

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

宮田 真人

大阪公立大学 大学院理学研究科

教授

合成細菌 JCVI syn3.0B とゲノム操作を用いた細胞進化モデルの構築

主たる共同研究者:

塩見 大輔 (立教大学 理学部 教授)

成田 哲博 (名古屋大学 大学院理学研究科 准教授)

Robinson Robert (岡山大学 異分野基礎科学研究所 客員教授)

研究成果の概要

本計画では、細胞 40 億年の歴史で起こった進化イベントから、(I) 運動能獲得、(II) ペプチドグリカン層獲得、(III) 細胞骨格進化に着目している。ゲノム情報と操作を駆使することで、(a) 合成細菌 JCVI-syn3.0B, (b) 大腸菌 L-form, (c) *in vitro* の系において、上記イベントの再現と制御を行う研究を行っている。2023 年度は以下の成果を得た。

(宮田グループ)

合成細菌にモリクテス綱細菌の遺伝子を発現して、運動能を再現する研究を進めた。スピロプラズマのらせん反転遊泳のメカニズムについて、以下を示した。すなわち、MreB5 が安定な右巻きらせんを形成し、MreB4 が ATP のエネルギーを用いて MreB5 に横方向の力を加えることで左巻きらせんに変換することで遊泳する。MreB1 はらせん形成と力発生の両方の活性を有しており、単独で細胞に小さな動きを生じることができるため、祖先型に近い MreB である可能性が高い。もう 1 つのハロプラズマ MreB による運動とは独立したものである。

(塩見グループ)

JCVI-syn3.0 および JCVI-syn3.0B でハロプラズマ細胞壁合成酵素群を発現させるために必要な 83 遺伝子 (89.7 kbp) を組み込んだプラスミドを酵母を用いて作成した。そのプラスミドを JCVI-syn3.0 ゲノムに組み込んだが、全ゲノムシーケンスにより正しく組み込まれていないことが明らかとなった。あらためて、プラスミドを JCVI-syn3.0 ゲノムに組み込んでいる。

(Robinson グループ、成田グループ)

アスガルドアーキアのトランスロコン構成タンパク質の HeLa 細胞での局在を調べた。アスガルドアーキアの Sec61、OST そして TRAP タンパク質はすべて小胞体に局在し、細胞膜への局在は観られなかった。この結果からアスガルドアーキアの Sec61 が遺伝子レベルだけでなくタンパク質レベルで真核細胞に遺伝し、細胞の真核生物化におけるトランスロコンの細胞膜から小胞体への移動において機能したことが示唆された。この他に我々はアスガルドアーキアの細胞輸送タンパク質について報告した。これらのタンパク質には真核生物のホモログと多くの類似点が観られたが、膜結合に関わる領域が欠損していた。

また、アスガルドアーキアのチューブリンホモログが作るチューブ構造の構造をクライオ電子顕微鏡を用いて 3.8 Å 分解能で決定。微小管の進化に多くの示唆が得られ、現在それをもとに変異体の解析を行っている。アスガルドアーキアの FtsZ が作る構造の解析もはじめている。溶液条件や温度に応じて、バクテリアの FtsZ とは全く違う構造を形成することがわかってきた。

【代表的な原著論文情報】

- 1) [doi/10.1016/j.jbc.2023.104793](https://doi.org/10.1016/j.jbc.2023.104793)
- 2) [doi/10.1002/mbo3.1385](https://doi.org/10.1002/mbo3.1385)
- 3) doi.org/10.1101/2023.10.04.560972
- 4) [doi: 10.1038/s42003-024-05888-1](https://doi.org/10.1038/s42003-024-05888-1)