

研究区分	教員特別研究推進 独創・先進的研究
------	-------------------

研究テーマ	バイオプロダクションに資する微生物のエネルギー代謝改善法の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	原 清敬
	研究分担者	所属・職名	神戸大学・准教授	氏名	石井 純
		所属・職名	大阪大学・准教授	氏名	戸谷 吉博
		所属・職名	大阪大学・教授	氏名	松田 史生
		所属・職名	名古屋工業大学・特任准教授	氏名	角田 聡
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	原 清敬

講演題目
<i>Xanthophyllomyces dendrorhous</i> を用いた食品未利用パスタ資源からのアスタキサンチン生産
研究の目的、成果及び今後の展望
<p>【目的】 現在、微生物を用いた有用物質生産において、遺伝子組換えにより物質生産性を向上させる研究が広く行われている。本研究では物質生産性を向上させるために、出芽酵母内に存在する酸性オルガネラである液胞に注目した。液胞膜には、液胞内部を酸性に維持するためにアデノシン三リン酸(ATP)を消費してプロトンを送る V-ATPase が存在している。そこで、本研究では、液胞膜に光駆動型プロトンポンプであるデルタロドプシン(dR)を発現させ、液胞膜における ATP 消費を抑えることで、節約された ATP により、様々な有用物質生産の補強を目的とした。生産物の指標としては、生産の際に ATP を消費する有用物質であるグルタチオン(GSH)を用いた。</p> <p>【成果】 出芽酵母 BY4741 株に液胞膜移行タンパク質 Vph1 を融合させた GFP を発現させ、GFP の局在を確認した。Vph1 に dR を融合した株、およびベクターコントロール株を光受容分子である all-trans-retinal および要求性アミノ酸を含む最小培地にて、光の照射下または非照射下で培養し、任意の時間に細胞濃度やグルタチオン濃度等の測定を行った。また、V-ATPase のプロトンポンプを失活させた BY4741 株の液胞膜にも dR を液胞膜に発現させ、同様の実験を行った。BY4741 株に Vph1 を発現させた株において GFP の蛍光の観察により、Vph1 が液胞膜局在タグとして機能することを確認できた。測定試験の結果、dR 発現株では発現させてない株に対して、細胞の増殖速度は落ちたが、GSH 濃度が上昇した。また時間経過に従って GSH 濃度は減少したが、dR の存在により GSH 濃度の減少が抑えられた。さらに、光の強さと GSH 濃度の相関は細胞の増殖期でわずかに確認できた。一方、減少が抑えられた元の液胞膜プロトン輸送活性を失活させた結果、GSH 濃度が上昇した。この株の液胞膜にさらに dR を発現させた結果、細胞増殖速度は低下したが、長期的に高い GSH 濃度を維持した。</p> <p>【今後の展望】 液胞膜の dR の発現によって、我々の予想していたメカニズムでのエネルギー代謝の改善が行われたとは断言できる結果ではないが、dR の発現は結果的に細胞の物質生産性に寄与する形となったと言える。また、V-ATPase を不活化させることで、液胞膜で消費される ATP を削減することができ、物質生産性が向上することが考えられる。今後はより詳細なメカニズムを調べたい。</p>