

プログラム名：豊かで安全な社会と新しいバイオものづくり
を実現する人工細胞リアクタ

PM名：野地 博行

プロジェクト名：「ふえる」人工細胞デバイス

委 託 研 究 開 発

実 施 状 況 報 告 書 (成 果)

平 成 2 8 年 度

研究開発課題名：

ゲノムサイズ DNA のハイスループット導入法

研究開発機関名：

東京大学 生産技術研究所

研究開発責任者

竹内 昌治

I 当該年度における計画と成果

1. 当該年度の担当研究開発課題の目標と計画

「ふえる」人工細胞デバイス構想では、産業用細胞を用いた人工合成ゲノムの起動に関する要素技術群の開発が突破すべき壁として挙げられている。それら要素技術の中で本研究開発グループでは「人工合成したゲノムサイズ DNA を産業用細胞へ導入する手法」を開発することを目的としている。具体的には、人工合成ゲノムを人工的な細胞膜にカプセル化し、そのカプセル化ゲノムとバクテリア由来細胞を融合することでバクテリア由来細胞中にゲノムサイズ DNA を導入することを目指す。

プロジェクトを通じた研究項目として、①人工合成ゲノムカプセル化技術および②カプセル化ゲノム-バクテリア融合技術を掲げ、項目②については②-1: カプセル化ゲノムとバクテリアの選択的ペアリング技術、②-2: カプセル化ゲノムとバクテリアのサイズ別分取技術、②-3: カプセル化ゲノムとバクテリアの融合技術の構築の細目を設定している。各研究項目に対して、H28年度は以下の目標を立て研究を行った。①について、人工合成ゲノムのリポソーム（人工の細胞膜小胞）へのカプセル化技術の決定、②-1について、誘電泳動デバイスの製作、②-2について、リポソームの選択的分取をそれぞれマイルストーンとし、これらを統合することで、②-3において選択的リポソーム-リポソーム融合を達成することを今年度目標とした。

2. 当該年度の担当研究開発課題の進捗状況と成果

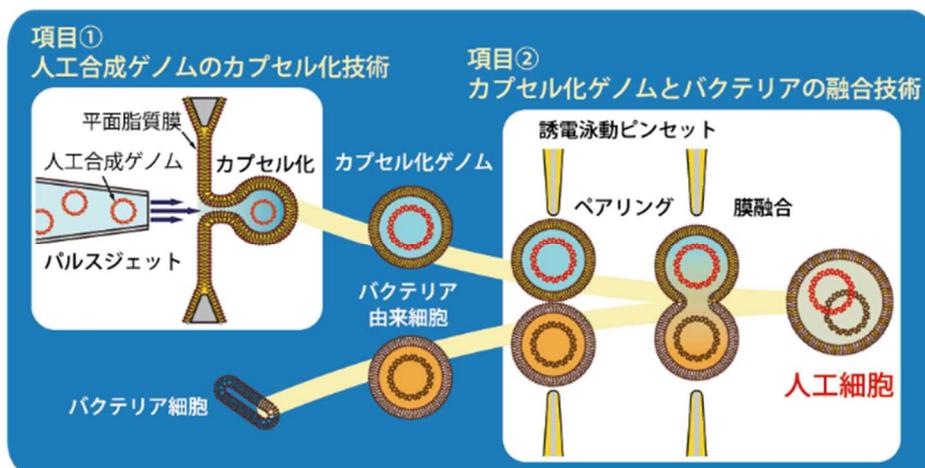
2-1 進捗状況

課題① 人工合成ゲノムのリポソームへのカプセル化技術の決定

他グループにより開発・提供された巨大人工合成ゲノムをリポソーム（人工の細胞膜小胞）にカプセル化する手法について種々の手法を検討し、リポソーム膜の単層性およびカプセル収率が高い手法を選出・決定した。

