

Title	Metabolomics study of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> under acid stress condition
Author(s)	Nugroho, Riyanto Heru
Citation	大阪大学, 2015, 博士論文
Version Type	
URL	https://hdl.handle.net/11094/53938
rights	
Note	やむを得ない事由があると学位審査研究科が承認したため、全文に代えてその内容の要約を公開しています。全文のご利用をご希望の場合は、 〈a href="https://www.library.osaka-u.ac.jp/thesis/#closed"〉 大阪大学の博士論文について 〈/a〉 をご参照ください。

Osaka University Knowledge Archive : OUKA

<https://ir.library.osaka-u.ac.jp/>

Osaka University

Abstract of Thesis

Name (Riyanto Heru Nugroho)	
Title	Metabolomics study of <i>Saccharomyces cerevisiae</i> under acid stress condition (弱酸条件における酵母 <i>Saccharomyces cerevisiae</i> のメタボロミクス解析)
<p>Abstract of Thesis</p> <p>In bio-production processes, cells are often exposed to stress conditions resulting a decrease in cell growths and productivities of target products. Acid stress is one of critical stress conditions during bio-production process. Metabolome analysis is a powerful tool to investigate the phenotypic metabolic response during acid stress. In this study, the acid stress response was investigated by metabolome analysis in yeast <i>Saccharomyces cerevisiae</i> to improve the acid stress tolerance.</p> <p>This doctoral thesis consists of four chapters:</p> <p>Chapter 1: The introduction and general objective of the study are described.</p> <p>Chapter 2: Metabolome analysis was performed to analyze the metabolic response to acid stress in <i>Saccharomyces cerevisiae</i>. Lactic acid was used as the acidulant in this study. At no pH control, the cultures with the addition of increasing lactic acid concentrations decreased the intracellular pHs and cell growths, while these phenomena were not observed on cultures with initial pH controlled at around 6. Metabolome analysis was conducted using capillary electrophoresis time of flight mass spectrometry (CE-TOFMS). Principal component analysis (PCA) of metabolite data identified accumulated metabolites under acid stress; notable ones are ATP, glutathione (GSH) and proline which may contribute in acid stress tolerance.</p> <p>Chapter 3: The increase of cell growth rates and maximum cell densities by proline addition under both acidic-stressed and unstressed conditions were discovered in this chapter. The mechanism of these phenomena was investigated by metabolomics analysis (CE-TOFMS). Metabolome analysis identified concentrations increase of metabolites in central metabolism of <i>S. cerevisiae</i> due to proline addition. No apparent consumption of proline was observed implying proline was not a nutrient. Thus, it suggested that proline addition caused changes in metabolic state and improved the cell growth. The application of proline addition in lactic acid bio-production using lactic acid-producing yeast, improved the cell specific growth rate and final concentration of lactic acid.</p> <p>Chapter 4: The conclusion of this study and discussion about how the obtained results and metabolomics study can be applied for bio-productions are described.</p>	

論文審査の結果の要旨及び担当者

氏名	Riyanto Heru Nugroho		
	(職)		氏名
論文審査担当者	主査	教授	清水 浩
	副査	教授	松田秀雄
	副査	教授	若宮直紀
	副査	教授	前田太郎

論文審査の結果の要旨

微生物生産プロセスにおいては、細胞は、しばしば、環境ストレスにさらされる。この現象のため、標的化合物の生産性が低下することはプロセス開発にとって重大な課題である。酸ストレスは微生物生産において頻繁に生じるストレスであり、このストレスに強い株の構築やプロセス開発を行うことは重要である。近年、開発されたメタボロミクス解析技術は生物の代謝の表現型を解析する強力なツールである。本研究では、弱酸ストレス環境下における酵母 *Saccharomyces cerevisiae* のメタボロミクス解析によってストレス耐性を改良することを目的としている。

本研究では、まず、酵母 *S. cerevisiae* を用いた乳酸生産プロセスにおいて、酸ストレスの発生とメタボロミクス解析に関する既往の研究を調査し、本研究の目的を示している。

次に、乳酸生産を想定し、乳酸を *S. cerevisiae* 培養系に添加し、代謝の応答の解析を行っている。pH を制御した培養系に比較して、pH を制御しない場合においては、乳酸の添加に伴い増殖活性が低下し、細胞がストレスにさらされていることが明らかとなっている。キャピラリー電気泳動・飛行時間型質量分析計 (CE-TOFMS) を用いて、メタボロミクス解析が行われ、得られたデータを主成分解析 (PCA) することで酸性条件下において細胞内に蓄積している代謝物質、ATP、グルタチオン、プロリンが同定されている。

また、培養系においてプロリンを添加することで、酸性ストレス条件、および、ストレスのない条件、双方において、増殖速度、および、細胞到達濃度の上昇が認められることを明らかにしている。プロリン添加の代謝への影響を明らかにするために、メタボロミクス解析が行われている。炭素中心代謝の代謝物質濃度が上昇しており、プロリンの添加が中心代謝の活性化に影響していることを示唆している。また、プロリンの培地中の濃度の減少は認められないことから、プロリンは栄養源として利用されているとは考えにくいことを明らかにしている。最後に、プロリン添加の乳酸生産 *S. cerevisiae* 培養系への影響を検討し、細胞増殖、および、乳酸生産にとって効果のあることを実証している。

以上のように、本論文では、酵母 *S. cerevisiae* 培養系における乳酸による酸ストレス条件下のメタボロミクス解析を行って、プロリンの効果を明らかにするとともに、メタボロミクス解析の生物生産プロセス開発における工学的意義について述べており、博士 (情報科学) の学位論文として価値あるものと認める。