

植物有用成分の世界初の生産系の開発

～大腸菌とピキア酵母を用いた有用成分の効率的生産～

神戸薬科大学 医薬細胞生物学研究室内の潤井みや博士課程学生2年、池田義人助教、山田泰之助教、土反伸和教授らは、石川県立大学 中川明講師、南博道准教授、京都大学 佐藤文彦名誉教授との共同研究で、**大腸菌とピキア酵母**の共培養による、希少な植物有用成分の生産系の開発に世界で初めて成功しました。本研究成果は将来的に、限りある植物有用成分の安定かつ安価な供給や、絶滅の危惧される薬用植物の保全に役立ち、SDGsの3番目の目標（すべての人に健康と福祉を）やSDGsの15番目の目標（陸の豊かさを守ろう）に貢献すると期待されます。

【本研究のポイント】

- ・ **大腸菌とピキア酵母**の共培養による有用物質生産系の確立に成功
- ・ 植物有用成分の**安価かつ短時間**の生産を可能とし、**安定供給**に繋がる研究
- ・ 限られた**植物資源の保全や保護**への貢献が期待される研究

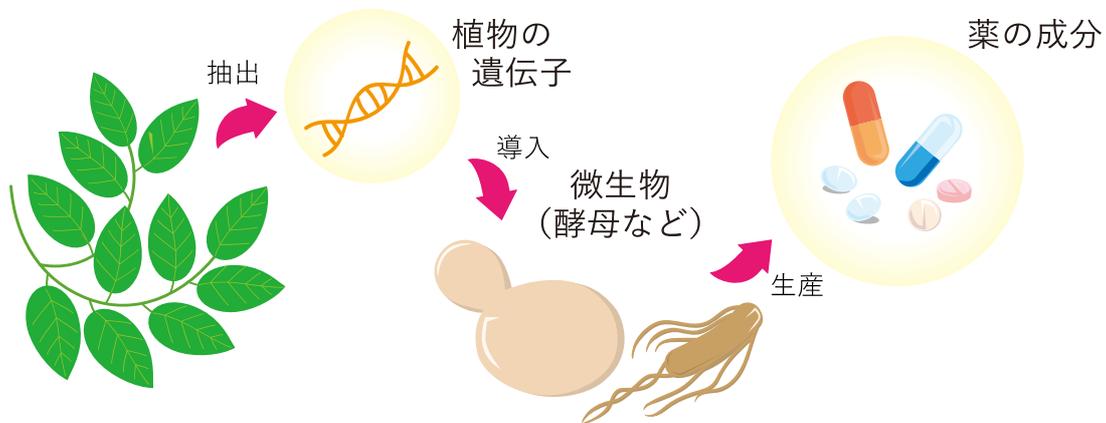


図1 植物有用成分の微生物による生産（合成生物学）

【研究背景】

植物は様々な有用成分を生産しています。その中には、ケシのモルヒネ（鎮痛剤）やニチソウのビンブラスチン（抗がん剤）のように、現在も医薬品などとして用いられるものが数多く存在します。しかし、それらの有用成分は、植物中に含まれる量が少ないことも多く、安定かつ安価に供給することが難しいものもあります。近年では、有用成分を生産する植物の減少が課題となっており、一部の薬用植物では絶滅危惧種に指定されています。さらに日本では、生薬の自給率が低く、その多くを輸入に依存していることもあり、薬用植物由来の有用成分に関する安定供給系の開発は日本における極めて重要な問題となっています。

その解決策として近年、大きな注目を集めているのが、有用成分に関係する植物の酵素遺伝子を大腸菌や酵母などの微生物に導入し、微生物に植物の有用成分を生産させる「合成生物学（生合成工学）」です（図1）。

本技術を用いることで、以下のことが可能となります。

- ・長年かけて生育してきた植物を大量伐採し抽出するよりもはるかに短時間で生産できる。
- ・フラスコなどで培養するだけなので、省スペースかつ安価に生産できる。
- ・植物を伐採せずに供給できるようになるため、限られた植物資源の保全につながる。

これまでに本技術を用いてオピオイド系鎮痛剤の原料となるテバインなどが微生物で生産できるようになりました。しかし、全ての生合成経路を1種類の細胞中に構築するには大変な時間と労力がかかります。また、大腸菌ではうまく機能しない生合成酵素などもあり、1細胞だけを用いて生産することは不可能な有用成分もありました。そこで私たちは、植物の有用成分の多くが、途中までは共通の中間体を経由して生産されることに着目しました。すなわち、共通中間体までの反応を担う微生物と、その後の反応を担う微生物を別々に作出し、それらを共培養することで、より迅速かつ効率的に多様な有用成分を生産できるようになるのではないかと考えました（図2）。さらに、後半の反応には、大腸菌ではうまく機能しない生合成酵素も機能させられることもあるピキア酵母という微生物を用いることで、これまでに1細胞では不可能だった有用成分の微生物生産が可能になるという仮説を立て、研究を進めました。

