

# 研究領域「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」事後評価（課題評価）結果

## 1. 研究領域の概要

本研究領域はゲノムの構造と機能に関する基本原理（ゲノムの動作原理）の解明とその知見に基づく細胞利用の基盤技術の創出を目指すものである。特に、長鎖DNAの活用を通して細胞の制御を目指すことで生命科学、ゲノム科学、細胞工学などのライフサイエンスのフロンティアの開拓と技術基盤の確立を目指す。

近年、世界的に長鎖DNAを活用した研究開発が加速している。これらはいずれも合成生物学の流れを汲むものであり、米国、中国、英国では複数の拠点形成され、基礎研究や技術開発、ベンチャー企業の育成など戦略的な投資が行われている。しかしながら、各国の取り組みを見ると、細胞を任意に制御するためのゲノムの設計指針にまで踏み込んだ研究開発は少ないように見受けられる。

そこで、本研究領域では将来的なゲノム設計の基盤技術の構築に向けゲノムの動作原理の解明を目的とした研究開発に取り組む。ここでは、進展が著しい長鎖DNAの活用を視野に「ゲノムの構造と機能の解明」、「ゲノム設計のための基盤技術」、「ゲノムスケールのDNA合成技術」、「人工細胞の構築」の4つの課題を推進し、ゲノムの複雑な機能と構造に関する知見の創出とゲノム合成や人工細胞に関する新たな技術の構築を目指す。

## 2. 事後評価の概要

### 2-1. 評価の目的、方法、評価項目及び基準

「戦略的創造研究推進事業（先端的低炭素化技術開発及び先端のカーボンニュートラル技術開発（ALCA-Next）を除く。）の実施に関する規則」における「第4章 事業の評価」の規定内容に沿って実施した。

### 2-2. 評価対象個人研究者及び研究課題

#### 2020年度採択研究課題

- (1) 安藤 俊哉（京都大学白眉センター 特定准教授）  
多細胞生物の進化に倣った染色体操作及び器官再構成法の開発
- (2) 石川 聖人（長浜バイオ大学バイオサイエンス学部 准教授）  
リピート配列の相同組換えを保護する細菌ゲノムの分子基盤
- (3) 越阪部 晃永（東京大学大学院理学系研究科 特任助教）  
エピゲノム確立の再構成による動作原理解明
- (4) 京極 博久（神戸大学大学院農学研究科 助教）  
顕微操作技術による初期胚の不安定なゲノムの分配システムの解明
- (5) 白井 温子（理化学研究所開拓研究本部 研究員）  
ヘテロクロマチンの構築とその分子基盤
- (6) 炭竈 享司（金沢大学ナノ生命科学研究所 特任助教）  
シミュレーションによる染色体の動態解明と実測との比較
- (7) 竹俣 直道（京都大学大学院工学研究科 助教）  
アーキアゲノムの分配機構と染色体工学への応用
- (8) 前田 和勲（九州工業大学大学院情報工学研究院 准教授）  
DNA配列のボトムアップ型自動設計技術の開発
- (9) 松田 充弘（EMBL (European Molecular Biology Laboratory) Barcelona 研究員)

生物種間で異なる時間スケールの原因解明と操作

(10) 松林 英明 (東北大学学際科学フロンティア研究所 助教)

潜在する生命のゲノムが創出する原始細胞骨格機能の具現化

(11) 山田 亮祐 (大阪公立大学大学院工学研究科 准教授)

