公告本

99年6月9日修正補充頁

發明專利說明書

中文說明書替換頁(99年6月)

（本說明書格式、順序及粗體字，請勿任意更動，※記號部分請勿填寫）

※ 申請案號：095148784

※ 申請日期：95.12.15　　※IPC 分類：C12N 5/10, 15/63

一、發明名稱：（中文/英文）

細胞或類細胞系統中基因組或部分基因組之置入

INSTALLATION OF GENOMES OR PARTIAL GENOMES INTO CELLS OR CELL-LIKE SYSTEMS

二、申 請 人：（共 1 人）

姓名或名稱：（中文/英文）

美商合成基因組公司

SYNTHETIC GENOMICS, INC.

代表人：（中文/英文）

瑪莉亞 費爾南達 甘達拉

GANDARA, MARIA FERNANDA

住居所或營業所地址：（中文/英文）

美國加州拉荷亞市北托瑞松路11149 號

11149 NORTH TORREY PINES ROAD, LA JOLLA, CA 92037, U.S.A.

國　籍：（中文/英文）

美國　　U.S.A.

[S]

三、發明人：(共 7 人)

姓　名：(中文/英文)

1. 約翰　I　葛拉斯
   GLASS, JOHN I.
2. 賴永
   YOUNG, LEI
3. 卡羅　拉堤葛
   LARTIGUE, CAROLE
4. 那希拉　阿薩德-賈西亞
   ASSAD-GARCIA, NACYRA
5. 漢彌頓　O　史密斯
   SMITH, HAMILTON O.
6. 克萊德　哈奇森
   HUTCHISON, CLYDE
7. J　奎格　文特
   VENTER, J. CRAIG

國　籍：(中文/英文)

1. 美國　U.S.A.
2. 澳大利亞　AUSTRALIA
3. 美國　U.S.A.
4. 美國　U.S.A.
5. 美國　U.S.A.
6. 美國　U.S.A.
7. 美國　U.S.A.

四、聲明事項：

☐ 主張專利法第二十二條第二項☐第一款或☐第二款規定之事實，其事實發生日期為：　年　月　日。

☑ 申請前已向下列國家（地區）申請專利：

【格式請依：受理國家（地區）、申請日、申請案號　順序註記】

☑ 有主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1. 美國；2005年12月23日；60/752,965

2.

☐ 無主張專利法第二十七條第一項國際優先權：

1.本案在向中華民國提出申請前未曾向其他國家提出申請專利。

2.

☐ 主張專利法第二十九條第一項國內優先權：

【格式請依：申請日、申請案號　順序註記】

☑ 主張專利法第三十條生物材料：

☐ 須寄存生物材料者：

國內生物材料　【格式請依：寄存機構、日期、號碼　順序註記】

國外生物材料　【格式請依：寄存國家、機構、日期、號碼　順序註記】

☑ 不須寄存生物材料者：

所屬技術領域中具有通常知識者易於獲得時，不須寄存。

五、中文發明摘要：

本發明提供一種將基因組引入細胞或類細胞系統中之方法。該所引入基因組可天然產生，藉助於或未藉助於自動化經人造，或可為天然產生物質及人造物質之雜合物。該基因組係在最小損害程度下自細胞外部獲得。諸如蛋白質、RNA、多價陽離子、核狀體縮合蛋白質、或基因轉譯系統之物質可伴隨該基因組產生。該基因組係置入一天然產生細胞中或置入一人造類細胞系統中。實施所提供方法而獲得之類細胞系統或合成細胞可經設計且用以產生諸如所要蛋白質之基因表現產物。由於能合成包括多種基因組、伴隨物質及膜類型之細胞或類細胞系統，所提供方法可以比使用先前技術方法時更擴大實驗及生物工程技術領域。

六、英文發明摘要：

七、指定代表圖：

(一)本案指定代表圖為：第（ 1 ）圖。

(二)本代表圖之元件符號簡單說明：

102	緊密螺旋核酸分子
104	支架蛋白質
106	核糖體
108	伴隨小分子
110	單股核酸分子
112	膜定界含水容積

八、本案若有化學式時，請揭示最能顯示發明特徵的化學式：

（無）

九、發明說明：

【發明所屬之技術領域】

本發明大體而言係關於細胞生物學，且更特定而言係關於細胞或類細胞系統之合成。

【先前技術】

改變細胞基因組及膜之方法適用於測試細胞生物學領域之假設，以及適用於生物工程化具有特製基因組之細胞模型、設計細胞及生物體。設計或改變細胞之一新近方法為自細菌細胞剔除基因以獲得具有比天然產生基因組更小之基因組之細胞，其儘管如此仍能夠具有諸如繁殖之某些功能。雖然該等方法提供瞭解基因組功能及設計之一些能力，但是能夠更完全控制基因組之內含物、細胞膜及細胞體積之方法將經由高級實驗控制及生物工程能力而產生科學及技術進步。

