

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
終了報告書(探索研究期間)

令和3年度
研究開発終了報告書

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29年11月1日～令和4年3月31日

§ 1. 研究実施体制

(1)「静岡県立大学」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)「大阪大学」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)「神戸大学」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. 研究実施の概要

微生物の多くは、我々と同じように生きるのに必要なエネルギーを獲得するために、酸素をつかって呼吸をして生きています。微生物が有用物質を作る力（発酵力）を高め、有用物質をたくさん作らせようとすればするほど、微生物はエネルギーもたくさん作らなければならなくなり、原料の大部分が二酸化炭素として活用されないまま消費され、最終的に有用物質の生産性も落ちてしまいます。一方で、植物や藻類は光合成をおこなって太陽光からエネルギーを作ることができます。そこで、研究グループでは高度好塩菌などが有する光エネルギー変換機構を微生物に導入し、呼吸に加えて光からエネルギーを作るように微生物を改良することで、有用物質の生産性を高めることに成功しました。また、生産設備の観点から、現在の微生物による有用物質の発酵生産の多くは、大量の酸素を微生物に与えるため、発酵タンク内の攪拌翼を高速に回転させ続けなければならない、大量の電気エネルギーを消費しています。さらに、呼吸が激しくなれば当然、微生物も二酸化炭素をたくさん吐き出します。光を利用した発酵法は、このような攪拌電力と二酸化炭素排出の削減にもつながることが期待されます。

微生物は酸素を使って呼吸鎖電子伝達系というシステムで水素イオン (H^+) を細胞外に汲み出し、ATP 合成酵素がこの水素イオンを再取り込みする際にエネルギー物質である ATP を再生します。微生物は、この ATP のエネルギーを使って細胞内で様々な有用物質を生産しています。ロドプシンを導入した大腸菌は、光エネルギーを利用して水素イオンを汲み出すことができるようになり、エネルギー代謝が活性化することで、有用物質の生産性が向上します。そこで、研究グループでは、光エネルギーを細胞内のエネルギーに変換できるタンパク質ロドプシンを利用することで、エネルギー代謝を活性化しました。これにより、様々な化学製品原料となる 3 ヒドロキシプロピオン酸やメバロン酸、ファインケミカルのグルタチオンなどの有用物質の生産性を向上させることに成功しました。また、高度好塩菌や海洋性細菌の中にはロドプシンをもつ微生物がこれまでに多く見つかっています。そこで、これらの微生物のロ

ロドプシンを比較して、大腸菌と相性が良く機能的にも優れているロドプシンを選抜しました。さらに、ロドプシンは、光受容分子であるレチナールの助けが必要であるため、本研究では、レチナールを細胞内で合成できる微生物から関連遺伝子を大腸菌に導入し、大腸菌内でレチナールを適量合成することにも成功しました。本成果は、国際学術雑誌「Metabolic Engineering」に2022年3月26日付けで掲載されました (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1096717622000489>)。

微生物によるものづくりであるバイオプロセスは、常温・常圧で駆動することができ、一般的に高温・高圧を必要とする化学プロセスよりも省エネであるため、SDGsの達成の視点からも重要です。ただし、バイオプロセスでの物質生産では生産速度や生産量の観点から化学プロセスを置き換えるに至らないものも多く見られます。本研究により、様々な有用物質の生産に関わるエネルギー代謝を光によって活性化させることができれば、微生物による多様な有用物質の生産速度や生産量の向上につながることを期待されます。今後は、静岡県立大学認定ベンチャーである396bio（マイクロバイオ）を中心に本技術の実用化が進められます。

In microbial fermentative production, the ATP regeneration, while crucial for cellular processes, conflicts with efficient target chemical production due to an obligation to carbon expenditure. To wrestle with this dilemma, we harnessed the power of microbial rhodopsins with light-driven proton pumping activity for the purpose of complementing ATP supply, which should be necessary for various chemical productions. We first demonstrated a photo-driven ATP supply and redistribution of metabolic carbon flows for target chemicals by installing already-known delta rhodopsin. In addition, we identified novel rhodopsins with the higher proton pumping activities, and further created an intriguing cell for enabling *in vivo* self-supply of the rhodopsin-activator, retinal. Our concept exploiting the light-powering ATP supplier holds the promise of offering raise in carbon use efficiency for microbial productions through metabolic reprogramming.