

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

研究テーマ	バイオプロダクションに資する微生物のエネルギー代謝改善法の開発				
研究組織	代表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	原 清敬
	研究分担者	所属・職名	神戸大学・准教授	氏名	石井 純
		所属・職名	大阪大学・准教授	氏名	戸谷 吉博
		所属・職名	大阪大学・教授	氏名	松田 史生
		所属・職名	名古屋工業大学・特任准教授	氏名	角田 聡
	発表者	所属・職名	食品栄養科学部・准教授	氏名	原 清敬

講演題目	酵母液胞膜への Delta-Rhodopsin 発現によるエネルギー代謝の改善
------	---

研究の目的、成果及び今後の展望
<p>【目的】</p> <p>微生物を用いた工業的有用物質生産において、微生物細胞内でのエネルギー不足は生産性を頭打ちにする要因の一つであり、微生物の形質転換により細胞内 ATP 供給量を増加させる試みがなされている。出芽酵母液胞膜に局在する膜タンパク質 V-ATPase を介した ATP 駆動 H⁺ 輸送機構は、細胞内でのエネルギー消費機構の一つであると同時に、液胞が持つ物質の貯蔵や再生機能に関わる重要な機構である。本研究では、光照射で駆動する高度好塩菌由来の H⁺ ポンプ Delta-Rhodopsin (dR) を出芽酵母の液胞膜へ発現、光駆動させることで、H⁺ 輸送エネルギーの光代替による ATP 消費抑制方法の開発を目的とした。</p> <p>【成果】</p> <p><i>Saccharomyces cerevisiae</i> BY4741 を親株とした。液胞膜局在タンパク質である AVT6 と dR を連結、この融合タンパク質を親株の液胞膜に発現させた dR 発現株を作製した。この変異株の液胞膜を単離し、pH メーターを用いて、液胞膜へ発現した dR の光駆動 H⁺ ポンプ活性を測定した。また、光照射培養における細胞内 ATP 濃度をルシフェリン・ルシフェラーゼアッセイで測定した。なお、全ての培養において、dR の発色団である all-<i>trans</i>-retinal は培養開始時に添加し、30℃、175 rpm で振盪培養した。作製した酵母株を顕微鏡で観察したところ、dR が液胞膜に局所的に発現していた。この dR 発現株から単離した液胞は、光依存的な内向きの H⁺ ポンプ活性を示した。光照射培養試験を行った結果、コントロール株と比較して、AVT6-dR 発現株の細胞内 ATP 濃度は、培養開始 16 時間目に有意に増加していた。</p> <p>【今後の展望】</p> <p>今後は、余剰 ATP 量の発生に対する有用物質生産性の向上を検証していきたい。</p>