

遺伝子導入メカニズムに一般性はあるか

リポフェクションを大腸菌に適用

細胞壁を持つ大腸菌などのバクテリアに、細胞の外から遺伝子DNAを入れ、タンパク質をつくらせることは、分子生物学の基本的な手法である。大腸菌に遺伝子を導入するには、高電圧や薬剤による手法が用いられてきた。一方、細胞壁を持たない培養細胞などには、正に荷電しているリポソームとDNAを混合した後、細胞表面に吸着させ、露出している細胞膜と融合させることによって、DNAを入れるリポフェクション法が汎用されている。この方法は、大腸菌などには適用できないと思われてきた。

我々は、二酸化炭素の固定化効率に優れるラン藻の高効率遺伝子導入手法を開発しており、ラン藻と同じ細胞膜、細胞壁構造を持つモデルとして大腸菌での遺伝子導入法を検討してきた。そのなかで細胞壁の一部を破壊し、細胞膜を露出させた際にリポフェクション法が有効か調べていたところ、10~1000倍程度も効率良く遺伝子などが細胞内に導入されることを確認した。さらに細胞壁を破壊しない際も遺伝子などが入ること、即ちリポフェクション法が大腸菌にも適用できることを見出した(表)。

以前から、一部のラン藻でDNAが細胞内に自然に取り込まれることが知られてきたが、そのメカニズムは不明であった。一方ラン藻はリポソームに類似した機能性脂質を生産しており、この機能性脂質が同様にDNAの取り込みに関与している可能性が推定される。また自然界で普遍的に起こっている遺伝子の種を越えた交換・水平転移がリポソームを介した共通のメカニズムで説明でき、バクテリア類と多細胞生物の間で双方向の遺伝子交換が同一のメカニズムで行われている可能性を示したものと思われる。

リポフェクション法は、DNAとリポソームを室温で混合したのち、水などで洗浄した大腸菌と混ぜ、賦活培養の後、選択培地に移すか、大腸菌の培養液に直接DNAとリポソームの混合物を加えたのち選択培地に移せばよい。特殊な設備は必要なく、小中学校の理科実験設備でも30分程度で実施できるため、教育現場などでの利用が考えられる(図)。またこのメカニズムでの遺伝子取り込みが普遍的なものであれば、今まで形質転換が困難であった生物種への適用も期待される。

プラスミドDNA	サイズ	抗生物質耐性	形質転換効率 (形質転換株数/μgプラスミド)
pHSG397	2227bp	クロラムフェニコール	1.0×10^5
pUC19	2686bp	アンピシリン	2.0×10^5
pBR322	4361bp	アンピシリン	2.3×10^4
		テトラサイクリン	2.7×10^4
pET32a	5900bp	アンピシリン	3.0×10^4

表 各種プラスミドによる形質導入効率

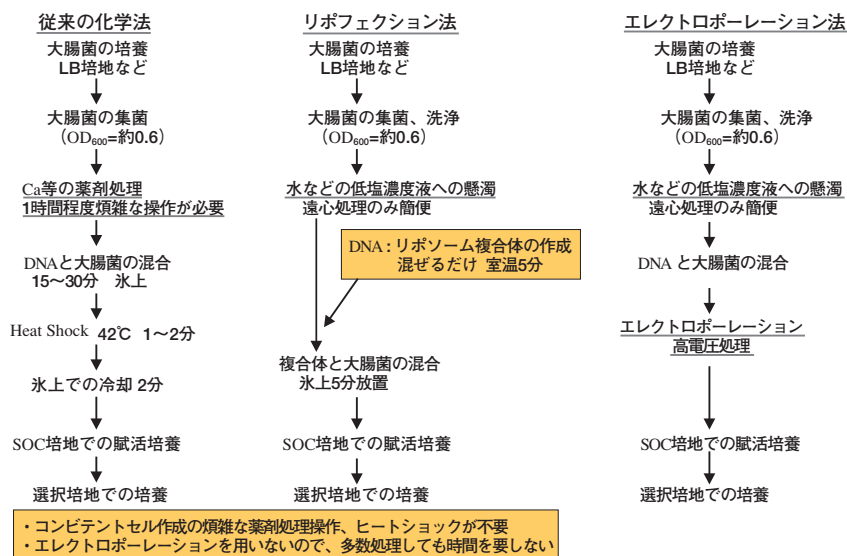


図 大腸菌への遺伝子導入手法の比較



かわた よしかず
河田悦和
y-kawata@aist.go.jp
生活環境系特別研究体

関連情報

- Y. Kawata, S. Yano, H. Kojima: Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, Vol. 67, 1179-1181 (2003).
- 特願2002-337529「義務教育、理科実験においても使用可能な大腸菌等への遺伝子導入手法」(河田悦和, 矢野伸一, 小嶋洋之).