FIVE HARD TRUTHS FOR SYNTHETIC BIOLOGY

合成生物学が直面する厳しい5つの現実

Five hard truths for synthetic biology

ROBERTA KWOK 2010年1月21日号 Vol. 463 (288-290)

合成生物学とは、DNA やタンパク質などの生体構成物質を目的に応じて人工的に改変し、それらを組み合わせて擬似生体システムを構築することにより、生命システムを理解しようとする学問である。しかし、工学的な手法によって、複雑な生物学的システムを操作することは可能なのだろうか。合成生物学が抱える5つの課題と、それらの解決策について検証した。

バイオテクノロジーの急激な進歩をみれば、工学的に生命を操ろうとする合成生物学は、一見、非常にたやすく実用化できると思われがちである。実用化を阻むのは、もはや乏しい想像力のみとさえ思える。実際、近いうちに、細胞をプログラミングして、再生可能な資源から大量のバイオ燃料を生産したり、有毒物質を感知したり、必要なときに適正量のインスリンを生体内に放出したりできるようになると考えられている。こうした見通しはすべて、遺伝子工学の応用は機械を生産する製造工程のようになるだろうという考えから生まれてきた。その典型的な手法は、必要な機能を発揮するよう塩基配列を改変したDNA、つまり「パーツ」を組み合わせて、もっと複雑な機能を発揮する「デバイス」を作り、それを細胞に組み込むというもの

だ。すべての生物はほぼ同じ遺伝コードを使っていることを考えると、合成生物学とは、自由自在に回路に組み込めるトランジスタやスイッチのような再利用可能な遺伝的構成要素の入った道具箱だといえるだろう。

しかし、生物が生命体として正しく動作するための仕組みは完全にはわかっておらず、したがって、未解明の生命機構を擬似生命体として再現することはできない。「レンチやドライバー、トランジスタのように機能が理解できている分子の作動機構は、現実にはほとんど存在しないのです」と、技術・コンサルティング・設計に携わる Biodesic 社（米国ワシントン州シアトル）の Rob Carlson はいう。そして、分子ネットワークが大きくなるにつれて難度は増し、また、より複雑なシス

テムの設計に限界もある。2009 年のある総説¹によれば、発表された合成生物学の回路の数はここ数年増加しているが、それらの回路の複雑さ（もしくはそれらの回路で使われる調節用パーツの数）は頭打ちになっているという。

目的の機能をもったパーツ作製からシステムの設計と構築に至るまで、どの作業過程の段階にも、課題が立ちだかっている。「生物には、工業的プロセスを妨げる特性がたくさんあるのです」と、ハーバード大学医学系大学院（米国マサチューセッツ州ボストン）で合成生物学を研究する大学院生、Christina Agapakis はいう。しかし、合成生物学の研究者たちは、生物のもつ複雑でやっかいな特性などには音を上げず、既に5つの重要な課題に取り組んでいる。

「パーツ」の多くは特性が不確定

合成生物学のパーツは、タンパク質をコードする DNA 塩基配列から、遺伝子の発現を促進するプロモーターとよばれる DNA 塩基配列までさまざまな機能特性をもつものが存在する。問題は、多くのパーツの特性が確定していないことだ。パーツは、必ずしも実験で作用が検証されているわけではなく、たとえ検証されていても、その「性能」は細胞の種類や実験条件の違いによって変わってしまうのだ。

例えば、マサチューセッツ工科大学（米国ケンブリッジ）にある標準生物学的パーツ登録所（Registry of Standard Biological Parts）には、オーダー可能な 5000 種類以上のパーツが登録されているが、「その品質は保証されていない」と登録所管理者の Randy Rettberg はいう。大部分のパーツは、iGEM（International Genetically Engineered Machine；合成生物学の世界大会）のコンテストに参加した学部生から提供されたものだ。このコンテストは 2004 年から毎年 1 回開催されており、学生は「キット」のパーツを使ったり新しいパーツを開発したりして、合成生物学の生体システムを 1 つ設計する。しかし参加者の多くには、きちんと機能特性をもたせたパーツを作り上げるだけの時間がないのが現状である。

iGEM に参加したイタリアのパビア大学チームは、微生物でのラクトース発酵を最適化しようと、パーツ登録所のプロモーター数種を、標準的な実験用細菌で

ある大腸菌（*Escherichia coli*）に入れてみた。チームが試したプロモーターの大半はうまく機能したが、一部は機能がほとんど実証できず、1 つはまったく働かなかった。Rettberg によれば、およそ 1500 種類の登録パーツは登録者以外の人間によって機能することが確認されており、50 種類は機能しないことが報告されているという。さらに、およそ 200 種類の別のパーツについては「問題あり」と報告され、残りのパーツについては何種類が機能試験されたか不明である。

