

## 電子伝達鎖のスイッチングによる酸化酵素活性の外的制御

(早稲田大学<sup>1</sup>) ○長谷川 悟史<sup>1</sup>・加藤涼大<sup>1</sup>・梅野 太輔<sup>1</sup>

Functional Regulation of Oxidative Enzymes Through On/Off Switching of Electron Transfer Chain (<sup>1</sup>Waseda University) ○Satoshi Hasegawa,<sup>1</sup> Ryota Kato,<sup>1</sup>Daisuke Umeno<sup>1</sup>

Dynamic control of engineered metabolic pathways is often achieved by turning on and off the expression of biosynthetic genes. Here, we sought to implement the regulator domain directly to the key biosynthetic genes, specifically by controlling the electron transfer chain required for the catalytic turnover of oxidation enzymes. Electron transfer flavoprotein (ETF) is a protein that regenerates FAD necessary for oxidative reactions by discarding electrons drawn from the cofactor FADH<sub>2</sub> into quinone sink through a chain of electron transfers. In this study, we attempted to develop an on/off control system for the synthesis of fatty acids and organic acids by externally controlling the electron-transfer function of the ETF protein. We searched for peptide tag insertion sites in ETF<sub>α</sub>, ETF<sub>β</sub>, and ETF<sub>QO</sub>, which are responsible for electron transfer, without impairing their functions. We found 2, 1, and 3 insertion sites for ETF<sub>α</sub>, ETF<sub>β</sub>, and ETF<sub>QO</sub>, respectively. *E. coli* strain expressing the tag-inserted ETF<sub>α</sub> exhibited conditional induction of oxidative process by the addition of targeted molecules.

**Keywords:** Synthetic Biology, Biosensor, Metabolic Engineering, Intracellular Electron Transfer

人工的な代謝経路のダイナミック制御は、おもに生合成遺伝子発現誘導の ON/Off によって実現することが多い。我々は、生体内の酸化反応で消費される補因子の再生サイクルに着目した。電子伝達フラボタンパク質 (ETF) は、補因子 FADH<sub>2</sub> から引き抜かれた電子を電子伝達の連鎖によってキノンに捨て、酸化反応に必要な FAD を再生させるタンパク質である。本研究では、ETF タンパク質の電子伝達機能を ON/Off することによって、脂肪酸・有機酸の合成を ON/Off 制御する系の開発を試みた。

電子伝達を担う ETF<sub>α</sub>, ETF<sub>β</sub>, ETF-QO に対し、機能を損なわずペプチドタグを挿入できる部位を探索した。それぞれ、2, 1, 3 箇所の挿入可能部位を見出すことができた。なかでも ETF<sub>α</sub> にペプチドタグを挿入して作出した融合タンパク質を発現した大腸菌株は、ペプチドと相互作用する分子の培地添加によって有意にその生産が増加することを見出した。

