

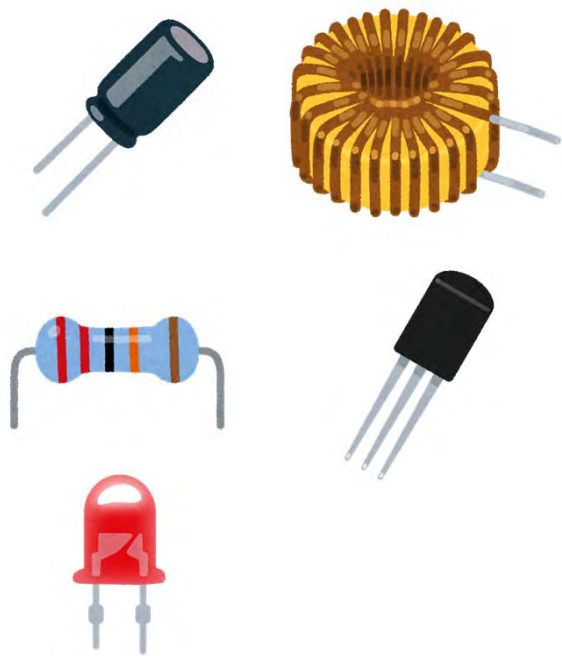
2020年9月2日

合成生物学で必要とされるバイオ分析

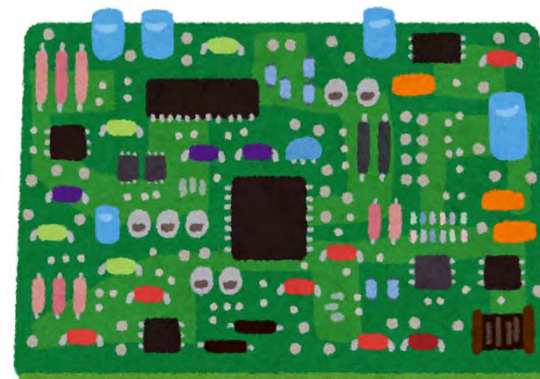
九州大学 農学研究院
花井泰三(**Taizo HANAI**)

合成生物学とは

電子パーツを組み合わせることで、
望みの動作をさせる電子回路を作ることができる



電子パーツ



電子回路

生体分子パーツを組み合わせることで、
望みの動作をさせる人工遺伝子回路を作ることができる

LacI
Lacプロモータ

AraC
アラビノースプロモータ

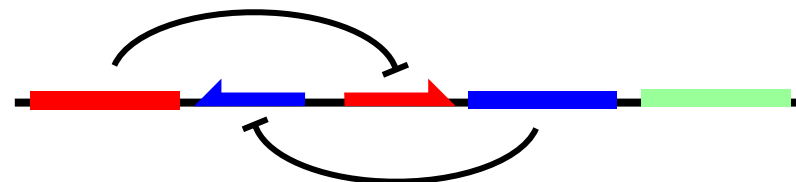
⋮

Green Fluorescent Protein (GFP)

⋮

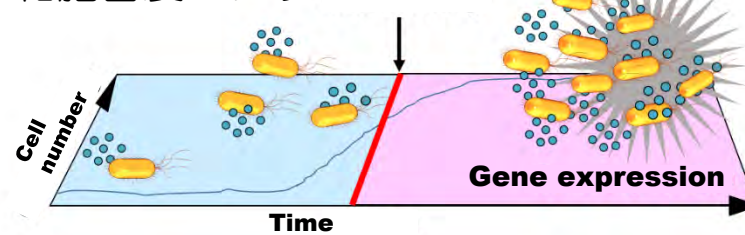
生体分子パーツ

トグルスイッチ



Gardner *et al.* Nature (2000)

