

グルコースをシロ-イノシトールへ 変換する枯草菌細胞工場

神戸大学 大学院 科学技術イノベーション研究科
教授 吉田 健一

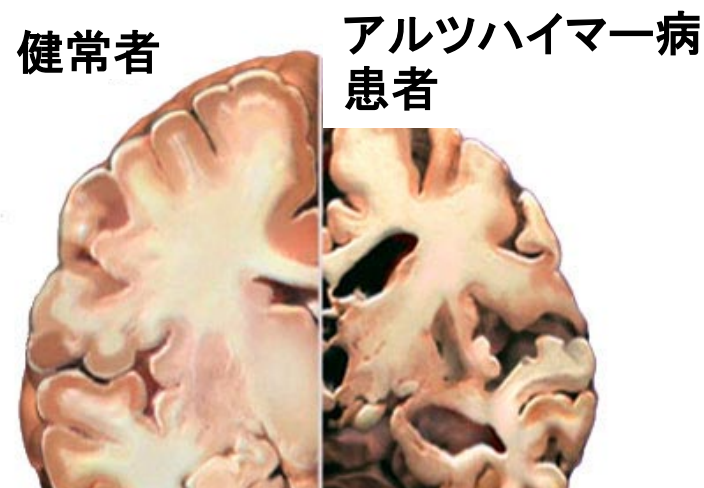
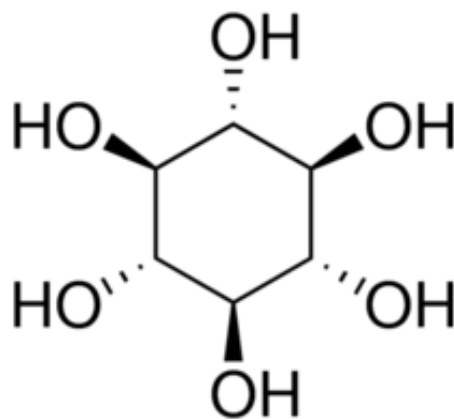
令和2年10月15日

新技術の概要

- アルツハイマー病の予防・治療への適応が検討されている希少イノシトールであるシロ-イノシトールを安価に生産する方法を開発した。
- グルコース含有培地にてシロ-イノシトールを生産する形質転換枯草菌を育種し、枯草菌細胞工場とした。
- 枯草菌細胞工場によりグルコースからシロ-イノシトールを効率よく生産できた。



シロ-イノシトールとは？



- シロ-イノシトールは、アルツハイマー病の特徴であるβ-アミロイドの蓄積を抑制する。
- シロ-イノシトールを投与したアルツハイマー病モデルマウスは、認知能力を向上させ、通常の寿命を全うできるようになった。(McLaurin *et al.*, 2006. *Nature Medicine* 12, 801-808.)
- 臨床試験により、シロ-イノシトールのアルツハイマー病への適応検証が進行中である。

従来技術とその問題点

実用化されているシロ-イノシトールの生産技術には「酵素変換法」、「酵素・化学変換併用法」、「微生物変換法」等があるが...

- 何れもミオ-イノシトールを原料とする(原料コスト)
- 特に前者2法は補酵素の添加が必要(添加物コスト)

等の問題があり、安価な生産が困難である。

シロ-イノシトールの参考価格: ¥14,000 /g (東京化成工業)

