

生物の形質改良を加速する新しいゲノム改良技術の発明 ～大規模ゲノムシャフリング技術「TAQing システム」～

1. 発表者：

小田 有沙（東京大学 大学院総合文化研究科 特任助教）
中村 隆宏（東京大学 大学院総合文化研究科 助教）
太田 邦史（東京大学 大学院総合文化研究科 広域科学専攻 教授
東京大学生物普遍性連携研究機構
／元 理化学研究所・太田遺伝システム制御研究室 准主任研究員）

2. 発表のポイント：

- ◆多くの遺伝子が関わる複雑な形質を高速で改良できるゲノム改良技術「TAQing システム」を開発しました。
- ◆この技術では、従来の交配による品種改良や放射線・変異源処理による品種改良と異なる方法で大規模にゲノム DNA を変化させ、複合的な新形質を効率よく得ることができます。
- ◆本技術により、今後さまざまな有用形質をもつ微生物や、新しい作物品種を効率的かつ高速に育種することが可能になります。また、ゲノム進化の実験的検証や、近年進展が著しい合成ゲノム研究への応用も期待できます。

3. 発表概要：

東京大学は豊田中央研究所、トヨタ自動車、理化学研究所と共同で、生物のゲノム DNA を大規模に再編成して形質の改良を著しく効率化する新技術の開発に成功しました。

優れた形質をもつ農作物の育種や、有用な発酵性能をもつ発酵性微生物の改良には、複雑な性質に関わる多数の遺伝子を同時に改良することが必要とされます。従来の技術では多数の遺伝子を同時に変化させるのに、長い年月を要したり、また生物に致命的な影響が出ない範囲で実験を行ったりする必要があり、改良効率が限られていました。

今回、DNA 切断活性を温度で調節できる酵素を生細胞内に導入し、一時的に細胞を加温して活性化させることで、細胞の DNA をランダムに切断／再結合（シャフリング）させ、効率的に多数の遺伝子が関わる複雑な形質を改良する新しい技術を開発しました。

この方法を用いることで、熱帯環境下のような高温下で効率的にバイオエタノールを合成できる酵母や、新しい形質をもつ植物などを効率的に生み出す事に成功しました。また、ゲノム進化のプロセスを実験的に検証するためにも、この技術が有効である事が示されました。

4. 発表内容：

人間は自らの生活に生物を利用してきました。これらの生物は、人間との関わりの中で徐々に細胞の DNA（ゲノム（注1）DNA）を変化させ、人間の求める条件に適した性質を獲得してきたと考えられています。

ゲノム DNA の変化は世代交代の際に少しずつ起こるため、生物の改良には非常に長い期間がかかります。現代では放射線照射や薬剤処理により DNA 変化を増大させたり、狙った遺伝子だけ変化させる「ゲノム編集技術（注2）」、長い DNA を人工合成する技術を用いた「合成ゲノム技術（注3）」などを利用したりして、より高速に生物の改良を行う可能性が試みられています。

一方で、放射線や薬剤処理では得られる形質が飽和しつつあります。また、ゲノム編集は、多数の未知遺伝子が複雑に関わる形質の改良には向いていません。合成ゲノムは今後有望ですが、どのように DNA を合成するかを推定するために、既存ゲノムの再編成と表現型の関係を見出す必要があります。そこで、新たな原理に基づく大規模なゲノム再編成技術が必要となります。

放射線や薬剤では、DNA 切断と再結合が複雑なステップで行われますが、本研究ではすぐ再結合可能な形で DNA を切断する酵素を細胞内に導入し、細胞内の DNA を同時多発的に切断して、多数の遺伝子の関与する形質を高速に改良する技術を開発しました。

DNA を切断する酵素を細胞に導入すると、通常は細胞が死にます。そこで、温泉などに生息する高度好熱菌由来の DNA 切断酵素(TaqI)を用いました (図 1)。この酵素は一定の温度以上でないと DNA を切断しませんので、細胞内に TaqI を導入しても細胞が生育できます。そこで、酵母細胞や植物 (シロイヌナズナ) の細胞に TaqI 導入し、細胞を一時的に加温することで、同時多発的に細胞内の DNA を切断しました。その後生存した細胞を増やして、**高速 DNA 配列解析装置 (注 4)** などでゲノム DNA を分析したところ、ゲノム DNA がさまざまなパターンで大規模に変化することが明らかになりました。

また、このような大規模なゲノム DNA 再編成を起こした酵母細胞や植物は、さまざまな形態変化や、バイオエタノール発酵性能の改善 (図 2)、バイオマスの増大などの形質変化 (図 3) を起こすことがわかりました。この形質変化は、たった一回の DNA 切断で引き起こされるもので、従来の方法に比べるとたいへん効率的です。またこれまで得にくかった新形質の獲得も容易になりました。

さらには、生物進化の過程で重要な働きをされると考えられている「ゲノム全体のコピー数 (**倍数性 (注 5)**) 増大」が起きると、複雑な DNA 再編成が起こりやすいことがわかりました (図 3)。また、ゲノム中に散在する**反復性配列 (注 6)** が DNA 再編成の起点となりやすいことなども明らかになりました。

