

放線菌におけるタンパク質新規生産系

齋藤 結希 (筑波大学 生物学類) 指導教員: 小林 達彦 (筑波大学 生命環境系)

背景・目的

微生物の一種である放線菌は土壌中に生育し、様々な生理活性物質や2次代謝産物を生産することが知られている。1944年に結核治療薬としてストレプトマイシンが発見されて以来、今日までに放線菌から数多くの抗生物質、生理活性物質や有用な2次代謝産物が見つかっている。放線菌から発見された抗生物質・生理活性物質は医薬品だけでなく、農薬、動物用医薬品、酵素阻害剤など多方面で工業的に広く利用されている。このように放線菌はこれらの生理活性物質生産菌として今日の応用微生物学上最も重要な菌群となっているだけでなく、各種有用物質を大量に生産する能力を有していることから工業的に重要な物質の大量生産に適した宿主としても注目を浴びつつある。

当研究室では、放線菌での有用物質生産の重要性を鑑み、放線菌をさらに高機能化させる微生物育種の観点から、放線菌で利用可能な大量発現系の開発を進めている。先行研究では、ロドコッカス属放線菌由来の遺伝子プロモーターを利用し、放線菌を宿主としてタンパク質の高発現を可能とする発現ベクターが構築されている。本発現ベクターは、放線菌で汎用されるプラスミド複製領域を利用した高コピー型であり、チオストレプトンが選択マーカーとして利用可能である。グラム陽性菌由来の酵素・タンパク質のみならず、グラム陰性菌由来の酵素・タンパク質などの発現に成功している。

本研究では、この発現ベクターにさらなる改良を加えることにより、より効率的な新規タンパク質生産系を確立することを目的とした。

方法・結果

Streptomyces griseus のゲノム DNA を鋳型に用いて、レポータータンパク質をコードする DNA 断片を PCR により増幅した。このレポーター遺伝子を先行研究で構築された発現ベクターに導入し、(レポータータンパク質の活性を示さない) 放線菌を形質転換した。この形質転換体を培養し、酵素反応により基質から生じる産物の発色を吸光度計で測定することで酵素活性測定を行い、レポータータンパク質の発現を確認した。この形質転換体からレポーター遺伝子を導入した発現ベクターを抽出し、本プラスミドに対しいくつかの処理を行い、再度 (レポータータンパク質をもたない) 放線菌を形質転換した。この形質転換体を培養し、酵素活性を測定することで、レポータータンパク質の発現効率を調べた。

今後の予定

レポーター遺伝子の発現効率が上昇したプラスミドを選出することで、どの処理が発現効率上昇に寄与するかを明らかにする予定である。