

D203***rpoS* 遺伝子欠損が大腸菌の代謝物生成に与える影響**

(阪大院基工・化工) ○(学)福田悠人, 土田和樹, (正)尾島由紘, (正)田谷正仁*

【緒言】

微生物細胞を用いた有用物質生産では、酸素不足など環境条件の悪化により酢酸等の副生成物の生成が問題であり、目的物を高収率で生産するためには、副生成物を減少させることが重要である。本研究グループでは L-Phenylalanine 生産菌において、*yggG* 遺伝子を過剰発現させた場合、酢酸生成量が減少し、L-Phenylalanine 生成量が増加することを見出している¹⁾。過剰発現株の mRNA 発現量を調べたところ、酢酸生成に関する酵素のストレス応答性レギュレーターである *rpoS* 遺伝子の発現量低下が原因であることが考えられた。本研究では、*rpoS* 遺伝子が酢酸生成に及ぼす点に着目し、*rpoS* 遺伝子を欠損させた大腸菌をグルコース含有 LB 培地にて培養し、細胞および培養特性に与える影響を検討した。

【実験】

大腸菌 K-12 株由来の BW25113 株とその *rpoS* 遺伝子欠損株(以下 BW25113 / *ΔrpoS* 株)を LB 培地 (グルコース 40 g/L) において 37°C, 200 rpm 搅拌条件下で培養した。培養は 200 mL バッフル付き三角フラスコに 40 mL の培地を入れて行い、pH 調整剤として 2% 炭酸カルシウムを添加した。細胞密度は希塩酸にて炭酸カルシウムを溶解させた後、OD₆₆₀ により測定した。また、培地中のグルコースおよび酢酸量は、BioProfile™300(ノバ・バイオメディカル(株))を用いて測定した。

【結果および考察】

大腸菌 BW25113 株および BW25113 / *ΔrpoS* 株培養における各値の経時変化を Fig.1 に、培養開始 72 時間後における酢酸濃度および酢酸対糖収率を Table 1 に示す。BW25113 / *ΔrpoS* 株は BW25113 株と比べて到達細胞密度が増加した。グルコース消費に関して、培養 12 時間の時点では両株間ににおける消費量の違いが見られないが、それ以降では消費速度に差が生じ、BW25113 株では 72 時間の時点で 6.8 g/L のグルコースが残存したが、BW25113 / *ΔrpoS* 株では 48 時間ににおいてグルコースを完全に消費していた。一方、酢酸濃度に関して、BW25113 株ではグルコースの消費に応じて、酢酸が生成されており、培養開始 72 時間では 26.7 g/L の酢酸が生成されたが、BW25113 / *ΔrpoS* 株では、培養 12 時間の時点で酢酸濃度が最大値となり、その後はほとんど酢酸が生成されず、培養 72 時間で BW25113 株と比較すると 25 g/L 程度の酢酸生成量の減少が確認された。酢酸対糖収率を比較すると、BW25113 / *ΔrpoS* 株は BW25113 株の約 1 / 40 倍と非常に小さな値となった。まとめると、*rpoS* 遺伝子欠損株では、到達細胞密度が増加し、グルコースの消費が促進されているのにも関わらず、酢酸生成が極端に抑制され

た。以上の結果より、*rpoS* 遺伝子欠損株では、解糖系代謝および TCA 回路のバランスが大きく変化し、酢酸以外の代謝物が生成していると考えられた。

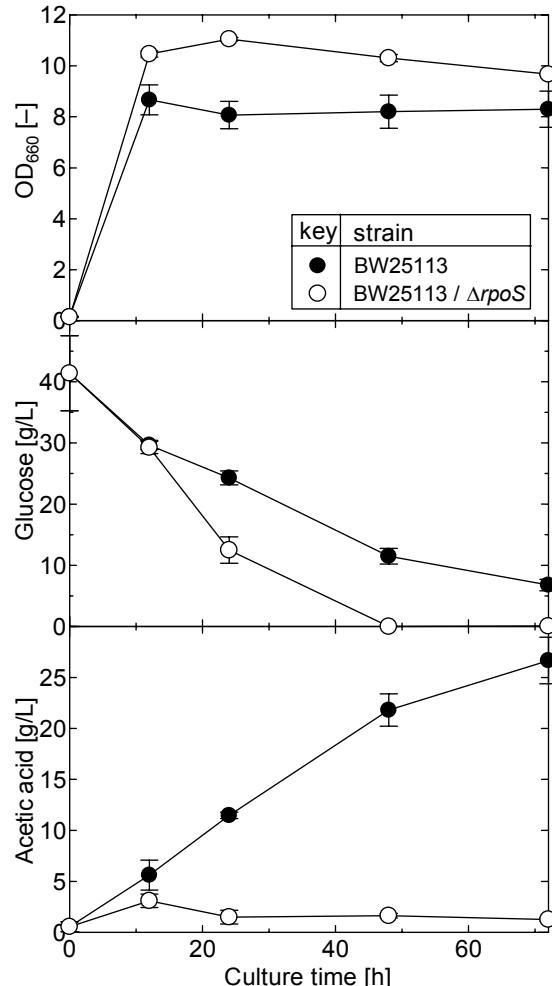


Fig. 1 大腸菌 BW25113 株および BW25113 / *ΔrpoS* 株培養における増殖、グルコース濃度および酢酸濃度の経時変化

Table 1 培養 72 時間における酢酸濃度および酢酸対糖収率

Strain	酢酸濃度 [g/L]	収率[g _{Ac} /g _{Glu}]
BW25113	26.7±2.3	0.76±0.11
BW25113 / <i>ΔrpoS</i>	1.3±0.1	0.02±0.01

【参考文献】

- 1) Y. Ojima *et al.*, *Biotechnol. Lett.*, **31**(4), 525-530 (2009)

*TEL : 06-6850-6251, FAX : 06-6850-6254

e-mail : taya@cheng.es.osaka-u.ac.jp