

大腸菌の呼吸鎖変異株 Δ NDH-I Δ Cyt bo_3 における異常な糖代謝の解析

応用生物科学専攻 生命分子化学講座 微生物生理学 瀬島 祐大

1. 背景と目的

大腸菌の好気呼吸では主に酸化リン酸化で ATP が合成される。酸化リン酸化には呼吸鎖で形成されるプロトン駆動力 (pmf) が用いられるため、pmf 形成は ATP 合成に重要である。アデニンヌクレオチドプール (ATP, ADP, AMP) は解糖系における鍵酵素の活性をアロステリックに制御するため、pmf 形成と糖代謝には関係があると考えられた。当研究室ではこれを検証するために呼吸鎖酵素の欠損株が構築され、代謝解析が行われてきた。その結果、pmf 形成能が高い NADH 脱水素酵素 I (NDH-I) とシトクロム bo_3 オキシダーゼ (Cyt bo_3) の両方を欠失させた株 ($\Delta\Delta$ 株) では、酢酸の大量な生成だけでなく、野生株や単欠損株 (Δ NDH-I 株, Δ Cyt bo 株) では生成されないグルタミン酸 (Glu) が、50 g/L のグルコースから約 7 g/L 生成する異常な糖代謝が観察された (FIG.)。これは pmf 形成能が他の株と比較して著しく低下したためと推測されたが、その生成機構は不明であった。そこで、本研究では pmf 形成能の低下が糖代謝に与える影響を包括的に明らかにするために、pmf 形成能が異なる単欠損株と $\Delta\Delta$ 株についてトランスクリプトーム解析、およびメタボローム解析を行い野生株と比較した。

2. 方法

Escherichia coli W1485 (野生株) と単欠損株 (Δ NDH-I 株, Δ Cyt bo 株), $\Delta\Delta$ 株をジャーフェンターで無機塩発酵培地を用いてバッチ培養し、対数増殖期後期の菌体を回収した。回収した菌体を用いて RNA-Seq およびメタボローム解析を行い、遺伝子発現と代謝物の動態を網羅的に調べた。

3. 結果と考察

呼吸鎖酵素欠損株では転写・代謝物の両方で変化がみられ、その程度は単欠損株よりも $\Delta\Delta$ 株で大きかった。特に酢酸合成と Glu 代謝に大きな変化がみられた。ピルビン酸から酢酸を合成する pyruvate oxidase をコードする *poxB* の転写量が $\Delta\Delta$ 株 > 単欠損株の順で増大していた。PoxB は呼吸鎖の電子伝達体であるユビキノンに電子を供与し、ユビキノールを生成させる。ユビキノールは末端酸化酵素によって再びユビキノンへと酸化され、その過程で pmf が形成される。 $\Delta\Delta$ 株では PoxB による酢酸合成を活性化させ、pmf 形成能の低下を補っていると推測した。また、 $\Delta\Delta$ 株で Glu の脱炭酸反応を担う *gadA*, *gadB* の転写量が増大し、細胞内の γ -アミノ酪酸 (GABA) 濃度も上昇しており、Glu 脱炭酸反応系の促進が示唆された。本反応系は、TCA サイクルを 2-オキソグルタル酸からコハク酸へバイパスする反応とサイクル反応を形成し、Glu 脱炭酸反応により細胞内 H^+ が消費されることで pmf を形成する。pmf 形成を補完するために本サイクル反応が促進され、それに伴い $\Delta\Delta$ 株では Glu が大量に生成したと考えられた。以上より、大腸菌には pmf 形成能の低下の程度に応じて、酢酸合成や上記の Glu 代謝を促進させる新奇な恒常性維持機構を有していると示唆された。

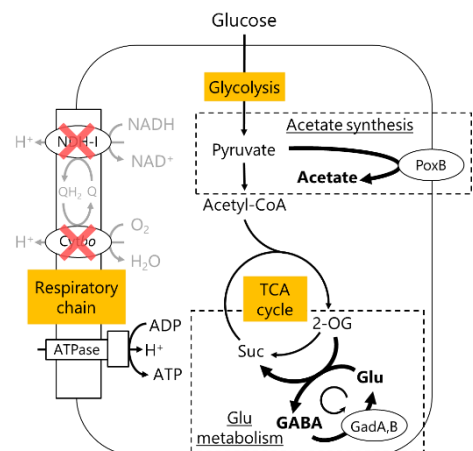


FIG. Metabolic changes in *Escherichia coli* mutant defective in both NADH dehydrogenase I and cytochrome bo_3 . 2-OG: 2-oxoglutarate, Suc: succinate, GABA: γ -aminobutyrate