

## 酵母を用いたセルファクトリーとスマートセル創出に向けた基盤技術開発

(神戸大・先端バイオ) ○石井 純

Development of yeast-based microbial cell factories and basic technologies for creation of Smart Cells (*Engineering Biology Research Center, Kobe University*) Jun Ishii

Yeast has greatly contributed as a model of eukaryotes to advance a wide variety of studies in academia such as biochemistry, genetics and molecular biology. The yeast is also widely used in systems biology as well as in industrial alcoholic fermentations. Because of these situations, various genetic tools including DNA assembly, genome editing, and gene disruption/overexpression strain collections have been developed to support the understanding of this microorganism. While microbes such as yeast and lactic acid bacterium can produce ethanol and lactate dominantly in nature, researches on metabolic engineering of microorganisms are growing to produce varied useful substances such as biologics, fragrance, and feedstock for fuels and chemicals. Because of many advantages including high resistances for pH, stresses and self-lysis, repeatedly or continuously controllable fermentations, and potential for transfer of plants and know-how cultivated in ethanol fermentations, the use of yeast as the production host has attracted great interest in industrial applications.

In recent years, synthetic biology has begun to become widespread, and especially in the field of metabolic engineering, it is used to construct the highly-designed production cells by optimizing metabolic pathways and expression controls with the aim of further increasing productivity of target compounds in metabolically modified microbes. In this presentation, I will introduce our researches using yeast as the main host organism regarding the construction of cell factories based on metabolic engineering for the production of useful compounds, and the development of basic technologies incorporating synthetic biology toward the creation of Smart Cells.

*Keywords : Yeast; Synthetic Biology; Metabolic Engineering; Bioproduction; Smart Cells*

酵母は、真核生物のモデルとして生化学、遺伝学、分子生物学など多岐にわたる学問分野の発展に大きく貢献してきた。また、古くはルイ・パストゥール氏によるアルコール発酵菌としての発見から始まり、ビールやワインなどの醸造やバイオエタノール生産など産業界においても広く研究が行われている。さらに、酵母は Yeast Two-Hybrid (Y2H) 法による蛋白質間相互作用解析や遺伝子発現解析などのゲノムワイドな解析データに加え、遺伝子破壊株・過剰発現株ライブラリなどのコレクションを用いた網羅的な表現型解析データも豊富で、遺伝子・蛋白質レベルでのダイナミクスや制御ネットワークの解明をめざすシステム生物学も盛んに行われている。こうしたモデル生物としての研究を背景として、酵母は遺伝情報を操作するための様々なツールが開発されてきており、近年では DNA アセンブルやゲノム編集などの技術も充実し

てきている。このことから、酵母は、原核生物のモデルである大腸菌とともに、複雑な遺伝子組換えが可能な微生物宿主の一つとして広く使用されており、とりわけ真核生物の中では生育が早く最も扱いに優れた宿主である。

近年の代謝工学の発展により、自然界の微生物が生産できるエタノールや乳酸以外にも、バイオ医薬品、香料、燃料や化学品の原料など様々な有用物質を微生物で大量に生産させようとする代謝改変の研究が活発化している。こうした代謝工学の研究は大腸菌などの原核生物を宿主とした研究が盛んであるが、商業化に向けた大規模スケールでの発酵生産では様々な障壁が存在し、なかなか実用化にまで至らないのが現状である。そのため、pH 耐性が強い（コンタミネーションに強い）、ストレス耐性に強い（バイオマス加水分解物に含まれる発酵阻害物に強い）、溶菌しにくく繰返し発酵が容易、バイオエタノール生産におけるプラントやノウハウが転用可能、などの利点をもつ酵母の利用が、産業応用の上で大きく期待されている。こうした背景から、我々は大腸菌に加えて、酵母も物質生産宿主の候補として、工学的な観点から細胞代謝のエンジニアリングや高度な遺伝子改変に向けた手法・ツールの開発を行ってきている。

一方で、外来の代謝経路を微生物に導入して物質生産を行う場合、初期の生産性は極めて低い場合がほとんどである。そこで前述のように代謝工学の知識を活用して生産性を上げることが広く行われているが、その代謝経路や発現制御をより最適化して高度にデザインされた生産細胞を構築しようとする合成生物学の研究が広がりを見せつつある。合成生物学では、例えば計算科学的に最適な代謝経路をシミュレーションする手法が有効であるが、考えられうる代謝経路や細胞のデザインとその組み合わせを作成して評価することで、そのデザインが有効であったかどうかに関するデータを網羅的に取得し、そのデータを元に学習することで次の新たなデザインを設計する DBTL (Design/Build/Test/Learn) と呼ばれるサイクルを回すこともよく行われる。

我々は、この DBTL サイクルをベースとした微生物（主に酵母や大腸菌）の改変により、有用物質を生産するための細胞工場（セルフファクトリー）の開発を進めている。この DBTL サイクルを効率よく回す上では、多数のデータを迅速に取得することが重要となるため、膨大な数の形質転換体をハイスループットに作出して分析・評価する形質転換技術やバイオセンサの開発も進めている。また、より高度な遺伝子組換えや代謝制御を可能とするために、合成生物学のツールや遺伝的パーツも併せて開発を進めている。さらに、情報解析チームのメンバーと連携して、これら *wet* の基盤技術と *dry* の計算科学手法を融合することで、より洗練された人工細胞（スマートセル）の構築を目指した研究にも取り組んでいる。本講演では、酵母を主な宿主として、代謝工学をベースとした有用物質生産のためのセルフファクトリー構築と、合成生物学を取り入れたスマートセル創出に向けた基盤技術の開発について紹介する。