



^{13}C -Metabolic flux analysis for mevalonate-producing strain of *Escherichia coli*

メバロン酸を生産する大腸菌の ^{13}C 代謝フラックス解析

(JBB, Vol. 123, No. 2, 177–182, 2017)

和田 圭介¹・戸谷 吉博²・坂野 聡美³・吉川 勝徳⁴・松田 史生²・清水 浩^{2*}

メバロン酸 (MVA) は、優れた保湿作用をもつことから化粧品として利用されているほか、化学品として市場価値の高いイソプレノイドの生合成経路における中間体としても知られている。微生物を利用したMVA生産として、大腸菌に外来のMVA生合成遺伝子を組み込むことで、47 g/L/2-dayの収量を達成した研究例が報告されている¹⁾。このような株の中心代謝経路の動態に関する知見を収集できれば、生産効率の改善戦略を合理的に設計できると考えられる。そこで筆者らは、中心代謝経路の活性度からMVA生産性向上のための糸口を見いだすべく、 ^{13}C 代謝フラックス解析およびフラックスバランス解析を行った。

^{13}C 代謝フラックス解析は、基質に組み込んだ安定同位体 ^{13}C が細胞内代謝物に蓄積される様態から、中心代謝経路上の反応の大きさや向きといった、対象とする生化学反応の活性度を網羅的に推定する実験手法である。すでに解析ソフトウェアも開発され²⁾、それをを用いた研究実施例³⁾も報告されている。フラックスバランス解析はいくつかの制約条件のもと、代謝反応速度を、専用プログラムを用いて算出するシミュレーション手法である。これにより得られた知見を基に、バイオプラスチック前駆体といった、有用物質を高生産する大腸菌も作出されている⁴⁾。

本研究では、外来MVA生合成遺伝子を導入した大腸菌株 (改変株) および非導入株 (親株) の比較解析を通して、MVA生産が中心代謝経路に与える影響を抽出した。両株の生育速度およびグルコース消費速度には大きな差が見られなかったが、改変株の酢酸生産速度は親株の1/10程度に減少した。その一方で、改変株は予想通りMVAを生産した。

これらの情報および ^{13}C 標識実験で得たデータを基にフラックス分布を算出したところ、改変株では酢酸生産

速度だけでなく、クエン酸回路のフラックスも低下していた。これは、MVA生合成遺伝子の発現により、酢酸生産、クエン酸回路における代謝、およびMVA生産の初発基質となるアセチルCoAを起点としたフラックスの分岐比が、MVA生産へ再分配されたためと考えられた。

さらに、フラックスバランス解析から、消費したグルコースあたりのMVA最大理論収量を達成する時の、改変株におけるフラックス分布を算出した。この情報と ^{13}C -代謝フラックス解析で明らかにしたフラックス分布を比べることで、改変すべき代謝経路に関する示唆が得られる。その結果、改変株は約20%の効率でMVAを生産しており、理論最大収率を達成するには、ペントースリン酸経路、酢酸生合成経路、およびクエン酸回路の抑制が有効であると推測された。ペントースリン酸経路および酢酸生合成経路の抑制は、生合成遺伝子を破壊することで達成できるが、クエン酸回路の破壊は微生物の増殖に悪影響を与える。本研究で得られた知見を活かすためには、増殖時にはクエン酸回路を活性化させ、MVA生産時には不活化できるような代謝切り替えシステムの導入が有効であると考えられた。

MVA経路を含むイソプレノイド生合成経路上には、イソプレノ骨格を有する産業上重要な中間代謝物が多く存在する。本研究を足掛かりに、MVAだけでなく、これら有用物質の生産性向上も期待される。

- 1) Tabata, K. and Hashimoto, S.: *Biotechnol. Lett.*, **26**, 1487 (2016).
- 2) Kajihata, S. et al.: *BioMed Res. Int.*, **2014**, 627014 (2014).
- 3) Okahashi, N. et al.: *Biotechnol. Bioeng.*, **114**, 2782 (2017).
- 4) Tokuyama, K. et al.: *Microb. Cell Fact.*, **13**, 64 (2014).

*著者紹介 大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報工学専攻 (教授) E-mail: shimizu@ist.osaka-u.ac.jp

¹大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報工学専攻 (博士課程学生), 現, 産業技術総合研究所機能化学研究部門

²大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報工学専攻

³大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報工学専攻, 現, 大阪大学生命機能研究科

⁴大阪大学大学院情報科学研究科バイオ情報工学専攻, 現, 積水化学