

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

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 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) 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動植物細胞などを作成する。

2021 年度に太田グループは、TAQing システムを用いて、有糸分裂細胞内での大規模ゲノム再編成を介した効率的な遺伝子マッピング法を開発した (論文投稿中)。従来の自然変異によるマッピング法と比較検討を行い、TAQing システムを用いることで目的の表現型に関わる責任遺伝子を迅速に特定することに成功した。同定された遺伝子群を操作することで、目的の凝集性表現型を有する最小改修ゲノムをもつ再設計人工酵母の構築に成功した。また、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 TAQing システムにより多数作製し、上記の方法を活用して、有用形質を有する変異株に共通して存在する染色体領域を特定した。これにより、高温下でキシロースのみからエタノールを合成する再設計人工酵母のデザインが可能になった。また、タンパク質細胞内直接送致で TaqI を導入する TAQing2.0 については、トルラ酵母および出芽酵母を用いた成果を論文発表した¹⁾。さらに、杉本グループで確立した線虫 TAQing 変異体のゲノム再編成について、短鎖および長鎖 DNA シーケンサーによる解析を行い、染色体再編成の発生を確認した。

田代グループでは、TAQing システムによるゲノム再編成を行う標的ヒト細胞種を、multicolor FISH による染色体解析を用いて選定した。さらに、染色体 DNA の微細領域についての構造解析を目的とした、オリゴ DNA プローブを用いた 3D-FISH 法及びその画像解析法を確立した。舛本グループは、長鎖合成 DNA をヒト培養細胞に導入し、エキストラゲノムを構築可能な組換え部位を持つヒト人工染色体を新たに構築した。ヒト人工染色体の MLS へ多様な遺伝子の挿入が可能であることを確認し、植物用マーカー遺伝子を組込んだ³⁾。杉本グループでは、TAQing2.0、Ex-TAQing システムを多細胞生物である線虫に適用し、表現型の変化を伴う変異株を新たに複数取得した。また、染色体再編成を観察するために multicolor FISH 法の線虫への適用を開始した。

§ 2. 研究実施体制

(1) 太田グループ

① 研究代表者: 太田 邦史 (東京大学大学院総合文化研究科 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 (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) 舩本グループ

① 主たる共同研究者: 舩本 寛 ((公財)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

【代表的な原著論文】

1) Yasukawa T., Oda H.A., Namkamura T., Masuo N., Tamura M., Yamazaki T., Imura M., Yamada T., and Ohta K.

TAQing2.0 for genome reorganization of asexual industrial yeasts by direct protein transfection. Commun. Biol. 5, 144 (2022) <https://doi.org/10.1038/s42003-022-03093-6>

2) Iwasaki W.Y., Sriswasdi S., Kinugasa Y., Adachi J., Horikoshi Y., Shibuya A., Iwasaki W., Tashiro S., Tomonaga T., and Siomi H.

Piwi-piRNA complexes induce stepwise changes in nuclear architecture at target loci. EMBO J. 40(18), e108345 (2021)

<https://www.embopress.org/doi/full/10.15252/embj.2021108345>

3) Okazaki K, Nakano M, Ohzeki J, Otake K, Kugou K, Larionov V, Earnshaw

WC and Masumoto H*: Combination of CENP-B Box Positive and Negative Synthetic Alpha Satellite Repeats Improves De Novo Human Artificial Chromosome Formation.

Cells. 2022, 11(9),1378;

<https://doi.org/10.3390/cells11091378>