

# 光を利用したバイオものづくり 細胞のエネルギー供給機能の改良技術

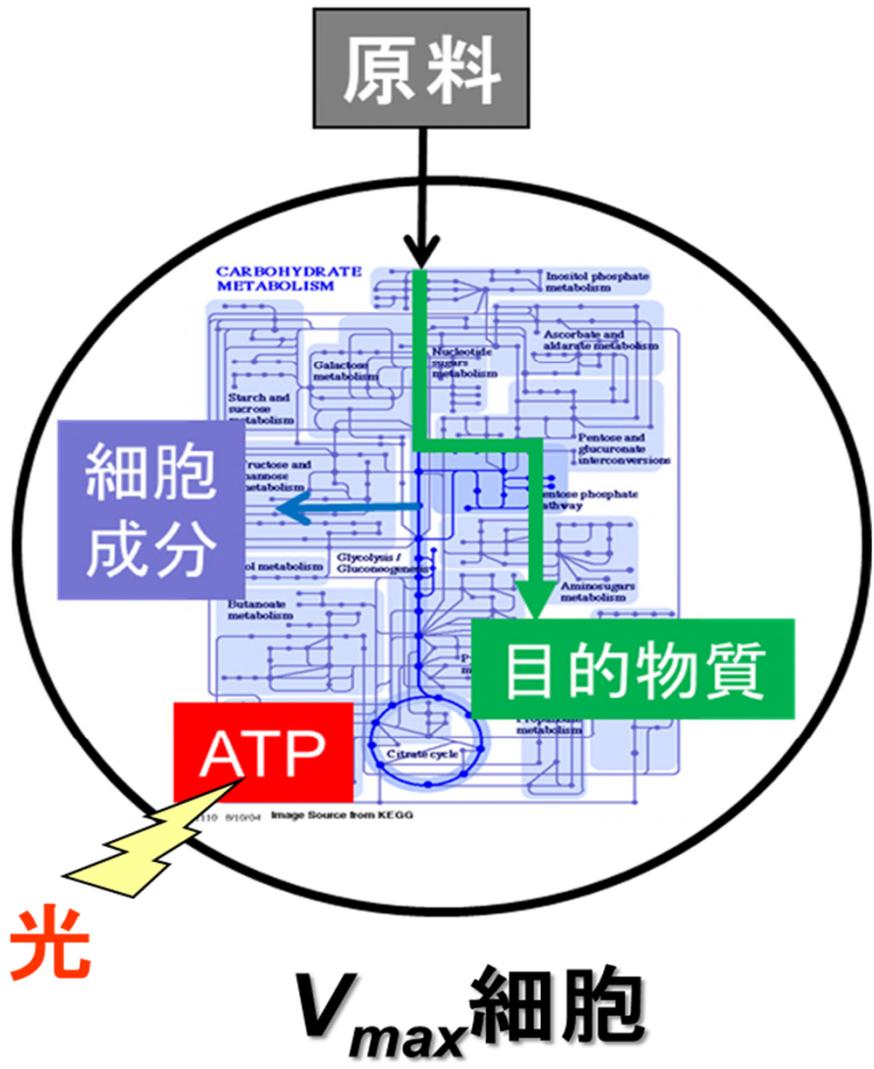
静岡県立大学  
環境生命科学科  
准教授

食品栄養科学部  
環境工学研究室  
原 清敬

2024年3月7日

# 発明の背景と従来技術

発酵のジレンマの解決(発酵のエネルギー革命)



目的物質生産性の強化



細胞内エネルギーの不足

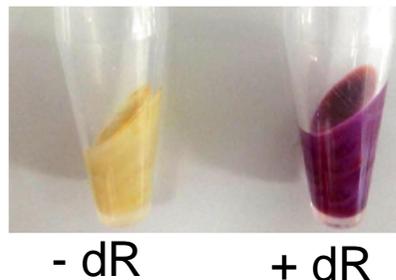
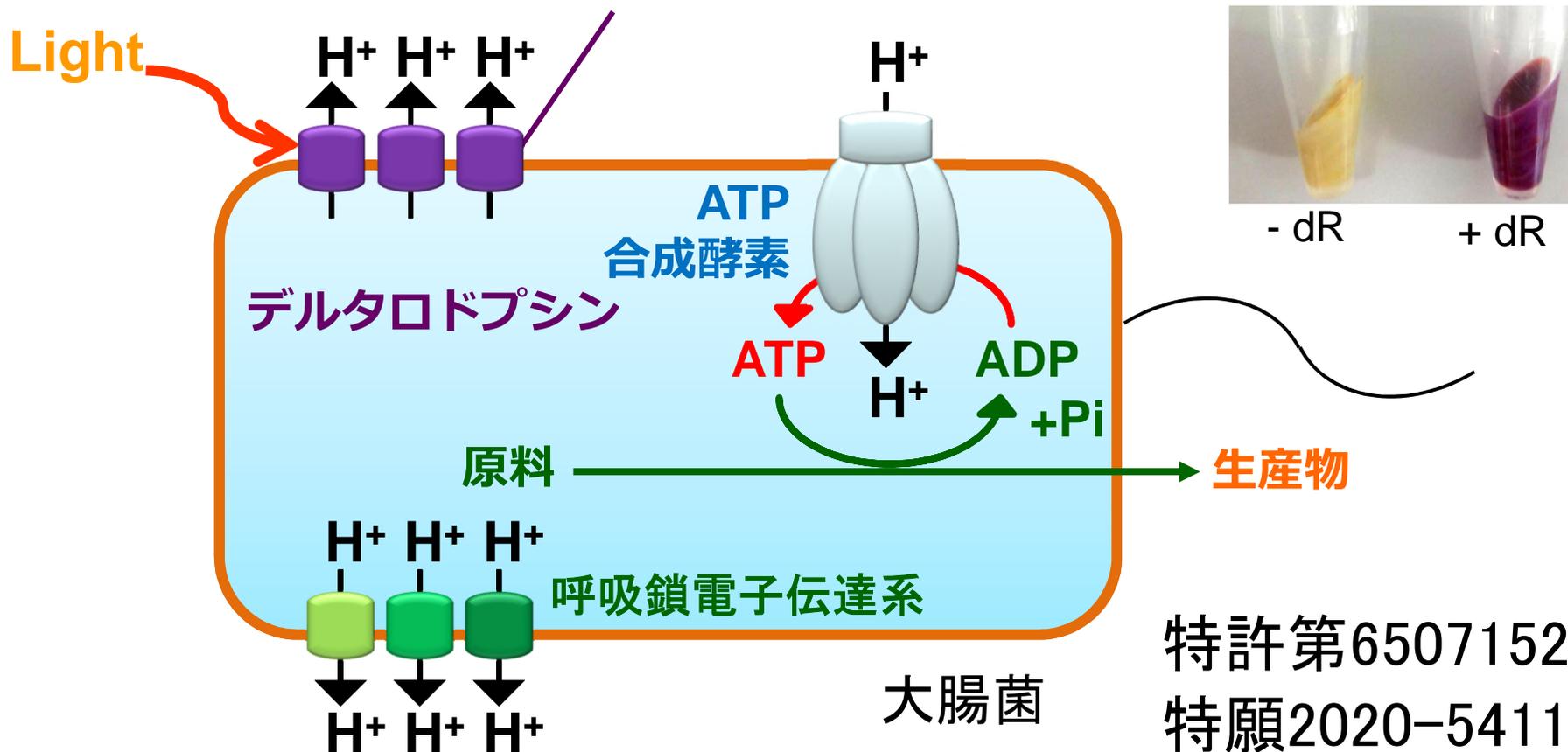
- 目的物質生産性の頭打ち
- 生育の低下
- ストレス耐性の低下