所要的為合成細胞或類細胞系統以便所要基因組可置入目標細胞、脂粒或其他由膜定界之容積中之方法。容許使用無論天然產生、人造或天然及人造核酸序列之雜合物與否之任一基因組，容許特製細胞環境及基因組環境，諸如包含或排除呈各種規模之物質(例如，小分子、蛋白質及/或核糖體或核酸轉譯及/或轉錄系統）且容許設計細胞膜(又，自天然產生膜、能夠形成含水代謝區之人造物質，或該等膜及物質之雜合物來提取)之方法將打開基因組及細胞實驗及設計至基礎研究及生物技術發展之廣闊前景。

【發明內容】

本發明提供將基因組置入細胞或類細胞系統之方法。所置入或引入基因組可為天然產生的，用或不用自動化來人造的，或可為天然產生物質及人造物質之雜合物。精緻基因組係以最小損害在細胞外部獲得。穩定該基因組或另外使其順應轉移至接受細胞或類細胞系統的物質(諸如蛋白質、RNA、多價陽離子，或甚至如基因轉譯系統中之系統)，可伴隨該基因組。基因組之一些DNA核苷酸可經甲基化或另外經修飾以使基因組更類似天然染色體。若正常組態為圓形，則基因組可經鬆弛、緊密螺旋或甚至線性化。基因組係引入天然產生細胞中或引入人造類細胞系統中，諸如引入脂質泡囊或天然產生基因組已經抑制或自其消除之空骸細胞中。得自所提供方法之實踐之類細胞系統或合成細胞可經設計且用以產生諸如所要蛋白質之基因表現產物，或用以產生其之經設計基因組使其能夠具有任一天然細胞不可執行之非凡的活性(諸如合成包括標準20個胺基酸以外者之肽)的新穎人造細菌物種。藉由使包括多種基因組、伴隨物質及膜類型之細胞或類細胞系統能夠合成，所提供之方法使比使用先前技術方法可用之更廣領域之實驗及生物工程成為可能。

【實施方式】

設計包含基因組、膜及細胞質或由膜定界之含水體積之細胞或類細胞系統之能力在細胞生物學及生物技術領域特別有價值。

本發明之實施例提供用於合成細胞或類細胞系統之方

法。"類細胞系統"為類似天然產生細胞，但無人類介入時不發生之系統。類細胞系統包含基因組或部分基因組已置入(或"引入")其中之哺乳動物紅血球(哺乳動物天然紅血球不含有基因組)、已引入基因組之"空骸細胞"、已引入基因組之藉由磷脂雙層(無論得自天然產生細胞膜、人造或天然產生及人造組份之雜合物與否)密封之含水體積及已引入基因組之藉由脂質泡囊密封之含水體積。空骸細胞為原本天然地密封基因組之細胞，但天然產生之基因組由於引起一些細胞成為不含基因組之遺傳程式或因為基因組已移除或失活而缺失。部分基因組包括一或多個染色體或染色體片段。舉例而言，部分基因組可為天然產生基因組之任一部分、一或多個天然產生染色體之一或多個片段，或一或多個天然產生染色體及一或多個人造核酸序列之一或多個片段、一或多個人造核酸序列或人造核酸序列片段等。

空骸細胞可藉由包含但不限於諸如紫外輻射及γ輻射之物理方法、包含微細胞之遺傳方法及用諸如抗生素及過氧化物之化合物之處理的任一方式來產生。在一例示性實施例中，天然產生基因組自人肺炎黴漿菌(*Mycoplasma pneumoniae*)之細胞及生殖道黴漿菌(*Mycoplasma genitalium*)之細胞移除，且將生殖道黴漿菌基因組引入人肺炎黴漿菌空骸細胞中。在一些實施例中，空骸細胞自鱷魚支原體(M. *alligatoris*)及/或山羊支原體(*M. capricolum*)產生。因為該兩者生長迅速，使用其產生結果比花3週以形成微觀菌落之生殖道黴漿菌，或需要數天以形成菌落之

