

ポリケタイド生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】

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。

そこで平成 27 年度は、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（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）の創出を試みた。その結果、生合成遺伝子と複合体骨格遺伝子をゲノム上に導入した場合、生合成遺伝子のみの場合と比較して、フラビオリン合成量が 2 倍に増加し、プラスミド上に生合成遺伝子を導入した場合と同等まで合成量が改善する結果を得た。

【今後の予定】

酵素濃度・基質濃度・反応速度・複合体形成の化学量論比が明確な試験管内で、酵素複合体化の効果を検討する。また、抗腫瘍活性を持つクルクミンの生合成遺伝子を大腸菌ゲノムへ導入し、酵素複合体化による生合成量の変化を検討する。

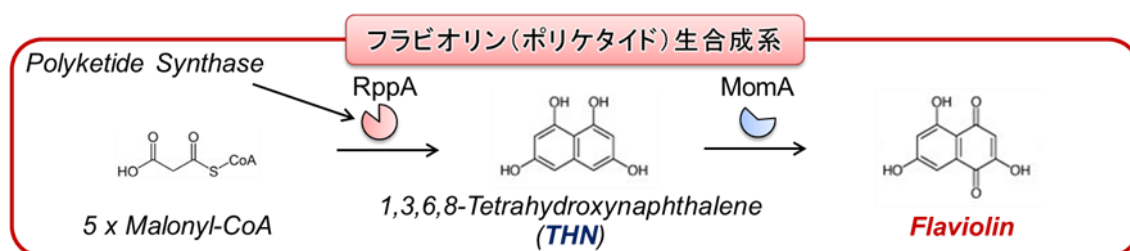


図 1. 放線菌の赤色色素化合物（フラビオリン）生合成系