

領域略称名：合成生物学
領域番号：4302

平成28年度科学研究費補助金「新学術領域研究
(研究領域提案型)」に係る事後評価報告書

「動的・多要素な生体分子ネットワークを理解
するための合成生物学の基盤構築」

(領域設定期間)

平成23年度～平成27年度

平成28年6月

領域代表者 (九州大学・農学研究院・教授・岡本 正宏)

目 次

1. 研究領域の目的及び概要	6
2. 研究領域の設定目的の達成度	8
3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況	11
4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況	12
5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）	14
6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）	17
7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況	22
8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む）	24
9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度	28
10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況	29
11. 総括班評価者による評価	30

研究組織 (総括：総括班, 計画：総括班以外の計画研究, 公募：公募研究)

研究項目	課題番号 研究課題名	研究期間	代表者氏名	所属機関 部局 職	構成員数
X00 総括	23119001 合成生物学の技術基盤構築	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	岡本 正宏	九州大学・農学研究院・教授	9
A01 計画	23119002 細胞応答制御のための人工 遺伝子回路の開発	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	花井 泰三	九州大学・農学研究院・准教授	4
A01 計画	23119003 人工遺伝子回路による人工 肝組織モデルの構築	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	田川 陽一	東京工業大学大学・院生命理工学 研究科・准教授	2
A01 計画	23119004 多要素からなる人工代謝経 路の構築	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	柘植 謙爾	慶應義塾大学・政策・メディア研 究科・特任講師	2
B01 計画	23119005 人工遺伝子回路の機能向上 のための進化分子工学によ る生体分子の改良	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	木賀 大介	東京工業大学・大学院総合理工学 研究科・准教授	3
B01 計画	23119006 人工遺伝子回路の機能評価 のためのマイクロ流体プラ ットフォームの開発	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	Yannick Rondelez	東京大学・生産技術研究所・特任 准教授	3
B01 計画	23119007 無細胞タンパク質合成系で 動作する人工遺伝子回路の 構築	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	陶山 明	東京大学・総合文化研究科・教授	2
C01 計画	23119008 数理モデルを用いた動的な 人工遺伝子回路の設計と解 析	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	山村 雅幸	東京工業大学・大学院総合理工学 研究科・教授	9
C01 計画	23119009 多要素人工遺伝子回路のデ ザインオートメーション	平成 23 年度 ～ 平成 27 年度	伊庭 斉志	東京大学大学院・情報理工学研究 科・教授	1
計画研究 計 9 件					
A01 公募	24119501 藻類ファージの生活史をま ねた多元代謝経路によるア ルカン高生産系の構築	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	鈴木 石根	筑波大学・生命環境系・教授	1

A01 公募	24119502 蛋白質間相互作用原理に基づく多数遺伝子の逐次的オン・オフ転写制御系の開発	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	朝井 計	埼玉大学・理工学研究科・准教授	2
A01 公募	24119503 配列特異的 DNA メチル化酵素によるエピゲノム工学: 合成生物学・ゲノム工学の拡張へ	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	古田 芳一	東京大学・新領域創成科学研究科・特任助教	4
B01 公募	24119504 無細胞膜タンパク質合成による脂質代謝系の再構築	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	車 愈澈	東京工業大学・地球生命研究所・WPI 研究員	2
A01 公募	24119505 膜電位操作回路による生体骨構築のための基盤研究ー光照射による骨リモデリング制御ー	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	納富 拓也	東京医科歯科大学・難治疾患研究所・特任講師	1
A01 公募	24119506 新規トランスジェニック細胞樹立の基盤技術確立と合成生物学への応用	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	野村 渉	東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・講師	1
A01 公募	24119507 細胞時計を模倣した周期的遺伝子発現システムの構築	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	今西 未来	京都大学・化学研究所・助教	1
C01 公募	24119508 人工代謝経路の設計基盤の構築	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	荒木 通啓	神戸大学・自然科学系先端融合研究環・特命准教授	1
C01 公募	24119509 大腸菌グリコーゲン機構をモデルとした転写・酵素・代謝物相互作用ネットワークの理解	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	松野 浩嗣	山口大学・理工学研究科・教授	3
B01 公募	24119510 真核系無細胞翻訳システムを利用した shunting 基盤人工リボスイッチの開発	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	小川 敦司	愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・准教授	1
B01 公募	24119511 人工細胞内の代謝を制御する膜輸送系の構築	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	野澤 彰	愛媛大学・プロテオサイエンスセンター・講師	2
A01 公募	24119512 機能モジュールライブラリ	平成 24 年度 ～	上平 正道	九州大学・大学院工学研究院・教授	2

	一から構築した環境応答型合成プロモーターシステムの開発	平成 25 年度			
A01 公募	24119513 枯草菌細胞内への細胞周期回路の人工合成	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	末次 正幸	立教大学・理学部・准教授	1
C01 公募	24119514 試験管内概日リズム同期現象のモデル化	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	伊藤 浩史	九州大学・芸術工学研究院・助教	2
A01 公募	24119515 翻訳システム改変による人工細胞創成	平成 24 年度 ～ 平成 25 年度	宮崎 健太郎	産業技術総合研究所・生物プロセス研究部門・研究グループ長	1
B01 公募	26119701 人工細胞開発のための機能的膜タンパク質試験管内合成システムの構築	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	西山 賢一	岩手大学・農学部・教授	3
C01 公募	26119702 人工的遺伝子回路の発現レベルの予測モデルの構築	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	イベウエン (應 蓓文)	筑波大学・生命環境系・准教授	2
A01 公募	26119703 哺乳類細胞での合成生物学を志向した次々世代型ジェネティックエンジニアリング技術	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	野村 涉	東京医科歯科大学・生体材料工学研究所・准教授	1
B01 公募	26119704 リン脂質代謝系を組み込んだ人工細胞の構築	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	車 愈澈	東京工業大学・地球生命研究所・特任准教授	1
B01 公募	26119705 DNA-タンパク質相互作用の光制御を利用した遺伝子回路への光分子スイッチの導入	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	清尾 康志	東京工業大学大学院・生命理工学研究科・准教授	1
C01 公募	26119706 肝臓構築過程における細胞間相互作用ネットワークの解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	塩尻 信義	静岡大学・理学部・教授	2
B01 公募	26119707 無細胞系ナノ構造化生物機能システムの開発	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	中野 秀雄	名古屋大学・大学院生命農学研究科・教授	6
A01 公募	26119708 遺伝子発現の光応答性人工トグルスイッチ回路の構築	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	磯村 彰宏	京都大学・ウイルス研究所・共同研究員	1

A01 公募	26119709 細胞時計同調の包括的理解 と人為的制御のための人工 入力系の構築	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	今西 未来	京都大学・化学研究所・助教、講 師	1
B01 公募	26119710 DNA 塩基置換酵素の“逆進 化”誘導による DNA を切 らないゲノム編集ツールの 開発	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	西田 敬二	神戸大学・自然科学系先端融合研 究環・特命准教授	1
C01 公募	26119711 人工代謝経路のスクープの 拡張	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	荒木 通啓	神戸大学・自然科学系先端融合研 究環・特命准教授	1
C01 公募	26119713 論理モデルによる構造探索 を併用した多要素人工遺伝 子回路の効率的設計方法の 開発	平成 26 年度～ 平成 27 年度	松野 浩嗣	山口大学・理工学研究科・教授	4
A01 公募	26119714 合成生物学的手法による環 境応答型プロモーターシス テムの開発と応用	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	上平 正道	九州大学・大学院工学研究院・教 授	2
C01 公募	26119715 画像情報学による合成生物 のダイナミクス解析	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	内田 誠一	九州大学・大学院システム情報科 学研究院・教授	1
C01 公募	26119716 ノイズが引き起こす確率的 挙動を考慮した生体分子ネ ットワークの実用的設計	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	倉田 博之	九州工業大学・大学院情報工学研 究院・教授	1
C01 公募	26119717 プロモーター配列の情報科 学的解体と再構成による遺 伝子回路の設計	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	矢田 哲士	九州工業大学・大学院情報工学研 究院・教授	3
C01 公募	26119719 ダイナミックモデルを用い た代謝システムの安定性の 解明	平成 26 年度 ～ 平成 27 年度	古澤 力	理化学研究所・生命システム研究 センター・チームリーダー	1
公募研究 計 32 件					

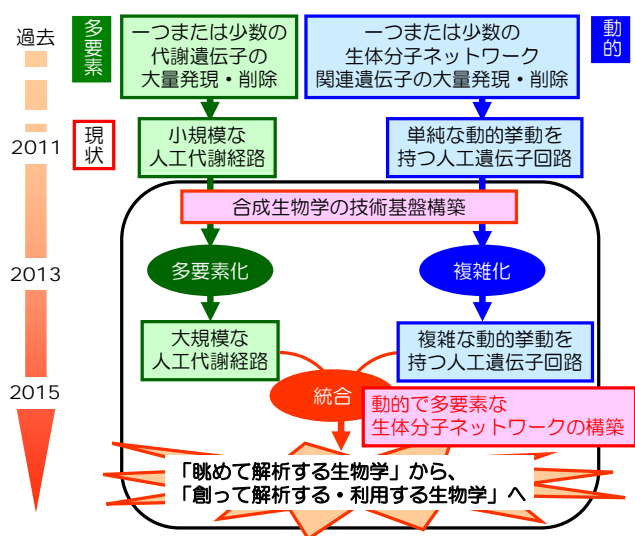
1. 研究領域の目的及び概要（2ページ以内）

研究領域の研究目的及び全体構想について、応募時に記述した内容を簡潔に記述してください。どのような点が「我が国の学術水準の向上・強化につながる研究領域」であるか、研究の学術的背景（応募領域の着想に至った経緯、応募時までの研究成果を進展させる場合にはその内容等）を中心に記述してください。

生体分子ネットワークを「眺めて解析する生物学」から、「創って解析する・利用する生物学」を目指し、2000年頃から米国で合成生物学という研究が行われている。「創って」と言っても「無から生物を創る」ことを指しているのではない。サイエンスの面では、同定済みの相互作用する生体分子を組み合わせた人工遺伝子回路を設計して、発振やスイッチなどの特定の細胞内現象を再現させようとする試みがなされている。また、応用面では、別の生物由来の酵素遺伝子を複数組み合わせた人工代謝経路を設計し、その生物が本来生産できない物質を大量生産させる試みが行われている。しかし、人工遺伝子回路や人工代謝経路は小規模であり、*trial and error* で構築されているのが現状であり、合成生物学を展開するための技術基盤は未だ確立されていない。もし、合成生物学研究が発展すれば、生体分子ネットワークに積極的に働きかけるような発振やスイッチなどの機能を持つ人工遺伝子回路を導入した細胞の応答を詳細に解析する研究、ES細胞、iPS細胞に様々な分化誘導因子を人工遺伝子回路で導入した分化系譜を探る研究、細胞のセンサータンパク質と組み合わせ外的環境に自ら適応して物質生産を行わせる細胞工場を実現する研究など、を通じて生物をより深く理解し、広く利用することが可能になると考えられる。

本領域では、生体分子ネットワークをより深く理解し、利用するために、①人工遺伝子回路や人工代謝経路の探索・設計を行う情報科学と、②無細胞系 (*in vitro*) で回路・経路構築を行う工学と、③細胞内 (*in vivo*) へ回路・経路を導入する分子生物学の技術を結集し、有機的に連携することで、世界に先駆けた合成生物学を展開するための技術基盤を構築する。

現在、我が国では、一つまたは少数の遺伝子改変による生体分子ネットワークの理解や物質生産の向上がなされているに過ぎない。米国においても、右図の「現状」のように、小規模な人工代謝経路や人工遺伝子回路が、*trial and error* で試みられているだけである。本領域では、まず、これら人工代謝経路を大規模化し、人工遺伝子回路同士を組み合わせることで複雑化を行う。次に、それら二つを統合することで、代謝と遺伝子発現を大規模かつ複雑に制御することが可能となり、合成生物学発展

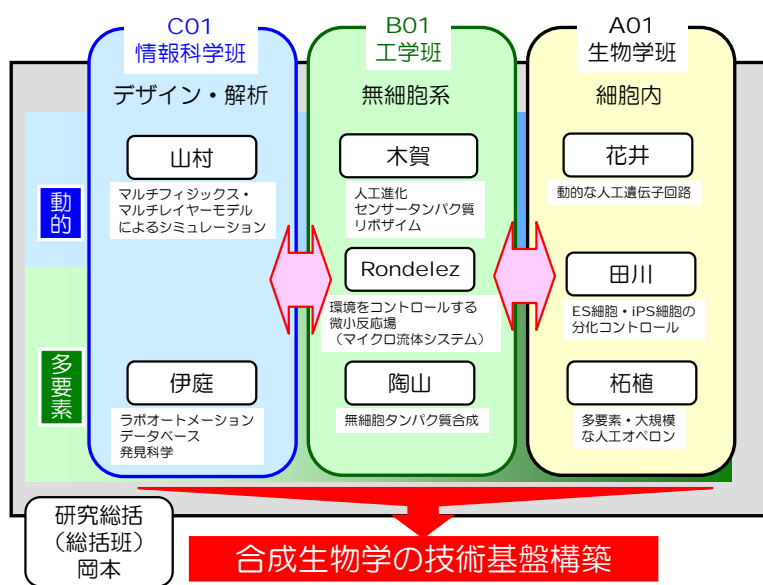


のための技術基盤が構築される。以上より、従来の「眺めて解析する生物学」から「創って解析する・利用する生物学」へのパラダイムシフトを狙う。

2000年頃から米国で、機能(スイッチ、発振など)を持つ人工遺伝子回路を設計し、細胞内に導入するといった技術が開発され、合成生物学と呼ばれる研究分野がスタートした。その後、米国では、微生物を用いたバイオアルコール生産などにその手法が導入され、グリーンバイオと相まって国家プロジェクトに発展している。一方、我が国では、合成生物学の研究は、本申請領域の計画研究の代表者 花井(Nature(2008))、柘植(Nature Methods(2008))、分担研究者 井上(Nature Chemical Biology(2010))の個別研究に頼っているのが現状である。しかし、米国の研究でも *trial and*

error で、①回路の探索、設計、②無細胞系での再構築、③細胞内への導入と環境変化に応じた制御といった一連の過程を繋げた合成生物学展開のための技術基盤は構築されていない。③の部分では、外部環境への応答を正確に知るために、細胞外の環境を精密にコントロールする必要があるが、本申請の計画研究代表者である **Rondelez** はこの分野で世界的業績(Nature(2005), Nature Biotechnology(2005))をあげている。このような状況下で、本申請領域の着想に至った。

