

## 酵母ゲノムの秘められた力を引き出す TAQing システム

太田 邦史 (東大院・総合文化)

酵母と人類の付き合いは長く、人類はもはや酵母なしで生きていけないのではないかと考えられます。このような酵母ですが、まだまだ秘められた力を隠し持っているように思います。酵母は単細胞で世代時間が短いため、代謝工学的な改変に加えてゲノム進化を加速させてやれば、さらなる性能向上も可能になるでしょう。

問題はその方法です。現在のバイオテクノロジーでは「ゲノム編集」など、狙った部位の DNA 改変の技術は発展しつつありますが、「量的形質」のように改良すべき遺伝子が多数存在し、ネットワークで機能していると、この手の技術ではお手上げです。実際には、高温耐性やアルコール発酵能などは複数の遺伝子がネットワーク的に関与していますので、一つ一つ狙い撃ちにするというのは組み合わせの数を考えると結構大変なことです。また、標的とするべき遺伝子は人間の想定外のものも含まれている可能性があり、そんな場合はそもそも狙い撃ちでは限界があるということになります。

そこで、私たちは 180 度発想を転換しました。つまり、酵母ゲノムの改良点をあらかじめ定めず、とにかくランダムに複数のゲノム変異を導入し、形質の改良を行おうと考えました。あとは、基本的に選抜とゲノム改変の繰り返しを行い、人工的にゲノム進化を促進してやろうという発想です。このような発想は「ゲノムシャッフリング」というもので、Stemmer らにより 2002 年に提唱されています (Zhang et al., *Nature* 2002)、これはまだゲノム DNA の組換えの促進までは含まれていませんでした。

私たちの研究グループでは長らく減数分裂期組換えの機構を酵母で調べてきました。減数分裂期には染色体上のあちこちで計画的な DNA 切断が生じて、組換えが促進されます。そこで、これと同様の現象を通常の体細胞分裂時に起こしてみようと考えました。

具体的には、高熱細菌由来の 4 塩基認識の制限酵素 *TaqI* を発現するベクターを酵母に導入し、誘導発現させます。通常の制限酵素ですとゲノム DNA が分断されて細胞が死んでしましますが、*TaqI* は至適温度が高く通常の培養温度では切断活性が低く抑えられています。そこで、*TaqI* を細胞内で発現させたのち、一過的に温度を上昇させることで、ゲノム全体 DNA 切断を温和に誘発することに成功しました。これにより、酵母のゲノムで、同時多発的に多数のゲノム再編成を誘発することに成功しました (TAQing システム)。

この方法では、放射線や変異源物質の処理よりも DNA 修復しやすい切断を用いますので、相対的に生存率に影響を与えずに、点突然変異・転座・コピー数変動などの多様な変異を多数入れることができます。また、それぞれ形質の異なる酵母の細胞融合前もしくは後に、TAQing システムを作動させると、両者の良形質を安定的に保持する新たな酵母株を獲得することができました。変異部位については、次世代シーケンサーを用いることで、詳細な解析が可能になっています。

今回の発表では、TAQing システムを用いた実用酵母の改良についても述べ、次世代の酵母改良についてその可能性を議論したいと思います。