

環境中からの新規遺伝子の獲得を目指した 高効率DNA均一化法の開発

環境安全センター 准教授 山口佳宏

目的とするSDGsゴール



1. 取組・プロジェクトの概要

環境中には微生物由来の多種多様な遺伝子が含まれているはずであるが、優占種由来の微生物の遺伝子が効率よく抽出されている。環境中から希少種由来の微生物遺伝子を獲得するために、優占種遺伝子と希少種遺伝子の比率を均等にするDNA均一化法がある。本研究では、高効率DNA均一化法を開発し、新規遺伝子の獲得を目指す。

2. 取組・プロジェクトの目的

1,000bpのDNA断片について、濃度差 $1:10^{-5}$ を均一化（濃度比1:1）することができるようになった（令和4年度くまがいSDGs推進事業, *J. Microbiol. Methods*, 204, 106631 (2023)）。本研究では、高効率DNA均一化法の開発を目指して、DNA断片へのアダプター配列付加の方法、操作やその手順を見直し、 $1:10^{-5}$ より大きい濃度差のDNA断片の均一化を行えるようにし、土壌サンプル中から新規遺伝子の探索を行う。

3. 今年度を実施した取組・プロジェクト

・本年度中のプロジェクトの取組

DNA均一化後に得られる大腸菌コロニー数を増やす（高効率DNA均一化法の開発）

濃度差 $1:10^{-5}$ の1,000bpのDNA断片を均一化できるようになった（濃度比1:1）。しかし、この時に得られる大腸菌コロニーは、数千個得られるはずが、数個まで減少した。多様な新規遺伝子を得るために、DNA均一化後に得られる大腸菌コロニー数を増やすための条件検討を行った。

・上記の取組によって生まれた成果（SDGs達成へどのように貢献するのか）

1:10⁻⁵の量の差があるDNA断片を均一化した際に得られる大腸菌コロニーは、数個から数十個へと約10倍増やすことができた

- DNA均一化において、非特異的なDNA増幅（夾雑物）があることがDNA均一化後の大腸菌コロニー数の減少につながっていると考えた。
- 非特異的DNA増幅は、PCRの際に利用するプライマーが目的の配列に結合しなかったことが原因と考えた（ミスプライミング）。PCR条件を再検討することで、夾雑物が減少した。
- DNA均一化では、ハイドロキシアパタイトを利用していたが、この材質によってDNA抽出がうまくいっていないことがわかった。
- DNA均一化によって、新規遺伝子が探索できるようになり、「バイオものづくり」の推進にもつながる。例えば廃繊維、食品残渣、汚泥などの廃棄物から、医薬品や燃料になる有用物質が生産できる可能性が高まる。

・今後の展望

- ✓ DNA均一化法のさらなる高効率化を目指す（ $1:10^{-5}$ 以上の濃度差のDNA均一化）。
- ✓ ゲノムを含む複雑DNA系でDNA均一化ができるようにする。
- ✓ DNA増幅酵素や、DNA切断酵素を利用して、新たなDNA均一化法を開発する。
- ✓ この技術によって、例えば有害な化合物を分解する酵素を新規遺伝子探索から見つける。

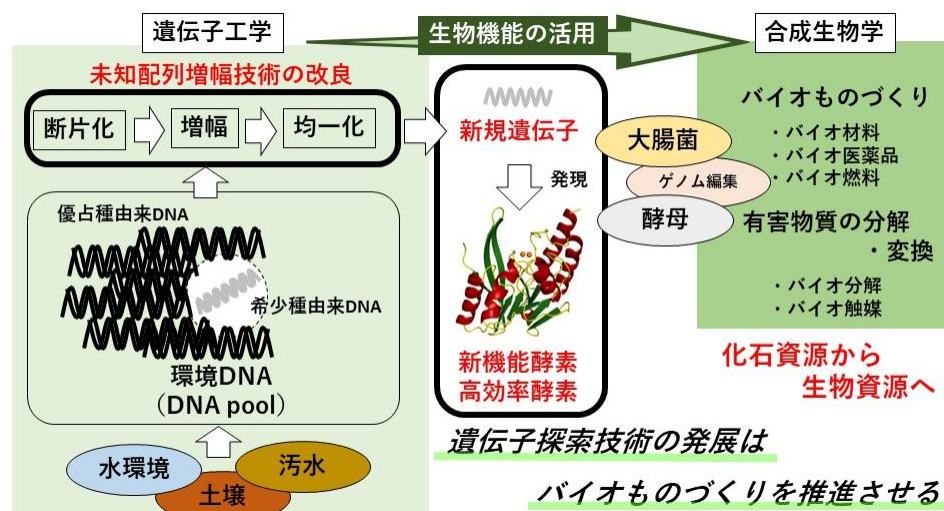
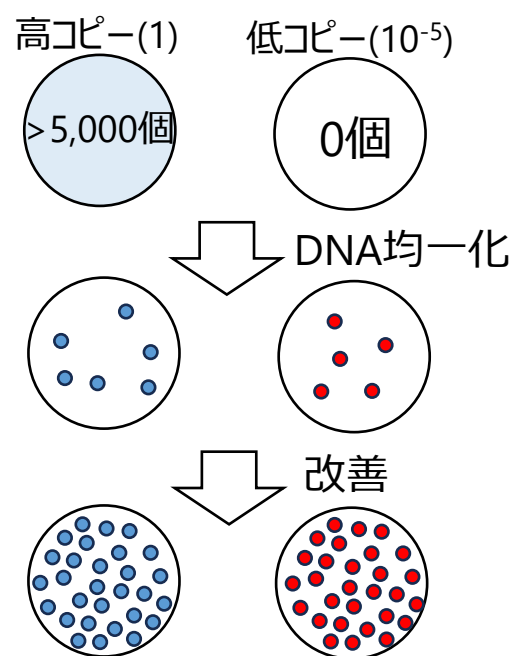


図1 本研究の概要と目的



新規遺伝子の多様性が大きくなる

図2 本研究の成果

(大腸菌コロニー)