代謝と遺伝子発現を大規模かつ複雑に制御するには、下図のように、動的な(時間的に変化する)人工遺伝子回路設計と多要素の回路設計のための要素技術が必要となる。また、人工遺伝子回路のデザイン・解析のためには情報科学、無細胞系(*in vitro*)では工学、細胞内(*in vivo*)では生物学に基礎を持つ要素技術が必要であり、これらの要素技術の結集が合成生物学の基盤構築には必要である。本領域では、まず、**動的な人工遺伝子回路、多要素・大規模な人工オペロンを構築する。次に、それを利用した、iPS、ES 細胞の分化誘導システムの構築を行い、生体分子ネットワークの理解への適用を試みる。その結果、合成生物学の技術基盤を構築する。**



計画研究は、A01 合成生物学の分子生物学的技術基盤、B01 合成生物学の工学的技術基盤、C01 合成生物学の情報科学的技術基盤の3つの研究項目からなり、これらに、合成生物学の技術基盤構築を行う総括班が加わり、全体を統括する。

A01 には、細胞応答制御のための人工遺伝子回路の開発を行う花井班(九大)と、ES 細胞、iPS 細胞に対して、様々な分化誘導因子を導入し、分化誘導システムを構築する田

川班(東工大)と、代謝経路をターゲットにして、多数のゲノムを再構築することで人工代謝経路を構築する柘植班(慶應大)の3つの計画研究がある。B01 には、デザインした人工遺伝子回路の無細胞での機能評価を網羅的・体系的に行う Rondelez 班(東大)と、無細胞で人工遺伝子回路が機能向上するためのタンパク質等の生体分子の改良を行う木賀班(東工大)と、無細胞タンパク質合成系で動作する人工遺伝子回路を構築する陶山班(東大)の3つの計画研究がある。さらに、C01 には、数理モデルを用いて人工遺伝子回路の設計と動的機能特性を調べる山村班(東工大)と、多要素(遺伝子とタンパク質等)が複雑に関係する人工遺伝子回路をデザインするための情報基盤システムの構築を行う伊庭班(東大)の2つの計画研究がある。研究の進め方としては、情報科学的技術を用いて、1)人工遺伝子回路探索とその動的特性解析、2)実験計画(人工遺伝子回路が機能発現するための遺伝子部品等の検索、およびその組み合わせ手法等)の提案を行い、次に、工学的技術を用いて、3)無細胞系で再構築した人工遺伝子回路の機能評価、4)機能向上のためのタンパク質等の生体分子の改良、5)無細胞タンパク質合成系での人工遺伝子回路の構築を行う。ここまでのステップで、細胞という複雑な反応場を考慮せずに、回路探索から回路再構築、機能評価を行うことができる。次に、3~5)までの知見を基に、6)比較的少数の要素から構成される人工遺伝子回路を細胞内に導入、7)多要素から構成される人工オペロンの開発により人工代謝経路を構築する。以上、1)~7)に示す対応で、合成生物学の技術基盤が構築できる。

2. 研究領域の設定目的の達成度（3 ページ以内）

研究期間内に何をどこまで明らかにしようとし、どの程度達成できたか、また、応募時に研究領域として設定した研究の対象に照らしての達成度合いについて、具体的に記述してください。必要に応じ、公募研究を含めた研究項目ごとの状況も記述してください。

●A01 計画研究（花井班：細胞応答制御のための人工遺伝子回路の開発）

本研究班の目的は、生体分子 10 要素以下の少数要素で構成され、望みの動的挙動を実現するための人工遺伝子回路を生体内 (*in vivo*) に構築することである。そのため、以下の研究を行った。

- ① 遺伝子トグルスイッチの応用研究：細胞内の重要な中間代謝物質であるアセチル CoA は、菌体増殖に重要な TCA サイクルの基質であると同時に、イソプロパノールなどの生産で利用される複数の酵素遺伝子から構成された合成代謝経路の基質としてなる場合が多い。このため、TCA サイクルへの炭素流束を遮断すれば、イソプロパノールの生産量は増えることになるが、菌体は増殖せず、結果として生産量は低くなってしまふ。このため、アセチル CoA から TCA サイクルに導入する際に必要となる酵素遺伝子 *gltA* を大腸菌のゲノムから削除し、誘導剤添加前はイソプロパノール生産合成代謝経路遺伝子群の発現を抑制すると同時に *gltA* を発現させ、誘導剤添加によって、発現制御が逆となるような遺伝子トグルスイッチを作成した。この回路では、アセチル CoA を経て TCA サイクルに流れる代謝物の流れ（代謝流束）を、誘導剤添加により、イソプロパノール生産合成代謝経路への代謝流束に転換することが可能となる（代謝トグルスイッチ株の開発）。この株では、誘導剤添加前は菌体が増殖し、誘導剤添加後は十分な細胞増殖後でも TCA サイクルで利用されてしまうアセチル CoA をイソプロパノール生産に利用できるため、イソプロパノール生産量が大きく異なる。その結果、イソプロパノール生産量はコントロール株の 3.7 倍、対グルコース収率は 3.1 倍まで向上した。このように、十分な菌体密度を担保しながら中央代謝経路の余剰な代謝流束を物質生産に転用するための代謝トグルスイッチ開発に成功した。
- ② センサータンパク質の改良：シアノバクテリア由来の 2 成分制御系を大腸菌内に再構成し、光波長に応答して遺伝子発現制御（緑色で ON、赤色で OFF）を行う大腸菌を構築した。さらに、シアノバクテリアの光波長センサータンパク質 CcaS と大腸菌の嫌気センサータンパク質 ArcB とのキメラ（ArcaS）を作成し、大腸菌の嫌気応答レギュロンの発現を光で制御できることを示した。
- ③ 自律制御物質生産微生物の構築：改良 Lux システムを遺伝子トグルスイッチの pLlacO1 制御系と置換することで、任意の菌体密度で自律的に代謝流束制御を行うイソプロパノール生産大腸菌の構築に成功した。この自律制御物質生産微生物は、培養開始時に添加する IPTG 濃度に依存して、イソプロパノール生産量が大きく変化した。最適な誘導剤濃度では、十分な菌体密度に到達したことを自ら感知し、細胞内代謝を増殖に適した状態から生産に適した状態に代謝流束を自律的に制御した。

●A01 計画研究（田川班：人工遺伝子回路による人工肝組織モデルの構築）

本研究班の目的は、分化誘導因子を時空間的に厳密に制御した支持細胞を作製し、ES 細胞や iPS 細胞を成熟肝細胞まで分化誘導するシステムを開発することで、個体の肝臓に匹敵する肝臓 *in vitro* モデルを構築し、遺伝子回路による合成生物学手法の意義を明確にすることを目的に研究を推進した。

- ① 分化誘導因子の時空間的制御手法の確立：ヒト ES・iPS 細胞を用いた肝細胞系譜細胞への分化誘導方法の検討をおこない、肝組織構築までのプロセスを明確にすることを試みた。その結果、比較的安定的に組織構築できる条件を見出した。また、肝臓形成における各段階での遺伝子発現解析のため、マウス肝臓を胎仔 (E18.5)、新生仔、4 週齢におけるステージで採取し、PCR アレイにより Signal Transduction Pathway の解析をおこない、基礎的データを得たが、時空間的制御手法の確立には至っておらず、現在、分化誘導因子の時空間的制御手法の最適化を継続して行っている。
- ② 内皮細胞の選定・樹立：分化誘導因子を時空間的に厳密に制御した支持細胞の樹立にあたり、内皮細胞の選定または樹立が必要不可欠である。そこで、SV40T 抗原温度感受性変異を作製し、発現ベクターに組み込んだ。個体本来の機能を維持した状態での細胞株樹立のため、この発現ベクターをマウス個体へハイドロダイナミクス法で直接導入し、マウス肝臓から非実質細胞画分を調製し、類洞内皮細胞や星細胞の採取・培養に成功した。また、幹細胞から成熟肝細胞へ分化したことを容易に判断するために、アルブミン発現に伴い赤色蛍光タンパク質を発現するベクターを構築し、実際に機能することを確認した。分化誘導因子の制御にあたり、未分化維持に重要な LIF と内胚葉分化に必要なアクチビンの発現ベクターを A01 上平班（公募班）との共同研究により作製し、分化誘導制御を検討した。また上平班とは、テトラサイクリン誘導プロモーターによる肝細胞関連転写因子発現ベクター導入肝細胞株を用い、肝機能発現における各遺伝子発現の変動の解析を試み、細胞レベルでの概日リズムの再現に成功した。最終段階の肝前駆細胞から肝細胞と胆管上皮細胞を分化誘導する系において、B01 Rondelez 班（計画班）との共同研究によりマイクロ流体デバイスで、各々の分化誘導因子を層流で流し分化誘導を試み、デバイスの最適化を進め分化誘導制御に成功しつつ

ある。哺乳類細胞系における合成生物学研究の方向性として、哺乳類では単一細胞ではなく細胞間クロストークによる組織形成が重要であることを示すことができた。

●A01 計画研究 (柘植班：多要素からなる人工代謝経路の構築)

本研究班の目的は、細胞中の代謝経路に代表される 10 個程度の多数の遺伝子が関与する複雑系において、各遺伝子の協調的な遺伝子発現調節により定常的な代謝経路を機能させることである。一連の遺伝子群を連結した人工オペロンをどのようにデザインすればよいかを、大腸菌が本来生産しないカロテノイド・アントシアニンといった色素性物質の代謝経路を具体例に取り上げて検証した。

① カロテノイド代謝経路：グルコースからカロテノイドまでの一連の 28 個の代謝経路遺伝子を連結した人工オペロンプラスミドを OGAB 法により構築し、対応する全遺伝子の欠損した大腸菌に導入すると、選択圧を全くかけることなく培養しても、高いカロテノイド生産性を示すことに成功した。また、これらの人工オペロンの遺伝子群を大腸菌から真核生物である出芽酵母に変更したものを作成し、大腸菌ではあるが酵母の一次代謝経路遺伝子によりカロテノイドを生産する株の構築に成功した。

② アントシアニン代謝経路：シロイヌナズナよりクローン化したアントシアニン合成遺伝子群をどのような比率で発現するかを *in vitro* の反応系により突き止め、この酵素量比で発現する人工オペロンを構築することで、アントシアニン生合成経路における中間代謝産物のナリンゲニンを添加した際に、**アントシアニンをコロニーが着色する程度に生産する大腸菌の構築に成功した**。この株に、チロシンもしくはフェニルアラニンからナリンゲニンまでの生合成までに関わる 9 遺伝子を連結したプラスミドを構築し、ナリンゲニン無添加で、通常の培地による培養によりアントシアニンの生産を試みたが、生産に至らなかった。

●B01 計画研究 (木賀班：人工遺伝子回路の機能向上のための進化分子工学による生体分子の改良)

本研究班の目的は、人工遺伝子回路に摂動を与えるプロモーターなどのツールを開発することであり、その手段として進化工学を構想した。

① 天然の RNA-蛋白質複合体(RNP)の改変：進化分子工学的手法により信号伝達経路の制御などに使える新しい RNP モジュール(独立した機能構造単位)を作成することに成功した。ヒト細胞表面に露出する特定の細胞表面レセプターへの RNP の特異的な結合法の開発に成功した。レセプターを形成するパーツであるタンパク質ユニットに三角形 RNP や新たに開発した四角形状 RNP を結合させ同ユニット間の距離を調節し、**信号伝達の ON/OFF を制御して、アポトーシスの誘導及びその阻害を三角形のサイズ変化に応じて定量的に行うことに成功した**。さらなる信号制御法として、L7Ae 蛋白質の末端残基を、円順列置換によって野生型蛋白質とは異なる残基とし、新たな末端箇所へ目的蛋白質を融合する事で、提示配向性を変化させる事や、別のタンパク質を提示させることに成功した。提示蛋白質の配向性を自在に調整する事で、より高度な機能性複合体のデザインが可能になる。

② RNA 編集反応の開発：高度な機能を有する RNA 酵素を基盤として、複数の RNA 酵素が協同して行なう RNA 編集反応を開発し、生体内で利用される RNA 編集反応に適用し、遺伝子回路ツールとして利用する。二種の RNA が並列的(シス)に及び交差的(トランス)編集される分子システムを細胞内と類似の環境で作動させることに成功した。人工遺伝子回路へのプロモーター強度の変更による生きた細胞集団への摂動が、情報科学や制御工学による数理モデル上での摂動と同等の結果を示すことを、C01 山村班(計画班)との共同研究で明らかにした。

●B01 計画研究 (Rondelez 班：人工遺伝子回路の機能評価のためのマイクロ流体プラットフォームの開発)

本研究班の目的は、デザインした人工的遺伝子回路や人工代謝経路の機能評価をハイスループットに行うためのマイクロ流体プラットフォームの開発である。開発するマイクロ流体プラットフォームとしては、(1)マイクロチャンバ系と(2)マイクロ液滴系との 2 種類の系と、これに加え、(3)他の多くの研究班の要望に応えるマイクロ流体プラットフォームを開発した。また、合成 DNA と 3 種類の酵素で構成される、*in vitro* 反応ネットワークに関する研究を展開し、**動的なふるまいを持つ *in vitro* 反応回路を構築**することを目指した。

