

2021 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	青木 航
研究機関名	京都大学
所属部署名	大学院農学研究科
役職名	助教
研究課題名	生命科学における還元的方法と構成的方法の統合による多様な生命現象の理解
研究実施期間	2021 年 4 月 1 日～2022 年 3 月 31 日

研究成果の概要

本申請の目的は、生命科学の二大方法論－還元と構成－のアドバンテージを統合した新規方法論「ボトムアップジェネティクス」の提唱と確立である。ボトムアップジェネティクスとは、「探索」と「再構成」を同時、かつ、仮説フリー・コンビナトリアル・ゲノムスケールに実行することで、任意の生命システムの必要十分条件となる因子のセットを迅速に決定可能とする新規方法論である。2021 年度の創発研究において、ボトムアップジェネティクスの実現に向けて主に以下の 3 つの進捗が得られた。

1. ボトムアップジェネティクスを実行するためには、ランダムに分配された 5~10 個程度の遺伝子をコードする大環状プラスミドライブラリの構築が必須である。そこで、酵母 *S. cerevisiae* を用いて、PCR で増幅した遺伝子ライブラリを、相同組み換えでひとつのプラスミドにアセンブリするための条件を検討した。現在までに、ランダムに選択された 5~10 個程度の遺伝子をプラスミドにアセンブリすることに成功している。
2. ボトムアップジェネティクスを任意の生物種に適用するためには、その生物の全遺伝子ライブラリが必要となる。そこで、全遺伝子を増幅するためのプライマーセットをオリゴレイ合成で取得し、ワンポット PCR で全遺伝子断片を増幅するための戦略を考案した。現在までに、最適なオリゴデザインアルゴリズムの検討、マルチプレックス PCR のために最適な酵素の選択が完了した。
3. 試験管内再構成を目指すターゲットとして、Ribosome 生合成を選択した。これまでに、新生 Ribosome の翻訳活性のみを特異的に検出可能なレポーターを構築した。また、ひとつの Ribosome の翻訳活性を検出可能なフェムトリットドロップレットアッセイを確立した。