

2Gp22 大腸菌のカタボライト制御と発酵に関するモデリングとシミュレーション

○松岡 結¹, 清水 和幸^{1,2}
(¹九工大, ²慶応大)
shimi@bio.kyutech.ac.jp

バイオマス由来の複数の炭素源を利用して、バイオエタノールなどの有用物質を生産する場合、大腸菌のような微生物は、いわゆるカタボライト制御によって、グルコースを最初に消費し、グルコースが消費された後で、キシロースなどの炭素源が利用され、結果として培養時間が長くなってしまいます。このため最近では、これら複数の炭素源の同時消費と効率的な発酵生産が注目されている。本研究では、大腸菌の中心代謝経路のすべての酵素反応モデルを構築すると同時に、カタボライト制御に重要な役割を果たす cAMP-Crp と PTS (phosphotransferase system) との関係や、細胞内のカーボンの流れを調節している Cra などの転写調節因子に着目し、遺伝子発現制御についてもモデル化を行った。このモデルを用いて、グルコースとキシロースを炭素源とした場合の野生株大腸菌のシミュレーションを行うと、グルコース存在下では、PEP/PYR の比が低く、PTS の EIHA-P (リン酸化された EIHA) の濃度が低下し、Cya, cAMP, cAMP-Crp の濃度も低下し、キシロースはほとんど消費されないことが示された。グルコースが枯渇すると、PEP/PYR の比が高くなり、EIHA-P の濃度が増加し、Cya, cAMP, cAMP-Crp の濃度がすべて増加し、キシロースや酢酸が消費されると同時に、FDP の濃度が減少して Cra が活性化され、糖新生経路が活性化されることが示された。また、ptsG 遺伝子を欠損させると、cAMP-Crp の濃度が培養前半から高くなり、グルコースとキシロースが同時に消費されるが、これらの糖消費速度は野生株と比べて著しく低下することが示され、実験結果をある程度再現できた。本研究ではさらに、嫌気条件での発酵経路のモデリングも行った。

Modeling and simulation for catabolite regulation and fermentation in *Escherichia coli*

○Yu Matsuoka¹, Kazuyuki Shimizu^{1,2}
(¹Kyushu Inst. Tech., ²Keio Univ.)

Key words Metabolic regulation, Modeling, Simulation

2Gp24 生合成パスウェイ設計のための基盤ツールの開発

○谷口 岳志¹, 宮奥 康平¹, 牧口 大旭², 荒木 通啓³
(¹三菱化学科学技術研究センター, ²三井情報, ³京都大・GL 養成ユニット)
miyaoku.kohei@mu.m-kagaku.co.jp, araki@pharm.kyoto-u.ac.jp

大腸菌や酵母などの微生物に産業上有用な化学品を生産させるためには、人工的な生合成パスウェイを微生物内で構築することが求められる。しかし、このようなパスウェイを実証するためには多大な労力・時間が必要となる。そのため、我々は生合成パスウェイの新規設計基盤を活用し、専用ツールの開発を行っている。多量に生成されるパスウェイの中から実験検証価値の高いパスウェイを効率的に選抜でき、またバイオ研究者に本設計基盤の積極的な利用を促すことも可能である。

当ツールでは、糖などの出発化合物・目的化合物を入力するなどの簡単な操作で、生合成パスウェイの探索を開始することができる。探索結果画面上には、計算機上で構築された生合成パスウェイの候補リストが、実証実験の候補選択の目安となるランキング指標とともに表示される。また、別カラムにはパスウェイ中に出現する化合物の化学構造が表示され、一目でパスウェイの流れ、すなわち化合物の化学構造変化が理解できる。新規反応が予測される反応ステップには、基質の構造類似性に基づいたスコアの順に、候補となる既知酵素と基質化合物が表示される。パスウェイのランキング指標には、別途計算した目的化合物の理論収率値を加えることもできる。さらに、ユーザー側で種々の設計パラメータの変更も可能である。当ツールの利用により、実効性の高い生合成パスウェイの探索と設計が大幅に効率化することが期待できる。

Development of a computational platform for designing biosynthetic pathways

○Takehshi Taniguchi¹, Kohei Miyaoku¹, Hiroki Makiguchi², Michihiro Araki³
(¹MCRC, ²MKI, ³GL Unit., Kyoto Univ.)

