

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

2021 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の構築

§ 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。2021 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を進めた。それを基にこの遊泳運動が MreB タンパク質が 2 種類に進化することにより生じたことを提案した。さらにその時に生じたと考えられる変異に関する情報を得た。マイコプラズマの滑走運動を再構築するために構造と動きの解析を進め、約 12,500 個のアミノ酸残基から構成される、モーターの巨大複合体を分解能 2.7Å で明らかにした。

(塩見グループ)

大腸菌 L-form の複製起点、終結点をそれぞれ TetR-YFP/*tetO* と LacI-CFP/*lacO* により標識し、L-form では DNA 複製後のゲノム DNA の分配がうまく行われていない可能性が示唆された。大腸菌の細胞壁合成を分裂面だけで行うと(細胞側面では行わない)、不定型な L-form が小さな楕円菌になった。また、L-form 中でのゲノム DNA 分配が分裂装置の局在とも関連することを明らかにし、進化における細胞分裂装置の局在、分裂面での細胞壁合成、ゲノムの分配の関連に迫った。

(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(チューブリン)の構造と機能を解析し、1報の論文にまとめた。Asgard アーキア由来のチューブリンは真核生物とは異なり、微小管を形成しないことがわかった。また、真核生物のチューブリンではこれまで報告がなかった GTP 加水分解活性の詳細な反応機構を明らかにした。若手チャレンジでは千住が膜リモデリングタンパク質の構造を決定し、人工細胞膜上での再構築に成功した。

§ 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 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
 - Asgard アーキア由来膜リモデリングタンパク質の構造解析および人工細胞膜上での再構築

(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 准教授)
- 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) “Reconstitution of *Spiroplasma* swimming by expressing two bacterial actins in synthetic minimal bacterium bioRxiv”, doi: 10.1101/2021.11.16.468548, 2021
- 2) “Movements of *Mycoplasma mobile* gliding machinery detected by high-speed atomic force microscopy. mBio, 12 (3) e0004021”, doi: 10.1128/mBio.00040-21, 2021
- 3) “Chained structure of dimeric F1-like ATPase in *Mycoplasma mobile* gliding machinery. mBio. e0141421”, doi: 10.1128/mBio.01414-21” 2021

- 4) “Force and stepwise movements of gliding motility in human pathogenic bacterium *Mycoplasma pneumoniae*”, *Frontiers in Microbiology*. 12, 2691”, doi: 10.3389/fmicb.2021.747905, 2021
- 5) “Structure and dynamics of *Odinarchaeota* tubulin and the implications for eukaryotic microtubule evolution”, *Science Advances* 8 doi: 10.1126/sciadv.abm2225, 2022