

未来社会創造事業 探索加速型
「地球規模課題である低炭素社会の実現」領域
年次報告書(探索研究)

H30年度 研究開発年次報告書

平成 29 年度採択研究開発代表者

[研究開発代表者名：原 清敬]

[静岡県立大学大学院食品栄養環境科学研究所・准教授]

[研究開発課題名：光駆動 ATP 再生系による Vmax 細胞の創製]

実施期間：平成 30 年 4 月 1 日～平成 31 年 3 月 31 日

§1. 研究開発実施体制

(1)「静大」グループ(静岡県立大学)

- ① 研究開発代表者:原 清敬 (静岡県立大学大学院 食品栄養環境科学研究所・准教授)
- ② 研究項目
 - ・ATP 再生力の向上
 - ・ATP 再生力の評価

(2)「阪大」グループ(大阪大学)

- ① 主たる共同研究者:戸谷 吉博 (大阪大学大学院 情報科学研究科・准教授)
- ② 研究項目
 - ・NADPH 再生力の調整
 - ・代謝モデリング

(3)「神大」グループ(神戸大学)

- ①主たる共同研究者:石井 純 (神戸大学大学院 先端バイオ工学研究センター・准教授)
- ②研究項目
 - ・DNA モジュールの多様化

§2. 研究開発実施の概要

光駆動プロトン輸送タンパクであるデルタロドプシンを、本来光エネルギーを用いることのできない大腸菌の細胞膜に発現させた。このデルタロドプシン発現大腸菌が、光照射によって細胞外へプロトンを輸送することを細胞外 pH の変化により確認した。また、この細胞外への光依存的なプロトンの輸送によって、生命のエネルギー通貨である ATP の細胞内濃度が向上することがわかった。これは、大腸菌の細胞膜に本来存在する呼吸鎖電子伝達系のみならず、デルタロドプシンが光エネルギーを用いて形成した細胞内外のプロトン濃度勾配を利用して、ATP 合成酵素が ATP を再生したためであると考えられる。また、NADPH センサータンパク質による細胞内の NADPH 再生力の評価や発現誘導スイッチによる NADPH 再生力を調整する系を構築することができた。一方、デルタロドプシンにミトコンドリアシグナルを付加することで、真核生物である出芽酵母のミトコンドリアに光駆動 ATP 再生系を導入することにも成功した。以上のように光駆動 ATP 再生系を導入した大腸菌や出芽酵母を用いることで、ATP 依存的な反応を経て生合成されるグルタチオンの生産性を向上させることができた。また、有用物質の比生産速度を向上させるための代謝モデリング技術や、デルタロドプシンのみならず今後様々な DNA を細胞に搭載するうえで必要な DNA モジュールの多様化技術の開発を大腸菌をベースとして実施した。