

群馬大学生体調節研究所内分泌・代謝学共同研究拠点共同研究報告書

令和 8 年 4 月 7 日

群馬大学生体調節研究所長 殿

所属機関名 久留米大学 分子生命科学研究所
職 名 教授
研究代表者 齋藤成昭

下記のとおり令和7年度の共同研究成果を報告します。

記

(課題番号: 24024)

1. 共同研究課題名	分裂酵母の CRISPRi を用いた産業価値の高い代謝物質の生産			
2. 共同研究目的	本研究の目的は産業価値の高い代謝物質であるニコチン酸アデニンジヌクレオチド (NaAD) の酵母による生産法を確立することである。NaAD は検査試薬や研究用試薬として用いられている。一方、非常に高価な試薬(八十万円/g)であり、安価な生産方法が求められている。そこで、申請者が開発した CRISPRi 法を用いて酵母の代謝経路を改変し NaAD の生産とその質量分析による定量を試みる。本研究は NaAD の産業上の安定供給に貢献するだけでなく、同様の有用物質生産の基盤になる。			
3. 共同研究期間	令和7年4月1日 ~ 令和8年3月31日			
4. 共同研究組織				
氏 名	所属等	職名等	役割分担	
(研究代表者) 齋藤 成昭	久留米大学 分子生命科学 研究所 細胞工学研究部門	教授	研究の総括	
(分担研究者) 石川 健	同上	講師	酵母株の作製・解析	
5. 群馬大学生体調節研究所 の共同研究担当教員	分野名	個体代謝生理学	氏 名	西村 隆史

次の6, 7, 8の項目は、枠を自由に変更できます(横幅は変更不可)。6, 7, 8の項目全体では2頁に収めてください。

(課題番号: 24024)

6. 共同研究計画

本共同研究では申請者(久留米大学)が酵母細胞株作成や細胞サンプル調整を行い、質量分析によるメタボローム解析を西村隆史博士(群馬大学 生体調節研究所)が行うという計画のもと遂行した。具体的には以下の項目に取り組んだ。

(1)ニコチン酸添加による NaAD 蓄積: ヒトの NAD 合成経路はトリプトファンから始まるキヌレニン経路で合成されるが、分裂酵母はキヌレニン経路を持たず、細胞外から取り込んだニコチン酸から NaAD や NAD を合成する。そこで、NaAD の原料であるニコチン酸を培地に添加し、NaAD 蓄積量が増加するか定量した。また、ニコチン酸の添加がメタボロームに与える影響も合わせて解析する。

(2)NaAD の絶対定量: 酵母による NaAD 生産を産業利用するためには、生産効率を把握するための目安として、NaAD の絶対量を把握する必要がある。そこで、qns1 ノックダウン酵母に蓄積させた NaAD の絶対量を質量分析で定量した。

7. 共同研究の成果

本共同研究課題において、生体調節研究所との共同研究が貢献した内容についても具体的に記載してください。

(1)ニコチン酸添加による NaAD 蓄積: NaAD を細胞に蓄積させる qns1 ノックダウン酵母は、通常 10 mg/L のニコチン酸を含む培地で培養されている。培地のニコチン酸濃度を上げることで NaAD 生産量が増加するか調べるため、ニコチン酸濃度 10, 110, 1010 mg/L の培地で qns1 ノックダウン酵母を培養し、qns1 遺伝子に対する CRISPRi の誘導により、NaAD を細胞に蓄積させた。これらの酵母細胞の抽出液を HPLC で分析したところ、予想に反して、NaAD の蓄積量は培地中のニコチン酸濃度に関わらず一定であった。これはニコチン酸量よりも NaAD 合成酵素が律速であることを示唆する。この可能性を検証するために、高ニコチン酸添加培地で培養した酵母細胞のメタボローム解析(生体調節研究所 西村博士が担当)を進めている。

(2)NaAD の絶対定量: qns1 ノックダウン酵母の通常の培養条件における、NaAD 蓄積量の絶対量を質量分析で測定した(生体調節研究所 西村博士が担当)。その結果、最大で $1.35 \mu\text{g}/2 \times 10^8 \text{ cells}$ (細胞内濃度 $\sim 0.11 \text{ mM}$)の NaAD が生産されることが明らかになり、当該方法の NaAD 生産効率を把握できた。この成果により、産業利用に向けて「どのくらい生産効率を向上させれば実用的か」という具体的な目安設定が可能になった。

8. 共同研究成果に関連する学会発表・研究論文発表状況及び本研究所担当教員との共同研究に関する情報交換

(本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文、又はこの共同研究に基づくとの記載のある論文等をできる限り記載してください。なお、論文の場合は、PDFファイルを以下の研究所庶務係のメールアドレスまで報告書と併せてお送りください。) 研究所庶務係: kk-msomu4@ml.gunma-u.ac.jp

①本研究所の担当教員の氏名の記載のある論文

なし

②この共同研究に基づくとの記載のある論文

なし

③学会発表を行った主なもの3件以内(学会名、開催日、演題)

1. 49th Annual Conference on Yeasts, 2025年5月12~20日, Arrayed CRISPRi Library for Suppressing Genes Essential for the Viability of Schizosaccharomyces pombe, 開催地 スロバキア, ポスター発表
2. The 12th International Fission Yeasts Meeting, 2025年8月2日~9日, Arrayed CRISPRi library for genetic knockdown of essential genes in S. pombe., 開催地 米国, 口頭発表
3. 大学見本市 2025~イノベーション・ジャパン, 2025年8月21日~22日, 代謝物質がザクザク! 分裂酵母株のライブラリ, 開催地 日本, ポスター発表

④本研究所担当教員と申請代表者との共同研究に関する情報交換の状況(主なやり取りを箇条書き)

1. 電子メールで研究計画の打ち合わせをした。