

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

2022 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

研究成果の概要

2022年度は、1) 20種類のアミノアシル tRNA 合成酵素遺伝子(aaRS)について、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。2021年度には1個ずつの自己再生産アッセイに成功していたため、2022年度は複数同時の自己再生産を目指した。通常の試験管内反応の場合は10種のaaRSの同時自己再生産までしか成功しなかったが、透析反応による低分子化合物の常時供給系を導入することと、さらに発現量が少ないaaRSの配列の最適化により、20種全てのaaRSについて4世代までの同時の自己再生産に成功した(論文1)。以上の結果は、本プロジェクトで目指すDNA複製・転写・翻訳反応の再生産のために必要な36遺伝子のうち、約半数を占める20aaRSの自己再生産が少なくとも部分的には達成されたことを示している。ただし、まだ世代を重ねるごとに翻訳活性が落ちているため、これを維持することは今後の課題である。また2022年度にはさらに2) 16種類のtRNAについてもDNAからの再生産反応を試みた。まずは個別の16種類すべてのtRNAについて無細胞翻訳系中で合成してそれを使って翻訳を行うことに成功し、さらに16種類同時の合成とそれを使った翻訳にも成功した。また、1種類のtRNAについてはDNAから合成したのち、そのtRNAを使ってDNA複製酵素を翻訳させ、もとのDNAを複製させる自己複製反応にも成功した(論文2)。tRNAは当初の計画には含まれていなかったものの、完全な自己再生産には必要なファクターであり、この達成も本研究期間中に十分達成できる可能性を示している。

【代表的な原著論文情報】

- 1) Hagino, K., Ichihashi, N.*, In vitro transcription/translation-coupled DNA replication through partial regeneration of 20 aminoacyl-tRNA synthetases. ACS Synthetic Biology, in press, (2023)
- 2) Miyachi, R., Shimizu, Y., Ichihashi, N.*, Transfer RNA Synthesis-Coupled Translation and DNA Replication in a Reconstituted Transcription/Translation System. ACS Synthetic Biology, 11, 2791–2799 (2022)