

## 染色体複製サイクル試験管内再構成系 (RCR) の高度化

分子レベルから細胞レベルの生物学  
およびその関連分野

研究者所属・職名 : 理学部・教授

ふりがな すえつぐ まさゆき

氏名 : 末次 正幸

主な採択課題 :

- [基盤研究\(B\)「染色体複製サイクル再構成系の高度化で探るゲノム機能」\(2020-2022\)](#)
- [基盤研究\(B\)「In vitro再構成されたゲノム自己複製システムのふるまいとその進化」\(2016-2019\)](#)
- [挑戦的萌芽研究「大腸菌染色体複製サイクル再構成による長大DNA増幅システムの開発」\(2014-2016\)](#)

分野 : 合成生物学

キーワード : DNA複製、染色体、試験管内再構成、ゲノム、自己複製

## 課題

### ●なぜこの研究をおこなったのか？

従来の生命科学は、細胞内の個別現象を分子レベルまで還元して記述するアプローチにより発展してきました。本研究の動機は、記述された情報を基に個別現象を試験管内で再構成する、さらには再構成されたサブシステムを融合していき生命そのものを試験管内に誕生させたい、というものです。特に生命の根幹的な現象である「自己複製と進化」に着目し、最初のステップである染色体複製サイクルの再構成にとりかかりました。そして、その成功を足がかりに、転写翻訳系なども融合し、自己複製系の再構成、さらにはその分子進化に取り組んでいます(図1)。

### ●研究するにあたっての苦労や工夫

染色体複製サイクル再構成系は26種類の精製タンパク質から構成される高度な系です。当初は候補タンパク質を混ぜ合わせても想定する反応が見られなかったりと苦労が多いものでした。実際に再構成できてみないと、反応のための必要十分条件が揃っているかも分からないリスクある研究です。個々の因子の濃度条件は組み合わせを考慮すると莫大になります。DNA分解酵素の混入なども問題となり、タンパク質精製条件も様々検討し、地道な試行錯誤の末、再構成に至りました。

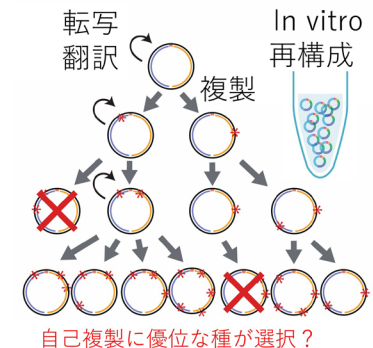


図1 環状DNA自己複製系とその進化、のイメージ図

## 染色体複製サイクル試験管内再構成系 (RCR) の高度化

分子レベルから細胞レベルの生物学およびその関連分野

### 研究成果

1. 構築した複製サイクル再構成系 (RCR) では、複製の開始・伸長・終結・分離のサイクルが30°Cで自律的に何度も繰り返し、環状DNA分子の指数増幅が達成される、ということが分かりました。
2. 新しいDNA増幅技術として革新的であり、①1分子DNAからの数十億倍の増幅、②細胞に匹敵する増幅正確性 ( $10^{-8}$  error/base/cycle) 、③100万塩基対の環状染色体まるごとの増幅、などの特性を持ちます。
3. 相同組み換えを再構成した多断片DNA連結法も開発し、これと組み合わせることで従来の大腸菌クローニングを代替するセルフクローニングを可能としました (OriCiro Genomics社を創業し、キット供給による技術普及) 。
4. 試験管内再構成系の優れた点は、様々な生化学反応 (あるいは再構成されたサブシステム) を融合していける点です。例えば、①ミスマッチ修復系を融合することでDNA増幅の正確性をさらに高めることに成功しました。また、②複製開始制御系を組み込むことで複製サイクルの進行を制御することも可能でした。さらに、③転写翻訳再構成系 (PURE System) との融合にも成功し、環状DNAにコードされた複製遺伝子の発現に依存して環状DNA自身の複製が導かれる、という自己複製系も実現しています。

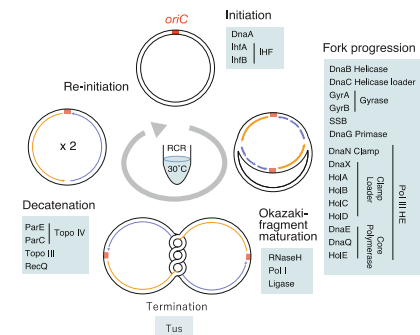


図2 複製サイクル再構成系 (RCR)

### 今後の展望

1. メガサイズの長鎖DNAを細胞の制約なしに増幅する技術は、デザインされたゲノムを人工合成し合成細胞を誕生させる研究に発展しています。すでに合成ウイルスや合成バクテリアあるいは、ヒト人工染色体などの分野で使われ始めています (図3: トップダウン・アプローチ) 。
2. 自己複製系におけるゲノム情報の進化のためには、情報分子と機能分子との対応付けが必要であり、膜による区画可、あるいは膜によらない区画構造の検討を進めています (図3: ボトムアップ・アプローチ) 。

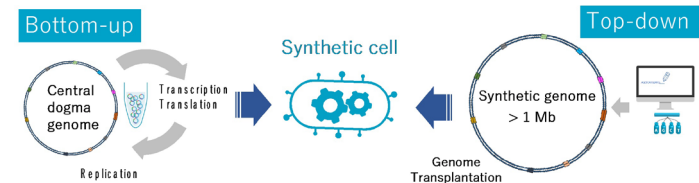


図3 自己複製して進化する人工細胞 (合成細胞) にむけたボトムアップ・アプローチとトップダウンアプローチ