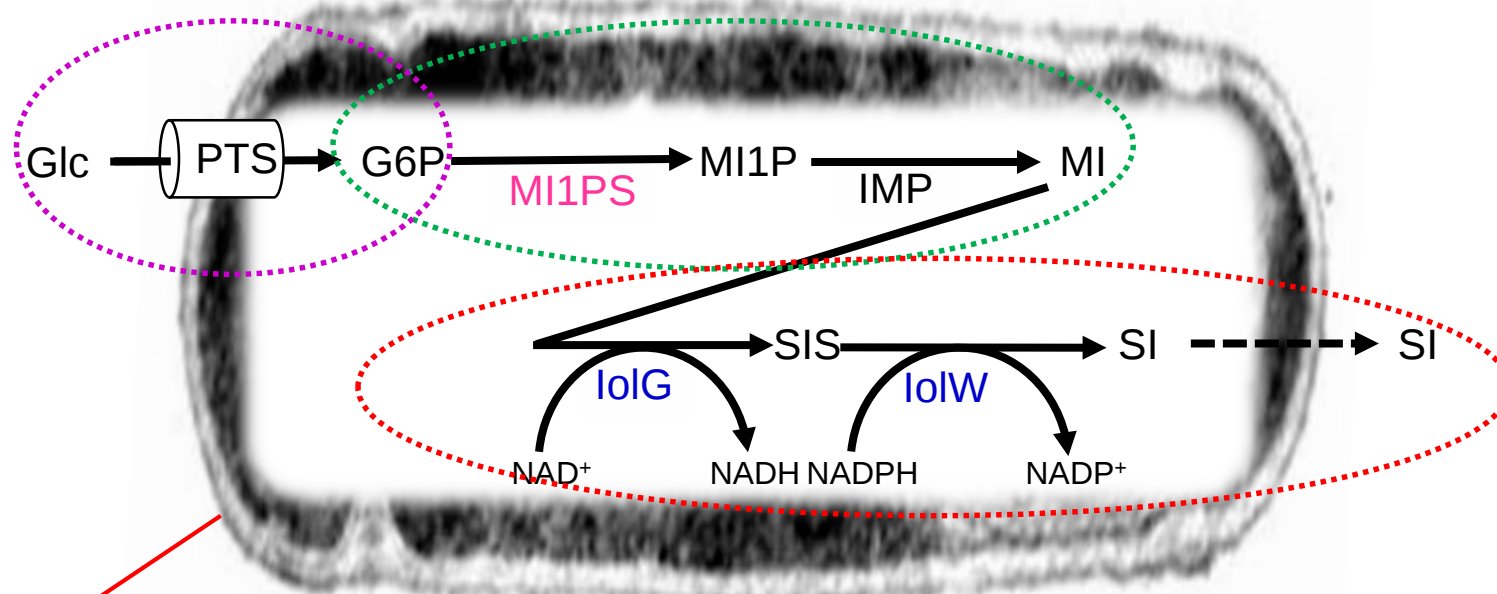
グルコースからシロ-イノシトールを生産する枯草菌細胞工場の概要

3

グルコース取り込み

1

ミオ-イノシトールの生産

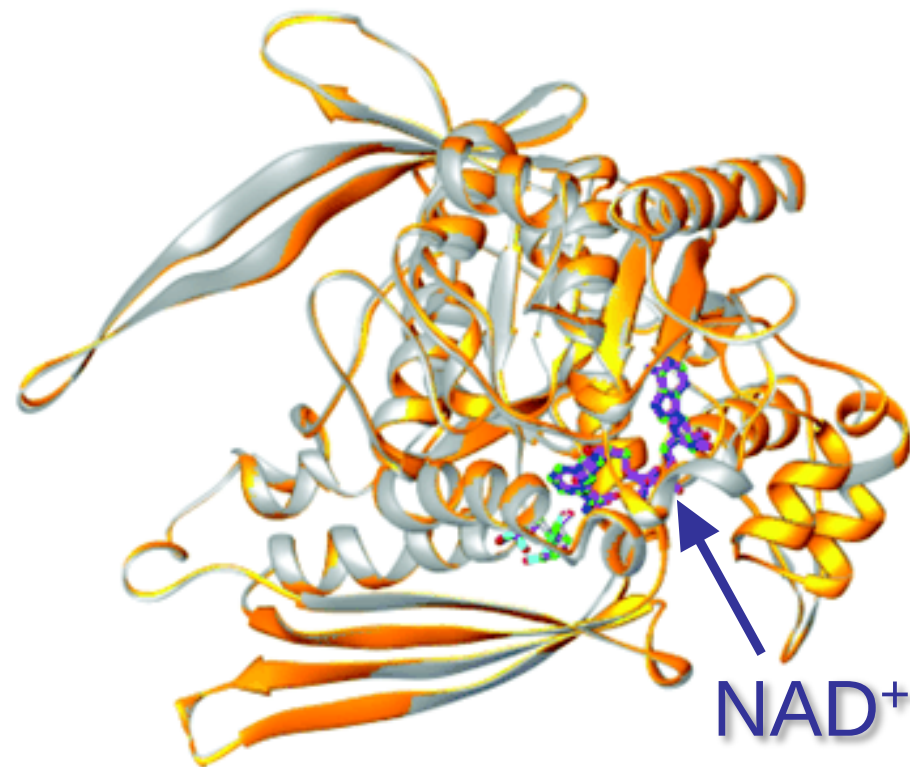
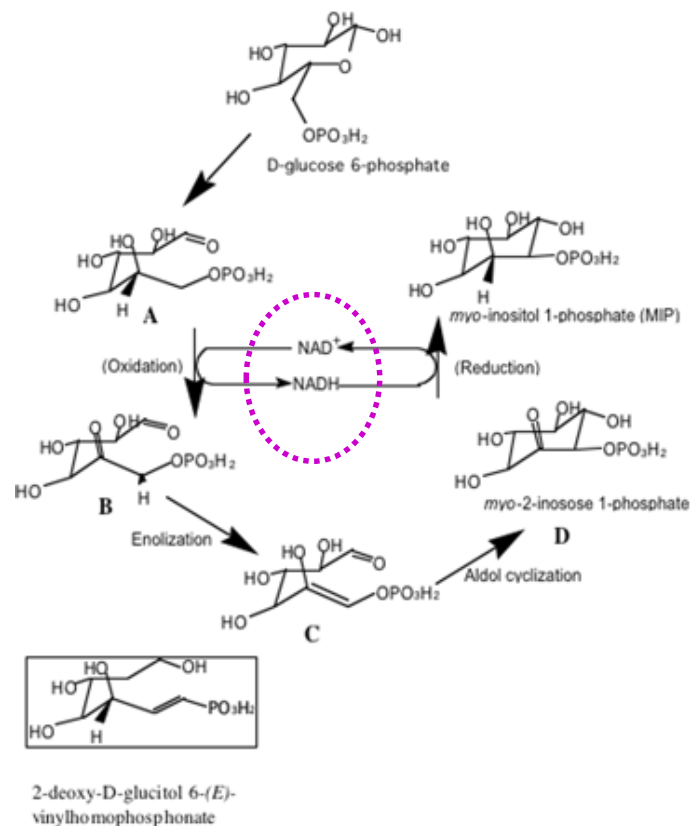


