

【癌や脳疾患等に有効な生理活性物質の合成と改良】 ポリケタイド合成酵素の蛋白質工学とゲノム工学

平野 展孝
日大工・生命

【背景・目的】

植物由来ポリケタイドには、ウコンのクルクミンや、ブドウのレスベラトロールなど、抗腫瘍作用や抗酸化作用など様々な生理活性を持つものが存在する。これらの天然物は植物からの抽出によって生産されているが、近年のバイオテクノロジー分野において、有用生理活性を持つこれらの誘導体を、微生物や酵素によって生合成する手法が注目されている。しかし、従来のプラスミド上への遺伝子導入では、導入 DNA 鎖長に限界が有るため、多種類の生合成遺伝子が反応に関与する生合成系への適応が困難になっている。この問題を解決するため、本研究では、大腸菌ゲノム上へ導入した生合成系遺伝子群からのポリケタイド生合成を目標とした研究を行う。

【方法・結果】

平成 26 年度は、比色定量が容易な放線菌が生産する赤色色素化合物であるフラビオリン（図 1）をモデル化合物として、放線菌 TG1 インテグラーゼによる部位特異的遺伝子導入法を用いて大腸菌ゲノムへのフラビオリン生合成遺伝子（*rppA* & *momA*）の導入を行い、大腸菌によるフラビオリン生合成を行った。

TG1 インテグラーゼを用いて、大腸菌ゲノム上の 5 ヶ所にフラビオリン生合成遺伝子を導入し、プラスミド上に生合成遺伝子を導入した場合と、生合成産物量を比較した。その結果、いずれのゲノム上部位に導入しても、プラスミド上に生合成遺伝子を導入した場合と比較して、合成量が約 1/2 に減少する結果を得た。この結果は、プラスミド上と比較して、ゲノム上に遺伝子導入した場合、遺伝子のコピー数が減少するため、酵素の発現量も減少することに起因していると予想される。

【今後の予定】

生合成酵素を複合体化することで基質チャネリング効果の創出を試みる。基質チャネリング効果とは、生合成酵素が複合体化することで、各酵素間で代謝中間体の受け渡しが円滑に行われることにより、生合成反応が効率良く進行する効果を指す。細胞内に代謝中間体と酵素が拡散しないため、薄い酵素濃度や、基質親和性の弱い酵素を用いた際の反応効率が改善すると予想される。大腸菌ゲノム上に複合体遺伝子を導入した際に、フラビオリン合成量が改善するかを検討する。

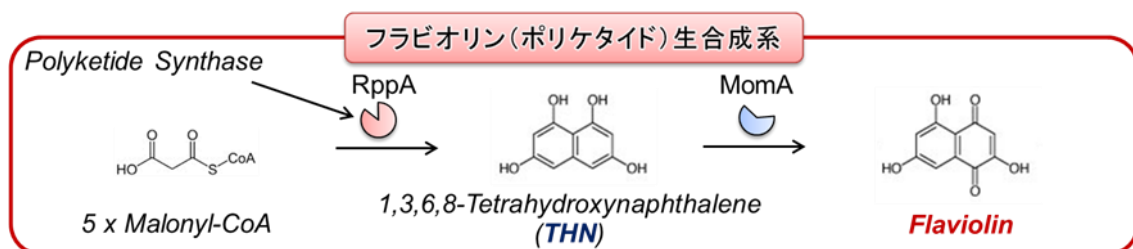


図 1. 放線菌の赤色色素化合物（フラビオリン）生合成系