iGEM GUNMA 2021　銀メダル受賞

自主活動

実施日:　令和2年5月～令和 3年11月14日
実施場所:　(実験・準備)　群馬大学 桐生キャンパス・昭和キャンパス
(発表会場)　オンライン
参加者:　理工学部 電子情報理工学科3年　永井万都花、理工学部 化学・生物化学科2年　金城翔斗、医学部 医学科2年　小林ななみ、同　小川万裕、医学部 保健学科2年　三好菜穂

1. iGEMとは

【iGEM大会について】

iGEM (**I**nternational **G**enetically **E**ngineered **M**achine **C**ompetition) は、これまで毎年10月末に米国のボストンで開催されてきた、大規模な国際学生大会である。合成生物学の発展と学部生教育を2大目標とする。もともと米国MITの学内コースであったが、のちに他大学も受け入れ始めた。当初5チーム31人から始まったが、その活動内容の充実からおよそ10年で参者数は約5000人に急増した。現在は世界中から集まった300チーム以上が切磋琢磨する国際大会となった。大会では、BioBrickと呼ばれる規格化された遺伝子パーツを作製・組み合わせることにより、ユニークな遺伝子組換え生物の設計・構築を行い、その機能性、有用性そして独創性を競い，審査委員の厳しい評価を受ける。今年度はパリでの開催予定であったが、COVID-19の影響により11月4日～14日の期間にオンラインで発表および交流が行われた。

【iGEM GUNMA 2021 について】

初代iGEM GUNMAチームは2018年に設立され、2019年度のiGEM世界大会に初出場。テーマは「自滅する大腸菌」で銅メダル獲得の成績を残した。iGEM GUNMAを存続させるべく、2020年に新メンバー10名を募り、体制を改め、2021年度大会に向けて活動を行った。本活動には，遺伝子組換え実験が行われるため，全実験の責任者（Principal Investigator, PI）としての指導教員が必要であり，また学生は遺伝子組替え講習会の受講が必須となる。

新チーム創設～現在までの活動

(2020年)　5月　新メンバー募集開始　運営方針の決定
5月～8月　テーマ案検討ミーティング 過去プロジェクト調べ
8月　iGEM Meet Up (iGEM参加チーム交流会の一つ) 参加
理工学府・指導教員の決定(行木信一先生)
9月　勉強会開始
10月　練習実験
12月　Theme-brush up Meeting@Gunma
（意見交換会）開催
(2021年)　1月　テーマ決定
3月　医学部・指導教員の決定(平川秀忠先生)
実験計画書作成
温泉施設オンライン取材
4月　CAMPFIREにてクラウドファンディング
チーム登録、参加費 56万円支払い
プラスミド設計
バイオフィルムの実験モデルの作製開始
温泉施設見学訪問
5月～8月　大腸菌の遺伝子組換え実験・バイオフィルム実験
プロモーションビデオ作成
6月　ぐんま国際アカデミー（高等部）オンラインワークショップ
8月～9月　発表スライド、ポスター作成、動画作成
9月～10月　英語発表練習、wiki作成
※wiki：各チームがプロジェクトの要旨や活動を公開するためのWEBページ
11月　iGEM国際大会にて発表および他チームとの交流
12月～3月　クラウドファンディング返礼品対応

下調べ
↓
テーマ決定
↓
実験計画の立案
↓
遺伝子組換え実験・Human Practice
↓
実験結果の考察・まとめ
↓
wiki、動画の作成
↓
英語でのプレゼンテーション
@オンライン

図1 活動の大まかな流れ

【iGEM GUNMA 2021メンバー構成】

理工学部　5名 (総合理工学科1名/化学・生物化学科3名/電子情報理工学科1名)
医学部　5名 (医学科4名/保健学科1名)
指導教員　2名 (大学院理工学府 行木信一先生/大学院医学系研究科 平川秀忠先生)
実験インストラクター　3名 (理工学府学生2名/理工学部学生1名)
サポーター　3名 (理工学府学生1名/東京工業大学大学院学生1名/他)
特別サポーター　石崎泰樹先生（群馬大学学長）

2. 実験概要

iGEM GUNMA 2021のテーマは、
「群馬の温泉♨を微生物の力でより安全に！」(Break down Biofilm Bath)
プロジェクトのキャッチフレーズは、**「3Bs in Gunma」** (図2) である。

【バイオフィルムとは】

固体表面に接着した微生物の集合と細胞外マトリクスで形成される高次構造体をバイオフィルムと呼ぶ。細胞外マトリクスの構成成分は、多糖類・DNA・糖脂質の主に三種類である。バイオフィルムには細菌にとって好ましい環境を維持し、外的な攻撃から細菌を守る役割があり、土壌や排水溝、医療用カテーテル等で観察でき、ぬめりや病気等の様々な問題を引き起こす。

Break down Biofilm Bath ⇨ Bio-carrier of Biofilm Breaker enzyme

図2　3Bs in Gunma

【実験概要】

このバイオフィルムの構成成分の一つである**多糖類を分解する酵素を生成する大腸菌を遺伝子組換え実験によって作製すること**を目標とした。大腸菌により生成された酵素をバイオフィルムと反応させ、分解することで、殺菌剤が直接細菌を攻撃できるようにした(図3)。

医理工混合のチームであることを活かし、各学部で役割分担をして実験を行った。理工学部では多糖分解酵素のβ-グルコシダーゼあるいはα-ガラクトシダーゼを発現させるプラスミドを作製し大腸菌に導入させ、分解酵素の大量発現を試みた。医学部ではバイオフィルムのモデルを作製し、これらの酵素によるバイオフィルムの分解能をクリスタルバイオレット法を用いて定量化、さらに共焦点顕微鏡を用いて可視化した。