有用物質生産を志向した機械学習支援ゲノムデザイン

## 2-3. 事後評価の実施時期

2023年10月5日(木曜日) 事後評価会開催

## 2-4. 評価者

### 研究総括

塩見 春彦 慶應義塾大学医学部 教授

### 領域アドバイザー

朝倉 陽子 味の素(株) R&B企画部 シニアマネージャー

石井 浩二郎 高知工科大学理工学群 教授

今井 由美子 医薬基盤・健康・栄養研究所感染症制御ワクチンプロジェクト プロジェクトリーダー

岩崎 信太郎 理化学研究所開拓研究本部 主任研究員

岡崎 寛 理化学研究所創薬・医療技術基盤プログラム プログラムディレクター

小比賀 聡 大阪大学大学院薬学研究科 教授

角谷 徹仁 東京大学大学院理学系研究科 教授／情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 教授

北島 智也 理化学研究所生命機能科学研究センター 副センター長・チームリーダー

黒川 顕 情報・システム研究機構国立遺伝学研究所 教授・副所長

菅野 純夫 千葉大学未来医療教育研究機構 特任教授

鈴木 勉 東京大学大学院工学系研究科 教授

二階堂 愛 東京医科歯科大学難治疾患研究所 教授

横川 隆司 京都大学大学院工学研究科 教授

### 外部評価者

該当なし

### 3. 総括総評

さがけ研究領域「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(ゲノム合成)」では、ゲノムの構造と機能に関する基本原理(ゲノムの動作原理)の解明とその知見に基づく細胞利用の基盤技術の創出を目指している。このため、ゲノムや細胞を人工的に合成し制御する新しい技術や設計理論の基盤を構築し、それを検証していく。つまり、「創って調べて制御する」ゲノム合成生物学をさまざまな見地から進めている。近年のゲノム解析研究は、タンパク質をコードする遺伝子の数は発生の複雑さに比例して増大するものではないことを明らかにした。また、多くのタンパク質のアミノ酸配列も種間でよく保存されていることから、種の違いはゲノムに存在する遺伝子の種類や数よりそれらの時空間的発現制御が重要であることが示されている。一方、染色体の数や大きさ、染色体上の遺伝子の配置は種間で大きく異なり、このことが種特異的な時空間的遺伝子発現制御を可能にしているとの仮説が提唱されている。しかし、従来の手法を用いている限り、大規模なゲノム改変や異種ゲノムの導入・起動を行い上記の仮説を検証し、ゲノムの動作原理を理解することは難しく、10kbp 程度以上の長鎖 DNA の人工合成・ハンドリング・細胞導入・人工細胞構築のための基盤技術とゲノムの設計ルール解明のための予測技術の開発が不可欠である。本領域ではそれらを可能にする野心的な提案を意識的に採択した。

特に第3期生において大きな進展が見られたものとして、ゲノムの構造と機能の解明に寄与する基礎研究が挙げられる。ゲノムの動作原理の理解を目的とする幾つかのテーマが進められ、マウス初期胚における染色体分配異常の原因解明(京極)、アーキアにおけるセントロメア領域の同定とその転写依存的な染色体分配モデルの提唱(竹俣)、タンデムリピート配列を相同組み換えから保護する細菌ゲノムの分子機構解明(石川)、また、柔らかく動いている染色体の3D-AFMを理論予測するシミュレーション手法の開発(炭竈)等、新しい重要な知見が得られた。さらに、エピゲノム制御に関しては、クロマチンリモデリング(越阪部)やヘテロクロマチン形成(白井)に重要な知見が得られた。これらの中には近い将来、教科書を書き換えると思われる発見が含まれる。

ゲノム設計に関しては、データベースやAI関連技術を駆使したゲノム配列の特徴抽出や機能発現制御を可能とする遺伝子回路設計とそれらを細胞へ応用する技術の開発(前田、山田)が挙げられる。また、ゲノムスケールのDNA合成とその細胞への導入技術の開発においては、非モデル生物(テントウムシ)へのノックイン法を最適化し染色体の逆位を誘発する手法(安藤)を確立した。人工細胞構築に関しては、光応答性タンパク質の操作により細胞運動のリボソーム再構成(松林)を実現した。さらに、生物種間の時間スケールの違いを生み出す仕組みの解明に挑戦し、体節時計の発現速度を決める要因についても興味深い課題(松田)が進められた。

