

微生物発酵の新展開 —微生物が作る植物医薬品原料—

南 博道

高等植物は、生命維持（生育）に必須なアミノ酸や脂肪酸などの一次代謝産物以外にも、二次代謝産物といわれるストレス耐性、病害抵抗性などに関わる物質を産生、蓄積する。植物の産生する二次代謝産物は、大きく分けてアルカロイド、テルペノイド、フェノール性化合物（フェニルプロパノイド、フラボノイド）の3つのグループに分類され、香辛料や染料、香料、医薬品などとして我々の身の回りに様々な形で利用されている。これら二次代謝産物はおもに植物体からの抽出により生産されているが、乾燥重量の数パーセント程度しか含まれていないものも多く、さらに植物体の生育には数ヶ月～数年を要するため、大量に迅速に供給する方法が求められている。そこで、植物から抽出するのではなく、植物の生合成系を微生物に導入し、発酵法により微生物に生産させようという試みが近年盛んに行われている。

カリフォルニア大学のKeaslingらのグループは、テルペノイドの一種で、数種類のマラリア治療薬の主成分であるアルテミシニンの前駆体（アルテミシニック酸）を酵母に作らせることに成功している¹⁾。アルテミシニンは現在、キク科植物のクソニンジン（*Artemisia annua*）から成分を抽出する方法で生産されているが、抽出可能な段階までクソニンジン育てるのには1年以上かかり、供給量が限られているため高価で、発展途上国の多くのマラリア患者の治療に使用することは不可能であった。酵母にクソニンジン由来の2種類の生合成遺伝子、*amorphaadiene synthase* と *cytochrome P450 monooxygenase (CYP71AV1)* を導入することにより、培地中のグルコースからアルテミシニック酸が高効率に（100 mg/l）生産された。

東京大学の堀之内らのグループは、大腸菌を宿主としたさまざまなフラボノイドの生産に成功している。4種類のフラボノイド生合成遺伝子（*phenylalanine ammonia-lyase*, *4-coumarate: CoA ligase*, *chalcone synthase*, *chalcone isomerase*）およびマロニル CoA 合成酵素である *acetyl-CoA carboxylase* を導入した大腸菌に対し、チロシンまたはフェニルアラニンを追加することで、多くのフラボノイドの前駆体であり代表的なフラボノイドであるフラバノン2種類（ナリンゲニン：57 mg/l, ピノセンブリン：58 mg/l）が生産された。さらに、フラボノイドの誘導体であるフラボン、フラボノールについても、それぞれの生合成遺伝子を導入することで、フラボン（アピゲニン：13 mg/l, クリシン：9.4 mg/l）およびフラボノール（ケ

ンフェロール：15.1 mg/l, ガランギン：1.1 mg/l）が生産された²⁾。

一方、アルカロイドにおいては、モルヒネやコデインといったイソキノリンアルカロイドに対して、京都大学の佐藤らのグループが、微生物酵素（*monoamine oxidase*）を組み合わせた改変型のイソキノリンアルカロイド生合成経路を大腸菌に導入することで、その生産システムを構築した³⁾。改変型生合成経路では、ドーパミンを基質にして、5段階の反応でイソキノリンアルカロイド中間体であるレチクリンが生産された。また、スタンフォード大学のSmolkeらのグループは、イソキノリンアルカロイドの一種であるテトラヒドロパパペロリンから酵母細胞によるレチクリン、および4種類のイソキノリンアルカロイド中間体の生産を報告している⁴⁾。しかしながら、いずれも添加する基質に対する安定性およびコスト的な問題があった。最近になって、微生物酵素（*tyrosinase*, *DOPA decarboxylase*）を用いたチロシンからの改変型イソキノリンアルカロイド生合成経路を構築することで、大腸菌におけるレチクリン生産システムが確立された⁵⁾。11 遺伝子の過剰発現系および1 遺伝子の欠失を組み込むことによって、培地中のグリセロールから46mg/lのレチクリンが生産された。レチクリンからのケシアルカロイド（モルヒネ）の生産には、まだ6段階の酵素遺伝子が必要となるが、植物二次代謝研究の進展により、その生合成遺伝子はすべて単離されている。近い将来には、モルヒネを生産する大腸菌や酵母が作り出されるものと考えられる。

これら植物二次代謝産物の微生物生産の成功は、含有量が少ないために生理活性の明らかではない化合物や新規化合物の生理活性の解明につながるものであり、創薬をはじめとしたさまざまな分野に大きく貢献することが可能である。微生物による植物医薬品原料生産は、微生物発酵における新たな展開をもたらすものである。

- 1) Ro, D. -K. *et al.*: *Nature*, **440**, 940 (2006).
- 2) Horinouchi, S.: *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **13**, 197 (2009).
- 3) Minami, H. *et al.*: *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 7393 (2008).
- 4) Hawkins, K. M. and Smolke, C. D.: *Nat. Chem. Biol.*, **4**, 564 (2008).
- 5) Nakagawa, A. *et al.*: *Nat. Commun.*, **2**, 326 (2011).