① マイクロチャンバ系：ほぼ開発を完了しており、領域全体会議などを通じ、その技術を他の班に紹介することで領域内の潜在ニーズの開拓を図った。

② マイクロ液滴系：人工遺伝子回路や人工代謝経路の動作条件を網羅的に解析する際に必要とされる回路・経路の反応系における着目分子の濃度条件をハイスループット(約 1 万通りの異なる反応条件を一度)に探索しうるプラットフォームを開発した。この成果は、プラットフォームで得られる回路動作条件の実験結果を情報科学分班にフィードバックすることによりシミュレーションの精度を向

上するというサイクルの実現や、領域の多くの班で構築される人工遺伝子回路や人工代謝経路の動作条件探索を短時間化する。

- ③ マイクロ流体プラットフォーム：主に生物学班(A01)との共同研究を展開することで、他の班の要望に応えるマイクロ流体プラットフォーム開発を行った。具体的には A01 花井班（計画班）と、理論上想定した動的な入力を与えることができる人工遺伝子回路を導入した大腸菌の観察用デバイスや、A01 田川班（計画班）と、**肝前駆細胞分化制御用マイクロ流体デバイスを共同開発**した。 *In vitro* 反応ネットワークに関しては、双安定性回路(トグルスイッチ)や捕食-被捕食者関係の動的ふるまいを実現する *in vitro* 反応回路を構築した。

●B01 計画研究（陶山班：無細胞タンパク質合成系で動作する人工遺伝子回路の構築）

本研究班の目的は、試行錯誤的な構築ではなく、合理的な回路設計が可能な方法で多要素からなる人工遺伝子回路を構築し、細胞サイズの巨大一枚膜ベシクル（GUV）内の無細胞タンパク質合成系で動作させることである。GUVに人工遺伝子回路を封入することで、細胞より扱い易い方法で、内包分子の少数性、脂質二分子膜の表面効果、物質の膜透過など、試験管内には存在しないが細胞内には存在する重要な因子を、実験系に取り込むことができる。試験管内の無細胞タンパク質合成系では転写ユニットを6個もつ人工遺伝子回路の合理的構築と動作に成功したが、GUV内で動作に成功した回路は転写ユニットを2個しかもたない小さい回路である。合理的な構築原理を確認するには十分な大きさだが、多要素というにはまだサイズが小さいと考えられた。

●C01 計画研究（山村班：数理モデルを用いた動的な人工遺伝子回路の設計と解析）

本研究班の目的は、数理モデルを用いた動的な人工遺伝子回路の設計であり、5つのサブテーマに分けて研究を進めた。

- ① 基本素子の動的プロセスのモデル化：B01 木賀班（計画班）と連携して最も基本的な転写回路と細胞間通信を対象とし、非線形微分方程式と確率過程の2通りのモデル化手法を、分子数による揺らぎの大小によって使い分けた。ここで開発したモデル化技法は、ダイバーシティ・ジェネレータの設計・解析・実験に役立った。
- ② 複雑な機能を持った人工遺伝子回路のデザイン：当初計画の論理回路に替えて、与えられた振動パターンを実現する発振回路をベンチマーク題材とした。3遺伝子および4遺伝子による発振回路のネットワークトポロジーとパラメータの同時最適化に成功した。
- ③ 大規模な人工代謝経路システムの制御：大規模システムの構築に必要な基本素子の接続についての解析に焦点を絞った。直列接続では電気回路等と同様に高い入力インピーダンスと低い出力インピーダンスに留意する必要があることを示した。
- ④ 細胞群システムのデザインと制御：当初計画の多細胞生物の臓器に替えて、複数種からなる微生物マットを題材とした。2次元セル構造をベースにした予備的シミュレーションに成功した。
- ⑤ 共通モデリングベンチの開発：非線形微分方程式システム、確率過程システム、セル構造ダイナミックシステムなどの個別のモデル化手法は実装されたが、全体をまとめて共通システムとするレベルには至らなかった。

●C01 計画研究（伊庭班：多要素人工遺伝子回路のデザインオートメーション）

本計画班の目的は、進化計算を活用してデータベースに格納された遺伝子部品等の検索を行い、それらを組み合わせて人工遺伝子回路を自動設計する技術を開発することである。さらに、人工遺伝子回路を設計するための実験計画を立案する技術の構築を目指す。

- ① 環境変化に対して頑健な遺伝子回路モジュールの合成：A01 花井班（計画班）と共同で、双安定や発振器などの機能を持つ遺伝子制御ネットワークのトポロジーを進化計算に基づいて探索する手法を提案した。探索の結果得られたネットワークに含まれる遺伝子は比較的少なく、構造としてもシンプルとなった。モデル中に含まれる全てのパラメータをランダムに設定して発振確率を調べるモンテカルロ法を用いて、ネットワークの頑健性を既存の発振器と比較したところ、シンプルな構造にも拘わらずより高い確率で振動することが示された。
- ② データベース・フレームワークの開発：連携研究者の萩谷らは、MediaWikiをベースとして、合成生物学実験を計画・管理・運営し、実験結果を記録・検索するためのデータベース・フレームワークを開発した。とくに、P1 実験室の承認を受けて学術支援専門職員を雇用して、フレームワークを開発するためのケーススタディとして実際に合成生物学実験を遂行した。これまでに、AND Gateの追試とその改変、AND Gateに基づくdelay gateの作成、Riboregulatorの追試等の実験をケーススタディとして行った。これらの研究は他の実験班との緊密な研究協力がなければ達成できなかった。

3. 研究領域の研究推進時の問題点と当時の対応状況（1 ページ以内）

研究推進時に問題が生じた場合には、その問題点とそれを解決するために講じた対応策等について具体的に記述してください。また、組織変更を行った場合は、変更による効果についても記述してください。

A01 計画班（花井班）：人工遺伝子回路の開発を行ったが、望みの動作を行う人工遺伝子回路は構築できるものの、培地構成成分の物質濃度、誘導剤濃度が狭い範囲でのみ、動作可能であることがわかった。このため、これらの条件を決定するために、試行錯誤の実験で対応した。

A01 計画班（田川班）：幹細胞分化誘導時の各種分化誘導因子などのシミュレーションを実験系として完成することができなかった。細胞分化においては、単一細胞だけの応答ではなく、多細胞における細胞間相互作用もかかわっており、系がより複雑となるため高次の論理に迫る必要があり、単純なシミュレーションモデルとしての構築は不可能であった。そこで実験系で最適な条件設定を試み、細胞・臓器での各遺伝子発現解析をおこなうことで、各ステージでの現象をモデル化することを試みた。また、成熟化までの一連の分化を補助する系の構築を一度におこなうことは極めて難しく、初期ステップである、未分化維持と内胚分化の系を試みることで研究を推進し、また、テトラサイクリン誘導プロモーターによる肝機能制御についても研究をおこない目的の系の基礎的データを得た。本研究において組織変更はせず、領域内の共同研究により上記の研究を発展させた。

A01 計画班（柘植班）：人工オペロン内の遺伝子連結順序により、それらの遺伝子群により実行される代謝経路の機能性が大きく変化する現象（具体的には、解糖系の人工オペロン内の遺伝子連結順序の変更に伴う、大腸菌株の増殖速度の変化）について観察したが、柘植班のみではこの現象を解析することは困難で、かつ未実施の遺伝子連結順序に対してその機能性を予測することは不可能であった。C01 計画班（伊庭班）による機械学習による共同研究により、未実施のオペロン配列についても予測が可能となり、オペロンの動作原理が完全に解明したわけではないが、その一端を垣間見ることが可能となった。

B01 計画班（木賀班）：転写調節について、種々のパーツを準備することが、特定の目的に応じて最適な人工遺伝子回路を構築するために重要であることが、研究推進の過程で改めて浮き彫りになった。そこで、組織変更として、平成 26 年度より、遺伝子編集機能を持つ RNA 酵素に注目し、RNA 酵素の専門家である井川を分担者として加えた。井川による新たなパーツの開発は、進化分子工学の産物であるアプタマーを活用した試験管内人工遺伝子回路と組み合わせられることによる相乗効果を発揮した。また、人工遺伝子回路の動作を検出するために必須なレポーター遺伝子の付加が、人工遺伝子回路の反応ダイナミクスを変化させている、という現象に直面した。そのため、C01 計画班（山村班）との新たな共同研究を開始し、実験現象の理論的解明を行った。

B01 計画班（Rondelez 班）：中間評価での所見にて『共同研究を活発に行っているが、必須の共同研究を取捨選択する必要も考えられる』との指摘があったため、本研究班の人的資源について見直しを行い、中間評価後は、生物学(A01)班の中では花井班との共同研究(人工遺伝子回路導入大腸菌観察用マイクロ流体デバイスの開発)に専念するという対策を講じた

B01 計画班（陶山班）：人工遺伝子回路が複雑になるにつれて市販されている標準的な無細胞タンパク質合成系では反応効率が低下して問題となる場合が生じた。そこで、無細胞タンパク質合成系に詳しい B01 公募班(車班)の協力により問題を解決した。

C01 計画班（山村班）：領域立ち上げ時に理論系・実験系で領域内の研究者同士の意思疎通に困難があった。初年度に研究協力者の関根を講師として非線形微分方程式によるモデリングと確立シミュレーションの作法に関するセミナーを実施して、理論系の基礎知識の浸透に努めた。

C01 計画班（伊庭班）：当初、合成生物学において人工生体分子ネットワークを作り出す効率的な手法は確立されておらず、試行錯誤による研究開発が続いている状況であった。本計画研究ではいくつかの実験班との議論を通してウェット実験に重要な設計要素を見極めることができた。具体的には、環境変化に対して頑健な遺伝子回路モジュールを合成することが提案された。また、本計画研究で採用したポスドクや博士課程の学生をウェット実験班（B01 計画班（Rondelez 班））や海外のウェット研究（Harvard 大学）の実験ラボに派遣することにより、緊密な情報交換と助言を得ることができた。ウェット実験班との緊密な共同研究により、頑強な回路設計の方法を検討することが可能となり、信頼性のある進化的な設計手法を構築することにつながった。さらに実験班によるウェット実装を通じて提案するアルゴリズムの有効性を検証することが可能となった。

4. 審査結果の所見及び中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況（2ページ以内）

審査結果の所見及び中間評価において指摘を受けた事項があった場合には、当該コメント及びそれへの対応策等を記述してください。

＜審査結果の所見において指摘を受けた事項への対応状況＞

●『具体性のあるモデルが取り上げられている点が評価されるという意見がある一方、全体としてみるといくつかの単独研究の集合体にも見える』:

1) 細胞密度・栄養源・生産物を感知し、自ら制御を行い、物質を生産する『自律制御生産細胞』の構築、2) 多数（10以上）の遺伝子から構成される人工代謝経路を構築し、目的の物質を生産する『人工代謝経路を用いた多段階反応を必要とする目的物質の生産』、3) 分化誘導補助細胞が、分化状態を感知し、目的の細胞へ分化誘導する『自律制御分化補助細胞による分化誘導システム』の構築、を実現するために、A01（生物班）は、まず、B01（工学班）との連携を積極的に働きかけ、3つのA01計画研究とも、特に、B01のRondelez班の持つ微小流体工学技術（環境を正確にコントロールする実験技術）と装置・回路の開発を推し進めた。後半2年間に、実験データが蓄積した段階でC01（情報科学班）との連携を推進した。

●『無細胞系、細胞系と多岐にわたっており、本領域の成否は回路設計が鍵となり、理論通りにすすまないリスクがある』:

当初、合成生物学において人工生体分子ネットワークを作り出す効率的な手法は確立されておらず、試行錯誤による研究開発が続いている状況であった。本計画研究ではいくつかの実験班との議論をとおしてウェット実験に重要な設計要素を見極めることができた。具体的には、環境変化に対して頑健な遺伝子回路モジュールを合成することが提案された。そこで、C01（情報科学班）と共同で、進化計算を活用してデータベースに格納された遺伝子部品等の検索を行い、それらを組み合わせて人工遺伝子回路を自動設計する技術を開発した。また人工遺伝子回路を設計するための実験計画を立案する技術の構築を行った。これらの情報技術の有効性を合成生物学の分野で示したことは極めて重要である。さらに、本研究では合成生物学のデータを扱うために機械学習や深層学習などのAI手法を駆使した。

●『出口が明確でない』:

①人工遺伝子回路や人工代謝経路の探索・設計を行う情報科学と、②無細胞系(*in vitro*)で回路・経路構築を行う工学と、③細胞内(*in vivo*)へ回路・経路を導入する分子生物学の技術を結集し、有機的に連携することで、世界に先駆けた合成生物学を展開するための技術基盤を構築する、という目標をより具体化するテーマとして次の3つを設定した。1) 細胞密度・栄養源・生産物を感知し、自ら制御を行い、物質を生産する『自律制御生産細胞』の構築、2) 多数（10以上）の遺伝子から構成される人工代謝経路を構築し、目的の物質を生産する『人工代謝経路を用いた多段階反応を必要とする目的物質の生産』、3) 分化誘導補助細胞が、分化状態を感知し、目的の細胞へ分化誘導する『自律制御分化補助細胞による分化誘導システム』の構築。どの目標も、生物班のみでは達成できず、情報科学班(C01)、工学班(B01)との連携が必須であり、3つの目標のどれも達成できれば、世界初の画期的な成果となる。期間終了時までには、この3つの目標のうち、最初の2つは達成できた。

＜中間評価の所見等で指摘を受けた事項への対応状況＞

●『現状では従来の研究の延長線上にあるような個別研究の段階のものが多く、3分野間にどのような共通目標が設定され、何を具体的な到達目標にするのかが必ずしも明確でない』：