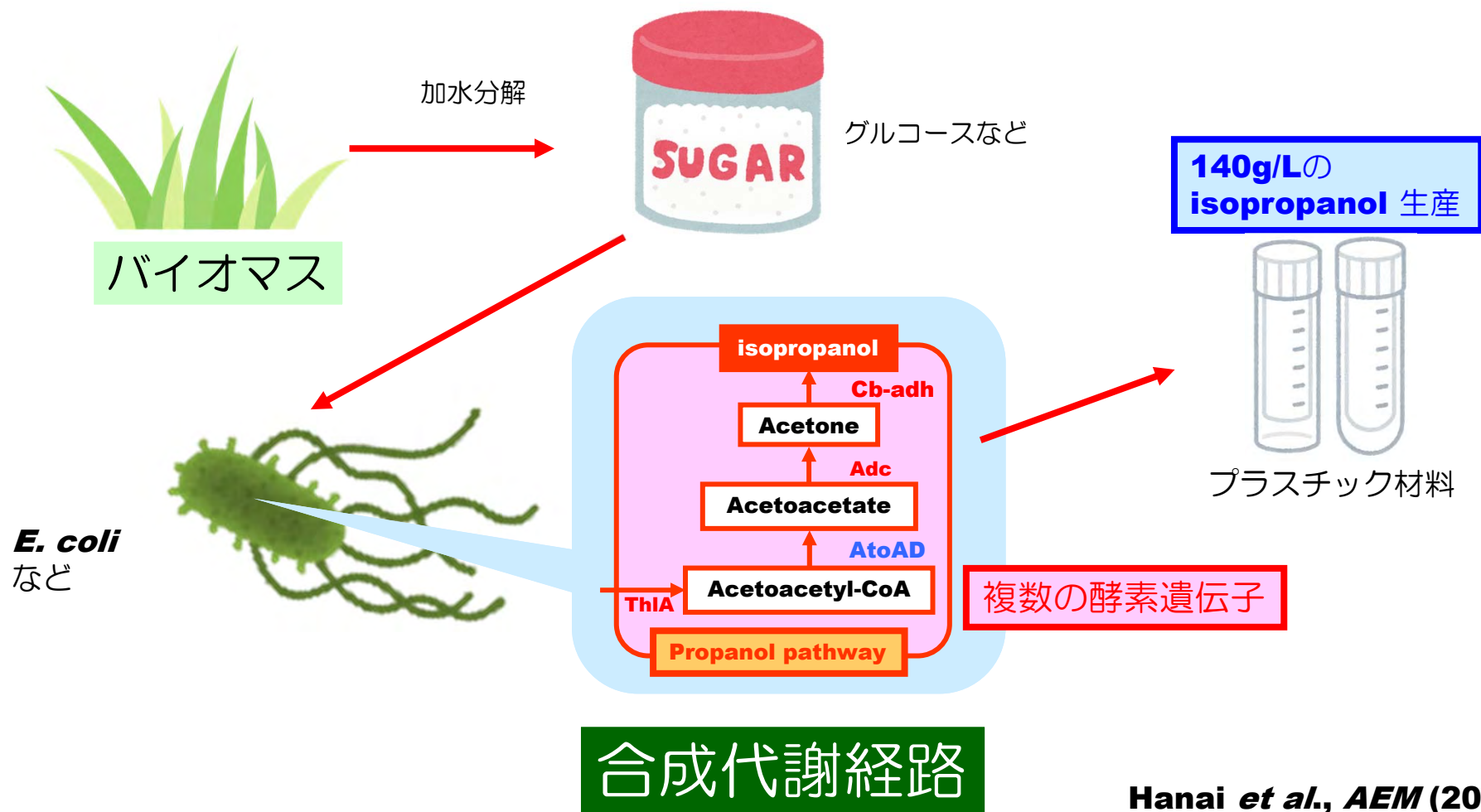
細胞密度センサー



Souma *et al.* Metabolic Eng (2015)

人工遺伝子回路

複数の酵素遺伝子を組み合わせることで、望みの物質を生産する合成代謝経路を作ることができる

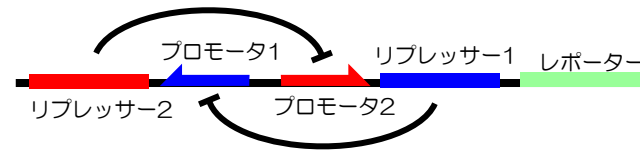


Hanai *et al.*, *AEM* (2007)

