

# 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である。そこで、本研究では、大腸菌ゲノム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った。

## 【方法・結果】

インテグララーゼを用いて、ゲノム DNA に遺伝子導入した場合、強力な転写プロモーターを用いても、酵素発現量が減少し、生合成量が減少することが分かっている。そこで、生合成酵素の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。植物バイオマス分解酵素複合体（セルロソーム）骨格を用いて、放線菌のフラビオリン（赤色素化合物）の生合成系酵素（RppA & MomA）を複合体化したところ、プラスミド DNA から酵素を大量発現している時と同等まで合成量が改善されることを確認した。

平成 29 年度は、本手法の汎用性を検討するため植物ポリフェノールの一種である、ウコンのクルクミン（抗腫瘍活性物質）の生合成酵素（4CL & CUS）（図 1）を対象に同様の実験を行った。ゲノム DNA にクルクミン生合成酵素を遺伝子導入した場合、プラスミド DNA に遺伝子導入した場合と比較して、クルクミンの生合成量も低下した。次に、クルクミン生合成酵素にセルロソーム骨格結合ドメインを融合した結果、更に生合成量が低下したが、セルロソーム骨格を導入した場合、生合成量は増加した。しかし、セルロソーム結合部位の融合による生合成量の低下が大きかったため、プラスミド DNA に遺伝子導入した際の生合成量までは回復しなかった。クルクミン生合成系では、骨格結合ドメインの融合が酵素活性に悪影響を与えている可能性があるため、他の植物ポリフェノール（レスベラトロール）生合成系（4CL & STS）についても検討する予定である。

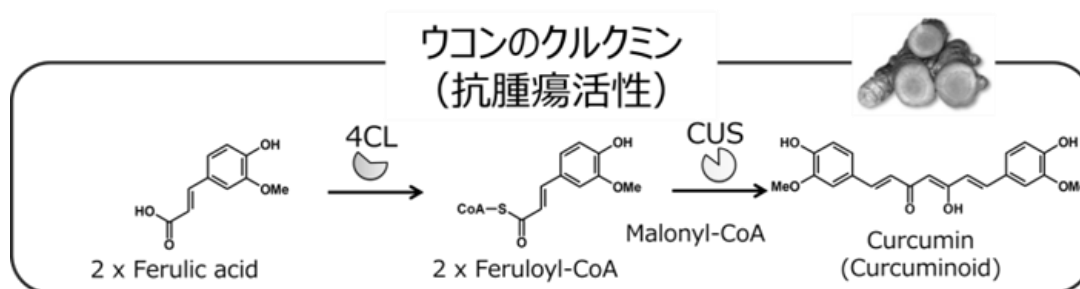


図 1.ウコンのクルクミン生合成系