領域開始時より、3つの具体的共通目標（『自律制御生産細胞』、『人工代謝経路を用いた多段階反応を必要とする目的物質の生産』、『自律制御分化補助細胞による分化誘導システム』）を設定しており、連携体制も具体化しているが、前半2年間では、工学班との連携が主となって、情報科学班との連携が必ずしも順調とは言えなかった。しかし、実験データも前半2年間で蓄積してきたことから、数理モデリング、最適化、データベース化が進行し、3分野の共通目標を再確認し、時間軸を考慮したスケジューリングを行った。その結果、3つの目標のうち、『自律制御生産細胞』と『人工代謝経路を用いた多段階反応を必要とする目的物質の生産』は達成できた。

●『デバイスの構築、データ取得、理論からのフィードバックという3分野間の連携で、これまでにない成果が得られたという具体例を示すことが望まれる』：

理想形としては、情報科学の手法を用いて、目的とする機能を有する人工遺伝子回路の設計と最適化を行い、その結果を受けて、*in vitro* で検証し、最終的に *in vivo* への組み込みを行う。前半2年間は *in vitro* での回路作りと *in vivo* の安定したデータ取得に精力を傾けたが、後半は、そのデータを元に、特に、C01（情報科学班）との連携を強め、3分野連携体制（プラットフォーム）を構築した。

●『情報科学の公募研究の数が少ないことについては、本研究領域の目標及び重要性が十分に認識されていない可能性がある』：

特に、情報科学の公募申請件数が少ないことから、情報科学関連学会、細胞を創る会、及び、新学術領域研究「分子ロボティクス」を通じて、情報科学研究者への当領域参画の働きかけを行った。その結果、前半の C01（情報科学）の公募研究の採択が3件だったものが、後半では8件となった。

●『合成生物学が目指す出口が明確になるような成果を得るため、計画研究に加えて質が高く領域推進のために真に必要な公募研究を確保するとともに、評価対象を絞り、具体的な到達目標を設定した共同研究を推進するなどの工夫が望まれる』：

公募研究については、上述した3つの共通目標に関連する公募研究を組み入れるように計画した。その結果、計画研究班－計画研究班の共同研究 11件、計画研究班－公募研究班の共同研究 14件、公募研究班－公募研究班の共同研究 8件の合計33件の共同研究が行われた。

●『領域全体の研究の方向性を明確にし、領域内の融合研究を一層推進する必要がある』：

領域全体会議を通じて、3つの共通目標研究推進のために関連する公募研究を融合するように働きかけ、最終的には、計画研究班－計画研究班の共同研究 11件、計画研究班－公募研究班の共同研究 14件、公募研究班－公募研究班の共同研究 8件の合計33件の共同研究が行われた。

5. 主な研究成果（発明及び特許を含む）[研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理する]

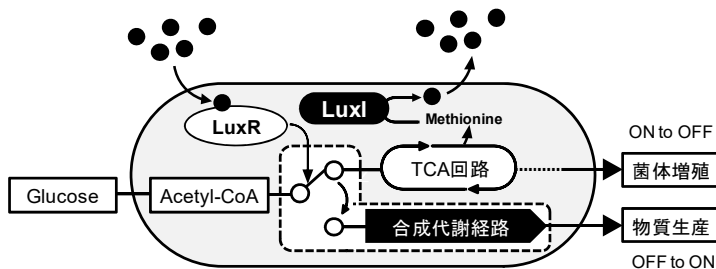
（3 ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果（発明及び特許を含む）について、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、図表などを用いて研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に整理し、具体的に記述してください。なお、領域内の共同研究等による研究成果についてはその旨を記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

領域で得られた代表的な研究結果である計画研究 4 件、公募研究 1 件の結果について、記述する。

A01 計画研究 花井泰三班

本計画研究班の研究目的は、生体分子 10 要素以下の少数要素で構成され、望みの動的挙動を実現するための人工遺伝子回路を生体内 (*in vivo*) に構築することである。そのため、菌体密度を感知し、自ら制御を行い、物質を生産する「自律制御物質生産微生物」(下図) の構築を試みた。

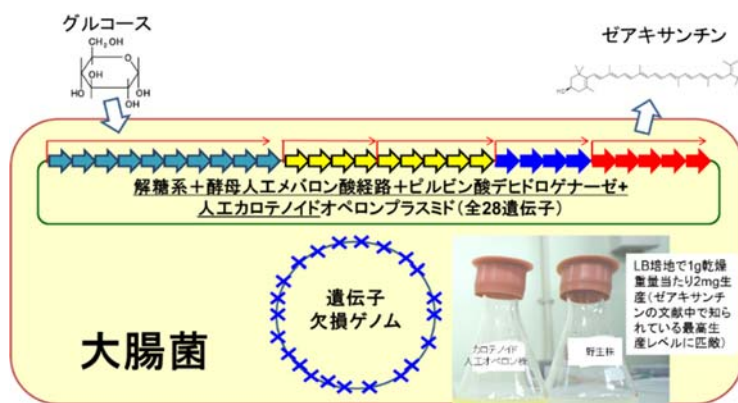


現在までに報告されている物質生産のための合成代謝経路は、解糖系末端の phosphoenolpyruvate、pyruvate、acetyl-CoA など を起点として構築されている場合が多い。これらの代謝物は、目的生産物の前駆体であるとともに、菌体増殖に重要な TCA 回路の直前に位置する中間代謝物でもあるため、目的の生産経路と菌体増殖が競合し、生産性の低下を招いている。目的生産物の生産性は、比生産速度と菌

体量に依存するため、生産性の向上には十分な菌体量を確保しながら、この競合関係を解消することが必要である。そこで、十分な菌体増殖の後には、TCA 回路への代謝流束を遮断し、目的生産経路への代謝流束を増強する代謝流束の転換を実現することが望ましいと考えた。そこで、acetyl-CoA を起点とした合成代謝経路として、大腸菌による isopropanol (IPA) 生産に着目し、IPA 生産大腸菌における TCA 回路への代謝流束制御に取り組んだ。まず、TCA 回路の初発反応を担う Citrate synthase (CS) の発現制御を目指し、その酵素遺伝子 *gltA* の発現制御のための人工遺伝子回路を構築した。この回路は、IPTG 添加によって PLLacO1 下流の *tetR* が発現すると、PLtetO1 下流の *gltA* の発現が抑制される。この回路と PLLacO1 下流に IPA 生産酵素群を導入した代謝トグルスイッチ(MTS)を作成したところ、IPA 生産量を 3.7 倍に向上させることに成功した。

Lux システムでは LuxI により合成される Acyl Homoserine Lactone (AHL) が菌体増殖と連動して培養液中に拡散し、これを LuxR が感知して複合体を形成し、Plux プロモータ下流の遺伝子発現を誘導する。MTS による表現型制御を最適な菌体密度で自律的に誘導するためには、Lux システムによって遺伝子発現が誘導される菌体密度を調整する必要がある。そこで Plux の両端に lacO 配列を導入することで AHL-LuxR 複合体との結合を LacI リプレッサーの立体障害で制限できる PluxlacO プロモータを構築し、IPTG 濃度に依存して遺伝子発現誘導が開始される菌体密度を調整可能な合成 Lux システムを構築した。合成 Lux システムを MTS と統合することで、**培養初期に添加する IPTG 濃度に依存して様々な菌体密度で自律的に制御を行う IPA 自律制御物質生産大腸菌を構築し、IPA 生産性を従来の 3 倍に改善することに成功した。**

A01 計画研究 柘植謙爾班



多要素のからなる人工代謝経路の構築例として、大腸菌が本来生産しないカロテノイドの一種であるゼアキサンチンの代謝経路について取り上げた。**グルコースからゼアキサンチンに至る一連の反応経路に必要な 28 個の酵素について、解糖系、メバロン酸経路、ピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体、カロテノイド合成経路と代謝経路ごとに分割して枯草菌の遺伝子集積法である OGAB 法により人工オペロンを構築した (左図)。**それぞれの人工オペロンの最適化については、まず、その遺伝子群を完全に欠損する大腸菌を構築し、この大腸菌に遺伝子の連結順序を変更した様々な人工オペロンを導入して、その増殖、あるいはゼアキサ

選択圧(抗生物質)を全く必要とせず培養するだけの低コストでカロテノイドを生産

一連の代謝経路を長鎖DNAでデザインすることが可能

ンチン生産量を評価することにより行った。特に各オペロンについては、大腸菌の遺伝子を用いて構築したものの構築と並行して、対応する出芽酵母由来の遺伝子構築したものも別途準備した。解糖系産物からイソペンテニル2リン酸 (IPP) までの経路は、大腸菌と酵母では、非メバロン酸経路とメバロン酸経路と異なるが、同一機能のオペロンとして取り扱った。個別に検討した人工オペロンを更に OGAB により連結することによりグルコースからゼアキサンチンまでの一連の代謝経路の人工オペロンプラスミドを構築した。このプラスミドを大腸菌に導入し、大腸菌ゲノム中に存在する、人工オペロン内の遺伝子とそのアイソザイム遺伝子 26 遺伝子を全て取り除いた。構築株は、大腸菌に必須な解糖系とピルビン酸合成、(非)メバロン酸経路の人工オペロンがプラスミド上にあり、逆に大腸菌ゲノム上には遺伝子がないので、プラスミドが脱落することがない。また、前ページの図のように、大腸菌遺伝子による人工オペロンと酵母遺伝子による人工オペロンを組み合わせた人工オペロンではゼアキサンチンの高生産を示し、本方法が、多数の遺伝子群からなる代謝経路の構築に有用であることを示した。

B01 計画研究 Yannick Rondelez班

人工遺伝子回路や人工代謝経路の動作条件を網羅的に解析する際に必要とされる回路・経路の反応系における着目分子の濃度条件をハイスループット(約 1 万通りの異なる反応条件を一度)に探索しうるマイクロ液滴系プラットフォームを開発した(A. Genot et al., Nat Chem, in press)。プラットフォーム内の交差する流路を用い、油相と水相を組み合わせることにより oil-in-water 型のマイクロ液滴を生成し、その液滴を反応容器として用いる(下図 a)。水相は、反応系における着目分子と着目分子の濃度表示(バーコード)用蛍光分子を含む溶液が入力となり、最大 3 入力(着目分子 3 種類)まで対応している(左図 a は P と Q の 2 種類)。入力側の圧力を制御することで様々な混合比を持つ液滴を生成可能である(左図 b)。ここでは、バーコード用蛍光分子(赤色・緑色)の蛍光強度により、着目分子 P と Q の濃度を見積もっている。バーコード用蛍光分子とは異なる色を持つ色素(青色・オレンジ色)由来の蛍光を観察することで、回路の反応状態をモニタリングする。本研究では、これを双安定性回路などの *in vitro* 反応ネットワークに適応し、それら回路の動作する濃度条件を網羅的に(1 万通りの異なる条件)解析することに成功した。本プラットフォームを用いることで、左図 c に示すような回路動作条件の分岐図を迅速(実験数は 1 回)に取得できる。本成果は、回路動作条件の実験結果を情報科学分班にフィードバックすることで反応回路のシミュレーションの精度を向上するというサイクルの実現や、領域の多班で構築される人工遺伝子回路や人工代謝経路の動作条件探索に要する時間を大幅に短縮しうる成果であり、本研究領域全体のための実験技術基盤を構築できたと言える。また本技術は、合成生物学分野にとどまらず、広く化学反応・生化学反応ネットワークの濃度条件探索に応用できるもので、その波及効果は大きいと考えられる。

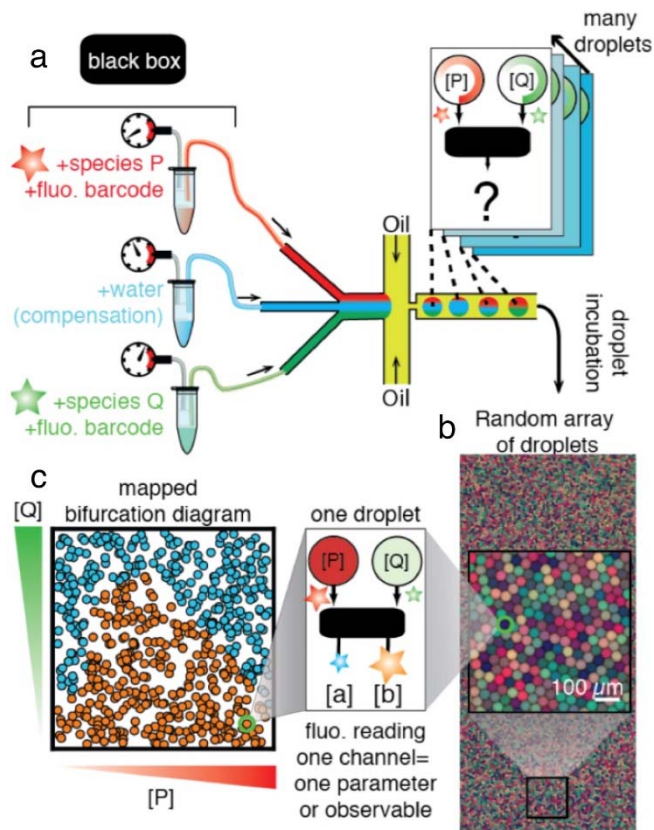


図 回路動作条件を網羅的に解析するマイクロ液滴系プラットフォーム

C01 計画研究 伊庭斉志班

本研究計画では、B01 Rondelez 班(計画班)と共同して、DNA ツールボックスを基にした遺伝子ネットワークの進化的合成手法 ERNe を構築した。DNA ツールボックスは、任意の遺伝子ネットワークをつないで構成できる DNA ベースの触媒活性化、または抑制化反応の遺伝子セットである。ERNe は ANN (人工ニューラルネットワーク) と化学反応ネットワークの類似性に着目した方法であり、実際的な生化学システムの探索に成功している。具体的には、倒立振子(振り子を逆立ちさせた不安定な構造物)の制御や AND/NAND/OR などの単純な論理回路の合成に成功した。さらに、より困難な探索問題として、特定の機能(サイン波、方形、鋸歯状の振動)を実現する遺伝子回路の進化的合成を試みた。