これらの過程で、本領域および本領域とのハイブリッド領域であるCREST領域の研究者が独自に開発した各種ゲノム解析実験手法(ChIL-seq、scRepli-seq、人工染色体等)とゲノムデータ解析手法(対偶遺伝学、種分化解析法、代謝シミュレーション、遺伝子回路プラットフォーム等)が非常に強力なツールであることが領域内で広く認識され、共同研究を通して実用化が進められている。今後、大規模なゲノム改変や異種ゲノムの導入・起動につながる画期的な手法の開発のみならず、ゲノム動作原理の理解に大きく貢献する画期的な発見が期待される。また、共同研究を推奨した結果、本領域のさがけ研究者同士やCREST研究者との間で連携が多数生まれ大きな成果に結びついてきていることは期待以上である。コロナ禍下においても定期的に本領域のCREST・さがけ合同進捗報告会をオンラインで開催し、アドバイザーや総括のみならず研究者が互いに批評・助言することによって研究のレベルが向上し領域が活性化した。その結果、第3期生11名中3名(安藤、石川、京極)が研究期間中に異動・独立し、独自の研究分野をさらに切り拓ける立場に就いた。競争的研究費に関しても、1名(竹俣)がJST創発的研究支援事業を獲得し、継続的な資金獲得に繋がっている。また、6名(安藤、石川、京極、竹俣、前田、松林)が研究期間中に昇進した。このことは、本領域研究者の高い実力が認められたと同時に、本領域の質の高さを示すものであり、本領域が将来の主導的研究者の養成についても一定の役割を果たしたことを示す指標であると考ええる。全体に、新型コロナウイルス感染拡大のため研究の進捗が危ぶまれたが、個々の研究者の強いモチベーションにより研究が推進され、期待以上の成果が上がったと総括する。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 多細胞生物の進化に倣った染色体操作及び器官再構成法の開発

2. 個人研究者名

安藤 俊哉（京都大学白眉センター 特定准教授）

3. 事後評価結果

本研究では、ナミテントウの斑紋進化の鍵遺伝子 *pannier* の転写制御機構の解明を目指し、*pannier* の 100 kb スケールの染色体断片を他種・他系統の昆虫へ移植する技術の開発に取り組んでいる。single nucleus RNA-seq 法による *pannier* 上流制御因子の探索を進め、転写制御因子候補を見出した。さらに、候補因子が *pannier* 遺伝子座周辺の制御配列への直接の結合性を検証する方法として、さきがけ内共同研究として、高効率のエピトープタグノックイン技術と、さきがけ第2期生の原田哲仁博士らが開発した ChIL-seq 法とを組み合わせた実験系の構築など、必要な要素技術について計画通り基盤技術を確立している。技術的な困難さが大きい、オリジナルな考え方をもち、難しい課題にも正面から向き合い、最初の目的を見失わずに研究を進めているところは高く評価できる。本領域内の他の研究者とも積極的に交流しており、100 kb スケールの染色体断片を他種・他系統の昆虫へ移植する技術の開発に関しては、さきがけ第1期生の近藤周博士が樹立したショウジョウバエにおける BAC の効率的な挿入系を活用し、ナミテントウの 170 kb のイントロンを部分配列に分けて逐一挿入し、他種生物の翅へのテントウムシの模様を移植する計画を進めている。今後、これらの技術を最適化し、さらに積極的に新技術を導入し目標達成を目指す必要がある。

また、数百万年前に生じた *pannier* 遺伝子座での逆位の復元による生命進化を模倣した斑紋パターンの操作に関しては、CREST「ゲノム合成」領域の北野グループと密接に議論し、アイデアや解析手法を共有することで、染色体逆位が引き起こす表現型の進化・操作の分子基盤の解明を進めることが強く望まれる。ナミテントウという非モデル動物を用いた本研究は、ゲノムの構造変化が同種間での表現型の変化のみならず種分化の分子基盤の理解にも大きく貢献するものと期待される。

既に独立した研究チームを主宰しており、今後のさらなる活躍が楽しみである。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： リピート配列の相同組換えを保護する細菌ゲノムの分子基盤

2. 個人研究者名

石川 聖人（長浜バイオ大学バイオサイエンス学部 准教授）

3. 事後評価結果

本研究のねらいは、タンデムリピート配列を相同組換えから保護する細菌ゲノムの分子基盤を解明し、その知見に基づく新たなゲノム操作技術の基盤を構築することである。採択時の期待を上回る進展があった。具体的には、本研究では *ataA* 遺伝子の宿主細菌 (*Acinetobacter* sp. Tol 5) がリピート配列の相同組換えを抑制している分子基盤の解明を目指した。まず、*ataA* 遺伝子のリピート配列間で生じる相同組換えの頻度を測定する手法を確立し、*ataA* 遺伝子に存在するリピート配列の中で、相同組換えの起こりやすい箇所と起こりにくい箇所をナノポアシーケンシングにより特定した。さらに、それらには塩基修飾の違いがあることを発見した。また、アンチリコンビナーゼの候補として、*mutS* 遺伝子を同定した。*mutS* 欠損株の相同組換え頻度は異種細菌である大腸菌の値と同程度まで上昇したことから、DNA 修復酵素として知られる MutS が Tol 5 株ではアンチリコンビナーゼとしても機能することが示唆された。

