

大腸菌の呼吸鎖改変による糖代謝変化に関する研究

生命分子化学講座 微生物生理学分野

荒井博紀

【背景と目的】

大腸菌は有用物質生産に広く用いられている。そのため、効率的な発酵プロセスを開発することは、生物工学の古くからの課題である。これを達成するためには、大腸菌において、解糖系と TCA サイクルからなる中枢代謝の増強につながる知見を得ることが必須となる。

中枢代謝経路は、主に細胞内のエネルギーレベルによって調節され、ATP レベルが低いと活性化される。つまり、細胞内のエネルギーレベルを改変することは、大腸菌の糖代謝を操作する上で有効な手段であると言える。また、細胞内 ATP の大部分は酸化リン酸化、すなわち呼吸鎖で生み出されるプロトン駆動力 (pmf) を用いた、 F_1F_0 -ATP 合成酵素による ATP 合成、において合成される。そこで前任者は、プロトン駆動力形成能の高い呼吸鎖酵素に着目し、これらを欠損させることで pmf 形成効率の低下を導き、その結果、糖代謝活性が向上されることを明らかにしている⁽¹⁾。本研究では前任者の結果を踏まえ、それぞれの呼吸鎖酵素が大腸菌の糖代謝に、どの程度寄与しているかを調べることにした。

【方法】

大腸菌の呼吸鎖は pmf 形成効率の異なる 2 種類の NADH デヒドロゲナーゼと、3 種類の末端酸化酵素からなる、比較的単純な構造をしている (Figure 1)。そこで、8 種類の呼吸鎖変異株を構築し、これらの株を、グルコース 50 g/L を含む無機塩発酵培地を用い、好気的な条件でバッチ培養することで、それぞれの呼吸鎖酵素の糖代謝への寄与を解析した。

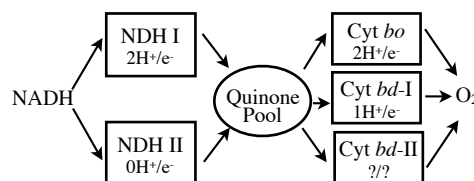


Figure 1. Components of the respiratory chain of *E. coli*. The proton translocation values (per electron) of each component are indicated. NDH: NADH dehydrogenase, Cyt: Cytochrome oxidase

【結果】

単欠損株において生育は野生株に比べて低下し、また糖消費に要する時間は野生株よりも長くなった。その中でも Δ Cyt bo は最も生育、糖消費に悪影響がでた。この結果から、Cyt bo はその他の呼吸鎖酵素よりも糖代謝に対する寄与が大きいことが示唆された。二重欠損株において、NDH-2 を欠損した株は NDH-1 を欠損した株よりも大幅に生育が遅延した。これらの結果から、NDH-2 と Cyt bo は NDH-1 および Cyt bd に比べ、菌体形成と糖代謝に大きな寄与をもつこと、つまり Δ NDH-2 と Cyt bo は pmf 形成と NADH の再酸化のバランスをとるために非常に重要な役割を担うことが示された。

【文献】

1. Kihira et al., 2011 *J Biotechnol*, 158:215-223.