Key words chemoinformatics, metabolic pathway, metabolic engineering, database

2Gp23 生合成パスウェイ設計のための情報解析技術の開発

○荒木 通啓¹, 谷口 岳志², 宮奥 康平²
(¹京都大・GL 養成ユニット, ²三菱化学科学技術研究センター)
araki@pharm.koto-u.ac.jp

大腸菌や酵母などを用いて有用物質を高効率で生産していくためには、最初の手がかりとして、これまでに蓄積された網羅的情報を利用し、実効性の高い生合成パスウェイを推定していくことが必要となる。酵素遺伝子・化合物といったプレイヤーが明示されている既知の生合成パスウェイの場合には、宿主微生物中でのパスウェイ再構築を目的とした、異種生物間の遺伝子・ゲノム解析ならびに代謝経路解析が主流となる。一方で、プレイヤーが明示的ではない全く未知の生合成パスウェイの構築を行う場合においては、網羅的な化学構造・酵素反応データをもとにして、化学・生物情報解析により未知の化合物・酵素反応の推定を行い、生合成パスウェイを *in silico* で再構築していく作業が必要となる。先行研究においては、すでに情報解析をもとにした未知の酵素遺伝子・化合物を含む生合成パスウェイの推定が行われているが、データ構造・推定アルゴリズムの観点からは、網羅性・汎用性に乏しく、適用範囲は限定的であるため、新たな設計技術の開発が望まれている。こうした背景のもと、我々は化学構造・酵素反応データについて汎用性の高い新たなデータ構造を開発するとともに、ランダム組合せ最適化による生合成パスウェイの再構築を行う設計技術を開発した。本技術では、従来法と比較して化合物・酵素反応バリエーションを飛躍的に増加させることができるため、未知の酵素遺伝子・化合物を含む新たな生合成パスウェイの推定を現実的な時間内に行うことが十分期待できる。

A novel computational method for designing biosynthetic pathways

○Michihiro Araki¹, Takeshi Taniguchi², Kohei Miyaoku²
(¹GL Unit., Kyoto Univ., ²MCRC)

Key words chemoinformatics, metabolic pathway, metabolic engineering, database

2Gp25 脂質蓄積性を高めた出芽酵母による高度不飽和脂肪酸の生産 -界面活性剤の生産性への影響-

○木村 和義, 神坂 泰, 植村 浩, 山岡 正和
(産総研・生物プロセス)
kykimura@ni.aist.go.jp

我々は、一般的に菌体内脂質を殆ど蓄積しない出芽酵母において、SNF2 破壊株に、貯蔵脂質合成酵素ジアシルグリセロールアシルトランスフェラーゼ遺伝子を過剰発現させ、ロイシンを高濃度供給することによって、30%程度の脂質含量を有する株を得た。この株に脂肪酸不飽和化酵素や鎖長延長酵素の遺伝子を導入して原料脂肪酸添加下で培養することにより、出芽酵母による高度不飽和脂肪酸生産系を構築した。現在、高度不飽和脂肪酸生合成系の律速段階といわれる Δ6 不飽和化過程の生産性の向上を図っている。この系では原料脂肪酸の分散のため界面活性剤を添加しているが、その界面活性剤の種類や濃度によって Δ6 不飽和化の生産性が大きく影響を受ける事が判明した。非イオン性界面活性剤 (Tergitol, Triton X, Tween, PEG 脂肪酸エーテル等) 広く利用される PEG アナログを 0.25-1.5% 添加して比較したところ、Tergitol NP-40 や Tween60 で生産性が高く、添加濃度の影響も界面活性剤により異なった。

Effect of surfactant on polyunsaturated fatty acid production using genetically modified *Saccharomyces cerevisiae*

○Kazuyoshi Kimura, Yasushi Kamisaka, Hiroshi Uemura, Masakazu Yamaoka
(Bioproduction Res. Inst., AIST)

Key words polyunsaturated fatty acid, surfactant, SNF2 disruption, *Saccharomyces cerevisiae*