

令和 2 年 6 月 21 日現在

機関番号：32686

研究種目：基盤研究(B) (特設分野研究)

研究期間：2016～2019

課題番号：16KT0076

研究課題名(和文) 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

研究課題名(英文) In vitro reconstitution of genome self-replication system and its evolution

研究代表者

末次 正幸 (SU'ETSUGU, Masayuki)

立教大学・理学部・教授

研究者番号：00363341

交付決定額(研究期間全体)：(直接経費) 14,400,000円

研究成果の概要(和文)：生命がもつ自己複製能の本質は、ゲノムにコードされた遺伝情報に基づいて、自身のコピーを生み出すことにある。これまでに我々はミニ染色体と呼ばれる複製起点oriCをもつ環状DNAを鋳型として、大腸菌染色体複製のサイクルを繰り返し、ミニ染色体の自律増殖を導く試験管内再構成系を構築している(26種のタンパク質より構成)。

本研究では、ミニ染色体上に複製サイクル再構成系のタンパク質を遺伝情報の形でコードさせておき、PURE system(転写翻訳反応再構成系)による情報発現とカップルして複製サイクルが駆動し、自身の情報をコードするミニ染色体が自律増殖する系を構築した。

研究成果の学術的意義や社会的意義

生命の自己複製能の本質は、自身が持つ遺伝情報に基づいて、多様な機能タンパク質がつくられ、それによって再び自身の遺伝情報が複製されることにある。その繰り返しで、生命は増殖し、また遺伝情報に変異が入れば進化する。本研究では大腸菌から精製された因子を用いて、この自己複製系を再現した。自己複製系では、自己複製DNAからの転写翻訳に依存して複製タンパク質がつくられ、複製タンパク質によって自己複製DNA自身の増殖が促される。今後、DNA複製エラーなどにより遺伝情報の変異を導けば、自己複製DNAを試験管内で進化させ、より自己複製に優位なDNA分子が勝ち残っていく、といった進化実験も可能となると期待される。

研究成果の概要(英文)：Self-replication is a fundamental feature of living cells. Cells produce their own copy based on their genetic information. We recently developed an in vitro reconstitution system termed RCR (replication cycle reaction), in which replication cycle of the Escherichia coli chromosome repeats continuously to propagate a mini-chromosome that is a circular DNA having replication origin, oriC. RCR consists of 26 proteins. In this study, we combined an in vitro transcription-translation reconstitution system, PURE system with RCR (PURE-coupled RCR). All 26 RCR proteins were able to express functionally from DNA in PURE system. We constructed a mini-chromosome encoding the RCR proteins. This mini-chromosome allow us to propagate the circular DNA depending on the transcription-translation from its own DNA. We further developed a system in which the PURE-coupled RCR progress from a single mini-chromosome molecule in water-in-oil emulsion for purpose of in vitro evolution of the mini-chromosome.

研究分野：合成生物学

キーワード：染色体複製 自己複製 人工細胞

様式 C - 19、F - 19 - 1、Z - 19 (共通)

1. 研究開始当初の背景

生命がもつ自己複製能の本質は、自身のゲノムにコードされた遺伝情報に基づいて、自身のコピーを生み出すことにある。コピーはさらに自身のコピーを生み出す。このような自己複製のサイクルの繰り返しによって生命は40億年間、増殖しつづけてきた。興味深いのは、遺伝情報の本体であるDNAが、複製エラーによって変異しがちであるという性質である。つまり、全く同じコピーが作られるわけではなく、少しずつ性質の異なる多様なコピーが作られる。中には、与えられた環境に応じて、より自己複製能に優位なものも存在し、そのようなものが増殖競争を勝ち残って、淘汰されていく。いわゆるダーウィンの進化である。本研究の狙いは、以上のような自己複製の仕組みを、生体部品を組み合わせることで試験管内に再現することである。

大腸菌は、自己複製の仕組みについて、最も理解の進んでいるモデル生物といえよう。既にその転写、翻訳のシステムについては試験管内再構成系が構築されている。そして、我々は最近、「染色体DNA複製サイクルを“繰り返す”システム」を26種類のタンパク質を用いて再構成する事に独自に成功している(図1)