光エネルギー利用能の付与による光駆動エネルギー再生

# 発明の背景と従来技術

## 光エネルギーをATP再生に変換するシステムの導入

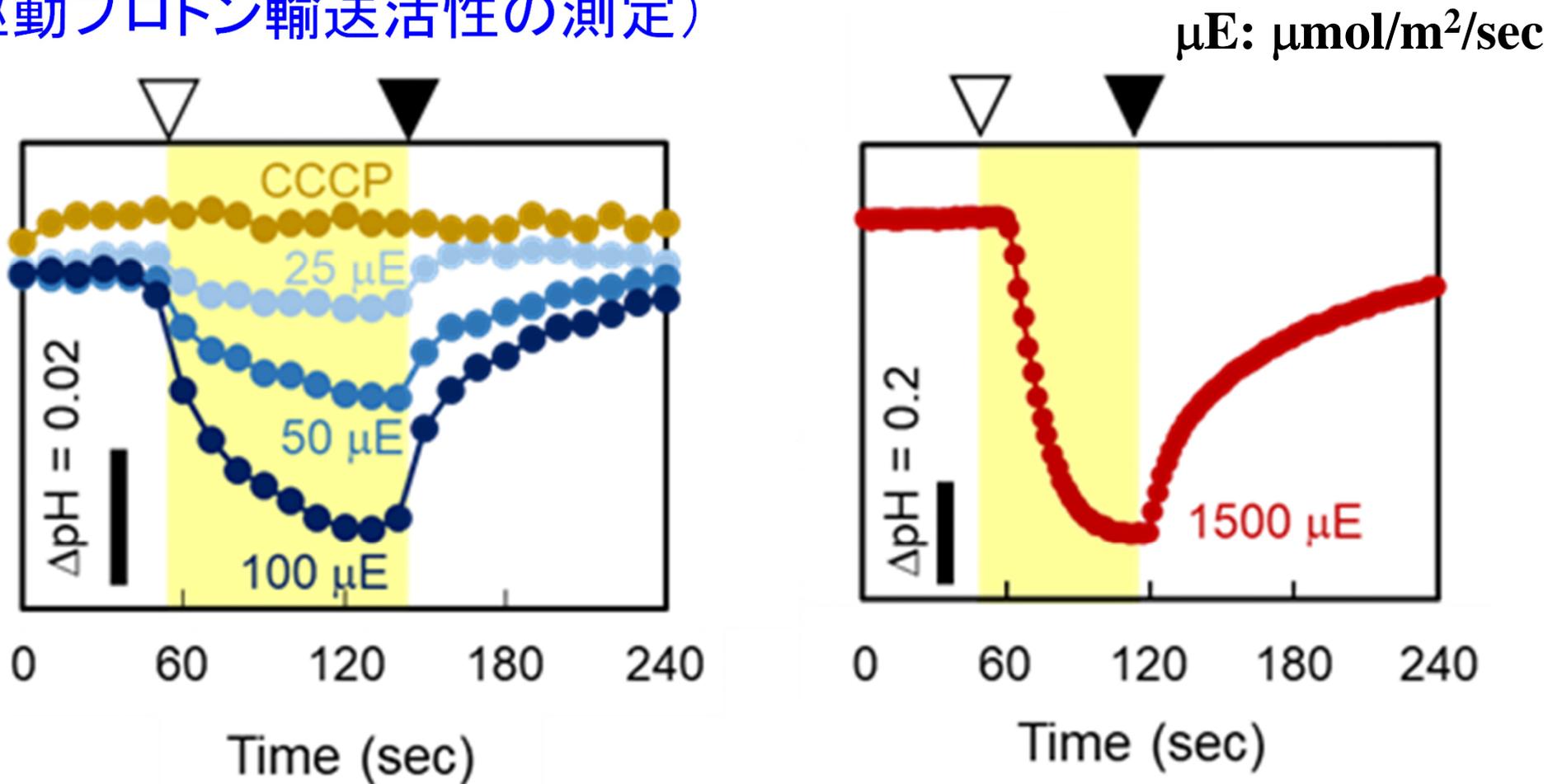
デルタロドプシン(dR)  
高度好塩菌 *Haloterrigena turkmenica* 由来



光エネルギーを用いてATPを再生する細胞の創製技術

# 発明の背景と従来技術

## デルタロドプシンの機能性の確認 (光駆動プロトン輸送活性の測定)



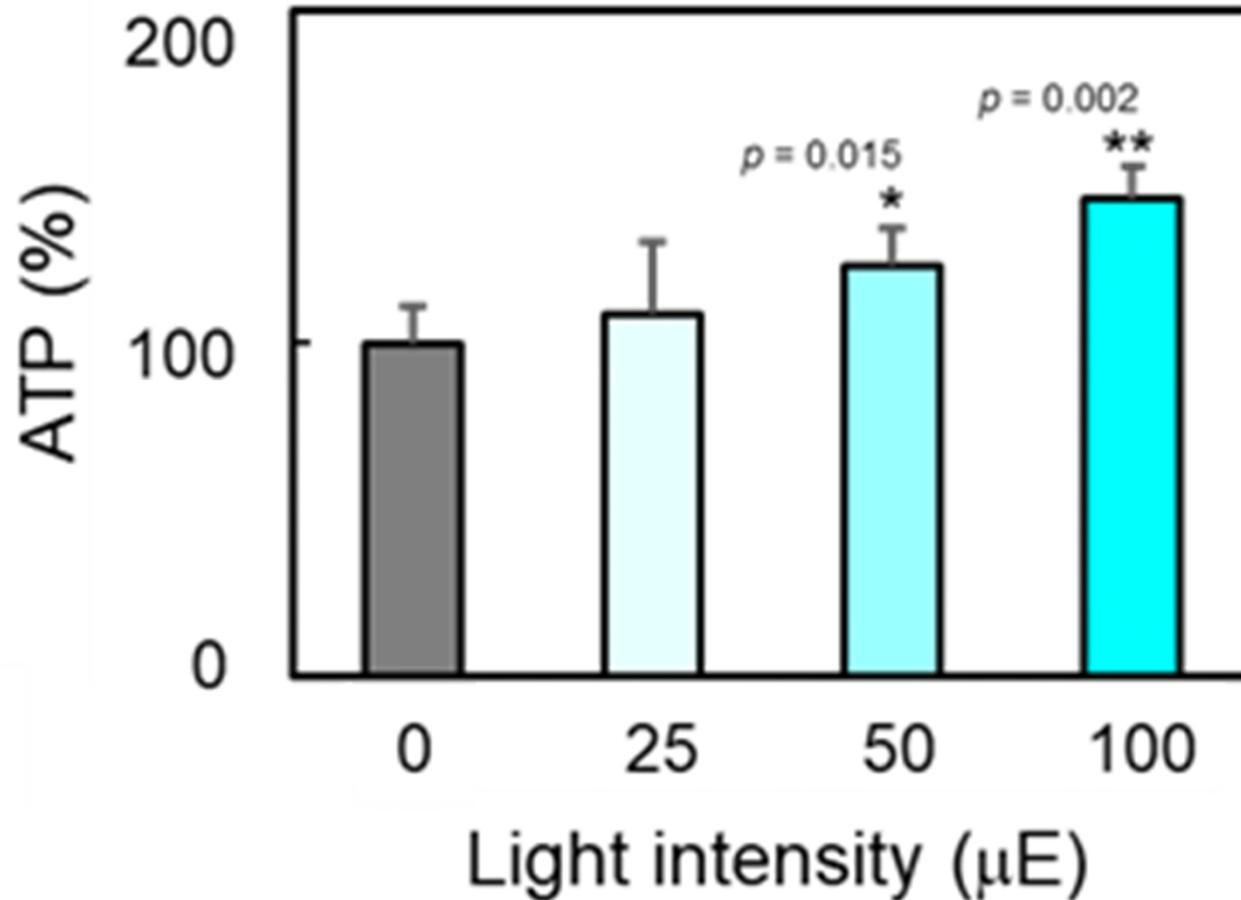
光の強度にしたがってpHが減少し、脱共役剤CCCPの添加でpH変化の応答がなくなった。