領域内共同研究も積極的に進めており、CREST「ゲノム合成」領域の岩崎グループが CRISPR-Cas の対偶遺伝子として発見した DUF4402 の機能解析を進めている。さきがけ研究期間を通じて研究者自身も随分成長したとの印象を得た。提案書時点では解釈が偏っているのではと感じていたが、領域会議での発表のたびに、ゲノム反復配列の意味・重要性和その解析法を解りやすく伝えるよう工夫がなされ、発表技術が向上した。一つ一つの問題にきちんと誠実に向き合っており、今後の活躍が期待できる。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： エピゲノム確立の再構成による動作原理解明

2. 個人研究者名

越阪部 晃永（東京大学大学院理学系研究科 特任助教）

3. 事後評価結果

本研究のねらいは、試験管内および植物個体内でのエピゲノムの再構成を通してヒストンバリエーションとエピゲノム修飾間のクロストーク形成と、それに伴う遺伝子発現制御機構を明らかにし、エピゲノム的人為的操作技術の基盤形成につなげることである。トランスポゾン（転移因子）上のエピゲノム修飾やヒストンバリエーションの特異的な蓄積の仕組みとその帰結に関する研究を進め、本研究期間中に重要な知見を得た。

特に、シロイヌナズナを用いた分子遺伝学と生化学を用いた解析の結果、トランスポゾン上の抑制型エピゲノム修飾の維持に重要なクロマチンリモデリング因子 DDM1 (Decrease in DNA Methylation 1) がヒストンの特異的なバリエーション H2A.W をトランスポゾン上に運んでその発現を鎮静化することを明らかにした。また、領域内共同研究も積極的に進めた。ヒストンバリエーション獲得による新たなエピゲノム制御の動作原理を明らかにするために、ヒストンバリエーションおよびエピゲノム修飾を含むヌクレオソームを試験管内で再構成する実験では、特異的なエピゲノム修飾を含むヒストンの調製に必要なペプチドライゲーションをさががけ第2期生の林剛介博士との共同研究として行った。また、さががけ第1期生の岩川弘宙博士との共同研究としてシロイヌナズナ個体もしくは培養細胞から核抽出液を調整し、*in vitro* のエピゲノム修飾導入活性を見る系の構築を行った。最近、これらの成果として論文発表も準備しており、独立のポジションを得ることが期待される。

なお、精力的にいろいろな実験を進めているが、方向を定めて研究を進めることが重要な時期でもあると思われ、今後、特定の主題に焦点をあてて研究を進めていくことも期待したい。また、領域会議での発表も実施した研究を羅列しているとの印象を受ける。発表に工夫が求められる。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 顕微操作技術による初期胚の不安定なゲノムの分配システムの解明

2. 個人研究者名

京極 博久（神戸大学大学院農学研究科 助教）

3. 事後評価結果

哺乳類では、初期の胚発生過程において、ゲノムを維持するための染色体が不均等に分配される頻度が、他の分裂に比べ非常に高いことが知られている。本研究では、①初期胚における染色体分配異常の頻度のカタログを作成し、②初期の胚発生過程において染色体分配異常頻度が高い原因を究明するとともに、③不安定なゲノムを淘汰するメカニズムを解明することを目的とした。その結果、顕微操作とscRepli-seq、さらにライブセルイメージングを用いて、マウス初期胚の染色体分配異常頻度を正確に調べ、第3卵割において異常頻度が非常に高くそのほとんどは染色体の構造異常であること、異常の原因が4細胞期特有の複製様式による複製ストレスであることを明らかにした。さらに、約50%の8細胞期胚が正確なゲノムを持った細胞と不正確なゲノムを持った細胞が混ざった胚であるモザイク胚を形成することを見出し、一方でそれらの胚を胚移植すると産仔率は60～80%と高い値を示すことを明らかにした。この結果は、初期胚には染色体に異常のある割球(細胞)を淘汰する何らかのメカニズムが存在することを示唆する。ライブセルイメージングを用いて、異常を起こした細胞がどのような運命を辿るかを追跡した結果、異常を起こした細胞の運命は主に2つであり、1つ目は、異常な細胞は産仔になる内部細胞塊(ICM)ではなく胎盤になる栄養外胚葉(Trophoblast/TE)側に分化すること、2つ目は異常な細胞としてのチェックポイントが働き細胞死を起こすことを明らかにした。これらは教科書を書き換えると思われる重要な成果である。