課題②-1 誘電泳動デバイスの製作

マイクロ加工技術を利用して誘電泳動現象を応用した微細デバイスを製作した。項目②-2 を通じた性能の評価結果にもとづき、改良を繰り返し行い、リポソーム操作に適するデバイスを得た。



課題②-2 リポソームの選択的分取

製作した誘電泳動デバイスによってリポソームの操作条件を検討し、目標であるリポソームを選択的に操作・分取できることを示した。

課題②-3 選択的リポソーム-リポソーム融合

1対のリポソームやバクテリア由来細胞を融合するためのデバイスを製作し、リポソームの融合条件を探索した。誘電泳動デバイスによって選択的に分取したりポソーム同士を、融合用デバイスによって融合できることを示した。

2-2 成果

課題① 人工合成ゲノムのリポソームへのカプセル化技術の決定

リポソームに巨大人工合成ゲノムをカプセル化したのちにバクテリアに融合させることで、バクテリアを破壊せずに巨大人工合成ゲノムを導入できると考えられた。従って、まずは他グループより提供された巨大人工合成ゲノムを種々の手法によって、リポソームにカプセル化することを試みた。いずれの手法においても人工合成ゲノムをカプセル化することに成功したが、検討を重ね、最終的にリポソーム膜の単層性およびカプセル収率が高い手法を決定した。さらに、均一直径のリポソームを得るための新規手法についても2種類のデバイスの製作・検討を進めている。

課題②-1 誘電泳動デバイスの製作

巨大人工合成ゲノムをカプセル化したリポソームとバクテリア由来細胞を融合するにあたり、選択的にリポソーム一つとバクテリア由来細胞一つを接触させる必要があると考えられた。そこで、両者を任意に操作し、接触させるための誘電泳動デバイスを設計・製作した。微小電極製作のため、蒸着・パターニングなどのマイクロ加工技術を用い、設計した誘電泳動デバイスを製作した。さらに検討を重ね、操作時に発生する電気浸透流の抑制機構を追加するなどの改良を行った。

課題②-2 リポソームの選択的分取

バクテリアにカプセル化した人工合成ゲノムを融合させるにあたり、最適なりポソームのサイズを検討しなければ融合時にバクテリアが破壊されてしまうことが予想された。従って、サイズ別にリポソームを分取することを検討した。製作した誘電泳動デバイスによって、印可する交流電場の強度と周波数を調整することでリポソームに対して誘引力・斥力を発生させ、バッファ中で自在に操作可能であることを示した。また、課題①で決定した手法により製作したりポソーム集団から、特定のサイズのリポソームを誘電泳動デバイスによって選択的に分取してることが可能であることを示した。

課題②-3 選択的リポソーム-リポソーム融合

上記の各課題を統合し、今年度の目標である選択的リポソーム-リポソーム融合を行った。分取したカプセル化ゲノムとバクテリアを融合させるための融合デバイスを製作し、その微細構造について検討を重ねた。これにより、誘電泳動デバイスによって選択的に操作・分取したりポソーム同士の融合に成功した。本結果は、次年度目標であるリポソーム-バクテリア融合の達成に先立つ重要な成果である。

2-3 新たな課題など

本年度の成果によってリポソームの分取および選択的融合技術は確立されたといえる。しかしながら、人工合成ゲノムをカプセル化するリポソーム母集団の直径ばらつきが大きく、サイズ別分取におけるロ

スが大き。従って、予め様々なサイズで直径をコントロールしたリポソーム母集団を得る手法を検討することで、リポソーム分取をよりスループット良く行えるようになると考えられる。

3. アウトリーチ活動報告

Biotech 2016(第 15 回 国際バイオテクノロジー展、2016 年 5 月 11-13 日)において、研究課題および目的に関する発表・報告を行った。

東京大学生産技術研究所リサーチキャンパス公開(2016 年 6 月 3 日-4 日)において、高校生や一般来場者に対して、本研究開発課題およびリポソーム研究についての解説および膜作成デモンストレーションを行った。