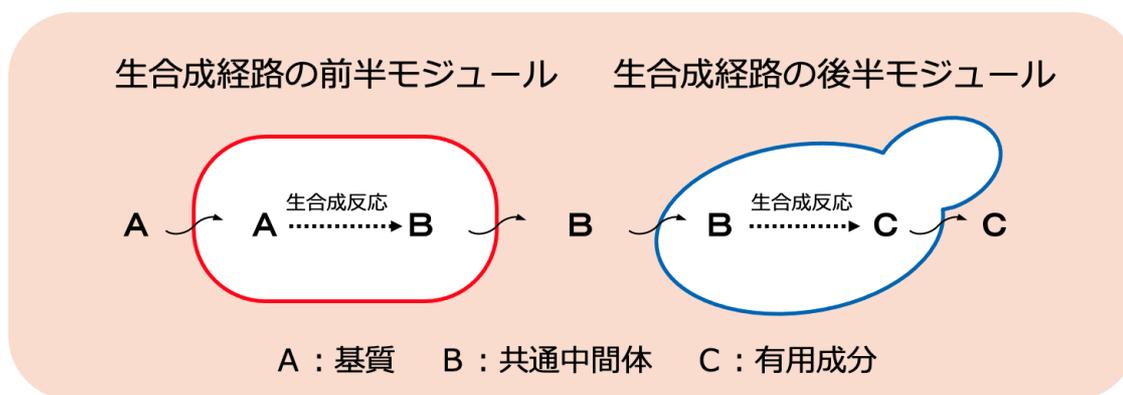


図2 共通中間体を介した微生物共培養による有用成分の生産モデル

【研究成果の概要】

本研究では、グリセロールなどの炭素源からレチクリンという中間体を生産する大腸菌と、レチクリンからスチロピンという抗炎症作用を有する成分を生産するピキア酵母を用い、共培養による生産を試みました（図3）。これまでに、共培養生産としては、大腸菌と大腸菌、大腸菌と出芽酵母の例は世界でも報告されていますが、大腸菌とピキア酵母を共培養して有用成分を生産させる試みは世界的にもありませんでした。そこではじめに、微生物のいくつかの培地を用いて生産性の検討を進めました。その結果、BMMY 培地というピキア酵母の培地が、大腸菌、ピキア酵母それぞれの生育とレチクリンやスチロピンの生産性に適していることがわかりました。そこで、この培地中で大腸菌とピキア酵母を共培養したところ、グリセロールという安価な化合物から、有用化合物であるスチロピンが短時間で生産できていることを確認できました。本結果は、大腸菌とピキア酵母を共培養することで植物有用成分の安価かつ短時間での生産に成功した、世界で初めての例になります。さらに解析を進めることで、ピキア酵母に比べて大腸菌の比率を高めた方がスチロピンの生産性が良いことも明らかとなりました。

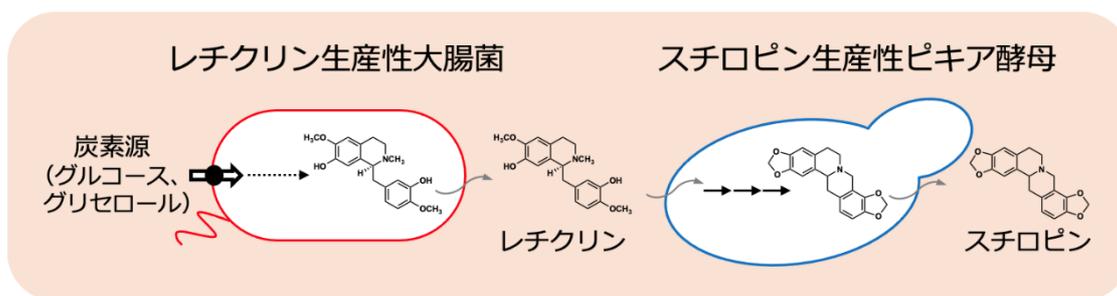


図3 共培養に用いたレチクリン生産性大腸菌とスチロピン生産性ピキア酵母

本研究では、大腸菌とピキア酵母の共培養による有用物質生産系の確立に世界で初めて成功しました。すなわち、実験室内で、グルコースやグリセロールのような安価な化合物を用い、大腸菌とピキア酵母を培養するだけで、短時間に、複雑な化学構造をもつ植物有用成分を生産する技術が確立したことになります。本研究で中間体として用いたレチクリンは、モルヒネなど多様な有用成分の中間体でもあります。そのため、本研究で確立した系を用いることで、これまでに作れなかった植物有用成分の生産も可能になると期待されます。また、本技術を応用し微生物で生産させることで、有用成分の抽出に用いられている植物の伐採も抑えられ、限られた植物資源の保全や保護にも将来的に役立ち、SDGsの3番目の目標（すべての人に健康と福祉を）やSDGsの15番目の目標（陸の豊かさを守ろう）にも貢献していくと期待されます。

本研究成果は、Microbial Cell Factoriesの2021年10月18日号電子版に掲載されました。

【謝辞】

本研究は、文部科学省科学研究費補助金新学術領域研究「生合成リデザイン」の支援を受けて行われました。

【論文情報】

雑誌名：Microbial Cell Factories (2021年10月18日号電子版に掲載)

タイトル：Establishment of a co-culture system using *Escherichia coli* and *Pichia pastoris* (*Komagataella phaffii*) for valuable alkaloid production

DOI：10.1186/s12934-021-01687-z.

【用語説明】(五十音順)

オピオイド系鎮痛剤：中枢神経や末梢神経にある受容体(オピオイド受容体)に作用することで、鎮痛などの作用を示す薬の総称。モルヒネなどが含まれる。

共培養：1つのフラスコの中で、2種類以上の菌を一緒に培養させること。大腸菌と出芽酵母など異なる菌を一緒に培養させるため、培養に適した培地や温度など条件を決めることが重要となる。

スチロピン：抗炎症作用などが期待される植物成分であり、特定の薬用植物に含まれる。

テバイン：植物が生産する成分の1つ。さらに化学的な修飾を受けることで、モルヒネへと変換される。

ピキア酵母：酵母の一種。高いタンパク質発現性などから、有用物質生産のホスト生物として近年に注目を集めている。

レチクリン：植物が生産する成分の1つ。多様な成分の中間体でもあり、さらに化学的な修飾を受けることで、モルヒネやスチロピンなど有用成分へと変換される。