本研究者は独自かつ高度なテクニックを駆使し、興味深い現象に対して精度の高いデータを出しており、明確な解釈を可能している。また、CREST「ゲノム合成」領域の平谷チームと密接な共同研究を進めており、分子レベルでの理解も深まっている。独立のポジションも獲得しており、論文も現在投稿中であることから、今後がとても楽しい課題である。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： ヘテロクロマチンの構築とその分子基盤

2. 個人研究者名

白井 温子（理化学研究所開拓研究本部 研究員）

3. 事後評価結果

本研究では、反復配列の挿入により染色体の任意の位置に異所的なヘテロクロマチン形成を誘導できる系を構築し、その系を用いることでヘテロクロマチン形成機構の解明を目指した。マウスとヒトのペリセントロメア配列の機能を比較検討することで、進化的に保存されたヘテロクロマチン形成機構を理解し、さらに、人工染色体が安定的に複製・分裂できる機構の理解に寄与することを目指した。その結果、ヒトのペリセントロメア配列（3.8 kbp）は、リポーター遺伝子の転写の方向性に関して順逆いずれの方向に挿入してもヘテロクロマチン形成を誘導しリポーターの発現を抑制したが、マウスペリセントロメア配列はごく短い反復配列（1.2 kbp）でヘテロクロマチン形成ができること、そしてその挿入方向によってはリポーター遺伝子の発現を抑制できない方向があることを明らかにした。また、ヒト細胞にマウスペリセントロメア配列（243bp のユニットからなる繰り返し配列）を挿入すると、その挿入する向きによってヘテロクロマチンが形成される程度に大きな差があることを見出した。この現象にはマウスペリセントロメア配列から転写されている非コード RNA（ncRNA）の影響が示唆された。そこで、本研究では挿入する向きによってヘテロクロマチン形成に違いが出る仕組みの解明を ncRNA に焦点を当て進めた。さらに、マウスペリセントロメア配列による抑制はペリセントロメア領域に作用する因子（SUV39H1/2）ではなく、レトロトランスポゾンに作用する因子（TASOR）が関与することを明確にした。

研究期間の前半では、ヒトとマウスのペリセントロメア配列の機能解析が混乱したが、マウスにフォーカスし始めて、一つの仕事にまとまっていく方向性が見えてきた。また、さきがけ第1期生の大関淳一郎博士との共同研究により、major satellite DNA を人工染色体に活用することで、安定して複製・分裂できる次世代の人工染色体の開発を進めている。今後の進展に期待したい。

領域会議における発表からその研究の面白さが伝わってこなかった時期があったが、発表は随分よくなった。一方、研究における主体性や独自性というものがまだまだ弱いとの印象を受ける。自分で研究を押し進めていく強い駆動力を示すことを期待する。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： シミュレーションによる染色体の動態解明と実測との比較