大腸菌に発現させたデルタロドプシンの光依存的なプロトン輸送を確認

# 発明の背景と従来技術

## デルタロドプシンの機能性の確認 (細胞内ATP濃度の測定)

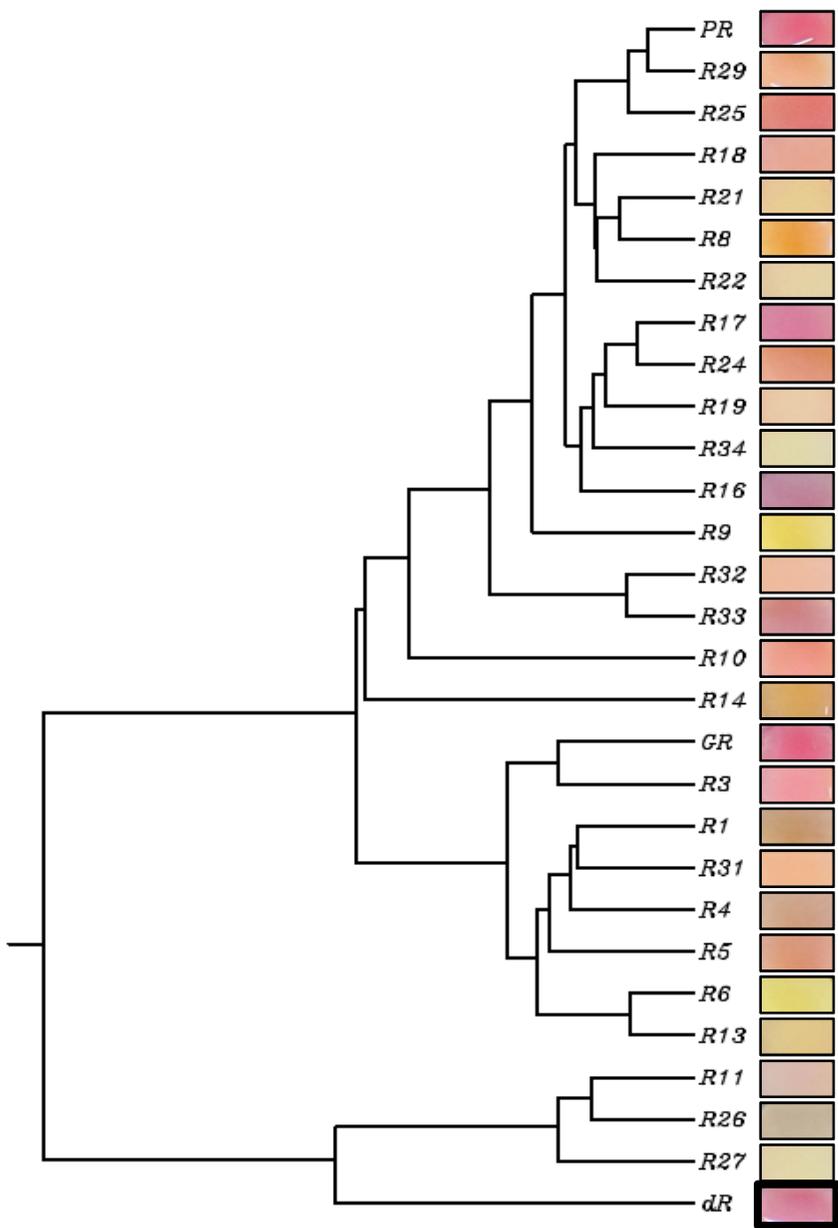
特願2020-541155



大腸菌に発現させたデルタロドプシンの光依存的なATP増加を確認

## 従来技術

特願2022-544532



自然界からより高機能なロドプシンを選抜

## 従来技術とその問題点

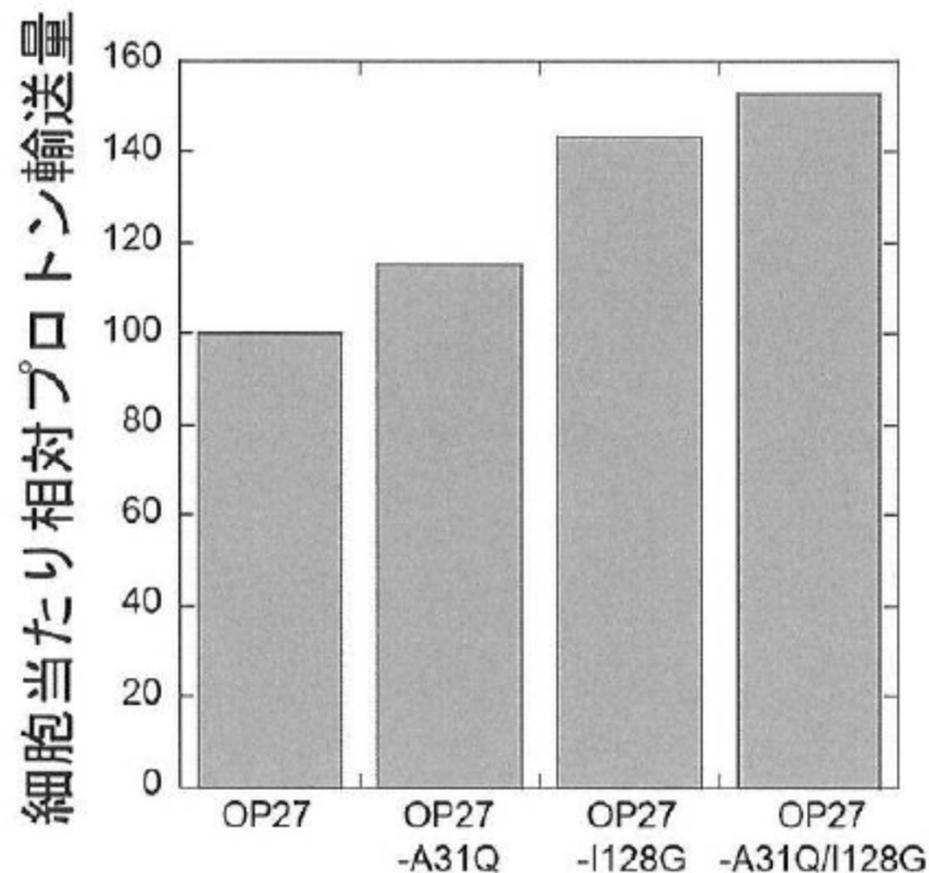
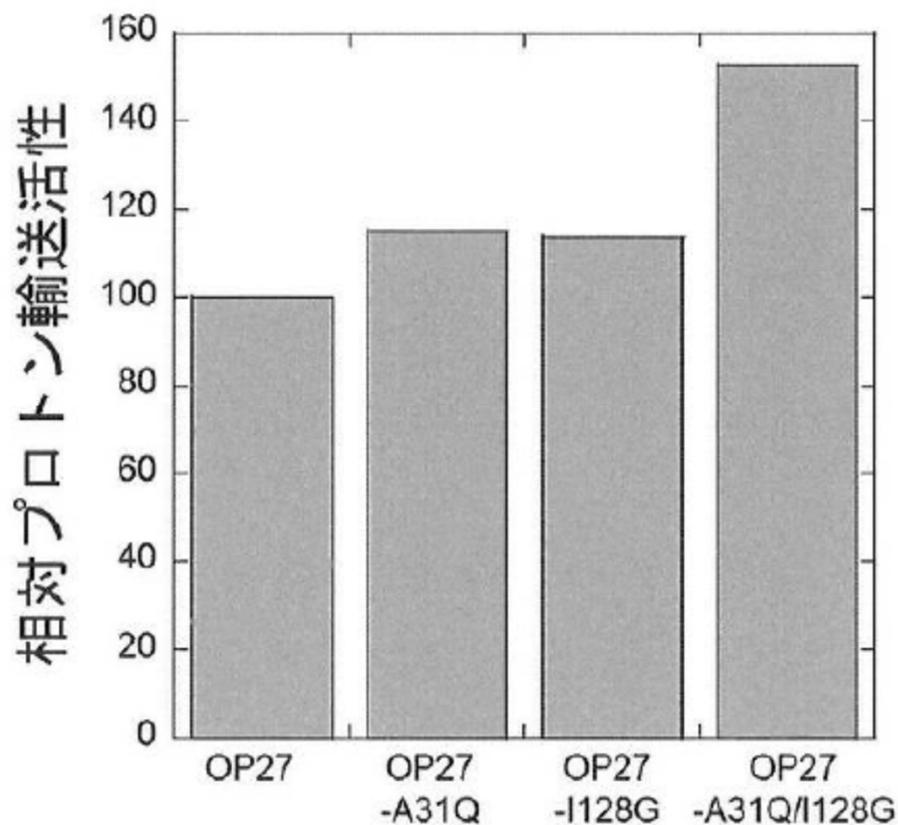
