

平成 28 年度 助成

氏名: 石川聖人

印

研究 経過 ・ 終了 報告書

※ゴシック文字で記入下さい。

研究テーマ	遺伝子操作を用いずに微生物の代謝を操る
研究の結果	代謝反応の多くは物質の酸化還元反応に基づく電子移動反応であるため、細胞内の酸化還元状態は代謝と密接に関連している。それゆえ、細胞内酸化還元状態を強制的に変化させれば、それに伴って代謝も変化することが期待できる。本研究では、遺伝子操作のような細胞内部からの改変ではなく、細胞外部との電子のやりとりで代謝を操ることを試みた。具体的には、細胞膜透過性の電子伝達ポリマーpMFCを用いて細胞内から電子を引き抜き、エネルギー代謝様式を変えることができるか検証した。研究開始当初では大腸菌をモデル微生物として用いることを計画していたが、予備検討の段階で酵母の方がより明確な差が現れ、検証に適していることに気付いた。そこで、細胞内からの電子引き抜きが代謝に与える影響については酵母を対象として研究を進めた。 まず、代謝改変の度合いを定量的に制御するために、電子伝達ポリマーを介した電子伝達速度の制御法の構築することにした。pMFCの疎水性基と親水性基の比率(R)と分子量(Mw)の異なるpMFCを合成し、各パラメータが電子伝達速度に与える影響を調べた。酵母細胞においてグルコース代謝由来の代謝電流値の比較を行った結果、Rが電子伝達速度に対して大きな影響を示すこと、またMWが小さいほど電子伝達速度が向上することが確認された。 次に、pMFCを介した電子伝達速度の大小に応じて、代謝改変の度合いが変化するかを、酵母のグルコース嫌気代謝をモデルケースとして検証した。最小および最大の電子伝達速度をそれぞれ示したpMFC-1とpMFC-3を用いて実験を行った。酸化体のpMFCが存在する条件下で酵母を嫌気培養し、その後、培地中のエタノール濃度を測定した。その結果、酸化体pMFC-3共存下ではエタノール濃度が20%ほど減少したのに対して、酸化体pMFC-1存在下では、そのような減少は確認されなかった。これらの結果は、pMFCの分子設計に基づく電子伝達速度の調節により、代謝改変の度合いが制御可能であることを示している。 上記の成果は、以下の研究発表欄に示した原著論文として発表している。計画していた細胞内電子フラックスの変化に惹起される代謝変化と遺伝子発現を網羅的に調べることは本研究期間中ではできなかったが、現在、メタボロミクス解析用のサンプル調製を進めている。また、本研究の成果は、現在取り組んでいる他の生細胞の代謝改変や代謝状態の検出等の新たな研究に展開するきっかけとなった。
研究発表 (実績)	査読付き原著論文: Masahiro Kaneko*, Masahito Ishikawa*, Kazuhito Hashimoto, and Shuji Nakanishi "Molecular design of cyto-compatible amphiphilic redox-active polymers for efficient extracellular electron transfer" Bioelectrochemistry, 114, 8, (2017). *Both authors equally contributed to this work. 学会発表(ポスター): Masahito Ishikawa, Yuya Tanaka, Souichiro Kato, Shuji Nakanishi and Katsutoshi Hori "Real-time monitoring an intracellular redox state of a methane oxidizing bacterium, Methylococcus capsulatus Bath", iBioP 2016, Pusan, Korea, 18th. Dec. 2016 金子 真大, 石川 聖人, 加藤 創一郎, 橋本 和仁, 中西 周次 "細胞親和性電子伝達ポリマーを介した生細胞への電子注入" 第68回日本生物工学会, 富山, 2016年9月30日 石川 聖人, 田中 裕也, 田中 謙也, 木村 恒太, 加藤 創一郎, 中西 周次, 堀 克敏 "メタン酸化細菌の細胞内レドックス状態の可視化" 第68回日本生物工学会, 富山, 2016年9月30日 招待講演(口頭発表): Masahito Ishikawa, Shuji Nakanishi, and Katsutoshi Hori "Tools for electrochemical modulation and fluorescent detection of an intracellular redox state toward efficient microbial productions", 2nd Korea-Japan smart biodesign workshop, Sendai, Japan, 4th Feb. 2017

提出期限: 研究期間終了後、すみやかに助成金の「必要経費使途明細書」「領収書(原本)」と合わせて提出下さい。

年度をまたぐ場合は毎年3月末日までに、途中経過をご記入の上、報告願います。