■ 活動内容

1. 大腸菌リボソームの改変技術確立

リボソームは、あらゆる生物に共通する翻訳装置である。バクテリアのリボソームは、3つのRNA(16S, 23S, 5S rRNA)と57種の蛋白質からなる極めて複雑な生体高分子である。リボソームの構成成分のなかでも、16S rRNAは、mRNA上のSD領域と相互作用するアンチSD(ASD)領域を3'末端に含み、翻訳の律速となる開始段階で重要な役割を担う。我々はこれまでに、16SrRNAに着目しリボソームの改変技術を模索してきた。その結果、大腸菌において、大腸菌とは異なる生物種の16SrRNAが機能しうることを明らかにした(Kitahara & Miyazaki, Nat. Commun., 2011; Kitahara et al., PNAS, 2012)。この発見から、異種16S rRNAの大腸菌への置換を工学応用すべき方法の最適化を重ね、ハイスループット化に成功した。16S rRNAの置換法の樹立により、保守性が高いと考えられてきた16S rRNAが大規模に分子改変可能なことを見出し、翻訳装置の機能改変への道筋をつけることができた。

また、多様な改変リボソームを創成するには、置換に用いる16S rRNAの多様度が最も重要である。微生物は、地球上で最大の種数と個数を有する分類群であり、環境中の土壌には、1gあたり 10^9 程度の微生物が存在していると

言われている。しかし、単離・培養ができるものはそのうちの1%にも満たない。そこで我々は、土壌や海水などの環境サンプルから、培養過程を経ずに直接抽出した微生物ゲノムの混合物、メタゲノムを、リボソーム改変において置換に用いる16S rRNAの供給源として活用した。

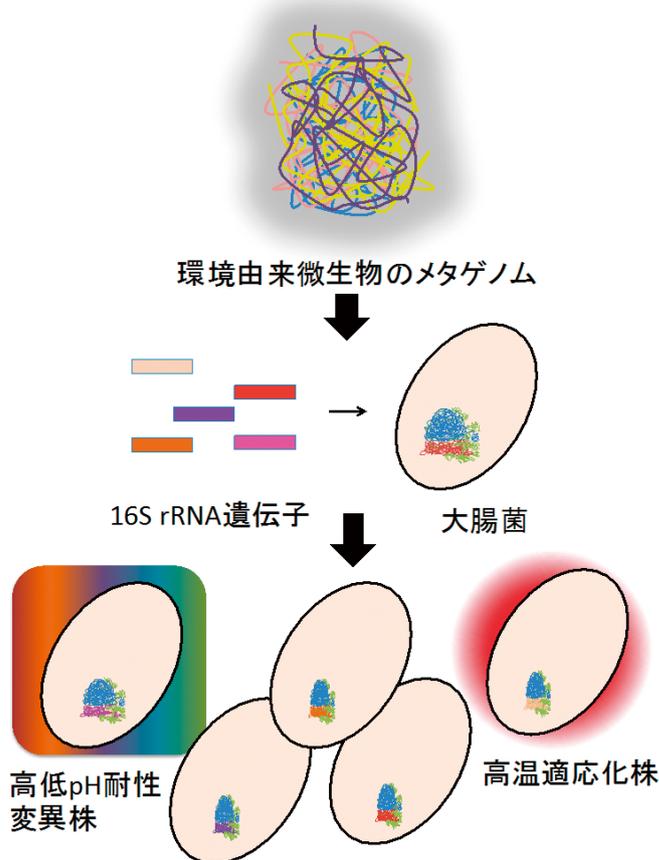
■ 関連情報等(特許関係、施設)

「翻訳効率の改変された大腸菌」宮崎健太郎、佃美雪
13/802256

(米国、2011年3月13日出願、公開)

特願2012-102128

(日本、2011年4月27日出願、公開)



代表発表者 **星野 里樹 (ほしの りき)**
所 属 **東京大学 新領域創成科学研究科
産業技術総合研究所 生物プロセス研究部門**
問合せ先 **宮崎 健太郎**
〒305-8566 つくば市東 1-1-1 第 6-9 224 室
TEL: 029-861-6033 FAX: 029-861-6033

■キーワード: (1)大腸菌
(2)16S rRNA
■共同研究者: 宮崎 健太郎