

Corynebacterium glutamicum におけるオキサロ酢酸蓄積型への代謝改変がリジン生産に与える影響

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 微生物生理学 愛甲 徹

1. 背景と目的

Corynebacterium glutamicum によるリジン生産の研究の歴史は長く、変異原処理を施したランダム変異株の解析により、アスパラギン酸キナーゼのフィードバック阻害の解除 (AK^{fb}) 変異に加えて、ピルビン酸キナーゼの欠損 (Δ PK), ホスホエノールピルビン酸カルボキシラーゼのフィードバック阻害の解除 (PEPC^{fb}), クエン酸シンターゼの活性低下 (CS^{Low}) の3つの変異がリジン生産の向上に有効であることが1980年代に示されていた⁽¹⁾。これら3つの変異は、リジンの前駆体であるオキサロ酢酸 (OAA) の供給強化が期待できる変異である (Fig.)。当研究室では、これらの変異を分子生物学的手法で再構築し、リジン生産に与える影響を評価してきた。

まず、*C. glutamicum* AK^{fb} 株 (P) を親株として、 Δ PK を導入し、*C. glutamicum* Δ PK/AK^{fb} 株 (D2) を構築した。その結果、P では 9.4 g/L, D2 では 10.1 g/L のリジンを生産した。次に、D2 へ PEPC^{fb} を導入し、*C. glutamicum* Δ PK/PEPC^{fb}/AK^{fb} 株 (DR2) を構築した。その結果、DR2 では 12.9 g/L のリジンを生産した。本研究では、さらなるリジン生産の向上を目指して、CS^{Low} に注目した。CS^{Low} により、OAA の TCA サイクルへの流入が抑制され、その消費がリジン合成経路側へ傾くため、リジン生産の向上に寄与すると考えられた。

2. 方法

DR2 を親株として、CS の活性低下変異 (S252C) を導入し、*C. glutamicum* Δ PK/PEPC^{fb}/AK^{fb}/CS^{Low} 株 (DRL2) を構築した。2 L 容ジャーファーメンターで培養し、CS^{Low} がリジン生産に与える影響を調べた。また、酵素活性測定、ピルビン酸カルボキシラーゼ (PC) 遺伝子 (*pyc*) の発現量解析、および菌体内代謝産物のメタボローム解析を行い、CS^{Low} の導入による代謝の変化を調べた。

3. 結果と考察

DRL2 では、15.7 g/L のリジンを生産した。ホスホエノールピルビン酸カルボキシキナーゼ (PEPCK) の活性は低下し、*pyc* の発現量は増加していた。また、メタボローム解析の結果、PEP およびピルビン酸などの解糖系産物が菌体内に蓄積していた。

CS^{Low} の影響で PEP およびピルビン酸などが蓄積し、それらの蓄積を回避するために、PEPCK の活性低下や *pyc* の発現量が増加したと考えた。したがって、DRL2 でのリジン生産の向上には、CS^{Low} による OAA の消費抑制だけでなく、これらの変化によるさらなる OAA の供給強化や、リジンの前駆体であるピルビン酸の蓄積も寄与している可能性が示された。

(1) Shiio, et al., *Agric. Biol. Chem.*, **51**:2485-2493 (1987)

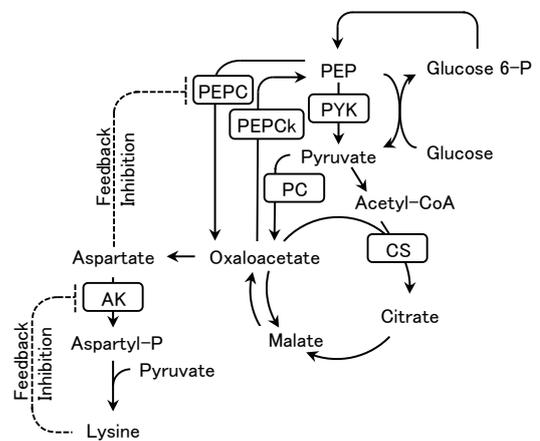


Fig. Metabolic pathway in *C. glutamicum*