

環境とバイオテクノロジー
2020 年度採択研究者

2020 年度 年次報告書

木村 善一郎

呉工業高等専門学校 環境都市工学分野
准教授

遺伝子を釣り針に任意環境微生物を特異的に獲得する

§ 1. 研究成果の概要

環境中の希少種の生理学的性質はほぼ未解明である。これは菌の性質を調べるためには分離株を得る必要があるが、希少種はその「単純な数の少なさ」に由来し分離が著しく困難である。環境中の複合微生物系を理解し、制御することは、究極的には構成する希少微生物群を含むすべての細菌群を分離し、その生理学的性質を調査、その各種微生物群による生命活動総体である生態系を再構成することに等しい。しかしながら前述のように希少種の多くは未分離である。大多数の希少種は 16Sr rRNA 遺伝子配列を対象とする菌叢解析による系統分類データが得られているのみに留まっている。筆者はこの課題解決のために CRISPR/Cas9 ゲノム編集技術を複合微生物系に対して適用することで任意微生物を分離することを試みている。

2020 年度の成果として、低確率ながらモデル微生物である大腸菌 K12 株を用いてプラスミド経由の CRISPR/Cas9 による当該株ゲノムの任意部位塩基置換に成功した。また従来スタンダードとされてきた形質転換手法が必ずしも最適ではなく、細胞の氷冷等が効率を下げこそすれ、上げることは無いことを確認した。原核細胞を対象とする CRISPR/Cas9 ゲノム編集において編集の成否を分ける支配因子は、Cas9 タンパク質によるゲノム切断ではなく、ドナーDNA を鋳型とする相同組換え修復ステップにあるため、形質転換条件 (i.e. 細胞への Cas9 等の導入) の改善は変異体取得のために極めて重要である。来年度以降上記実験で得られた導入条件を元にさらなる編集効率向上を目指していく。