

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)

令和元年度 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院・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 31 年 4 月 1 日～令和 2 年 3 月 31 日

§1. 研究開発実施体制

(1)「静県大」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院・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

高い収率を維持しながら比生産速度を最大化した Vmax 細胞を創製するため、前年度は光駆動 ATP 再生系の開発に注力したので、本年度は NADPH 再生代謝スイッチ系の導入およびその制御に注力しました。代謝経路には複数の分岐点があるため、原料から目的物質への変換効率を高めるには、それぞれの分岐点における代謝の流れの割合を最適化する必要があります。従来、培養液に薬剤を加えることで遺伝子発現を誘導して分岐比を調節していましたが、一度加えた薬剤を培養液から除くことはできないため、スイッチのオン-オフを繰り返して制御することはできませんでした。そこで、光合成生物などが有する光照射による遺伝子発現制御の仕組みに着目し、この分子装置をもととは光による制御を持たない工業微生物の大腸菌に導入することで、外から自由にオン-オフが可能な光を利用した新しい代謝の制御技術の開発を目指しました。

藻類由来のタンパク質 CcaS/CcaR を利用することで、中枢代謝の重要な分岐点の酵素の発現量を光によって調節するスイッチの開発し、主要な解糖系路の流れを緑色光と赤色光の照射により変えることに成功しました。本研究では、多くの生物が糖の分解に利用する解糖系とペントースリン酸経路に着目し、この2つの経路の分岐点であるグルコース6リン酸イソメラーゼの遺伝子発現量の制御に応用しました。構築した細胞は、緑色光下では主に解糖系を、赤色光下では主にペントースリン酸経路を利用して糖を分解していることを実験で確認しました。外からの光照射により、微生物の中枢代謝の流れを自在にコントロールする技術を世界で初めて開発しました。光誘導の

スイッチによる制御は、細胞の代謝を最適化し、高効率な有用物質の生産プロセスを確立するための有用なツールとなることが期待されます。

Optogenetic switch for controlling the central metabolic flux of *Escherichia coli*. Metabolic Engineering 55, 2019:68-75.