

大腸菌において呼吸鎖改変がグルコース代謝および酸化還元バランスに及ぼす影響

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 微生物生理学 加藤竜一

1. はじめに

大腸菌の呼吸鎖は酸化的リン酸化による ATP の獲得や NADH の再酸化に関与し、細胞内のエネルギーレベルや酸化還元バランスを通じて糖代謝に影響を与えている。中でも、呼吸鎖と糖代謝の相互関係については不明な部分が多く、発酵生産菌育種のための基盤知見として更なる理解が求められている。大腸菌の呼吸鎖は NADH デヒドロゲナーゼ(NDH)と末端酸化酵素(Cyt)から構成され、NDH にはプロトン駆動力形成能を有する I 型と持たない II 型、Cyt にはプロトン駆動力形成能の高い *Cytbo* と低い *Cytd* が存在する。本研究では野生株及び NDH, Cyt を単独または組み合わせて欠損させた大腸菌株を用いて、糖代謝および酸化還元バランスに対する呼吸鎖酵素の影響を評価した。

2. 方法

野生株および NDH-I, NDH-II, *Cytbo*, *Cytd* を単独または組み合わせて欠損させた株を、グルコース 50 g/L を炭素源とした無機塩発酵培地を用いて酸素十分条件にてバッチ培養した。

3. 結果と考察

単独欠損株では *Cytbo* 欠損株で生育の低下と糖消費の遅延が見られた。これはプロトン駆動力形成能の低下によるエネルギーレベルの低下が原因と考えられた。続いて NDH と Cyt を組み合わせて欠損させた株では、NDH-II 欠損株群で大幅な生育の低下と糖消費時間の遅延が見られた。また、ピルビン酸・酢酸が蓄積したことから、糖代謝が菌体形成方向ではなく酢酸合成方向へ流れたことが生育低下の原因であると考えられた。一方、NDH-I 欠損株群でも生育の低下と糖消費時間の遅延は見られたが、その低下量は NDH-II 欠損株群に比べて少なかった。酵素活性測定の結果、NDH-II 欠損株群では NDH の活性が低下していたのに対し、NDH-I 欠損株群では NDH-II 活性が大幅に増大し、NDH の活性低下を補っていた。また、NDH-I および *Cytbo* を欠損した株ではピルビン酸デヒドロゲナーゼ複合体の活性上昇や NADH の蓄積といった他の欠損株と異なる代謝変化が見られた。以上の結果より、NDH-II は細胞内の酸化還元バランスを調節しながら糖代謝を円滑に進める上で重要な役割を果たしていると考えられた。

4. おわりに

単欠損株ではエネルギー獲得の観点から *Cytbo* が重要であり、NDH と Cyt を組み合わせて欠損させた株では NADH の再酸化の観点から NDH-II の重要性が高くなることが明らかとなった。また、NDH-I および *Cytbo* を欠損した株の形質が発酵生産の効率化へ応用できる可能性があることから、更なる研究を進めている。