ゲノムスケールの DNA 設計・合成による細胞制御技術の創出
2020 年度採択研究者

2020 年度
年次報告書

山田 亮祐

大阪府立大学 大学院工学研究科
准教授

有用物質生産を志向した機械学習支援ゲノムデザイン

§1. 研究成果の概要

微生物を用いた有用物質生産においては、多くの場合、グルコースを原料とし、解糖経路によりピルビン酸へと変換した後に、様々な目的物質へと変換される。今年度は、解糖経路から一段階の反応で生成するD-乳酸をモデル化合物とした、D-乳酸生産酵母ライブラリーを作製した。さらに、解糖経路関連酵素遺伝子およびD-乳酸生産酵素遺伝子の発現量と、D-乳酸生産能を評価することで、解糖経路を最適化するために用いる機械学習データを収集することを目指した。

D-乳酸生産酵母に、解糖系改変プラスミドライブラリーを導入することで、D-LDH発現・解糖系改変酵母ライブリーを作製した。作製した酵母ライブラリーのうち、480株のD-乳酸生産量を測定した結果、46株が高いD-乳酸生産性を示した。また、高いD-乳酸生産性を示した形質転換体では、7種の酵素遺伝子およびD-LDH遺伝子の発現量が高い傾向が確認された。従って、これらの酵素遺伝子の発現が、D-乳酸生産性向上へ寄与していることが示唆された。

一方で、微生物を用いた目的有用物質の生産収率向上には、副産物生成代謝経路の抑制が必要不可欠である。そこで、副産物生成代謝経路の抑制度合いを最適化し、細胞増殖能と物質生産能を最大化する技術の確立を目指す。今年度は、酵母 *Saccharomyces cerevisiae* にRNA干渉能を付与することを目指した。

EGFPを発現する酵母にRNA干渉能を付与し、ランダムに選択した28個の形質転換体のEGFP干渉率を測定した。ランダムに選択した28個の形質転換体は、3-99%の幅広いEGFP干渉率を示すことが確認された。さらに、EGFP干渉率は長期間の培養においても安定した値を示すことが確認された。従って、構築したRNA干渉系は代謝工学において非常に有用なツールとなることが示唆された。