既に実用化されているものには、米国ベンチャー企業Amyris社による細胞内エネルギーの省エネ法（エネルギーを使用する代謝の破壊）等があるが、基礎代謝エネルギーを確保する必要があり、削減可能なエネルギー量には限界がある。

また、宿主が変わると代謝改変をゼロからやり直す必要があり、多大な時間とコストが問題である。

## 新技術の特徴・従来技術との比較

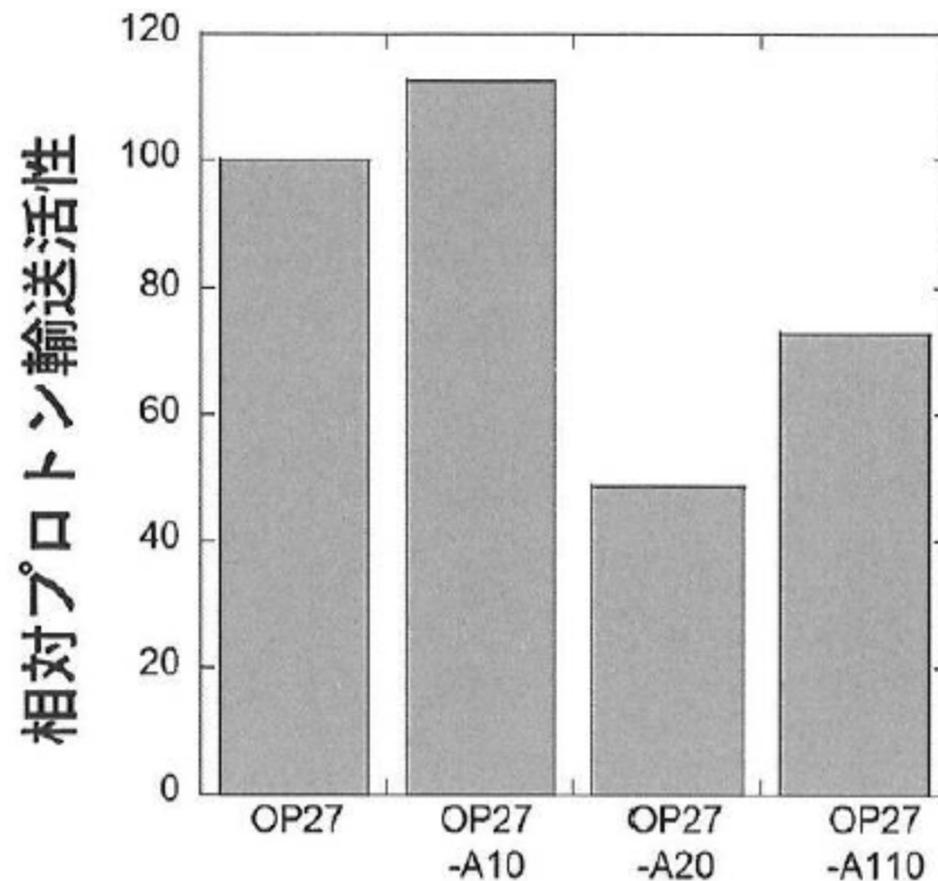
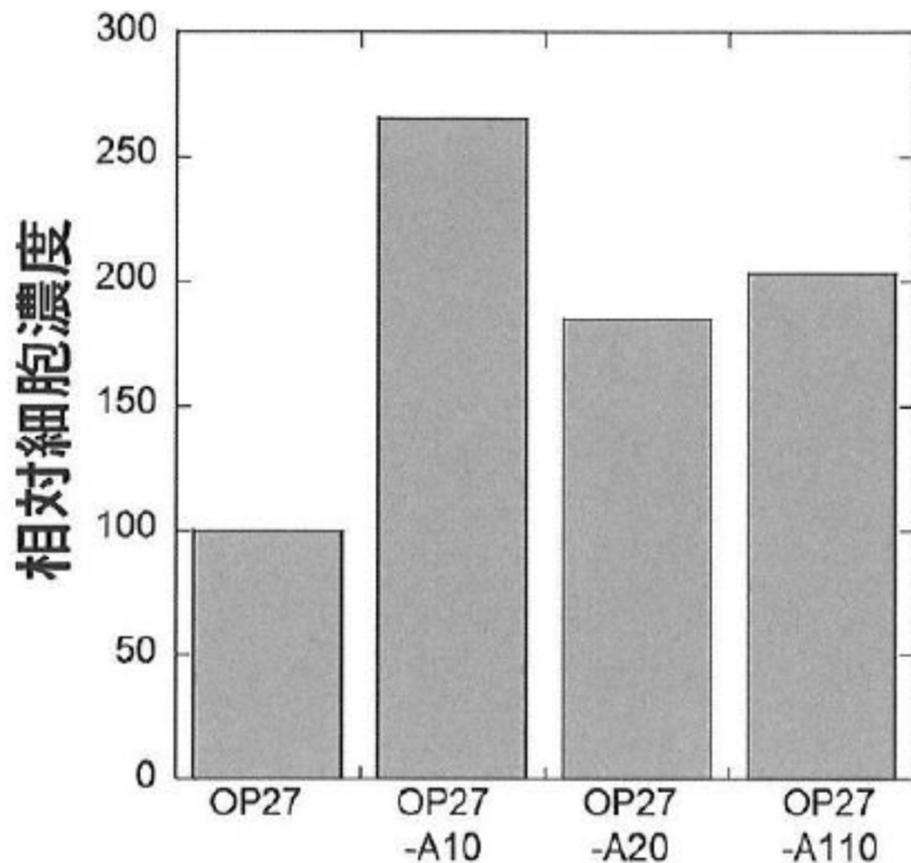
- 従来のバイオものづくりで用いられる微生物の遺伝子を破壊することなく、アドオン型のエネルギー改善技術の開発に成功
- また、今回、点変異や祖先型設計によりロドプシンの機能を改良し、大腸菌でのプロトン輸送活性や物質生産性をさらに改善
- 出芽酵母の液胞の改良による細胞内エネルギー状態の改善にも成功