2. 個人研究者名

炭竈 享司（金沢大学ナノ生命科学研究所 特任助教）

3. 事後評価結果

染色体の動的な構造変化を解明するため、Hi-C 等の新規の実験手法や理論・シミュレーションのモデルが開発され続けているが、未だにマイクロメートル以下の構造の詳細は分かっていない。本研究では、①高分子モデルを用いたシミュレーションの新規モデルを開発し、②種々の実験との比較を行い、開発したモデルを検証することにより、より確からしい染色体モデルを構築することを目的とした。成果として、既存のコンデンシンとトポイソメラーゼ II、セントロメアを含む高分子モデルにコヒーシを加えたシミュレーションモデルを開発した。その結果、光学顕微鏡や原子間力顕微鏡（AFM）像により近い染色体構造が得られた。また、Hi-C からヘテロクロマチン・ユークロマチンを分類する直感的な新手法を開発した。その結果、ヘテロクロマチンよりもユークロマチンの方がコンタクトが多いという染色体構造の新たな知見を得た。従来よりも直感的で染色体の構造情報にも迫ることの出来る Hi-C からのヘテロクロマチン・ユークロマチンの分類法の開発は、今後の一層の発展が期待される。例えば、Hi-C に最適な制限酵素の探索も可能になりつつあり、CREST「ゲノム合成」領域の平谷グループとの共同研究に発展しつつある。さらに、モデルの開発は実験との比較による検証が不可欠であるため、3D-AFM 計測との比較を可能とする新たなシミュレーション手法の開発も行なった。この知見は実測に生かされ、その結果、染色体の 3D-AFM 計測が現実のものとなった。

一方、提案書の段階から進捗状況があまり変わっていないとの印象を受けた領域アドバイザーも多い。これは主に領域会議における発表の仕方に工夫が不十分であるからと思われる。今後、WPI 金沢大学ナノ生命科学研究所で多数の各種 AFM が使える環境を活用し、様々なアイデアの提案を行い、WPI 内のみならず本領域内の研究者と連携することで、さらに高解像度で染色体を見る技術・モデル開発を目指してもらいたい。論文は幾つか出ているが、染色体構造に関連しているものはまだ出ていないようである。今後の活躍を期待したい。

（2024年5月追記）

本研究者は研究期間中にライフイベントにより研究中断したため、2024年5月まで8週間の研究期間延長を行なった。この間、男性が育児休業を取得することへの理解がまだまだ浸透していないという現実を経験した。つまり、男性研究者は育児休業を取らないもの、取っても実際には育児に徹するものではないとの意識が色濃く残っていることを体感したようである。この経験を生かし、今後ぜひ研究者の育児休業取得をどう進めるかに関する提言に繋げられることを期待する。

研究に関しては、極めてユニークなクロマチン構造の解析手法を開発しており、論文の完成も最終段階に入っているようである。CREST「ゲノム合成」領域の平谷グループとの共同研究を進展させ、新しい研究分野を開拓することを期待している。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： アーキアゲノムの分配機構と染色体工学への応用

2. 個人研究者名

竹俣 直道（京都大学大学院工学研究科 助教）

3. 事後評価結果

アーキアは真核生物の起源となった原核生物であるだけでなく、高い極限環境耐性や独自の代謝系をもつことから、基礎・応用の両面において重要な微生物である。しかし、アーキアでは染色体分配の起点となるセントロメアが同定されておらず、染色体分配というゲノム機能の根幹部が未解明となっている。本研究では、超好熱性アーキア *Pyrobaculum calidifontis* においてセントロメアに似た高次構造を形成する領域を同定した。この領域（Secondary Diagonal Forming Region/SDFR）は約 15 kb の領域で、大きく折れ曲がっており、多くの細胞で転写依存的に極に局在することを明らかにした。さらに、「SDFR 領域にセントロメア配列が存在する」という仮説のもと、アーキアの染色体分配機構の解明とそれを応用したアーキア人工染色体の開発を目指した。

一方、SMC タンパク質は、真核生物において DNA ループを押し出すことで染色体ドメインの形成を引き起こすが、SMC タンパク質が原核生物において同様の機能を果たしているのかは十分に解明されていない。ゲノムの三次元構造を規定する原理の解明は、機能的なゲノムを人工的に設計する上で不可欠である。そこで本研究では、SMC 複合体がバクテリアとアーキアにおいて染色体ドメインの形成に関わるかを検証した。この研究は、さがけ第2期生の Andres Canela 博士およびさがけ第2期生の村山泰斗博士との領域内共同研究として実施し、染色体ドメインの形成に関して、バクテリアとアーキアの SMC 複合体では役割が大きく異なることを明らかにした。

本研究は、アーキアという比較的マイナーな生物を用いることでゲノム動態に関する予想外の研究成果が多数得られており、今後もさらに重要な発見が期待できる。本領域の代表的な成果事例である。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： DNA 配列のボトムアップ型自動設計技術の開発

