

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

2020 年度 年次報告書
------------------

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

## § 1. 研究成果の概要

2020年度は「サブゲノム・ゲノムの構築」と、「継代実験による自己再生産アッセイ」をアミノアシル tRNA 合成酵素遺伝子(aaRS)の一部について実施した。まず、20種類の aaRS を分割して持つサブゲノムの構築を行った。また、研究を進める中で aaRS を一つのゲノム上に集約せず、すべて別々のサブゲノムとして複製させた方が、コピー数の制御が容易になり、しかも複製効率は悪くならないことが判明したため、追加で20種類の aaRS がすべて分割された20個のサブゲノムも構築した。さらに2020年度には、20種類の aaRS 遺伝子が、PURE system 中で発現させたときに活性のある形で発現するかを検証した。条件の最適化の結果、すべての aaRS 遺伝子について十分な活性のある形で発現させることに成功した。ここでの「十分な活性」とは、発現した aaRS を使って DNA 複製酵素を翻訳したときに、DNA 複製が検出できるくらいの活性とした。特に PheRS についてはこれまで PURE system 中で発現させても活性がないことが知られていたが、低温で発現させることにより活性のある形で発現することができた。さらに当初の予定には含まれていなかったが、「進化実験によるゲノム配列の最適化」についても一部実施し、phi29 DNA 複製酵素と Cre 組み換え酵素を組み合わせた DNA 複製スキームにより油中水滴中での遺伝子発現と、そのタンパク質による持続的な DNA 複製に成功した。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 市橋グループ(東京大学)

- ① 研究代表者:市橋 伯一 (東京大学総合文化研究科 教授)
- ② 研究項目
  - ・サブゲノム・ゲノムの構築
  - ・継代実験による自己再生産アッセイ
  - ・進化実験によるゲノム配列の最適化

### 【代表的な原著論文情報】

1. Okauchi, H., Sakatani, Y., Ohtsuka, K., Ichihashi, N.\*  
Minimization of elements for isothermal DNA replication by an evolutionary approach  
*ACS Synthetic Biology* 9, 1771-1780 (2020)