(Su'etsugu et al. 2017 Nucleic Acids Res.)。この複製サイクル反応系(RCR)では、複製によって生じた環状DNA分子がさらに次世代の複製サイクルの鋳型となるので、複製サイクルが自発的に何ラウンドも繰り返され、あたかも生きている細胞のように、環状DNA分子が指数増殖してくる。その倍加時間は5分であり、環状DNA1分子が3時間で百億倍以上に増殖する。また、大腸菌染色体複製機構をそのまま再現したものであるので長鎖DNA増幅能に優れており、200kbもの環状DNAの増殖も可能である。

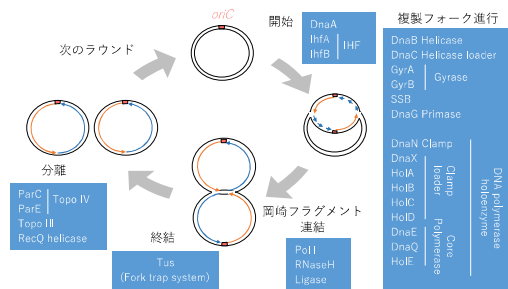


図1 大腸菌染色体複製サイクル再構成系

これまでに、大腸菌の転写・翻訳反応は既に試験管内で再構成されており、PURE system として知られている(Shimizu et al. 2001 Nat. Biotechnol.)。我々による複製サイクル再構成系 RCR の構築により「複製(DNA)・転写(RNA)・翻訳(Protein)」からなる“セントラルドグマの完全なサイクル”を試験管内に構成する道が拓けたことになる。環状DNAに“複製サイクル再構成系”を構成するタンパク質の情報を遺伝子(DNA配列)として集積する。そしてこの情報をPURE Systemの転写・翻訳により発現させると自身の複製を行う生化学システムが発現してくるであろう。これはまさに“自己複製”という生命特有の秩序的なふるまいの試験管内再現である。複製サイクル再構成系ではまた、人為的にランダムな複製エラーを誘発することが可能となっている。よって、構築するゲノム自己複製系はこのような試験管内での進化実験にも繋がるものである。

2. 研究の目的

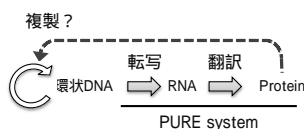


図2 セントラルドグマ再構成による自己複製

環状DNAにコードされた遺伝情報に基づいて発現した生化学システム(RCR)により、環状DNA自身が複製され、その複製産物をもとに更なる世代のシステムが発現する(図2)。このような“自己複製の繰り返し”を、転写・翻訳・複製の再構成系を統合することによって試験管内に再現し、そのふるまいを明らかにすることを目的とする。

3. 研究の方法

(1) セルフリー-DNAクローニングによる自己複製環状DNAの人工合成

複製サイクル再構成系 RCR は、環状DNA分子を増幅する技術としても革新的であり、従来の大腸菌形質転換をもちいたDNAクローニングにとってかわるセルフリークローニング技術を提供する(図3)。近年、In-fusion や Gibson Assembly などの多数のDNA遺伝子断片を一度にシームレスに連結する反応系が開発されているが、我々は独自に大腸菌組換え修復反応を5種の精製タンパク質により再構成したより高効率なシームレスDNA連結法 Recombination Assemblyを開発している。Recombination Assemblyにより、目的の連結環状化した産物がわずかでも生じていれば、その長鎖環状分子をRCRにて、そのまま選択的に指数増幅することが可能である。

RCRにおける増幅の鋳型となるには、DNAが環状構造をとっていることが必要のため、連結中間体の直鎖状DNAは増幅されない。本研究でデザインした自己複製のための環状DNA(複数の複製タンパク質をコードするDNA)は、大腸菌を用いたクローニングでは細胞毒性のため構築できなかったが、本セルフリークローニングのおかげで迅速構築に至った。

