

## 代謝物質生産性向上の現在と未来

玉野 孝一

微生物によって作られる代謝物質には、食品・医薬品・バイオ燃料・抗菌剤・界面活性剤やそれらの原料として有用なものがあり、我々の生活で重要な役割を果たしている。たとえば、酒のエタノール・酸味料のクエン酸・抗生物質のペニシリンはすべて微生物の代謝物質である。有用な代謝物質は、発見後に生産性の向上が行われてきた。生産性向上は、生合成遺伝子が明らかでなかった時代には、微生物へのUV照射や変異剤処理により人為的に突然変異を染色体DNAに導入する突然変異育種で行われてきた。また、培養条件も生産性向上のために改良されてきた。その後、生合成遺伝子が同定されれば、遺伝子操作技術による遺伝子の破壊や高発現化といった代謝工学の手法も、生産性向上に使われてきた。さらに、生産菌で遺伝子操作技術を構築できなければ、それが可能な異種微生物での生産も行われてきた。

代謝物質は、一次代謝物質と二次代謝物質に大別される。一次代謝物質は、生命活動に必須な代謝で作られる低分子化合物である。その多くは微生物間で共通に保存されており、代謝経路と関連遺伝子はほぼ完全に解明されている。一方、二次代謝物質は、生命活動に必須ではない代謝で作られ、微生物ごとに固有の構造で存在する。多くの場合、その生合成の代謝経路や遺伝子は解明されていない。一方で、微生物由来で医薬品や抗菌剤で使われている代謝物質は例外なく二次代謝物質である。そのため、生産性向上には、従来の突然変異育種が今も主に使われている。ただ、大量の変異株ライブラリーから生産性が向上した株の選別は大変な手間と膨大な期間を必要とする。また、そのような変異株は、必ずしも突然変異育種で得られるとは限らない。そこで、できれば代謝工学により短期間で効率的に生産性を向上させたいという要求が生じる。

近年、次世代シーケンサー (NGS) が、代謝物質の生産性向上に重要な役割を果たしている。当装置により、微生物ゲノム解読が従来のサンガー法の解読装置よりも短期間かつ低労力で可能となり、多くの微生物ゲノムが解読されてきた。その結果、二次代謝物質に関しても、①生産菌と非生産菌のゲノム比較、②機能モチーフを持つポリケチド合成酵素や非リボソームペプチド合成酵素の遺伝子探索、③生産と非生産の条件間でゲノムレベルの転写産物量比較などで、生合成遺伝子の同定が可能になった。

生合成遺伝子の同定後、代謝物質生産性向上には、い

くつかの代謝工学の手法がある。第一には、生合成遺伝子の高発現化である。ただ、多くの代謝経路は複数の連続した酵素反応からなり、その中に生合成を律速する反応がある。しかし、律速反応が不明な場合が多く、各酵素の網羅的な高発現化が必要になる。第二には、代謝物質の分解に働く反応の破壊である。たとえばアシルCoA合成酵素の破壊で遊離脂肪酸生産が大幅に向上した報告がある<sup>1)</sup>。第三には、代謝物質の生合成に必要な補因子の強化である。ペントースリン酸経路は脂質などの生合成に必要なNADPHの供給源であり、それを高めると脂質生産が増えた事例がある<sup>2)</sup>。第四には、代謝物質を細胞外に排出することである。細胞内の代謝物質蓄積は、生育ストレスとなって生合成を阻害する可能性がある。遺伝子操作で代謝物質を排出させた結果、生産性が向上した事例がある<sup>3)</sup>。第五には、生合成の負の制御からの解放である。生合成遺伝子の発現を抑制する制御タンパク質 (リプレッサー) の遺伝子破壊により、生産性が向上した報告がある<sup>4)</sup>。他にも、代謝物質の輸送に関係する遺伝子の高発現化でも、生産性向上が考えられる。

さらに、二次代謝物質では、生合成遺伝子群が染色体上でクラスターとして集合して並列に配置され、その中にクラスター全遺伝子を発現制御する転写因子の遺伝子がある場合が多い。その遺伝子を高発現化させることで、大幅な生産性向上が達成された事例が複数ある<sup>5)</sup>。

現在、NGSを用いたゲノムレベルの遺伝子構成や発現の情報、および質量分析による全代謝物の情報などを包括的に解析する統合オミクス解析と呼ばれる情報科学により、律速を予測する技術開発が盛んである。また、実験データを用いずに、代謝の物質収支に基づいた代謝バランス解析の情報科学も、律速予測に使われている。これらは情報科学が専門の研究者でないといは難しいが、近い将来、専門外の研究者でも使いやすいソフトウェアが開発され、容易で的確に律速を予測できるようになると期待される。

- 1) Tamano, K. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **99**, 3103 (2015).
- 2) Wasylenko, T. M. *et al.*: *Metab. Eng.*, **30**, 27 (2015).
- 3) Yazawa, H. *et al.*: *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, **98**, 9325 (2014).
- 4) Liu, L. *et al.*: *J. Biotechnol.*, **231**, 141 (2016).
- 5) Brakhage, A. A.: *Nat. Rev. Microbiol.*, **11**, 21 (2013).