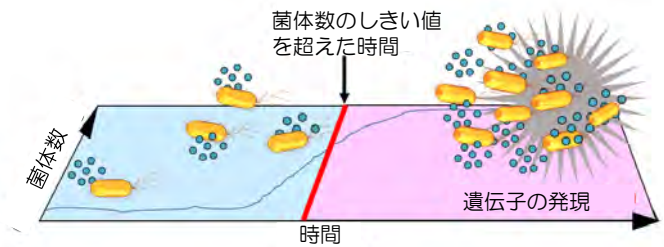
合成生物学は、主に人工遺伝子回路と
合成代謝経路についての研究で構成される

合成生物学

人工遺伝子回路

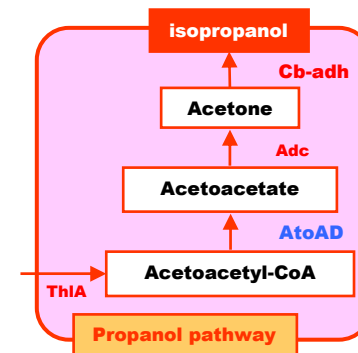


機能制御



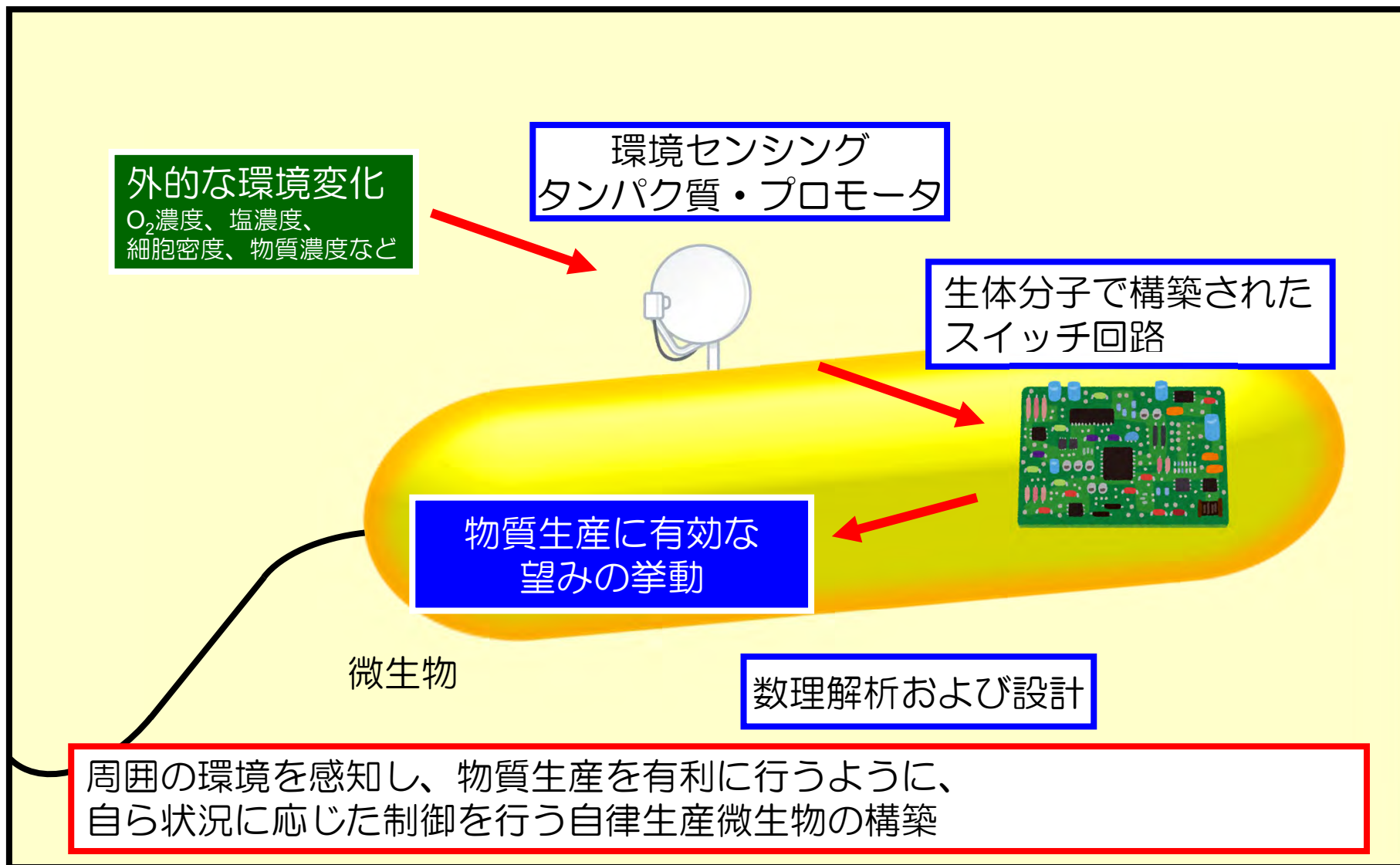
合成代謝経路

物質生産

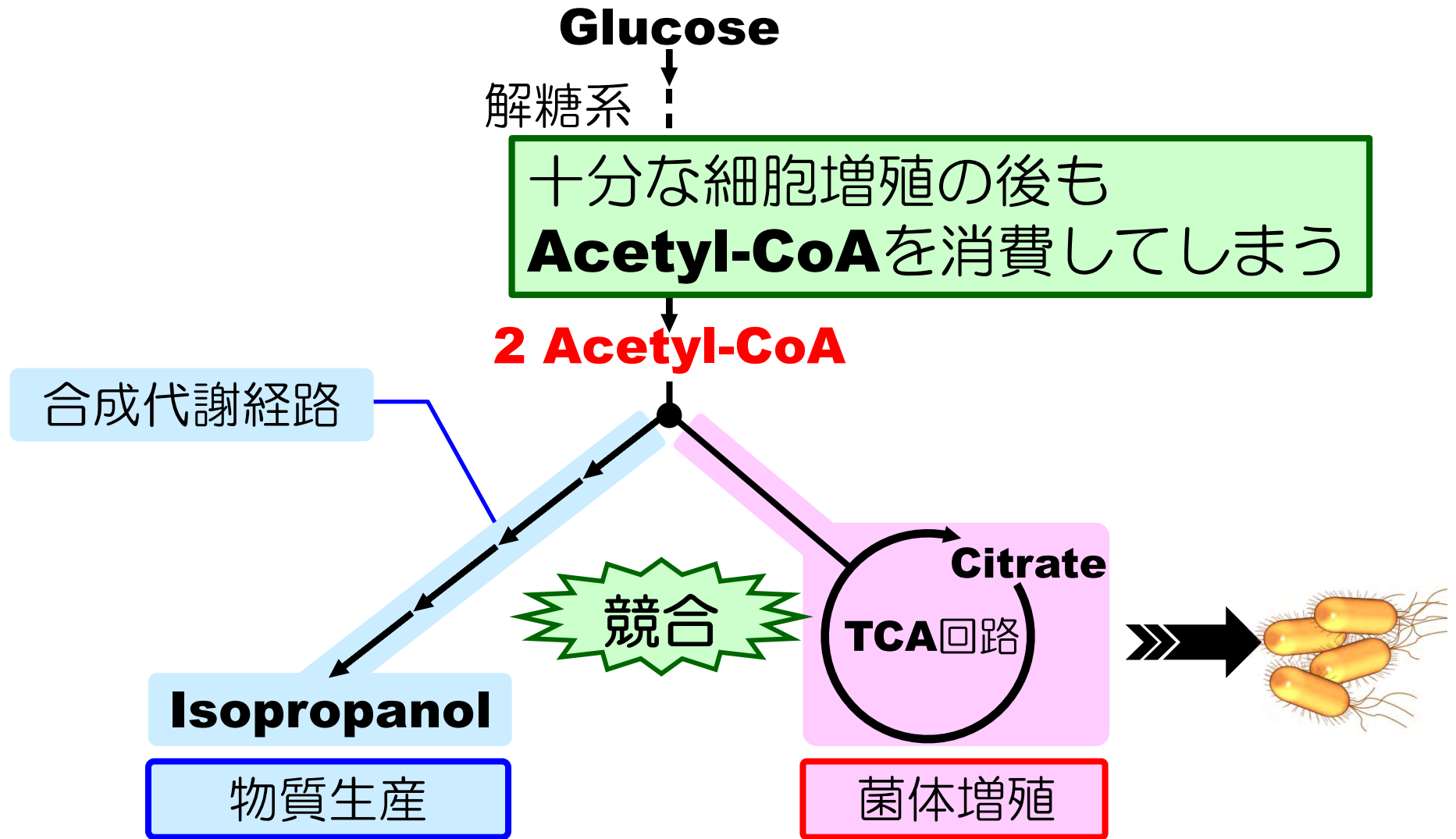


物質生産向上のための 人工遺伝子回路

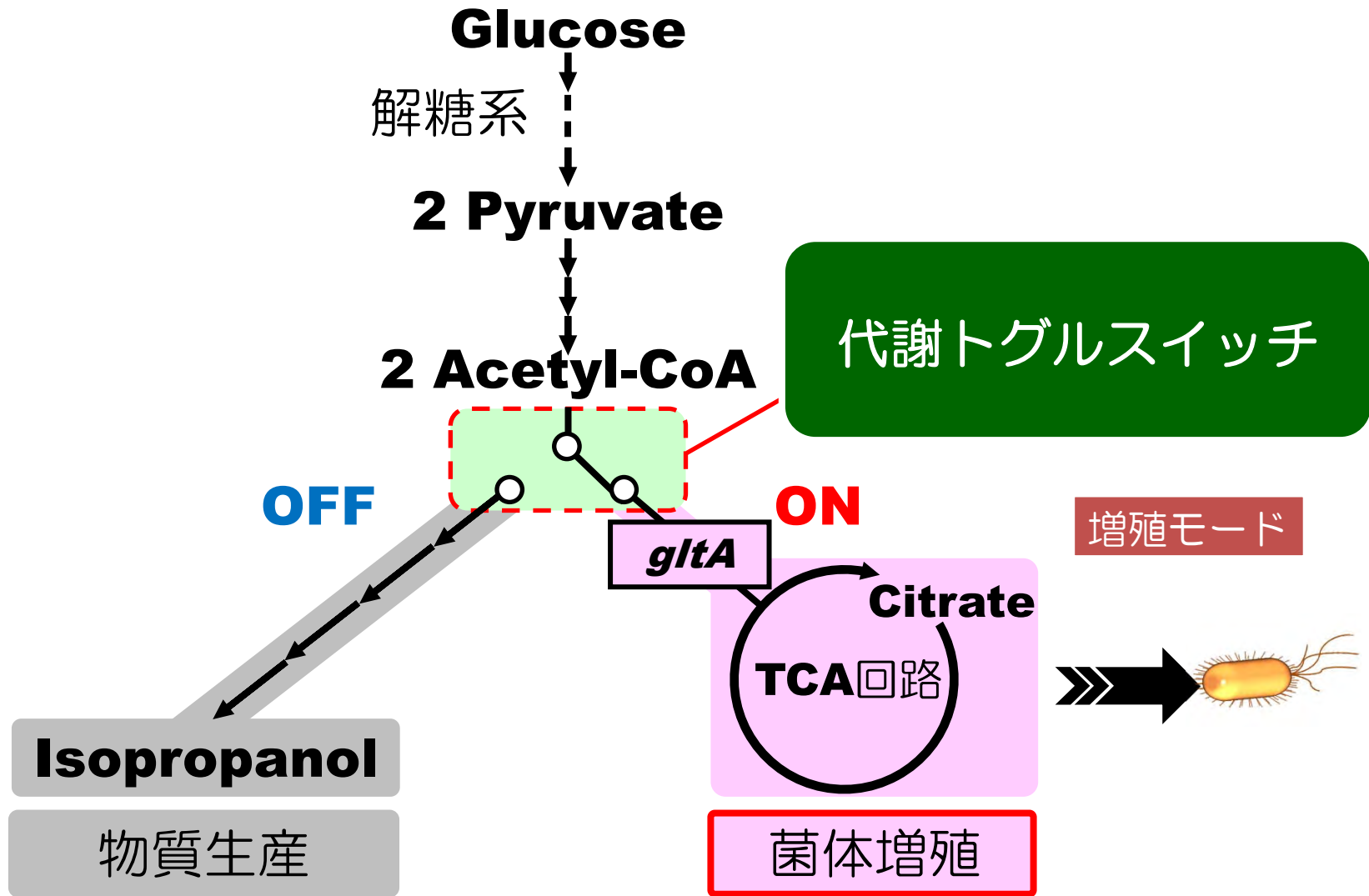
物質生産向上のための人工遺伝子回路