# 新技術の特徴・従来技術との比較



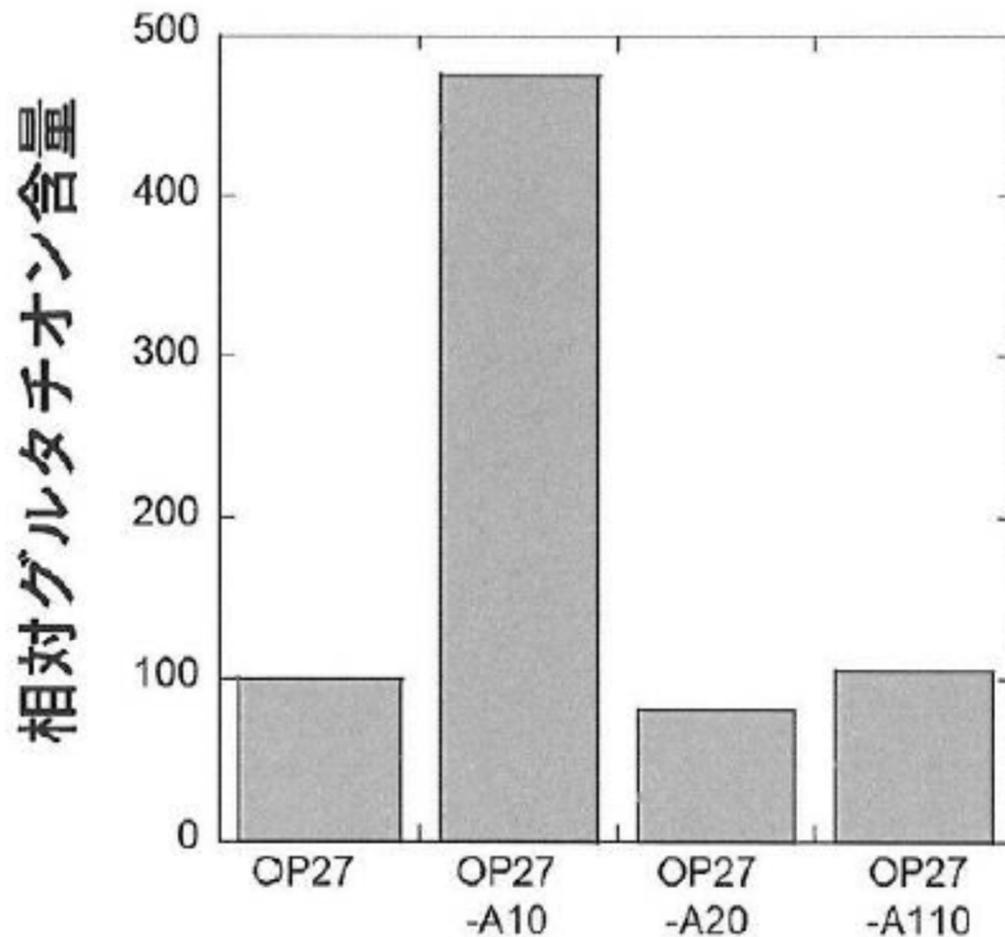
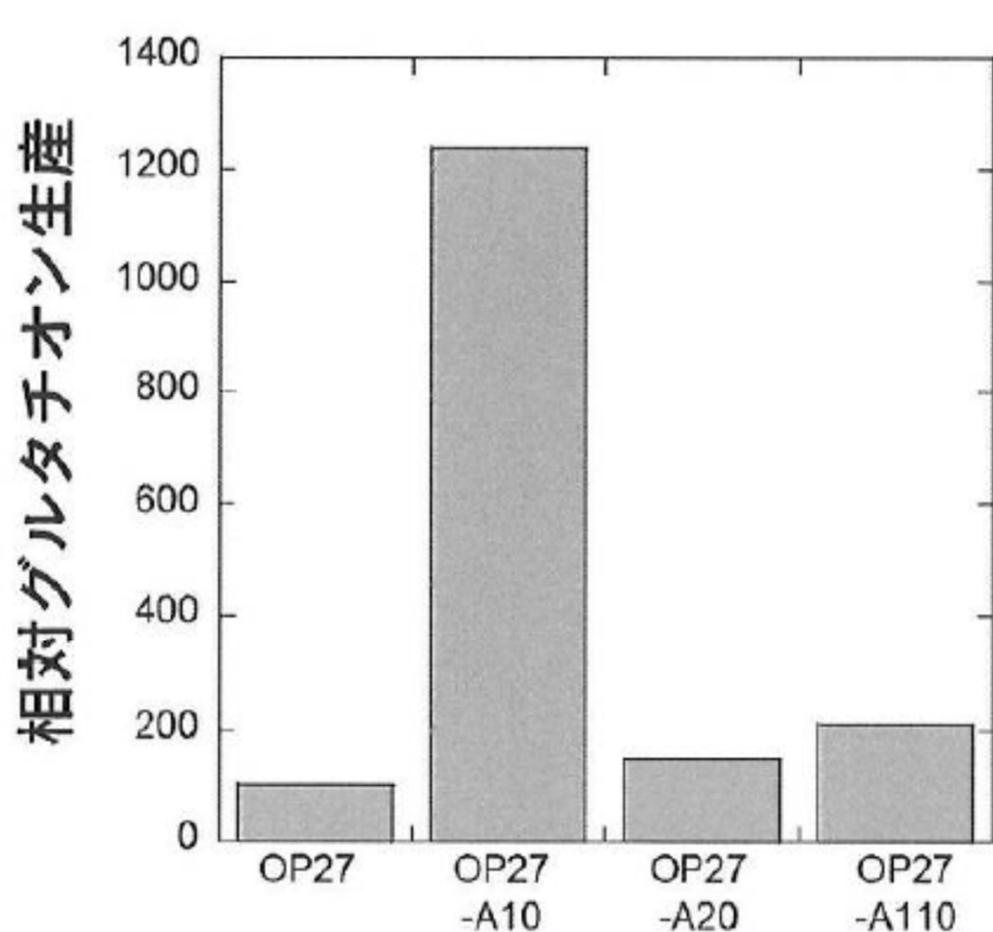
点変異によりロドプシンの機能が向上