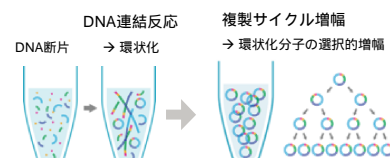


図3 セルフリー-DNAクローニング

(2) セントラルドグマ再構成による環状DNA自己複製系

複製サイクル再構成系と転写・翻訳系を、1つの試験管内に統合したセントラルドグマ再構成系を構築した。転写・翻訳系として、すでに大腸菌由来のシステムが再構成されており(Shimizu

et al. 2001 Nat. Biotechnol.), これを利用した。複製サイクル再構成系 RCR を構成する全 26 種類のタンパク質の 1 つ 1 つについて、PURE System における発現を SDS-PAGE により確認。さらに、活性をもった状態で発現しているか否かを評価するため、個々のタンパク質を複製サイクル再構成系から除去した反応系を調製し、これに PURE System 発現産物を加え、環状 DNA の増殖に機能するか否かを解析した。

続いて複製サイクル再構成系 RCR と PURE System とを融合させた系を構築した(PURE-RCR)。この PURE-RCR 系に RCR 構成タンパク質をコードする環状 DNA を添加し、そのタンパク質の発現に依存して環状 DNA の増殖が達成されるかを確認した。

(3) 環状 DNA 自己複製系(PURE-RCR)の反応場の区画化と自己複製サイクルの繰り返し

生命のもう 1 つの特徴として、個を規定する(膜などによる)区画化が挙げられる。この区画化はセントラルドグマ再構成系のように、情報分子(環状ゲノム)と機能分子(複製タンパク質)とが離ればなれになりうる系において、“自身の情報に基づく自身の複製”を保証する役割を持つ。特にゲノム進化実験においては、変異により最適化された遺伝情報が自身の情報分子の複製にフィードバックされなければならず、この区画化は重要である。容易に安定な区画化を実現するべく、油中水滴エマルジョンを用いる系を構築し用いた。

区画化された微小な反応場における課題として、基質などの分子が枯渇し、すぐに反応が飽和してしまう事が想定される。エマルジョンは物理的刺激で融合と分裂を繰り返すことが可能であり、これにより新たな基質を外部から供給、また分裂させ、「自己複製サイクル」の繰り返しについて検討した。

(4) 自己複製サイクルのふるまいの解析

構築した自己複製環状 DNA に蛍光タンパク質をコードしておき、蛍光の発現によって、エマルジョンの融合と分裂にともなって進行する「自己複製サイクル」の繰り返しを検出するシステムを構築し、用いた。

4. 研究成果

(1) PURE System と複製サイクル再構成系の融合 (PURE-RCR) に成功し、環状 DNA の自己複製系を構築した。

計画初段階では、PURE System による十分なタンパク質発現が見られない、あるいは転写反応が強すぎるため複製反応を阻害してしまう、などの様々な問題が見られたが、これらの問題を地道に解決し、環状 DNA 自身がコード RCR 構成タンパク質の転写翻訳反応に依存して複製サイクルが進行し、環状 DNA の増殖する系を構築した。

8 種の複製開始段階に機能するタンパク質を全てコードする自己複製環状をセルフクリーニング法により構築した。対応する 8 種のタンパク質を PURE-RCR から除き、環状 DNA からの 8 種全ての発現に、依存して、環状 DNA 自身の増殖を導くことに成功した(図 4)。さらに、これらとは別の、複製伸長段階に機能する 8 種についても、同様に、自己複製環状を構築し、PURE-RCR での自身の増殖が進むことを確認した。