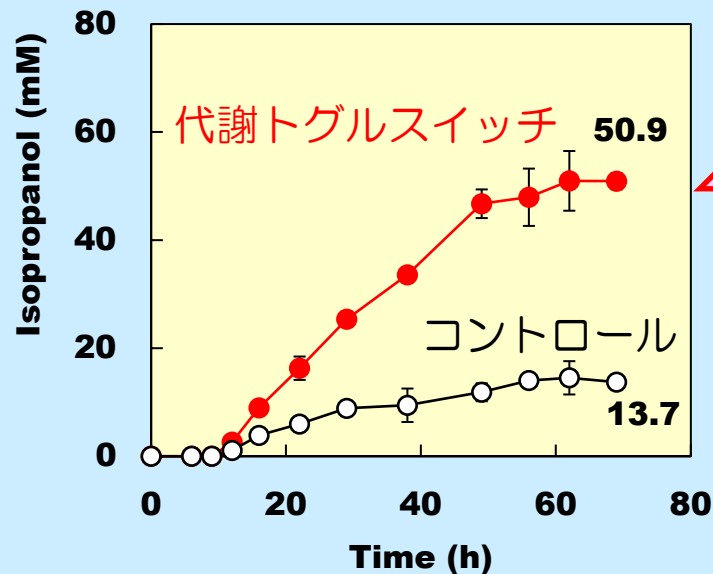
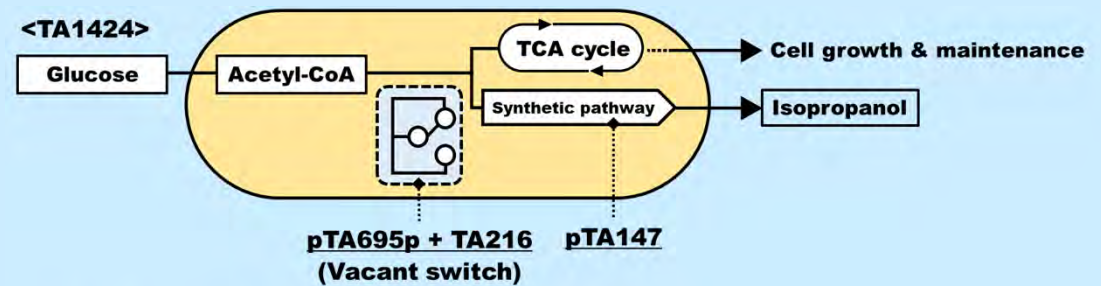
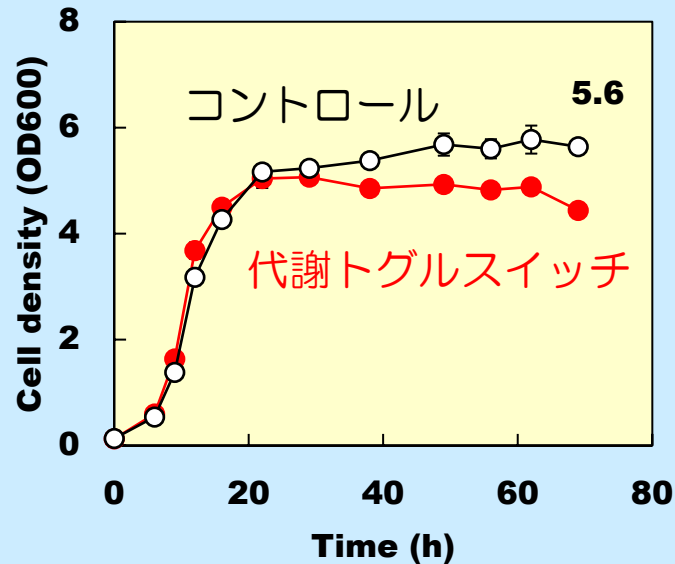
大腸菌を用いた **Isopropanol** 物質生産