今後は、この技術を用いて優れた発酵性能をもつ微生物や、有用形質をもつ作物の育種の可能性が拡大することが期待されます。また、ゲノム進化のプロセスを実験室内で検証する事も可能になると考えられます。

5. 発表雑誌と支援を受けた研究費：

雑誌名：「*Nature Communications*」(オンライン版) 2018 年 5 月 18 日掲載

論文タイトル："Phenotypic diversification by enhanced genome restructuring after induction of multiple DNA double strand breaks"

著者：Nobuhiko Muramoto, Arisa Oda, Hidenori Tanaka, Takahiro Nakamura, Kazuto Kugou, Kazuki Suda, Aki Kobayashi, Shiori Yoneda, Akinori Ikeuchi, Hiroki Sugimoto, Satoshi Kondo, Chikara Ohto, Takehiko Shibata, Norihiro Mitsukawa, and Kunihiro Ohta
DOI 番号：10.1038/s41467-018-04256-y

アブストラクト URL：<https://www.nature.com/articles/s41467-018-04256-y>

本研究は、トヨタ自動車株式会社、AMED 創薬等ライフサイエンス研究支援基盤事業、文部科学省生命動態拠点研究費、日本学術振興会科学研究費補助金、公益財団法人発酵研究所等の助成により支援されました。

本研究は太田邦史が理化学研究所に在籍中に開始され、その後株式会社豊田中央研究所およびトヨタ自動車株式会社との共同研究として実施されました。

7. 問い合わせ先：

東京大学大学院 総合文化研究科

教授 太田 邦史（おおた くにひろ）

〒153-8505 東京都目黒区駒場 3-8-1

Tel: 03-5465-8834 Fax: 03-5465-8834 kohta@bio.c.u-tokyo.ac.jp

8. 用語解説：

(注1) ゲノム

ある特定の生物種を記述する最小単位の DNA 情報。細胞一つ一つにゲノムの情報をもつ DNA (ゲノム DNA) が格納されています。

(注2) ゲノム編集技術

狙ったゲノム DNA の位置で DNA を切断し、DNA の切断/再結合を引き起こすことで、目的の遺伝子の機能を改変する技術。CRISPR-Cas9 などの DNA 切断酵素を用いる技術で、近年実験室における遺伝子改変に多用されています。

(注3) 合成ゲノム技術

長い DNA を人工合成して細胞内に導入し、ゲノムを設計・合成する技術。2010年にベンターらは化学的に合成した DNA をもつマイコプラズマ細胞を合成することに成功しました。2016年にはヒトゲノムの設計技術や合成技術の開発を目指す The Human Genome Project-Write というプロジェクトが提案されています。

(注4) 高速 DNA 配列解析装置

DNA 分子上の塩基の並びを、同時に多数の分子で分析することで、高速に解析する装置。今回は短い配列を解析する Illumina 社のシステムと、長い配列を解析する PacBio 社のシステムを併用したことが解析成功の鍵になりました。

(注5) 倍数性

人の細胞には、父親由来と母親由来の合計二セットのゲノム DNA が含まれています。この状態を「二倍体」といいます。生物によっては、ゲノムセットがさらに四倍などに増えているものがあります。新しい生物種が登場する際に、倍数性の増大とゲノム再編成が連続して起こったのではないかという説が提唱されています。本研究ではその仮説を支持する実験データが得られました。

(注6) 反復性配列

ゲノム DNA には、同じ塩基配列がいろいろな位置に現れることがあります。たとえば、タンパク質を合成する工場であるリボソームを指定するリボソーム遺伝子の領域では、一つのリボソーム遺伝子が繰り返し反復して並んでいます。その他、自分自身でコピーを増やす性質のある「レトロトランスポゾン」という DNA 配列も、ゲノム DNA の中に多数見られます。今回の研究では、これらの反復配列の中で DNA 再編成が頻繁に起こることが確認されました。

