

30L-am10

改変ストリクトシジン合成酵素を用いた非天然型カンプトテシン誘導体生産の試み
○山崎 真巳¹, 山本 天心¹, 中林 亮², 斉藤 和季^{1,2}(¹千葉大院薬, ²理研PSC)

【目的】ストリクトシジンは、医薬資源として重要でかつ多様なモノテルペノイドインドールアルカロイドに共通な生合成中間体でありセコロガニンとトリプタミンの縮合反応により生成する。この縮合反応は、ストリクトシジン合成酵素 (STR) により触媒される。ニチニチソウでは、活性中心のアミノ酸置換により基質特異性を拡張した改変 STR(V214M)を発現させた毛状根培養にトリプタミンアナログを添加することにより非天然型アルカロイドの生産に成功している (Runguphan and O'Connor, 2009)。本研究では、抗がん剤リード化合物として重要なカンプトテシンを生産するアカネ科チャボイナモリについて V214M を導入した毛状根を作出し、トリプタミンアナログを添加することにより非天然型カンプトテシン誘導体の生産を試みた。

【実験・結果】チャボイナモリ無菌植物の茎切片に *Agrobacterium rhizogenes* (pRi15834;pCAMBIA-V214M) を感染させることにより V214M が導入された毛状根を 24 ライン得た。このうち導入遺伝子の発現量の多い 5 ラインについてトリプタミンアナログの添加を行った。5-メチルトリプタミン、5-クロロトリプタミンおよび 5-プロモトリプタミンを培地に添加し 3 週間振蕩培養した毛状根を回収した。これらの毛状根のメタノール抽出物について LC-MS 分析したところ、5-メチルトリプタミン添加ではカンプトテシンならびに中間体にメチル基が付加したと推定される MS イオンピークが検出された。5-クロロトリプタミンおよび 5-プロモトリプタミンでは、カンプトテシン誘導体は検出されなかったが、中間体の塩化物あるいは臭化物と推定される MS イオンピークが検出され、代謝工学による非天然型カンプトテシン誘導体生産の可能性が示された。