

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 29 年度

研究開発課題名：

リポソーム電気融合法によるゲノムサイズ DNA 導入技術の構築

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

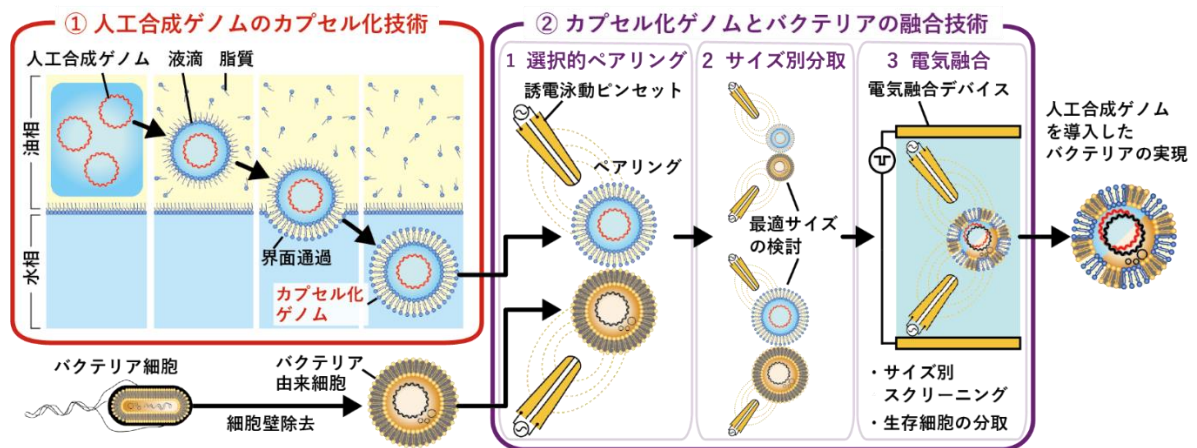
竹内 昌治

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。本研究開発計画では、それら要素技術の中の「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でカプセル化し、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、H29年度は以下の目標を立て研究を行った。②-1: 誘電泳動ピンセットによるバクテリアの操作技術の確立 (H29年6月まで)、カプセル化ゲノム (リポソーム) とバクテリアのペアリングの実現 (H29年12月まで)、をそれぞれマイルストーンとし、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の開発を目標とした。②-2: リポソームとバクテリアのサイズ別分取の実現 (H29年9月まで) を目標とした。これらを統合することによって、②-3: 選択的なバクテリア同士の電気融合の達成 (2Q)、およびカプセル化ゲノムとバクテリアの選択的な電気融合 (H30年3月まで) を行うことを最終目標とした。



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②-1 カプセル化ゲノム (リポソーム) とバクテリアの選択的ペアリング技術の開発

マイルストーンである、誘電泳動ピンセットによるバクテリアの操作技術の確立 (H29年6月まで)、カプセル化ゲノム (リポソーム) とバクテリアのペアリングの実現 (H29年12月まで) をそれぞれ達成した。

課題②-2 リポソームとバクテリアのサイズ別分取の実現

マイルストーンである、リポソームとバクテリアのサイズ別分取の実現（H29年9月まで）を達成した。

課題②-3 カプセル化ゲノムとバクテリアの電気融合

マイルストーンである選択的なバクテリア同士の電気融合（H29年9月まで）を達成した。カプセル化ゲノムとバクテリアの選択的な電気融合（H30年3月まで）に関しては、電気融合を達成するための条件検討としてバクテリアの種々の巨大化方法の検討と、融合デバイスの改良を行った。

2-2 成果

課題②-1 カプセル化ゲノム（リポソーム）とバクテリアの選択的ペアリング技術の開発

誘電泳動ピンセットの電極材料に関する検討を行い、性能向上を達成した。また、誘電泳動力を発生させた際の電気浸透流を低減する溶液を検討し、細胞膜を除去した巨大化バクテリアを導入後、製作したピンセット周辺から誘電泳動力を生じさせることで、巨大化バクテリアの移動操作が可能であることを示した（マイルストーン：誘電泳動ピンセットによるバクテリアの操作技術の確立（H29年6月まで）を達成）。また、誘電泳動ピンセットによって望みのサイズのリポソームと巨大化バクテリアをペアリングさせることに成功した（マイルストーン：リポソームカプセル化ゲノム（リポソーム）とバクテリアのペアリングの実現（H29年12月まで）を達成）。

課題②-2 リポソームとバクテリアのサイズ別分取の実現

内部に2種類の蛍光色素を封入したリポソームを、セルソータを用いてサイズ別に分取可能であることを示した。また、誘電泳動ピンセットによって、同一デバイスに導入したリポソームとバクテリアのうち、望みのサイズのをそれぞれ分取することが可能であることを示した（マイルストーン：リポソームとバクテリアのサイズ別分取の実現（H29年9月まで）を達成）。

課題②-3 カプセル化ゲノムとバクテリアの電気融合

電気融合デバイスの電極材料の検討を通じた改良を行い、さらにデバイス構造についても、安定した電場を発生・印加するための電極の厚みや配置の最適化を行った。また、巨大化バクテリアに対して交流電場を印加し、誘電泳動力によるバクテリアペアリングを実現し、そこへ直流パルス電場を印加することで、巨大化バクテリア同士の電気融合が可能であることを示した（マイルストーン：選択的なバクテリア同士の電気融合（H29年9月まで）を達成）。カプセル化ゲノムとバクテリアの選択的な電気融合（H30年3月まで）に関しては、巨大化バクテリアとリポソームでは融合電圧条件に解離があるため、単純な方法では融合が困難であることがわかった。これを受け、巨大化バクテリアとリポソームを同一電圧条件下で融合させるためには巨大化バクテリアの細胞膜の電圧応答性を調整する工夫が必要と考え、種々のバクテリアの巨大化方法を再度検討した。結果、バクテリア同士の電気融合の効率が良くなる巨大化方法を見出すことができた。H30年度において、巨大化バクテリアとリポソームの融合実現を目指す。

2-3 新たな課題など

当該年度の研究成果により、巨大化バクテリアについて、1) 電圧印加に対する細胞膜応答性が人工的な膜（リポソーム）とは異なること、2) 電気融合効率が非常に低いこと、の2点が明らかとなった。つまり、同一条件下における巨大化バクテリアとリポソームの電気融合が困難な問題に新たに直面した。これを受けて次年度、リポソーム、巨大化バクテリアそれぞれについて、単一条件下で電気融合を実現するための検討を新たな課題として加え、実施する。

3. アウトリーチ活動報告

東京大学生産技術研究所リサーチキャンパス公開(2017年6月2日-3日)において、高校生や一般来場者に対して本課題を含む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ラレーションを行った。