パーツ登録所は品質向上のために一層の努力を重ねており、パーツのコレクションを監督したり、パーツの機能や性能の説明を添えることを登録者に促したり、パーツとその説明が確実に合致するようにパーツ試料の DNA 塩基配列を提示したりしていると、Rettberg はいう。

一方、カリフォルニア大学バークレー校（米国）の Adam Arkin や Jay Keasling、スタンフォード大学（米国カリフォルニア州）の Drew Endy といった合成生物学者たちは、既存、新規を問わず、生物学的パーツを専門家の手で開発し機能特性を確定する、「BIOFAB」（仮称）という新計画を立ち上げようとしている。研究チームは 2009 年末に米国立科学財団から 140 万ドル（約 1 億 2600 万円）の助成を受け、現在スタッフを募集しているところだと Arkin は話す。また Endy は、研究室間の測定値のばらつきを一部低減させる方法を提案している。プロモーター活性を測定する際、活性の絶対値をみるのではなく、基準とな

るプロモーターと比較することによって、実験条件や実験装置が原因で生じる数値のばらつきを半減できるというのだ²。

しかし、測定の標準化はそう単純なものではない。例えば哺乳類細胞では、細胞に導入した遺伝子が細胞ゲノムのどの位置に組み込まれるのかは予測不能であり、組み込まれた位置の近隣領域の遺伝子発現に影響を及ぼすことがよくあるのだと、スイス連邦工科大学（ETH；チューリッヒ）の合成生物学者 Martin Fussenegger はいう。「こうした生物の複雑さは、機能特性の確定を標準化しても見極めることが難しいのです」。

回路の動作は予測不可能

たとえ各パーツの機能がわかっていても、それらを組み立てたものは予想どおりの作用をしない可能性がある、と Keasling はいう。現代の工業分野では、設計段階で、完成回路の動作をきちんと予測できるが、合成生物学では、試行錯誤を繰り返すめんどろな作業に時間や労力がかかる場合が多い。

「我々はまだ、木や紙でできたパーツを組み立てている段階のライト兄弟のようなものです」と、スペインにあるゲノム制御センター（バルセロナ）のシステム生物学者 Luis Serrano は話す。「1 機飛ばしては墜落する。今度はもうちょっとマシかもしれないと、またもう 1 機飛ばしてみる、という具合です」。

10 年ほど前、大腸菌で「トグルスイッチ」の 1 つを構築した³ ボストン大学（米国マサチューセッツ州）の生物工学者 Jim Collins のチームは、今度は酵母でトグルスイッチを動かそうとしている。しかし、大腸菌のようにうまくいかず、失敗を繰り返していた。研究チームは、A という遺伝子を細胞に発現させ、その後化学シグナルを使って遺伝子 A のスイッチを切って別の遺伝子 B を発現させようとした。ところが、細胞は遺伝子 B を継続的に発現せず、いつも遺伝子 A を発現する状態に戻ってしまったのである。Collins によれば、2 つの遺伝子を

「パーツ」はレゴのようなもの

合成生物学は、米国の雑誌 *Wired* では、設計や構成が単純な、こんなイメージで描かれている。実際のパーツの多くは、機能特性が十分に確認できていなかったり、異なる立体配置や条件で予想外の作用をしたりする。

細胞は簡単に配線替えできる

国際的な科学技術系の雑誌 *IEEE Spectrum* では、合成生物学は電気的配線のようなイメージで描かれている。コンピューターによるモデル作成は、細胞の挙動の予測に役立つかもしれないが、細胞は複雑で変化しやすい進化するオペレーティングシステムという点で、電子工学と大きく異なっている。

制御するそれぞれのプロモーター活性が均等ではなく、そのため遺伝子 A が B を圧倒してしまったことが問題だったのだという。「スイッチがうまく機能するようシステムを微調整するのに、およそ 3 年かかりました」と彼は話す。