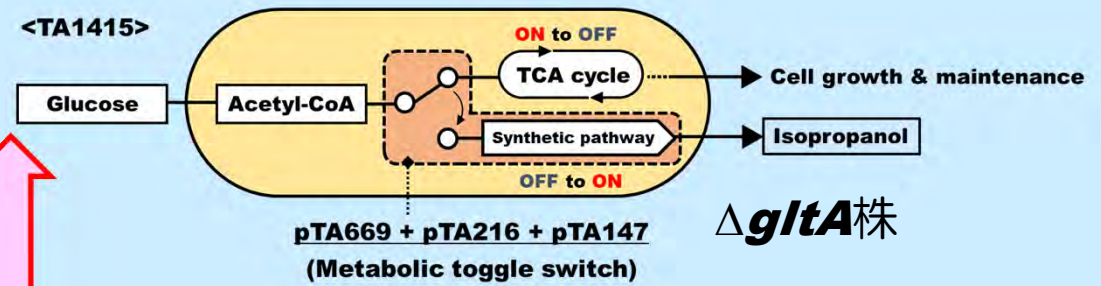
代謝トグルスイッチを用いたIsopropanol物質生産



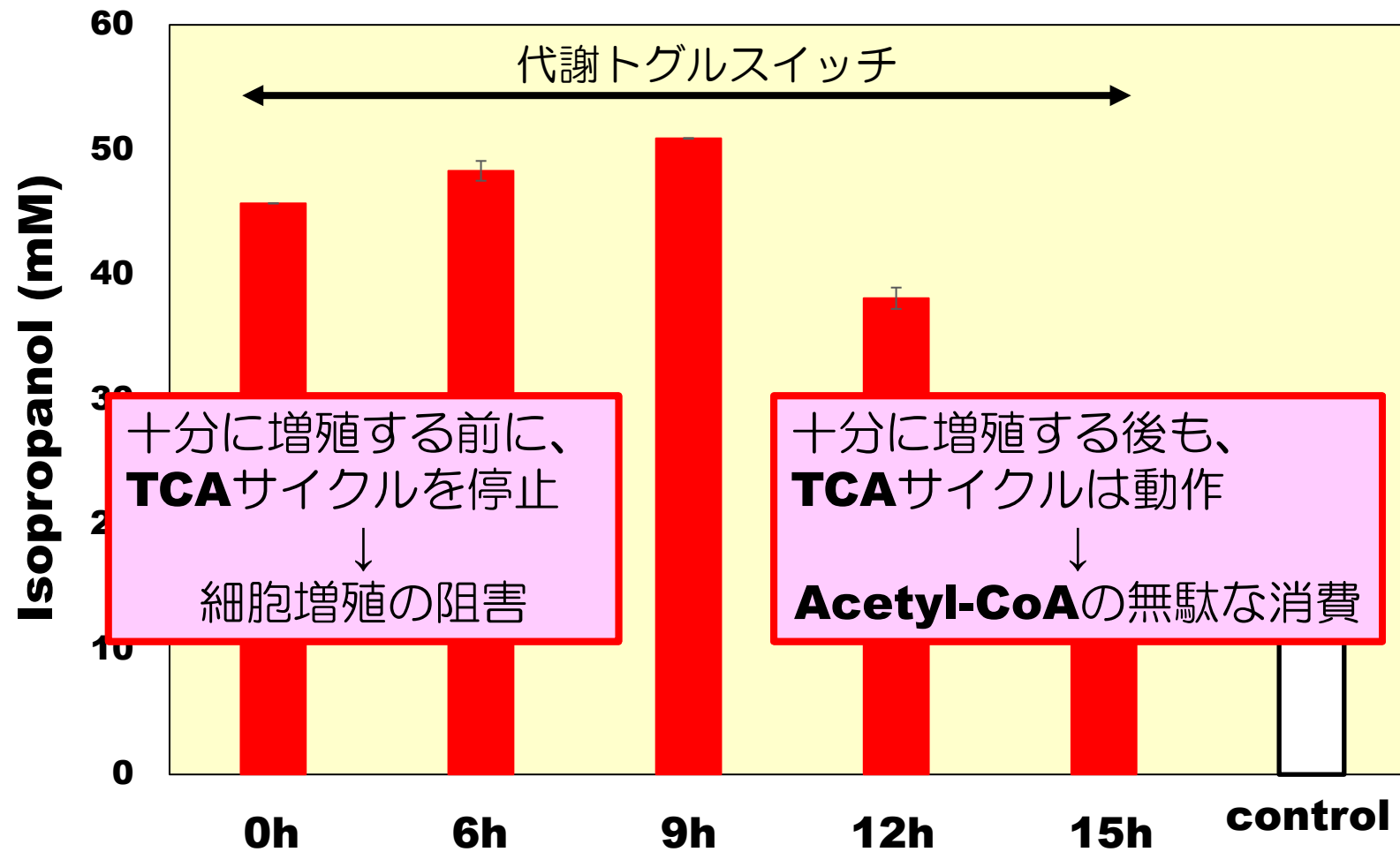
代謝トグルスイッチによるIsopropanol生産



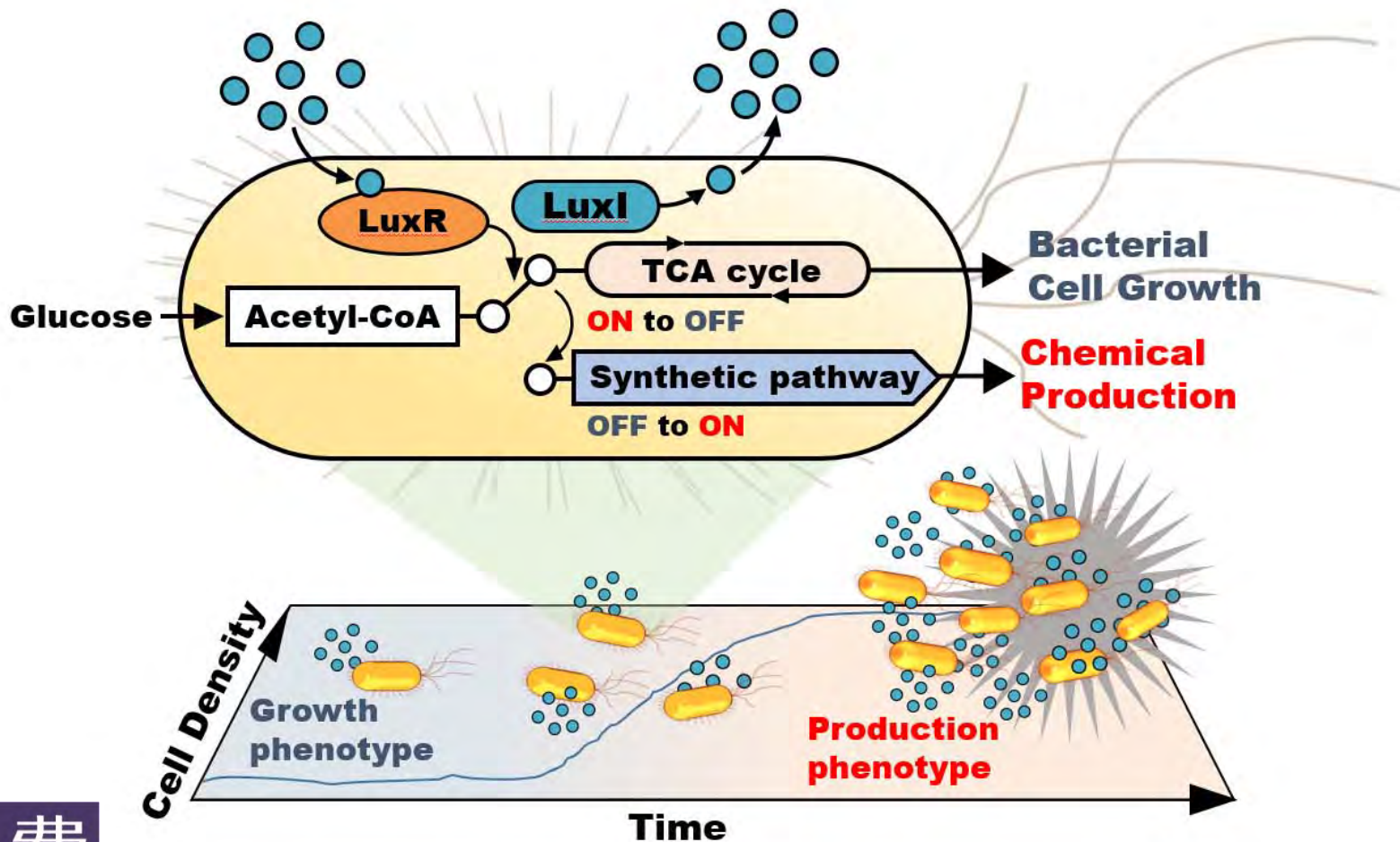
x 3.6



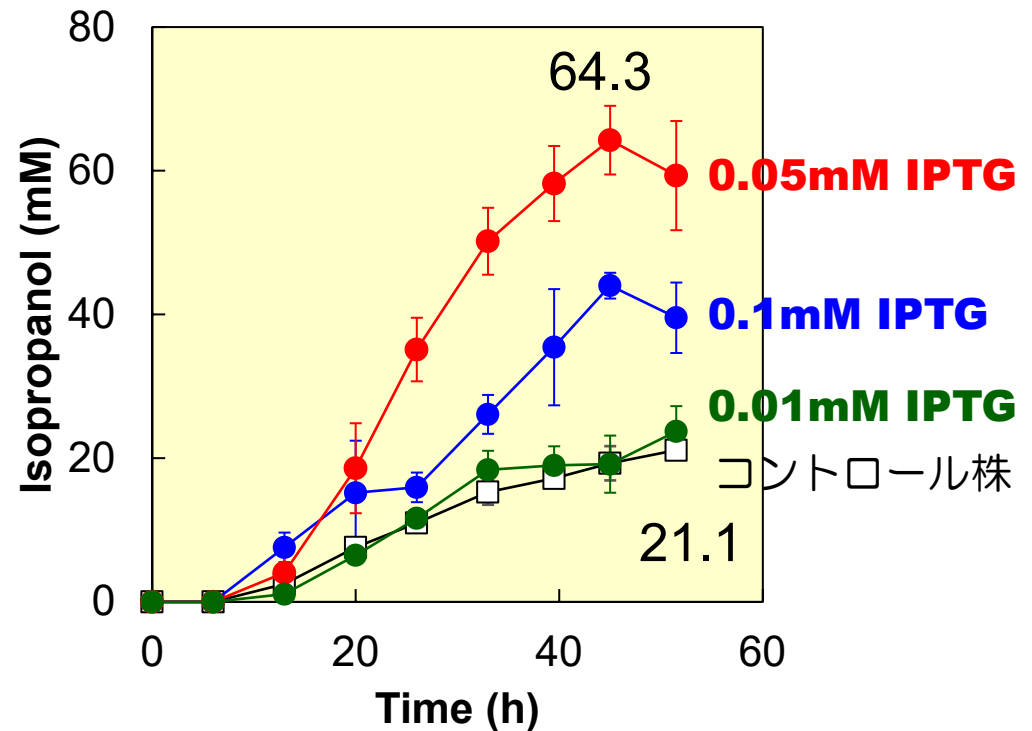
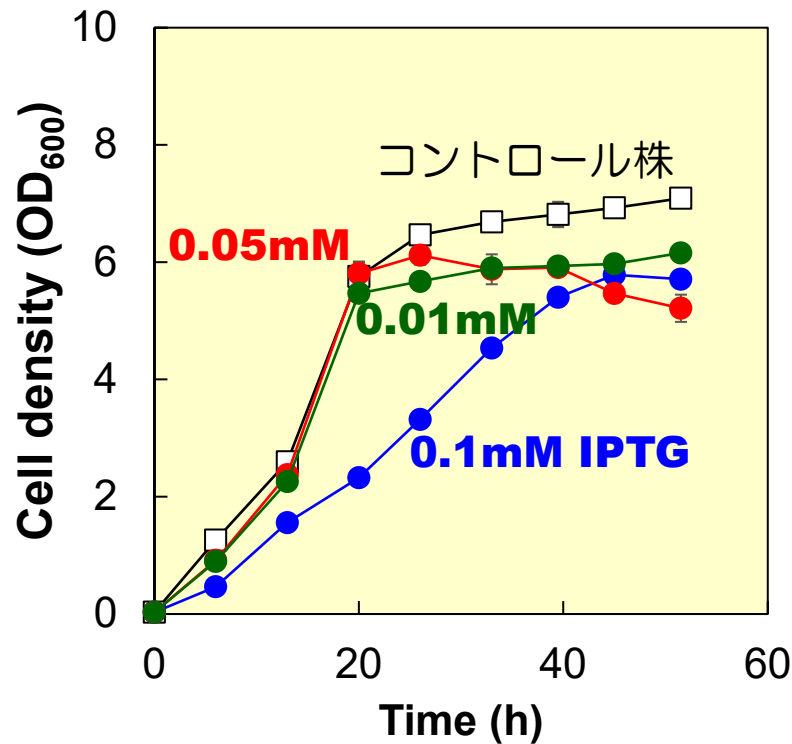
