

2022 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 大学院農学研究科
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	2022 年 4 月 1 日～2023 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。2022 年度の創発研究において、主に以下の 3 つの進捗が得られた。

1. 人工細胞を構築法の最適化：ボトムアップジェネティクスには、多量の人工細胞（リポソーム内部に PURE system を包含するもの）を簡便に構築する方法が必要である。そこで、人工細胞構築法を網羅的に最適化し、強い転写翻訳活性を持つ人工細胞を $10^7\sim 10^8$ のオーダーで簡便に構築する方法を確立した。
2. 大環状プラスミドライブラリ構築法の確立：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、①末端にデザイナー相同配列を持つ遺伝子断片をマルチプレックスに PCR 増幅する方法、②酵母 *S. cerevisiae* を用いて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方法、③そのプラスミドをさらに融合させて大環状プラスミドに変換する方法を開発した。それにより、ランダムに選択された 5~10 個程度の遺伝子を含むプラスミドライブラリを $10^6\sim 10^7$ のスケールで構築することに成功した。
3. Ribosome 生合成の試験管内再構成：試験管内で自律的生命を再構築することを目的とするボトムアップ合成生物学において、Ribosome 生合成を細胞外で起動することは最も重要な課題のひとつである。これまでに、試験管内で大腸菌 Ribosome 生合成を試験管内で起動することに世界で初めて成功した。さらに、出発物質となる Ribosome 遺伝子に変異を導入するだけで、さまざまな人工 Ribosome を試験管内で迅速に合成できた。