シロ-イノシトールを生産する枯草菌細胞工場

2

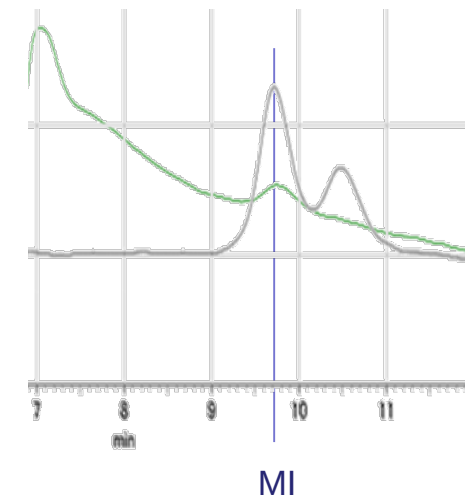
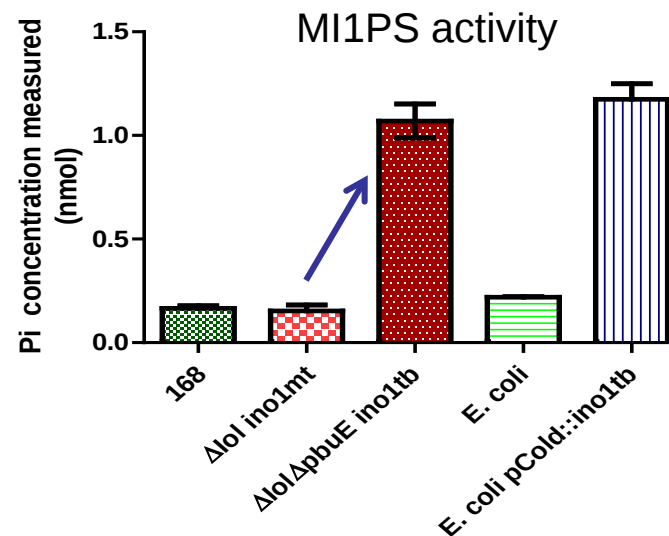
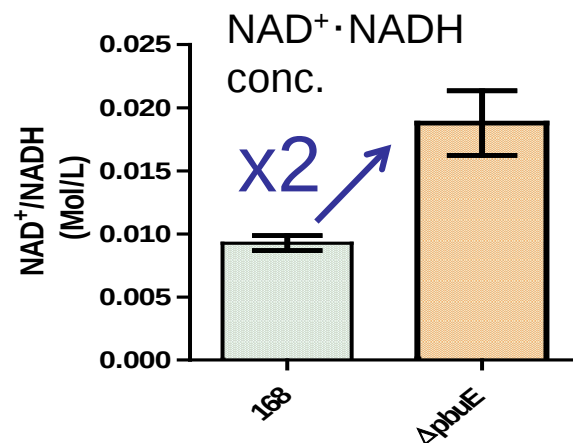
シロ-イノシトールの生産

