ラン藻の代謝改変によるバイオプラスチック増産 ラン藻代謝工学の新展開

ラン藻は、酸素発生型の光合成を行う細菌である（図1）。淡水、海水、土壌から深海や温泉に至るまで、あらゆる環境に生育していることが知られている。光合成を行うことで、光エネルギーと大気中の二酸化炭素の利用が可能であることから、ラン藻を用いたバイオエネルギー、バイオマテリアルの生産に期待が寄せられている。現在では、スピルリナというラン藻種が、健康食品および色素生産の目的で工業的に培養されているが、プラスチックなどの化学工業原料や燃料物質の生産には至っていない。ラン藻による効率的で多様な物質生産系を確立することで、化石燃料の使用を低減した二酸化炭素の資源化が可能となる。

プラスチックは、現代社会には必要不可欠な物質であるが、石油由来で合成されることから資源枯渇の問題がある。また、プラスチックは使用後にゴミとして蓄積していくなどの問題も抱えている。そこで、従来のプラスチックの代替品として、バイオプラスチックの利用が薦められている。バイオプラスチックとは、生物由来の有機資源から作られたバイオマスプラスチックと、環境中で分解される生分解性プラスチックのどちらかの性質を有するプラスチックである。われわれが目目しているポリヒドロキシアルカン酸（PHA）は、微生物が作り出し、生分解性があることから、両方の性質を有するバイ

オプラスチックである。PHAは、株式会社カネカにより工業的に生産されているプラスチックである（商品名：カネカバイオポリマー アオニレックス）。PHAは、側鎖の構造によってさまざまな性質をもつが、われわれは、ラン藻が生産するPHAの一種であるポリヒドロキシ酪酸（PHB）の増産を目指している。

ラン藻などの微生物は、窒素やリンなどが欠乏すると、休眠状態へと入っていくが、この際に炭素の貯蔵源としてPHAを合成する。ラン藻種の中で最初に全ゲノムが解読され、広く研究されているシネコシスティス（*Synechocystis* sp. PCC 6803）は、PHBを合成することが知られている（図2）。PHBは、糖代謝の下流で合成され、解糖系の最下流でできるアセチルCoAから3段階の反応で合成される。アセチルCoAからのPHB合成には、PhaA, B, C, Eという4つのタンパク質が、酵素として働く。最後の反応は、PHAシンターゼと呼ばれる酵素（シネコシスティスの場合はPhaCとE）であるが、外来のPHAシンターゼをシネコシスティスに導入して酵素活性を増大させても、PHB量が増加しないなど、PHBの増産には合成酵素を増やすだけでは不十分であることが知られている。このため、局所的に酵素活性を増大させるだけではなく、糖代謝全体を活性化させ、特に糖異化（糖の分解反応）を促進し、アセチルCoAなど、PHBの基質の供給量を増やすことが重要であると思われる。

光合成をする細菌、ラン藻(シアノバクテリア)

- ラン藻は、多種多様な種からなる光合成細菌の総称。
- 植物と似た光合成を行い、二酸化炭素を吸収し、酸素を発生する。
- 細菌ではあるが、サーカディアンリズムを持つ。
- 種によっては相同組換えによる遺伝子改変が可能であるため、基礎・応用研究に広く用いられている

図1 ■ ラン藻という生き物

図2 ■ バイオプラスチックポリヒドロキシ酪酸（PHB）

図3 ■ 窒素欠乏時のPHB量比較

これまでの研究により、アセチルCoAの量を増加させる因子としてSigE（シグイー）が知られていた⁽¹⁾。SigEは、RNAポリメラーゼと呼ばれる転写複合体タンパク質に含まれ、DNAとの結合を担うシグマ因子と呼ばれるタンパク質ファミリーに属する。SigEは、グリコーゲンやグルコースの分解といった「糖異化」を担う酵素群の遺伝子の発現を、包括的に活性化する因子であることが知られている⁽¹⁾。PHBの基質であるアセチルCoAは、糖代謝経路の下流に位置し、実際にSigE過剰発現株（SigEタンパク質を増加させたシネコシステス株）では、アセチルCoAの量が約2倍に増加する⁽¹⁾。このことから、SigEを用いることで、代謝全体を改変した上でのPHB生産の可能性が示唆されていた。

SigE過剰発現株を詳細に解析した結果、糖代謝酵素のみならず、PHAシンターゼのタンパク質量が増加していることがわかった⁽²⁾。この結果は、グリコーゲンからPHBまでの代謝経路が、SigEというタンパク質によって包括的に制御されていることを意味する。実際に、窒素欠乏時のPHB量を調べたところ、SigE過剰発現株では、野生株に比べてPHB量が約2.5倍に増加していることがわかった⁽²⁾（図3）。一方で、PHBの分子量分布や化学組成などは、SigE過剰発現によって変化しないこともわかった⁽²⁾。

また、SigE過剰発現株では、糖代謝とPHB生産だけでなく、細胞の直径や光合成活性（酸素発生量）、水素の生産量など、さまざまな変化が起こることがわかっている⁽³⁾。

このようにわれわれは、代謝酵素遺伝子ではなく、シグマ因子という転写に関与するタンパク質の遺伝子を改変することで、ラン藻バイオプラスチックの増産に成功した。また、ラン藻のバイオプラスチックと水素の生産が、同じタンパク質によって制御されているという興味深い事実も明らかになった。本研究では、転写制御因子をたった一つ改変しただけで、代謝や光合成、細胞の形態までも変化させることがわかった。今後はこのように、代謝酵素のみならず、種々の制御因子の改変を行うという新しい形の代謝工学が進んでいくと思われる。

- 1) T. Osanai, A. Oikawa, M. Azuma, K. Tanaka, K. Saito, M. Y. Hirai & M. Ikeuchi: *J. Biol. Chem.*, **286**, 30962 (2011).
- 2) T. Osanai, K. Numata, A. Oikawa, A. Kuwahara, H. Iijima, Y. Doi, K. Tanaka, K. Saito & M. Y. Hirai: *DNA Res.*, **20**, 525 (2013).
- 3) T. Osanai, A. Kuwahara, H. Iijima, K. Toyooka, M. Sato, K. Tanaka, M. Ikeuchi, K. Saito & M. Y. Hirai: *Plant J.*, **76**, 456 (2013).

（小山内 崇，科学技術振興機構さきがけ，理化学研究所環境資源科学研究センター）

プロフィール

小山内 崇 (Takashi OSANAI)

＜略歴＞2002年国際基督教大学教養学部理学科卒業／2007年東京大学大学院農学生命科学研究科博士課程修了，農学博士／同年日本学術振興会特別研究員（PD）（東京大学総合文化研究科）／2010年基礎科学特別研究員（理化学研究所植物科学研究センター）／2011年JSTさきがけ専任研究者（藻類バイオエネルギー領域）および客員研究員（理化学研究所環境資源科学研究センター），現在に至る＜研究テーマと抱負＞ラン藻を用いた代謝工学を進展させ、本当に環境に優しい藻類の物質・エネルギー生産系を構築することが夢＜趣味＞ジョギング