

Corynebacterium glutamicum のリンゴ酸-キノン酸化還元酵素は 中枢代謝ストレスに対する安全弁として機能する

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 微生物生理学 萩原拓也

1. 背景

Corynebacterium glutamicum は工業的アミノ酸発酵生産に広く用いられており、産業上重要な微生物である。当研究室では本菌のピルビン酸キナーゼ (PYK) 欠失変異が中枢代謝に与える影響を解析してきた。PYK 欠失株をグルタミン酸生産条件であるビオチン制限条件下で培養したところ、ホスホエノールピルビン酸の過剰な蓄積を避けるためにアナプレロティック経路の酵素活性が変化しグルタミン酸生産量が野生株よりも 30%増加した¹⁾。本研究では、生育により適した条件であるビオチン十分条件 (グルタミン酸非生産条件) において、PYK 欠失変異が中枢代謝に与える影響を解析した。

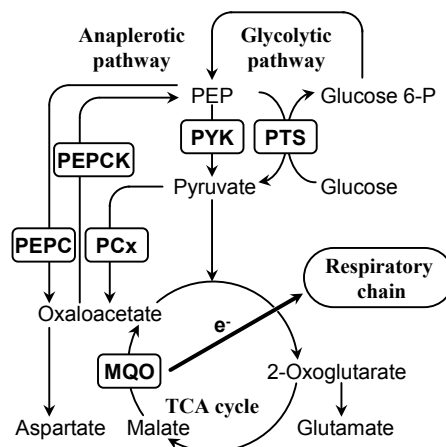


Fig. *C. glutamicum* の中枢代謝経路

2. 実験

C. glutamicum の基準株である ATCC 13032 株を親株として用いた。この親株の PYK をコードする遺伝子 *pyk* を欠失させた PYK 欠失株を作成した。また PYK 欠失株に *pyk* 遺伝子を導入し、PYK 活性を相補させた PYK 相補株を作成した。これら 3 株を用い、ビオチン十分条件で培養を行った。培地は発酵生産に用いられる複合培地を用いた。

3. 結果および考察

PYK 欠失株では菌体形成量の増大および呼吸活性の低下が観察された。酵素活性測定の結果、リンゴ酸からオキサロ酢酸 (OAA) への酸化と共役して電子を呼吸鎖へ伝達する、リンゴ酸-キノン酸化還元酵素 (MQO) の活性低下が観察された。これは、アナプレロティック経路の酵素活性変化によって OAA 供給量が増加し、過剰な OAA 生成を防止するため MQO の活性が低下したと推測された。また過剰な代謝中間体は菌体形成へと流れ、生育量が増大したのと考えられた。一方で、ビオチン制限条件下では、MQO 活性に変化が見られなかった。これは、過剰な OAA がグルタミン酸として系外に排出されたことで OAA ストレスが除去されるためと推測された。

(1) Sawada, K., et. al., (2010) *Metabolic Engineering*, **12**, 401-407