

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

2022 年度  
年次報告書

宮田 真人

大阪公立大学 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

主たる共同研究者:

塩見 大輔 (立教大学 理学部 教授)

成田 哲博 (名古屋大学 大学院理学研究科 准教授)

Robinson Robert (岡山大学 異分野基礎科学研究所 特任教授)

## 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。2022 年度は以下の成果を得た。

(宮田グループ)

合成細菌にモリクテス綱細菌の遺伝子を発現して、運動能を再現する研究を進めた。原始的なモリクテス綱細菌であるハロプラズマの MreB タンパク質を発現することで、合成細菌に新たな運動能を与えることに成功した。合成細菌にモリクテス綱細菌の遊泳能を与える MreB タンパク質と fibril タンパク質の構造と合成細菌中における挙動を蛍光観察、クライオ電子顕微鏡、生化学実験などで明らかにした。

(塩見グループ)

JCVI-syn3.0B で枯草菌細胞壁合成酵素群を発現させるために、JCVI-syn3.0B ゲノムに 16 遺伝子を組み込んだ。しかし十分な遺伝子発現は確認されなかった。そのため、プロモーター配列の改変などを行っている。また、大腸菌 L-form がペプチドグリカン合成し、通常の状態に戻る過程での細胞分裂の様子と、ゲノム DNA のダイナミクスの関連を明らかにした。

(Robinson グループ、成田グループ)

2022 年度は細胞骨格進化のプロセスの解明が引き続き大きく進展した。アスガルドアーキア由来チューブリンタンパク質が形成するフィラメントの高分解能構造の解明とともに、アスガルドチューブリンの微小管化に着手した。さらに、アスガルドアーキア由来アクチンとその制御タンパク質の相互作用解析技術を開発した。現在はこれらのタンパク質の大腸菌 L-form への導入を試みている。

### 【代表的な原著論文情報】

- 1) Hana Kiyama, Shigeyuki Kakizawa, Yuya Sasajima, Yuheio Tahara, and Makoto Miyata. (2022) Reconstitution of a minimal motility system based on Spiroplasma swimming by two bacterial actins in a synthetic minimal bacterium. *Science Advances* 8(48) 2022 doi: 10.1126/sciadv.abo7490
- 2) Khongpon Ponlanchantra, Wipa Suginta, Robert C. Robinson & Yoshihito Kitaoku. (2022) AlphaFold2: A versatile tool to predict the appearance of functional adaptations in evolution. *BioEssays* 45(2) doi: 10.1002/bies.202200119.