2. 個人研究者名

前田 和勲（九州工業大学大学院情報工学研究院 准教授）

3. 事後評価結果

本研究では、遺伝子回路、すなわち細胞内の転写制御ネットワークによる情報処理システムを細胞に導入することで、将来的に適切な遺伝子を適切なタイミングで適切な量だけ発現させ、複雑な化合物を効率的に生産する DNA 配列のボトムアップ型自動設計技術の開発を行った。このためには、期待する生物機能を実現する遺伝子回路とそれに対応する DNA 配列を自動的に設計する計算技術の開発が不可欠である。遺伝子回路とそれに対応する DNA 配列の自動設計を実現するために、「遺伝子回路設計の自動化」、「塩基配列設計と DNA 構築プロセス設計の自動化」、「実験による検証」の 3 つの研究項目を実施した。

まず、遺伝子回路設計は混合整数最適化問題として定式化できるため、進化計算アルゴリズムのソフトウェアを開発した。さらに、整数最適化と実数値最適化に問題を分けることで、設計速度が向上し、不必要な DNA パーツを省いた最適な遺伝子回路を生成できるようになった。また、大規模言語モデルと機械学習を使い、遺伝子回路設計とシミュレーションを自動化できることを示した。次に、塩基配列設計と DNA 構築プロセスを自動化した。最後に、生物実験によって、遺伝子回路、塩基配列、DNA 構築プロセスの自動設計技術の有効性を確認した。

このように本研究では、遺伝子回路の設計から DNA 構築プロセスの設計まで自動化した。既存技術は、遺伝子回路設計あるいは塩基配列設計までしか支援していないため、DNA 構築プロセスまでカバーしている点は本研究の大きな成果である。特に、実際の生物実験において設計した遺伝子回路の検証を進めたことは評価できる。領域内共同研究も積極的に進めており、さきがけ第 2 期生の海津一成博士と増殖速度の予測及び実験自動化に関する共同研究を進め、また、さきがけ第 3 期生の山田亮祐博士とは、有用物質生産におけるデータ駆動アプローチとシミュレーション駆動アプローチの比較研究を進めている。今後のこれらの共同研究についての益々の進展にも期待したい。

領域会議における発表は当初と比べ改善が見られるが、より良いよりわかりやすい発表のためにさらなる工夫が求められる。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 生物種間で異なる時間スケールの原因解明と操作

2. 個人研究者名

松田 充弘 (EMBL (European Molecular Biology Laboratory) Barcelona 研究員)

3. 事後評価結果

本研究では、生物種間で異なる時間スケールの原因解明に、マウスとヒトの体節時計をモデルにして、①これらの時間の違いを生み出すメカニズムの解明、②体節時計周期の操作手法の開発、③マウスとヒトの2種への他の生物種のゲノムの導入、の3つの課題に取り組んだ。その成果として、ゲノムワイドにタンパク質分解速度の測定を行った結果、Hes7等の体節時計遺伝子だけにとどまらず幅広い遺伝子において種間の差を見出した。また、種間の違いの原因として代謝の違いがしばしば議論される。そこで、解糖系と電子伝達系の代謝阻害剤で細胞を処理したところ、両方の阻害剤処理で周期の延長で見られ、それぞれの阻害剤が特異的なターゲットを持つ、つまりスケーリング則に反する時間延長であるということを見出した。さらに、マウス (2 時間) とヒト (5 時間) に加えて、ウサギ (2.5 時間)・ウシ (4 時間)・サイ (4 時間)・マーモセット (6.5 時間) の体節時計の試験管内再現に成功した。この実験系を用いて体節時計周期はどのようにして違いを生じているかという点について解析し、mRNA 前駆体スプライシングとタンパク質分解がともに非常に強いスケーリング（ここでは体節時計周期が2倍になった時、スプライシング・タンパク質分解ともに2倍となる）を示すことを明らかにした。

このように、生物を理解するための根本的根源的な問いに挑戦しており、しかもそれをオリジナルな考え方を持って正面から向き合って研究を進めているという印象を受けた。これからはより解決困難な領域に進んでいくと思われるが、是非、一つ一つ乗り越えていってほしい。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 潜在する生命のゲノムが創出する原始細胞骨格機能の具現化

