

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

榊原 康文

慶應義塾大学 理工学部
教授

深層学習を用いたゲノムスタイル特徴抽出と DNA 配列 de novo 設計と合成

主たる共同研究者:

片岡 正和 (信州大学 学術研究院工学系 准教授)

宮本 憲二 (慶應義塾大学 理工学部 教授)

研究成果の概要

深層学習を用いて人工 DNA 配列を設計する DNA 配列変換モデルの汎化性能の向上を目的として、学習データの大規模化に主に取り組んだ。RefSeq から 60 菌種の全 803,211 本のオーソログ配列を収集し、菌種間のオーソログ遺伝子配列を変換するために、言語モデル Transformer に基づく深層学習モデルを構築した。設計した学習モデルは、パラメータ数が一億にのぼり、逆翻訳機構を取り入れるなど、配列変換の一般規則を学習できるように改良を重ねた。データ数の増加とともに、学習に用いていない未知の DNA 配列の変換に関して精度の向上が確認された。今後、数百菌種にさらにデータを増大することで、実用に用いることのできる DNA 配列変換モデルを実現する。

PET 分解から TCA サイクルまでの代謝経路を人工的に枯草菌内に構築することを目的として、PET(ポリエチレンテレフタレート)を分解する *Ideonella sakaiensis* 201-F6 株が保有する PETase(PET 分解酵素)を含む代謝経路中の全 14 酵素遺伝子の DNA 配列を取得、コドン最適化を行い、*Bacillus subtilis* RM125 に導入した株を作製した。PET 分解活性の評価および RNASeq によるトランスクリプトーム解析を行った。PETase は大腸菌などの様々な生物種に導入されているものの、PET 代謝経路に関係する全遺伝子を導入した例はない。PETase 単体を導入した株 p22-032 と PETase プラスミドに加え下流の 13 遺伝子群をオペロン構造として設計し導入した株 p22-121 で、逆転写 PCR により導入したすべての遺伝子の発現を確認した。次に、p22-121 について BHET 培地で培養を行い、RNASeq による遺伝子発現差異解析を行なったところ BHET 培地では野生株と比較して導入経路より下流の遺伝子の発現上昇が確認された。PET 分解活性の評価では、BHET 添加培地において BHET, MHET, TPA を HPLC により定量した。BHET に関し、p22-032 及び p22-121 で野生株と比較し有意に分解されていることが確認された。また MHET の生成量に関し、p22-121 では p22-022 と比較し有意に低いことが確認されたことから、PETase だけではなく導入した下流遺伝子による代謝経路が動作していることが示唆された。

【代表的な原著論文情報】

1) “Effective plasmid delivery to a plasmid-free *Bacillus natto* strain by a conjugational transfer system”, *J Biochem*, 172(5), 313-319 (2022).