

Corynebacterium glutamicum の H⁺-ATPase 欠損変異株における 呼吸活性増大機構の解析

生命分子化学講座 微生物生理学分野
今井 恵太

【背景と目的】我々は *C. glutamicum* ATCC14067 と、この株より得た H⁺-ATPase 欠損株, F172-8 について解析を行い、欠損株での糖代謝と呼吸活性の上昇を明らかにした。また、TCA サイクル酵素である, Malate:quinone oxidoreductase (Mqo), および NAD⁺- dependent Malate dehydrogenase (Mdh) の発現上昇を検出し、これら呼吸関連酵素による NADH 再酸化の上昇が、糖代謝と呼吸活性上昇の一因であることが示唆された。本研究ではこの変化のさらなる解明を目的として、基準株 ATCC13032 に F172-8 と同一の変異を遺伝子工学的に導入して得た変異株 A1 を用いて、呼吸活性増大機構をより詳細に解析した。

【方法】13032 と A1 を半合成培地を用いて、酸素充足条件でジャーファーメンター培養し、発酵特性、呼吸活性、関連諸酵素の活性測定および転写量解析を行った。また、菌体内 NAD⁺/NADH 比について測定した。

【結果】A1 株で生育速度および最大生育量が低下した。一方で、対数増殖期における糖消費速度、および酸素消費速度は上昇した。図 1 に示す各酵素の活性測定では、呼吸鎖の初発反応を担う呼吸関連酵素 Mqo, L-Lactate:quinone 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 (図 1)。一方で、NADH dehydrogenase (NDH-2)の活性は、親株と A1 株で差がなかった (図 1)。これら変化は転写量解析でも同様な傾向が得られた。末端オキシダーゼではプロトン排出能が低い cytochrome *bc₁-aa₃* supercomplex が A1 株で特異的に上昇していた (図 1)。菌体内 NAD⁺/NADH 比の測定では、A1 株で NADH の蓄積が見られた。

【考察及び結論】H⁺-ATPase 欠損株では、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。この NADH の蓄積に対して、欠損株は Mdh/Mqo, LdhA/L-LdhA カップリング反応を活性化させることで対処し、結果として呼吸活性が上昇したと考えられた。また、末端オキシダーゼや Sdh の変化は H⁺-ATPase 欠損による過剰な膜外 H⁺の蓄積を防ぐ変化と考えられる。今回明らかにした *C. glutamicum* における NADH の蓄積に対する変化は、NDH-2 活性が増大する大腸菌の H⁺-ATPase 活性低下変異株には見られない応答であり、*C. glutamicum* における中枢代謝の頑強性を示すものであった。

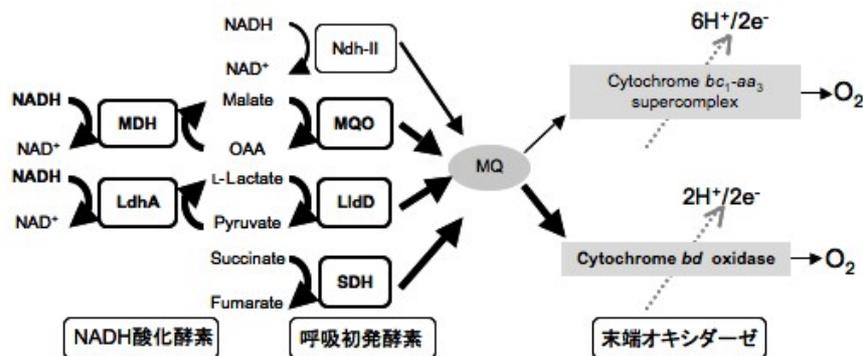


図 1 *C. glutamicum* の H⁺-ATPase 変異株における呼吸関連酵素の変化
太矢印: 活性上昇, 細矢印: 変化なし