

生命と化学

2020 年度採択研究者

|                  |
|------------------|
| 2020 年度<br>年次報告書 |
|------------------|

三浦 夏子

大阪府立大学 大学院生命環境科学研究科  
テニュアトラック助教

酵素群の細胞内集合による代謝制御機序の解明

## § 1. 研究成果の概要

第一年次は小スケール低酸素培養系を用いた各代謝酵素の動態解析を開始するとともに、集合体形成の人為的な調節を行うために必要なプラスミド及び酵母株を構築した。具体的には、新たに構築した小スケール低酸素培養系を用いて、G body 構成酵素のうち 3 つの酵素 (Enolase, Pyruvate kinase, Phosphoglycerate mutase) のゲノム上遺伝子配列にそれぞれ GFP を融合させた株 (ENO2-GFP, CDC19-GFP, GPM1-GFP) における集合体形成の経時変化を解析した。その結果、Enolase では低酸素培養 (1% O<sub>2</sub>, 5% CO<sub>2</sub>, 30°C) 開始後、3 つの酵素のうち最も早く集合体形成を開始することや、各酵素の集合体形成順序が規定されていることを示唆する結果を得た (Yoshimura and Miura et al. *Cell Biology International*, 2021)。

今後酵素間の共局在を経時的に検証するために、複数の G body 構成酵素をコードするゲノム上の遺伝子配列それぞれについて、各種蛍光タンパク質を融合発現させるための遺伝子カセットを構築し、順次多色蛍光発現株を構築中である。また、集合体形成を調節するための各種分子設計を行い、細胞内での機能解析に必要な条件検討を開始した。さらに、集合体形成による人為的な代謝調節に向けて、検証用のモデル酵素群を細胞内発現し、代謝物測定を行うための準備を開始した。

### 【代表的な原著論文情報】

1) Yoshimura Y, Hirayama R, **Miura N\***, Utsumi R, Kuroda K, Ueda M, Kataoka M. Small-scale hypoxic cultures for monitoring the spatial reorganization of glycolytic enzymes in *Saccharomyces cerevisiae*. *Cell Biology International*. 2021 Aug;45(8):1776-1783.