# 新技術の特徴・従来技術との比較



祖先型設計によるロドプシン機能の向上により細胞濃度低下を抑制

# 新技術の特徴・従来技術との比較



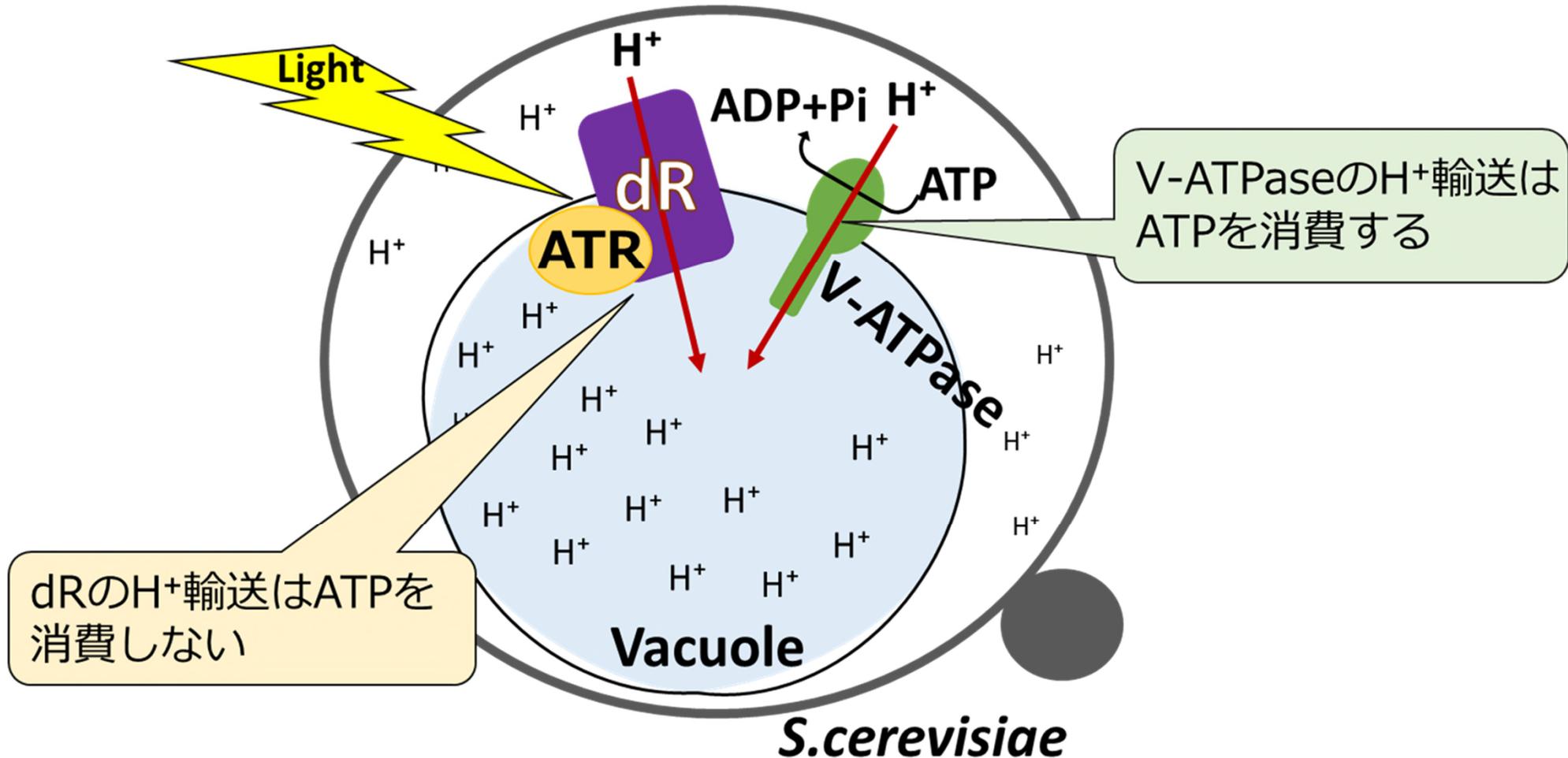
ロドプシン機能の向上によりグルタチオンの生産性が向上

## 本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : ロドプシンの新規変異体
- 出願番号 : 特願2022-162218、  
US.202218045012.A、EP.22200274.A
- 出願人 : 静岡県公立大学法人
- 発明者 : 原清敬、原陽子、伊藤創平、  
中野祥吾、佐藤良樹、川崎真由、松田史生、  
戸谷吉博、清家泰介、大塚健介

# 新技術の宿主拡張

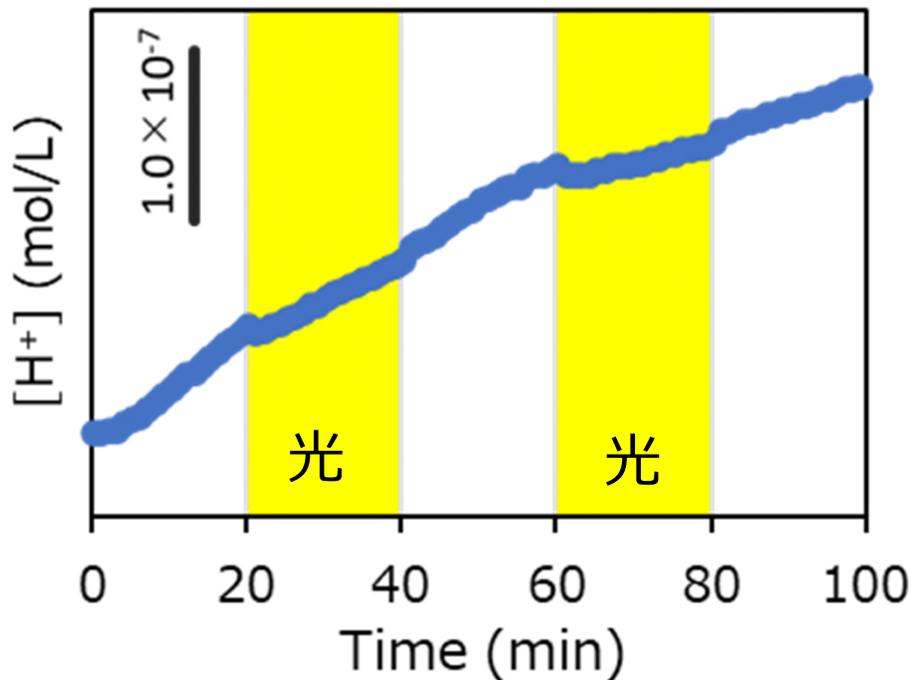
出芽酵母液胞膜へのdelta rhodopsin発現による  
エネルギー利用の効率化と物質生産への応用