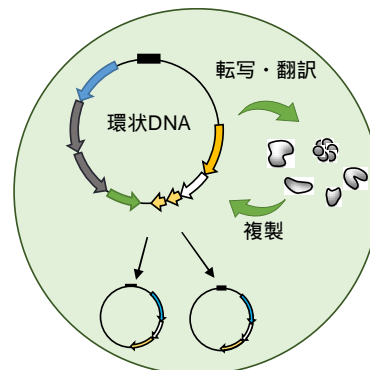


図4 転写翻訳に依存した環状DNAの自己複製

(2) PURE-RCR 系を区画化し、区画内での自己複製のサイクルを繰り返すことに成功した。

複製開始タンパク質をコードする環状 DNA を用いた PURE-RCR による自己複製系について、

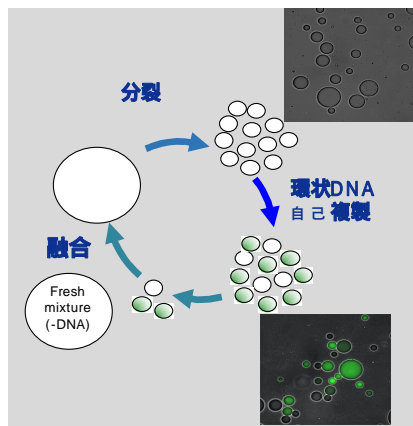
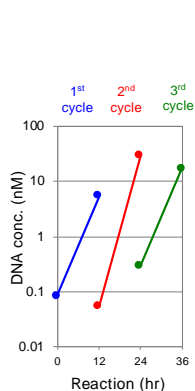


図5 エマルジョン区画内での環状DNA自己複製反応のサイクル化



油中水滴エマルジョン内で自己複製反応が進行する条件を検討し、決定した。環状 DNA 増殖は、ヌクレオチド基質やタンパク質の枯渇により数時間で飽和するものであった。そこで、エマルジョンの融合により、基質、タンパク質を供給し、さらに分裂させる検討を行った。その結果、エマルジョン内での自己複製反応のサイクルを 3 ラウンド続けて繰り返す事ができるようになった(図 5)。何ラウンドまで自己複製サイクルを継続できるかは、まだ検討していないものの、今後、複製エラーを導きながら、この自己複製サイクルを繰り返すことで、より自己複製能に優れた環状 DNA の分子の進化を導くことができるものと期待さ

れ、引き続き研究を進めている。

5. 主な発表論文等

〔雑誌論文〕 計9件（うち査読付論文 5件/うち国際共著 0件/うちオープンアクセス 3件）

1. 著者名 Islam Md Monirul, Odahara Masaki, Yoshizumi Takeshi, Oikawa Kazusato, Kimura Mitsuhiro, Su 'etsugu Masayuki, Numata Keiji	4. 巻 8
2. 論文標題 Cell-Penetrating Peptide-Mediated Transformation of Large Plasmid DNA into Escherichia coli	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 ACS Synthetic Biology	6. 最初と最後の頁 1215 ~ 1218
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1021/acssynbio.9b00055	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -
1. 著者名 Hasebe Tomonori, Narita Kouhei, Hidaka Shiomi, Su 'etsugu Masayuki	4. 巻 8
2. 論文標題 Efficient Arrangement of the Replication Fork Trap for In Vitro Propagation of Monomeric Circular DNA in the Chromosome-Replication Cycle Reaction	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Life	6. 最初と最後の頁 43 ~ 43
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.3390/life8040043	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takemoto Norihiko, Numata Itaru, Su 'etsugu Masayuki, Miyoshi-Akiyama Tohru	4. 巻 46
2. 論文標題 Bacterial EndoMS/NucS acts as a clamp-mediated mismatch endonuclease to prevent asymmetric accumulation of replication errors	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 6152 ~ 6165
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) doi.org/10.1093/nar/gky481	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -
1. 著者名 Takada Hiraku, Shiwa Yuh, Takino Yuta, Osaka Natsuki, Ueda Shuhei, Watanabe Satoru, Chibazakura Taku, Su 'etsugu Masayuki, Utsumi Ryutaro, Yoshikawa Hirofumi	4. 巻 164
2. 論文標題 Essentiality of WalRK for growth in Bacillus subtilis and its role during heat stress	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 Microbiology	6. 最初と最後の頁 670 ~ 684
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1099/mic.0.000625	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 末次正幸	4. 巻 8月号
2. 論文標題 細胞を使わないゲノム合成技術	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 月刊バイオインダストリー	6. 最初と最後の頁 22 ~ 30
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 末次正幸	4. 巻 Vol.57, 1
2. 論文標題 染色体複製サイクルの自律的な繰り返しによるDNA増幅反応	5. 発行年 2019年
3. 雑誌名 化学と生物	6. 最初と最後の頁 64 ~ 69
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Kamada Katsuhiko, Su'etsugu Masayuki, Takada Hiraku, Miyata Makoto, Hirano Tatsuya	4. 巻 25
2. 論文標題 Overall Shapes of the SMC-ScpAB Complex Are Determined by Balance between Constraint and Relaxation of Its Structural Parts	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Structure	6. 最初と最後の頁 603 ~ 616.e4
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1016/j.str.2017.02.008	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

