

1Lp12 Penicillium purpurogenum における窒素代謝系のプロテオーム解析及び機能解析

○谷川 涼子, 渋沢 美由紀, 萩原 淳, 加藤 順, 春見 隆文
(日大・生資科)
j-ogihara@brs.nihon-u.ac.jp

【目的】土壌より分離した *Penicillium purpurogenum* IAM15392 株は、特定培地条件下で新規 Azaphilone 系 *Monascus* 色素同族体を生産する。本系状菌による色素合成機構は、*Monascus* 属と比較して橙色色素 PP-O から紫色色素 PP-V への NH₄⁺ への置換反応が特異的である。IAM15392 株は低窒素栄養下において PP-V を生産しないが、特定の *P. purpurogenum* は低窒素栄養下において Azaphilone 系 *Monascus* 色素 N 誘導体である PP-V を特異的に生産する。このことから特定の *P. purpurogenum* が低窒素栄養下特有の窒素代謝能を有している可能性が示唆された。そこで、上記 2 菌株の発現タンパク質を半定量的ディフレンシャル解析し、特定の *P. purpurogenum* に特徴的な窒素代謝関連タンパク質を探索した。更に IAM15392 株より得られたゲノム配列情報を基に、低窒素栄養下特有の窒素代謝能に関わる遺伝子、タンパク質の探索を行うことを目的とした。

【実験方法及び結果】窒素源である NH₄NO₃ を含まない培地で色素生産培養した菌体より得たタンパク質から、nano-LC-MS/MS システムによりペプチド断片の amino 酸配列情報を解析した。更に IAM15392 株より得られたゲノム配列情報を基に解析を行ったところ窒素代謝への関与が推定される amino 酸配列情報を得た。その配列情報をもとに低窒素下特有の窒素代謝能について更なる解析を行い、現在、その本質的な機能を解明すべく研究を進めている。

Proteomic and functional analysis of the nitrogen metabolic system in *Penicillium purpurogenum*

○Ryoko TANIKAWA, Miyuki SHIBUSAWA, Jun OGIHARA, Jun KATO, Takafumi KASUMI
(Dept. Agric. Biol. Chem., Nihon Univ.)

Key words *Penicillium*, proteome

1Lp14 Next-generation Sequencing in Industrial Biotechnology: Genedata Selector™ for Optimization of Production Strains

Hans-Peter Fischer, Thomas Hartsch, Ludwig Macko, Sebastian Ribrioux, Frank Staubli, ○Masako Shinjoh
(Genedata)
masako.shinjoh@genedata.com

【Objectives】The new era in industrial biotech is increasingly driven by cost-efficient next-generation sequencing (NGS) technologies. Workflow-based, scalable software systems are required for systematically managing large data volumes produced by NGS and for interpreting genotype data across complex production strain ancestries. To support this innovative research Genedata Selector™ has been developed to overcome these challenges for strain development of microbes and cell lines for fermentation based applications as well as of crops and plants with improved traits as renewable resources. 【Methods and Results】Genedata Selector™ is successfully used to systematically analyse and annotate strains including automatically identifying and categorizing point mutations in their genetic and biological context. This process is assisted by tailored viewers that drill down to raw sequences. The process also predicts the mutations' influence on gene products (e.g. modifying an enzyme's active site) or on gene regulation (e.g., altering a transcription factor's DNA binding site). This study demonstrates how NGS and -omics data can support strain design strategies to optimize yield of amino acids, with applicability to other fermentation based applications for feed and food additives, beverages, bio-refineries, anti-infectives and biologics production efficiently.

Next-generation Sequencing in Industrial Biotechnology: Genedata Selector™ for Optimization of Production Strains

Hans-Peter Fischer, Thomas Hartsch, Ludwig Macko, Sebastian Ribrioux, Frank Staubli, ○Masako Shinjoh
(Genedata)

