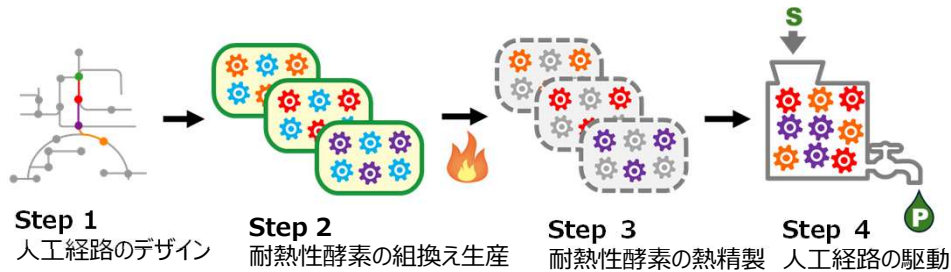


細胞外人工代謝経路によるオンデマンドなバイオものづくり (2025年10月16日作成)

大阪大学生物工学国際交流センター・教授 本田孝祐 honda.kohsuke.icb@osaka-u.ac.jp

1. 研究の概要

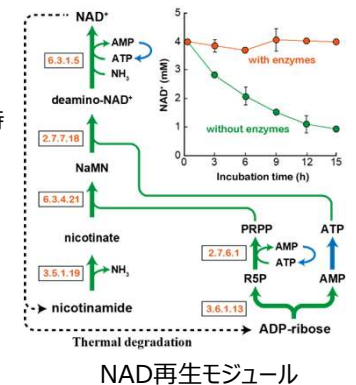
熱精製した組換え耐熱性酵素を組み合わせ、有用物質生産に特化した酵素カスケード（細胞外人工代謝経路）をオンデマンドに構築する



2. 成果の特徴・知財

様々な人工経路のデザイン・構築のほか、本技術の利用可能性を高めるための要素技術開発にも取り組んでいる

- 補酵素 (ATP、NAD) 再生モジュールの構築
Suryatin Alim G et al (2022) ChemBioChem, **23**, e202200210; Honda et al (2016) Metab Eng, **5**, 114; 特許6439220
- 耐熱性酵素の固定化
Ninh PH et al (2013) Appl Environ Microbiol, **79**, 1996
- 耐熱性酵素遺伝子の人工オペロン化
Ninh PH et al (2015) Biotechnol Bioeng, **112**, 189
- 親油性細菌を用いた有機溶媒中での酵素変換
Tsuiji N et al (2014) Appl Microbiol Biotechnol, **98**, 5925



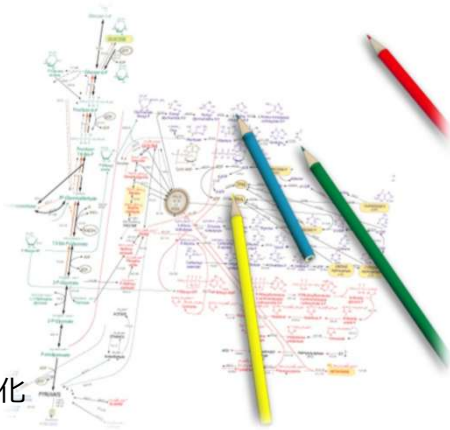
3. 既存技術との比較・アピールポイント

✓ 発酵生産との比較

- 必要十分数の酵素のみからなる反応
→ 高い対基質収率
→ 分離・精製の簡略化
- 宿主細胞の増殖・生存と独立した反応
→ 代謝経路のオンデマンドデザイン
→ 細胞毒性の高い物質の生産
→ スケールアップ問題の低減

✓ 他の酵素カスケード技術との比較

- 酵素の高安定性と精製ステップの簡略化
- 要素技術の充実



4. バイオものづくりへの展開例と課題

✓ 展開例（海外での先行事例）

- 4種類の耐熱性酵素を用いたデンプンからのイノシトール生産で20,000 Lスケールでの生産を実証 (You C et al (2017) Biotechnol Bioeng, **114**, 1855)
- 細胞内代謝経路の作り込みに先立つ、in vitroでの機能検証（代謝プロトタイピング）に利用 (米・M. Jewett、独・T. Erbなど)

⚠ 技術的課題とソリューション

- 酵素の安定性：細胞外反応のため失活した酵素（タンパク質）の再合成能力は有さない
 - 補酵素の使用：補酵素再生モジュールを用いても、少量の補酵素の初期添加は必要。コスト高の主な因となる
- 究極的には、タンパク質合成や補酵素のde novo合成機能も備えた大規模な経路の構築が理想。人工細胞研究との連携をはかる
- 二次代謝物などの高付加価値品であれば、早期の社会実装も見込まれる。好熱菌由来二次代謝物とその生合成酵素の探索研究も展開中 (Izumi M et al (2025) ChemBioChem, e202400836; Yano A et al (2025) ACS Chem Bio, **20**, 815ほか)