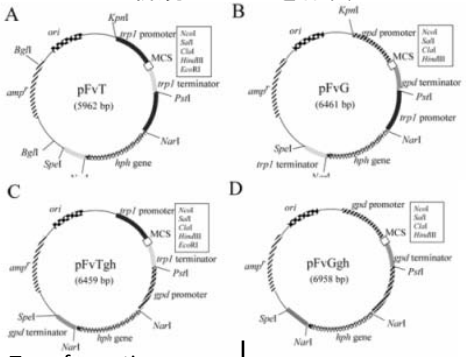
C020

【Fv-1 組換え用ベクターの強化と利用】

1. *gpd* promoter配列を用いた組換え用新規ベクターの作製・評価

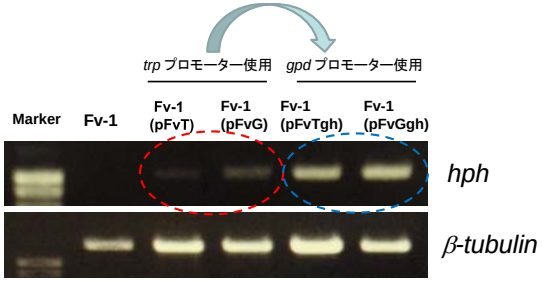
新規ベクターを作製



Transformation

DNA形状		形質転換体数 Circular	形質転換体数 Linear
Plasmid	使用プロモーター		
pFvT	*trp*	11.3±2.6	11.3±6.6
pFvG	*trp*	12.3±2.5	10.7±6.9
pFvTgh	*gpd*	28.3±1.3	24.7±8.4
pFvGgh	*gpd*	33.3±2.9	27.7±11

gpd promoterの使用により、取得される形質転換体数が従来の 約3倍に上昇



gpd promoterの使用により、*hph*の発現量増加

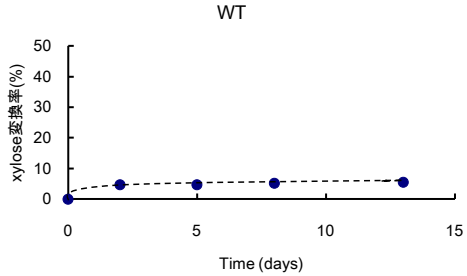
gpd promoterを用いることで、異種遺伝子の発現量増加

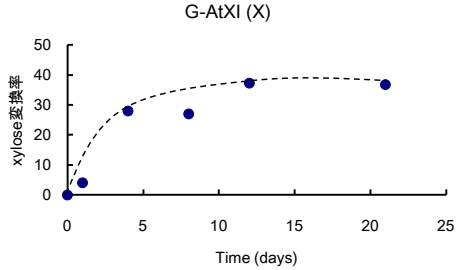
2. *gpd* promoterを用い異種遺伝子発現株を作製

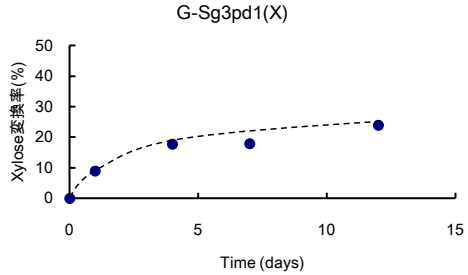
ペントース代謝関連遺伝子をFv-1 wild typeへ導入し、エタノール発酵能について検討した。

A. thaliana xylose isomerase(AtXI)
xylose transporter (At5g59250)
S. cerevisiae alcohol dehydrogenase (Sadh)
pyruvate decarboxylase (Spdc)
glycerol-3-phosphate dehydrogenase (Sg3pd)
を導入した変異体で、エタノール変換率は改善。

Ex)

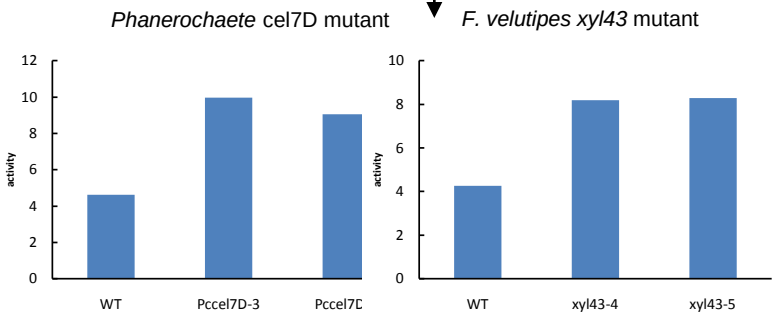






ペントースからエタノールへの変換効率は、最大で約35%に改善

糖加水分解酵素をコードしている遺伝子をWTへ導入

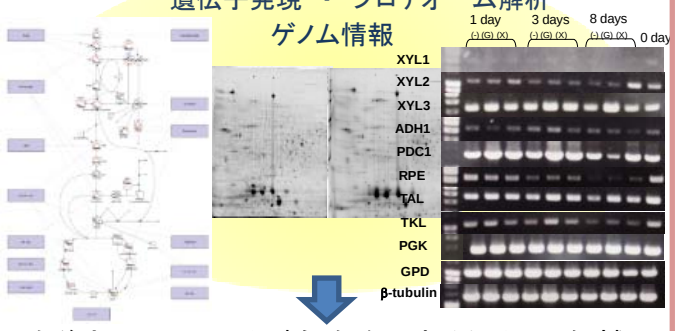


WTより高い活性を確認

3. まとめ

今回新たに強力なプロモーター *gpd* promoterを取得しFv-1の組換えに使用することで、ペントースからのエタノール発酵能を改善した株を取得することが出来た。

遺伝子発現 ・ プロテオーム解析
ゲノム情報



今後さらにFv-1の発酵能を強化するための、候補遺伝子、嫌気誘導型promoter等を取得し、より高性能なFv-1の作製をめざす