

生物生産へ向けた代謝経路設計

田代 洋平*・渥美 正太

二酸化炭素排出量の削減や化石燃料の枯渇といった世界規模の問題を解決するために、二酸化炭素から燃料や有機化合物を合成するプロセスが注目を集めている。現在、二酸化炭素固定においては、光合成に代表される生物学的プロセスが、もっとも有効な手段であり、光合成の主生成物である糖類（たとえばグルコース）から、微生物を用いた物質生産技術の開発が続いている。

ある化合物を微生物生産するためには、その合成に適した代謝経路を有する微生物が必要となる。そういった微生物は、伝統的には、自然環境サンプルからの単離、あるいは育種によって獲得されてきたが、それらのプロセスは多くの時間と労力を要する。また、獲得した菌体の培養が困難である場合もある。しかし、代謝経路や酵素情報の蓄積、および遺伝子工学技術の向上により、代謝経路を設計し、大腸菌や酵母など扱いやすい微生物へ導入することによって所望の生産株を構築することが可能になってきた。この分野は、代謝工学と呼ばれる。

現在までに、同定されている酵素反応は、およそ3000種類にも及ぶ。それらの酵素反応の組合せを変えるだけでも、新規化合物の代謝経路を構築できる。この手法によって、多くの新規化合物の代謝経路が構築されてきた¹⁾。

代謝経路は、ほとんどの場合、エネルギー準位の高い化合物を出発物質とし、徐々にエネルギー準位の低い化合物へ変換されていくよう設計される。ちょうど、水(基質)が山(高エネルギー準位)から、川(代謝経路)を下って、湖(低エネルギー準位)へ流れ込むようなイメージである。すべての水が淀みなくある特定の湖へ流れ込むのが理想であるから、他の湖へ流れ込まないように、一本道かつ単調に下る経路を選び、その条件を満たす酵素反応を当てはめながら経路を構築していく。

新規化合物経路を作るだけなら、単純に酵素反応をつないでいけば良いが、工業生産に値する高収率および高収量を達成するには、代謝経路構築に用いる酵素反応の種類およびその組合せを慎重に選ぶ必要がある。今まで工業生産を目的としてアルコールやテルペノイドの合成経路など、さまざまな代謝経路が人工的に構築され、その生産性が向上されてきた¹⁾。ここでは、それらの研究から得られた改善に必要な設計原理を二つあげる。

一つ目は、ATPやNADHなどの補酵素が過不足なく生産・消費されることである。補酵素とは、酵素と協同

して働く非タンパク質の低分子化合物であり、細胞内でさまざまな生化学反応に関わっている。この補酵素のバランスを保つことにより、細胞への負荷を最小にでき、代謝反応はスムーズに流れる。

二つ目は、不可逆反応の導入である。可逆反応で紡がれた代謝経路は、反応が進んで、標的化合物の濃度が上がってくると、逆反応が起こり、あるところで生産が止まってしまう。ここへ、不可逆反応が導入されると、代謝物の逆流を防ぐことができる。ガス分子の放出を伴う脱炭酸反応やグリコーゲンやポリヒドロキシアルカノエートのような重合反応は代謝産物の一部が系外へ出ていくため、事実上、これらの反応は不可逆反応として扱うことができる。

これらの設計原理は、解糖系やエタノール発酵などの天然の代謝経路でも使われている。Atsumiらによって構築されたイソブタノール合成経路では、NAD(P)H収支がゼロであり、さらに二つの脱炭酸反応が導入されている²⁾。この経路は、イソブタノールの燃料としての物性とその高い生産性のため、最も実用に近いバイオ燃料合成経路である。これらの設計原理に従って、大腸菌において*n*-ブタノール³⁾や酢酸イソブチル⁴⁾などの代謝経路が設計され、いずれも高収量および高収率が達成された。

これらの設計原理により、代謝経路の構築は効率的になってきてはいるが、まだ多くの試行錯誤を要する。設計した代謝経路における各代謝中間体のポテンシャルエネルギーを計算し、それらのエネルギー変化の度合いから、その代謝経路全体の反応速度を予測しようとする試みも始まっている⁵⁾。これらのアプローチによって、上記の設計原理なども数理的に理解できれば、代謝工学のプロセスがさらに効率化されるだろう。

今後、この分野がさらに発展し、微生物生産が可能な化合物のレパートリーが増加すれば、石油に依存しない二酸化炭素からの物質生産が増えることが期待される。

- 1) Rabinovitch-Deere, C. A. *et al.*: *Chem. Rev.*, **113**, 4611 (2013).
- 2) Atsumi, S. *et al.*: *Nature*, **451**, 86 (2008).
- 3) Shen, C. R. *et al.*: *Appl. Environ. Microbiol.*, **77**, 2905 (2011).
- 4) Rodriguez, G. M. *et al.*: *Nat. Chem. Biol.*, **10**, 259 (2014).
- 5) Noor, E. *et al.*: *PLoS Comput. Biol.*, **10**, e1003483 (2014).