さらに花井班との共同研究では、数種類の発振回路を進化的に探索し、ウェット上での実装実験を行っ

て有効性を検証する作業を行った。そのために、遺伝子回路のネットワーク構造と反応速度式のモデルでのパラメータ値を、二段階に分けて最適化する手法を提案した。また、ウェット実験での実現可能性を見据えて、この最適化において遺伝子ネットワークの発振特性だけでなくその頑強性も評価した。具体的には、最適化したパラメータ値に変動を加えたときの遺伝子ネットワークの出力を評価することで頑強性を調べた。提案手法による探索では、パラメータ変動に対してより頑強な遺伝子回路を発見することに成功した(下図)。

また、柘植班との共同研究により、人工解糖系オペロンの構築のための機械学習 (G5.0、ランダム・フォレスト、クラシファイア・システム、マルチレイヤー・パーセプションの合議制) による最適化を試みた。より詳細には、解糖系遺伝子のうちの10個を取り上げ、それらの順序による大腸菌の増殖速度を機械学習によって解析し、増殖速度の大きいオペロンを自動構築することに成功した。

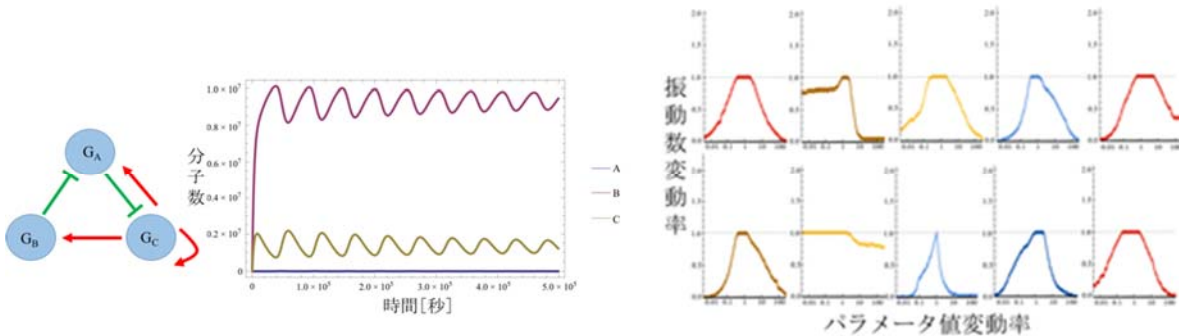
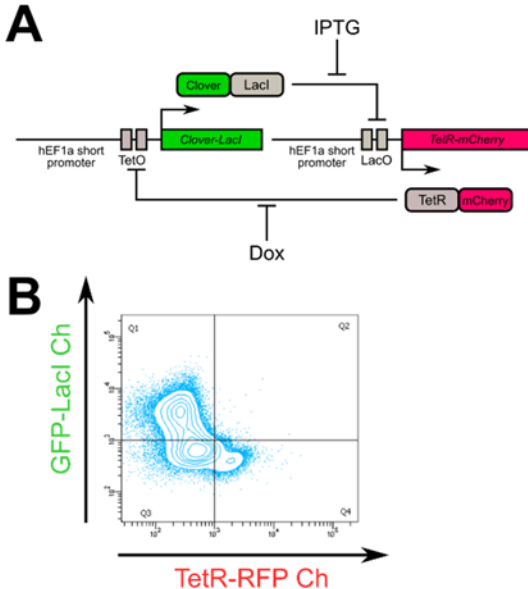


図 二段階目で最適化されたネットワーク構造と最適化されたネットワークの出力(左)二段階目で最適化されたネットワークの、パラメータ値変動率と振動数変動率のグラフ(右)横軸の”1”は元のパラメータ値を、縦軸の”1”は元の振動数を表す。パラメータ値変動率に関わらず振動数変動率の値が一定であればネットワークの頑強性が高い。

A01 公募研究 磯村彰宏班

本公募研究班では、哺乳動物由来の幹細胞を含む培養細胞において、光刺激に応答可能で可逆的な相互抑制型トグルスイッチを構成する研究を行った。この目的のために、トグルスイッチ回路人工遺伝子回路のプラスミドベクターの構築及び細胞株の樹立に取り組んだ。



いくつかの先行研究において、哺乳動物細胞で動作するトグルスイッチ回路が報告されている。しかし、それらはエピジェネティックな修飾ドメイン(KRAB)による抑制効果を利用している。一方で、KRABドメインが非可逆に遺伝子座をサイレンシングすることが複数例報告されており、既存のトグルスイッチ回路は可逆的に動作しない可能性が考えられた。そこで、まずはエピジェネティックな修飾因子を使わない、幹細胞で動作可能なプロモータをベースとした新奇な転写抑制モジュールの開発に取り組んだ。具体的には、ES細胞や神経幹細胞で動作が確認されているヒトEFプロモータにTetオペレータ配列またはLacオペレータ配列を融合させた人工プロモータを作製した。その結果、それぞれについてTetRまたはLacI転写因子による人工プロモータの抑制効果が確認できた。

そこで、これらを用いて相互抑制型の回路を構築し(左図A)、回路が染色体上に組み込まれた安定発現株を樹立した。予備的な結果として、薬剤(IPTG及びDox)を投与してスイッチ状態をリセットした後に、薬剤を除去することによって再びスイッチ

状態を有効化したところ、上図Bに示すようなTetR-RFP陽性な細胞集団とLacI-GFP陽性な細胞集団が得られた。この結果は、構築したトグルスイッチ回路が双安定状態を実現できることを示唆している。現在、さらなる細胞選別によって目的の挙動を示す細胞を純化すると同時に、光応答性回路を付加する作業に取り組んでいる。

6. 研究成果の取りまとめ及び公表の状況（主な論文等一覧、ホームページ、公開発表等）（5ページ以内）

本研究課題（公募研究を含む）により得られた研究成果の公表の状況（主な論文、書籍、ホームページ、主催シンポジウム等の状況）について具体的に記述してください。記述に当たっては、本研究課題により得られたものに厳に限ることとします。

- 論文の場合、新しいものから順に発表年次をさかのぼり、研究項目ごとに計画研究・公募研究の順に記載し、研究発表者には二重下線、研究分担者には一重下線、連携研究者には点線の下線を付し、corresponding author には左に*印を付してください。
- 別添の「(2) 発表論文」の融合研究論文として整理した論文については、冒頭に◎を付してください。
- 補助条件に定められたとおり、本研究課題に係り交付を受けて行った研究の成果であることを表示したもの（論文等の場合は謝辞に課題番号を含め記載したもの）について記載したものについては、冒頭に▲を付してください（前項と重複する場合は、「◎▲・・・」と記載してください。）。
- 一般向けのアウトリーチ活動を行った場合はその内容についても記述してください。

X00 総括 岡本正宏班

▲A. Komori, Y. Maki, I. Ono, M. Okamoto: Investing noise tolerance in an efficient engine for inferring biological regulatory networks, *J. Bioinform. Comput. Biol.*, 13(3), 1541006 (2015).

▲A. Komori, Y. Maki, I. Ono, M. Okamoto: How to infer the interactive large scale regulatory network in 'omic' studies, *Procedia Computer Science* 23, 44-52 (2013).

▲A. Komori, Y. Maki, M. Nakatsui, I. Ono, M. Okamoto: Efficient numerical optimization algorithm based on new real-coded genetic algorithm, AREX+JGG, and application to the inverse problem in systems biology, *Appl. Math*, 3, 1463-1470 (2012).

A01 計画研究 花井泰三班

▲Y. Sugie, M. Hori, S. Oka, H. Ohtsuka, *H. Aiba: Reconstruction of a chromatic response system in *Escherichia coli*. *J. Gen. Appl. Microbiol.* doi:10.2323/jgam.2016.01.006, (2016) in press

▲K. Tsuruno, H. Honjo, *T. Hanai: Enhancement of 3-hydroxypropionic acid production from glycerol by using a metabolic toggle switch. *Microb Cell Fact.* 14(1):155. doi: 10.1186/s12934-015-0342-1, (2015).

▲Y. Soma, *T. Hanai: Self-induced Metabolic State Switching by a Tunable Cell Density Sensor for Microbial Isopropanol Production, *Metabolic Engineering*, doi:10.1016/j.ymben.2015.04.005, (2015).

▲H. Honjo, K. Tsuruno, T. Tatsuke, M. Sato, *T. Hanai: Dual synthetic pathway for 3-hydroxypropionic acid production in engineered *Escherichia coli*, *J. Biosci. Bioeng.* doi:10.1016/j.jbiosc.2014.12.023, (2015).

▲Y. Soma, K. Tsuruno, A. Yokota, T. *T. Hanai: Metabolic flux redirection from a central metabolic pathway toward a synthetic pathway using a metabolic toggle switch, *Metabolic Engineering*, 23, 175-184 (2014).

A01 計画研究 田川陽一班

◎▲S. Yagi, Y. Tagawa, *N. Shiojiri: Transdifferentiation of mouse visceral yolk sac cells into parietal yolk sac cells *in vitro*, *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 470, 4, 917-923 (2016).

◎▲S. Ahn, M. Tamai, K. Nakashima, M. Ito, T. Suzuki, *Y. Tagawa: An *in vitro* liver model consisting of endothelial vascular networks surrounded by human hepatoma cell lines allows for improved hepatitis B virus replication, *J. Biosci. Bioeng.*, 118, 1, 107-111 (2014).

◎▲H. Aikawa, M. Tamai, K. Mitamura, F. Itmainati, G. Barber, and *Y. Tagawa: Innate immunity in an *in vitro* murine blastocyst model using embryonic and trophoblast stem cells, *J. Biosci. Bioeng.*, 117, 3, 358-365 (2014).

◎▲Y. Shang, M. Tamai, R. Ishii, N. Nagaoka, Y. Yoshida, M. Ogasawara, J. Yang, and *Y. Tagawa: A hybrid sponge comprised of galactosylated chitosan and hyaluronic acid mediates the co-culture of

hepatocytes and endothelial cells, J. Biosci. Bioeng. 117, 1, 99-106 (2014).

◎▲M. Miyanokoshi, T. Tanaka, M. Tamai, *Y. Tagawa, K. Wakasugi: Expression of the rodent-specific alternative splice variant of tryptophanyl-tRNA synthetase in murine tissues and cells, Sci. Rep. 3, 3477, (2013).

A01 計画研究 柘植謙爾班

*柘植謙爾、板谷光泰 第二世代OGAB法が可能にした50個以上のDNA断片集積 バイオサイエンスとイノベーション 73, 471-475 (2015).

*柘植謙爾、板谷光泰 枯草菌を用いた遺伝子集積法のOGAB法による長鎖DNA合成 日本生物工学会誌 93, 527-529 (2015).

▲* K. Tsuge, Y. Sato, Y. Kobayashi, M. Gondo, M. Hasebe, T. Togashi, M. Tomita, and M. Itaya: Method of preparing an equimolar DNA mixture for one-step DNA assembly of over 50 fragments. Scientific Reports 5, 10655 (2015).

*M. Itaya, S. Kaneko, K. Tsuge: Chapter 4 Effect and Accurate production of de novo designed large-sized gene clusters by a novel Bacillus subtilis-based system. In , Microbial Production, (Eds) Hideharu Anazawa and Sakayu Shimizu. Springer (2014).

A01 公募研究 古田芳一班

◎▲Y. Furuta, H. Namba-Fukuyo, T.F. Shibata, T. Nishiyama, S. Shigenobu, Y. Suzuki, S. Sugano, M. Hasebe, *I. Kobayashi: Methylome diversification through changes in DNA methyltransferase sequence specificity. PLoS Genet, 10(4):e1004272 (2014).

▲K. Yahara, Y. Furuta, K. Oshima, M. Yoshida, T. Azuma, M. Hattori, I. Uchiyama, *I. Kobayashi: Chromosome painting *in silico* in a bacterial species reveals fine population structure, Mol. Biol. Evol, 30, 1454-1464 (2013).

A01 公募研究 納富拓也班

▲*T. Notomi, M. Kuno, A. Hiyama, Y. Ezura, M. Honma, T. Ishizuka, K. Ohura, H. Yawo, M. Noda: Membrane depolarization regulates intracellular RANKL transport in non-excitable osteoblasts. Bone, 81: 1: 306-14, (2015).

▲*T. Notomi, M. Kuno, A. Hiyama, K. Ohura, M. Noda, T. M. Skerry: Zinc-induced effects on osteoclastogenesis involves activation of hyperpolarization-activated cyclic nucleotide modulated channels via changes in membrane potential. J Bone Miner Res, 30: 9: 1618-26, (2015).

A01 公募研究 野村渉班

▲*野村 渉: 人工酵素によるゲノム編集工学とその応用, 可能性, Yakugaku Zasshi, 135, 405-414 (2015).

N. Ohashi, W. Nomura, N. Minato, H. Tamamura: Screening for Protein Kinase C Ligands Using Fluorescence Resonance Energy Transfer, Chem. Pharm. Bull., 62, 1019-1025 (2014).

A01 公募研究 今西未来班

▲M. Tsuji, S. Futaki, *M. Imanishi: Creating a TALE protein with unbiased 5'-T binding, Biochem. Biophys. Res. Commun, 441, 262-265 (2013).

A01 公募研究 上平正道班

▲A. Ono, A. Ito, T. Suzuki, M. Yamaguchi, Y. Kawabe, *M. Kamihira: DNA damage-responsive transgene expression mediated by the p53 promoter with transcriptional amplification, *J. Biosci. Bioeng.*, 120, 4, 463-466 (2015).

▲M. Yamaguchi, A. Ito, A. Ono, Y. Kawabe, *M. Kamihira: Heat-inducible gene expression system by applying alternating magnetic field to magnetic nanoparticles, *ACS Synth. Biol.*, 3, 5, 273-279 (2014).

A01 公募研究 宮崎健太郎班

▲M. Tsukuda, *K. Miyazaki: Directed evolution study unveiling key sequence factors that affect translation efficiency in *Escherichia coli*. *Journal of bioscience and bioengineering*, 116, 5, 540-545 (2013).

