

Journal Club (2023 年 9 月 4 日) まとめ

担当: 伊東 巧

発表論文:

Robert M. Cooper, Josephine A. Wright, Jia Q. Ng, Jarrad M. Goynes, Nobumi Suzuki, Young K. Lee, Mari Ichinose, Georgette Radford, Feargal J. Ryan, Shalni Kumar, Elaine M. Thomas, Laura Vrbanac, Rob Knight, Susan L. Woods, Daniel L. Worthley, Jeff Hasty

Engineered bacteria detect tumor DNA

Science. 2023 Aug 11;381(6658):682-686

doi: 10.1126/science.adf3974

研究目的および概要:

合成生物学および Bacterial engineering の進歩により生きた細胞による様々な病気の診断や治療につながりうる技術が開発されてきた。bacteria でしばしばみられる水平伝播は真核生物との間でも起こりうるが、これまで水平伝播により哺乳類の DNA を見つけることのできる bacteria の開発は行われていなかった。

本研究においてはまず外来 DNA を取り込む能力が高い細菌 (*Acinetobacter baylyi*) のゲノムに、取り込ませる DNA の一部と相同な配列とその配列に挟まれた部分を挿入することによって任意の外来 DNA について、相同配列を足掛かりにしたゲノムへの組み込みが起こり水平伝播が成立する様にした。(図 1)

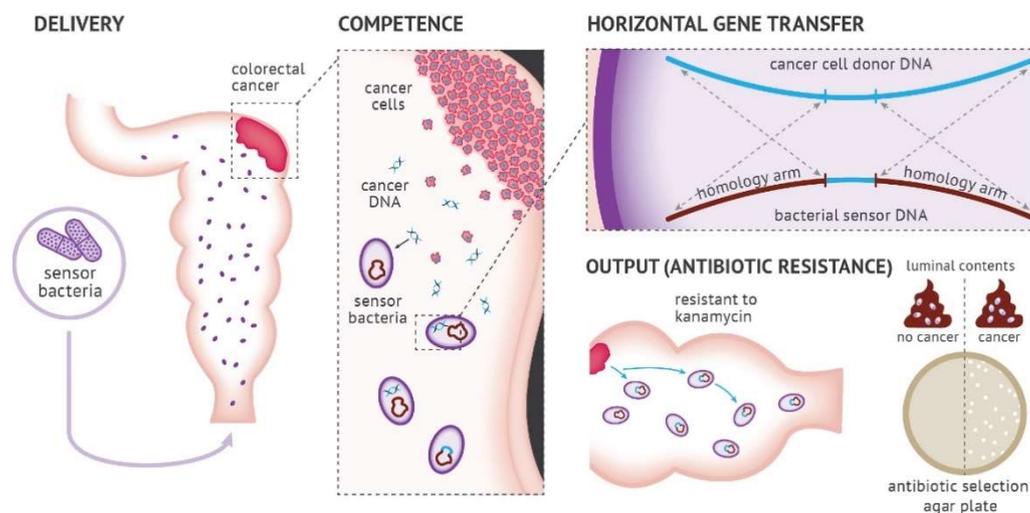


図 1

さらに、細菌に備わる CRISPR-Cas システムを活用し、適切なスペーサー配列を設計・挿入することによって、ある特定の遺伝子の WT が取り込まれた際には CRISPR-Cas システムにより分解され水平伝播が起こらないようにし、その遺伝子に特定の変異が入っている場合には CRISPR-Cas システムが作動せず水平伝播が起こるアッセイを開発した。これにより、あるがんで多く見られる遺伝子変異を検出する bacteria を設計することが出来た。(図 2)

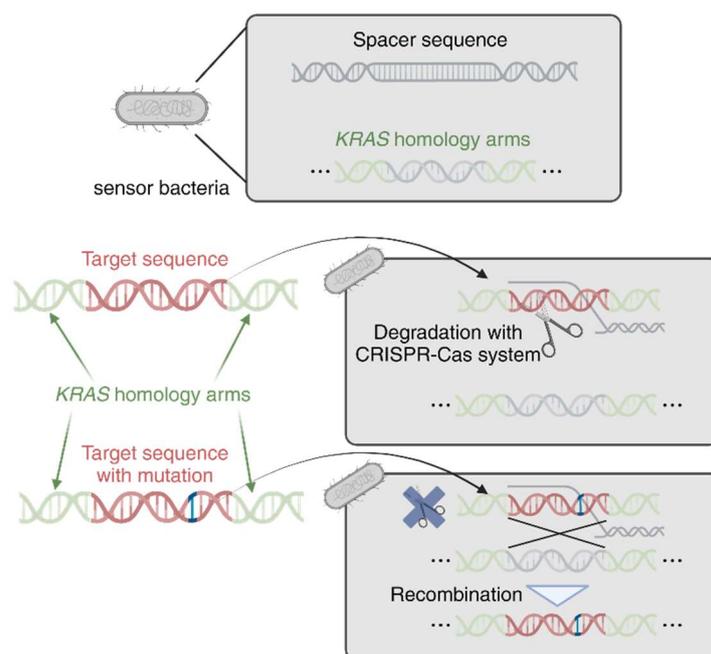


図 2

先行研究と比べて何がすごい？ 技術やアプローチのキモはどこ？：

- 水平伝播と CRISPR-Cas システムと組み合わせてある遺伝子の変異の有無を判断できる bacteria を設計したこと。

どうやってこの手法/仮説の有効性を検証したのか：

- まずは相同な配列を足場にした水平伝播について、外来 DNA としてプラスミドや精製 DNA、細胞溶解液やオルガノイドを用いて実験した。
- その後がんオルガノイドをマウスに投与し、実際の消化管で水平伝播を検出できるかを実験した。
- 最後に WT の *KRAS* では組み替えが起こらず、特定の変異が入った *KRAS* の場合のみ組み替えが起こる仕組みを *in vitro* で実験した。

その他、議論した内容 (ネガティブコメントや limitation もあれば)：

- *In vivo* の実験では検出された水平伝播のスコアが *in vitro* と比べて極めて低い。最後の *KRAS* の WT と変異体を区別する実験は *in vitro* で行っている→がんの早期発見を目的に実用化するのはまだまだ精度面での改良が必要。

- 臨床的なモチベーションとしてはがんの有無を知りたいが、本研究成果では特定の遺伝子変異の場合にしか検出することができない。
- アウトプットとして薬剤耐性遺伝子を使用してしまうと、耐性菌を広めてしまうことになりかねない。→発光などで代用できないか。

この研究をさらに発展させるとしたら：

- In vivo における感度の改善を目指す案の 1 つとして、PCR の様な核酸増幅システムも組み込んで利用する。
- 薬剤耐性菌の蔓延を防ぐために、バイオセンサーである bacteria は腸管内で死滅するがマーカーとしての分子が検出できるような設計にする