

合成プロモーター開発

高橋俊二

放線菌は、二次代謝産物の宝庫である。放線菌ゲノム解析の結果、多くの機能未知の生合成遺伝子クラスターが存在することが判明している。これらの遺伝子クラスターを活用して、医薬、農薬、動物薬のシード化合物を創出することがポストゲノム時代の重要課題と言える。未知遺伝子の発現には、最適なプロモーターを活用することが重要である。今回、放線菌で広く利用が可能な合成プロモーターを迅速に精度よく評価するシステムを構築し、二次代謝産物の生産に成功した論文を紹介する。

紹介論文

Exploiting a precise design of universal synthetic modular regulatory elements to unlock the microbial natural products in *Streptomyces*

Proc Natl Acad Sci U S A. 112, 12181-12186 (2015)

要旨

合成生物学において遺伝子発現を正確に定量することは非常に重要であり、放線菌の遺伝学にも応用されている。著者らは、放線菌のシングルセル解析において、フローサイトメトリーと sfGFP を用いた定量手法を初めて開発した。菌糸体からプロトプラスト化することによって糸状のバクテリアのシングルセルを得ることが可能であり、propidium iodide 染色により死菌は生菌と区別できる。この手法を用いて、約 200 の内生及び合成プロモーター、200 の RBS をハイスルットフォーマットで解析した。さらに、プロモーターと RBS 間の干渉を除き、制御エレメントのモジュール性を改善するために絶縁要素 (RiboJ) を連結した。段階的に発現の強さが異なる 7 つの合成プロモーターを用いて *Streptomyces avermitilis* の休眠 lycopene 遺伝子の活性化と生産を評価することによって、コンセプトを証明した。本論文では、定量的解析手法と普遍的な合成モジュール制御エレメントを提示しており、放線菌における遺伝子クラスターの機能最適化と薬剤開発プロセスを加速するだろう。

参考論文

Lou C, Stanton B, Chen Y-J, Munsky B, and Voigt CA, Ribozyme-based insulator parts buffer synthetic circuits from genetic context. *Nat Biotechnol* 30, 1137-1142 (2012)

Hsu LM, Promoter clearance and escape in prokaryotes. *Biochim Biophys Acta.* 1577, 191-207 (2002).