

英国科学誌「Nature Communications」誌掲載  
モルフィナンアルカロイド生産のための微生物プラットフォームの確立

ケシは、様々な薬効を示す多様な化合物の一群を産生します（添付図1）。これらの化合物のなかでも、鎮痛薬として用いられるモルヒネに代表されるモルフィナンアルカロイドは、アヘン等の麻薬として不正利用されることから、その栽培利用は厳しく管理されています。こうした規制が必要な有用医薬品をより厳密な管理の元で、かつ、効率的に生産することを目指して、微生物によるモルフィナンアルカロイドの生産系の開発を行ってきました。

石川県立大学の南 博道准教授、中川明博士研究員らと京都大学生命科学研究科の佐藤文彦教授のグループにより、これまでに、植物の有用物質生合成系を微生物細胞内に再構築し、さらに代謝工学的な改変を加えることによりイソキノリンアルカロイド生合成の重要な中間体であるレチクリンを簡単な素材であるグルコース等から生産する方法を確立してきました。

【以下参照】

京都大学プレスリリース 2011年5月25日「植物有用物質生産のための微生物プラットフォームの確立」

([http://www.kyoto-u.ac.jp/static/ja/news\\_data/h/h1/news6/2011/110525\\_1.htm](http://www.kyoto-u.ac.jp/static/ja/news_data/h/h1/news6/2011/110525_1.htm))

この方法において開発されたレチクリン発酵生産系を基盤として、今回、（国立研究開発法人）医薬基盤・健康・栄養研究所 薬用植物資源研究センター筑波研究部吉松嘉代 育種生理研究室長、河野徳昭 主任研究員の協力を得て、レチクリンからさらに有用なモルフィナンアルカロイドであるテバインを合成する大腸菌発酵生産系を開発しました。

まず、モルフィナンアルカロイド生合成の出発物質である R-体のレチクリンを生産させるように微生物（大腸菌）プラットフォームを改変するとともに、R-レチクリンからテバインを合成するケシの生合成酵素遺伝子を組み込んだ微生物プラットフォームを確立し、これらのプラットフォームをこれまでに作成したアルカロイド生産プラットフォームと組み合わせることにより、特別の基質の添加を必要とせず、モルフィナンアルカロイドであるテバインを生産する微生物発酵生産システムが確立されました（添

付図 2)。この場合、R-レチクリンからのテバインの変換効率は 60% に及び、また、単純な炭素源であるグルコースやグリセロールからのテバインの生産は 2.1mg/L に及びました（添付図 3、表 1）。

これらの成功は、昨年、合成生物学の大きな成果として Nature 誌の 10 大ニュースに取り上げられた酵母を用いたテバインの生産性 0.0064mg/L を大きく上回り、困難である有用モルフィナンアルカロイドの工業的生産の可能性を大きく高めるものです。また、テバインアルカロイドに限らず、より実用的な医薬品である hidrocodon の微生物生産の可能性も示すことに成功しており（添付図 4）、合成生物学による医薬品生産の新たな可能性を示しました。

一方、このような合成生物学により、麻薬の不正な発酵生産のリスクが懸念されていますが、我々の微生物プラットフォームでは、異なる菌株を組み合わせることが必要であり、より高度の発酵生産技術が必要となるため、酵母で懸念されているような合成生物学の不正利用のリスクは極めて低いと考えています。

これらの成果は、2016 年 2 月 5 日日本時間 19 時発行の Nature Communications, on-line 版に掲載されました。

なお、本研究成果は、日本学術振興会科学研究費補助金 [基盤研究 (S) (26221201) FS]、農林水産業・食品産業科学技術研究推進事業 (HM)、武田科学振興財団 (HM)、加藤記念バイオサイエンス振興財団 (AN)、野田産研助成 (AN) の支援を受けて行われました。

## 【書誌情報】

掲載タイトル: Total biosynthesis of opiates by stepwise fermentation using engineered *Escherichia coli*. DOI: 10.1038/NCOMMS10390

