

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

2022 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

主たる共同研究者:

車 兪澈 (海洋研究開発機構 超先鋭研究開発部門 主任研究員)

田端 和仁 (東京大学 大学院工学系研究科 准教授)

研究成果の概要

本課題では、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。また、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。

2022 年度の成果

(末次グループ)

- セルフリー環状 DNA 増幅反応 RCR にエラー除去系を組み込み、エラーの抑制に成功した。
- RCR を用いて 2 Mb の大腸菌分断染色体をまるごと増幅することに成功し¹⁾、DNA の試験管内増幅サイズの記録を塗り替えた。
- 細胞から取り出すことによりダメージを受けているメガベーススケールの環状ゲノムに対して、その修復とスーパーコイル化を行う技術(SCR)を開発した¹⁾。SCR によって 4.6 Mb ゲノムを通常のアガロースゲル電気泳動でサイズ分離できることを示した。さらに、SCR は 1 Mb ゲノムの移植効率を高めるものでもあった。
- 大腸菌最小ゲノム(カーネルゲノム、1.6 Mb)の全合成プロジェクトを本格始動し、0.1 Mb チャンクのセット合成まで至った。

(田端グループ)

- *Mycoplasma syn3.0* のゲノム移植において、RCR に含まれる DNA 修復酵素群が重要な役割を果たしていることを突き止めた。
- インフルエンザウイルスゲノムの RA-RCR を用いた *in vitro* ゲノム構築やウイルス 1 粒子ゲノムの網羅的シーケンシングやその集団内における不均一性の解析なども実施した。

(車グループ)

- 内部で自律的にリン脂質を合成する人工細胞の構築に成功した。*In vitro* の系では最大 400 μ M、*in vesicle* の系では 100 μ M のリン脂質を合成することが観察された。これにより自己複製可能な人工細胞膜の基盤技術が整った。
- 無細胞タンパク質合成系と、リボソーム技術を応用して、任意の抗体タンパク質を膜状に提示する技術を構築した。

【代表的な原著論文情報】

1) Fujita, H., Osaku, A., Sakane, Y., Yoshida, K., Yamada, K., Nara, S. Mukai, T. and Su'tsugu, M. Enzymatic Supercoiling of Bacterial Chromosomes Facilitates Genome Manipulation. *ACS Synth. Biol.* 11, 3088–3099 (2022) DOI:10.1021/acssynbio.2c00353

2) Eto, S., Matsumura, R., Shimane, Y., MFujimi, M., Berhanu, S., Kasama, T., Kuruma, Y. Phospholipid synthesis inside phospholipid membrane vesicles. *Commun. Biol.* 5, 1016 (2022) DOI: 10.1038/s42003-022-03999-1

3) Shimane, Y., Kuruma, Y. Rapid and facile preparation of giant vesicles by the droplet transfer method for artificial cell construction. *Front. Bioeng. Biotech.* 10, 873854 (2022) DOI: 10.3389/fbioe.2022.873854