

利用者名：応用生物学部 教授 秋元 卓央

Scopus

Title: An optical BOD biosensor based on intracellular ATP measurements in genetically modified *Saccharomyces cerevisiae* (遺伝子組み換え酵母の細胞内 ATP を指標とした BOD バイオセンサー)

Authors: Yuto Kanno, Yuta Tateno and Takuo Akimoto

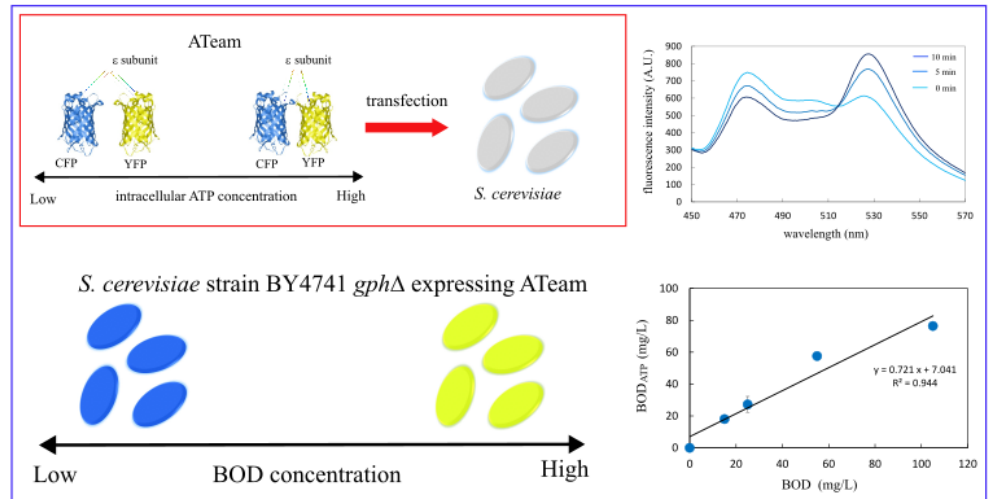
菅野裕斗(東京工科大 大学院生)、立野佑太(東京工科大 学部生)、秋元卓央(東京工科大学 教授)

Journal: Analytical Science Published: 23 December 2024

掲載年月: 2024 年 12 月

研究概要: 細胞内の ATP 濃度は培地中の有機物濃度と相関関係がある。すなわち、培地中の有機物が多いほど細胞内の ATP 濃度が高くなるため、BOD(Biochemical Oxygen Demand)の高い試料中で培養した細胞の ATP 濃度は高くなる。このことを利用して新しい BOD を測定するバイオセンサーの開発を行った。実験では細胞として酵母を用いた。酵母細胞内の ATP を測定するために、ATP に結合することで蛍光色に変化するタンパク質(ATeam)を酵母細胞内で発現させた。この酵母を利用すると、BOD が低い水中では水色、BOD の高い水中では黄色に酵母が蛍光するため、酵母の蛍光色で BOD を見積もることが可能になる。実際に本方法で BOD 濃度 0~100 mg/L まで測定可能であった。

研究背景: BOD とは生物化学酸素要求量のことであり、水質汚濁の指標である。一般的には、5 日間の試験水の培養を利用した 5 日間法が用いられるが、時間がかかることや操作が煩雑なことが問題であった。そこで本研究では、酵母の細胞内 ATP に着目した BOD 測定方法を考案した。ATP に結合することで蛍光色に変化するタンパク質を発現する酵母を利用すれば、BOD を酵母の蛍光色によって見積もることが可能になる。



研究成果: ATP を測定するために、シアン蛍光タンパク質と黄色蛍光タンパク質の間に細菌由来 ATP シンターゼ ϵ サブユニットを含む人工タンパク質(ATeam)を発現する酵母を作製した。この酵母を用いることで FRET に由来する酵母の蛍光色変化で BOD を連続的に測定することが可能になった。実際に、細胞内 ATP を使用して評価した BOD 値と 5 日間 BOD 検査を使用して評価した BOD 値の間の相関は、 $R^2 = 0.944$ の直線関係があることが示された。

社会的・学術的なポイント: 酵母の細胞内 ATP 濃度が環境中の BOD に依存することを初めて示した論文である。また、本方法を用いると BOD を連続的に測定できることが示された。

用語解説:

BOD: 生物化学的酸素要求量(Biochemical Oxygen Demand)の略語で、水質の有機物による汚濁の指標として用いられる

ATP: アデノシン三リン酸(Adenosine Triphosphate)の略で、細胞で生産される物質

FRET: 蛍光共鳴エネルギー移動(Förster Resonance Energy Transfer)の略であり、蛍光分子間でエネルギー移動が起きる現象を示す