コンピューターによるモデル作成は、この当てずっぽうな作業の軽減に役立ってくれそうである。Collins たちは 2009 年の研究⁴で、2 種類のプロモーターについて少しずつ異なるバージョンをいくつか作った。そして、それぞれのプロモーターのバージョンから 1 つピックアップして、遺伝子タイマーを作製した。このシステムでは、細胞に 1 種類の遺伝子を発現させ、一定の時間間隔を置いて、もう 1 種類の遺伝子を発現するよう切り替える。次に作製したこのタイマーを用いて発現実験を行い、得られた結果をコンピューターモデルに反映させて、ほかのバージョンのプロモーターでタイマーを作るとどのように振る舞うのかを予測した。こうしたモデル作成技術を使うことで、研究者は全バージョンのプロモーターを試さずとも、コンピューター上で最適化することが可能だと Collins はいう。

しかし、完璧に機能する設計は必要ではないのかもしれない。ある目的を達成するために試行錯誤して最適化するという手法を利用して、不完全な設計でも改良・精緻化できると話すのは、カリフォルニア工科大学（米国パサデナ）の化学

エンジニア、Frances Arnold である。この場合、DNA 塩基配列を変異させ、その特性をスクリーニングして最良の候補塩基配列を選び出すという作業を、システムが最適化されるまで繰り返す。例えば Arnold の研究室では、この手法を使って、バイオ燃料生産に関係する酵素を進化させようとしている。

複雑すぎて手に負えない

回路が大きくなるにつれて、それを構築して試験するプロセスは恐ろしくめんどろになる。Keasling のチームが開発したシステム⁵は、10 個余りの遺伝子を使って抗マラリア化合物のアルテミシニンの前駆体を微生物内で生産するもので、おそらくこの分野で最も引用されている成功例である。Keasling の推定では、この経路に関与する遺伝子の同定と、それらの発現を制御するためのパーツの開発や改良といった作業は、1 人の人間が行ったらおよそ 150 年かかっただろうという。例えば研究チームは、毒性のある中間体分子を減少させるのに必要な酵素量を十分に生産できるような立体構造を見つけ出すまで、さまざまな変異型のパーツを試さねばならなかった。

「そんなプロジェクトに取り組もうなどとは普通考えませんよ。時間とお金がかかりすぎますから」と、新興企業である Ginkgo BioWorks 社（米国マサチューセッツ州ボストン）の共同創立者であ

る Reshma Shetty はいう。こうした作業を避けるため、Ginkgo は現在、遺伝子パーツの組み合わせを自動化する工程を開発中である。パーツには、BioBrick スタンダードとよばれる一連のルールによってあらかじめ決められた隣接塩基配列をもたせ、ロボットによって組み立てることができる。

カリフォルニア大学バークレー校では、合成生物学者の J Christopher Anderson たちが、この工程を細菌にさせるシステムを開発している。大腸菌細胞に遺伝子操作を施して、DNA 部品どうしを切ったりつなぎ合わせたりできる酵素群を実装させているのだ。彼らはこの大腸菌を「組み立て細胞（assembler cell）」とよんでいる。さらに、「選択細胞（selection cell）」として働くよう遺伝子操作した別の大腸菌細胞で、余分なパーツが入り混じっている中から完成した製品を選り分けることも計画している。研究チームは、「ファージミド」とよばれるウイルス様粒子を使って、DNA を「組み立て細胞」から「選択細胞」へ運ぶことを考えている。このシステムによって、1 つの BioBrick 組み立て段階に要する時間を 2 日から 3 時間に短縮できそうだと Anderson は話している。

多くのパーツは不適格

合成遺伝子回路は、いったん構築されて細胞内に置かれると、宿主に対して予期せぬ影響を及ぼすことがある。カリフォルニア大学サンフランシスコ校（米国）の合成生物学者 Chris Voigt は、バークレー校のポスドクだった 2003 年、この問題にぶつかった。Voigt は、主に枯草菌（*Bacillus subtilis*）で作った遺伝子パーツを組み立て、化学的刺激に応答すると特定の遺伝子の発現スイッチが入るようなシステムを作った。彼は、このシステムを枯草菌内のほかの遺伝子ネットワークと切り離して調べたいと考え、この回路を大腸菌に組み込んだ。ところが、システムは機能しなかったのである。