ミオ-イノシトール-1-リン酸合成酵素(MI1PS)をコードする結核菌*ino1tb*遺伝子を枯草菌へ導入



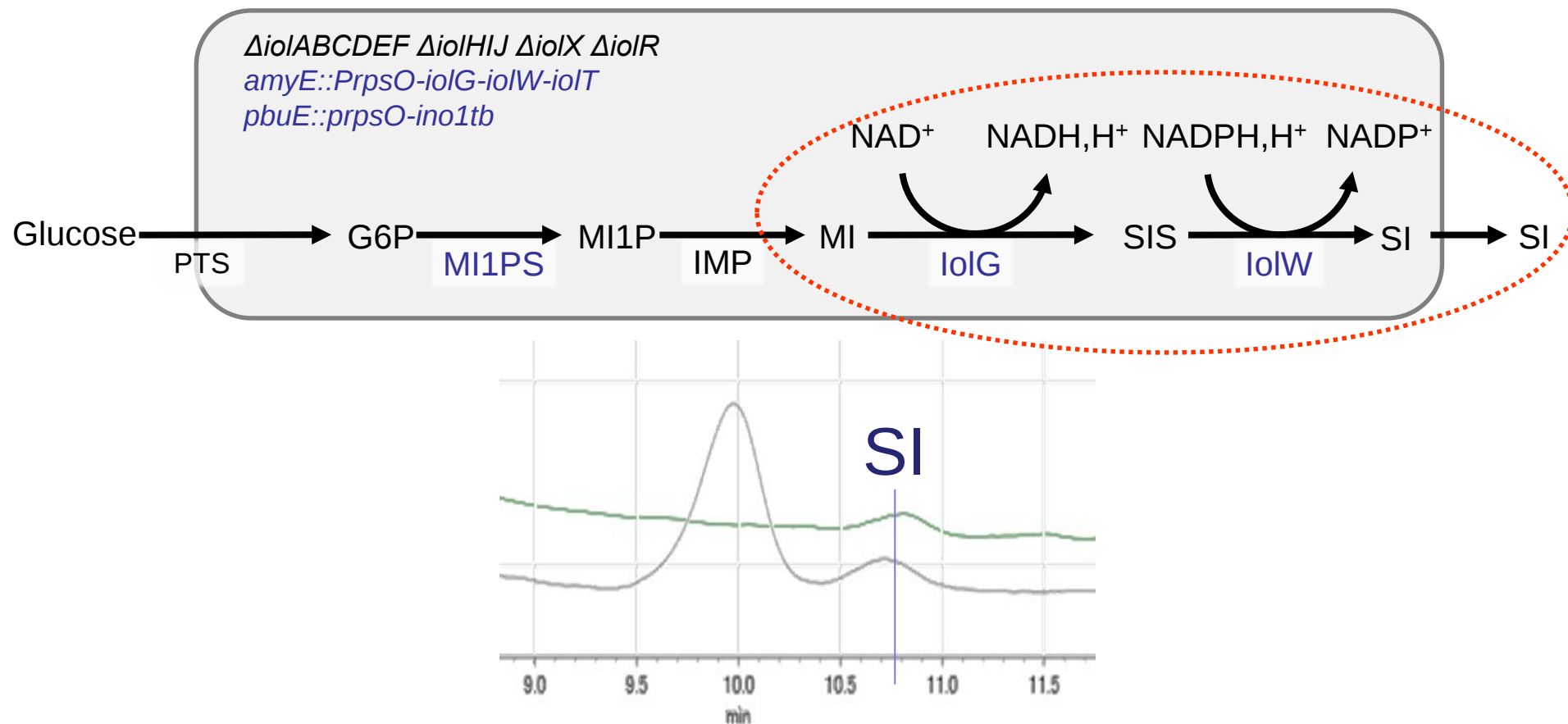
- MI1PS (Ino1tb) には高濃度の補酵素NAD⁺が必要: NAD⁺に対する K_D 値が他生物の同酵素より大きい (36 ± 4 mM)。
(例) アーキア *Archaeoglobus fulgidus* (K_D 1 mM)
植物 *Arabidopsis thaliana* (K_D 0.2 mM)

