

「遺伝子工学」練習問題解答 13 章

- 1 L-アミノ酸は、グリシン以外はその構造内に不斉炭素をもつため、光学異性体が存在する。有機合成法では光学異性体のつくり分けが一般には困難である。天然物からの抽出法もあるが、微生物の代謝系を利用する発酵法が最も効率的で安価である。
- 2 酵素の調節因子である化合物の構造類似体であるアナログの耐性変異を付与することで、阻害や抑制の解除された変異型酵素を取得することができる。また、調節因子の反応系内の濃度を低減させることも有効であり、たとえば、調節因子の合成能欠損変異の導入や調節因子の系外への排出などによって、見かけ上制御を解除することができる。
- 3 たとえば、L-リシン生合成における鍵酵素のアスパルトキナーゼ(AK)はリシンによるフィードバック阻害を受ける。L-リシンのアナログ（構造類似化合物）である S-(2-アミノエチル)-L-システイン (= AEC) はリシンと同様に AK に対してフィードバック阻害を起こすため、微量の AEC 存在下でも L-リシン供給が律速となり菌株は生育しない。この状況においても生育可能な変異株を取得すると、そのなかには L-リシン供給が可能になった、すなわち、もはやリシンによるフィードバック阻害がかからなくなった AK をもつ変異株が存在することになる。
- 4 アミノ酸生産菌では、目的生産物であるアミノ酸によって生合成経路上の鍵酵素がフィードバック阻害されていることが多い。通常、鍵酵素など生合成にかかわる酵素への阻害がある程度解除されて、目的のアミノ酸が過剰生産されている。生合成酵素の反応雰囲気において目的アミノ酸の濃度が低く維持される場合は、フィードバック阻害が解除されていなくても酵素は活性をもつ。たとえば、発酵液内で目的のアミノ酸が析出すれば菌体内の当該アミノ酸濃度は低くなり、また、生産菌における目的アミノ酸の排出活性が高まった、あるいは菌体内への再取り込み活性の低下した膜輸送変異株であれば、生産菌の菌体内のアミノ酸濃度は低く、見かけ上フィードバック阻害は解除されることになる。
- 5 酵素法は、比較的単純な条件下で目的物質への変換を行うため、反応を管理しやすい。また、目的の変換活性をもつ酵素があれば、高密度調製も可能であるため、短時間での目的物質の高濃度生産が期待でき、酵素の固定化による安定性向上も可能である。反応液も単純なので、目的物質の単離・精製も容易である。一方、反応基質の安価な供給が課題であり、補因子が必要な反応である場合、それらの添加が必要となる。
発酵法は、生産菌が培養可能な単純な原料だけでよく、生産菌の利用できる糖質から、反応に必要な原料を生産菌だけで調製可能である。ATP やビタミンなどの補因子のほか、酸化還元反応を司る NADH や

解答 13 章

NAD^+ なども生産菌の代謝によってまかなわれる。また、生物の生合成系を利用するため、酵素法では困難な多段階反応を必要とする化合物生産も可能である。さらに細胞に包括されているため、酵素の安定化や反応条件の維持も容易である。一方で、生合成経路から理論的な合成収率の上限が存在し、糖質など原料の取り込みや生産物の排出などにエネルギーを要する。また、夾雑する代謝系によって生産物の分解や関連基質の分解なども起こるため、それら副反応による収率の低下が課題である。

[6] エンドトキシンを除去する必要がある。エンドトキシンは内毒素とも呼ばれ、グラム陰性細菌の細胞壁成分であり、発熱や敗血症を引き起こす。医薬品として組換え細菌からタンパク質を調製する場合は、完全に除去しなければならない。

[7] 高コレステロール血症治療薬：ロバスタチン (*Aspergillus terreus*)、プラバスタチン (*Microtetraspora recticatena*)。

抗生物質：ストレプトマイシン (*Streptomyces griseus*) など。