

# グローバル COE 特別セミナー

---

## 生物化学専攻セミナー

---

日時：平成 22 年 6 月 7 日（月） 17:00～18:30

場所：理学部 3 号館 3 階 310 号室

講師：戸谷 吉博 博士

慶應義塾大学大学院政策・メディア研究科

演題：CE-TOFMS を利用した  $^{13}\text{C}$  代謝フラックス解析と

回分培養における代謝の時間変化解析

要旨：

$^{13}\text{C}$  代謝フラックス解析は直接観察することができない細胞内の代謝フラックスを明らかにし、代謝の調節機構の推察を可能にする手法である。タンパク質由来のアミノ酸の同位体標識情報に基づく従来の解析は、代謝フラックスの変化が同位体標識パターンの時間変化に迅速に反映されないため、本質的に連続培養にしか適用できない。しかし、多くの工業的な生産現場では代謝が時々刻々と変化する回分培養や流加培養で発酵が行われているため、代謝フラックスの時間変化を解析することが強く望まれている。そこで本研究では、キャピラリー電気泳動時間飛行型質量分析計を使って細胞内代謝物質の同位体標識パターンを直接測定することで、回分培養における代謝フラックスの時間変化解析を実現した。我々は大腸菌野生株とピルビン酸キナーゼ(Pyk)欠損株の回分培養を行い、代謝フラックス分布と代謝物質濃度の時間変化を測定した。その結果、野生株の対数増殖期では酢酸合成の低下に伴い TCA 回路のフラックスが増加し、またグルコース枯渇後には、細胞は利用可能な酢酸の量に応じてグリオキシル酸経路と TCA 回路の分岐点でのフラックス比を調節する様子が見られた。一方、Pyk 欠損株ではホスホエノールピルビン酸の蓄積が解糖経路上の中間代謝物質の蓄積やフィードバック阻害を引き起こしたため、解糖系中間代謝物質の濃度が劇的に時間変化する様子が見られたが、フラックス分布の変化は僅かであった。また、 $^{13}\text{C}$  代謝フラックス解析によって測定したフラックスと代謝フラックス均衡解析によって予測した値を比較することで、細胞の戦略が環境の変化や遺伝的変異に応答してどのように変化したかを解析した。