枯草菌の細胞内補酵素濃度を高めて MI1PS活性を付与した。



- *pbuE*遺伝子の欠損により細胞内のNAD⁺・NADHレベルが2倍に上昇することを発見した。
- MI1PSをコードする遺伝子を保有し、かつ*pbuE*遺伝子を欠損する形質転換枯草菌によりミオ-イノシトールの生産が可能になった。
- 特許出願済(特開2019-33734)

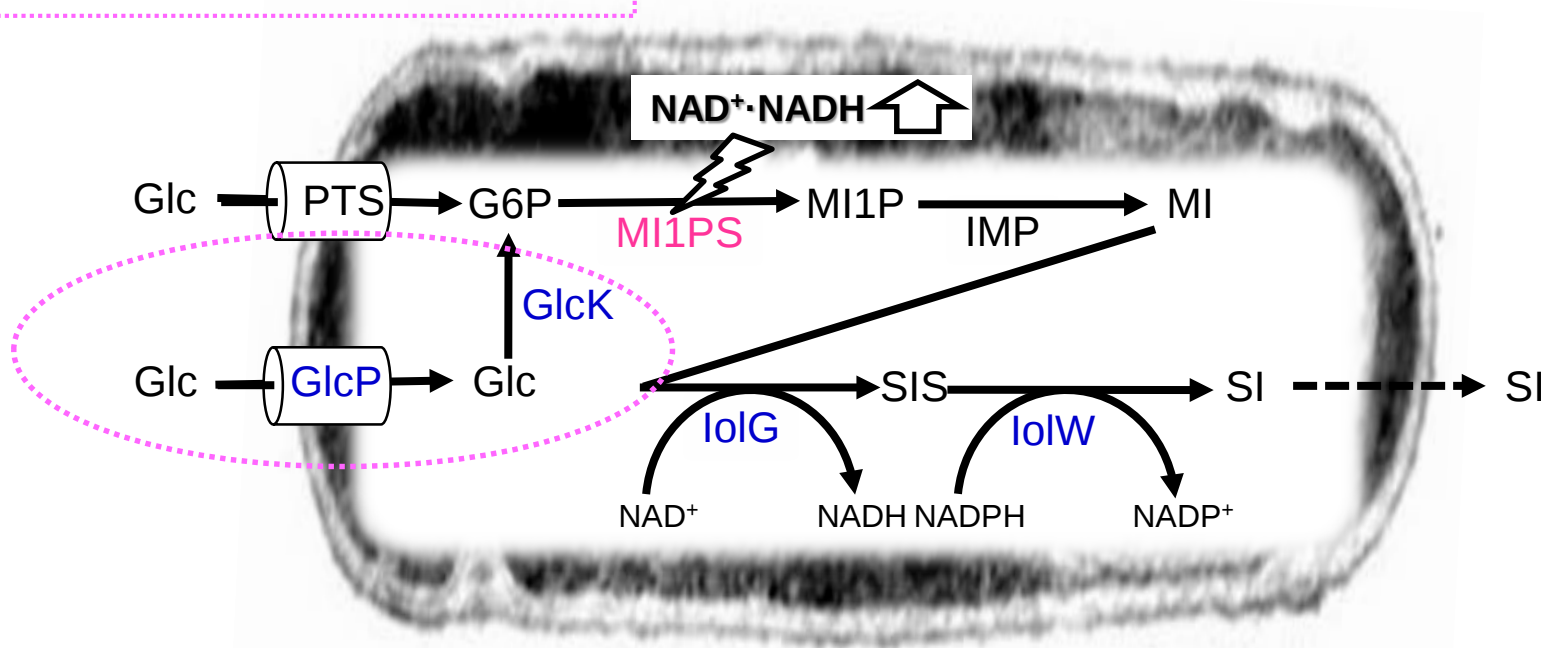
シロ-イノシトールの生産



- 培養24時間後にシロ-イノシトールの生産が確認された。

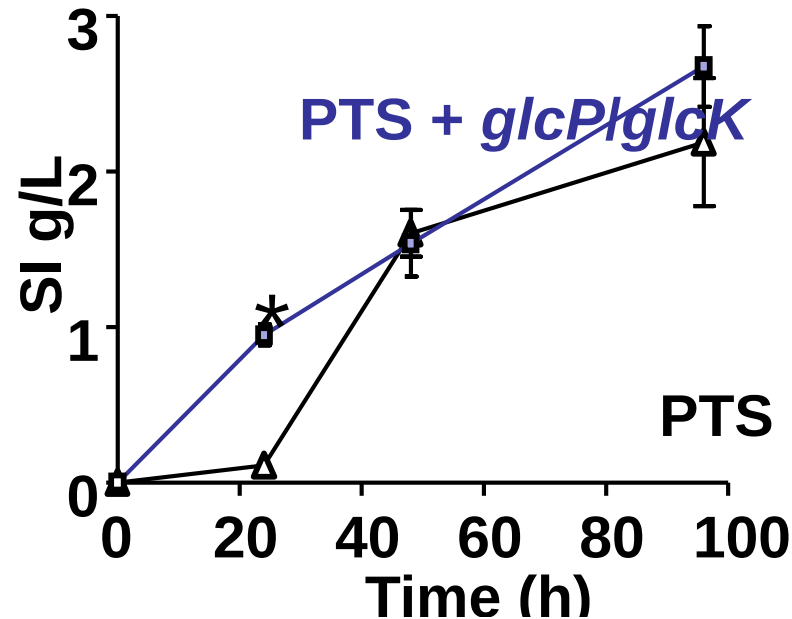
シロ-イノシトールの生産効率向上

グルコース輸送担体と
リン酸化酵素の増強



グルコース取り込みを増強

現時点の生産効率



- 20 g/Lのグルコースから2～3 g/L相当のシロ-イノシトールが96時間の単回培養で得られた。



従来の微生物変換法の1/3以下のコストで生産が可能。



ARTICLE

<https://doi.org/10.1038/s42003-020-0814-7>

OPEN



A bacterial cell factory converting glucose into scyllo-inositol, a therapeutic agent for Alzheimer's disease

Christophe Michon^{1,3}, Choong-Min Kang², Sophia Karpenko^{1,4,5,6}, Kosei Tanaka¹, Shu Ishikawa¹ & Ken-ichi Yoshida¹✉

Communications Biology 3:93 (2020)

共同研究者