代謝トグルスイッチを用いた物質生産では 誘導剤を添加するタイミングが重要



菌体密度センサーと代謝トグルスイッチを組み合わせて自律的に細胞内代謝を制御させる



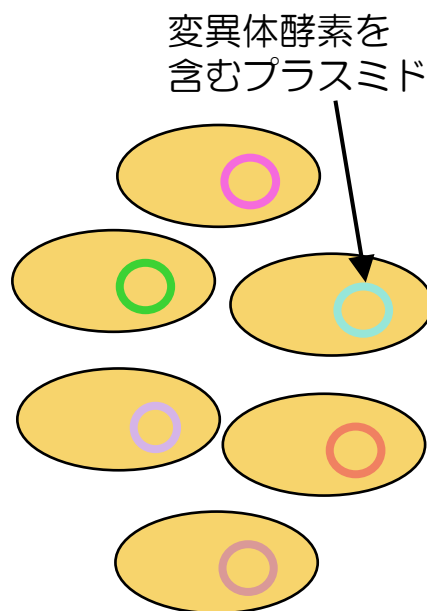
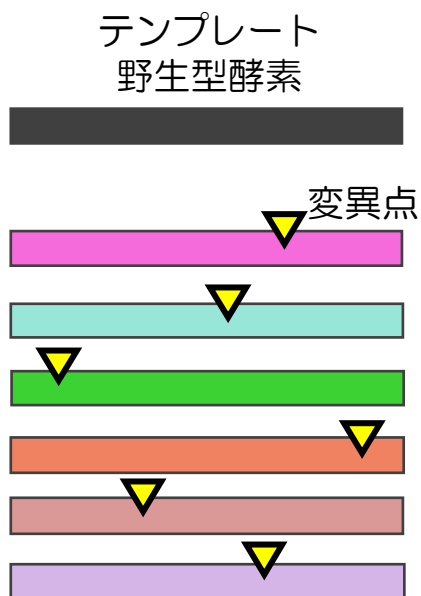
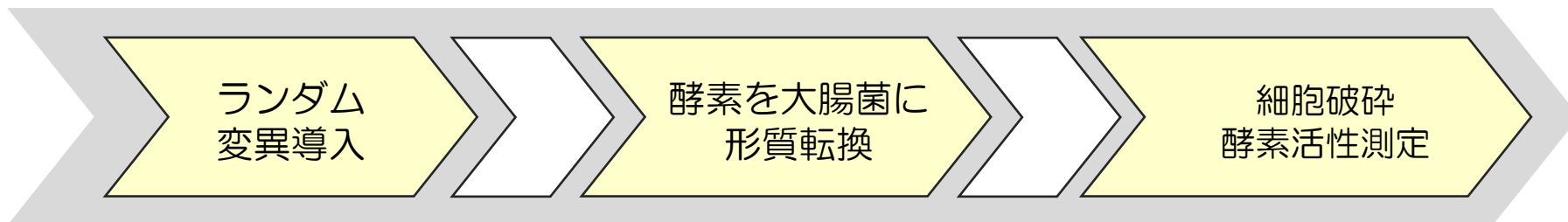
自律的な細胞内代謝制御とヒトによる誘導剤添加は ほぼ同じ生産量が得られる