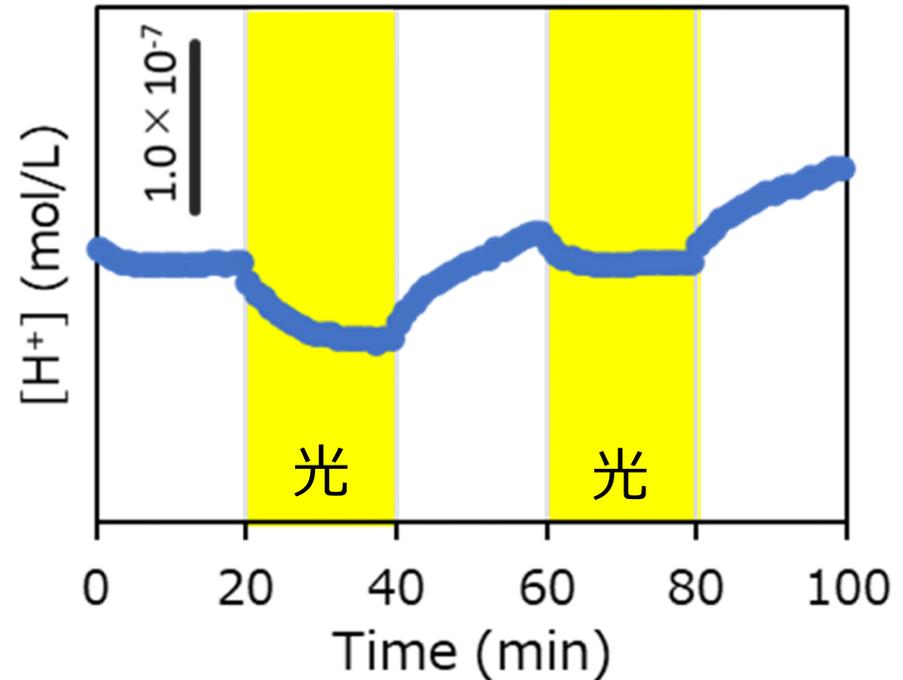
# 新技術(出芽酵母)の特徴

単離液胞の光駆動H<sup>+</sup>ポンプ活性の測定 光強度：100 μmol/m<sup>2</sup>/s

dR-液胞外の [H<sup>+</sup>]



dR+液胞外の [H<sup>+</sup>]