Christophe Michon



Choong-Min Kang



Sophia Karpenko



田中 耕生



石川 周

新技術の特徴・従来技術との比較

- 補酵素添加を必要としない微生物変換法を改良した形質転換枯草菌を細胞工場とすることで安価にシロイノシトールが生産できる。
- 本技術の適用により、生産コストは現状の見積りで従来の微生物変換法の少なくとも1/3以下となる。
- 新たな遺伝子導入等により、さらなる技術向上が見込まれる。

想定される用途

- アルツハイマー病の治療・予防薬
- 家畜のタンパク質凝集性疾患（例えばプリオン病）
予防のための飼料添加物
- 酵素やタンパク質の大量生産の際の重合阻害剤
- 生理活性物質や新規ポリマー等の合成原料

実用化に向けた課題

- さらなる増産・効率化を目指した遺伝子変異や遺伝子導入の検討および生産効率の最適化条件の設定
- 生産規模をスケールアップできる技術の確立

企業への期待

- 本手法によるさらなる増産・効率化が可能となる技術開発
- 微生物の好気培養による物質生産についてのスケールアップ技術開発
- 酵素やタンパク質の生産分野、特に細胞内封入体形成や高濃度化に伴う重合沈殿・不活性化の問題解決策としてのシロリーイノシトールの活用

本技術に関する知的財産権

- 発明の名称 : ミオーイノシトールの製造方法
- 出願番号 : 特願2017-158927
- 公開番号 : 特開2019-33734
- 出願人 : 国立大学法人神戸大学
- 発明者 : 吉田 健一

お問い合わせ先

神戸大学

産官学連携本部 産学連携・知財部門

TEL 078 - 803 - 5945

FAX 078 - 803 - 5389

e-mail : oacis-sodan@office.kobe-u.ac.jp