

染色体改変技術を用いた芳香族化合物の発酵生産プラットフォーム菌株

研究シーズの概要

大腸菌の染色体DNAを改変して、糖質原料から芳香族化合物を高収率かつ高収量で発酵生産するためのプラットフォーム菌株を作製しました。10種類の遺伝子をT7プロモーターを用いて高発現させました。それにより、プラスミドフリーな菌株であるにも関わらず、芳香族アミノ酸であるフェニルアラニンとチロシンを非常に高い収率で発酵生産することが可能となりました。ジャーファメンターを用いることで、高収量での生産も可能でした。本菌株をさらに改変することで、ヒドロキシチロソールなどの芳香族化合物を糖質原料から高収率・高収量で生産できることも実証しました。

研究シーズの特徴

①染色体改変技術

相同組み換え法等を用いて、多くの遺伝子を染色体DNAへ導入して高発現し、代謝を制御するための染色体改変技術を開発しました^{*1, 2}。染色体への遺伝子導入方法はプラスミドによる方法と比べて複雑ですが、培地への抗生物質無添加、菌株の安定性向上、多くの遺伝子の同時高発現、などのメリットがあります。本染色体改変技術を用いて10種類の遺伝子を大腸菌の染色体DNAに導入し、芳香族化合物の高生産プラットフォーム菌株を作製しました（図1A）。

^{*1}Koma et al. Appl. Microbiol. Biotechnol. 93:815-29, 2012

^{*2}Koma et al. Appl. Environ. Microbiol. 78:6203-16, 2012

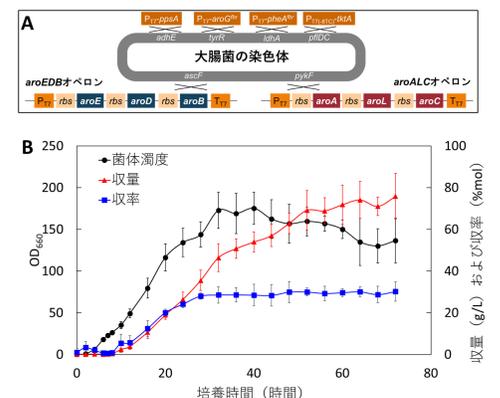


図1 10種類の導入遺伝子 (A) と3Lジャーファメンターでのグルコース流加培養 (B)

②芳香族化合物の高生産プラットフォーム菌株

フェニルアラニンの生産を指標として、プラットフォーム菌株の性能を3Lジャーファメンターで評価しました。72時間のグルコース流加培養で、75g/Lの収量でフェニルアラニンを生産しました（図1B）。本菌株をさらに改変することで、さまざまな芳香族化合物を高収率で発酵生産可能なことを実証しました^{*3}。現在、ヒドロキシチロソールの発酵生産にも取り組んでおり、従来の3倍以上の収量で発酵生産することに成功しています^{*4}（図2）。

^{*3}Koma et al. Appl. Environ. Microbiol. 86:e00525-20, 2020

^{*4}Koma et al. J. Agric. Food Chem. 71:9451-59, 2023

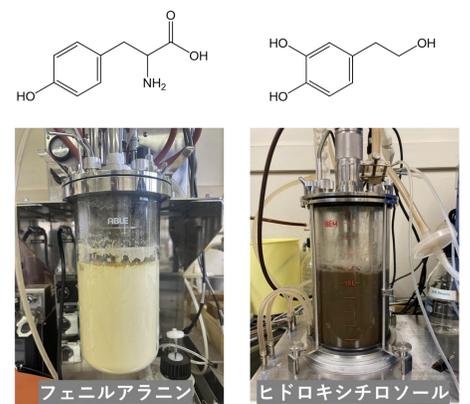


図2 ジャーファメンターでの発酵生産の様子

今後の方向性・課題等

- ・ヒドロキシチロソールを含め多くの芳香族化合物が宿主に対して高い毒性を示します。したがって、培養プロセスと菌株の開発を一体的に進めることが重要であると考えています。
- ・遺伝子を染色体DNAに導入することで培地への抗生物質の添加は不要となりましたが、遺伝子発現の誘導にはIPTGを使用しています。IPTGに代わる安価で効率的な発現制御の仕組みを検討しています。

本研究は、JSPSの科研費若手B (JP19780082)、JSTのA-STEP機能検証フェーズ (PMJTM20QJ)、A-STEPトライアウト (PMJTM20QJ)、A-STEP産学共同育成型 (JPMJTR23U4) の支援を受けています。