▲K. Kitahara, Y. Yasutake, *K. Miyazaki: Mutational robustness of 16S ribosomal RNA, shown by experimental horizontal gene transfer in *Escherichia coli*, *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.*, 109, 19220-19225 (2012).

B01 計画研究 木賀大介班

▲T. Tanaka, S. Matsumura, H. Furuta, *Y. Ikawa: Tecto-GIRz: engineered group I ribozymes the catalytic ability of which can be controlled by self-dimerization., *ChemBioChem* (2016).

▲M. Ito, H. Sugiura, S. Ayukawa, D. Kiga, *M. Takinoue: A bacterial continuous culture system based on a microfluidic droplet open reactor, *Analytical Sciences*, 32, 61-66 (2016).

▲S. Inuzuka, S. Matsumura, *Y. Ikawa: Optimization of RNA-based c-di-GMP fluorescent sensors through tuning their structural modules, *Journal of Bioscience Bioengineering* (2016).

▲S. Inuzuka, K. Nishimura, H. Kakizawa, Y. Fujita, H. Furuta, S. Matsumura, and *Y. Ikawa: Mutational analysis of structural elements in a class-I cyclic di-GMP riboswitch to elucidate its regulatory mechanism, *J. Biochem* (2016).

▲S. J. Ohuchi, F. Sagawa, H. Ohono, *T. Inoue: A purification method for a molecular complex in which a scaffold molecule is fully loaded with heterogeneous molecules, *PLoS ONE*, 10, e0120576 (2015).

B01 計画研究 Yannick Rondelez班

▲A.J. Genot, A. Baccouche, R. Sieskind, N. Aubert-Kato, N. Bredeche, J.F. Bartolo, V. Taly, T. Fujii, *Y. Rondelez: High-resolution mapping of bifurcations in nonlinear biochemical circuits, *Nat. Chem.*, in press.

S. Zadorin, Y. Rondelez, J-C. Galas,* A. Estevez-Torres: Synthesis of Programmable Reaction-Diffusion Fronts Using DNA Catalyzers, *Phys. Rev. Lett.*, 114, 068301 (2015).

H. van Roekel, L. Meijer; S. Masroor, G. Zandra, A. Estévez-Torres, Y. Rondelez, A. Zagaris, M. Peletier, P. Hilbers, *T. de Greef: Automated Design of Programmable Enzyme-Driven DNA Circuits. *ACS Synthetic Biology*, DOI: 10.1021/sb500300d (2014).

©N. Aubert, T. Fujii, M. Hagiya, *Y. Rondelez: Computer Assisted Design for Scaling Up Systems based on DNA Reaction Networks, *J. R. Soc. Interface*, 11 20131167 (2014).

©D. Q. Huy, N. Aubert, N. Noman, T. Fujii, Y. Rondelez, *H. Iba: An Effective Method for Evolving Reaction Network in Synthetic Biochemical Systems, IEEE Transaction on Evolutionary Computations, doi 10.1109/TEVC.2014.2326863 (2014).

B01 計画研究 陶山明班

◎▲K. Shohda, K. Takahashi, and *A. Suyama: A method of gentle hydration to prepare oil-free giant unilamellar vesicles that can confine enzymatic reactions. Biochem. Biophys. Reports, 3, 76-82 (2015).

◎▲Anton Kan, Yoko Sakai, Koh-ichiroh Shohda, and *Akira Suyama: A DNA based molecular logic gate capable of a variety of logical operations, Nat. Comput., 13, 573-581 (2014).

B01 公募研究 車兪徹班

▲*Yutetsu Kuruma, Takuya Ueda: The PURE system for the cell-free synthesis of membrane proteins, Nature Protocols, 10, 1328-1344 (2015).

▲Hideaki Matsubayashi, Yutetsu Kuruma, and *Takuya Ueda, *In vitro* synthesis of the E. coli Sec Translocon from DNA, Angew. Chem. Int. Ed., 53, 7535-7538 (2014).

B01 公募研究 小川敦司班

▲*A. Ogawa: Engineering of Ribosomal Shunt-Modulating Eukaryotic ON Riboswitches by Using a Cell-Free Translation System, Methods Enzymol, 550, 109-128 (2015).

◎▲Y. Nakahira, A. Ogawa, H. Asano, T. Oyama, Y. Tozawa: Theophylline-dependent Riboswitch as a Novel Genetic Tool for Strict Regulation of Protein Expression in Cyanobacterium *Synechococcus elongatus* PCC 7942, Plant Cell Physiol, 54, 1724-1735 (2013).

B01 公募研究 清尾康志班

▲M. Tokugawa, Y. Masaki, C. J. Canggadibrata, K. Kaneko, T. Shiozawa, T. Kanamori, M. Grötli, L. M. Wilhelmsson, M. Sekne, *Kohji Seio: 7-(Benzofuran-2-yl)-7-deazadeoxyguanosine as a fluorescence turn-ON probe for single-strand DNA binding protein, Chem. Commun., 52, 3809-3812 (2016).

B01 公募研究 中野秀雄班

▲B. Zhu, T. Mizoguchi, T. Kojima, *H. Nakano: Ultra-High-Throughput Screening of an *in vitro* Synthesized Horseradish Peroxidase Displayed on Microbeads Using Cell Sorter. PLoS One 10, e0127479, (2015).

C01 計画研究 山村雅幸班

◎S. Akama, M. Yamamura, and *T. Kigawa: A Multiphysics Model of *in vitro* Transcription Coupling Enzymatic Reaction and Precipitation Formation, Biophysical Journal, 102, 221-230 (2012).

S. Akama, M. Yamamura, *T. Kigawa: Multi-Objective Robust Optimization for *in vitro* RNA Synthesis, The Sixth IASTED International Conference on Computational Intelligence and Bioinformatics (CBI 2011), 74-80 (2011).

◎▲R. Sekine, M. Yamamura, S. Ayukawa, K. Ishimatsu, S. Akama, M. Takinoue, M. Hagiya, and *D. Kiga: Tunable synthetic phenotypic diversification on Waddington's landscape through autonomous signaling, Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A, 108, 17969-17973 (2011).

C01 計画研究 伊庭斉志班

- ▲Y. Penga, Y. Hasegawa, N.Noman, *H.Iba: Temperature compensation via cooperative stability in protein degradation, *Physica A*, vol.431, pp.109-123 (2015)
- ▲*N. Noman, T. Monjo, P. Moscato, H.Iba: Evolving Robust Gene Regulatory Networks, *PLoS One*. 2015 Jan 23;10(1):e0116258. doi 10.1371/journal.pone.0116258. eCollection (2015).
- ▲Q.H. Dinh, N.Aubert, N. Noman, T. Fujii, Y. Rondelez, *H. Iba : An Effective Method for Evolving Reaction Networks in Synthetic Biochemical Systems, *IEEE Transactions on Evolutionary Computation*, DOI:10.1109/TEVC.2014.2326863 (2015).
- ▲Q.H. Dinh, N. Noman, *H. Iba: Oscillatory synthetic biological system construction using interactive evolutionary computations, *Journal of Computer Science* 10 (12), 2640-2652 (2014).

C01 公募研究 荒木通啓班

- ◎▲*M. Araki, R.S. Cox III, H. Makiguchi, T. Ogawa, T. Taniguchi, K. Miyaoku, M. Nakatsui, KY. Hara, *A. Kondo: M-path: A Compass for Navigating Potential Metabolic Pathways, *Bioinformatics*, 31(6) 905-911 (2015).

C01 公募研究 松野浩嗣班

- ▲*M. Sugii, M. Kubota, H. Matsuno: Computational models for the design of artificial genetic circuits of RS- and JK-flipflops, *The 31st International Technical Conference on Circuits/Systems, Computers and Communications (ITC-CSCC2016)*, accepted.

C01 公募研究 應蓓文班

- ▲BW Ying, T Honda, S Tsuru, S Seno, H Matsuda, Y Kazuta & *T.Yomo: Evolutionary consequence of a trade-off between growth and maintenance along with ribosomal damages. *PLOS ONE* 10: 0135639 (2015).

C01 公募研究 塩尻信義班

- ◎▲S. Yagi, Y. Tagawa and *N. Shiojiri: Transdifferentiation of mouse visceral yolk sac cells into parietal yolk sac cells *in vitro*. *Biochem. Biophys. Res. Comm.*, 470, 917-923 (2016).

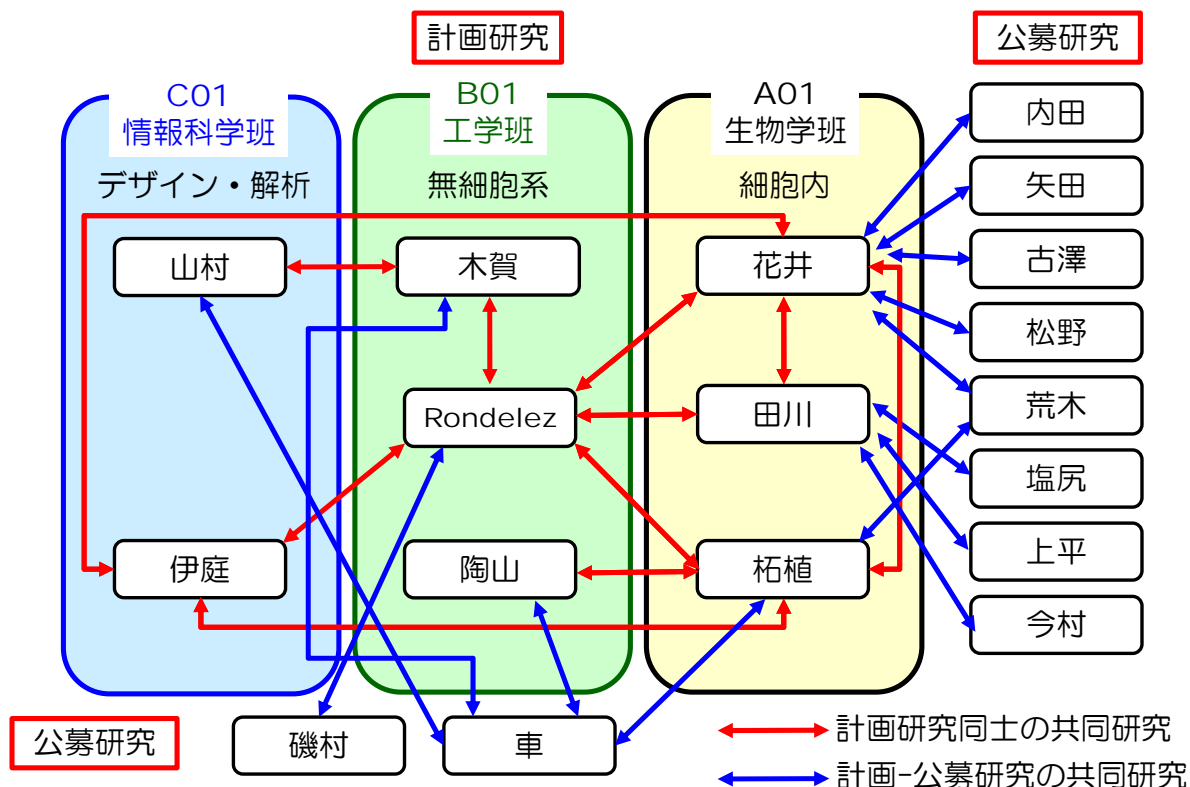
C01 公募研究 古澤力班

- ▲K. Kaneko, C. Furusawa, and T. Yomo: Universal relationship in gene-expression changes for cells in steady-growth state, *Phys. Rev. X*, 5, 011014 (2015)
- ▲C. Furusawa and K. Kaneko: Global relationships in fluctuation and response in adaptive evolution, *Jour. Roy. Soc. Inter.*, 12, 109, 20150482 (2015)

7. 研究組織（公募研究を含む。）と各研究項目の連携状況（2 ページ以内）

領域内の計画研究及び公募研究を含んだ研究組織と領域において設定している各研究項目との関係を記述し、総括班研究課題の活動状況も含め、どのように研究組織間の連携や計画研究と公募研究の調和を図ってきたか、組織図や図表などを用いて具体的かつ明確に記述してください。

研究領域の連携状況



領域内の連携によって、上図に示すように、**計画研究班－計画研究班の共同研究 11 件、計画研究班－公募研究班の共同研究 14 件、公募研究班－公募研究班の共同研究 8 件の合計 33 件の共同研究が行われた。**なお、公募研究班－公募研究班の共同研究は上図には示していない。具体的な共同研究内容は、下記の通りである。

A01 計画研究 花井班が主体的に行った共同研究

- B01 計画研究 Rondelez 班 遺伝子発現発振人工遺伝子回路測定用マイクロ流体リアクターの開発
- C01 計画研究 伊庭班 ロバストな実験条件で動作する遺伝子発現発振人工遺伝子回路自動設計
- C01 公募研究 内田班 遺伝子発現発振人工遺伝子回路の測定データに関する画像解析
- C01 公募研究 荒木班 合成代謝経路の自動設計

A01 計画研究 田川班が主体的に行った共同研究

- A01 計画研究 花井班 分化誘導因子発現制御ベクターの設計と開発
- C01 計画研究 Rondelez 班 分化制御用マイクロ流体リアクターの開発
- A01 公募研究 上平班 分化誘導因子発現制御ベクターの設計と開発
- C01 公募研究 塩尻班 肝臓発生時細胞相互ネットワークに関するマイクロアレイデータ解析

A01 計画研究 柘植班が主体的に行った共同研究

- A01 計画研究 花井班 代謝トグルスイッチによる人工オペロンの制御
- B01 計画研究 陶山班 アントシアニンオペロンのジャイアントベシクル内での発現解析
- B01 計画研究 Rondelez 班 アントシアニンオペロン *in vitro* 反応における NADPH/NAD⁺ の測定
- C01 計画研究 伊庭班 人工解糖系オペロンの自動設計
- B01 公募研究 車班 人工解糖系オペロンの無細胞翻訳系での遺伝子発現解析