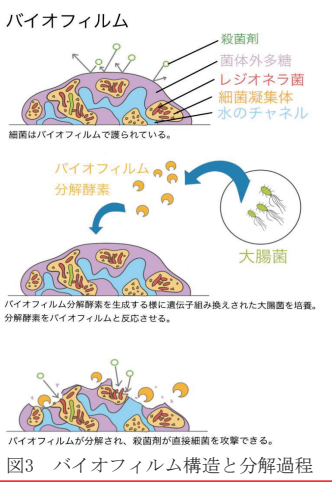

図3　バイオフィルム構造と分解過程

3. 実験方法・結果

右図のように各学部で分担および連携を深めながら実験を進めた(図4)。

いくつかのバイオフィルム分解酵素の分解能検討の結果から、私たちはα-ガラクトシダーゼを発現させることを決定した。この酵素を発現させるプラスミドを大腸菌に導入し、SDS-PAGEを用いて発現確認を行ったところ、図5に示す通り、バンドの有無とが確認できた。更に、α-ガラクトシダーゼを粗精製したのち、バイオフィルムに添加して酵素の分解活性を確認した。結果、図6に示す通り、バイオフィルムが薄くなり、密度が低下していることが示された。

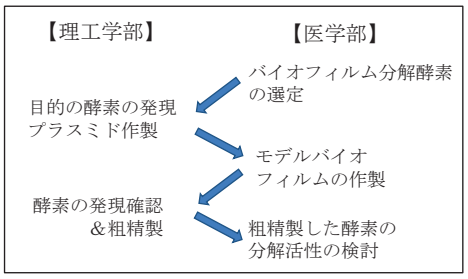

図4 実験の流れ

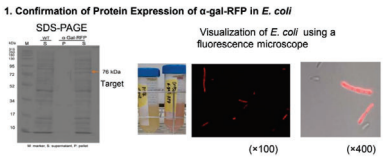

図5 実験結果の一例

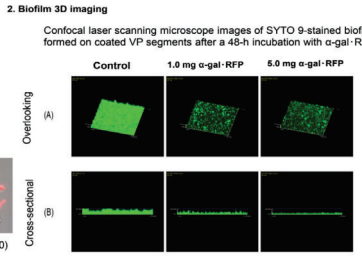

図6 実験結果の一例

4. Human Practice (社会貢献活動)とCollaboration (チーム交流)

iGEMは合成生物学の大会だが、プロジェクトの社会への貢献性、持続性、倫理、インクルージョンなど様々な分野の問題に多角的に取り組むことも要求される。大会の評価基準にはHuman PracticeとCollaborationの項目が組み込まれており、参加チームは社会貢献活動や他チームとの協力を積極的に行う必要がある。

【Human Practice】

循環式温泉でのバイオフィルム予防対策や実態について学ぶため、群馬県内の温泉施設とのビデオ通話を介したインタビュー、訪問見学を行った(図7)。

また、合成生物学についての知識と理解を広めるとともに、科学的な思考の育成を支援するべく、県内のぐんま国際アカデミーの高校2年生を対象にPCRについてのワークショップ(オンライン)を開催した(図8)。

図7 恵みの湯 見学訪問

【Collaboration】

早稲田大学チーム主催の"iGEM Meet up"（参加チーム交流会）に参加し、プレゼンテーションを行った。また、"Theme-brush up Meeting@Gunma"（意見交換会）を主催し、岐阜大学、東京理科大学、早稲田大学、東京大学、九州大学のiGEMチームとの交流を深めた。

京都大学と九州大学のチームとは、研究や意見交換を通じた継続的な協力を行うパートナーシップを結び、盛んな意見交換を行った。

図8 ワークショップの様子

5. 資金調達・その他

iGEM活動や大会への参加には多額の費用を要することから、CAMPFIRE（クラウドファンディング）を活用するなどして資金調達を行った。また、今年度から始動した優れた研究計画を提出したチームに与えられる2021 iGEM Impact Grantを授与し、資金を得た。その他、大学院理工学府 板橋英之先生からの口添えによりGUDI様からの支援金、GFLプログラムからの活動支援、コングラント等による寄付をいただいた。

電子情報理工学科の学生を中心にチームのwikiを作成し、チームの成果を報告した。
(本チームのwikiページ https://2021.igem.org/Team:Gunma)

また、オンライン開催であったため、チームやプロジェクトの紹介動画を各チームが作成し、事前に提出した(図9)。各チームが作成した動画は、iGEMのHPにて発表前に閲覧が可能であった。

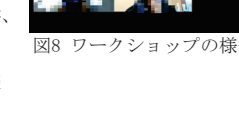

図9　プロジェクト紹介動画

6. 総括

今年度のiGEM GUNMAでは、群馬県が日本だけなく世界に誇る「温泉」に着目し、温泉施設でさまざまな問題の原因となっている「バイオフィルム」を効率よく分解する大腸菌のデザインおよび作製を行った。その成果が評価され、混成2年生チームながら「銀メダル」を受賞した(図10)。

図10　表彰状

7. 謝辞

指導教員の行木先生、平川先生をはじめ、学長 石崎先生、医学系研究科富田治芳先生、未来先端研究機構 柴田淳史先生、理工学府 板橋先生には多大なるご指導ご援助をいただき、心より御礼申し上げます。また、GFL事務の皆さまには日ごろより様々なご支援をいただき、感謝申し上げます。
また、本ポスター作製には，iGEMメンバーにご協力いただきました。