

26PA-am007

メバロン酸経路関連遺伝子群を導入した大腸菌による芳香性セスキテルペン δ -guaiene の生成

○加藤 貴裕¹, 李 貞範¹, 田浦 太志¹, 三沢 典彦², 黒崎 文也¹ (¹富山大院薬, ²石川県立大)

【目的】沈香が生成する芳香性セスキテルペンである δ -guaiene の生合成に関わる farnesyl diphosphate synthase と δ -guaiene synthase をコードする遺伝子を大腸菌で共発現させ、 δ -guaiene 生成系を構築することを目的とした。更に、放線菌から単離したメバロン酸経路関連遺伝子群をこれに導入し、 δ -guaiene 高生産株の確立を目指した。

【方法】*Aquilaria microcarpa* 培養細胞から単離した farnesyl diphosphate synthase 遺伝子 (*FPS*)、 δ -guaiene synthase 遺伝子 (*GS*) を pRSFDuet-1 に導入した発現ベクターで大腸菌 BL21 株を形質転換し、 δ -guaiene の生成能を GC-MS で解析した。また、メバロン酸経路を構成する 6 種類の酵素遺伝子を含む放線菌由来のクラスター (*Mev*) を形質転換株に導入・過剰発現させ、生成される δ -guaiene を定量した。更に酵母由来の type 1 isopentenyl diphosphate isomerase 遺伝子 (*Scidi*)、哺乳類由来の acetoacetyl-CoA ligase 遺伝子 (*AcacI*) を順次導入し、イソプレン前駆体として mevalonolactone (MVL) や Li acetoacetate (LAA) を添加した際の効果についても検討した。

【結果・考察】*A. microcarpa* からクローニングした *FPS* と *GS* を共発現させた大腸菌について培養の head space 部分に蓄積された生成物を GC-MS で解析したところ、1-2 $\mu\text{g/ml}$ culture の δ -guaiene が検出された。この形質転換体に更に *Mev* を導入・過剰発現させ富栄養培地である Terrific broth 中で MVL 存在下培養した株では、 δ -guaiene 生成量が 31.4 $\mu\text{g/ml}$ に上昇した。また、*Scidi*、*Acal* を導入したものにおいても MVL や LAA 存在下で δ -guaiene 生成能が顕著に活性化し、35-42 $\mu\text{g/ml}$ culture の蓄積が見られた。

以上の結果より、メバロン酸経路関連遺伝子群を導入することによってイソプレン供給系を確立した大腸菌は、テルペン化合物の人為的生産システムとして極めて有用であることが示された。