

多様な天然炭素資源の活用に資する革新的触媒と創出技術
2015年度採択研究代表者

2019年度 実績報告書

阪井 康能

京都大学大学院農学研究科
教授

合成生物学によるメタン酸化触媒の創製

§ 1. 研究成果の概要

シェールガスの台頭により未来型資源としてメタンが注目されているが、メタンを有効利用するための夢の反応、“メタノールへのメタン酸化反応”は既存の触媒では困難である。一方、地球上には、この反応をすでに実現し、年間10億トンのメタン酸化を実現している微生物、“メタン酸化菌”が存在する。本研究では、メタン酸化菌が持つメタン酸化反応の分子機構と原理を解明し、工業生産展開可能な全く新しいメタン酸化触媒を合成生物学により創製、開発することを目的とし、「スーパーメタン酸化生体触媒(superMOB)の創製」、「メタン酸化原理の解明」、「メタンを直接基質とした有用物質生産のための細胞触媒創製」の3項目に関する研究を行っている。各項目の2019年度実施概要は以下の通りである。

1. superMOB の創製

本研究では、メタン酸化反応以外の全てのメタン資化に必要な代謝を備えるメタノール資化性微生物を宿主細胞として用い、高活性(super active)、細胞内で活性型への折りたたみ効率が高く(super folder)、天然型 MOB とは全く異なる一次構造(unique sequence)、を持つ superMOB を創製する。2019年度は、前年度までに開発した superMOB について、部位特異的変異やランダム変異を導入した変異体ライブラリーを作成するとともに、自然界から取得した DNA 断片も利用してメタン酸化生体触媒(MOB)ライブラリーの構築を進めた。

2. メタン酸化原理の解明

メタン酸化菌における MMO 生合成過程における構造形成機序の解析を構造解析とともにを行い、これらの知見をふまえて新規 DNA 断片の再設計、再スクリーニングを行うことで、superMOB を開発する。活性と折りたたみに関する種々のアミノ酸変異体についても活性評価と構造解析を行い、MOB 反応機構の解析とメタン酸化原理の解明を行う。2019年度は、好熱好酸性メタン資化性菌などの pMMO の DNA 断片などを構築し、MOB 活性について、その活性評価と構造解析のための結晶化を行った。一方、酵母細胞内での異種発現に成功した superMOB について、活性中心近傍のアミノ酸残基の部位特異的変異体を作成し、各変異体の活性を評価した。さらに、可溶性タンパク質を融合した pMMO 断片を構築し、その活性評価と構造解析のための結晶化を行った。

3. メタンを直接基質とした有用物質生産のための細胞触媒創製

superMOB を物質生産代謝経路で機能させることで、メタンから有用物質への多段階代謝を効率良く行う“superMOB 細胞触媒”を作製し、それを用いた高生産性バイオリクターを構築する。細胞触媒は、物質生産代謝の設計と構築、転写装置の改変による発現最適化など、合成生物学的アプローチを駆使して開発する。生産する有用物質として低環境負荷型高分子素材であるポリヒドロキシアルカン酸(PHA)共重合体および化成品候補タンパク質を対象とする。2019年度は、前年度に引き続き、タンパク質生産のためのメタノール酵母宿主細胞の整備を行うとともに、メタノール細菌の効率的な物質生産を可能とする転写スイッチの開発を行った。

【代表的な原著論文】

1. Hiroyuki Iguchi, Ryohei Umeda, Hiroki Taga, Tokitaka Oyama, Hiroya Yurimoto, and Yasuyoshi Sakai. Community composition and methane oxidation activity of methanotrophs associated with duckweeds in a fresh water lake. *J. Biosci. Bioeng.*, 128: 450–455, 2019

§ 2. 研究実施体制

(1) 阪井グループ

- ① 研究代表者: 阪井 康能 (京都大学大学院農学研究科、教授)
- ② 研究項目
 - ・合成生物学による superMOB の創製
 - ・メタン酸化原理の解明
 - ・メタノール酵母細胞触媒の創製とメタンからの有用物質生産

(2) 嶋グループ

- ① 主たる共同研究者: 嶋 盛吾 (北海道大学低温科学研究所、客員教授)
- ② 研究項目
 - ・メタン酸化系酵素の構造生化学

(3) 福居グループ

- ① 主たる共同研究者: 福居 俊昭 (東京工業大学生命理工学院、教授)
- ② 研究項目
 - ・合成生物学による superMOB の創製
 - ・メタンを原料とした有用物質生産が可能な細胞触媒の創製