

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

2020 年度 年次報告書

宮田 真人

大阪市立大学 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

§ 1. 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 と (b) 大腸菌 L-form 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。2020 年度は以下の成果を得た。

(宮田グループ)

合成細菌にスピロプラズマ由来の 7 つの遺伝子を発現することでスピロプラズマの遊泳運動を再現する研究が進展した。それぞれの遺伝子の欠失株を解析することで、タンパク質の役割を特定した。また、力発生を起こす最小限の遺伝子セットの特定にも成功し、これまで全く未知だったスピロプラズマ遊泳運動のメカニズムと進化的起源に迫った。

(塩見グループ)

大腸菌 L-form の増殖に外膜が重要であることを明らかにし、論文として報告した。また、L-form 細胞内で蛍光でラベルした 2 種類のヒストン様タンパク質 HU を観察し、L-form の分裂は分裂装置によって制御されていないものの、ゲノム DNA が存在しない場所で分裂していることを明らかにした。今後、桿菌への回復過程でのゲノム DNA の挙動を詳細に解析する。また、大腸菌 L-form および合成細菌の増殖に HU タンパク質の機能が重要であることを明らかにした。

(Robinson グループ、成田グループ)

Asgard アーキア由来の細胞骨格タンパク質(アクチンとチューブリン)の構造と機能を解析した。アクチンの重合反応の観測に成功した。また、アクチンの制御タンパク質について、真核生物には見られないドメイン構造をもつホモログを見出した。これらのホモログが真核生物由来タンパク質の進化のプロセスに知見を与えるものと期待している。現在は電子顕微鏡像を元にチューブリンの構造の精密化を進めている。

§ 2. 研究実施体制

(1) 宮田グループ

- ① 研究代表者: 宮田 真人 (大阪市立大学大学院理学研究科 教授)
- ② 研究項目
 - 合成細菌の特徴づけ(細胞膜構造と増殖過程、細胞内部構造のダイナミクス)
 - 進化イベントの再構築(合成細菌におけるモリクテス綱の運動能)
 - 再構築された合成細菌の構造と機能の解析(細胞膜、細胞内部構造、細胞構造ダイナミクス)

(2) 塩見グループ

- ① 主たる共同研究者: 塩見 大輔 (立教大学理学部 准教授)
- ② 研究項目

- 大腸菌 L-form の増殖機構およびペプチドグリカン合成再開機構
- 合成細菌の特徴づけ(増殖過程、とくにゲノム維持機構と分裂関連タンパク質の機能)
- 合成細菌でのペプチドグリカン合成

(3)Robinson グループ

① 主たる共同研究者:Robert C. Robinson (岡山大学異分野基礎科学研究所 特任教授)

② 研究項目

- 合成細菌 JCVI Syn3.0 内における Asgard アーキア由来真核生物様タンパク質の再構築
- 大腸菌内での Asgard アーキア由来真核生物様タンパク質の発現系構築

(4)成田グループ

① 主たる共同研究者:成田 哲博 (名古屋大学大学院理学研究科 教授)

② 研究項目

- DNA 分配能システムの再構築と解析(Robinson グループとの共同研究)
- 合成細菌およびコンポーネントの分子構造レベルの解析

【代表的な原著論文情報】

- 1) “Phylogenetic origin and sequence features of MreB from the wall-less swimming bacteria *Spiroplasma*”, Biochemical and Biophysical Research Communications, vol. 533, No. 4, pp.638-644, doi: <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2020.09.060>, 2020
- 2) “Movements of *Mycoplasma mobile* gliding machinery detected by high-speed atomic force microscopy”, mBio, 12 (3) e0004021. doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.00040-21>, 2021
- 3) “Chained structure of dimeric F1-like ATPase in *Mycoplasma mobile* gliding machinery”, mBio. e0141421. doi: <https://doi.org/10.1128/mBio.01414-21>, 2021
- 4) “Force and step size of gliding motility in human pathogenic bacterium *Mycoplasma pneumoniae*”, Frontiers in Microbiology. 12:747905. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.747905>, 2021
- 5) “Direct observation of conversion from walled cells to wall-deficient L-form and vice versa in *Escherichia coli* indicates the essentiality of the outer membrane for proliferation of L-form cells”, Frontiers in Microbiology, vol. 533, No. 4, pp.638-644, doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.6459652021>, 2021
- 6) “Mythical origins of the actin cytoskeleton”, Current Opinion in Cell Biology, vol. 68, pp.55-63. doi: <https://doi.org/10.1016/j.ceb.2020.08.011>, 2020