

2023 年度年次報告書

ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出

2019 年度採択研究代表者

野地 博行

東京大学 大学院工学系研究科
教授

長鎖 DNA 合成と自律型人工細胞創出のための人工細胞リアクタシステム

主たる共同研究者:

水内 良 (早稲田大学 先進理工学部 専任講師)

村岡 貴博 (東京農工大学 グローバルイノベーション研究院 教授)

研究成果の概要

本研究プロジェクトは、①「均一系微小リアクタの開発および操作技術」、②「人工細胞リアクタの生化学反応の定量計測」、③「自律分裂型人工細胞モデルの創出」、④「脂質膜・LLPS 機能化のための合成分子開発」、⑤「界面安定型 LLPS リアクタの開発および人工細胞進化ダイナミクス解析」の5項目からなる。①においては、デバイスを用いない界面安定化 Dex ドロプレット法を開発した(未発表)。②においては、微小空間において ATP 加水分解・合成する酵素の定量的計測法の確立に成功した(*ACS Sensors* 2023)。また、微小リアクタ中の遺伝子発現量を大幅に増強する手法の開発に成功し、より大きなリアクタでも 1 分子からの遺伝子発現活性の確認ができるようになり、進化分子工学の新しいプラットフォーム技術が完成しつつある(未発表)。③は、昨年度より再帰的 DNA 複製反応によって自己成長する人工細胞リアクタの開発を進めた。その結果、体積が倍加する条件が確認され原著論文の準備を進めている。④では、LLPS ドロプレット界面を安定化する自己集合性分子ツール、さらに光操作によって Dex ドロプレットを局所変形させる分子ツールの開発と時空間制御可能なリアクタ構築に成功した。また脂質二重膜中で光応答し、エンドサイトーシス類似の膜陥入を誘起する分子ツールの開発に成功した(*JACS* 2023)。物質輸送機能を有し、人工細胞の光駆動に有用である。これらの分子ツールによって、外部より操作可能な新しい人工細胞リアクタのプラットフォーム技術が確立するものと期待される。⑤では、界面安定化した Dex ドロプレットでゲノム複製を直接検出する手法を確立した。またドロプレットでのゲノム進化に向けてゲノムを高濃度で継代可能な手法を開発した (*PLOS Genet.* 2023)。その他、多相分離を利用した新規人工オルガネラモデルを構築した。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Hiroshi Ueno, Mio Sano, Mayu Hara, Hiroyuki Noji, Digital Cascade Assays for ADP- or ATP-Producing Enzymes Using a Femtoliter Reactor Array Device, *ACS Sensors*, **8**, 3400-3407, (2023).
- 2) Shunsuke Okada,† Yosuke Matsumoto,† Rikana Takahashi, Kenta Arai, Shingo Kanemura, Masaki Okumura* and Takahiro Muraoka*, Semi-Enzymatic Acceleration of Oxidative Protein Folding by N-Methylated Heteroaromatic Thiols, *Chemical Science*, **14**, 7630–7636, (2023).
- 3) Kensuke Ueda, Ryo Mizuuchi, Norikazu Ichihashi, Emergence of linkage between cooperative RNA replicators encoding replication and metabolic enzymes through experimental evolution, *PLOS Genetics*, **19** (8), e1010471, (2023).
- 4) Shugo Sugii, Katsumi Hagino, Ryo Mizuuchi, Norikazu Ichihashi, Cell-free expression of RuBisCO for ATP production in the synthetic cells, *Synthetic Biology*, **8** (1), ysad016, (2022).