人肺炎黴漿菌之彼者更快。

天然產生基因組可藉由任一方法，例如藉由溶解及消化自細胞移除。在一例示性實施例中，用pH 7.4之包括8 mM HEPES與272 mM蔗糖之電穿孔緩衝液洗滌生長於SP4培養基中，呈懸浮液或附著於燒瓶之約10^{10}至約10^{13}個支原體(*Mycoplasma*)細胞。在4℃下，將經洗滌細胞添加至2.5 mL之電穿孔緩衝液，濕磨以打碎任一細胞凝塊，且在4℃下，藉由以4,575 g下離心10 min來粒化。將上層清液傾析且離心管倒轉幾分鐘以最小化殘餘上層清液。將細胞再懸浮於100 μL之電穿孔緩衝液加上10%甘油中，且在約56℃下與相等量之2%低熔點瓊脂糖混合。將所得細胞懸浮液澆注於矩形區塊中而瓊脂糖仍呈液體狀態。隨後，在約50℃至56℃下，將各區塊或"栓塞"，在每mL之栓塞5 mL之蛋白酶K反應調配物(包括pH 8.0之100 mM乙二胺四乙酸(EDTA)、0.2%去氧膽酸鈉、1%月桂基肌胺酸鈉、2%十二烷基硫酸鈉及1 mg/mL蛋白酶K)中消化隔夜。隨後，在包括pH 8.0之20 mM三羥甲基胺基甲烷緩衝液(Tris buffer)及50 mM EDTA之洗滌緩衝液中，經4次30 min之攪動將栓塞洗滌。用於第二或第三次洗滌之洗滌緩衝液亦包括1 mM苯基甲基磺醯基氟。合成基因組亦可在引入細胞或類細胞系統中之前以此方式操作。

在該點上，基因組DNA相對不含蛋白質及其他細胞質組份，且係懸浮於瓊脂糖中，該瓊脂糖保護其避免剪應力及可在任一後續任意次之於pH 7.4之8 mM HEPES與272 mM

蔗糖中之透析或其他操作期間分裂基因組之其他力。基因組DNA視需要可經受脈衝場凝膠電泳以自片段基因組完整分離。共價密閉圓形基因組在脈衝場凝膠電泳中為相對固定的，而直鏈DNA分子、RNA及任何剩餘肽電泳出瓊脂糖栓塞。因此，在脈衝場凝膠電泳後，栓塞高度富集共價密閉圓形雙鏈體DNA基因組。含基因組之瓊脂糖栓塞可自脈衝場凝膠移除且經處理以用於引入細胞或類細胞系統中。經切除之栓塞可在室溫下，在pH 7.5之10 mM三羥甲基胺基甲烷緩衝液、1 mM EDTA、200 μM精胺(或另一多元胺，諸如聚乙醇胺，或諸如Dps之核狀體縮合蛋白質)及25 mM NaCl中透析30 min以另外經由篩檢其負電荷壓緊DNA。(視需要)在添加4 μg/mL低分子量聚-L-離胺酸後，瓊脂糖可用瓊脂水解酶來消化，且可添加商業脂質體產生試劑以產生適用於經由轉染將基因組引入細胞或類細胞系統中之混合物。合成基因組亦可在引入細胞或類細胞系統中之前以此方式操作。

自細胞獲得天然產生基因組之替代性實例包含在液體中而非瓊脂糖中之溶解及消化。藉由在4℃下，以4,575 g離心10 min來粒化後，藉由添加最終濃度1%之十二烷基硫酸鈉來溶解細胞。添加EDTA至100 mM之最終濃度，以10 U/mL添加RNase A且在37℃下，將混合物培育30 min，且隨後以約20至約100 μg/mL之濃度添加蛋白酶K且在55℃下將混合物培育約3至約16小時。隨後，使基因組DNA在3體積之乙醇中沉澱，將沉澱容器輕輕滾動以便DNA附著於其

壁，移除液體且用冷70%乙醇將DNA洗滌數次且用TE緩衝液(包括pH 7.4之10 mM三羥甲基胺基甲烷HCl及1 mM EDTA)洗滌一次。移除乙醇/TE緩衝液且將DNA乾燥，且隨後再懸浮於TE緩衝液加上5%蔗糖中。合成基因組亦可在引入細胞或類細胞系統中之前以此方式操作，並具有最小DNA破壞。

所引入基因組可為任一基因組，諸如天然產生基因組、在或不在生物資訊或其他理論或計算方法之輔助下製造之基因組，或一或多個天然產生及/或人造基因組之雜合物或嵌合體。舉例而言，一或多個生物體或細胞器中之天然產生基因之叢集可在或不在自動化實驗室設備之輔助下，插入微生物體或細胞器之天然產生基因組中。在一些實施例中，所引入基因組為諸如大腸桿菌微小基因組或生殖道黴漿菌微小基因組之微小基因組。

在一例示性實施例中，基因組係藉由任一路徑，藉由裝配可互換核酸"卡匣"來製備。卡匣為具有任一長度之核苷酸序列，其經設計以包括一或多個基因或基因片段及視需要一或多個調節、結構或實驗序列。包含於卡匣中之基因可呈任一次序(例如自天然產生次序"打亂")，可出現多次且可為不完全的或藉由諸如基因或基因之部分之其他核酸區段而中斷。包含於卡匣中之核苷酸序列可天然產生，可用或不用自動化或電腦輔助來人造或為一或多個天然產生序列及一或多個人造序列之雜合物。