1. 著者名 Su'etsugu Masayuki, Takada Hiraku, Katayama Tsutomu, Tsujimoto Hiroko	4. 巻 45
2. 論文標題 Exponential propagation of large circular DNA by reconstitution of a chromosome-replication cycle	5. 発行年 2017年
3. 雑誌名 Nucleic Acids Research	6. 最初と最後の頁 11525 ~ 11534
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) 10.1093/nar/gkx822	査読の有無 有
オープンアクセス オープンアクセスとしている (また、その予定である)	国際共著 -

1. 著者名 末次正幸	4. 巻 262
2. 論文標題 ゲノム合成技術	5. 発行年 2018年
3. 雑誌名 現代科学	6. 最初と最後の頁 47-51
掲載論文のDOI (デジタルオブジェクト識別子) なし	査読の有無 無
オープンアクセス オープンアクセスではない、又はオープンアクセスが困難	国際共著 -

〔学会発表〕 計47件 (うち招待講演 15件 / うち国際学会 7件)

1. 発表者名 奈良 聖亜、長谷部 友憲、高田 啓、末次正幸
2. 発表標題 大腸菌染色体複製サイクル再構成系を基盤とした自己複製システムの構築
3. 学会等名 第14回日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 藤田裕寛、奈良聖亜、向井崇人、末次正幸
2. 発表標題 複数の複製起点oriCの導入による長鎖感情DNAの試験管内増幅の効率化
3. 学会等名 第15回日本ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 長谷部友憲、高田啓、末次正幸
2. 発表標題 転写・翻訳反応と共役したミニ染色体複製サイクルの再構成
3. 学会等名 第24回微生物研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 川上直貴、倉田竜明、長谷部友憲、末次正幸
2. 発表標題 Violaceinのコンピナトリアル合成に向けた多断片DNA連結増幅法の利用
3. 学会等名 第22回微生物研究会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 俵木彩子、末次正幸
2. 発表標題 染色体複製サイクル再構成系と共役した環状DNA編集法
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 米司 達哉、向井 崇人、末次 正幸
2. 発表標題 大腸菌ミニマムゲノム株の染色体分断化
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 奈良 聖亜、末次正幸
2. 発表標題 100 kbを超える長鎖環状DNAのセルフリークローニング
3. 学会等名 第42回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 Su'etsugu, M.
2. 発表標題 Cell-free tool towards de novo genome synthesis
3. 学会等名 International Symposium on "Artificial Cell Reactor Science and Technology" (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Kurata, T. and Su'etsugu, M.
2. 発表標題 Enzymatic construction of large circular DNA from over 50 overlapping fragments
3. 学会等名 International Symposium on "Artificial Cell Reactor Science and Technology" (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Nara, S. and Su'etsugu, M.
2. 発表標題 In vitro amplification of circular DNA mediated by oriC transposon
3. 学会等名 International Symposium on "Artificial Cell Reactor Science and Technology" (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 長谷部 友憲、末次 正幸
2. 発表標題 複製停止配列ter を介したフォークの衝突は続く増幅反応を阻害する
3. 学会等名 第15回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 沼田 格、竹本 訓彦、秋山 徹、末次 正幸
2. 発表標題 放線菌で見つかった新規ミスマッチ修復タンパク質EndoMSのエンドヌクレアーゼ活性
3. 学会等名 第15回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 奈良 聖亜、篠原 昶、末次 正幸
2. 発表標題 oriCトランスポゾン転移に依存した長大な異種環状DNA の試験管内増幅
3. 学会等名 第15回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 倉田竜明、加納巧希、末次 正幸
2. 発表標題 50種類以上に及ぶDNA断片の試験管内同時集積
3. 学会等名 第15回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 末次正幸
2. 発表標題 染色体複製サイクル再構成系を用いたセルフリー環状DNA合成」
3. 学会等名 第56回日本生物物理学会年会 シンポジウム「ゲノム合成時代の人工細胞研究」(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 依木彩子、末次 正幸
2. 発表標題 複製サイクル再構成系を利用した長鎖DNAへの塩基置換導入法
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会11.0
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 奈良 聖亜、末次 正幸
2. 発表標題 oriCトランスポゾンを利用した環状DNA の試験管内複製サイクル増幅
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会11.0
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 倉田竜明、末次 正幸
2. 発表標題 無細胞長鎖DNA合成法RA-RCRによる50種以上のDNA断片の同時集積
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会11.0
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Shinohara, T. Su'etsugu, M.
2. 発表標題 Stable amplification of 200 kb circular DNA by reconstituted replication cycle of the Escherichia coli chromosome
3. 学会等名 3R-3C Symposium (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Su'etsugu, M. and Kurata, T
2. 発表標題 Large plasmid synthesis using cell-free chromosome replication technology
3. 学会等名 The 1st Asian Synthetic Biology Association (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 俵木彩子、末次 正幸
2. 発表標題 長鎖DNA増幅反応RCRと共役した遺伝子編集法
3. 学会等名 第41回日本分子生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Su'etsugu, M
2. 発表標題 In vitro repetition of chromosome-replication cycle and its applications
3. 学会等名 7th Bioscience and Biotechnology International Symposium, Tokyo Institute of Technology (招待講演) (国際学会)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末次 正幸
2. 発表標題 ゲノム合成の新技术
3. 学会等名 nano tech 2019 (招待講演)
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末次 正幸
2. 発表標題 染色体複製サイクルを再構成した高性能DNA増幅技術とその利用
3. 学会等名 野地ImPACTシンポジウム（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末次 正幸
2. 発表標題 ゲノム合成時代のセルフフリー技術
3. 学会等名 日本農芸化学会 2019大会シンポジウム「ゲノム合成の世界的なうねりと現状：日本の貢献」（招待講演）
4. 発表年 2019年