C01 公募研究 荒木班 合成代謝経路の自動設計

B01 計画研究 木賀班が主体的に行った共同研究

C01 計画研究 山村班 人工遺伝子回路の動作シミュレーション

B01 計画研究 Rondelez 班が主体的に行った共同研究

B01 計画研究 木賀班 高反応効率ニッカーゼの *in vitro* 反応と PCR を用いた進化工学手法の開発

C01 計画研究 伊庭班 *in vitro* 反応ネットワークの *in silico* 進化に関する研究

B01 計画研究 陶山班が主体的に行った共同研究

B01 公募研究 車班 ジャイアントベシクル内の人工遺伝子回路へのベシクル外からの制御

A01 公募研究 野村班が主体的に行った共同研究

B01 公募研究 西田班 化学刺激により誘導可能なゲノム塩基変換技術の開発

C01 公募研究 荒木班 哺乳細胞での網羅的代謝パスウェイ解析の実証

A01 公募研究 今村班が主体的に行った共同研究

A01 計画研究 田川班 概日時計をリセットする人工転写因子の開発

C01 計画研究 伊藤班 概日時計のシミュレーション

A01 公募研究 磯村班が主体的に行った共同研究

A01 計画研究 Rondelez 班 光応答培養細胞のハイスループット解析用マイクロ流体リアクター

C01 公募研究 古澤班 トグルスイッチ回路のシミュレーション

B01 公募研究 車班が主体的に行った共同研究

B01 計画研究 木賀班 リポソーム膜上におけるバクテリアロドプシンの無細胞合成と評価

C01 計画研究 山村班 リポソーム膜上におけるバクテリアロドプシンの無細胞合成と評価

B01 公募研究 西山班 リン脂質合成代謝系酵素 CdsA の無細胞合成と MPIase 合成活性評価

B01 公募研究 小川班が主体的に行った共同研究

B01 公募研究 野澤班 シアノバクテリアで機能する人工リボスイッチの開発

B01 公募研究 西田班が主体的に行った共同研究

C01 公募研究 荒木班 ゲノム編集技術による変異導入集団の非特異変異導入の解析

C01 公募研究 松野班が主体的に行った共同研究

A01 計画研究 花井班 3つの遺伝子発現に対するトグルスイッチの開発

C01 公募研究 矢田班 3つの遺伝子発現に対するトグルスイッチのプロモーター設計

C01 公募研究 矢田班が主体的に行った共同研究

A01 計画研究 花井班 $\sigma 36$ および $\sigma 70$ の両方で活性化されるプロモーターの設計

C01 公募研究 古澤班が主体的に行った共同研究

A01 計画研究 花井班 イソプロパノール耐性大腸菌の取得

8. 研究経費の使用状況（設備の有効活用、研究費の効果的使用を含む。）（1 ページ以内）

領域研究を行う上で設備等（研究領域内で共有する設備・装置の購入・開発・運用・実験資料・資材の提供など）の活用状況や研究費の効果的使用について記述してください（総括班における設備共用等への取組の状況を含む。）。

●計画研究

B01 木賀班

班内共同研究について、アプタザイムの活性確認を木賀研で、この活性を活かしたグループ I イントロンの活性化を井川研で行った際に、**アプタザイムを作成するための DNA サンプルについて研究資材の提供を行った。**

B01 Rondelez 班

主要な物品(50 万円以上のもの)に関しては、研究開始次(平成 24 年度まで)に導入を完了し、研究期間を通して運用した。平成 24 年度に購入した計算機 (MacPRO GTO、設置場所：東京大学生産技術研究所) に関しては、C01 伊庭班 (計画班) との共同研究である *in vitro* 反応ネットワークの *in silico* 進化に関する研究で使用、伊庭班の研究者と共用した。

B01 陶山班

本計画研究を実施するにあたり、A01 柘植班 (計画班) から、解糖系人工遺伝子回路を組み込んだ 17 種類の大腸菌株の提供と、約 140 種類の大腸菌株の増殖速度データの提供を受けた。また、B01 車班 (公募班) から、特別な無細胞タンパク質合成系とリプレッサ・タンパク質の提供を受けた。また、A01 柘植班 (計画班) および B01 車班 (公募班) との連携研究で、陶山班で購入した装置等を共同で使用した。

●公募研究

B01 小川班

同じ機関に所属する他班の研究者 (B01 野澤班 (公募班) の連携研究者) と共同研究を行ったため、**設備を有効に使用することができた。**具体的には、実験機器等を共用することにより、研究を円滑に進めることができた。

・研究費の使用状況

(1) 主要な物品明細(計画研究において購入した主要な物品(設備・備品等。実績報告書の「主要な物品明細書」欄に記載したもの。)について、金額の大きい順に、枠内に収まる範囲で記載してください。)

年度	品名	仕様・性能等	数量	単価(円)	金額(円)	設置(使用)研究機関
23	リアルタイム PCR 解析システム	バイオラッド社 CFX96Touch	1	5,575,500	5,575,500	東京大学
	リアルタイム PCR 解析システム	ABI社 StepOnePlus	1	4,494,000	4,494,000	慶應義塾大学
	リアルタイム PCR 解析システム	ABI社 StepOnePlus	1	4,488,750	4,488,750	東京工業大学
	DNA 断片精製装置	LabChip XT システム-A	1	2,992,500	2,992,500	慶應義塾大学
24	共焦点顕微鏡	ニコン AIR	1	22,074,150	22,074,150	東京工業大学
	高速原子間力顕微鏡システム	NanoExplorerModel NEX-TOX-01S	1	11,999,400	11,999,400 (3,995,800)	京都大学
	ガスクロマトグラフ質量分析装置	島津製作所 GCMS—QP2010 Ultra	1	9,429,000	9,429,000	九州大学
	マイクロアレイスキャナー	GenePix 4100A	1	6,783,000	6,783,000	東京大学
	画像撮影解析装置	ChemIDoc XRS plus (Bio-Rad 社)	1	2,520,000	2,520,000	東京医科歯科大学
25	超高速液体クロマトグラフ	島津製作所 Nexera X2	1	4,987,500	4,987,500	名古屋大学
	プレートリーダー	テカソ社 Infinite M200pro	1	4,419,450	4,419,450	九州大学
	倒立顕微鏡電動ステージ	オリンパス Ix81 電動ステージ (動作範囲 114mmx75mm)	1	1,195,425	1,195,425	京都大学
26	プレートリーダー・フィルター	TECAN Infinite F200 Pro	1	2,574,828	2,574,828	富山大学
	コンパクトワークステーション	バイオテック(株) EDR-24LS	1	2,138,400	2,138,400	東京工業大学
	核酸自動精製装置	QIAcube Plus TissueLyser LT	1	2,127,600	2,127,600	慶應義塾大学
27	レフコ超低温槽	サーモフィsherサイエンティフィック・レフコ UXF300	1	1,379,160	1,379,160	東京工業大学
	NIS-Ar/Br 用パソコン (モタなし)	Z440 Workstation	1	626,400	626,400	九州大学

(2) 計画研究における支出のうち、旅費、人件費・謝金、その他の主要なものについて、年度ごと、費目別に、金額の大きい順に使途、金額、研究上必要な理由等を具体的に記述してください。

【平成 23 年度】

・旅費

木賀班：学会発表、研究打合せ、1,102,280 円、研究推進に必要

花井班：班会議・打合せ等、814,860 円、研究推進に必要

Rondelez 班：学会発表、班会議等、710,960 円、領域全体会議・成果発表のための国内学会への旅費

柘植班：班会議・打合せ等、553,070 円、研究推進に必要

山村班：国際学会 (iGEM) 参加、229,981 円、情報交換・情報収集等・研究推進に必要

国際学会 (iGEM) 参加、132,420 円、情報交換・情報収集等・研究推進に必要

・人件費・謝金

岡本班：学術研究員・テクニカルスタッフ雇用、3,206,930 円、研究推進に必要

・その他

木賀班：学会参加費、2,031,542 円、研究分野の情報収集・研究推進に必要

岡本班：学会・全体会議参加費、1,189,250 円、研究分野の情報収集・研究の進め方・進捗についての打合せに必要

【平成 24 年度】

・旅費

Rondelez 班：学会発表、班会議等、3,259,009 円、国際学会等における研究成果発表のため

柘植班：班会議・打合せ等、2,060,646 円、情報交換・研究成果の発表・研究推進に必要

田川班：班会議・学会発表・打合せ、1,993,886 円、研究推進に当たり班会議・打合せ・学会発表は必須

花井班：班会議・学会発表・打合せ等、1,977,210 円、実験方法技術習得・情報交換・研究成果の発表・研究推進に必要

木賀班：学会発表・打合せ等、1,432,208 円、情報交換・研究成果の発表・研究推進に必要

・人件費・謝金

花井班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、7,470,279 円、研究推進に必要

岡本班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、6,411,422 円、研究推進に必要

・その他

木賀班：学会参加費、1,708,238 円、研究分野の情報収集・研究推進に必要

岡本班：班会議参加費、1,368,360 円、情報交換・研究推進に必要

田川班：論文校正・投稿料、678,798 円、研究成果発表に必要

花井班：班会議・学会参加費等、628,539 円、情報交換・情報収集・研究成果発表・研究推進に必要

Rondelez 班：学会参加費・論文投稿料等、673,361 円、研究成果発表に必要

【平成 25 年度】

・旅費

Rondelez 班：学会発表、打合せ等、2,691,112 円、国際学会等における研究成果発表のため

田川班：班会議・学会発表・打合せ、2,470,840 円、研究推進に当たり班会議・打合せ・学会発表は必須

花井班：学会発表・班会議・打合せ等、2,403,115 円、情報交換・情報収集・研究成果発表・研究推進に必要

柘植班：学会発表・打合せ等、1,717,887 円、情報交換・情報収集・研究成果発表・研究推進に必要

木賀班：班会議・打合せ等、1,191,250 円、情報交換・情報収集・研究推進に必要

岡本班：学会発表・招待講演・打合せ等、978,262 円、情報交換・情報収集・研究成果発表・研究推進に必要

・人件費・謝金

木賀班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、11,309,025 円、研究の迅速な進展に人員の雇用が必要

花井班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、7,779,987 円、研究推進上必要

岡本班：学術研究員・テクニカルスタッフ雇用、5,239,326 円、研究推進上必要

・その他

花井班：学会参加費等、2,203,511 円、研究成果発表・研究推進上必要

木賀班：学会参加費、2,015,414 円、研究分野の情報収集・研究推進に必要

田川班：論文校正・投稿料および機器修理代、1,185,164 円、研究に必要

岡本班：学会参加費・英文校正料・論文別刷料等 1,016,588 円、研究成果発表等に必要

【平成 26 年度】

・旅費

木賀班：班会議・打合せ等、1,691,050 円、情報交換・研究推進に必要

柘植班：学会参加・打合せ等、1,442,990 円、研究成果発表・情報交換・情報収集・研究推進上必要

花井班：学会参加・打合せ等、1,299,762 円、研究成果発表・情報交換・情報収集・研究推進上必要

・人件費・謝金

岡本班：学術研究員・テクニカルスタッフ雇用、7,481,727 円、研究推進上必要

花井班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、7,355,569 円、研究推進上必要

木賀班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、7,120,431 円、研究の迅速な進展に人員の雇用が必要

田川班：事務補佐員・研究員雇用、5,589,311 円、研究推進上必要

・その他

花井班：英文校正料・学会参加費等、2,820,816 円、研究成果発表・情報収集・研究推進上必要

木賀班：学会参加費、1,799,216 円、研究分野の情報収集・研究推進に必要

田川班：論文校正・投稿料、685,477 円、研究推進上必要であった

Rondelez 班：学会参加費・論文投稿料等、678,870 円、研究成果発表に必要

岡本班：英文校正料・班会議抄録製本・会場料等、427,238 円、研究成果発表・情報交換・情報収集・研究推進上必要

【平成 27 年度】

・旅費

木賀班：班会議・打合せ等、4,224,003 円、情報交換・研究推進に必要

田川班：班会議・学会発表・打合せ、2,615,094 円、研究推進に当たり班会議・打合せ・学会発表は必須

柘植班：班会議・学会・打合せ等、2,416,608 円、研究成果発表・情報交換・情報収集・研究推進上必要

Rondelez 班：学会、打合せ等、2,338,333 円、国際学会等での研究成果発表・情報交換・情報収集のため

・人件費・謝金

木賀班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、8,748,900 円、研究の迅速な進展に人員の雇用が必要

岡本班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、7,580,746 円、研究推進上必要

田川班：事務補佐員・研究員雇用、4,935,079 円、研究推進上必要であった

花井班：学術研究員・テクニカルスタッフ等雇用、4,700,458 円、研究推進上必要

・その他

田川班：論文校正・投稿料、534,187 円、研究推進上必要

花井班：英文校正・論文投稿・学会参加費等、1,760,419 円、研究成果発表・情報収集・研究推進上必要

木賀班：学会参加費、1,689,414 円、研究分野の情報収集・研究推進に必要

(3) 最終年度（平成 27 年度）の研究費の繰越しを行った計画研究がある場合は、その内容を記述してください。

なし

9. 当該学問分野及び関連学問分野への貢献度（1ページ以内）

研究領域の研究成果が、当該学問分野や関連分野に与えたインパクトや波及効果などについて記述してください。

●計画研究

A01 花井班：花井班の研究で開発された、菌体密度感知した自律生産微生物は、菌体密度を感知し、細胞内の代謝を増殖に適した状態から、生産に適した状態に、培養のはじめに加える誘導剤濃度で決められた菌体密度で自律的に制御ができる世界初の微生物である。上記のような望みの動的挙動を実現する 10 以下の少数で構成される人工遺伝子回路の構築に成功した。また、人工遺伝子回路の物質生産への応用用例はまだ少なく、産業上も大きなインパクトを与えた。