2. 個人研究者名

松林 英明（東北大学学際科学フロンティア研究所 助教）

3. 事後評価結果

本研究は、細胞骨格による細胞の変形や運動、細胞外分子の貪食といった動的な機能に焦点をあて、それらの機能をボトムアップに理解することで、真核生物が細胞骨格と細胞膜動態の機能を獲得するために必要な要素を同定することを目的とした。このため、アクチン細胞骨格の機能を人工細胞（リポソーム）内でボトムアップに再構成する手法の確立を試みた。また、未培養古細菌を含む非モデル生物の細胞骨格の発現系を構築することで、哺乳類よりも原始的な細胞骨格の機能解析を可能にする方法論の開発に取り組んだ。その結果、光応答性タンパク質を応用したタンパク質操作系を開発し、人工細胞内でのアクチン重合活性の光操作を実現した。また、精製因子のみを用いた再構成によって、細胞運動機能を再現するのに必要な最小因子の同定を行った。さらに、非モデル生物の細胞骨格の発現系構築では、コムギ胚芽系による古細菌型アクチンの無細胞合成を行い、可溶性と重合活性の評価と精製法を検討した。特筆すべき成果として、アクチン細胞骨格の機能を人工細胞の形で再構成するため、細胞サイズのリポソーム内において、タンパク質の膜局在化を光操作する実験系を構築し、細胞遊走で見られるような非対称なアクチンの局在化を実現した。これは、細胞骨格系のタンパク質の光操作によってリポソームの運動を誘導した世界初の結果である。これらの成果を国際学会においても招待講演として複数回発表しており、高い評価を受けていることがうかがえる。領域内共同研究として、CREST「ゲノム合成」領域の宮田チームと実験結果を共有し、アズガルド古細菌のアクチン重合活性に関する共同研究の開始に向けた議論を進めている。

一方、光操作によるリポソームの運動は期待していた（または、目指していた）より活発なものではない。光操作によりリポソームが変形するだけでなく、今後はさらにダイナミックな動きをリポソームに付与できるよう検討されることを期待したい。

## 研究課題別事後評価結果

1. 研究課題名： 有用物質生産を志向した機械学習支援ゲノムデザイン

2. 個人研究者名

山田 亮祐（大阪公立大学大学院工学研究科 准教授）

3. 事後評価結果

本研究では、主要代謝経路である *S. cerevisiae* の解糖系およびメバロン酸経路の遺伝子発現量を多様に変化させた酵母ライブラリーを作製し、それらの遺伝子発現量と細胞増殖能および物質生産能との関係性を評価し、得られたデータにより機械学習モデルを作製した。さらに、この機械学習モデルを用いて、解糖系経路生成物である D-乳酸および解糖系およびメバロン酸経路生成物である  $\beta$ -カロテンの生産に最適な遺伝子発現量を予測することを目指した。

このため、機械学習による解糖系デザインにおいて、まず様々な解糖系酵素遺伝子および *D-LDH* の発現量を有する酵母ライブラリーを用い遺伝子発現量と D-乳酸生産性を測定した。次に、遺伝子発現量を入力値、D-乳酸生産性を出力値とした機械学習モデルを構築した結果、高い精度で遺伝子発現量から D-乳酸生産性を予測することに成功した。メバロン酸経路のデザインにおいても同様の手法を用いることで、高い精度で遺伝子発現量から  $\beta$ -カロテン生産性を予測することに成功した。また、領域内共同研究として、本研究において得られた遺伝子発現量等に関するデータをさきがけ第3期生の前田和勲博士と共有し、機械学習と代謝シミュレーションを融合した新たな代謝制御技術開発に関する検討を進めている。

このように本研究は期待以上の成果が出ているが、この先どのような技術を持って臨むのか、明確な将来展望を示されることを期待したい。また、重要な成果を狭い研究領域の業界誌に発表するのではなく、一般誌に発表することで、より適正な評価を受けられることも期待する。領域会議における発表は当初と比べ改善が見られるが、より良いよりわかりやすい発表のためにさらなる工夫が求められる。