

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

研 究 テーマ	バイオものづくりにおける細胞外生産制御法の開発				
研究組織	代 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	原 清敬
	研究協力者	所属・職名	名古屋工業大学・教授	氏名	神取 秀樹
		所属・職名	名古屋工業大学・特任准教授	氏名	角田 聡
		所属・職名		氏名	
	発 表 者	所属・職名	食品栄養科学部・教授	氏名	原 清敬

講演題目
ヘリオロドプシンによる細胞外アミノ酸生産制御法の開発
研究の目的、成果及び今後の展望 現在の多くのバイオものづくりでは、糖を炭素源として、微生物の細胞内に有用物質を生産させる。しかし、生産した物質は、細胞内で別の物質へと代謝されるため、目的物質として留めておくことが難しい。そのため、目的物質の代謝系を破壊することで目的物質を細胞内に高蓄積させる代謝工学的手法がよく用いられる。しかし、多くの場合、目的物質の細胞内濃度が高まりすぎると、フィードバックレギュレーションのため、目的物質の合成反応が阻害されてしまう。そこで、当該酵素がフィードバックレギュレーションを受ける部位をアミノ酸置換などによって改変する酵素工学的手法が用いられることがある。しかし、細胞内に目的の有用物質を生産させる以上、細胞内体積のキャパシティーの制限を免れることはできない。そのため、細胞内で合成された目的物質を細胞外に分泌させる方法がとられることがあるが、有用物質は、エタノールなどの老廃物を除き、それらを生産する微生物の生存や増殖に必要であることが多く、細胞外に著量分泌させてしまうと、生産性が高まらないという新たな壁にぶつかることが多い。そこで、本研究では、これらの微生物の有用物質の細胞外への分泌を光でコントロールする方法を開発することで、様々な有用物質の生産に利用可能な細胞外有用物質生産の光制御法の開発を目的とする。近年、ヘリオロドプシンが、アミノ酸合成酵素と相互作用することが見い出された。また、別のヘリオロドプシンは、薬剤排出トランスポーターと相互作用し薬剤排出活性を高めることが見い出された。そこで、本研究では、出芽酵母にヘリオロドプシンを発現し、アミノ酸の分泌を光制御する方法を確立することを目指した。光受容タンパクであるヘリオロドプシンは、従来の動物の視覚機能に関与するType-2ロドプシンや、微生物のイオン輸送に関与するType-1ロドプシンとは構造的にも進化的にも異なる新しいファミリーであり、それらの機能もほとんどわかっていない。近年、放線菌<i>Actinobacteria bacterium</i>由来のヘリオロドプシンがグルタミン合成酵素（GS）と相互作用しているという報告がなされた（Cho et al. 2022）。GSは窒素同化に関連する中心的酵素であり、グルタミン酸とアンモニアからグルタミンを合成する反応を触媒する。そこで、本研究では、ヘリオロドプシンによるGS活性の制御機能に着目した。出芽酵母<i>Saccharomyces cerevisiae</i>に対し、GS遺伝子および<i>A. bacterium</i>由来HeR遺伝子を共発現し、光照射強度の違いなどが細胞内外のグルタミン濃度に与える影響を調べた。具体的には、グルタミン酸およびグルタミンを含まない培地にて<i>S. cerevisiae</i>を培養し、細胞内外のグルタミン酸およびグルタミンの濃度をバイオセンサを用いて測定し、それらの変化について解析した。