Key words bioinformatics, mutation, strain development

1Lp13 モノリスカラムを用いた高性能分離によるプロテオーム解析

○森坂 裕信¹, 水口 博義², 植田 充美¹
(¹京大院・農・応用生命,²京都モノテック)
morisaka@kais.kyoto-u.ac.jp

【目的】ショットガン法を用い、酵母細胞から 4399 種のタンパク質を特定したプロテオーム解析が報告された[1]。これにより、ペプチド断片化による網羅的なタンパク質分析が可能であることを初めて示されたが、実タンパク質の抽出や分析時間、検出感度等、実用に向けては課題がまだまだ多い。現在のプロテオーム解析では、最終的な検出器として高感度な質量分析計を用いているが、イオン化抑制効果による感度低下が問題となっている。このため、現在の技術では、細胞内に実際に分布している全タンパク質の中で、比較的存在量の多いタンパク質しか検出できていないのが実状である[2]。この問題を解決するためには、質量分析に導入される前段階として、液体クロマトグラフィーによる高性能分離が重要である。そこで、モノリスカラムを用いた超高性能分離システムによるプロテオーム解析を検討した。【方法・結果】分離媒体として、一般的に使用されている粒子充填型カラムと比較して高性能分離を示す長いモノリスカラムを開発し、プロテオーム解析向きに最適化した[3]。これを用いたシステムによりプロテオーム解析を行い、性能を比較したのでまとめて報告する。

[1] M. Mann Nature 455, 1251-1254 (2008)

[2] M. Mann J. Proteome Res. 10, 1785-1793 (2011)

[3] H. Morisaka J. Sep. Sci. 32, 2747-2751 (2009)

High performance separation using long monolithic column for proteome analysis

○Hironobu MORISAKA¹, Hiroyoshi MINAKUCHI², Mitsuyoshi UEDA¹
(¹Div. Appl. Life Sci., Grad. Sch. Agric., Kyoto Univ.,²Kyoto monotech)

Key words proteome analysis, monolithic column, proteomics, HPLC

1Lp15 バイオマス分解・代謝プロセスの解明を支援する ECOMICS ウェブツールの開発とその適用例

○森岡 祐介^{1,2}, 尾形 善之^{1,2}, 飯倉 智弘^{1,2}, 近山 英輔^{1,2}, 菊地 淳^{1,2,3,4}
(¹理研 PSC,²横市大院生命,³理研 BMEP,⁴名大院生命農)
kikuchi@psc.riken.jp

【目的】複合微生物系は従来の単一微生物の機能を越えた機能を持つ。例えば土壌環境中の難分解性基質であるバイオマスの分解に関わる微生物群も機能している。こうしたバイオマス基質や、その分解・代謝に関わる微生物や酵素の推定・探索を可能とするため、我々は ECOMICS Web ツール群を開発してきた (Ogata ら, Morioka ら (submitted))。ここでは、本ツールを高温メタン発酵汚泥によるセルロース分解の時系列データに適用し、基質・酵素・微生物間の相関解析を遂行した。【方法】系統分類と酵素解析には 16S-rRNA と炭水化物結合モジュール (CBM) を用いる E-class、バイオマス物質同定には FT2DB、相関解析には HetMap を開発した (<https://database.riken.jp/ecomics/>)。適用例として、I 型結晶性セルロースを添加した汚泥を時系列 16 点で採集し、微生物及び酵素解析を行う為にメタゲノムデータを、バイオマス物質同定の為に NMR スペクトルを利用した。【結果】結果として、系統分類と CBM のタイプ及びバイオマス物質質量それぞれで特徴的な変動を示した。これらの結果のヒートマップを利用した相関解析を行い、互いのデータ間に顕著な相関が見られた。この相関から、セルロース分解に関係していると予測される微生物及び CBM のタイプの効率的な絞り込みができ、バイオマス物質との関連性が示唆された。今後はより詳細な系統分類及び広範な酵素解析を可能にし、バイオマス分解過程の更なる解明に繋げたい。

Development of the ECOMICS web-tool for promoting the investigation of biomass degradation and metabolism

○Yusuke Morioka^{1,2}, Yoshiyuki Ogata^{1,2}, Tomohiro Iikura^{1,2}, Eisuke Chikayama^{1,2}, Jun Kikuchi^{1,2,3,4}
(¹RIKEN PSC,²Grad. Sch. NanobioSci., Yokohama City Univ.,³RIKEN BMEP,⁴Grad. Sch. Bioagr. Sci., Nagoya Univ.)

Key words web-tool, biomass, omics analysis, ECOMICS