1. 発表者名 末次正幸
2. 発表標題 ゲノム複製サイクル再構成による長鎖環状DNAの試験管内増幅技術
3. 学会等名 酵素工学研究会第77回講演会（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 末次正幸、高田 啓
2. 発表標題 染色体複製サイクルの繰り返しによる環状DNAの試験管内自律増殖
3. 学会等名 第55回日本生物物理学会年会 シンポジウム「自己複製系の新展開：創発と合成の邂逅」（招待講演）
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 末次正幸、倉田竜明
2. 発表標題 DNA集積・増幅反応からなる無細胞ゲノム合成技術
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会10.0 「ゲノム合成時代の到来とバイオセキュリティ・セーフティ」(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 末次正幸、加納巧希、倉田竜明、篠原起、高田啓
2. 発表標題 ゲノム複製サイクル再構成系を利用した新規DNA増幅技術
3. 学会等名 ConBio2017 ワークショップ 「どこまでできる? in vitro再構成研究の最前線」(招待講演)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 末次 正幸
2. 発表標題 ゲノム複製サイクル再構成による巨大環状DNA の試験管内増幅
3. 学会等名 シンポジウム 「核酸の科学: その複製, 化学修飾から損傷まで」(招待講演)
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 Su'etsugu, M. and Tsujimoto, H.
2. 発表標題 Cell-free propagation of large circular DNA by reconstitution of a chromosome replication-cycle
3. 学会等名 Gordon Research Conference "Synthetic Biology" (国際学会)
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田 啓, 末次 正幸
2. 発表標題 複製サイクル再構成系における転写・翻訳の共役と分子進化の試み
3. 学会等名 第14回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 倉田竜明, 加納巧希, 末次正幸
2. 発表標題 多断片集積と増幅による長鎖環状DNAの試験管内合成法
3. 学会等名 第12回ゲノム微生物学会年会
4. 発表年 2018年

