

大腸菌における *pdhR* 欠失変異が糖代謝に及ぼす影響について

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 微生物生理学 岩部 有起

1. 目的

当研究室では中枢代謝の増強による発酵生産の効率化を目指している。Pyruvate dehydrogenase complex (PDHc) をコードする *pdh* オペロンの転写調節因子である PdhR は、菌体内ピルビン酸濃度に応答して負の転写調節を行う。近年、PdhR は *pdh* オペロンだけでなく、呼吸鎖酵素である NADH dehydrogenase II および cytochrome *bo*₃ oxidase の遺伝子群の転写抑制因子としても働くことが明らかとなった。本研究では、大腸菌 W1485 株 (野生株) および *pdhR* 欠失株 (Δ *pdhR* 株) を用いて、溶存酸素充足度の影響に着目して培養特性を解析した。また、*pdhR* 欠失による末端酸化酵素をコードする遺伝子の転写量に対する影響を調べた。

2. 方法

野生株と Δ *pdhR* 株について、炭素源として 50 g/L のグルコースを含む無機塩発酵培地を用いて、ジャーファーメンターによるバッチ培養を行った。培養中の溶存酸素濃度 (DO) を一定に保った条件 (DO-STAT 条件, DO>2 ppm), あるいは DO-STAT 非適用条件 (対数期後期以降に溶存酸素が枯渇) の二条件で培養を行い、生育や糖消費、呼吸活性や有機酸生成などの培養特性を比較した。さらに、対数期後期での菌体を用いて三種の末端酸化酵 cytochrome *bo*₃ oxidase, cytochrome *bd*-I oxidase, cytochrome *bd*-II oxidase をそれぞれコードする *cyo*, *cyd*, *app* 遺伝子の転写量変化を Real-time 定量 PCR 法により解析した。

3. 結果と考察

酸素の供給量を制限した条件で培養を行った際に、 Δ *pdhR* 株では糖消費および生育が野生株よりも高く保たれ、さらにピルビン酸の蓄積が起こらなかった。次に、末端酸化酵素をコードする遺伝子の転写量変化を定量 PCR 法により解析した。その結果、両株間での各遺伝子の転写量に顕著な差はなかった。これらの結果より、 Δ *pdhR* 株に特徴的な培養特性には末端酸化酵素の寄与は小さく、糖代謝の上流に位置する PDHc 反応の活性化による寄与が大きいと予測される。現在、他の要因についても、解析中である。