

27G-pm10

非天然型ポリケタイドの大腸菌を用いたコンビナトリアル物質生産系の構築
○鰐淵 清史¹, Radhakrishnan EDAYILEVEETIL¹, 森田 洋行¹, 野口 博司¹,
阿部 郁朗^{1,2}(¹静岡県大薬, ²JSTさきがけ)

【目的】植物ポリケタイド合成酵素 (PKS) を用いた物質生産への展開を考えた場合、今後クリアすべき問題の一つに生産効率の向上が挙げられる。東大・堀之内末治教授の研究グループは、カルコン合成酵素 (CHS) などの植物Ⅲ型 PKS について、酵素反応生成物を培地中に 50~100 mg/L 程度蓄積させることが可能な、大腸菌物質生産系を報告している (*Chem. Biol.* 14, 613, 2007 など)。そこで我々も文献記載の方法を参考に、キダチアロエ (*Aloe arborescens*) 由来オクタケタイド合成酵素 (OKS) など、各種Ⅲ型 PKS 遺伝子に加えて、酵素反応の基質となるマロニル CoA やクマロイル CoA などの合成酵素遺伝子を同時に組み込んだ、大腸菌を生産工場としたコンビナトリアルな物質生産系の構築をめざした。

【方法・結果】OKS の野生型および変異型酵素、また、通常の CHS に比べ異様に大きな開始基質結合ポケットを有し、立体的に嵩高い置換基を有する人工基質を受け入れるトウゲシバ (*Huperzia serrata*) 由来 CHS など、各種Ⅲ型 PKS 遺伝子とともに、*Corynebacterium glutamicum* 由来マロニル CoA 合成酵素 (acetyl-CoA carboxylase, ACC), *Rhizobium trifolii* 由来マロニル CoA 合成酵素 (malonyl-CoA synthase, MCS), *Arabidopsis thaliana* 由来クマロイル CoA 合成酵素 (4-coumarate: CoA ligase, 4CL) などの遺伝子を pETDuet ベクターに組み込み、大腸菌 BL21DE3pLysS 株に共発現させることにより、コンビナトリアルな物質生産系を構築した。現在、この系を用いて OKS 変異酵素が生産するマロニル CoA が高度に縮合したポリケタイド化合物、また、クマル酸類縁体などカルボン酸を取り込んだ非天然型新規ポリケタイドの大量生産をめざし、酢酸ナトリウムや各種カルボン酸など基質前駆体の投与時期や培養方法など、生産効率の最適化を検討している。