



乳酸菌にとって乳酸生産とは？

永久 圭介

乳酸菌とは、多量の乳酸を生産する細菌の総称である。解糖系を通して糖からピルビン酸が生成され、次いで乳酸脱水素酵素（Lactate dehydrogenase : Ldh）の働きにより乳酸が生成する。解糖系で生成されるNADHは、Ldhがピルビン酸を乳酸に変える際に使われてNAD⁺となる。このように、乳酸菌は解糖系で生じたNADHを酸化してNAD⁺を再生し、細胞内の酸化還元バランスを保っている点でLdhの働きは重要な意味をもつのだが、同時に乳酸ができるため生息環境のpH低下を招いて自身の増殖を阻害する結果にもなり、諸刃の剣といえる。それでも乳酸菌が多量の乳酸を生産していることは事実であり、それは乳酸への代謝がロバストであるという可能性を示唆している。

Garriguesらは、プロモーター領域を変えてLdhをコードする遺伝子（*ldh* 遺伝子）の発現を減少させた *Lactococcus lactis* JIM5711株と、*ldh* 遺伝子を破壊した *L. lactis* JIM5954株を構築し、解析を行った¹⁾。JIM5711株におけるLdhの活性は野生株に比べて3.6倍も減少しているが、その発酵様式は野生株と同じ乳酸を主要代謝産物とするホモ乳酸発酵で、最大比生産速度も野生株と同じであった。この結果から、細胞内のピルビン酸プールの量が増加したことが予想され、その濃度を見積もったところ、野生株では1 mM、JIM5711株では8 mMであった。この解析で用いられたLdhのピルビン酸に対する K_m 値は3 mMである。このように、Ldhの活性を半分にしただけでは乳酸の生産が止まらず、ピルビン酸が溜まって代謝が他に流れずに乳酸へと流れていることから、乳酸菌にとって、Ldh活性の変化に対して乳酸への代謝はロバストではないかと考えられる。一方、*ldh* 遺伝子を破壊したJIM5954株は乳酸をほとんど生産しなかった。乳酸以外のギ酸、酢酸、エタノールの比生産速度が野生株やJIM5711株に比べて大きく、乳酸に流れる分がギ酸、酢酸、エタノールへ流れる結果となった。

このように、*ldh* 遺伝子を破壊することで、乳酸への代謝の流れを抑制できるが、ほかの方法でも同じことが実現可能となる。先述したように、Ldhによる乳酸の生成にはNADHが必要なので、NADHをLdh以外の酵素で完全に酸化してやれば、乳酸の生産が起これない。このような目的で使用できる酵素にNADH酸化酵素があり、これを過剰発現させることで細胞内のNADHを酸化し、NAD⁺を再生できる。

LopezらはNADH酸化酵素を細胞内で誘導発現させて、ピルビン酸から乳酸へ向かう代謝を別の代謝経路に振り向ける研究を行った²⁾。NADH酸化酵素を誘導発現するとNADH/NAD⁺が減少するため、Ldhの反応はあまり進まず、代謝は乳酸のほかに酢酸、アセトイン、ジアセチルにも流れた。NADH酸化酵素をさらに活性化するためにFADを添加して同様の実験を行ったところ、乳酸の生成がほとんど見られなくなったため、乳酸の生産とNADH/NAD⁺のバランスは密接に関係しているといえる。

以上、今回明らかになったことをまとめてみる。乳酸菌が、生息環境のpH低下を招くにもかかわらず乳酸を生成するのは、その反応が細胞内の酸化還元バランスを保つために重要だからであり、その重要さは、Ldhの活性を下げただけでは失われない。逆に考えれば、酸化還元バランスの保持を別の反応で代替してやれば、乳酸菌にとって乳酸生成の意義は失われるので、代謝を別の方向に流すことができる。このように乳酸菌は、自分の体内の酸化還元バランスを保つために、嫌でも多量の乳酸を生産しなければならないのである。生きるために「諸刃の剣」を振るい続ける乳酸菌が、少し“けなげ”に見えてくるのは筆者だけだろうか。

1) Garrigues, C. et al.: *Metab. Eng.*, **3**, 211 (2001).

2) Lopez, F. et al.: *J. Bacteriol.*, **180**, 3804 (1998).