

太田 邦史

東京大学大学院総合文化研究科
教授

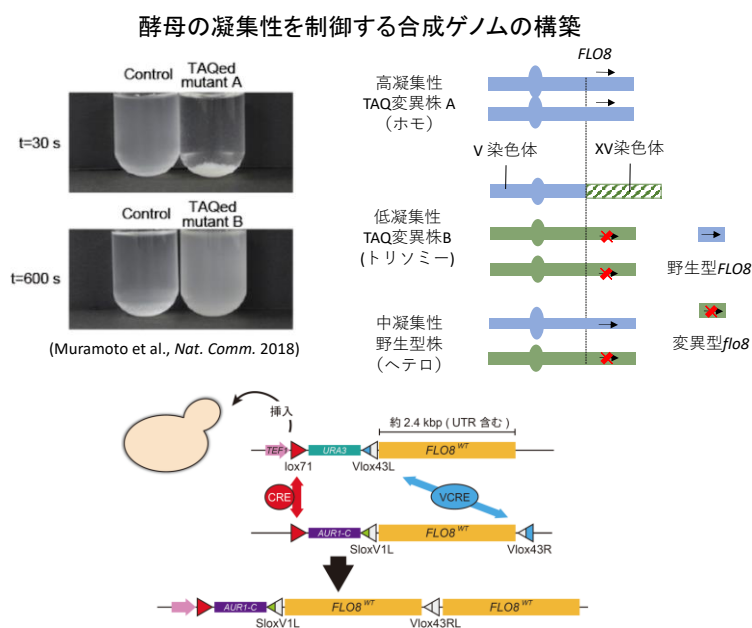
新規ゲノム再編成技術と長鎖 DNA 合成を活用した ゲノム改修技術の開発

§ 1. 研究成果の概要

太田グループが開発した独自技術である「TAQing システム」(DNA 切断酵素を細胞内で誘導的に活性化してゲノムを多部位で切断し、再編成を誘発するシステム)を活用し、複雑な形質をもたらす遺伝子群を適切に付加／削除した「最小改修ゲノム」を合成することを目指している。また、確立した方法により、高効率で物質生産が可能な人工酵母や人工動植物細胞などを作成する。

今年度は、酵母・動植物細胞に関して TAQing システムを適用し、プロト人工細胞の作成を行ったほか、3D-FISH・超解像度顕微鏡を用いた分析法、1 分子 DNA シーケンサなどを用いた実験系の立ち上げを中心に行ってきた。太田グループは、高温下でキシロース資化エタノール発酵能を有するプロト人工酵母細胞を1系統、凝集性の増大あるいは減少した細胞を3系統作製し、一部ゲノム DNA 配列の解析を実

施した。複数の凝集性変化系統のゲノムを比較し、この形質に関わる染色体領域の特定に成功した(図参照)。そこで、この領域を有する長鎖 DNA(エキストラゲノム)の合成を行い、通常酵母細胞内に導入したところ、強い凝集性が生じることが確認された。植物については、TAQing システムに利用する DNA 切断酵素を置換し、より強力に植物に適用しやす



い Ex-TAQing システムを開発した(論文リバイス中)。シロイヌナズナに Ex-TAQing システムを適用することにより、耐塩性、アブシジン酸感受性の変化したプロト人工植物体を計4系統作製した。動物細胞については、ヒト培養細胞へタンパク質細胞内直接送致法で TaqI を導入する実験系に着手した。また、DNA 切断酵素を細胞内に直接送致してゲノム再編成を誘発する TAQing2.0 を開発している。ゲノム再編成の検出については、MinION などの1分子 DNA シーケンサーを用いたゲノム DNA 配列再解読に着手した。田代グループでは、3D-FISH 解析の当初の取り組みとして、ヒトなど哺乳類細胞のセントロメア/テロメア配列を対象とした PNA-FISH 法や multicolor-FISH 法を用いた 3D-FISH などを活用する方法を検討した。また、Metafer4によるハイスループット染色体画像解析を用いた実験系について条件検討を行った。舩本グループでは、酵母ゲノムの解析を行ったほか、タバコ培養細胞についてプロト人工細胞の作製法を検討した。酵母凝集性調節用のエキストラゲノムの構築に際し、かずさ DNA 研究所が実用化した複数種の CRE-loxP システムを組み合わせた細胞内タンデムライゲーションを利用した長鎖 DNA 挿入用カセット遺伝子を酵母染色体に組み込んだ(図参照)。

§ 2. 研究実施体制

(1) 太田グループ

① 研究代表者: 太田 邦史 (国立大学法人東京大学・総合文化研究科・教授)

② 研究項目

研究項目1. 多様な表現型を示すプロト人工細胞の作製

研究項目2. プロト人工細胞のゲノム情報を用いた最小改修ゲノム設計

研究項目3. 長鎖 DNA 合成による最小改修ゲノム構築

研究項目4. 再設計人工細胞の評価とフィードバック

(2) 田代グループ

① 主たる共同研究者: 田代 聡 (国立大学法人広島大学・原爆放射線医科学研究所・教授)

② 研究項目

研究項目2. プロト人工細胞のゲノム情報を用いた最小改修ゲノム設計

研究項目4. 再設計人工細胞の評価とフィードバック

(3) 舛本グループ

① 主たる共同研究者: 舛本 寛 (公益財団法人かずさ DNA 研究所・先端研究開発部・染色
体工学研究室・室長)

② 研究項目

研究項目1. 多様な表現型を示すプロト人工細胞の作製

研究項目3. 長鎖 DNA 合成による最小改修ゲノム構築