適切な**IPTG**濃度 → 適度な菌体密度でスイッチが切りかわる
十分な菌体増殖、高い生産性

非破壊で高スループットの 酵素活性測定システム

活性の高い酵素を獲得するための一般的な方法



1サンプルごとに細胞破碎



吸光度の測定

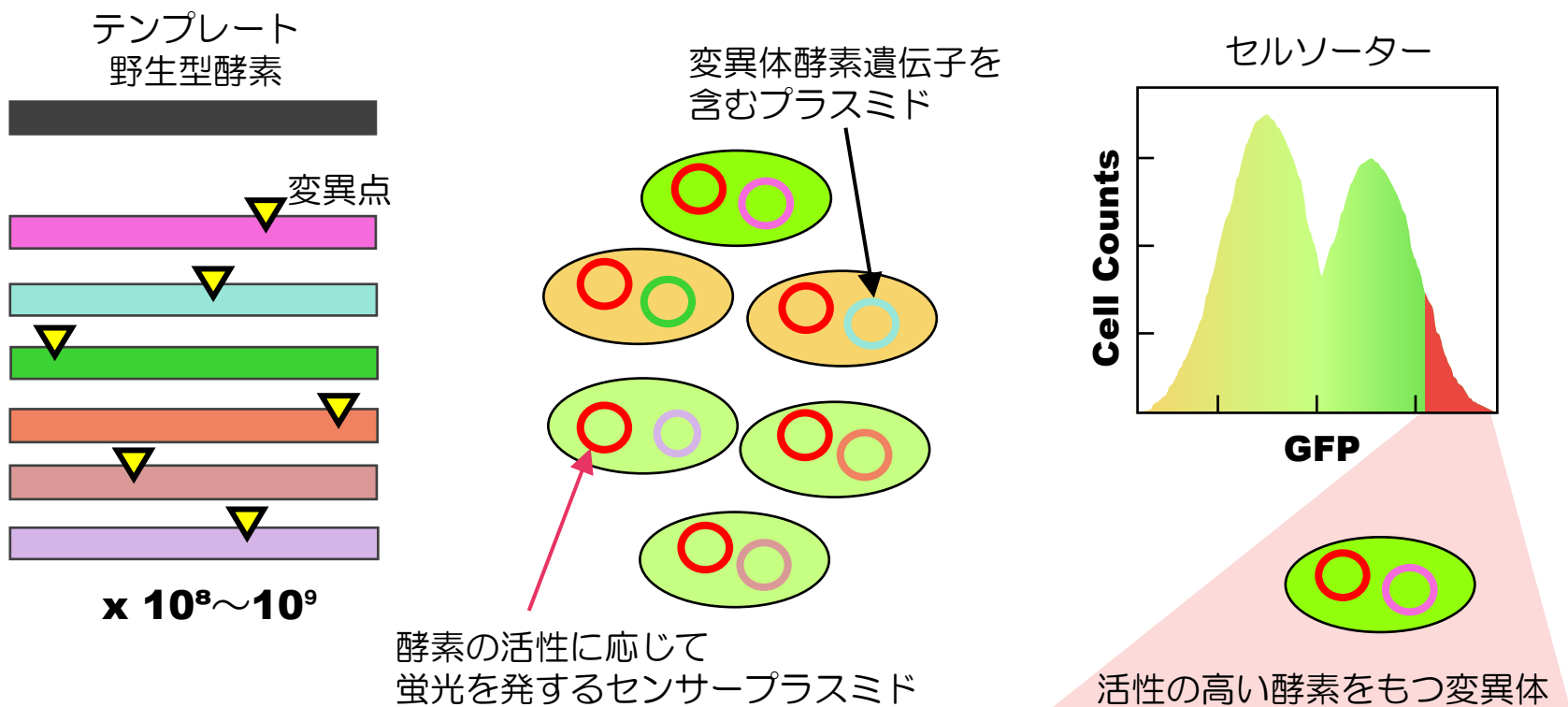
従来の方法では細胞破碎などに時間と手間がかかり、スループットが低い

活性の高い酵素をハイスループットに獲得する

ランダム
変異導入

酵素とセンサーを
大腸菌へ形質転換

変異体ライブラリーを
セルソーターへ



細胞非破壊のまま酵素活性を測定できる方法を構築する

合成生物学分野で必要とされるバイオ分析技術

特定の代謝物質や刺激に応答する 生体分子センサーは、合成生物学で広く必要とされる。

菌体密度センサー
(**AHL**濃度センサー)

細胞増殖に適した状態（増殖モード）と
物質生産（生産モード）の切り換え

NADPH消費量センサー

酵素活性の非破壊測定、**HTP**スクリーニング