所引入基因組可包括任一種類之核酸分子。舉例而言，

所引入基因組可包括具有或不具有經修飾或取代核苷酸之DNA(去氧核糖核酸)、RNA(核糖核酸)或PNA(蛋白質核酸)之一或多個單元的一或多個伸展物。經修飾或取代核苷酸包含通常不產生於生物性衍生核酸分子中之彼等者，諸如生物素標記核苷酸及具有經改變環、磷酸鹽或糖部分之核苷酸。核酸分子可包括基因以及諸如一或多個蛋白質或其他物質之結合位點，或經設計用於連接至受質或用於任一其他目的之位點之非編碼區域。所引入核酸分子可得自包含動物、植物或包含古細菌(archaebacteria)之原生生物之細胞、病毒、亞細胞細胞器之任一來源及/或化學合成。所引入核酸分子可為諸如非標準胺基酸之胺基醯基tRNA合成酶之非天然產生蛋白質或酶類的從頭計算設計之結果。

核酸分子視需要可折疊、緊密螺旋或壓縮。在一例示性實施例中，所引入核酸分子為雙股，但單股核酸分子或具有其他幾何形狀之核酸分子包括在本發明範圍內。

引入基因組可藉由任一方式來執行。舉例而言，基因組或另一核酸分子可密封於脂質體或微胞中或與脂質體或微胞複合，該脂質體或微胞可或亦可不含有諸如支撐蛋白質分子之另一物質、轉錄及轉譯之系統、元素離子、塑性或其他粒子及/或小分子化合物。其次，含有基因組或與基因組複合之微胞或脂質體可在促進將脂粒內含物併入細胞中之情況下與目標宿主細胞接觸。將基因組置入接受細胞或類細胞系統中之其他方法包含物理方法，諸如：光學

鑷、磁力輔助轉染法(其中使欲引入之基因組結合於磁性奈米珠粒上且隨後藉由磁力拉入接受細胞中)、雷射增強轉型法、彈道法(其中使欲引入之基因組DNA與金或鎢奈米粒子複合且隨後在高速下打入接受細胞中)及電穿孔法；化學方法，諸如：聚乙二醇介導方法、使用環肽經由建立於細胞中之合成孔隙之引入法、使欲引入之DNA於接受細胞上經由鈣介導沉澱後之引入及DNA之乙酸鋰介導沉澱法；及生物性方法，諸如：將瓊脂栓塞中之DNA簡單塗覆至接受細胞，接著吸收DNA，基因融合肽及誘導天然能力。

在一例示性實施例中，經由脂粒感染(將脂質體與目標細胞融合以將脂質體內含物傳遞至上文所述之目標細胞)將含有抗生素抗性標記(諸如tetM)之生殖道黴漿菌染色體引入一或多個生殖道黴漿菌或人肺炎黴漿菌細胞。希望一或多個目標細胞缺乏抗生素抗性標記，因此保留對四環素(tetracycline)之敏感性，所引入基因組對四環素有抗性。脂粒感染後一天，可將四環素添加至用於一或多個目標細胞之生長培養基以便僅一或多個已將基因組引入其中之目標細胞將生長。可必要地將接受細胞之同源重組蛋白質(RecA)去能以避免抗生素抗性標記重組至接受細胞中。

在另一例示性實施例中，來自絲狀黴漿菌(*M.* mycoides)之基因組DNA係如上文所述經由於瓊脂糖中之消化來分離。將含有純化DNA一或多個瓊脂糖栓塞熔融，與聚乙靈亞胺及陽離子脂質體(例如，LIPOFECTAMINE™ 2000

(Invitrogen))混合且經由脂粒感染將基因組DNA引入一或多個山羊支原體細胞中。在一例示性實施例中，使用聚乙二醇介導方法，將來自絲狀徵漿菌大菌落之裸基因組DNA引入一或多個山羊支原體細胞中。

可將基因組引入細胞或類細胞系統中。例示性實施例包含，將基因組引入活植物、動物、真菌、酵母、粒線體、葉綠體或其他細胞或細胞器中，無論在活體內、培養物內或在其他情況下與否，將基因組引入天然產生基因組已自其移除之細胞及/或將基因組引入藉由任一方法得到之由膜定界之容積中，諸如引入紅血球或於水溶液中之人造脂質泡囊中。舉例而言，基因組可藉由溶解及消化自水生原生生物移除且藉由電穿孔(亦參見上文所引用之美國臨時專利申請案第60/752,965號)引入空骸細胞中。或者，可將含有抗生素抗性基因之基因組或其他可選擇標記引入活植物、動物、真菌、酵母、粒線體、葉綠體或其他細胞或細胞器中以便細胞或細胞器暫時含有所引入基因組及其原有基因組。隨後，後續細胞或細胞器分裂將所引入基因組隔離成新的子細胞或細胞器。隨後，彼細胞或細胞器呈現藉由其所引入基因組程式化之表型。