著者: Akira Nakagawa\*, Eitaro Matsumura\*, Takashi Koyanagi\*, Takane Katayama †, Noriaki Kawano#, Kayo Yoshimatsu#, Kenji Yamamoto\*, Hidehiko Kumagai\*, Fumihiko Sato †, and Hiromichi Minami\*

\*Research Institute for Bioresources and Biotechnology, Ishikawa Prefectural University, Nonoi-machi, Ishikawa 921-8836, Japan;

†Division of Integrated Life Science, Graduate School of Biostudies, Kyoto University, Oiwake-cho, Kitashirakawa, Sakyo-ku, Kyoto 606-8502, Japan;

and #Research Center for Medicinal Plant Resources, National Institutes of Biomedical Innovation, Health and Nutrition, 1-2 Hachimandai, Tsukuba, Ibaraki 305-0843, Japan

## 【用語解説】

アルカロイド: 窒素を含む一群の低分子有機化合物群、モルヒネやベルベリン、アトロピン、キニーネ、カフェイン、ニコチンなどの生理活性物質がふくまれ、有用医薬品としても利用されているものが多い。多くの場合、特有の植物種において、アミノ酸類から生合成される。

代謝工学: 代謝系において反応速度を律速する酵素を多く発現させる、あるいは、反応系に新たな経路を付け加える、あるいは、反応系を遮断するなどの改変を行うことにより、代謝系を改変し、目的とする化合物を大量に生産する、あるいは、新たに生産する技術。

合成生物学: 従来の代謝工学では、元ある生合成系、あるいは、遺伝子発現系の一部を改変することが行われてきましたが、遺伝子工学の進歩により、他種の遺伝子を組み合わせ、新たな代謝系や遺伝子発現制御系を構築することが可能となってきました。今回の改変では、宿主とする大腸菌の他に、他種の微生物2種、オウレン、ケシ、シロイヌナズナといった植物3種の遺伝子を組み合わせ、新たな生合成系を再構築することに成功しています。

微生物プラットフォーム： 微生物の代謝系を改変し、有用代謝産物を工業的に生産することを可能とした改変微生物。今回の開発では、テバインの生合成系における基質 *R*-レチクチンをドーパミンから合成する生合成プラットフォームと、*R*-レチクリンからテバインを合成するプラットフォームを新たに開発し、従来開発されていた簡単な基質グルコース／グリセロールからドーパミンを大量生産する生合成プラットフォームに接続することにより、モルフィナンアルカロイド発酵生産の新たな微生物プラットフォームが構築された。それぞれのプラットフォームはモジュールとなっており、任意に組み合わせることが可能であり、アルカロイド以外の二次代謝産物合成にも利用できる。

合成生物学の不適切な利用： 酵母でのテバイン生合成系の開発にあたって、酵母が様々な発酵産物、例えば、ワインやビール等の醸造にも用いられることから、麻薬成分を生産できる酵母を用いて麻薬を不正に発酵生産することが懸念されている。このように、従来にない代謝系をもつ微生物を合成生物学で作成する場合には、十分な管理システムの確立が必要である。