1. 発表者名 篠原 昶, 末次 正幸
2. 発表標題 複製サイクル再構成系を用いた安定的長鎖DNA増幅の試み
3. 学会等名 第14回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 奈良 聖亜, 末次 正幸
2. 発表標題 oriCトランスポゾンを用いた異種環状DNAの複製サイクル増幅
3. 学会等名 第14回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 長谷部 友憲, 成田 康平, 末次 正幸
2. 発表標題 大腸菌複製サイクル再構成系における ter-Tus 終結システムの検証
3. 学会等名 第14回 21世紀大腸菌研究会
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 高田 啓, 末次 正幸
2. 発表標題 転写・翻訳系と共役した大腸菌ミニ染色体複製サイクル再構成系
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会10.0
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 倉田 竜明, 小野 敬子, 萩生田 絵美, 末次 正幸
2. 発表標題 多断片DNAの同時連結と環状産物増幅による試験管内長鎖DNA作成法
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会10.0
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加納巧希, 倉田竜明, 篠原昶, 末次正幸
2. 発表標題 試験管内長鎖DNA増幅反応を利用したゲノムライブラリー作成法
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会10.0
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 奈良 聖亜, 末次 正幸
2. 発表標題 複製サイクル再構成系を用いたGCリッチな好熱菌プラスミドの丸ごと試験管内増幅
3. 学会等名 「細胞を創る」研究会10.0
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 倉田 竜明, 小野 敬子, 萩生田 絵美, 末次 正幸
2. 発表標題 複製サイクル再構成型増幅法による多断片連結環状DNAのクローニング
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 加納巧希, 倉田竜明, 篠原昶, 末次正幸
2. 発表標題 複製サイクル増幅法を用いた10万塩基対を超える長鎖ゲノム領域の無細胞クローニング
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 沼田 格, 竹本 訓彦, 秋山 徹, 末次 正幸
2. 発表標題 放線菌ミスマッチ修復系で働くタンパク質の生化学的解析
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 奈良 聖亜, 末次 正幸
2. 発表標題 長鎖環状DNAの複製サイクル増幅におけるoriCトランスポゾンの利用
3. 学会等名 ConBio2017
4. 発表年 2017年

1. 発表者名 末次正幸、徳永翼、高田啓、辻本寛子
2. 発表標題 ゲノム複製サイクル試験管内再構成系における変異誘発と分子進化
3. 学会等名 日本進化学会第18回大会ワークショップ「再構築型進化学研究 - 人工細胞から原始生物まで - 」(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 末次 正幸, 辻本 寛子, 高田 啓
2. 発表標題 大腸菌染色体複製サイクルと転写翻訳反応との統合再構成
3. 学会等名 第89回日本生化学会大会シンポジウム「生化学の基盤戦略：試験管内再構成」(招待講演)
4. 発表年 2016年

1. 発表者名 末次 正幸、平田 稜、倉田竜明、篠原 昶、辻本 寛子
2. 発表標題 10万塩基を超える長鎖環状DNAの無細胞クローニング
3. 学会等名 第11回ゲノム微生物学会年会シンポジウム「微生物での合成生物学」(招待講演)
4. 発表年 2017年

〔図書〕 計1件

1. 著者名 未次正幸	4. 発行年 2017年
2. 出版社 シーエムシー出版	5. 総ページ数 172-180
3. 書名 「ゲノム複製サイクル再構成系とその展望」、人工細胞の創製とその応用（植田充美 監修）	

〔産業財産権〕

〔その他〕

研究室WEBページ https://www2.rikkyo.ac.jp/web/sue-lab/
--

6. 研究組織

	氏名 (ローマ字氏名) (研究者番号)	所属研究機関・部局・職 (機関番号)	備考
研究分担者	高田 啓 (TAKADA Hiraku) (70747899)	立教大学・理学部・ポストドクトラルフェロー (32686)	自己複製系の構築とその区画化