

## バイオオルソゴナル酸化還元システムの可能性

朝子 弘之

化学産業において、生物を用いた有用物質生産の必要性が増している。それは、持続、再生可能な燃料や有用物質を、化石資源からではなくバイオマスから生産する技術開発や、石油化学プロセスをバイオプロセスで代替する環境にやさしいものづくりシステムへの転換のためである。生物を利用した物質生産は、発酵や醸造など食品の加工分野で技術が蓄積されてきた。最近では、外来性遺伝子の導入および内在性遺伝子の過剰発現あるいは欠失といった遺伝子組換え技術が、有用物質生産に応用されている。さらに、生命の諸現象をシステムとして捉えようとするシステムバイオロジーの発展により、さまざまな解析結果を基に、目的物質の生産性を向上させることができるようになってきている。

生物の代謝能を利用した物質生産でしばしば問題となるのは、外来性遺伝子の導入等による代謝フラックスの変動により、細胞内酸化還元環境がアンバランスとなり、目的物質の生産性が低下する現象である。生物代謝で利用される酸化還元反応には、反応を触媒する酵素とともに補酵素が必要となる。生体内の酸化還元反応に利用される補酵素の代表とえば、ニコチンアミドアデニンジヌクレオチドであり、酸化型 (NAD<sup>+</sup>) と還元型 (NADH) の2つの状態をとる。また、アデノシンの2'位水酸基がリン酸基に置換されたものがNADP<sup>+</sup>、NADPHであり、NAD<sup>+</sup>、NADHは一般に異化反応に、NADP<sup>+</sup>、NADPHは一般に同化反応に使用される (図1)。酸化還元酵素に

より使用する補酵素が異なるため、酸化還元酵素が絡む遺伝子群の発現系と破壊系の操作を施した生物においては、補酵素の細胞内濃度が変化し、酸化還元バランスが崩れる可能性が考えられる。本稿では、このような問題点の解決策の一つになると考えられる技術について紹介したい。

これまでに、生体内の酸化還元アンバランスを解消する方法として、タンパク質工学的手法にて、酸化還元酵素の補酵素選択性を変えた改良酵素を導入した例が報告されている<sup>1)</sup>。また、補酵素の改良については、補酵素の再生系構築を目的としたPEG修飾補酵素や<sup>2)</sup>、フルオラス溶媒 (例、メトキシノナフルオロブタンなど) 中で溶解可能な補酵素の修飾<sup>3)</sup>などは報告されているものの、天然の補酵素を用いた場合よりも酵素活性が低下することから、代謝工学的に利用した例は報告されていない。

最近、Jiらによって、人工合成補酵素と改良型酸化還元酵素を用いた、バイオオルソゴナル (天然の生体中には存在しない) 酸化還元システムが開発された<sup>4)</sup>。彼らは、NAD<sup>+</sup>のAMP部分をシチジン誘導体に置換し、生体内には存在しない補酵素 (ニコチンアミドフルシトジヌクレオチド (NFCD<sup>+</sup>)) を合成した (図1)。NFCD<sup>+</sup>を用いた場合、野生型の酸化還元酵素の触媒活性は大きく低下したが、補酵素結合部分のアミノ酸配列を改変した改良酵素を用いた結果、NAD<sup>+</sup>よりもNFCD<sup>+</sup>選択的となり、また、NAD<sup>+</sup>と野生型酵素を用いた活性に近い値を示した。さらに、NFCD<sup>+</sup>選択的なリンゴ酸酵素とD-乳酸脱水素酵素の2つの改良酵素を用い、L-リンゴ酸をピルビン酸に酸化し、得られたピルビン酸をD-乳酸に還元するワンポット酸化還元反応で、NFCD<sup>+</sup>がリサイクル可能であることを示した。

バイオオルソゴナル酸化還元システムの代謝系への導入は、生物の酸化還元バランスに直接影響を与えない新たな手法であるとともに、合成生物学やシステム生物学にとって有用なツールになると考えられる。また、バイオプロセスにおいても、副反応の低減、新たな補酵素リサイクルシステムの構築等への応用が考えられるなど、さまざまな分野への発展に貢献するものと期待される。

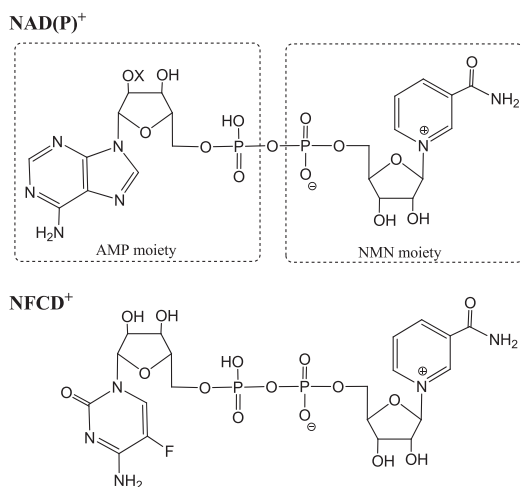


図1. 補酵素NAD(P)<sup>+</sup>、NFCD<sup>+</sup>の構造<sup>4)</sup>

- 1) Petschacher, B. *et al.*: *Biochem. J.*, **385**, 75 (2005).
- 2) Gu, K. F. *et al.*: *Biotechnol. Bioeng.*, **36**, 263 (1990).
- 3) Panza, J. L. *et al.*: *Tetrahedron*, **58**, 4091 (2002).
- 4) Ji, D. *et al.*: *J. Am. Chem. Soc.*, **133**, 20857 (2011).