在一些實施例中，產生可或不可能自身複製之合成細胞。在一例示性實施例中，將基因組引入已含有天然產生基因組之細胞中，且該細胞分成兩個細胞，一者含有天然產生基因組且另一者含有所引入基因組。合成細胞包含含有所引入基因組之細胞以及可認作為工程化細胞之其他微

生物體，例如天然產生基因組已自其移除且不同已引入基因組之細胞。

在一例示性實施例中，一或多個能夠複製之合成細胞含有經設計以在某些條件下表現一或多個特定基因產物之基因組。舉例而言，天然產生基因組可自大腸桿菌細胞移除，且所引入基因組包括於已知生長培養基中之大腸桿菌之最小基因組及用於表現一或多個諸如胰島素肽之治療肽之卡匣。在促進其複製及表現治療肽之條件下培養經改變細胞或合成細胞之一或多者，隨後可將治療肽收集。熟習此項技術者將能容易地測定適於細胞複製及表現一或多個所要基因產物之條件。

圖1為說明用於將基因組或部分基因組置入細胞或類細胞系統中之例示性方法之圖。細胞外部之基因組可包括(例如)裸DNA(未圖示)或具有一或多個支架蛋白質104之一或多個緊密螺旋核酸分子102，或具有一或多個支架蛋白質104及一或多個核糖體106之一或多個緊密螺旋核酸分子102(並非按比例)或具有一或多個支架蛋白質104、一或多個核糖體106及一或多個伴隨小分子108及一或多個單股核酸分子110之一或多個緊密螺旋核酸分子102。可將一或多個基因組引入諸如脂質泡囊之由膜定界之含水容積112中。在一例示性實施例中，將包括具有經添加以產生番茄蛋白質之卡匣及具有所添加標記核苷酸之最小生殖道黴漿菌基因組之基因組於瓊脂栓塞中引入仍含有其天然產生基因組之大腸桿菌細胞。

圖2為說明用於將包括緊密螺旋DNA 202、支架蛋白質204及核糖體206之基因組或部分基因組(並非按比例)置入仍含有其天然產生基因組210之大腸桿菌細胞208中之例示性方法的圖。在該例示性實施例中，具有兩個基因組之細胞沿圖中之假設三線分開以產生具有天然產生大腸桿菌基因組210之子細胞及具有所引入基因組202之合成子細胞。子細胞可另外自身複製。

圖3為說明用於使用一或多個合成細胞來產生受關注之基因表現產物之例示性方法的圖。在一例示性實施例，合成基因組302包括自天然細胞移除之天然產生基因組，編碼所要蛋白質之人造卡匣已剪接至該天然細胞中。基因組302係呈具有支架蛋白質304之雙股、緊密螺旋DNA形式。使用(例如)光學鑷將基因組302引入空骸細胞306中。製備一或多個具有該等基因組302之該等合成細胞308且將其塗於生長培養基310上，該生長培養基向合成細胞308提供自身複製，形成一或多個菌落312及表現所要蛋白質之能力。

雖然各種實施例已描述於上文，應瞭解其僅以舉例方式呈現且不為限制。舉例而言，可使用達到所提供方法之核酸內切酶反應組份之任一其他組群。因此，較佳實施例之寬度及範疇不應藉由上文所述之例示性實施例之任一者來限制。

【圖式簡單說明】

圖1為說明用於將基因組或部分基因組置入細胞或類細

胞系統中之例示性方法之圖。

圖2為說明用於將包括緊密螺旋DNA、支架蛋白質及核糖體之基因組或部分基因組(並非按比例)置入仍含有其天然產生基因組之大腸桿菌(*E. coli*)細胞中之例示性方法的圖。

圖3為說明用於使用一或多個合成細胞來產生受關注之基因表現產物之例示性方法的圖。

【主要元件符號說明】

102	緊密螺旋核酸分子
104、204、304	支架蛋白質
106、206	核糖體
108	伴隨小分子
110	單股核酸分子
112	膜定界含水容積
202	緊密螺旋DNA
208	大腸桿菌細胞
210	天然產生基因組
302	合成基因組
306	空骸細胞
308	合成細胞
310	生長培養基
312	菌落

第095148784號專利申請案
中文申請專利範圍替換本(102年6月)

