

講演番号：3H07-11

質疑応答日時、会場：3月20日 13:30～ ミーティングルーム H

大腸菌のパスウェイエンジニアリングによるモノテルペノイド高生産系の構築

Establishment of a monoterpene overproduction system by pathway engineering of *Escherichia coli*

○宮下 孝洋^{1,2}、栗栖 尚嗣²、角掛 陽²、和氣 駿之²、中山 亨²、高橋 征司² (¹北海道糖業(株)、²東北大・院・工)

○Takahiro MIYASHITA^{1,2}, Naotsugu KURISU², Minami TSUNOKAKE², Toshiyuki WAKI², Toru NAKAYAMA², Seiji TAKAHASHI² (¹Hokkaido Sugar Co.,Ltd, ²Tohoku Univ.)

植物が生合成する代謝産物の一種であるモノテルペノイドは、食品添加物、香料、溶剤などとして広く利用され、産業的に重要な物質である。しかし、植物より精製できるモノテルペノイドの量は微量かつ有機合成が困難な構造も含まれていることから、代謝工学による高生産型生物の構築が進められている。大腸菌を宿主とする場合は、一般的に、モノテルペン合成酵素 (monoTPS) に加え、その基質となるゲラニル二リン酸 (GPP) の合成酵素 (GPS) を異種発現させるが、その生産性の低さが問題となっていた。その原因の一つとして、GPP が大腸菌内在のファルネシル二リン酸 (FPP) 合成酵素 (FPS) の基質として消費されてしまう点が想定される。そこで本研究では、内在の FPS が欠損した大腸菌を宿主に用い、monoTPS への基質供給効率を増大させることで、より生産性の高いモノテルペノイド生産系の構築を試みた。FPP は必須化合物であるが、予想に反し液体培養時における FPS 欠損株の顕著な増殖障害は示されなかった。FPS の欠損株及び野生型株において、*Mycobacterium tuberculosis* 由来の GPS と *Angelica archangelica* 由来の monoTPS を誘導的に高発現させ、GC-MS 分析に供した。その結果、単環式モノテルペンである β -フェランドレンの合成酵素と、非環式モノテルペンである *cis*- β -オシメンの合成酵素のいずれの導入系統においても、FPS 野生型株に対して欠損株における目的化合物の生成量が顕著に増大することがわかった。これらの結果より、FPS 欠損株を宿主としたモノテルペノイド生産系が有用であることが明らかとなった。

Many of plant-derived monoterpenoids are industrially important as a food additive, flavor, solvent, and so on. Since the amount of terpenoids that can be purified from plants is very small, establishment of a mass production system of valuable monoterpenoids in microorganisms by the metabolic engineering is desired. Generally, to produce monoterpenoids in *Escherichia coli*, exogenous genes encoding geranyl diphosphate (GPP) synthase (GPS) and monoterpene synthase (monoTPS) are introduced. However, due to consumption of GPP as a substrate for endogenous farnesyl diphosphate synthase (FPS), productivity of the system is low. Therefore, in this study, we applied an *E. coli* strain deficient in FPS as a host to produce monoterpenoids. As results, a *fps* strain expressing a GPS from *Mycobacterium tuberculosis* and a monoTPS from *Angelica archangelica*, such as β -phellandrene synthase and *cis*- β -ocimene synthase, produced higher amount of target terpenoids than a FPS wild-type strain expressing the identical set of genes, indicating this system is useful for monoterpene production.

terpenoid, isoprenoid, terpene synthase

発表責任者：高橋征司 (seiji.takahashi.a7@tohoku.ac.jp)