

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

2021 年度 年次報告書

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)

2021 年度初頭に、大腸菌染色体を各 1 Mb に 3 分割した人工大腸菌について論文発表し、NAR Breakthrough Article に選定されるなど、高い評価を得た。1Mb 染色体の大腸菌への移植に成功したことから、セルフリー合成したメガサイズのゲノムを如何に大腸菌に導入するか、という課題がほぼ解消された。そこで、実際に大腸菌ゲノムを人工合成するプロジェクトに着手した。まず、大腸菌のゲノム情報を改めて精査し、独自の最小要素からなるゲノム(カーネルゲノムと呼ぶ)をデザインした。カーネルゲノムの人工合成については、研究室独自の長鎖 DNA セルフリー連結・増幅技術を用いており、技術のブラッシュアップもありつつ想定通りに進捗している。

(田端グループ)

RCR を用いた mycoplasma syn3.0 ゲノムの増幅と起動において、RCR による syn3.0 ゲノム増幅を最適化し、ゲノム移植効率の最適化を図った。in vitro 増幅された syn3.0 ゲノムにおいて、増幅を行わないものと比較し、10 倍程度の向上が認められた。また、on chip cloning に関してはチャンバー中での RCR 反応の効率決定やライゲーション効率、タンパク質発現効率などの定量評価を実施し、on chip cloning の有用性を示す結果を得た。

§ 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) 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】

Nara, S. and Su'etsugu, M. In vitro amplification of whole large plasmids via transposon-mediated oriC insertion. *BioTechniques*, 71, NO.4 (2021) DOI:10.2144/btn-2021-0068, Peek Behind the Paper selected

Ueno, H., Sawada, H., Soga, N., Sano, M., Nara, S., Tabata, K. V., Su'etsugu, M. and Noji, H. Amplification of over 100 kbp DNA from Single Template Molecules in Femtoliter Droplets. *ACS Synth. Biol.*, 10, 2179-2186 (2021) DOI:10.1021/acssynbio.0c00584

Yoneji, T., Fujita, H., Mukai, T., and Su'etsugu, M. Grand scale genome manipulation via chromosome swapping in *Escherichia coli* programmed by three one megabase chromosomes. *Nucleic Acids Res.*, 49, 8407-8418 (2021) DOI:10.1093/nar/gkab298, NAR Breakthrough Article selected

Honda, S., Minagawa, Y., Noji, H., Tabata, K.V. Multidimensional Digital Bioassay Platform Based on an Air-Sealed Femtoliter Reactor Array Device. *Analytical Chemistry*, 93;13:5494-5502.(2021) DOI: 10.1021/acs.analchem.0c05360