「顕微鏡で観察したところ、細胞は病的な状態に陥っていました。毎日違う症状が現れるといった具合でした」と Voigt はいう。最終的には、この回路のパーツの 1 つにより大腸菌に自然に存在する遺伝子の発現が著しく損なわれてしまうことがわかった。「回路の設計が誤っていたのではなく、パーツの 1 個が適合しなかっただけなのです」と彼は話す。

デューク大学 (米国ノースカロライナ州ダーラム) の合成生物学者 Lingchong You らは、自分自身の発現を促す外来遺伝子 1 個からなる単純な回路であっても、宿主細胞に複雑な挙動を引き起こす可能性があることを示した⁶。彼らの回路が大腸菌内で活性化されると菌の増殖速度が落ち、続いて導入遺伝子のタンパク質産物の希釈が進まなくなってきた。こうして、双安定性とよばれる現象に至り、一部の細胞はその遺伝子を発現するが、そのほかの細胞は発現しない状態になった。

想定外の相互作用を減らすために、宿主細胞本来のシステムとは独立に作動する「直交 (orthogonal)」システムが開発されようとしている。英国医学研究評議会 (MRC) 分子生物学研究所 (ケンブリッジ) の合成生物学者 Jason Chin らは、大腸菌自身に元来備わっているシステムと切り離れたタンパク質生産システムを作り上げた⁷。研究チームは、DNA を RNA に転写するのに、大腸菌には存在しない特定のプロモーター配列がある場合にだけ遺伝子を認識するポリメラーゼ酵素を用いたのである。同様にこのシステムでは、RNA をタンパク質に翻訳するための直交型の「O-リボソーム」が、特定の塩基配列を含む「O-mRNA」のみを読み取る。O-mRNA が天然のリボソームに読み取られることはない。

さらに別のシステムを利用すれば、宿主細胞の生存に必要なシステムを破壊することなく自由に構成要素を微調整できるのだと Chin は話す。例えば彼の研究チームは、O-リボソームの一部をコー

空前の科学力への期待

Nature は、合成生物学者を、科学の力を駆使して生物を「ハッキング」する者として描き (右図)、市民社会団体の ETC グループによる刊行物 *Extreme Genetic Engineering* では、合成生物学者たちの活動を「神を演じること」になぞらえてさえいる。しかし現実には、合成生物学を利用して実用化されたものはまだほとんどない。

ドする DNA 塩基配列を必要最低限にして、タンパク質生産をスピードアップさせた。これで細胞のタンパク質製造をもっと高速化できると彼はいう。

もう 1 つの解決策は、合成ネットワークを細胞のほかの部分から物理的に隔離することだ。カリフォルニア大学サンフランシスコ校の合成生物学者 Wendell Lim は、遺伝子回路を隔離するための膜結合型区画の作製を試みているところだ。Lim のチームは現在、酵母で研究しているが、同様の原理は細菌でも使えるだろうという。

変動性がシステムを崩壊

合成生物学者は、作製した回路が確実に機能することを保証する必要もある。細胞内部での分子の活動は、ランダムに揺らいだり、あるいはノイズを生じたりする傾向がある。増殖条件のばらつきも挙動に影響を及ぼす可能性がある。また、回路の活動が長期にわたれば、ランダムに生じる遺伝的変異が回路の機能を完全に止めてしまうこともあるという。

実際、カリフォルニア工科大学の合成生物学者 Michael Elowitz は、10 年ほど前に遺伝子振動子を作った際、細胞のランダム性の能力を観察している⁸。そのシステムは、含まれる 3 つの遺伝子の相互作用によって蛍光タンパク質の生産量が上下し、細胞に蛍光の点滅が起こる。しかし、すべての細胞が同じように反応するわけではなく、光が強いものもあれば弱いものもあり、また、速く点滅するものもあればゆっくり点滅するものもあった。さらにはサイクルを 1 回まると抜かしてしまう細胞さえもあった。

Elowitz によれば、こうした違いは複数の原因で起こると考えられる。例えば、細胞が複数の遺伝子を発現するとき、切れ目なく続けて発現するのではなく、短時間で集中的に発現することがある。また、細胞内に含まれる mRNA やポリメラーゼ、リボソームなどのタンパク質合成装置の量はまちまちだと考えられる。加えて、細胞内の遺伝子回路のコピー数は時間経過に従って変動することもある。

2008 年、カリフォルニア大学サンディエゴ校 (米国) の合成生物学者 Jeff Hasty らは、より一貫した挙動をする振動子を報告した⁹。彼らは、異なる種類の回路設計と、増殖条件を細かく調節できるマイクロ流体素子を用いて、観察対象のほぼすべての細胞を同じ速度で点滅

