

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、従来のマルチプラスミド法では、各プラスミドのコピー数の違いによって酵素発現量に違いが生じるため、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用の際に問題が生じる場合がある。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、大腸菌ゲノムの計 5 ヲ所に生合成遺伝子を導入し、プラスミド上に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、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、合成量が2倍に増加し、プラスミド上に導入した場合と同等まで合成量が改善する結果を得た。

平成 28 年度は、この酵素複合体化による合成量の改善が、挿入ゲノム部位に因らないことを確認するため、計 3 ヲ所のゲノム上部位へ生合成遺伝子を導入し、合成量の確認を行った。その結果、いずれのゲノム上部位においても、酵素複合体化による合成量の改善効果が生じることを確認した。また、合成量の改善は、比色定量だけでなく、逆相 HPLC によっても確認した。

【今後の予定】

試験管内において、酵素複合体化の効果を解析する。また、抗腫瘍活性を持つクルクミン生合成系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。

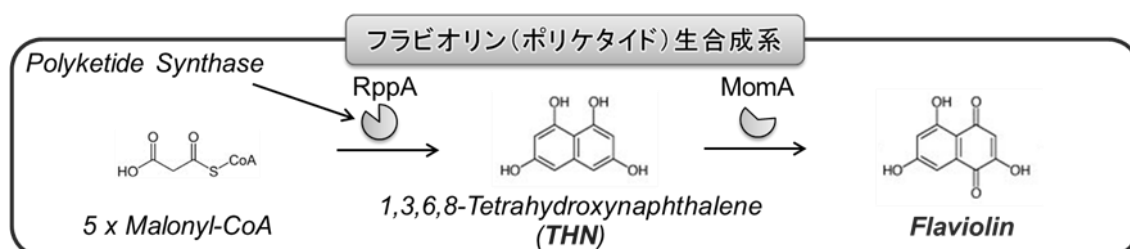


図1. 放線菌の赤色色素化合物（フラビオリン）生合成系