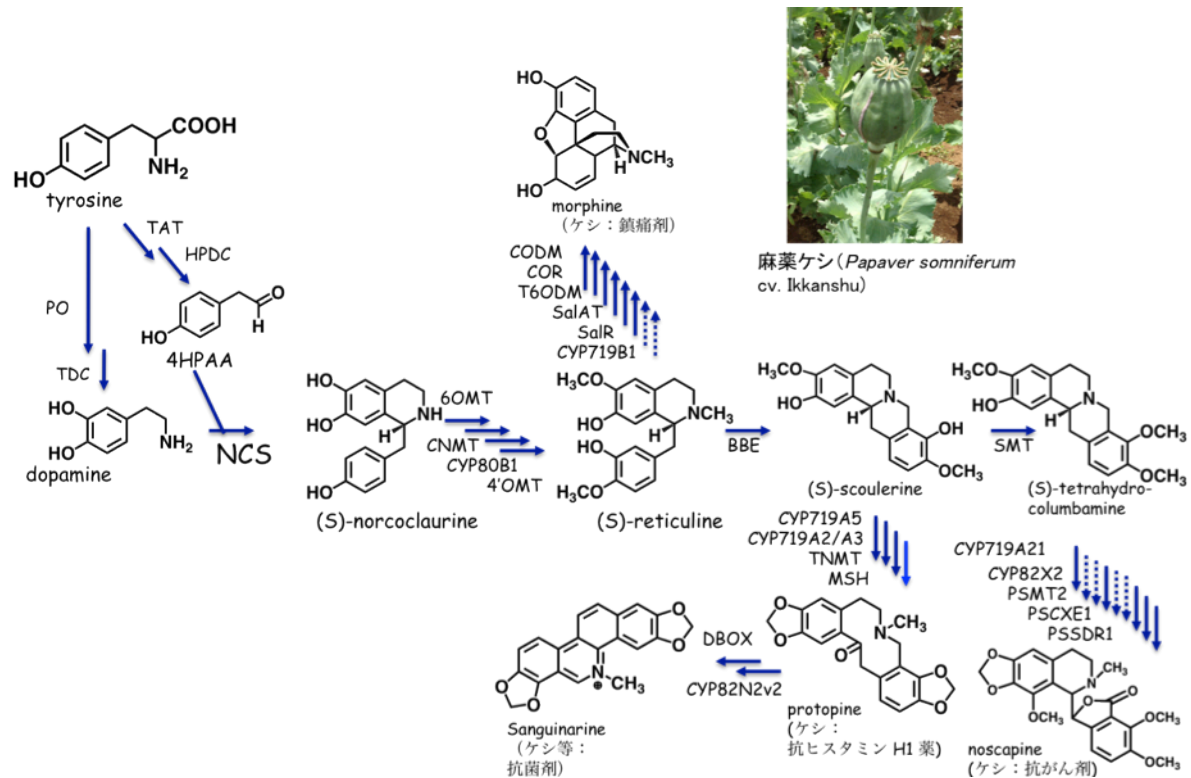


図 1 麻薬ケシには、多様なイソキノリンアルカロイドが含まれている。

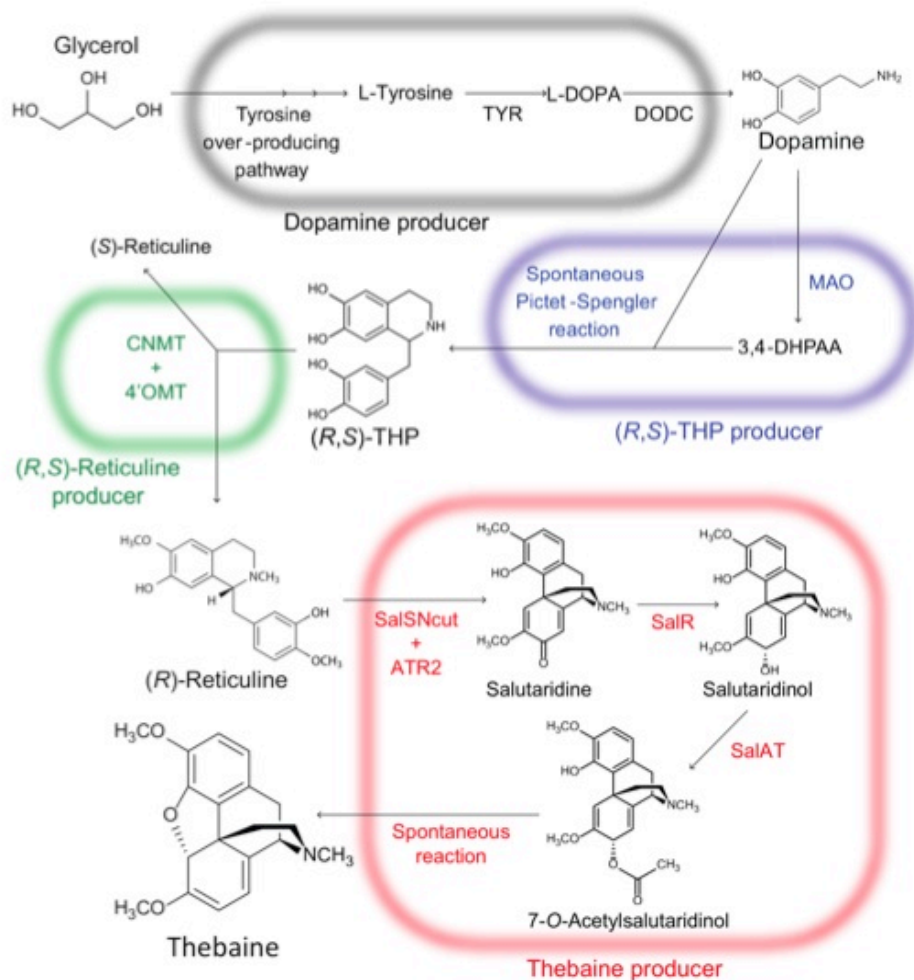


図2 プラットホームの概念図

これまでに開発されていたレチクリンを高生産する大腸菌プラットフォーム (Nakagawa et al. Sci. Rep. 2014) に、テバイン合成の基質である *R*-レチクリンの生産プラットフォームと同基質からのテバイン生合成プラットフォームを組み込んだ。