102年6月6日修(更)正本

公告本

十、申請專利範圍：

1. 一種製造細菌合成細胞之方法，該方法包括：

(i) 製備用於置入基因組之黴漿菌目標細胞；

(ii) 自與黴漿菌目標細胞不同種之黴漿菌細胞分離共價密閉圓形雙鏈體基因組，其中該經分離之黴漿菌基因組係懸浮於瓊脂糖中；及

(iii) 將該經分離之黴漿菌基因組引入黴漿菌目標細胞，其中該經分離之黴漿菌基因組包含人造基因組，

其中該經引入之黴漿菌基因組能自身複製且不與黴漿菌目標細胞之基因組重組，藉此使該目標細胞呈現其所引入基因組所設定之表型，由此生產不包括目標細胞基因組之細菌合成細胞。

2. 如請求項1之方法，其中該分離步驟另包含：

a) 將與黴漿菌目標細胞不同種之黴漿菌細胞再懸浮於融化之瓊脂糖組合物；

b) 將該再懸浮之細胞以可有效溶解細胞之溶解混合物消化，其中該溶解混合物包含蛋白酶及清潔劑；

c) 清洗該溶解之細胞以形成在瓊脂糖組合物中之黴漿菌基因組懸浮液；及

d) 視情況將線性DNA分子、RNA及肽與該基因組分離。

3. 如請求項1或2之方法，其中該引入步驟另包含：

a) 視情況移除、消化或融化該基因組懸浮液中之瓊脂糖；及

b) 在陽離子脂質體存在下或在聚乙二醇存在下將該基因組與目標細胞結合。

4. 如請求項1或2之方法，其中該與黴漿菌目標細胞不同種之黴漿菌細胞為絲狀黴漿菌(*M. mycoides*)，且該目標細胞為山羊支原體(*M. capricolum*)。

5. 如請求項1或2之方法，其中該與黴漿菌目標細胞不同種之黴漿菌細胞為生殖道黴漿菌(*M. genitalium*)，且該目標細胞為人肺炎黴漿菌(*M. pneumoniae*)。

