

Corynebacterium glutamicum のH⁺-ATPase活性低下が 呼吸関連酵素活性に与える影響

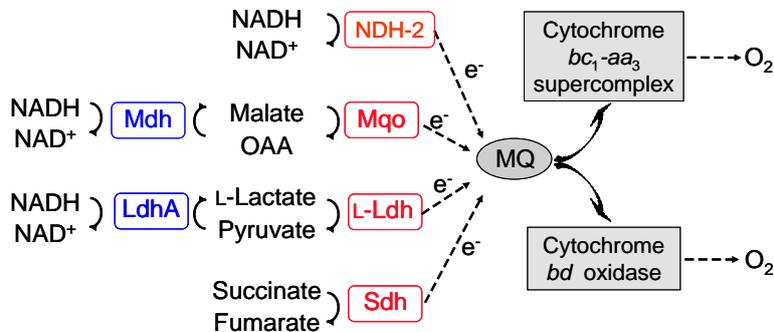
生命分子化学講座 微生物生理学分野
嘉藤 由衣

(背景と目的) 我々は、*C. glutamicum*のH⁺-ATPase活性低下変異株F172-8 株について研究してきた。これまでの研究で、F172-8 株ではTCA回路に存在する呼吸関連酵素malate:quinone oxidoreductase (Mqo)とNADHの再酸化を行うNAD⁺-dependent malate dehydrogenase (Mdh)の発現上昇が検出され、呼吸の活性化が細胞内エネルギーレベルの低下に起因する中枢代謝の増強に関与すると予想された。中枢代謝の増強と呼吸活性の上昇の関わりをより詳細に調べるため、*C. glutamicum* ATCC13032 株を親株として遺伝子工学的的手法により構築されたH⁺-ATPase活性低下変異株A1 株を用いて、H⁺-ATPase活性の低下が糖代謝活性および呼吸関連酵素活性におよぼす影響を検討した。

(方法) 親株と A1 株を半合成培地を用いて、酸素充足条件でのジャーファーメンター培養し、発酵特性、呼吸活性、ならびに関連諸酵素活性測定を行った。

(結果) A1 株では親株と比較して、最大生育量は低下した。一方で、対数増殖期における菌体あたりの糖消費速度および酸素消費速度は上昇した。図に示す呼吸関連酵素およびNADH酸化酵素の活性測定を行った。呼吸鎖の初発反応を担う呼吸関連酵素Mqo, L-Lactate oxidoreductase (L-Ldh), Succinate dehydrogenase (Sdh), およびNADH酸化酵素Mdh, NAD⁺-dependent Lactate dehydrogenase (LdhA)の活性上昇が見られた。一方で、NADH dehydrogenase (NDH-2)の活性は、親株とA1 株とで差がなかった。

(考察及び結論) 糖代謝が増強されたH⁺-ATPase活性低下変異株では、解糖系やTCAサイクルの増強により、細胞内で多量のNADHが産生されると予想される。NAD⁺/NADH比の攪乱は代謝の維持に悪影響を及ぼす。MdhとLdhAは呼吸の初発反応を担うMqo, L-Ldhと基質を介した逆反応を行い、NADHを再酸化する。これらのことから、A1 株に見られた酸素消費速度の上昇は、過剰に蓄積したNADHの再酸化のため、共役する呼吸関連酵素活性が増大した結果と考えられた。また、このような代謝変化は、主にNDH-2 活性が増大する大腸菌のH⁺-ATPase活性低下変異株においては見られない応答であり、*C. glutamicum*におけるユニークな代謝変化と考えられる。



(図) *C. glutamicum* の呼吸鎖概略図