

研究課題 (テーマ)		メタゲノム由来新規スチレン酸化酵素(HRhSMO)遺伝子の取得および有用キラル化合物合成への応用	
研究者	所属学科等	職	氏名
代表者	生物工学科	講師	戸田 弘
研究結果の概要			
<p>現在、様々な酵素遺伝子が微生物や動植物から取得され、医薬品生産などへの産業的利用が研究されている。特に医薬品生産においては、有効成分となる化合物の立体構造(鏡像異性)が重要な場合が多く、それらの作り分けを如何に効率的に行うかが重要課題である。酵素は特定化合物の鏡像異性体の特異的に変換・合成可能であるという点において化学法より優れており、こうした性質から医薬品生産における積極的利用が研究されている。</p> <p>従来、産業用酵素は微生物や動植物からのスクリーニングにより見出され、その酵素遺伝子配列の解析と大腸菌等による異宿主発現を通じて利用するというケースが大多数であった。特に微生物は様々な代謝系や有害物質の分解系路を有することから、有用酵素遺伝子のソースとして多用されている。しかしながら近年、土壌中に存在する微生物のうち我々が培養・利用可能な微生物は全体の1%に満たないことが明らかとなっている。これらは難培養性微生物と呼ばれ、土壌微生物のうちの圧倒的多数を占めている。こうした微生物たちが有用な酵素遺伝子を有する場合、従来法に則った培養・スクリーニングによる探索では目的とする酵素遺伝子は得ることができない。すなわち、我々は土壌中に存在する有用酵素遺伝子の大部分を利用できないということになる。こうした問題点を克服するために、近年土壌サンプルなどから直接 DNA を調製し解析する技術(メタゲノム解析)が研究されている。メタゲノム解析は土壌や堆肥、水、糞便などから直接 DNA を抽出するため、そこに含まれる多種多様な微生物のゲノム DNA の混合サンプルとなる。このサンプルから目的とする酵素遺伝子の配列を直接取得解析することにより、これまで見逃していた有用酵素遺伝子も利用可能となる。</p> <p>本研究課題において我々は、各種アルケン化合物を立体選択的に酸化可能な酵素遺伝子(スチレンモノオキシゲナーゼ、SMO)を標的としてメタゲノムから取得し、300 クローン以上の SMO 遺伝子を取得した。それらの配列解析と大腸菌による異宿主発現を試み、各種アルケン化合物に対する活性を検討した結果、従来の酵素では変換困難であった基質に対しても高い活性を示すこと、またその立体選択性が非常に高いことを見出した。このことは、環境中には多種多様な性質を示す SMO 酵素類縁遺伝子が存在し、また従来酵素では変換が難しかった化合物に対しても利用可能なバイオプロセスが構築可能なことを示している。</p>			
今後の展開			
<p>得られたメタゲノム由来 SMO 酵素遺伝子を有機溶媒耐性菌(<i>Kocuria rhizophila</i> DC2201)へ導入し、その異宿主発現と有用物質生産へ向けたバイオプロセスの構築を行う。また、メタゲノム SMO の立体構造の解析を通じて基質特異性ととの構造相関解析を行い、さらに目的化合物に最適化された SMO 酵素のデザインを試みる。</p>			