

<科目名> 基礎生命科学実験  $\alpha$ 、生命科学実験  $\alpha$

<担当教員名> 市橋 伯一（先進科学研究機構・教授）

ichihashi@bio.c.u-tokyo.ac.jp

<講義題目> アドバンスト理科・研究入門



<講義内容>

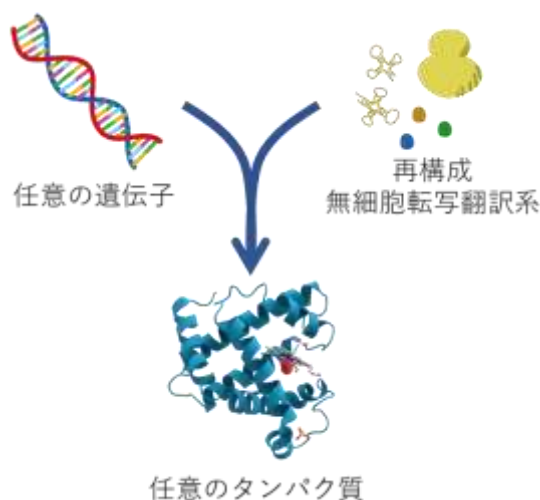
市橋研究室では、DNA、RNA、タンパク質といった生体分子を組み合わせて細胞が持つ機能を試験管内で再構成をする研究を行っています。近年の DNA 合成技術や無細胞遺伝子発現技術の向上により、遺伝子の配列さえわかれば、そこから DNA を合成し無細胞遺伝子発現系で転写と翻訳をして、その遺伝子にコードされているタンパク質の機能を調べることができるようになっていきます（図1）。例えば遺伝子情報のデータベースである Genbank には 2021 年の時点で 160 億もの遺伝子配列が登録されており、これらすべてから好きな遺伝子を選ぶことができます。市橋研究室ではこの技術を使って、自己複製し進化する能力をもつ分子システムを世界に先駆けて開発し、日夜進化実験を行っています。

市橋研究室の受講者には、好きな遺伝子を PCR 法により増やして、プロモーターと SD 配列をつけたのちに無細胞発現系でタンパク質へと翻訳し、そのタンパク質の機能を検出してもらいます。この過程で基礎的な遺伝子の操作技術、タンパク質の取り扱いや解析技術を学んでもらおうと思います。増やす遺伝子は配列がわかっているものでかつゲノム DNA が手に入るものに限りませんが、何とかなる場合もあるので選抜用課題に希望を書いてみてください。

特に好みの遺伝子がない場合は（普通はそうだと思います）こちらで候補遺伝子を用意しています。例えば、今年は一昨年に引き続き RNA 合成酵素（RNA polymerase）に注目しています。データベースには 50 を超える RNA 合成酵素が登録されていますが、研究や開発で使われているものは主として T7 RNA polymerase に限られています。T7 RNA polymerase は RNA ワクチンの製造にも使われていると言われており、産業上も重要な酵素です。しかし、データベース上にはもっと高活性で使いやすい RNA polymerase があるかもしれません。一昨年のアド理科では新たに 4 つの RNA 合成酵素を調べ、実際に T7 よりもある点で優れたものを見つけました（特許、論文準備中）。しかし、4 つ調べてこれですから、もっと調べたらもっといいものが取れそうな気がしています。そこで本実習ではさらに多くの（20 くらい）の RNA polymerase についてその機能と活性を調べてみようと思います。もしかしら今までの T7 RNA polymerase を置き換えるようなすごいものが見つかるかもしれません。

また希望する学生には学会発表をしてもらうことも可能です。実際に昨年の受講生は「細胞を創る研究会」での発表をすることができました。その場合は受講期間後も継続してサポ

ートを行います。



### 図1：無細胞転写翻訳系による遺伝子発現

本実習で用いる再構成無細胞転写翻訳系には、遺伝子の転写と翻訳に必要なすべての因子（リボソーム、翻訳タンパク質、tRNA、RNAポリメラーゼ、NTP、アミノ酸等）が含まれており、適切なプロモーターとシャイン・ダルガーノ配列をもった遺伝子を導入すれば任意のタンパク質を合成することができる。

#### <主な内容>

- ・ PCR プライマーの設計と PCR
- ・ DNA の精製
- ・ 無細胞遺伝子発現系を用いた RNA の転写とタンパク質の翻訳
- ・ タンパク質の SDS-PAGE による解析
- ・ タンパク質の機能アッセイ
- ・ 希望に応じてそのほかの実験

<募集人数> 1 名

<実験実施場所> 駒場 II キャンパス T 棟 301, 303 号室

#### <全体ガイダンス>

2025 年 3 月 21 日 13:00 からオンラインで行います

<https://u-tokyo-ac->

[jp.zoom.us/j/84192657413?pwd=X39IRHmdG6H613e4j1Qb03BBXjhdbM.1](https://u-tokyo-ac-jp.zoom.us/j/84192657413?pwd=X39IRHmdG6H613e4j1Qb03BBXjhdbM.1)

ミーティング ID: 841 9265 7413

パスコード: 391664

ガイダンスのときに研究内容と選抜方法の説明をします。ガイダンス自体に都合がつかず参加できなくても、以下の説明を読んで選抜課題をメールで提出してもらっても大丈夫です。

#### <選抜方法と選抜方針>

提出された課題の内容から選抜を行います。受講希望者は以下の選抜課題をメール添付で提出してください。

##### ・選抜課題

1. 生物の持つ分子機構の中で、非合理だと思える点を1つ挙げて、どう変えたら、どのような点でよくなりそうかを述べてください。

2. この実習で発現させて遺伝子があったら書いてください(無ければ書かなくていいです。評価には影響しません)。

**3月24日**までに上記1, 2について書いた答案をPDFにしてメール添付で以下のメールアドレスに送ってください。**3月31日**までに選抜された候補者にメールで連絡します。実習の内容や日程を相談し、合意が得られたのちに受講決定となります。

##### ・提出先

ichihashi@bio.c.u-tokyo.ac.jp

##### ・選抜方針

市橋研究室では、選抜において重視するのは「意欲」とDNA、RNA、タンパク質といった生体分子の「知識」です。ただ足りない知識は受講期間中に身につけると高い意欲があれば問題ありません。

##### ・講義形式

zoom や slack などのオンラインツールの活用も予定していますが、基本的には研究室に来てもらっての対面になります。ほとんどの時間は実験を行うことになります。デスクと実験台を用意します。