9. 添付資料：

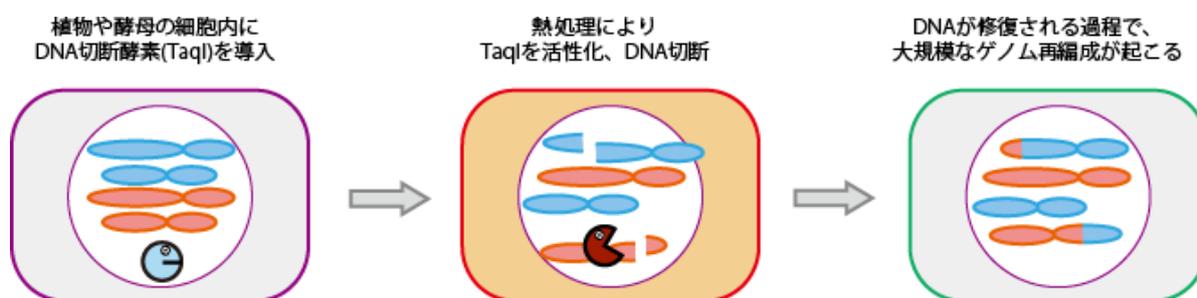


図1 TAQing システムの概要

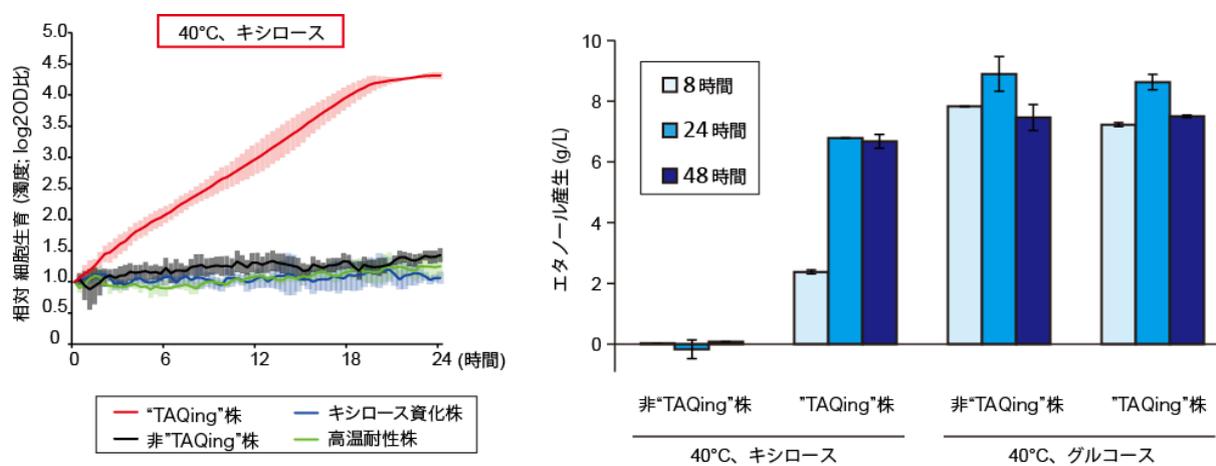


図2 TAQing システムで改良に成功したバイオエタノール産生酵母。高温でもキシロースを栄養源とする株が得られた。

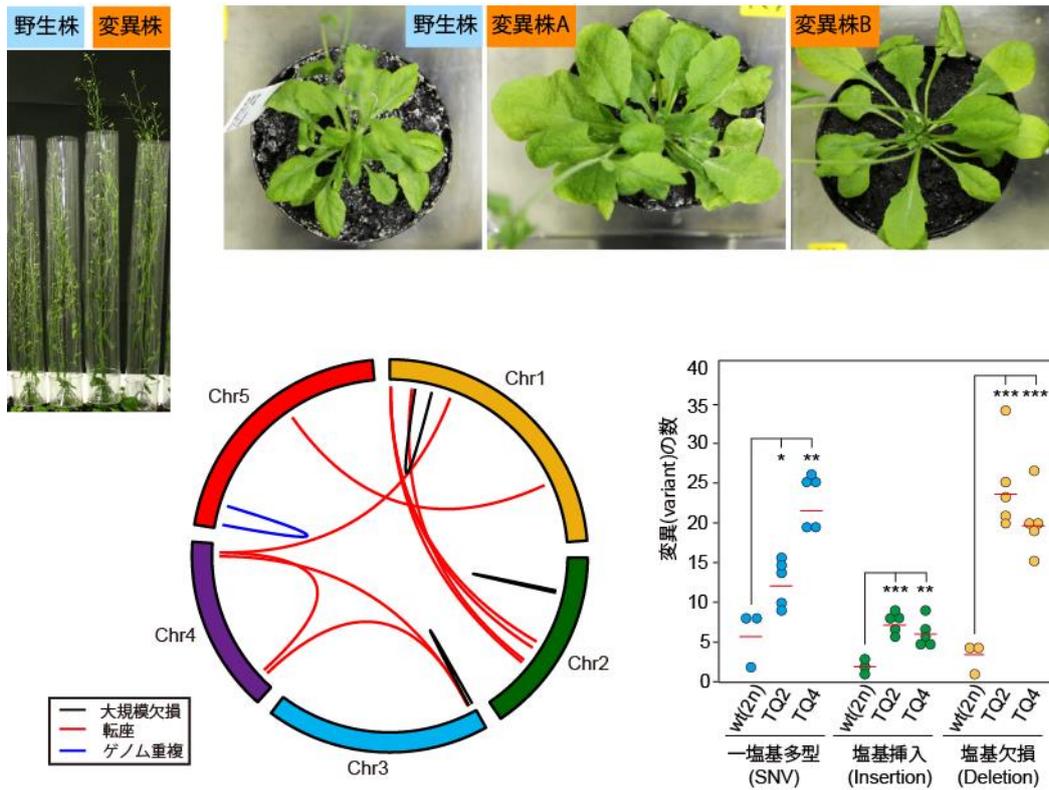


図3 倍数性の大きいシロイヌナズナでTAQingシステムを実施すると、より複雑なゲノムDNA再編成が起こる。(上段) 形質が変化したTAQing変異株、(下段左) 植物における大規模ゲノム再編成の変異箇所の変異箇所の例、(下段右) 二倍体よりも四倍体で多くの変異が入りやすい。