

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

2021 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

2021年度は、継代実験による自己再生産アッセイを20種類のアミノアシル tRNA 合成酵素遺伝子(aaRS)のすべてについて実施した。2020年度に、20種類の aaRS 遺伝子が、PURE system 中で発現させたときに十分に活性のある形で発現することを確認していたため、2021年度は各 aaRS を DNA から発現させ、その活性により DNA 複製酵素を翻訳させ、その複製酵素により各 aaRS のコードされた DNA を複製させる自己再生産アッセイを実施した。このアッセイでは最初の反応のみすべての aaRS を入れておき、その後は各 aaRS の含まない無細胞翻訳系で希釈しさらなる反応を行うことで、DNA から aaRS が再生産されたときにのみ DNA の複製が続くことになる。その結果、20種類すべての aaRS それぞれについて、8回以上希釈を繰り返しても DNA 複製が続くことを確かめた。この結果は、20種類の aaRS それぞれについて自己再生産しながら DNA 複製を続けることができたことを示している。さらに aaRS を5種類ずつまとめて自己再生産させながら DNA の複製を続けることにも成功した。加えて2021年度では、進化実験によるゲノム DNA 配列を最適化することをも検討した。Phi29 DNA 複製酵素と Cre 組み換え酵素をコードした DNA を用いて、油中水滴中で30ラウンドの継代実験を行ったところ、DNA に有益変異が蓄積し元の DNA に比べて条件によっては50倍以上複製効率の高い変異型 DNA を得ることができた。すなわち、試験管内で継代するだけで人工ゲノム DNA の複製能力を向上させることができるようになった。この方法を用いれば、今後進化実験により人工ゲノム配列の最適化ができるようになり、効率的な人工ゲノムの開発に役に立つだろう。

## § 2. 研究実施体制

### (1) 市橋グループ

- 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., Ichihashi, N.\*

“Continuous cell-free replication and evolution of artificial genomic DNA in a compartmentalized gene expression system”, ACS Synthetic Biology, 10, 3507-3517, 2021