させた。ただし、同期はしなかった。また Hasty のチームは *Nature* 2010 年 1 月 21 日号で、細胞間コミュニケーションに依存して蛍光点滅を同期できることを報告している (39 ページの *Nature News* 参照)¹⁰。しかし Hasty は、研究者はノイズを取り除こうとするのではなく、それをうまく利用してはどうかと提案している。物理学では、ノイズによってシグナルが検出しやすくなる場合があるというのだ。「ノイズを完全に取り除けるとは思えません。だから、これを利用することを考えたほうがよいでしょう」と Hasty はいう。例えば、ノイズによって一部の細胞が環境に対して他の細胞と違う反応することで、集団全体で両面作戦をとれるのかもしれないと、Elowitz はいう。

一方、ハーバード大学医学系大学院の遺伝学者 George Church は、細菌株をもっと安定させる方法を探っているところだ。より正確な DNA 複製装置を導入したり、変異を起こしにくいようにゲノム部位を変化させたり、細胞内に余分なゲノムコピーを入れたりすることで、安定させることができるのではないかと

Church は話す。安定性は、単純なシステムにとっては深刻な問題とはならないだろうが、さらに多くのパーツを組み合わせる場合には重要になると彼はいう。

機は熟したか?

こうした難題にもかかわらず、合成生物学研究は確かに前進している。最近、大腸菌が分裂などの生物現象の回数を数えたり、明暗の境を検知したりできるようにするシステムが開発された。また、なかには細菌からより複雑な細胞へと進化したシステムもある。この分野の正当性も認められるようになってきており、インペリアル・カレッジ・ロンドンには新しい合成生物学研究センターが、ハーバード大学には Wyss Institute for Biologically Inspired Engineering が開設された。既に、合成生物学者がより現実に即した応用方法を開発する時機は到来しているのだと、Fussenegger はいう。「合成生物学を PR する時期は過ぎました。今や、製品を産み出すべきときなのです」と彼は話す。

事実、Keasling のアルテシニン駆体システムは製品化に近づいており、

製薬会社 Sanofi-Aventis (フランス・パリ) は 2012 年までに商業ベースの生産をめざしている。また数社が、遺伝子操作した微生物を使ったバイオ燃料の生産に取り組んでいる。しかし、ほとんどは、実用化にはまだ時間がかかるだろう。

DNA 合成のコストは下がり続け、生物学的パーツの研究をする人の数が増えているので、合成生物学はこれまで以上に急速に進展するだろうと Carlson はいう。「問題は、こうした研究の努力で生物の複雑さを克服できるかどうかです」。

(翻訳: 船田晶子)

Roberta Kwok は、サンフランシスコ湾岸地帯に住むフリーランスのライター。

1. Purnick, P. E. M. & Weiss, R. *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* **10**, 410-422 (2009).
2. Kelly, J. R. et al. *J. Biol. Engineer.* **3**, 4 (2009).
3. Gardner, T. S., Cantor, C. R. & Collins, J. J. *Nature* **403**, 339-342 (2000).
4. Ellis, T., Wang, X. & Collins, J. J. *Nature Biotechnol.* **27**, 465-471 (2009).
5. Ro, D.-K. et al. *Nature* **440**, 940-943 (2006).
6. Tan, C., Marguet, P. & You, L. *Nature Chem. Biol.* **5**, 842-848 (2009).
7. An, W. & Chin, J. W. *Proc. Natl Acad. Sci. USA* **106**, 8477-8482 (2009).
8. Elowitz, M. B. & Leibler, S. *Nature* **403**, 335-338 (2000).
9. Stricker, J. et al. *Nature* **456**, 516-519 (2008).
10. Danino, T., Mondragón-Palomino, O., Tsimring, L. & Hasty, J. *Nature* **463**, 326-330 (2010).

2010年開催

ネイチャー フォトニクス・テクノロジー コンファレンス

太陽光発電の 将来展望

Future perspectives on photovoltaics

nature
photonics
Technology Conference

主催: NPG ネイチャーアジア・パシフィック

共催: 株式会社インプレス R&D

会期: 2010 年 10 月 19 日 / 20 日 / 21 日

会場: TFT ホール(東京有明)

a nature conference

npg nature asia-pacific