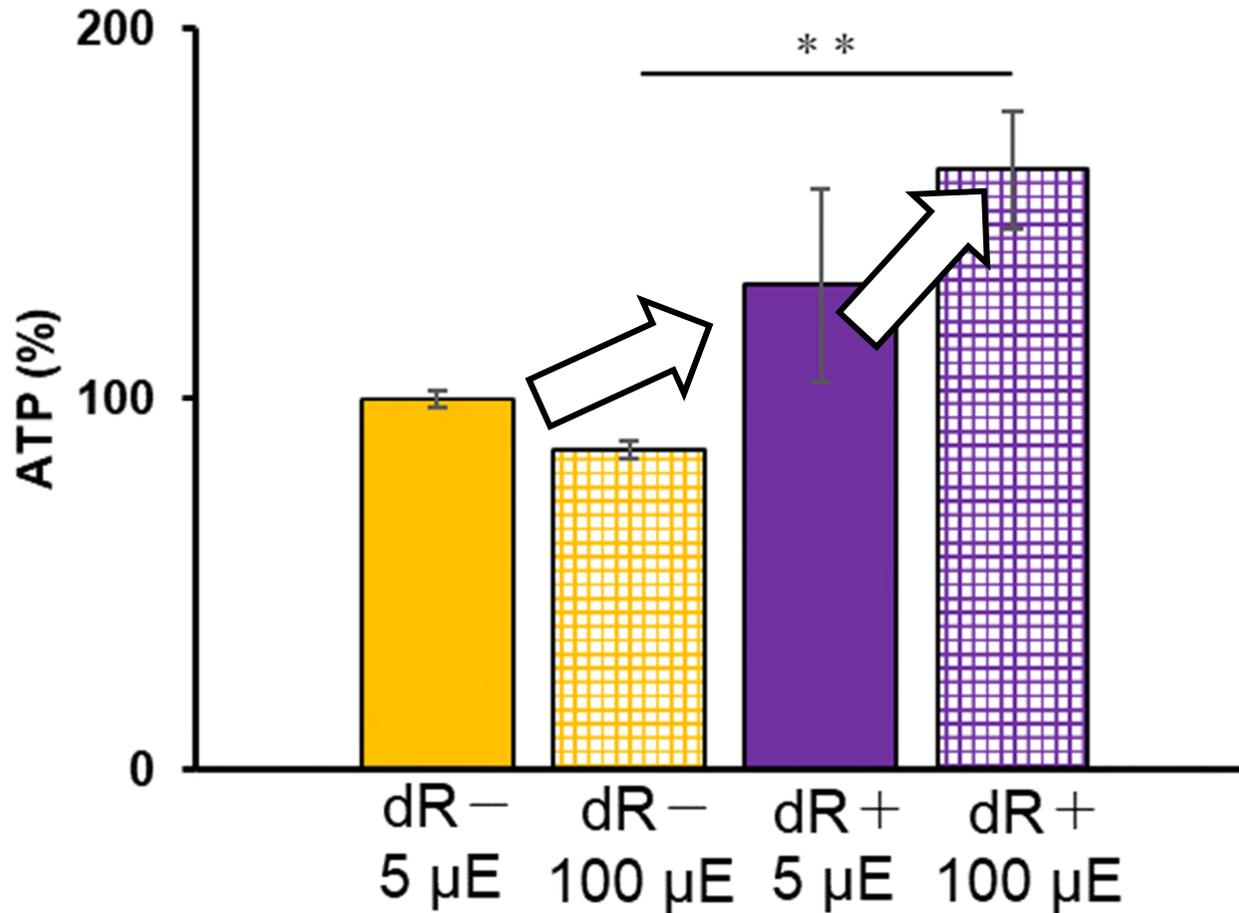
dR-液胞溶液では光照射で  
H<sup>+</sup>濃度は低下無し

dR+液胞溶液では光照射に対応して  
H<sup>+</sup>濃度は低下

dRが光駆動H<sup>+</sup>ポンプとして働き、溶液中のH<sup>+</sup>を液胞内へ輸送

# 新技術(出芽酵母)の特徴

## 細胞内ATP量



液胞膜へのdRの発現と光照射により細胞内ATP量が増加

## 本技術に関する知的財産権

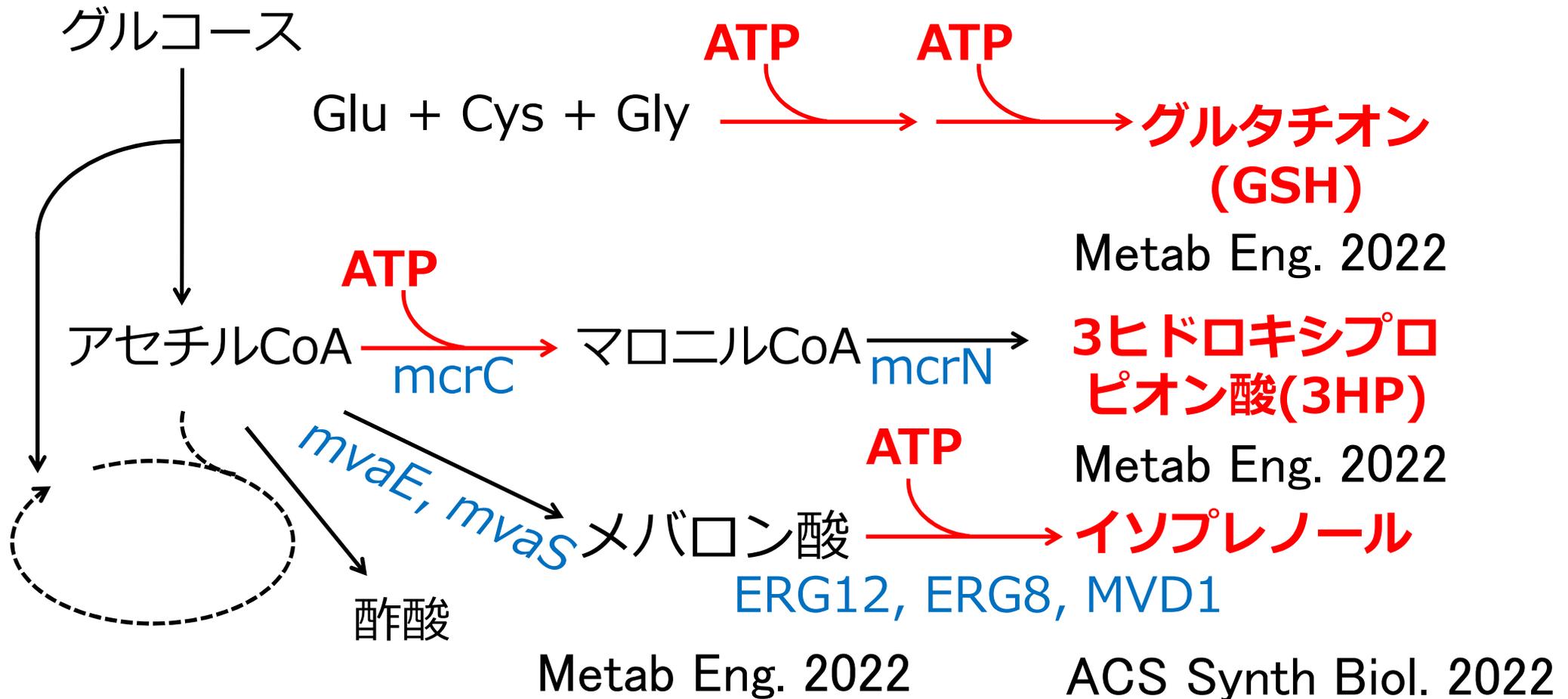
- 発明の名称：オルガネラ移行配列とオプシンの融合タンパク質
- 出願番号：特願2021-165939
- 出願人：静岡県公立大学法人、396バイオ
- 発明者：原清敬、大長薫、原陽子

## 想定される用途

- 本技術の特徴を生かすためには、ATPエネルギーを利用する物質の製造に適用することで生産性の向上のメリットが大きいと考えられる。
- 上記以外に、酸素呼吸によるエネルギー生産を光で代用可能なため通気量の低減、攪拌電力の削減効果が得られることも期待される。
- 達成された有用物質に着目すると、医薬品、化粧品、食品や生分解性プラスチックといった素材・材料分野や用途に展開可能と思われる。

# 想定される用途

様々な有用物質を光駆動ATP再生力で合成する  
大腸菌株を構築する



## 実用化に向けた課題

- ロドプシンをさらに高機能化（プロトン輸送活性の向上や吸収波長の広範囲化など）させる必要がある。
- 本技術の実証に用いた大腸菌や出芽酵母以外の他の宿主で実証する必要がある。
- 実用化に向けて、光照射培養技術を確立する必要がある（微細藻類の培養装置が一部転用可能であるが、それほどの強光は不要）。

## 産学連携の経歴

- 2003年-2006年 協和発酵工業(株)に勤務
- 2009年-2015年 化学系企業などと共同研究実施
- 2017年-2018年 JST社会還元加速プログラムを実施
- 2017年-2021年 JST未来社会創造事業を実施
- 2019年- 本成果を活用し「(株)396バイオ設立」  
静岡県立大学発ベンチャー9号

# 産学連携の経歴

■社名 株式会社396バイオ  
(静岡県立大学発ベンチャー 第9号)



■設立 2019年8月27日

■所在地 (本社) 静岡県立大学内  
(オフィス) BIZcomfort静岡内  
(ラボ) 清水マリンビルMaOI機構内



■事業概要 微生物及び細胞の利用に関する事業



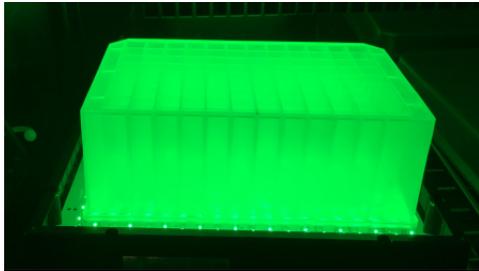
# 産学連携の経歴



NEDOバイオものづくりプロジェクトに参画中

「カーボンリサイクル実現を加速するバイオ由来製品生産技術の開発」  
プロジェクト(2020~2026年度)

396バイオの役割: 光駆動ATP産生系の探索と利用



ハイスループット化 (自動化)



スケールアップ

## 企業への期待

- 現在バイオものづくりを行っているが、生産性（収率や生産速度）の向上や省エネを考えている企業様との共同研究を希望
- 現在化学プロセスで生産している物質をバイオプロセスでの生産に切り替えたいと考えている企業様との共同研究を希望
- これからバイオものづくり分野への展開を考えている企業様には、開始時点で本技術の導入が有効と思われる

# お問い合わせ先

- ・ **研究内容に関して**

静岡県立大学 食品栄養科学部

環境工学研究室 准教授 原 清敬

TEL : 054-264-5659

E-mail : k-hara@u-shizuoka-ken.ac.jp

- ・ **特許・契約に関して**

静岡県立大学 教育研究推進部 地域・産学連携推進室

河内 康司 (産学官連携コーディネーター)

TEL : 054-264-5124

E-mail : renkei@u-shizuoka-ken.ac.jp