6. 如請求項1或2之方法，其中該人造基因組包括一包含一或多種天然產生組份及一或多種人造組份之雜合基因組。

7. 如請求項1或2之方法，其中該人造基因組為最小限度基因組。

8. 如請求項1或2之方法，其中該目標細胞之基因組在引入經分離之黴漿菌基因組前移除。

十一、圖式：

公告本

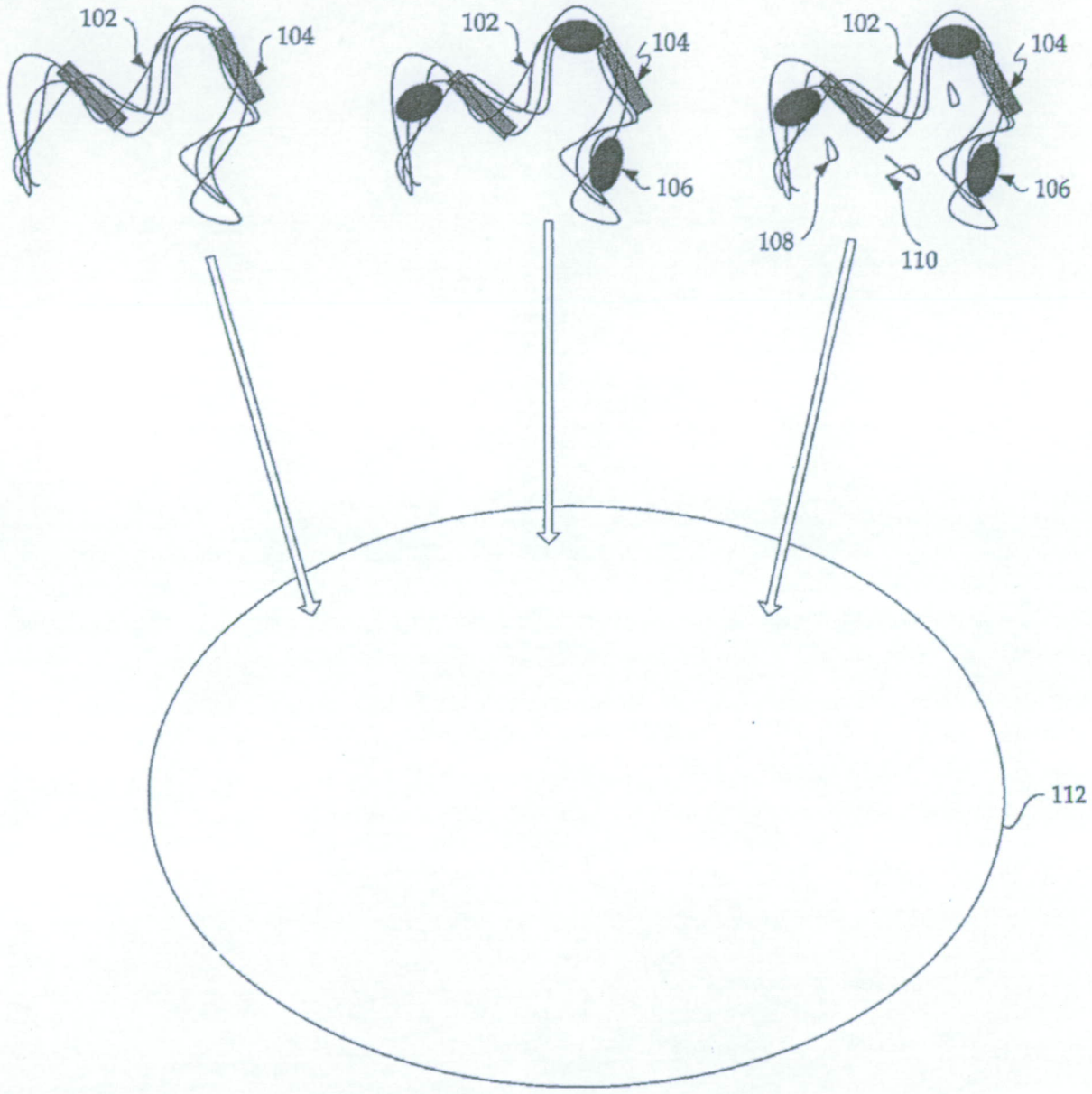

圖1

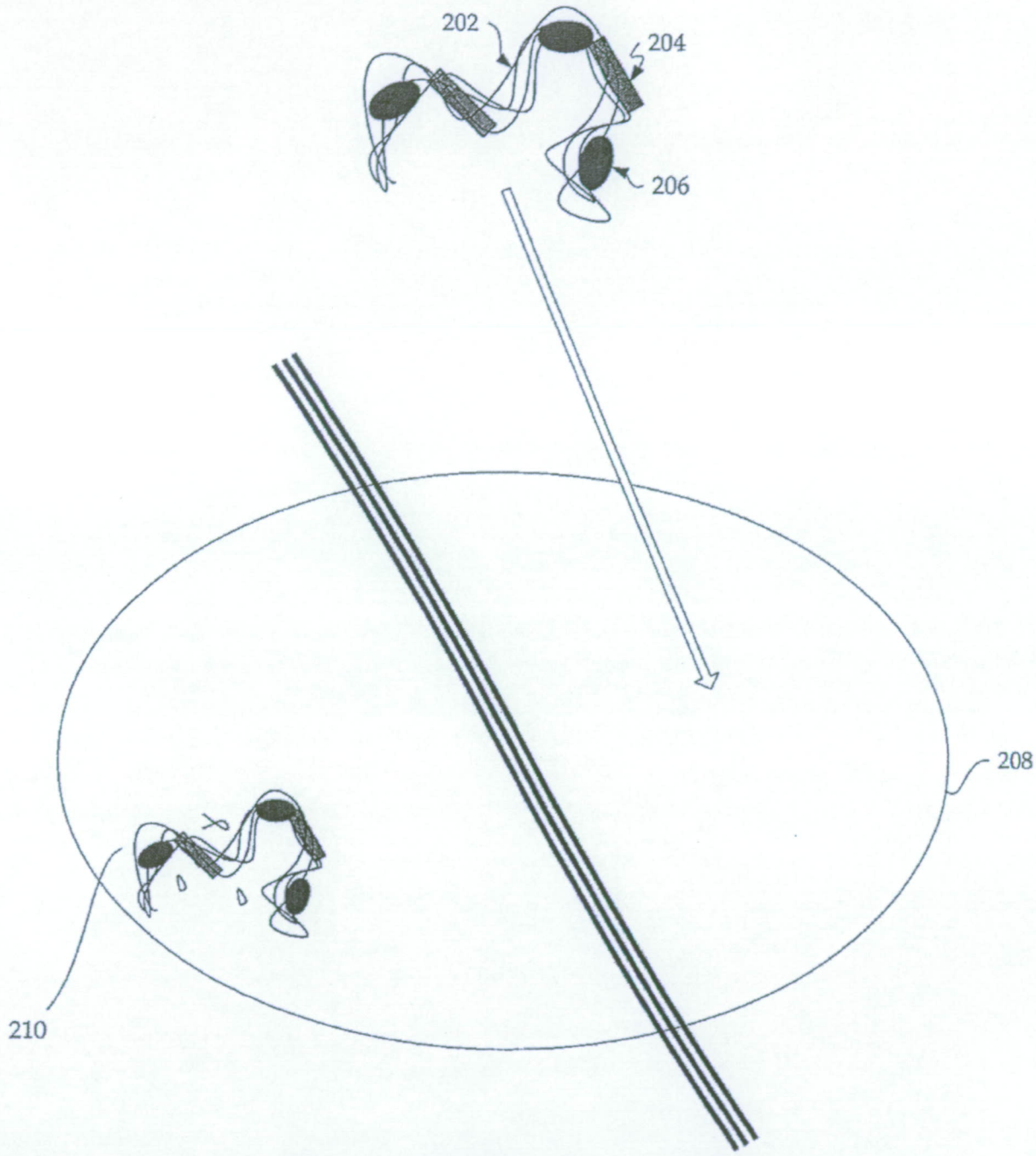

圖2

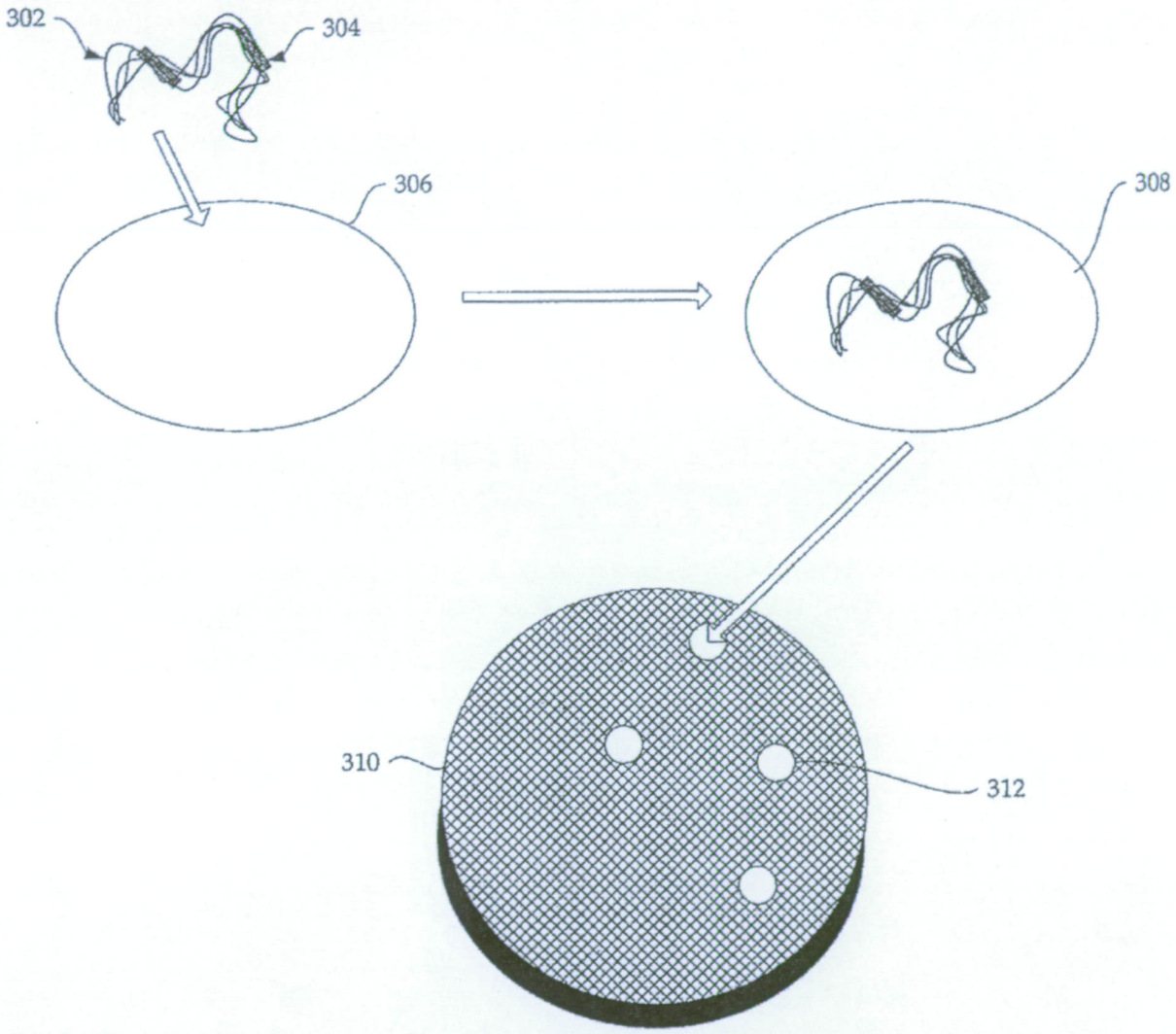

圖3