A01 田川班：本研究の成果である肝組織 *in vitro* モデルは、創薬、実験動物学、医学、毒性学、発生学において期待できると評価されている。哺乳類の生命システムでは、細胞同士のクロストークが必須である。最適化する遺伝子制御の対象は、サポートする側の細胞であり、幹細胞側はそのサポート細胞からの指令に従って分化する。最適な未分化維持、さらにスイッチを入れると幹細胞を分化誘導させる最適な条件を検討できる技術は、合成生物学における哺乳類への展開を試みた新しい取り組みである。幹細胞の分化系譜を追跡し、情報処理プラットフォームに載せ、サポート細胞へ導入する遺伝子発現システムを最適化していくことで細胞の視点に立った、最適な分化誘導法の確立につながる。

A01 柘植班：柘植班の研究の過程で開発された第二世代の OGAB 法は、50 断片以上の遺伝子断片を一度に連結可能な世界初の技術であり、長鎖 DNA の合成に道を開く画期的な技術となり、合成生物学の進展に大きな影響を及ぼした。また、本研究課題で構築した、グルコースからカロテノイドまでの生産に必要な一連の代謝経路の遺伝子群を連結した人工オペロンにより、実際に物質生産可能であることを示したことで、バクテリアゲノムを自由にデザインすることへの道を開いた。

B01 木賀班：2 種の RNA 酵素を並列的に協調作動させるシステムは論文採択時の審査で高く評価され、合成生物学だけでなく RNA ナノテクノロジーへの応用が期待される。合成生物学の手法で改変された遺伝暗号を用いた進化工学の波及効果は高い。また、理論と生物実験を組み合わせることの受容性は、生命の起源と進化の領域でも注目され、ゴードン会議でインパクトは高く評価され、理工系分野での学術振興会賞の受賞につながっている。

B01 Rondelez 班：人工遺伝子回路や人工代謝経路の動作条件を網羅的に解析する際に必要とされる回路・経路の反応系における着目分子の濃度条件をハイスループット（約 1 万通りの異なる反応条件を一度）に探索しうるマイクロ液滴系プラットフォームを開発した(A. Genot et al., Nat Chem, in press)。この成果は、プラットフォームで得られる回路動作条件の実験結果を情報科学分班にフィードバックすることによりシミュレーションの精度を向上するというサイクルの実現や、領域の多くの班で構築される人工遺伝子回路や人工代謝経路の動作条件探索に要する時間を大幅に短縮しうる成果であり、本研究領域全体のための土台的な実験技術基盤を構築できた。

C01 伊庭班：進化計算を活用してデータベースに格納された遺伝子部品等の検索を行い、それらを組み合わせて人工遺伝子回路を自動設計する技術を開発した。また人工遺伝子回路を設計するための実験計画を立案する技術の構築を行った。これらの情報技術の有効性を合成生物学の分野で示したことは極めて重要である。さらに、本研究では合成生物学のデータを扱うために機械学習や深層学習などの AI 手法を駆使した。

●公募研究

B01 中野班：酵素のナノ構造化技術の開発と、微生物化学反応場の作製技術を開発した。これらの技術を統合的に使用することで、作製・選択できる分子ライブラリーの数を 10^8 以上にすることができ、新規酵素タンパク質の進化分子工学的創出や、転写プロモーターの開発に貢献できた。

10. 研究計画に参画した若手研究者の成長の状況（1ページ以内）

研究領域内での若手研究者育成の取組及び参画した若手研究者（※）の研究終了後の動向等を記述してください。
※研究代表者・研究分担者・連携研究者・研究協力者として参画した若手研究者を指します。

●計画研究

A01 花井班：2名の博士研究員を雇用した。1名は、期間の途中でCRESTの博士研究員に異動した。また、もう1名は期間の途中で退職し、企業へ就職した。

A01 田川班：本研究に平成24年度から参画した博士研究員は、第一著者として2報（M. Tamai, *et al*, *Tissue Eng.* 2013; M. Tamai, *et al*, *Amino Acids* 2013）、その他共著として5報の論文公開に貢献した。これらの業績により、平成28年度より北海道大学大学院歯学研究科助教として赴任し、これまでの合成生物学的アプローチを土台に口腔内 *in vitro* モデル構築の研究を開始している。

B01 木賀班：計画研究代表者の木賀は、開始時は若手研究者に該当し、最終年度に学術振興会賞を受賞した。計画研究の協力者として博士課程に在籍した5名のうち、1名は東大の正規助手、1名は理研の基礎科学特別研究員、1名は東工大の特任助教として活躍している。1名は企業に就職した。また、博士号を持ち研究協力者となった1名は、その後、学術振興会 PD, JST さきがけ研究員を歴任した。

B01 Rondelez 班：研究代表者の Rondelez は本領域での研究成果が認められ、欧州研究会議(ERC)助成金を獲得(平成27年9月, 2.1 million euro 5年間)し、ESPCI Paris Tech (The City of Paris Industrial Physics and Chemistry Higher Educational Institution, 仏国)でも研究室を主宰するに至った(平成27年~)。連携研究者である金田祥平(平成23年度時, 特任研究員)は東京大学生産技術研究所にて助教(平成27年7月~)の職を得た。研究協力者の金秀炫(平成25年度時, 特任研究員)は東京大学生産技術研究所にて助教(平成27年7月~)の職を得た。

C01 伊庭班：本プロジェクトにおいてポスドクで雇用し、その後研究協力者となったノマン・ナシムルは、プロジェクト期間中にハーバード大学医学大学院 (Harvard Medical School) の Pamela Silver 教授の研究室に留学し、本計画班との共同研究を始めた。具体的には、カウンタ (Exposure counter) とバイオセンサ (Nutrition sensor) についてのモデル・シミュレーションを作成し、遺伝子回路がシミュレーション上で的確に動作することを確認した。この結果をもとにして共著の論文を投稿中である。現在ノマン・ナシムルは、オーストラリアのニューキャッスル大学において常勤講師を勤めている。

11. 総括班評価者による評価（2ページ以内）

総括班評価者による評価体制や研究領域に対する評価コメントを記述してください。

研究領域では、総括班評価者として、情報科学分野の立場から東京大学生産技術研究所 合原一幸 教授、合成生物学およびシステム生物学の国際情勢の立場から理化学研究所 八尾徹 アドバイザー、タンパク質工学およびシステム生物学分野の立場から慶應義塾大学薬学部 柳川弘志 訪問教授に評価を依頼した。各評価者からの評価コメントを以下に示す。

東京大学生産技術研究所 教授 合原一幸

本新学術領域研究は、生体分子ネットワークを「眺めて解析する生物学」から「創って解析する・利用する生物学」への本格的発展を目標にして、世界をリードする合成生物学を展開するための技術基盤の確立を目指す重要なテーマに挑戦し、たいへん大きな成果を上げたものである。

まず、生物学班、工学班、情報科学班の3つの相補的かつ重要な分野を連携させ、出口である生物学班がリーダーシップをとるとともに、工学班が、生物学班と情報科学班の橋渡しの役割を果たすという研究体制をうまく構築したことが成功の鍵であったと思われる。特に工学班の実験では、かなり精緻な条件設定が可能であり、着目分子の濃度条件をハイスループット(約1万通りの異なる反応条件を一度)に探索するマイクロ液滴系プラットフォームを開発するなど、生物と理論の橋渡しにきわめて効果的な役割を果たした。また、情報科学班も、工学班と協力してDNAツールボックスを基にした遺伝子ネットワークの進化的合成手法ERNeを構築するとともに、生物学班と協力して数種類の発振回路を進化的に探索し、ウェット系上での実装実験を行って有効性を検証するなど、十分な成果を上げた。

本学術領域で研究された回路レベルでの摂動は、従来の生物学研究で主として行われた単一遺伝子等のいわば「微少摂動」を越えた動的で多要素から成る「大きな摂動」の意味を明らかにし、合成生物学を大きく発展させるための技術基盤と成り得るものである。これらの成果は、生物学のみならず、生命の数理モデル研究全般にも大きな影響をもたらす、たいへん重要な新しい研究領域を切り拓いたと言えよう。

理化学研究所 アドバイザー 八尾 徹

本領域研究は、「自律制御生産細胞の構築」「人工代謝経路を用いた多段階反応による目的物質の生産」ほか数々の成果を挙げ、当初の目標を達成してきたと言える。

生体分子ネットワークを軸とする合成生物学の技術基盤を確立するために、生物学班(A)・工学班(B)・情報科学班(C)の3分野融合体制で始まったが、それらの連携による数多くの研究テーマが設定され、順調に展開してきた。そこに至る過程での領域代表者を中心とする関係者のご努力を多とする。国際的にも、異分野融合研究は非常に多くなってきているが、その際の「和」「協調」の精神は、日本が得意とするところで、このことが、今回の成功につながったものと思える。

具体的には、8つの計画研究と、30数件の公募研究が、すべて共同研究になっており、報告書に記載されている研究テーマリストは圧巻である。そこには、主体者と共同研究者の名前が明記されている。

もう一つ重要なことは、研究推進当初に各班が抱えていた問題点を領域全体の問題として取り上げ、他の班の協力を得て、解決の道を拓いて行ったことである。これらの対応の記録は、今後の類似プロジェクトの進め方に大いに参考になるだろう。

多くの中で、計画研究4件と公募研究1件の成果と意義について述べる。

計画研究 花井泰三班「自律制御物質生産微生物」:様々な菌体密度に応じて、自律的に目的生産経路への代謝流束を変える方法を考え、生産量を大幅に向上させたことは画期的である。同様の狙いを他のシステムにも適用出来るのではないか。

計画研究 柘植謙爾班「人工オペロンの構築」:大腸菌による人工オペロンと酵母による人工オペロンの組み合わせで、高い生産性を実現し、多数の遺伝子群からなる代謝経路の構築に道を拓いたことは、世界に誇るべきことであろう。長鎖DNA合成技術の更なる応用展開に期待する。

計画研究 Y.Rondelez 班「マイクロ液滴系プラットフォームの開発」:着目分子の濃度条件をハイスループットに探索するのに役立つ方法であるが、このような下支えの技術開発が、この領域研究全体のために、更には広く役立つ可能性があることは、声を大にしてよいことであろう。

計画研究 伊庭斉志班「遺伝子ネットワークの進化的合成手法 ERNe 法の開発」、「人工解糖系オペロン構築の機械学習による最適化」:いずれも情報科学の最新手法(ニューラルネットワーク,機械学習)を生物系の研究促進に大いに役立っている。異分野融合研究の成果の良い例である。

公募研究 磯村彰宏班「光応答性相互抑制型トグルスイッチ構築」:合成生物学では、このような基本的な生命システム部品が重要な役割を果たすことが多い。ボストンで毎年開かれている iGEM 大会に参加して、世界の舞台で存在を示されるとよいのではないかと。

他にもすばらしい研究が多いようであるが、常に世界に貢献する立場で展開してほしいと期待する。

合成生物学は、今後の大きな発展分野である。ここで扱われている分子レベルの技術は、細胞・器官・個体などの上位レベルの合成生物学の基盤である。そのような多階層レベルに共通することは「社会への適用」についての議論である。そのことを全員が頭において研究と応用のことを進めて頂きたい。

慶應義塾大学薬学部 訪問教授 柳川弘志

「眺めて解析する生物学」から、「創って解析する・利用する生物学」を標榜した本新学術領域は、生体分子ネットワークを「動的」と「多要素」という2つの研究観点に分割し、それぞれの解析を、「情報科学」、「工学」、「生物学」という3つの基盤技術の連携により行うという、それまでには見られなかった斬新な着想により提案されたものであり、このコンセプトは本領域終了した現在においても色褪せない、世界レベルで先駆的なものであったと言えよう。

研究の達成度については、個々の班ごとにはばらつきはあるものの、全体としては概ね目標が達成したと言える。開始当初は、個別の班ごとで独立して研究を行っていた印象があったが、班ごとに技術の「引き出し」を準備するにあたり、やむを得ない部分があったと思われる。この点については、中間審査で指摘を受けた後の後半の2年間で「情報科学」と、「工学」・「生物学」との連携に大きな改善が認められた。結果として合計33もの共同研究が実施され、下記の研究成果につながった。

花井班の「自立制御生産細胞」の構築については、余剰な代謝流速を物質生産に転用するための代謝トグルスイッチを開発し、実際に物質生産量の向上が可能であることを示した。今までに開発されていた遺伝子トグルスイッチが、レポーター遺伝子の発現の ON と OFF が入れ替わることを示す概念的なものであったのに対して、本代謝トグルスイッチは実際に物質生産に適応可能であることを示し、合成生物学が学問にとどまらず、産業界においても重要な研究分野であることの証となった。

また、柘植班の「人工代謝経路」については、酵母の遺伝子など28個もの遺伝子を連結した人工オペロンを構築し、実際にカロテノイドの高生産が可能であることを示した。様々な生物から遺伝子を集めて新しい代謝経路を構築することは世界中で試されているが、実用レベルに到達したものは少ない。ここで得られた人工オペロンについての知見は新規物質生産系を構築する際に大きく役立つものと考えられる。

Rondelez 班のマイクロ液滴系プラットフォームの開発は、1万もの異なる反応条件を一度に探索することを可能にし、人工遺伝子回路や人工代謝系の動作条件を試験管内でハイスループットに探索する際の時間短縮に非常に重要な基盤技術でなると考えられる。

これらの研究成果には、特に伊庭班が大きく貢献しており、情報科学との連携により導き出された点は、新学術領域の研究として評価されるべきであろう。今後の合成生物学は、情報科学との連携無しには成り立たないことを印象付けた。

本領域のアウトプットの1つである、若手育成については、ここで立ち上がった本領域が今後大きな学問領域へと発展するのにかどうか占う意味で重要である、テーマが学際領域であるため、既存の職がなく新規に開拓する必要であったと考えられるが、多数の博士研究員が助手や講師などのアカデミアのポストを獲得し研究を継続していることから、本領域の将来発展に期待が持てる状況にある。