

研究課題 (テーマ)		異種細胞発現酵素による高機能バイオフィクターの創製	
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学科	准教授	生城 真一
	生物工学科	教授	伊藤 伸哉
		准教授	米田 英伸
		助教	戸田 弘
研究結果の概要			
<p>生体内外由来の生理活性を有するバイオフィクター（ビタミン類やポリフェノール類）は、その機能性を発揮する過程で吸収、分布、及び代謝を経て体外に排泄される。とくに食品中機能性成分として知られているポリフェノール類の水酸基がグルコース付加による配糖化やメチル化されることによりその機能性及び体内動態が大きく影響を受ける。本申請においては高機能を有するバイオフィクターの創製を目的として、UDP-グルコース転移酵素(UGT)及びフラボノイドメチル化酵素(FOMT)の異種細胞酵素発現系による化学修飾技術の開発をおこなった。</p> <p>研究分担</p> <p><u>生城グループ</u>：酵母発現系をプラットフォームとした UGT 及び FOMT 分子種の網羅的な機能解析系の構築及びその応用</p> <p><u>伊藤、戸田グループ</u>：酵母及び大腸菌を用いた植物由来 FOMT の機能的発現及びその応用</p> <p><u>米田グループ</u>：酵母及び大腸菌を用いた微生物及び植物由来 UGT の機能的発現及びその応用</p> <p>本申請年度において、生城グループはシークワァーサー由来フラボノイドメチル化転移酵素(CdFOMT5)、タルウマゴヤシ由来 UGT71G1 及びヒト由来カテコールメチル化転移酵素(COMT)の酵母発現系の構築、機能解析を行なった。酵母発現 CdFOM5T については大腸菌発現系には生産量では及ばなかったが、内在性補基質 (S-アデノシルメチオニン) の供給により菌体におけるメチル化体の産生が観測された。生城、伊藤、戸田グループでは CdFOMT5 と UGT71G1 の同時発現系を大腸菌及び酵母発現系を構築し、ケルセチンのメチル化配糖体の調製を試みた。大腸菌発現 UGT71G1 については酵母発現系での生成効率を上回る配糖体の生成が見られた。同時発現系については同時修飾体を MS 分析にて解析中である。さらに米田、生城グループは機能未知の糸状菌由来 UGT 遺伝子について哺乳動物 UGT とのアミノ酸相同性解析より糖転移酵素である可能性が高いと推定して、自律複製型発現ベクターである pGYR を用いた酵母発現系を構築して菌体反応による酵素反応を解析中である。</p>			
今後の展開			
<p>今後の展開としては、構築した大腸菌及び酵母発現系による UGT、COMT あるいは FOMT の同時発現系に注目してフラボノイドのメチル化配糖体の調製技術の開発を行なう。メチル化体生産に関しては生成物の溶解性の観点から有機溶媒耐性菌における発現を試みる。また、多様なフラボノイドに対する修飾部位の特異性の改変を目的として、基質結合部位への変異導入や N 末端領域改変などの機能改変を行なう。糸状菌 UGT については、前年度に構築した UGT に相同性の高い遺伝子(McUGT1)の発現系を用いて UDP-糖供与体として転移反応の解析を継続する</p>			