*R*-レチクリンの生産系の開発については、細かい改良が多くあるので、説明は省略する。

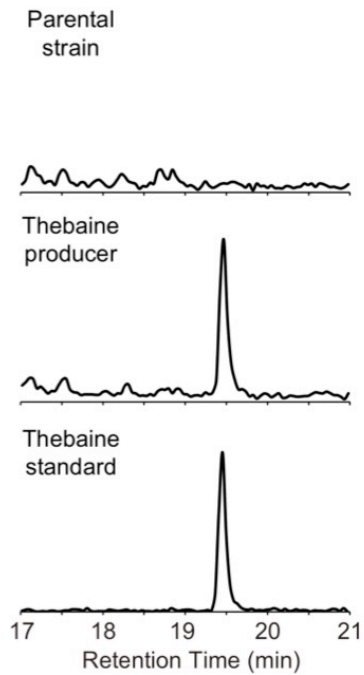


図3 P450 酵素であるサルタリジン合成酵素 (SalS) (SalSNcut +SalR+SalAT) により、*R*-レチクリンからテバインの生産に成功した。図は LC-MS によるテバインの検出を示す。

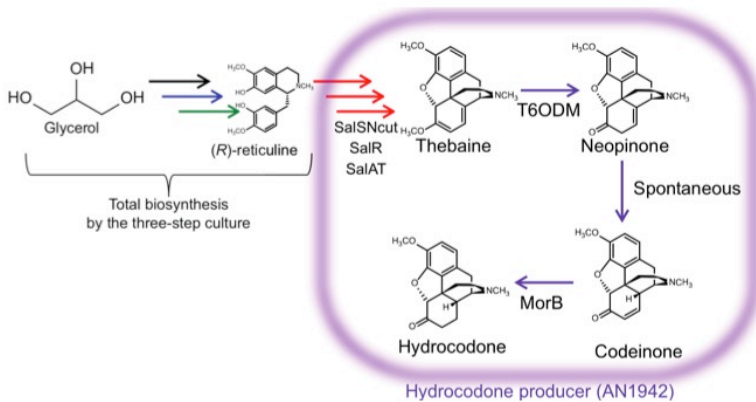


図4 医薬品 hidrocodone の生産の概念図