

2023 年度
創発的研究支援事業 年次報告書

研究担当者	塩見 美喜子
研究機関名	大阪大学
所属部署名	大学院工学研究科
役職名	教授
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	2023 年 4 月 1 日～2024 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。2023 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. 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、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方法論を開発した。さらに、プラスミドライブラリを一か所で切断し、Oxford nanopore sequencer でプラスミドの全長配列を決定して、各プラスミドに存在する遺伝子配列を in-house BLAST で同定するスキームを構築した。
2. 全遺伝子ライブラリを簡便に構築する方法の開発：任意の生物種の全遺伝子ライブラリを簡便に取得することは、ボトムアップジェネティクスにおいて重要である。そこで、ターゲット生物のゲノムにコードされる全遺伝子に対して、T7 プロモーター・RBS・各遺伝子の開始コドン直前の配列をコードするプライマーをアレイ合成し、ゲノム断片にアニールさせることで、全遺伝子をワンポットで増幅する方法論を開発した。
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。昨年度までに、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。本年度は、試験管内で合成されたリボソームは天然のリボソームとほぼ同等の RNA 修飾・タンパク質修飾・タンパク質組成・RNA 組成を持つことを明らかにした。