

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

2020 年度採択研究代表者

市橋 伯一

東京大学 大学院総合文化研究科
教授

自己再生産し進化する人工ゲノム複製・転写・翻訳システムの開発

研究成果の概要

本プロジェクトの達成には、DNA 複製、転写、翻訳という異なる3種類の反応を同じ反応液で起こすことが必要である。しかし、これまでの研究から、これら3種類の反応はお互いを阻害することを見出しており、この相互不和合成が反応効率を低下させているという問題があった。2023 年度は、この問題を解決するために、現在の無細胞転写翻訳系に含まれる非タンパク成分 11 種類について濃度を変えたときの、DNA 複製、転写、翻訳の各反応効率を個別に測定し、どの化合物がどの反応を促進、あるいは阻害しているのかを調査した(文献1)。その結果、いくつかの化合物は DNA 複製、転写、翻訳という異なる反応に対して逆の作用を示すことが分かった。例えば、dNTP は DNA 複製を促進するが、翻訳は大きく阻害した。逆に tRNA やグルタミン酸カリウムは翻訳を促進するが DNA 複製や転写を阻害した。このうち tRNA による DNA 複製阻害は、様々な DNA polymerase に対して共通してみられることを見出した。また、rNTP は転写を促進するが、DNA 複製を阻害した。さらなる検討の結果、dNTP と rNTP の阻害効果についてはマグネシウムイオンの濃度調整により、ほぼ解消できることを見出した。Glu-K の転写阻害は、T7 RNA polymerase が高塩濃度に弱いことが原因であったことから、塩耐性の polymerase を使うことで解決できることが分かった。以上の知見を踏まえて、最適な条件下を設定することにより、DNA 複製は約半分に低下するものの転写と翻訳の両反応は 10 倍以上上昇させることができた。本プロジェクトで目指す 57 遺伝子の自己再生産ではすでに過剰にある DNA 複製よりも転写翻訳を上げることの方が重要であるため、この結果は今後の自己再生産実験のために有用である。また、当初の計画にはなかったが、2023 年度には RuBisCO を発現させ、二酸化炭素を固定する能力を持つ人工細胞の構築にも成功した(文献2)。

【代表的な原著論文情報】

1) Seo, K., Ichihashi, N.*

Investigation of Compatibility between DNA Replication, Transcription, and Translation for in Vitro Central Dogma, ACS Synthetic Biology, 12, 1813–1822 (2023)

2) Sugii, S., Hagino, K., Mizuuchi, R., Ichihashi, N.* (+ equally contributed)

Cell-Free Expression of RuBisCO for ATP Production in the Synthetic Cells, Synthetic Biology 8, ysad016 (2023)