

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
2018年度採択研究代表者

2020 年度 実績報告書

末次 正幸

立教大学 理学部
教授

人工ゲノムのセルフリー-On chip 合成とその起動

§ 1. 研究成果の概要

本研究では、独自のセルフリーの DNA 連結・長鎖 DNA 増幅技術を利用したゲノム合成技術を開発する(末次グループ)。また、On chip ゲノム合成実現のため、セルフリー技術をマイクロチャンバーへ実装することを目指す(田端グループ)。さらに、技術実証のため、大腸菌およびマイコプラズマをモデルとしたゲノム合成を進め、合成ゲノムを細胞に移植するための技術も開発する。

(末次グループ)

マイコプラズマゲノム(0.5 Mb)が AT リッチであることが、セルフリーゲノム合成を困難としていることを突き止めた。そこで新たに AT リッチ DNA の合成も可能な反応組成・条件を開発した。一方で、大腸菌ゲノム(4.6Mb)は、合成しやすいもののサイズの大きさが、ゲノム合成と移植のボトルネックとなっていた。我々は、大腸菌染色体を 3 分割し、3 種の 1Mb 染色体からなる人工大腸菌を構築した。1Mb 染色体であれば我々のセルフリー系で試験管内増幅可能であった。さらに、1Mb 染色体は、別の大腸菌にエレクトロポレーションで簡単に移植(形質転換)できることも見出した。1 Mb サイズ DNA の試験管内増幅や大腸菌形質転換の報告はこれまでになく、世界初の快挙である。

(田端グループ)

mycoplasma syn3.0 ゲノムの in vitro 編集と増幅システムの開発を実施した。ただし増幅効率が低く、その原因として mycoplasma ゲノムが AT リッチであることが考えられた。そこで、AT リッチな配列でも安定に増幅出来る手法の検討を進めている。また、on chip cloning に関してはマイクロチャンバー内での DNA 連結や増幅反応の条件を検討し、これら 2 つの反応が 1 つのチャンバー内で進行することを確認した。さらには、連結、増幅された DNA から PURE system によるタンパク質発現にも成功している。これにより、チャンバー内での in vitro cloning のみならずスクリーニングにも可能性が広がった。

§ 2. 研究実施体制

(1) 末次グループ

- ① 研究代表者:末次 正幸 (立教大学理学部 教授)
- ② 研究項目
 - ・人工ゲノムのセルフリー合成とその起動

(2) 野地[田端]グループ

- ① 主たる共同研究者:田端 和仁 (東京大学工学系研究科応用化学専攻 准教授)
- ② 研究項目
 - ・on chip cloning system
 - ・マイコプラズマゲノム移植技術の構築

【代表的な原著論文情報】

Mukai, T., Yoneji, T., Yamada, K., Fujita, H., Nara, S. and [Su'etsugu, M.](#) Overcoming the Challenges of Megabase-Sized Plasmid Construction in Escherichia coli . *ACS Synth. Biol.*, **9**, 1315-1327 (2020)